目次

2.6.6 毒性試験の概要文 3
2.6.6.1 まとめ 3
2.6.6.2 単回投与毒性試験 5
2.6.6.3 反復投与毒性試験 5
2.6.6.4 遺伝毒性試験 12
2.6.6.5 がん原性試験 13
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 13
2.6.6.7 局所刺激性試験 14
2.6.6.8 その他の毒性試験 14
2.6.6.9 考察及び結論 15
2.6.6.10 図表 17
2.6.6.11 参考文献 17

毒性試験の概要文の略号一覧表

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）
ALP	alkaline phosphatase	アルカリフォスファターゼ
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
$AUC_{(0\text{-}24h)}$	area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours postdose	投与時から 24 時間までの血漿中濃度-時間曲線下面積
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
FOB	functional observational battery	機能観察バッテリー
GD	gestation day	妊娠日数
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
SD	Sprague Dawley	（ラットの系統名）
TK	toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
VEGF	vascular endothelial growth factor	血管内皮細胞増殖因子

2.6.6 毒性試験の概要文

2.6.6.1 まとめ

タスルグラチニブの毒性を評価するため，ラット及びイヌを用いた経口投与による反復投与毒性試験（いずれの動物種も 13 週まで），3 種の遺伝毒性試験（復帰突然変異試験，in vitro 小核試験，及びラット小核試験），ラットを用いた胚・胎児発生に関する用量設定試験及び in vitro 光毒性試験を実施した。毒性試験のリストを表 2.6.6-1 に示した。

表 2.6.6-1　毒性試験リスト

試験の種類と投与期間	投与経路	動物種	GLP の適否
反復投与毒性試験			
2 週間	経口	ラット・イヌ	否
4 週間+4 週間回復	経口	ラット・イヌ	適
13 週間	経口	ラット・イヌ	適
遺伝毒性試験			
復帰突然変異試験	in vitro	細菌 [a]	適
小核試験	in vitro	ヒトリンパ芽球 TK6 細胞	適
小核試験	経口	ラット	適
生殖発生毒性試験			
胚・胎児発生（用量設定）	経口	ラット	適
その他の毒性試験			
光毒性試験	in vitro	BALB/c 3T3 細胞	適

GLP = Good Laboratory Practice.
a: ネズミチフス菌 TA100，TA1535，TA98，TA1537 及び大腸菌 WP2 *uvrA* を用いて実施した。

毒性試験ではタスルグラチニブのフリー体（ER-603226-00），あるいはコハク酸塩（E7090 succinate，ER-000603226-SUC）を用いた。

非 GLP でのラット及びイヌの 2 週間反復投与用量設定試験はフリー体を用いて行った。その他の毒性試験は，臨床で使用されたタスルグラチニブ コハク酸塩を用いて行った。投与量の表示は被験物質としての用量を示しており，タスルグラチニブ コハク酸塩を用いた試験では，フリー体としての投与量は 0.768 を乗じることにより計算される。例えば，タスルグラチニブ コハク酸塩の 10 mg/kg は，タスルグラチニブ フリー体として 7.68 mg/kg に相当する。

マウス，ラット，イヌ及びヒト凍結肝細胞，ラット及びイヌ肝ミクロソームを用いて代謝プロファイルを検討した結果，ラット及びイヌは毒性試験に使用する動物種として適切であると考えられた。

単回投与毒性試験

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 週間反復投用量設定試験，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 0，10，30，100，300 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 0，30，100，300，600 mg/kg）では，体重及び摂餌量の減少が全用量でみられ，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。

反復投与毒性試験

ラット

2 週間反復投与による用量設定毒性試験（2.6.6.3.1 ，投与量：フリー体として 0，10，30，100，300 mg/kg）では，低用量の 10 mg/kg から薬理作用である線維芽細胞増殖因子（FGF）の受容体キナーゼ阻害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，骨端軟骨成長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は残存していたが，角膜上皮層の菲薄化は回復性が認められた。4 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.2 ，投与量：コハク酸塩として 0，2，7，27 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が，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，切歯の異形成が，27 mg/kg で死亡，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は残存していたが，その他の変化については回復性が確認された。13 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.3 ，投与量：コハク酸塩として 0，0.6，2，5 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など，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。

イヌ

2 週間反復投与による用量設定毒性試験（2.6.6.3.4 ，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摂餌量及び体重の著しい減少，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。4 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.5 ，投与量：コハク酸塩として 0，1.5，5.4，27 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が，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いたが，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。13 週間反復投与毒性試験（2.6.6.3.6 ，投与量：コハク酸塩として 0，0.5，1，2 mg/kg）で認められた変化は，2 mg/kg の爪床，角膜，舌の重層上皮の萎縮，並びに 1 mg/kg 以上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。

遺伝毒性試験

ネズミチフス菌 TA100，TA1535，TA98，TA1537 及び大腸菌 WP2 uvrA を用いた復帰突然変異試験（2.6.6.4.1 ）及びヒトリンパ芽球 TK6 細胞を用いた in vitro 小核試験（2.6.6.4.2 ），ラットを用いた骨髄小核試験（2.6.6.4.3 ，投与量：コハク酸塩として0，30，100，300，600 mg/kg）を実施したが，いずれも陰性であった。

生殖発生毒性試験

ラットを用いた胚・胎児発生毒性試験の用量設定試験として，タスルグラチニブ コハク酸塩 0，0.6，2，5 mg/kg を妊娠 7～17 日に反復投与した（2.6.6.6.1.1 ）。その結果，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，骨格奇形，骨格変異，骨化異常及び骨化した仙椎並びに尾椎の数の減少傾向が 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。

光毒性試験

タスルグラチニブは太陽光の波長（290～700 nm）で UVB 領域において光吸収がみられ，当該波長内で最大吸収波長の 290 nm におけるモル吸光係数を算出した結果，その数値は 14,600 L mol^{-1} cm^{-1} であったことから，BALB/c 3T3 細胞を用いた in vitro 光毒性試験を実施した。タスルグラチニブ コハク酸塩として 100 μg/mL の濃度まで検討した結果，タスルグラチニブには光毒性のリスクはないと判断された（2.6.6.8.1.1 ）。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

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。

2.6.6.3 反復投与毒性試験

2.6.6.3.1 ラットにおける 2 週間投与用量設定毒性試験（添付資料 4.2.3.2.1，試験番号 T12097［参考］）

タスルグラチニブ（フリー体）の 0，10，30，100，300 mg/kg を雌雄の Wistar Hannover ラット（2 又は 3 匹/群/性）に 2 週間反復経口投与した。検査項目として死亡の有無，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，血液学的検査，血液生化学的検査，眼科学的検査，トキシコキネティクス（TK）測定，肉眼及び病理組織学的検査を実施した。薬物投与群については，主試験群と同じ例数の動物を TK 群として設定した。なお，TK 群の生存例を用いて，2 週間投与後に 4 週間（10，30 mg/kg 群）あるいは 6 日間投与後に 5 週間（100 mg/kg 群）の休薬期間を設定して回復性の検討を行った。その結果，全用量で薬理作用である線維芽細胞成長因子受容体（FGFR）のキナーゼ阻害に起因する変化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，骨端軟骨成長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がみられ，30 mg/kg では主試験群の雄 1 例が状態悪化の後，投与 14 日に死亡した。100 mg/kg 以上では投与 4～6 日に主試験群の全動物が死亡あるいは瀕死解剖となり，消化管粘膜上皮の変性・壊死もみられた。

回復性の検討では，4 週間（10，30 mg/kg 群）あるいは 5 週間（100 mg/kg 群）の休薬期間終了後，角膜における石灰沈着は 30 mg/kg 以上でみられたが，角膜上皮層の菲薄化については 100 mg/kg までの全ての群で回復性が認められた。

TK 測定の結果を表 2.6.6-2 にまとめた。

表 2.6.6-2　ラット 2 週間反復投与用量設定試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg)	投与日	雄		雌	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)
10	1	68.9	405	311	2540
	14	80.5	542	446	3240
30	1	116	778	1210	9280
	14	124	1020	392	3840
100	1	310	2480	1630	16,500
	6	1030	17,700	1510	20,000
300	1	467	7890	2280	36,700

C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$は，2 例又は 3 例の動物の平均値を示す。

$AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours postdose, C_{max} = maximum observed concentration.

出典：添付資料 4.2.3.2.1（T12097）。

2.6.6.3.2 ラットにおける 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（添付資料 4.2.3.2.2, 試験番号 K13100）

タスルグラチニブ コハク酸塩の 0，2，7，27 mg/kg を雌雄の Wistar Hannover ラット（10 匹/群/性）に 4 週間反復経口投与した。対照群には媒体（0.1 mol/L 塩酸）を同様に投与した。対照群，7 及び 27 mg/kg 群については 4 週間休薬による回復群（6 匹/群/性）を設定した。全ての動物について，4 週間の投与終了後あるいは 4 週間の休薬後，剖検した。TK を評価するため，各群に雌雄各 4 匹を別途設定した。検査項目として死亡の有無，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，安全性薬理に関する検査（FOB［機能観察総合評価］法による行動観察及び呼吸機能検査），眼科学的検査，TK 測定，肉眼及び病理組織学的検査を実施した。27 mg/kg の雌 1 例が体重減少の後，敗血症により投与 26 日に死亡した。27 mg/kg 群の他の動物では摂餌量の減少や体重増加抑制がみられたものの 4 週間の投与期間終了まで生存した。一般状態の変化として，投与 20 日以降に石灰沈着に起因すると考えられる角膜の混濁や指の腫脹が雌雄にみられ，雌では歩行異常を示す個体もみられた。また，被毛の伸長も雌雄にみられた。臨床検査では，血小板数，網状赤血球数，血中無機リン，カルシウム，アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST），アルカリフォスファターゼ（ALP）の上昇，総蛋白，アルブミンの減少がみられた。病理組織学的検査では種々の臓器における石灰沈着に加えて上皮の萎縮（角膜，足蹠，背部皮膚，爪床），大腿骨及び胸骨における骨軟骨異形成と骨吸収増加，切歯の異形成がみられた。7 mg/kg 群では同様な変化として血中無機リンの上昇，石灰沈着（腎及び角膜），上皮の萎縮（角膜，爪床），切歯の異形成がみられた。2 mg/kg での変化はわずかであり，雌雄の数例で血中無機リンの上昇，雌雄各 1 例で角膜における石灰沈着がみられたのみであった。

休薬期間終了後，石灰沈着及び被毛の伸長は残存していたが，その他の所見については休薬

期間中に回復性が認められた。切歯については，白色化，長さ及び幅の縮小が 27 mg/kg 群の全例において投与 51 日（休薬 13 日）以降に明らかとなったが，これは投与期間中の歯根部での影響が切歯の成長と萌出に伴い肉眼的に観察されるようになったためであり，切歯の基部は組織学的に正常であったことから，休薬によって回復する変化であることが示された。TK では雌の暴露量が雄に比べて高かった。C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$は 2 mg/kg から 27 mg/kg の間で投与量比以上に増加した。また，4 週間の反復投与により，暴露量が変わることはなかった。

表 2.6.6-3　ラット 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復性試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg)	投与日	雄		雌	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)
2	1	5.46	35.8	20.8	155
	29	6.62	49.0	21.6	177
7	1	31.6	185	129	869
	29	52.8	305	202	1320
27	1	134	927	795	4710
	29	137	1400	677	5560

C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$は，4 例の動物の平均値を示す。
$AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours postdose, C_{max} = maximum observed concentration
出典：添付資料 4.2.3.2.2（K13100）。

以上，タスルグラチニブ コハク酸塩の 0，2，7，27 mg/kg を雌雄の Wistar Hannover ラットに 4 週間反復経口投与した結果みられた主要な変化は，2 mg/kg 以上で血中無機リンの上昇と角膜における石灰沈着，7 mg/kg 以上で腎における石灰沈着，種々の上皮の萎縮，切歯の異形成，27 mg/kg では骨軟骨異形成・骨吸収増加，被毛の伸長などタスルグラチニブの薬理作用である FGFR 阻害に関連する変化であり，27 mg/kg 群の 1 例の雌が投与 26 日に死亡した。石灰沈着と被毛の伸長が休薬期間終了後もみられたが，その他の変化については回復性が認められた。

