目次

2.4 非臨床試験の概括評価 4
2.4.1 非臨床試験計画概略 4
2.4.2 薬理試験 5
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 5
2.4.2.2 副次的薬理試験 5
2.4.2.3 安全性薬理試験 6
2.4.3 薬物動態試験 6
2.4.3.1 分析法 6
2.4.3.2 吸収 6
2.4.3.3 分布 7
2.4.3.4 代謝 8
2.4.3.5 排泄 10
2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用 10
2.4.3.7 その他の薬物動態試験 11
2.4.4 毒性試験 11
2.4.4.1 単回投与毒性 11
2.4.4.2 反復投与毒性 11
2.4.4.3 遺伝毒性 12
2.4.4.4 がん原性 12
2.4.4.5 生殖発生毒性 13
2.4.4.6 局所刺激性 13
2.4.4.7 その他の毒性 13
2.4.5 総括及び結論 13
2.4.6 参考文献一覧 18

非臨床試験の概括評価の略号一覧表

略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
α1-AGP	α1-acid glycoprotein	α1-酸性糖タンパク
AUC	area under the concentration-time curve	濃度-時間曲線下面積
$AUC_{(0\text{-}6h)}$	AUC from zero time to 6 hours	投与時から 6 時間までの濃度-時間曲線下面積
$AUC_{(0\text{-}24h)}$	AUC from zero time to 24 hours	投与時から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積
$AUC_{(0\text{-}48h)}$	AUC from zero time to 48 hours	投与時から 48 時間までの濃度-時間曲線下面積
$AUC_{(0\text{-}inf)}$	AUC from zero time extrapolated to infinite time	投与時から投与後無限大までの濃度-時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性タンパク
bFGF	basic fibroblast growth factor	塩基性線維芽細胞増殖因子
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
CL_p	total plasma clearance	（血漿中濃度基準の）全身クリアランス
C_{max}	maximum observed concentration	最高濃度
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
DDI	drug-drug interaction	薬物間相互作用，薬物動態学的薬物相互作用
eq.	equivalent	当量
F	absolute bioavailability	絶対バイオアベイラビリティ
F_a	gastrointestinal absorption fraction	消化管吸収率
FGF	fibroblast growth factor	線維芽細胞増殖因子
FGFR	fibroblast growth factor receptor	線維芽細胞増殖因子受容体
HG	human γ-globulin	ヒトγ-グロブリン
hERG	human ether-à-go-go related gene	＊日本語の表現はありません
HSA	human serum albumin	ヒト血清アルブミン
HUVEC	human umbilical vein endothelial cell	ヒト臍帯静脈内皮細胞
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
K_m	Michaelis constant	ミカエリス定数
LC-MS/MS	liquid chromatography with tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析
LSC	liquid scintillation counter	液体シンチレーションカウンター
MATE	multidrug and toxin extrusion	多剤・毒性化合物排出
mRNA	messenger ribonucleic acid	メッセンジャーRNA
OAT	organic anion transporter	有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide	有機アニオン輸送ポリペプチド
OCT	organic cation transporter	有機カチオントランスポーター
PBPK	physiologically based pharmacokinetics	生理学的薬物速度論
P-gp	P-glycoprotein	P 糖タンパク
PK	pharmacokinetic, pharmacokinetics	薬物速度論，薬物動態，ファーマコキネティクス
R_B	blood to plasma concentration ratio	血液／血漿中濃度比

略号	省略していない表現（英語）	省略していない表現（日本語）
rCYP	recombinant human cytochrome P450	遺伝子組換えヒトチトクローム P450
SD	Sprague Dawley	－（ラット系統名）
$t_{½}$	terminal elimination phase half-life	最終消失半減期
TK	toxicokinetic, toxicokinetics	トキシコキネティクス
t_{max}	time at which the highest drug concentration occurs	最高濃度到達時間
VEGF	vascular endothelial growth factor	血管内皮増殖因子
V_{max}	maximum velocity	最大速度
V_{ss}	volume of distribution at steady state	定常状態における分布容積

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

タスルグラチニブ（「本薬」とも称す）は，線維芽細胞増殖因子受容体（FGFR）1，2，3 のキナーゼ活性を選択的に阻害する受容体型チロシンキナーゼ阻害剤である。タスルグラチニブは，非臨床及び臨床試験において，線維芽細胞増殖因子（FGF）シグナルが活性化している腫瘍に対して抗腫瘍効果を示すことが報告されている（Miyano, et al., 2016; Koyama, et al., 2020）。

効力を裏付ける薬理試験については，in vitro 試験として，無細胞系において本薬の各種キナーゼに対する阻害作用を評価した。また，細胞系において，FGFR が恒常的活性化していることが知られている各種ヒト癌細胞株（SNU-16，NCI-H1581，AN3 CA 及び RT112/84）の細胞増殖に対する抑制作用を評価した。この細胞増殖抑制作用が，本薬による FGFR のリン酸化阻害に基づくものであることを SNU-16 細胞内 FGFR の自己リン酸化阻害作用の評価により確認した。また，ヒト血管内皮細胞の塩基性線維芽細胞増殖因子（bFGF）誘導細胞増殖に対する本薬の抑制作用を評価した。

In vivo 試験では，FGFR 恒常的活性化ヒト癌細胞株（SNU-16，NCI-H1581）のマウス移植モデルにおける本薬の抗腫瘍効果を評価した。また，*FGFR2* 融合遺伝子である *FGFR2-KCTD1* を発現させた NIH/3T3 のマウス移植モデル及び *FGFR2* 融合遺伝子である *FGFR2-BICC1* を有する胆管癌患者由来腫瘍片 CC6204 のマウス移植モデルにおける抗腫瘍効果も評価した。

副次的薬理試験として，各種受容体，トランスポーター及びイオンチャネルからなる 86 種類の分子パネルのリガンド結合に対する本薬の影響を，標識リガンド結合アッセイで評価した。

安全性薬理試験として，本薬の心血管系に及ぼす影響について，ヒト ether-à-go-go related gene（hERG）導入チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた電気生理学的 in vitro 試験，テレメトリー送信機を埋め込んだ覚醒イヌの単回経口投与試験及びイヌ反復投与毒性試験に組み込んだ心電図検査で評価を行った。中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響については，ラット反復投与毒性試験に組み込んだ機能観察総合評価及び呼吸機能測定で評価を行った。

タスルグラチニブの薬物動態（PK）試験で用いた動物種（系統）は，ラット（Wistar Hannover）及びイヌ（ビーグル）であった。ラット（Wistar Hannover）及びイヌ（ビーグル）は毒性試験で用いられている動物種（系統）であり，単回経口投与時の PK は，ラット（Wistar Hannover）及びイヌ（ビーグル）での毒性試験時のトキシコキネティクス（TK）の投与 1 日目の結果を利用した。反復経口投与時の PK は，ラット（Wistar Hannover，Sprague Dawley［SD］）及びイヌ（ビーグル）での毒性試験時の TK の結果を利用した。白色ラット（SD），有色ラット（Lister-Hooded）又はイヌ（ビーグル）の吸収，分布，代謝又は排泄は，^{14}C 標識-タスルグラチニブ（[^{14}C]タスルグラチニブ）を用いて評価した。血漿タンパク結合率及び血球移行性は，in vitro 試験で評価した。代謝については，肝細胞，遺伝子組換えヒトチトクローム P450（rCYP）又は肝ミクロソームを用いた in vitro 試験系により評価した。チトクローム P450（CYP）誘導作用はヒト肝細胞を用いて評価し，CYP 阻害作用はヒト肝ミクロソーム又は rCYP を用いて評価した。薬物トランスポーターに対する基質認識性及び阻害作用は，トランスポーター発現細胞及び Caco-2 細胞を用いて評価した。In vitro 及び in vivo の代謝物関連試験においては，代謝物通し番号として M 番号を用いた。

毒性については，日米欧各地域のガイドライン及び ICH ガイドラインに基づき，適切な毒性

エンドポイントを包括する一連の毒性試験パッケージで評価した。重要な試験は医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）及び関連するガイドラインに従って実施し，予備試験や用量設定（DRF）試験は非 GLP で実施した。反復投与毒性試験における動物種としてはラット及びイヌを選択した。毒性試験のパッケージは ICH S9 ガイドライン（抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン）に従って計画・実施した。がん原性試験，受胎能・初期胚発生試験，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については，進行癌の患者の治療を目的とした抗悪性腫瘍薬の販売承認のためには不要であることから実施しなかった。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

