目次

略語一覧 2
2.4 非臨床試験の概括評価 4
2.4.1 緒言 4
2.4.2 非臨床試験計画概略 4
2.4.3 薬理試験 5
2.4.4 薬物動態試験 6
2.4.5 毒性試験 7
2.4.6 総括及び結論 10
参考文献 12

略語一覧

略語	英名	和名
AUC_{0-24}	area under the plasma concentration-time curve from the start of dosing (0 h) to 24 h	投与直後から 24 時間までの濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-72}	area under the plasma concentration-time curve from the start of dosing (0 h) to 72 h	投与直後から 72 時間までの濃度－時間曲線下面積
ACK	activated CDC42-associated kinase	－
ALK	anaplastic lymphoma kinase	－
ATP	adenosine 5’-triphosphate	アデノシン 5’-三リン酸
BCRP	breast cancer resistance protein	乳癌耐性タンパク質
C_{max}	maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
CYP	cytochrome P450	チトクロム P450
DDR1	discoidin domain receptor tyrosine kinase 1	－
EGFR	epidermal growth factor receptor	－
ETV6	ETS variant transcription factor 6 （別名 TEL）	－
GI_{50}	half maximal growth inhibitory concentration	50%増殖抑制濃度
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
h	hour	時間
HEK	human embryonic kidney	ヒト胎児腎臓
hERG	human ether-a-go-go-related gene	ヒト遅延整流性カリウムイオンチャネル遺伝子
HNSTD	highest non-severely toxic dose	重篤な毒性が発現しない最大投与量
$hNa_v1.5$	human sodium channel protein type 5 subunit alpha	ヒトナトリウムチャネル蛋白質 5 型サブユニットα
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation	医薬品規制調和国際会議
IL	interleukin	インターロイキン
K_i	inhibition constant	阻害定数
K_m	Michaelis constant	ミカエリス定数
KRAS	v-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog	－
LC-MS/MS	liquid chromatography/tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法
LTK	leukocyte receptor tyrosine kinase	－
MATE	multidrug and toxin extrusion	H^+/有機カチオン逆輸送体

略語	英名	和名
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NSCLC	non-small cell lung cancer	非小細胞肺癌
NTRK	neurotrophic tyrosine receptor kinase	－
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-糖タンパク質
QA 間隔	index of cardiac contractility (the time interval between the “Q” point of the QRS complex and the beginning of the arterial blood pressure upstroke, called “A”)	心収縮の指標（QRS 群の「Q」点と、「A」と呼ばれる動脈圧上昇の始まりとの間の時間間隔）
QRS	a combination of the Q wave, R wave and S wave, the QRS complex represents ventricular depolarization	Q 波、R 波、S 波の組み合わせ。QRS 群は心室脱分極を示す
QT 間隔	time from the start of the Q wave to the end of the T wave, time taken for ventricular depolarization and repolarization	Q 波開始から T 波終了までの時間、心室脱分極及び再分極に要する時間
QTc	time from the start of the Q wave to the end of the T wave, corrected for heart rate	心拍数で補正した Q 波の開始から T 波の終了までの時間
QWBA	quantitative whole-body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
ROS1	ROS proto-oncogene 1, receptor tyrosine kinase	－
STD_{10}	severely toxic dose in 10% of animals	動物の 10%に重度の毒性が発現する投与量
TEL	translocation-Ets-leukemia gene（別名 ETV6）	－
TK	toxicokinetic	トキシコキネティクス
TPM3	tropomyosin 3	トロポミオシン 3
TRK	tropomyosin receptor kinase	－
TXK	TXK tyrosine kinase	－

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 緒言

タレトレクチニブカプセル 200mg（以下、本剤）は、中枢移行性を有する強力な選択的 ROS1 チロシンキナーゼ阻害剤である。*ROS1* 遺伝子は発がんドライバー遺伝子として知られており（Inoue et al. 2016）、通常、*EGFR*、*KRAS* 又は *ALK* などの他のドライバー遺伝子変異と相互排他的である（Zhu et al. 2018）。また、本剤の有効成分であるタレトレクチニブアジピン酸塩は、TRK（*NTRK1*、*NTRK2* 及び *NTRK3* でそれぞれコードされる TRKA、TRKB 及び TRKC）に対する阻害作用も示した。

本剤の有効成分はアジピン酸塩として開発されており、非臨床試験では遊離体（タレトレクチニブ）及びアジピン酸塩（タレトレクチニブアジピン酸塩）が用いられているが、概括評価、概要文及び概要表では、特に記載のない限り、濃度及び用量の表記はすべて遊離体として示す。