2.6.6.3.3 ラットにおける 13 週間反復投与毒性試験（添付資料 4.2.3.2.3，試験番号 B200206）

タスルグラチニブ コハク酸塩を，雌雄の SD ラット（10 匹/性/群）に，0，0.6，2，5 mg/kg の用量で，13 週間強制経口投与した。対照群には，等量（5 mL/kg）の媒体（0.1 mol/L 塩酸）を投与し，全ての動物は 13 週間の投与後に剖検した。TK 群として各群雌雄各 4 匹に，タスルグラチニブ コハク酸塩あるいは媒体を同様に投与しタスルグラチニブ及び M2（ヒトにおけるタスルグラチニブの主要な代謝物）の TK について検討した。検査項目として，死亡の有無，一般状態観察，体重，摂餌量，眼科学的検査，尿検査，血液学的検査，血液生化学的検査，臓器重量，肉眼及び病理組織学的検査を実施した。

その結果，いずれの投与群でも尿検査，血液学的検査，臓器重量に毒性学的に有意な変化はみられなかった。タスルグラチニブによる毒性変化のほとんどは，その薬理作用である FGFR 阻害に関連したものと考えられた。

5 mg/kg では，組織病理学的な切歯の異形成とそれに関連する肉眼的変化（変色，破損，喪失・過成長及び不正咬合）がみられ，投与後期には体重増加量と摂餌量の減少もみられた。ま

た，病理組織学的変化としてみられた爪床の上皮萎縮を伴う爪の伸長が，石灰沈着に関連して角膜混濁の発生率の増加がみられた。血液生化学的検査では，血中無機リン，総コレステロール（雄），カルシウム（雄），ALP（雌）の増加，総タンパク質（雌），アルブミン，グロブリン（雌），アルブミン/グロブリン比（雌）の減少がみられた。病理組織学的には，高リン血症に関連した石灰沈着（角膜，腎，大動脈，脊椎，及び気管），重層又は腺上皮の萎縮（角膜，舌，足蹠，爪床，及び乳腺［雄］），骨軟骨異形成（大腿骨［雄］，胸骨，及び椎骨）がみられた。2 mg/kg では雄で切歯異形成，血中無機リンの上昇がみられ，雌では総タンパク質（アルブミンとグロブリン）の減少がみられた。0.6 mg/kg では，毒性学的に有意な変化はみられなかった。

タスルグラチニブの C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$は雌が雄に比べて高く，いずれも用量比以上に増加した。また，13 週間の反復投与により雌雄ともに暴露量の増加がみられた。M2 の C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$は，タスルグラチニブの C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$と比較して非常に低く，雄では 13 週間の反復投与後に高い値を示した。

表 2.6.6-4　ラット 13 週間反復投与毒性試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg)	投与日	雄		雌	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)
タスルグラチニブ					
0.6	1	1.97	5.90	5.27	50.2
	91	3.89	34.1	7.25	67.9
2	1	11.3	78.7	31.2	282
	91	24.6	227	46.7	425
5	1	36.1	239	133	1150
	91	60.5	546	141	1460
M2					
0.6	1	BQL	NC	BQL	NC
	91	BQL	NC	BQL	NC
2	1	BQL	NC	BQL	NC
	91	0.110	0.955	0.117	0.874
5	1	0.0754	0.226	0.237	2.17
	91	0.214	2.02	0.367	3.71

C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$は，4 例の動物の平均値を示す。BQL = below the quantifiable limit, NC = not calculated. $AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours postdose, C_{max} = maximum observed concentration.

出典：添付資料 4.2.3.2.3（B200206）。

以上，タスルグラチニブ コハク酸塩の 0.6，2，5 mg/kg を雌雄の SD ラットに 13 週間反復経口投与した結果みられた主要な毒性変化は，2 及び 5 mg/kg での血中無機リンの上昇と切歯の形成異常，5 mg/kg での上皮萎縮，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など，薬理作用に関連した変化であった。無毒性量（NOAEL）は，雌雄ともに 0.6 mg/kg であった。

2.6.6.3.4 イヌの 2 週間反復投与用量設定毒性試験（添付資料 4.2.3.2.4，試験番号：T13014

［参考］）

タスルグラチニブ（フリー体）の 3，30 mg/kg を雌雄のビーグル犬（1 匹/群/性）に 2 週間反復経口投与した。検査項目として，死亡の有無，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，血液学的検査，血液生化学的検査，TK 測定，肉眼及び病理組織学的検査を実施した。その結果，30 mg/kg で死亡はみられなかったが，流涎，摂餌量及び体重の著しい減少，活動性低下，消化管の組織学的変化を伴う水様便，粘液便がみられた。また，血中無機リンの著しい上昇，角膜上皮層の菲薄化もみられた。3 mg/kg では摂餌量及び体重減少，血中無機リンの軽度な上昇がみられたが，組織学的変化はみられなかった。

表 2.6.6-5　イヌ 2 週間反復投与用量設定毒性試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg)	投与日	雄		雌	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)
3	1	206	2010	244	2530
	14	285	3200	247	3770
30	1	859	11,100	1340	14,300
	14	835	14,400	793	12,100

C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}12h)}$は，1 例の動物の値を示す。
$AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours postdose, C_{max} = maximum observed concentration.
出典：添付資料 4.2.3.2.4（T13014）。

2.6.6.3.5 イヌの 4 週間反復投与毒性試験及び 4 週間回復試験（添付資料 4.2.3.2.5，試験番号：T13032）

タスルグラチニブ コハク酸塩の 0，1.5，5.4，27 mg/kg を雌雄のビーグル犬（3 匹/群/性）に 4 週間反復経口投与した。対照群には媒体（0.1 mol/L 塩酸）を同様に投与した。対照群，5.4 及び 27 mg/kg 群については 4 週間休薬による回復群（2 匹/群/性）を設定した。27 mg/kg 群は動物の状態悪化のため，投与期間を 13 日間に短縮して投与 14 日に剖検し，回復群は 6 週間の休薬の後剖検した。その他の群については，4 週間の投与終了後あるいは 4 週間の休薬後剖検した。検査項目として，死亡の有無，一般状態観察，体重及び摂餌量測定，血液学的検査，血液生化学的検査，尿検査，心電図測定，眼科学的検査，TK 測定，肉眼及び病理組織学的検査を実施した。

その結果，投与 14 日に 27 mg/kg の雄 1 例が瀕死となり剖検した。27 mg/kg 群では体重及び摂餌量減少，軟便，粘液便，水様便がみられ，投与 8 日以降は便に赤色あるいは黒緑色の物質が混入し，活動性の低下や横臥位がみられたことから，同群で投与 14 日以降の投与を中止し回復群を除き剖検した。消化器症状とそれに伴う状態悪化は，消化管（小腸及び大腸）粘膜上皮の変性・壊死によるものと考えられた。その他の一般状態所見として，散発的な嘔吐，さらに投与 10 日以降に歩行異常がみられた。臨床検査では，血中無機リンの上昇，及び ALP の上昇がみられた。病理組織学的検査では，大腿骨，胸骨及び歯槽骨において骨軟骨異形成がみられた。これらの骨病変あるいは血中無機リン上昇に関連して，二次的に骨吸収増加及び種々の組織における石灰沈着がみられた。また，様々な臓器における細動脈のフィブリノイド壊死や軽度な限局性出血，重層上皮（角膜，爪床，肉球，皮膚）及び腺上皮（唾液腺，涙腺，乳腺）の萎縮が認められた。その他，細胞質の空胞化が膵の導管上皮，精巣上体上皮，胃の壁細胞及び近位尿細管上皮に認められ，胃の変化は粘液分泌の増加を，腎の変化は血清中尿素窒素及びクレアチ

ニンの増加を伴っていた。

5.4 mg/kg では 27 mg/kg と同様の消化器症状，体重及び摂餌量減少，血中無機リン上昇，組織学的変化（骨，消化管，血管，角膜や爪床を含む上皮組織）が軽度にみられた。また，頭部や足の被毛の伸長，爪の剥がれが投与 4 週以降にみられた。

1.5 mg/kg で認められた所見は，大腿骨における骨軟骨異形成及び胃における粘液分泌の増加のみであった。

投与期間終了後，5.4 mg/kg 以上の群の動物の一般状態は徐々に回復し，水様便や粘液便は休薬 1 週間以内に消失した。血中無機リン値についても，休薬 1～2 週で正常レベルに回復した。一方，5.4 mg/kg 以上の群で認められた被毛の伸長については，休薬期間終了時まで継続して観察され，爪の剥がれについても休薬期間中に散見された。投与期間終了後にみられた組織学的変化のうち，心や動脈等の石灰沈着及び骨軟骨異形成は休薬期間終了後にも残存したが，その他の変化については回復性が確認された。

眼科学的検査及び心電図測定においては薬物投与に起因する変化はみられなかった。

C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$は投与量依存的に上昇し，雌雄差はなく，投与 1 日と投与 28 日の値にも差はみられなかった。

表 2.6.6-6　イヌ 4 週間反復投与毒性試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg)	投与日	雄		雌	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)
1.5	1	73.2	842	80.1	765
	28	93.7	983	110	1260
5.4	1	219	2890	344	3820
	28	295	3640	334	4790
27	1	1010	11,700	990	10,500

C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$は，3～5 例の動物の平均値を示す。
$AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours postdose, C_{max} = maximum observed concentration
出典：添付資料 4.2.3.2.5（T13032）。

以上，タスルグラチニブ コハク酸塩の 1.5，5.4，27 mg/kg を雌雄のビーグル犬に 4 週間反復経口投与した結果，27 mg/kg では重篤な消化管毒性による一般状態の悪化と死亡がみられ，投与期間を 13 日間に短縮した。5.4 mg/kg 以上では高リン血症及びそれに伴う石灰沈着，動脈病変，重層上皮・腺上皮の萎縮，被毛の伸長等，種々の組織に薬理作用に起因すると考えられる変化がみられた。1.5 mg/kg 以上では，骨軟骨異形成及び胃における粘液分泌の増加がみられた。被毛の伸長，石灰沈着，骨の変化は 4 週間の休薬期間終了後も残存したが，その他の変化については回復性がみられた。

2.6.6.3.6 イヌの 13 週間反復投与毒性試験（添付資料 4.2.3.2.6，試験番号：B200205）

タスルグラチニブ コハク酸塩を，0，0.5，1，2 mg/kg の用量で雌雄ビーグル犬（3 匹/群/性）に 13 週間経口投与した。対照群には等量（4 mL/kg）の媒体（0.1 mol/L 塩酸）を投与し，全て

の動物を 13 週間の投与期間後に剖検した。検査項目として，死亡の有無，一般状態観察，体重，摂餌量，眼科学的検査，心電図，尿検査，血液学的検査，血液生化学的検査，TK 測定（タスルグラチニブ及び代謝物 M2），臓器重量，肉眼及び病理組織学的検査を実施した。

その結果，いずれの投与量においても体重，摂餌量，眼科学的検査，心電図，尿検査，血液学的検査，臓器重量に被験物質に関連した変化はみられなかった。

2 mg/kg では，被験物質に関連する組織学的変化は，爪床，舌，及び角膜の重層上皮の萎縮に限定された。この変化はタスルグラチニブの薬理作用である FGFR 阻害に関連していると考えられた。1 及び 2 mg/kg では，投与期間の後半から被毛の伸長を伴う被毛の乱れが両性で認められた。この変化は，四肢，尾，首，胸部から腹部及び臀部で観察されたが，関連する組織学的変化はみられなかった。また，血中無機リンの上昇が雌雄ともに軽度にみられた。これらの変化もタスルグラチニブの薬理作用に関連すると考えられた。0.5 mg/kg では，毒性学的に有意な変化はみられなかった。

タスルグラチニブの C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$は，雌雄とも用量依存的に増加し，いずれも顕著な性差はなかった。13 週間反復投与後の暴露量の蓄積は，雌雄ともに認められなかった。

M2 の C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$は，タスルグラチニブよりも低く，また，雌雄ともに 13 週間反復投与後の M2 暴露の蓄積は認められなかった