タスルグラチニブは無細胞系のキナーゼ阻害アッセイにおいて，野生型 FGFR1～3 に対して 50%阻害濃度（IC_{50}）値 0.38～1.8 nmol/L で阻害した。一方，野生型 FGFR4 に対する IC_{50} 値は 94～120 nmol/L であり FGFR1～3 と比較して弱かった（2.6.2.2.1.1 項）。

タスルグラチニブは in vitro 培養系において，FGFR が恒常的に活性化しているヒト胃癌細胞株 SNU-16，ヒト肺癌細胞株 NCI-H1581，ヒト子宮体癌細胞株 AN3 CA 及びヒト膀胱癌細胞株 RT112/84 の細胞増殖を濃度依存的に抑制し，IC_{50} 値はそれぞれ，5.7，7.2，17 及び 34 nmol/L であった。タスルグラチニブの代謝物である M2（ER-000602516）は，SNU-16 の細胞増殖を抑制しタスルグラチニブの 0.72 倍の in vitro 活性を示すことがわかった。また，タスルグラチニブは SNU-16 細胞内の FGFR の自己リン酸化を阻害し，IC_{50} 値は 1.2 nmol/L であった（2.6.2.2.1.3，2.6.2.2.1.4 及び 2.6.2.2.1.5 項）。

ヒト臍帯静脈内皮細胞（HUVEC）を用いた in vitro 塩基性線維芽細胞増殖因子（bFGF）誘導細胞増殖試験において，タスルグラチニブは細胞増殖を濃度依存的に抑制し，IC_{50} 値は 22 nmol/L であった（2.6.2.2.1.7 項）。

SNU-16 及び NCI-H1581 を用いたマウス皮下移植モデルにおいて，タスルグラチニブの 1 日 1 回，14 日間の経口投与は 6.25～50 mg/kg の用量で用量依存的に有意な抗腫瘍効果を示し，最高用量では腫瘍増殖がほぼ完全に抑制された。*FGFR2* 融合遺伝子を発現させた NIH/3T3 を用いたマウス皮下移植モデルにおいて，タスルグラチニブの 1 日 1 回，7 日間の経口投与は 6.25～50 mg/kg の用量で用量依存的に有意な抗腫瘍効果を示した。*FGFR2* 融合遺伝子を有する胆管癌患者由来腫瘍片のマウス皮下移植モデルにおいて，タスルグラチニブの 1 日 1 回，15 日間の経口投与は 15 及び 50 mg/kg の用量で有意な抗腫瘍効果を示し，50 mg/kg では腫瘍縮小がみられた（2.6.2.2.2.1，2.6.2.2.2.2，2.6.2.2.2.3 及び 2.6.2.2.2.4 項）。

2.4.2.2 副次的薬理試験

タスルグラチニブは，受容体型チロシンキナーゼ以外の受容体，神経伝達物質トランスポーター及びイオンチャネルから成る 86 種の分子パネルに対して，10 μmol/L では BZD (peripheral)，D_1，5-HT_{1B}，sigma receptor 及び Na^+ channel (site2)に，1.0 μmol/L では sigma receptor のリガンド結合に対する 50%以上の阻害を示したが，これら以外に顕著な結合阻害はみられなかった（2.6.2.3.1 項）。

2.4.2.3 安全性薬理試験

心血管系に対する評価として，in vitro 試験では，hERG チャネルを発現した CHO 細胞を用いた電気生理学的な影響を検討した。その結果，タスルグラチニブは，hERG カリウム電流を濃度依存的に阻害し，最高濃度である 29.37 μmol/L で 48.50%阻害した。In vivo 試験では，テレメトリー送信機を埋め込んだ覚醒イヌを用いてタスルグラチニブ（フリー体として，0，30，100 及び 300 mg/kg）を経口投与し，心血管系への影響を検討した。その結果，300 mg/kg まで心拍数，平均血圧及び心電図にタスルグラチニブの直接作用に起因する変化はみられなかった。また，イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験（コハク酸塩として 0，1.5，5.4 及び 27 mg/kg）においても，投与 23 日目又は 24 日目に心電イチゴ図に対する影響を検討した。その結果，高用量として設定した 27 mg/kg まで心電図の変化はみられなかった（2.6.2.4.1 及び 2.6.2.4.2 項）。

中枢神経系及び呼吸系に対する評価は，ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験（コハク酸塩として 0，2，7 及び 27 mg/kg）において，投与初日又は 2 日目又は 3 日目に実施した。その結果，高用量として設定した 27 mg/kg まで，いずれの検査項目にも変化はみられなかった（2.6.2.4.3 及び 2.6.2.4.4 項）。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 分析法

PK 試験には，被験物質として非標識タスルグラチニブあるいは[^{14}C]タスルグラチニブを用いた。In vivo 試験のタスルグラチニブの投与量はタスルグラチニブコハク酸塩としての量を示し，濃度はタスルグラチニブフリー体として表示した。[^{14}C]タスルグラチニブを投与した試験での投与量はタスルグラチニブフリー体換算量を示し，放射能濃度はタスルグラチニブフリー体当量（equivalent [eq.]/g or mL）として表示した。非標識タスルグラチニブを用いた場合には，血漿中薬物濃度の定量に液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析（LC-MS/MS）を用いた。[^{14}C]タスルグラチニブを用いた場合には，放射能濃度の測定に外部標準線源法による液体シンチレーションカウンター（LSC）あるいは定量的全身オートラジオグラフィーを用いた（2.6.4.2 項）。

2.4.3.2 吸収

タスルグラチニブコハク酸塩を雄性 Wistar Hannover ラットに単回静脈内投与（2 mg/kg［コハク酸塩として］）したときのタスルグラチニブの血漿中濃度は 3.28 時間の最終消失半減期（$t_{½}$）で消失した。血漿中濃度基準の全身クリアランス（CL_p）及び定常状態における分布容積（V_{ss}）は，それぞれ 3015 mL/h/kg 及び 5393 mL/kg であった。単回経口投与（2～27 mg/kg［コハク酸塩として］）したときの最高濃度到達時間（t_{max}）は 4 時間であり，$t_{½}$は 2.08～2.73 時間であった。投与時から投与後無限大までの濃度-時間曲線下面積（$AUC_{(0\text{-}inf)}$）及び最高濃度（C_{max}）は投与量 2～27 mg/kg において投与量公比を上回る増加を示した。経口投与 2 mg/kg における絶対バイオアベイラビリティ（F）は 5.4%であった（2.6.4.3.1 項）。

タスルグラチニブコハク酸塩を雄性ビーグル犬に単回静脈内投与（1.5 mg/kg［コハク酸塩として］）したときのタスルグラチニブの血漿中濃度は 7.79 時間の $t_{½}$で消失した。CL_p及びV_{ss}は，それぞれ 913 mL/h/kg 及び 8837 mL/kg であった。単回経口投与（1.5～27 mg/kg［コハク酸塩として］）したときの t_{max}は 1.30～3.33 時間であり，$t_{½}$は 5.66～8.58 時間であった。$AUC_{(0\text{-}inf)}$及び C_{max}

は投与量 1.5～27 mg/kg においてほぼ投与量公比に応じた増加を示した。経口投与 1.5 mg/kg における F は 65.3%であった（2.6.4.3.2 項）。

雄性 SD ラット（白色）に[^{14}C]タスルグラチニブを経口投与（3 mg/kg［フリー体として］）後，血液及び血漿中放射能濃度は投与後 2 時間に最高（45.4 及び 77.7 ng eq./mL）となり，$t_{½}$はそれぞれ 4.02 及び 5.24 時間であった。雄性 Lister-Hooded ラット（有色）に[^{14}C]タスルグラチニブを経口投与（3 mg/kg［フリー体として］）後，血液及び血漿中放射能濃度は投与後 2～8 時間に最高（12.5 及び 18.0 ng eq./mL）となり，血漿中放射能の $t_{½}$は 13.9 時間（1 例の値）であった。雄性ビーグル犬に[^{14}C]タスルグラチニブを経口投与（1.5 mg/kg［フリー体として］）後，血液及び血漿中放射能濃度は投与後 2～6 時間に最高（75.9 及び 103 ng eq./mL）となり，$t_{½}$はそれぞれ 116 及び 77.4 時間（1 例の値）であった（2.6.4.3.1 及び 2.6.4.3.2 項）。

13 週間の反復経口投与毒性試験におけるタスルグラチニブの暴露量は，雄ラットより雌ラットの方が大きかったが，イヌでは性差は認められなかった。13 週間の反復投与によるタスルグラチニブの暴露量は，ラットでは投与初日に比べて増加したが，イヌでは蓄積は認められなかった。いずれの動物種においても，M2 の暴露量はタスルグラチニブと比較して低かった（2.6.4.3.3 及び 2.6.4.3.4 項）。

