サノフィ株式会社

リルザブルチニブ

CTD 第二部 ー 非臨床概要

2.4 非臨床試験の概括評価

Total number of pages: 35

目　　次

2.4 非臨床試験の概括評価 1

目　　次 2

表　目　次 4

略号と用語の定義 5

1　　非臨床試験計画概略 7

1.1　　背景の要約 7

1.2　　試験計画 7

2　　薬理試験 10

2.1　　効力を裏付ける試験 10

2.1.1　　効力を裏付ける in vitro 試験 10

2.1.2　　効力を裏付ける in vivo 試験 11

2.2　　安全性薬理試験 12

2.2.1　　中枢神経系 12

2.2.2　　心血管系 12

2.2.3　　呼吸系 13

3　　薬物動態試験 14

3.1　　分析法 14

3.2　　吸収及び血漿中濃度 14

3.3　　分布 15

3.4　　代謝 15

3.5　　排泄 16

4　　毒性試験 17

4.1 単回投与毒性試験 18
4.2 反復投与毒性試験 18
4.3 遺伝毒性試験 20
4.4 がん原性試験 20
4.5 生殖発生毒性試験 22
4.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 22
4.5.2 胚・胎児発生に関する試験 22
4.5.3 ラットを用いた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 22
4.6 その他の毒性試験 23
4.6.1 光毒性 23
4.6.2 薬物乱用傾向評価 23
4.6.3 不純物 23
4.6.4 代謝物 24
4.6.5 探究的毒性試験 24
5 総括及び結論 26
6 参考文献一覧 32
7 添付資料 35
7.1 添付資料 1 - データ欠如の理由 35

表　目　次

表 1 - Toxicology Program (GLP Studies) 17
表 2 - GLP Repeat-dose toxicity study NOAELs and AUCs 20
表 3 - Summary of rilzabrutinib impurities qualified under ICH Q3A(R2) 24
表 4 - Summary of rilzabrutinib NOAELs, exposures, and exposure margins 30

略号と用語の定義

ADME	吸収、分布、代謝及び排泄（Absorption, distribution, metabolism, and excretion）
ATP	アデノシン三リン酸（Adenosine triphosphate）
AUC	血漿中濃度－時間曲線下面積（Area under the plasma concentration-time curve）
AUC_{0-t}	投与開始（時間 0）から t 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（Area under the plasma concentration-time curve from 0 to time t [h]）
AUC_{last}	投与開始（時間 0）から最終濃度測定可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積（Area under the plasma concentration-time curve from time zero to last measurable concentration）
BCR	B 細胞受容体（B cell receptor）
BID	1 日 2 回（Twice daily）
BTK	ブルトン型チロシンキナーゼ（Bruton’s tyrosine kinase）
C_{max}	最高血漿中濃度（Maximum plasma concentration）
CNS	中枢神経系（Central nervous system）
CV	心血管系（Cardiovascular）
CYP	シトクロム P450（Cytochrome P450）
eCAC	エグゼクティブがん原性評価委員会（Executive carcinogenicity assessment committee）
ECG	心電図（Electrocardiogram）
EGFR	上皮成長因子受容体（Epidermal growth factor receptor）
FcR	結晶性フラグメント受容体（Fragment crystallizable receptor）
FcγR	結晶性フラグメントγ受容体（Fragment crystallizable gamma receptor）
FcεR	結晶性フラグメントε受容体（Fragment crystallizable epsilon receptor）
FDA	米国食品医薬品局（U.S. Food and Drug Administration）
GFAP	グリア線維性酸性タンパク（Glial fibrillary acidic protein）
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practices）
hERG	ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（Human ether-a-go-go-related gene）
HPBL	ヒト末梢血リンパ球（Human peripheral blood lymphocytes）
HPLC/MS/MS	高速液体クロマトグラフィータンデム質量分析（High performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry）
IBA-1	イオン化カルシウム結合アダプター分子 1（Ionized calcium-binding adaptor molecule 1）
IC_{50}	50%阻害濃度（Inhibitory concentration 50% [concentration causing half-maximal inhibition]）
ICH	医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use）