表 2.6.6-7　イヌ 13 週間反復投与毒性試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg)	投与日	雄		雌	
		C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)
タスルグラチニブ					
0.5	1	22.3	312	28.3	321
	91	32.9	408	30.6	379
1	1	44.1	661	51.0	697
	91	64.4	844	69.1	932
2	1	86.5	1230	96.0	1170
	91	143	1370	101	1470
M2					
0.5	1	0.181	1.49	0.261	2.22
	91	0.236	1.89	0.205	2.45
1	1	0.368	4.39	0.572	7.32
	91	0.413	5.73	0.624	7.51
2	1	0.957	11.1	0.795	8.68
	91	0.960	8.41	0.830	10.0

C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$は，3 例の動物の平均値を示す。
$AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours postdose, C_{max} = maximum observed concentration
出典：添付資料 4.2.3.2.6（B200205）。

以上のように，被験物質に関連した主要な毒性変化は，薬理作用に関連した 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なく，タスルグラチニブ コハク酸塩の NOAEL は，0.5 mg/kg と考えられた。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1 細菌を用いた復帰突然変異試験（添付資料 4.2.3.3.1.1，試験番号 B150314）

ネズミチフス菌（TA100，TA1535，TA98，TA1537）及び大腸菌（WP2*uvrA*）を用いたタスルグラチニブの復帰突然変異試験をプレインキュベーション法により実施した。本試験は陰性及び陽性対照とともに，代謝活性化系（ラット肝 S9 mix）の存在下及び非存在下で実施し，タスルグラチニブ コハク酸塩の用量は 2.29～5000 µg/plate で評価した。陰性（媒体）対照にはジメチルスルホキシドを用いた。その結果，5000 µg/plate では全ての菌株で被験物質の析出がみられ，S9 mix 存在下及び非存在下ともに 556 µg/plate 以上では生育阻害がみられた。復帰突然変異コロニー数は，全ての菌株のいずれの用量においても陰性対照の 2 倍以下であった。

以上，タスルグラチニブは本試験条件下でネズミチフス菌並びに大腸菌に遺伝子突然変異誘発作用を示さなかった。

2.6.6.4.2 ヒトリンパ芽球 TK6 細胞を用いる in vitro 小核試験（添付資料 4.2.3.3.1.3，試験番号：T20016）

ヒトリンパ芽球 TK6 細胞を使用してタスルグラチニブの in vitro 小核試験を実施した。

短時間処理では細胞を S9 mix の存在下又は非存在下で被験物質とともに 4 時間培養し，被験物質除去後 24 時間継続して培養した。連続処理では S9 mix の非存在下で細胞を被験物質とともに 24 時間培養した。培養終了後，細胞をアクリジンオレンジで染色し小核を観察した。タスルグラチニブ コハク酸塩の濃度は用量設定試験（細胞毒性試験）では 0.0076～500 µg/mL，本試験（小核試験）では 2～55 µg/mL を設定した。陽性対照は S9 mix 存在下による短時間処理では 2 µg/mL のシクロホスファミドを，S9 mix 非存在下の短時間処理では 0.08 µg/mL のマイトマイシン C を，連続処理では 0.005 µg/mL のコルヒチンを使用した。媒体及び陰性対照としてはジメチルスルホキシドを使用し短時間処理では 1 v/v%，連続処理では 0.5v/v%の濃度を設定した。タスルグラチニブの細胞毒性は倍加時間に基づいて評価され，小核頻度は 1 サンプルあたり 1000 個の単核細胞（濃度あたり 2000 個の細胞）に小核を有する細胞の数によって算出した。全ての培養条件において 500 µg/mL では沈殿が観察された。

用量設定試験の結果では S9 mix 存在下の短時間処理では 62.5 µg/mL 以上で，S9 mix 非存在下での短時間処理及び連続処理では 15.6 µg/mL 以上で細胞毒性（倍加時間の 50%未満）が観察された。その結果から S9 mix 存在下での短時間処理では 10～55 µg/mL を，S9 mix 非存在下での短時間処理では 4～13 µg/mL を，連続処理では 2～10 µg/mL の濃度を設定して本試験を実施した。小核観察は S9 mix 存在下での短時間処理では 30，35 及び 40 µg/mL の標本で，S9 mix 非存在下での短時間処理では 9，10 及び 11 µg/mL の標本で，連続処理では 4，5 及び 7 µg/ mL の標本で実施した。その結果，用量依存的な小核頻度の増加はみられずタスルグラチニブは in vitro 小核試験で陰性であると判断された。

2.6.6.4.3 ラットにおける小核試験（添付資料 4.2.3.3.2.1，試験番号 T21035）

タスルグラチニブ コハク酸塩の 30，100，300，600 mg/kg あるいは媒体（0.1 mol/L 塩酸）を雄の SD ラット（5 匹/群）に 2 日間経口投与し，陽性対照としてはシクロホスファミド 10 mg/kg

を単回投与して一般状態観察，体重及び摂餌量測定を実施した。最終投与の 48 時間後に頚静脈から採血を行って末梢血サンプルを調製し，フローサイトメトリーを用いて小核の誘発について評価を行った。小核を有する未成熟赤血球の頻度は，動物 1 匹あたり約 20,000 個の未成熟赤血球の測定結果から算出し，全赤血球中の未成熟赤血球の頻度も算出した。

その結果，30 及び 100 mg/kg 群でそれぞれ 1 例の投与起因と推定される死亡が投与終了 2 日後にみられた。300 及び 600 mg/kg 群では死亡はみられなかったが，体重及び摂餌量の減少は全用量でみられた。小核の誘発性については媒体対照群，陽性対照群，100，300，600 mg/kg 群の血液サンプルを用いて評価を行った結果，媒体対照群と陽性対照群の小核を有する未成熟赤血球の頻度は過去の対照データの頻度と類似しており試験系の有効性が確認された。タスルグラチニブ投与群における小核を有する未成熟赤血球の頻度は過去の陰性対照データの範囲内であり，結論としてタスルグラチニブはラット小核試験で小核形成を誘発しなかった。

2.6.6.5 がん原性試験

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（抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン）に基づき，がん原性試験は実施していない。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験

2.6.6.6.1 胚及び胎児発生に関する試験

2.6.6.6.1.1 ラット胚・胎児発生毒性に関する用量設定試験（添付資料 4.2.3.5.2.1，試験番号 ES19463）

タスルグラチニブ コハク酸塩を，0，0.6，2，5 mg/kg の用量で，妊娠雌 SD ラット（10 匹/群）に妊娠 7 日（GD7）から妊娠 17 日（GD17）まで 1 日 1 回経口投与した。対照群は等量の媒体（0.1 mol/L 塩酸，5 mL/kg）を投与した。また，各群 4 匹に同様の投与を行い TK について検討した。母動物については死亡の有無，一般状態，体重，摂餌量，肉眼所見，妊娠状態（黄体数，着床数，早期/後期吸収及び死亡胎児を含む胚・胎児死亡，羊水，臍帯，及び胎盤）を，胎児については体重，性別及び形態（外表観察，内臓観察，骨格形態異常，骨格変異，骨化所見及び仙尾椎の骨化数）を検査項目とした。その結果，いずれの投与群にも母動物の死亡はみられず，一般状態，体重，摂餌量，剖検所見又は妊娠状況にも影響はみられなかった。胎児観察の結果，性比にはいずれの投与量でも影響はみられなかったが，5 mg/kg では体重の低値（対照群に対して–30%），着床後吸収胚の増加，外表異常（尾の先端鈍と小型），内臓異常（側脳室の拡張，胸腺小型，心室中隔欠損，後食道鎖骨下動脈，右側大動脈弓，腎欠損及び腎盂拡張），骨格奇形（肋骨欠損，短肋骨，胸椎椎弓欠損），骨格変異（腰椎の増加），骨化異常（胸椎の二分割及びダンベル型骨化），骨化した仙椎並びに尾椎の数の減少傾向がみられ，内臓異常として後食道鎖骨下動脈は 2 mg/kg でもみられた。

TK 測定（GD17）では，C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$ 値は概ね用量に比例して増加した。

表 2.6.6-8　ラット胚・胎児発生毒性用量設定試験における TK パラメータ

投与量 (mg/kg)	投与日	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)
0.6	GD17	6.24	60.7
2	GD17	30.3	272
5	GD17	93.1	774

C_{max} 及び $AUC_{(0\text{-}24h)}$は，4 匹の動物の平均値を示す。
$AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours postdose, C_{max} = maximum observed concentration, GD = gestation day.
出典：添付資料 4.2.3.5.2.1（ES19463）。

以上，タスルグラチニブ コハク酸塩の 0.6，2，5 mg/kg を SD ラットに GD7 から GD17 まで 1 日 1 回経口投与した結果，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，骨格奇形，骨格変異，骨化異常及び骨化した仙椎並びに尾椎の数の減少傾向が 5 mg/kg でみられ，一部の内臓異常は 2 mg/kg でもみられた。0.6 mg/kg では変化はみられなかった。

上記のとおりラットでの用量設定試験において催奇形性を有することが示唆されたため，ICH S9 ガイドラインの記載を参照し，ラットを用いた胚・胎児発生に関する本試験及びラット以外の動物種を用いた胚・胎児発生毒性試験は実施しなかった。

2.6.6.7 局所刺激性試験

本薬の投与経路は経口投与であり，局所刺激性に特化した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 光毒性試験

2.6.6.8.1.1 In Vitro 光毒性試験（添付資料 4.2.3.7.7.1，試験番号 T20017）

タスルグラチニブは太陽光の波長（290～700 nm）で UVB 領域において光吸収がみられ，当該波長内で最大吸収波長の 290 nm におけるモル吸光係数を算出した結果，その数値は [redacted] L mol^{-1} cm^{-1} であったことから，BALB/c 3T3 細胞を用いた in vitro 光毒性試験を実施した。

タスルグラチニブ コハク酸塩の 0.78～100 µg/mL を BALB/3T3 clone A31 細胞に 60 分間暴露した後，模擬太陽光（紫外線 A の照射線量として 5 J/cm^2）の照射下（50 分間）あるいは非照射下で，ニュートラルレッド色素の取り込みを指標として細胞生存率を算出した。

最高濃度の 100 µg/mL まで培養液中に結晶の析出はみられなかった。タスルグラチニブ コハク酸塩の処置により，光照射下及び光非照射下での 50%生存濃度はそれぞれ 27.7 及び 21.8 µg/mL であった。また，光毒性の評価指標となる光毒性係数（陽性対照の場合>14.4）は 0.787 であり，平均光作用（陽性対照の場合 0.33～0.63）は 0.007 であった。

以上のことから，タスルグラチニブによる光毒性のリスクはないものと判断された。

2.6.6.8.2 不純物に関する試験

タスルグラチニブの原薬中 0.15%を超える規格値を設定した不純物は [redacted] (*不純物A)，[redacted] (*不純物B)，[redacted] (*不純物C) の 3 つであり ER-

＊新薬承認情報提供時に置き換え

000602516-000 はヒトにおける主要代謝物 M2 でもある（2.6.7.4 項参照）。いずれも単独での安全性評価は行っていないが，in silico 解析による遺伝毒性評価結果としては全て陰性であった。また，ラット及びイヌを用いた 4 週間あるいは 13 週間反復投与毒性試験は，それぞれの規格値を超える濃度の不純物を含む原薬を用いて実施したことから，これら不純物の安全性については評価できたものと考えられた。加えて，同様の原薬を用いた各種遺伝毒性試験が実施されており，Ames 試験，in vitro 及び in vivo 小核試験の 3 試験の結果，いずれの試験においても陰性という結果が得られた。

2.6.6.9 考察及び結論

タスルグラチニブの毒性評価としては，ICH S9 ガイドラインに従ってラット及びイヌを用いた 13 週間までの反復投与毒性試験，遺伝毒性試験（Ames 試験，in vitro 及び in vivo 小核試験），ラットを用いた生殖発生毒性試験，in vitro 光毒性試験を実施した。毒性試験の動物種は代謝プロファイルのヒトとの類似性をもとに選択した。

タスルグラチニブをラット及びイヌに反復投与して毒性を評価した結果，薬理作用に起因すると考えられる血中無機リンの上昇や種々の組織における石灰沈着や上皮の萎縮，催奇形性などがみられた。

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［動脈又は心筋］，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 は血管内皮細胞増殖因子（VEGF）等の血管新生因子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血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たな毒性の発現はみられなかった。

