レニオリシブリン酸塩

ジョエンジャ®錠 10 mg

ジョエンジャ®錠 30 mg

ジョエンジャ®錠 70 mg

第 2 部 CTD の概要

2.4 非臨床試験の概括評価

株式会社オーファンパシフィック

目次

頁
略号一覧表 4
2.4 非臨床試験の概括評価 7
2.4.1 非臨床試験計画の概要 7
2.4.2 薬理試験 8
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 8
2.4.2.2 副次的薬理試験 11
2.4.2.3 安全性薬理試験 12
2.4.3 薬物動態試験 14
2.4.3.1 分析方法 14
2.4.3.2 吸収、薬物動態及びトキシコキネティクス 14
2.4.3.3 分布 16
2.4.3.4 代謝 17
2.4.3.4.1 *In vitro* 代謝 18
2.4.3.4.2 *In vivo* 代謝及び排泄 18
2.4.3.4.3 種間比較 19
2.4.3.5 薬物動態学的薬物相互作用 21
2.4.3.6 その他の薬物動態 22
2.4.4 毒性試験 22
2.4.4.1 単回投与毒性試験 22
2.4.4.2 反復投与毒性試験 22
2.4.4.2.1 ラット 23
2.4.4.2.2 カニクイザル 24
2.4.4.3 遺伝毒性試験 25
2.4.4.4 がん原性試験 26
2.4.4.5 生殖発生毒性試験 27
2.4.4.5.1 受胎能及び初期胚発生に関する試験 28
2.4.4.5.2 胚・胎児発生に関する試験 28
2.4.4.5.3 出生前及び出生後の発生に関する試験 28
2.4.4.5.4 幼若動物毒性試験 29
2.4.4.6 局所刺激性試験 29
2.4.4.7 その他の毒性試験 30
2.4.4.7.1 光毒性試験 30
2.4.4.7.2 免疫毒性試験 31
2.4.4.7.3 メカニズム試験 31
2.4.4.7.4 依存性試験 32
2.4.4.7.5 代謝物に関する研究 32
2.4.4.7.6 不純物及び分解生成物の評価 32
2.4.4.8 全身曝露量 32

2.4.5 概要及び結論 34
2.4.6 図表 39
2.4.7 参考文献 39

表一覧

頁

表 2.4-1 効力を裏付ける試験の概要 10
表 2.4-2 副次的薬理試験 12
表 2.4-3 安全性薬理試験の概要 13
表 2.4-4 レニオリシブの吸収、薬物動態及びトキシコキネティクス試験 15
表 2.4-5 レニオリシブの分布試験 16
表 2.4-6 レニオリシブの代謝試験 18
表 2.4-7 ラット、サル及びヒトへのレニオリシブ経口投与後の代謝物プロファイル 20
表 2.4-8 レニオリシブの反復強制経口投与毒性試験 23
表 2.4-9 レニオリシブの遺伝毒性試験 25
表 2.4-10 レニオリシブの強制経口投与がん原性用量設定及び確定試験 26
表 2.4-11 レニオリシブの生殖発生毒性試験 27
表 2.4-12 レニオリシブの局所刺激性試験 30
表 2.4-13 レニオリシブのその他の毒性試験：光毒性、メカニズム、不純物 30
表 2.4-14 長期間毒性試験における定常状態での全身曝露量及び患者におけるレニオリシブ曝露量の比較 33

略号一覧表

略語・用語	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
5-HT	5-Hydroxytriptamine	5-ヒドロキシトリプタミン
AhR	Aryl hydrocarbon receptor	アリール炭化水素受容体
(p)Akt	(Phosphorylated) protein kinase B	（リン酸化）プロテインキナーゼ B
APDS	Activated PI3Kδ syndrome	活性化 PI3Kδ 症候群
$AUC_{0\text{-}24h}$	Area under the concentration-time curve from time zero to 24 hours	時間ゼロから 24 時間までの濃度-時間曲線下面積
BCR	B-cell receptor	B 細胞受容体
BCRP	Breast cancer resistance protein	乳がん抵抗性タンパク質
BID	Bis in die (twice daily)	ビス・イン・ディ（1 日 2 回）
BSEP	Bile salt export pump	胆汁酸塩排出ポンプ
CIA	Collagen-induced arthritis	コラーゲン誘発関節炎
C_{max}	Maximum concentration	最高濃度
$C_{max,inlet,u}$	Estimated unbound C_{max} of an inhibitor at liver inlet	肝臓入口の阻害剤の推定非結合形 C_{max}
$C_{max,tot}$	Maximum total drug concentartion	最大総薬物濃度
$C_{max,u}$	Unbound C_{max} at highest recommended dose at steady state	定常状態での推奨最大用量における非結合形 C_{max}
CNS	Central nervous system	中枢神経系
CYP	Cytochrome P450	シトクロム P450
DNA-PK	DNA-dependent protein kinase	DNA 依存性プロテインキナーゼ
DRF	Dose range finding	用量設定
EC_{50}	Half maximal effective concentration	50%有効濃度
ECG	Electrocardiogram	心電図
EFD	Embryo-fetal development	胚・胎児発生
FDA	Food and Drug Administration	（米国）食品医薬品局
FOB	Functional observational battery	機能観察総合評価
FRTL-5	Rat thyroid cell line	ラット甲状腺細胞株
GALT	Gut associated lymphoid tissue	腸管関連リンパ組織
GD	Gestation day	妊娠日
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
GPCR	G protein coupled receptors	G タンパク質共役受容体
h	Hour	時間
Han	Hannover	Hannover 系
HED	Human equivalent dose	ヒト等価用量
hERG	Human ether-à-go-go-related gene	ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子
IC_{50}	Half maximal inhibition concentration	50%阻害濃度
$IC_{50,u}$	Unbound IC_{50}	非結合形 IC_{50}
ICH	International council for harmonization of technical requirements for pharmaceuticals for human use	医薬品規制調和国際会議
IFN	Interferon	インターフェロン
Ig	Immunoglobulin	免疫グロブリン
Igut	Intestinal luminal concentration of the drug at the dose/250 mL	薬物の投与量における腸管内腔濃度 / 250 mL
IL	Interleukin	インターロイキン
IV	Intravenous	静脈内
$K_{i,u}$	Unbound inhibition constant	非結合形阻害定数
KLH	Keyhole limpet haemocyanin	キーホールリンペットヘモシアニン

略語・用語	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
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
LPS	Lipopolysaccharide	リポ多糖
MATE	Multidrug and toxin extrusion protein	多剤・毒素排出タンパク質
MLR	Mixed lymphocyte reaction	混合リンパ球反応
MRHD	Maximum recommended human dose	ヒトでの最大推奨臨床用量
ms	Millisecond	ミリ秒
mTOR	Mammalian target of rapamycin	哺乳類ラパマイシン標的タンパク質
MRP	Multidrug resistance protein	多剤耐性タンパク質
NDEA	N-Nitrosodiethylamine	N-ニトロソジエチルアミン
NDSRI	Nitrosamine drug substance related impurities	ニトロソアミン原薬関連不純物
NIS	Sodium iodide symporter	ヨウ化ナトリウム共輸送体
NO(A)EL	No observed (adverse) effect level	無影響量（無毒性量）
NRU	Neutral red uptake	ニュートラルレッド取り込み
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
PBMC	Peripheral blood mononuclear cells	末梢血単核細胞
PD	Pharmacodynamic	薬力学
pDC	Plasmacytoid dendritic cells	形質細胞様樹状細胞
pERK	Phosphorylated extracellular-signal-regulated kinase	リン酸化細胞外シグナル制御キナーゼ
P-gp	P-glycoprotein	P 糖タンパク質
pGSK3	Phosphorylated glycogen synthase kinase 3	リン酸化グリコーゲン合成酵素キナーゼ 3
PI3K (α/β/γ/δ)	Phosphoinositide 3-kinase (alpha/beta/gamma/delta)	ホスホイノシチド 3 キナーゼ（α/β/γ/δ）
PI4K	Phosphatidylinositol 4-kinase	ホスファチジルイノシトール 4 キナーゼ
PIF	Photo irritation factor	光毒性係数
PIP	Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate	ホスファチジルイノシトール 4,5-ビスホスフェート
PK	Pharmacokinetic	薬物動態
PND	Post-natal day	出生後の日数
PopPK	Population pharmacokinetics	母集団薬物動態
pS6	Phosphorylated S6 ribosomal protein	リン酸化 S6 リボソームタンパク質
PXR	Pregnane-X-receptor	プレグナン X 受容体
QWBA	Quantitative whole-body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー
QSAR	Quantitative structure activity relationship	定量的構造活性相関
QTc	Corrected QT interval	補正 QT 間隔
R	Predicted AUC ratio of a sensitive enzyme substrate with and without an inducer	誘導薬の存在下と非存在下における CYP 分子種の感度の高い基質の推定 AUC 比
SCF	Stem cell factor	幹細胞因子
SMQ	Standardized MedDRA query	MedDRA 標準検索式
SRBC	Sheep red blood cell	ヒツジ赤血球
$T_{1/2}$	Half-life	半減期
T4	Thyroxine	サイロキシン
T4-UDP-GT	T4-thyroxine-UDP-glucuronosyltransferase	T4-サイロキシン-UDP-グルクロン酸転移酵素

略語・用語	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
Tau,ss	Repeated time period of dosing at steady state	定常状態反復投与期間
TDAR	T-cell dependent antibody response	T 細胞依存性抗体反応
TdP	Torsade de Pointes	トルサード・ド・ポアント
TF-1	Human erythroleukemic cell line	ヒト赤白血病細胞株
TK	Toxicokinetic	トキシコキネティクス
TLR	Toll-like receptor	Toll 様受容体
TNFα	Tumor necrosis factor alpha	腫瘍壊死因子 α
T_{max}	Time to the maximum concentration	最高濃度到達時間
TPO	Thyroid peroxidase	甲状腺ペルオキシダーゼ
TTC	Threshold of toxicological concern	毒性学的懸念の閾値
V_{ss}	Volume of distribution at steady-state	定常状態の分布容積

2.4 非臨床試験の概括評価

ホスホイノシチド 3 キナーゼ（PI3K）は、細胞内シグナル伝達に不可欠な脂質キナーゼであり、構造的及び機能的な特性により 3 つのクラス（IA 及び IB、II 並びに III）に分類される［Vanhaesebroeck B, 2010］［Marone R, 2008］。クラス IA PI3K は、85 kDa の制御サブユニット（p85）と 3 つの異なる 110 kDa の触媒サブユニット（p110α、p110β 及び p110δ）のうちの 1 つからなるヘテロ二量体を形成する［Yu J, 1998］［Geering B, 2007］［Ueki K, 2003］。受容体チロシンキナーゼによる活性化後、クラス IA PI3K は細胞膜に動員され、そこでホスファチジルイノシトール 4,5-二リン酸（PIP2）をリン酸化して PIP3 を生成する［Pirola L, 2001］［Bondeva T, 1998］。続いて、PIP3 は Akt/PKB に結合し、最終的に PDK1 によってリン酸化される。このシグナルにより細胞の活性化、分化、増殖及び運動などの様々な応答が引き起こされる［Kandel ES, 1999］。一方、クラス IB PI3K p110γ は、主に G タンパク質共役受容体（GPCR）によって活性化される。

活性化ホスホイノシチド 3 キナーゼ δ 症候群（APDS）は希少疾患の一種であり、患者は複合型免疫不全、リンパ球増殖、自己免疫疾患及び造血器悪性腫瘍などの症状を呈する。APDS の原因として、ホスホイノシチド 3 キナーゼ δ（PI3Kδ）の触媒サブユニット p110δ（PIK3CD）又は制御サブユニット p85α（PIK3R1）をコードする遺伝子の変異がある［Angulo I, 2013］［Lucas C, 2014］［Crank M, 2014］［Takashima T, 2014］。PI3Kδ は主に造血系の細胞で発現し、特に、この変異は免疫細胞において PI3K/Akt/mTOR/S6K シグナル伝達経路を活性化する。したがって、PI3Kδ 経路の阻害剤は、免疫細胞の機能に対して抑制的に作用することで APDS の効果的な治療薬になると考えられる。

レニオリシブは強力かつ選択的な PI3Kδ 阻害剤であり、APDS を標的疾患として開発されてきた。本概括評価では、レニオリシブの薬理学的、薬物動態学的及び毒性学的な特性の概要を示した。

2.4.1 非臨床試験計画の概要

レニオリシブの主要な薬理活性として、PI3Kδ に対する親和性及び選択性を評価した。レニオリシブのヒト PI3K 酵素に対する親和性は、酵素阻害アッセイで評価した。様々な PI3Kδ アイソフォームの活性に対するレニオリシブの効果を、遺伝子導入した細胞を用いたアッセイで検討した。B 細胞と T 細胞の機能及びその他の免疫細胞の機能［好中球、顆粒球、形質細胞様樹状細胞（pDC）及び肥満細胞］に対する影響は、マウス、ラット、カニクイザル及びヒト由来のリンパ球と血液で検討した。*In vivo* 薬理試験は、マウス、ラット及びカニクイザルを用いた。免疫機能に対する標的の関与と薬理活性を検証し、薬力学/薬物動態学的関係を明らかにした。レニオリシブの *in vivo* における有効性は確立された APDS 疾患モデルでは検討されていないが、コラーゲン誘発関節炎（CIA）モデルラットを用いて評価し、自己抗体レベルと臨床症状及び組織学的パラメータの軽減との相関を評価した。

副次的薬理試験は、レニオリシブの網羅的な選択性とオフターゲット作用を評価した。広範囲の受容体、酵素、トランスポーター及びチャネルに対するレニオリシブの親和性を測定した。さらに、成長因子を介した増殖、腫瘍抑制因子 p53 の活性化及びグルコースとインスリンの調節に対するレニオリシブの効果を評価した。

安全性薬理コアバッテリー試験として、*in vitro* ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子（hERG）アッセイ、カニクイザルを用いた心血管系（テレメトリー）試験、ラットを用いた中

枢神経系（CNS）及び呼吸器系の安全性薬理試験を実施した。

レニオリシブの吸収、分布、代謝及び排泄を評価するため、*in vitro* 及び *in vivo* の薬物動態試験を実施した。レニオリシブの血漿中濃度はマウス、ラット及びカニクイザルで測定した。経口及び静脈内（IV）投与経路を用いて、レニオリシブのバイオアベイラビリティ、用量依存性及び反復投与が薬物動態に及ぼす影響を評価した。[^{14}C] レニオリシブの経口投与後、ラット及びカニクイザルにおける体内動態、組織分布、保持、蓄積及び尿及び糞中への排泄について検討した。マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトの肝臓標本を用いた *in vitro* 代謝試験により、毒性試験に最も適した動物種はラット及びカニクイザルであることが判明した。これらの種の血漿、尿、又は胆汁中の代謝物の特性解析及び構造解明により、これらの種とヒトの代謝プロファイルの類似性が示された。ヒトで同定された代謝物の薬物動態は、ラット及びサルで検討され、これらの種のヒト代謝物への曝露量を測定し、それらをヒトにおける曝露量と比較した。

包括的な非臨床毒性試験を実施し、レニオリシブの毒性を評価した。ラット及びサルの代謝プロファイル及びヒトの代謝プロファイルの類似性に基づいて、重要な安全性試験をこれら 2 種で実施した。重要な非臨床毒性試験は全て、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）、医薬品規制調和国際会議（ICH）の標準ガイドラインに従って実施した。これらの試験には、ラットでは最大 26 週間、カニクイザルでは最大 39 週間の反復投与毒性試験、*in vitro* 及び *in vivo* での遺伝毒性の試験、トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験、ラット及びウサギにおける胚・胎児発生毒性、ラットにおける受胎能試験、ラットにおける初期胚及び出生前後の発生、局所（眼）刺激性及び光毒性が含まれる。