2.4.2 非臨床試験計画概略

本剤の非臨床評価は、*ROS1* 融合遺伝子陽性の NSCLC の治療を目的として、その有効性及び安全性を裏付けるために、「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」（薬食審査発 0604 第 1 号．平成 22 年 6 月 4 日；ICH S9）、「「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」について」（薬食審査発 0219 第 4 号．平成 22 年 2 月 19 日；ICH M3(R2)）、「安全性薬理試験ガイドラインについて」（医薬審発 902 号．平成 13 年 6 月 21 日；ICH S7A）、「ヒト用医薬品の心室再分極遅延（QT 間隔延長）の潜在的可能性に関する非臨床的評価について」（薬食審査発 1023 第 4 号．平成 21 年 10 月 23 日；ICH S7B）のガイドライン、及びその他の関連ガイドラインに従って非臨床試験計画を策定した。

効力を裏付ける試験では、ROS1、TRKA、TRKB 及び TRKC キナーゼ活性の阻害、並びに *ROS1* 融合遺伝子、*ROS1* 融合遺伝子の変異体 $ROS1^{L1951R}$、$ROS1^{L2026M}$、$ROS1^{G2032R}$、$ROS1^{D2033N}$ 及び *NTRK* 融合遺伝子それぞれを導入又は有する細胞でのタレトレクチニブの増殖抑制作用を、複数の in vitro 及び in vivo モデルを使用して評価した。

安全性薬理試験として、in vitro での hERG チャネルアッセイ及びナトリウムチャネルアッセイを実施し、さらに in vivo でラットを用いた機能観察総合評価及び呼吸機能試験、テレメトリー装着覚醒サルを用いた心血管系試験を実施した。全ての安全性薬理試験は、GLP に準拠して実施した。

薬物動態試験では、LC-MS/MS を用いたラット、ウサギ及びサルの血漿中タレトレクチニブ濃度の分析法を開発し、バリデーションを行った。ラット、ウサギ及びサルを用いて、タレトレクチニブの TK 試験を実施した。ラットに単回経口投与した QWBA 試験、並びにマウス、ラット、サル及びヒトの血漿を用い、in vitro で血漿タンパク結合率を測定した。ラット、サル及びヒトの肝細胞を用いて、[^{14}C] タレトレクチニブの代謝率及び代謝物組成分率を算出し、遺伝子組換えヒト CYP 及びヒト肝ミクロソームを用いて、タレトレクチニブの代謝に関与する CYP を同定した。ヒトの肝ミクロソーム及び凍結肝細胞を用いて、CYP の阻害／誘導試験を実施した。さらに in vitro 試験で、タレトレクチニブが薬物トランスポーターの基質又は阻害剤となる可能性を評価した。

毒性試験として、ラット及びサルを用いた、14 日間の反復経口投与用量設定試験、28 日間及び 85 日間の反復経口投与毒性試験（それぞれ 28 日間及び 57 日間の休薬期間を含む）、一連の in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験、ラットを用いた受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、ラッ

ト及びウサギを用いた胚及び胎児発生に関する試験、並びに BALB/c 3T3 細胞を用いた in vitro 光毒性試験を実施した。ラット及びサルを用いた 14 日間の用量設定試験を除いて、全ての毒性試験は GLP に準拠して実施した。一般毒性試験に用いる動物種は、げっ歯類のラット及び非げっ歯類のサルを選択した。ヒト肝細胞で認められた代謝物はいずれも少なくとも 1 種の実験動物の肝細胞で検出され、ヒト特異的な代謝物は認められなかった。このことから、非臨床安全性評価試験に両動物種を用いることは適切であり、投与経路は、ヒトでの投与経路である経口投与を選択した。

2.4.3 薬理試験

タレトレクチニブの効力を裏付ける試験を in vitro 及び in vivo で実施した。In vitro アッセイで、タレトレクチニブは ROS1、TRKA、TRKB 及び TRKC の活性を阻害した。ATP 濃度を K_m レベルに設定した条件下では IC_{50} 値はそれぞれ 0.207、0.622、2.276 及び 0.980 nmol/L、ATP 濃度が 10 µmol/L の条件下では、0.073、1.26、1.47 及び 0.182 nmol/L であった。TRKB と比較して ROS1 に対して約 11～20 倍の選択性を示した。