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，骨格奇形など，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。表 2.6.6-9 にラットでの胚・胎児発生毒性に関する用量設定試験における暴露量と臨床用量（140 mg）での暴露量の比較を示した。ラットにおいて，臨床用量での暴露量よりも明らかに低い暴露量となる用量（0.057～0.16 倍）で催奇形性がみられた。

表 2.6.6-9　ラットの胚・胎児発生毒性に関する用量設定試験における暴露量と臨床用量での暴露量の比較

投与量[a] (mg/kg/day)	胎児への影響	C_{max} (ng/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)	$AUC_{(0\text{-}24h)}$ Exposure Multiples[b]
0.6	なし	6.24	60.7	×0.013
2	あり（内臓）	30.3	272	×0.057
5	あり（外表，内臓，骨格，骨化）	93.1	774	×0.161

$AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 to 24 hours postdose, C_{max} = maximum observed concentration.
a:　タスルグラチニブ コハク酸塩の投与量。
b:　ラットの $AUC_{(0\text{-}24h)}$と臨床試験（E7090-J081-101）における 140 mg の投与 15 日の暴露量（$AUC_{(0\text{-}24h)}$：4800 ng·h/mL）との比を示した。
出典：添付資料 4.2.3.5.2.1（ES19463），5.3.3.2.1（E7090-J081-101）。

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（2.6.4.4.1 項参照），BALB/c 3T3 マウス線維芽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。

ヒトに特異的な代謝物は特定されておらず，ヒトにおける主要な代謝物として M2（ER-000602516）及び M9（ER-001245043）が確認されている（2.6.4.5.1.2.3 項参照）。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，タスルグラチニブに加えてヒトにおける主要代謝物である M2 についても血漿中濃度測定を実施した。その結果，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。M9 及びその他の代謝物の血漿中濃度については，非臨床毒性試験では測定していない。本薬は進行がんの治療に用いられる薬剤であることから，ICH S9 ガイドラインの記載を参照し，代謝物の毒性を個別に調べる必要はないと考えた。

2.6.6.10 図表

図表は本文中に記載した。

2.6.6.11 参考文献

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.

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.

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.

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

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.

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.

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;44:564–74.

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.

目次

2.6.7 毒性試験概要表 2
2.6.7.1 毒性試験：一覧表 2
2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表 3
2.6.7.3 トキシコキネティクス成績の一覧 4
2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧 6
2.6.7.5 単回投与毒性試験 7
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 8
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 9
2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験 26
2.6.7.9 In vivo 遺伝毒性試験 31
2.6.7.10 がん原性試験 32
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 33
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 34
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 35
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 36
2.6.7.15 局所刺激性試験 37
2.6.7.16 その他の毒性試験 38

2.6.7 毒性試験概要表

2.6.7.1 毒性試験：一覧表

Test Article: タスルグラチニブ コハク酸塩

Type of Study/Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Daily Dose (mg/kg)[a]	GLP[b]	Testing Facility	Study Number	Location in CTD
Single-Dose Toxicity							
not conducted							
Repeated-Dose Toxicity							
Rat/Wistar Hannover	PO	2 weeks	0, 10, 30, 100, 300	No	Eisai Co., Ltd.	T12097	4.2.3.2.1
Rat/Wistar Hannover	PO	4 weeks	0, 2, 7, 27	Yes	Sunplanet Co., Ltd.	K13100	4.2.3.2.2
Rat/Sprague Dawley	PO	13 weeks	0, **0.6**, 2, 5	Yes	[redacted]	B200206	4.2.3.2.3
Dog/Beagle	PO	2 weeks	3, 30	No	Eisai Co., Ltd.	T13014	4.2.3.2.4
Dog/Beagle	PO	4 weeks	0, 1.5, 5.4, 27	Yes	Eisai Co., Ltd.	T13032	4.2.3.2.5
Dog/Beagle	PO	13 weeks	0, **0.5**, 1, 2	Yes	[redacted]	B200205	4.2.3.2.6
Genotoxicity							
Bacterial reverse mutation assay/*S.typhimurium* TA1535, TA1537, TA98, TA100, *E. Coli* WP2 *uvrA*	In vitro	NA	Up to 5000 µg/plate with and without S9	Yes	[redacted]	B150314	4.2.3.3.1.1
Micronucleus/human lymphoblastoid TK6 cells	In vitro	NA	Up to 40 µg/mL with S9; up to 11 µg/mL without S9	Yes	Eisai Co., Ltd.	T20016	4.2.3.3.1.2
Micronucleus/Rat/Sprague Dawley	PO	2 days	0, 30, 100, 300, 600	Yes	Eisai Co., Ltd.	T21035	4.2.3.3.2.1
Reproduction Toxicity							
DRF EFD study in rats	PO	11 days	0, 0.6, 2, 5	Yes	[redacted]	ES19463	4.2.3.5.2.1
Other Studies							
Phototoxicity/mouse BALB/c 3T3 fibroblasts	In vitro	NA	0.78 to 100 µg/mL	Yes	Eisai Co., Ltd.	T20017	4.2.3.7.7.1

DRF = dose-range finding, CTD = common technical document, EFD = embryo-fetal development, GLP = Good Laboratory Practice, [redacted], [redacted], NA = not applicable, NOAEL = no observed adverse effect level, PO = oral.

a: Unless otherwise specified, for repeated-dose toxicity studies, the NOAEL for each study is presented in **bold**.

b: Indicates study includes a GLP compliance statement.

2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表

Test Article: タスルグラチニブ コハク酸塩

Type of Study	Test System	Method of Administration	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	Study Number	GLP[a]	Location in CTD
2-week DRF study	Rat/Wistar Hannover	PO	2 weeks	10, 30, 100, 300	T12097	No	4.2.3.2.1
DRF EFD study	Rat/Sprague Dawley	PO	GD 7 through 17	0.6, 2, 5	ES19463	Yes	4.2.3.5.2.1
4-week toxicity study	Rat/Wistar Hannover	PO	4 weeks	2, 7, 27	K13100	Yes	4.2.3.2.2
13-week toxicity study	Rat/Sprague Dawley	PO	13 weeks	0.6, 2, 5	B200206	Yes	4.2.3.2.3
2-week DRF study	Dog/Beagle	PO	2 weeks	3, 30	T13014	No	4.2.3.2.4
4-week toxicity study	Dog/Beagle	PO	4 weeks	1.5, 5.4, 27	T13032	Yes	4.2.3.2.5
13-week toxicity study	Dog/Beagle	PO	13 weeks	0.5, 1, 2	B200205	Yes	4.2.3.2.6

CTD = common technical document, DRF = dose-range finding, EFD = embryo-fetal development, GD = gestation day, GLP = Good Laboratory Practice, PO = oral.

a: Indicates study report includes a GLP compliance statement.

2.6.7.3 トキシコキネティクス成績の一覧

Test Article: タスルグラチニブ コハク酸塩

	Steady State C_{max} (ng/mL)				
Species	Rat		Dog		Human
Method of Administration	PO		PO		PO
Sex	Male	Female	Male	Female	Combined
Daily Dose (mg/kg)					
2.3[a]	NA	NA	NA	NA	372[b]
0.5[c]	NA	NA	32.9	30.6	NA
0.6[c]	3.89	7.25	NA	NA	NA
1[c]	NA	NA	64.4	69.1	NA
1.5[d]	NA	NA	93.7	110	NA
2[c]	24.6	46.7	143	101	NA
3[e]	NA	NA	285	247	NA
5[c]	60.5	141	NA	NA	NA
5.4[d]	NA	NA	295	334	NA
7[d]	52.8	202	NA	NA	NA
10[e]	80.5	446	NA	NA	NA
27[d] (Day 1 for dogs)	137	677	1010	990	NA
30[e]	124	392	835	793	NA
100[f]	1030	1510	NA	NA	NA
300[g] (Day 1)	467	2280	NA	NA	NA

C_{max} = maximum observed concentration, NA = not applicable, PO = oral, QD = once daily.

a: 140 mg (dose as salt free form) QD; Based upon a 60 kg human.
b: C_{max} on Cycle 1, Day 15 (Study E7090-G081-101).
c: C_{max} on Day 91
d: C_{max} on Day 28 or Day 29
e: C_{max} on Day 14
f: C_{max} on Day 6
g: C_{max} on Day 1

Test Article: タスルグラチニブ コハク酸塩

	Steady State AUC (ng·h/mL)				
Species	Rat		Dog		Human
Method of Administration	PO		PO		PO
Sex	M	F	M	F	Combined
Daily Dose (mg/kg)					
2.3[a]	NA	NA	NA	NA	4700[b]
0.5[c]	NA	NA	408	379	NA
0.6[c]	34.1	67.9	NA	NA	NA
1[c]	NA	NA	844	932	NA
1.5[d]	NA	NA	983	1260	NA
2[c]	227	425	1370	1470	NA
3[e]	NA	NA	3200	3770	NA
5[c]	546	1460	NA	NA	NA
5.4[d]	NA	NA	3640	4790	NA
7[d]	305	1320	NA	NA	NA
10[e]	542	3240	NA	NA	NA
27[d] (Day 1 for dogs)	1400	5560	11700	10500	NA
30[e]	1020	3840	14400	12100	NA
100[f]	17700	20000	NA	NA	NA
300[g] (Day 1)	7890	36700	NA	NA	NA

$AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 time to 24 hours postdose, NA = not applicable, PO = oral, QD = once daily.

a: 140 mg (dose as salt free form) QD; Based upon a 60-kg human.
b: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ on Cycle 1, Day 15 (Study E7090-G081-101).
c: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ on Day 91
d: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ on Day 28 or Day 29
e: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ on Day 14
f: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ on Day 6
g: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ on Day 1

2.6.7.4 毒性試験：被験物質（バッチ毎）一覧

Test Article:　タスルグラチニブ コハク酸塩

Batch Number	Purity of Assay Value	Impurities [redacted] (*不純物A)	[redacted] (*不純物B)	[redacted] (*不純物D)	[redacted] (*不純物C)	Study Number	Type of Study
Proposed Specification	[redacted]%-[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%		
[redacted][a]	HPLC impurities [redacted]%	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	T12097	2-week DRF study in rats
						T13014	2-week DRF study in dogs
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	K13100	4-week toxicity study in rats
						T13032	4-week toxicity study in dogs
						B150314	Ames test
[redacted]	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	[redacted]%	B200206	13-week toxicity study in rats
						B200205	13-week toxicity study in dogs
						T20016	In vitro micronucleus study
						T21035	Micronucleus study in rats
						ES19463	DRF EFD study in rats
						T20017	In vitro phototoxicity study

DRF = dose-range finding, EFD = embryo-fetal development, [redacted] = [redacted].
a:　salt free form.

For detailed information regarding specified impurities of the tasurgratinib drug substance used in toxicology studies, please see Section 3.2.S.4.4.

＊新薬承認情報提供時に置き換え

2.6.7.5 単回投与毒性試験

独立した単回投与毒性試験は実施していない。

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: タスルグラチニブ コハク酸塩

Species / Strain	Route/Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Dose (mg/kg)	Gender and No. per Group	No Observed Adverse Effect Level	Noteworthy Findings	Study Number
Rat/Wistar Hannover	Oral gavage/ 0.1 mol/L hydrochloric acid in water/solution	2 weeks	0, 10, 30, 100, 300 (ER-603226-00, salt free for of E7090 succinate)	2-3M/2-3F	NA	30 mg/kg and higher was lethal. The primary test article-related changes were observed in all treated groups and included mineralization/calcification of various organs and tissues secondary to hyperphosphatemia, corneal epithelial atrophy, and changes in the epiphyseal growth plate in the bone. The corneal epithelial atrophy was reversible after a 4/5-week recovery period.	T12097
Dog/Beagle	Oral gavage/ 0.1 mol/L hydrochloric acid in water/solution	2 weeks	3, 30 (ER-603226-00, salt free for of E7090 succinate)	1M/1F	NA	30 mg/kg: Significant change included decreases in food consumption and body weight, watery/mucous stools correlated with histopathologic changes in gastrointestinal tract, increased inorganic phosphorus, and corneal epithelial atrophy. 3 mg/kg: Changes were limited to decreases in food consumption and body weight, slight increase in inorganic phosphorus.	T13014

F = female, M = male, NA = not applicable.

