第 2 部　CTD の概要

一般名：カピバセルチブ

版番号：[redacted]

2.6.6　毒性試験の概要文
カピバセルチブ

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次

標題ページ 1
目次 2
略語及び専門用語一覧表 4
2.6.6.1 まとめ 5
2.6.6.2 単回投与毒性試験 8
2.6.6.3 反復投与毒性試験 8
2.6.6.3.1 マウスを用いた反復投与毒性試験 8
2.6.6.3.1.1 マウスを用いた経口投与による用量漸増及び反復投与毒性試験（試験 20279282） 8
2.6.6.3.1.2 マウスを用いた 1 か月間反復経口投与毒性試験（試験 8003410） 10
2.6.6.3.2 ラットを用いた反復投与毒性試験 12
2.6.6.3.2.1 ラットを用いた MTD 用試験（試験 2239DR） 12
2.6.6.3.2.2 ラットを用いた MTD 及び 7 日間反復経口投与毒性試験（試験 2374DR） 13
2.6.6.3.2.3 ラットを用いた 1 か月間反復経口投与毒性及び回復性試験（試験 2638AR） ... 14
2.6.6.3.2.4 ラットを用いた 6 か月間反復投与毒性試験（試験 527477） 15
2.6.6.3.3 イヌを用いた反復投与毒性試験 17
2.6.6.3.3.1 イヌを用いた MTD 及び 14 日間反復投与毒性試験（試験 1068DD） 17
2.6.6.3.3.2 イヌを用いた 1 か月間反復経口投与毒性及び回復性試験（試験 1112AD） 19
2.6.6.3.3.3 イヌを用いた 9 か月間反復投与毒性試験（試験 527482） 20
2.6.6.4 遺伝毒性試験 21
2.6.6.4.1 *In vitro* 試験 21
2.6.6.4.1.1 細菌を用いた復帰突然変異試験（試験 2332BV） 21
2.6.6.4.1.2 マウスリンフォーマ試験（試験 2333MV） 21
2.6.6.4.2 *In vivo* 試験 21
2.6.6.4.2.1 ラットを用いた小核試験（試験 2718QR） 21
2.6.6.4.2.2 ラットを用いた小核試験（試験 8331243） 22
2.6.6.4.2.3 ラットを用いた小核試験のスライド標本における動原体標識（試験 2759KV） 23
2.6.6.4.2.4 ラットを用いたコメットアッセイ（試験 3274BR） 23
2.6.6.5 がん原性試験 23
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 24
2.6.6.6.1 雄受胎能に関する試験 24
2.6.6.6.2 雌受胎能及び初期胚発生に関する試験 24
2.6.6.6.3 胚・胎児発生に関する試験 24
2.6.6.6.3.1 胚・胎児発生、並びに出生前及び出生後の発生に関する試験（試験 496879） 24
2.6.6.6.4 出生前及び出生後の発生に関する試験 25
2.6.6.6.5 幼若動物を用いた毒性試験 25
2.6.6.7 局所刺激性試験 25

2.6.6.8 その他の毒性試験 26
2.6.6.8.1 抗原性試験 26
2.6.6.8.2 免疫毒性試験 26
2.6.6.8.3 毒性発現機序検討試験 26
2.6.6.8.4 依存性試験 26
2.6.6.8.5 代謝物の毒性試験 26
2.6.6.8.6 不純物の毒性試験 26
2.6.6.8.7 光毒性試験（試験 20065496） 26
2.6.6.9 考察 27
2.6.6.10 結論 35
2.6.6.11 参考文献 35

表目次

表 1 カピバセルチブの毒性試験 6
表 2 カピバセルチブの反復投与毒性試験及び臨床における曝露量の比較 32

図目次

図 1 カピバセルチブの UV 吸収波長 27

略語及び専門用語一覧表

本概要で使用する略語及び専門用語を以下に示す。

略語及び専門用語	用語の説明
AKT	セリン／スレオニンプロテインキナーゼ：Serine/threonine specific protein kinase
ALP	アルカリホスファターゼ：Alkaline phosphatase
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ：Alanine aminotransferase
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ：Aspartate aminotransferase
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積：Area under plasma concentration-time curve
C_{max}	最高血漿中濃度：Maximum plasma drug concentration
DNA	デオキシリボ核酸：Deoxyribonucleic acid
GALT	腸管関連リンパ組織：Gut-associated lymphoid tissue
GGT	γ-グルタミルトランスフェラーゼ：Gamma-glutamyl transferase
GLDH	グルタミン酸脱水素酵素：Glutamate dehydrogenase
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準：Good Laboratory Practice
HER2	ヒト上皮細胞成長因子受容体 2：Human epidermal growth factor receptor
hERG	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子：Human Ether-a-go-go-Related Gene
HPMC	ヒドロキシプロピルメチルセルロース：Hydroxypropyl methyl cellulose
HR	ホルモン受容体：Hormone receptor
ICH	医薬品規制調和国際会議：International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use
LLOQ	定量下限：Lower limit of quantification
IHC	免疫組織化学染色：Immunohistochemical staining
ISH	in situ ハイブリダイゼーション：In situ hybridization
MNU	メチルニトロソ尿素：N-methyl-n-nitrosourea
MTD	最大耐量：Maximum tolerated dose
NAG	Ｎ－アセチル-β-D-グルコサミニダーゼ：N-acetyl-β-d-glucosaminidase
NMR	核磁気共鳴分析：Nuclear magnetic resonance analysis
OECD	経済協力開発機構：Organisation for Economic Cooperation and Development
RTG	相対総増殖率：Relative total growth
TK	トキシコキネティクス：Toxicokinetics
t_{max}	最高血漿中濃度到達時間：Time to C_{max}
TSH	甲状腺刺激ホルモン：Thyroid stimulating hormone

2.6.6.1 まとめ

カピバセルチブは、AKT（セリン/スレオニン特異的プロテインキナーゼ）の 3 種類のアイソフォーム（AKT1/2/3）の全てに対する強力かつ選択的な間欠経口投与阻害薬である。内分泌療法剤の治療中又は治療後に再発又は進行が認められた局所進行（手術不能）又は転移性 HR+/HER2−（IHC 0 又は 1+、若しくは IHC 2+/ISH-）乳癌成人患者の治療を目的として、カピバセルチブはフルベストラントとの併用投与により開発中である。

カピバセルチブの毒性は、ラットで 6 か月間まで、イヌで 9 か月間までの反復経口投与毒性試験、標準的組み合わせの遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験（ラットを用いた 6 か月間反復投与試験での雄受胎能評価、ラットを用いた胚・胎児発生、並びに出生前及び出生後の発生に関する試験）及び *in vitro* 光毒性試験を実施し評価した。実施予定のがん原性試験の用量設定のために、野生型 rasH2（CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic）マウスを用いた 1 か月間反復投与毒性試験も実施し、ラットを用いた 2 年間がん原性試験は実施中であり、20[redacted] 年 [redacted] 月に投与期間が終了する予定である。ラットを用いたがん原性試験は、将来、ICH M3（R2）ガイドラインが適用される別の患者集団が対象となる場合に備えて実施している。さらに、心血管系、呼吸器系及び中枢神経系、並びに消化管及び腎機能に対するカピバセルチブの潜在的影響について、副次的薬理試験及び一連の安全性薬理試験により評価した。副次的薬理試験及び安全性薬理試験については、薬理試験の概要文 2.6.2 に示す。すべての重要な非臨床安全性試験は、OECD 加盟国で、OECD 毒性試験ガイドライン及び GLP 基準、並びに ICH ガイドラインに従って実施した。

本承認申請が対象とする患者集団には、ICH S9 ガイドラインが適用される。ICH S9 ガイドラインでは、製造販売承認申請のための毒性試験の投与期間は 3 か月間で十分と考えられているが、ICH M3（R2）ガイドラインが適用される別の患者集団のサポートを可能とするためラットを用いた 6 か月間反復投与毒性試験及びイヌを用いた 9 か月間反復投与毒性試験も実施しており、さらに、ラットを用いたがん原性試験が進行中である。

In vivo 毒性試験の媒体には、0.5% w/v HPMC 水溶液を使用した。一部の試験では、用量を μmol で設定しているが、一貫性を保つために本概要では mg/kg 相当量で表記した。患者におけるカピバセルチブの推奨臨床用量は、400 mg を 1 日 2 回、4 日間投与 3 日間休薬の間欠投与である。一方、毒性試験は 1 日 1 回の連日投与で実施した。

マウス、ラット及びイヌはすべて薬理学的に適切な動物種であり、標的及び標的外毒性の評価に適した動物種として選択した。AKT 受容体は、インスリン細胞内シグナル伝達において重要な役割を果たしていることが知られており（Chang et al 2004）、AKT 受容体阻害によりインスリンシグナル伝達が変化し、その結果、インスリン及び血中グルコースの上昇が予想される。カピバセルチブ投与によりマウス、ラット及びイヌで血中グルコースの高値がみられ、血中グルコース上昇は PI3K/AKT 阻害薬を使用した患者における最も一般的な副作用の一つである（Liu et al 2022）。さらに、カピバセルチブとヒト肝細胞とのインキュベーションにより生成されるすべての代謝物はラット又はイヌの肝細胞とのインキュベーションでも生成され、ヒトでの使用をサポートする毒性試験におけるこれらの動物種の選択を妥当なものとしている（薬物動態試験の概要文 2.6.4）。

代謝試験において、カピバセルチブのヒト血漿中主要代謝物はエーテル型グルクロン酸抱合体（AZ14102143）であり、NMR によりカピバセルチブ関連化合物総量の約 80%を占めること（薬物動態試験の概要文 2.6.4.5.2 項）及び AKT 阻害に関して薬理学的に不活性であることが示されている（薬理試験の概要文 2.6.2）。カピバセルチブは、ラット、イヌ及びヒトの肝細胞とのインキュベーションにより、14 種以上の成分に代謝された。イヌ及びヒトの肝細胞により生成される主要代謝物はカピバセルチブのエーテル型グルクロン酸抱合体であったが、ラット肝細胞における主要代謝物はカピバセルチブの硫酸抱合体であった。ヒト肝細胞で生成されたすべての代謝物は、ラット又はイヌの肝細胞でも生成された。マウス肝細胞における代謝は評価しなかったが、

マウスを用いた 1 か月間反復投与毒性試験で採取した血漿試料においてエーテル型グルクロン酸抱合体が検出された（薬物動態試験の概要文 2.6.4）。ラットを用いた *in vivo* 試験でもエーテル型グルクロン酸抱合体は微量（胆汁中に用量の 2%以下のみ）検出された。その代わりに硫酸抱合体がみられ、雄に比較して雌で顕著であった。

表 1 に示すカピバセルチブの実施済み毒性試験パッケージは、対象患者集団に対するカピバセルチブの使用を支持するのに適切と考える。

カピバセルチブの開発コードは、AZD5363 及び AZ12952302 であり、一部の試験報告書ではこれらの名称が使用されている場合がある。

表 1　　カピバセルチブの毒性試験

Study type and duration	Route of admini.	Species	Study number (AZ reference number)	GLP compliant
Repeat dose toxicity:				
MTD and 14 day	Oral	Mouse	20279282 (1159DM)	No
One month	Oral	Mouse	8003410 (1176DM)	Yes
MTD	Oral	Rat	2239DR	No
MTD and 7 day	Oral	Rat	2374DR	No
One month and one month recovery	Oral	Rat	2638AR	Yes
Six month (including male fertility)	Oral	Rat	527477 (3784PR)	Yes
MTD and 14 day	Oral	Dog	1068DD	Yes
One month and one month recovery	Oral	Dog	1112AD	Yes
Nine month	Oral	Dog	527482 (1482FD)	Yes
Genetic toxicology:				
Bacterial reverse mutation test	*In vitro*	Salmonella typhimurium + Escherichia coli	2332BV	Yes
Mouse Lymphoma cell thymidine kinase locus assay	*In vitro*	Mouse lymphoma L5178Y cells	2333MV	Yes
Bone Marrow Micronucleus	Oral	Rat	2718QR	Yes
Bone Marrow Micronucleus	Oral	Rat	8331243 (4075QR)	Yes
Kinetochore Labelling of Micronuclei	Oral	Rat	2759KV	No
Liver Comet	Oral	Rat	3274BR	Yes
Carcinogenicity:				
104 Week Carcinogenicity Study – *Ongoing*[a]	Oral	Rat	8003384 (4390CR)	Yes
Reproductive and developmental toxicity:				
Preliminary Embryofetal Development and Pre and Post Natal Study	Oral	Rat	496879 (3783RR)	Yes
Other studies:				
Phototoxicity	*In vitro*	Balb/c 3T3 fibroblasts	20065496 (3432BV)	Yes

MTD = maximum tolerated dose; GLP = Good Laboratory Practice

[a] Study in the in-life phase. Study not required for this patient population.

毒性試験における主な変化を以下に要約する。

- マウス、ラット及びイヌで、グルコース及びインスリンの高値が認められた。関連する変化として、血漿フルクトサミンの高値（ラット）、糖化ヘモグロビンの高値（マウス、ラット及びイヌ）、肝臓でグリコーゲン蓄積（マウス、ラット及びイヌ）、肝細胞肥大（ラット）、膵島細胞の肥大／過形成又は空胞化（ラット及びイヌ）及び糖尿（ラット及びイヌ）が認められた。臨床病理検査値の変動には回復性が認められた。肝臓及び膵臓の病理組織学的変化については、イヌでは回復性がみられ、ラットでは 28 日間の回復性試験終了時に回復傾向が認められた。マウスでは回復性について検討していない。
- ラットを用いた 1 及び 6 か月間反復投与試験では、摂水量増加に関連して、糖尿及びタンパク尿を伴う多尿が認められた。1 か月間反復投与試験において、これらの変化の回復性が確認された。
- イヌを用いた 1 か月間反復投与試験で心筋収縮力増加を伴う QTc 延長がみられたが、いずれの変化も回復性評価中には認められなかった。
- マウス、ラット及びイヌでカピバセルチブによる精巣上体の病理組織学的変化を伴う精巣の変性がみられ、精巣及び精巣上体重量の低値が認められた。ラットを用いた 6 か月間反復投与試験では、雄受胎能に影響はみられなかった。ラット（1 及び 6 か月間反復投与試験）及びイヌ（1 か月間反復投与試験）で前立腺重量の低値がみられ、イヌを用いた 1 か月間反復投与試験では前立腺上皮細胞丈の軽度低下も認められた。前立腺の変化には、28 日間の休薬による回復性が認められた。ラットを用いた 1 か月間反復投与試験では子宮及び卵巣の重量の低値、6 か月間反復投与試験で子宮重量の低値がみられたが、いずれの試験においても関連する病理組織学的変化は認められなかった。
- 血漿肝酵素の高値がマウス及びラットを用いた 1 か月間反復投与試験（AST、ALT 及び GLDH）及び 6 か月間反復投与試験（AST）で認められた。ラットを用いた 1 か月間反復投与試験では、これらの臨床病理検査値の回復性が認められた。肝細胞壊死が 1 か月間反復投与試験で 1 例（主試験動物）、用量設定試験で 2 例のラットに認められた。イヌでは同様の変化は認められなかった。
- ラットを用いた 1 及び 6 か月間反復投与試験でカピバセルチブによる下垂体、甲状腺及び副腎の肥大がみられ、視床下部－下垂体軸を介した作用が示唆された。イヌを用いた 1 か月間反復投与試験で、甲状腺及び副腎に同様の変化が認められた。これらの変化は、両動物種で休薬による回復性が認められた。これらの変化の毒性学的意義は不明である。マウスでは同様の変化は認められなかった。
- ラットにおける造血系の変化として、胸腺（低細胞性、リンパ球融解及び胸腺重量の低値）、骨髄（低細胞性）及び脾臓重量の低値が認められた。雄におけるこれらの変化は、白血球数減少に関連していた。胸腺及び脾臓の変化には回復性がみられたが、骨髄の低細胞性は回復性試験終了時にもみられ、脂肪置換も認められた。マウスでは、胸腺（低細胞性及び胸腺重量の低値）、脾臓（脾臓重量の低値、関連する病理組織学的変化なし）、並びに赤血球及び白血球パラメータの低値（主に雄）が認められた。イヌを用いた 1 か月間反復投与試験では、胸腺（低細胞性、リンパ球融解及び胸腺重量の低値）のみで影響がみられ、28 日間の休薬により完全に回復した。
- 妊娠中及び授乳中のラットにカピバセルチブを投与した結果、胚の発生及び出生後早期の成長への影響が認められた。

- *In vitro* 光毒性試験では、カピバセルチブの光毒性を示唆する変化は認められなかった。
- *In vitro* 遺伝毒性試験では、カピバセルチブの遺伝毒性はみられなかったが、ラットを用いた小核試験では 150 mg/kg/日の用量で経口投与した結果、ラット骨髄に小核を有する未成熟赤血球の発現頻度の増加が認められた。無作用量は 125 mg/kg/日であった。ラット骨髄に発現した小核が動原体陽性であったことから、カピバセルチブが異数性誘発作用を有することが示唆された。ラットを用いたコメットアッセイでは、カピバセルチブを 150 mg/kg の用量で 2 回経口投与した結果、肝臓における DNA 損傷の増加は認められなかった。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

ICH M3（R2）ガイドラインに従い、反復投与毒性試験に使用した動物種で適切に実施された MTD を確定する用量設定試験から、急性毒性に関する情報を得ることができる。したがって、カピバセルチブの単回投与毒性試験は実施していない。MTD 評価はいくつかの反復投与毒性試験の一部として実施しているため、MTD に関する情報は反復投与毒性に関する項に要約する。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

カピバセルチブの反復投与毒性は、マウスを用いた最長 1 か月間、ラットを用いた最長 6 か月間、イヌを用いた最長 9 か月間の反復経口投与試験により評価した。ラット及びイヌを用いた 1 か月間反復投与毒性試験では、高用量群で 1 か月間の休薬期間を設け、発現した所見の回復性について評価した。1、6 及び 9 か月間反復投与試験におけるカピバセルチブの曝露量（AUC 及び C_{max}）を表 2 に示す。トランスジェニックマウスを用いた 1 か月間反復投与試験（試験 8003410）における代謝物 AZ14102143 の曝露量は、薬物動態試験の概要文 2.6.4 に記載した。

これらの試験の主な試験方法、TK 結果及び試験結果を毒性試験概要表 2.6.7 の 2.6.7.6 項及び 2.6.7.7 項に示す。

2.6.6.3.1 マウスを用いた反復投与毒性試験

2.6.6.3.1.1 マウスを用いた経口投与による用量漸増及び反復投与毒性試験（試験 20279282）

毒性試験概要表 2.6.7.6 項

用量漸増相では、1 群雌雄各 2 例、計 5 群の CByB6F1 Hybrid（非トランスジェニック同腹児）マウスに、150、300、500、750（雄）／400（雌）及び 850（雄）／450（雌）mg/kg で、Day 1 に単回強制経口投与した。用量漸増相では、一般状態、体重及び剖検（早期屠殺例のみ）について評価した。

用量漸増相における単回経口投与後の死亡は、瀕死状態（浅呼吸、円背位、冷触感、活動性低下）のため安楽殺した 500 mg/kg（雌の最高用量）の雌 1 例のみであった。剖検では胃に暗色巣及び小腸内に異常内容物が認められた。用量漸増相では、他に一般状態の変化は認められなかった。用量依存的な平均体重の低値が、750 mg/kg 以上の雄（Day 1～3 で最大-8.7%）、400 mg/kg の雌（Day 1～3 で-4%）で認められた。150、300 及び 500 mg/kg では平均体重及び平均体重増加量に明らかな変化はみられなかった。用量漸増相の結果から、14 日間反復投与相の用量には 75、150 及び 300 mg/kg を設定した。

14 日間反復投与相では、1 群雌雄各 6 例の対照群及びカピバセルチブ投与群 3 群のマウスに、カピバセルチブを 75、150 及び 300 mg/kg の用量で、1 日 1 回 14 日間反復強制経口投与した。さらに、対照群では雌雄各 6 例、カピバセルチブ投与群では雌雄各 12 例の TK 試験群を設定し、Day 1 及び 14 の投与後の TK パラメータを評価した。14 日間反復投与相では、一般状態観察、体重測定、血液学的検査、血液生化学的検査、血漿中カピバセルチブ及び AZ14102143（グルクロン酸抱合体）濃度測定、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施した。

TK 評価では、マウスにおけるカピバセルチブ及び AZ14102143（グルクロン酸抱合体）の曝露量に性差は認められなかった。単回投与後及び 14 日間反復投与後のカピバセルチブの C_{max}、$AUC_{(0-t)}$及び $AUC_{(0-6)}$は、75～300 mg/kg の用量間で用量依存的な増加を示した。単回投与後及び 14 日間反復投与後の AZ14102143 の C_{max} 及び $AUC_{(0-6)}$は、75～300 mg/kg の用量間で用量比を上回る増加を示した。カピバセルチブの C_{max}、$AUC_{(0-t)}$及び $AUC_{(0-6)}$に Day 1 と Day 14 の間で明らかな差はみられなかったが、75 及び 300 mg/kg の反復投与後には AZ14102143 が高値となる傾向が認められた。本試験の用量範囲及び投与期間を通して代謝物の C_{max} 及び $AUC_{(0-6)}$は、親化合物の 1/36～1/244 であった。

14 日間反復投与相では、300 mg/kg の主試験群の雌 2 例及び TK 群の雌 2 例の死亡が認められた。主試験の雌 1 例は瀕死（脱水、円背位、活動性低下及び半眼）により安楽殺した。この一般状態不良は投与過誤によるものであった。他の 3 例は死亡後発見された。他の雌（主試験）の病理組織学的検査では、非特異的変化として生理的ストレス及び／又は衰弱の二次的変化と考えられる胸腺における重度のリンパ球細胞性低下、骨髄における重度の細胞性低下、肝臓における軽微な肝細胞萎縮が認められ、死因の特定はできなかった。その他の雌では、カピバセルチブに関連した一般状態の変化は認められなかった。カピバセルチブに関連した可能性のある一般状態の変化として、Day 3～15 又は Day 14 及び 15 に 300 mg/kg の雄 2 例で立毛が認められた。
300 mg/kg の雌では、対照群と比較して統計学的に有意な一過性の平均体重の低値（Day 1～3 で-5%）がみられ、Day 3 には平均体重が低値（-7%）となり、Day 5 に軽度であるが統計学的に有意な低値（-5%)が認められた。しかし、Day 7 には明らかな回復が認められた。75 及び 150 mg/kg の雌雄及び 300 mg/kg の雄では、平均体重及び平均体重増加量にカピバセルチブ投与の影響は認められなかった。

臨床病理学的検査では、75 mg/kg 以上でカピバセルチブに関連した軽微から軽度の変動が認められた。血液学的検査では、75 mg/kg 以上の雌及び 150 mg/kg 以上の雄で赤血球量の低値、150 mg/kg 以上の雌で網状赤血球数の低値、300 mg/kg の雌でリンパ球数及び白血球数の低値、300 mg/kg の雄及び 150 mg/kg 以上の雌で赤血球分布幅の高値、150 mg/kg 以上の雄で好中球数及び単球数の高値が認められた。血液生化学的検査では、150 mg/kg 以上の雌雄でカピバセルチブに関連した GLDH 及び AST の高値、300 mg/kg の雄及び 150 mg/kg 以上の雌でトリグリセリドの高値、300 mg/kg の雄でリン酸塩の高値、75 mg/kg の雌及び 300 mg/kg の雌雄でナトリウムの高値、300 mg/kg の雌でクロール及び尿素窒素の高値、150 mg/kg 以上の雄及び 300 mg/kg の雌でグルコースの高値、300 mg/kg の雌雄でアルブミン、総タンパク及びアルブミン／グロブリン比の低値が認められた。血液学的検査及び血液生化学的検査において 75 mg/kg 以上で認められたカピバセルチブに関連したこれらの変動は軽微から軽度であり、毒性ではないと考えられた。

病理組織学的検査では、唾液腺（150 mg/kg 以上の雌で軽微な分泌物枯渇）、肝臓（75 mg/kg 以上の雌雄で軽微から中等度の肝細胞空胞化）、膵臓（300 mg/kg の雄及び 150 mg/kg 以上の雌で軽微な膵島の脱顆粒、300 mg/kg の雌雄で軽微なチモーゲン顆粒枯渇）及び胸腺（75 mg/kg 以上の雌雄で軽微から重度のリンパ球細胞性低下）でカピバセルチブに関連した変化が認められた。肝細胞空胞化（グリコーゲン蓄積と一致）は、150 mg/kg 以上の雌雄でみられた肝臓重量の高値との関連がみられた。リンパ球細胞性低下は、75 mg/kg 以上の雌雄でみられた胸腺重量の低

値に関連していた。75 mg/kg 以上の雌で脾臓重量の低値、150 mg/kg 以上の雄で精巣及び精巣上体の重量の低値がみられたが、関連する病理組織学的変化は認められなかったことから、本試験でみられたこれらの変化は毒性ではないと考えられた。