2.4.3.3 分布

[^{14}C]タスルグラチニブをラット（白色及び有色）に単回経口投与（3 mg/kg［フリー体として］）後の放射能の組織分布を定量的全身オートラジオグラフィーで検討した。雄性 SD ラット（白色）の多くの組織で，投与後 5 時間で放射能濃度が最高となり，胆管，腎臓（内側及び外側の皮質），肝臓，副腎（皮質及び髄質），脾臓，甲状腺及び下垂体で放射能濃度が高値を示した。投与後 168 時間で大動脈壁においてのみ放射能濃度が検出された。雄性 Lister-Hooded ラット（有色）では，投与後 4～12 時間に組織中放射能濃度が最高となった。大動脈壁及びメラニン含有組織において投与後 672 時間（最終採取時点）まで放射能濃度が認められた。メラニン含有組織では，白色ラットに比べて高い放射能濃度を示し，メラニン含有組織と[^{14}C]タスルグラチニブ由来放射能の結合親和性を示唆した（2.6.4.4.1 項）。

平衡透析法（in vitro 系）を用いて，タスルグラチニブ及びその代謝物である M2 並びに(*R*)-M9 の血漿タンパク結合率を検討した。タスルグラチニブ（添加濃度：100～3000 ng/mL［フリー体として］）の雄性 Wistar Hannover ラット，雄性ビーグル犬，雌性 BALB/cAJcl-nu/nu マウス及びヒト（男性）における血漿タンパク結合率の平均値は，それぞれ 96.8%，92.0%，97.0%及び 93.7%であった。M2（添加濃度：30～1000 ng/mL［フリー体として］）のヒト（男性）における血漿タンパク結合率の平均値は 90.0%であった。(*R*)-M9（添加濃度：3～30 ng/mL［フリー体として］）のヒト（男性）における血漿タンパク結合率は 98.1%～98.3%であった。ヒト血漿中に存在するヒト血清アルブミン（HSA），α1-酸性糖タンパク（α1-AGP）及びヒト γ-グロブリン（HG）のうち，タスルグラチニブ及び M2 は主に HSA に結合した（2.6.4.4.2 項）。

雌性 BALB/c-nu/nu マウス，雄性 SD ラット，雄性ビーグル犬及びヒト（男性）におけるタスルグラチニブ及び M2 の in vitro での血液／血漿中濃度比（R_B）値を測定した（検討濃度：30～300 ng/mL［いずれもフリー体として］）。タスルグラチニブの R_B 値は，マウスで 1.23～1.29，ラットで 0.952～1.02，イヌで 0.929～0.966，ヒトで 1.06～1.14 であった。M2 の R_B 値は，マウスで

1.14～1.30，ラットで 1.12～1.16，イヌで 0.992～1.01，ヒトで 1.14～1.16 であった（2.6.4.4.3 項）。

2.4.3.4 代謝

マウス，ラット，イヌ及びヒト凍結肝細胞，並びにラット及びイヌ肝ミクロソームを用いてタスルグラチニブの代謝プロファイルを in vitro で検討した。ヒト及び動物の肝細胞から全部で 8 個の代謝物（M1～M8）が検出された。M1～M5 がヒト肝細胞で検出され，そのうち M1～M4 はマウス，ラット又はイヌの肝細胞でも検出された。ラット及びイヌ肝ミクロソームにおいて M5 が検出された。以上の in vitro 試験において，ヒト特異的代謝物は検出されなかった（2.6.4.5.1 項）。

タスルグラチニブの代謝にかかわるヒト CYP を同定するため，rCYP 各分子種を用いて in vitro 代謝実験を行った。タスルグラチニブは rCYP2J2，rCYP3A4 及び rCYP4F12 で代謝され，その他の検討した分子種（rCYP1A2，rCYP2B6，rCYP2C8，rCYP2C9，rCYP2C19，rCYP2D6 及び rCYP3A5）ではほとんど代謝されなかった（2.6.4.5.4 項）。

タスルグラチニブからの M2 生成に関与するヒト CYP 分子種を同定するため，rCYP 各分子種を用いて M2 の生成を精査するとともに，rCYP 及びヒト肝ミクロソームを用いて酵素反応の速度論的解析を行った。タスルグラチニブは rCYP2J2，rCYP3A4 及び rCYP4F12 を介して M2 を生成し，M2 生成の K_m（ミカエリス定数）及び V_{max}（最大速度）は，rCYP3A4 では 63.2 μmol/L 及び 1.17 pmol/min/pmol CYP，rCYP2J2 では 5.38 μmol/L 及び 0.699 pmol/min/pmol CYP，CYP4F12 では 0.471 μmol/L 及び 5.99 pmol/min/pmol CYP であった。ヒト肝ミクロソームにおける M2 生成の K_m 及び V_{max} は，それぞれ 2.18 μmol/L 及び 10.4 pmol/min/mg protein であった（2.6.4.5.4 項）。

タスルグラチニブからの M2 の生成にかかわる主たるヒト CYP 分子種を同定するため，CYP 阻害剤（アザムリン，ダナゾール，HET0016，ピモジド及びケトコナゾール）の阻害効果をヒト肝ミクロソーム及び rCYP4F12 で検討した。アザムリン（CYP3A 阻害剤）及びダナゾール（CYP2J2 阻害剤）は，ヒト肝ミクロソーム及び rCYP4F12 において M2 生成に対する阻害を示さないか，阻害効果は軽微であった。HET0016，ピモジド及びケトコナゾールによる M2 生成に対する阻害効果は，ヒト肝ミクロソームと rCYP4F12 の間で類似していた。これらの結果より，CYP4F12 がタスルグラチニブからの M2 の生成にかかわる主たる CYP 分子種であると考えられた（2.6.4.5.4 項）。

ヒト凍結肝細胞でのタスルグラチニブ代謝に対する CYP3A 選択的阻害剤（アザムリン）の影響を検討した。タスルグラチニブのヒトの肝代謝に対する CYP3A の寄与率は in vitro で 25%と推定された（2.6.4.5.4 項）。

M2 の代謝にかかわる CYP 分子種を同定するため，rCYP 各分子種を用いて in vitro 代謝実験を行った。M2 は rCYP2J2，rCYP3A4 及び rCYP4F12 によって代謝されたが，その他の評価した CYP 分子種（rCYP1A2，rCYP2B6，rCYP2C8，rCYP2C9，rCYP2C19，rCYP2D6 及び rCYP3A5）ではほとんど代謝されなかった（2.6.4.5.4 項）。

以上の一連の in vitro 代謝試験により，タスルグラチニブの代謝には CYP2J2，CYP3A4 及び CYP4F12 が関与し，CYP3A の寄与は 25%程度であること，さらに主要代謝物 M2 は主に CYP4F12 を介して生成することが示された（2.6.4.5.4 項）。

[^{14}C]タスルグラチニブを雄性 SD ラット又は雄性ビーグル犬に単回経口投与（ラット：3 mg/kg,

イヌ：1.5 mg/kg［いずれもフリー体として］）後の放射能の代謝プロファイルを検討した。ラット及びイヌ血漿中では，未変化体（タスルグラチニブ）が主成分であった（ラット：血漿中総放射能の投与時から 6 時間までの濃度-時間曲線下面積［$AUC_{(0\text{-}6h)}$］の 19.2%，イヌ：血漿中総放射能の投与時から 24 時間までの濃度-時間曲線下面積［$AUC_{(0\text{-}24h)}$］の 40.6%）。ラット血漿中で最も主要な代謝物は M7 であり（血漿中総放射能 $AUC_{(0\text{-}6h)}$の 13.6%），その他に血漿中総放射能 $AUC_{(0\text{-}6h)}$の 10%未満の 4 種の代謝物（M3 の脱メチル体，M6，M6 の+2O+2H 体及び M6 の脱メチル体）が検出された。イヌ血漿中で最も主要な代謝物は M3 であったが，血漿中総放射能 $AUC_{(0\text{-}24h)}$の 10%未満（7.31%）であった。尿中の主成分は，ラットでは M7（投与放射能量の 0.74%）と M6 の+2O+2H 体（同 0.30%）であり，イヌでは未変化体（同 1.84%）及び M3（同 0.24%）であった。ラット及びイヌ糞中では，未変化体が主成分であった（ラット：同 13.6%，イヌ：同 17.6%）。ラット糞中の主代謝物は M7（同 11.1%），M7 の+O–2H 体（同 14.5%），M3 の脱メチル体（同 8.63%）及び M7 のジカルボン酸代謝物（同 8.12%）であり，イヌ糞中の主代謝物は M3（同 16.9%）であった。タスルグラチニブのラット及びイヌにおける主代謝経路は，メトキシエトキシ鎖の脱メチル化による M7 の生成（ラット），ヒドロキシエチル基のカルボン酸体への酸化による M3 の生成（イヌ）及びさらなる二次代謝であった。ラットではマイナーな代謝経路として，ヒドロキシエチル基のカルボン酸体への酸化による M3 の生成及び加水分解による M6 の生成とそれらの二次代謝が認められた（2.6.4.5.1 項）。