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.A　　**Test Article:** タスルグラチニブ コハク酸塩

Report Title: E7090 succinate: A 4-Week Oral Toxicity Study with 4-Week Recovery Period in Rats		**Study No.** K13100
Species / Strain: Rat/Wistar Hannover	Duration of Dosing: 4 weeks	Location in CTD: 4.2.3.2.2
Initial Age: 8 weeks old	Duration of Postdose: 4 weeks	GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: 26 Nov 20[redacted]	Method of Administration: Oral by gavage	
Vehicle / Formulation: 0.1 mol/L hydrochloric acid in water/solution		
Special Features: none		
NOAEL: not established		

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**2**		**7**		**27**	
Number of Animals (main + [recovery])	**M: 10 + [6]**	**F: 10 + [6]**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10 + [6]**	**F: 10 + [6]**	**M: 10 + [6]**	**F: 10 + [6]**
Number of Animals for TK:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
TK: C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BQL	BQL	5.46	20.8	31.6	129	134	795
Day 29	BQL	BQL	6.62	21.6	52.8	202	137	677
TK: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)								
Day 1	NC	NC	35.8	155	185	869	927	4710
Day 29	NC	NC	49.0	177	305	1320	1400	5560
Noteworthy Findings								
Found dead or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	1
Body weight (Day 28, %)[a]	296.9 g	203.9 g	+3.5	–0.8	+2.5	–0.3	–6.3	–3.8[b]
Food consumption (Day 28, %)[a]	22 g	17 g	0.0	+5.9	+4.5	0.0	–4.5	–11.8[b]
Clinical Observations								
Corneal opacity	—	—	—	—	+	—	+	+
Irregular elongation of hair	—	—	—	—	—	—	+	+
Swollen digits	—	—	—	—	—	—	+	+
Abnormal gait	—	—	—	—	—	—	—	+
Ophthalmology								
Corneal opacity	—	—	—	—	+	+	+	+
Hematology (Day 29)								
Number evaluated	9	10	10	9	10	10	10	9
Platelet ($\times 10^9$/L)	782	825	777	806	800	845	1008[##]	1126[**]
Reticulocyte count ($\times 10^9$/L)	176.9	201.3	164.8	217.2	169.8	209.7	242.3	258.6[**]

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**2**		**7**		**27**	
Serum Chemistry (Day 29)								
Number evaluated	10	10	10	10	10	10	10	9
Inorganic phosphorus (mg/dL)	6.1	6.1	6.5	7.3	7.2*	7.1	9.3**	10.3**
AST (mU/mL)	67	66	68	77	71	79	98**	117##
ALP (mU/mL)	384	176	353	224	420	325#	612#	487##
Total protein (g/dL)	5.5	5.7	5.4	5.5*	5.4	5.4**	5.2**	5.3**
Albumin (g/dL)	2.8	2.9	2.7**	2.8	2.7	2.7**	2.4**	2.4**
A/G ratio	1.04	1.06	0.97	1.04	1.02	1.04	0.89**	0.81**
Calcium (mg/dL)	9.6	9.7	9.6	9.8	9.8	9.8	10.0**	10.2**
Urinalysis	—	—	—	—	—	—	—	—
Organ weights	—	—	—	—	—	—	—	—
Gross pathology								
Number of animals evaluated (FD)	10	10	10	10	10	10	10	9 (1)
Emaciation	0	0	0	0	0	0	0	1 (1)
Aorta								
Nodule, yellowish white	0	0	0	0	0	0	0	0 (1)
Discoloration, white	0	0	0	0	0	0	0	3 (0)
Discolored focus, white	0	0	0	0	0	0	0	2 (0)
Heart								
Discolored area, yellowish white	0	0	0	0	0	0	0	0 (1)
Stomach								
Discolored focus, red, glandular stomach	0	0	0	0	0	0	9	6 (0)
Thymus								
Small	0	0	0	0	0	0	0	0 (1)
Rib								
Thickened	0	0	0	0	0	0	0	1 (0)
Joint								
Creamy material	0	0	0	0	0	0	0	2 (0)
Granular material	0	0	0	0	0	0	0	1 (0)
Foot								
Swelling	0	0	0	0	0	0	1	2 (1)
Hemorrhage	0	0	0	0	0	0	0	1 (0)
Vertebra								

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**2**		**7**		**27**	
Deformation	0	0	0	0	0	0	0	2 (0)
Discolored area, white	0	0	0	0	0	0	10	9 (1)
Histopathology								
Number of animals evaluated (FD)	10	10	10	10	10	10	10	9 (1)
Femur								
Osteochondrodysplasia	0	0	0	0	0	0	10	9 (1)
Increased bone resorption, focal	0	0	0	0	0	0	9	8 (1)
Sternum								
Osteochondrodysplasia	0	0	0	0	0	0	10	9 (1)
Rib								
Osteochondrodysplasia	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1/1[c] (NA)
Incisor								
Dysplasia	0	0	0	0	9	10	10	9 (1)
Eye								
Corneal epithelial atrophy	0	0	0	0	7	6	10	9 (1)
Tongue								
Epithelial atrophy	0	0	0	0	0	0	10	9 (1)
Foot								
Atrophy, squamous epithelium	0	0	0	0	1	0	6	8 (1)
Metastatic mineralization in								
Eye (cornea)	0	0	1	1	1	1	9	8 (0)
Stomach	0	0	0	0	0	0	10	9 (1)
Kidney	0	0	0	0	0	3	9	9 (1)
Heart (artery or myocardium)	0	0	0	0	0	0	1	1 (1)
Aorta	0	0	0	0	0	0	4	7 (1)
Foot	0	0	0	0	0	0	1	3 (0)
Spinal cord	0	0	0	0	0	0	6	2 (0)
Vertebra	NA	NA	NA	NA	NA	NA	10	9 (1)
Lung	0	0	0	0	0	0	1	0 (0)
Trachea	0	0	0	0	0	0	1	3 (1)
Tongue (artery)	0	0	0	0	0	0	2	2 (0)
Duodenum	0	0	0	0	0	0	1	0 (0)
Colon	0	0	0	0	0	0	0	0 (1)
Joint	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2/2[c](NA)

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**2**		**7**		**27**	
Noteworthy findings during the recovery period								
Number of animals evaluated	6	6	0	0	6	6	6	6
Found dead or Sacrificed Moribund	0	0	NA	NA	0	0	0	0
Body weight (Day 56, %)[a]	355.6 g	228.6 g	NA	NA	+7.7	–6.8	–7.6	–7.1
Food consumption (Day 56, %)[a]	19 g	16 g	NA	NA	+10.5	–12.5	–10.5	–18.8
Clinical observations								
Corneal opacity	—	—	NA	NA	+	+	+	+
Irregular elongation of hair	—	—	NA	NA	—	—	+	+
Discoloration of teeth	—	—	NA	NA	—	—	+	+
Abnormal gait	—	—	NA	NA	—	—	—	+
Emaciation	—	—	NA	NA	—	—	—	+
Ophthalmology (Day 52)								
Corneal opacity	—	—	NA	NA	+	+	+	+
Hematology (Day 57)								
Reticulocyte count ($\times 10^9$/ L)	191.0	162.0	NA	NA	192.3	142.3	123.3**	72.3**
Serum chemistry (Day 57)	—	—	NA	NA	—	—	—	—
Urinalysis (Day 56)	—	—	NA	NA	—	—	—	—
Organ weights	—	—	NA	NA	—	—	—	—
Gross pathology								
Number of animals evaluated	6	6	0	0	6	6	6	6
Incisor								
Discoloration, white	0	0	NA	NA	0	0	6	6
Aorta								
Discoloration, white	0	0	NA	NA	0	0	0	1
Discolored focus, white	0	0	NA	NA	0	0	0	2
Joint								
Creamy material	0	0	NA	NA	0	0	0	1
Foot								
Swelling	0	0	NA	NA	0	0	1	2
Vertebra								
Discolored area, white	0	0	NA	NA	0	0	6	6
Histopathology								
Number of animals evaluated	6	6	0	0	6	6	6	6
Femur								

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		2		7		27	
Increased bone resorption, focal	0	0	NA	NA	0	0	0	1
Incisor								
Dysplasia, distal remnant	0	0	NA	NA	2	6	6	6
Metastatic mineralization in								
Eye (cornea)	0	0	NA	NA	3	0	5	4
Stomach	0	0	NA	NA	2	0	6	6
Kidney	0	0	NA	NA	0	1	6	5
Heart (artery)	0	0	NA	NA	0	0	0	2
Aorta	0	0	NA	NA	0	0	5	6
Foot	0	0	NA	NA	0	0	1	2
Spinal cord	0	0	NA	NA	0	0	3	2
Vertebra	NA	NA	NA	NA	NA	NA	6	6
Pancreas (artery)	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1
Tongue (artery)	0	0	NA	NA	0	0	2	2
Joint	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1/1[c]
Mesentery (artery)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1/1[c]

Number of animals found dead or moribund with a specific change is shown in parentheses.
— = no abnormalities, + = observed, ALP = alkaline phosphatase, AST = aspartate transaminase, $AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 time to 24 hours postdose, BQL = below quantitation limit (<1 ng/mL), C_{max} = maximum observed concentration, CTD = common technical document, F = female, FD = found dead, GLP = Good Laboratory Practice, M = male, NA = not applicable, NC = not calculated, NOAEL = no observed adverse effect level, TK = toxicokinetics.

a: For controls, group means are shown. For test-article treated groups, percent differences from controls are shown.
b: n=15
c: Number of animals with lesion/number of animals examined.
* $P<0.05$; ** $P<0.01$ (Dunnett's test); # $P<0.05$; ## $P<0.01$ (Dunnett's rank test) vs control.

Source: 添付資料 4.2.3.2.2 (Study K13100).

2.6.7.7.B **Test Article:** タスルグラチニブ コハク酸塩

Report Title: E7090 succinate: A 13-Week Oral Toxicity Study in Rats		**Study No.** B200206
Species / Strain: Rat/Sprague Dawley	Duration of Dosing: 13 weeks	Location in CTD: 4.2.3.2.3
Initial Age: 8 weeks old	Duration of Postdose: none	GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: 29 Jul 20[redacted]	Method of Administration: Oral by gavage	
Vehicle / Formulation: 0.1 mol/L hydrochloric acid in water/solution		
Special Features: none		
NOAEL: 0.6 mg/kg		

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.6**		**2**		**5**	
Number of Animals (main groups)	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Number of Animals for TK:	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**	**M: 4**	**F: 4**
E7090 (parent)								
TK: C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BQL	BQL	1.97	5.27	11.3	31.2	36.1	133
Day 91	BQL	BQL	3.89	7.25	24.6	46.7	60.5	141
TK: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)								
Day 1	NC	NC	5.90	50.2	78.7	282	239	1150
Day 91	NC	NC	34.1	67.9	227	425	546	1460
M2 (metabolite)								
TK: C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	0.0754	0.237
Day 91	BQL	BQL	BQL	BQL	0.110	0.117	0.214	0.367
TK: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)								
Day 1	NC	NC	NC	NC	NC	NC	0.226	2.17
Day 91	NC	NC	NC	NC	0.955	0.874	2.02	3.71
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body weight (Day 91, %)[a]	618.18g	326.20g	–0.6	+0.9	+4.5	+2.1	–7.4	–5.4
Food consumption (Day 91, %)[a]	24.77g	16.33g	–2.8	+1.2	–2.8	–0.9	–20.3[#]	–9.9
Clinical Observations								
Discoloration of teeth, broken teeth, loss of teeth, or overgrown teeth	—	—	—	—	—	—	+	+
Elongated nail	—	—	—	—	—	—	+	+
Induration of the tail	—	—	—	—	—	—	+	—