以上のように、カピバセルチブを CByB6F1 Hybrid（Tg.rasH2 非トランスジェニック同腹児）マウスに 75、150 及び 300 mg/kg の用量で、1 日 1 回 14 日間反復経口投与した結果、一般状態の変化は殆どみられず、300 mg/kg の雌で一過性に体重の低値が認められたが、雄では 300 mg/kg、雌では 150 mg/kg までで良好な忍容性が確認された。しかし、300 mg/kg の雌で、瀕死・死亡が認められた。血液学的検査及び血液生化学的検査では、75 mg/kg 以上で毒性ではないカピバセルチブに関連した変動が認められた。病理組織学的検査では、唾液腺（150 mg/kg 以上）、肝臓（75 mg/kg 以上、150 mg/kg 以上では肝臓重量の高値を伴う）、膵臓（300 mg/kg の雄及び 150 mg/kg 以上の雌）及び胸腺（75 mg/kg 以上、胸腺重量の低値を伴う）で毒性ではないカピバセルチブに関連した変化が認められた。さらに、75 mg/kg 以上の雌で脾臓重量の低値、150 mg/kg 以上の雄で精巣及び精巣上体の重量の低値がみられたが、関連する病理組織学的変化は認められなかった。本試験の MTD は、雄で 300 mg/kg、雌で 150 mg/kg と判断された。

2.6.6.3.1.2 マウスを用いた 1 か月間反復経口投与毒性試験（試験 8003410）

毒性試験概要表 2.6.7.7 項

本試験の目的は、トランスジェニックマウスに 1 日 1 回、28 日間反復経口投与することにより、カピバセルチブの毒性を評価することであった。血漿試料を分析し、カピバセルチブの曝露量を評価し、対照群では曝露されていないことを確認した。さらに、カピバセルチブ及び代謝物 AZ14102143（グルクロン酸抱合体）の TK を評価した。

カピバセルチブを雄には 25、150 及び 300 mg/kg/日、雌には 25、75 及び 150 mg/kg/日の用量で、野生型 rasH2（CByB6F1 Tg(HRAS)2Jic）マウス（1 群雌雄各 10 例）に、1 日 1 回 28 日間反復経口投与した。さらに、バイオマーカー評価群として 1 群雌雄各 3 例、TK 群として対照群は雌雄各 5 例、カピバセルチブ投与群は 1 群雌雄各 10 例を設定した。これらのサブグループの動物には主試験用動物と同様に投与し、最終採血後に安楽殺処分した。主試験用動物（1 群雌雄各 10 例）は、投与期間終了時（Day 29）に安楽殺した。

本試験では、死亡状況、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、臨床病理学的検査（血液学的検査及び血液生化学的検査）、バイオマーカー測定（グルコース、HbA1C 及びインスリン）、TK、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施し評価した。

すべてのカピバセルチブ投与動物で、カピバセルチブの曝露が確認された。代謝物 AZ14102143 の曝露は、25 mg/kg/日の雄を除き（AZ14102143 が定量可能な濃度になく TK 評価せず）、すべての動物で認められた。

媒体を投与した対照群の 1 試料で定量可能濃度のカピバセルチブが確認された。しかしながら、当該試料の血漿中濃度は、低用量（25 mg/kg/日）群における同試料採取時点の濃度の 1/2.9 以下であった。したがって、TK 評価への影響はないものと判断した。媒体を投与したマウス（対照群）の試料に、LLOQ を超える AZ14102143 は認められなかった。Day 1 及び 28 の 25 mg/kg/日の雄の代謝物 AZ14102143 は測定データ数が限られていたため、同群の測定値は TK 評価に使用しなかった。カピバセルチブ及び AZ14102143 の TK 値には、25 mg/kg/日の代謝物を除いて、いずれの用量及び試料採取時点においても明らかな性差は認められなかった。

雄ではカピバセルチブの 25～300 mg/kg/日の用量範囲で、単回経口投与後の平均 C_{max} は概ね用量に依存して増加したが、単回及び反復投与後の $AUC_{(0-t)}$は用量比を上回る増加を示した。雌で

は 25～150 mg/kg/日の用量範囲で、単回及び反復投与後の平均 C_{max} 及び $AUC_{(0-t)}$は用量比を上回る増加を示した。

雄ではカピバセルチブを 150～300 mg/kg/日の用量で、1 日 1 回、単回及び反復経口投与したとき、AZ14102143 の全身曝露量は 25～300 mg/kg/日の用量範囲で用量増加に伴う増加を示した。雌ではカピバセルチブを 25～150 mg/kg/日の用量で単回経口投与したとき、AZ14102143 の平均 C_{max} 及び $AUC_{(0-t)}$は用量比を上回る増加を示したが、反復投与後の C_{max} 及び $AUC_{(0-t)}$は用量比を下回る増加を示した。

総じて、カピバセルチブを 1 日 1 回、28 日間反復投与後のカピバセルチブ及び AZ14102143 の全身曝露量は、Day 28 の 25 mg/kg/日群の雌の代謝物の曝露量が単回投与後と比較して高値であったことを除き、単回投与後の曝露量と同様であった。

カピバセルチブの単回及び反復投与後の代謝物の平均 C_{max} 及び $AUC_{(0-t)}$値は、用量範囲及び投与期間を通してカピバセルチブの曝露量の 1/8.5～1/450 であり、明らかな低値を示した。

すべての動物は、それぞれの計画剖検日まで生存した。いずれの用量においても、カピバセルチブに関連した一般状態及び摂餌量への影響は認められなかった。

300 mg/kg/日の雄では、Day 1～4 に平均体重が軽度に減少したことにより、対照群と比較して統計学的に有意な体重増加量の低値を示し、その後 Day 18～29 にも体重増加量の低値が認められた。25 及び 150 mg/kg/日の雄、25、75 及び 150 mg/kg/日の雌の体重増加量に、カピバセルチブに関連した変化は認められなかった。

Week 1 及び Day 28 の投与 2 時間後、150 mg/kg/日以上の雄及び 75 mg/kg/日以上の雌で軽度から中等度のグルコースの高値がみられた。Day 28 の投与 2 時間後、すべてのカピバセルチブ投与群でカピバセルチブに関連した軽度から重度のインスリンの高値、150 mg/kg/日以上の雄及び 150 mg/kg/日の雌の 3 例中 1 例で軽微な糖化ヘモグロビンの高値が認められた。これらの変化はカピバセルチブの薬理作用と一致しており、グルコースの軽度から中等度の高値及びインスリンの重度の高値は、カピバセルチブに関連したインスリン抵抗性と一致していた。Day 28 の投与 2 時間後のインスリンの高値は、グルコースの上昇に対する代償性の生理反応を反映したものと考えられた。さらに、Day 28 の投与 2 時間後に増加したインスリンの作用により、150 mg/kg/日以上の雄及び 150 mg/kg/日の雌で投与期間終了時のグルコースが低値となった可能性が考えられた。150 及び 300 mg/kg/日の雄、並びに 75 mg/kg/日以上の雌で肝酵素（AST、ALT 及び GLDH）の軽微な高値、25 mg/kg/日以上の雌で総ビリルビンの高値がみられ、カピバセルチブに関連した糖代謝障害に対する肝細胞の二次的変化を反映している可能性が高く、肝臓及び胆嚢の平均重量の高値及び肝細胞空胞化の増加と相関しており、150 mg/kg/日以上の雄及び 75 mg/kg/日以上の雌でみられたグリコーゲン蓄積と一致していた。300 mg/kg/日の雄のトリグリセリドの高値は、グルコース恒常性の阻害の二次的変化である可能性が考えられた。インスリン、糖化ヘモグロビン、肝酵素、総ビリルビン及びトリグリセリドの変化は、一般に重症度が低く、生存との関連性がなく、関連する病理組織学的変化が軽微であるため、毒性変化ではないと判断した。

カピバセルチブに関連した血液学的検査値の変動として、150 mg/kg/日以上の雄及び 150 mg/kg/日の雌で非再生性変化を示唆する赤血球量パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット）の低値がみられ、150 mg/kg/日以上の雄で軽微な赤血球指数の変動（平均赤血球容積又は赤血球分布幅の高値）、並びに好酸球数、大型非染色細胞数及び総白血球数の低値も認められた。カピバセルチブに関連した血液生化学的検査値の変化として、150 mg/kg/日以上の雄及び 150 mg/kg/日の雌で総タンパク及びアルブミンの低値、クロールの高値、300 mg/kg/日の雄でカリウムの低値が認められた。血液学的検査及び血液生化学的検査におけるこれらの変化は、重症度が低く、関連する病理組織学的変化がみられないことから毒性変化ではないと判断した。

胸腺及び脾臓でカピバセルチブ投与に関連した変化が認められた。すべてのカピバセルチブ投与群でみられた平均胸腺重量の低値は、150 mg/kg/日以上の雄における剖検での胸腺の小型化、リンパ球細胞性低下及びリンパ球数の低値と関連していた。150 mg/kg/日以上の雄及び 75 mg/kg/日以上の雌で平均脾臓重量の低値がみられたが、関連する病理組織学的変化は認められなかった。変化の特徴及び低重症度から、これらは毒性変化ではないと判断した。

150 mg/kg/日以上でカピバセルチブに関連した精巣上体及び精巣の平均重量の低値がみられ、剖検では 300 mg/kg/日で精巣上体又は精巣の小型化が認められた。これらの変化に関連して精巣で生殖細胞の減少がみられ、150 mg/kg/日では軽微から軽度であったが、300 mg/kg/日では中等度であった。300 mg/kg/日の雄性生殖器の変化は、その重症度から毒性変化と判断した。150 mg/kg/日の変化については、軽微から軽度であり、関連する剖検所見が認められないことから、毒性ではないと判断した。

以上のように、トランスジェニックマウスにカピバセルチブを 28 日間反復経口投与した結果、良好な忍容性が認められた。カピバセルチブ投与により、300 mg/kg/日の雄で体重増加量の低値、すべてのカピバセルチブ投与群でグルコース代謝障害、二次的変化である肝酵素及びビリルビンの高値、平均肝臓・胆嚢重量の高値、並びに肝細胞空胞化の増加が認められた。
150 mg/kg/日以上の雌雄の胸腺、150 mg/kg/日以上の雄の精巣及びすべてのカピバセルチブ投与群の雌雄の肝臓に病理組織学的変化が認められた。300 mg/kg/日の精巣で病理組織学的変化が認められたことから、本試験の無毒性量は 150 mg/kg/日と判断された。無毒性量における Day 28 の C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}t)}$の平均値は、それぞれ 22.1 µmol/L 及び 78.2 µmol.h/L であった。

2.6.6.3.2 ラットを用いた反復投与毒性試験

2.6.6.3.2.1 ラットを用いた MTD 用試験（試験 2239DR）

毒性試験概要表 2.6.7.6 項

カピバセルチブを 1 群 3 例の雄ラットに最大 2 日間強制経口投与し、投与後 6 日間観察した。少なくとも 24 時間までの観察における急性期忍容性の用量反応性を確認するために、最初は各群 1 例のみに投与した。

500 mg/kg を単回投与した雄 1 例に忍容性はみられず、Day 1 の一般状態に毒性徴候が認められたため、動物福祉の観点から安楽殺処分した。300 mg/kg/日を 2 日間投与したが、Day 2 に 3 例中 2 例のラットの一般状態に毒性徴候が認められたため、動物福祉の観点から安楽殺処分した。
150 mg/kg/日を 2 日間投与した結果、良好な忍容性が認められた。

300 mg/kg/日及び 150 mg/kg/日の生存例では、一過性の軽度の体重減少が認められた。本試験では摂餌量測定を実施しなかったため、関連性は確認できなかった。

すべての用量でグルコースの高値がみられ、300 及び 150 mg/kg/日ではインスリンの高値との関連性が認められた。500 mg/kg/日ではインスリン測定は実施しなかった。

剖検では、300 mg/kg/日の早期死亡例及び生存例 1 例の消化管及び胸腺に異常が認められた。一部のラットでは、肺、腎臓、副腎にも異常が認められた。なお、本試験では病理組織学的検査は実施しなかった。

以上のように、500 又は 300 mg/kg/日を 1 日又は 2 日間経口投与した結果、毒性徴候が認められ、死亡又は早期屠殺に至った。300 mg/kg/日の死亡例及び生存例では、一過性の体重減少、インスリンの高値を伴うグルコースの高値、消化管に剖検所見が認められた。

2 日間投与による MTD は 150 mg/kg/日であったが、この用量でも一過性の体重減少、グルコース及びインスリンの高値が認められた。

2.6.6.3.2.2 ラットを用いた MTD 及び 7 日間反復経口投与毒性試験（試験 2374DR）

毒性試験概要表 2.6.7.6 項

本試験では、カピバセルチブを雌ラットに 2 日間経口投与する MTD 相、及び雌雄ラットに 7 日間反復経口投与する反復投与相を設けた。

MTD 相

150 mg/kg/日の用量で 2 日間経口投与した結果、カピバセルチブに関連した一般状態の変化及び体重への影響は認められなかった。150 mg/kg/日を投与後 1～2 時間で血漿グルコースが上昇した。剖検で異常はみられず、検査した組織（心臓）に病理組織学的変化は認められなかった。

反復投与相

50、100 及び 150 mg/kg/日の用量で 7 日間、雌雄ラットに経口投与した結果、一般状態の変化は認められなかった。100 及び 150 mg/kg/日の雄では、試験期間を通して平均体重及び摂餌量の低値が認められた。50 mg/kg/日の雄の体重増加量は、対照群に比較して 50%低値であった。50 mg/kg/日では、投与前値及び対照群と比較して、Day 1～4 に摂餌量の軽度の低下がみられたが、Day 5 以降はわずかな回復が認められた。雌では、体重及び摂餌量にカピバセルチブ投与に関連した明らかな影響は認められなかった。150 mg/kg/日の雄で摂水量の増加がみられたが、150 mg/kg/日の雌及び中低用量の雌雄では明らかな変化は認められなかった。

50、100 及び 150 mg/kg/日の雌雄で、投与前値及び対照群と比較して、Day 1 及び 7 の投与 1～8 時間後に血漿グルコースの用量依存的な高値（2～3 倍）が認められた。グルコース値は、すべての用量で投与 24 時間後（Day 8）までに、投与前値又は対照群と同様の数値となった。

すべての用量で、Day 1 及び 7 にインスリン値の重度の高値が認められた。変化の程度及び持続時間は用量及び性別に依存し、高用量（100 及び 150 mg/kg/日）の雄で最も顕著（最大 80 倍）で長時間の変動が認められた。これらの変化は、殆どの雄で投与 24 時間後までに投与前値にまで回復したが、150 mg/kg/日では、投与 24 時間後にも高値を示した。雌では、投与 8 時間後までに投与前値にまで回復した。

すべての用量の雌雄で用量依存的な網状赤血球数の低値が認められた。対照群と比較して、150 mg/kg/日の雄で尿素の重度の高値がみられ、雄 1 例でクレアチニンの軽度高値が認められた。150 mg/kg/日の雄 3 例中 2 例で AST の中等度高値がみられ、雄 1 例では ALT 及び GLDH も中等度高値を示した。100 mg/kg/日でも尿素の中等度の高値が認められた。

対照群と比較して、すべてのカピバセルチブ投与群の雌雄で尿量の中等度高値、尿中カリウム濃度の軽度高値が認められた。対照群と比較して、15 mg/kg/日の雄 3 例中 2 例、雌 3 例中 1 例、100 mg/kg/日の雄 3 例中 2 例で、尿糖の重度の高値（900 倍）が認められた。

器官重量の変化として、雌雄で腎臓の絶対重量の低値がみられた（150 mg/kg/日の雄で最大約 23%）。雄では重量変化に用量関連性はみられず、雌雄ともに腎臓重量にばらつきが認められた。

病理組織学的検査では、肝臓、腎臓、胸腺、膵臓、精巣及び胸骨（骨髄）にカピバセルチブに関連した変化が認められた。肝臓では、すべての用量の多くの雌雄で肝細胞のグリコーゲン空胞化増加がみられ、雌に比べて雄で発現頻度が高かった。150 mg/kg/日の雄 2 例で、好中球性炎症

細胞浸潤を伴う肝細胞壊死がみられた。腎臓では、すべての群の雌雄で尿細管上皮細胞の核密集／びまん性好塩基性化が認められた。用量増加に伴う発現頻度／重症度の増加傾向が認められた。

膵臓では、すべての群の雄、100 及び 150 mg/kg/日の雌で膵島細胞の肥大／過形成が認められた。精巣では、100 及び 150 mg/kg/日の雄でセルトリ細胞の空胞化が認められた。100 及び 150 mg/kg/日の雄、並びに 100 mg/kg/日の雌 1 例で、胸腺の低細胞性又はリンパ球融解が認められた。100 及び 150 mg/kg/日の雄、100 mg/kg/日の雌で胸骨骨髄の低細胞性が認められた。

以上のように、カピバセルチブを 50、100 及び 150 mg/kg/日で 7 日間反復投与した結果、忍容性が認められ、摂餌量減少に伴う体重の変化が認められた。すべての用量で、血中グルコースの変化を伴うインスリンの増加、並びに肝臓（グリコーゲン空胞化）及び膵臓（膵島細胞の肥大／過形成）の病理組織学的変化が認められた。腎臓の病理組織学的変化及び関連する尿パラメータの明らかな変化が認められた。100 及び 150 mg/kg/日で精巣の変化がみられたが、50 mg/kg/日では認められなかった。最低用量でインスリン及びグルコースの変化がみられたことから、本試験での無作用量は特定できなかった。

2.6.6.3.2.3 ラットを用いた 1 か月間反復経口投与毒性及び回復性試験（試験 2638AR）

毒性試験概要表 2.6.7.7 項

1 群雌雄各 10 例、計 4 群のラットに、カピバセルチブを 0、10、30 及び 100 mg/kg/日の用量で、1 日 1 回 1 か月間反復強制経口投与した。また、TK 群、並びに投与期間終了後 4 週間での回復性評価群（媒体対照群及び高用量群のみ）を設定した。

カピバセルチブ投与群のすべての動物で、カピバセルチブの曝露が確認された。曝露量（平均 C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}last)}$）は用量増加に伴う増加を示し、対照群ではカピバセルチブは検出されなかった。カピバセルチブの曝露量（$AUC_{(0\text{-}last)}$）には性差がみられ、雌に比べて雄で高い血漿中濃度が認められた。これは毒性所見発現に反映されており、概して雌よりも雄の変化で高い発現頻度及び重症度が認められた。しかし、カピバセルチブを 100 mg/kg/日までで 28 日間反復投与した結果、雌雄ともに概して良好な忍容性が認められた。100 mg/kg/日では体重の変化がみられ、体重減少（雄）又は増加量の抑制（雌）が認められ、投与 2 週間後又は投与中止により回復又は回復傾向を示した。雄では体重の変化に伴う摂餌量の減少が認められた。

臨床病理学的検査値の変化は概して軽度であったが、100 mg/kg/日の雌雄及び 30 mg/kg/日の雄でより軽度なインスリン（用量設定試験（2.6.6.3.2.2 項）において雄で重度の影響が認められたため測定は雄のみ）及びグルコースの高値（雌雄）が認められた。100 mg/kg/日でリン酸塩及びカリウムの低値、雄では白血球数の低値も認められた。

尿量増加（多尿）が 10 mg/kg/日の雌 1 例、30 及び 100 mg/kg/日の雌雄でみられ、高用量では Day 9 以降に一般状態の変化としても観察された。しかし、摂水量増加との明らかな関連性が認められたのは 100 mg/kg/日の雄のみであった。糖尿（血中グルコース上昇と相関）及びタンパク尿（100 mg/kg/日の雌雄及び 30 mg/kg/日の雄）も認められたが、腎臓の病理組織学的変化は認められなかった。

30 及び 100 mg/kg/日で、肝臓（雄でグリコーゲン蓄積）及び膵臓（雌雄で膵島細胞の肥大／過形成）の病理組織学的変化がみられた。肝臓の相対重量の高値を伴う肝細胞肥大は、グリコーゲンの蓄積に関連している可能性が考えられた。同群では肝酵素の変動（AST、ALT 及び GLDH の最大 9 倍の高値）もみられ、100 mg/kg/日の雄 1 例では肝細胞壊死が認められた。肝酵素の変

動、並びに肝臓及び膵臓の病理組織学的変化は可逆的であり、回復性試験終了時に肝細胞壊死は認められなかった。

30 及び 100 mg/kg/日で胸腺（雌雄で胸腺重量の低値を伴う低細胞性及びリンパ球融解）及び骨髄（雄で低細胞性）の変化がみられ、100 mg/kg/日の雌雄で脾臓重量の低値が認められた。これらの変化の殆どは可逆的であったが、骨髄の変化に回復性はみられず、28 日間の休薬後に脂肪置換も認められた。30 及び 100 mg/kg/日で、器官重量（精巣及び精巣上体）の低値を伴う雄性生殖器（セルトリ細胞空胞化／精巣変性）の病理組織学的変化が認められた。これらの病理組織学的変化及び器官重量の変化は、28 日間の休薬による回復性は認められなかった。前立腺及び雌生殖器（子宮及び卵巣）の重量の低値もみられたが、この変化は可逆的であり、関連する病理組織学的変化は認められなかった。下垂体（100 mg/kg/日の雄でびまん性細胞肥大）、甲状腺（30 及び 100 mg/kg/日の雄で肥大）及び副腎（100 mg/kg/日の雌雄で皮質細胞肥大）に可逆的な変化が認められた。

他のすべてのパラメータには、カピバセルチブ投与に関連した毒性学的意義のある変化は認められなかった。

以上のように、カピバセルチブを 100 mg/kg/日まで 28 日間反復投与した結果、忍容性が認められ、発現した変化の発現頻度及び重症度は雌に比べて雄で高かった。体重の変化（雄で減少、雌で増加量低下）がみられ、関連する変化として摂餌量の減少が雄で認められた。尿量の増加が雌雄でみられ、関連する変化として摂水量の増加が高用量の雄のみで認められた。インスリンシグナル伝達の変化に関連して血中グルコースの高値（雌雄）、インスリンの高値（雄のみ測定）、並びに肝臓及び膵臓の病理組織学的変化が認められた。生殖器（精巣及び前立腺又は子宮及び卵巣）の病理組織学的変化及び器官重量の変化、造血系（胸腺、骨髄、脾臓及び白血球数の変化）への影響、並びに下垂体（雄）、甲状腺（雄）及び副腎（雌雄）の変化が認められた。これらの変化の大部分は可逆的であったが、精巣及び骨髄の変化には 28 日間の休薬による回復性は認められなかった。

30 mg/kg/日の雌雄で尿量の変化が認められた。病理組織学的変化及び血中グルコースの変化は 100 mg/kg/日でみられた変化と類似していたが、頻度及び重症度は 100 mg/kg/日よりも低く、雌雄生殖器及び下垂体への影響は認められなかった。

10 mg/kg/日で多尿が 1 例でみられたが、毒性変化ではないと考えられたため、本試験の無毒性量は 10 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.3.2.4 ラットを用いた 6 か月間反復投与毒性試験（試験 527477）

毒性試験概要表 2.6.7.7 項

1 群雌雄各 15 例、計 5 群の Han Wistar ラットにカピバセルチブを 0、10、30、100（雄）又は 150 mg/kg/日（雌）の用量で 6 か月間反復強制経口投与した。1 群雌雄各 3 例、計 5 群を TK 評価群とし、1 群雌 15 例（非投与）、計 4 群を雄の生殖能及び受胎能評価用に設定した。

本試験では、一般状態観察、眼科学的検査、体重及び体重変化量、摂餌量及び摂水量、雄の交尾行動及び受胎能、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査及び尿生化学的検査、糖化ヘモグロビン、インスリン及びグルコース測定、甲状腺刺激ホルモン及びサイロキシン測定、血漿中カピバセルチブ濃度測定、TK、器官重量、剖検及び病理組織学的検査を実施した。

対照群の TK 用動物から採取した試料中にカピバセルチブは検出されなかった。カピバセルチブを投与したすべての TK 用動物で、カピバセルチブへの曝露が確認された。全身曝露量は、雌雄ともにそれぞれの用量範囲で概ね用量依存的増加を示したが、30 mg/kg/日の雌の AUC には大

きなばらつきが認められた。カピバセルチブの t_{max} の中央値は投与後 0.333 時間であり、各群の平均 $t_{1/2}$ に差はみられなかった。10 及び 30 mg/kg/日の TK 結果に明らかな性差は認められなかった。

0 及び 100 mg/kg/日の雄各 1 例を一般状態悪化のために早期安楽殺処分した。検査の結果、対照群の動物では転移性の悪性リンパ腫がみられ、体重減少を誘発したことが明らかになった。カピバセルチブ投与群の雄では、精嚢に中等度のびまん性肉芽腫性炎症、前立腺に自然発生性と考えられる中等度の好中球性炎症がみられ、それらが一般状態悪化の原因と考えられた。これら 2 例の予定外の死亡にカピバセルチブとの関連性はないと判断した。

100/150 mg/kg/日の雌雄及び 30 mg/kg/日の雄で、体重増加量の低値が認められた。関連する変化として、100/150 mg/kg/日の雌雄で摂餌量の低値が認められた。100/150 mg/kg/日の雌雄及び 30 mg/kg/日の雌で摂水量の高値が認められた。

