ティブソボ錠 250mg

医薬品製造販売承認申請書添付資料

第 2 部（モジュール 2）

2.4　非臨床試験の概括評価

日本セルヴィエ株式会社

目次

略語・略号一覧 4

1.　非臨床試験計画概略 7

2.　薬理試験 11
2.1　*In vitro* における効力を裏付ける試験 11
2.2　*In vivo* における効力を裏付ける試験 12
2.3　副次的薬理試験 14
2.4　安全性薬理試験 14
2.5　薬力学的薬物相互作用試験 17

3.　薬物動態試験 18
3.1　分析法 19
3.2　吸収及び薬物動態 19
3.2.1　イボシデニブの細胞膜透過性 19
3.2.2　単回投与時の薬物動態 19
3.2.3　反復投与時のトキシコキネティクス 20
3.2.3.1　Sprague-Dawley ラット 20
3.2.3.2　New Zealand White ウサギ 20
3.2.3.3　カニクイザル 21
3.3　分布 21
3.4　代謝 22
3.5　排泄 23
3.6　薬物動態学的薬物相互作用 23
3.7　その他の薬物動態試験 24

4.　毒性試験 25
4.1　単回投与毒性試験 26
4.2　反復投与毒性試験 26
4.3　遺伝毒性試験 29
4.4　がん原性試験 29
4.5　生殖発生毒性試験 29
4.5.1　受胎能及び初期胚発生に関する試験 29
4.5.2　胚・胎児発生に関する試験 30
4.5.3　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 32
4.5.4　幼若動物を用いた試験 32
4.6　局所刺激性試験 32
4.7　その他の毒性試験 32
4.7.1　不純物の毒性試験 32
4.7.2　添加剤 HPMCAS 33
4.7.3　光毒性 33

5.　総括及び結論 34
5.1　薬理 34
5.2　薬物動態 35
5.3　毒性 38

6.　参考文献 40

Appendix 1：モジュール 4 に添付資料のない項目 40

表目次

表 2.4:1　AG-120-C-001 第 I 相臨床試験におけるヒトでの曝露量と比較した GLP 適用の 28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験で認められたイボシデニブに関連する可能性のある又は可能性の高い QTcB 延長を示した個々のサルにおけるイボシデニブの C_{max} 値.....16
表 4.2:2　GLP 適用 28 日間及び 3 カ月間経口投与毒性試験におけるイボシデニブ曝露量と主要な臨床試験におけるイボシデニブ曝露量の比較.....27
表 4.5:3　GLP 適用の胚・胎児発生に関する試験における母動物と胎児の無毒性量と最小毒性量.....31

略語・略号一覧

略語・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）
2-HG	2-Hydroxyglutarate	2-ヒドロキシグルタル酸
α-KG	α-Ketoglutarate	α-ケトグルタル酸
AAG	α_1-Acid glycoprotein	α_1-酸性糖タンパク
ADME	Absorption, distribution, metabolism and excretion	吸収、分布、代謝及び排泄
AML	Acute myeloid leukemia	急性骨髄性白血病
AUC	Area under the concentration × time curve	濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}tau}$	Area under the concentration × time curve from 0 to the end of the dosing interval	0 時間から投与間隔終了後の濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}xx}$	Area under the concentration × time curve from 0 to xx hours	0 時間から投与後 xx 時間までの濃度－時間曲線下面積
$AUC_{0\text{-}\infty}$	Area under the concentration × time curve from 0 to infinity	0 時間から投与後無限大時間までの濃度－時間曲線下面積
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳癌耐性タンパク
BID	Twice daily	1 日 2 回
C2D1	Cycle 2, Day 1	サイクル 2 の 1 日目
Caco-2	Human colonic adenocarcinoma cell line	ヒト結腸腺癌由来
CL_p	Total body plasma clearance	血漿クリアランス
C_{max}	Maximum (peak) concentration	最高（ピーク）濃度
$C_{max,\ unbound}$	Maximum (peak) unbound concentration	最高（ピーク）非結合型濃度
C_{min}	Minimum (trough) concentration	最低（トラフ）濃度
CNS	Central nervous system	中枢神経系
CSR	Clinical study report	総括報告書
CV	Cardiovascular	心血管系
DDIs	Drug-drug interactions	薬物相互作用
DLT	Dose-limiting toxicity	用量制限毒性
DMSO	Dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
DRF	Dose range-finding	用量設定
ECG	Electrocardiogram	心電図
EMA	European Medicines Agency	欧州医薬品庁
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
GD	Gestation day	妊娠日齢
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
HBG 1/2	Hemoglobin gamma 1/2	ヘモグロビンγ 1/2
HCT116	Human colorectal carcinoma cell line	ヒト結腸直腸癌細胞株
hERG	Human *ether-à-go-go* related gene	ヒト *ether-à-go-go* 関連遺伝子
HPMCAS	Hydroxypropyl methylcellulose (hypromellose) acetate succinate	ヒドロキシプロピルメチルセルロース（ヒプロメロース）酢酸エステルコハク酸エステル
HSA	Human serum albumin	ヒト血清アルブミン
HT1080	Human chondrosarcoma cell line	ヒト軟骨肉腫細胞株

略語・略号一覧（続き）

略語・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）
IC_{20}	Concentration of drug that achieved 20% inhibition	20%阻害濃度
IC_{50}	Concentration of drug that achieved half maximal inhibition	50%阻害濃度
IC_{90}	Concentration of drug that achieved 90% inhibition	90%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
IDH	Isocitrate dehydrogenase	イソクエン酸脱水素酵素
IDH1	Isocitrate dehydrogenase-1	イソクエン酸脱水素酵素 1
IDH2	Isocitrate dehydrogenase-2	イソクエン酸脱水素酵素 2
I_{Kr}	Rapidly activating delayed rectifier potassium current	急速に活性化する遅延整流カリウム電流
IV	Intravenous	静脈内
KLF-1	Kruppel-like factor 1	クルッペル様因子 1
$K_{RBC/PL}$	Ratio of drug concentration in red blood cells to that in plasma	赤血球／血漿比
kp	kilopond	キロポンド
LC-MS/MS	Liquid chromatography-tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィータンデム質量分析
LOAEL	Lowest-observed-adverse-effect-level	最小毒性量
LSC	Liquid scintillation counting	液体シンチレーションカウンター
MAA	Marketing Authorization Application	医薬品製造販売承認申請
NA	Not applicable	該当なし
NADP	Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate	ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NOAEL	No-observed-adverse-effect-level	無毒性量
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
OCT2	Organic cation transporter 2	有機カチオントランスポーター2
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
P450	Cytochrome P450	チトクロム P450
P_{app}	Apparent permeability	見かけの透過係数
PBPK	Physiologically based pharmacokinetic	生理学的薬物速度論
PD	Pharmacodynamics	薬力学
PDX	Patient-derived xenograft	患者から採取した腫瘍を用いた異種移植
P-gp	P-glycoprotein, also known as MDR1	P 糖タンパク
PIP	Pediatric investigational plan	小児臨床試験計画
PK	Pharmacokinetic	薬物動態
PK/PD	Pharmacokinetic/pharmacodynamic	薬物動態／薬力学
PVAP	Polyvinyl acetate phthalate	ポリ酢酸フタル酸ビニル
PXR	Pregnane X receptor	プレグナン X 受容体
QD	Once daily	1 日 1 回
QTc	Heart rate-corrected QT interval	心拍数で補正した QT 間隔

略語・略号一覧（続き）

略語・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）
QTcB	QT interval corrected for heart rate using Bazett’s formula	Bazett's 計算式を用いて心拍数で補正した QT 間隔
R132C	Arginine-132 mutated to cysteine	132 番目のアルギニンがシステインに変異
R132G	Arginine-132 mutated to glycine	132 番目のアルギニンがグリシンに変異
R132H	Arginine-132 mutated to histidine	132 番目のアルギニンがヒスチジンに変異
R132L	Arginine-132 mutated to leucine	132 番目のアルギニンがロイシンに変異
R132S	Arginine-172 mutated to serine	132 番目のアルギニンがセリンに変異
R140Q	Arginine-140 mutated to glutamine	140 番目のアルギニンがグルタミンに変異
R172K	Arginine-172 mutated to lysine	172 番目のアルギニンがリジンに変異
R/R	Relapsed or refractory	再発又は難治性
$t_{1/2}$	Terminal elimination half-life	消失半減期
t_{max}	Time to maximum (peak) concentration	最高（ピーク）濃度到達時間
TF-1	Human erythroid leukemia cell line	ヒト赤白血病細胞株
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス
TTC	Threshold of toxicological concern	毒性学的懸念の閾値
UGT	Uridine diphosphate glucuronosyltransferase	ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素
UV	Ultraviolet	紫外線
V_{ss}	Volume of distribution at steady state	定常状態における分布容積

1.　非臨床試験計画概略

イボシデニブ（AG-120、以前はAGI-16678としても知られる）は経口投与により活性を示す、変異型イソクエン酸脱水素酵素 1（IDH1）に対する低分子の強力な選択的阻害剤であり、明らかなオフターゲット活性を有していない。

変異型 IDH1 は α-ケトグルタル酸（α-KG）を 2-ヒドロキシグルタル酸（2-HG）へ変換し、2-HG は造血器腫瘍及び非造血器腫瘍の両方において、細胞分化を阻害し、腫瘍形成を促進させる[1)-2)-3)]。変異型 IDH1 を直接的に阻害することにより、腫瘍細胞の分化を誘導する 2-HG 産生は阻害され、臨床での効果が期待できる。以下のヒト腫瘍モデル（マウスにおいていずれも増殖）を用いた一連の薬理試験から、イボシデニブの投与は 2-HG 産生を 90%以上低下させることが示されている：ヒト初代急性骨髄性白血病（AML）モデル及び患者（由来の細胞株）を用いた異種移植モデル。この 2-HG 産生低下作用は骨髄系列細胞の分化に関与している遺伝子発現の誘導を伴っている。また、イボシデニブは *in vitro* において、増殖因子非依存性の増殖を阻害し、ヒト白血病細胞モデルにおいて分化を誘導した。

これらのことから、イボシデニブはAMLを含む変異型IDH1を有する悪性腫瘍患者に対する高度に標的化された治療法の候補となり得る。

イボシデニブの効能・効果及び用法・用量（案）は以下のとおりである：

- *IDH1* 遺伝子変異陽性の急性骨髄性白血病

通常、成人にはアザシチジンとの併用において、イボシデニブとして 500 mg を 1 日 1 回経口投与する。なお、患者の状態により適宜減量する。

変異型IDH1を有するAML患者の治療のためのイボシデニブの承認申請を担保するために、イボシデニブを用いた一連の非臨床薬理、吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）、薬物動態（PK）並びに毒性試験を実施した。非臨床毒性開発計画は医薬品規制調和国際会議（ICH）S9「抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドラインについて」[4)]及び ICH S2 (R1)「医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンスについて」[5)]に従って実施した。すべての主要な毒性試験［医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）適用］は経済協力開発機構（OECD）データ相互受入れプログラム加盟国である米国で米国食品医薬品局（FDA）規制の非臨床試験のためのGLP（21 CFR Part 58）に従って実施した。

変異型 IDH1 を有する再発又は難治性（R/R）AML 患者の治療のための医薬品製造販売承認申請（MAA）を担保するための非臨床開発計画の妥当性は科学的助言の手順により欧州医薬品庁（EMA）で検討された[6)]。

非臨床薬理開発計画には変異型イソクエン酸脱水素酵素（IDH）により誘発される腫瘍形成モデルを確立し、イボシデニブの効力を特徴付け、標的である変異型 IDH1 を阻害し、2-HG 濃度を低下させるイボシデニブの能力を特徴付けるために立案した *in vitro* 及び *ex vivo* の両方の探索試験を含めた。また、ヒト軟骨肉腫細胞株（HT1080）を用いたマウス異種移植モデル［内因性変異型 IDH1（132 番目のアルギニンがシステインに変異；R132C）を有する軟骨肉腫モデルとして

一般的に使用されている］、変異型 IDH1［132 番目のアルギニンがヒスチジンに変異（R132H）及び R132C］を有する AML 患者から採取した腫瘍を用いた異種移植（PDX）モデルを用いて、血漿及び腫瘍中の両方における 2-HG 産生を阻害するイボシデニブの効力を確認するために *in vivo* 薬理試験を実施した。これらの試験は単回又は反復経口投与後のイボシデニブ曝露量及び 2-HG 産生阻害の間の薬物動態（PK）／薬力学（PD）の関連を評価するために実施した。変異型 IDH1（R132H）を有する AML 患者由来のヒト腫瘍細胞を用いた PDX モデルにおいて、2-HG 産生阻害と骨髄分化の関連を理解するためにさらなる評価を実施した。野生型 IDH1 に対するイボシデニブの阻害作用についても *in vitro*、*ex vivo* 及び *in vivo* で評価した。また、非臨床薬理試験計画には 80 種類の受容体、イオンチャネル及び酵素のパネルにおいて、イボシデニブが結合及び酵素活性を阻害する可能性を評価する受容体結合アッセイを含めた。効力を裏付ける試験及び副次的薬理（PD）試験は ICH ガイドライン ICH S7A「安全性薬理試験ガイドライン」[7)]に従い、いずれも非 GLP で実施した。

安全性薬理試験ではイボシデニブが心血管系（CV）に影響を及ぼす可能性を評価するために、非 GLP の自動化及びマニュアルパッチクランプアッセイ、非 GLP のカニクイザルにおける単回投与による CV に及ぼす影響を検討する安全性薬理試験並びに GLP 適用のカニクイザルにおける 28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験の一部としての心電図（ECG）評価を含めて実施した。

イボシデニブの PK は Sprague-Dawley ラット、ビーグル犬及びカニクイザルに単回経口及び静脈内投与したときの PK 試験、経口バイオアベイラビリティ及び排泄に関する試験として非 GLP 下で実施した。トキシコキネティクス（TK）はラット、ウサギ及びサルでの反復投与毒性試験、ラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験の一部として実施した。イボシデニブの血漿タンパク結合、ヒト血清アルブミン（HSA）及びヒト α_1-酸性糖タンパク（AAG）との結合、ヒト肝ミクロソームタンパクとの結合率及び赤血球／血漿比、並びに双方向透過性については、*in vitro* で評価した。脳内分布は Sprague-Dawley ラットにイボシデニブを単回経口投与して評価した。組織内分布は Long Evans ラットに[^{14}C]イボシデニブを単回経口投与した定量的全身オートラジオグラフィーで評価した。代謝経路及び代謝安定性はラット、イヌ、サル及びヒトの肝ミクロソームを用いて *in vitro* で評価した。また、チトクロム P450（P450）酵素、ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT）及びトランスポーターを介した薬物動態学的薬物相互作用（DDIs）についても評価した。代謝物はラット及びサルでの 7 日間反復投与毒性試験の血漿試料を使用して同定した。代謝及び排泄は雄 Sprague-Dawley ラットに[^{14}C]イボシデニブを単回経口投与して評価した。