2.4.2 薬理試験

2.4.2.1 効力を裏付ける試験

レニオリシブの効力を裏付けるために、PI3K への結合、免疫細胞機能への影響及び PI3Kδ 依存性疾患モデルにおける薬理作用を評価した（表 2.4-1）。レニオリシブは PI3Kδ に対する強力かつ選択的な阻害剤であり、酵素アッセイで測定されたレニオリシブの PI3Kδ に対する 50%有効濃度（EC_{50}）は 11 nM であった。レニオリシブの α、β 及び γ アイソフォームに対する阻害作用は PI3Kδ に対するものと比較して、少なくとも 28 倍弱かった。また、レニオリシブは、ヒト各種アイソフォームを遺伝子導入した Rat-1 線維芽細胞において、p110δ 導入細胞に対する 50%阻害濃度（IC_{50}）は 56 nM を示し、PI3Kα 導入細胞に対して 29 倍、PI3Kβ 導入細胞に対して 42 倍、PI3Kγ 導入細胞に対して 132 倍を超える選択性を示した。

In vitro で、レニオリシブの免疫細胞の機能に対する阻害効果を評価した。抗 IgM 抗体刺激マウス脾臓細胞増殖、タンパク質抗原又は Toll 様受容体（TLR）アゴニストにより誘導されるマウス B 細胞のインターロイキン 6（IL-6）及び腫瘍壊死因子 α（TNFα）産生、Akt のリン酸化、ラット、サル及びヒトにおいて B 細胞受容体（BCR）結合により誘導される B 細胞活性化マーカーCD86 発現など、レニオリシブは、複数の指標において B 細胞の機能に対する阻害効果を示した。レニオリシブは、マウス及びヒトにおける同種混合リンパ球反応（MLR）及びヒト末梢血単核球（PBMC）の抗 CD3 刺激 T 細胞増殖を阻害し、マウス及びヒトの Th_1、Th_2 及び Th_{17} ヘルパー細胞への分化も阻害した。最後に、レニオリシブは、B 細胞及び T 細胞機能の阻害に加えて、ヒト好中球及び単球の酸化バースト、並びに抗 IgE 誘発好塩基球活性化及び初代培養 pDC のインターフェロン α（IFNα）産生を阻害した。また、マウス骨髄由来肥満細胞の幹細胞因子（SCF）依存性刺激を顕

著に低下させた。*In vivo* では、レニオリシブは、ラットの T 細胞依存性抗体反応（TDAR）のヒツジ赤血球モデルにおいて有効性を示し、3 mg/kg、1 日 2 回の用量で抗体産生を 54%阻害した。レニオリシブはラット CIA の予防的投与法（3 mg/kg、1 日 2 回）及び治療的投与法（10 mg/kg、1 日 2 回）において病態を改善した。さらに、レニオリシブの自然免疫細胞に対する効果をオゾン誘発肺炎症モデルマウスで評価したところ、レニオリシブは 10 mg/kg、1 日 2 回の投与用量において好中球の浸潤を抑制した。

表 2.4-1　効力を裏付ける試験の概要

Endpoint	Test format	Method	Study Number/CTD location
Potency and isoform selectivity for PI3Kδ	Inhibition of PI3K isoforms in cell-free enzymatic assays	*In vitro*	
	PI3K inhibition in Rat-1 cells transfected with human myr-p110 PI3K isoforms and mutants	*In vitro*	
Effects on immune cell functions *in vitro*	B-cell activation after BCR stimulation in whole blood (rat, monkey, human)	*In vitro*	
	Mouse B-cell activation (induction of CD86 expression) after BCR stimulation.	*In vitro*	
	Mouse B-cell proliferation after BCR stimulation	*In vitro*	
	LPS-induced antibody production in mouse B-cells	*In vitro*	[redacted]20[redacted]-00084 [4.2.1.1-1]
	TLR7/9-induced IL-6 production mouse spleen B-cells	*In vitro*	
	Antigen presentation and cytokine production in mouse BCR transgenic B-cells	*In vitro*	[redacted]20[redacted]-00588 [4.2.1.1-8]
	Human and mouse MLR assay in PBMCs	*In vitro*	
	Human T-cell proliferation in PBMCs	*In vitro*	
	CD3- and CD28-specific antibody stimulated human and mouse $CD4^+$ T-cells differentiation under Th1, Th2 or Th17 polarizing conditions	*In vitro*	
	Inhibition of TLR9 ligand activation of human pDCs	*In vitro*	
	Activation of murine bone marrow mast cells	*In vitro*	
	FcεR crosslinking-mediated human basophil activation	*In vitro*	
	fMLP-induced oxidative burst in monocytes and neutrophils	*In vitro*	
Effects on immune cell functions *in vivo*	Antigen-specific antibody generation towards sheep red blood cells (SRBC) in rats	*In vivo / ex vivo*	[redacted]20[redacted]-00469 [4.2.1.1-7]
	Ozone induced neutrophil infiltration in bronchoalveolar lavage in C57BL/6 mice	*In vivo*	[redacted]20[redacted]-00419 [4.2.1.1-6]
PI3Kδ target engagement	Collagen-induced arthritis (rCIA) rat model	*In vivo*	[redacted]20[redacted]-00135 [4.2.1.1-5] [redacted]20[redacted]-00785 [4.2.1.1-9]
	Activation of B-cells in peripheral human whole blood	*In vitro*	[redacted]20[redacted]-00108 [4.2.1.1-4]
In vivo / ex vivo PK/PD relationship	*Ex vivo* B-cell activation after single oral dose in rats	*In vivo / ex vivo*	[redacted]20[redacted]-00087 [4.2.1.1-2]
	Ex vivo B-cell activation after single oral dose in cynomolgus monkey	*In vivo / ex vivo*	[redacted]20[redacted]-00088 [4.2.1.1-3]

BCR = B-cell receptor; CD = cluster of differentiation; CIA = collagen-induced arthritis; LPS = lipopolysaccharide; MLR = mixed lymphocyte reaction; pDCs = plasmacytoid dendritic cells; PI3K = phosphatidylinositol 3 kinase; PK = pharmacokinetic; PBMC = peripheral blood mononuclear cells; PD = pharmacodynamic; SRBC = sheep red blood cell; TLR = toll-like receptor.

ラット及びサルの血液を用いた試験により、標的の阻害とレニオリシブ曝露量に相関が認められた。レニオリシブは、単回経口投与（10 mg/kg）したラットから調製した B 細胞におけるリン酸化 Akt（pAkt）の産生を抑制し、B 細胞の活性化を濃度及び時間依存的に阻害した。全血中濃度と薬力学的（PD）効果の相関から、EC_{50} は 83 nM であった。レニオリシブを 10 mg/kg 単回経口

投与したカニクイザルでは、*ex vivo* において、抗 IgM 抗体刺激による CD20 陽性 B 細胞の pAkt の産生が阻害され、EC_{50} は 137 nM であった。

2.4.2.2 副次的薬理試験

レニオリシブのオフターゲット効果を評価した。*In vitro* アッセイにおいて、受容体、酵素及びイオンチャネルのパネルに対する阻害作用又は刺激作用を検証し、広範なヒトキナーゼに対するスクリーニングを実施した（表 2.4-2）。

効力を裏付ける試験で示したように、レニオリシブは他の 3 クラスの PI3K と比較して PI3Kδ に対して選択的であった。レニオリシブは、Vps34、mTOR 及び PI4Kβ のような PI3K と類似した触媒コアを持つ PI3K 関連酵素に対して選択性を示したが、これらに対する IC_{50} は 9.1 µM を超えていた。DNA-PK（DNA 依存性プロテインキナーゼ）は 0.88 µM という比較的低い IC_{50} で阻害されたが、p53 のような更に下流にある因子の阻害にはつながらなかった。これらの結果より、レニオリシブは広範囲のキナーゼ、プロテアーゼ及びイオンチャネルに対して選択性を示すことが示された。また、レニオリシブは、IL-3 刺激によるマウス骨髄細胞増殖に対して弱い抑制（IC_{50} は 2.3 µM）を示したが、IL-3 によるヒト赤白血病細胞株 TF-1 の増殖は抑制しなかった（IC_{50} は 7.4 µM）。さらに、ヒトインスリン受容体を過剰発現した 3T3 マウス線維芽細胞である A14 細胞におけるインスリン受容体を介したシグナル伝達及び 3T3-L1 脂肪細胞におけるグルコース取り込みに対する阻害も認められず、IC_{50} はそれぞれ 1.7 µM 及び 1.5 µM であった。

C57BL/6 マウスを用いた *in vivo* グルコース及びインスリン負荷試験において、雄性動物にレニオリシブ（0、30 及び 100 mg/kg/日）を 15 日間経口投与した。1 日目及び 15 日目に、グルコース負荷試験又はインスリン負荷試験を行った。その結果、レニオリシブは 100 mg/kg/日の単回投与後及び 15 日間反復投与後にマウスのインスリン非感受性/抵抗性を誘導することが示された。

表 2.4-2 副次的薬理試験

Type of study	Test system	Key findings	Study Number/CTD location
Enzymatic inhibition of related enzymes	Cell-free enzymatic system	Vps34: IC_{50} >9.1 µM (>910-fold) mTOR: IC_{50} >9.1 µM (>910-fold) DNA-PK: IC_{50} >0.88 µM (88-fold) PI4Kβ: IC_{50} >9.1 µM (>910-fold)	[redacted]20[redacted]-00084 [4.2.1.1-1]
Protease and kinase screen (47 proteases and kinases)	Cell-free enzymatic system	IC_{50} all >10 µM	
KINOMEScan (440 kinases)	Cell-free enzymatic system	RPS6KA5: 76% inhibition at 10 µM IC_{50} all others >10 µM	
Cardiac ion channels screening	Cell-free enzymatic system	Nav1.5 and Cav1.2: IC_{50} >50 µM	
Ricerca/MDS screening panel 82 receptors and ion channels	Cell-free enzymatic system	GPR8: 72% inhibition at 10 µM IC_{50} all others >10 µM	
[redacted] P5 Receptor profile	Cell-free enzymatic system	hPDE4D: IC_{50}=4.7 µM $5HT_{2B}$: IC_{50}=7.7 µM (antagonist) IC_{50} all others > 10 µM	
Inhibition of growth-factor-mediated proliferation	Mouse bone marrow cells and human TF-1 cells	Low inhibition of proliferation of IL-3-stimulated mouse bone marrow cells (IC_{50}=2.3 µM) and TF-1 cells (IC_{50}=7.4 µM)	
Inhibition of tumor suppression proteins	p53RE-bla HCT116 reporter cells	No significant inhibition of p53: IC_{50} >3 µM	
Inhibition of glucose metabolism	A14 cells (insulin stimulated) and 3T3-L1 adipocytes	No significant inhibition of insulin receptor signalling (pAkt, pERK, pGSK3, pS6rp); IC_{50}=1.72 µM. No significant effect on glucose uptake: IC_{50}=1.5 µM	
Glucose and insulin tolerance test	C57BL/6 mice 2-week repeated oral dose, 30 and 100 mg/kg/day	100 mg/kg/day: Insulin insensitivity/resistance on Day 1 and Day 15	[redacted] [4.2.1.2-1]

5-HT = 5-hydroxytryptamine; IC_{50} = concentration of inhibitor producing 50% inhibition of probe substrate metabolism; mTOR = mammalian target of rapamycin; GPR8 = G-protein coupled receptor 8; IL = interleukin; pAkt = phosphorylated protein kinase B; pERK = phosphorylated extracellular-signal-regulated kinase; PI4K = phosphatidylinositol 4-kinase; pGSK3 = phosphorylated glycogen synthase kinase 3; pS6rp = phosphorylated S6 ribosomal protein.

種間比較により、ヒト及び毒性試験に使用された動物では、ヒト特異的代謝物や総曝露量の 10%を超える代謝物は形成されないことが示されたため、副次的薬理試験は全て、レニオリシブのみを用いて実施した。

2.4.2.3 安全性薬理試験

中枢神経系、心血管系、呼吸器系などの重要な生理機能に対するレニオリシブの急性効果を、安全性薬理コアバッテリー試験で検討した（表 2.4-3）。

表 2.4-3　安全性薬理試験の概要

System	Type of Study	Doses [a] / Concentrations	GLP Status	Key Findings	Study Number/CTD location
Central Nervous System	Neurobehavioral evaluation (functional observational battery (FOB) in male Crl:WI(Han) rats	0, 300 mg/kg	Yes	No neurobehavioral or clinical observations	[redacted] [4.2.1.3-5]
Cardio-vascular	*In vitro* IK_r assay: hERG potassium channels expressed in HEK293 cells	10 and 30 µM	No	10 µM: 13% inhibition 30 µM: 42.8% inhibition Estimated IC_{50}>30 µM	[redacted] [4.2.1.3-2]
		3, 10, 30 µM	No	3 µM: 17.4% inhibition 10 µM: 34.2% inhibition 30 µM: 68.9% inhibition IC_{50}=17 µM (i.e., 7.7 µg/mL)	[redacted] [4.2.1.3-1]
		Up to 100 µM	Yes	IC_{50}=11.9 µM (i.e., 5.4 µg/mL)	[redacted] [4.2.1.3-6]
	Effects on the cardiovascular system in conscious male cynomolgus monkeys	0, 50, 100, or 150 mg/kg	No	Reversible corrected QT interval (QTc) prolongation up to 32 ms (13%) at 150 mg/kg 4-14 hours post dose	[redacted] [4.2.1.3-3]
	Effects on the cardiovascular system in conscious male cynomolgus monkeys	0, 50, 100, or 150 mg/kg	Yes	Reversible QTc prolongation at 150 mg/kg in 1 animal (9 to 58 ms vs its baseline) at 3 to 12 hours post dose	[redacted] [4.2.1.3-4]
Respiratory	Respiratory evaluations in male Crl:WI(Han) rats	0, 300 mg/kg	Yes	No effects on respiratory functions	[redacted] [4.2.1.3-5]

FOB=functional observational battery; GLP=Good Laboratory Practice; hERG=human ether-a-go-go related gene; IC_{50}=half maximal inhibition concentration.
[a]: *In vivo* studies: oral doses given by gavage.