Week 13 及び 27 の検査で、100 mg/kg/日の雄で白血球数の低値（主にリンパ球数に起因）が認められた。

AST の高値が、Week 13 に 100 mg/kg/日の雄及び Week 27 に 100/150 mg/kg/日の雌雄で認められた（最大 1.9 倍）。Week 27 に 100/150 mg/kg/日の雌雄で、血漿尿素（最大 1.4 倍）及び総胆汁酸（最大 5.2 倍）の高値、クレアチニン（最小 0.84 倍）の低値がみられた。Week 13 に 150 mg/kg/日の雌及び Week 27 に 100/150 mg/kg/日の雌雄で、総タンパクの低値（最小 0.87 倍、雌ではアルブミン及びグロブリン、雄ではグロブリンのみ）がみられた。Week 27 に 30 mg/kg/日の雄でグロブリンの軽度の低値（アルブミン／グロブリン比の高値を伴う）が認められた。

Week 13 及び 27 に 100/150 mg/kg/日の雌雄で、血漿中のカルシウムの軽度の低値（最小 0.91 倍）、リン酸塩の中等度の低値（最小 0.34 倍）及びクロールの軽微な高値がみられ、100 mg/kg/日の雄でカリウムの低値（0.93 倍）が認められた。30 mg/kg/日の雄（0.66 倍）では Week 13 に、雌（最小 0.71 倍）では Week 13 及び 27 にリン酸塩の低値が認められた。

Week 1、13 及び 26 の投与 4 時間後に、100/150 mg/kg/日でインスリン及びグルコースの高値が認められた。Week 13 の雄及び Week 26 の雌雄のインスリン値を除いて、投与 24 時間後までに正常値まで回復した。Week 26 及び 27 の投与約 24 時間後に、100 mg/kg/日の雄でグルコースの低値が認められた。Week 13 及び 27 に 100 mg/kg/日の雄でフルクトサミンの軽度の高値が認められた。Week 13 以降に 100/150 mg/kg/日の雄の全例及び 5 例までの雌に測定可能な糖化ヘモグロビンも確認された。30 mg/kg/日では、概ね投与 4 時間後までグルコース（雌雄）及びインスリン（雄）の軽度の高値が認められたが、投与 24 時間後には対照群と同様の数値であった。

尿検査では、尿量の高値が Week 13 に 100/150 mg/kg/日の雌雄及び Week 26 に 100 mg/kg/日の雄で認められた。Week 13 及び 26 に 100/150 mg/kg/日でグルコース、グルコース／クレアチニン比及び NAG／クレアチニン比の高値が認められた。Week 13 及び 26 に 100/150 mg/kg/日の雌雄で、Week 26 に 30 mg/kg/日の雄でクレアチニンの低値及び大きな変動が認められた。

TSH の高値が 100/150 mg/kg/日の雄で Week 13 に、雌で Week 27 に認められた。

器官重量の変化として、30 mg/kg/日以上の雌雄で腎重量の低値、雄で精巣上体、前立腺及び胸腺の重量の低値が認められた。100/150 mg/kg/日で、副腎、下垂体、胸腺、心臓及び脾臓の重量の低値、肝臓重量の高値が認められた。さらに、100 mg/kg/日の雄で精巣重量の低値が認められた。剖検では、30 mg/kg/日以上の雌、100 mg/kg/日の雄 14 例中 1 例に腎臓の小型化が認められた。病理組織学的検査では、30 mg/kg/日以上の雄及び 150 mg/kg/日の雌で、腎臓の核密集を伴う尿細管細胞サイズの低下、肝臓のグリコーゲン空胞化、膵臓のランゲルハンス島の肥大／過形成、副腎球状帯の肥大及び甲状腺の濾胞細胞肥大が認められた。さらに、100 mg/kg/日の雄で、

下垂体前葉の肥大、精巣の変性／萎縮（セルトリ細胞の空胞化を伴う）の発現頻度の増加、精巣上体の細胞残屑の発現頻度の増加及び精子数の低値が認められた。100 mg/kg/日の雄及び150 mg/kg/日の雌で胸腺及び骨髄（大腿骨及び胸骨）の低細胞性が認められた。

雄の生殖能及び受胎能評価等の他のすべてのパラメータについて、カピバセルチブ投与に関連した毒性学的意義のある変化は認められなかった。

以上のように、カピバセルチブを 10、30、100（雄）又は 150 mg/kg/日（雌）の用量で、ラットに 1 日 1 回 6 か月間反復経口投与した結果、概ね良好な忍容性が認められた。100/150 mg/kg/日でカピバセルチブ投与に関連した体重増加量及び摂餌量の低値、30 mg/kg/日の雄で体重増加量の低値が認められた。臨床検査値では 30 mg/kg/日以上で電解質、グルコース、インスリン及び総タンパクの変化がみられ、100/150 mg/kg/日で顕著であった。病理組織学的検査では、30 mg/kg/日以上の雄で腎臓、肝臓、膵臓、副腎及び甲状腺に変化が認められた。100/150 mg/kg/日では、雌雄で胸腺、大腿骨及び胸骨の骨髄、雄で下垂体、精巣及び精巣上体の変化も認められた。病理組織学的変化が認められたことから、本試験の無毒性量は雌で 30 mg/kg/日、雄で 10 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.3.3 イヌを用いた反復投与毒性試験

2.6.6.3.3.1 イヌを用いた MTD 及び 14 日間反復投与毒性試験（試験 1068DD）

毒性試験概要表 2.6.7.6 項

本試験は、カピバセルチブをイヌに 3 又は 4 日間投与した MTD 相及び 14 日間反復投与相から構成されている。

MTD 相

雌雄各 1 例のイヌに 5、15 及び 40 mg/kg/日を 1 日 1 回、3 又は 4 日間強制経口投与した。なお、各用量間に休薬期間は設定しなかった。その後、雄では 60 mg/kg/日を 4 日間投与し、最終用量として 90 mg/kg/日を投与したが、この用量の単回投与では忍容性が認められなかったため投与翌日に剖検を実施した。雌では、40 mg/kg/日の投与後に 13 日間休薬し、25 mg/kg/日を 3 日間投与した。

MTD 相では、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、グルコース測定、血液学的検査、血液生化学的検査（インスリン測定を含む）、血漿中カピバセルチブ濃度測定、剖検及び病理組織学的検査を実施し評価した。

カピバセルチブを投与したすべての動物でカピバセルチブの曝露が確認された。カピバセルチブは、すべての用量で速やかに吸収された。カピバセルチブは、15 mg/kg/日以上で投与 24 時間後にも定量可能であった。

90 mg/kg の単回投与後、雄では嘔吐、赤色尿、液状便／赤色便、流涎増加及び振戦、並びに摂餌量の重度低下が認められ、動物福祉の観点から安楽殺処分した。雌では、Day 8（40 mg/kg/日の初回投与日）から摂餌量の重度低下がみられ、Day 8～18 は補助食の供与が必要であった。

雄では、40 及び 90 mg/kg/日の投与後に白血球数、特に好中球数及び単球数の高値がみられ、90 mg/kg/日の投与後に網状赤血球数の低値が認められた。90 mg/kg/日の投与後、尿素の中等度の高値、AST 及び ALT の軽度の高値、血漿タンパクの軽度の低値が認められた。25 mg/kg/日以上で、グルコース及びインスリンの高値が認められた。

90 mg/kg/日までの用量の投与後の病理組織学的検査では、消化管（小腸及び大腸にびらん性腸炎、上皮びらん）、骨髄（赤血球細胞系及び骨髄細胞系の成熟細胞消失）、胸腺（リンパ球融解、低細胞性）、腸管関連リンパ組織（リンパ球融解）及び腋窩リンパ節（低細胞性）でカピバセルチブ投与に関連した変化が認められた。

以上のように、MTD 相の結果から、雄では 60 mg/kg/日の 3 回投与で忍容性が認められた。雄に 90 mg/kg を単回投与した結果、嘔吐及び食欲低下等の一般状態変化が発現し、忍容性は認められず、動物福祉の観点から安楽殺処分した。雌では 25 mg/kg/日の 3 回投与で忍容性が認められた。

反復投与相

反復投与相では、1 群雌雄各 1 例のイヌに 15 及び 30 mg/kg/日で 1 日 1 回、14 日間反復強制経口投与した。高用量群のイヌは、最終投与の翌日に剖検を実施した。低用量群のイヌは 7 日間休薬した後、40 mg/kg/日を 5 日間投与し、翌日、動物福祉の観点から安楽殺処分し剖検を実施した。MTD 相と同様の検査項目を反復投与相でも評価し、さらに心電図検査、眼科学的検査及び尿検査を実施した。

反復投与相における Day 1 の C_{max} は 15～40 mg/kg/日の範囲で低下した。$AUC_{(0\text{-}last)}$は、15～30 mg/kg/日の範囲で用量増加に伴い増加したが、30～40 mg/kg/日の範囲で低下した。Day 14 の C_{max} は、雌では用量増加に伴い増加し、雄では 15～30 mg/kg/日の範囲ではほぼ変化がみられなかった。$AUC_{(0\text{-}last)}$は 15～30 mg/kg/日の範囲で用量依存的増加を示した。

Day 14 の 15 mg/kg/日の用量における C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}last)}$は、雌雄ともに Day 1 と比較して低値であった。Day 14 の 30 mg/kg/日における C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}last)}$は雄で低値を示したが、雌では高値であった。

40 mg/kg/日で反復投与した結果、雌雄で Day 5 までに軽度の活動性低下、摂餌量の重度な低下等、多くの一般状態変化が認められた。両動物ともに、動物福祉の観点から Day 6 に安楽殺処分した。30 mg/kg/日で 14 日間投与した結果、雄で嘔吐、軟便／液状赤色便／暗色便等の多くの一般状態の変化がみられ、雌では軟便が認められた。30 mg/kg/日を投与した雄では、摂餌量の低下が認められた。

15 mg/kg/日の雌、30 及び 40 mg/kg/日の雌雄で白血球数、特に好中球数及び単球数の高値が認められた。40 mg/kg/日の雌で網状赤血球数の低値がみられた。30 mg/kg/日の雄では、尿素の中等度高値及びリン酸塩の低値がみられ、雌雄で尿中 GGT の高値が認められた。反復投与相のすべての用量で ALP の軽度の高値、並びにグルコース及びインスリンの高値が認められた。

病理組織学的検査では、40 mg/kg/日で消化管（びらん性腸炎）、骨髄（赤血球細胞系及び骨髄細胞系からの成熟細胞消失）、胸腺（リンパ球融解、低細胞性）、GALT（リンパ球融解）及び腋窩／腸間膜リンパ節（低細胞性）に変化がみられた。30 mg/kg/日では骨髄の変化のみが認められた。

他のすべてのパラメータにおいては、カピバセルチブ投与に関連した毒性学的意義のある変化は認められなかった。

40 mg/kg/日を 5 日間反復投与した結果、雌雄で一般状態不良、雌で食欲低下がみられ、動物福祉の観点から安楽殺処分した。15 及び 30 mg/kg/日の 14 日間投与では忍容性が認められた。カピバセルチブの標的器官として、消化管、骨髄、胸腺、GALT 及び腋窩／腸間膜リンパ節が特定された。本試験の無毒性量は 15 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.3.3.2 イヌを用いた 1 か月間反復経口投与毒性及び回復性試験（試験 1112AD）

毒性試験概要表 2.6.7.7 項

1 群雌雄各 3 例のイヌに、カピバセルチブを 0、3、10 及び 30 mg/kg/日の用量で、1 日 1 回 1 か月間反復強制経口投与した。高用量群には回復性評価群を設定し、投与期間終了後 4 週間の休薬による回復性を評価した。

本試験では、一般状態観察、心電図検査、血圧測定、眼科学的検査、体重及び摂餌量測定、血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査、グルコース測定、尿検査、血漿中カピバセルチブ濃度測定、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施し評価した。

曝露量（平均 C_{max} 及び AUC）にはばらつきがみられたが、概ね用量比例的な増加を示した。曝露量に性差は認められなかった。

一般状態の変化として、30 mg/kg/日の雌雄で嘔吐、糞便の変化（軟便／液状便／暗色便／赤色便／糞量減少／無糞、又は粘液を含む）、振戦、鎮静、尿量増加、体重減少及び摂餌量の重度低下等が認められた。一般状態の変化、体重及び摂餌量は、休薬期間中に概ね正常に回復した。10 mg/kg/日では、1 例以上の雌で嘔吐、振戦及び体重減少がみられ、すべての動物で軟便が Day 1～29 の夜間に散見された。雄 1 例で Day 18 に液状便／暗色便又は糞便減少が認められた。10 mg/kg/日の雌雄では、摂餌量減少が散見された。

Week 1 及び 4 に、30 mg/kg/日の雌雄で QTc 延長（最長約 11%）が認められた。10 及び 30 mg/kg/日の雌雄で心収縮性の増加が認められた。これらの変化には、4 週間の休薬による回復性が認められた。

Day 1 及び 28 に、30 mg/kg/日の雌雄でインスリンの重度の高値（最大 500 倍）及びグルコースの高値（最大 5 倍）が認められた。10 mg/kg/日の雌雄では、インスリンの高値（最大 85 倍）及びグルコースの高値（最大 2 倍）が認められた。3 mg/kg/日では、Day 1 に雌雄（最大 5 倍)、Day 28 に雌（最大 3 倍）でインスリンの軽度の高値がみられたが、グルコース値への影響は認められなかった。インスリン値及びグルコース値は、概ね投与 24 時間後に正常値まで回復した。

尿検査では、30 mg/kg/日の雌雄及び 10 mg/kg/日の雌 1 例で、尿比重の低値が認められた。Week 4 に、30 mg/kg/日の雄で尿量増加が認められた。腎臓の変化はみられず、この変化の毒性学的意義は不明であった。

カピバセルチブに関連した病理組織学的変化及び器官重量の変化として、30 mg/kg/日で精巣（多巣性からびまん性のパキテン期精母細胞消失を特徴とする中等度の精細管変性、精巣重量の低値）、精巣上体（精巣上体管内細胞残屑増加、精巣上体重量の低値）、前立腺（上皮細胞丈低下、前立腺重量の低値）、甲状腺（雌雄、コロイド減少を伴う上皮細胞丈増加、甲状腺重量の低値）、副腎（副腎皮質肥大(雌雄)、副腎重量の高値(雄)）、膵臓（雌雄、膵島細胞の過形成／肥大）、肝臓（雌雄、肝細胞グリコーゲン空胞化、肝臓重量の高値）及び胸腺（雌雄、低細胞性、リンパ球融解、胸腺重量の低値）で変化が認められた。前立腺、甲状腺、副腎、膵臓、肝臓及び胸腺でみられた変化は、回復性期間終了時には認められなかった。回復性試験期間終了時には、肝臓、甲状腺及び副腎の重量は正常値まで回復した。

甲状腺、肝臓及び膵臓の変化は、10 mg/kg/日の雌雄でもみられ、3 mg/kg/日の 6 例中 3 例（雄 1 例、雌 2 例）でも肝細胞グリコーゲン空胞化が認められた。

他のすべてのパラメータにおいては、カピバセルチブに関連した毒性学的意義のある変化は認められなかった。

以上のように、イヌにカピバセルチブを 1 か月間反復経口投与した結果、30 mg/kg/日まで忍容性がみられたが、体重及び摂餌量の低値が認められた。すべての用量でインスリンシグナル伝達の変化がみられ、30 mg/kg/日で QTc 延長が認められた。30 mg/kg/日で、雄性生殖器（精巣、精巣上体及び前立腺)、甲状腺、副腎、膵臓、肝臓及び胸腺に病理組織学的変化が認められた。さらに、10 mg/kg/日で甲状腺、膵臓及び肝臓の変化がみられ、3 mg/kg/日でも肝臓の変化が認められた。前立腺、甲状腺、膵臓、肝臓及び胸腺の変化は可逆的であり、4 週間の休薬により消失したが、精巣及び精巣上体の変化は回復性期間終了時にも認められた。本試験の無毒性量は 3 mg/kg/日と判断された。

2.6.6.3.3.3 イヌを用いた 9 か月間反復投与毒性試験（試験 527482）

毒性試験概要表 2.6.7.7 項

1 群雌雄各 4 例、計 4 群のビーグル犬に、カピバセルチブを 0、1.5、5 及び 15 mg/kg/日で、1 日 1 回 9 か月間反復経口投与し、最終投与後に詳細な剖検を実施した。

本試験では、一般状態観察、眼科学的検査、体重、体重変化量及び摂餌量測定、血液学的検査、血液凝固系検査、血液生化学的検査、尿検査、尿生化学検査、糖化ヘモグロビン測定、インスリン及びグルコース測定、血漿中カピバセルチブ濃度測定、トキシコキネティクス、器官重量測定、剖検及び病理組織学的検査を実施し評価した。

対照群の動物の血漿サンプルではカピバセルチブは検出されなかった。すべてのカピバセルチブ投与動物でカピバセルチブへの曝露が確認された。カピバセルチブの曝露量は、1.5～15 mg/kg/日の間で概ね用量依存的増加を示した。この用量ではカピバセルチブの t_{max} 及び $t_{1/2}$ に差は認められなかった。曝露量に性差は認められなかった。

一般状態観察、体重及び摂餌量測定、並びに眼科学的検査では、いずれの用量においてもカピバセルチブに関連した変化は認められなかった。

臨床病理学的検査では、15 mg/kg/日で糖化ヘモグロビン及びインスリンの高値、5 mg/kg/日でインスリンの高値が認められた。血漿グルコースは、5 mg/kg/日以上で投与 4 時間後まで増加し、その後、投与 24 時間後までに減少した。5 mg/kg/日以上で尿中グルコース及びグルコース／クレアチニン比の高値がみられ、試験の進行に伴い重症度の増加が認められた。

15 mg/kg/日の雄で精巣及び精巣上体重量の低値がみられ、病理組織学的変化として精巣の精細管変性及び精母細胞残屑が認められた。

器官重量の変化として、15 mg/kg/日で肝臓重量が雄で増加、雌では軽度増加、並びに副腎重量の高値が認められた。

病理組織学的検査では、15 mg/kg/日及び 5 mg/kg/日の 1 例の膵臓でランゲルハンス島細胞の空胞化が認められた。

他のすべてのパラメータにおいては、カピバセルチブ投与に関連した毒性学的意義のある変化は認められなかった。

以上のとおり、カピバセルチブを 0、1.5、5 及び 15 mg/kg/日でイヌに 1 日 1 回 9 か月間反復経口投与した結果、5 mg/kg/日以上でグルコース及びインスリンの高値を伴う膵臓（ランゲルハンス島細胞空胞化）の病理組織学的変化がみられた。15 mg/kg/日では糖化ヘモグロビンの高値、病理組織学的変化が精巣（精細管変性）及び精巣上体（細胞残屑）にみられ、器官重量の変化が精巣（低値）、精巣上体（低値）、肝臓（高値）、副腎（高値）で認められた。

1.5 mg/kg/日では良好な忍容性がみられ、本試験の無作用量と考えられた。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

カピバセルチブの *in vitro* 及び *in vivo* 遺伝毒性試験の概要を毒性試験概要表 2.6.7 の 2.6.7.8 項及び 2.6.7.9 項に示す。

2.6.6.4.1 *In vitro* 試験

2.6.6.4.1.1 細菌を用いた復帰突然変異試験（試験 2332BV）

毒性試験概要表 2.6.7.8 項

ネズミチフス菌 LT2 の 4 菌株（TA1535、TA1537、TA98 及び TA100）及び大腸菌 WP2 株（*uvrA*/pKM101）を用いた復帰突然変異試験において、Aroclor 1254 誘導ラット肝臓代謝活性化系（S9 mix）存在下及び非存在下の両方で、4.6～4100 μg（0.0107～9.56 μmol）/プレートの用量範囲で試験したとき、突然変異誘発性は認められなかった。

S9 の存在下及び非存在下の両方において、ネズミチフス菌では 405 μg（0.944 μmol）/プレート以上で、大腸菌では 1232 μg（2.87 μmol）/プレート以上で毒性（背景細菌叢及び復帰突然変異コロニー数の減少）が認められたため、試験濃度は制限された。

2.6.6.4.1.2 マウスリンフォーマ試験（試験 2333MV）

毒性試験概要表 2.6.7.8 項

マウスリンフォーマ L5178Y tk 細胞を用いたマウスリンフォーマ試験において、Aroclor 1254 誘導ラット肝臓代謝活性化系（S9 mix）存在下で 3 時間、並びに代謝活性化系非存在下で 3 及び 24 時間、細胞毒性により制限される濃度までのカピバセルチブで処理したとき、突然変異誘発性は認められなかった。

S9 存在下では、カピバセルチブを 0.10～0.45 mmol/L 濃度で 3 時間処理により突然変異体頻度を評価した。いずれの濃度においても析出は認められなかった。最高濃度における RTG は 20%であった。突然変異体頻度の有意な増加は認められなかった。

S9 非存在下では、0.10～0.45 mmol/L 濃度で 3 時間処理、0.00031～0.005 mmol/L 濃度で 24 時間処理により評価した。いずれの濃度においても析出は認められなかった。3 及び 24 時間処理の最高濃度における RTG はそれぞれ 15%及び 6%に低下した。突然変異体頻度の有意な増加は認められなかった。

2.6.6.4.2 *In vivo* 試験

カピバセルチブの *in vivo* 遺伝毒性について、ラットを用いた骨髄小核試験を 2 試験及び *in vivo* コメットアッセイにより評価した。遺伝毒性の機序を検討するため、*in vivo* 小核試験（試験 2718QR）の試料を動原体標識し評価した。

2.6.6.4.2.1 ラットを用いた小核試験（試験 2718QR）

毒性試験概要表 2.6.7.9 項

1 群雄 7 例の Wistar Han ラットに 0、15、75 及び 150 mg/kg を 24 時間間隔で 2 回投与し、2 回目投与の 24 時間後に骨髄分析のための試料を採取した。150 mg/kg の用量での 2 回の経口投与がラットにおける MTD であった（試験 2239DR）。カピバセルチブによる毒性に明らかな性差が認められていないため、本試験では雄ラットのみを使用した。

2000 個の未成熟赤血球の観察において、高用量（150 mg/kg/日）で媒体対照群を上回る小核を有する未成熟赤血球の統計学的に有意（p<0.05）な発現頻度の増加が認められた。小核を有する未成熟赤血球の平均値は 3.9/2000（未成熟赤血球）であり、媒体対照群の発現頻度の背景値上限をわずかに上回る値であった。この結果を確認するために合計 6000 個の未成熟赤血球中の発現数を計数し統計解析した結果、小核を有する未成熟赤血球の発現頻度増加についての有意性は高くなった（p<0.01）。15 及び 75 mg/kg/日では小核を有する未成熟赤血球の発現頻度の有意な増加は認められなかったため、本試験の無作用量は 75 mg/kg/日と考えられた。

1000 個の細胞の観察で、カピバセルチブ投与群と媒体対照群の全赤血球数と未成熟赤血球の比に差は認められず、カピバセルチブにより骨髄毒性が誘発されないことが示唆された。

シクロホスファミドを 20 mg/kg の用量で投与した過去の試験のスライド標本を染色し、本試験の陽性対照標本とした。前試験のシクロホスファミド投与群のスライド標本では、媒体対照群と比較して小核を有する未成熟赤血球の発現頻度の統計学的有意な増加が認められた。

以上のように、カピバセルチブを 150 mg/kg/日の用量で Wistar Han ラットに 2 回経口投与した結果、骨髄における小核発現頻度の増加が認められた。

2.6.6.4.2.2 ラットを用いた小核試験（試験 8331243）

毒性試験概要表 2.6.7.9 項

2 試験目の小核試験は、小核誘発に対するより明確な無作用量を特定することを目的として実施した。試験 2718QR では 150 mg/kg/日で小核発現頻度の増加がみられたが、75 mg/kg/日以下の用量で作用は認められなかった。したがって、本試験では 75～150 mg/kg/日の用量範囲で検討した。1 群雄 7 例の Wistar Han ラットに 0、100、125 及び 150 mg/kg を 24 時間間隔で 2 回経口投与し、2 回目投与の 24 時間後に骨髄試料を採取した。

カピバセルチブ投与群の雄ラットの未成熟赤血球の頻度（細胞 500 個以上で評価）は媒体対照群と同様であり、いずれも許容範囲内の数値であり、カピバセルチブ投与による骨髄毒性は認められなかった。

カピバセルチブ投与群における小核の平均発現頻度は媒体対照群と同様であり、統計学的有意差は認められなかった（p≤0.05）。100 mg/kg/日群の小核発現頻度の個体別値は媒体対照群の背景値の範囲内であり、本試験の対照群の発現頻度との差は認められなかった。125 及び 150 mg/kg/日の数例で、媒体対照群と比較して、小核発現頻度の軽度の増加がみられたが、対照動物の背景値上限を超える小核発現頻度を示す個体は認められなかった。そのため、カピバセルチブ投与に関連した小核発現頻度の軽度の増加がみられたが（線形傾向）、統計学的有意差は認められなかった。各群の他の動物の小核発現頻度は対照群背景値の範囲内であり、陽性反応の基準を満たすものではなかった。