イボシデニブの毒性プロファイルは、*in vitro* 試験として GLP 適用の細菌を用いる復帰突然変異試験、GLP 適用小核試験及び GLP 適用 BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いる光毒性試験で評価した。*In vivo* 毒性試験として、Sprague-Dawley ラット及びカニクイザルの GLP 適用 28 日間及び 3 カ月間反復投与試験、Sprague-Dawley ラット及び New Zealand White ウサギの GLP 適用胚・胎児発生に関する試験とその用量設定（DRF）試験、並びに Sprague-Dawley ラットの GLP 適用小核試験を実施した。ラット（7 日間反復投与試験）、ウサギ（10 日間反復投与忍容性試験）及びサル（単回投与試験及び 7 日間反復投与試験）を用いた非 GLP 試験も実施した。バリデートさ

れた高感度で選択性の高い液体クロマトグラフィータンデム質量分析（LC-MS/MS）法を開発し、GLP 適用 *in vivo* 毒性試験におけるイボシデニブの濃度分析を行った。

イボシデニブの非臨床試験では、フリー体と 2 種の異なる[redacted]［イボシデニブの[redacted]、及びイボシデニブの[redacted]］を使用した。イボシデニブ[redacted]は主にラットで使用し、イボシデニブ[redacted]はウサギとサルで使用した。

PK プロファイルを評価するために、開発の初期にイボシデニブのフリー体とイボシデニブの[redacted]及び[redacted]を使用したラットの強制経口投与 PK 試験を 1 試験実施した。当該試験の結果により、経口投与によるイボシデニブ[redacted]の曝露量はフリー体より高いことが明らかとなった。

PVAP は最初のラットの毒性試験で忍容性が良好であり、イボシデニブのフリー体及び[redacted]製剤と比較すると、イボシデニブの[redacted]製剤の TK プロファイルが改善されたことから、その後に実施したすべてのラットの毒性試験でイボシデニブの[redacted]製剤を使用した。

ラットの毒性試験でイボシデニブの[redacted]を使用することを決定した後に、添加剤 PVAP をカニクイザルに投与期間 7 日間にわたり経口投与すると毒性を発現することが明らかとなったため、サルの毒性試験では PVAP を使用しなかった。添加剤 HPMCAS は忍容性が良好であり、カニクイザルの経口投与で妥当なイボシデニブの曝露量を示した。そのため、それ以降のサルの反復投与試験はイボシデニブの[redacted]を使用して実施した。

添加剤 PVAP はカニクイザルにおける忍容性が低いこと、添加剤 HPMCAS はサルにおける忍容性が許容可能であること、カニクイザルの経口投与でイボシデニブの曝露量がフリー体と比較して[redacted]の方が高いこと、及び[redacted]に関する検討結果（[redacted]、[redacted]、[redacted]）に基づき、臨床用製剤としてイボシデニブの[redacted]製剤を選定した。イボシデニブの[redacted]製剤[redacted]%（w/w）（【2.3.P_2】項）は、本承認申請の主要な臨床試験（【AG120-C-009】試験）を含む臨床試験に使用されており、市販予定製剤である。

イボシデニブの非臨床開発プログラムを通して使用した製剤について詳細を緒言【2.6.1】に示した。

以下の項で参照するヒトとの曝露量比は、すべてヒトの推奨投与量 500 mg/日を使用した AG120-C-001 試験のサイクル 2 の 1 日目（C2D1）に観察された 0 時間から投与後 24 時間までの濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24}$）117,348 ng•h/mL 及び最高（ピーク）濃度（C_{max}）6,551 ng/mL の臨床曝露量との比較に基づいて算出した［【AG120-C-001】総括報告書（CSR）参照］。AG120-C-001 試験は進行性造血器腫瘍の被験者に 500 mg/日の用量で経口投与した第 I 相臨床試験であり、これは未治療の AML（イボシデニブとアザシチジンの併用療法）に対する用量と、同一用量（500 mg/日）・投与経路である。したがって、未治療の AML（イボシデニブとアザシチジンの併

用療法）での安全域を確立することを目的として、AG120-C-001 試験で算出した $AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max} 値は妥当と考えられる。未治療の AML 患者でイボシデニブをアザシチジンと併用して評価した AG120-C-009 試験では、イボシデニブ曝露量［濃度－時間曲線下面積（AUC）、C_{max} 及び最低（トラフ）濃度（C_{min}）］の幾何平均値は AG120-C-001 試験と統計学的有意差がなかった。臨床薬物動態の詳細については臨床薬理の概要【2.7.2】に示した。

2.　薬理試験

イボシデニブの安全性、PK/PD 及び抗腫瘍活性を評価し、変異型 IDH1 を有する AML 患者の治療のためのイボシデニブの承認申請を担保する目的で一連の探索的非臨床薬理試験を実施した。イボシデニブを用いて実施した薬理試験一覧を【2.6.3_1】項（効力を裏付ける試験）に示した。

イボシデニブについて利用可能な薬理学的情報は効力裏付ける試験、副次的薬理試験及び安全性薬理試験のデータから構成されている（【2.6.3_1】項）。*In vitro* 試験から、イボシデニブは変異型 IDH1 を選択的に阻害し、最終的に細胞分化を誘導することが示されている。変異型 IDH1 を有する悪性腫瘍（細胞株及び患者由来初代組織の両方）を用いた異種移植モデル及び PDX モデルでの多くの *in vivo* 試験において、イボシデニブの薬力学的活性が示されている。

2.1　*In vitro* における効力を裏付ける試験

イボシデニブの効力を裏付ける薬理作用である細胞分化の誘導は変異型 IDH1［R132C/R132H/R132S（132 番目のアルギニンがセリンに変異）/R132G（132 番目のアルギニンがグリシンに変異）/R132L（132 番目のアルギニンがロイシンに変異）］に対する強力な阻害作用の結果であり、結果として 2-HG 産生阻害、増殖因子非依存性の細胞増殖の阻害及び細胞分化誘導を伴う（【2.6.3_2】項）。イボシデニブは変異型 IDH1（R132H）に対して速い平衡速度を有しており、一方、野生型 IDH1 に対して遅い結合阻害剤として作用する。無細胞系の生化学アッセイにおいて、イボシデニブの変異型 IDH1（R132C/R132H/R132S/R132G/R132L）に対する 50%阻害濃度（IC_{50}）は 2～17 nmol/L であり、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADP）存在下、野生型 IDH1 に対する IC_{50} は 24～71 nmol/L であった（報告書【AG120-N-056-R1】）。変異型 IDH1（R132C）、IDH1（R132H）あるいは IDH1（R132S）を内因性に有する又は過剰発現させた細胞において、2-HG 産生に対する IC_{50} は 2.4～20 nmol/L であった（報告書【AG120-N-051-R1】）。

イソクエン酸脱水素酵素 2（IDH2）［172 番目のアルギニンがリジンに変異（R172K）］に対する無細胞系の生化学アッセイ及び IDH2［140 番目のアルギニンがグルタミンに変異（R140Q）］を過剰発現させた細胞において、イボシデニブは IDH2（R140Q）及び IDH2（R172K）アイソフォームに対して μmol/L レベルの濃度で阻害作用を示さず、高い選択性を示した。ヒト結腸直腸癌細胞株（HCT116）を用いたセルベースアッセイにおいて、イボシデニブは変異型 IDH1（R132H）活性に対して低い nmol/L の濃度で効力を示し、野生型 IDH1 活性に対しては低い μmol/L の濃度で効力を示した（報告書【AG120-881-N-001】）。変異型 IDH1（R132H）及び野生型 IDH1 活性に対するイボシデニブの阻害作用は時間非依存的であり、イボシデニブの細胞への曝露時間を延長したとき、効力に変化は認められなかった。2-HG 産生量低下を指標とした評価では、イボシデニブの変異型 IDH1（R132H）阻害作用による野生型 IDH1 活性の回復は認められなかった。

変異型 IDH1（R132H）を有するヒト赤白血病細胞株（TF-1）モデルにおいて、イボシデニブ（200 及び 1,000 nmol/L）による濃度依存的な 2-HG 産生阻害作用が認められ、2-HG 産生阻害率

の最大値は 85%以上であった（報告書【AG120-N-050-R1】）。変異型 IDH1（R132H）を阻害する機能的影響及びそれによる細胞内 2-HG 濃度低下についても本モデルにおいて評価した。これらの評価結果から、イボシデニブ（200 及び 1,000 nmol/L）は変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデルの増殖因子非依存的な増殖を用量依存的に阻害することが示されている（報告書【AG120-N-049-R1】）。また、ヘモグロビンの発現増加を伴ってヘモグロビンγ1/2（HBG 1/2）及びクルッペル様因子 1（KLF-1）遺伝子の両方の発現が部分的に回復したことにより示されているとおり、2-HG 濃度を正常な生理的濃度近くまで低下させる濃度のイボシデニブを処理することにより、無処置細胞で認められた IDH1（R132H）依存的な赤血球分化に対する阻害は回復した。

変異型 IDH1（R132C）又は IDH1（R132H）を有する AML 患者から採取した初代細胞において、イボシデニブの効果を理解するために 2 つの *ex vivo* アッセイを実施した。1 つ目の試験では、2 例の患者［変異型 IDH1（R132C）及び野生型 IDH1］から採取した初代 AML 細胞を用いた。変異型 IDH1（R132C）を有する患者から採取した初代試料にイボシデニブ（50、100、500 及び 1,000 nmol/L）を最長 7 日間処理することにより、ジメチルスルホキシド（DMSO）を処理した対照群と比べて、1,000 nmol/L で細胞内 2-HG 濃度は 98%低下し、急激な増殖及びそれに続く骨髄芽球分化が誘導されたが、この作用は野生型 IDH1 では認められなかった（報告書【AG120-N-055-R1】）。2 つ目の試験では、6 例の AML 患者［2 例の変異型 IDH1（R132C）、2 例の変異型 IDH1（R132H）及び 2 例の野生型 IDH1］から採取した初代骨髄芽球を用いた。イボシデニブを 500、1,000 及び 5,000 nmol/L の濃度で最長 12 日間処理したとき、DMSO を処理した対照群と比べて、最高濃度で細胞内 2-HG 濃度は 99%超低下し、変異型 IDH1（R132C 及び R132H）を有する AML 細胞で細胞分化誘導のエビデンスが認められたが、野生型 IDH1 では認められなかった（報告書【AG120-N-057-R1】）。同時に、これらの結果は変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 細胞モデル系で得られたデータと一致しており、裏付けとなっている。

アザシチジンは EU で 2008 年、本邦で 2021 年の承認以来 AML 患者に用いられており、アザシチジンのヒトでの効果は十分に知られている。

変異型 IDH1（R132H）を有する TF-1 AML 細胞モデルにおいて、ヘモグロビン量増加、分化マーカーの発現及び細胞死の増大により測定したとき、イボシデニブとアザシチジンの併用は各単剤と比べて細胞分化を促進させた [8)-9)]。

【AG-120-C-009】試験において、未治療の AML 患者に併用したとき、アザシチジンはイボシデニブの効果に影響を示さなかった。

2.2　*In vivo* における効力を裏付ける試験

内因性変異型 IDH1（R132C）を有するヒト軟骨肉腫のモデルとして一般的に用いられている HT1080 細胞を皮下に移植したマウス異種移植モデルにおいて、5 つの一連の *in vivo* 薬理試験により、イボシデニブの血漿及び腫瘍組織の両方における 2-HG 産生阻害作用の効力を確認した（【2.6.3_2】項）。これらの試験は単回投与（報告書【AG120-N-012-R1】）、1 日 1 回（QD）3 日間

投与（報告書【AG120-N-011-R1】）又は 7 日間投与（報告書【AG120-N-014-R1】）、12 時間間隔 3 回投与（報告書【AG120-N-010-R1】）及び 1 日 2 回 14 日間投与（報告書【AG120-N-013-R1】）の試験から構成されている。これらの試験において、イボシデニブを単回又は反復経口投与した後、血漿及び腫瘍中 2-HG 濃度は急速に低下し、低下作用は用量及びイボシデニブの曝露量に依存的であった。2 つの反復投与試験（12 時間間隔で 3 回投与及び 1 日 2 回 14 日間投与）において、イボシデニブは 50 及び 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回投与することにより、血漿及び腫瘍中の 2-HG 濃度を媒体対照群と比べて 83%以上低下させた。イボシデニブを 150 mg/kg の用量で 3 回反復投与した後、8 時間後までに腫瘍中 2-HG 濃度低下作用は 99%の最大に達し、12 時間の投与間隔にわたり持続した。

AML 患者由来の腫瘍細胞を移植したマウス PDX モデルにおいて、2 つの追加の PK/PD 試験を実施した（報告書【AG120-N-090-R1】及び【AG120-N-093】、2.6.3_2 項）。これらの試験デザインは類似していたが（イボシデニブを 50 及び 150 mg/kg の用量で 1 日 2 回経口投与）、2 種類の異なる AML PDX モデル［1 つは変異型 IDH1（R132C）（イボシデニブを 14 日間投与）及びもう 1 つは変異型 IDH1（R132H）（イボシデニブを 7 日間投与）］を用いて試験を実施した。両方のモデルにおいて、イボシデニブは 50 及び 150 mg/kg の用量で脾臓中 2-HG 濃度を用量依存的に低下させ、最大で 90%以上低下させた。同様に、変異型 IDH1（R132H）を有する AML PDX モデルを用いた試験において、イボシデニブは血漿及び骨髄中 2-HG 濃度を最大で 98%以上低下させた。両方のモデルにおいて、脾臓中 2-HG 濃度は最終投与後 12 時間以内に最大に低下した。両方のモデルにおいて、脾臓及び骨髄［変異型 IDH1（R132H）モデルのみ］における 2-HG 濃度低下は投与後 12 時間にわたり 90%以上で持続した。また、変異型 IDH1（R132H）を有するヒト初代腫瘍を移植したマウスの骨髄での持続的な 2-HG 濃度低下作用に疾病負荷の低減との相関性は認められなかったが、2 種類の異なる骨髄分化マーカーであるヒト CD14 及び CD15 の発現増加と正の相関が認められた。

以上のこれらの試験から、*in vivo* でイボシデニブはヒト AML 細胞において、非常に強力な 2-HG 産生阻害剤として作用し、ヒト初代 AML 細胞におけるイボシデニブの 2-HG 産生阻害は *in vivo* で分化誘導を促進させることが裏付けられている。