中枢神経系及び呼吸器系に対するレニオリシブの影響を、雄性 Wistar Han ラットにレニオリシブを 300 mg/kg 投与した後、機能観察総合評価（FOB）及び呼吸機能評価を用いて評価した。その結果、レニオリシブの中枢神経系及び呼吸器系への影響は認められなかった。

心血管系の安全性は、hERG 発現 HEK293 細胞を用いて *in vitro* パッチクランプ法で評価した。レニオリシブの hERG 活性に対する IC_{50} は 11.9 µM（5.4 µg/mL）であった。この値は、レニオリシブを 140 mg（70 mg、1 日 2 回）の用量でヒトに投与した場合の定常状態における $C_{max,u}$ である 208 ng/mL より 26 倍高かった。

覚醒・無拘束の雄カニクイザルに 50、100 及び 150 mg/kg のレニオリシブを単回経口投与し、心血管系の安全性を評価した。150 mg/kg のレニオリシブ投与により、QTc が平均 32 ms（13%）一過性に延長することが示された。このときのレニオリシブの血漿中濃度は測定していないが、カニクイザルを用いた予備毒性試験の単回投与部分）では、曝露量はヒトの臨床用量である 140

mg（70 mg、1 日 2 回）における定常状態の $C_{max,u}$ の 9 倍及び $AUC_{0-24h,u}$ の 6 倍であった。

これらの安全性薬理試験の結果より、レニオリシブは不整脈のリスクを増加させる可能性が示唆されたが、レニオリシブの臨床試験では、心臓の再分極及びその他の心電図（ECG）パラメータに意味のある変化は認められなかった。また、MedDRA 標準検索式（SMQ）では安全性シグナルは示されず、健康成人を対象とした曝露-QTc モデリング解析では、QTcF 延長との関連は認められなかった。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 分析方法

^{14}C-レニオリシブを用いてマウス、ラット及びカニクイザルにおける吸収、分布、代謝、排泄を検討し、生体試料中の放射能濃度を液体シンチレーション計数法で測定した。マウス、ラット、ウサギ及びカニクイザルの血漿中のレニオリシブ濃度を、高速液体クロマトグラフィーと液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法（LC-MS/MS）を用いて測定した。[$^{13}CD_3$]-レニオリシブを内部標準として使用した。分析方法は全てバリデーション済みである。それらの結果は非臨床薬物動態試験の概要表に示した。

2.4.3.2 吸収、薬物動態及びトキシコキネティクス

表 2.4-4 に薬物動態（PK）及びトキシコキネティクス（TK）試験の内容を示す。

表 2.4-4　レニオリシブの吸収、薬物動態及びトキシコキネティクス試験

Type of Study	Species/Strain	Dosing method	GLP status	Study Number/ CTD location
Single dose PK	Rat; Wistar	Oral gavage, IV	No	[redacted] [4.2.2.2-1] [4.2.2.2-3]
	Cynomolgus monkey		No	[redacted] [4.2.2.2-2] [4.2.2.4-6]
TK in repeated dose toxicity studies (2-, 4-, 13- and 26-weeks)	Rat; Wistar Hannover	Oral gavage	No	[redacted] [4.2.3.2.1]
			Yes	[redacted] [4.2.3.2.2]
			Yes	[redacted] [4.2.3.2.3]
			Yes	[redacted] [4.2.3.2.4]
			Yes	[redacted] [4.2.3.2.5]
TK in repeated dose toxicity studies (1-, 2-, 13- and 39-weeks)	Cynomolgus monkey	Oral gavage	No	[redacted] [4.2.3.2.6]
			No	[redacted] [4.2.3.2.7]
			Yes	[redacted] [4.2.3.2.8]
			Yes	[redacted] [4.2.3.2.9]
			Yes	[redacted] [4.2.3.2.10]
TK in preliminary carcinogenicity study (4-weeks)	Mice; CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic wt/wt	Oral gavage	Yes	[redacted]1462 [4.2.3.4.2.2]
TK in definitive carcinogenicity study (26-weeks)	Mice; CbyB6F1-Tg(HRAS)2Jic hemizygous	Oral gavage	Yes	48943[redacted]/[redacted]2858 [4.2.3.4.2.3]
TK in repeated dose toxicity studies in juvenile animals	Rat; Wistar Hannover	Oral gavage	No	[redacted] [4.2.3.5.4.1]
			Yes	[redacted] [4.2.3.5.4.2]
TK in embryo-fetal development study	Rat; Wistar Hannover	Oral gavage	Yes	[redacted] [4.2.3.5.2.1]
TK in embryo-fetal development studies	Rabbit; Hra (NZW)SPF	Oral gavage	No	[redacted] [4.2.3.5.2.2]
			Yes	[redacted] [4.2.3.5.2.3]
TK in ocular tolerability study	Rabbit; Dutch Belted	Ocular	No	[redacted] [4.2.2.2-6]
				[redacted] [4.2.2.2-7]

GLP = Good Laboratory Practice; IV = intravenous; PK = pharmacokinetic; TK = toxicokinetic.

レニオリシブは経口投与後速やかに吸収され、平均最高濃度到達時間（T_{max}）はラットで 0.25 h、サルでは 2.6 h であった。吸収された割合はラット（10 mg/kg）で 46%～65%、サル（20 mg/kg）で 71.8%～107%であり、初回通過効果は低いと考えられた。レニオリシブの経口バイオアベイラビリティは、両動物種で中程度から高程度であった（ラットでは 59.4%、サルでは＞100%）。薬物曝露量はほぼ用量に比例すると考えられた。定常状態における分布容積（V_{ss}）はラット及びサルともに中程度であった（それぞれ 1.06 L/kg と 0.657 L/kg）。

単回静脈内投与後のレニオリシブの血中クリアランスは、サル（23.2 mL/分/kg、肝血流量の約

53%）及びラット（19.74 mL/分/kg、肝血流量の約 23%）で中程度であった。V_{ss} は両種とも中程度（0.657～1.06 L/kg）であった。ラットでは、レニオリシブの終末相の半減期（$T_{1/2}$）は静脈内投与で 3.4 h、経口投与で 2.9 h であったが、サルでは平均の $T_{1/2}$ は 11 h であった。血漿中の総放射能の $T_{1/2}$ は、レニオリシブの $T_{1/2}$ よりも有意に長く、これは $T_{1/2}$ のより長い代謝物が全身循環中に存在することを示唆した。

レニオリシブのトキシコキネティクスは、ラット及びサルにおける反復投与毒性試験で検討した。ラットでは、全身曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）は 10～300 mg/kg の間でほぼ用量依存的に増加し、雄性ラットに比べて雌性ラットの曝露量が高値である傾向にあった（曝露量の雌雄比は約 2～3 倍）。サルでは、曝露量は両性間で同等であった。サルを用いた 13 週間試験では、20～40 mg/kg で用量比を上回る曝露量の増加が認められ、最大 5 倍までの蓄積が認められた。しかし、これらの結果は 39 週間試験では再現されず、全身曝露量は 20～60 mg/kg の間でほぼ用量に比例して増加した。ラット及びカニクイザルの両種において、反復投与後にレニオリシブの蓄積は認められなかった。

幼若ラットを用いた 10 週間試験において、レニオリシブを出生後 7 日目（PND7）から PND77 まで投与した。PND7 の曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）は、PND77 の曝露量と比較して 2.5～8.3 倍高値であった。全般的に、曝露量には明らかな性差は認められなかった。

2.4.3.3 分布

In vitro で、血液-血漿分布、血漿タンパク質結合、安定性、肝臓における薬物の移行と排出及びタンパク質への共有結合を評価した。さらに、ラットを用いた定量的全身オートラジオグラフィー試験も実施した（表 2.4-5）。

表 2.4-5 レニオリシブの分布試験

Type of Study	Test system or Species/ strain	Method	Study Number/ CTD location
Blood distribution and plasma protein binding including stability in blood and plasma	Mouse, rat, dog, monkey and human (blood and plasma)	*In vitro*	[redacted] [4.2.2.2-4]
Assessment of hepatobiliary disposition	Human hepatocytes	*In vitro*	[redacted]2 [4.2.2.6-11]
Assessment of hepatic basolateral efflux	Sandwich-cultured human hepatocytes	*In vitro*	[redacted] [4.2.2.6-14]
Investigation of covalent protein binding of leniolisib or metabolites	Cynomolgus monkey plasma samples (from Study 1500290)	*In vitro*	[redacted] [4.2.2.4-5]
Quantitative whole-body autoradiography (QWBA) study in rats after single oral gavage dose	Rat / Long Evans (ctr:(LE)BR, partially pigmented)	*In vivo*	[redacted] [4.2.2.3-2]

QWBA = quantitative whole-body autoradiography.

レニオリシブはヒト及びイヌの血液中では 37°C で最長 3 h、マウス及びラットの血液中では 7 h、安定であった。カニクイザルの血液中では、30 分後に 76.7%のレニオリシブが存在しており、7 h までそれ以上減少しなかった。レニオリシブは全ての種の血漿中で、37°C で 24 h 安定であった。血漿への分布は血液と比較して同等又はそれ以上であった。レニオリシブの血漿蛋白結合率は、濃度に関係なく、マウスで 87.7%、サルで 90.2%、ラットで 91.8%、ヒトで 94.5%、イヌで 96.2%であった。サルの血漿中では、放射性薬剤関連物質とサルの血漿タンパク質（おそらく血清アルブミン）との共有結合が認められた。サンドイッチ培養ヒト肝細胞では、レニオリシブは受動的透過プロセスで基底膜側を通過したが、管腔への排出は、多剤耐性タンパク質（MRP）阻害剤 MK571 で阻害可能な能動的トランスポーターを介したプロセスに依存していることが示された。

Wistar Han アルビノラットに[^{14}C]レニオリシブを経口及び静脈内投与したところ、胆汁、毛髪、肝臓、腸壁及び腎臓で最も高い放射能曝露量が認められた。放射能は、肝臓（$T_{1/2}$ は 37.5 h）、毛髪（$T_{1/2}$ は 13.7 h 未満）及び腸壁（大腸、経口投与後の $T_{1/2}$ は 9.86 h）を除き、ほとんどの組織から急速に消失した。他の組織では、$T_{1/2}$ は 5.80 h 未満であった。メラニンを含む組織への放射性成分の部分的な可逆的結合が認められた。定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）試験で部分的に色素沈着したラットに[^{14}C]レニオリシブを経口投与したところ、高い放射能濃度が、目、色素沈着した毛包、触覚毛、色素沈着した皮膚などのメラニン含有構造で認められた。メラニンを含まない構造では、放射能は主に盲腸壁、結腸壁、小腸壁、肝臓、腎臓などの吸収と排泄に関わる組織、眼球（硝子体）、ハーダー腺及び副腎（皮質）に認められた。脳からは放射能は検出されなかった。ほとんどの組織において、$T_{1/2}$ の算出値は 3.79～10.4 h であったが、肝臓（$T_{1/2}$ は 45.8 h）及び色素沈着した毛包（$T_{1/2}$ は 159 h）、色素沈着した皮膚（$T_{1/2}$ は 171 h）、眼球脈絡膜（$T_{1/2}$ は 1,170 h）及び眼球毛様体（$T_{1/2}$ は 1,550 h）などの様々なメラニン含有構造でより長い滞留が認められた。

2.4.3.4 代謝

In vitro 代謝試験は、組換え酵素、肝ミクロソーム及び肝細胞を用いて実施した。代謝物のプロファイリング、構造解析、同定は、ラット、カニクイザル、又はヒトの血漿、尿、胆汁、又は糞便サンプルで実施した。血漿代謝物濃度をラット及びサルで測定した（表 2.4-6）。

表 2.4-6　レニオリシブの代謝試験

Type of Study	Test system or Species / Strain	Method	Study Number/ CTD location
Metabolism of [^{14}C]leniolisib	Mouse, rat, dog, monkey and human hepatocytes and human liver microsomes	*In vitro*	[redacted] [4.2.2.4-1]
Structure identification of metabolites	Metabolites	*In vitro*	[redacted] [4.2.2.4-3]
Assessment of reactive intermediate formation	Human microsomes and human hepatocytes	*In vitro*	[redacted] [4.2.2.4-2]
Identification of human CYP enzymes involved in primary oxidative metabolism	Human liver microsomes and recombinant enzymes	*In vitro*	[redacted] [4.2.2.7-1]
Stability assessment of N-oxide metabolite M9	Fresh human blood and plasma	*In vitro*	[redacted] [4.2.2.4-4]
Ex vivo stability and metabolism	Rat and human feces	*In vitro*	[redacted] [4.2.2.4-7]
Metabolite structure alignment study	Leniolisib biotransformation studies	Not applicable	[redacted] [4.2.2.4-8]
Assessment of human pregnane-X-receptor (PXR) and aryl hydrocarbon receptor (AhR) activation by CYP3A4 and CYP1A2 reporter gene expression	Cell-based reporter gene assays CYP3A4: DPX-2 cell line; CYP1A2: CYP1A2-DRE cell line	*In vitro*	[redacted] [4.2.2.6-7]
Assessment of CYP enzyme inhibition	Pooled human liver microsomes	*In vitro*	[redacted] [4.2.2.6-8]
Evaluation as inducer of drug metabolizing enzymes	Human hepatocytes	*In vitro*	[redacted] [4.2.2.6-10]

Ahr = aryl hydrocarbon receptor; CYP = cytochrome; PK = pharmacokinetic; PXR = pregnane-X-receptor.

2.4.3.4.1　*In vitro* 代謝

マウス、ラット、イヌ、サル及びヒトの肝細胞では、レニオリシブの生体内変換は主に第 I 相代謝を介して起こった。代謝物のプロファイルには 5 種の間でわずかな違いしかなかったが、量的には差はあった。ヒト肝ミクロソームが産生する代謝物は全て、ヒト肝細胞でも産生された。代謝物 M6 及び M7（いずれも親薬物のヒドロキシル化）が *in vitro* で認められた主な代謝物であった。代謝物 M18 はヒトに特異的と思われたが、*in vivo* 試験ではラットの排泄物中にも同定された。CYP3A4 は、[^{14}C]レニオリシブの一次酸化代謝に関与する最も主要な酵素であることが示された（94.5%）。組換え CYP1A1 もレニオリシブを代謝したことから、肝外組織でのレニオリシブの生体内変換の可能性が示唆された。

ヒトミクロソームでの検討により、反応性代謝物の生成の可能性が低いことが示された。組換え酵素を用いると、CYP3A4 及び CYP1A1 が高いレベルのタンパク質付加物を生成し、これはグルタチオンの添加によって抑制された。ヒト肝細胞は、事前に設定した閾値 50 pmol/10^6 細胞を超えるレベルの共有結合タンパク質付加体を生成した。ラット及びサルを用いた毒性試験及び臨床試験では肝毒性の徴候は認められていないため、この所見の臨床的意義は不明である。

2.4.3.4.2　*In vivo* 代謝及び排泄

[^{14}C]レニオリシブの *in vivo* 代謝を、雄性ラット及び雄性サルで強制経口投与及び静脈内投与後に検討した。血漿中では、両種とも未変化体のレニオリシブが主要な放射性成分であり、静脈内投与及び経口投与の両方で、循環中の主要代謝物は水酸化体 M6 及び M7 であった。主な代謝経

路は、(i) M1 への O-脱メチル化（これは更に M14、M16、M18 及び M20 に代謝される)、(ii) M6 及び M7 へのヒドロキシル化（これは更に M3、M4、M5、M21、M14、M16、M18 及び M20 に代謝される)、更にラットでは（iii）M28 への N-脱アリル化である。全体として、レニオリシブの *in vivo* での代謝は *in vitro* での代謝をよく反映していた。ラット及びサルの両種において、腎排泄が放射能の排泄に占める割合はごくわずかであった。尿中には未変化体のレニオリシブは微量しか含まれず、ラットの尿中に最も多く含まれる代謝物は M1、M6 及び M7 であり、サルでは M28 であった（尿中の個々の代謝物は全て放射能の 1%未満である)。投与された放射能のほとんどは、両種の糞便中に回収された。静脈内投与及び強制経口投与後の糞便中には、未変化体のレニオリシブは微量しか検出されなかったことから、レニオリシブは主に代謝を介して消失することが示唆された。レニオリシブは、胆管カニューレ挿入ラットに静脈内投与後、胆汁中及び糞便中に未変化体として検出されることから、消化管へ直接排泄されることが示された。胆管カニューレを挿入しない無処置ラットでは、M1 及び M28 が糞便中の主要な代謝物であったが、胆管カニューレ挿入ラットの胆汁中には含まれておらず、腸内細菌叢を介した代謝の可能性が示唆された。サルの糞便中では、主成分は M1 及び M5 で、未変化体のレニオリシブは微量にしか検出されなかった。サルのマスバランス試験では、相当量（約 30%）の放射能が血漿から抽出されず、血漿タンパク質（おそらくアルブミン）と共有結合している可能性が示された。

2.4.3.4.3 種間比較

ラット、カニクイザル、及びヒトの血漿、尿及び糞便、又はラットの胆汁から、少量代謝物が多数検出された（表 2.4-7)。血漿中では、薬物曝露総量の 10%を超える主要代謝物は認められなかった。全般的に、ヒトで認められた代謝物はラット及びサルでも生成されている。代謝物 M3 は、ヒト血漿中では低レベル（0.34%）で検出され、ラット及びサルでは *in vivo* では検出されなかったが、*in vitro*（ラット及びサルのミクロソーム及び肝細胞）で生成された。