陽性対照であるシクロホスファミド投与群では、媒体対照群と比較して、小核発現頻度の統計学的に有意な増加が認められた。

以上のように、カピバセルチブを 150 mg/kg/日まで 24 時間間隔で 2 回経口投与した結果、本試験条件下において、雄 Han Wistar ラットの骨髄で生物学的意義のある小核を有する未成熟赤血球の増加は認められなかった。

2 試験のラットを用いた *in vivo* 小核試験の成績を考慮すると、150 mg/kg/日は小核形成を誘発し（試験 2718QR）、ラットにおける小核誘発の無作用量は 125 mg/kg/日と考えられた。

2.6.6.4.2.3 ラットを用いた小核試験のスライド標本における動原体標識（試験 2759KV）

毒性試験概要表 2.6.7.9 項

試験 2718QR でカピバセルチブを 150 mg/kg/日の用量で投与したラット骨髄における小核を有する未成熟赤血球発現頻度の増加が、染色体切断或いは染色体損失（異数性）によるものかを検討する試験を実施した。試験 2718QR で作製した骨髄標本を抗動原体抗体により標識し、動原体を有する小核の割合を求めた。その結果、小核中に動原体が存在したことから、小核は 1 本の染色体に由来し、異数性機序による小核の形成であることが示唆された。

カピバセルチブを投与したラットの骨髄に誘発された小核の大部分は動原体陽性（86%）であることから、カピバセルチブは異数性誘発作用を有すると考えられた。

2.6.6.4.2.4 ラットを用いたコメットアッセイ（試験 3274BR）

毒性試験概要表 2.6.7.9 項

カピバセルチブの 2 回経口投与によるラットのコメットアッセイを実施し、肝臓における DNA 鎖切断及びアルカリ感受性部位の誘発の有無を検討した。

カピバセルチブを 0、75 及び 150 mg/kg の用量で、1 群雄 7 例の Wistar Han ラット（投与時約 10 週齢）に、21 時間間隔で 2 回経口投与し、2 回目投与の 3 時間後に肝臓試料を採取した。本試験の用量には、ラットを用いた小核試験（2718QR）において小核発現頻度の増加が認められた 150 mg/kg/日を設定した。対照群のラットには媒体（0.5% w/v HPMC 水溶液）を投与した。最高用量は MTD である（試験 2239DR 参照）。カピバセルチブの毒性に性差はみられず、小核試験には雄ラットを使用していたため、本試験でも雄ラットのみを使用した。1 群 3 例のラットに、試料採取の 3 時間前に、陽性対照物質として MNU を 17 mg/kg の用量で単回経口投与した。

動物は 2 回目投与の 3 時間後（MNU 群は単回投与の 3 時間後）に安楽殺処分し、コメットアッセイ用肝臓試料を採取した。

カピバセルチブの 2 回の経口投与後、媒体対照群を上回る% tail intensity（%TI）の軽度の増加がみられたが、生物学的意義のある変化ではないと判断した。媒体対照群を上回る%TI の軽度の増加は群平均で認められた。しかしながら、各群の自然対数の平均要約統計量は-2.66、-2.65 及び-2.76 であり、それぞれ 1～3 群の平均%TI の 0.07%、0.07%及び 0.06%に相当する。したがって、%TI の変化に生物学的意義はないと考えられた。

カピバセルチブ投与群と媒体対照群の核のない細胞出現率に差は認められなかった。媒体対照群と比較して、MNU 投与群では%TI の明らかな増加が認められた。

以上のように、カピバセルチブを MTD である 150 mg/kg までを 2 回経口投与した結果、Wistar Han ラットの肝臓において DNA 損傷増加の誘発は認められなかった。

2.6.6.5 がん原性試験

カピバセルチブのラットを用いた 2 年間がん原性試験は現在実施中であり、20[redacted] 年に試験終了予定である。ICH S9 ガイドラインに従うと、ラットがん原性試験の成績は、本申請が対象とする患者集団では必須ではない。

マウスを用いたがん原性試験の用量設定の目的で、CByB6F1/Tg rasH2 Hemizygous マウスを用いた 1 か月間までの反復投与毒性試験（試験 20279282（2.6.6.3.1.1 項）及び試験 8003410（2.6.6.3.1.2 項））を実施済みである。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 雄受胎能に関する試験

カピバセルチブの雄受胎能に対する影響についての評価は、ラットを用いた 6 か月間反復投与毒性試験の一部として実施し、100 mg/kg/日でカピバセルチブ投与に関連した病理組織学的変化（精巣の変性／萎縮、並びに精巣上体の細胞残屑及び精子数減少）及び精巣重量の低値が認められた（試験 527477（2.6.6.3.2.4 項））。媒体又はカピバセルチブを 10、30 及び 100 mg/kg/日で投与した雄ラット（1 群 15 例）を、試験 10/11 週に無処置雌ラットと 1 対 1 で同居させた。カピバセルチブを雄ラットに投与した結果、交尾確認までの日数及び妊娠動物数により評価した交尾行動及び生殖能力に影響は認められなかった。着床前及び着床後胚死亡率にも対照群との差は認められなかった。

2.6.6.6.2 雌受胎能及び初期胚発生に関する試験

ICH S9 ガイドラインに従い、雌受胎能試験は実施していない。ラットを用いた 1 か月間反復投与毒性試験では、可逆的な雌生殖器（子宮及び卵巣）の重量の低値がみられたが、関連する病理組織学的変化は認められなかった（試験 2638AR、2.6.6.3.2.3 項）。ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では、カピバセルチブを妊娠 2 日（着床前）から妊娠 16 日まで雌ラットに投与した（試験 496879（2.6.6.6.3.1 項））。

2.6.6.6.3 胚・胎児発生に関する試験

着床前及び授乳期投与を含むラットを用いた胚・胎児発生に関する試験を実施し、カピバセルチブの影響を評価した。

2.6.6.6.3.1 胚・胎児発生、並びに出生前及び出生後の発生に関する試験（試験 496879）

毒性試験概要表 2.6.7.13 項

本試験は、カピバセルチブを妊娠 2～16 日（第 1 相）、又は妊娠 6 日から少なくとも授乳 6 日（第 2 相）の期間に投与し、交配後の雌ラットに対するカピバセルチブの影響を評価することを目的として実施した。妊娠母動物、授乳中の母動物及び哺育児から血漿試料を採取し、カピバセルチブへの曝露の評価及び対照群の動物が曝露されていないことを確認した。

第 1 相では、カピバセルチブを 0、10、30 及び 150 mg/kg/日で 1 群 8 例計 4 群の Han Wistar 雌ラットの妊娠 2～16 日に、1 日 1 回経口投与した。第 2 相では、カピバセルチブを 0、10 及び 150 mg/kg/日で 1 群 8 例計 3 群の雌ラットの妊娠 6 日から少なくとも授乳 6 日まで 1 日 1 回経口投与した。剖検は妊娠 21 日（第 1 相）又は授乳初期（授乳 6～9 日、第 2 相）に実施した。両相ともに交尾確認日を妊娠 0 日とした。

母動物では、一般状態観察、体重及び摂餌量測定、血中グルコース測定、妊娠及び胎児検査、妊娠子宮重量測定及び剖検を実施し評価した。胎児及び出生児の体重測定、胎児の外表検査及び内臓検査を実施した。血漿試料を、母動物では最終投与日（第 1 相：妊娠 16 日、第 2 相：授乳 7～8 日）、第 2 相の出生児では母動物の最終投与日（授乳 7～8 日）に採取し、血漿中カピバセル

チブを分析した。カピバセルチブにより曝露されていないことを確認するために、対照群の母動物及び出生児からも血漿試料を採取した。

対照群の動物から採取した試料中にカピバセルチブは検出されなかった。妊娠 16 日の採取試料より、カピバセルチブ投与群のすべての母動物でカピバセルチブの曝露が確認された。授乳 7～8 日の投与 2 又は 24 時間後の試料において、10 mg/kg の大部分の出生児ではカピバセルチブは検出されなかったが、150 mg/kg/日の多くの出生児でカピバセルチブが定量可能であった。しかし、概して定量限界付近の濃度であった。母動物におけるカピバセルチブの曝露量は、10～150 mg/kg/日の用量間で概ね用量依存的に増加した。t_{max} の中央値は、すべての用量で 1 時間であった。カピバセルチブの平均 $t_{1/2}$ はすべての用量で概ね同様であった。

第 1 相では、妊娠 2～16 日に 10、30 及び 150 mg/kg/日を投与した結果、投与期間中及び投与期間終了後の体重増加量及び摂餌量の低値が認められた。妊娠 16 日に、すべての用量で母動物の血中グルコースの高値が認められた。150 mg/kg/日では、胎児の軽微な内臓変異（左側臍動脈）の増加、早期胚死亡増加の指標である着床後胚死亡率の増加、妊娠子宮重量及び胎児体重の低値が認められた。

第 2 相では、妊娠 6 日から少なくとも授乳 6 日までの期間に 150 mg/kg/日を投与した結果、妊娠及び授乳初期の体重増加量及び摂餌量の低値、最終投与日の母動物で血中グルコースの高値が認められた。10 mg/kg/日では、体重増加量及び摂餌量の低値が授乳初期のみに認められた。150 mg/kg/日でも、同腹児及び出生児の体重の明らかな低値が認められた。すべての用量で、カピバセルチブ投与に関連した出生児の異常は認められなかった。

以上のように、妊娠 2～16 日又は妊娠 6 日から少なくとも授乳 6 日までの期間にカピバセルチブを 150 mg/kg/日までの用量で 1 日 1 回投与した結果、体重増加量及び摂餌量の低値、血中グルコースの高値が認められた。妊娠 2～16 日に 150 mg/kg/日の用量で投与した結果、胚・胎児生存率、並びに子宮及び胎児の重量の低値が認められた。妊娠 6 日から少なくとも授乳 6 日までの 150 mg/kg/日の投与でも、同腹児及び出生児の体重の低値が認められた。

カピバセルチブを妊娠 2～16 日に投与した結果から、母動物に対する無毒性量及び胚・胎児に対する無作用量は 30 mg/kg/日と考えられた。カピバセルチブを妊娠 6 日から少なくとも授乳 6 日までの期間に投与した結果から、母動物に対する無毒性量及び生殖に対する無作用量は 10 mg/kg/日と考えられた。

2.6.6.6.4 出生前及び出生後の発生に関する試験

ICH S9 ガイドラインに従い、独立した出生前及び出生後の発生に関する試験は実施していない。ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では、母動物に妊娠 6 日から授乳 6 日までの期間にカピバセルチブを投与し、哺育期間についても評価した（2.6.6.6.3.1 項参照）。

2.6.6.6.5 幼若動物を用いた毒性試験

本承認申請は成人患者を対象としているため、幼若動物を用いた毒性試験は実施していない。

2.6.6.7 局所刺激性試験

予定臨床投与経路は経口投与であることから、反復投与毒性試験は経口投与を選択しており、独立した局所刺激性試験は実施していない。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 抗原性試験

反復投与毒性試験でカピバセルチブの免疫学的影響が認められなかったため、抗原性試験は実施していない。

2.6.6.8.2 免疫毒性試験

カピバセルチブの免疫毒性については、一般毒性試験で適切に評価されていると考えられるため、免疫毒性試験は実施していない。

2.6.6.8.3 毒性発現機序検討試験

反復投与毒性試験において、毒性発現機序検討試験を必要とする結果が認められなかったため、毒性発現機序検討試験は実施していない。

2.6.6.8.4 依存性試験

安全性薬理試験及び反復投与毒性試験において、中枢神経系及び末梢神経系の毒性変化が認められなかったため、依存性試験は実施していない。

2.6.6.8.5 代謝物の毒性試験

独立した代謝物の毒性試験は必要とされていない。

2.6.6.8.6 不純物の毒性試験

カピバセルチブの製造工程中に形成されるすべての不純物は、S.3.2 不純物に記載したとおりに評価されている。

対象患者は ICH S9 ガイドラインが適用されるため、ICH M7 ガイドラインで定義された許容限度値での不純物の管理はカピバセルチブには適切ではないと考えるが、カピバセルチブの変異原性不純物又は潜在的変異原性不純物を特定するために包括的な評価を ICH M7 ガイドラインに示された手法に従い実施した。

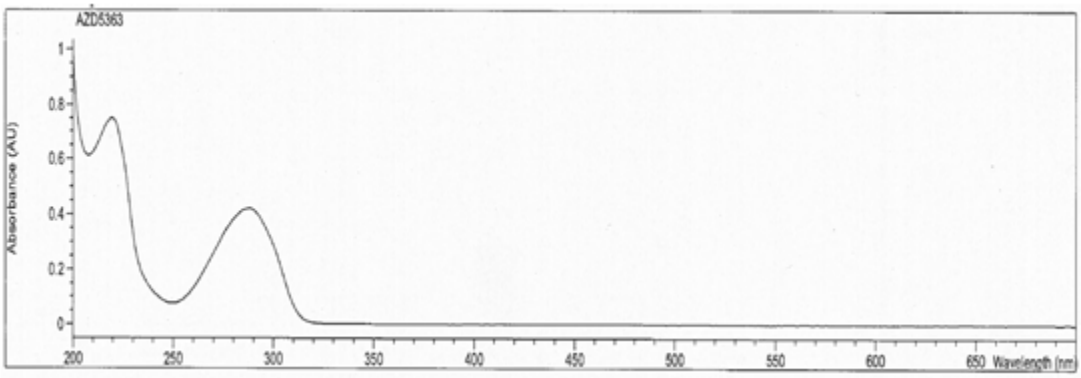
構造活性相関評価及び *in vitro* 変異原性試験によるリスク評価から、カピバセルチブの不純物は[redacted]に分類された。[redacted]が[redacted]の不純物に分類されたが、[redacted]で変異原性がないことが確認され、[redacted]に再分類された（ECHA 2017）。[redacted]は、[redacted]と同じ警告構造のため[redacted]に再分類された。

2.6.6.8.7 光毒性試験（試験 20065496）

毒性試験概要表 2.6.7.17 項

カピバセルチブは UV 波長（290～700 nm）で光吸収を示しモル吸光係数は 15923 L mol^{-1} cm^{-1} であることから、光毒性を有する可能性が示唆される（図 1）。

図 1　　カピバセルチブの UV 吸収波長



カピバセルチブの光毒性を評価するために、Balb/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いたニュートラルレッド取込み光毒性試験（試験 20065496）を実施した。細胞には UVA：5 J/cm^2 及び UVB：19.4～20 mJ/cm^2 の紫外線を照射した。独立した 2 試験において UV 照射及び非照射下で 100 µg/mL までの濃度を適用した結果、カピバセルチブの細胞毒性は認められなかった。すべての試験で OECD TG432 ガイドラインで推奨されている細胞生存率及び OD540 基準に適合し、promethazine（陽性対照）の結果は許容範囲内であった。

以上より、本試験条件下においてカピバセルチブの光毒性は認められなかった。

2.6.6.9　　考察

一般毒性の評価を目的とした試験（ラットで 6 か月間まで、イヌで 9 か月間まで）により、カピバセルチブの安全性を評価した。1 か月間反復投与試験では、回復性についても評価した。遺伝毒性、生殖発生毒性及び光毒性についても評価した。一連の毒性試験は、本申請で対象とする患者集団のサポートに適切であると考えられる。

ICH M3(R2)ガイドラインが適用される可能性のある将来的な適応症をサポートするための追加の試験が終了又は実施中である。CByB6F1/Tg rasH2 Hemizygous マウスを用いた 1 か月間までの反復投与毒性試験を実施し、がん原性試験の用量設定の参考とした。ラットを用いた 2 年間がん原性試験は実施中である。

動物とヒトの定常状態における曝露量（AUC 及び C_{max}）を比較した結果（表 2）、カピバセルチブの推奨臨床用量である 400 mg、1 日 2 回投与（4 日間投与 3 日間休薬）におけるヒト曝露量は、ラット及びイヌを用いた重要な反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験における曝露量よりも概ね高値を示した。このことは進行がんを対象としたオンコロジー領域の開発では一般的であり、ヒト曝露量は臨床的ベネフィット及び許容範囲の有害事象がみられる適応症を対象とした場合は、動物試験における曝露量をしばしば上回ることがある（ICH S9 ガイドライン参照）。遊離体曝露量及び総曝露量を用いて算出したヒト曝露量に対する毒性試験における曝露量比は同様であったが、総曝露量による曝露量比が若干小さいため、こちらを表 2 に示す。

マウス、ラット及びイヌは薬理学的に適切な動物種であり、標的及び標的外毒性の評価に適した動物種として選択した。AKT 受容体は、インスリン細胞内シグナル伝達において重要な役割を果たしていることが知られており（Chang et al 2004）、AKT 受容体阻害によりインスリンシグナル伝達が変化し、その結果、インスリン及び血中グルコースが上昇することが予想される。非臨

床試験動物ではカピバセルチブ投与により血中グルコース上昇がみられ、血中グルコース上昇はPI3K/AKT 阻害薬を使用した患者における最も一般的な副作用の一つである（Liu et al 2022）。さらに、カピバセルチブとヒト肝細胞とのインキュベーションにより生成されるすべての代謝物はラット又はイヌの肝細胞とのインキュベーションでも生成され、ヒトでの使用をサポートする毒性試験におけるこれらの動物種の選択を妥当なものとしている（薬物動態試験の概要文 2.6.4）。

主な標的器官／器官系として、インスリンシグナル伝達、腎機能及び心機能が特定された。この他に、雄性生殖器、肝臓、視床下部－下垂体軸及び造血系でも変化が認められた。また、生殖発生毒性も認められた。カピバセルチブは遺伝毒性試験において異数性誘発作用を示した。

インスリンシグナル伝達

AKT 受容体は、インスリンの細胞内シグナル伝達カスケードで重要な役割を果たすことが知られている（Chang et al 2004）。したがって、AKT 受容体阻害により、インスリンシグナル伝達を変化させることが予想される。このことは、すべての動物種でインスリン及びグルコースの高値が認められたことにより確認された。関連する変化として、血漿フルクトサミンの高値（ラット）、糖化ヘモグロビンの高値（マウス、ラット及びイヌ）、肝臓でグリコーゲン蓄積（マウス、ラット及びイヌ）及び肝細胞肥大（ラット）、膵臓で膵島細胞の肥大／過形成又は空胞化（ラット及びイヌ）、糖尿（ラット及びイヌ）が認められた。肝臓及び膵臓の病理組織学的変化について、イヌでは回復性がみられ、ラットでは休薬期間終了時に回復傾向が認められた。マウス、ラット及びイヌの肝臓重量の高値は、グリコーゲン蓄積による変化と考えられ、回復性が認められた。

インスリンシグナル伝達への影響及び関連する変化は、カピバセルチブの薬理作用に関連するものと考えられた。これらの変化に対するラットにおける無作用量は 10 mg/kg/日であった。イヌを用いた 1 か月間反復投与試験の無毒性量は 3 mg/kg/日、9 か月間反復投与試験の無作用量は 1.5 mg/kg/日であった。

血中グルコース上昇（高血糖）は PI3K/AKT 阻害薬を使用した患者における最も一般的な副作用の一つである（Liu et al 2022）。カピバセルチブを投与した患者で高血糖が認められている。これは、カピバセルチブの副作用と考えられ、臨床的安全性の概要 2.7.4 に記載している。

腎機能

多尿がラットを用いた 1 及び 6 か月間反復投与試験でみられ、関連する変化として糖尿、タンパク尿及び摂水量の増加が認められた。ラットでタンパク尿が認められたことから、腎尿細管機能への影響が示唆された（おそらくグルコース増加の結果）。ラットを用いた 1 か月間反復投与毒性試験では、腎臓の病理組織学的変化は認められなかった。6 か月間反復投与試験の 30 mg/kg/日以上の雄及び 150 mg/kg/日の雌の腎臓で、核密集を伴う尿細管上皮細胞サイズの低下がみられ、関連する変化として腎臓の重量及びサイズの低下が認められた。ラットを用いた 7 日間反復投与試験でも同様の変化が認められた。

AKT は近位尿細管におけるグルコース及びリン酸塩の輸送に関与していることが知られており（Kempe et al 2010）、これらはカピバセルチブの薬理作用に関連した変化である可能性が考えられる。ラットを用いた反復投与試験における腎機能に対する無毒性量は 10 mg/kg/日であった。

イヌでは同様の変化は認められなかった。イヌを用いた 1 か月間反復投与試験では、10 mg/kg/日以上で尿比重の低値が認められた。当該試験で尿量の計測はしていないが、30 mg/kg/日で尿量の増加が認められた。イヌにおけるこれらの変化に対する無毒性量は 10 mg/kg/日であった。

これらの変化は、ラットを用いた腎臓に関する安全性薬理試験（薬理試験の概要文 2.6.2.4.5 項参照）の 100 及び 150 mg/kg でみられた尿量増加を伴う重度の糖尿と一致している。当該試験では無作用量は確定できなかった。

血中クレアチニンの増加は患者で認められ、カピバセルチブの副作用と考えられている（臨床的安全性の概要 2.7.4）。腎機能マーカーに関連した他の有害事象も患者で報告されているが、脱水によるものであり、腎臓に対する直接作用ではないと判断した。さらに、カピバセルチブは腎尿細管輸送タンパク質を阻害する。この阻害作用により、腎機能障害を伴わずに血中クレアチニンが増加する可能性がある。

心機能

イヌ 1 か月間反復投与試験の 30 mg/kg/日でみられた QTc 延長は、同様の用量でイヌを用いたテレメトリー試験で認められた変化と一致している（薬理試験の概要文 2.6.2.4.2 項）。この QTc 延長は 4 週間の休薬により回復性が認められた。この変化の発現機序は不明であるが、QT 延長に関与している可能性のある血漿グルコース及びインスリン濃度の増加が原因である可能性が考えられる（Marfella et al 2001、van Noord et al 2010）。カピバセルチブの hERG チャネル阻害の IC_{50} は 73 µmol/L であるが（薬理試験の概要文 2.6.2.4.2 項参照）、QT 隔延長との関連性は不明である。イヌを用いた 1 か月間反復投与試験の 10 及び 30 mg/kg/日群で可逆的な心収縮性の増加が認められた。

カピバセルチブを 80～800 mg の用量で投与された進行性固形悪性腫瘍患者の曝露-反応解析結果に基づくと、カピバセルチブは、400 mg BD を 4 日間投与＋3 日間休薬の投与レジメンにおいて不整脈誘発に関連する QT 延長の臨床的に重大なリスクを示さないと考えられる（臨床薬理の概要 2.7.2.3.4.2.3 項）。カピバセルチブの臨床試験では、QT 延長及び続発する安全性シグナルは確認されていない。

生殖器

カピバセルチブ投与によるマウス、ラット及びイヌの雄生殖器への影響として、精巣及び精巣上体で器官重量の低値を伴う変性性変化が認められた。ラット及びイヌの 1 か月間反復投与試験では、これらの変化の回復性は確認できなかった。通常はこれらの組織の完全な回復には 28 日間以上が必要であり（正常な精子形成期間による）、認められた変化の特性から、完全な回復が予測される。ラット及びイヌでは前立腺重量の低値がみられ、イヌを用いた 1 か月間反復投与試験では前立腺上皮細胞丈の低下が認められた。前立腺の変化には回復性が認められた。マウスを用いた 1 か月間反復投与毒性試験及びイヌを用いた 9 か月間反復投与毒性試験では、前立腺への影響は認められなかった。ラットを用いた 6 か月間反復投与毒性試験では、雄受胎能への影響は認められなかった。

雌性生殖器（子宮及び卵巣）の変化として、ラットを用いた 1 か月間反復投与毒性試験で可逆的な器官重量の低値のみが認められた。これらの器官重量の変化に関連した病理組織学的変化は認められなかった。雌性生殖器の変化の毒性学的意義は不明である。

雄生殖器に対する無作用量は、ラット及びイヌを用いた 1 か月間反復投与試験では 10 mg/kg/日、イヌを用いた 9 か月間反復投与試験で 5 mg/kg/日であった。ラットの雌生殖器に対する無作用量は、1 か月間反復投与試験で 30 mg/kg/日であった。

肝臓

マウス及びラットを用いた 1 か月間反復投与毒性試験で、マウスでは 75 mg/kg/日以上、ラットでは 30 mg/kg/日以上で血漿中肝酵素（AST、ALT 及び GLDH）の高値が認められた。100 mg/kg/日のラット 1 例で肝細胞壊死が認められた。ラットを用いた用量設定試験の 150 mg/kg/日の雄 2

例でも肝細胞壊死が認められた。ラットを用いた 6 か月間反復投与毒性試験では、100/150 mg/kg/日で AST の高値が認められた。血漿中酵素値の変化はラットでは可逆的であり、細胞壊死は 28 日間の休薬期間終了時には認められなかった。

これまでの臨床データにおいて、臨床的に意味のある異常は認められていない。

視床下部－下垂体軸

ラットの下垂体、甲状腺及び副腎の病理組織学的変化から、視床下部－下垂体軸を介した作用が示唆された。イヌでも甲状腺及び副腎の同様の病理組織学的変化がみられた。ラットを用いた 6 か月間反復投与毒性試験の高用量群では、TSH の高値も認められた。両動物種におけるこれらの変化には回復性がみられ、毒性学的意義は不明であった。マウスでは同様の変化は認められなかった。