変異型 IDH1（R132H）又は IDH1 及び IDH2 のいずれも野生型を有する HCT116 細胞を用いたマウス異種移植モデルにおいて、イボシデニブの曝露量と野生型 IDH1 及び IDH2 に対する阻害作用との間の PK/PD の関連を評価した（報告書【AG120-881-N-001】）。2-HG 産生低下作用により評価したとき、イボシデニブの変異型 IDH1（R132H）阻害作用により野生型 IDH1 活性の回復は誘導されなかった。ヒト用量での予測から、イボシデニブを 500 mg の用量で 1 日 1 回投与したとき、野生型 IDH1 活性に対する 90%阻害濃度（IC_{90}）に必要な血漿中曝露量には達しないことが示されている。

2.3　副次的薬理試験

80 種類の受容体、イオンチャネル及び酵素のパネルにおいて、イボシデニブが結合及び酵素活性を阻害する可能性を 10,000 nmol/L（5,830 ng/mL に相当）の濃度で評価した（報告書【AG120-N-004-R1】、【2.6.3_3】項）。検討した 80 種類の標的に対して、イボシデニブは 10,000 nmol/L（5,830 ng/mL に相当）の単一濃度でいずれも有意な阻害作用（50%超と定義）を示さなかった。これらのデータから、イボシデニブは選択的な分子であることが示され、有意なオフターゲット活性は認められなかった。

イボシデニブをヒトに 500 mg の用量で投与したとき、C2D1 での C_{max} は 6,551 ng/mL であり（【AG-120-C-001】試験）、イボシデニブの 91.6%が血漿タンパクに結合すると仮定すると非結合型 C_{max} は 550 ng/mL に相当する（報告書【AG120-N-028-R1】）。

2.4　安全性薬理試験

イボシデニブが CV に影響を及ぼす可能性を評価するため、心拍数で補正した QT 間隔（QTc）延長と関連していることが知られている電流に対する阻害作用を評価するための非 GLP の自動化及びマニュアルパッチクランプアッセイ（報告書【AG120-N-005-R1】、【AG120-N-009-R1】及び【AG120-N-054-R1】）、非 GLP のカニクイザルを用いた単回投与による CV への影響を検討する安全性薬理試験（報告書【AG120-N-053-R1】、【2.6.3_4】項）並びに GLP 適用のカニクイザルを用いた 28 日間（報告書【AG120-N-001-R1】）及び 3 カ月間（報告書【AG120-N-059-R1】）反復投与毒性試験の一部として実施した ECG 評価を含む複数の試験を実施した（【2.6.7_7.3】及び【2.6.7_7.4】項）。

ヒト *ether-à-go-go* 関連遺伝子（hERG）によりコードされている急速に活性化する遅延整流カリウム電流（I_{Kr}）をイボシデニブが阻害する可能性を評価するため、自動化 QPatch アッセイにおいて、イボシデニブの試験を 2 回実施した。臨床での非結合型 C_{max} である 550 ng/mL と比較し、IC_{50} は 21,000 nmol/L（12,242 ng/mL に相当）及び 10,000 nmol/L（5,830 ng/mL に相当）であった。

マニュアルパッチクランプアッセイにおいて、イボシデニブは I_{Kr}（hERG）を阻害し、20%阻害濃度（IC_{20}）及び IC_{50} はそれぞれ 3,100 nmol/L（1,807 ng/mL に相当）及び 12,600 nmol/L（7,346 ng/mL に相当）であった。この IC_{50} 値での安全域はヒトでの非結合型 C_{max} の平均値の 13 倍に相当する。hCaV1.2、hNaV1.5 及び hKvLQT1/hminK に対する IC_{50} は 30,000 nmol/L 超（17,490 ng/mL 超に相当）であった。ヒトでの非結合型 C_{max} は 550 ng/mL である。

GLP 適用のカニクイザルを用いた 28 日間（30 及び 270 mg/kg/日で）及び 3 カ月間（90 及び 180 mg/kg/日で）反復投与毒性試験において、約 12 時間間隔で 1 日 2 回投与したとき、Bazett's 計算式を用いて心拍数で補正した QT 間隔（QTcB）[10]において、個々のサルにイボシデニブに関連した可能性のある（30 msec 以上）及び可能性の高い（60 msec 以上）と考えられる延長作用が認められた（表 2.4:1）。QTcB 延長を示したときの C_{max} の最低値は 2,120 ng/mL であり、このときの非結合型 C_{max} 値はヒトに 500 mg の用量で投与したときの C2D1 での非結合型 C_{max} の曝露量（ヒトへの推奨 1 日投与量である 500 mg/日）の 0.7 倍以上に相当する。また、非 GLP のサルを用い

た単回投与による CV へ及ぼす影響を検討する安全性薬理試験において、QTcB 延長が 45 及び 135 mg/kg の用量で認められ、このときの C_{max} の群平均値は 28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験における個々のサルでの値と同程度であると予想された。サルを用いた 3 カ月間反復投与毒性試験での高用量を投与した雄 1 例において、QTcB 延長作用の回復性を評価し、QTcB は 28 日間の回復期間の後に、ベースラインまで回復した（【2.6.7_7.4】項）。QTc 延長は hERG を 12%～30%阻害する程度の薬剤濃度で認められることが以前から知られている [11]。hERG に対するイボシデニブの IC_{20} は約 3,100 nmol/L であることから、カニクイザルにおいて認められた QTcB 延長は hERG 阻害の所見と一致する。GLP 適用のサルを用いた 28 日間反復投与毒性試験での ECG の評価から、高用量を投与した雄及び雌の各 1 例（270 mg/kg/日）においてイボシデニブに関連した心室性二段脈が認められたが、病理組織学的な又は電解質との関連は認められなかった。なお、回復性は評価しなかった。認められた心室性二段脈は hERG の阻害に起因した所見ではないと考えられ、本所見の原因は明確ではない。影響が認められた雄及び雌の 27 日目の C_{max} 値はそれぞれ 16,600 及び 15,900 ng/mL であり、これらの値は 500 mg の用量でヒトに投与したときの C2D1 での非結合型 C_{max} の曝露量（【AG-120-C-001】試験）の 5 倍以上に相当する。単回投与による CV に及ぼす影響を検討することを目的とした試験又は GLP 適用のサルを用いた 3 カ月間反復投与毒性試験では、同程度の曝露量に達したにもかかわらず、心室性二段脈は認められなかった。これらの CV 機能的変化のヒトでの意義については【2.7.4_2】項に考察を記載した。

表 2.4:1　AG-120-C-001 第 I 相臨床試験におけるヒトでの曝露量と比較した GLP 適用の 28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験で認められたイボシデニブに関連する可能性のある又は可能性の高い QTcB 延長を示した個々のサルにおけるイボシデニブの C_{max} 値

Species	Study Type	Gender	QTcB Prolongation (msec)[1, 2]	Dose (mg/kg/day)	Individual C_{max} (ng/mL)	Free C_{max} (nmol/L)[3]	Margin to Mean Steady State C_{max} in Humans
Monkey	28-day	Female	34	30	2,120	665	0.7
	28-day	Female	31	270	8,760	2,800	2.8
	28-day	Female	36	270	9,980	3,100	3.2
	3-month	Male	44	90	3,990	1,300	1.3
	3-month	Male	75[4]	180	20,000	6,300	6.5
	3-month	Female	52	180	11,400	3,600	3.7
	3-month	Female	46	180	21,600	6,800	7.0
Human[5]	Phase 1	Male and female	NA	500 mg QD	6,551	944	NA

Source: Reports AG120-N-001-R1 (28-day) and AG120-N-059-R1 (3-month), and AG120-C-001 (Phase I)
Abbreviations: AML = acute myeloid leukemia; AUC = area under the concentration × time curve; C_{max} = maximum (peak) drug concentration; C_{min} = minimum (trough) drug concentration; GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable; QD = once daily; QTcB = heart-rate corrected QT interval using Bazett's formula.

1）　QTcB 延長は個々のサルのベースラインと比較した投与期間終了時付近（GLP 適用のサルを用いた 28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験においてそれぞれ 26 日目及び 12 週目）に得られた 30 秒間の ECG に基づいた。

2）　イボシデニブに関連した可能性のある及び可能性の高い QTcB 延長はそれぞれ 30 及び 60 msec 以上の延長と定義した [10]。

3）　非結合型分画の C_{max} の算出は 10 µmol/L の濃度でサルでのタンパク結合率が 81.7%、ヒトでのタンパク結合率が 91.6%であることに基づいた。

4）　28 日間の回復期間の後に QTcB 延長作用の回復性が認められた。この結果は回復性を評価したサルのみのものである。

5）　AG120-C-001（第 I 相臨床試験）、500 mg の用量で 1 日 1 回投与したときの C2D1 での曝露量。AG120-C-001 試験は進行性造血器腫瘍患者において、500 mg/日の用量で経口投与により実施した。この用量及び投与経路は申請する未治療の AML の適応症（イボシデニブとアザシチジンの併用療法）での用量及び投与経路と同様であり、そのため、AG120-C-001 の治験総括報告書に記載されている C_{max} 値は未治療の AML（イボシデニブとアザシチジンの併用療法）の適応症に対する安全域の設定に使用可能と考えられる。未治療の AML 患者を対象としてイボシデニブとアザシチジンの併用療法を評価した AG120-C-009 試験において、イボシデニブの曝露量（AUC、C_{max} 及び C_{min}）の幾何平均値は AG-120-C-001 試験で得られた値と統計学的に有意な差は認められなかった。

GLP 適用のラットを用いた 28 日間反復投与毒性試験（50、250 及び 1,000 mg/kg/回の用量で 1 日 2 回、報告書【AG120-N-002-R1】、【2.6.6_3.3】項）又は 3 カ月間反復投与毒性試験（10、50 及び 250 mg/kg/回の用量で 1 日 2 回、報告書【AG120-N-058-R1】、【2.6.6_3.4】項）において、中枢神経系（CNS）又は呼吸系の一般状態にイボシデニブに関連した影響は認められなかった。

GLP 適用のサルを用いた 28 日間反復投与毒性試験（15、45 及び 135 mg/kg/回の用量で 1 日 2 回、報告書【AG120-N-001-R1】、【2.6.6_3.8】項）又は 3 カ月間反復投与毒性試験（15、45 及び

90 mg/kg/回の用量で 1 日 2 回、報告書【AG120-N-059-R1】、【2.6.6_3.9】項）において、CNS 又は呼吸系の一般状態にイボシデニブに関連した影響は認められなかった。

2.5　薬力学的薬物相互作用試験

非臨床試験において、イボシデニブの薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。ICH S9 ガイドラインにおいて、当該試験は求められていないことから、実施しなかったことは妥当であると考えられる。

3.　薬物動態試験

イボシデニブの薬物動態試験は Sprague-Dawley ラット、ビーグル犬及びカニクイザルで実施した。また、イボシデニブの DDIs については、*in vitro* 代謝及びトランスポーター試験で評価した。これらの結果から、イボシデニブが未治療の IDH1 変異を伴う AML 患者の治療のための本邦での承認申請をサポートする ADME プロファイルを有していることが確認された。イボシデニブの非臨床 PK 試験及び ADME 試験については、【2.6.5】に示した。

非臨床 PK 試験では、イボシデニブの含量を[redacted]% w/w（1 試験）及び[redacted]% w/w（他の全試験）としてフリー体（[redacted]）、[redacted]及び[redacted]を投与した。

ラット PK 試験では、[redacted]%イボシデニブ/[redacted]%[redacted]の 2 種類（[redacted] 及び[redacted]）の[redacted]をそれぞれ単回経口投与し、イボシデニブの PK プロファイルを評価した（報告書【AG120-N-020-R1】）。この開発初期で使用した[redacted]%イボシデニブ製剤は当時の安定性データが限定的であったが、以下の点から、本剤の投与は妥当であると考えられた。[redacted]%イボシデニブを使用した唯一の非臨床試験であり、本試験でラットに[redacted]を経口投与した時の曝露量はフリー体を投与した時よりも高かったこと、[redacted]の曝露量は[redacted]の方が[redacted]よりも高かったことから、イボシデニブの[redacted]としては[redacted]を選択した。

その後に製品の品質、イボシデニブの含量の増加が非臨床試験に影響を及ぼさなかったこと（経口曝露量に影響なし）、治験薬及び市販製剤の製剤処方を考慮して、[redacted]%イボシデニブ/[redacted]%[redacted]から[redacted]%イボシデニブ/[redacted]%[redacted]へ薬物量の切替えを実施した。この切替えは、イボシデニブのフリー体、[redacted]%イボシデニブ/[redacted]%[redacted]及び[redacted]%イボシデニブ/[redacted]%[redacted]を用いた試験内及び試験間の比較についてラットを用いた試験を通じて非臨床安全性評価において用量が同じ場合、投与初日及び投与終了時の PK 及び TK に投与した媒体による影響はみられなかった。

ラット試験では、イボシデニブの賦形剤として PVAP を使用したが、カニクイザルに PVAP を 7 日間経口投与した時に毒性が確認されたため、サルの毒性試験では PVAP の使用を断念した。一方、サルで[redacted]の投与は高い忍容性を示し、フリー体と比べ経口曝露量も良好であったことから、サルの反復投与毒性試験ではイボシデニブの[redacted]を使用した。また、サル毒性試験の結果に加えて、[redacted]に関する検討結果（[redacted]、[redacted]、[redacted]）に基づき、イボシデニブの臨床製剤の賦形剤としてイボシデニブの[redacted]を選定した（【2.3.P_2.1.1.3】及び【2.3.P_2.2.1.3】項）。[redacted]%イボシデニブ/[redacted]%[redacted]製剤（【2.3.P_2.2.1.3】項）は承認申請に関わるピボタルな臨床試験である【AG120-C-009】試験で使用しており、市販予定製剤である。

イボシデニブとアザシチジンの併用投与による PK 試験は ICH S9 ガイドライン [4)]で推奨されていないため実施していない。

アザシチジンの AML 患者での使用は、本邦では 2021 年から、EU では 2008 年から行われており、ヒトでのアザシチジンの PK プロファイルは明らかとなっている。

【AG120-C-009】試験において、未治療の AML 患者にイボシデニブとアザシチジンを併用投与した時のイボシデニブの PK 及び PD にアザシチジンは影響を及ぼさなかった。イボシデニブとアザシチジンの併用投与での臨床 PK は【2.7.2】に記載した。

3.1　分析法

ラットの ADME に関する試験（1 試験）には[^{14}C]イボシデニブを用いて実施した。投与液及び生体試料（血漿、尿糞及び胆汁）中の放射能濃度は液体シンチレーションカウンター（LSC）で直接計測し、一部の試料は燃焼後に発生した $^{14}CO_2$ を LSC で計測した。また、組織内放射能は定量的全身オートラジオグラフィーで測定した。