タレトレクチニブは、*ROS1* 融合遺伝子並びにクリゾチニブ耐性 $ROS1^{L2026M}$ 及び $ROS1^{G2032R}$ 融合遺伝子変異体を導入したマウス由来 IL-3 依存性プロ B（Ba/F3）細胞に対し、クリゾチニブより強力な in vitro 細胞増殖抑制作用を示し、また、*TRKA*、*TRKC* 及び変異を持つ *ALK* 融合遺伝子を導入した Ba/F3 細胞においてもクリゾチニブと同等以上の細胞増殖抑制作用を示した。タレトレクチニブは、in vitro で *CD74-ROS1*、$CD74\text{-}ROS1^{L1951R}$、$CD74\text{-}ROS1^{L2026M}$、$CD74\text{-}ROS1^{G2032R}$ 及び $CD74\text{-}ROS1^{D2033N}$ 融合遺伝子それぞれを導入した Ba/F3 細胞の増殖を抑制し、GI_{50} 値はそれぞれ 0.7、4.1、3.5、13.1 及び 27.4 nmol/L であった（親株の Ba/F3 細胞に対する GI_{50} 値は 1396.7 nmol/L）。また、タレトレクチニブは、*SLC34A2-ROS1*、$SLC34A2\text{-}ROS1^{G2032R}$、$SLC34A2\text{-}ROS1^{L2026M}$ 及び $SLC34A2\text{-}ROS1^{D2033N}$ 融合遺伝子により誘導されるがん細胞の増殖も抑制し、IC_{50} 値はそれぞれ 10.1、143.4、19.0 及び 117.9 nmol/L であった。一方、クリゾチニブの IC_{50} 値はそれぞれ 41.1、＞1000、127.1 及び 107.5 nmol/L であった。

タレトレクチニブは、in vitro で *SLC34A2-ROS1* 融合遺伝子を有するヒト NSCLC 患者由来 HCC78 細胞及び *FIG-ROS1* 融合遺伝子を有するヒト神経膠芽腫由来 U-118 MG 細胞で、ROS1 のリン酸化を用量依存的に阻害した。さらに、U-118 MG 細胞の異種移植モデルでも、25 mg/kg/日以上の用量で腫瘍組織中の ROS1 のリン酸化を阻害した。また、タレトレクチニブは、in vitro で 100 及び 1000 nmol/L で *CD74-ROS1* 及び $CD74\text{-}ROS1^{G2032R}$ 融合遺伝子によって誘導される Ba/F3 細胞内の ROS1 シグナル伝達経路を阻害し、これら融合遺伝子を Ba/F3 細胞に導入した Ba/F3-*CD74-ROS1* 細胞及び Ba/F3-$CD74\text{-}ROS1^{G2032R}$ 細胞のマウス同種移植モデルにおいて 10 mg/kg/日以上で ROS1 のリン酸化を阻害した。

タレトレクチニブは、Ba/F3-*CD74-ROS1* 細胞のマウス同種移植モデルに対し、3 mg/kg/日以上の用量で用量依存的な腫瘍増殖抑制作用を示した。また、*CD74-ROS1* 融合遺伝子を有するヒト NSCLC 患者由来 CTG-0848 細胞異種移植モデルでは 10、30 及び 100 mg/kg/日の用量で有意な腫瘍増殖抑制作用を示した。さらに、タレトレクチニブは、クリゾチニブ耐性 Ba/F3-$CD74\text{-}ROS1^{G2032R}$ 細胞のマウス同種移植モデルに対して 30 mg/kg/日以上の用量で腫瘍増殖抑制作用を示した。*SDC4-ROS1* 融合遺伝子を有するヒト NSCLC 患者由来 LU-01-0414 細胞を用いたマウス頭蓋内異種移植モデルでは、30 及び 100 mg/kg/日の用量で、生存期間の中央値を有意に延長した。

TPM3-NTRK1 融合遺伝子を有するヒト結腸直腸癌由来 KM12 細胞における TRK リン酸化に対するタレトレクチニブの阻害活性を、Tyr490 及び Tyr674/675 でのリン酸化 TRKA タンパク質濃度を定量して評価した。IC_{50} 値は Tyr490 で 13.8 nmol/L、Tyr674/675 で 14.6 nmol/L であった。タレトレクチニブは KM12 細胞の増殖に対して濃度依存的な抑制作用を示し、GI_{50} 値は 53.2 nmol/L であった。また、タレトレクチニブは、in vitro で *ETV6-NTRK1*、*ETV6-NTRK2* 及び *ETV6-NTRK3* 融合遺伝子それぞれを導入した Ba/F3 細胞の増殖を抑制し、その GI_{50} 値はそれぞれ 17.8、19.1 及び 7.8 nmol/L であった。さらにタレトレクチニブは、ヒト結腸直腸癌由来 KM12-HX 細胞を用いた異種移植モデル、並びに *TEL-ALK*、*TEL-ALK*^{L1196M}、*TEL-NTRK1* 及び *TEL-NTRK3* 融合遺伝子それぞれを導入した Ba/F3 細胞を用いた同種移植モデルなどのマウス腫瘍モデルにおいても抗腫瘍効果を示した。