ラットにおけるこれらの組織に対する無作用量は 10 mg/kg/日であり、イヌでは、甲状腺の変化に対する無作用量は 3 mg/kg/日、副腎の変化に対する無作用量は 10 mg/kg/日と考えられた。イヌを用いた 9 か月間反復投与試験では同様の変化は認められなかった。

これまでの臨床データにおいて、臨床的に意味のある異常は認められていない。

造血系

ラットでは造血系の変化として、胸腺（低細胞性、リンパ球融解及び胸腺重量の低値）、骨髄（低細胞性）及び脾臓（重量の低値）への影響が認められた。雄では、これらの変化に関連して白血球数の低値が認められた。これらの変化の大部分は可逆的であったが、骨髄の変化では休薬による回復性がみられず、28 日間の休薬後には脂肪置換も認められた。マウスでは、胸腺（低細胞性及び胸腺重量の低値）及び脾臓（病理組織学的変化を伴わない脾臓重量の低値）で変化がみられ、赤血球及び白血球パラメータの低値（主に雄）が認められた。イヌでは胸腺のみで変化がみられ（1 か月間反復投与試験）、休薬により完全に回復した。これらの変化の毒性学的意義は不明である。

ラット及びイヌにおけるこれらの変化に対する無作用量は 10 mg/kg/日であった。

臨床データから、貧血はカピバセルチブの副作用と考えられた（臨床的安全性の概要 2.7.4）。

遺伝毒性

In vitro 試験（Ames 試験及びマウスリンフォーマ試験）においてカピバセルチブの遺伝毒性はみられず、Wistar Han ラットを用いたコメットアッセイにおいて MTD である 150 mg/kg/日までの用量を 2 回経口投与したときに肝臓で DNA 損傷誘発性は認められなかったが、*in vivo* 小核試験では陽性反応が認められた。カピバセルチブを投与したラットの骨髄に誘発された殆どの小核は動原体陽性であったため、カピバセルチブは閾値のある異数性誘発作用を有すると考えられた。ラットにおける小核誘発の無作用量は 125 mg/kg/日であった。

小核試験では TK 評価は実施しなかったが、ラットを用いた 1 か月間反復投与毒性試験の 100 mg/kg/日のデータを使用し、より慎重にヒト曝露量に対する曝露量比を算出した。小核試験では雄ラットを使用したため、雄ラットの TK 値を使用して計算した。ヒト曝露量に対する曝露量比は、Day 1 の雄ラットにおける総 $AUC_{(0\text{-}24)}$：52.8 µmol.h/L をヒト総 $AUC_{(0\text{-}24)}$中央値：38.8 µmol.h/L で除すことにより算出した（12 時間 AUC 値を 2 倍し 24 時間相当量とした）（臨床薬理の概要 2.7.2）。雄ラット（100 mg/kg/日）における曝露量は、臨床推奨用量（400 mg を 1 日 2 回投与）におけるヒト曝露量（総 AUC）の約 1.3 倍であった。小核誘発の無作用量である 125 mg/kg/日では、より高い曝露量比が予測される。

生殖発生毒性

マウス、ラット及びイヌで精巣に病理組織学的変化がみられ、28 日間の休薬期間終了時に回復性は認められなかった。しかしながら、通常はこれらの組織の完全な回復には、正常な精子形成期間を考慮すると 28 日間以上が必要である。ラットを用いた 6 か月間反復投与毒性試験では、雄受胎能への影響は認められなかった。

マウス、ラット及びイヌの雌生殖器に病理組織学的変化は認められなかった。雌生殖器における唯一の変化として、ラットを用いた 1 か月間反復投与試験で可逆的な生殖器（子宮及び卵巣）重量の低値が認められた。

胚・胎児発生及び出生後早期の生存／成長に対する影響を、授乳期間投与を含むラットを用いた胚・胎児発生に関する試験で評価した。母動物毒性（体重増加量の低値、摂餌量の低値及び血中グルコースの高値）が 150 mg/kg/日で認められた。カピバセルチブをラットの着床前から妊娠 16 日まで投与した結果、150 mg/kg/日で妊娠子宮重量及び胎児重量の低値、胎児の軽度の内臓変異、着床後胚死亡率の増加が認められた。母動物に妊娠中から授乳初期（妊娠 6 日から授乳 6 日）までの期間に投与した結果、150 mg/kg/日で同腹児及び出生児の体重の低値が認められた。150 mg/kg/日においてカピバセルチブ投与に関連した出生児の異常は認められなかった。150 mg/kg/日の哺育児でカピバセルチブへの曝露が確認され、カピバセルチブの乳汁移行の可能性が示唆された。

Akt ノックアウトマウス（*Akt1*-/-）では、胎児及び出生児の成長に異常が生じ、その影響は成獣まで持続する（Cho et al 2001）。したがって、妊娠中又は授乳中にカピバセルチブを投与したラットで発現した毒性変化は、カピバセルチブの薬理作用に起因したものと考えられる。

表 2　　カピバセルチブの反復投与毒性試験及び臨床における曝露量の比較

Summary of key toxicology findings	Dose level mg/kg/day	Total $AUC_{(0-24)}$ (μmol.h/L)	Multiples to total clinical AUC [a]	Total C_{max} (μmol/L)	Multiples to total clinical C_{max} [b]
1 month mouse study (8003410)					
Increased insulin	25 M F	6.03 7.83	0.16 0.20	1.83 1.73	0.54 0.51
As above plus increased glucose, minimal increase in liver enzymes, glycogen accumulation in liver	75 (F)	39.1	1.01	9.49	2.81
NOAEL (as above plus glycosylated haemoglobin, pathological changes in thymus (minimal), testis (minimal to mild)	150 M F	67.4 89.1	1.74 2.30	25.1 19.1	7.43 5.65
As above, testis pathology (moderate in all animals)	300 (M)	136	3.51	25.3	7.49
1 month rat study (2638AR)					
NOAEL (polyuria in 1 female)	10 M F	2.83 1.80	0.07 0.05	0.695 0.726	0.21 0.21
Increases in insulin and glucose. Pathological changes in liver, pancreas, thymus, thyroid adrenals and bone marrow.	30 M F	11.4 4.91	0.29 0.13	2.10 1.88	0.62 0.56
As above, plus changes in the pituitary and male reproductive system. Mild to moderately higher values for liver enzymes	100 M F	50.7 20.7	1.31 0.53	11.7 5.67	3.46 1.68
1 month dog study (1112AD)					
NOAEL (glycogen accumulation in liver and elevated insulin)	3 M/F	5.02	0.13	1.18	0.35
As above plus elevated glucose. Increased cardiac contractility. Thyroid, pancreatic and liver findings.	10 M/F	24.2	0.62	4.72	1.40
As above plus increased QTcR, pathological changes in the male reproductive tract, adrenal gland and thymus.	30 M/F	69.9	1.80	10.8	3.20
6 month rat study (527477)					
NOAEL for males (background testes pathology in 1 male)	10 M F	2.16 2.77	0.06 0.07	0.648 0.997	0.19 0.29
Slight increase in glucose and insulin. Pathological changes in adrenals, kidney, liver, pancreas and thyroid.	30 M F	12.2 20.4	0.31 0.53	2.92 2.88	0.86 0.85

表 2　　カピバセルチブの反復投与毒性試験及び臨床における曝露量の比較

Summary of key toxicology findings	Dose level mg/kg/day	Total $AUC_{(0-24)}$ (µmol.h/L)	Multiples to total clinical AUC [a]	Total C_{max} (µmol/L)	Multiples to total clinical C_{max} [b]
NOAEL for females (slight increase in glucose and insulin. small kidneys)					
As above for both sexes, plus low white cells (males), higher liver enzymes, glycosylated haemoglobin and polyuria. Pathological changes in bone marrow, thymus, pituitary (males) and males reproductive organs.	100 M 150 F	48.7 41.5	1.26 1.07	10.5 15.3	3.11 4.53
9 month dog study (527482)					
NOEL	1.5 M F	3.67 2.38	0.09 0.06	1.02 0.772	0.30 0.23
Increased glucose and insulin. High urinary glucose. Pathological changes in pancreas.	5 M F	16.4 13.3	0.42 0.34	2.96 3.35	0.88 0.99
As above plus increased glycosylated haemoglobin. Pathological changes in male reproductive organs.	15 M F	34.5 26.5	0.89 0.68	8.17 6.62	2.42 1.96
Embryofetal development and pre- and post-natal study in the rat (496879)					
Phase 1					
Increased maternal blood glucose on SD 16	10	1.46	0.04	0.655	0.19
As above. Considered maternal NOAEL and embryofetal NOEL	30	6.42	0.17	3.69	1.09
As above plus post implantation loss and reduced gravid uterine and fetal weights.	150	25.6	0.66	5.79	1.71
Phase 2					
Maternal NOAEL and reproductive NOEL	10	ND	-	ND	-
Increased maternal glucose. Reduced litter and pup weights.	150	ND	-	ND	-

[a] Multiple to clinical exposures were determined by dividing the non-clinical total $AUC_{(0-24)}$ by the geometric mean clinical total $AUC_{(0-24)}$ of 38.8 µmol.h/L

[b] Multiple to clinical exposures were determined by dividing the non-clinical total C_{max} by the geometric mean clinical total C_{max} of 3.38 µmol/L

F = female; M = Male; M/F = male and female exposure values combined; ND = not determined; NOAEL = no observed adverse effect level; NOEL = no observed effect level; SD = study day

Non-clinical data: $AUC_{(0-24)}$ and C_{max} were taken on Day 28 for the 1 month studies; Day 270 for the 6 month study; during Week 26 for the 9 month study and on Day 16 of gestation for the Embryofetal Development and Pre and Post Natal Study.

Clinical data: In a population PK analysis of pooled Phase I, Phase II, and Phase III (CAPItello-291) studies, the geometric mean $AUC_{(0-12)}$ and C_{max} at steady state for capivasertib were 8316.1 µg·h/L and 1448.1 µg/L, respectively, at 400 mg BD 4 days on, 3 days off for Japanese patients in CAPItello-291 study. Equivalent to 19.4 µmol.h/L and 3.38 µmol/L using a MW of 428.92 g/mol. The $AUC_{(0-12)}$ were multiplied by 2 to obtain $AUC_{(0-24)}$ at steady state following BD doses.

2.6.6.10 結論

本概要に示した非臨床毒性プロファイルは、内分泌療法剤の治療中又は治療後に再発又は進行が認められた局所進行（手術不能）又は転移性 HR+/HER2−（IHC 0 又は 1+、若しくは IHC 2+/ISH-）乳癌成人患者の治療を目的としたフルベストラントとの併用投与よるカピバセルチブの使用を支持するものと考える。

2.6.6.11 参考文献

Chang et al 2004

Chang L, Chiang S-H, Saltiel AR. Insulin signaling and the regulation of glucose transport. Mol Med. 2004;10(7-12):65-71.

Cho et al 2001

Cho H, Thorvaldsen JL, Chu Q, Feng F, Birnbaum MJ. Akt1/PKBα Is required for normal growth but dispensable for maintenance of glucose homeostasis in mice. J Biol. Chem. 2001; 276 (42); 38349-52.

ECHA 2017

European Chemicals Agency for 4-chloro-7H-pyrrolo[2,3-d]pyrimidine, Available at the following URL: https://echa.europa.eu/registration-dossier/-/registered-dossier/32459/7/7/2

Kempe et al 2010

Kempe DS, Siraskar G, Fröhlich H, Umbach AT, Stübs M, Weiss F, et al. Regulation of renal tubular glucose reabsorption by Akt2/PKBβ. Am J Physiol Renal Physiol. 2010;298(5):F1113-7.

Liu et al 2022

Liu D, Weintraub MA, Garcia C, Goncalves MD, Sisk AE, Casas A, et al. Characterization, management, and risk factors of hyperglycemia during PI3K or AKT inhibitor treatment. Cancer Med. 2022;11(8):1796-804.

Marfella et al 2001

Marfella R, Rossi F, Giugliano D. Hyperglycemia and QT interval: time for re-evaluation. Diabetes Nutr Metab. 2001;14(2):63-5.

van Noord et al 2010

van Noord C, Sturkenboom MCJM, Straus SMJM, Hofman A, Kors JA, Witteman JCM, et al. Serum glucose and insulin are associated with QTc and RR intervals in nondiabetic elderly. Eur J Endocrinol. 2010;162(2):241-8.

第 2 部　CTD の概要

一般名：カピバセルチブ

版番号：[redacted]

2.6.7　毒性試験概要表
カピバセルチブ

本資料に記載された情報に係る権利はアストラゼネカ株式会社に帰属します。弊社の事前の承諾なく本資料の内容を他に開示することは禁じられています。

目次

標題ページ 1
目次 2
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 3
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 6
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧 7
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 9
2.6.7.5 単回投与毒性試験 10
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 11
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 17
2.6.7.7.1 マウス反復投与毒性試験 17
2.6.7.7.2 ラット反復投与毒性試験 21
2.6.7.7.3 イヌ反復投与毒性試験 36
2.6.7.8 *In vitro* 遺伝毒性試験 44
2.6.7.9 *In vivo* 遺伝毒性試験 51
2.6.7.10 がん原性試験 59
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 60
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 61
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 62
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：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 67
2.6.7.15 新生児を用いた試験 68
2.6.7.16 局所刺激性試験 69
2.6.7.17 その他の毒性試験 70
2.6.7.17.1 光毒性試験 70

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses [a] (mg/kg)	GLP	Testing facility	Study no.(AZ reference no.)	Location in CTD
2.6.7.5: Single-dose toxicity								
No single dose studies have been conducted: the maximum tolerated dose (MTD) phases of repeat toxicity studies in rodents and non-rodents provide information that is relevant to acute toxicity.								
2.6.7.6/7: Repeat-dose toxicity								
	Mouse / CByB6F1 Hybrid (non-transgenic littermates)	Oral (gavage)	Day 1 Days 1 to 14	RD: Males: 150, 300, 500, 750, 850 Females: 150, 300, 500, 400, 450 MD: 0, 75, 150, 300	No	[redacted], US	20279282 (1159DM)	4.2.3.2.1
	Mouse / CByB6F1 Hybrid (non-transgenic littermates)	Oral (gavage)	28 days	25, 75, 150, 300	Yes	[redacted], Canada	8003410 (1176DM)	4.2.3.2.2
	Rat / Crl:HsdHan: WIST	Oral (gavage)	2 days Single dose	150, 300 500	No	AstraZeneca, UK	2239DR	4.2.3.2.3
	Rat / Crl:HsdHan: WIST	Oral	MTD phase: 2 days Repeat dose: 7 days	MTD: 150 Repeat: 0, 50, 100, 150	No	AstraZeneca, UK	2374DR	4.2.3.2.4
	Rat / Wistar Hannover substrain HsdHan:WIST	Oral (gavage)	28 days	0, 10, 30, 100	Yes	AstraZeneca, UK	2638AR	4.2.3.2.5

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses [a] (mg/kg)	GLP	Testing facility	Study no.(AZ reference no.)	Location in CTD
	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	182 days	0, 10, 30, 100 (M), 150 (F)	Yes	[redacted], UK	527477 (3784PR)	4.2.3.2.6
	Dog / Beagle	Oral (gavage)	MTD phase: up to 4 days Repeat dose: up to 14 days	MTD: M: 5, 15, 40, 60, 90; F: 5, 15, 25, 40 Repeat: 0, 15, 30, 40	Yes	AstraZeneca, UK	1068DD	4.2.3.2.7
	Dog / Beagle	Oral (gavage)	28 days	0, 3, 10, 30	Yes	AstraZeneca, UK	1112AD	4.2.3.2.8
	Dog / Beagle	Oral (gavage)	9 months	0, 1.5, 5, 15	Yes	[redacted], UK	527482 (1482FD)	4.2.3.2.9
2.6.7.8/9: Genotoxicity								
Bacterial reverse mutation assay	*S. typhimurium* and *E. coli*	*In vitro*	-	4.6 – 4100 µg/plate	Yes	AstraZeneca, UK	2332BV	4.2.3.3.1.1
Mammalian cell gene mutation and chromosome aberration assay	L5178Y $TK^{+/-}$ Mouse Lymphoma 3.7.2.c	*In vitro*	-	0.1 – 193 µg/mL	Yes	AstraZeneca, UK	2333MV	4.2.3.3.1.2
Bone-marrow micronucleus test	Rat / HsdHan :WIST	Oral	2 doses	15, 75, 150	Yes	AstraZeneca, UK	2718QR	4.2.3.3.2.1
Kinetochores in micronuclei (from study 2718QR)	-	*Ex vivo*	-	150	No	AstraZeneca, UK	2759KV	4.2.3.3.2.2
Bone-marrow micronucleus test	Rat / Han Wistar (Crl:WI(Han))	Oral (gavage)	2 doses	100, 125, 150	Yes	[redacted], UK	8331243 (4075QR)	4.2.3.3.2.3
DNA strand break assay	Rat / HsdHan :WIST	Oral (gavage)	2 doses	75, 150	Yes	AstraZeneca, UK	3274BR	4.2.3.3.2.4
2.6.7.10: Carcinogenicity								

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses [a] (mg/kg)	GLP	Testing facility	Study no.(AZ reference no.)	Location in CTD
2-Year Carcinogenicity Study (Ongoing Study)	Rat / Han Wistar (Crl:WI(Han))	Oral (gavage)	-	5, 15, 30, 75	Yes	[redacted], Canada	8003384	-
2.6.7.11-14: Reproductive & development toxicity								
Embryo-fetal development and pre- and post-natal development	Rat / Han Wistar CRL:WI(Han)	Oral (gavage)	Phase 1: 15 days (Days 2 to 16 of gestation) Phase 2: Day 6 of gestation to at least Day 6 of lactation	Phase 1: 0, 10, 30, 150 Phase 2: 0, 10, 150	Yes	[redacted], UK	496879 (3783RR)	4.2.3.5.2.1
2.6.7.15: Studies in juvenile animals Juvenile toxicity studies have not been conducted.								
2.6.7.16: Local tolerance Local tolerance studies have not been conducted.								
2.6.7.17: Other toxicity studies								
In vitro phototoxicity	Balb/c 3T3 fibroblasts	*In vitro*	-	1.78 – 100 µg/mL	Yes	[redacted], USA	20065496 (3432BV)	4.2.3.7.7.1

[a] Unless otherwise specified, for repeat-dose toxicity studies the highest NOAEL (No Observed Adverse-Effect Level) is underlined.

2.6.7.2　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP	Study no. (AZ reference no.)	Location in CTD
MTD and 14 day	Mouse / CByB6F1 Hybrid (nontransgenic littermates)	Oral (gavage)	Repeat: M: 150, 300, 500, 750, 850 F: 150, 300, 500, 400, 450 MTD: 0, 75, 150, 300	No	20279282 (1159DM)	4.2.3.2
1 Month repeat dose	Mouse / Wild type rasH2	Oral (gavage)	25, 75, 150, 300	Yes	8003410	4.2.3.2
MTD	Rat / Crl:HsdHan: WIST	Oral (gavage)	150, 300, 500	No	2239DR	4.2.3.2
MTD and 7 day repeat dose	Rat / Crl:HsdHan: WIST	Oral	MTD: 150 Repeat: 50, 100, 150	No	2374DR	4.2.3.2
28 day repeat	Rat / Wistar Hannover substrain HsdHan:WIST	Oral (gavage)	10, 30, 100	Yes	2638AR	4.2.3.2
6 month repeat	Rat / Han Wistar	Oral (gavage)	10, 30, 100 (M), 150 (F)	Yes	527477 (3784PR)	4.2.3.2
MTD and 14 day repeat dose	Dog / Beagle	Oral (gavage)	MTD: M: 5, 15, 40, 60, 90; F: 5, 15, 25, 40 Repeat: 15, 30, 40	Yes	1068DD	4.2.3.2
28 day repeat	Dog / Beagle	Oral (gavage)	3, 10, 30	Yes	1112AD	4.2.3.2
9 month repeat	Dog / Beagle	Oral (gavage)	1.5, 5, 15	Yes	527482 (1482FD)	4.2.3.2
Embryo-fetal development and pre- and post-natal development	Rat / Han Wistar CRL:WI(Han)	Oral (gavage)	10, 30, 150	Yes	496879 (3783RR)	4.2.3.5.2.1

2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧

Dose (mg/kg/day)	Plasma $AUC_{(0\text{-}last)}$ (μmol.h/L)						Plasma C_{max} (μmol/L)					
	Mouse (male)	Mouse (female)	Rat (male)	Rat (female)	Dog (male)	Dog (female)	Mouse (male)	Mouse (female)	Rat (male)	Rat (female)	Dog (male)	Dog (female)
1.5					3.67 [a]	2.38 [a]					1.02 [a]	0.77 [a]
3					4.18 [b]	5.86 [b]					1.05 [b]	1.30 [b]
5					16.4 [a] 6.02 [c]	13.3 [a] 10.5 [c]					2.96 [a] 1.94 [c]	3.35 [a] 3.62 [c]
10			2.83 [d] 2.16 [e]	1.80 [d] 2.77 [e] 1.46 [f]	23.2 [b]	25.1 [b]			0.695 [d] 0.648 [e]	0.726 [d] 0.997 [e] 0.655 [f]	4.39 [b]	5.06 [b]
15					34.5 [a] 2.94 [c] 42.2 [g]	26.5 [a] 3.99 [c] 38.6 [g]					8.17 [a] 17.7 [c] 9.83 [g]	6.62 [a] 26.2 [c] 4.89 [g]
25	6.03[l]	7.83[l]				59.9 [c]	1.83[l]	1.73[l]				8.14 [c]
30			11.4 [d] 12.2 [e]	4.91 [d] 20.4 [e] 6.42 [f]	65.4 [b] 79.8 [g]	101 [b] 74.6 [g]			2.10 [d] 2.92 [e]	1.88 [d] 2.88 [e] 3.69 [f]	12.1 [b] 9.20 [g]	12.2 [b] 12.2 [g]
40					6.67 [c] 29.8 [g]	19.3 [c] 24.1 [g]					37.6 [c] 6.90 [g]	129 [c] 3.07 [g]
50			12.24 [h]	3.15 [h]					2.22 [h]	0.86 [h]		
60					15.0 [c]						105 [c]	
75	21.4[k] 37.1[k]	37.7[k] 66.6[k] 34.4[l]					8.87[k] 10.8[k]	7.75[k] 13.3[k] 7.75[l]				
90					16.1 [c]						59.7 [c]	
100			50.7 [d] 48.7 [e] 20.52 [h]	20.7 [d] 8.42 [h]					11.7 [d] 10.5 [e] 4.30 [h]	5.67 [d] 1.61 [h]		
150	69.2[k] 94.6[k] 67.4[l]	114[k] 120[k] 89.1[l]	51.00 [h]	41.5 [e] 25.6 [f] 14.67 [h] 14.55 [i]			13.2[k] 25.0[k] 25.11	33.1[k] 25.8[k] 19.1[l]	8.55 [h]	15.3 [e] 5.79 [f] 1.86 [h] 4.18 [i]		

Dose (mg/kg/day)	Plasma $AUC_{(0\text{-}last)}$ (μmol.h/L)						Plasma C_{max} (μmol/L)					
	Mouse (male)	Mouse (female)	Rat (male)	Rat (female)	Dog (male)	Dog (female)	Mouse (male)	Mouse (female)	Rat (male)	Rat (female)	Dog (male)	Dog (female)
150			39 [j]						6 [j]			
300	171[k] 181[k] 136[l]	177[k] 181[k]	72 [j]				43.3[k] 44.2[k] 25.3[l]	32.8[k] 47.7[k]	7 [j]			
500									11 [j]			

[a] 527482 – 9 month study.

[b] 1112AD – 28 day study.

[c] 1068DD – MTD study (Day 1 data).

[d] 2638AR – 28 day study.

[e] 527477 – 6 month study.

[f] 496879 – embryofetal development study (15 days dosing: GD16 data).

[g] 1068DD – 14 day study (40 mg/kg = Day 1 data).

[h] 2374DR – 7 day study.

[i] 2374DR – MTD study (Day 1 data).

[j] 2239DR – MTD study (Day 1 data).

[k] 20279282 – 14 Day study (Day 1 and Day 14 data)

[l] 8003410 – 1 Month Study

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

Batch number	Purity (%)	Specified impurities [a]						Study no.(AZ reference no.	Type of study
		A (% w/w)	B (% area)	C (% area)	D (% area)	E (% area)	F (% area)		
Proposed specifications [b]:	98 – 102	<1.0	<0.2	NR	NR	NR	NR		
200600Z0005	99.88	0.06	NR	NR	NR	NR	<0.2	20279282	MTD/14 day Mouse
20600Z0006	99.94	0.06	NR	NR	NR	NR	<0.2	8003410	1 Month Mouse
AZ12952302 batch 004	100	NR	NR	NR	NR	NR	NR	2239DR	MTD Rat
AZ12952302 batch 005	100	NR	NR	NR	NR	NR	NR	2239DR	MTD Rat
AZ12952302 batch 007	98.9	NR	NR	NR	NR	NR	NR	2374DR	MTD / 7 day Rat
009	98.7	NR	NR	NR	NR	NR	NR	1068DD	MTD / 14 day Dog
14-000888AZ	99.62	NR	NR	<0.05	ND	0.13	ND	8331243 (4075QR)	Rat bone-marrow micronucleus test
BNG/LSL/09071	95.23	NR	NR	NR	NR	NR	NR	2638AR	28 day Rat
								1112AD	28 day Dog
								2332BV	Bacterial mutation assay
								2333MV	Mammalian gene mutation assay
								2718QR	Rat bone-marrow micronucleus test
								3274BR	Rat DNA strand break assay
BNG-LSL-14006	98.7	0.16	<0.05	NR	NR	NR	NR	527482 (1482FD)	9 month Dog
BNG-LSL-14009	97.2	0.16	<0.1	NR	NR	NR	NR	527477 (3874PR)	6 month Rat
								496879 (3783RR)	Rat embryo-fetal development and pre- and post-natal development
								20065496 (3432BV)	*In vitro* phototoxicity assay

[a] [redacted].