表 2.4-7 ラット、サル及びヒトへのレニオリシブ経口投与後の代謝物プロファイル

Metabolite	Metabolic reaction	Presence of metabolites in plasma, urine, feces and		
		Rat	Cynomolgus monkey	Human
M1	Demethylation	P, U, F, B	P, U, F	P, U, F
M2	Amide hydrolysis	-	U, F	-
M3	Dihydroxylation	-	-	P, F
M4	Hydroxylation, reduction	U, F	P, U, F	P, F
M5	Dihydroxylation	P, U, F, B	P, U, F	P, F
M6	Hydroxylation	P, U, F, B	P, U(t), F	P, U
M7	Hydroxylation	P, U, F, B	P, U(t), F	P, U
M8	Dehydrogenation	U	-	-
M9	Hydroxylation	P, U(t), B	P(t), U(t)	P(t), U
M10	Hydroxylation	P, U, F, B	U (t)	P, U
M11	Dehydrogenation	U	P	-
M12	Dihydroxylation	-	-	P(t)
M13	Dehydrogenation	P, U(t)	P	P
M14	Hydroxylation, demethylation	P, U, F, B	P, U(t), F	P(t), U
M15	Dihydroxylation	P, U(t)	-	-
M16	Hydroxylation, demethylation	P, U, F, B	P, U(t), F	P(t), U
M18	Hydroxylation, reduction,	U(t), F, B	U, F	P(t), U
M19	Hydroxylation	P, U(t), F, B	F	-
M20	Hydroxylation, reduction,	U(t), F, B	U(t), F	-
M21	Hydroxylation, reduction	P, U(t), F, B	P, F	P, U, F
M22	Hydroxylation	P(t)	-	P
M25	Dehydrogenation	P, U(t), B	-	P
M28	N-dearylation	U, F, B	P, U, F	P(t)
M29[a]	Hydroxylation, dehydrogenation	P	P, U(t)	-
M30	Hydroxylation, reduction, N-	-	U, F	-
M34	Demethylation, dihydroxylation	-	F	P(t), F
M37	Demethylation, dehydrogenation	-	P, U, F	P
M41	Dehydrogenation, hydroxylation	-	P, U(t)	-
M42	Hydroxylation, reduction,	-	F	P
M43	Dealkylation	-	P	P, F
M46	Hydroxylation, dehydrogenation	-	F	P
M47	Dehydrogenation	-	-	P
M48	Demethylation, dealkylation	-	P, U, F	U, F
M49	Dehydrogenation	-	P	-
M50	Hydroxylation	-	P	-
M51	Demethylation, hydroxylation	-	P, F	-
M52	Oxidation, reduction, hydroxylation	-	F	F
M53	Oxidation, reduction, hydroxylation	-	U(t), F	U, F
M54	Oxidation, reduction, hydroxylation	-	U, F	U, F
M55	Oxidation, reduction, hydroxylation	-	U, F	-
M56	Oxidation, reduction, hydroxylation	-	U(t), F	U
M57	Demethylation, dihydroxylation	-	-	F

-=not present or not reported; B=bile; F=feces; P=plasma; (t)=Trace, i.e., less than 0.1%; U=urine.
[a]: M29 has been identified as leniolisib specified impurity 不純物A*
Source: Studies [redacted].

2.4.3.5　薬物動態学的薬物相互作用

レニオリシブは、ヒト肝ミクロソーム中の UGT1A1 に対して *in vitro* で濃度依存的な阻害作用（IC_{50} は 7.24 μM）を示したが、ヒト肝サイトゾル中の SULT1E1 に対しては阻害作用を示さなかった。レニオリシブが *in vivo* で十分な高濃度に達すると、UGT を介した代謝の阻害を引き起こす可能性がある。しかし、毒性試験において、ビリルビン値の上昇などの UGT1A1 阻害の徴候は、ラットで最大耐量を超える 300 mg/kg/日でのみ認められた。

レニオリシブは、P 糖タンパク質（P-gp）の基質として同定され、阻害剤ではなかったが、乳がん抵抗性タンパク質（BCRP）に対しては基質であり阻害剤でもあった（IC_{50} は 18.9 μM、投与量/250 mL/ $IC_{50,u}$ は 487.65）。他のいくつかの取り込み・排出トランスポーターの阻害も認められた。これらには、有機アニオントランスポーターポリペプチド 1B1（OATP1B1；IC_{50} は 3.0 μM、$C_{max,inlet,u}/IC_{50,u}$ は 6.56）、OATP1B3（IC_{50} は 13.4 μM、$C_{max,inlet,u}/IC_{50,u}$ は 1.47）、有機カチオントランスポーター1（OCT1；IC_{50} は 39.9 μM、$C_{max,u}/IC_{50,u}$ は 0.2）、OCT2（IC_{50} は 3.4 μM, $C_{max,u}/IC_{50,u}$ は 2.38）、有機アニオントランスポーター1（OAT1；IC_{50} は 73.8 μM、$C_{max,u}/IC_{50,u}$ は 0.11）、OAT3（IC_{50} は 15.2 μM、$C_{max,u}/IC_{50,u}$ は 0.53）、多剤・毒素排出タンパク質 1（MATE1）（IC_{50} は 6.70 μM、$C_{max,u}/IC_{50,u}$ は 1.21）、MATE2-K（IC_{50} は 0.85 μM、$C_{max,u}/IC_{50,u}$ は 9.53）及び胆汁酸塩輸出ポンプ（BSEP）（IC_{50} は 38 μM）が含まれる。これらの *in vitro* の結果を［ICH M12］の基準に照らすと、レニオリシブは *in vivo* で OATP1B1、OATP1B3、OCT1、OCT2、OAT1、OAT3、MATE1 及び MATE2-K を阻害する可能性があり、肝細胞において高濃度に達した場合、BSEP を阻害する可能性がある。

ヒト肝ミクロソームにおいてレニオリシブは、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP2C8 に対して、それぞれ 29, 29, 36 及び 41.5 μM の非結合形阻害定数（$Ki_{,u}$）を示し、$C_{max,u}$ の 50 倍である 22.45 μM を超えていた。また、$C_{max,u}/K_{i,u}$ はそれぞれ 0.015、0.015、0.012 及び 0.011 であり、［ICH M12］の基準値（0.02）よりも低かった。このことから、レニオリシブは臨床使用においてこれらの酵素を阻害しないと考えられた。また、［ICH M12］に基づく CYP1A2 に対するリスク評価値は 1.417 であり、時間依存的（不可逆的）な阻害が認められた。レニオリシブは 5 μM を超える濃度でヒト PXR を活性化したが、ヒトアリール炭化水素受容体（AhR）を活性化しなかった。レニオリシブによる PXR 活性化は、ヒト初代培養肝細胞における CYP2B6、CYP2C9 及び CYP3A4 の mRNA 発現並びに活性の濃度依存的な誘導のメカニズムである可能性がある。しかし、*in vitro* ヒト初代培養肝細胞において、レニオリシブによる CYP2B6、CYP2C9 及び CYP3A4 の mRNA 発現に対する R 値は、CYP2B6 で 0.17、CYP2C9 で 0.31 及び CYP3A4 で 0.02 であった。同様に、CYP 活性の誘導に対する R 値は、CYP2B6 で 0.09、CYP2C9 で 0.44 及び CYP3A4 で 0.41 であった。以上の結果から、レニオリシブは臨床使用において CYP2B6、CYP2C9 及び CYP3A4 の誘導薬である可能性を完全には否定できないと考えられた。

臨床薬物相互作用試験である LE5101 試験では、レニオリシブがカフェイン（CYP1A2 基質）、ミダゾラム（CYP3A4 基質）、ロスバスタチン（BCRP、OATP1B1 及び OATP1B3 基質）、フロセミド（OAT3 基質）、及びメトホルミン（MATE 及び OCT2 基質）の PK に及ぼす影響を評価した。その結果、レニオリシブはカフェインの AUC を 1.2 倍に増加させたが、ミダゾラムの AUC には影響はなかった。また、ロスバスタチンの AUC は 2 倍に、フロセミドの AUC は 1.4 倍に、メトホルミンの AUC はわずかに 1.1 倍に、それぞれ増加させた［2.7.2 臨床薬理試験］。

2102 試験では、イトラコナゾール（強い CYP3A4 の阻害薬かつ P-gp 阻害薬）、及びキニジン（強い P-gp 阻害薬かつ CYP2D6 阻害薬）がレニオリシブの PK に及ぼす影響を評価した。その結

果、イトラコナゾールはレニオリシブの AUC を 2.1 倍に増加させたが、キニジンの影響は認められなかった［2.7.2 臨床薬理試験］。

2.4.3.6 その他の薬物動態

出生前及び出生後の発生（PPND）試験の授乳 10 日目（LD10）に、レニオリシブは用量依存的に F0 母ラットの全ての乳汁サンプルから検出された（10 mg/kg で 9077 ± 995 ng/mL 及び 90 mg/kg で 22267 ± 6093 ng/mL）。

2.4.4 毒性試験

レニオリシブの毒性試験には、単回及び反復強制経口投与毒性試験、遺伝毒性試験、トランスジェニックマウスを用いたがん原性用量設定（DRF）試験及び 26 週間がん原性試験、胚・胎児発生及び出生前及び出生後の発生に関する試験、雌雄の受胎能評価を含む幼若動物毒性試験、局所（眼）刺激性試験、光毒性試験、原薬不純物及び合成中間体の変異原性の可能性を検討する *in silico* 試験が含まれる。

反復投与毒性試験は全て 1 日 1 回経口投与で行われたが、臨床レジメンは 1 日 2 回（BID）経口投与である。しかし、動物における 1 日 1 回投与後の血漿中曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）は、ヒトにおける BID 投与後の曝露量を上回っていることから、これは適切な投与レジメンであると考えられる（表 2.4-14）。各種の毒性試験はマウス、ラット、ウサギ及びカニクイザルで実施した。Wistar Han ラットは、過去の背景データが豊富であることから、毒性試験で使用する主要なげっ歯類として選択した。非げっ歯類としてカニクイザルを用いたのは、過去の背景データが豊富であり、レニオリシブの *in vitro* 代謝とタンパク質結合がヒトと類似することによる。さらに、*in vitro* 及び *in vivo* 試験では、ラット及びカニクイザルの両方がレニオリシブの薬理学的活性に関して適切な種であることが示された。

ヒト及び毒性試験に使用されたいずれの生物種においても、未変化体の 10%を超える代謝物は認められなかったことから、トキシコキネティクス評価は未変化体であるレニオリシブについてのみ実施した。

2.4.4.1 単回投与毒性試験

ラットを用いた単回投与一般毒性試験は実施していない。カニクイザルを用いた探索的試験（単回投与及び反復投与）において、非侵襲的テレメトリー評価も含めて単回投与毒性を評価した。150 mg/kg の用量まで良好な忍容性を示した。レニオリシブに関連した臨床症状や、血液学的検査、血液生化学的検査及び免疫表現型解析の変化はなかった。心電図検査（ジャケットテレメトリー）では、150 mg/kg で QTc の一過性の延長（群平均 32 ms 又は 13%まで）が認められた。これらの変化は、これらの動物におけるレニオリシブの T_{max} 及び C_{max} と相関していた。本試験における無影響量（NOEL）は 100 mg/kg であった。

2.4.4.2 反復投与毒性試験

レニオリシブの反復投与一般毒性試験は、ラット及びサルを用いた 10 の *in vivo* 試験で構成される（表 2.4-8）。

表 2.4-8 レニオリシブの反復強制経口投与毒性試験

Duration	Species/ Strain	Number of animals per group/Gender	Doses (mg/kg/day)	GLP Status	Study Number/ CTD location
2 Weeks	Rat: Wistar	5 males/group	0, 30, 100, 300	No	[redacted] [4.2.3.2.1]
2 Weeks with 4-week recovery	Rat/RccHan: WIST	10/gender/group Recovery: 5/gender/group	0, 10, 50, 300	Yes	[redacted] [4.2.3.2.2]
4 Weeks with 4-week recovery	Rat/Crl:WI (Han)	10/gender/group Recovery: 6/gender/group	0, 10, 30, 90	Yes	[redacted] [4.2.3.2.3]
13 Weeks with 4-week recovery	Rat/Crl:WI (Han)	10/gender/group Recovery: 5/gender/ group Immunotoxicity: 6/gender/group	0, 10, 30, 90/120[a]	Yes	[redacted] [4.2.3.2.4]
26 Weeks with 4-week recovery	Rat/Crl:WI (Han)	20/gender/group (17 females in the 120 mg/kg/day group) Recovery:10/gender/grou p (13 females in the 120 mg/kg/day group)	0, 15, 40, 120	Yes	[redacted] [4.2.3.2.5]
7 Days (repeated dose part of study)	Monkey / Cynomolgus	3 males/group	0, 15, 150	No	[redacted] [4.2.3.2.6]
7 Days	Monkey / Cynomolgus	3 males/group	0, 300	No	[redacted] [4.2.3.2.7]
2 Weeks with 4-week recovery	Monkey / Cynomolgus	3/gender/group Recovery: 2/gender/ group	0, 30, 100, 300	Yes	[redacted] [4.2.3.2.8]
13 Weeks with 4-week recovery	Monkey / Cynomolgus	3/gender/group Recovery: 2/gender/ group	0, 40/20, 80/40, 160/120/60[b]	Yes	[redacted] [4.2.3.2.9]
39 Weeks with 4-week recovery	Monkey / Cynomolgus	4/gender/group Recovery: 2/gender/ group	0, 20, 40, 60	Yes	[redacted] [4.2.3.2.10]

CTD=common technical document; GLP=Good Laboratory Practice; kg=kilogram; mg=milligram.
[a]: Dose level increased from 90 mg/kg/day to 120 mg/kg/day from the start of Week 6.
[b]: **0, 40/20 mg/kg/day** (i.e., 40 mg/kg/day on Days 1 to 30 and 20 mg/kg/day on Days 31 to 91), **80/40 mg/kg/day** (i.e., 80 mg/kg/day on Days 1 to 23, followed by washout phase of 7 days, 40 mg/kg/day on Days 31 to 98), **160/120/60 mg/kg/day** (i.e., 160 mg/kg/day on Days 1 to 13, followed by washout phase of 5 days, 120 mg/kg on Days 19 to 23, another washout phase of 7 days, 60 mg/kg/day on Days 31 to 105).

