Table of Contents

1 緒言 5
2 非臨床試験計画概略 5
3 薬理試験 6
3.1 効力を裏付ける試験 6
3.2 副次的薬理試験 8
3.3 安全性薬理試験 8
3.4 薬力学的薬物相互作用試験 9
4 薬物動態試験 9
4.1 分析法 9
4.2 吸収 9
4.3 分布 10
4.4 代謝 10
4.4.1 In vitro 代謝 10
4.4.2 In vivo 代謝 11
4.5 排泄 12
4.6 薬物動態学的薬物相互作用 12
4.7 その他の薬物動態試験 13
5 毒性試験 13
5.1 単回投与毒性試験 13
5.2 反復投与毒性試験 13
5.3 遺伝毒性試験 16
5.4 がん原性試験 16
5.5 生殖発生毒性試験 16
5.6 新生児を用いた試験 16
5.7 局所刺激性試験 17
5.8 その他の毒性試験 17
6 総括及び結論 17
7 参考文献 20

List of Tables

Table 5.2-1: Repotrectinib の重要な反復投与毒性試験における主な毒性とその最小作用量に対する曝露量比 15

Table 5.2-2: Repotrectinib の GLP 反復投与毒性試験における無毒性量に対する曝露量比 15

用語及び略号一覧

略号	英語	日本語
ADME	absorption, distribution, metabolism and excretion	吸収、分布、代謝及び排泄
ALK	anaplastic lymphoma kinase	未分化リンパ腫キナーゼ
ATP	adenosine triphosphate	アデノシン三リン酸
AUC	area under the plasma concentration vs. time curve	血漿中濃度時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}Xh}$	area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to X hours	投与後 0 時間から X 時間までの AUC
AUC_{last}	area under the plasma concentration vs. time curve from time 0 to the last measurable time point	投与後 0 時間から濃度測定可能最終時間までの AUC
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性蛋白
BDNF	brain-derived neurotrophic factor	脳由来神経栄養因子
BID	twice a day	1 日 2 回
CL	plasma clearance	クリアランス
C_{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CYP	cytochrome P450	チトクローム P450
DDI	drug-drug interaction	薬物相互作用
EFD	embryo-fetal development	胚・胎児発生に関する
EMA	European Medicines Agency	欧州医薬品庁
FAK	focal adhesion kinase	―
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
hCav1.2	human voltage-gated calcium channel 1.2	ヒト電位依存性カルシウムチャネル 1.2
hERG	human ether-a-go-go related gene	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
hNav1.5	human voltage-gated sodium channel 1.5	ヒト電位依存性ナトリウムチャネル 1.5
IC_{50}	half maximal inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
JAK2	Janus kinase 2	ヤヌスキナーゼ 2
LCK	lymphocyte kinase	―
LOEL	lowest observed effect level	最小作用量

略号	英語	日本語
MATE	multidrug and toxin extrusion protein	多剤・毒性化合物排出蛋白
NK	natural killer	ナチュラルキラー
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NSCLC	non-small cell lung cancer	非小細胞肺癌
NTRK	neurotrophic receptor kinase	神経栄養因子キナーゼ受容体
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
P-gp	P-glycoprotein	P 糖蛋白
PXR	pregnane X receptor	プレグナン X 受容体
QD	once daily	1 日 1 回
QWBA	quantitative whole-body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
ROS1	receptor tyrosine kinase encoded by the ROS1 gene	－
SLS	sodium lauryl sulfate	ラウリル硫酸ナトリウム
SRC	tyrosine kinase first identified in avian sarcoma virus	－
STAT3	signal transducer and activator of transcription 3	－
$t_{1/2}$	elimination half-life	消失半減期
TKI	tyrosine kinase inhibitor	チロシンキナーゼ阻害剤
TRK	tropomyosin receptor kinase	トロポミオシン受容体キナーゼ
UGT	uridine 5’-diphospho-glucuronosyltransferase	ウリジン 5'-二リン酸グルクロン酸転移酵素
V_{dss}	volume of distribution at steady-state	定常状態分布容積
WT	wild type	野生型

1 緒言

Repotrectinib（別名：TPX-0005、BMS-986472）は、受容体型チロシンキナーゼの ROS1、トロポミオシン受容体キナーゼ（TRK）及び未分化リンパ腫キナーゼ（ALK）に対するアデノシン三リン酸（ATP）競合型の経口投与可能な低分子阻害剤である。

ROS1 遺伝子、NTRK1、NTRK2 及び NTRK3 遺伝子（それぞれ TRKA、TRKB 及び TRKC をコードする）又は ALK 遺伝子の再構成を有する進行性及び転移性固形癌は、悪性度が高く、治療選択肢が限られており根治療法は存在しない。依然として高いアンメットメディカルニーズが存在するこれらの固形癌に対する新規治療法の開発が求められている。

非小細胞肺癌（NSCLC）における ROS1 再構成は、2007 年に初めて同定され[1]、NSCLC 患者での ROS1 遺伝子再構成の頻度は約 1%～2%と推定されている[2,3]。ROS1 は、他のドライバー遺伝子と相互に排他的な発がん性のドライバー遺伝子と考えられており、ROS1 融合遺伝子陽性の NSCLC には ROS1 再構成のみがドライバー変異として認められる [3,4]。ROS1 には、CD74、SLC34A2 及び SDC4 など、臨床で複数の融合遺伝子パートナーが確認されており、ROS1 融合遺伝子陽性の NSCLC で最も多くみられるのは CD74-ROS1 融合変異である [3,4,5]。臨床では、NSCLC における ROS1 再構成はより悪性度の高い病態であることを示し、特に進行性又は転移性 NSCLC では予後が不良である[6]。ALK 融合遺伝子陽性 NSCLC 患者でチロシンキナーゼ阻害剤（TKI）治療後に認められた変異と同様に、solvent front 変異（例：G2032R、D2033N）などの耐性変異は、ROS1 融合遺伝子陽性の進行 NSCLC における既存の ROS1 TKI 治療に対する抵抗性の一般的な機序である。

既存の TKI の多くは、高い結合親和性を得るために分子サイズが大きく、ATP 結合ポケットの外でもキナーゼドメインと相互作用するため、solvent front 変異のような薬剤結合を立体的に遮断する獲得耐性変異に対して脆弱である[7,8]。ATP 結合部位への正確かつ強力な結合を可能にするとともに、標的分子の獲得耐性変異による立体障害の影響を最小限に抑えるため、Repotrectinib は他のキナーゼ阻害剤とは異なり、分子サイズが小さい大環状化合物として設計されている。Repotrectinib は solvent front 領域に接触することなく、ATP 結合ポケットの内側に完全に収まる形で結合する[9]。非臨床試験において、キナーゼドメインが野生型（WT）又は臨床で報告されている様々な耐性変異、特に solvent front 変異などを有する ROS1、TRK 及び ALK に対し、Repotrectinib は強力な活性を示した。

2 非臨床試験計画概略

Repotrectinib の効力を裏付ける試験として、ROS1、TRKA、TRKB、TRKC 及び ALK 並びに臨床で生じるそれらの耐性変異型のキナーゼ活性に対する阻害作用を評価する in vitro 試験を実施した。ヒトがん細胞株及び標的がん遺伝子を安定的に発現する遺伝子導入細胞株を用いて、Repotrectinib の標的である発がん性の融合タンパク質及びそれらのシグナル経路下流のシグナル伝達分子のリン酸化に対する阻害作用並びに細胞増殖抑制作用を評価した。また、マウス担がんモデルにおける in vivo