ヒトマスバランス試験（002 試験，投与量：35 mg/3.7 MBq/man）における血漿中放射能の代謝プロファイルを検討した。ハミルトン法に従い投与時から 48 時間までの濃度-時間曲線下面積（$AUC_{(0\text{-}48h)}$）に基づいて調製されたヒトプール血漿試料において，タスルグラチニブ，M2 及び M9 が主成分として同定され，それぞれ総薬物関連 $AUC_{(0\text{-}48h)}$の 30.9%，20.6%及び 12.3%を占めた。その他の代謝物は，総薬物関連 $AUC_{(0\text{-}48h)}$の 3.1%以下であった（2.6.4.5.1 項）。

ヒトマスバランス試験及びイヌ 13 週間反復投与毒性試験における血漿試料の代謝物分析により，タスルグラチニブの経口投与後，ヒト及びイヌ血漿中に M9 が検出された。キラルクロマトグラフィー分析の結果，M9 はハミルトン法に従い $AUC_{(0\text{-}24h)}$に基づいて調製されたヒトプール血漿試料において，64%の(*R*)-M9 と 36%の(*S*)-M9 の混合物であった（2.6.4.5.1 項）。

ヒトマスバランス試験における排泄物中放射能の代謝プロファイルを検討した。未変化体は尿及び糞中の主成分であり，投与放射能量のそれぞれ 2.05%及び 32.08%を占めた。尿及び糞中の主な代謝物は M2 であり，尿及び糞中で投与放射能量のそれぞれ 2.55%及び 30.53%を占めた。マイナーな代謝物である M1，M3，M4 はタスルグラチニブの酸化代謝及び M9 はタスルグラチニブの酸化的 *N*-脱アルキル化あるいは M2 の酸化代謝によって生成した。その他のマイナー代謝物である M7 はタスルグラチニブの脱メチル化により，M5 は *N*-アミドインドール部分の加水分解により，M6 はアミド基の加水分解により生成した。排泄物中に検出されたこれらのマイナー代謝物は，それぞれ投与放射能量の 3%未満であった（2.6.4.5.1 項）。

タスルグラチニブのヒトマスバランス試験の排泄物中代謝プロファイル及び in vitro 代謝試験より，タスルグラチニブの主代謝経路は，CYP4F12 を介した酸化的 *N*-脱アルキル化による M2 の生成と考えられた（2.6.4.5.1 及び 2.6.4.5.4 項）。

CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6 及び CYP3A に対するタスルグラチニブ，M2 及び(*R*)-M9 の阻害能をヒト肝ミクロソームで検討した。タスルグラチニブは

CYP2D6，CYP3A（基質：テストステロン），CYP3A（基質：ミダゾラム）及びCYP3A（基質：ニフェジピン）をそれぞれ 95.0，48.0，16.4 及び 27.9 μmol/L の IC_{50} で可逆的に阻害したが，CYP1A2，CYP2B6，CYP2C8，CYP2C9 及び CYP2C19 に対する阻害能は弱かった（IC_{50}>100 μmol/L）。M2 は CYP2C9，CYP2C19，CYP2D6，CYP3A（基質：テストステロン），CYP3A（基質：ミダゾラム）及びCYP3A（基質：ニフェジピン）をそれぞれ77.5，93.0，82.0，62.4，22.1 及び 31.6 μmol/L の IC_{50} で可逆的に阻害した。CYP1A2，CYP2B6 及び CYP2C8 に対する M2 の可逆的阻害能は弱いか全くなかった（IC_{50}>100 μmol/L）。タスルグラチニブ及びM2 は，検討した全ての CYP 分子種に対して時間依存的な阻害能を示さなかった。(*R*)-M9 のこれらの CYP 分子種に対する可逆的阻害能は弱く（IC_{50}>10 μmol/L），検討濃度 10 μmol/L において時間依存的な阻害を示さなかった（2.6.4.5.5 項）。

rCYP を用いて，タスルグラチニブ及び M2 による CYP2J2 及び CYP4F12 の可逆的阻害能と時間依存的阻害能を検討した。タスルグラチニブ及び M2 は，CYP2J2 に対して弱い可逆的阻害能を示した（IC_{50}はそれぞれ>30 μmol/L及び25.1 μmol/L）。タスルグラチニブ及びM2は，CYP4F12 に対して可逆的な阻害作用を示した（IC_{50}はそれぞれ 0.446 μmol/L 及び 0.827 μmol/L）。タスルグラチニブ及び M2 は，CYP2J2 及び CYP4F12 に対して検討濃度 10 μmol/L において時間依存的な阻害作用を示さないか弱かった（2.6.4.5.5 項）。

タスルグラチニブ及び M2 の CYP1A2，CYP2B6 及び CYP3A4 メッセンジャーRNA（mRNA）に対する誘導能を，3 ドナー由来のヒト凍結肝細胞を用いて検討した。タスルグラチニブ（検討濃度：0.3，1 及び 3 μmol/L）は 3 ドナー全てに対して CYP1A2，CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA 発現レベルを濃度依存的に誘導し，溶媒対照に対する最大増加率はそれぞれ 10.72 倍，4.47 倍及び 10.50 倍であった。M2（検討濃度：0.3～10 μmol/L）は，1 ドナー（ロット HU8200-A）での CYP3A4 mRNA 発現レベルを除いて，全てのドナーで 10 μmol/L まで CYP1A2，CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA 発現レベルを増加させなかった。ロット HU8200-A における M2 の CYP3A4 mRNA 発現に対する作用は濃度依存性が明確ではなく，陽性対照に対する最大%値はわずか 1.6%であった。ゆえに M2 は CYP1A2，CYP2B6 及び CYP3A4 の mRNA に対して誘導能を有さなかった（2.6.4.5.5 項）。

2.4.3.5 排泄

[^{14}C]タスルグラチニブをラット（白色）又はイヌに単回経口投与（ラット：3 mg/kg，イヌ：1.5 mg/kg［いずれもフリー体として］）後の放射能の排泄について評価した。雄性 SD ラット（白色）では放射能の排泄は速やかで，投与後 168 時間までに主に糞中に排泄され（投与放射能量の>95%），尿中排泄はわずかであった（投与放射能量の<5%）。胆管カニューレ処置ラットにおいて，投与後 72 時間の胆汁，糞及び尿中への放射能の累積排泄率はそれぞれ投与放射能量の 38.0%，17.8%及び 34.8%であった。雄性ビーグル犬では放射能の排泄は速やかで，投与後 168 時間までの累積排泄率は投与放射能量の 92.0%（尿中 4.47%，糞中 86.7%）であった（2.6.4.6.1 及び 2.6.4.6.2 項）。

2.4.3.6 薬物動態学的薬物相互作用

非臨床 in vivo における薬物動態学的薬物相互作用（DDI）試験は検討されていない。In vitro

評価系によるヒト代謝酵素誘導及び阻害については 2.4.3.4 項に示し，ヒト薬物トランスポーターに対する基質認識性及び阻害活性については 2.4.3.7 項に示した。

2.4.3.7 その他の薬物動態試験

In vitro 系にてタスルグラチニブ及び M2 の各種ヒト薬物トランスポーターに対する基質認識性，並びにタスルグラチニブ，M2 及び(*R*)-M9 のトランスポーター阻害能を検討した。タスルグラチニブ及び M2 は P 糖タンパク（P-gp）の基質であったが，乳癌耐性タンパク（BCRP），有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1 及び OATP1B3 の基質ではなかった。タスルグラチニブ及び M2 は検討した最高濃度（それぞれ 13 及び 30 μmol/L）において P-gp を阻害しなかった。BCRP に対する阻害も弱く，IC_{50} はそれぞれ>39 及び>100 μmol/L であった。タスルグラチニブは，OATP1B1，OATP1B3，有機カチオントランスポーター（OCT）1，OCT2，多剤・毒性化合物排出（MATE）1 及び MATE2-K をそれぞれ 14.6，6.43，0.888，5.53，0.0870 及び 5.99 μmol/L の IC_{50} で阻害した。有機アニオントランスポーター（OAT）1 及び OAT3 に対する阻害は弱かった（IC_{50}>30 μmol/L）。M2 は，OATP1B1，OATP1B3，OCT1，OCT2，MATE1 及び MATE2-K をそれぞれ 18.6，7.43，0.332，3.85，0.0287 及び 6.76 μmol/L の IC_{50} で阻害したが，OAT1 及び OAT3 を阻害しなかった（IC_{50}>30 μmol/L）。(*R*)-M9 は，OATP1B1，OATP1B3，OCT1，OCT2 及び MATE1 をそれぞれ 1.57，0.850，1.02，3.28 及び 0.749 μmol/L の IC_{50} で阻害したが，P-gp，BCRP，OAT1，OAT3 及び MATE-2K を阻害しなかった（IC_{50}>10 μmol/L）（2.6.4.8 項）。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 単回投与毒性