2.4.4.2.1 ラット

レニオリシブはラットにおいて、最大 90 mg/kg/日を 4 週間、最大 90/120 mg/kg/日を 13 週間、最大 40 mg/kg/日を 26 週間投与した場合、全般的に良好な忍容性を示した。2 週間の反復投与毒性試験で 300 mg/kg/日を投与したラットに、下痢及び消化管の炎症作用を伴う投与に関連した瀕死状態が発生した。4 週間及び 13 週間の試験では、それぞれ 90 及び 120 mg/kg/日までの用量で死亡例は認められなかった。26 週間の試験において、高用量（120 mg/kg/日）群の全ての雌及び中用量（40 mg/kg/日）群の雌の 1 例を、真皮/表皮の炎症と細菌コロニーの存在に相関する皮膚のただれの結果による重度の症状のため試験終了した。

明らかな毒性と判断される一般状態の変化及び体重減少は、300 mg/kg/日の用量での 2 週間投

与試験でのみ認められた。体重増加は、雄では 13 週間及び 26 週間の試験でそれぞれ 90/120 及び 120 mg/kg/日、雌では 26 週間の試験で 40 及び 120 mg/kg/日で低値であった。

レニオリシブを反復投与すると、循環リンパ球数は用量依存的に減少した。その結果、キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）に対する T 細胞依存性抗体反応（TDAR）によって判定すると、90/120 mg/kg/日の投与動物では特異的抗体反応は無視できるレベルか、あるいは消失した。ここで認められた免疫機能の抑制は、レニオリシブに予想される薬理学的反応と一致していた。

4、13 及び 26 週間の反復投与毒性試験において、リンパ系臓器（腸間膜リンパ節、胸腺及び又は脾臓）の臓器重量減少が起こり、これは腸間膜リンパ節、下顎リンパ節、胸腺及び脾臓の細胞充実性減少、胸骨及び骨髄の脂肪細胞の増加という病理組織学的所見と相関していた。パイエル板/腸関連リンパ組織（GALT）でも胚中心が減少していた。甲状腺の濾胞細胞肥大/過形成の増加は、2 週間の探索的毒性試験でのみ認められ、その後のより長期間の GLP 試験では認められなかった。この試験では、肝臓のサイロキシン(T4)-UDP-グルクロン酸転移酵素（T4-UDP-GT）活性が上昇しており、投与された動物で認められた甲状腺濾胞細胞の肥大を説明できる可能性がある。全ての試験において、4 週間の休薬期間の終了時にリンパ系臓器における所見からの回復が認められた。

26 週間の試験では、精巣、前立腺、精巣上体重量の低下が認められた。これは、前立腺分泌の減少及び精巣における精上皮の軽微な減少と相関していた。40 及び 120 mg/kg/日を投与した雄では、精巣の変化（初期精細管での円形精子細胞の減少、又は後期精細管での精母細胞の減少）が多くの場合は散発的に精細管に認められた。雄の生殖細胞に対して行った免疫組織化学的検査では、細胞増殖（Ki-67 染色）及び生殖細胞数（Oct-4 染色）に統計学的に有意な変化は認められなかった。定量的評価では、いくつかの単一精細管で c-Kit 陽性細胞数の低下が認められ、これは A 型から B 型精原細胞への分化が減少した結果、これらの精細管では円形精子細胞数が減少したことを示している。4 週間の回復期に、c-Kit 陽性細胞数が増加しており、これは精子形成の回復が続いていることを示している。4 週間の回復期間の終了時には、精巣所見の部分的な回復が認められたが、120 mg/kg/日を投与した雄では、対照群と比較して、精巣及び精巣上体の重量の低下と、散発的な精細管での精上皮の軽微な減少が依然として認められた。

NOAEL は、4 週間及び 13 週間試験では 30 mg/kg/日、26 週間試験では 15 mg/kg/日と判断された。最終投与後のレニオリシブの血漿中曝露量の、臨床用量におけるヒトでの曝露量に対する曝露倍数を、表 2.4-14 にまとめた。

2.4.4.2.2 カニクイザル

カニクイザルを用いた反復投与毒性試験において、レニオリシブは最大 100 mg/kg/日の 2 週間、最大 60 mg/kg/日の 13 週間及び 39 週間投与にて忍容性は良好であった。カニクイザルを用いた予備的 2 週間反復投与毒性試験において、高用量群（300 mg/kg/日）の雄 1 例が瀕死となり試験終了した。このグループの残りの動物では、投与を 9 日目（雄）又は 7 日目（雌）に中止し、更に雄 5 例中 2 例、雌 5 例中 3 例を早期に試験終了した。これらの動物は持続的な激しい下痢及び嘔吐を呈し、投与期間終了時には顕著な体重低下が認められた。カニクイザルを用いた 39 週間の試験では、一部の動物で糞便の変化も認められた。これらの所見の重篤さに加え、脱水及び急速かつ顕著な体重減少が認められたため、10 週目及び 17 週目に 4 例が死亡又は試験終了した（20 mg/kg/日で 3 例、40 mg/kg/日で 1 例）。臨床病理学的及び病理組織学的検査では、複数の腸

内細菌病原体による感染が示唆された。抗生物質による治療を全ての投与群で実施し、その結果、全体的な感染負荷を軽減し、さらなる死亡を防止した。

サルを用いた全ての反復投与試験において、嘔吐及び/又は軟便/流動便が発生した。13 週間の試験では、これにより体重低下及び脱水症状を引き起こし、投与量の減少に至った。臨床病理学的所見は、全身性炎症、消化管タンパク質の喪失及び電解質不均衡と一致していた。テレメーター装着サルにおいて、レニオリシブの 150 mg/kg/日以上の単回及び複数回投与後に QT_c 延長が起こった。13 週間の試験では、60 mg/kg/日までの投与量では心電図に変化は認められなかった。39 週間の試験では、40 及び 60 mg/kg/日で QT 及び $QT_{c(B)}$の延長傾向が認められたものの、QT に統計学的に有意な変化は検出されなかった。PR、QRS、RR、及び心拍数にレニオリシブ関連の変化は認められなかった。

病理組織学的には、20 mg/kg/日以上の用量でリンパ系臓器（脾臓、GALT/パイエル板、リンパ節及び胸腺）のリンパ球枯渇（ほとんどが B 細胞領域）が認められた。さらに、盲腸、結腸及び直腸ではレニオリシブ関連の所見が認められ、亜急性から慢性の炎症及び又はびらん、潰瘍形成が認められた。陰窩微小膿瘍が認められたが、これはカンピロバクター（*C. jejuni*）によって引き起こされることが知られているため、レニオリシブの投与とは直接関連がないと考えられる。回復期間完了時、脾臓及び GALT/パイエル板ではリンパ球の枯渇は認められなくなったが、雌 1 例の下顎リンパ節及び、60 mg/kg/日で 39 週間投与した雄 2 例の胸腺では、軽微なリンパ球の枯渇が依然として認められた。消化管における全ての病理組織学的所見は、4 週間の休薬回復期間の後、回復した。

2 週間試験では無毒性量（NOAEL）は 100 mg/kg/日であったが、13 週間及び 39 週間試験では 20 mg/kg/日であった。最終投与後のレニオリシブの血漿中曝露量及びヒトでの臨床用量における曝露量に対する曝露倍数を、表 2.4-14 にまとめた。

2.4.4.3　遺伝毒性試験

レニオリシブの遺伝毒性パッケージは、ラットを用いた *in vitro* 3 試験及び *in vivo* 1 試験で構成されている（表 2.4-9）。

表 2.4-9　レニオリシブの遺伝毒性試験

Duration / Type of Study	Species / Strain	Number	Oral Doses (mg/kg/day) or Concentrations	GLP Status	Study Number/ CTD location
Microbial reverse mutation (Ames) test	*Salmonella typhimurium* (5 strains)	N/A	Up to 5,000 µg/plate	No	[redacted] [4.2.3.3.1.1]
In vitro micronucleus test	Human lymphoblastoid TK6 cells	N/A	Up to 342.9 µg/mL	No	[redacted] [4.2.3.3.1.2]
In vitro chromosomal aberration test	Primary human lymphocytes	N/A	Up to 600 µg/mL	Yes	[redacted] [4.2.3.3.1.3]
In vivo micronucleus assay in rats	Male Han Wistar Crl:WI (Han)	6 males / group	0, 175, 350, 700 mg/kg	Yes	[redacted] [4.2.3.3.2.1]

CTD=common technical dossier; GLP=Good Laboratory Practice; kg=kilogram; mg=milligram; N/A: not applicable.

細菌を用いる復帰突然変異試験では、プレートあたり 5,000 µg までの濃度のレニオリシブは、

S9 の存在下又は非存在下で変異原性を示さなかった。

TK6 ヒトリンパ芽球系細胞を用いた *in vitro* 小核試験及びヒト PBMC を用いた染色体異常試験において、レニオリシブの染色体構造異常誘発性及び/又は染色体数的異常誘発性を評価した。TK6 細胞では、レニオリシブは、S9 存在下で 3 時間培養後、あるいは S9 非存在下で 3 時間及び 20 時間培養後に、細胞毒性濃度まで小核を誘導しなかった。ヒト PBMC を最大 600 µg/mL の濃度で 3 時間（±S9）又は 20 時間（-S9）レニオリシブに曝露し、20 時間後に採取して有糸分裂指数及び構造異常又は数値的染色体異常を有する細胞数を測定した。これらの試験の結果、レニオリシブはヒトリンパ球又はヒト PBMC において、構造異常又は数的異常を誘発しないことが示された。

最後に、レニオリシブの遺伝毒性をラット骨髄小核試験で *in vivo* 評価した。レニオリシブは、雄性 Wistar Han ラットに 700 mg/kg までの用量で、2 日間連続して 1 日 1 回強制経口投与した。最終投与から 24 時間後に動物を屠殺し、骨髄を採取した。その結果、レニオリシブは投与したラットの骨髄の多染性赤血球に小核を誘発しなかった。

以上の試験結果より、レニオリシブは遺伝毒性を有さないと考えられる。

2.4.4.4 がん原性試験

rasH2 マウスの非トランスジェニック（野生型）同腹動物を用いた 2 つの用量設定試験及び、トランスジェニック rasH2 マウスを用いたがん原性試験を実施した（表 2.4-10）。Wistar Han ラットを用いた 2 年間のがん原性試験が進行中である。

表 2.4-10 レニオリシブの強制経口投与がん原性用量設定及び確定試験

Duration / Type of Study	Species/Strain	Number of mice per group	Oral Dose (mg/kg/day)	GLP Status	Study Number/ CTD location
7 Days Dose range finding	Mouse/CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic wt/wt	5/gender/ group	0, 60, 120, 240	No	[redacted]17-001 [4.2.3.4.2.1]
4 Weeks Dose range finding	Mouse/CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic wt/wt	10/gender/ group	0, 100, 240, 500	Yes	[redacted]1462 [4.2.3.4.2.2]
26 Weeks Pivotal	Transgenic CB6F1-Tg rasH2 hemizygous	25/gender/ group	0, 10, 30, 80	Yes	48943[redacted]/[redacted] 2858 [4.2.3.4.2.3]

CTD=common technical dossier; GLP=Good Laboratory Practice; kg=kilogram; mg=milligram.

4 週間の用量設定試験では、死亡は主に 500 mg/kg/日で発生し、このグループの動物は全て早期に試験終了した。500 mg/kg/日の投与群で全ての動物に認められた前胃の扁平上皮過形成、潰瘍形成、炎症が死亡の原因として考えられ、これはレニオリシブが刺激性を有する可能性を示唆している。また、240 mg/kg/日投与群の雌 10 例中 2 例で死亡が発生したが、その死因は不明であった。

体重増加は 100 及び 240 mg/kg/日で軽微に低値であり、これは摂餌量の低下と相関していた。病理組織学的には、雌雄（240 mg/kg/日のみ）の肝臓で小葉中心性肝細胞肥大が認められ、ビリルビン濃度及び ALP 活性の上昇と相関していた。100 及び 240 mg/kg/日では、リンパ球数の減少及

びリンパ系臓器（下顎リンパ節、腸間膜リンパ節及び脾臓）の病理組織学的変化が認められた。240 及び 500 mg/kg/日で死亡が発生したため、NOAEL は 100 mg/kg/日と考えられた。

この 4 週間の試験結果に基づき、FDA がん原性評価委員会は、トランスジェニック CB6F1-Tg rasH2 マウスを用いた 26 週間のがん原性試験では、0、10、30、及び 80 mg/kg/日の用量を推奨し、その用量を本試験に用いた。レニオリシブは、脾臓において有害でない非腫瘍性の病理組織学的検査所見（すなわち、10 mg/kg/日以上で髄外造血の増加及び 80 mg/kg/日で薬理作用に関連したリンパ球細胞充実性の低下）を誘発した。試験した最高用量レベル（80 mg/kg/日）は、投与期間終了時の $AUC_{0\text{-}24h}$ が雄で 28,100 ng•h/mL、雌で 40,500 ng•h/mL となり、無毒性量（NOAEL）であった。曝露量は、ヒトの推奨用量である 70 mg を BID 投与した場合の定常状態 $AUC_{0\text{-}24h,u}$ に基づく曝露量と比較して、それぞれ 1.6 倍及び 2.2 倍であった。これらの結果より、レニオリシブはトランスジェニック CB6F1-Tg-rasH2 マウスにおいてがん原性を有さないと考えられた。最終投与後のレニオリシブの血漿中曝露量及びヒトの臨床用量における曝露量に対する曝露倍数を、表 2.4-14 に示す。

2.4.4.5 生殖発生毒性試験

レニオリシブの生殖発生毒性パッケージ（表 2.4-11）の一環として、ラット及びウサギで胚・胎児発生試験及び、ラットで出生前及び出生後の発生に関する毒性試験を実施した。雌雄の受胎能及び初期胚発生の評価は、幼若ラットを用いた 10 週間反復投与毒性試験で行った。

表 2.4-11 レニオリシブの生殖発生毒性試験

Duration/ Type	Species/ Strain	Number of animals per group/Gender	Doses (mg/kg/day)	GLP Status	Study Number/ CTD location
Embryo-fetal development	Rat/Crl:WI (Han)	20 females/group	0, 10, 30, 120	Yes	[redacted] [4.2.3.5.2.1]
Embryo-fetal development DRF	Rabbit/Hra: (NZW)SPF	6 females/group	0, 30, 90, 120	No	[redacted] [4.2.3.5.2.2]
Embryo-fetal development	Rabbit/Hra: (NZW)SPF	22 females/group	0, 10, 30, 100	Yes	[redacted] [4.2.3.5.2.3]
Pre-and postnatal development	Rat/Crl:WI (Han)	22 mated F0 females/group	0, 10, 30, 90	Yes	[redacted]2830 [4.2.3.5.3.1]
3 Weeks Juvenile animal Dose Range Finding	Rat/Wistar (Han)	9/gender/group (3/gender in the 120 mg/kg/day group)	40, 80, 100, 100[a]	No	[redacted] [4.2.3.5.4.1]
10 Weeks Juvenile animal toxicity with assessment of fertility up to implantation and immunotoxicity	Rat/Crl:WI (Han)	Toxicity: 10/gender/group Recovery:10/gender/group Immunotoxicity PND 28: 10/gender/group Immunotoxicity PND 78: 10/gender/group Fertility: 20/gender/group TK on PND 7: control 24 M/F, other groups 60 M/F TK on PND 77: 10/gender/group	0, 10, 30, 90	Yes	[redacted] [4.2.3.5.4.2]

CTD=common technical dossier; DRF=dose range finding; F=female; GLP=Good Laboratory Practice; kg=kilogram; mg=milligram; M=male; PND=post-natal day; TK=toxicokinetics.
[a]: Initially pups of high-dose group were exposed to 120 mg/kg/day but 2 pups died within one day and all pups showed

(severe) clinical signs. All animals of this group were terminated, and new (naïve) pups were used to create a new group which was dosed at 100 mg/kg/day.

2.4.4.5.1 受胎能及び初期胚発生に関する試験

着床までの初期胚発生の評価を含む、雌雄の受胎能に対するレニオリシブの影響を、ラットを用いた幼若毒性試験の一環として評価した。本試験の用量レベルは 10、30 及び 90 mg/kg/日とした。動物には生後 7 日目（PND7）から PND77 まで 10 週間投与し、その後、交配前から雌は妊娠 6 日目までの 2 週間、雄は剖検前日まで投与を続けた。全ての用量レベルにおいて、交尾率及び受胎能並びに発情周期は背景データの範囲内であった。黄体数の平均値及び雌 1 例あたりの着床数には影響はなく、着床前喪失がないことを示した。全体として、レニオリシブはラットの交尾と受胎能に影響を及ぼさなかった。

2.4.4.5.2 胚・胎児発生に関する試験

ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生試験を実施した。ラットでは、120 mg/kg/日の用量で、小眼球症/無眼球症が認められ、レニオリシブに関連していると考えられた。ウサギの試験（用量設定試験及び主試験）では、30 mg/kg/日までの用量では、生物学的に意味のある胚・胎児の変異及び奇形の発生率の増加及び催奇形作用の徴候は認められなかった。高用量では母体毒性（体重減少）が顕著で、1 腹 2 胎児に小眼球症が認められた。ウサギでの小眼球症は 1 腹ではあるものの、ラットの小眼球症を考慮すると投与との関係は否定できない。これらのデータから、レニオリシブは 120 mg/kg/日の用量でラットにおいて催奇形性があると結論づけられた。ラットの母体毒性における NOAEL 及び胚・胎児発生に対する無影響量（NOEL）は 30 mg/kg/日であった。最終投与後のレニオリシブの血漿中曝露量及びヒトの臨床用量における曝露量に対する曝露倍数を、表 2.4-14 にまとめた。