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.6**		**2**		**5**	
Number of Animals (main groups)	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Ophthalmology								
Corneal opacity	—	—	—	—	—	—	+	+
Hematology	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum Chemistry								
Inorganic phosphorus (mg/dL)	6.70	5.88	6.72	5.61	7.36##	6.36	7.86##	7.24**
Total cholesterol (mg/dL)	62.9	81.4	75.1	74.3	75.6	76.4	83.1**	76.9
Total protein (g/dL)	7.51	8.15	7.47	7.76	7.15	7.49**	7.31	7.07**
Albumin (g/dL)	3.22	3.85	3.19	3.68	3.16	3.48*	2.98**	3.11**
Globulin (g/dL)	4.29	4.30	4.28	4.08	3.99	4.01*	4.33	3.96**
A/G ratio	0.753	0.895	0.746	0.902	0.804	0.869	0.691	0.787**
Ca (mg/dL)	10.16	10.38	10.29	10.13	10.38	10.20	10.44*	10.16
Urinalysis	—	—	—	—	—	—	—	—
Organ Weights	—	—	—	—	—	—	—	—
Gross Pathology								
Number of animals evaluated	10	10	10	10	10	10	10	10
Incisor								
Discoloration	0	0	0	0	0	0	7	9
Lung								
Discolored focus	0	0	0	0	0	0	2	1
Foot								
Elongated nail	0	0	0	0	0	0	3	6
Vertebra								
Deformation	0	0	0	0	0	0	1	0
Histopathology								
Number evaluated:	10	10	10	10	10	10	10	10
Incisor								
Dysplasia	0	0	0	0	3	0	10	10
Sternum								
Osteochondrodysplasia	0	0	0	0	0	0	10	7
Vertebra								
Osteochondrodysplasia	0	0	0	0	0	0	4	2
Femur								
Osteochondrodysplasia	0	0	0	0	0	0	5	0

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.6		2		5	
Number of Animals (main groups)	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10	M: 10	F: 10
Eyes								
Atrophy, corneal epithelium	0	0	0	0	0	0	9	4
Tongue								
Atrophy, squamous epithelium	0	0	0	0	0	0	4	2
Foot								
Atrophy, squamous epithelium	0	0	0	0	0	0	8	6
Mammary gland								
Atrophy	0	0	0	0	0	0	4	0

— = no abnormalities, + = observed, $AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 time to 24 hours postdose, BQL = below quantitation limit (E7090: <1 ng/mL, M2: <0.05 ng/mL), C_{max} = maximum observed concentration, CTD = common technical document, F = female, GLP = Good Laboratory Practice, M = male, NC = not calculated, NOAEL = no observed adverse effect level, TK = toxicokinetics.

a: For controls, group means are shown. For test-article treated groups, percent differences from controls are shown.
* $P<0.05$; ** $P<0.01$ (Dunnett's test); # $P<0.05$; ## $P<0.01$ (Dunnett's rank test) vs control.

Source: 添付資料 4.2.3.2.3 (Study B200206).

2.6.7.7.C　　**Test Article:** タスルグラチニブ コハク酸塩

Report Title: E7090 succinate: A 4-Week Oral Toxicity Study with 4-Week Recovery Period in Dogs		**Study No. T13032**
Species / Strain: Dog/Beagle	Duration of Dosing: 4 weeks[a]	Location in CTD: 4.2.3.2.5
Initial Age: 11 months old	Duration of Postdose: 4 to 6 weeks[a]	GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: 27 Nov 20[redacted]	Method of Administration: Oral by gavage	
Vehicle / Formulation: 0.1 mol/L hydrochloric acid/solution		
Special Features: At 27 mg/kg, the dosing period was shortened to 13 days due to morbidity, and the recovery period was extended to 6 weeks.		
NOAEL: <1.5 mg/kg		

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**1.5**		**5.4**		**27**	
Number of Animals (main + [recovery])	**M: 3+[2]**	**F: 3+[2]**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3+[2]**	**F: 3+[2]**	**M: 3+[2]**	**F: 3+[2]**
TK: C_{max} (ng/mL)								
Day 1	BQL	BQL	73.2	80.1	219	344	1010	990
Day 28	BQL	BQL	93.7	110	295	334	NA	NA
TK: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)								
Day 1	NC	NC	842	765	2890	3820	11700	10500
Day 28	NC	NC	983	1260	3640	4790	NA	NA
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	1	0
Main group								
Body weight (kg)								
Day -1	8.8	8.1	8.9	8.2	8.7	8.2	9.0	8.2
Day 27 or 13[b]	8.8	8.5	9.1	8.3	8.2	7.8	7.3	6.7
Food consumption (g)								
Day 1	210	247	250	225	250	239	250	210
Day 27 or 13[b]	242	235	250	217	207	178	0	32
Clinical Observations								
Soft stool	—	—	—	—	+	+	+	+
Mucous stool	—	—	—	—	+	+	+	+
Watery stool	—	—	—	—	+	+	+	+
Rough fur	—	—	—	—	+	+	+	+
Nail avulsion	—	—	—	—	+	+	+	—
Decreased activity	—	—	—	—	—	—	+	+
Ophthalmoscopy	—	—	—	—	—	—	—	—
Electrocardiography	—	—	—	—	—	—	—	—

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		1.5		5.4		27	
Hematology									
Number of animals evaluated		5	5	3	3	5	5	5	5
Hemoglobin (g/dL)	Day -9	17.0	16.5	17.2	16.1	16.4	16.5	17.0	16.6
	Day 28 or 14[c]	16.4	15.8	15.8	15.6	15.4	16.1	18.1	17.2
Hematocrit (%)	Day -9	52.8	50.6	53.4	49.4	50.9	51.3	53.5	51.4
	Day 28 or 14[c]	52.2	49.6	51.0	49.0	48.5	50.3	55.5	51.0
Reticulocyte (10^9/L)	Day -9	75.3	43.7	57.9	36.0	46.9	58.8	88.7	50.8
	Day 28 or 14[c]	50.6	55.9	54.6	39.0	22.1	19.4	28.7	22.2
Neutrophil (10^3/μL)	Day -9	4.73	5.02	6.95	4.67	5.23	7.51	4.87	6.07
	Day 28 or 14[c]	5.00	4.97	5.48	4.32	3.85	4.22	8.08	6.92
Lymphocyte (10^3/μL)	Day -9	2.99	2.81	3.41	3.23	2.53	2.50	3.29	2.96
	Day 28 or 14[c]	2.99	2.55	3.25	2.71	2.05	2.46	1.93	2.19
Monocyte (10^3/μL)	Day -9	0.44	0.33	0.68	0.30	0.52	0.40	0.44	0.36
	Day 28 or 14[c]	0.43	0.31	0.63	0.24	0.42	0.33	1.43	1.42
Eosinophil (10^3/μL)	Day -9	0.32	0.26	0.37	0.53	0.36	0.23	0.41	0.24
	Day 28 or 14[c]	0.45	0.32	0.57	0.45	0.58	0.52	0.06	0.07
APTT (sec.)	Day -9	11.1	11.9	12.1	10.8	11.3	11.5	11.4	11.9
	Day 28 or 14[c]	10.3	11.1	10.8	10.2	11.0	11.4	18.8	16.4
Serum Chemistry									
Number of animals evaluated									
AST (mU/mL)	Day -9	39	41	46	37	38	38	39	41
	Day 28 or 14[c]	34	33	43	34	44	41	76	49
ALP (mU/mL)	Day -9	279	244	279	224	294	270	317	366
	Day 28 or 14[c]	229	219	242	200	271	176	2632	677
Total bilirubin (mg/dL)	Day -9	0.10	0.16	0.08	0.11	0.09	0.12	0.10	0.12
	Day 28 or 14[c]	0.09	0.11	0.06	0.08	0.08	0.07	0.26	0.09
Urea nitrogen (mg/dL)	Day -9	15.5	14.8	16.3	17.0	13.5	14.5	14.9	17.2
	Day 28 or 14[c]	14.9	15.8	16.3	15.4	14.7	13.3	57.4	53.2
Creatinine (mg/dL)	Day -9	0.61	0.54	0.63	0.57	0.59	0.56	0.63	0.62
	Day 28 or 14[c]	0.61	0.54	0.64	0.62	0.61	0.67	0.99	0.95
Total protein (g/dL)	Day -9	6.2	6.3	6.2	6.0	6.0	6.2	6.1	6.2
	Day 28 or 14[c]	6.1	6.1	6.0	5.9	6.0	5.8	7.9	7.4
Globulin (g/dL)	Day -9	2.7	2.7	3.0	2.6	2.6	2.7	2.6	2.7
	Day 28 or 14[c]	2.8	2.7	2.9	2.6	2.9	2.8	4.7	4.2

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		1.5		5.4		27	
A/G ratio	Day -9	1.33	1.31	1.08	1.32	1.28	1.37	1.33	1.32
	Day 28 or 14[c]	1.21	1.25	1.07	1.29	1.08	1.10	0.69	0.76
Total cholesterol (mg/dL)	Day -9	146	167	127	171	120	175	137	184
	Day 28 or 14[c]	137	158	112	172	106	120	364	244
Triglyceride (mg/dL)	Day -9	26	30	29	30	28	22	25	32
	Day 28 or 14[c]	31	30	32	22	21	16	101	69
Ca (mg/dL)	Day -9	10.7	10.3	10.5	10.6	10.4	10.4	10.6	10.2
	Day 28 or 14[c]	10.7	10.6	10.3	11.1	10.6	10.9	10.3	10.5
Inorganic phosphorus (mg/dL)									
	Day -9	4.3	3.8	4.2	4.1	4.2	3.8	4.2	3.6
	Day 28 or 14[c]	4.6	4.0	5.4	5.0	6.5	7.2	9.4	9.9
Na (mEq/L)	Day -9	150	149	150	149	149	151	148	150
	Day 28 or 14[c]	149	149	149	149	147	149	139	139[d]
K (mEq/L)	Day -9	4.7	4.1	4.7	4.6	4.2	4.5	4.7	4.2
	Day 28 or 14[c]	4.7	4.3	4.6	4.7	4.7	4.9	5.9	5.5[d]
Cl (mEq/L)	Day -9	113	114	115	114	114	115	113	114
	Day 28 or 14[c]	113	113	113	111	110	111	103	97[d]
Urinalysis									
Low pH		—	—	—	—	—	—	+	+
Protein		—	—	—	—	—	—	+	+
Occult blood		—	—	—	—	—	—	+	+
Bilirubin		—	—	—	—	—	—	+	—
Cast in sediment		—	—	—	—	—	—	+	—
Organ Weights									
Number of animals evaluated		3	3	3	3	3	3	3	3
Kidney, absolute (g)		38.4	36.1	37.8	31.9	40.5	30.6	42.4	39.0
Kidney, relative (g/kg body weight)		0.47	0.44	0.42	0.39	0.51	0.40	0.61	0.65
Gross Pathology									
Number of animals evaluated		3	3	3	3	3	3	2 (1)	3
Heart									
Elevated area		0	0	0	0	0	0	1	0
Dark red discolored area, left ventricular endocardial surface		0	0	0	0	1	0	0	0
Lung									

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**1.5**		**5.4**		**27**	
Dark red area	0	0	0	0	0	1	(1)	0
Stomach								
Dark red focus	0	0	0	0	0	0	1	0
Large intestine								
Dark red discoloration	0	0	0	0	0	0	(1)	1
Dark red contents	0	0	0	0	0	0	1	0
Gallbladder								
Distention	0	0	0	0	0	0	0	1
Common bile duct								
Dilatation	0	0	0	0	0	0	1	0
Foot								
Loss of nail	0	0	0	0	1	0	0	0
Histopathology								
Number of animals evaluated	3	3	3	3	3	3	2 (1)	3
Femur								
Osteochondrodysplasia	0	0	2	0	3	0	2 (1)	2
Increased bone resorption	0	0	0	0	1	2	2 (1)	3
Sternum								
Osteochondrodysplasia	0	0	0	0	3	3	2 (1)	3
Increased bone resorption	0	0	0	0	1	0	1 (1)	0
Alveolar bone (in incisor or molar section)								
Osteochondrodysplasia	0	0	0	0	3	2	2 (1)	3
Increased bone resorption	0	0	0	0	1	1	2 (1)	3
Stomach								
Arterial fibrinoid necrosis	0	0	0	0	0	0	1 (1)	0
Increased mucus secretion	0	0	1	1	1	2	2 (1)	2
Vacuolation, parietal cells	0	0	0	0	0	0	1 (1)	3
Heart								
Hemorrhage	0	0	0	0	1	0	0	0
Mineralization	0	0	0	0	1	1	2 (1)	3
Aorta								
Mineralization	0	0	0	0	1	0	1	0
Liver								
Arterial fibrinoid necrosis	0	0	0	0	0	1	(1)	3