試験を実施し、Repotrectinibの腫瘍増殖抑制効果を評価するとともに、標的分子の自己リン酸化及び下流のシグナル伝達分子のリン酸化の阻害並びに Repotrectinib の血漿中曝露量との関係性を評価した。456 種類のヒトキナーゼパネルを用いて、Repotrectinib のキナーゼ選択性を広範に評価し、さらに細胞アッセイを実施して他の潜在的な標的の有無について評価した。副次的薬理試験では、重要な生理活性に関与する 44 種類のタンパク質からなるパネルを用いて Repotrectinib の選択性を評価した。安全性薬理試験では、ヒトイオンチャネル［ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）、ヒト電位依存性ナトリウムチャネル 1.5（hNav1.5）及びヒト電位依存性カルシウムチャネル 1.2（hCav1.2）］に対する Repotrectinib の影響をパッチクランプ法による電気生理学的手法を用いて in vitro で評価した。また、独立した in vivo 安全性薬理試験は実施しなかったが、「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン」［医薬品規制調和国際会議（ICH）S9 ガイドライン］に準じて、詳細な症状観察及び心電図測定を、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）適合の反復投与毒性試験に組み込んで実施した。

Repotrectinibの吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）について、非臨床薬理及び毒性試験に用いた動物種並びにヒト生体試料を用いた in vitro 及び in vivo 試験を実施した。Repotrectinib を測定するため、頑健な生体試料中薬物濃度測定法を開発し、薬物動態及びトキシコキネティクスを評価した。Repotrectinib の組織分布は ^{14}C 標識した[^{14}C]-Repotrectinib を用いてラットで評価し、脳内移行性はマウス及び幼若ラットで評価した。ラット及びサルにおける代謝物プロファイリング、マスバランス及び排泄を評価し、ヒトの結果とも比較した。また、Repotrectinib の薬物相互作用（DDI）の可能性について、チトクローム P450（CYP）、ウリジン 5'-二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT）及び薬物トランスポーターに関する in vitro 試験を実施した。

非臨床毒性試験は、ICH S9 ガイドライン及び「『抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドライン』に関する質疑応答集（Q&A）」（ICH S9 ガイドライン Q&A）に準じて実施した。毒性試験に用いる動物種には、代謝プロファイルにヒトとの類似性がみられ、忍容性評価に十分な全身曝露量が得られることから、ラット及びサルを選択した。ラット及びサルを用いた単回及び 7 日間反復投与探索的毒性試験並びに最長 91 日間［1 日 1 回（QD）］の反復投与毒性試験、有色ラットを用いた光毒性試験、妊娠ラットを用いた胚・胎児発生に関する（EFD）用量設定試験、幼若ラットを用いた反復投与毒性試験の用量設定及び本試験、in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験を実施した。重要な試験は、GLP を遵守し、ICH ガイドラインに従って実施した。

3 薬理試験

3.1 効力を裏付ける試験

効力を裏付ける試験として、in vitro 及び in vivo 評価からなる一連の非臨床薬理試験を実施した。

Repotrectinib は WT 及び変異型の ROS1［50%阻害濃度（IC_{50}）：0.0706～0.456 nM］、TRK ファミリーキナーゼ（TRKA、TRKB 及び TRKC）（IC_{50}：0.0517～0.826 nM）及び ALK（IC_{50}：0.491～14.1 nM）のキナーゼ活性を強力に阻害した。

ROS1：Repotrectinib は、WT の SDC4-ROS1 融合タンパク質及びその変異型の G2032R 並びに WT の CD74-ROS1 融合タンパク質、その変異型の G2032R、L2026M 及び D2033N を発現する遺伝子導入 Ba/F3 細胞株（マウス pro-B 細胞株）の細胞増殖を抑制した（各 IC_{50}：＜0.2、3、＜0.2、8.4、10 及び 0.15 nM）。CD74-ROS1 融合タンパク質及びその G2032R、L2026M 又は D2033N 変異型を発現する遺伝子導入 NIH3T3 細胞株（マウス線維芽細胞株）において、Repotrectinib は濃度依存的に ROS1 の自己リン酸化を阻害した。また、in vivo で WT の CD74-ROS1 又は変異型 G2032R を発現する Ba/F3 細胞を皮下移植したマウスモデルにおいて、Repotrectinib は腫瘍増殖及びキナーゼの自己リン酸化を顕著に阻害した。

TRK：Repotrectinib は、TPM3-NTRK1 融合遺伝子を内因性に発現する KM12 細胞株（ヒト大腸癌細胞株）並びに solvent front 変異を有する LMNA-TRKA G595R、TEL-TRKB G639R 及び TEL-TRKC G623R などの TRK 融合タンパク質を発現する遺伝子導入 Ba/F3 細胞に対して、細胞増殖抑制作用を示した（各 IC_{50}：0.2、0.4、0.6 及び 0.39 nM）。また、Repotrectinib は KM12 細胞及び遺伝子導入 NIH3T3 細胞において、TRK 融合タンパク質及びそれらの solvent front 変異型の自己リン酸化を阻害した。さらに in vivo で、Repotrectinib は KM12 細胞を皮下移植したマウスモデル及び LMNA-TRKA WT 若しくは LMNA-TRKA G595R を発現する NIH3T3 細胞を皮下移植したマウスモデルにおいて、腫瘍増殖を強力かつ用量依存的に阻害した。

ALK：Repotrectinib は、NPM-ALK 融合遺伝子を内因性に発現する Karpas299 細胞株（ヒト T 細胞リンパ腫細胞株）において細胞増殖抑制作用を示した（IC_{50}：23.7 nM）。また、Repotrectinib は Karpas299 細胞において ALK 自己リン酸化を阻害し、STAT3、AKT 及び ERK など NPM-ALK の下流シグナル伝達分子のリン酸化も濃度依存的に阻害した。さらに、Repotrectinib は、EML4-ALK v1 WT 並びにその変異型 G1202R、L1196M、F1174C、C1156Y 及び L1152P を発現する Ba/F3 細胞の細胞増殖を抑制した（各 IC_{50}：21.1、20.5、74、54.2、24 及び 60.1 nM）。EML4-ALK v1 WT 又は G1202R 発現 Ba/F3 細胞及び NIH3T3 細胞においても、Repotrectinib は ALK の自己リン酸化を阻害した。In vivo で Karpas299 細胞を皮下移植したマウスモデル並びに EML4-ALK v1 WT 又は G1202R 発現 Ba/F3 細胞及び NIH3T3 細胞を皮下移植したマウスモデルにおいて、Repotrectinib は顕著な腫瘍増殖抑制作用を示した。

以上の結果から、Repotrectinib はキナーゼドメインが WT の ROS1 融合タンパク質及び臨床でみられるそれらの耐性変異型に対する阻害剤であり、solvent front 変異型 G2032R に対しても高い阻害作用を有することが示された。また、Repotrectinib は TRKA、TRKB 及び TRKC に対する pan-TRK 阻害剤であり、in vitro 及び in vivo において solvent front 変異を有する TRK を顕著に阻害した。さらに、Repotrectinib は WT 及び変異型 ALK のいずれに対しても強力な活性を示した。

また、Repotrectinibは、キナーゼアッセイにおいて複数の非受容体型チロシンキナーゼを低ナノモル濃度のIC_{50}で阻害した。そのうちSRC及びFAK並びに関連する経路のシグナル伝達分子又はJAK2に対しては、H2228細胞又はSET2細胞を用いた細胞アッセイにおいてRepotrectinibの阻害活性が示された。さらに、機能評価として実施したin vitroアッセイにおいて、Repotrectinibは H2228細胞及びHT1080細胞の遊走を抑制した。