IgE	免疫グロブリン E（Immunoglobulin E）
IJ	空腸内（Intra-jejunal）
ITP	免疫性血小板減少症（Immune thrombocytopenia）
IV	静脈内（Intravenous）
MI	変異原性不純物（Mutagenic impurities）
MNT	小核試験（Micronucleus test）
NOAEL	無毒性量（No-observed-adverse-effect-level）
NOEL	無影響量（No-observed-effect-level）
PBMC	末梢血単核細胞（Peripheral blood mononuclear cells）
PD	薬力学（Pharmacodynamics）
PK	薬物動態（Pharmacokinetics）
PO	経口（Oral）
QD	1 日 1 回（投与）（administered once per day）
QRS	（心電図の）Q、R 及び S 波（Q, R and S waves of an electrocardiogram）
QT	Q 波開始から T 波終了までの時間（Time between the start of the Q wave and the end of the T wave）
TEC	肝細胞癌に発現するチロシンキナーゼ（Tyrosine kinase expressed in hepatocellular carcinoma）
TgHRAS	CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic（日本語の対訳なし）
TK	トキシコキネティクス（Toxicokinetics）
UGT	UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ（UDP-glucuronosyltransferase）

1　非臨床試験計画概略

本資料には、免疫性血小板減少症（ITP）治療薬としてのリルザブルチニブの使用をサポートすることを目的として、リルザブルチニブの薬理、薬物動態（PK）及び非臨床安全性（毒性）プロファイルを評価し特徴づけるための全体的な非臨床試験計画及び実施した非臨床試験プログラムを要約する。薬理、PK 及び毒性試験の詳細な結果は、それぞれ Module [2.6.2]、Module [2.6.4]及び Module [2.6.6]で考察する。本 Module を通して、リルザブルチニブ（国際一般名は rilzabrutinib）を使用するが、SAR444671 又は PRN1008 も使用されている。

1.1　背景の要約

リルザブルチニブは、ブルトン型チロシンキナーゼ（BTK）を阻害することにより、B 細胞受容体（BCR）及び結晶性フラグメント受容体（FcR）のシグナル伝達を阻害する新規化合物である。リルザブルチニブは、自己免疫疾患の治療薬として開発中であり、本新薬承認申請は ITP の適応症で提出している。

BTK は非受容体型チロシンキナーゼであり、肝細胞癌に発現するチロシンキナーゼ（TEC）ファミリーのメンバーである。BTK は、BCR の下流のシグナル伝達に不可欠な要素であり、好塩基球、肥満細胞、マクロファージ、好中球及び血小板といったその他の造血細胞の活性化に関与している。細胞の BTK 活性を阻害すると、BCR の阻害に一致する表現型の変化が生じる。リルザブルチニブのような強力な BTK 阻害薬は、炎症及び自己免疫に関与する複数の経路及び細胞型を標的とする可能性がある(1)(2)(3)。BTK が活性化すると下流の複数のシグナル伝達カスケードが誘導されるが、BTK 阻害薬の主な標的は BCR シグナル伝達及び細胞遊走に関与している経路であると考えられている（Burger 2019 (4)の総説）。リルザブルチニブは、BTK に高度の親和性及び選択性を示し、可逆的に共有結合する低分子である。リルザブルチニブの BTK に対するこのような選択性及び持続的な作用／結合により、有害な副作用を最小限に抑えつつ、有益な効果を得ることができると考えられる。

1.2　試験計画

リルザブルチニブを in vitro 及び in vivo の薬理試験、PK 試験及び毒性試験で評価した。In vivo 試験では、マウス、ラット、イヌ、ウサギ及びカニクイザルに、リルザブルチニブを、予定臨床投与経路である経口（PO）で投与した。毒性試験に使用した動物種（マウス、ラット及びイヌ）は、対応する種類の試験でこれらの動物種が標準的に使用されていること及び堅牢な背景データベースがあることに基づいて選択した。リルザブルチニブの PK 及び薬理学的特性に基づき、ラット及びイヌを、非臨床安全性試験に適した第一選択のモデル動物種と判断した。また、これらの動物種は、経口バイオアベイラビリティ及び代謝物プロファイルがヒトと類似していることからも選択した。胚・胎児発生に関する試験の非げっ歯類動物種には、背景対照データベースが大きいことからウサギを選択した。