[b] The proposed specifications were correct at the time these studies were conducted, but they don't match up with the commercial specifications now.

ND Not detected.

NR Not reported.

2.6.7.5　単回投与毒性試験

該当なし

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Species / Strain	Method of administration (Vehicle / Formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	NOAEL[a] (mg/kg)	Noteworthy findings	Testing Facility	Study number (AZ reference number)
Mouse / CByB6F1 Hybrid (non-transgenic littermates)	Oral (gavage) (Suspension in 0.5% [w/v] Methocel E4M [HPMC] in Ultra-Pure Water)	RD phase: Single dose Repeat dose: 14 days	RD: M: 150, 300, 500, 750, 850 F: 150, 300, 500, 400, 450 Repeat: 0, 75, 150, 300	RD phase: 2M + 2F Repeat: 6M + 6F	RD phase: Not identified Repeat dose: Maximum tolerated dose determined to be 300 mg/kg for males and 150 mg/kg for females.	During the rising-dose phase, after a single oral administration, mortality was limited to one 500 mg/kg female (highest dose level for females) that was euthanized moribund (shallow breathing, hunched posture, cold to touch and decreased activity) and had gross necropsy findings of dark focus in the stomach and abnormal content in the small intestines. There were dose-related mean body weight losses in males at ≥750 mg/kg (up to-8.7% from Days 1 to 3) and in females at 400 mg/kg only (-4% from Days 1 to 3). Based on the rising-dose phase results, the dose levels for the 14-day phase were determined to be 75, 150 and 300 mg/kg. During the multiple-dose phase, oral administration of capivasertib (formerly referred to as AZD5363) once daily for 14 days to CByB6F1 hybrid mice resulted in 2 unscheduled deaths in 300 mg/kg females and 2 unscheduled deaths in 300 mg/kg TK females. Only 1 of the females (main) was euthanized moribund but this mortality was attributed to a gavage accident. The definitive cause of death for the other female could not be	[redacted], USA	20279282 (1159DM)

Species / Strain	Method of administration (Vehicle / Formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	NOAEL[a] (mg/kg)	Noteworthy findings	Testing Facility	Study number (AZ reference number)
						determined histopathologically due to the nonspecific microscopic findings. Possible capivasertib -related clinical signs were limited to erect fur in two 300 mg/kg males, and transient statistically significant mean body weight losses (-5% from Days 1 to 3) that resulted in decreased mean body weights on Days 3 (-7%) and 5 (-5%) in 300 mg/kg females. Capivasertib -related minimal to mild haematology changes consisted of lower red blood cell mass in females at ≥75 mg/kg and in males at ≥150 mg/kg, reticulocyte in females at ≥150 mg/kg, and lymphocyte and white blood cell counts in females at 300 mg/kg and higher red cell distribution width in females at ≥150 mg/kg and in males at 300 mg/kg and neutrophil and monocyte counts in males at ≥150 mg/kg. Capivasertib -related minimal to mild clinical chemistry changes consisted of higher GLDH and AST ≥150 mg/kg, triglycerides in males at 300 mg/kg and in females at ≥150 mg/kg, phosphorus in males at 300 mg/kg, sodium at 300 mg/kg and in females at 75 mg/kg, chloride and urea nitrogen in females at 300 mg/kg, glucose in males at ≥150 mg/kg and in		

Species / Strain	Method of administration (Vehicle / Formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	NOAEL[a] (mg/kg)	Noteworthy findings	Testing Facility	Study number (AZ reference number)
						females at 300 mg/kg, and albumin, total protein and albumin to globulin ratio at 300 mg/kg. Capivasertib -related microscopic changes were present in the mandibular salivary gland (minimal secretory depletion in females at ≥150 mg/kg), liver (minimal to moderate hepatocellular vacuolation at ≥75 mg/kg), pancreas (minimal islet degranulation [at ≥150 mg/kg in females and at 300 mg/kg in males] and/or minimal zymogen secretory depletion [at 300 mg/kg]) and thymus (minimal to marked decreased lymphoid cellularity at ≥75 mg/kg). Hepatocellular vacuolation (consistent with glycogen accumulation) correlated with increased liver weights at ≥150 mg/kg. Decreased lymphoid cellularity correlated with decreased thymus weights at ≥75 mg/kg. There was no microscopic correlate for decreased spleen weights at ≥75 mg/kg in females or decreased testis and epididymis weights at ≥150 mg/kg among males. There was no sex difference in the exposure of capivasertib and AZ14102143 (glucuronide) in mice. From 75 to 300 mg/kg, capivasertib C_{max}, $AUC_{(0-t)}$ and $AUC_{(0-6)}$ increased in proportion to the		

Species / Strain	Method of administration (Vehicle / Formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	NOAEL[a] (mg/kg)	Noteworthy findings	Testing Facility	Study number (AZ reference number)
						dose of capivasertib and AZ14102143 C_{max} and $AUC_{(0-6)}$ increased greater than in proportion to the dose of capivasertib following a single dose and after repeated dosing for 14 days. There were no obvious differences in C_{max}, $AUC_{(0-t)}$ and $AUC_{(0-6)}$ values of capivasertib following 14 dosing days compared to those for a single daily dose; however, AZ14102143 values tended to be greater following repeat dosing at 75 and 300 mg/kg. The metabolite C_{max} and $AUC_{(0-6)}$ values were 36- to 244-fold less than parent across the dose range and dosing occasions.		
Rat / Crl:HsdHan: WIST	Oral (gavage) (Suspension in water containing 0.5% w/v hydroxypropyl methylcellulose)	2 days Single dose	150, 300 500	3M 1M	Not identified	Daily oral doses of 500 or 300 mg/kg/day capivasertib (formerly referred to as AZ12952302) for 1 or 2 days caused death or premature termination of animals due to adverse signs. In decedents and survivors at 300 mg/kg/day there were transient decreases in body weight, increases in glucose and associated increases in insulin, and gross pathological changes in the gastrointestinal tract. The maximum tolerated dose for 2 days was 150 mg/kg/day, although there were also transient decreases in body weight and increases in glucose and insulin at this dose level.	AstraZeneca, UK	2239DR

Species / Strain	Method of administration (Vehicle / Formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	NOAEL[a] (mg/kg)	Noteworthy findings	Testing Facility	Study number (AZ reference number)
Rat / Crl:HsdHan: WIST	Oral (Suspension in water containing 0.5% w/v hydroxypropyl methylcellulose)	MTD phase: 2 days Repeat dose: 7 days	MTD: 150 Repeat: 0, 50, 100, 150	MTD: 3F Repeat: 3M + 3F	Not identified	Daily doses of 150, 100 and 50 mg/kg/day capivasertib were tolerated for 7 days with reduced food consumption and associated body weight changes. At all dose levels there was also altered insulin signalling (increased insulin) with associated changes in blood glucose and pathology in the liver and pancreas. Pathological changes in the kidneys and associated changes in urine parameters were also apparent. Testicular changes were present at 150 and 100 mg/kg/day but not at 50 mg/kg/day.	AstraZeneca, UK	2374DR

Species / Strain	Method of administration (Vehicle / Formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and number per group	NOAEL[a] (mg/kg)	Noteworthy findings	Testing Facility	Study number (AZ reference number)
Dog / Beagle	Oral (gavage) (Suspension in water containing 0.5% w/v hydroxypropyl methylcellulose)	MTD phase: up to 4 days Repeat dose: up to 14 days	MTD: M: 5, 15, 40, 60, 90; F: 5, 15, 25, 40 Repeat: 0, 15, 30, 40	1M + 1F	15	Results from the MTD indicated that three doses at 60 mg/kg/day AZD5363 in the male was tolerated. A single dose at 90 mg/kg in the male was not tolerated with the animal killed for welfare reasons following adverse clinical signs including emesis and inappetance. Three doses at 25 mg/kg/day in the female was tolerated. Following daily administration at 40 mg/kg/day for five days, both the male and female dogs were killed for welfare reasons following adverse clinical signs and inappetance in the female. The dose levels of 15 and 30 mg/kg/day for 14 days were tolerated. Target organs identified following treatment with capivasertib (formerly referred to as AZD5363) include the GI Tract (erosive enteritis, epithelial erosions), bone marrow (loss of mature cells), thymus (reduced cellularity and/or lymphocytolysis), GALT (reduced cellularity and/or lymphocytolysis) and axillary and/or mesenteric lymph nodes (reduced cellularity and/or lymphocytolysis).	AstraZeneca, UK	1068DD

Study 1068DD contains a GLP statement. Studies 20279282, 2239DR and 2374DR do not claim GLP compliance.

M = male, F = female, RD = rising dose, MTD = maximum tolerated dose.

[a] No Observed Adverse Effect Level.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1 マウス反復投与毒性試験

Report Title: Capivasertib (AZD5363): One Month Repeat Dose Oral (Gavage) Toxicity Study in the Transgenic Mouse

Test Article: Capivasertib

Species / Strain: Mouse / Wild type rasH2 (CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic)

Duration of dosing: 28 days

Study number: 8003410

Age at start of dosing: 8 – 10 weeks

Duration of post-dose: None

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Method of administration: Oral (gavage)

Testing Facility: [redacted], Canada

Special features: None.

Vehicle / Formulation: Suspension in 0.5% (w/v) Methocel E4M (HPMC) in Ultra Pure Water

No observed adverse-effect level: 150 mg/kg/day.

Conclusion: daily oral administration of capivasertib (AZD5363) to transgenic mice for 28 days was generally well tolerated. Administration of the test item was associated with reduced body weight gains in males at 300 mg/kg/day, disturbance in glucose metabolism at all doses, and secondary higher liver enzymes level and bilirubin, as well as higher mean liver/gallbladder weights and increased hepatocellular vacuolation. Microscopic findings were also observed in thymus in males and females at ≥150 mg/kg/day, in testis in males at ≥150 mg/kg/day, and in the liver of males and females at all doses. Due to the adverse microscopic findings observed in the testis at 300 mg/kg/day, the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) for males and females was considered to be 150 mg/kg/day. At the NOAEL, the mean C_{max} and $AUC_{(0-t)}$ values were 22.1 μmol/L and 78.2 μmol·h/L, respectively, after 28 days of dosing.

Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)		25		75	150		300
Number of Animals		M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10
Toxicokinetics [a]:									
Capivasertib									
$AUC_{(0-t)}$ (µmol.h/L)				6.03	7.83	34.4	67.4	89.1	136
C_{max} (µmol/L)				1.83	1.73	7.75	25.1	19.1	25.3
AZ14102143 (glucuronide metabolite)									
$AUC_{(0-t)}$ (µmol.h/L)				ND	0.194	0.239	0.245	0.746	0.940
C_{max} (µmol/L)				0.00906	0.203	0.139	0.233	0.329	0.291
Noteworthy Findings									
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight Gain (%) [b]		(g)							
Days 1 – 25		1.64	0.90	+12.8	+8.9	+48.9	-12.2	+1.1	-81.7 **
Clinical Observations		-	-	-	-	-	-	-	-
Haematology									
Eosinophils	(10^3/µL)	0.138	0.113	0.096	0.134	0.104	0.062 *	0.100	0.073
Haematocrit	(%)	50.33	49.17	49.92	49.14	47.78	47.02	46.84	45.95 *
Haemoglobin	(g/dL)	16.05	15.73	15.78	15.62	15.30	14.78	14.96	14.18 **
Large unstained cells	(10^3/µL)	0.038	0.023	0.022	0.016	0.022	0.010	0.012	0.008
Lymphocytes	(10^3/µL)	5.115	3.357	3.330	3.296	3.386	2.180	2.702	2.100
Mean corpuscular volume	(fL)	47.75	49.47	48.03	49.58	49.70	49.06	50.00	49.93 **
Mean RBC distribution width	(%)	11.48	11.67	11.66	11.64	12.14	13.28	12.92 *	14.38 **
Red blood cell count	(x10^6/µL)	10.538	9.940	10.336	9.916	9.614	9.586	9.376	9.200 *
White blood cell count	(10^3/µL)	6.060	4.097	4.400	4.056	4.186	2.772	3.462	2.938
Serum Chemistry									
Albumin	(g/dL)	3.64	3.56	3.62	3.62	3.62	3.32	3.28	3.08 **
ALT	(U/L)	31.6	21.2	26.8	26.2	49.0	29.6	35.0	44.8
AST	(U/L)	40.8	49.8	37.2	52.6	84.2	53.6	84.4	102.6 *
Chloride	(mmol/L)	110.6	112.6	111.0	111.8	112.0	114.0 *	116.4	113.2
GLDH	(U/L)	5.92	5.46	5.14	5.74	6.90	7.64	10.28 *	15.48 *
Glucose	(mg/dL)	258.8	254.8	270.2	259.2	257.0	221.4	189.4	206.8
Potassium	(mmol/L)	4.74	4.66	4.28	4.24	4.24	4.22	4.62	4.06 **
Total bilirubin	(mg/dL)	0.014	0.006	0.006	0.036	0.050	0.038	0.084 ***	0.020
Total protein	(g/dL)	5.22	4.84	5.12	4.82	4.82	4.84 *	4.46 *	4.66 **
Triglycerides	(mg/dL)	166.0	135.6	127.4	137.0	142.0	160.2	167.4	357.2

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		25		75	150		300
Number of Animals	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10
Biomarkers [d]								
Glucose (mmol/L: 2 hours post-dose)								
Week 1	8.90	7.17	9.07	8.13	12.77	20.37	18.40 *	27.37 *
Day 28	7.40	6.17	8.83	5.80	10.33	20.00	14.80 *	22.70 *
Glycosylated haemoglobin (HbA1C) (%)	2.11	2.00	2.12	1.90	1.87	2.67	2.15	3.82
Insulin (pg/mL)	1047.73	523.13	2690.93	1079.73	38618.33	65589.33 *	71122.97**	60853.93
Organ Weights (%) [b,c]	(g)							
Epididymis	0.10		0			-20.0 ***		-30.0 ***
Liver/gallbladder	1.4768	1.1332	-5.2	-9.7	+6.9	+5.7	+8.3	+14.6
Spleen	0.0773	0.0899	-4.7	-11.2	-17.5 *	-18.4 ***	-26.4 **	-28.1 ***
Testis	0.29		0			-37.9 ***		-58.6 ***
Thymus	0.0452	0.0500	-15.3 **	-11.6	-28.8 ***	-52.7 ***	-52.4 ***	-67.7 ***
Gross Pathology								
Number examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Epididymis								
Small	0		0			0		1
Liver								
Focus, pale	0	0	0	0	0	0	1	0
Thymus								
Small	0	0	0	0	0	1	0	9
Testis								
Small	0		0			0		2
Histopathology								
Number examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Liver								
Increased vacuolation								
Minimal	0	0	8	2	1	0	1	0
Mild	0	0	0	0	9	2	9	7
Moderate	0	0	0	0	0	8	0	3
Testis								
Germ call depletion								
Minimal	0		0			8		0
Mild	0		0			2		0
Moderate	0		0			0		10

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		25		75	150		300
Number of Animals	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10
Thymus								
Decreased cellularity, lymphoid								
Minimal	0	0	0	1	2	9	6	10
Mild	0	1	0	0	0	0	0	0

M = male, F = female.

- No noteworthy findings

* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001. Body weight and organ weight data analysed using Dunnett's t-test; haematology, serum chemistry and biomarker data using Dunn's test.

[a] ND = not determined (less than 3 concentrations were quantified).
Day 28 mean data shown. Additional (satellite) animals were used for the toxicokinetic assessment. There was one quantifiable concentration of Capivasertib in samples taken from animals dosed with vehicle (control dose). The plasma concentration of Capivasertib in the sample from the control animal (0.0313 µmol/L) was at least 2.9-fold lower than those at the corresponding time point in animals that had received the test compound at the lowest dose (25 mg/kg/day). Therefore, it was considered of no impact in the TK evaluation.

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

[c] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Displayed figures are for the absolute organ weight effects.

[d] For Insulin and HbA1C, Day 28 mean data shown. Additional (satellite) animals were used for the biomarker assessment.

2.6.7.7.2 ラット反復投与毒性試験

Report Title: AZD5363: One Month Oral Toxicity Study with Assessment of Recovery in the Rat

Test Article: Capivasertib

Species / Strain: Rat / Wistar Hannover substrain HsdHan:WIST

Duration of dosing: 28 days

Study number: 2638AR

Age at start of dosing: approximately 10 weeks

Duration of post-dose: 4 weeks

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Method of administration: Oral (gavage)

Testing Facility: AstraZeneca, UK

Special features: None.

Vehicle / Formulation: Suspension in water containing 0.5% w/v hydroxypropyl methylcellulose

No observed adverse-effect level: 10 mg/kg/day.

Conclusion: Daily doses of 100 mg/kg/day capivasertib (formerly referred to as AZD5363) were tolerated for 28 days but there was a greater severity and/or higher frequency of findings in males compared to females. There were body weight changes, either losses (males) or reduced gain (females) and increased urine output. In males only there was an associated reduction in food consumption and an increase in water consumption. There was altered insulin signalling with associated changes in the blood glucose and pathology in the liver and pancreas. There were histopathological and/or organ weight changes in the reproductive organs (testes and prostate or uterus and ovaries), a general change in the haemopoetic system (thymus, bone marrow, spleen and white cell changes) and changes in the pituitary (males), thyroid (males) and adrenals (both sexes). Although most of these changes were reversible the changes in the testes and bone marrow did not reverse after 28 days off-dose.

At 30 mg/kg/day there were also changes in urine output (both sexes). Histopathological and blood glucose changes were similar to those seen at 100 mg/kg/day but they were generally of lower severity or seen at lower frequency than at the high dose and there were no effects in the male or female reproductive organs or the pituitary.

A dose of 10 mg/kg/day was considered to be the no adverse effect level.

Daily Dose (mg/kg)		0 (Vehicle)		10		30		100	
Number of Animals Main Recovery		M: 10 M: 5	F: 10 F: 5	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M: 5	F: 10 F: 5
Toxicokinetics [a]: $AUC_{(0\text{-}last)}$ (µmol.h/L) C_{max} (µmol/L)				 2.83 0.695	 1.80 0.726	 11.4 2.10	 4.91 1.88	 50.7 11.7	 20.7 5.67
Noteworthy Findings **Died or Sacrificed Moribund**		 0	 0	 0	 0	 0	 1 [b]	 0	 0
Body Weight Gain (%) [c]		(g)							
Days 1 – 29		51	25	-13.7	-4.0	-17.6	-16.0	-133***	-56.0**
Food Consumption (%) [c]		(g/animal/day)							
Weeks 1 – 2		21	16	-4.8	+6.3	+4.8	+6.3	-28.6	0
Water Consumption (%) [c]		(mL/animal/day)							
Weeks 4 – 5		23	23	-4.3	-8.7	+21.7	+13.0	+78.3	-4.3
Clinical Observations [d]		-	-	-	-	-	-	+	+
Haematology									
Lymphocytes	($x10^9$/L)	6.10	5.37	6.43	5.27	6.48	5.32	4.14**	4.35
White cell count	($x10^9$/L)	8.00	6.79	8.09	6.43	8.00	6.49	5.60*	5.50
Serum Chemistry									
ALT	(IU/L)	49	34	48	35	54	38	70	27
AST	(IU/L)	70	62	73	61	87	66	203***	65
Cholesterol	(mmol/L)	1.6	1.6	1.7	1.6	1.3	1.5	2.1*	1.4
GLDH	(IU/L)	10	6	11	6	7	5	40**	11
Glucose	(mmol/L)	14.4	9.9	14.6	7.9	21.2**	9.2	18.7*	19.5**
Phosphate	(mmol/L)	2.77	2.37	2.59	2.46	2.24**	2.38	1.71***	1.98*
Potassium	(mmol/L)	6.1	6.9	5.6	7.8	5.7	7.4	4.6**	5.7*
Triglycerides	(mmol/L)	1.16	0.98	1.07	1.11	1.33	0.83	1.74*	0.91
Urea	(mmol/L)	8.6	8.2	9.2	8.3	7.7	8.2	9.4	6.8
Urinalysis									
pH		7.9	7.3	8.3	7.8	7.8	7.9	6.9***	7.6
Specific gravity		1.011	1.012	1.012	1.011	1.013	1.011	1.027***	1.013
Volume	(mL)	5.4	4.1	6.0	6.5*	10.3**	5.7*	16.0***	7.0***

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		10		30		100	
Number of Animals Main Recovery	M: 10 M: 5	F: 10 F: 5	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M: 5	F: 10 F: 5
Insulin measurements [e] (µg/mL)								
Day 1: 20 minutes post-dose	NS		3.35		4.55		15.85	
1 hour post-dose	3.11		2.21		5.79		51.70	
2 hours post-dose	NS		1.20		1.83		65.63	
Day 28: Pre-dose	2.08		0.99		0.61		0.90	
20 minutes post-dose	2.77		3.10		5.13		5.62	
1 hour post-dose	NS		1.63		3.45		14.47	
2 hours post-dose	NS		1.96		5.27		75.67	
Plasma glucose [f] (mmol/L)								
Day 1: 20 minutes post-dose	6.2	6.8	7.0	6.6	6.7	7.1	10.3	9.4
1 hour post-dose	6.1	6.1	6.7	6.0	6.4	6.4	12.9	10.6
2 hours post-dose	5.4	5.6	6.3	5.8	6.3	6.6	16.5	8.4
Day 28: Pre-dose	5.5	5.9	6.0	5.6	5.8	6.0	4.6	4.8
20 minutes post-dose	6.3	6.2	7.0	7.0	7.4	7.1	7.4	7.6
1 hour post-dose	5.9	6.0	5.7	6.2	7.0	5.7	10.9	7.6
2 hours post-dose	5.6	6.2	6.1	5.6	7.1	5.5	19.5	8.7
Organ Weights (%) [c,g]	(g)							
Adrenals	0.06640	0.07770	-9.8	-2.4	+78.9	-3.9	-11.7	-20.7*
Epididymides	1.14		-7.9		-0.9		-28.4**	
Liver	10.02	7.24	-5.4	+0.7	-4.2	+2.8	-1.9	-11.0
Ovaries		0.09880		+0.1		+6.3		-19.9*
Prostate	0.39210		-5.2		-12.0		-35.1**	
Spleen	0.55950	0.47900	-0.8	-11.6	-1.7	-10.8	-36.9**	-22.5**
Testes	3.30		-5.2		+2.4		-21.5**	
Thymus	0.37180	0.47100	-0.8	-15.8	-6.2	-19.1*	-51.3**	-41.0**
Uterus		0.47200		-18.4		-25.0		-27.7*
Gross Pathology **Number examined**	10	10	10	10	10	10	10	10
Adrenals Pale	0	0	0	0	0	0	1	0
Epididymides Small	0		0		0		1	

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		10		30		100	
Number of Animals Main Recovery	M: 10 M: 5	F: 10 F: 5	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M: 5	F: 10 F: 5
Testes								
Small	0		0		0		1	
Thymus								
Small	0	0	0	0	0	0	3	1
Histopathology								
Number examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Adrenal glands								
Cortical hypertrophy								
Minimal	0	0	0	0	5	2	2	3
Slight	0	0	0	0	1	0	4	7
Moderate	0	0	0	0	0	0	4	0
Bone marrow, femoro-tibial joint								
Bone marrow hypocellularity								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Slight	0	0	0	0	2	0	2	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	6	0
Marked	0	0	0	0	0	0	1	0
Bone marrow, sternum								
Bone marrow hypocellularity								
Minimal	0	0	0	0	0	0	3	0
Slight	0	0	0	0	0	0	3	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	4	0
Epididymides								
Reduced sperm +/- debris								
Minimal	0		0		0		2	
Slight	0		0		0		1	

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		10		30		100	
Number of Animals Main Recovery	M: 10 M: 5	F: 10 F: 5	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M: 5	F: 10 F: 5
Liver								
Acute necrosis								
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Increased hepatocytic glycogen vacuolation/hypertrophy								
Minimal	0	0	0	0	4	0	2	0
Slight	0	0	0	0	4	0	7	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Pancreas								
Islet hypertrophy / hyperplasia								
Minimal	0	0	0	0	2	1	3	5
Slight	0	0	0	0	1	0	3	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	4	0
Pituitary gland								
Diffuse hypertrophy								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Slight	0	0	0	0	0	0	2	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	2	0
Marked	0	0	0	0	0	0	1	0
Testes								
Tubular degeneration								
Minimal	0		0		0		3	
Slight	0		0		0		3	
Moderate	0		0		0		1	
Marked	0		0		0		1	
Sertoli cell vacuolation								
Minimal	0		0		0		5	
Slight	0		0		0		2	
Thymus								
Hypocellularity +/- lymphocytolysis								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	2
Slight	0	0	0	0	1	0	1	1
Moderate	0	0	0	0	0	1	9	0

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		10		30		100	
Number of Animals Main Recovery	M: 10 M: 5	F: 10 F: 5	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M: 5	F: 10 F: 5
Thyroid Thyroid hypertrophy with reduced colloid Minimal Slight Moderate	 0 0 0	 0 0 0	 0 0 0	 0 0 0	 4 1 0	 0 0 0	 0 2 8	 0 0 0
Post-dose Evaluation: **Number Evaluated**	 5	 5	 0	 0	 0	 0	 5	 5
Noteworthy findings **Organ Weights (%)** [c,g]	(g)							
Epididymides Testes	1.22 3.82						1.00* 2.84**	
Histopathology **Number examined** (unless otherwise stated)	 5	 5					 5	 5
Adrenal glands Cortical hypertrophy Slight	 0	 0					 1	 2
Bone marrow, femoro-tibial joint Bone marrow hypocellularity Minimal Slight	 0 0	 0 0					 1 4	 0 0
Bone marrow, sternum Bone marrow hypocellularity Minimal Slight	 0 0	 0 0					 1 3	 0 0
Epididymides Reduced sperm +/- debris Slight	 0						(3) 2	

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		10		30		100	
Number of Animals Main Recovery	M: 10 M: 5	F: 10 F: 5	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M: 0	F: 10 F: 0	M: 10 M: 5	F: 10 F: 5
Liver								
Increased hepatocytic glycogen vacuolation/hypertrophy								
Minimal	0	0					1	0
Inflammatory cell infiltration								
Minimal	3	2					1	0
Pancreas								
Islet hypertrophy / hyperplasia								
Minimal	0	0					1	1
Inflammatory cell infiltration								
Minimal	0	1					1	0
Testes								
Tubular degeneration								
Slight	0						2	
Sertoli cell vacuolation								
Minimal	0						3	
Slight	0						2	
Thymus								
Congestion / haemorrhage								
Minimal	0	0					0	1
Thyroid								
Thyroid hypertrophy with reduced colloid								
Minimal	0	0					1	0

M = male, F = female.