単回投与毒性試験として独立した試験は実施しなかった。ラット及びイヌにおける 2 週間反復投与用量設定試験並びにラットにおける小核試験において初期にみられた変化は下記のとおりである。

ラットでの 2 週間反復投与用量設定試験（投与量：フリー体として 10，30，100，300 mg/kg）における投与初期の一般状態には異常はみられなかったが，30 mg/kg 以上で摂餌量，体重の減少がみられた。また，ラットを用いた小核試験（投与量：コハク酸塩として 30，100，300，600 mg/kg）では，30 mg/kg 及び 100 mg/kg 群で 2 日間投与した 2 日後に各用量 1 例の死亡がみられた。

イヌでの 2 週間反復投与用量設定試験（投与量：フリー体として 3，30 mg/kg）では，30 mg/kg において投与 1 日に嘔吐，粘液便，水様便がみられた。

2.4.4.2 反復投与毒性

ラット及びイヌを用いてタスルグラチニブの 13 週までの経口投与による反復投与毒性試験を実施した結果，ラットの 2 週間反復投与による用量設定毒性試験（投与量：フリー体として 10，30，100，300 mg/kg）では，低用量の 10 mg/kg から薬理作用に起因すると考えられる血中無機リンの上昇，種々の組織における石灰沈着，角膜上皮層の菲薄化，骨端軟骨板の肥厚がみられた。30 mg/kg 以上では摂餌量及び体重減少，一般状態の悪化による死亡がみられた。4 週間の休薬後，角膜における石灰沈着の残存はみられたが，角膜上皮層の菲薄化は回復性が認められた

（2.6.6.3.1 項）。

ラットの 4 週間反復投与毒性試験（投与量：コハク酸塩として 2，7，27 mg/kg）では，2 mg/kg 以上で薬理作用に起因すると考えられる血中無機リンの上昇と角膜における石灰沈着，7 mg/kg 以上で種々の組織における上皮の萎縮や石灰沈着，切歯の異形成，27 mg/kg で死亡例，体重増加抑制，摂餌量減少，骨軟骨異形成や被毛の伸長による毛並みの乱れがみられた。4 週間の休薬後は，被毛の異常及び石灰沈着の残存がみられたが，その他の変化については回復性が確認された（2.6.6.3.2 項）。

ラットの 13 週間反復投与毒性試験（投与量：コハク酸塩として 0.6，2，5 mg/kg）では，2 及び 5 mg/kg での血中無機リンの上昇と切歯の異形成，5 mg/kg での上皮萎縮及び骨軟骨異形成，血中無機リン上昇に伴う種々の組織における石灰沈着等，主要な変化は薬理作用に関連したものであった。0.6 mg/kg では毒性変化はみられなかった（2.6.6.3.3 項）。

イヌの 2 週間反復投与による用量設定毒性試験（投与量：フリー体として 3, 30 mg/kg）では，3 mg/kg で摂餌量及び体重減少，薬理作用に起因すると考えられる血中無機リンの上昇が軽度にみられたが，関連する組織学的変化はみられなかった。30 mg/kg では，死亡はみられなかったが著しい摂餌量及び体重減少，消化管の組織学的変化を伴う水様便，粘液便がみられ，さらに血中無機リンの明らかな上昇，角膜上皮層の菲薄化がみられた（2.6.6.3.4 項）。

イヌの 4 週間反復投与毒性試験（投与量：コハク酸塩として 1.5，5.4，27 mg/kg）では，1.5 mg/kg より薬理作用に起因すると考えられる骨軟骨異形成と胃の粘液分泌の増加，5.4 mg/kg 以上では血中無機リンの上昇，複数の組織における石灰沈着又は重層あるいは腺上皮の萎縮，動脈病変，被毛の伸長による毛並みの乱れ等がみられた。27 mg/kg では便の異常（水様便，粘液便）と組織学的変化を伴う重篤な消化管毒性がみられ，体重及び摂餌量の著しい減少，活動性の低下を呈し，瀕死例がみられたことから，投与期間を 13 日間に短縮した。4 週間の休薬により被毛の異常，石灰沈着及び骨の変化は残存してみられたが，動物の一般状態及びその他の毒性変化については回復性が認められた（2.6.6.3.5 項）。

イヌの 13 週間反復投与毒性試験（投与量：コハク酸塩として 0.5，1，2 mg/kg）では，被験物質に関連した変化は，2 mg/kg での爪床，角膜，舌の重層上皮の萎縮，並びに 1 mg/kg 以上での被毛の乱れと血中無機リンのわずかな上昇であった。0.5 mg/kg では毒性学的な変化はみられなかった（2.6.6.3.6 項）。

以上，ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験において，タスルグラチニブの投与により，種々の組織に FGFR 阻害作用に起因する変化がみられたが，石灰沈着，被毛の伸長を除いていずれの動物種においても 4 週間の休薬後に回復性が認められた。

2.4.4.3 遺伝毒性

タスルグラチニブは復帰突然変異試験，in vitro 小核試験（2.6.6.4.1 項）及びラットを用いた骨髄小核試験（2.6.6.4.2 項）のいずれにおいても陰性であった。

2.4.4.4 がん原性

タスルグラチニブは進行がんの治療を目的とした抗悪性腫瘍剤であることから，ICH S9 ガイドラインに基づき，がん原性試験は実施していない。

2.4.4.5 生殖発生毒性

ラットを用いた胚・胎児発生毒性試験の用量設定試験（投与量：コハク酸塩として 0.6，2，5 mg/kg）の結果，母動物への影響はどの投与量でもみられなかった。胎児では体重の低値，着床後吸収胚の増加，外表異常，内臓異常，骨格・骨化異常所見が 5 mg/kg で，内臓異常が 2 mg/kg でみられ，タスルグラチニブが催奇形性を有することが示唆された。0.6 mg/kg では変化はみられなかった。FGFR 阻害による催奇形性は同様なメカニズムを有する他の化合物でもみられており，薬理作用に起因した影響であると考えられた（2.6.6.6.1.1 項）。

2.4.4.6 局所刺激性

局所刺激性に特化した試験は実施していない。

2.4.4.7 その他の毒性

BALB/3T3 細胞を用いた in vitro 光毒性試験では，タスルグラチニブは陰性であった（2.6.6.8.1.1 項）。

2.4.5 総括及び結論

タスルグラチニブは，経口投与可能な新規 FGFR チロシンキナーゼ阻害剤である。

無細胞系のキナーゼ阻害アッセイにおいて，タスルグラチニブは野生型 FGFR1～3 に対して選択的に強い阻害活性を示した。一方，変異型 FGFR に対する阻害活性は FGFR3[K650E]及び FGFR3[K650M]に対しては野生型と比較して 10 倍程度の減弱に留まったが，ゲートキーパー変異として知られる FGFR1[V561M]，FGFR2[V564I]，FGFR3[V555L]及び FGFR3[V555M]（Yue, et al., 2021）に対しては軒並み阻害活性が減弱した。FGFR1-タスルグラチニブ複合体の X 線結晶構造解析により，タスルグラチニブは ATP 結合サイト及び隣接するアロステリック領域の両方に結合し，キナーゼ阻害活性とキナーゼ選択性を発揮していることが示唆された（Liao, 2007; Zuccotto, et al., 2010; Blanc, et al., 2013）。In vitro 培養系において，タスルグラチニブは *FGFR* 遺伝子異常による FGF シグナル依存性増殖が知られている各種ヒト癌細胞株（ヒト胃癌細胞株 SNU-16［*FGFR2* 遺伝子増幅］，ヒト肺癌細胞株 NCI-H1581［*FGFR1* 遺伝子増幅］，ヒト子宮体癌細胞株 AN3 CA［*FGFR2* 変異］及びヒト膀胱癌細胞株 RT112/84［*FGFR3* 融合遺伝子］）に対して増殖抑制作用を示した。タスルグラチニブは FGFR のリン酸化を阻害することでその下流シグナル伝達分子（FRS2，ERK1/2，Akt）のリン酸化を阻害し（Miyano, et al., 2016），FGF シグナル依存性細胞増殖を抑制していることが示唆された。