PK 及び *in vitro* 試験での薬物濃度については、バリデーション試験は実施しなかったが、測定法の堅牢性及び再現性を確認後に LC-MS/MS 法で測定した。ラット、ウサギ及びサルの GLP 試験での血漿中イボシデニブ濃度は、欧米の規制当局のガイダンス[12)]及びガイドライン[13)]に従い、高感度及び高選択性を有する LC-MS/MS 法を確立後にバリデーション試験を実施した（【2.6.5_2】項）。ラット、サル及びウサギの血漿中濃度測定法のバリデーション結果は、報告書【AG120-N-047-R1】、報告書【AG120-N-048-R1】及び報告書【AG120-N-081-R1】に記載した。

3.2　吸収及び薬物動態

3.2.1　イボシデニブの細胞膜透過性

イボシデニブはヒト結腸腺癌由来（Caco-2）細胞で高い細胞膜透過性［見かけの透過性（$P_{app\ A\to B}$）：[redacted]cm/s 超］を示し、P 糖タンパク（P-gp）の基質であることが確認された（報告書【AG120-N-026-R1】及び【AG120-N-100】、【2.6.5_15】項）。また、イボシデニブは乳癌耐性タンパク（BCRP）の基質ではないと考えられた。

3.2.2　単回投与時の薬物動態

ラット、イヌ及びサルでのイボシデニブの単回投与における PK 特性は、速やかな経口吸収、低い血漿クリアランス（CL_p）であった。また、定常状態における分布容積（V_{ss}）は低～中程度であり、消失半減期（$t_{1/2}$）は中等度～長かった（報告書【AG120-N-015-R1】、【AG120-N-022-R1】及び【AG120-N-023-R1】、【2.6.5_3】項）。ラット、イヌ及びサルにイボシデニブのフリー体を投与した場合の経口バイオアベイラビリティは、それぞれ 39.5%、25.9%及び 53.8%であった。ラットにイボシデニブの[redacted]（[redacted]%イボシデニブ/[redacted]%[redacted]）を経口投与した時の曝露量はフリー体又は[redacted]（[redacted]%イボシデニブ/[redacted]%[redacted]）を投与した時よりも高かった（報告書【AG120-N-020-R1】）。サルにイボシデニブの[redacted]（[redacted]%イボシデニブ/[redacted]%[redacted]）を単回経口投与した時の曝露量は良好であった（報告書【AG120-N-

025-R1】)。サルに異なる粒子径の[redacted]%のイボシデニブを含有したコーティング錠及び非コーティング錠をそれぞれ単回経口投与した時の PK を検討した結果、粒子径分布及びコーティングの有無はイボシデニブの PK に明らかな影響を及ぼさず（報告書【AG120-N-060-R1】)、さらにサルに 2 種類の錠剤（コーティング及び非コーティング）をそれぞれ単回経口投与した時のイボシデニブの曝露量は同様であった（報告書【AG120-N-068-R1】)。サルに 2 種類の異なる硬度のコーティング錠剤（[redacted] 又は [redacted]kp）をそれぞれ単回経口投与した時のイボシデニブの投与量で補正した C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}72}$ はより硬度の高い錠剤の方が約 19%低かった（報告書【AG120-N-089】)。サルでのプロトタイプ錠剤（ヒトでの最初の臨床試験である【AG120-C-001】試験及びそれ以降の臨床試験で使用した製剤）での経口バイオアベイラビリティは 37.0%と推定された。高脂肪食摂餌下のサルにイボシデニブ（臨床製剤）を単回経口投与した時の経口吸収に摂餌の影響はないと考えられた（報告書【AG120-N-046-R1】)。

3.2.3　反復投与時のトキシコキネティクス

イボシデニブの TK は、Sprague-Dawley ラット及びカニクイザルにおける探索的な毒性試験（非 GLP 試験)、ピボタルな反復投与毒性試験（28 日及び 3 カ月間、GLP 試験）並びに Sprague-Dawley ラット及び New Zealand White ウサギにおける忍容性及び胚・胎児発生に関する試験で評価した。TK データは【2.6.5_4】項及び【2.6.7_3】項に記載した。また、TK データを使用してイボシデニブのヒト曝露量との比較についても行った。

3.2.3.1　Sprague-Dawley ラット

反復投与時の TK は、イボシデニブのフリー体の 50～500 mg/kg/日を経口投与［BID；12 時間間隔；7 日間（報告書【AG120-N-041-R1】)］及び [redacted] の 20～2,000 mg/kg/日を経口投与［BID；12 時間間隔；7 日間（報告書【AG120-N-044-R1】)、28 日間（報告書【AG120-N-002-R1】）又は 3 カ月間（報告書【AG120-N-058-R1】)］して検討した。

ラットにイボシデニブの [redacted] を 28 日及び 3 カ月間投与した時の曝露量は投与 27 及び 90 日目の方が投与初日よりも低く、投与 27 及び 90 日目の曝露量は雌の方が雄よりも高かった。ラットの胚・胎児発生に関する試験での曝露量は、20、100、500 mg/kg/日群の妊娠日齢（GD）17 の方が GD 6 よりも低かったが、1000 mg/kg/日群の曝露量は GD 6 と GD 17 で同程度であった（報告書【AG120-N-063-R1】及び【AG120-N-064-R1】)。

3.2.3.2　New Zealand White ウサギ

反復投与時の TK は、イボシデニブの [redacted] の 30～1,000 mg/kg/日を経口投与［10 日間；非妊娠動物；BID；約 12 時間間隔（報告書【AG120-N-065-R1】)］する忍容性試験、用量設定試験及び最終的な胚・胎児発生に関する試験［BID；約 12 時間間隔；GD 7～20（報告書【AG120-N-066-R1 及び AG120-N-067】)］で検討した。

10 日間忍容性試験では、30、100 及び 300 mg/kg 群の 9 日目の血漿中イボシデニブ濃度に蓄積が確認された。胚・胎児発生に関する試験では、30、90、100、180 及び 240 mg/kg/日群の GD 20 の曝露量は GD 7 と比べて増加した。

3.2.3.3　カニクイザル

反復投与時の TK は、イボシデニブのフリー体の 10～200 mg/kg/日を経口投与［BID；約 12 時間間隔；7 日間（報告書【AG120-N-042-R1】）］、[redacted]の 30～1,000 mg/kg/日を経口投与［BID；約 12 時間間隔；7 又は 14 日（報告書【AG120-N-043-R1】）］、[redacted]の 30～270 mg/kg/日を経口投与［BID；約 12 時間間隔；28 日（報告書【AG120-N-001】）又は 3 カ月（報告書【AG120-N-059-R1】）］して検討した。

サル 28 日間反復投与毒性試験での曝露量は、30 及び 90 mg/kg/日群では投与 27 日目の方が投与初日よりも低かった。雄の 270 mg/kg/日群の曝露量は投与 27 日目の方が投与初日よりも高かった。また、いずれの用量群でも投与初日及び投与 27 日目の曝露量（平均 $AUC_{0\text{-}12}$）は雄の方が雌よりもおおむね大きかった。3 カ月間反復投与試験での曝露量は、30 及び 90 mg/kg/日群の投与 90 日目の方が投与初日よりも低かった。180 mg/kg/日群の曝露量は、雌雄いずれも投与 90 日目の方が投与初日よりも高かった。また、曝露量に性差はみられなかった。

ラット及びサルの反復投与試験において、投与 90 日目の AUC の方が投与初日よりも低かったことから、イボシデニブ代謝の自己誘導の可能性は排除できなかった。

3.3　分布

ラットに[^{14}C]イボシデニブを単回経口投与した時の放射能は広く組織に分布した（報告書【AG120-N-069】、【2.6.5_5.2】項）。放射能はほとんどの組織で投与後 168 時間には確認されず、メラニン含有組織を含め放射能に高い親和性を示した組織は認められなかった。ラットにおいてイボシデニブの脳内移行性を検討した結果、$AUC_{0\text{-}8[brain]}/AUC_{0\text{-}8[plasma]}$は 4.11%と低かった（報告書【AG120-N-029-R1】、【2.6.5_5.1】項）。

マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトでイボシデニブ（0.2、1 及び 10 µmol/L）は高い血漿タンパク結合率（81.7%～98.1%）を示したが、ヒト肝ミクロソーム（タンパク濃度：0.1 及び 0.5 mg/mL）に対するイボシデニブ（1～50 µmol/L）の結合率は 11.9%～32.4%と低かった（報告書【AG120-N-028-R1】及び【AG120-N-078-R1】、【2.6.5_6.1】及び【2.6.5_6.3】項）。

イボシデニブと HSA 及び AAG などの血漿タンパクとの結合に関して、HSA と AAG の混合物（HSA+AAG）及びイボシデニブを用いて評価した（報告書【AG120-N-095】）。イボシデニブ（1、5 及び 10 µmol/L）は HSA 及び AAG と高い結合率を示した（HSA：タンパク濃度 30～50 mg/mL で非結合率 6.91%～9.53%、AAG：タンパク濃度 0.4～1.5 mg/mL で非結合率 0.963%～15.7%）。イボシデニブの AAG との結合は飽和を示したが、HSA との結合は飽和しなかった。HSA+AAG 混液（40 mg/mL HSA+0.6 mg/mL AAG 又は 30 mg/mL HSA+1.5 mg/mL AAG）との結合率は、イボシデニブ濃度の増加に伴い非結合率が増加し、AAG 濃度とイボシデニブ濃度の両方に濃度依存性

を示した。イボシデニブと AAG との結合率は HSA との結合率よりも概して高かった。また、ラット、イヌ、サル及びヒトでのイボシデニブの赤血球/血漿比（$K_{RBC/PL}$）は 0.10～0.49（≤1）であり、血球移行性は低いと考えられた（報告書【AG120-N-027-R1】、【2.6.5_5.3】項）。

GLP 下で実施した胚・胎児発生に関する試験において、Sprague-Dawley ラット及び New Zealand White ウサギの GD 17 及び 21 での投与 2 時間後の胎児及び母動物の血漿中イボシデニブ濃度を測定した（報告書【AG120-N-064-R1】及び【AG120-N-067】、【2.6.7_13.2】及び【2.6.7_13.4】項）。その結果、ラット胎児血漿中イボシデニブ濃度は用量増加に伴い増加し、GD 17 の投与後 2 時間の胎児の血漿中イボシデニブ濃度は母動物の 8.08%～15.6%であった（報告書【AG120-N-064-R1】）。また、ウサギ胎児血漿中イボシデニブ濃度は用量増加に伴い増加し、GD 21 の投与後 2 時間の胎児の血漿中イボシデニブ濃度は母動物の 3.13%～20.4%であった（報告書【AG120-N-067】）。イボシデニブは最大耐用量で投与され、安全性に関する所見はイボシデニブに起因するため、胚・胎児発生に関する試験での胎児及び母動物の血漿中イボシデニブ濃度比はラットにイボシデニブの [redacted]、ウサギに [redacted]を投与した時の子宮を介した胎児の最大曝露量を表すと考えられた。これらの結果により、ラット及びウサギでイボシデニブの胎盤移行性が確認された。

3.4　代謝

マウス、ラット、サル及びヒトを含む複数の動物種に由来する肝ミクロソームでのイボシデニブの代謝安定性は高かった（報告書【AG120-N-030-R1】、【2.6.5_10】項）。ラット、イヌ、サル及びヒトの肝ミクロソームとインキュベーションした時のイボシデニブの代謝物プロファイルは動物種で類似しており、計 4 種類の一水酸化体（M1～M4）が同定された（報告書【AG120-N-037】、【2.6.5_10】項）。ヒトで特有の代謝物は確認されなかった。P450 酵素の特異的阻害剤と組換えヒト P450 酵素を発現したヒト肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験でイボシデニブは主に CYP3A4 で代謝され、CYP2B6 及び CYP2C8 の関与もわずかであるが示唆された（報告書【AG120-N-077】、【2.6.5_10】項）。

In vivo 試験では、7 日間の反復投与毒性試験の血漿から主要代謝物として 2 種類の類似した一水酸化体（M1 及び M2）がラット及びサルの血漿中に検出された（報告書【AG120-N-041-R1】及び【AG120-N-042-R1】、【2.6.7_6】項、報告書【AG120-N-038】、【2.6.5_9】項）。さらに、サル血漿中でのみ 2 種類の代謝物（M5 及び M6）が同定された。

ラットでの[^{14}C]イボシデニブの代謝試験では、計 14 種類の代謝物が同定された（報告書【AG120-N-069】、【2.6.5_9】及び【2.6.5_11】項）。主代謝経路は、クロロベンジル-N-5-フルオロピリジニル（M1）基、シアノピリジニル-ピロリドン（M2 及び M3）基及びジフルオロシクロブチル（M4）基の酸化、ジフルオロシクロブチル基の N-脱アルキル化（M30）であり、グルタチオン抱合（M22）及びシステイン抱合（M24）も確認された。他の代謝物は、上述の主代謝経路及び／又は不飽和、グルクロン酸抱合及び還元的脱フッ素化の組み合わせであった。

ラット血漿中放射能（指標：AUC_{0-12}）は主に未変化体（血漿中放射能の 89.6%）であった。

臨床薬理試験でヒトに[^{14}C]イボシデニブを投与した時の血漿中の主な成分は未変化体であり（総放射能の 92.4%）、代謝物は検出されなかった。このことから、代謝物の薬理活性については検討しなかった。

3.5　排泄

ラット、イヌ及びサルでのイボシデニブの尿中排泄率は、投与量のそれぞれ 1.59%、0.939%及び 0.526%とわずかであった（報告書【AG120-N-015-R1】、【AG120-N-022-R1】及び【AG120-N-023-R1】）。

無処置のラットに[^{14}C]イボシデニブを単回経口投与した時の投与後 168 時間までの放射能の平均回収率は 99.5%であった（報告書【AG120-N-069】、【2.6.5_13】項）。また、投与放射能の 7.17%が尿中に、91.1%が糞中に回収され、放射能の主排泄経路は糞中であることが示された。胆管カニューレラットを用いた腸肝循環を評価した試験では、投与放射能の 32.4%及び 6.91%がそれぞれ胆汁及び尿中に回収されたことから、投与放射能の少なくとも 39%が投与後 96 時間までに吸収されたと考えられた。

ラットで[^{14}C]イボシデニブは投与量の≤1%が未変化体として尿及び胆汁中に排泄されたこと（報告書【AG120-N-069】及び【AG120-N-039-R1】、【2.6.5_13】及び【2.6.5_14】項）から、代謝は広範であると考えられた。