3.2 副次的薬理試験

重要な生理活性に関与する44種類のタンパク質からなるパネルを用いて、Repotrectinibの標的外作用を評価した。その結果、RepotrectinibはアデノシンA_{2A}受容体及びL型Ca^{2+}チャネルのリガンド結合をそれぞれ6.3及び3.5 μMのIC_{50}で阻害した。これらは、ヒトにRepotrectinib 160 mgを1日2回（BID）投与した際の非結合型Repotrectinibの平均最高血漿中濃度（C_{max}）（0.066 μM）の95及び53倍に相当する。また、Repotrectinibは lymphocyte kinase（LCK）のキナーゼ活性を阻害し、そのIC_{50}は0.11 μMであり、ヒトでの非結合型平均C_{max}（0.066 μM）の1.7倍に相当する。LCKはチロシンキナーゼのSRCファミリーに属し、LCK阻害はSRC阻害剤でも認められている。LCKはT細胞及びナチュラルキラー（NK）細胞に発現し、T細胞受容体を介したT細胞の活性化及びシグナル伝達に関与する。LCKを阻害することにより免疫抑制が生じ、感染症のリスクが増加する可能性があるが、Repotrectinibを投与した患者において、リンパ球数減少の発現率は低く（5%未満）（【M5.3.5.2-4 TRIDENT-1 P2 CSR Addendum 01、Table 14.3.1.2.1】参照）、このクラスの薬剤及び患者において免疫抑制及び感染症の増加は認められていない。

3.3 安全性薬理試験

ヒトイオンチャネル（hERG、hNav1.5及びhCav1.2）に対するRepotrectinibの影響を、パッチクランプ法による電気生理学的試験により評価した。Repotrectinibのhergカリウム電流に対する阻害作用のIC_{50}は18 μMで、ヒトでの非結合型Repotrectinibの平均C_{max}（0.066 μM）の271倍に相当する。また、Repotrectinibはhnav1.5ナトリウムチャネル及びhcav1.2カルシウムチャネルに対して軽微な阻害作用を示した（30 μMでそれぞれ15%以下及び約35%の阻害、10 μMでいずれも阻害せず）。以上より、hERG、hNav1.5及びhCav1.2に対するRepotrectinibの阻害作用は軽微であると考えられた。

ICH S9ガイドラインに基づき、Repotrectinibの独立したin vivo安全性薬理試験は実施しなかったが、ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験（GLP適合）において心血管系、中枢神経系及び呼吸系に及ぼす影響を評価した（【M2.6.6、9項】参照）。28日間及び91日間反復投与毒性試験において心電図評価（サル）並びに呼吸系又は中枢神経系への影響を示唆する症状の観察（ラット及びサル）を実施した。Repotrectinibに関連した心血管系及び呼吸系への影響は認められなかった。成熟ラットを用いた反復投与毒性試験及び幼若ラットを用いた反復投与毒性試験の用量設定試験で、中枢神経系症状として振戦及び運動失調が認められた。これらの毒性所見は、成熟ラットの28日間及び91日間反復投与毒性試験において50/40 mg/kg以上の雄及び40/30 mg/kg以上の雌（91日間反復投与毒

性試験では死亡及び瀕死のため、Day 25 より雄は 50 mg/kg から 40 mg/kg に、雌は 40 mg/kg から 30 mg/kg に減量）で認められた。成熟ラットにおける中枢神経系への影響の最小作用量（LOEL）での曝露量は、ヒトに 160 mg を BID 投与したときの曝露量と比較して、C_{max} は約 3.17 倍（雄）及び 3.97 倍（雌）、血漿中濃度時間曲線下面積（AUC）は約 2.73 倍（雄）及び 3.48 倍（雌）であった（Table 5.2-1）。また、これらの毒性所見に関連した病理組織学的所見は認められなかった。運動失調又は振戦が認められた個体の多くは、症状がみられて数週間以内に摂餌量及び体重減少がみられるなど、忍容性の不良により、早期の安楽死に至った。投与期間終了時の剖検まで生存した個体では、いずれの中枢神経系所見も完全に回復した。幼若ラットでは、中枢神経系の毒性所見（運動失調）が成熟ラットより顕著であり、10 mg/kg 以上で投与後 2～3 日に観察され、全例が死亡又は早期安楽死に至った。幼若ラットにおける中枢神経系への影響に関する LOEL（10 mg/kg）での曝露量は、ヒトに 160 mg BID を投与したときの曝露量と比較して、C_{max} は約 2.68 倍（雄）及び 3.19 倍（雌）、AUC は約 2.01 倍（雄）及び 2.03 倍（雌）であった。このことから、幼若ラットの方が成熟ラットより Repotrectinib による中枢神経系への影響に対して感受性が高いことが示唆された。中枢神経系への影響は、TRK に対する薬理作用に起因すると考えられる。TRK ファミリーに属するキナーゼは、発育中及び成人の脳に高発現し、中枢及び末梢神経細胞の発生及び分化に重要な役割を果たしている[10,11]。

3.4 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

4 薬物動態試験

4.1 分析法

ラット及びサルの血漿中 Repotrectinib 濃度測定にはバリデーションされた液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法を用い、GLP 適合の毒性試験に利用した。血漿及び排泄物（尿及び糞試料）中 Repotrectinib 及びその代謝物濃度測定には液体クロマトグラフィー・質量分析法及び液体クロマトグラフィー・加速器質量分析法などを用いた。GLP 適合のラット及びサルの 28 日間反復投与毒性試験の一環として、実試料の再分析を実施し、判定基準を満たした。生体試料中の放射能濃度は、液体シンチレーションカウンターを用いて液体シンチレーション法で測定した。

4.2 吸収

Repotrectinib はヒト結腸癌由来細胞である Caco-2 細胞を用いた in vitro 膜透過性モデルで、高い膜透過性を示した。ラット及びサルに Repotrectinib を単回静脈内投与したとき、Repotrectinib のクリアランス（CL）は低度から中等度（肝血流量の約 10%～41%[12]）であり、定常状態分布容積（V_{dss}）は検討したすべての動物種で体内総水分量（約 0.6～0.7 L/kg[12]）より大きく、組織中へ広範に分布することが示唆された。絶対的バイオアベイラビリティは、雄性ラット、雌性ラット及び雌性サルでそれぞれ 45%、61%及び 14%であった。

ラットに Repotrectinib を単回及び反復経口投与したとき、曝露量に性差が認められ、雌では雄の約 2 倍の高値であった。したがって、これらの試験以降に実施した GLP 適合の反復投与毒性試験では雌の用量を減量した。Repotrectinib の曝露量は概ね用量比を下回って増加した。Repotrectinib を 28 日間又は 91 日間反復経口投与したとき、低用量及び中用量（5～30 mg/kg）では、定常状態における曝露量は Day 1 の曝露量の約 2～4 倍であり、蓄積が認められた。高用量（100 mg/kg 以上）では、曝露量の減少傾向が認められた。サルに Repotrectinib を反復経口投与したとき、曝露量に性差は認められなかった。Repotrectinib を 28 日間又は 91 日間反復経口投与したとき、Day 1、Day 28 及び Day 91 における曝露量は用量比を下回って増加した。また、反復投与による蓄積は認められなかった。