Off-chip mobility shift アッセイを用いて、160 種類のキナーゼに対するタレトレクチニブの選択性及び阻害作用を評価した。ROS1、TRKA、TRKB 及び TRKC に対する阻害率はそれぞれ 101、100、95 及び 96%であり、IC_{50} 値はそれぞれ 0.90、3.0、9.5 及び 9.3 nmol/L であった。また、ACK、ALK、DDR1、LTK 及び TXK でも 50%を超える阻害が認められたが、IC_{50} 値は 15.4 nmol/L 以上であった。試験したその他のキナーゼに対する作用はほとんど認められなかった。

安全性薬理試験については、in vitro hERG チャネル及び $hNa_v1.5$ アッセイを実施した（GLP 適用）。また、タレトレクチニブの呼吸系、心血管系及び中枢神経系に対する作用を in vivo で評価した（GLP 適用）。

タレトレクチニブは、in vitro において hERG カリウムチャネルを安定的に発現させた HEK293 細胞を用いて測定した hERG カリウム電流を阻害し、推定 IC_{50} 値は 0.98 μmol/L であった。さらに、タレトレクチニブは in vitro モデルにおいて $hNa_v1.5$ のピーク電流を阻害し、使用依存性ブロックによる IC_{50} 値は 0.83 μmol/L であった。試験した最高濃度（20 μmol/L）で、タレトレクチニブは 47.1%の $hNa_v1.5$ 電流のトニックブロックを示した。

テレメトリーを装着した覚醒サルを用いて心血管系機能に対する作用を評価した。タレトレクチニブを最大 100 mg/kg/日の用量で投与したときに認められた作用は、軽微かつ一過性の QA 間隔の延長に限られ、有害作用ではないと判定された。QT 及び QTc 間隔、あるいは QRS 持続時間に対する作用はなく、in vitro のイオンチャネル作用による機能的影響はないことが示された。タレトクチニブは心血管系機能に対して毒性を示さないと考えられた。

28 日間反復経口投与毒性試験の一部として、ラットの呼吸機能及び中枢神経系に対するタレトレクチニブの作用を、最大 100 mg/kg/日の用量で評価した。呼吸機能及び中枢神経系にタレトレクチニブに関連した作用は認められなかった。

2.4.4 薬物動態試験

ラット、ウサギ及びサルの血漿中タレトレクチニブ濃度分析法のバリデーションを、1～1000 ng/mL（ラット及びウサギ）、2～2000 ng/mL（ラット）、5～1000 ng/mL（ラット及びサル）並びに 0.5～500 ng/mL（サル）の濃度範囲で、それぞれ LC-MS/MS を用いて実施した。

タレトレクチニブの吸収、分布、代謝及び薬物相互作用の可能性を検討した。ラット及びサルを用いた 14 日間反復投与用量設定試験並びに 28 日間及び 85 日間の反復投与毒性試験、並びにラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験において、タレトレクチニブの TK 試験を実施した。タレトレクチニブの最大血漿中濃度到達時間は単回及び反復投与ともに投与後 0.5～24 時間であ

り、用量の増加とともに曝露量は増加し、顕著な性差は認められなかった。初回投与に対する最終投与の曝露量比は、用量の増加及び投与期間が長くなるにつれて高くなる傾向にあった。

ラットに[^{14}C]タレトレクチニブを単回経口投与した QWBA において、放射能は組織に広範に分布し、放射能濃度は投与 4～8 時間後に最高値に達した。放射能濃度は膀胱尿で最も高く、次いで小腸、肺、副腎、脾臓、下垂体及び甲状腺であった。その後、放射能濃度はほとんどの組織で血液中濃度と並行して低下し、投与後 168 時間の放射能濃度から一部の組織を除いて[^{14}C]タレトレクチニブ由来物質の残留は低いと考えられた。さらに、タレトレクチニブは脳内に移行することが示された。有色ラットでは有色皮膚中放射能濃度は白色皮膚と比べて投与後 168 時間まで検出されたこと、及び眼球内放射能濃度は投与 72 時間後に最高濃度に達し、投与後 168～672 時間まで高く維持されたことから、[^{14}C]タレトレクチニブ由来物質のメラニンへの結合が示唆された。有色ラットにおける放射能の分布は、メラニン含有組織（眼球及び有色皮膚）を除き白色ラットとほぼ同様の傾向を示した。マウス、ラット、サル及びヒトの血漿中におけるタレトレクチニブの in vitro タンパク結合率は高かった（90.7～97.2%）。タレトレクチニブはヒト赤血球に中等度に分布した。

ラット、サル及びヒトの肝細胞を用いて、in vitro で[^{14}C]タレトレクチニブの代謝を検討した。タレトレクチニブの主要な代謝経路は酸化で、主代謝物は M10 であり、M20 及び M1 も認められた。ヒト肝細胞で認められたいずれの代謝物も、少なくとも 1 種の他の非臨床動物種の肝細胞で検出され、ヒト特異的な代謝物は認められなかった。遺伝子組換えヒト CYP 及びヒト肝ミクロソームを用いた検討では、タレトレクチニブは主に CYP3A により代謝され、CYP2C8 はわずかに関与することが示された。