2.4.4.5.3 出生前及び出生後の発生に関する試験

出生前及び出生後の発生（PPND）試験では、妊娠中の Wistar Hannover 系（Crl:WI[Han]）ラットにレニオリシブを 10、30 及び 90 mg/kg/日の用量で、GD 7 から LD 20 まで継続して 1 日 1 回強制経口投与した。妊娠期間中のレニオリシブに関連した母動物への影響としては、90 mg/kg/日で母体の平均体重増加が低下し、30 mg/kg/日以上で母体の平均摂餌量が低下した。授乳期間中、レニオリシブに関連した母動物への影響として、90 mg/kg/日で一般状態（流涎）、10 mg/kg/日以上では母動物の平均体重増加の低下、90 mg/kg/日では母体の平均摂餌量の低下が認められた。これらの試験結果に基づき、レニオリシブの母動物における無毒性量（NOAEL）は 90 mg/kg/日であった。レニオリシブは、F0 母ラットの全ての乳汁サンプルから用量依存的に検出された。離乳前の期間中、90 mg/kg/日で哺育率（出生児が産後 21 日間生存した割合）は統計的に有意に低下（溶媒対照群の 91%）し、有害所見と判定した。さらに、90 mg/kg/日で出生児の体重が低下し、F1 世代の雄及び雌では成長への影響が離乳後まで続いたが、離乳期以降の低下にはばらつきがあり、有害とはみなされなかった。F1 世代のラットでは、どの用量レベルでも、剖検時にレニオリシブに関連した影響は検出されず、性成熟、神経行動学的機能、受胎能にも影響はなかった。出生児の生存率及び体重への影響に基づき、レニオリシブの離乳前発生 NOAEL は 30 mg/kg/日、離乳後 NOAEL は 90 mg/kg/日であった。

最終投与後のレニオリシブの血漿中曝露量、及びヒトでの臨床用量における曝露量に対する曝

露倍数を表 2.4-14 に示す。

2.4.4.5.4 幼若動物毒性試験

幼若 Wistar Han ラットを用いた 10 週間の毒性試験（7 週間の回復期間あり）では、出生児にレニオリシブ（10、30 及び 90 mg/kg/日）を PND7 から PND77 まで反復経口投与した。別のサブグループの動物では、雌雄の受胎能及び初期胚発生を評価するため、PND77 以降も投与を継続した。さらに、免疫毒性評価のために、別のサブグループ動物にレニオリシブを PND28 又は PND77 まで投与した。

死亡（10 mg/kg/日で 2 例、30 mg/kg/日で 2 例、90 mg/kg/日で 9 例）は主に離乳前の期間（PND9～PND15）に発生した。数例の出生児は共食いされ、病理組織学的検査で死因は特定できなかった。

離乳までの期間では身体的発達に影響はなかったが、その後、30 及び 90 mg/kg/日を投与した動物で身体的発達（体重増加）のわずかな遅れが認められた。30 及び 90 mg/kg/日の雄の性成熟（亀頭包皮分離）の 1 日遅れ及び、90 mg/kg/日の雌の長骨長の短縮は、全て体重の低値に関連していると考えられた。30 及び 90 mg/kg/日群の雌では、膣開口は対照群より 1 日早かったが、発情周期の評価及び性器の病理学的検査でホルモン障害の徴候は認められなかった。30 又は 90 mg/kg/日を投与した動物では、リンパ組織（脾臓、腸間膜リンパ節、GALT/パイエル板、下顎リンパ節、膝窩リンパ節）に軽微な病理組織学的変化が散見された。全ての投与量レベルにおいて、リンパ組織の胚中心及び辺縁帯のような B 細胞に富む領域の減少が認められたが、特に 90 mg/kg/日を投与した動物で顕著であった。これらの所見は、回復期に完全に回復することが示された。

雄の 30 mg/kg/日以上の群では、精巣及び精巣上体の臓器重量の軽微な減少が認められた。さらに、精子数の低下も認められたが、これは背景データの範囲内であった。病理組織学的には、全ての雄動物で生殖器の発生は基本的に正常であり、精上皮内には全ての成熟段階の生殖細胞が存在していた。円形精子細胞の減少及び/又は精母細胞の減少を伴う、異なる精細管ステージの単一精細管を持つ雄が散見された。受胎能評価グループでは、毒性評価のサブグループと比較して投与期間は長かったものの、より重度の病変への進行や、中期～後期精細管における精子細胞の一般的な変化（円形及び/又は伸長）は認められなかった。精巣上体における炎症性細胞巣の発生率は 30 及び 90 mg/kg/日で増加したが、これは免疫調節に関連している可能性がある。精巣の変化のほとんどは 7 週間の回復期間を経て完全に回復したが、精巣及び精巣上体重量の軽微な低下は残存した。

免疫毒性サブグループでは、投与に関連して循環 B 細胞、抗 KLH 抗体反応、血清中 IgG 及び IgM レベルの低下が認められた。この効果はレニオリシブの薬理学的活性に関連していると考えられ、7 週間の休薬期間中に回復可能であることが示された。

NOAEL は雄で 10 mg/kg/日、雌で 30 mg/kg/日と考えられた。最終投与後のレニオリシブの血漿中曝露量及びヒトの臨床用量における曝露量に対する曝露倍数を、表 2.4-14 に示す。

2.4.4.6 局所刺激性試験

ウサギを用いて眼刺激性試験を実施した（表 2.4-12）。この試験では、0.5%, 2%又は 5%の濃度のレニオリシブをウサギの右眼にスポイトで 1 時間おきに 6 回点眼した。臨床観察、眼科検査及び刺激スコアリングを実施した。レニオリシブ 2%及び 5%では、軽微でかつ一過性の結膜充血が

認められたが、それ以外の眼刺激やスリットランプ検査所見は認められなかった。これらの結果より、ウサギへのレニオリシブの局所眼内投与は良好な忍容性を示した。

表 2.4-12 レニオリシブの局所刺激性試験

Duration /Type of Study	Species/ Strain/ number	Dose (mg/kg/ day) or Concentration	GLP Status	Study Number/ CTD location
Local tolerance: 1 Day Ocular tolerability (6 administrations)	Dutch Belted Rabbit 3 males/group	0.5%, 2%, 5% solution, 60 µL	No	[redacted] [4.2.3.6.1]

CTD = common technical dossier; GLP = Good Laboratory Practice; kg = kilogram; mg = milligram.

2.4.4.7 その他の毒性試験

In vitro 光毒性試験、*in vitro* 甲状腺障害メカニズム試験、及び 2 つのプロセス不純物の Ames 試験を実施した（表 2.4-13）。

表 2.4-13 レニオリシブのその他の毒性試験：光毒性、メカニズム、不純物

Duration / Type of Study	Species/ Strain/ number	Oral Doses (mg/kg/day) or Concentrations	GLP Status	Study Number/ CTD location
Phototoxicity: *In vitro* neutral red uptake (NRU) assay: phototoxicity profiling	Balb/c 3T3 mouse fibroblast cells	Up to 1,000 µM	No	[redacted] [4.2.3.7.7.1]
Phototoxicity: *In vitro* NRU assay: phototoxicity test	Balb/c 3T3 mouse fibroblast cells	Up to 400 µg/mL	Yes	[redacted] [4.2.3.7.7.2]
Mechanistic: *In vitro* thyroid liabilities evaluation	Rat FRTL-5 cells	Up to 100 µM	No	[redacted] [4.2.3.7.3.1]
Impurities: Microbial reverse mutation (Ames) test for Propionyl Chloride	*S. typhimurium*	Up to 5,000 µg/plate	No	[redacted] [4.2.3.7.6.2]
Impurities: Microbial reverse mutation (Ames) test for Di-tert-butyl(2'-methyl-[1,1'-biphenyl]-2-yl)phosphine	*S. typhimurium*	Up to 2,500 µg/plate	No	[redacted] [4.2.3.7.6.3]

CTD = common technical dossier; GLP = Good Laboratory Practice; kg = kilogram; mg = milligram; NRU = neutral red uptake.

2.4.4.7.1 光毒性試験

レニオリシブは 290 nm 及び 330 nm の紫外線を吸収し、そのモル吸光係数は［ICH S10］の閾値 1000 L $mol^{-1}cm^{-1}$ を超える。そこで、*in vitro* 3T3 ニュートラルレッド取り込み（NRU）アッセイ（非 GLP 及び GLP）を実施し、光毒性の可能性を評価した。

3T3 線維芽細胞を用いた予備的 *in vitro* NRU アッセイでは、高濃度（≥500 µM）を用いたため、レニオリシブの沈殿が生じた。算出された光刺激係数（PIF）は 5.3 で、陽性の基準（PIF>5）をわずかに超えた。3T3 線維芽細胞を使用した GLP 下での NRU アッセイ本試験では、レニオリシブの細胞毒性の IC_{50} は、照射無しの場合 400 µg/mL 以上（細胞毒性無）であり、照射後では 226 µg/mL であった。この濃度では沈殿が認められた。照射無の場合の IC_{50} として、試験した最高濃

度である 400 µg/mL を用いると、理論的な PIF 値は 1.8 と計算され、ICH S10 によると光毒性無の範疇（PIF<2）に入る。光毒性の可能性を評価するための MPE（平均光作用）値は算出されなかった。また、［ICH S10］では、光照射時に 100 µg/mL までの濃度で明らかな細胞毒性を示さない化合物については、意義のある光毒性はないとみなしている。

これらの結果より、レニオリシブには光毒性がなく臨床的に意義のある光毒性の可能性はないと判断した。

2.4.4.7.2 免疫毒性試験

免疫毒性は、ラット及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験における分画免疫細胞数の評価によって評価し、循環 B リンパ球及び T リンパ球の低下が認められた。さらに、キーホールリンペットヘモシアニン（KLH）に対する TDAR は、ラットを用いた 13 週間の反復投与毒性試験及びラットを用いた 10 週間の幼若動物毒性試験の一部として実施されており、これを以下に説明する。

ラットを用いた 13 週間の試験では、雄及び雌の別々のサブグループに、第 9 週及び第 11 週の開始時に 300 µg/kg の KLH を静脈内投与し、その後血液サンプルの IgG 及び IgM 特異的抗 KLH 抗体について分析した。結果は、雄及び雌における IgG 及び IgM の反応は、どの用量レベルでも顕著に低下した。このことは、レニオリシブを投与した動物では、IgG 及び IgM を産生する B リンパ球数の低値と一致していた。休薬期間中に B リンパ球数が回復したことから、KLH に対する TDAR の低下も回復可能であると考えられる。

10 週間の幼若動物試験では、別々の動物群に PND56 及び PND63 に KLH（300 µg/kg）を静脈内投与した。抗 KLH 抗体反応、血清 IgG 及び IgM レベルは明らかな用量依存的低下を示した。血液中の免疫表現型検査では、90 mg/kg/日を投与された雄及び雌で $CD3^+/CD8^+$T 細胞の低値が認められた。B 細胞数の用量依存的低下が全ての用量レベルで認められた。休薬期間中、抗 KLH IgG 反応、T 細胞数、及び B 細胞数は全て同時対照群と同等のレベルまで回復した。

これらの試験で観察されたリンパ球数（主に B 細胞及び T 細胞）及び TDAR 反応の低下は、レニオリシブが免疫機能を抑制することを示しており、レニオリシブの薬理学的活性を示している。

2.4.4.7.3 メカニズム試験

甲状腺濾胞細胞の肥大が、ラットを用いた 2 週間の反復投与毒性試験で観察されたが、より長期間の他のラット試験及びサルを用いた試験では認められなかった。

この肥大のメカニズムを、*in vitro* でのメカニズム試験で検討した。ラット甲状腺細胞株 FRTL-5 をレニオリシブに曝露し、細胞生存率、遺伝子発現、及びヨウ化ナトリウム共輸送体（NIS）活性に対する影響を評価した。ラット甲状腺及び FRTL-5 細胞における PI3K アイソフォームの発現を検討した。さらに、未投与のラット及びヒトの甲状腺由来の甲状腺ペルオキシダーゼ（TPO）との結合及び阻害について検証した。

レニオリシブは 100 µM で、FRTL-5 細胞の NIS 遺伝子発現及び NIS 活性を増加させた。ラット又はヒトの TPO 調製物の TPO 活性に影響はなかった。PI3Kδ 及び PI3Kγ の発現は、ラット甲状腺では低レベルで検出されたが、FRTL-5 細胞では認められなかった。対照的に、PI3Kα 及び PI3Kβ は FRTL-5 細胞及びラット甲状腺の両方で容易に検出可能であった。レニオリシブは甲状腺ミクロソーム、ラット又はヒトの精製酵素の TPO 活性を阻害しなかった。

これらの結果は、レニオリシブが NIS 発現及び NIS 活性を増加させ、それによってヨウ素の取り込みを増加させることが示唆された。

2.4.4.7.4 依存性試験

効力を裏付ける試験又は副次的薬理試験において、中枢神経系に作用することが知られている標的へのレニオリシブの結合は示されていないため、依存性試験は実施していない。

2.4.4.7.5 代謝物に関する研究

ラット及びカニクイザルを用いた *in vivo* 代謝試験、及びヒトにおける試験では、未変化体の10%を超える代謝物は認められていない。このため、トキシコキネティクス試験は未変化体のレニオリシブについてのみ実施している。

2.4.4.7.6 不純物及び分解生成物の評価

不純物の潜在的な変異原性は、[ICH M7(R1)]に従って、Derek Nexus、Case Ultra 及び Sarah Nexus を用いた定量的構造活性相関（QSAR）解析により *in silico* で評価した。遺伝毒性に関する潜在的な警告に基づき、Ames 試験を実施し、その概要を［2.6.6 毒性試験の概要文］に示した。

出発物質 PH-D9 の製造用に使用する試薬である 1,3-ジブロモ-5,5-ジメチルヒダントインは、Ames 試験で陽性であることが以前に示されており、原薬中で毒性学的懸念の閾値（TTC）未満のレベルに管理されている。1 日の最大摂取量が 1.5 µg/日［ICH M7(R1)］の場合、レニオリシブリン酸塩の最大投与量 170.52 mg/日（レニオリシブ 140 mg/日に相当）とすると、この不純物の原薬中の最大許容濃度は 1.5 µg/170.52 mg = 8.8 ppm である。他の 2 つの不純物、tBuMePhos 及び塩化プロピオニルについては、Ames 試験を実施し、どちらも非変異原性であった。

製造過程のさまざまな化学的ステップを考慮したリスクベースのアプローチで、ニトロソアミン不純物の潜在性を評価した。その結果、ニトロソアミン不純物は原薬中に検出されなかったが、N-ニトロソジエチルアミン（NDEA）についてのみ 10 ppb 未満で検出され、これは許容一日摂取量に基づく許容限界の 10%未満であった。ニトロソアミン不純物を適切に管理するための計画を［3.2.S.3.2］に記載した。

ニトロソアミン原薬関連不純物（NDSRI）について、賦形剤中の亜硝酸塩と原薬との相互作用の可能性を評価した。その結果、レニオリシブの製剤にニトロソアミン不純物が存在するリスクは無視できると考えられた。詳細を［3.2.P.5.5］に記載した。

2.4.4.8 全身曝露量

申請臨床用量である 70 mg BID（140 mg/日）での患者におけるレニオリシブの血漿曝露量と、マウス、ラット、ウサギ及びサルを用いた重要な毒性試験における血漿曝露量の比較を表 2.4-14 に示す。