4.3 分布

マウスに Repotrectinib を単回及び反復経口投与したとき、限定的な脳内移行性が認められ、血漿中濃度に対する脳内濃度の割合は、それぞれ約 5.2%及び 3.8%であった。雌性幼若ラットに Repotrectinib を単回経口投与したとき、血漿中曝露量に対する脳内曝露量の割合は 1%未満であった。Long Evans ラットに[^{14}C]-Repotrectinib を単回経口投与し、定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）により組織分布を評価した結果、薬物由来の放射能は広範な組織に速やかに分布した。雌雄ラットともに薬物由来の放射能の曝露量が最も高かった組織は、有色皮膚、ぶどう膜、肝臓、腎皮質及び腎臓であった。薬物由来の放射能は脳室周囲以外の血液脳関門により保護されている中枢神経系組織への移行はわずかで、マウス及び幼若ラットを用いた脳内移行性試験の結果と一致した。薬物由来の放射能は投与後 168 時間以内にほぼすべての組織から消失し、メラニン含有組織に結合しないことが示唆された。総じて、雌雄ラットにおける放射能濃度の組織分布パターンは同様であったが、放射能の曝露量は、雌のほとんどの組織において、雄の 2 倍以上であった。

動物及びヒトにおける Repotrectinib の血漿蛋白結合率は同程度で高い結合率を示した（動物：92.1%～95.8%、ヒト：95.4%）。Repotrectinib は、ヒト α1-酸性糖蛋白（7.6%～10.5%）と比べて、ヒト血清アルブミン（95.2%～96.0%）と高い結合率を示した。In vitro のヒト血漿中濃度に対する血中濃度の比は 0.55 であり、血球移行性は限定的であった。

4.4 代謝

4.4.1 In vitro 代謝

Repotrectinib（5 μM）の代謝安定性について、マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトの凍結肝細胞を用いて評価した結果、Repotrectinib の代謝安定性はマウス、ラット、イヌ及びヒト肝細胞［消失半減期（$t_{1/2}$）：240 分超］で、サル肝細胞（$t_{1/2}$：90 分）と比較して高かった。ヒト肝細胞で高い代謝安定性を示したことから、Repotrectinib の代謝安定性について、異なるドナーより提供された 3 種のヒト肝細胞を用いて、より長期のインキュベーション（72 時間）条件下で追加の評価を実施した。

その結果、ドナー1、2 及び 3 の肝細胞いずれにおいても、Repotrectinib は高い代謝安定性を示し、$t_{1/2}$は 480 分超であった。

Repotrectinib（1 μM）の代謝安定性について、ヒト組換え CYP1A2、CYP2B6、CYP2C19、CYP2C8、CYP2C9、CYP2D6 及び CYP3A4 を発現する Supersomes™ を用いて評価した結果、Repotrectinib の代謝は主に CYP3A4 が寄与することが示唆された。

4.4.2 In vivo 代謝

[^{14}C]-Repotrectinib を用いた ADME 試験の結果から、ラット、サル及びヒトの代謝プロファイルの類似性が示された。動物及びヒトにおける主要な代謝反応は、CYP3A4 による酸化又は水和に続くグルクロン酸抱合であった。ヒトで生成される代謝物はラット又はサルでも生成され、これら動物種を用いた非臨床安全性評価の妥当性が確認された。

ヒト血漿において、主要な薬物関連化合物は Repotrectinib であり、$AUC_{0\text{-}72h}$ は薬物関連化合物の 84.3%に相当した。なお、ラット及びサルの血漿中においても、主たる化合物は Repotrectinib であり、それぞれ血漿中総放射能の 58.4%～75.1%及び 45.0%～60.8%であった。ヒトの循環血中で二次代謝物として M1、M2 及び M3（酸化又は水和代謝物のグルクロン酸抱合体、合わせて総放射能 AUC の約 6%に相当）並びに M5 及び M9（一酸化代謝物、それぞれ総放射能 AUC の約 2.7%及び約 2.6%に相当）が認められ、代謝物はいずれも循環血中の総放射能の 10%未満であったことから、ヒトで主要な代謝物がないことが示された。ラット及びサル血漿中で M1、M2 及び M3 は定量下限未満であったものの、いずれの代謝物もサルの尿中に認められ、M2 はラットの胆汁中に認められた。加えて、ラット血漿中で主たる代謝物は M5（M1、M2 及び M3 の推定前駆体）であり、総放射能の 17.6%～21.3%に相当し、その他 M9 が個々の測定時点でわずかに検出された。サル血漿中の主たる代謝物は M5（18.0%～33.5%）及び M11（一酸化代謝物のグルクロン酸抱合体、16.4%～17.8%）であった。これらの結果から、ヒトの循環血中で主要な代謝物やヒト特有の代謝物は認められなかった。

ラット、サル及びヒトで糞中の主要な薬物関連化合物はいずれも Repotrectinib であり、投与量の 51%～78%に相当し、大部分は吸収されずに排泄されたと考えられた。ラットの糞中では Repotrectinib のみが検出された。サルの糞中では、M4 及び M5（雄及び雌で、それぞれ合算 2.0%及び 3.2%）並びに M6（雌のみで 0.45%）も認められた。ヒトの糞中では、Repotrectinib の他に M4（13.04%）、M5（7.11%）、M6（5.96%）、M7（0.96%）及び M9（0.52%）が認められた。ラット、サル及びヒトで尿中に排泄された総放射能は低く、投与量の約 6%以下であった。ラット、サル及びヒトの尿中から回収された未変化体は投与量の約 1%以下であったことから、尿中排泄は主要な消失経路でないことが示唆された。

4.5 排泄

ラット、サル及びヒトで、Repotrectinib及び代謝物の主要な消失経路は糞中排泄であり、尿中排泄は主要な消失経路でないことが示唆された。[^{14}C]-Repotrectinib を単回経口投与した結果、ラット、サル及びヒトの糞中からそれぞれ放射能総量の約 84%～94%、約 63%～65%及び約 89%回収された。ラット、サル及びヒトの尿中からは、それぞれ投与量の約 2%、1%未満及び約 5%回収された。

乳汁移行を検討する試験は実施しなかった。

4.6 薬物動態学的薬物相互作用

Repotrectinib は、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP3A4/5 を軽度に阻害するが（IC_{50}：5.72 μM 以上）、CYP に対して時間依存的阻害を示す可能性は低い。可逆的 CYP 阻害による DDI が生じる可能性について、厚生労働省の DDI ガイドライン「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン」（薬生薬審発 0723 第 6 号）、米国食品医薬局の DDI ガイダンス「In Vitro Drug Interaction Studies - Cytochrome P450 Enzyme- and Transporter-Mediated Drug Interactions Guidance for Industry」、欧州医薬品庁（EMA）の DDI ガイドライン「Guideline on the investigation of drug interactions」及び ICH ガイドライン「薬物相互作用試験（案）」（ICH M12）に基づき評価した結果、Repotrectinib が循環血中で CYP1A2、CYP2B6、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5 を阻害することで DDI を引き起こす可能性は低いが（R_1 値はいずれもガイドラインのカットオフ値の 1.02 未満）、消化管内で CYP3A4/5 を阻害する可能性が示唆された（$R_{1,gut}$ 値：11 超）。CYP2C8 及び CYP2C9 の R_1 値はいずれもガイドラインで提唱されているカットオフ値の 1.02 を上回ったため、これらCYPがDDIを引き起こす可能性が示唆された。ヒト肝細胞を用いたCYP誘導試験の結果から、Repotrectinib はCYP2B6及びCYP3A4を誘導することが示唆され、CYP2C8、CYP2C9及びCYP2C19も誘導する可能性が示唆された。