乳汁中排泄に関する試験はイボシデニブの予定適応症の IDH1 変異を伴う未治療の AML 患者の治療を考慮して実施しなかった。

3.6　薬物動態学的薬物相互作用

イボシデニブの CYP2C8、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5 への阻害（IC_{50} 値：50 µmol/L 超）は弱かった。一方、イボシデニブは CYP1A2、CYP2B6 又は CYP2C9 をほとんど阻害しなかった。イボシデニブは CYP2C8、CYP2C19、CYP2D6、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C9 及び CYP3A4/5 に対して時間依存的及び代謝依存的な阻害を示さなかった（報告書【AG120-N-033】、【2.6.5_15】項）。ヒトにイボシデニブの 500 mg を投与した時の C2D1 での最高（ピーク）非結合型濃度（$C_{max,unbound}$）は 550 ng/mL（0.943 µmol/L）であったことから、イボシデニブがこれらの P450 酵素を阻害することで臨床的な DDIs を発現する可能性は低いと考えられる。

イボシデニブは UGT1A1 を阻害し、IC_{50} 値は 40.7 µmol/L（23,728 ng/mL に相当、C_{max} の 6,551 ng/mL、非結合型の C_{max} の 550 ng/mL との比較）であった（報告書【AG120-N-099】、【2.6.5_15】項）。イボシデニブ（50 µmol/L）は、UGT1A9 及び UGT2B15 をそれぞれ 23.5%及び 20.9%阻害したが、UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6 及び UGT2B7 を阻害しなかった。ヒトに推奨用量のイボシデニブを投与する際に UGT1A1 の阻害を介した DDIs の発現は予測されていない。しかしながら、イボシデニブは UGT を誘導する可能性があると考えられる。

イボシデニブはヒトの CYP3A4、CYP2B6、CYP2C8 及び CYP2C9 を誘導することが確認され、CYP2C19 を誘導する可能性も示唆された（報告書【AG120-N-032-R】及び【AG120-N-092】、【2.6.5_15】項）。

サルでのイボシデニブの 5～7 日間反復投与試験の肝ミクロソーム及びヒト肝細胞を用いた *in vitro* 試験（報告書【AG120-N-035-R】及び【AG120-N-034-R;Amended】、【2.6.5_15】項）において、いずれもイボシデニブの自己誘導は確認されず、ヒト肝細胞試験では P450 酵素の自己誘導に関する用量反応性は認められなかった。しかしながら、ラット及びサルの反復投与試験で投与 90 日目の AUC の方が投与初日の AUC よりも低下したこと（【2.6.7_7.2】及び【2.6.7_7.4】項）から、ヒトでイボシデニブ代謝が自己誘導する可能性は排除できなかった。

In vitro 試験でイボシデニブは P-gp を阻害（IC_{50} 値：19.6 μmol/L）する可能性が示唆されたが、BCRP を阻害しなかった（IC_{50} 値：100 μmol/L 超）（報告書【AG120-N-026-R1】、【2.6.5_15】項）。また、イボシデニブは CYP3A4 の誘導の共役機構［プレグナン X 受容体（PXR）活性化］に基づき P-gp を誘導する可能性があると考えられた。

In vitro 試験でイボシデニブは、有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1 及び OATP1B3 の基質ではないものの、OATP1B1 及び OATP1B3 を阻害（IC_{50} 値：それぞれ 9.56 及び 22.8 μmol/L）した（報告書【AG120-N-080;Amended】、【2.6.5_15】項）。イボシデニブは、有機アニオントランスポーター（OAT）1 及び有機カチオントランスポーター（OCT）2 を介したプローブ基質の取り込みを阻害しなかった（IC_{50} 値：65 μmol/L 超）が、OAT3 のプローブ基質の取り込みを阻害（IC_{50} 値：0.322 μmol/L）した（報告書【AG120-N-080;Amended】、【2.6.5_15】項）。

In vitro 試験でイボシデニブは主に CYP3A4 で代謝され、CYP2B6 及び CYP2C8 の寄与はわずかであることが示唆されたこと（【2.7.2_3.3.1.1】項）から、CYP3A4 の強力な阻害剤との同時投与はイボシデニブの曝露量を増加させる可能性があると考えられた。このことは、イボシデニブと強力な CYP3A4 阻害剤であるイトラコナゾールを併用した臨床試験で確認された（【AG120-C-007】試験）。本試験では AUC が約 169%増加した（幾何平均比約 269%）が、C_{max} に影響は確認されなかった。また、イボシデニブとリファンピンなどの強力な CYP3A4 誘導剤を同時投与すると血漿中イボシデニブ濃度が低下する可能性がある（【2.7.2_3.3.1.2】項）。

3.7　その他の薬物動態試験

試験は実施しなかった。

4.　毒性試験

IDH1 遺伝子変異を有する AML 患者への適用を目的とするイボシデニブの臨床開発及び承認申請を支持するために、一連の包括的な非臨床試験を実施し毒性プロファイルを確認した。イボシデニブで実施した毒性試験の一覧を毒性試験概要表【2.6.7_1】項に示した。非臨床試験プログラムは現行の規制ガイダンスを十分に考慮してデザインし、主要な試験は GLP 適用で実施した。ラット（7 日間反復投与試験）、ウサギ（10 日間反復投与忍容性試験）並びにサル（単回投与及び 7 日間反復投与試験）を用いた非 GLP 試験も実施した。バリデートされた高感度で選択性の高い LC-MS/MS 法を開発し、GLP 適用 *in vivo* 毒性試験におけるイボシデニブの濃度分析を行った（【2.6.5_2】項）。毒性試験概要表【2.6.7_3】項に TK データの概略を示した。

イボシデニブを 2 種の動物で評価するため忍容性と曝露量が最適となるよう、ラットの反復投与毒性試験では [redacted] 製剤を使用し、サルの反復投与毒性試験では [redacted] 製剤を使用した。イボシデニブ [redacted] 製剤の安全性プロファイルをより明確にするために、GLP 適用の 28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験では、いずれも溶媒対照群に加えて溶媒+添加剤（ラット PVAP、サル HPMCAS）を投与する 1 群を設定した。イボシデニブの安全性プロファイルは [redacted] 製剤に使用した添加剤ではなく、動物でのイボシデニブの曝露量により決定する。

以下のヒトと比較した曝露量比はすべて、血液悪性腫瘍を対象とした AG120-C-001 試験（【AG120-C-001】試験報告書、参照）で推奨 1 日投与量 500 mg/日を投与した被験者の C2D1 に観察された臨床曝露量（$AUC_{0\text{-}24}$）117,348 ng•h/mL を基に算出した。これは現在予定している未治療の AML 患者への適用（イボシデニブとアザシチジンの併用投与）と同じ投与量（500 mg/日）・投与経路である。したがって、AG120-C-001 試験で決定した $AUC_{0\text{-}24}$ 値は、未治療の AML 患者（イボシデニブとアザシチジンの併用投与）における安全域を確立する目的で妥当と考えられる。未治療の AML 患者でイボシデニブをアザシチジンと併用投与して評価した【AG120-C-009】試験では、イボシデニブ曝露量（AUC、C_{max} 及び C_{min}）の幾何平均は AG120-C-001 試験と統計学的有意差はみられなかった。

最初の臨床投与レジメンを担保するために、サルの単回投与試験を除くすべての毒性試験は 1 日 2 回投与で実施した。最高血漿中濃度／トラフ濃度比が最小を維持する曝露量を示したイボシデニブの QD 投与による臨床 PK プロファイルに近づけるために、ラット及びサルの 3 カ月間投与毒性試験並びにラット及びウサギの胚・胎児発生に関する試験では 1 日 2 回の投与レジメンを選択した。1 日 2 回投与の毒性試験において AUC 値は $AUC_{0\text{-}12}$ で算出される。毒性試験の $AUC_{0\text{-}12}$ 値を 2 倍して $AUC_{0\text{-}24}$ 値を算出し、それをヒトの $AUC_{0\text{-}24}$ 値（117,348 ng•h/mL）で割って毒性試験の曝露量とヒトの曝露量を比較した。

ICH S9 ガイドライン [4)]に従い、アザシチジンと併用投与したときのイボシデニブの毒性を評価する非臨床試験は必要とされないため実施していない。

アザシチジンは 2021 年に本邦で AML に対して承認されており、アザシチジンのヒトにおける毒性プロファイルもよく知られている。

【AG120-C-009】試験で未治療の AML 患者にアザシチジンをイボシデニブと併用投与したとき、イボシデニブの PD 及び PK に影響は認められなかった。アザシチジンと併用投与した場合のイボシデニブの臨床的安全性については臨床的安全性の概要【2.7.4】に記載した。

4.1　単回投与毒性試験

カニクイザルを用いたイボシデニブの単回投与における用量設定試験を非 GLP 適用で実施した（試験番号【AG120-N-040-R1】、【2.6.7_5】項）。イボシデニブは単回投与で 100 mg/kg まで忍容性が良好であり（この投与量で算出した AUC_{0-24} 値はヒトの AUC_{0-24} 値の 2.5 倍）、投与量 250 mg/kg では忍容性がみられたが消化器症状が観察された（この投与量で算出した AUC_{0-24} 値はヒトの AUC_{0-24} 値の 3.6 倍）。

イボシデニブのげっ歯類を用いた単回投与毒性試験は実施していない。Sprague-Dawley ラットを用いた短期反復投与毒性試験（試験番号【AG120-N-041-R1】、【2.6.7_6】項及び試験番号【AG120-N-044-R1】、【2.6.7_6】項）では、1,000 及び 2,000 mg/kg/日の初回投与後に四肢の潮紅、排泄物に関連する所見及び体表各部位で物質の付着所見が観察された。ラットの経口投与では、イボシデニブの [redacted] は 2,000 mg/kg/日で忍容性が認められ、イボシデニブのフリー体は 1,000 mg/kg/日で忍容性が認められた。

4.2　反復投与毒性試験

イボシデニブの反復投与毒性を評価する非臨床試験に使用する動物種として、次の基準に基づいて Sprague-Dawley ラット及びカニクイザルを選択した。a) 両動物種ともにヒトの有害作用の予測に使用されてきた。b) 両動物種におけるイボシデニブの *in vitro* 肝臓代謝が、ヒトの肝臓ミクロソームで観察される代謝と類似する（【2.6.4_5.1】項）。及び c) 両動物種ともに安全性を評価する上で良好な PK プロファイルを示す（【2.6.4_3.2】項）。

非臨床毒性試験の結果から、イボシデニブは IDH1 遺伝子変異を有する AML 患者への適応を支持する本承認申請に十分な非臨床安全性プロファイルを示した。この化合物は忍容性が良好であり、動物の曝露量（AUC_{0-24}）はヒトの推奨 1 日投与量 500 mg/日における C2D1 の AUC_{0-24} に対して 0.5～1.1 倍（ラット 3 カ月間投与）及び 2.3 倍（サル 3 カ月間投与）であった。

表 4.2:2　GLP 適用 28 日間及び 3 カ月間経口投与毒性試験におけるイボシデニブ曝露量と主要な臨床試験におけるイボシデニブ曝露量の比較

Species (Formulation)	Study	Dose	Mean Steady State $AUC_{0\text{-}tau}$ (ng•h/mL) [1]	Margin to Mean Steady State $AUC_{0\text{-}tau}$ in Humans [1]
Rat ( )	28-day [2]	2,000 mg/kg/day	69,500 (male) 101,000 (female)	1.2-1.7
		500 mg/kg/day	30,100 (male) 59,000 (female)	0.5-1.0
	3-month	500 mg/kg/day	29,000 (male) 62,000 (female)	0.5-1.1
Monkey ( )	28-day [3]	270 mg/kg/day	235,000 (male) 109,000 (female)	1.9-4.0
		90 mg/kg/day	67,800 (male) 44,900 (female)	0.8-1.2
	3-month [3]	180 mg/kg/day	134,000 (combined)	2.3
Human ( )	Phase 1	500 mg, QD [4]	117,348 [4]	NA

Source: Reports【AG120-N-002-R1】(rat 28-day),【AG120-N-058-R1】(rat 3-month),【AG120-N-001-R1】(monkey 28-day),【AG120-N-059-R1】(monkey 3-month), and【CSR AG120-C-001】(Phase 1).
Abbreviations: AML = acute myeloid leukemia; AUC = area under the concentration × time curve;
$AUC_{0\text{-}tau}$ = area under the concentration × time curve from 0 to the end of the dosing interval;
$AUC_{0\text{-}24}$ = area under the concentration × time curve from 0 to 24 hours; C2D1 = Cycle 2, Day 1;
C_{max} = maximum (peak) concentration; C_{min} = minimum (trough) concentration; CSR = clinical study report;
GLP = Good Laboratory Practice; NA = not applicable; QD = once daily.

1）　ラット及びサルでは定常状態の平均 $AUC_{0\text{-}tau}$ 値として 27 又は 90 日目に測定した $AUC_{0\text{-}12}$ 値を示す。ヒトでは定常状態の平均 $AUC_{0\text{-}tau}$ 値として C2D1 に測定した $AUC_{0\text{-}24}$ 値を示す。ピボタルな毒性試験の定常状態における平均 $AUC_{0\text{-}12}$ 値を 2 倍して $AUC_{0\text{-}24}$ 値を算出し、それをヒトの $AUC_{0\text{-}24}$ 値（117,348 ng•h/mL）で除して曝露量比を算出した。

2）　ラットの GLP 適用 28 日間経口投与毒性試験で供試動物の 10%に重篤な毒性が発現する投与量（STD_{10}）は、500 mg/kg/日を上回り 2,000 mg/kg/日未満であった。GLP 適用 28 日間及び 3 カ月間経口投与毒性試験では、投与量 500 mg/kg/日で忍容性が良好であった。

3）　サルの GLP 適用 28 日間経口投与毒性試験で重篤な毒性が発現しない最大投与量（HNSTD）は、90 mg/kg/日であった。GLP 適用 3 カ月間経口投与毒性試験では、投与量 180 mg/kg/日で忍容性が良好であった。

4）　AG120-C-001（第 I 相臨床試験）で推奨用量 500 mg/日を 1 日 1 回投与したときの C2D1 における $AUC_{0\text{-}24}$ 値。AG120-C-001 試験は進行性造血器腫瘍患者を対象として、500 mg/日の用量で経口投与により実施した。この用量（500 mg/日）及び投与経路は未治療の AML の適応（イボシデニブとアザシチジンの併用療法）で推奨されている用量及び投与経路と同様であり、そのため、AG120-C-001 試験で測定した $AUC_{0\text{-}24}$ 値は未治療の AML の適応（イボシデニブとアザシチジンの併用療法）で安全域を確立する指標に用いられると考えられる。未治療の AML 患者を対象としてイボシデニブとアザシチジンの併用療法を評価した【AG120-C-009】試験において、イボシデニブの曝露量（AUC、C_{max} 及び C_{min}）の幾何平均値は AG120-C-001 試験で得られた値と統計学的に有意な差は認められなかった。