リルザブルチニブは、これらのいずれの動物種においても薬力学（PD）的な BTK 阻害作用も示すと考えられる。

これらの非臨床試験は、医薬品規制調和国際会議（ICH）M3(R2)（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、2009 年 6 月 11 日）(5)、ICH M3(R2)に関する質疑応答集（Q&A）（2012 年 3 月 5 日）(6)及びその他の該当する ICH 非臨床試験ガイドラインに記載の原則に従って実施した。実際の及び潜在的な変異原性不純物（MI）の評価は、ICH M7(R2)（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、2023 年 4 月 3 日）(7)及び ICH M7(R2)に関する質疑応答集（Q&A）（2020 年 7 月 2 日）(8)に記載の原則に従って実施した。

本資料に示す非臨床安全性試験は、試験実施国の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）規制を遵守し、経済協力開発機構のデータ相互受入れ制度で認められた GLP モニタリングプログラムに参加する試験施設で、ICH ガイドラインに従って実施した。GLP 適用であるが GLP に完全には準拠していない部分、及び GLP 非適用試験については、確立された試験施設の操作業務手順書に従って実施した。これらの試験の信頼性及び結果の完全性又は解釈に影響を与えたと考えられる不測の事態はなかった。

少数の毒性試験及び PK 試験は静脈内（IV）又は空腸内（IJ）投与で実施したが、それ以外の全ての試験は PO 投与で実施した。

特に記載のない限りリルザブルチニブの遊離塩基を使用しており、リルザブルチニブの用量は遊離塩基当量で表す。

毒性試験で使用した製剤のバッチ及び品質は、臨床試験で使用したバッチを代表するものであった。

一般的な方針として、Sanofi における潜在的な MI の有無の検討は、予定治療用量及び投与期間を考慮し、毒性学的懸念の閾値を用いて行っている。利用可能な安全性及び品質データにおいて、この新規活性物質に関連するヒトへの明らかな遺伝毒性リスクは認められなかった。

リルザブルチニブの in vitro 活性を Ramos 細胞（ヒト B 細胞株）で、BTK 結合動態を末梢血単核細胞（PBMC）で評価した。その結果、リルザブルチニブの化学的プロファイルは、広範な自己免疫疾患に対して慢性投与しても安全であることが示された。

リルザブルチニブは in vivo のマウス ITP モデル、ラット受動的アルサス反応モデル、ラットコラーゲン誘発関節炎モデル及びイヌ自然発症落葉状天疱瘡で薬理活性を示した。マウス、ラット、イヌ及びヒトで BTK のアミノ酸配列はほぼ同じ（99%相同性）であり、リルザブルチニブが結合するアデノシン三リン酸（ATP）結合部位に種差は認められなかったことから、いずれの動物種でも薬理活性は類似していると考えられた。

リルザブルチニブの安全性薬理試験プログラムにおいて、ICH S7A(9)及び S7B(10)ガイドラインで定義されている中枢神経系（CNS）、心血管系（CV）及び呼吸機能のコアバッテリー試験を実施した。これらの in vitro 及び in vivo 試験で得られた関連情報の要約を Module [2.6.2]及び Module [2.6.3]に示す。

薬理試験及び毒性試験で使用した動物種におけるリルザブルチニブの吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）プロファイルを in vivo で評価した。また、ヒト生体試料を用いて、リルザブルチニブの膜透過性、タンパク結合及び代謝クリアランスを in vitro で評価した。[^{14}C]-標識リルザブルチニブを用いて、ラット定量的全身オートラジオグラフィー試験及び代謝物同定試験を実施した。リルザブルチニブのヒト特異的代謝物が形成されないことが、結果的に GLP 適用のトキシコキネティクス（TK）試験から確認された。これらの結果の概要及びデータは Module [2.6.4]及び Module [2.6.5]に記載されている。