評価した UGT 分子種のうち、Repotrectinib は UGT1A1 を阻害し、IC_{50} 値は 1.60 μM、R_1 値は 1.1 で DDI ガイドラインのカットオフ値の 1.02 を上回った。UGT1A1 阻害に加え、Repotrectinib はヒトプレグナン X 受容体（PXR）を介して CYP3A4 を誘導すると考えられることから、UGT1A1 を誘導する可能性があると考えられた。

Repotrectinib は P 糖蛋白（P-gp）の基質であり、乳癌耐性蛋白（BCRP）及び多剤・毒性化合物排出蛋白（MATE）2-K の基質である可能性がある。一方、Repotrectinib は評価したその他のヒトトランスポーターの基質ではなかった。Repotrectinib の尿中排泄が限定的（1%未満）であることから、MATE2-K 阻害剤と併用投与したときに Repotrectinib の曝露量に臨床的に意義のある影響は認められないと考えられた。

Repotrectinib は P-gp 及び BCRP（IC_{50}：それぞれ 16.7 及び 6.9 μM）、有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1（IC_{50}：2.35 μM）、有機アニオントランスポーター（OAT）3（IC_{50}：15.2 μM）、MATE1（IC_{50}：4.13 μM）並びに MATE2-K（IC_{50}：0.726 μM）を阻害した。EMA の DDI ガイドライ

ンに記載されている評価に基づくと、Repotrectinib は OATP1B3、OAT1、OAT3 及び有機カチオントランスポーター（OCT）2 阻害による DDI を引き起こす可能性は低いが、臨床的に関連する濃度で P-gp 及び BCRP（循環血中及び消化管内）並びに OATP1B1、MATE1 及び MATE2-K を阻害する可能性が示唆された。さらに、Repotrectinib はヒト PXR を介して CYP3A4 を誘導すると考えられることから、OATP1B1 及び P-gp を誘導する可能性があると考えられた。

4.7 その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施しなかった。

5 毒性試験

5.1 単回投与毒性試験

ラット及びサルを用いた単回投与試験において、Repotrectinib を最高 1000 mg/kg まで経口投与したときの忍容性は良好であった。

5.2 反復投与毒性試験

ラット及びサルを用いた Repotrectinib の 7、28 又は 91 日間（QD）反復経口投与試験において、主な標的器官は皮膚及び中枢神経系（ラット）、骨髄（ラット及びサル）、消化管（サル）であった。これらの所見は概して回復性又は回復傾向を示した。ラットでは Repotrectinib の全身曝露量に性差が認められ、反復投与後の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は、雌で雄より高値を示した。サルでは、Repotrectinib の全身曝露量に性差は認められなかった。

中枢神経系所見については 3.3 項に記載した。

皮膚では、ラットを用いた反復投与毒性試験において、投与に関連した所見として、5 mg/kg 以上で痂皮が主に頸部、頭部、顔面、耳、肩、顎、胸部に認められ、28 日間試験では擦過傷も認められた。関連した病理組織学的所見として皮膚のびらん、潰瘍がみられ、91 日間試験の雄 50/40 mg/kg 及び雌 40/30 mg/kg（死亡及び瀕死のため、Day 25 より雄は 50 mg/kg から 40 mg/kg に、雌は 40 mg/kg から 30 mg/kg に減量）では有害所見と考えられた。皮膚への影響の LOEL（5 mg/kg）での曝露量は、ヒトに 160 mg を BID 投与したときの曝露量と比較して、C_{max} は 0.68 倍（雄）及び 1.28 倍（雌）、AUC は 0.43 倍（雄）及び 0.68 倍（雌）であった。いずれの試験でも、28 日間の休薬期間後、皮膚病変はおおむね回復した。炎症性の刺激を示す変化として、単球数、好中球数、フィブリノゲン、グロブリンの増加、アルブミンの減少がみられ、病理組織学的にみられた皮膚のびらん・潰瘍と関連した変化と考えられた。TRK は、三叉神経節、後根神経節及び末梢神経系交感神経節に発現しており、TRK 欠損マウスでは当該部位の神経細胞の脱落による重度の感覚神経及び交感神経の障害が認められる[13]。Repotrectinib を投与されたラットで認められた皮膚病変の表現型は TRK 欠損マウスで認められたものと同様であったことから、TRK の阻害によって末梢神経系の感覚が低下した結果としてラットの皮膚に傷害が生じた可能性が考えられた。

骨髄毒性として、骨髄細胞数の減少及び巨核球増加がみられた。赤血球系パラメータ（赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値）及び網状赤血球数の減少が、ラット及びサルを用いた 28 日間及び 91 日間反復投与毒性試験の 5 mg/kg 以上の群で認められた。関連した病理組織学的所見として、ラットのみで骨髄細胞の減少（胸骨及び大腿骨）が認められた。赤血球産生抑制は、91 日間反復投与毒性試験で雌ラットの 40/30 mg/kg 及びサルの 15 mg/kg 以上で有害な変化と考えられた。ラット及びサルでは 5 mg/kg 以上で血小板数の増加が認められた。ラットを用いた 91 日間反復投与毒性試験でみられた血小板数の増加は、骨髄巨核球増加の病理組織学的所見と関連した所見と考えられた。ラットにおける骨髄への影響の LOEL での曝露量は、ヒトに 160 mg BID 投与したときの曝露量と比較して、C_{max} では約 0.68 倍（雄）及び 1.58 倍（雌）、AUC では約 0.43 倍（雄）及び 0.68 倍（雌）であった。サルにおける骨髄への影響の LOEL での曝露量（雌雄合算平均値）は、ヒトに 160 mg BID 投与したときの曝露量と比較して、C_{max} では約 0.19 倍、AUC では約 0.15 倍であった。

消化管所見として、サルを用いた 28 日間及び 91 日間試験の 5 mg/kg 以上で嘔吐及び水様便が認められ、91 日間試験では関連する病理組織学的所見として大腸（盲腸、結腸、直腸）の軽微な亜急性・慢性炎症、軽微～軽度の粘膜腺過形成が認められた。空腸にも亜急性・慢性炎症が認められた。腸管の炎症性変化は、臨床病理学的検査での炎症マーカーであるフィブリノゲン、グロブリン及び炎症性細胞（好中球、単球、好酸球、好塩基球）の増加並びにアルブミンの減少と関連していた。サルにおける消化管所見の LOEL での曝露量（雌雄合算平均値）は、ヒトに 160 mg BID 投与したときの曝露量と比較して、C_{max} では約 0.19 倍、AUC では約 0.15 倍であった。

その他の所見として、リンパ系への影響及び体重増加が認められた。ラットの雄 15 mg/kg 以上及び雌 5 mg/kg 以上で、循環血中及び複数のリンパ器官におけるリンパ球の減少が認められたが、忍容性のみられない用量以外では有害な変化ではないと考えられた。サルでは 15 mg/kg 以上で複数のリンパ系器官にリンパ球減少が認められたが、ストレスによるものと考えられた。ラットの 28 日間試験では、雄 30 mg/kg 及び雌 20 mg/kg で、摂餌量の増加による体重増加が認められた（AUC に基づく曝露量は 160 mg BID での臨床曝露量の約 2～3 倍）。体重は 28 日間の回復期間後に対照群と同等の値を示した。体重及び摂餌量でみられたこれらの影響は TRKB 阻害に関連すると考えられ、脳由来神経栄養因子（BDNF）及び TRKB のシグナリングの変化に伴う表現型に関する報告と一致した[14]。