Sprague-Dawley ラットでは、500 mg/kg/日（試験の最高用量）の投与量は 3 カ月間の投与期間にわたって忍容性が認められ、被験物質に関連する瀕死例や死亡はなかった（試験番号【AG120-N-058-R1】、【2.6.7_7.2】項）。この投与量で雄及び雌ラットの 90 日目の血漿中 $AUC_{0\text{-}12}$ 値はそれぞれ 29,000 及び 62,000 ng•h/mL であり、この値から算出した $AUC_{0\text{-}24}$ 値はヒトの 500 mg/日投与での C2D1 の $AUC_{0\text{-}24}$ 値の 0.5～1.1 倍であった。これは 28 日間投与試験の試験終了時に認められた $AUC_{0\text{-}12}$ 値と非常に似ており、500 mg/kg/日でもイボシデニブの忍容性が認められた。

ラット 3 カ月間投与試験のこの投与量（500 mg/kg/日）で認められた標的組織とその所見として、肝細胞の CYP3A 酵素誘導と一致する肝臓及び甲状腺の所見、並びに赤血球再生反応と一致する赤血球パラメーターの変化、脾臓の髄外造血及び骨髄造血の増加が認められた。脾臓の褐色色素も観察された。骨髄間質細胞増殖が雄 1 例で観察された。血清カリウム濃度の減少と相関したカリウム成分の尿排泄の増加も観察された。ラットの 3 カ月間投与試験で観察された所見は、新規所見である尿中カリウム排泄の増加を除いて、大部分は 28 日間投与試験（【2.6.7_7.1】項）の忍容量で観察された所見と一致する。28 日間及び 3 カ月間投与の両試験の投与量 500 mg/kg/日で認められたすべての有意な所見は、それぞれ 14 日間又は 28 日間の休薬期間後に一部又は完全に回復が認められた。

ラットの 28 日間投与試験では投与量 2,000 mg/kg/日（試験の最高用量）で用量制限毒性（DLT）が発現した（試験番号【AG120-N-002-R1】、【2.6.7_7.1】項）。この投与量では、AUC_{0-12} から算出した血漿中 AUC_{0-24} 値とヒトの 500 mg/日投与における C2D1 の AUC_{0-24} 値の比は、0 日目の 3.3～3.5 倍から 27 日目には 1.2～1.7 倍に低下した。早期（2～6 日目、曝露量がヒトの AUC_{0-24} の 3.3～3.5 倍）に DLT が発現した原因は小葉中心性肝細胞変性／壊死であり、付加的な要因として腎臓の尿細管壊死、腎皮質／髄質の尿細管細胞空胞化、小腸の粘膜萎縮、大腿骨／胸骨骨髄の低細胞性、出血及び壊死並びに腺胃のびらんなどの変化が認められた。投与期間の後期に DLT が発現したとき（19 及び 20 日目の曝露量はヒトの 500 mg/日投与における C2D1 の AUC_{0-24} の 1.2～1.7 倍）には、腸管の粘膜萎縮、腺胃／直腸の粘膜過形成、びらん及び潰瘍化、並びにリンパ系器官のリンパ系細胞減少／壊死が原因であり、付加的な要因として腎臓の尿細管細胞壊死が認められた。また、高用量群（2,000 mg/kg/日）では下痢などの糞便の異常が観察された。ラットの 28 日間投与試験に用いた 2 番目の投与量（500 mg/kg/日）は忍容性が認められ、GLP 適用 3 カ月間投与毒性試験の最高用量とした。

サルの 3 カ月間投与試験では投与量 180 mg/kg/日（試験の最高用量）で 3 カ月間の投与期間にわたり忍容性が良好であり、被験物質と関連する死亡又は瀕死状態はみられなかった（試験番号【AG120-N-059-R1】、【2.6.7_7.4】項）。投与量 180 mg/kg/日における 90 日目の平均血漿中 AUC_{0-12} 値は 134,000 ng•h/mL（雌雄合算）であり、AUC_{0-12} から算出した AUC_{0-24} 値はヒトの 500 mg/日投与における C2D1 の AUC_{0-24} 値の 2.3 倍であった。この投与量の所見として散発的な下痢及び肝細胞の CYP3A 酵素誘導と一致する肝臓所見が認められた。試験の終盤（12 週目）にかけて心血管系の評価を実施した結果、個々の動物では被験物質と関連する可能性のある／高い QTcB 間隔の延長が認められた（結果は【2.6.6_3.9】項で考察する）。すべての所見は 28 日間の休薬期間後に一部又は完全に回復が認められた。カニクイザルの 3 カ月間投与試験で観察された所見は、大部分が 28 日間投与試験の忍容量で認められた所見と一致する（【2.6.7_7.3】項）。

カニクイザルの GLP 適用 28 日間投与試験では雄ザルで DLT が発現し、最高用量 270 mg/kg/日における 27 日目の血漿中 AUC_{0-12} 値は 235,000 ng•h/mL であり、AUC_{0-12} から算出した AUC_{0-24} 値はヒトの 500 mg/日投与における C2D1 の AUC_{0-24} 値の 4.0 倍であった（試験番号【AG120-N-001-R1】、【2.6.7_7.3】項）。DLT の原因は、全身状態の悪化及び嘔吐とそれに伴う誤嚥を誘発した消化器症状（糞便の異常及び下痢など）が特徴の全身倦怠であった。雌では同じ投与量でイボシデ

ニブの忍容性が認められ、27 日目の血漿中 AUC_{0-12} 値は 109,000 ng•h/mL であり、AUC_{0-12} から算出した AUC_{0-24} 値はヒトの 500 mg/日投与における C2D1 の AUC_{0-24} 値の 1.9 倍であった。サルの 28 日間投与試験に用いた 2 番目の投与量（90 mg/kg/日）は忍容性が良好であり、その後実施した GLP 適用 3 カ月間投与毒性試験の最高用量として 180 mg/kg/日を設定した。

Sprague-Dawley ラットを用いたイボシデニブの 7 日間投与（1 日 2 回）毒性及び TK 試験を 2 試験（試験番号【AG120-N-041-R1】及び【AG120-N-044-R1】）実施し、カニクイザルを用いたイボシデニブの 7 日間投与（1 日 2 回）用量設定及び忍容性試験を 3 試験（試験番号【AG120-N-042-R1】、【AG120-N-043-R1】及び【AG120-N-007-R1】）実施した（【2.6.7_6】項）。これらの試験で認められた所見は長期試験と一致した。

4.3　遺伝毒性試験

イボシデニブは細菌を用いる *in vitro* 復帰突然変異試験（Ames 試験）で変異原性を示さなかった（試験番号【AG120-N-006-R1】及び【AG120-N-003-R1】）。イボシデニブはヒトリンパ球を用いる *in vitro* 小核試験（試験番号【AG120-N-070-R1】）、及び *in vivo* ラット骨髄小核試験（試験番号【AG120-N-071-R1】）で染色体異常を誘発しなかった（【2.6.7_8】項及び【2.6.7_9】項）。

4.4　がん原性試験

イボシデニブは未治療の IDH1 遺伝子変異を有する AML 患者にアザシチジンと併用投与するため、ICH S9 ガイドライン [4)]に従いがん原性試験を実施する必要はないと判断した。

4.5　生殖発生毒性試験

4.5.1　受胎能及び初期胚発生に関する試験

ICH S9 ガイドライン [4)]に従い、受胎能及び初期胚発生に関する試験は実施していない。生殖器官に及ぼす影響は GLP 適用の反復投与毒性試験で評価した。ラットの 3 カ月間投与試験（試験番号【AG120-N-058-R1】、【2.6.7_7.2】項）、サルの 28 日間投与試験（試験番号【AG120-N-001-R1】、【2.6.7_7.3】項）及びサルの 3 カ月間投与試験（試験番号【AG120-N-059-R1】、【2.6.7_7.4】項）で生殖器官に対する影響はみられなかった。

ラットの 28 日間投与試験では、500 mg/kg/日以上で子宮重量の減少が認められ、2,000 mg/kg/日で関連する病理組織学的所見として子宮萎縮が観察された（試験番号【AG120-N-002-R1】、【2.6.7_7.1】項）。2,000 mg/kg/日群及び対照（溶媒+PVAP）群で卵巣重量の低値も観察され、最近形成された黄体の減少と関連する可能性がある。子宮／卵巣パラメーターの変化が認められた多くの雌でこの変化はストレスに伴う二次的影響と考えられ、持続的な発情休止期に発現した。しかし、子宮萎縮が認められるものの卵巣所見がなく発情周期の変動もない雌動物もみられた。100 mg/kg/日以上の雌で下垂体重量の低値が認められたが、関連する病理組織学的所見は観察されなかった。2,000 mg/kg/日の下垂体重量の低値を除き、すべての変化は完全に回復した。

GLP 適用 28 日間投与毒性試験の雄ラットでは、予定剖検までに早期死亡した 2,000 mg/kg/日の動物のみで、精細管の変性／萎縮及びそれに伴う二次的な副生殖器官の変化が発現し、衰弱及び／又はストレスによる二次的影響の可能性が考えられたが、イボシデニブの影響も除外することはできない（試験番号【AG120-N-002-R1】、【2.6.7_7.1】項）。いずれの投与量でも予定剖検まで生存した動物で精巣に対する影響は認められなかった。500 mg/kg/日以上の予定剖検まで生存した雄で、関連する病理組織学的変化を伴わない前立腺重量の減少がみられた。500 mg/kg/日以上で下垂体前葉空胞化の発現頻度増加がみられた。これ以外には雄性生殖器官の所見はみられなかった。すべての変化は完全に回復性がみられた。

4.5.2　胚・胎児発生に関する試験

妊娠 Sprague-Dawley ラットを用いた GLP 適用の胚・胎児発生に関する試験では、イボシデニブを 20、100 及び 500 mg/kg/日の用量で経口投与した（試験番号【AG120-N-064-R1】、【2.6.7_13.2】項）。いずれの投与量でも母動物に有害な影響が認められなかったことから、母動物の毒性に関する無毒性量は 500 mg/kg/日と考えられた。500 mg/kg/日における $AUC_{0\text{-}12}$ から算出した母動物の血漿中 $AUC_{0\text{-}24}$ 値は、ヒトの 500 mg/日投与における C2D1 の $AUC_{0\text{-}24}$ 値の 2.0 倍であった。500 mg/kg/日で平均胎児重量の低値が認められたことから、胚・胎児発生に関する無毒性量は 100 mg/kg/日と考えられた。100 mg/kg/日における $AUC_{0\text{-}12}$ から算出した母動物の血漿中 $AUC_{0\text{-}24}$ 値は、ヒトの 500 mg/日投与における C2D1 の $AUC_{0\text{-}24}$ 値の 0.4 倍であった。500 mg/kg/日で胎児骨格の骨化遅延や未骨化も認められたが、胎児体重の減少に伴う二次的影響と考えられた。胎児におけるイボシデニブの平均血漿中濃度は、妊娠 17 日の投与後 2 時間で母動物の血漿中濃度の 8.1%～15.6%であった。

New Zealand White ウサギを用いた GLP 適用の胚・胎児発生に関する試験では、イボシデニブを 30、90 及び 180 mg/kg/日の用量で経口投与した（試験番号【AG120-N-067】、【2.6.7_13.4】項）。投与量 180 mg/kg/日で母動物に瀕死状態、流産、臨床症状並びに体重増加量及び摂餌量への影響が認められたことに基づき、母動物毒性に関する無毒性量は 90 mg/kg/日と考えられた。180 mg/kg/日で着床後胚損失の増加、胎児重量の減少とそれに関連した胎児骨格の骨化遅延や未骨化及び脾臓小型化の所見が認められたことから、胚・胎児発生に関する無毒性量も 90 mg/kg/日と考えられた。投与量 90 mg/kg/日における $AUC_{0\text{-}12}$ から算出した母動物の血漿中 $AUC_{0\text{-}24}$ 値は、ヒトの 500 mg/日投与における C2D1 の $AUC_{0\text{-}24}$ 値の 1.4 倍であった。胎児におけるイボシデニブの平均血漿中濃度は、妊娠 21 日の投与後 2 時間で母動物の血漿中濃度の 3.1%～20.4%であった。

表 4.5:3　GLP 適用の胚・胎児発生に関する試験における母動物と胎児の無毒性量と最小毒性量

Parameter	Species ([redacted] Formulation)/ Findings	
	Rat ([redacted])	Rabbit ([redacted])
Maternal NOAEL (mg/kg/day)	500	90
Maternal Day Last [1] AUC_{0-12} (ng•h/mL) at maternal NOAEL	117,000 (2.0) [2]	81,100 (1.4) [2]
Fetal NOAEL (mg/kg/day)	100	90
Maternal Day Last [1] AUC_{0-12} (ng•h/mL) at fetal NOAEL	20,600 (0.4) [2]	81,100 (1.4) [2]
Maternal LOAEL (mg/kg/day)	Not defined	180
Maternal Day Last [1] AUC_{0-12} (ng•h/mL) at maternal LOAEL	Not applicable	230,000 (3.9)
Fetal LOAEL (mg/kg/day)	500	180
Maternal Day Last [1] AUC_{0-12} (ng•h/mL) at fetal LOAEL	117,000 (2.0) [2]	230,000 (3.9) [2]
Maternal Effects at Maternal LOAEL	Not applicable	Moribundity, abortion, decreased defecation, anal fecal staining, body weight loss, decreased food consumption
Fetal Effects at Fetal LOAEL	Decreased body weights, skeletal ossification reduced/skeleton unossified	Decreased body weights, skeletal ossification reduced/skeleton unossified, small spleen

Source: Reports【AG120-N-064-R1】(rat) and【AG120-N-067】(rabbit).
Abbreviations: AML = acute myeloid leukemia; AUC = area under the concentration × time curve;
AUC_{0-12} = area under the concentration × time curve from 0 to 12 hours; AUC_{0-24} = area under the concentration × time curve from 0 to 24 hours; C2D1 = Cycle 2, Day 1; C_{max} = maximum (peak) concentration; C_{min} = minimum (trough) concentration;
GLP = Good Laboratory Practice; [redacted];
LOAEL = lowest-observed-adverse-effect-level; NOAEL = no-observed-adverse-effect-level;
[redacted]; QD = once daily.