近年，肝内胆管癌で検出される *FGFR2* 融合遺伝子をマウス由来線維芽細胞及び *Tp53* 遺伝子ノックアウトマウス由来肝オルガノイドに強制発現させることで，造腫瘍性が付与されることが報告されている（Arai, et al., 2014; Cristinziano, et al., 2021）。また，胆道癌において *FGFR2* 融合遺伝子は *KRAS*，*BRAF*，*IDH1/2* の遺伝子異常とは排他的であることが報告されている（Farshidfar, et al., 2017; Arai, et al., 2014）。これらのことから，*FGFR2* 融合遺伝子は胆道癌における oncogenic driver であることが示唆されており，FGFR 阻害剤の有望な分子標的であると考えられている（Mahipal, et al., 2019）。タスルグラチニブは，*FGFR2* 融合遺伝子（*FGFR2-AHCYL1*，*FGFR2-*

BICC1 type1，*FGFR2-BICC1* type2，*FGFR2-TXLNA* 又は *FGFR2-KCTD1*）（Arai, et al., 2014; Nakamura, et al., 2015）を強制発現させた NIH/3T3 に対して増殖抑制作用を示した。一方，Raf-MEK-ERK シグナル経路の活性化と足場非依存性増殖が知られている *KRAS* (G12V) 発現 NIH/3T3（Tong, et al., 2014）に対するタスルグラチニブの増殖抑制作用は，*FGFR2* 融合遺伝子発現 NIH/3T3 に対する増殖抑制作用と比較して弱かった。この結果から，タスルグラチニブは FGF シグナルに依存した足場非依存性増殖に対して選択的に作用することが示唆された。

FGF シグナルは腫瘍血管新生において重要な役割を果たしていることが報告されており，FGF シグナルの阻害は腫瘍血管新生阻害治療として有用である可能性がある（Zhao and Adjei, 2015）。タスルグラチニブは，ヒト bFGF 依存性の HUVEC の増殖に対して抑制作用を示したことから，腫瘍血管新生に FGF シグナルが寄与するがん腫においては，タスルグラチニブの薬効に FGF シグナル阻害による腫瘍血管新生抑制が加味される可能性が示唆された。

タスルグラチニブは，SNU-16 及び NCI-H1581 を用いたヌードマウス皮下移植モデルにおいて有意な抗腫瘍効果を示し，最高用量（50 mg/kg）では腫瘍増殖がほぼ完全に抑制された。*FGFR2* 融合遺伝子（*FGFR2-KCTD1*，*FGFR2-BICC1* type2 又は *FGFR2-TXLNA*）を発現させた NIH/3T3 のヌードマウス皮下移植モデルにおいて，いずれのモデルにおいても有意な抗腫瘍効果を示した。また，タスルグラチニブは *FGFR2* 融合遺伝子である *FGFR2-BICC1* を有する胆管癌患者由来腫瘍片 CC6204 のヌードマウス皮下移植モデルにおいて有意な抗腫瘍効果を示し，最高用量の 50 mg/kg では腫瘍縮小がみられた。

タスルグラチニブの 1.0 及び 10 μmol/L の濃度において，受容体型チロシンキナーゼ以外の受容体，神経伝達物質トランスポーター及びイオンチャネルから成る 86 種の分子パネルに対して，10 μmol/L では BZD (peripheral)，D_1，5-HT_{1B}，sigma receptor 及び Na^+ channel (site2)に，1.0 μmol/L では sigma receptor のリガンド結合に対する 50%以上の阻害を示したが，これら以外に顕著な結合阻害はみられなかった。

心血管系に対する評価として，in vitro 試験では，hERG チャネルを発現した CHO 細胞を用いた電気生理学的な影響を検討した。その結果，タスルグラチニブは，hERG カリウム電流を濃度依存的に阻害し，最高濃度である 29.37 μmol/L で 48.50%阻害した。テレメトリー送信機を埋め込んだ覚醒イヌを用いてタスルグラチニブ（フリー体として，0，30，100 及び 300 mg/kg）を経口投与し，心血管系への影響を検討した。その結果，300 mg/kg まで心拍数，平均血圧及び心電図にタスルグラチニブの直接作用に起因する変化はみられなかった。また，イヌを用いた 4 週間反復投与毒性試験（コハク酸塩として 0，1.5，5.4，27 mg/kg）においても，投与 23 日目又は 24 日目に心電図に対する影響を検討した（27 mg/kg 群は毒性により 13 日目が最終投与となったが，同スケジュールで心電図を測定した）。その結果，高用量として設定した 27 mg/kg まで心電図の変化はみられなかった。中枢神経系及び呼吸系に対する評価は，ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験（コハク酸塩として 0，2，7，27 mg/kg）において，投与初日又は 2 日目又は 3 日目に実施した。その結果，高用量として設定した 27 mg/kg まで，いずれの検査項目にも変化はみられなかった。

以上の非臨床薬理試験の結果から，タスルグラチニブは *FGFR* 遺伝子異常を有する進行・再発固形がんに対して，FGFR のリン酸化阻害に基づく新たな治療選択肢を提供できることが示唆された。また，タスルグラチニブの心血管系，呼吸系及び中枢神経系への影響は小さいことが示

唆された。

雄性 Wistar Hannover ラット及び雄性ビーグル犬に単回静脈内投与後，タスルグラチニブは，中程度から高いクリアランス（ラット：3015 mL/h/kg，イヌ：913 mL/h/kg）及び中程度から高い分布容積（ラット：5393 mL/kg，イヌ：8837 mL/kg）を示し，血漿からの $t_{½}$はラットで 3.28 時間，イヌで 7.79 時間であった。ラットに単回経口投与後，タスルグラチニブの暴露量は投与量公比を上回る増加を示し，投与量 2 mg/kg における F（5.4%）は低かった。タスルグラチニブを単回経口投与後，イヌでは線形動態を示し，投与量 1.5 mg/kg における F（65.3%）は良好であった。

13 週間の反復経口投与毒性試験におけるタスルグラチニブの暴露量は，雄ラットより雌ラットの方が大きかったが，イヌでは性差は認められなかった。13 週間の反復投与によるタスルグラチニブの暴露量は，ラットでは投与初日に比べて増加したが，イヌでは蓄積は認められなかった。いずれの動物種においても，M2 の暴露量はタスルグラチニブと比較して低かった。

雄性 SD ラット（白色），雄性 Lister-Hooded ラット（有色）及び雄性ビーグル犬に[^{14}C]タスルグラチニブを単回経口投与後の血漿中放射能濃度の t_{max} はそれぞれ 2 時間（白色ラット），2～8 時間（有色ラット）及び 2～6 時間（イヌ）であり，吸収は速やかであった。その後，ラットの血漿中放射能濃度は 5.24（白色ラット）～13.9 時間（有色ラット）の $t_{½}$で消失し，イヌの血漿中放射能濃度の $t_{½}$は 77.4 時間であった。SD ラット及び有色ラットにおいて，吸収された放射能は中枢神経系組織を除く組織に広く分布した。SD ラットの大半の組織で，放射能濃度は投与後 5 時間で C_{max} に到達し，投与後 168 時間以内に大動脈壁を除く組織から消失した。有色ラットでは，投与後 4～12 時間で組織中放射能濃度が C_{max} に到達し，全般的に SD ラットと同様の放射能の組織分布を示した。有色ラットの投与後 672 時間の時点で，ブドウ膜，網膜等のメラニン含有組織及び大動脈壁で放射能濃度が検出された。メラニン含有組織では，有色ラットの放射能濃度が SD ラットよりも顕著に高く，[^{14}C]タスルグラチニブ由来放射能のメラニンに対する親和性が示唆された。

タスルグラチニブの in vitro 血漿タンパク結合率は動物種によらず比較的高く（92.0%［イヌ］～97.0%［マウス］），ヒトは 93.7%であった。M2 及び(*R*)-M9 のヒト血漿タンパク結合率も比較的高かった（M2：90.0%，(*R*)-M9：98.2%）。ヒト血漿中に存在する HSA，α1-AGP 及び HG のうち，タスルグラチニブ及び M2 は HSA に対して最も強い結合を示した。タスルグラチニブの in vitro での R_B 値は 0.929～1.29 であり，動物種差は認められなかった。