GLP 反復投与毒性試験における主な毒性所見の LOEL での全身曝露量を、臨床における薬効量の 160 mg QD 及び 160 mg BID 投与時の曝露量と比較した曝露量比を Table 5.2-1 に示す。また、各 GLP 反復投与毒性試験の無毒性量（NOAEL）での全身曝露量に基づく安全域を Table 5.2-2 に示す。ラット及びサルにおける標的器官への影響は、ラットにおける中枢神経系への影響（ヒトの約 2～4 倍の曝露量でみられた）を除き、ヒトにおける曝露量よりも概して低い曝露量で認められた。Repotrectinib の臨床試験では、患者で皮膚の異常は認められなかったが、末梢神経系、中枢神経系、骨髄及び消化管の有害事象が、想定された曝露量で認められた。

Table 5.2-1: Repotrectinib の重要な反復投与毒性試験における主な毒性とその最小作用量に対する曝露量比

Target Organ/ Toxicity	Study Type	Species	LOEL (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	Exposure Margins[a] 160 mg QD C_{max}	160 mg QD AUC	160 mg BID C_{max}	160 mg BID AUC
Skin	91-day repeat dose	Rat	M:5	352	2710	0.81	0.60	0.68	0.43
			F:5	660	4300	1.52	0.96	1.28	0.68
CNS	91-day repeat dose	Rat	M: 50/40	1630	17300	3.76	3.84	3.17	2.73
			F: 40/30	2040	22000	4.71	4.89	3.97	3.48
Bone marrow	91-day repeat dose	Rat	M:5	352	2710	0.81	0.60	0.68	0.43
			F:5	660	4300	1.52	0.96	1.28	0.68
	91-day repeat dose	Monkey	M+F:5	97.3	946	0.22	0.21	0.19	0.15
GI tract	91-day repeat dose	Monkey	M+F:5	97.3	946	0.22	0.21	0.19	0.15

Abbreviations: AUC = area under the plasma concentration vs. time curve; BID = twice daily; C_{max} = maximum plasma concentration; CNS = central nerve system; F = female; GI = gastro-intestinal; LOEL = lowest observed effect level; M = male; M+F = comobined sex; QD = once daily.

[a] 160 mg QD (n = 7): C_{max} = 433 ng/mL, and AUC_{0-24h} = 4500 ng·h/mL; 160 mg BID (n = 8): C_{max} = 514 ng/mL, AUC_{0-24h} = 6320 ng·h/mL（【M2.7.2 Table 2.1.1-2】）

Table 5.2-2: Repotrectinib の GLP 反復投与毒性試験における無毒性量に対する曝露量比

Study Type	Species	NOAEL (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24h} (ng·h/mL)	Exposure Margins[a] 160 mg QD C_{max}	160 mg QD AUC	160 mg BID C_{max}	160 mg BID AUC
28-day repeat dose[b]	Rat	M:30	1490	15100	3.44	3.36	2.90	2.39
		F: 20	1800	15500	4.16	3.44	3.50	2.45
91-day repeat dose[c]	Rat	M:15	954	7190	2.20	1.60	1.86	1.14
		F: 15	2410	20500	5.57	4.56	4.69	3.24
28-day repeat dose[d]	Monkey	M+F:30	250	2420	0.58	0.54	0.48	0.38
91-day repeat dose[e]	Monkey	M+F:5	97	946	0.22	0.21	0.19	0.15

Abbreviations: AUC = area under the plasma concentration vs. time curve; BID = twice daily; C_{max} = maximum plasma concentration; F = female; M = male; M+F = comobined sex; NOAEL = no observed adverse effect level; QD = once daily.

[a] 160 mg QD (n = 7): C_{max} = 433 ng/mL, and AUC_{0-24h} = 4500 ng·h/mL; 160 mg BID (n = 8): C_{max} = 514 ng/mL, AUC_{0-24h} = 6320 ng·h/mL.（【M2.7.2 Table 2.1.1-2】）

[b] NOAEL based on early deaths in males at 50/100 and 300 mg/kg/day and in females at 60 mg/kg/day, with decreased bone marrow cellularity observed microscopically at these dose levels.

[c] NOAEL based mortality observed in males at 50/40 mg/kg/day and females at 40/30 mg/kg/day.

[d] NOAEL based on morbidity observed in males at 100 mg/kg/day.

[e] NOAEL based on the magnitude of red cell mass reduction at the higher dose levels.

5.3 遺伝毒性試験

Repotrectinib の遺伝毒性を、細菌を用いた in vitro 復帰突然変異試験（Ames 試験）、TK6 細胞を用いた in vitro 小核試験及びラットを用いた in vivo 小核試験（2 試験）により評価した。Repotrectinib は変異原性及び染色体異常誘発性を示さなかったが、TK6 細胞を用いた in vitro 小核試験において異数性誘発性を示した。ラットを用いた in vivo 小核試験では、500 mg/kg 以上で陽性を示したが、100 mg/kg 以下では陰性であったことから、Repotrectinib による小核誘発には閾値がみられ、異数性誘発作用を示すことが支持された。100 mg/kg の C_{max} は 2300 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24h}$ は 28400 ng· h/mL であり、これらの曝露量は、ヒト 160 mg BID 投与の曝露量と比較して、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ で 4.5 倍であった。

5.4 がん原性試験

がん原性試験は実施しなかった。進行がん患者の治療を目的とした医薬品の承認申請には、がん原性試験は必要とされない（ICH S9 ガイドライン）。

5.5 生殖発生毒性試験

妊娠ラットを用いた EFD 用量設定試験において、ヒト 160 mg BID 投与の曝露量の約 3 倍の曝露量（推定 AUC は 20500 ng·h/mL）で胎児の外表奇形として後肢異常回転、母動物への影響として頸部及び胸部に痂皮・擦過傷が認められた。他の TKI 投与により胎児奇形が認められていることが報告されており[15,16]、用量設定試験で催奇形性が認められたこと、ROS1、ALK 及び TRK 阻害剤としての Repotrectinib の作用機序を考慮し、ICH S9 Q&A の記載に準じて、EFD 試験の本試験は実施しなかった。

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、並びに出生前及び出生後の発生に関する試験は実施しなかった。進行がん患者の治療を目的とした医薬品の承認申請には、これらの試験は必要とされない（ICH S9 ガイドライン）。

5.6 新生児を用いた試験

出生後の発生への影響を評価するため、幼若ラットに Repotrectinib を生後 12～40 日に反復経口投与した用量設定毒性試験並びに生後 12～70 日に反復経口投与し、28 日間の回復期間を設けた本試験（GLP 適合）反復を実施した。Repotrectinib の全身曝露量は日齢によって変化し、最終投与後の曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）は初回投与後より最大 80%低かった。幼若ラットでも、成熟ラットでみられた所見と同様の中枢神経系（運動失調）及び骨髄（血小板増加）が認められた。幼若ラットでは、中枢神経系の臨床所見は成熟ラットより顕著であり、10 mg/kg 以上で投与後 3 日までに観察され、全例が生後 13～15 日に死亡又は早期安楽死に至った。したがって、幼若ラットの方が Repotrectinib による中枢神経系への影響に対して感受性が高いことが示唆された。反復投与毒性試験の本試験では、高用量の 3 mg/kg で体重、摂餌量及び大腿骨長の減少並びに血小板数の増加が認められた。亀頭包皮分離時の日齢及び体重並びに膣開口時の日齢に Repotrectinib に関連した影響はみ

られず、聴覚性驚愕反応、自発運動、学習及び記憶（Biel maze）にも影響は認められなかった。この用量（3 mg/kg）での C_{max} は 113 ng/mL（雄）及び 174 ng/mL（雌）、AUC_{last} は 880 ng·h/mL（雄）及び 1260 ng·h/mL（雌）であった。