1)　ラット及びウサギで、それぞれ妊娠 17 日及び妊娠 20 日。
2)　括弧内の数値はヒトの定常状態における平均 AUC_{0-24} 値［【AG120-C-001】第 I 相臨床試験で推奨用量 500 mg QD を投与したときの C2D1 における AUC_{0-24} 値（117,348 ng•h/mL）］との曝露量比を示す。AG120-C-001 試験は進行性造血器腫瘍患者を対象として、500 mg/日の用量で経口投与により実施した。この用量（500 mg/日）及び投与経路は未治療の AML の適応（イボシデニブとアザシチジンの併用療法）で推奨されている用量及び投与経路と同様であり、そのため、AG120-C-001 試験で測定した AUC_{0-24} 値は未治療の AML の適応（イボシデニブとアザシチジンの併用療法）で安全域を確立する指標に用いられると考えられる。未治療の AML 患者を対象としてイボシデニブとアザシチジンの併用療法を評価した【AG120-C-009】試験において、イボシデニブの曝露量（AUC、C_{max} 及び C_{min}）の幾何平均値は AG120-C-001 試験で得られた値と統計学的に有意な差は認められなかった。

4.5.3　出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

イボシデニブは IDH1 遺伝子変異を有する未治療の AML 患者の治療にアザシチジンと併用して適用するため、ICH S9 ガイドライン [4]に従い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を実施する必要はないと判断した。

4.5.4　幼若動物を用いた試験

イボシデニブの幼若動物を用いた毒性試験は実施していない。ICH S9 ガイドラインに従い幼若動物を用いる試験を実施する必要はないと判断した。

4.6　局所刺激性試験

イボシデニブは経口投与を予定している。Sprague-Dawley ラット及びカニクイザルを用いたすべての反復投与毒性試験で消化管の評価を行った。局所刺激性に特化した試験は実施していない。

4.7　その他の毒性試験

4.7.1　不純物の毒性試験

GLP 適用のピボタルな非臨床試験に使用した被験物質は、組成、構造、処方設計及び不純物プロファイルなどの品質に関して、臨床試験用製剤及び予定市販製剤に使用する物質を代表するものである（【2.6.7_4】項）。

不純物 [redacted]、[redacted]、[redacted] 及び [redacted] は原薬規格に含まれ、0.15%以下の濃度にコントロールされる（【2.3.S_4.1】項）。この規格限度値は 1 日総投与量 500 mg/日での安全性確認の必要な閾値を下回るため、規格設定された不純物の安全性確認は実施していない [14]。規格設定されない不純物は 1 日総投与量 500 mg/日での安全性確認の必要な閾値を下回る 0.10%を超えない濃度でコントロールされるため、規格設定されない不純物の安全性確認は実施していない [14]。

すべての出発原料、中間体、有機試薬及びそれらの化合物で観察された／存在する可能性のある関連不純物並びにイボシデニブ原薬について、Derek Nexus 及び Leadscope Model Applier を使用して *in silico* の変異原性評価を実施した（試験番号【ICH M7 assessment】、【2.6.7_17】項）。

[redacted]、[redacted]及び[redacted]の 3 不純物は変異原性が知られており、毒性学的懸念の閾値（TTC）でコントロールされる。[redacted]は遺伝毒性の可能性がある不純物として扱い TTC でコントロールされる。[redacted]及び[redacted]は[redacted]の基礎構造を有することから、いずれも Ames 陰性と報告される [15]ものの、保守的に遺伝毒性の可能性がある不純物として扱い TTC でコントロールされる。

In silico 解析（試験番号【ICH M7 assessment】）で構造警告が認められた化合物 不純物A*（試験番号【AG120-N-086】）、不純物B*（試験番号【AG120-N-074】）、不純物C*（試験番号【AG120-N-082】）、不純物D*（試験番号【AG120-N-075-R1】）、不純物E*（試験番号【AG120-

*新薬承認情報提供時に置き換え

N-076-R1】）及び 不純物F*（試験番号【AG120-N-085】）は、細菌を用いる *in vitro* 復帰突然変異試験（Ames 試験）で陰性であった。出発原料 [redacted] 及び [redacted] の不純物から形成される数種の　不純物C*　類縁体は、Ames　試験が陰性の不純物C*　と同じ警告構造（[redacted]）を有することから、Ames 試験で評価されていない。これらの化合物は通常の不純物（個別規格設定不純物又は個別規格を設定しない不純物）として扱われる。

ICH S9 Q&A により、抗悪性腫瘍薬に含まれる変異原性不純物は ICH M7 ガイドラインではなく、ICH Q3A ガイドライン [14]のコンセプトに従ってコントロールされる。【2.3.S_3.2】項に記載したコントロール戦略により、遺伝毒性不純物は原薬の規格限度値を十分に下回ることが確保される。

なお、製剤中に分解物は認められず（【2.3.P_5.5】項）、製剤に新規添加剤は使用されていない。このように、すべての不純物について非臨床試験プログラムで十分に評価を行った。原薬中の不純物については 2.3.S_3.2 項で検討した。

4.7.2　添加剤 HPMCAS

文献報告のように HPMCAS の毒性プロファイルは反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験で十分に明らかとなっており、HPMCAS はヒトで許容できる安全性プロファイルを有し、EMA で承認された数種の医薬品で添加剤として使用されている。また本邦でも[redacted]相談（[redacted]）で、[redacted]であることを確認している。

イボシデニブを 2 種の動物で評価するため忍容性と曝露量が最適となるよう、ラット及びサルの反復投与毒性試験では、それぞれイボシデニブの [redacted]及び [redacted]の製剤を使用した。28 日間投与試験でイボシデニブの[redacted]を最大耐量まで投与した結果、[redacted]に使用した添加剤というよりむしろイボシデニブに起因する毒性が発現した。イボシデニブの安全性プロファイルは、[redacted]製剤に使用する添加剤よりむしろ動物でのイボシデニブ曝露量に基づいている。

4.7.3　光毒性

イボシデニブは BALB/c 3T3 マウス線維芽細胞を用いた *in vitro* 光毒性試験で光毒性を示さなかった（試験番号【AG120-N-062-R1】、【2.6.7_17】項）。

HPMCAS メタノール溶液の紫外線（UV）－可視光スペクトル（290～700 nm）で限定的な吸収のみ観察され、モル吸光係数は ICH S10 ガイドライン [16]で光反応性化合物と考えられ直接光毒性を引き起こす限界と定義される 1,000 L $mol^{-1}cm^{-1}$ 未満であった。したがって、[redacted]とイボシデニブが[redacted]で存在すると光毒性を示さないと考えられる。

*新薬承認情報提供時に置き換え

5.　総括及び結論

非臨床試験の結果から、イボシデニブは変異型 IDH1 を有する未治療の AML 患者に対するアザシチジンとの併用療法のための承認申請を担保する非臨床プロファイルを有すると考えられる。

5.1　薬理

イボシデニブは変異型 IDH1 に対する低分子の強力な阻害剤であり、*in vitro* において、細胞分化を誘導することが示されている。イボシデニブは変異型 IDH2 に対しては阻害作用を示さない。

イボシデニブは *in vivo* において、マウスモデルでの血漿及び腫瘍中の 2-HG 濃度を 90%以上低下させ、細胞分化を誘導することが示された。

80 種類の受容体、イオンチャネル及び酵素に対して、イボシデニブが結合及び酵素活性を阻害する可能性を評価した。イボシデニブは IDH1 に対して選択性を示し、オフターゲット活性は認められなかった。

非臨床安全性薬理試験において、イボシデニブは I_{Kr}（hERG）を阻害し、IC_{20} 及び IC_{50} はそれぞれ 3,100 及び 12,600 nmol/L であった。この IC_{50} 値での安全域は臨床での非結合型 C_{max} の平均値の 13 倍に相当する。

GLP 適用のカニクイザルを用いた 28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験において、ヒトに 500 mg の用量で投与したときの C2D1 での非結合型 C_{max} の曝露量（ヒトへの推奨 1 日投与量である 500 mg/日）の 0.7 倍以上の非結合型 C_{max} 値でイボシデニブに関連した QTcB 延長が認められた。また、非 GLP のサルを用いた単回投与による CV へ及ぼす影響を検討する安全性薬理試験において、QTcB 延長が 45 及び 135 mg/kg の用量で認められ、このときの C_{max} の群平均値は 28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験における個々のサルでの値と同程度であると予想された。サルを用いた 3 カ月間反復投与毒性試験での高用量を投与した雄 1 例において、QTcB 延長作用の回復性を評価し、QTcB は 28 日間の回復期間の後に、ベースラインまで回復した

QTc 延長は hERG を 12%～30%阻害する程度の薬剤濃度で起こることが知られている [11]。hERG に対するイボシデニブの IC_{20} は約 3,100 nmol/L であることから、カニクイザルにおいて個々の非結合型 C_{max} 値が 700 ng/mL 以上で認められた QTcB 延長は hERG 阻害の所見と一致する（【表 2.6.2_6:15】）。

これらの CV に及ぼす影響を検討した安全性薬理試験のデータはヒトでの所見を裏付けている。臨床上意義のあるイボシデニブ曝露に関連した QTc への影響が進行性悪性腫瘍患者及び健康被験者において認められ、【2.7.2_3.4】項に考察を記載した。非臨床及び臨床の安全性の所見に基づき、QT 間隔延長はイボシデニブの投与に関連した有害な薬剤反応として特定されている（【2.7.4_2】項）。

5.2　薬物動態

Sprague-Dawley ラット、ビーグル犬及びカニクイザルにイボシデニブを単回及び反復経口投与する一連の非臨床 PK 試験、TK 試験、並びに複数の動物種及びヒト肝ミクロソーム等を用いた *in vitro* 試験でイボシデニブは良好な PK プロファイルを示した。

非臨床 PK 試験でイボシデニブは、速やかな経口吸収、低い CL_p、低い～中程度の V_{ss}、中等度～長い $t_{1/2}$、良好な経口バイオアベイラビリティなどを示したことから、良好な PK 特性であることが確認された。[redacted]サルでのイボシデニブの経口吸収に高脂肪食の摂餌は影響を及ぼさなかった。しかしながら、高脂肪食摂食後の健康被験者にイボシデニブの 500 mg を単回経口投与した時のイボシデニブの PK を絶食下と比較した際の最高濃度到達時間（t_{max}）の中央値は摂食の影響を受けなかったものの、0 時間から投与後無限大時間までの濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0-\infty}$）は約 25%、C_{max} は約 98%増加した（【2.7.1_2.2】項）。

ラットでイボシデニブは、広く組織に分布したが、脳内移行性は低いことが示された。イボシデニブは非臨床試験で使用した動物種及びヒトで高い *in vitro* 血漿タンパク結合率を示した。イボシデニブは、2 種類の血漿成分（AAG 及び HSA）と高い結合率を示したが、イボシデニブのタンパク結合は AAG に対して HSA よりも高い親和性を示した。一方、ヒト肝ミクロソームタンパクとのイボシデニブの結合率は低かった。ラット、イヌ、サル及びヒトの血液でのイボシデニブの赤血球移行性は低かった。また、胚・胎児発生に関する試験において、イボシデニブはラット及びウサギで限られた範囲であるが、胎盤移行性が確認された。

マウス、ラット、サル及びヒトの肝ミクロソームでのイボシデニブの代謝安定性は高かった。動物種間で代謝物の生成量に違いは確認されたが、ヒト肝ミクロソームで生成した 4 種類の代謝物（M1～M4）は、いずれも毒性試験で使用した 2 種類の動物種（ラット及びサル）の肝ミクロソームでも生成が確認された。

ラットでの[^{14}C]イボシデニブの *in vivo* 代謝試験で計 14 種類の代謝物が同定された。主な代謝経路はクロロベンジル-N-5-フルオロピリジニル基、シアノピリジニル-ピロリドン基及びジフルオロシクロブチル基の酸化、ジフルオロシクロブチル基の N-脱アルキル化、グルタチオン抱合及びシステイン抱合であった。他の代謝経路はこれらの主代謝経路及び／又は不飽和、グルクロン酸抱合及び還元的脱フッ素化の組み合わせであった。

非臨床試験において、イボシデニブ代謝の自己誘導の可能性については排除できなかった。母集団 PK の解析結果（【AG120-C-001】試験）から、ヒトでイボシデニブ代謝が自己誘導することで、みかけのクリアランスを増加させる可能性があると考えられた。しかしながら、進行した血液悪性腫瘍患者の血漿中イボシデニブ濃度は、投与 14 日目には定常状態に達し、2 倍未満の蓄積（【2.7.2_3.1.6】項）であったことから、ヒトでのイボシデニブ代謝の自己誘導の大きさは中程度であると考えられた。

ラットに[^{14}C]イボシデニブを単回経口投与した時の代謝は広範であり、放射能の主排泄経路は糞中であった。乳汁中排泄に関する試験については、イボシデニブの予定適応症である未治療の IDH1 変異を伴う AML 患者の治療であることを考慮して実施しなかった。このため、イボシデニブの乳汁中排泄に関しては不明である。

In vitro 試験において、イボシデニブは P-gp を阻害すること［IC_{50} 値：約 19.6 µmol/L（11,427 ng/mL に相当）］が示された。また、イボシデニブは CYP3A4 の共役因子（PXR 活性化）を誘導する可能性があることから、P-gp を誘導する可能性が考えられた。ヒトに推奨用量である 1 日量 500 mg を 1 日 1 回投与した時の非結合型の平均 C_{max}（約 1 µmol/L）を考慮した場合には、イボシデニブが P-gp を阻害することで臨床的な DDIs が発現する可能性は低いと考えられた。生理学的薬物速度論（PBPK）のシミュレーションでは、イボシデニブの 500 mg を投与した時に P-gp の基質であるジゴキシンの AUC 及び C_{max} は変化しないと予測された（【2.7.2_2.4】項）。この結果から、P-gp の基質を用いた臨床的な DDIs 試験は不要と判断された。しかしながら、イボシデニブは主に P-gp で輸送される薬物の曝露量を変化させる可能性は否定できない。

CYP3A4 及び P-gp を強力に阻害するイトラコナゾールを用いた臨床 DDIs 試験では、P-gp の基質であるイボシデニブの C_{max} に影響は確認されなかったこと（【AG120-C-007】試験）から、イボシデニブの PK に腸管の P-gp の関与はわずかであると考えられた（【2.7.2_3.3.1.4】項）。

In vitro 試験でイボシデニブは CYP2C8、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4/5（テストステロン 6β-水酸化及びミダゾラム 1'-水酸化）を弱く阻害した（IC_{50} 値：50 µmol/L 超、29,150 ng/mL 超に相当）。ヒトに推奨用量である 1 日量 500 mg を投与した時の C2D1 の非結合型 C_{max} は 550 ng/mL であることを考慮するとイボシデニブがこれらの P450 酵素を阻害することで臨床的な DDIs を発現する可能性は低いと考えられた（【2.7.2_3.3.2.1】項）。

イボシデニブは UGT1A1 を阻害し、IC_{50} 値は 40.7 µmol/L であった（23,728 ng/mL に相当、C_{max} の 6,551 ng/mL、非結合型の C_{max} の 550 ng/mL との比較）。イボシデニブは試験の最大濃度である 50 µmol/L で、UGT1A9 及び UGT2B15 をそれぞれ 23.5%及び 20.9%阻害したが、UGT1A3、UGT1A4、UGT1A6 及び UGT2B7 を阻害しなかった。これらのことから、ヒトに推奨用量のイボシデニブを投与した時に UGT1A1 を阻害することで DDIs を発現する可能性は低いと考えられた。一方、イボシデニブは、UGT を誘導する可能性があることから、UGT の基質の曝露量を減少させる可能性があると考えられた。