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		1.5		5.4		27	
Gallbladder								
Arterial fibrinoid necrosis	0	0	0	0	0	0	2	1
Urinary bladder								
Arterial fibrinoid necrosis	0	0	0	0	1	0	1	0
Kidneys								
Hemorrhage	0	0	0	0	0	0	1	0
Vacuolation, tubular epithelial cells	0	0	0	0	0	0	(1)	2
Spleen								
Hemorrhage	0	0	0	0	0	0	(1)	0
Lung								
Hemorrhage	0	0	0	0	0	0	(1)	0
Mineralization (bronchiole)	0	0	0	0	0	0	1	0
Tongue								
Mineralization, artery	0	0	0	0	0	0	1	1
Epithelial atrophy	0	0	0	0	3	2	2 (1)	3
Sublingual glands								
Mineralization (blood vessel acini)	0	0	0	0	0	0	1	1
Eyes								
Corneal epithelial atrophy	0	0	0	0	2	2	2 (1)	3
Gingiva (in incisor or molar section)								
Epithelial atrophy	0	0	0	0	3	3	2 (1)	3
Esophagus								
Mucosal atrophy	0	0	0	0	2	1	2 (1)	3
Skin								
Epidermal atrophy	0	0	0	0	0	0	(1)	2
Foot (dorsal skin, foot pad, or nail bed)								
Squamous epithelial atrophy	0	0	0	0	3	3	NE	NE
Salivary glands (Parotid, submaxillary, or sublingual)								
Acinar atrophy	0	0	0	0	3	3	1 (1)	2
Lacrimal glands								
Acinar atrophy	0	0	0	0	1	3	(1)	2
Mammary glands								
Acinar atrophy	0/2	0	0	0	0	1/2	0	2/2
Small intestine								

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**1.5**		**5.4**		**27**	
Degeneration / Necrosis, epithelial cells		0	0	0	0	0	1	2 (1)	2
Large intestine									
Degeneration / Necrosis, epithelial cells		0	0	0	0	0	0	2 (1)	3
Erosion		0	0	0	0	0	0	1	1
Pancreas									
Vacuolation, ductal epithelium		0	0	0	0	0	0	1 (1)	2
Epididymides									
Vacuolation, epithelium		0	NA	0	NA	0	NA	(1)	NA
Noteworthy findings during recovery period									
Number of animals evaluated		2	2	0	0	2	2	2	2
Body weight (kg)	Day 34 or 20[e]	9.5	7.8	NA	NA	9.1	8.1	7.2	7.4
	Day 58	9.8	8.1			9.3	8.3	8.6	8.3
Food consumption (g)	Day 30, 31 or 15[f]	227	165	NA	NA	187	188	12	107
	Day 58	250	250			250	250	250	250
Clinical Observation									
Abnormal gait		—	—	NA	NA	—	—	+	+
Rough fur		—	—	NA	NA	+	+	+	+
Loss of nail		—	—	NA	NA	—	—	+	+
Hematology									
Number of animals evaluated		2	2	0	0	2	2	2	2
RBC (10^6/μL)	Day 28	NA	NA	NA	NA	NA	NA	6.62	6.17
	Day 57	8.08	7.48			7.97	7.35	7.23	6.85
Hb (g/dL)	Day 28	NA	NA	NA	NA	NA	NA	13.6	13.6
	Day 57	16.7	16.0			17.3	16.2	15.0	14.8
Ht (%)	Day 28	NA	NA	NA	NA	NA	NA	44.0	42.5
	Day 57	53.2	50.8			54.6	51.0	48.6	47.0
Reticulocyte (10^9/L)	Day 28	NA	NA	NA	NA	NA	NA	50.3	43.0
	Day 57	49.6	50.1			42.7	35.2	84.3	35.6
Serum chemistry									
Number of animals evaluated		2	2	0	0	2	2	2	2
Albumin (g/dL)	Day 35 or 21[g]	3.5	3.4	NA	NA	3.3	3.0	2.6	3.1
	Day 57	3.6	3.5			3.5	3.4	3.2	3.3

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**1.5**		**5.4**		**27**	
Inorganic phosphorus (mg/dL)								
Day 35 or 21[g]	4.8	4.0	NA	NA	4.9	4.8	5.4	5.7
Day 57	3.9	3.4			3.1	3.0	4.9	4.4
Urinalysis	—	—	NA	NA	—	—	—	—
Organ weight	—	—	NA	NA	—	—	—	—
Gross pathology								
Number of animals evaluated	2	2	0	0	2	2	2	2
Heart								
Discolored focus	0	0	NA	NA	0	0	1	2
Foot								
Loss of nail	0	0	NA	NA	0	1	0	1
Histopathology								
Number of animals evaluated	2	2	0	0	2	2	2	2
Femur								
Osteochondrodysplasia	0	0	NA	NA	1	0	0	0
Sternum								
Osteochondrodysplasia	0	0	NA	NA	0	2	1	1
Alveolar bone (in incisor or molar section)								
Osteochondrodysplasia	0	0	NA	NA	2	2	2	2
Aorta								
Mineralization	0	0	NA	NA	1	1	2	2
Heart								
Mineralization	0	0	NA	NA	0	0	2	2

Number of animals found dead or moribund with a specific change is shown in parentheses.
— = no abnormalities, + = observed, $AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 time to 24 hours postdose, BQL = below quantitation limit (<1 ng/mL), C_{max} = maximum observed concentration, CTD = common technical document, F = female, GLP = Good Laboratory Practice, M = male, NA = not applicable, NC = not calculated, NE = not examined, NOAEL = no observed adverse effect level, TK = toxicokinetics.

a: At 27 mg/kg, 1 male was sacrificed due to moribundity on Day 14. Drug treatment for the high dose was shortened to 13 days and the rest of animals in the main group (2 males and 3 females) were subjected to necropsy on Day 14. b: Data on Day 13 for 27 mg/kg group. c: Data on Day 14 for 27 mg/kg group. d: n = 4 e: Data on Day 20 for 27 mg/kg group. f: Data on Day 15 for 27 mg/kg group. g: Data on Day 21 for 27 mg/kg group.

Source: 添付資料 4.2.3.2.5 (Study T13032).

2.6.7.7.D　　**Test Article:** タスルグラチニブ コハク酸塩

Report Title: E7090 succinate: A 13-Week Oral Toxicity Study in Dogs		**Study No.** B200205
Species / Strain: Dog/Beagle	Duration of Dosing: 13 weeks	Location in CTD: 4.2.3.2.6
Initial Age: 12 to 13 months old	Duration of Postdose: none	GLP Compliance: Yes
Date of First Dose: 6 Aug 20[redacted]	Method of Administration: Oral by gavage	
Vehicle / Formulation: 0.1 mol/L hydrochloride solution		
Special Features: none		
NOAEL: 0.5 mg/kg		

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**0.5**		**1**		**2**	
Number of Animals		**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
E7090 (parent)									
TK: C_{max} (ng/mL)									
	Day 1	BQL	BQL	22.3	28.3	44.1	51.0	86.5	96.0
	Day 91	BQL	BQL	32.9	30.6	64.4	69.1	143	101
TK: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)									
	Day 1	NC	NC	312	321	661	697	1230	1170
	Day 91	NC	NC	408	379	844	932	1370	1470
M2 (metabolite)									
TK: C_{max} (ng/mL)									
	Day 1	BQL	BQL	0.181	0.261	0.368	0.572	0.957	0.795
	Day 91	BQL	BQL	0.236	0.205	0.413	0.624	0.960	0.830
TK: $AUC_{(0\text{-}24h)}$ (ng·h/mL)									
	Day 1	NC	NC	1.49	2.22	4.39	7.32	11.1	8.68
	Day 91	NC	NC	1.89	2.45	5.73	7.51	8.41	10.0
Noteworthy Findings									
Died or Sacrificed Moribund		0	0	0	0	0	0	0	0
Body weight (kg)	Day 91	10.7	8.3	10.4	8.9	10.9	7.9	10.1	8.3
Food consumption (g)	Day 91	250	118	242	151	121	140	250	163
Clinical Observations									
Rough fur		0	0	0	0	3	3	3	3
Ophthalmoscopy		—	—	—	—	—	—	—	—
Electrocardiography		—	—	—	—	—	—	—	—
Hematology		—	—	—	—	—	—	—	—
Blood chemistry									

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)		0.5		1		2	
Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Inorganic phosphorus (mg/dL)	4.03	4.23	4.70	4.63	5.10	4.63	4.77	4.77
Urinalysis	—	—	—	—	—	—	—	—
Gross pathology								
Rough fur	0	0	0	0	3	3	3	3
Organ weights	—	—	—	—	—	—	—	—
Histopathology								
Foot Atrophy, squamous epithelium (nail bed)	0	0	0	0	0	0	1	2
Tongue Atrophy, squamous epithelium	0	0	0	0	0	0	1	1
Eye Atrophy, corneal epithelium	0	0	0	0	0	0	0	1

— = no abnormalities, $AUC_{(0\text{-}24h)}$ = area under the concentration-time curve from 0 time to 24 hours postdose, BQL = below quantitation limit (E7090: <1 ng/mL, M2: <0.05 ng/mL), C_{max} = maximum observed concentration, CTD = common technical document, F = female, GLP = Good Laboratory Practice, M = male, NC = not calculated, NOAEL = no observed adverse effect level, TK = toxicokinetics.

Source: 添付資料 4.2.3.2.6 (Study B200205).

2.6.7.8 In vitro 遺伝毒性試験

2.6.7.8.A In Vitro Genotoxicity Study: Reverse Mutation in Bacterial Cells **Test Article:** タスルグラチニブ コハク酸塩

Report Title: E7090 succinate: Reverse Mutation Assay in Bacteria		Study No. B150314
Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells	No. of Independent Assays: 1	Location in CTD: 4.2.3.3.1.1
Strains: *Salmonella. typhimurium* and *Escherichia coli*	No. of Replicate Cultures: 3	GLP Compliance: Yes
Metabolizing System: Phenobarbital and 5,6-benzoflavone-induced male rat liver S9	No. of Cells Analyzed/Cultured: not applicable	
Vehicles: for Test Article: DMSO; for Positive Controls: DMSO (AF2, 9-AA, and 2-AA) or water (NaN_3).		
Treatment: Pre-incubation at 37ºC for 20 minutes with or without S9 mix		Date of Treatment: 08 Jun 20[redacted]
Cytotoxic Effects: Microbial toxicity was observed at 556 µg/plate or more for all of bacterial strains in the presence and absence of S9 mix.		
Genotoxic Effects: None		

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	Strain (Mean ± Standard Deviation)				
			TA100	TA1535	TA98	TA1537	WP2 *uvrA*
Without Activation	DMSO	0	106 ± 7	8 ± 2	19 ± 2	10 ± 2	35 ± 4
	E7090	2.29	102 ± 13	9 ± 3	19 ± 3	10 ± 2	31 ± 2
		6.86	100 ± 3	11 ± 2	18 ± 3	10 ± 2	30 ± 2
		20.6	95 ± 4	9 ± 3	18 ± 2	10 ± 1	33 ± 1
		61.7	105 ± 11	8 ± 1	18 ± 2	11 ± 2	31 ± 0
		185	101 ± 5	10 ± 2	17 ± 1	11 ± 2	32 ± 3
		556	81 ± 7*	5 ± 1*	17 ± 3	10 ± 3*	31 ± 2
		1667	38 ± 4*	0 ± 0*	12 ± 1*	0 ± 0*	24 ± 4*
		5000[P]	0 ± 0*	0 ± 0*	0 ± 0*	0 ± 0*	13 ± 1*
	Positive Controls						
	AF-2	0.01	431 ± 27	NA	NA	NA	122 ± 11
		0.1	NA	NA	500 ± 34	NA	NA
	NaN_3	0.5	NA	472 ± 28	NA	NA	NA
	9-AA	80	NA	NA	NA	446 ± 18	NA

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level (µg/plate)	Strain (Mean ± Standard Deviation)				
			TA100	TA1535	TA98	TA1537	WP2 *uvrA*
With Activation	DMSO	0	105 ± 4	9 ± 2	25 ± 4	18 ± 3	33 ± 2
	E7090	2.29	112 ± 3	8 ± 1	23 ± 2	20 ± 5	35 ± 3
		6.86	113 ± 9	8 ± 1	27 ± 5	17 ± 0	35 ± 3
		20.6	108 ± 8	11 ± 2	26 ± 4	19 ± 3	32 ± 2
		61.7	105 ± 3	11 ± 3	25 ± 2	18 ± 3	32 ± 1
		185	118 ± 2	10 ± 2	24 ± 2	17 ± 4	33 ± 2
		556	100 ± 9*	6 ± 2*	25 ± 4	4 ± 3*	29 ± 2*
		1667	63 ± 11*	4 ± 1*	28 ± 3	0 ± 0*	22 ± 6*
		5000P	0 ± 0*	0 ± 0*	18 ± 2*	0 ± 0*	18 ± 4*
	Positive Controls						
	2-AA	0.5	NA	NA	228 ± 16	NA	NA
		1	809 ± 14	NA	NA	NA	NA
		2	NA	248 ± 1	NA	155 ± 2	NA
		10	NA	NA	NA	NA	980 ± 15

2-AA = 2-aminoanthracene, 9-AA: 9-Aminoacridine hydrochloride monohydrate, AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, CTD = common technical document, DMSO = dimethyl sulfoxide, GLP = Good Laboratory Practice, NA = not applicable, NaN_3: sodium azide,

*: Microbial toxicity was observed. P: Precipitation was observed.