リルザブルチニブの非臨床安全性を、一連の一般毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、生殖発生毒性試験及びその他の毒性試験で評価した（Module [2.6.6]及び Module[2.6.7]）。リルザブルチニブの安全性を評価するため、探索的な反復投与毒性試験、並びに GLP 適用の単回投与毒性試験及び反復投与毒性試験（ラットで 1、3 及び 6 か月間、イヌで 1、3 及び 9 か月間）を実施した。リルザブルチニブの遺伝毒性を評価するため、GLP 適用の in vitro の細菌を用いる復帰突然変異試験（Ames 試験）及びヒト末梢血リンパ球（HPBL）を用いる染色体異常試験を、S9 代謝活性化の存在下及び非存在下で実施するとともに、GLP 適用のラットを用いる in vivo 骨髄小核試験（MNT）を実施した。リルザブルチニブのがん原性を、GLP 適用の TgHRAS（CByB6F1-Tg(HRAS)2Jic）マウスを用いた 6 か月間試験及び GLP 適用のラットを用いた 2 年間試験で評価した。リルザブルチニブの生殖発生毒性を、GLP 適用の雌雄の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・胎児発生に関する試験、並びにラットを用いた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で評価した。その他、光毒性の評価、MI の評価、個別規格設定不純物の安全性確認（遺伝毒性試験及び一般毒性試験）及び薬物乱用傾向の評価も実施した。

2 薬理試験

2.1 効力を裏付ける試験

リルザブルチニブは BTK に高度の親和性を示す可逆的な低分子の共有結合性 BTK 阻害薬である。リルザブルチニブは、BTK の ATP 結合ポケットに位置する非触媒性システイン（Cys481）残基との化学結合を形成することにより共有結合する。この共有結合は可逆的であることから、正常な過程で BTK が変性又は分解するとリルザブルチニブが遊離されることを意味し、特発性薬物相互作用を引き起こす可能性のある付加体は形成されない。この可逆的な共有結合により、解離速度が遅くなり、BTK に最大の効果及び選択性を示すことが可能になる。また、リルザブルチニブは、適切な滞留時間を得るために、BTK との非共有結合的相互作用が安定化されるようデザインされている。リルザブルチニブの独特な結合機序により、不可逆的阻害薬でみられる安全性の懸念が低減される(11)(12)。リルザブルチニブの利点は、BTK 標的の分解と再合成によって決定される in vivo 解離速度を有する不可逆的共有結合性阻害薬の長期持続活性を模倣できることである(11)。

2.1.1 効力を裏付ける in vitro 試験

生化学的試験において、（1）in vitro キナーゼ活性アッセイでの BTK に対するリルザブルチニブの効力、（2）キナーゼパネルプロファイリング、50%阻害濃度（IC_{50}）測定並びに受容体、イオンチャネル及びトランスポーターのパネルに対する CEREP 放射性リガンド結合アッセイに基づくリルザブルチニブの選択性、（3）BTK に対するリルザブルチニブの生化学的結合速度及び解離速度、並びに（4）リルザブルチニブと BTK の間の相互作用の可逆性を評価した。

また、セルベースアッセイで BTK 機能に対する阻害作用を確認した。リルザブルチニブについて、（1）ヒト B 細胞株及び PBMC 両方における BTK 占有率、（2）ヒト全血での B 細胞活性化に対する阻害作用、（3）ヒト全血での好塩基球活性化に対する阻害作用、（4）抗体介在性 FcR 活性化に対する阻害作用、（5）血小板凝集に対する作用、並びに（6）様々なタイプの細胞におけるオフターゲット作用の有無を検討した。

広範なキナーゼパネル及び細胞アッセイにおいて、リルザブルチニブは強力な BTK 阻害薬であるが、上皮成長因子受容体（EGFR）シグナル伝達、T 細胞活性化及び抗体依存性細胞傷害には影響を及ぼさないことが示された。リルザブルチニブは、BTK に対して、他の密接に関連する TEC に対してよりも持続的な結合を示し、時間経過とともに選択性は更に高くなり、潜在的なオフターゲット結合は更に減少した。CEREP スクリーニングプロファイルにおいて、リルザブルチニブが 50%を上回る活性を示したのは、4 つの標的（ムスカリン M2 受容体、ニューロキニン NK2 受容体、ナトリウムチャネルサイト 2、及びドパミントランスポーター）のみであった。CEREP プロファイルで検討したリルザブルチニブの濃度（10 µmol/L）は、最高血漿中濃度（C_{max}）を指標とする全身曝露量