5.7 局所刺激性試験

Repotrectinib は経口投与されるため、局所刺激性試験は実施しなかった。

5.8 その他の毒性試験

有色ラットを用いた in vivo 光毒性試験において、Repotrectinib は最高用量である 1000 mg/kg まで光毒性を示さなかった。

Repotrectinib 製剤をヒトに 160 mg BID 投与したとき、含有されるラウリル硫酸ナトリウム（SLS）の 1 日当たりの摂取量は [redacted] mg と算出され、本邦において使用前例として認められている添加剤の最大量である 300 mg を超えるため、新規添加剤として安全性を評価した。公表文献及び海外における使用経験の情報から、Repotrectinib 製剤により [redacted] mg の SLS を摂取したときの臨床上の安全性の懸念は極めて低いものと考えられた。

6 総括及び結論

非臨床において Repotrectinib の有効性及び安全性プロファイルを明らかにするため、一連の薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験を実施した。

効力を裏付ける薬理試験において、WT 及び solvent front 変異を含む変異型の ROS1、TRKA、TRKB、TRKC 及び ALK に対して、Repotrectinib は in vitro 及び in vivo で強力な阻害活性を示した。また、標的キナーゼの阻害に加え、Repotrectinib は SRC、FAK 及び JAK2 に対しても低ナノモル濃度の IC_{50} で阻害作用を示した。

副次的薬理試験において、Repotrectinib はアデノシン A_{2A} 受容体及び Ca^{2+} チャネルのリガンド結合を阻害し、その際の IC_{50} はヒトに Repotrectinib 160 mg を BID 投与したときの非結合型 Repotrectinib の平均 C_{max}（0.066 μM）に対し、それぞれ 95 及び 53 倍に相当する。また、Repotrectinib は LCK のキナーゼ活性を阻害し、その IC_{50} はヒトでの非結合型の平均 C_{max} の 1.7 倍であった。LCK は T 細胞及び NK 細胞に発現し、T 細胞受容体を介した T 細胞の活性化及びシグナル伝達に関与する。LCK を阻害することにより T 細胞が抑制される可能性があるが、Repotrectinib 投与患者においてリンパ球数減少の発現率は低く、このクラスの薬剤及び患者において免疫抑制及び感染症の増加は認められていない。

安全性薬理評価では、hERG（IC_{50} はヒト非結合型 C_{max} の 271 倍に相当）、hNav1.5 及び hCav1.2 を含むヒト心筋イオンチャネルに対する Repotrectinib の阻害作用は軽微であると考えられた。サルを用いた反復投与毒性試験において、Repotrectinib に関連した心血管系への影響は認められなかった。ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験において、Repotrectinib に関連した呼吸系への影響は認め

られなかった。成熟ラット及び幼若ラットの反復投与毒性試験では、中枢神経系への影響として振戦及び運動失調が認められた。同程度の曝露量では、幼若ラットで中枢神経系に関連した臨床症状がより顕著に認められたことから、幼若ラットは成熟ラットと比較して Repotrectinib による中枢神経系毒性に対する感受性が高いと考えられた。Repotrectinib の中枢神経系に対する作用は、TRK に対する薬理作用に起因すると考えられる。

ラット及びサルに Repotrectinib を単回静脈内投与したとき、Repotrectinib の CL は低度から中等度（肝血流量の約 10%～41%[12]）であり、V_{dss} は検討したすべての動物種で体内総水分量（約 0.6～0.7 L/kg[12]）より大きく、組織中へ広範に分布することが示唆された。絶対的バイオアベイラビリティは、雄性ラット、雌性ラット及び雌性サルでそれぞれ 45%、61%及び 14%であった。ラットに Repotrectinib を単回及び反復経口投与したとき、曝露量に性差が認められ、雌では雄の約 2 倍の高値であった。これは in vitro 代謝安定性試験で観察された性差と一致しており、代謝の性的二形によるものと考えられる。Repotrectinib の曝露量は概ね用量比を下回って増加した。反復投与による蓄積は用量に依存し、反復投与後の曝露量は 5～30 mg/kg の用量範囲では初回投与時の約 2～4 倍に増加したが、100 mg/kg 以上の用量では、曝露量の減少傾向が認められた。サルに Repotrectinib を反復経口投与したとき、曝露量は用量比を下回って増加し、明らかな性差は認められなかった。また、反復投与による蓄積は認められなかった。

Long Evans ラットに[^{14}C]-Repotrectinib を単回経口投与し、QWBA により組織分布を評価した結果、投与 1 時間後までに薬物由来の放射能はほとんどの組織で検出され、これは動物の V_{dss} が体内総水分量を上回った結果と一致しており、[^{14}C]-Repotrectinib は組織中へ広範に分布することが示唆された。雌雄ラットともに薬物由来の放射能の曝露量が最も高かった組織は、有色皮膚、ぶどう膜、肝臓、腎皮質及び腎臓であった。また、中枢神経系組織への移行はわずかで、マウス及び幼若ラットを用いた脳内移行性試験の結果と一致した。薬物由来の放射能は投与後 168 時間以内にほぼすべての組織から消失して定量下限未満となり、メラニン含有組織に結合しないことが示唆された。総じて、雌雄ラットにおける放射能濃度の組織分布パターンは同様であった。動物及びヒトにおける Repotrectinib の血漿蛋白結合率は同程度で高く（動物：92.1%～95.8%、ヒト：95.4%）、動物及びヒトにおける血漿中非結合形分率の差は 2 倍未満だった。In vitro のヒト血漿中濃度に対する血中濃度比は 0.55 であり、血球移行性は限定的であった。

ラット、サル及びヒトにおいて、Repotrectinib が血漿中及び糞中の主要な薬物関連物質であった。In vitro 及び in vivo 試験の結果から、いずれの動物種においても主要な代謝反応は酸化に続くグルクロン酸抱合であった。ヒトで生成される代謝物はラット又はサルでも生成された。ラット、サル及びヒトの ADME 試験の結果から、薬物関連曝露量の 10%を上回る主要代謝物又はヒト特有の代謝物は認められなかった。ラット、サル及びヒトにおいて、Repotrectinib 及び代謝物の主要な消失経路は糞中排泄であり、尿中排泄は主要な消失経路でないことが示された。

Repotrectinib は、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19 及び CYP3A4/5（テストステロン）を軽度に阻害した一方で（IC_{50}：5.72 μM 以上）、CYP に対して時間依存的阻害を示す可能性は低かった。Repotrectinib は CYP2B6 及び CYP3A4 を誘導することが示唆され、さらに CYP2C8、CYP2C9 及び CYP2C19 も誘導する可能性が示唆された。Repotrectinib の CYP3A4 誘導能について評価するため、プローブ基質としてミダゾラムを用いた臨床 DDI 試験を実施した。Repotrectinib とミダゾラムを併用投与した結果、ミダゾラムの AUC 及び C_{max} はミダゾラムを単剤投与時の曝露量のそれぞれ約約 31%及び約 52%であった。この結果から、Repotrectinib は CYP3A4 の中等度の誘導剤であることが示唆された。

評価した UGT 分子種のうち、Repotrectinib は UGT1A1 を阻害し（IC_{50}：1.60 μM）、R_1 値は 1.12 であり、カットオフ値の 1.02 を上回った。UGT1A1 阻害に加え、Repotrectinib はヒト PXR を介して CYP3A4 を誘導すると考えられることから、UGT1A1 を誘導する可能性があると考えられた。