Source: 添付資料 4.2.3.3.1.1 (Study B150314).

2.6.7.8.B

2.6.7.8.B In Vitro Genotoxicity Study: In Vitro Micronucleus Assay　　**Test Article:** タスルグラチニブ コハク酸塩

Report Title: E7090 succinate: In vitro Micronucleus Assay in Human Lymphoblastoid TK6 Cells		Study No. T20016
Test for Induction of: Micronuclei in human lymphoblastoid TK6 cells	No. of Independent Assays: 2	Location in CTD: 4.2.3.3.1.2
Strains: Human lymphoblastoid TK6 cells	No. of Replicate Cultures: 2	GLP Compliance: Yes
Metabolizing System: phenobarbital and 5,6-benzoflavone-induced male rat liver S9	No. of Cells Analyzed/Cultured: 1000	
Vehicles: DMSO (test article), water (positive controls)		
Cytotoxic Effects: None		Date of Treatment: 18 to 19 Aug 20[redacted] (Main Test)
Genotoxic Effects: None		

Dose range-finding test							
Treatment	**Concentration (μg/mL)**	**Cell counts ($\times 10^5$ cells/mL)**		**SG**		**PD**	**RPD (%)**
		TR	**RT**	**TR**	**RT**		
4 hours treatment in the presence of S9 (+S9)							
DMSO	0	10.47	3.201	1.05	3.20	1.75	100
E7090	2	9.978	3.222	1.00	3.22	1.69	97
	3.9	10.35	2.866	1.04	2.87	1.58	90
	7.8	10.08	3.052	1.01	3.05	1.62	93
	15.6	9.567	2.786	0.96	2.79	1.42	81
	31.3	9.451	2.778	0.95	2.78	1.40	80
	62.5	6.809	1.869	0.68	1.87	0.35	20
	125	6.645	ND	0.66	NC	NC	NC
	250	4.212	NT	0.42	NC	NC	NC
	500[P]	5.116	NT	0.51	NC	NC	NC
4 hours treatment in the absence of S9 (–S9)							
DMSO	0	10.07	3.597	1.01	3.60	1.86	100
E7090	2	9.739	3.769	0.97	3.77	1.87	101
	3.9	9.340	3.666	0.93	3.67	1.77	95
	7.8	9.157	3.235	0.92	3.24	1.58	85
	15.6	5.754	2.094	0.58	2.09	0.28	15
	31.3	6.018	1.363	0.60	1.36	–0.29	–16

Dose range-finding test							
Treatment	Concentration (μg/mL)	Cell counts ($\times 10^5$ cells/mL)		SG		PD	RPD (%)
		TR	RT	TR	RT		
	62.5	2.875	NT	0.29	NC	NC	NC
	125	1.267	NT	0.13	NC	NC	NC
	250	2.726	NT	0.27	NC	NC	NC
	500	8.303	NT	0.83	NC	NC	NC
24 hours treatment without S9							
DMSO	0	13.35		3.34		1.74	100
E7090	0.0076	13.46		3.37		1.75	101
	0.015	12.56		3.14		1.65	95
	0.031	13.53		3.38		1.76	101
	0.061	12.71		3.18		1.67	96
	0.12	13.23		3.31		1.73	99
	0.24	13.27		3.32		1.73	99
	0.49	13.11		3.28		1.71	98
	0.98	12.21		3.05		1.61	93
	2.0	12.06		3.02		1.59	91
	3.9	11.07		2.77		1.47	84
	7.8	7.980		2.00		1.00	57
	15.6	2.296		0.57		–0.81	–47
	31.3	ND		NC		NC	NC
	62.5	ND		NC		NC	NC
	125	ND		NC		NC	NC
	250	1.687		0.42		–1.25	–72
	500	3.335		0.83		–0.27	–16

Cell counts (RT) = cell concentration in 15 mL of culture at the completion of recovery time, Cell counts (TR) = cell concentration in 7.5 mL of culture at the completion of treatment, DMSO = Dimethyl sulfoxide, NC = Not calculated, since the cell number was not determined, ND = Not determined due to the cell count less than the lower limit of a validated range of cell measurement for the automatic cell counter, P = Precipitate was noted after treatment, PD = Population doubling, RPD = Relative population doubling, SG (RT) = Suspension growth during recovery time, SG (TR) = Suspension growth during treatment.

Main test				
Treatment	**Concentration (µg/mL)**	**RPD (%)**	**Number of MN (/2000 cells)**	**MNF (%)**
4 hours treatment with S9				
DMSO	0	100	6	0.30
E7090	30	76	10	0.50
	35	71	14	0.70
	40	60	11	0.55
CP	2	43	51	2.55
4 hours treatment without S9				
DMSO	0	100	7	0.35
E7090	9	84	5	0.25
	10	65	17	0.85
	11	50	2	0.10
MMC	0.08	84	57	2.85
24 hours treatment without S9				
DMSO	0	100	3	0.15
E7090	4	74	8	0.40
	5	67	13	0.65
	7	53	7	0.35
COL	0.005	67	45	2.25

COL = Colchicine, CP = Cyclophosphamide, DMSO = Dimethyl Sulfoxide, MMC = Mitomycin C, MNF = Micronucleus frequency, Number of MN (/2000 cells) = No. of micronucleated mononuclear cells/2000 mononuclear cells, RPD = Relative population doubling.

Source: 添付資料 4.2.3.3.1.2 (Study T20016).

2.6.7.9 In vivo 遺伝毒性試験

Test Article:　タスルグラチニブ コハク酸塩

Report Title:　E7090 succinate: Oral Dose Micronucleus Assay in Rats		Study No. T21035
Test for Induction of:　Peripheral blood micronuclei	Treatment Schedule:　2 doses, 24 h apart	Location in CTD:　4.2.3.3.2.1
Species / Strain:　Rat/Sprague Dawley	Sampling Time:　48 h after last dose	GLP Compliance:　Yes
Initial Age:　8 weeks old	Method of Administration:　Oral by gavage	Date of Treatment:　14 and 15 Dec 20[redacted]
Cells Evaluated:　Polychromatic erythrocytes	No. of Cells Evaluated / Animal:　20,000	
Vehicle/Formulation:　0.1 mol/L hydrochloride solution; water (positive control)		
Special Features:　Micronucleus analysis was conducted at the 3 high doses of 100, 300, and 600 mg/kg for test article groups.		
Toxic / Cytotoxic Effects:　Test article-related mortality was observed in one animal each at 30 and 100 mg/kg.　Decreases in body weight and food consumption were observed at all doses.		
Genotoxic Effects:　None		
Evidence of Exposure:　Test article-related toxic findings were noted at doses ≥30 mg/kg		

Group	Number of animals	MN-IMEs (%) (mean ± SD)	IMEs (%) (mean ± SD)
Vehicle control[a]	5 males	0.13 ± 0.04	3.62 ± 0.43
E7090 30 mg/kg/day[a]	5 males[b]	ND	ND
E7090 100 mg/kg/day[a]	5 males[b]	0.13 ± 0.03	1.90 ± 0.29
E7090 300 mg/kg/day[a]	5 males	0.11 ± 0.02	1.86 ± 0.28
E7090 600 mg/kg/day[a]	5 males	0.06 ± 0.02	2.03 ± 0.40
Cyclophosphamide 10 mg/kg[c]	5 males	1.22 ± 0.29	1.67 ± 0.57

MN-IMEs (%) = (number of MN-IMEs) / (number of IMEs) × 100

IMEs (%) = (number of IMEs) / (number of Es) × 100

CTD = common technical document, E = erythrocyte, GLP = Good Laboratory Practice, IME = immature erythrocyte, MN-IME = micronucleated immature erythrocyte, ND = not determined, SD = standard deviation.

a:　Two doses were administered 24 hours apart (± 1 hour).
b:　Mortality was observed in 1 animal/group.
c:　Positive control dosed once only, 48 hours prior to sampling.

Source:　添付資料 4.2.3.3.2.1 (Study T21035).

2.6.7.10 がん原性試験

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（抗悪性腫瘍の非臨床評価に関するガイドライン）に基づき，がん原性試験は実施していない。

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Test Article: タスルグラチニブ コハク酸塩

Species / Strain	Route/Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dosing Period	Dose (mg/kg)	Number per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Report Title: E7090 succinate: An Oral Dose Range-Finding Toxicity Study in Pregnant Rats						
Rat/Sprague Dawley	Oral gavage/ 0.1 mol/L hydrochloride/ solution	GD7 through 17	0	10	None	ES19463
			0.6	10	None	
			2	10	Visceral malformation (retroesophageal subclavian artery) was observed in fetuses at 2 mg/kg and above.	
			5	10	In fetuses, there were decreases in body weights (−30% vs control), increased post-implantation loss, external malformations (blunt-tipped and small tail), visceral malformations (dilated lateral ventricle, small thymus, ventricular septum defect, right-sided aortic arch, absent kidney, and dilated renal pelvis), skeletal malformations (absent rib, short rib, and absent thoracic arch), a skeletal variation (increased lumbar vertebra), abnormal ossification findings (bipartite ossification of thoracic centrum and dumbbell ossification of thoracic centrum), and a decreasing tendency of the number of ossified sacral and caudal vertebrae. In dams, there were no treatment-related changes up to 5 mg/kg.	

GD = gestation day.

Source: 添付資料 4.2.3.5.2.1 (Study ES19463).

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

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（抗悪性腫瘍の非臨床評価に関するガイドライン）に基づき，受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験は実施していない。

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

胚・胎児発生に関しては，妊娠ラットを用いた用量設定試験の結果，胎児に対する影響がみられた。そのため，ICH S9 ガイドライン（抗悪性腫瘍の非臨床評価に関するガイドライン）に基づき，ラットを用いた胚・胎児発生に関する本試験並びにもう 1 種の動物種での胚・胎児発生に関する試験については必須ではないと判断し，実施しなかった。

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

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（抗悪性腫瘍の非臨床評価に関するガイドライン）に基づき，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は実施していない。

2.6.7.15 局所刺激性試験

ICH M3(R2)ガイドラインに基づき，タスルグラチニブでの独立した局所刺激性試験は実施していない。

2.6.7.16 その他の毒性試験

Test Article: タスルグラチニブ コハク酸塩

Species/Strain	Method/Duration of Administration	Doses (µg/mL)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP[a]	Study Number
Phototoxicity						
Mouse BALB/c 3T3 fibroblasts	Cells treated for 60 minutes before irradiation, and irradiated for approximately 50 minutes	0.78, 1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25, 50, and 100 µg/mL	NA	E7090 succinate was not phototoxic in the in vitro 3T3 neutral red uptake phototoxicity test.	Yes	T20017

GLP = Good Laboratory Practice, NA = not applicable.

a: Indicates study report includes a GLP compliance statement.

Source: 添付資料 4.2.3.7.7.1 (Study T20017).