[^{14}C]タスルグラチニブを単回経口投与後 168 時間までの排泄物中総放射能回収率は，SD ラット及びイヌにおいてそれぞれ投与放射能量の 101%及び 92.0%であり，投与された放射能は速やかに体外へ排泄された。経口投与後の SD ラット糞中に，投与量の 13.6%の未変化体が回収されたが，胆管カニューレ処置 SD ラットの胆汁中で未変化体はマイナー成分であったため（投与放射能量の 1.39%），糞中に回収された未変化体は，経口投与後の未吸収タスルグラチニブ由来と推測された。単回経口投与後の胆汁中（投与放射能量の 38.0%）及び尿中（投与放射能量の 34.8%）への放射能回収率より，胆管カニューレ処置 SD ラットにおける[^{14}C]タスルグラチニブの F_a は 70%以上であると考えられ，無処置 SD ラット糞中に回収された未吸収タスルグラチニブ（投与放射能量の 13.6%）の結果と併せ，経口投与後の消化管吸収は良好と考えられた。

ラット，イヌ及びヒトの in vitro 並びに in vivo 試料の代謝物分析から，いずれの種においても

タスルグラチニブの主たる消失経路は代謝であった。タスルグラチニブの代謝経路に種差が認められ，ラットにおける主代謝経路は，メトキシエトキシ鎖の脱メチル化による M7 の生成及びさらなる二次代謝であり，マイナーな代謝経路として，ヒドロキシエチル基のカルボン酸体への酸化による M3 の生成及び加水分解による M6 の生成とその二次代謝が認められた。イヌにおける主代謝経路は，ヒドロキシエチル基のカルボン酸への酸化による M3 の生成及びさらなる二次代謝であった。ヒトにおける主代謝経路は酸化的*N*-脱アルキル化による M2 の生成であった。

ヒトマスバランス試験（002 試験）において，タスルグラチニブ（30.9%），M2（20.6%）及び M9（12.3%）が血漿中薬物関連総暴露量の 10%以上を示し，M2 及び M9 がヒト血漿中主代謝物として同定された（2.6.4.5.1.2.3 項）。ラット及びイヌ 13 週間反復投与毒性試験では，タスルグラチニブに加え M2 を定量し，暴露量はヒトよりも低かったものの，両動物種で M2 が検出された（2.6.4.3.3.3 及び 2.6.4.3.4.3 項）。イヌ 13 週間反復投与毒性試験から得られた血漿試料に対して実施した代謝物分析試験では，M9 が検出された。M9 は不斉中心を有するため，ヒト血漿中でのエナンチオマー比を検討したところ，(*R*)-M9 及び(*S*)-M9 の双方が検出され，(*R*)-M9 の方が多かった。代謝物のヒト血漿中暴露量と in vitro セルフリー系におけるタスルグラチニブ，M2 及び(*R*)-M9 の FGFR に対する阻害活性から，タスルグラチニブ及び M2 は in vivo における薬理作用に寄与するが，(*R*)-M9 の寄与は低いと考えられた（2.6.2.2.1.1 項）。

タスルグラチニブ代謝に対する CYP3A の一部寄与が in vitro 試験より示唆されたため，臨床薬物相互作用試験（003 試験）において，タスルグラチニブの臨床 PK に対する CYP3A 誘導薬（リファンピシン）の影響を評価した（2.7.2.2.2.4 項）。タスルグラチニブの臨床 PK に対するリファンピシンの影響は軽微であり，in vivo において CYP3A のタスルグラチニブ代謝への寄与は低いことが確認された。本結果は，CYP4F12 を介した M2 への代謝をタスルグラチニブの主代謝経路とする in vitro 試験結果と矛盾しなかった。タスルグラチニブは P-gp 基質であるが，ヒトマスバランス試験での推定消化管吸収率を含めたヒト PK 特性を勘案すると，タスルグラチニブの消化管吸収に対する P-gp の寄与は低いと考えられた。

In vitro 試験において，タスルグラチニブは CYP3A に対して弱い阻害作用を示したが，生理学的薬物速度論（PBPK）モデル解析による考察から，CYP3A 基質（指標薬）であるミダゾラムの臨床 PK に影響を与えないと予測された。タスルグラチニブは CYP1A2，CYP2B6 及び CYP3A4 に対して in vitro で誘導作用を示したが，M2 は誘導作用を示さなかった。タスルグラチニブ及び M2 は複数の薬物トランスポーター分子種に対して阻害作用を示した。タスルグラチニブ及び M2 の各薬物トランスポーター分子種に対する IC_{50} 値，臨床用量（140 mg）及び血漿中暴露量を考え合わせると，タスルグラチニブが消化管の P-gp 及び BCRP，並びにタスルグラチニブと M2 が腎臓の MATE1 を阻害する可能性は否定できなかった。

以上の非臨床薬物動態試験の結果は，動物におけるタスルグラチニブの薬物動態特性，代謝の動物種差並びにヒトにおける薬物代謝酵素及び薬物トランスポーターを介した DDI の可能性を評価する上で適切であり，十分なものであると考えた。

ラット及びイヌを用いて実施した反復投与毒性試験では，血中無機リン濃度の上昇及びそれに関連した変化として種々の組織（ラット：角膜，胃，腎，心［動脈及び心筋］，大動脈，足，脊髄，脊椎，肺，気管，舌［動脈］，十二指腸，結腸，関節，イヌ：心，大動脈，肺，舌［動脈］，舌下腺［血管及び腺房］）における石灰沈着がみられた。腎においては FGFR のリガンドの

一つである FGF23 がリンの再吸収を抑制し，生体内の無機リン及びカルシウムバランスを調節することが報告されているが（Tacer, et al., 2010; Donate-Correa, et al., 2012; Kharitonenkov, 2009; Lanske, et al., 2013），本薬の FGFR 阻害作用に基づく FGF23 作用阻害の結果，血中リン濃度が上昇し，さらに二次的に石灰沈着が諸臓器に生じたものと考えられた。同様の変化は，FGF 阻害作用を有する他の薬物や FGFR 機能異常のモデル動物においても報告されている（Brown, et al., 2005; Shimada, et al., 2004）。一般に石灰沈着は消失に時間を要する変化であり，タスルグラチニブでの毒性試験においても 4 週間休薬後も残存していた。しかし，原因となる血中無機リン濃度の上昇は休薬により回復したこと，残存した石灰沈着の増悪や周囲組織への影響はみられなかったことから，時間は要するもののいずれは消失し得る変化と考えられた。

骨においては，ラット及びイヌで骨軟骨異形成及び骨吸収増加がみられた。FGFR3 は軟骨の形成に関与しており（Minina et al., 2002），また，同様の変化が類薬でみられていることから（Brown et al., 2005），本薬で認められた骨に対する変化についても薬理作用に起因した変化であると考えられた。休薬期間後も変化が残存する個体がみられたが，その程度は減弱していることから，回復傾向は明らかであった。

重層扁平上皮及び腺上皮の変化がラット及びイヌにおいて種々の組織にみられた（ラット：角膜，舌，足，爪床，乳腺，イヌ：角膜，歯肉，舌，食道，皮膚，足，爪床，肉球，唾液腺，涙腺，乳腺，消化管，膵，精巣上体）。FGF は上皮細胞の増殖因子であり（Steiling and Werner, 2003; Wang, et al., 2010; Yang, et al., 2010），FGFR2 の機能障害モデルマウスや類薬の投与により上皮の萎縮が誘発されることが報告されていることから（Werner, et al., 1994），本薬によって生じた上皮の萎縮性変化についても薬理作用に起因するものと考えられた。また，休薬により回復性が確認された。

ラット及びイヌの一般状態観察で被毛の伸長が認められたが，病理組織学的に毛胞の形態異常はみられなかった。毛髪サイクルには休止期（telogen），成長期（anagen），退行期（catagen）があり，FGF5 によるシグナルが退行期において（Hébert, et al., 1994），FGF18 によるシグナルが休止期において（Kawano, et al., 2016）毛髪サイクルの調整に関与していることから，本薬によるシグナル抑制により毛髪サイクルの退行期への移行が抑制される，あるいは休止期から成長期への移行が促進されることにより，被毛が伸長した可能性が考えられた。4 週間の休薬期間終了時でも変化がみられたが，毛髪サイクルを考慮した場合，回復には 4 週間以上の期間を必要とするものと考えられた（Welle and Wiener, 2016）。

フィブリノイド壊死及び出血を特徴とする動脈の変化がイヌにおいてみられた。FGF は血管内皮増殖因子（VEGF）同様に血管新生を促進する因子であることから（Cross and Claesson-Welsh, 2001），イヌでみられた動脈病変は本薬による脈管系及び血管新生への影響と関連していると考えられた。休薬期間後には異常はみられず，回復性が認められた。

ラットにおいてみられた切歯の異形成についても，FGF10，FGFR2b がエナメル形成を含む歯の形成に関与していることから（Parsa, et al., 2010），本薬の薬理作用に起因したものと考えられた。4 週間反復投与試験における一般状態観察では，切歯の異常は休薬期間に明らかとなったが，投与期間中に発現した歯根部の変化が，切歯の伸長と萌出によって休薬期間中に顕在化したものであり，病理組織学的には回復群の切歯基部は正常であったことから，回復傾向は明らかであった。臼歯には変化はみられていないことから，切歯が生涯を通じて成長するラット特有の