- No noteworthy findings; + Mild.

* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001. Body weight data analysed using William's test, haematology and serum chemistry using Shirley's test, and organ weight data using Dunnett's test.

[a] Day 28 mean data shown. Additional (satellite) animals were used for the toxicokinetic assessment. There were no concentrations of capivasertib above the LLOQ in samples taken from rats dosed with vehicle.

[b] One female was terminated for welfare reasons on Day 10 after showing signs of altered muscle tone, eyes shut/half shut, respiration rate decreased and depth increased, decreased motor activity and cold extremities. It is considered that this death was unlikely to be due to capivasertib as there were no signs in the majority of animals at the higher dose level or in any remaining animals at this dose level over the dosing period.

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

[d] The only notable observation was a general increase in urine output from Day 9 onwards, particularly in males.

[e] Measurements taken from aliquots from the TK blood samples from the recovery group control and TK satellite animals (males only).
NS = blood sample not taken.

[f] An Accu-Chek monitor was used for instant measurement of plasma glucose. A small sample (residual blood in the needle from toxicokinetic sampling at the same time points or, in the case of the control animals, from the result of a tail prick) was used for these measurements.

[g] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Displayed figures are for the absolute organ weight effects.

Report Title: AZD5363: Six Month Oral (Gavage) Toxicity Study in the Rat

Test Article: Capivasertib

Species / Strain: Rat / Han Wistar

Duration of dosing: 182 days

Study number: 527477

Initial age: 7 to 8 weeks at start of dosing

Duration of post-dose: None

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 20[redacted] (males)/[redacted] 20[redacted] (females)

Method of administration: Oral (gavage)

Testing Facility: [redacted], UK

Special features: Limited reprotox

Vehicle / Formulation: Solution in 0.5% (w/v) Methocel E4M (HPMC) in Milli-Q water

No observed adverse-effect level: 30 mg/kg/day for females and 10 mg/kg/day for males

Conclusion: Oral gavage administration of capivasertib (formerly referred to as AZD5363) to rats once a day for 6 months at doses of 10, 30, 100 (males) or 150 mg/kg/day (females) was generally well tolerated. Administration of the test item was associated with reduced body weight gain and food consumption for animals receiving 100/150 mg/kg/day and reduced body weight gain for males receiving 30 mg/kg/day. Clinical pathology changes were evident at ≥ 30 mg/kg/day, however they were more prevalent and pronounced at 100/150 mg/kg/day and included electrolyte, glucose, insulin and total protein changes. At ≥ 30 mg/kg/day for males, microscopic findings were observed in kidney, liver, pancreas, adrenal gland and thyroid gland. At 100/150 mg/kg/day microscopic findings were also observed in thymus, femur and sternum bone marrow for both sexes, and for males also in the pituitary gland, testis and epididymis. Due to the microscopic findings noted, the No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) was considered to be 30 mg/kg/day for females and 10 mg/kg/day for males.

Daily Dose (mg/kg)	0		10		30		100/150[#]	
Number of Animals	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Toxicokinetics[a]:								
$AUC_{(0-t)}$ (µmol.h/L)			2.16	2.77	12.2	20.4	48.7	41.5
C_{max} (µmol/L)			0.648	0.997	2.92	2.88	10.5	15.3
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	1	0	0	0	0	0	1	0
Body Weight (%)[b,c]	(g)							
Day 183	462	256	-4	2	-7	-2	-33***	-11**
Body Weight Gain (%)[b,c]	(g)							
Days 1-183	260	103	-7	9	-12*	-5	-58***	-27***
Food Consumption (%)[b,c]	(g/animal/day)							
Days 176/183	22.3	15.7	-7	-1	-8	-4	-16**	-15*
Water Consumption (%)[b,c]	(mL/animal/day)							
Days 176/183	19.7	22.3	7	-3	18	0	66***	-9
Haematology								
Week 13								
Lymphocytes (10^9/L)	4.79		3.79		3.52		2.11***	
Week 27								
Lymphocytes (10^9/L)	4.43		4.27		3.79		2.47***	

Daily Dose (mg/kg)	0		10		30		100/150[#]	
Number of Animals	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Serum Chemistry								
Week 13								
Albumin (g/L)		53		53		52		47**
Alubumin/Globumin Ratio	2.2	2.8	2.2	2.8	2.3	2.8	2.4	3.1
Aspartate Aminotransferase (U/L)	67		60		67		124*	
Calcium (mmol/L)	2.75	2.80	2.74	2.75	2.69	2.74	2.66*	2.56***
Chloride (mmol/L)	104	102	103	103	104	103	106*	104**
Fructosamine (µmol/L)	132		133		128		157*	
Globulin (g/L)	22	19	22	19	20	19	19	15*
Phosphate (mmol/L)	1.52	1.21	1.30	1.13	1.01*	1.04	0.51***	0.75**
Total Protein (g/L)		71		71		70		62**
Week 27								
Albumin (g/L)		51		50		50		47*
Alubumin/Globumin Ratio	2.0	3.2	2.0	3.2	2.2*	3.0	2.4***	3.3
Aspartate Aminotransferase (U/L)	69	67	61	82	71	88	130**	98***
Calcium (mmol/L)	2.57	2.58	2.54	2.55	2.54	2.55	2.47***	2.46***
Chloride (mmol/L)	102	102	102	102	103	104	104*	106***
Creatinine (µmol/L)	32	35	32	33	33	35	27***	31**
Fructosamine (µmol/L)	145		146		142		165***	
Globulin (g/L)	22	17	21	16	20*	16	18***	15**
Phosphate (mmol/L)	1.20	1.17	1.14	1.16	1.11	0.99*	0.84**	0.83***
Potassium (mmol/L)	4.1		4.0		4.4		3.8*	
Sodium (mmol/L)	144	143	144	142	144	144	145*	145***
Total Bile Acids (µmol/L)	8.4	13.5	19.2	18.7	21.8	17.8	43.6***	36.8***
Total Protein (g/L)	63	68	63	66	62	67	60***	62***
Urea (mmol/L)	5.6	6.3	5.3	5.8	5.7	5.5*	7.8***	7.2

Daily Dose (mg/kg)	0		10		30		100/150[#]	
Number of Animals	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Urinalysis								
Week 13								
Creatinine (mmol/L)	6.28	4.28	6.04	5.55	3.76	5.23	1.14***	2.87
Glucose (mmol/L)	0.42	0.28	0.35	0.34	0.26	0.33	173.71*	32.46***
Glucose/ Creatinine	0.07	0.07	0.06	0.07	0.07	0.07	189.96*	13.60***
NAG/ Creatinine	1.2	1.9	1.2	1.9	1.5	1.9	2.8**	2.7**
Volume (mL)	1.2	3.6	1.5	3.3	3.0	3.7	8.6***	5.6**
Week 26								
Creatinine (mmol/L)	3.70	2.19	1.98	3.71	1.81*	2.33	1.08***	1.74
Glucose (mmol/L)	0.24	0.18	0.13	0.19	0.52	0.40	139.13*	83.02*
Glucose/ Creatinine	0.06	0.08	0.06	0.05	0.25	0.20	155.63***	68.84*
NAG/ Creatinine	1.0	2.2	1.1	1.8	1.6	2.3	2.0**	3.6
Volume (mL)	2.1	2.2	1.5	0.5	3.1	3.8	6.2 **	2.4
Organ Weights (%)[c,d]	(g)							
Adrenal	0.0517	0.0611	3	7	-5	-1	-26**	-22**
Epididymis	1.476		-1		-7		-38***	
Heart	1.216	0.838	-1	0	-2	-1	-16***	5
Kidney	2.397	1.515	-12**	1	-17***	-4	-33***	-14***
Liver	14.220	8.036	-8	1	-1	1	2	9*
Pituitary	0.0082	0.0124	0	3	-5	-2	-27***	-19*
Prostrate	0.488		-4		-9		-37***	
Spleen	0.682	0.476	-3	6	-14*	-6	-39***	-30***
Testis	3.628		3		0		-28***	
Thymus	0.304	0.231	6	11	-12	15	-55***	-24*
Uterus		0.892		17		-23		-38*
Gross Pathology								
Number examined	14	15	15	15	15	15	14	15
Kidney								
Small	0	0	0	1	0	3	1	7

Daily Dose (mg/kg)	0		10		30		100/150[#]	
Number of Animals	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Histopathology								
Number examined	14	15	15	15	15	15	14	15
Bone marrow, femur								
Decreased cellularity								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	1
Mild	0	0	0	0	2	0	4	0
Bone marrow, sternum								
Decreased cellularity								
Minimal	0	0	0	0	0	0	3	1
Epididymis								
Cellular debris								
Minimal	1		0		0		3	
Decreased cellularity: sperm								
Mild	1		0		0		2	
Gland, adrenal								
Hypertrophy; cortical zona glomerulosa								
Minimal	0	0	0	0	4	0	4	6
Mild	0	0	0	0	1	0	9	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Gland, pituitary								
Hypertrophy; pars distalis								
Minimal	0	0	0	0	0	0	4	0
Gland, thyroid								
Hypertrophy; follicular cell								
Minimal	0	0	0	0	8	0	6	6
Mild	0	0	0	0	1	0	5	3
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0

Daily Dose (mg/kg)	0		10		30		100/150[#]	
Number of Animals	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Kidney								
Decreased cell size/ nuclear crowding tubular								
Minimal	0	0	0	0	6	0	0	4
Mild	0	0	0	0	1	0	8	3
Moderate	0	0	0	0	0	0	5	0
Marked	0	0	0	0	0	0	1	0
Liver								
Vacuolation; glycogen								
Minimal	0	0	0	0	11	0	2	7
Mild	0	0	0	0	0	0	10	4
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Pancreas, endocrine								
Hypertrophy/ hyperplasia; islet of Langerhans								
Minimal	0	0	0	0	3	0	3	7
Mild	0	0	0	0	1	0	6	5
Moderate	0	0	0	0	0	0	5	0
Testis								
Degeneration/ atrophy; tubular								
Minimal	0		1		0	0	3	
Mild	1		0		0	0	5	
Moderate	0		0		0	0	1	
Thymus								
Decreased cellularity								
Minimal	0	0	0	0	0	0	5	5
Mild	0	0	0	0	0	0	3	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	4	0

Daily Dose (mg/kg)	0		10		30		100/150[#]	
Number of Animals	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Additional Examinations								
Glucose Monitoring (mmol/L)								
Day 1 +4 h	7.0	6.8	7.6	6.8	7.2	6.7	14.4	9.3
Week 13 +4 h	6.7	6.7	7.0	6.7	7.4	6.7	28.2	7.8
Week 26 +4 h	6.9	6.3	7.0	6.4	7.5	6.8	23.1	14.3
Glycosylated Haemoglobin (g/dL)								
Week 13	0.3		0.3		0.4		0.4	0.3
Week 27	0.3		0.3		0.3		0.5*	0.3
Insulin Monitoring (ug/L)								
Day 1 +4 h	0.9	0.6	0.8	0.5	0.8	0.5	24.6*	17.8
Week 13 +4 h	1.4	0.8	1.9	0.8	7.1	0.8	303.1**	18.0*
Week 26 +4 h	3.0	1.4	2.1	0.9	9.0	1.6	147.3*	66.9*
Thyroid Stimulating Hormone								
Week 13	0.355		0.217		0.296		2.222	
Week 27		0.255		0.425		0.388		1.376

M = male, F = female. [#] Doses administered as 100 mg/kg/day in males and 150 mg/kg/day in females

- No noteworthy findings;

* $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$.

[a] Week 26 mean data shown.[Additional (satellite) animals were used for the toxicokinetic assessment, M: 3 and F: 3 for all groups].

[b] At end of dosing period.

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

[d] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Displayed figures are for the absolute organ weight effects.

2.6.7.7.3 イヌ反復投与毒性試験

Report Title: AZD5363: One Month Oral Toxicity Study with Assessment of Recovery in the Dog

Test Article: Capivasertib

Species / Strain: Dog / Beagle

Duration of dosing: 28 days

Study number: 1112AD

Age at start of dosing: 53 – 68 weeks

Duration of post-dose: 4 weeks

GLP compliance: Yes

Date of first dose: *e.g.*: [redacted] 20[redacted]

Method of administration: Oral (gavage)

Testing Facility: AstraZeneca, UK

Special features: None.

Vehicle / Formulation: Suspension in water containing 0.5% w/v hydroxypropyl methylcellulose

No observed adverse-effect level: 3 mg/kg/day.

Conclusion: Oral administration of capivasertib (formerly referred to as AZD5363) to dogs for one month at dose levels up to 30 mg/kg/day was tolerated but was associated with reductions in body weight and reduced food consumption. An alteration in insulin signalling was noted at all dose levels and an increase in QTcR was noted at 30 mg/kg/day. Histopathological changes were noted in the male reproductive tract (testes, epididymides and prostate), thyroid gland, adrenal gland, pancreas, liver and thymus at a dose level of 30 mg/kg/day. In addition the thyroid, pancreatic and liver changes were noted in animals dosed at 10 mg/kg/day and 3 mg/kg/day (liver changes only). The effects were reversible with the lesions in the prostate gland, thyroid gland, pancreas, liver and thymus not apparent at the end of the 4 week recovery period although findings were still present in the testes and epididymides. The no adverse effect level for this study was 3 mg/kg/day.

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		3		10		30	
Number of Animals Main Recovery	M: 3 M: 0	F: 3 F: 0	M: 3 M: 0	F: 3 F: 0	M: 3 M: 0	F: 3 F: 0	M: 3 M: 3	F: 3 F: 3
Toxicokinetics [a]: $AUC_{(0\text{-}last)}$ (µmol.h/L) C_{max} (µmol/L)			 4.18 1.05	 5.86 1.30	 23.2 4.39	 25.1 5.06	 65.4 12.1	 101 12.2
Noteworthy Findings **Died or Sacrificed Moribund**	 0	 0	 0	 0	 0	 0	 0	 0
Body Weight Gain (kg) Days 1 – 29	 0	 -0.3	 0.2	 0.2	 0.3	 -0.3	 -0.6	 -0.5
Food Consumption (%) [b]	(g/animal/day)							
Weeks 2 – 3	350	300	-8.9	-6.0	-8.3	-37.0	-7.1	-12.7
Clinical Observations [c]	-	-	-	-	+	+	++	++
Electrocardiography (Week 1) QTcR 0 min (ms) 480 min (% change from pre-dose) QTcV 0 min (ms) 480 min (% change from pre-dose)	 253 -4.3 259 +1.9	 235 -2.6 263 +0.8	 245 +1.2 263 +1.5	 246 -0.8 241 +7.1	 228 +6.1 236 +9.3	 242 +2.9 257 +7.0	 244 +4.5 262 +5.3	 235 +10.6 252 +11.5
Haematology (Day 25) Platelets (10^9/L)	284	377	390	378	335	438	502*	569
Serum Chemistry Day 25 Glucose (mmol/L) Urea (mmol/L)	 5.7 5.2	 6.0 4.9	 5.6 4.9	 5.9 4.0	 5.3 3.3	 5.3 3.3	 5.2 3.4*	 5.4* 2.7*

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		3		10		30	
Number of Animals Main Recovery	M: 3 M: 0	F: 3 F: 0	M: 3 M: 0	F: 3 F: 0	M: 3 M: 0	F: 3 F: 0	M: 3 M: 3	F: 3 F: 3
Serum Chemistry Day 28 Insulin (µg/L)								
20 min post-dose	0.05	0.07	0.08	0.09	0.09	0.19	0.32*	0.21
1 hour	0.03	0.04	0.03	0.11	0.18	0.39	2.09*	1.30*
4 hours	0.08	0.04	0.15	0.22	2.50	4.87	24.98*	17.47*
8 hours	0.15	0.16	0.15	0.21	1.20	1.00	20.81*	18.72*
12 hours	0.16	0.07	0.15	0.17	0.89	0.21	3.46	5.60
Blood glucose (mmol/L)								
20 min post-dose	4.2	4.3	4.6	4.3	3.8	4.0	4.3	3.9
1 hour	4.3	4.3	4.2	4.1	4.3	4.5	4.6	3.6
4 hours	3.8	3.9	4.4	4.1	5.5	6.0	10.1	7.0
8 hours	4.2	4.1	4.3	3.7	4.3	4.4	14.2	7.9
12 hours	4.1	3.9	4.0	3.8	4.2	4.3	5.1	6.4
Urinalysis (Day 25) Specific gravity	1.033	1.039	1.031	1.025	1.025	1.022	1.018	1.020*
Organ Weights (%) [b]	(g)							
Adrenal gland	1.626	1.674	-5.4	-3.0	-11.8	-11.9	+12.3	-9.1
Epididymides	4.369		-16.4		-16.3		-19.9	
Liver	430.979	412.896	-1.9	-6.0	+4.0	-13.6	+25.6	+9.9
Prostate gland	10.273		-40.5		-33.5		-46.8	
Testes	17.310		+2.9		-0.5		-27.9	
Thymus	6.544	6.492	-27.0	+32.6	+11.4	-22.7	-46.9	-36.6
Thyroid gland	1.023	1.021	-17.3	-28.0	-20.8	-7.6	-31.0	-30.8
Histopathology **Number examined**	3	3	3	3	3	3	3	3
Adrenal gland Cortical hypertrophy Slight	0	0	0	0	0	0	1	1

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		3		10		30	
Number of Animals Main Recovery	M: 3 M: 0	F: 3 F: 0	M: 3 M: 0	F: 3 F: 0	M: 3 M: 0	F: 3 F: 0	M: 3 M: 3	F: 3 F: 3
Liver								
Increased hepatocytic glycogen vacuolation/hypertrophy								
Minimal	1	0	0	1	1	0	0	0
Slight	0	0	1	1	1	2	3	2
Moderate	0	0	0	0	1	0	0	0
Pancreas								
Islet hypertrophy / hyperplasia								
Minimal	0	0	0	0	1	1	0	1
Slight	0	0	0	0	1	0	2	1
Epididymides								
Increased intratubular cellular debris								
Minimal	1		0		1		1	
Slight	0		0		0		2	
Prostate gland								
Reduced epithelial height								
Slight	0		0		0		2	
Testes								
Tubular degeneration								
Moderate	0		0		0		3	
Thymus								
Hypocellularity +/- lymphocytolysis								
Minimal	0	1	1	0	0	0	1	2
Slight	0	0	0	0	0	0	2	1
Thyroid gland								
Increased epithelial height +/- decreased colloid								
Minimal	0	1	0	0	1	1	2	2
Post-dose Evaluation:								
Number Evaluated	0	0	0	0	0	0	3	3
<u>Noteworthy findings</u>								
Clinical Observations [d]							-	+

Daily Dose (mg/kg)	0 (Vehicle)		3		10		30	
Number of Animals Main Recovery	M: 3 M: 0	F: 3 F: 0	M: 3 M: 0	F: 3 F: 0	M: 3 M: 0	F: 3 F: 0	M: 3 M: 3	F: 3 F: 3
Organ Weights (g) Epididymides Prostate gland Testes Thymus							 3.920 7.574 14.870 7.934	 9.046
Histopathology **Number examined**							 3	 3
Epididymides Decreased sperm Slight Moderate Increased intratubular cellular debris Slight							 1 2 1	
Testes Tubular degeneration Slight Moderate							 1 2	

M = male, F = female.

- No noteworthy findings; + Mild; ++ Moderate.

* $p<0.05$. Haematology and serum chemistry data analysed using Shirley's test.

[a] Day 28 mean data shown. There were no concentrations of capivasertib above the LLOQ (0.0233 µmol/L) in samples taken from dogs dosed with vehicle only.

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

[c] Adverse clinical observations at 30 mg/kg/day included emesis, subdued behaviour, trembling and faecal changes (soft/fluid and/or dark/red and/or reduced/none). Dosing at 10 mg/kg/day was associated with emesis, trembling and with soft faeces.

[d] Soft faeces was noted through the recovery period until Day 51 females.

Report Title: AZD5363: Nine Month Oral (Gavage) Toxicity Study in the Dog

Test Article: Capivasertib

Species / Strain: Dog/beagle

Duration of dosing: 9 months

Study number: 527482

Initial age: 5 to 6 months at start of dosing

Duration of post-dose: None

GLP compliance: Yes

Date of first dose: [redacted] 20[redacted]

Method of administration: Oral (gavage)

Testing Facility: [redacted], UK

Special features: None

Vehicle / Formulation: 0.5% w/v HPMC in Milli-Q water

No observed adverse-effect level: 1.5 mg/kg/day

Conclusion: Oral gavage administration of capivasertib (formerly referred to as AZD5363) to dogs once a day for 9 months at doses of 0, 1.5, 5, or 15 mg/kg/day was associated at ≥ 5 mg/kg/day with microscopic findings in the pancreas (islet of Langerhans vacuolation) which correlated with increased glucose levels and insulin levels, and at 15 mg/kg/day with high glycosylated haemoglobin levels, microscopic findings in the testis (tubular degeneration) and epididymis (cellular debris), and organ weight changes in the testis (lower), epididymis (lower), liver (higher), and adrenal gland (higher). A dose level of 1.5 mg/kg/day was well tolerated and is considered to be the no observed effect level (NOEL) established by this study.