イボシデニブは、*in vitro* で OATP1B1 及び OATP1B3 を阻害し、IC_{50} 値はそれぞれ 9.56 及び 22.8 µmol/L（5,573 及び 13,292 ng/mL に相当）であった。また、イボシデニブは OAT1 及び OCT2 のプローブ基質の取り込みを阻害しない［IC_{50} 値：65 µmol/L 超（37,895 ng/mL 超に相当）］ものの、OAT3 のプローブ基質の取り込みを阻害した［IC_{50} 値：0.322 µmol/L（188 ng/mL に相当）］。ヒトに推奨用量である 1 日量 500 mg を投与した時の非結合型の平均 C_{max} に基づくと、イボシデニブが BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1 及び OCT2 を阻害することで臨床的な DDIs が発現する可能性は低いが、イボシデニブは OAT3 の基質との間で臨床的な DDIs を発現する可能性が考えられた。PBPK モデルのシミュレーションでは、イボシデニブの 500 mg QD の投与がメトトレキサートとの併用で OAT3 をわずかに（<30%）阻害すると予測された（【2.7.2_3.3.2.3】項）。

In vitro 試験でイボシデニブは、ヒトの CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9 及び CYP3A4 を誘導すること、CYP2C19 を誘導する可能性があることから、これらの基質の曝露量を減少させる可能性があると考えられた。PBPK において、イボシデニブの 500 mg を 1 日 1 回投与により、ブプロピオン、レパグリニド及びワルファリンを用いた予測では CYP2B6、CYP2C8 及び CYP2C9 が弱く誘導されること、ミダゾラムを用いた予測では CYP3A4 が強く誘導されることが示唆された。

In vitro 試験でイボシデニブは主に CYP3A4 で代謝され、CYP2B6 及び CYP2C8 も代謝にわずかであるが関与していた（【2.7.2_3.3.1.1】項）。したがって、CYP3A4 の強力な阻害剤との同時投与はイボシデニブの曝露量を増加させる可能性があると考えられる。これは、強力な CYP3A4 阻害剤であるイトラコナゾールを使用した臨床試験（【AG120-C-007】試験）で確認され、本試験では AUC が約 169%（幾何平均比：約 269%）増加したものの、C_{max} に影響はみられなかった。

イボシデニブをリファンピンなどの強力な CYP3A4 誘導剤との同時投与で血漿中イボシデニブ濃度が低下する可能性がある。一方、イボシデニブは CYP1A2 をほとんど誘導しなかった。また、ヒト培養肝細胞の CYP2C19 mRNA に対してイボシデニブは明らかな影響を示さなかった。イボシデニブ代謝の自己誘導はイボシデニブを 5〜7 日間投与したカニクイザルから分離した肝臓試料及びヒト肝細胞の *in vitro* 試験では確認されなかった。さらに、ヒト肝細胞試験では P450 酵素の自己誘導に関する用量－反応関係は認められなかった。しかしながら、ラット及びサルの反復投与試験で AUC の低下が確認されたこと（【2.6.7_[6,7]】項）から、イボシデニブ代謝の自己誘導の可能性は排除できなかった。

5.3　毒性

イボシデニブの毒性プロファイルは、*in vitro* 試験として GLP 適用の細菌を用いる復帰突然変異試験、小核試験及び光毒性試験、並びに Sprague-Dawley ラット、New Zealand White ウサギ及びカニクイザルを用いた *in vivo* 試験で十分に特徴が明らかとなっている。*In vivo* 試験として、GLP 適用のラット及びサルにおける 28 日間及び 3 カ月間反復投与毒性試験、GLP 適用のラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験、並びに GLP 適用のラット小核試験を実施した。イボシデニブは忍容性が良好であり、反復投与毒性試験における曝露量は、ヒトの推奨 1 日投与量 500 mg/日における C2D1 の $AUC_{0\text{-}24}$ 値に対して、0.5～1.1 倍（ラット 3 カ月間投与）及び 2.3 倍（サル 3 カ月間投与）であった。

動物を用いた反復投与毒性試験では、血液学的異常（ラットで大腿骨／胸骨骨髄の低細胞性、出血及び壊死並びにリンパ系器官のリンパ系細胞減少／壊死、ラット及びサルで赤血球量の減少）が観察された。イボシデニブを投与したラットでは血液学的異常が用量制限毒性であった。反復投与毒性試験のラットで脾臓の髄外造血及び褐色色素が観察された。

動物を用いた反復投与毒性試験では、肝毒性（ラットで小葉中心性肝細胞変性／壊死、ラット及びサルで肝細胞の酵素誘導と一致する肝臓所見）が観察された。イボシデニブを投与したラットで肝毒性は用量制限毒性であった。肝 P450 酵素の誘導により、通常肝細胞肥大が発現することが知られている [17]。ラット及びサルで観察された肝臓重量の増加を伴う肝細胞肥大は、イボシデニブによる肝臓の P450 酵素誘導に起因すると考えられる。ラットで観察された甲状腺濾胞細胞の過形成は、肝ミクロソーム酵素の誘導を通した末梢での甲状腺ホルモン代謝の亢進に起因していると考えられるため、これはラットでの P450 酵素誘導の発現の裏付けとなる [18), 19)]。また、イボシデニブは主に CYP3A4 で代謝されることから、ラット及びサルへのイボシデニブの反復投与後に観察された AUC の減少により、非臨床毒性試験に使用した動物種におけるイボシデニブの CYP3A 誘導作用の可能性がさらに高まる。

ラットで観察された被膜下肝細胞壊死／線維化は、P450 酵素誘導の結果生じた肝臓肥大による直接的な肝臓被膜下への圧力の二次的影響と考えられた。このパターンの壊死は、ラットの GLP 適用 28 日間反復投与毒性試験の非忍容量で観察された小葉中心性壊死とは明瞭に区別される。小葉中心性肝細胞壊死はラットの早期死亡の要因と考えられ、P450 酵素誘導とは関連がないと考えられる。γ-グルタミルトランスフェラーゼ及びビリルビンの増加は肝細胞肥大の二次的影響と考えられた。ソルビトール脱水素酵素及びアラニンアミノトランスフェラーゼの増加は、肝細胞壊死の二次的影響と考えられた。サルでは肝臓に肝細胞肥大以外の病理組織学的所見は観察されなかった。28 日間投与試験で観察された血清ビリルビンの増加は肝細胞肥大と関連する。

ラットの反復投与毒性試験の 1 試験で腎毒性（腎臓の尿細管空胞化／壊死）が観察された。イボシデニブを投与したラットの腎毒性は用量制限毒性であった。

動物の反復投与毒性試験で消化器毒性（ラットで下痢など便の異常及び消化管粘膜細胞の過形成／萎縮／びらん、並びにサルで嘔吐、糞便の異常及び下痢）が観察された。イボシデニブを投与したサルの消化器毒性は用量制限毒性であった。

イボシデニブは細菌を用いる *in vitro* 復帰突然変異試験（Ames 試験）で変異原性を示さず、ヒトリンパ球を用いる *in vitro* 小核試験及び *in vivo* ラット骨髄小核試験で染色体異常を誘発しなかった。

イボシデニブは光毒性作用を示さなかった。

イボシデニブの動物を用いた受胎能試験は実施していない。生殖器官に対する影響はラットの GLP 適用 28 日間投与試験のみでみられた。雌性生殖器官に対する影響は最高用量（非忍容量、ヒトの 1.7 倍の曝露量）の動物で認められた変化であり、ストレスに伴う二次的変化の可能性が考えられた。なお、子宮萎縮以外にストレスに伴う所見はなかった。予定剖検までに早期死亡した雄ラットにおいてのみ非忍容量（ヒトの曝露量の 1.2 倍）で精巣変性が観察され、ストレスによる二次的影響の可能性が考えられたが、イボシデニブの影響も除外することはできない。雄の忍容量で認められた所見は、関連する病理組織学的変化を伴わない前立腺重量の減少のみであった。

ラット及びウサギを用いてイボシデニブの胚・胎児発生に及ぼす影響の特徴を十分に明らかにした。主な発生毒性としてウサギで着床後胚損失の増加、両動物種で胎児重量の減少とそれに伴う骨格の骨化遅延／未骨化及びウサギのみで脾臓の小型化が観察され、ラットとウサギの胚・胎児発生に関する無毒性量はそれぞれ 100 及び 90 mg/kg（それぞれヒトの 500 mg/日投与における C2D1 の $AUC_{0\text{-}24}$ 値に対して約 0.4 倍及び 1.4 倍）であった。ラット及びウサギで催奇形性は認められなかった。これらの所見から、イボシデニブの投与によりヒトの胚・胎児発生に影響を及ぼす可能性が考えられる。

以上より、一連の非臨床薬理、安全性薬理、PK 及び毒性試験によりイボシデニブの非臨床プロファイルの特徴を明らかにした。これら非臨床試験の結果は、IDH1 遺伝子変異を有する未治療の AML 患者（イボシデニブとアザシチジンの併用）に対する本承認申請を支持する。

6. 参考文献

1) Chowdhury R, Yeoh KK, Tian YM, et al. The oncometabolite 2-hydroxyglutarate inhibits histone lysine demethylases. EMBO Rep. 2011;12(5):463-469. [PE0163011]
2) Koivunen P, Lee S, Duncan CG, et al. Transformation by the (R)-enantiomer of 2-hydroxyglutarate linked to EGLN activation. Nature. 2012;483(7390):484-488. [PE0163266]
3) Xu W, Yang H, Liu Y, et al. Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of α-ketoglutarate-dependent dioxygenases. Cancer Cell. 2011;19(1):17-30. [PE0162978]
4) ICH S9: Nonclinical Evaluation for Anticancer Pharmaceuticals. 2009. [PE0067928]
5) ICH S2(R1): Guidance on Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use. 2011. [PE0121990]
6) EMA/CHMP/SAWP/713016/2016; EMA Scientific Advice. 2016.
7) ICH S7A: Note for Guidance on Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals. 2001. [PE0067466]
8) Yen K, Chopra VS, Tobin E, et al. Poster: Functional characterization of the ivosidenib (AG 120) and azacitidine combination in a mutant IDH1 AML cell model. Cancer Res. 2018a; 78(13 Supplement):4956. [PE0163679]
9) Yen K, Chopra VS, Tobin E, et al. Abstract 4956: Functional characterization of the ivosidenib (AG-120) and azacitidine combination in a mutant IDH1 AML cell model. Cancer Res. 2018b; 78(13 Supplement):4956. [PE0163677]
10) Morganroth J. Focus on issues in measuring and interpreting changes in the QTc interval duration. Eur J Heart Suppl. 2001;3(Suppl K):K105-K111. [PE0162787]
11) Redfern WS, Carlsson L, Davis AS, et al. Relationships between preclinical cardiac electrophysiology, clinical QT interval prolongation and torsade de pointes for a broad range of drugs: evidence for a provisional safety margin in drug development. Cardiovasc Res. 2003;58(1):32-45. [PE0035382]
12) FDA: Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation. 2001. [PE0033270]
13) EMA: Guideline on Bioanalytical Method Validation. 2011. [PE0074636]
14) ICH Q3A(R2): Impurities in New Drug Substances. 2006. [PE0125111]
15) ECHA, European Chemicals Agency, Registered substances. https://echa.europa.eu/
16) ICH Guidance S10 on Photosafety Evaluation of Pharmaceuticals (25 August 2015; EMA/CHMP/ICH/752211/2012). 2015. [PE0162821]
17) Maronpot RR, Yoshizawa K, Nyska A, et al. Hepatic enzyme induction: histopathology. Toxicol Pathol. 2010 Aug;38(5):776-795. [PE0162781]
18) Klaassen CD, Hood AM. Effects of microsomal enzyme inducers on thyroid follicular cell proliferation and thyroid hormone metabolism. Toxicol Pathol. 2001 Jan-Feb;29(1):34-40. [PE0067555]
19) Capen CC. Mechanistic data and risk assessment of selected toxic end points of the thyroid gland. Toxicol Pathol. 1997 Jan-Feb;25(1):39-48. [PE0162689]

Appendix 1：モジュール 4 に添付資料のない項目

Module	Title	Description of Data / Justification (if appropriate)
4.2.1.4	**Pharmacodynamic Drug Interactions**	No studies were conducted. This is considered to be justified as this type of study is not required by the ICH guideline S9.
4.2.2.7	**Other Pharmacokinetic Studies**	No studies were conducted. This is considered to be justified as this type of study is not required by the ICH guideline S9.

Module	Title	Description of Data / Justification (if appropriate)
4.2.3.4	**Carcinogenicity**	No studies were conducted. In accordance with ICH S9 carcinogenicity studies are not warranted, as ivosidenib is intended for the treatment of patients with AML with an IDH1 mutation.
4.2.3.5.1	**Fertility and Early Embryonic Development**	No studies were conducted. In accordance with ICH guideline S9, such studies are not warranted as ivosidenib is indicated for the treatment of patients with AML with an IDH1 mutation.
4.2.3.5.3	**Prenatal and Postnatal Development, Including Maternal Function**	No studies were conducted. In accordance with ICH guideline S9, such studies are not warranted as ivosidenib is indicated for the treatment of patients with AML with an IDH1 mutation.
4.2.3.5.4	**Studies in Juvenile Animals**	Studies in juvenile animals have not been conducted. In accordance with ICH guideline S9, studies in juvenile animals are not warranted. [redacted] No study in juvenile animals was deemed necessary in the agreed PIP for the treatment of pediatric patients from 2 to less than 18 years of age with newly diagnosed or R/R AML with an IDH1 mutation. (Module 1, Section 10).
4.2.3.6	**Local Tolerance**	No dedicated local tolerance testing was conducted. The intended route of administration is oral. The gastrointestinal tract was evaluated in all repeat-dose toxicology studies in Sprague-Dawley rats and cynomolgus monkeys.
4.2.3.7.1	**Antigenicity**	No studies were conducted. This is considered to be justified as this type of study is not required by the ICH guideline S9.
4.2.3.7.2	**Immunotoxicity**	No studies were conducted. The general toxicology studies conducted are considered sufficient to evaluate immunotoxic potential as described in ICH guideline S9.
4.2.3.7.3	**Mechanistic Studies**	No studies were conducted. This is considered to be justified as this type of study is not required by the ICH guideline S9.
4.2.3.7.4	**Dependence**	No studies were conducted. This is considered to be justified as this type of study is not required by the ICH guideline S9.
4.2.3.7.5	**Metabolites**	No studies were conducted. This is considered to be justified as this type of study is not required by the ICH guideline S9.