変化であると考えられ，ヒト成人への外挿性は低いと考えられた。イヌでは同様の変化は認められなかった。

上記のように，ラット及びイヌを用いた反復投与毒性試験において，タスルグラチニブの投与により，種々の組織に FGFR 阻害作用に起因する変化がみられたが，石灰沈着，被毛の伸長を除いていずれの動物種においても 4 週間の休薬後に回復性が認められた。また，13 週間反復投与毒性試験においても同様の変化がみられ，投与期間が長くなることによる新しい毒性の発現はみられなかった。

一方で，胚・胎児発生毒性試験の用量設定試験をラットで行った結果，母動物に対する毒性がみられない用量で，胎児に対する毒性がみられ，外表異常，内臓異常，骨格奇形等，催奇形性を示唆する変化がみられた。FGFR 阻害による催奇形性は同様なメカニズムを有する他の化合物でもみられており（Martínez-Abadías, et al., 2011; Pemigatinib: US FDA, 2020），薬理作用に起因した影響であると考えられた。

タスルグラチニブは自然光の範囲内で光を吸収し，ラットを用いた薬物動態試験の結果メラニン含有組織への結合親和性が示唆されているが，BALB/3T3 細胞を用いて実施した in vitro 光毒性試験の結果からタスルグラチニブによる光毒性のリスクはないと考えられた。

ヒトにおける主要な代謝物として M2 及び M9 が確認されているが，ヒトに特異的な代謝物は特定されていない。毒性試験では，ラット及びイヌにおける 13 週間反復投与毒性試験において，いずれの動物種においても未変化体に比べて値は低いものの，M2 が検出された。イヌの血漿中で定性的に検出された M9 及びその他の代謝物の血漿中濃度については非臨床毒性試験で定量的な評価は実施していない。

2.4.6 参考文献一覧

Arai Y, Totoki Y, Hosoda F, Shirota T, Hama N, Nakamura H, et al. Fibroblast growth factor receptor 2 tyrosine kinase fusions define a unique molecular subtype of cholangiocarcinoma. Hepatology. 2014;59:1427–34.

Blanc J, Geney R, Menet C. Type II kinase inhibitors: an opportunity in cancer for rational design. Anticancer Agents Med Chem. 2013;13:731–47.

Brown AP, Courtney CL, King LM, Groom SC, Graziano MJ. Cartilage dysplasia and tissue mineralization in the rat following administration of a FGF receptor tyrosine kinase inhibitor. Toxicol Pathol. 2005;33:449–55.

Cristinziano G, Porru M, Lamberti D, Buglioni S, Rollo F, Amoreo CA, et al. FGFR2 fusion proteins drive oncogenic transformation of mouse liver organoids towards cholangiocarcinoma. J Hepatol. 2021;75:351–62.

Cross MJ, Claesson-Welsh L. FGF and VEGF function in angiogenesis: signalling pathways, biological responses and therapeutic inhibition. Trends Pharm Sci. 2001;22:201–7.

Donate-Correa J, Muros-de-Fuentes M, Mora-Fernández C, Navarro-González JF. FGF23/Klotho axis: Phosphorus, mineral metabolism and beyond. Cytokine Growth Factor

Rev. 2012;23:37–46.

Farshidfar F, Zheng S, Gingras MC, Newton Y, Shih J, Robertson AG, et al. Integrative genomic analysis of cholangiocarcinoma identifies distinct IDH-mutant molecular profiles. Cell Rep. 2017;18:2780–94.

Hébert JM, Rosenquist T, Götz J, Martin GR. FGF5 as a regulator of the hair growth cycle: Evidence from targeted and spontaneous mutations. Cell. 1994;78:1017–25.

Kawano M, Umeda S, Yasuda T, Fujita M, Ishikawa A, Imamura T, et al. FGF18 signaling in the hair cycle resting phase determines radioresistance of hair follicles by arresting hair cycling. Adv Radiat Oncol. 2016;1:170–81.

Kharitonenkov A. FGFs and metabolism. Curr Opin Pharmacol. 2009;9:805–10.

Koyama T, Shimizu T, Iwasa S, Fujiwara Y, Kondo S, Kitano S, et al. First-in-human phase I study of E7090, a novel selective fibroblast growth factor receptor inhibitor, in patients with advanced solid tumors. Cancer Sci. 2020;111:571–9.

Lanske B, Densmore M, Razzaque MS. Regulation of phosphate metabolism by FGF23. In: Translational endocrinology of bone. Elsevier; 2013. p. 137–50.

Liao JJ. Molecular recognition of protein kinase binding pockets for design of potent and selective kinase inhibitors. J Med Chem. 2007;50:409–24.

Mahipal A, Tella SH, Kommalapati A, Anaya D, Kim R. FGFR2 genomic aberrations: Achilles heel in the management of advanced cholangiocarcinoma. Cancer Treat Rev. 2019;78:1–7.

Martínez-Abadías N, Heuzé Y, Wang Y, Jabs EW, Aldridge K, Richtsmeier JT. FGF/FGFR signaling coordinates skull development by modulating magnitude of morphological integration: Evidence from apert syndrome mouse models. PLoS One. 2011;6:e26425.

Minina E, Kreschel C, Naski MC, Ornitz DM, Vortkamp A. Interaction of FGF, Ihh/PthIh, and BMP signaling integrates chondrocyte proliferation and hypertrophic differentiation. Dev Cell. 2002;3:439–49.

Miyano SW, Yamamoto Y, Kodama K, Miyajima Y, Mikamoto M, Nakagawa T, et al. E7090, a novel selective inhibitor of fibroblast growth factor receptors, displays potent antitumor activity and prolongs survival in preclinical models. Mol Cancer Ther. 2016;15:2630–9.

Nakamura H, Arai Y, Totoki Y, Shirota T, Elzawahry A, Kato M, et al. Genomic spectra of biliary tract cancer. Nat Genet. 2015;47:1003–10.

Parsa S, Kuremoto K, Seidel K, Tabatabai R, MacKenzie B, Yamaza T, et al. Signaling by FGFR2b controls the regenerative capacity of adult mouse incisors. Development. 2010;137:3743–52.

Shimada T, Kakitani M, Yamazaki Y, Hasegawa H, Takeuchi Y, Fujita T, et al. Targeted ablation of Fgf23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. J Clin Invest. 2004;113:561–8.

Steiling H, Werner S. Fibroblast growth factors: key players in epithelial morphogenesis, repair and cytoprotection. Curr Opin Biotechnol. 2003;14:533–7.

Tacer KF, Bookout AL, Ding X, Kurosu H, John GB, Wang L, et al. Research resource: Comprehensive expression atlas of the fibroblast growth factor system in adult mouse. Mol Endocrinol. 2010;24:2050–64.

Tong JH, Lung RW, Sin FM, Law PP, Kang W, Chan AW, et al. Characterization of rare transforming KRAS mutations in sporadic colorectal cancer. Cancer Biol Ther. 2014;15:768–76.

United States Food and Drug Administration. Package insert for pemigatinib (PEMAZYRE®).; 2020

Wang X, Zhou X, Ma. J, Tian H, Jiao Y, Zhang R, et al. Effects of keratinocyte growth factor-2 on corneal epithelial wound healing in a rabbit model of carbon dioxide laser injury. Biol Pharm Bull. 2010;33:971–6.

Welle MM, Wiener DJ. The hair follicle: A comparative review of canine hair follicle anatomy and physiology. Toxicol Pathol. 2016;44:564–574.

Werner S, Smola H, Liao X, Longaker MT, Krieg T, Hofschneider PH, et al. The function of KGF in morphogenesis of epithelium and reepithelialization of wounds. Science. 1994;266:819–22.

Yang J, Meyer M, Müller AK, Böhm F, Grose R, Dauwalder T, et al. Fibroblast growth factor receptors 1 and 2 in keratinocytes control the epidermal barrier and cutaneous homeostasis. J Cell Biol. 2010;188:935–52.

Yue S, Li Y, Chen X, Wang J, Li M, Chen Y, et al. FGFR-TKI resistance in cancer: current status and perspectives. J Hematol Oncol. 2021;14:23.

Zhao Y, Adjei AA. Targeting Angiogenesis in Cancer Therapy: Moving beyond vascular endothelial growth factor. Oncologist. 2015;20:660–73.

Zuccotto F, Ardini E, Casale E, Angiolini M. Through the "gatekeeper door": Exploiting the active kinase conformation. J Med Chem. 2010;53:2681–94.