ヒト肝ミクロソームでは、タレトレクチニブは CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4（基質：ミダゾラム、ニフェジピン及びテストステロン）の活性を阻害（IC_{50} 値：7.6、16、1.9、2.6、7.1、2.3、0.46、0.38 及び 0.45 μmol/L）し、このうち CYP2C8、CYP2C9、CYP2D6 及び CYP3A4（ミダゾラム及びテストステロン）に対する K_i 値はそれぞれ 0.98、21、0.52、2.3 及び 0.46 μmol/L であった。検討したいずれの CYP でも mechanism-based inhibition は認められなかった。

ヒト肝細胞を用いた検討において、酵素活性及び遺伝子発現の結果に基づき、タレトレクチニブは CYP2B6 に対して 3.3 μmol/L まで、CYP3A4 に対して 1.0 μmol/L まで誘導しないと考えられた。遺伝子発現の結果に基づくと CYP1A2 に対して 0.33 μmol/L まで誘導せず、酵素活性の結果に基づくと 1.0 μmol/L まで誘導しなかった。

In vitro 輸送試験から、タレトレクチニブは P-gp の基質であるが、他のトランスポーターの基質ではないことが示された。タレトレクチニブは、P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K を阻害し、IC_{50} 値はそれぞれ 2.29、4.34、4.71、17.6、15.4、61.1、18.0、0.162 及び 0.154 μmol/L であった。

2.4.5 毒性試験

ラット 14 日間反復経口投与用量設定試験でタレトレクチニブを 0、100、300 又は 1000 mg/kg/日の用量で投与した結果、雌雄の 300 mg/kg/日以上の用量で死亡例が認められた。100 mg/kg/日（MTD）では、軽度な体重増加抑制及び摂餌量の軽度な減少が認められ、いくつかの臨床検査パラメータに軽微な変化が認められた。

ラット 28 日間反復経口投与毒性及び TK 試験では、0、10、30 又は 100 mg/kg/日の用量で投与した結果、100 mg/kg/日群で体重増加抑制及び／又は体重減少、臨床検査パラメータの軽微から中等度の変化、並びに多数の組織／器官に上皮／実質細胞の空胞化、泡沫状マクロファージの集簇／炎症細胞浸潤、変性及び／又は炎症性変化の病理組織学的所見が認められた。28 日間の休薬期間後、ほとんどの所見が回復又は回復傾向を示した。本試験条件下では、タレトレクチニブの STD_{10} を明確に確定できなかったが、STD_{10} は 100 mg/kg/日を超えると推定された。

ラット 85 日間反復経口投与毒性及び TK 試験では、0、20、65 又は 100 mg/kg/日の用量で投与した。65 mg/kg/日群以上の雌雄で顕著な体重減少及び血清肝機能パラメータの上昇、100 mg/kg/日群の雄で平均摂餌量の一過性の減少が認められた。病理組織学的変化として、複数の器官で上皮／実質細胞の細胞質空胞化及び泡沫状マクロファージの集簇／空胞化マクロファージが認められた。所見は主に軽微から軽度であり、65 mg/kg/日群以上の用量で認められた。所見が認められた器官は、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、顎下腺、舌下腺、食道、精嚢、子宮、下垂体、上皮小体、脳、下顎及び腸間膜リンパ節であった。投与期間終了時剖検では、溶媒投与群及びタレトレクチニブ投与群の肺に泡沫状マクロファージの集簇が認められたが、タレトレクチニブを投与した動物における泡沫状マクロファージ／泡沫状物質の集簇の発現率には用量依存的な増加が認められた。骨髄塗抹検査、眼科学的検査及び体温の評価において、タレトレクチニブに関連した変化は認められなかった。認められた病理組織学的変化は、肺を除き 57 日間の休薬期間後に回復した。肺においては、65 mg/kg/日群以上で認められた肺胞の泡沫状マクロファージの集簇／泡沫状物質が、その後の結晶形成に影響した可能性があり、回復性は示されなかった。この試験では、タレトレクチニブの HNSTD は 20 mg/kg/日と判断され、この用量を投与したときの Day 85 における雌雄の平均 C_{max} は 596.53 ng/mL、$AUC_{0\text{-}72}$ は 5709.68 ng･h/mL であった。

サル 14 日間反復経口投与用量設定試験で、0、30、100 又は 1000/300 mg/kg/日の用量で投与した結果、300 mg/kg/日以上の用量で死亡例が認められた。30 及び 100 mg/kg/日群において認められた変化は、散発的な嘔吐及び臨床検査パラメータの軽微な変化のみであり、忍容性は良好であった。300 mg/kg/日以上の用量で死亡が発生したため、この試験における MTD は 100 mg/kg/日であった。