表 2.4-14 長期間毒性試験における定常状態での全身曝露量及び患者におけるレニオリシブ曝露量の比較

Species/ Duration or Type of Study	Dose[a] (mg/kg/ day)	HED[b] (mg/kg/ day)	HED[c] ratio vs MRHD	$C_{max, tot}$[d] (ng/mL)	$AUC_{0-24h, tot}$[d] (ng·h/mL)	Exposure multiple versus patients[e]			
						$C_{max, tot}$	$C_{max, u}$	$AUC_{0-24h, tot}$	$AUC_{0-24h, u}$
Human[e]	140	2.3	1.0	3,790[f]	40,800[g]	N/A	N/A	N/A	N/A
Rat 26-wk Repeat dose toxicity	**15**	2.4	1.0	5,660	19,750	1.5	2.2	0.5	0.7
	40	6.4	2.8	16,100	69,700	4.2	6.3	1.7	2.5
	120	19.2	8.3	22,300	142,000	5.9	8.8	3.5	5.2
Monkey 39-wk Repeat dose toxicity	**20**	6.4	2.8	6,775	20,300	1.8	3.2	0.5	0.9
	40	12.8	5.6	13,600	48,500	3.6	6.5	1.2	2.1
	60	19.2	8.3	18,050	75,450	4.8	8.6	1.8	3.3
Transgenic Mouse 26-wk Carcinogenicity	10	0.8	0.3	8,170	2,135	2.2	4.9	0.1	0.1
	30	2.4	1.0	5,695	9,600	1.5	3.4	0.2	0.5
	80	6.4	2.8	7,460	34,300	2.0	4.4	0.8	1.9
	80 (M)	6.4	2.8	5,520	28,100	1.5	3.3	0.7	1.6
	80 (F)	6.4	2.8	9,400	40,500	2.5	5.6	1.0	2.2
Rat (dams) EFD	10	1.6	0.7	3,520	12,800	0.9	1.4	0.3	0.5
	30	4.8	2.1	7,730	65,000	2.0	3.0	1.6	2.4
	120	19.2	8.3	17,000	248,000	4.5	6.7	6.1	9.1
Rabbit (dams) EFD	10	3.2	1.4	2,820	5,210	0.7	ND	0.1	ND
	30	9.6	4.2	7,720	13,200	2.0	ND	0.3	ND
	100	32.0	13.9	26,400	87,300	7.0	ND	2.1	ND
Rat 10-wk juvenile animals	**10 (M)**	1.6	0.7	2,330	5,270	0.6	0.9	0.1	0.2
	30 (F)	4.8	2.1	12,000	40,200	3.2	4.7	1.0	1.5
	90	14.4	6.3	18,100	116,950	4.8	7.1	2.9	4.3

AUC = area under the concentration-time curve; AUC_{0-24h} = area under the concentration-time curve from time zero to 24 hours; $C_{max, tot}$ = total maximum concentration; EFD = embryo-fetal development; F = females; h = hour; HED = human equivalent dose; kg = kilogram; mg = milligram; M = males; MRHD = maximum recommended human dose; N/A = not applicable; ND = not determined; ng = nanogram; tot = total; u = unbound; wk = weeks.

a: Bold is the no observed adverse effect level (NOAEL).

b: Human equivalent dose calculated using the body surface area correction factor; i.e., mouse multiplied by 0.08, rat multiplied by 0.16, rabbit multiplied by 0.32, monkey multiplied by 0.32 (Guidance for Industry - Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers – Table 1)

c: 70 mg, BID (140 mg/day), calculated for a 60 kg human.

d: Based on combined gender (male/female) total leniolisib concentrations (unless specified otherwise).

e: Animal-to-human ratio of total daily drug exposure at steady-state (ss). Average free fraction in plasma was 5.5%, 9.9%, 8.2% and 12.4% in human, monkey, rat, and mouse, respectively.

f: Observed human geometric mean steady-state peak drug concentration ($C_{max, ss}$) after 2 weeks of twice daily (tau = 12 h) oral dosing at 70 mg BID was 3,790 ng/mL, corresponding to a free drug C_{max} ($C_{max,ss, u}$) of 208 ng/mL.

g: Observed geometric mean human (adults) total daily drug exposure at steady-state ($AUC_{0-24h, ss}$) after 2 weeks of twice daily (repeated time period of dosing (tau) = 12h)) oral dosing at 70 mg (total daily dose of 140 mg) was 40,800 ng·h/mL (i.e., 2 x $AUC_{tau, ss}$ ((2 x 20,400 ng·h/mL);, corresponding to a free drug ($AUC_{0-24h,ss, u}$) of 2,244 ng·h/mL.

2.4.5 概要及び結論

レニオリシブは、他のクラス IA 脂質キナーゼ及び関連する PI3Kα、β 及びγアイソフォームよりも高い *in vitro* 選択性で PI3Kδ を強力に阻害する。細胞レベルでは、レニオリシブは、活性化、増殖、サイトカイン産生、APC 機能、及び抗体産生など、複数の PI3Kδ 依存性 B 細胞機能を強力に阻害する。さらにレニオリシブは、自然免疫系（肥満細胞、好中球、好塩基球）及び適応免疫系（T 細胞）の細胞の活性化及び/又は機能に影響を及ぼす。*In vivo* では、レニオリシブはラット及びサルにおいて、*ex vivo* で刺激された B 細胞の活性化を時間依存的に低下させた。APDS の発症に直接関連する PI3Kδ の阻害効果は、多くの *in vivo* モデルで示されており、免疫ラットにおける抗体産生阻害も含まれる。さらに、レニオリシブは、ラットの CIA の予防及び治療モデルにおいて病態を改善する効果も示している。

レニオリシブは、標的とは無関係のプロテインキナーゼ、プロテアーゼ、受容体、及びイオンチャネルに対して大きな選択性を示し、*in vitro* での安全性プロファイルが良好であることを示唆している。一般的な成長因子を介した増殖に対する影響は認められず、p53 の有意な阻害も認められなかった。PI3K 阻害剤による PI3Kα のオフターゲット阻害は、インスリン感受性及びグルコース代謝を低下させる結果、患者に高血糖を引き起こす可能性がある［Nunnery SE, 2019］。レニオリシブは、*in vitro* では PI3Kα に関連するインスリン受容体シグナル伝達及びグルコース代謝に有意な影響を及ぼさなかった。マウスを用いた 2 週間の試験で、レニオリシブは高用量（100 mg/kg/日）でわずかにインスリン非感受性/抵抗性を誘導した。ラットでは、予備的な 2 週間の反復投与試験において、非耐容用量の 300 mg/kg/日でのみグルコース濃度の上昇が検出されたが、ラットを用いた他の試験では検出されなかった。サルのグルコース濃度にも変化はなかった。これらの結果より、レニオリシブがヒトにおいて薬理学的用量で PI3Kα のオフターゲット阻害によりインスリン感受性に関連した変化を引き起こす可能性は低いと考えられた。

レニオリシブは、心筋 Nav1.5 及び Cav1.2 電位依存性ナトリウム及びカルシウムチャネルに対する阻害作用は示さなかったが、hERG 活性に対して阻害を示した［IC_{50} は 11.9 μM（5.4 μg/mL）］。この hERG の阻害は心室再分極を遅延させ、トルサード・ド・ポアント（TdP）を引き起こす可能性がある。hERG 活性に対する IC_{50} はレニオリシブの 70 mg（BID）をヒトに投与した定常状態の $C_{max,u}$ である 208 ng/mL より 26 倍高い。このマージンは、TdP を引き起こす薬剤とこの不整脈に関連しない薬剤を区別するのに一般的に使用される 30 倍のマージンよりわずかに低値である［Redfern WS, 2003］［Leishman DK, 2020］。これを考慮すると、レニオリシブの TdP のリスクを完全には否定できない。カニクイザルを用いた心血管安全性薬理試験において、レニオリシブは 150 mg/kg の単回経口投与により、ベースライン調整後の溶媒対照と比較して平均 32 ms の QT 延長を示した。雄性サルにおける 150 mg/kg/日のレニオリシブの $C_{max,u}$ 及び $AUC_{0\text{-}24h,u}$ は、ヒト臨床用量の定常状態の曝露量のそれぞれ約 9 倍及び 6 倍であった。QTc 延長傾向は、40 mg/kg/日を 39 週間投与したサルでも明らかであった。この用量レベルでは、雌雄をプールした血漿中曝露量（$AUC_{0\text{-}24h,u}$）は、臨床用量におけるヒト定常状態曝露量の 2.1 倍であった。これらのデータを総合すると、レニオリシブは臨床的に問題となる QT の延長を引き起こす可能性が示唆される。しかし、［2.7.4 臨床的安全性の概要文］で示したように、臨床試験で収集された全ての電気生理学的データを評価した結果、レニオリシブは心臓の再分極やその他の心電図パラメータに臨床的に問題となる影響を示さなかった。さらに、レニオリシブ群及びプラセボ群における TdP /QT 延長の SMQ に該当する有害事象の調査では、安全性シグナルは認められなかった。また、健康成人

を対象とした曝露量-QTc モデリング解析において、レニオリシブは QTcF の延長と関連しなかった。

レニオリシブの PK パラメータは、迅速かつ中程度の吸収（ラット：T_{max} 0.25 h、吸収率 46.1%）、中～高程度の絶対経口バイオアベイラビリティ（59%～86%）、低～中程度の Vss、高いクリアランス、短い $T_{1/2}$（0.8～3.4 h）を示した。全ての動物種において、全身曝露はほぼ用量に比例した。ラット及びサルでは性差が認められたが、種間で一貫性がなく、異なる試験間で程度も異なっていた。いずれの試験動物種においても、反復投与による蓄積は認められなかった。

循環中のレニオリシブは主に血漿蛋白と結合しており、非結合形分率はマウスで 12.4%、ラットで 8.2%、サルで 9.9%、及びヒトで 5.5%である。中程度の組織分布が認められ、組織中濃度はほとんど全てが血液中より低値であり、メラニンを含む構造物への滞留を除き、組織からの排出は速い。レニオリシブ又はその代謝物は脳への組織分布を示さなかった。

ヒト肝ミクロソーム及び組換え酵素を用いて、CYP3A4 がレニオリシブの一次酸化代謝に関与する主要な酵素（94.5%）であり、他の酵素（CYP3A5、CYP1A2 及び CYP2D6）の寄与はわずかであることが示された。ラット、サル及びヒトの血漿中では、未変化体のレニオリシブが主成分であり、主な循環代謝物は水酸化体 M6 及び M7 であった。どの動物種においても、血漿中に 10%以上存在する主要代謝物は認められなかった。ラット及びサルでは、レニオリシブは広範に代謝され、主に胆汁・糞便経路で排出され（投与量の 90%超）、腎排泄の程度は低値であった（10%未満）。排泄物中の投与量の 10%未満がレニオリシブ未変化体として検出された。ヒトでは、[^{14}C]レニオリシブを 70 mg 単回経口投与した後、レニオリシブ及びその代謝物の排泄経路は主に糞便（67.0%）、次いで尿（25.5%）であった。投与 168 h 時点の総[^{14}C]-放射能の平均回収率は 92.5%であった。血漿中の総[^{14}C]-放射能の大部分（約 70%）は、レニオリシブ未変化体であった。健康成人にレニオリシブを 400 mg 単回投与した後、^{19}F-NMR を用いて血漿中及び排泄物中のレニオリシブ及び代謝物を測定した探索的試験［2.7.2 臨床薬理試験］では、血漿中の主成分はレニオリシブであり（96%）、M6 及び M7 が主な循環代謝物であった（投与量の 4%未満）。総投与量のうち 23.0%が尿中に、42.4%が糞便中に回収された。全体として、投与量の 56%が代謝物として排泄され、10%未満がレニオリシブ未変化体として排泄されたことから、未変化体の直接排泄が主なクリアランス機構ではないと予想された。

レニオリシブは *in vivo* において CYP2B6、CYP2C9 及び CYP3A4 の誘導薬である可能性を完全には否定できない。レニオリシブは、主に CYP3A4/5 を介して代謝されるため、CYP3A4 阻害剤及び誘導剤との相互作用が予想される。臨床における薬物相互作用試験［2.7.2 臨床薬理試験］において、レニオリシブは、CYP3A4/5 阻害剤（イトラコナゾール）と併用するとレニオリシブ単独での投与と比較して、レニオリシブの曝露量は約 2 倍に増加した。レニオリシブは P-gp の基質としても同定されたが、臨床での薬物相互作用試験において、P-gp の阻害は腸管吸収に問題となる曝露量の増加をもたらさなかった。レニオリシブは *in vitro* において OATP1B1、OATP1B3、OCT1、OCT2、OAT1、OAT3、MATE1、MATE2-K、及び BCRP を阻害し、*in vivo* においても阻害を示すことが示唆された。

Wistar Han 系ラット及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験の標的臓器・系は、レニオリシブの免疫調節作用に関連する造血・造リンパ系、心血管系（QT 作用）、消化管、及び雄性生殖器（ラットのみ）であった。

レニオリシブは、免疫制御性の薬理作用により、90/120 mg/kg/日で TDAR を低下させ、ラット

を用いた 13 週間の試験では有害と考えられるレベルまで低下させた。免疫機能が低下した結果、反復投与毒性試験では、消化管や皮膚で日和見感染症が発生し、死亡又は瀕死状態につながった。炎症性疾患を対象に臨床開発中の PI3Kδ 阻害剤である AMG2519493 についても、カニクイザルにおける免疫調節及び二次的日和見感染が報告された［Werner J, 2020］。レニオリシブと同様に、海外で承認されている PI3Kδ 阻害剤であるイデラリシブ（ザイデリグ）も、日和見感染症は特に記載されていないものの、ラットにまばらな毛並み、皮膚の痂皮、紅斑、及び腫脹を引き起こした［Zydelig FDA Drug Approval Package, 2014］。レニオリシブの薬理活性は、腸間膜リンパ節及び下顎リンパ節、GALT/パイエル板、胸腺、脾臓、及び胸骨の骨髄などのリンパ組織で細胞の枯渇を引き起こし、これはイデラリシブでも報告されている。レニオリシブの臨床試験では、頭痛に続いて副鼻腔炎及び上気道感染が最も多く報告された有害事象であったが)、重篤な重度の免疫抑制の徴候は認められなかった。

肝 T4-UDP-GT の増加による甲状腺濾胞細胞の肥大は、2 週間のラット毒性試験で認められたが、より長期間のラット試験やサルを用いた試験では認められなかった。T4-UDP-GT の誘導は、既知のラット特異的な作用であり［Wu K, 2006］、ヒトの安全性にとってリスクではない。

雄の生殖器官（前立腺、精巣、精巣上体）への影響は、ラットで、26 週間及び 10 週間の幼若動物試験でのみ認められた。精巣及び精巣上体の重量及び精子数が低値であった。組織学的には、偶発的に単一精細管に認められる精上皮の減少、円形精子細胞の減少、精母細胞の消失と関連していた。詳細な検討により、この毒性は A 型から B 型精原細胞への進行の低下に関連していることが判明した。精子数は同時対照群と比較して低値であったが、それでも背景データの範囲内であった。軽微な組織学的所見は、高用量群（すなわち、90 及び 120 mg/kg/日）の雄にのみ散見された。精子産生への影響にも関わらず、ラットでは生殖能の減少は認められなかった。10 週間の幼若動物の試験で観察された軽微な変化は、成体動物を用いた 26 週間の試験で認められたものと同様であった。26 週齢の試験では、精上皮の周期が数回増えたにも関わらず、所見の発生率や重症度は増加せず、また幼若動物で感受性が高くなることもなかった。このことは、これらの変化が進行性ではないことを示している。回復期には、A 型から B 型精原細胞への分化の増加が認められ、精子形成の回復が進行していることが示された。39 週までのカニクイザルの試験では、雄の生殖器官への影響は認められなかった。これは、AMG2519493 やイデラリシブなどの他の PI3Kδ 阻害剤について発表されラット、カニクイザル、イヌにおける、明確に認められた用量依存的な精巣変化（精巣重量の低下、生殖細胞の減少、精原細胞分化の障害）［Ishida K, 2021］［Zydelig FDA Drug Approval Package, 2014］の結果とは対照的であった。PI3Kδ は精子形成における役割は知られておらず、不活性な PI3Kδ 型を持つマウスは正常な生殖能を示す［Okkenhaug K, 2002］。しかし、PI3Kβ は精子形成において重要な役割を果たすことが示されており、PI3Kβ 欠損マウスは不妊である［Ciraolo E, 2010］。したがって、非げっ歯類の精巣への影響の違いは、他の PI3K アイソフォームに対するオフターゲット活性の違いによって説明可能である。全体として、精巣への影響は軽微であり、サルでは観察されず、本質的に進行性ではなく、生殖能への障害もなく、病理組織学的に回復が認められたことから、ヒトの安全性への関与度は限定的であると判断される。予定している適応症に対するリスク・ベネフィット評価は、APDS の小児患者に対するレニオリシブの使用を正当化するものである。

レニオリシブは、ラットの胚・胎児発生試験の最高用量である 120 mg/kg/日群において、催奇形性（小眼球症/無眼球症）を示した。ウサギでは、胚・胎児変異の発生率に生物学的に意味のあ