Repotrectinib は P-gp の基質であり、BCRP 及び MATE2-K の基質である可能性がある。Repotrectinib の尿中からの排泄がわずかであることから（1%未満）、MATE2-K 阻害剤と併用投与したとき、Repotrectinib の曝露量に臨床的に意義のある影響が認められる可能性は低いと考えられた。

Repotrectinib は臨床的に関連する濃度で P-gp 及び BCRP（循環血中及び消化管内）並びに OATP1B1、MATE1 及び MATE2-K を阻害する可能性が示唆された。さらに、Repotrectinib はヒト PXR を介して CYP3A4 を誘導すると考えられることから、OATP1B1 及び P-gp を誘導する可能性があると考えられた。

非臨床毒性試験プログラムは、ICH S9 ガイドライン及び ICH S9 ガイドライン Q&A に準拠して実施した。

毒性試験に用いる動物種には、代謝プロファイルにヒトとの類似性がみられ、忍容性評価に十分な全身曝露量が得られることから、ラット及びサルを選択した。最長 91 日間の反復投与毒性試験（GLP 適合）では、主な標的器官は中枢神経系（ラット）、骨髄（ラット及びサル）、消化管（サル）であった。ラット及びサルにおけるこれらの標的器官への影響は、成熟ラットにおける中枢神経系への影響を除き、ヒト 160 mg BID 投与の曝露量より概して低い曝露量で認められた。中枢神経系への影響は、ヒト 160 mg BID 投与の曝露量と比較して、成熟ラットの C_{max} で約 3.17 倍（雄）及び 3.97 倍（雌）、AUC で約 2.73 倍（雄）及び 3.48 倍（雌）の曝露量で認められた。Repotrectinib の臨床試験では、皮膚の異常は認められなかったが、末梢神経系、中枢神経系、骨髄及び消化管の有害事象が、想定される曝露量において認められた。

In vitro 遺伝毒性試験において、変異原性及び染色体異常誘発性は認められなかったが、TK6 細胞を用いた小核試験において異数性誘発性が認められた。異数性誘発性には閾値があることが知られており、ラットを用いた in vivo 小核試験で陰性の結果が得られた 100 mg/kg の曝露量は、ヒト 160 mg BID 投与の曝露量と比較して、C_{max} 及び AUC で 4.5 倍であった。

妊娠ラットを用いた EFD 用量設定試験において、ヒト 160 mg BID 投与の曝露量（AUC）の約 3 倍の曝露量で胎児の外表奇形として後肢異常回転が認められた（ラット 28 及び 91 日間反復投与毒性試験の TK 値から推定した妊娠ラット 12 mg/kg での AUC は 20500 ng·h/mL）。他の TKI 投与により胎児奇形が認められていることが報告されており [15,16]、用量設定試験で催奇形性が認められたこと、ROS1、ALK 及び TRK 阻害剤としての Repotrectinib の作用機序を考慮し、ICH S9 Q&A の記載に準じて、EFD 試験の本試験は実施しなかった。

幼若ラットでは、反復投与毒性試験の用量設定試験で中枢神経系に関連した死亡が認められ、その曝露量はヒト 160 mg BID 投与と比較して、C_{max} は雄で 2.68 倍及び雌で 3.19 倍、AUC は 2.01 倍及び 2.03 倍であった。本試験では、高用量の 3 mg/kg で体重、摂餌量及び大腿骨長の減少並びに血小板数の増加が認められた。亀頭包皮分離時の日齢及び体重並びに膣開口時の日齢に Repotrectinib に関連した影響はみられず、聴覚性驚愕反応、自発運動、学習及び記憶（Biel maze）にも影響は認められなかった。

有色ラットを用いた in vivo 光毒性試験において、Repotrectinib は最高用量である 1000 mg/kg まで光毒性を示さなかった。

本薬は進行がん患者の治療を目的としていることから、がん原性試験、受胎能及び初期胚発生に関する試験並びに出生前及び出生後の発生に関する試験は実施しなかった。これらの試験は、進行がん患者の治療を目的とした治療薬の製造販売承認申請に必要とされない（ICH S9 ガイドライン）。

以上、本概括評価に記載した一連の非臨床試験を実施し、Repotrectinib の有効性、薬物動態及び安全性を評価した。各種試験の成績から、Repotrectinib を進行固形癌患者の治療薬として製造販売承認申請するための非臨床における有効性、薬物動態及び安全性が確認された。

7 参考文献

[1] Rikova K, Guo A, Zeng Q, et al. Global survey of phosphotyrosine signaling identifies oncogenic kinases in lung cancer. Cell. 2007;131:1190-203.

[2] Jordan EJ, Kim HR, Arcila ME, et al. Prospective comprehensive molecular characterization of lung adenocarcinomas for efficient patient matching to approved and emerging therapies. Cancer Discov. 2017;7:596-609.

[3] Ou SH, Zhu VW. CNS metastasis in ROS1+ NSCLC: An urgent call to action, to understand, and to overcome. Lung Cancer. 2019;130:201-7.

[4] Planchard D, Popat S, Kerr K, et al. Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up [updated version published 15 September 2020 by ESMO Guidelines Committee]. Ann Oncol. 2018;29(Suppl 4):iv192-iv237

[5] Lin JJ, Shaw AT. Recent Advances in Targeting ROS1 in Lung Cancer. J Thorac Oncol. 2017;12:1611-25.

[6] Bergethon K, Shaw AT, Ou SH, et al. ROS1 rearrangements define a unique molecular class of lung cancers. J Clin Oncol. 2012;30:863-70.

[7] Awad MM, Katayama R, McTigue M, et al. Acquired resistance to crizotinib from a mutation in CD74-ROS1. N Engl J Med. 2013;368:2395-401.

[8] Drilon A, Li G, Dogan S, et al. What hides behind the MASC: clinical response and acquired resistance to entrectinib after ETV6-NTRK3 identification in a mammary analogue secretory carcinoma (MASC). Ann Oncol. 2016;27:920-6.

[9] Drilon A, Ou SH, Cho BC, et al. Repotrectinib (TPX-0005) is a next-generation ROS1/TRK/ALK inhibitor that potently inhibits ROS1/TRK/ALK solvent- front mutations. Cancer Discov. 2018;8:1227-36.

[10] Barbacid M. The Trk family of neurotrophin receptors. J Neurobiol. 1994;25:1386-403.

[11] Lindsay RM. Role of neurotrophins and trk receptors in the development and maintenance of sensory neurons: an overview. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 1996;351:365-73.

[12] Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. Pharm Res. 1993;10:1093-5.

[13] Smeyne RJ, Klein R, Schnapp A, et al. Severe sensory and sympathetic neuropathies in mice carrying a disrupted Trk/NGF receptor gene. Nature. 1994;368:246-49.

[14] Xu B, Goulding EH, Zang K, et al. Brain-derived neurotrophic factor regulates energy balance downstream of melanocortin-4 receptor. Nat Neurosci. 2003;6:736-42.

[15] 中外製薬株式会社．ロズリートレクカプセル 100mg、同カプセル 200mg 申請資料概要（CTD M2.6.6 毒性試験の概要文）．2019 年 6 月 18 日承認.
Available from: https://www.pmda.go.jp/drugs/2019/P20190716001/index.html

[16] バイエル薬品株式会社．ヴァイトラックビカプセル 25mg、同カプセル 100mg 及び同内用液 20mg/mL 申請資料概要（CTD M2.6.6 毒性試験の概要文）．2021 年 3 月 23 日承認.
Available from: https://www.pmda.go.jp/drugs/2021/P20210310002/index.html