サル 28 日間反復経口投与毒性及び TK 試験では、0、10、30 又は 100 mg/kg/日の用量で投与した。本試験では、死亡は認められなかった。タレトレクチニブ投与群で散発性の嘔吐及び臨床検査パラメータの軽微な変化が認められたが、投与した全ての用量でタレトレクチニブの忍容性はおおむね良好であった。病理組織学的所見は、小腸（十二指腸、空腸及び回腸）、腸間膜リンパ節、腎臓及び胃で認められ、その発現率及び程度には用量相関性が認められた。全ての臨床検査及び病理組織学的所見は 28 日間の休薬期間後に回復するか、回復傾向を示した。さらに、投与期間終了時又は休薬期間終了時の剖検例において、眼科学的検査や心電図パラメータにタレトレクチニブに関連した所見は認められなかった。本試験の結果に基づき、タレトレクチニブの HNSTD は 100 mg/kg/日と判断された。この用量を投与したときの Day 28 における C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24}$ は、雄で 427 ng/mL 及び 6590 ng･h/mL、雌で 601 ng/mL 及び 10000 ng･h/mL であった。

サル 85 日間反復経口投与毒性及び TK 試験では、0、10、30 又は 60/48 mg/kg/日の用量で投与した。60 mg/kg/日群では投与開始後 11 日以内に雄 2 例及び雌 1 例が死亡したため、投与量を 48 mg/kg/日に減量した。投与期間終了時剖検では、タレトレクチニブに関連した病理組織学的所見は消化管（胃、十二指腸、空腸及び回腸）、腸間膜リンパ節及び肺で認められ、胃粘膜固有層における胃

底腺の腺上皮の軽微な再生、十二指腸、空腸及び回腸の粘膜固有層における泡沫状マクロファージの浸潤、腸間膜リンパ節における組織球症、並びに肺胞における軽微から軽度の泡沫状マクロファージの集簇が認められた。これらの所見は、おおむね 30 又は 48 mg/kg/日群の雌雄いずれか又は両方で認められた。タレトレクチニブに関連した所見のほとんどは 57 日間の休薬期間後に完全に回復したが、胃及び腸間膜リンパ節では回復傾向であった。さらに、タレトレクチニブを投与したサルにおいて、体重、体温、眼科学的検査、血圧、心電図パラメータ、骨髄塗抹検査及び器官重量に変化は認められなかった。この 85 日間反復投与試験の結果から、タレトレクチニブをサルに 30 mg/kg/日までの用量で投与したとき、観察された毒性学的変化は 57 日間の休薬期間終了後に回復及び／又は回復傾向が認められた。したがって、タレトレクチニブの HNSTD は 30 mg/kg/日と判断された。この用量を投与したときの Day 85 における雌雄の平均 C_{max} は 813.04 ng/mL、$AUC_{0\text{-}24}$ は 13941.54 ng･h/mL であった。

遺伝毒性試験では、最初に実施した細菌を用いた復帰突然変異試験において、タレトレクチニブ（ロット番号：RS102）は、試験菌株 TA98 に対して代謝活性化系の存在下で陽性を示した。しかし、タレトレクチニブ（最初に試験したロット番号:RS102 及び代替新規ロット番号:CPo124073-01-04-01-26-01）を異なる試験施設 3 施設において追加試験を実施した結果、代謝活性化の有無にかかわらず結果は陰性であった。In vitro 染色体異常試験において、タレトレクチニブが構造異常及び数的異常を誘発する可能性が示された。しかし、その後に実施したラットの肝臓及び骨髄における in vivo 小核試験の結果は陰性であったことから、タレトレクチニブで誘発される染色体異常は in vivo では生じないと推定された。これらの結果からタレトレクチニブが遺伝毒性を示す可能性は低いと考えられた。

ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験において、雄には 0、4、25 又は 60 mg/kg/日、雌には 0、4、25 又は 100 mg/kg/日の用量でタレトレクチニブを投与した。雄では、60 mg/kg/日群で有意な体重減少が認められたが、受胎率、交尾率、精子運動性、精子数及び雄性生殖器にタレトレクチニブに関連した影響は認められなかった。雌では、いずれの投与群においてもタレトレクチニブに関連した変化は認められず、交尾率、妊娠率及び受胎率に顕著な影響は認められなかった。以上から、雄の生殖毒性に関する NOAEL は 60 mg/kg/日であり、雌の生殖毒性に関する NOAEL は 100 mg/kg/日であった。