る増加は認められなかったが、100 mg/kg/日の投与で同腹 2 胎児に小眼球症が認められ、レニオリシブとの関連は否定できない。安全域（NOAEL における母ラットの非結合 $AUC_{0\text{-}24h}$ 対臨床用量 70 mg BID におけるヒトの非結合定常状態 $AUC_{0\text{-}24h}$）は 2.4 である。小眼球症/無眼球症及び/又は眼球奇形の同様の所見は、イデラリシブ及びコパンリシブでも認められた［Zydelig FDA Drug Approval Package, 2014］［Aliqopa FDA Review, 2017］。生殖毒性データを総合すると、レニオリシブはヒトにおいて催奇形性の可能性があり、妊婦に投与した場合、胎児に害を及ぼす可能性がある。

ラットを用いた PPND 試験において、レニオリシブは用量依存的に母ラットの乳汁中に検出された。授乳中のヒトの新生児/乳児に対するリスクは排除できない。レニオリシブ治療中には授乳しないことが推奨される。

ラットを用いた PPND 試験の離乳前の期間において、高用量（90 mg/kg/日）では哺育率（出生児が産後 21 日間生存した割合）が統計的に有意に低下した（溶媒対照の 91%）。同様に、幼若ラットでは、同用量で、主に離乳前の時期に死亡率がわずかに上昇した。後者の試験では、数匹の出生児が共食いされたため、死亡率増加の原因を特定できず、病理組織学的検査においても出生児の死因を特定できなかった。PND7 のトキシコキネティクスデータは、死亡率が投与開始時の非常に高値の血漿曝露レベルに関連している可能性を示唆している。幼若ラットにおける薬物代謝酵素の個体発生学によると、ヒト CYP3A4 のラットオルソログである CYP3A1 の活性は、生後数週間は低く、離乳期開始後に急上昇する［de Zwart L, 2008］［Asaoka Y, 2010］［Xu SF, 2019］。したがって、PND7 のラットにおけるレニオリシブ高曝露量は、CYP3A の低発現で説明できる。しかし、PND7 で 90 mg/kg を投与した出生児の曝露量は、26 週間試験における成体ラットの曝露量よりもそれほど高くなかったため、レニオリシブの血漿中濃度の高値は、これらの死亡を完全に説明するものではない。さらに、低用量群及び中用量群、すなわちそれぞれ 10 及び 30 mg/kg/日では、投与開始後 1 週間以内に各用量群につき雌雄各 1 例の死亡例があり、レニオリシブ投与との関連性を完全に否定することはできない。総合すると、極めて幼若なラットはレニオリシブに対する感受性が高いと思われる。幼若動物の脳におけるレニオリシブの脳組織濃度は測定されていないものの、レニオリシブの脳への浸透性の上昇がこの原因である可能性がある。レニオリシブは P-gp の基質であり、P-gp は脳血管内皮細胞に多く存在し［Löscher L, 2005］、成体ラットにおけるレニオリシブの脳内透過性の低値の一因となっている可能性が高い。ラット脳における P-gp のオントロジーは、PND7 では発現が低値であることを示している［Ek CJ, 2010］。このことは、例えば、P-gp 基質であるオセルタミビルの脳への浸透性に関するデータで、生後 3 日目のラット出生児の脳/血漿濃度比が高く、PND21 以降は成体レベルまで低下することを説明している［Ose A, 2008］。したがって、発達中の血液脳関門における P-gp の機能が未成熟であるために、ラット出生児レニオリシブの脳内濃度の高値が起こりうるという仮説は文献的に支持される。ヒトでは、脳における P-gp の発現は出生時には限定的であり、生後の成熟とともに増加し、生後 3～6 ヵ月で成人レベルに達する［Lam J, 2015］。さらに、ヒトの CYP3A4 酵素活性も出生時には低いが、0.5 歳から 2 歳の間に急速に成熟する［Edginton AN, 2006］［Salem F, 2014］［Leeder JS,1997］［FDA guidance, 2006］。

体重増加量の軽度な低下及びそれに伴う身体発育の遅延が雌雄ラットの幼若期試験において認められた。身体的発達育のわずかな遅れは、離乳期から 30 及び 90 mg/kg/日で認められ、PND21 から PND28 の間の体重増加で測定される成長が雄及び雌で低下していた（ただし、全てのサブグ

ループで明らかではなかった)。さらに、特に雄では、PND28 から PND56 の間に体重増加の低下が記録され、これはわずか 1 日の性的成熟の遅延に関連していた。離乳時の体重低値と性的発達の遅れとの関係はよく知られている［Ashby J, 2000］。雌では長骨が対照範囲より短く、これも低体重と関連していると考えられる。雌の開膣は対照群より 1 日早かったが、発情周期の評価や性器の臨床病理学的検査ではホルモンの乱れの徴候は認められなかった。これらの身体的及び性的発達のわずかな遅れの臨床的意義は不明である。

レニオリシブは、標準的な *in vitro* 及び *in vivo* 変異原性試験及び染色体異常誘発性アッセイでは遺伝毒性を示さなかった。確定的かつ重要ながん原性試験、すなわちトランスジェニック CB6F1-Tg-rasH2 マウスを用いた 26 週間の試験が終了し、レニオリシブは非がん原性であると考えられた。PI3Kδ 阻害剤は、活性化誘導性シチジンデアミナーゼ依存的機序により、B 細胞におけるゲノムの不安定性を増加させる可能性がある［Compagno M, 2017］。しかし、現在市販されている PI3Kδ 阻害剤では、薬剤誘発性（二次性）リンパ腫は認められていない。一方、PI3K 阻害剤及び他の抗がん剤との併用療法を受けたリンパ腫患者の死亡リスクが増加したという報告がある［FDA Alerts Healthcare Professionals, 2016］。逆に、PI3Kδ の活性化が亢進すると、患者は B 細胞リンパ腫に易罹患性となる［Durandy A, 2020］。APDS 患者は B 細胞リンパ腫（ホジキンリンパ腫及び非ホジキンリンパ腫）のリスクが高く、リンパ腫の発生率は 13%と高値であることが報告されている［Coulter T, 2017］。このような患者において PI3Kδ シグナル伝達が正常化すれば、リンパ腫のリスクが減少することが期待できる。

以上、非臨床における薬理、薬物動態及び毒性試験の結果は、レニオリシブを APDS に対する新規治療薬として使用することの妥当性を支持するものであった。

2.4.6 図表

表は本文中に示した。

2.4.7 参考文献

Aliqopa FDA (CDER) New Drug Application. Application number: 209936Orig1s000.Accessible here: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2017/209936Orig1s000MultidisciplineR.pdf (Accessed: Nov 29, 2024).

Angulo I, Vadas O, Garçon F, Banham-Hall E, Plagnol V, Leahy TR, et al.: Phosphoinositide 3-kinase δ gene mutation predisposes to respiratory infection and airway damage. Science. 2013; 342(6160): 866-871.

Asaoka Y, Sakai H, Sasaki J, Goryo M, Yanai T, Masegi T, et al.: Changes in the gene expression and enzyme activity of hepatic cytochrome P450 in juvenile Sprague-Dawley rats. J Vet Med Sci. 2010; 72(4): 471-479.

Ashby J, Tinwell H, Odum J, Kimber I, Brooks A, Pate I, et al.: Diet and the aetiology of temporal advances in human and rodent sexual development. J Appl Toxicol. 2000; 20(5): 343-347.

Bondeva T, Pirola L, Bulgarelli-Leva G, Rubio I, Wetzker R, Wymann MP, et al.: Bifurcation of lipid and protein kinase signals of PI3Kgamma to the protein kinases PKB and MAPK. Science. 1998; 282(5387): 293-296.

Ciraolo E, Morello F, Hobbs R, Wolf F, Marone R, Lezzi M, et al.: Essential Role of the p110δ Subunit of Phosphoinositide 3-OH Kinase in Male Fertility. Mol Biol Cell. 2010; 21: 704-711.

Compagno M, Wang Q, Pighi C, Cheong T, Meng F, Poggio T, et al.: Phosphatidylinositol 3-kinase δ blockade increases genomic instability in B cells. Nature. 2017; 542(7642): 489-493.

Coulter T, Chandra A, Bacon C, Babar J, Curtis J, Screaton N, et al.: Clinical spectrum and features of activated phosphoinositide 3-kinase δ syndrome: A large patient cohort study. J Allergy Clin Immunol. 2017; 139(2): 597-606.

Crank M, Grossman J, Moir S, Pittaluga S, Buckner C, Kardava L, et al.: Mutations in PIK3CD can cause hyper IgM syndrome (HIGM) associated with increased cancer susceptibility. J Clin Immunolol. 2014; 34(3): 272-276.

de Zwart L, Scholten M, Monbaliu JG, Annaert PP, Van Houdt JM, den Wyngaert IV, et al.: The ontogeny of drug metabolizing enzymes and transporters in the rat. Reprod Toxicol. 2008; 26(3-4): 220-230.

Durandy A and Kracker S.: Increased activation of PI3 kinase-δ predisposes to B-cell lymphoma. Blood. 2020; 135(9): 638-643.

Edginton AN, Schmitt W, Voith B, Willmann SA.: A mechanistic approach for the scaling of clearance in children. Clin Pharmacokinet. 2006; 45(7): 683-704.

Ek CJ, Wong A, Liddelow SA, Johansson PA, Dziegielewska KM, Saunders NR, et al.: Efflux mechanisms at the developing brain barriers: ABC-transporters in the fetal and postnatal rat. Toxicol Lett. 2010; 197(1): 51-59.

Geering B, Cutillas PR, Nock G, Gharbi SI, Vanhaesebroeck B.: Class IA phosphoinositide 3-kinases are obligate p85-p110 heterodimers. Proc Natl Acad Sci USA. 2007; 104(19): 7809-7814.

ICH S10 医薬品の光安全性評価ガイドライン https://www.pmda.go.jp/files/000156697.pdf（2025 年 2 月 6 日アクセス）

ICH M7(R1) 潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の評価及び管理ガイドライン https://www.pmda.go.jp/files/000224891.pdf （2025 年 2 月 6 日アクセス）

ICH M12 薬物相互作用試験に関するガイドライン https://www.pmda.go.jp/files/000272132.pdf（2025 年 1 月 29 日アクセス）

Ishida K, Werner JA, Lafleur M, Wisler J, Wannberg S, Kalanzi J, et al.: Phosphatidylinositol 3-Kinase δ-Specific Inhibitor-Induced Changes in the Ovary and Testis in the Sprague Dawley Rat and Cynomolgus Monkey. Int J Toxicol. 2021; 40(4): 344-354.

Kandel ES, Hay N.: The regulation and activities of the multifunctional serine/threonine kinase Akt/PKB. Experimental Cell Res. 1999; 253(1): 210-229.

Lam J, Baello S, Iqbal M, Kelly LE, Shannon PT, Chitayat D, et al.: The ontogeny of P-glycoprotein in the developing human blood-brain barrier: implication for opioid toxicity in neonates. Pediatr Res. 2015; 78(4): 417-421.

Leeder JS, Kearns GL.: Pharmacogenetics in pediatrics. Implications for practice. Pediatr Clin North Am. 1997; 44(1): 55-77.

Leishman DK, Abernathy MM, WangEB.: Revisiting the hERG safety margin after 20 years of routine hERG screening. J Pharmacol Toxicol Methods. 2020; 105: 106900.

Löscher W, Potschka H.: Blood-brain barrier active efflux transporters: ATP-binding cassette gene family. NeuroRx. 2005; 2(1): 86-98.

Lucas C, Kuehn HS, Zhao F, Niemela JE, Deenick EK, Palendira U, et al.: Dominant-activating germline

mutations in the gene encoding the PI(3)K catalytic subunit p110δ result in T cell senescence and human immunodeficiency. Nature Immunol. 2014; 15(1): 88-97.

Marone R, Cmiljanovic V, Giese B, Wymann MP.: Targeting phosphoinositide 3-kinase: moving towards therapy. Biochim Biophys Acta. 2008; 1784(1): 159-185.

Nunnery SE, Mayer IA.: Management of toxicity to isoform α-specific PI3K inhibitors. Ann Oncol. 2019; 30 Suppl 10: x21-x26.

Okkenhaug K, Bilancio A, Farjot G, Priddle H, Sancho S, Peskett E, et al.: Impaired B and T cell antigen receptor signaling in p110delta PI 3-kinase mutant mice. Science. 2002; 297(5583): 1031-1034.

Ose A, Kusuhara H, Yamatsugu K, Kanai M, Shibasaki M, Fujita T, et al.: P-glycoprotein restricts the penetration of oseltamivir across the blood-brain barrier. Drug Metab Dispos. 2008; 36(2): 427-434.

Pirola L, Zvelebil MJ, Bulgarelli-Leva G, Van Obberghen E, Waterfield MD, Wymann MP, et al.: Activation loop sequences confer substrate specificity to phosphoinositide 3-kinase alpha (PI3Kalpha). Functions of lipid kinase-deficient PI3Kalpha in signaling. J Biol Chem. 2001; 276(24): 21544-21554.

Redfern WS, Carlsson L, Davis AS, Lynch WG, MacKenzie I, Palethorpe S, 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.

Salem F, Johnson TN, Abduljalil K, Tucker GT, Rostami-Hodjegan A.: A re-evaluation and validation of ontogeny functions for cytochrome P450 1A2 and 3A4 based on in vivo data. Clin Pharmacokinet. 2014; 53(7): 625-636.

Takashima T, Tsujita Y, Yeh T, Mitsuiki N, Kanegane H, Kracker S, et al.: Clinical and immunological features of patients with gain-of-function PIK3CD mutations in Japan. 16th European society for immune-deficiencies. Prague, Czech Republic: ESID-0778. 2014.

Ueki K, Fruman DA, Yballe CM, Fasshauer M, Klein J, Asano T, et al.: Positive and negative roles of p85 alpha and p85 beta regulatory subunits of phosphoinositide 3-kinase in insulin signaling. J Biol Chem. 2003; 278(48): 48453-48466.

U.S. Food & Drug Administration. Drug Approval Package - Zydelig (idelalisib). 2014. Accessible here: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2014/206545Orig1s000TOC.cfm (Accessed: Nov 2, 2024).

U.S. Food & Drug Administration. FDA Guidance for Industry Nonclinical safety evaluation of pediatric drug products. 2006. Accessible here: https://www.fda.gov/media/119658/download (Accessed: Nov 29, 2024).

U.S. Food & Drug Administration. FDA Alerts Healthcare Professionals About Clinical Trials with Zydelig (idelalisib) in Combination with other Cancer Medicines. FDA. 2016. Accessible here: https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-alerts-healthcare-professionals-about-clinical-trials-zydelig-idelalisib-combination-other (Accessed: Dec 2, 2024)

Vanhaesebroeck B, Guillermet-Guibert J, Graupera M, Bilanges B.: The emerging mechanisms of isoform-specific PI3K signalling. Nat Rev Mol Cell Biol. 2010; 11(5): 329-41.

Werner J, Ishida K, Wisler J, Karbowski C, Kalanzi J, Bussiere J, et al.: Phosphatidylinositol 3-Kinase δ Inhibitor-Induced Immunomodulation and Secondary Opportunistic Infection in the Cynomolgus Monkey (Macaca fascicularis). Toxicol Pathol. 2020; 48(8): 949-964.

Wu K, Farrelly JG.: Preclinical development of new drugs that enhance thyroid hormone metabolism and clearance: inadequacy of using rats as an animal model for predicting human risks in an IND and NDA. Am J Ther. 2006; 13(2): 141-144.

Xu SF, Hu AL, Xie L, Liu JJ, Wu Q, Liu J.: Age-associated changes of cytochrome P450 and related phase-2 gene/proteins in livers of rats. PeerJ. 2019; 7: e7429.

Yu J, Zhang Y, McIlroy J, Rordorf-Nikolic T, Orr GA, Backer JM.: Regulation of the p85/p110 phosphatidylinositol 3'-kinase: stabilization and inhibition of the p110alpha catalytic subunit by the p85 regulatory subunit. Mol Cell Biol. 1998; 18(3): 1379-1387.