Daily Dose (mg/kg)	0		1.5		5.0		15	
Number of Animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Toxicokinetics[a]:								
$AUC_{(0\text{-}t)}$ (μmol·h/L)			3.67	2.38	16.4	13.3	34.5	26.5
C_{max} (μmol/L)			1.02	0.77	2.96	3.35	8.17	6.62
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Plasma Chemistry								
Insulin (ug/L)								
Day 1 + 4 h	2.34	1.73	2.95	2.20	6.13	13.04	187.65	87.35
Day 1 + 24 h	0.33	0.38	0.32	0.74	0.44	0.18	0.59	0.91
Week 13 + 4 h	2.38	0.70	1.87	1.63	10.57	108.71	295.25	164.45
Week 13 + 24 h	0.40	0.26	0.44	0.59	0.49	0.49	1.49	1.52
Week 26 + 4 h	1.21	0.57	2.50	1.85	13.57	39.74	288.13	163.25
Week 26 + 24 h	0.62	0.33	0.73	0.67	0.49	0.58	1.55	1.07
Week 39 + 4 h	1.55	0.46	1.29	1.29	32.58	30.88	304.65	166.12
Week 39 + 24 h	0.79	0.13	0.23	0.33	0.39	0.46	1.27	0.75
Glucose (mmol/L)								
Week 1 + 4 h	5.1	4.8	5.8	5.6	6.0	5.8	16.9	12.6
Week 1 + 24 h	5.2	5.3	5.4	5.6	5.5	5.2	5.1	5.2
Week 13 + 4h	4.4	3.9	4.6	4.7	5.2	8.1	23.5	18.6
Week 13 + 24h	4.9	4.9	4.9	5.0	4.9	4.6	4.2	4.2
Week 26 +4 h	4.4	4.0	4.7	4.5	5.1	6.0	24.6	22.0
Week 26 + 24 h	4.8	4.7	5.1	5.3	4.8	4.8	4.1	4.4
Week 39 + 4 h	4.0	3.6	4.5	4.8	5.7	7.2	24.7	22.5
Week 39 + 4 h	4.3	4.3	4.2	4.1	4.4	4.1	4.7	4.1
Glycosylated haemoglobin (%)								
Week 13	-	-	-	-	-	-	2.3	2.6
Week 26	-	-	-	-	-	-	2.7	2.7
Week 39	1.9	-	-	-	-	2.0	2.8	3.0

Daily Dose (mg/kg)	0		1.5		5.0		15	
Number of Animals	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4	M: 4	F: 4
Urinalysis[b]								
Urinary glucose (mmol/L)	0.45	0.36	0.47	0.57	10.33	0.80	131.64	140.23
Glucose/creatinine ratio	0.03	0.04	0.04	0.04	0.98	0.07	29.10	50.28
Organ Weights (%)[c,d]	(g)							
Adrenal gland	1.164	1.278	+9.7	+11.5	+22.1	+4.9	+11.3	+19.9
Epididymis	3.720		+8.1		+4.8		-20.1	
Liver	317.876	299.926	+0.1	-11.1	-1.2	+1.1	+29.3	+22.6
Testis	17.894		-10.9		-18.9		-38.9	
Histopathology								
Number examined	4	4	4	4	4	4	4	4
Testes								
Degeneration; tubular	0		0		0		2	
Mild	0		0		0		2	
Epididymis								
Cellular debris; spermatocyte	0		0		0		1	
Minimal	0		0		0		1	
Pancreas								
Vacuolation; islet of Langerhans	0	0	0	0	1	0	2	1
Minimal	0	0	0	0	1	0	0	0
Mild	0	0	0	0	0	0	2	1

M = male, F = female.

[a] Day 270 mean data shown.
[b] At end of dosing period.
[c] For controls, group means are shown, for treated groups, percent differences from controls are shown.
[d] Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated (with the exception of the relative male liver weight at 5 mg/kg which was slightly higher than the control value). Displayed figures are for the absolute organ weight effects.

2.6.7.8　*In vitro* 遺伝毒性試験

Report Title: AZD5363: Genetic Toxicity Evaluation using a Bacterial Reverse Mutation Test

Test Article: Capivasertib

Test for induction of: reverse mutation in bacterial cells

No of independent assays: 1

Study number: 2332BV

Strains: *S.typhimurium* (TA1535, TA1537, TA98 and TA100) and *E. coli* (*uvrA*/pKM101)

No of replicate cultures: 3

GLP compliance: Yes

Metabolizing system: Aroclor induced rat liver S9, 10%

No of cells analysed/culture: Not applicable

Testing Facility: [redacted] UK, AstraZeneca R&D Alderley, [redacted], [redacted], [redacted], England

Vehicles: **For Test Article:** DMSO

For positive controls: DMSO (2-nitrofluorene, 2-aminoanthracene) and Water (sodium azide, 9-aminoacridine HCl, potassium dichromate).

Treatment: Assay 1 (-/+ S9), pre-incubation (60 minutes) followed by 72 hours plate incubation.

Date of treatment: [redacted]20[redacted]

Capivasertib was formerly referred to as AZD5363.

Cytotoxic effects: The minimum dose showing evidence of cytotoxicity ranged from 405 to 1232 µg (0.944 to 2.87 µmol) per plate. The maximum dose level scored for revertant colonies ranged from 1232 to 4100 µg (2.87 to 9.56 µmol) per plate.

Genotoxic effects: None.

Metabolic activation	Test Article	Concentration (μg/plate)	Liquid pre-incubation assay: Revertant colony counts, mean (SD)				
			TA1535	TA1537	TA98	TA100	*E. coli uvrA*/ pKM101
Without activation	DMSO	50 μL/plate	17 (3)	11 (1)	34 (4)	117 (9)	183 (4)
	AZD5363	4.6	18 (3)	12 (2)	26 (5)	101 (2)	156 (8)
		13.6	15 (1)	11 (1)	27 (6)	105 (9)	167 (15)
		41	19 (2)	12 (1)	29 (2)	113 (11)	156 (18)
		131	16 (2)	13 (3)	22 (2)	113 (21)	145 (2)
		405	16 (2) [S]	10 (2) [S]	26 (4) [S]	111 (12) [S]	147 (7)
		1232	3 (2) [V]	4 (1) [V]	18 (2) [V]	43 (10) [V]	147 (5) [R]
		4100 [P]	0 (0) [F]	0 (0) [F]	0 (0) [F]	0 (0) [F]	113 (11) [V]
	Sodium azide	0.5	448 (20)			593 (56)	
	9-Aminoacridine.HCl	50		244 (56)			
	2-Nitrofluorene	0.5			458 (29)		
	Potassium dichromate	25					792 (28)

No statistical analysis was conducted.

[P] Precipitate.

[S] Slightly reduced lawn.

[R] Reduced lawn.

[V] Very reduced/absent lawn.

[F] Pseudorevertants.

Metabolic activation	Test Article	Concentration (μg/plate)	Liquid pre-incubation assay: Revertant colony counts, mean (SD)				
			TA1535	TA1537	TA98	TA100	*E. coli uvrA*/ pKM101
With activation	DMSO	50 μL/plate	17 (2)	14 (2)	30 (10)	138 (15)	193 (17)
	AZD5363	4.6	17 (3)	13 (2)	42 (6)	118 (10)	190 (20)
		13.6	17 (1)	16 (1)	33 (5)	122 (5)	199 (23)
		41	17 (3)	14 (2)	36 (6)	121 (16)	204 (24)
		131	16 (2)	14 (2)	40 (11)	117 (2)	206 (25)
		405	17 (1) [S]	12 (2) [S]	34 (4) [S]	99 (2) [S]	188 (26)
		1232	3 (1) [V]	2 (1) [V]	24 (2) [V]	83 (7) [V]	161 (4) [R]
		4100 [P]	0 (0) [F]	0 (0) [F]	0 (0) [F]	0 (0) [F]	134 (17) [V]
	2-Aminoanthracene	2	180 (1)	223 (46)	1378 (17)	1457 (99)	
		20					1721 (50)

No statistical analysis was conducted.

[P] Precipitate.

[S] Slightly reduced lawn.

[R] Reduced lawn.

[V] Very reduced/absent lawn.

[F] Pseudorevertants.

Report Title: Genetic Toxicity Evaluation using the Mouse Lymphoma Cell Thymidine Kinase Locus Assay

Test Article: Capivasertib

Test for induction of: Gene mutation and chromosome aberrations

No of independent assays: 2

Study number: 2333MV

Strains: L5178Y $TK^{+/-}$ Mouse Lymphoma 3.7.2.c

No of replicate cultures: 4 solvent control, 2 test concentrations

GLP compliance: Yes

Metabolizing system: Aroclor induced rat liver S9, 2%

No of cells per culture: 1 x 10^7 (3 hour treatment)
4 x 10^6 (24 hour treatment)

Testing Facility: [redacted] UK, AstraZeneca R&D [redacted], [redacted], [redacted]

Vehicles **For Test Article:** DMSO **For positive controls:** DMSO

Treatment: Assay 1, 3 hours in the presence and absence of S9 and 24 hours in the absence of S9. Assay 2, 24 hours in the absence of S9.

Date of treatment: [redacted] 20[redacted] to [redacted] 20[redacted]

Capivasertib was formerly referred to as AZD5363.

Cytotoxic effects: Survival, expressed as relative total growth, was reduced to ≤ 20% of concurrent solvent control at 0.45 mmol/L in the presence and absence of S9 (3 hours exposure) and 0.005 mmol/L in the absence of S9 (24 hours exposure).

Genotoxic effects: None

Metabolic activation	Test Article	Concentration (µg/mL)	Assay 1: Mutation test using 3 hours exposure							
			Suspension growth	Cloning efficiency (%)	Relative total growth (%)		Mutant frequency (x 10^{-6})			Small colonies (%) #
					Replicate	Mean	Replicate	Pooled	Small	
With activation	DMSO	10 µL/mL	17	80	96		102			
			17	91	107		114			
			17	84	100		79			
			16	84	97	100	94	98	78	81
	AZD5363	42.9	14	85	82		96			
			15	100	102	92	85	91	82	92
		85.8	15	92	95		82			
			12	105	90	93	67	74	59	81
		128.7	12	98	85		80			
			11	159	128	107	55	69	53	78
		171.6	4	89	23		95			
			5	79	28	26	115	105	55	55
		193.0	3	72	13		85			
			3	127	27	20	67	78	50	65
	Cyclophosphamide	0.01 mmol/L	14	61	60		485			
			12	57	49	55	935	679	539 [A]	85

Linear trend not significant (weighted regression of replicate In(MF)).

[#] Proportion of small colony-containing wells among positive wells.

[A] Accepted (IMF > 300, Small colony IMF > 10% of IMF or > 150).

Metabolic activation	Test Article	Concentration (µg/mL)	Assay 1: Mutation test using 3 hours exposure							
			Suspension growth	Cloning efficiency (%)	Relative total growth (%)		Mutant frequency (x 10^{-6})			Small colonies (%) #
					Replicate	Mean	Replicate	Pooled	Small	
Without activation	DMSO	10 µL/mL	16	89	92		95			
			17	101	117		78			
			16	88	95		152			
			16	88	95	100	107	107	56	55
	AZD5363	42.9	13	87	72		112			
			12	82	66	69	123	118	52	46
		85.8	11	92	70		79			
			11	87	62	66	77	78	39	52
		128.7	11	87	62		120			
			10	96	61	62	101	110	65	61
		171.6	6	82	31		127			
			5	87	27	29	163	145	101	72
		193.0	2	87	14		127			
			3	87	15	15	98	112	102	91
	4-nitroquinoline-1-oxide	0.001 mmol/L	9	70	43		995			
			8	67	36	40	1342	1150	373 [A]	50

Linear trend not significant (weighted regression of replicate In(MF)).

[#] Proportion of small colony-containing wells among positive wells.

[A] Accepted (IMF > 300, Small colony IMF > 10% of IMF or > 150).

Metabolic activation	Test Article	Concentration (µg/mL)	Assay 2: Mutation test using 24 hours exposure							
			Suspension growth	Cloning efficiency (%)	Relative total growth (%)		Mutant frequency (x 10^{-6})			Small colonies (%) #
					Replicate	Mean	Replicate	Pooled	Small	
Without activation	DMSO	10 µL/mL	48	88	100		148			
			54	76	97		208			
			55	84	109		105			
			50	80	95	100	98	138	64	50
	AZD5363	0.1	55	75	97		81			
			46	71	77	87	107	94	33	37
		0.3	52	83	102		99			
			54	88	112	107	93	96	39	43
		0.6	40	85	80		92			
			33	108	83	82	79	86	38	47
		1.1	21	83	41		42			
			18	79	34	38	77	59	16	29
		2.1	5	67	7		87			
			3	56	5	6	104	95	53	57
	4-nitroquinoline-1-oxide	0.0003 mmol/L	37	62	54		1242			
			32	57	43	49	1178	1208	308 [A]	40

Linear trend not significant (weighted regression of replicate In(MF)).

[#] Proportion of small colony-containing wells among positive wells.

[A] Accepted (IMF > 300, Small colony IMF > 10% of IMF or > 150).

2.6.7.9　*In vivo* 遺伝毒性試験

Report Title: AZD5363. Genetic Toxicity Evaluation using the Rat Micronucleus Test after Two Oral Doses

Test Article: Capivasertib

Test for induction of: Bone-marrow micronuclei (MN)

Treatment schedule: Two doses 24 hours apart

Study number: 2718QR

Species/strain: Rat / HsdHan :WIST

Sampling time: 24 hours after second dosing

GLP compliance: Yes

Age at start of dosing: 10 weeks

Method of administration: Oral

Testing Facility: AstraZeneca

Cells evaluated: Immature erythrocytes (IEs)

Vehicle/formulation: Water containing 0.5% w/v hydroxypropyl methylcellulose / suspension

Date of dosing: [redacted]20[redacted]

Number of cells analysed/animal: 6000

Special features: None

Toxic/cytotoxic effects: None

Genotoxic effects: A significant increase in MIE in the bone marrow of male Wistar Han rats at a dose of 150 mg/kg/day (350 µmol/kg/day) given for two days.

Evidence of exposure: Tested up to the maximum tolerated dose of 150 mg/kg/day for two days.

Sampling time	Test article	Dose mg/kg	Number of animals	Mean % IEs	Mean MN per 2000 IEs
24 Hours after second dose	Vehicle	10 mL/kg	7 M	61.7	1.9
	AZD5363	15	7 M	60.8	2.0
	AZD5363	75	7 M	57.8	2.7
	AZD5363	150	7 M	54.1	4.1**
	Cyclophosphamide	20	3 P	57.5	57.2***

** p<0.01. Average square root transformation was performed. An ANOVA on transformed counts was carried out (5% level) trend test.
*** p<0.001. Fisher's Exact Test.
IE Immature erythrocytes
MIE Micronucleated immature erythrocytes
P Positive slides from 2719QR

Report Title: AZD5363: Kinetochore Labelling of Slides from the Rat Micronucleus Test

Test Article: Capivasertib

Test for incidence of: Kinetochores in micronuclei (MN)

Treatment schedule: Two doses 24 hours apart

Study number: 2759KV

Species/strain: Rat / HsdHan :WIST

Sampling time: 24 hours after second dosing

GLP compliance: No

Age at start of dosing: 10 weeks

Method of administration: Oral

Testing Facility: AstraZeneca

Cells evaluated: Micronucleated erythrocytes

Vehicle/formulation: Water containing 0.5% w/v hydroxypropyl methylcellulose / suspension

Date of dosing: [redacted]20[redacted]

Number of erythrocytes analysed/slide: 20,000

Special features: In-life phase and slide preparation conducted under study 2718QR.

Genotoxic effects: The majority of the MN induced in the bone marrow of rats given capivasertib (formerly referred to as AZD5363) contained a kinetochore signal and, that capivasertib has an aneugenic mode of action.

Test Article	Dose (mg/kg)	Number of immature erythrocytes (IEs)	Total Micronuclei (MN)	Total Kinetochore positive MN	Kinetochore positive MN in IEs (%)	Induced Kinetochore positive MN (%)
Vehicle	10 mL/kg	86380	59	20	0.023	-
AZD5363	150	75740	151	103	0.136	86

No statistical analysis was conducted.

Report Title: AZD5363: Genetic Toxicity Evaluation Using the Rat Micronucleus Test After Two Oral Doses		**Test Article: Capivasertib**
Test for induction of: Bone-marrow micronuclei (MN)	**Treatment schedule:** Two administrations	**Study number:** 8331243
Species / Strain: Male Han Wistar (Crl:WI(Han))	**Test article and vehicle control sampling time:** 24 hours after the last dose administration (Day 3, equivalent to 48 hours)	**GLP compliance:** Yes
Age: 9-10 weeks	**Positive control sampling time:** 48 hours, 24 hours after a single dose administration.	**Testing Facility:** [redacted], UK
Cells evaluated: Immature erythrocytes (IEs)	**Method of administration:** Oral gavage	**Date of dosing:** [redacted] and [redacted] 20[redacted]
Number of cells analysed/animal: 4000 IE	**Vehicle / Formulation:** 0.5% w/v HPMC in water / solution	

Toxic/cytotoxic effects: No clinical signs of toxicity. Decreased group mean bodyweight gains observed as compared to the vehicle control group.

Genotoxic effects: No biologically relevant increases in MN IE observed.

Evidence of exposure: Not required.

Test Article	Dose (mg/kg)	Number of Animals	Group Mean % IE	Group Mean %Micronucleated IE (±SD)
Vehicle	0	7M	52.03	0.10±0.05
AZD5363	100	7M	54.20	0.10±0.07 NS
AZD5363	125	7M	50.74	0.15±0.09 NS
AZD5363	150	7M	52.54	0.16±0.08 NS
Cyclophosphamide	20	3M	51.60	1.39±0.55 [a]

M = Male
NS = Not significant
[a] Analysis conducted using Wilcoxon Rank Sum Test: $p<0.01$
Terpstra-Jonckheere Trend Test = P-value: 0.0522, NS

Report Title: AZD5363: Genetic Toxicity Evaluation using the Rat Comet Assay after Two Oral Doses

Test Article: Capivasertib

Test for induction of: DNA strand breaks

Treatment schedule: Two doses given 21 hours apart

Study number: 3274BR

Species/strain: Rat/ HsdHan:WIST

Sampling time: 3 hours after second dose

GLP compliance: Yes

Age at start of dosing: 10 weeks

Method of administration: Oral, gavage

Testing Facility: AstraZeneca

Tissues evaluated: Liver

Vehicle/formulation: Water containing 0.5% w/v hydroxypropyl methylcellulose

Date of dosing: [redacted] 20[redacted]

Number of nuclei analysed/animal: 150

Special features: None

Toxic/cytotoxic effects: None

Genotoxic effects: None

Evidence of exposure: Tested up to a maximum tolerated dose of 150 mg/kg for 2 days.

Sampling time	Test article	Dose mg/kg	Number of animals	% TI Group mean ± SD	% NDCN Group mean ± SD
3 Hours after second dose	Vehicle	10 mL/kg	7M	1.5 ± 0.50	0.5 ± 0.69
	AZD5363	75	7M	1.8 ± 0.60	0.7 ± 0.58
	AZD5363	150	7M	2.3 ± 1.09	1.0 ± 0.77
	Methylnitrosourea	17	3M	69.4 ± 8.03	NS

TI　Tail Intensity; NDCN　non detectable cell nuclei; NS not scored.

2.6.7.10　　がん原性試験

該当なし

2.6.7.11　　生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

該当なし

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

該当なし

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

Report Title: AZD5363: Oral (Gavage) Preliminary Embryofetal Development and Pre and Post Natal Study in the Rat

Test Article: Capivasertib

Design similar to ICH 4.1.3? Yes

Duration of dosing:
Phase 1: 15 days (Days 2 to 16 of gestation)
Phase 2: Day 6 of gestation to at least Day 6 of lactation

Study number: 496879

Species / Strain: Rat / Han Wistar CRL:WI(Han)

Day of mating: Day 0

GLP compliance: Yes

Initial age at start of dosing:
Phase 1: approximately 10 to 12 weeks
Phase 2: approximately 10 to 11 weeks

Day of C-section (Phase 1): Day 21

Testing Facility: [redacted], UK

Date of first dose:
Phase 1: [redacted] 20[redacted]
Phase 2: [redacted] 20[redacted]

Method of administration: Oral (gavage)

Vehicle / Formulation: Suspension in 0.5% w/v HPMC (Methocel E4M) in Milli-Q water

No Observed Adverse-Effect Level:

Special features: None.

F_0 Females:
Phase 1: 30 mg/kg/day
Phase 2: 10 mg/kg/day

F_1 Litters:
Phase 1: 30 mg/kg/day
Phase 2: 10 mg/kg/day

Conclusion: Once daily administration of capivasertib (formerly referred to as AZD5363) from Day 2 to 16 of gestation or Day 6 of gestation to at least Day 6 of lactation at dose levels up to and including 150 mg/kg/day was associated with reduced maternal body weight gain, food consumption and increased blood glucose levels. In addition, administration at 150 mg/kg/day over Days 2 to 16 of gestation was association with reduced embryofetal survival and reduced uterine and fetal weights. Administration of 150 mg/kg/day over Day 6 of gestation to at least Day 6 of lactation was also associated with a reduction in pup and litter weights.

Based on the results of this study when capivasertib was administered from Day 2 to 16 of gestation the maternal No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) and the embryofetal No Observed Effect Level (NOEL) were considered to be 30 mg/kg/day. When capivasertib was administered from Day 6 of gestation to at least Day 6 of lactation the maternal No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) and the reproductive No Observed Effect Level (NOEL) were considered to be 10 mg/kg/day.

Phase 1				
Daily dose (mg/kg)	0 (Vehicle)	10	30	150
Dams/does:	8	8	8	8
Toxicokinetics [a]: $AUC_{(0-t)}$ (µmol.h/L) C_{max} (µmol/L)		 1.46 0.655	 6.42 3.69	 25.6 5.79
Number pregnant	5	7	6	8
Number died or sacrificed moribund	0	0	0	0
Number aborted or with total resorption of litter	1	0	0	0
Clinical observations	-	-	-	-
Necropsy observations	-	-	-	-
Gestation body weight gain (%) [b] Days 2 – 16	(g) 74	 65	 64	 45
Gestation food consumption (%) [b] Day 10	(g/animal/day) 20.9	 15.4	 18.0	 15.2
Blood glucose (mmol/L) Day 16: 2 hours-post dose 24 hours	 5.3 4.7	 6.0 5.9	 8.7 6.3	 10.2 6.3
Mean number of corpora lutea	11.3	11.4	11.0	12.0
Mean number of implantations	11.3	11.3	10.5	11.6
Mean % pre-implantation loss	0.0	1.2	4.9	2.8
Litters: **Number of litters evaluated**	 4	 7	 6	 8
Number of live fetuses	44	74	61	81
Number of litters with dead fetuses	0	0	0	0
Mean % post-implantation loss	6.6	6.8	2.9	12.6
Mean fetal body weight (g)	58.56	57.26	56.97	51.48
Fetal sex ratios (% Males)	52	53	52	57
Fetal anomalies: (Total number examined viscerally) **Gross external**	 42 -	 74 -	 61 -	 81 -

Phase 1				
Daily dose (mg/kg)	0 (Vehicle)	10	30	150
Visceral anomalies				
Subcutaneous haemorrhage:				
Head	0	0	0	1
Limb	0	1	0	1
Cervical remnant of thymus	0	0	2	0
Additional liver lobe within median cleft	1	5	0	7
Umbilical artery left-sided	8	14	6	29
Small fetus	0	0	0	1
Skeletal anomalies	-	-	-	-

- No noteworthy findings.

[a] No capivasertib was detected in samples collected from control animals.

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

Phase 2			
Daily dose (mg/kg)	0 (Vehicle)	10	150
F_0 females:	8	8	8
Toxicokinetics [a]			
Number pregnant	8	8	8
Number died or sacrificed moribund	0	0	0
Number aborted or with total resorption of litter	0	0	0
Clinical observations	-	-	-
Necropsy observations	-	-	-
Gestation body weight gain (%) [b]	(g)		
Days 6 – 21	95	102	66
Lactation body weight gain (%) [b]	(g)		
Days 1 – 4	25	18	9
Days 4 – 7	8	12	12
Gestation food consumption (%) [b]	(g/animal/day)		
Day 15	21.1	20.1	16.6
Lactation food consumption (%) [b]	(g/animal/day)		
Day 4	48.5	40.7	27.4
Blood glucose (Days 7/8 of lactation) (mmol/L)			
Dams: 2 hours-post dose	5.4	5.7	10.8
24 hours	6.0	6.5	6.0
Pups: 2 hours-post dose	7.8	7.7	7.1
24 hours	7.9	8.3	7.8
Mean duration of gestation (days)	22	21.4	21.5
Mean number of corpora lutea	15.9	14.4	13.8
Mean number of implantations	12.3	11.4	11.0
Mean % pre-implantation loss	22.2	20.1	19.7
F_1 litters:			
Number litters evaluated	8	8	8
Mean number pups /litter	11.7	11.1	10.1
Mean number liveborn pups /litter	11.7	11.1	10.0
Post-natal survival to Day 4 (%)	88	100	99
Number of total litter losses	0	0	0

Phase 2			
Daily dose (mg/kg)	0 (Vehicle)	10	150
Change in pup body weights Days 1 to 6 (g) Males Females	 7.2 6.7	 6.7 6.5	 5.1 4.8
Pup sex ratios (% males) Day 1	59	47	61
Pup clinical signs	-	-	-
Pup necropsy observations: (Total number examined viscerally) Testes markedly reduced in size Cervical remnant of thymus	 (81) 0 2	 (89) 0 1	 (79) 1 0

- No noteworthy findings.

[a] On Days 7-8 of lactation capivasertib was not detected at 2 or 24 h post dose in the majority of pups at 10 mg/kg, whereas at 150 mg/kg/day capivasertib was quantifiable in the majority of pups; however concentrations were generally close to the limit of quantification.

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

2.6.7.14　　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

該当なし

2.6.7.15　　新生児を用いた試験

該当なし

2.6.7.16　局所刺激性試験

該当なし

2.6.7.17　その他の毒性試験

2.6.7.17.1　光毒性試験

Species / Strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (µg/mL)	Gender and number per group	Noteworthy findings	Testing Facility	Study number (AZ reference number)
Balb/c 3T3 fibroblasts	*In vitro* Evaluation of phototoxicity using the Neutral Red Uptake Assay	n/a	1.78 3.16 5.62 10.0 17.8 31.6 56.2 100	n/a	Capivasertib (formerly referred to as AZD5363) was not cytotoxic (–UVR IC_{50} and +UVR IC_{50} could not be calculated), and did not demonstrate phototoxic potential in the assay by the PIF criteria. The promethazine cytotoxicity and phototoxicity responses were acceptable, indicating that the assays were valid.	[redacted], USA	20065496 (3432BV)