ラット胚及び胎児発生に関する試験では、妊娠ラットに 0、7.35、22.1 又は 73.5 mg/kg/日の用量でタレトレクチニブを投与した。投与した全ての雌は剖検時まで生存し、妊娠転帰に対する顕著な影響は認められなかった。タレトレクチニブの投与と関連した胎児への影響は、73.5 mg/kg/日（高用量）を投与した雌の胎児で認められた骨盤骨の骨化異常であった。剖検時には、胎児の外観、内臓、身体の成長及び発達に更なる影響は認められなかった。母動物の NOAEL は 73.5 mg/kg/日であり、胚・胎児発生毒性の NOAEL は 22.1 mg/kg/日であった。

ウサギ胚及び胎児発生に関する試験では、妊娠ウサギに 0、15、30 又は 90 mg/kg/日の用量で投与し、全ての投与群で死亡／瀕死が認められ、死亡例の多くが 90 mg/kg/日群の雌であった。これらの死亡例における主な標的器官は肝臓及び腎臓であった。15 mg/kg/日群以上の母動物の一部に流産及び流産後の瀕死が認められた。しかし、全ての群において生存母動物のいずれの器官にも病理解剖学的所見は認められず、母動物の生殖機能及び胚発生に毒性学的に意義のある変化は認められなかった。さらに、いずれのタレトレクチニブ投与群においても、胎児の性比、体重、頭殿長、外表検査、内臓検査及び骨格検査に所見又は異常は認められなかった。各投与群の胎児に

おいて、後頭骨化率、骨化窩の数、骨格変異及び骨格奇形の数に有意な異常は認められなかった。母動物の NOAEL は 15 mg/kg/日未満、胚・胎児発生毒性の NOAEL は 90 mg/kg/日であった。

BALB/c 3T3 細胞を用いた in vitro 光毒性試験の結果から、タレトレクチニブが光毒性を有することが示唆された。

2.4.6 総括及び結論

薬理試験において、タレトレクチニブは ROS1、TRKA、TRKB 及び TRKC キナーゼ活性を選択的に阻害することが示された。また、*ROS1* 融合遺伝子及びその変異体、並びに *NTRK* 融合遺伝子による細胞増殖を抑制した。タレトレクチニブは、*CD74-ROS1* 及び *CD74-ROS1*^{G2032R} 融合遺伝子によって誘導される Ba/F3 細胞の ROS1 シグナル伝達経路を阻害し、また、Ba/F3-*CD74-ROS1* 細胞及び Ba/F3-*CD74-ROS1*^{G2032R} 細胞のマウス同種移植モデルにおいて ROS1 リン酸化を阻害して腫瘍増殖を抑制した。

タレトレクチニブは、ヒト神経膠芽腫由来株 U-118 MG 細胞（*FIG-ROS1* 融合遺伝子）、ヒト結腸直腸癌由来 KM12-HX 細胞（*TPM3-NTRK1* 融合遺伝子）、ヒト NSCLC 患者由来 CTG-0848 細胞（*CD74-ROS1* 融合遺伝子）の異種移植モデル、並びに *CD74-ROS1* 融合遺伝子、クリゾチニブ耐性 *CD74-ROS1*^{G2032R}、*TEL-ALK*、*TEL-ALK*^{L1196M}、*TEL-NTRK1* 及び *TEL-NTRK3* 融合遺伝子それぞれを導入した Ba/F3 細胞の同種移植モデルにおいて抗腫瘍効果を示した。また、タレトレクチニブは *SDC4-ROS1* 融合遺伝子を有するヒト NSCLC 患者由来 LU-01-0414 細胞を用いたマウス頭蓋内異種移植モデルにおいて生存期間の中央値を有意に延長したことから、脳転移を有する *ROS1* 融合遺伝子陽性 NSCLC の治療に本剤が有効である可能性が示された。

In vitro において、タレトレクチニブは hERG 電流及び $hNa_v1.5$ を阻害し、IC_{50} 値はそれぞれ 0.98 µmol/L 及び 0.83 µmol/L であったことから、QT 延長作用を有する可能性が示された。しかし、覚醒サルを用いたテレメトリー心血管系試験において、HNSTD である 100 mg/kg/日では、QTc 間隔などの心電図パラメータのいずれにも影響はなかった。ラットを用いた安全性薬理試験でも、最大 100 mg/kg/日（平均 C_{max} は 634 ng/mL、1.56 µmol/L に相当）までの用量のタレトレクチニブを投与しても中枢神経系及び呼吸系に対する作用がないことが示された。

In vitro 血漿タンパク結合試験では、タレトレクチニブのタンパク結合率は高く（90.7～97.2%）、検討した動物種間で同程度であった。タレトレクチニブのヒト赤血球への中等度の分布も認められた。

In vitro 試験では、タレトレクチニブは主に CYP3A4/5 により代謝され、CYP2C8 はタレトレクチニブの代謝にわずかにしか関与していない。タレトレクチニブは CYP を直接阻害する可能性を示したが、mechanism-based inhibition は認められなかった。タレトレクチニブの CYP 誘導能は限定的であると考えられた。

タレトレクチニブは、in vitro では Caco-2 細胞単層を通じて高い固有透過性を示し、P-gp の基質であった。タレトレクチニブは、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K トランスポーターの基質ではなかったが、P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K を様々な程度で阻害した（2.4.4 の IC_{50} 値を参照）。

タレトレクチニブを 0、10、30 又は 100 mg/kg/日の用量で投与した、ラット 28 日間反復経口投与毒性及び TK 試験では、タレトレクチニブの STD_{10} は 100 mg/kg/日を超えると推定された。タレ

トレクチニブを 0、20、65 又は 100 mg/kg/日の用量で投与した、ラット 85 日間反復経口投与毒性及び TK 試験において、タレトレクチニブの HNSTD は 20 mg/kg と判断され、Day 85 の雌雄の平均 C_{max} は 596.53 ng/mL、AUC_{0-72} は 5709.68 ng･h/mL であった。

タレトレクチニブを 0、10、30 又は 100 mg/kg/日の用量で投与した、サル 28 日間反復経口投与毒性及び TK 試験では、HNSTD は 100 mg/kg/日であった。タレトレクチニブを 0、10、30、60/48 mg/kg/日の用量で投与した、サル 85 日間反復経口投与毒性及び TK 試験において、60 mg/kg/日の投薬開始後 11 日以内に雄 2 例及び雌 1 例が死亡したため、この用量を 48 mg/kg/日に減量した。タレトレクチニブの HNSTD は 30 mg/kg/日であり、Day 85 の雌雄の平均 C_{max} 及び AUC_{0-24} はそれぞれ 813.04 ng/mL 及び 13941.54 ng･h/mL であった。

ラット及びサルを用いた 28 日間及び 85 日間反復経口投与毒性試験及び TK 試験において、タレトレクチニブが典型的なチロシンキナーゼ阻害剤に予想されるような標的器官に対する毒性を引き起こすことが確認された。これらの毒性試験で特定された安全上の懸念は、臨床現場でモニタリングできるか（血清肝機能検査値、心血管系への影響）、あるいは可逆的（複数の器官における変性及び／又は炎症性変化）であると考えられる。

タレトレクチニブは、細菌を用いた復帰突然変異試験において、最初に実施した試験では代謝活性化系存在下で陽性であったが、異なる 3 施設で追加実施した試験ではいずれも陰性となり、変異原性を誘発する可能性は低いと考えられた。In vitro 染色体異常試験では陽性を示したが、ラット肝臓及び骨髄を用いた in vivo 小核試験では陰性であったことから、タレトレクチニブで誘発される染色体異常は in vivo では生じないと推定された。これらの結果から、タレトレクチニブが遺伝毒性を誘発するリスクは低いと考えられた。

ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では、雄の生殖毒性に関する NOAEL は 60 mg/kg/日であり、雌の生殖毒性に関する NOAEL は 100 mg/kg/日であった。ラット胚及び胎児発生に関する試験では、母動物の NOAEL は 73.5 mg/kg/日であり、73.5 mg/kg/日での異常な骨盤骨化のために胚・胎児発生毒性の NOAEL は 22.1 mg/kg/日であった。ウサギ胚及び胎児発生に関する試験では、母動物に 15 mg/kg/日以上の用量で死亡／瀕死及び流産が認められたため、母動物の NOAEL は 15 mg/kg/日未満であり、胚・胎児発生毒性の NOAEL は 90 mg/kg/日であった。

In vitro 光毒性試験の結果から、タレトレクチニブが光毒性を有する可能性が示された。

総括すると、タレトレクチニブの非臨床パッケージは、腫瘍を適応症とする治療薬として「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」（薬食審査発 0604 第 1 号．平成 22 年 6 月 4 日；ICH S9）に従い、効力を裏付ける試験、安全性薬理試験、薬物動態試験、一般毒性試験、遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験、光毒性試験などの規制要件を満たした包括的開発なプログラムであり、本剤の *ROS1* 融合遺伝子陽性の NSCLC の治療薬としての妥当性を裏付けている。

参考文献

- Inoue M, Toki H, Matsui J, Togashi Y, Dobashi A, Fukumura R, et al. Mouse models for *ROS1*-fusion-positive lung cancers and their application to the analysis of multikinase inhibitor efficiency. Carcinogenesis. 2016;37:452-60.
- Zhu YC, Lin XP, Li XF, Wu LX, Chen HF, Wang WX, et al. Concurrent *ROS1* gene rearrangement and *KRAS* mutation in lung adenocarcinoma: A case report and literature review. Thorac Cancer. 2018;9:159-63.