（1 μmol/L）の 10 倍であったことから、現時点では、この所見は臨床的に意義のあるものではないと考えられる。

生化学的アッセイにおいて、リルザブルチニブは、Cys481 での可逆的共有結合により、結合速度が速く、解離速度が遅い動態を示し、BTK 占有率は、1 時間後（95 ± 1%）から 6 時間後（91 ± 1%）及び 24 時間後（85 ± 2%）までに僅かにしか低下しなかった。リルザブルチニブは、その可逆的な共有結合性阻害作用により、タンパク質及びペプチドの永続的な修飾を引き起こすことなく、ITP のような免疫介在性疾患に長期にわたり全身投与することが可能である。

リルザブルチニブは BCR の阻害を介して B 細胞活性化を阻害するが、B 細胞の枯渇及び細胞傷害は引き起こさないことから、阻害からの回復が速く、持続的な免疫抑制の懸念が低いと考えられる。B 細胞以外に、BTK は多くの自然免疫細胞にも発現しており、これらの細胞が刺激されると速やかな免疫反応が引き起こされる。例えば、免疫グロブリン G 及び結晶性フラグメント γ 受容体（FcγR）の架橋による単球及びマクロファージの活性化は、BTK 依存性の機能である(13)。リルザブルチニブは、FcγR シグナル伝達を介した抗体介在性免疫細胞活性化を、速やかかつ効果的に阻害した。また、リルザブルチニブは、結晶性フラグメント ε 受容体（FcεR）シグナル伝達を阻害することにより、免疫グロブリン E（IgE）の反応も中和し、有害な影響を示すことなく、好塩基球又は肥満細胞の活性化を阻害した。この IgE 経路への作用により、リルザブルチニブをアレルギー及びアナフィラキシーの治療に使用できる可能性が考えられる。また、リルザブルチニブの BTK 阻害作用により、好中球動員のシグナル伝達経路が遮断され、これは免疫介在性疾患患者にとって有益な作用と考えられる。

リルザブルチニブは T 細胞及び非 BTK 介在性経路で刺激される B 細胞には活性を示さなかった。したがって、免疫を維持するための受容体及びシグナル伝達経路、リンパ球数、並びに免疫不全患者での抗ウイルス反応には影響を及ぼさないと考えられた。また、リルザブルチニブは、正常な血小板の凝集には影響を及ぼさなかった。

リルザブルチニブの代謝物の薬理学的プロファイルについても、一連の生化学的アッセイ及び細胞アッセイで評価した。これらの代謝物は、リルザブルチニブの in vivo 作用にほとんど寄与しないと考えられた。簡潔に述べると、ヒト主要代謝物である PRN4400（チオシアネート）は、生化学的アッセイ及び細胞アッセイのいずれにおいても、BTK 阻害作用を示さず、測定可能な BTK 占有も示さなかった。ヒト微量代謝物（総曝露量の 5%）である PRN834 も測定可能な BTK 占有を示さず、生化学的アッセイにおいて、BTK 阻害作用がリルザブルチニブの 10 分の 1 未満であることが示された。最後に、ごく微量（1%未満）のヒト代謝物である PRN618 は、生化学的キナーゼアッセイでリルザブルチニブと同程度の BTK 阻害作用を示したが、細胞アッセイでは効力が弱く、時間経過とともに BTK 占有率が低下することが示された。

2.1.2 効力を裏付ける in vivo 試験

ITP におけるリルザブルチニブの治療効果をマウス ITP モデルで評価した（Module 2.6.2 [2.2.4 項]）。マウスに漸増用量のリルザブルチニブ（10、20 若しくは 40 mg/kg 又は媒体、1 日 1 回［QD］

強制 PO 投与）を 3 日間投与した。3 回目の投与後に、マウスに抗 CD41 抗体を腹腔内注入し、血小板減少症を誘発した。リルザブルチニブ投与により、抗 CD41 抗体注入 6 時間後の血小板減少が有意に抑制された。別の自己抗体誘発性疾患として、イヌで自然発症する落葉状天疱瘡でもリルザブルチニブの治療効果を検討した。外来家庭犬を対象とした非盲検試験において、リルザブルチニブを 4 匹のイヌに投与した。リルザブルチニブは、従来のコルチコステロイド投与を必要とすることなく、疾患を安全かつ速やかにコントロールした。全例で臨床症状が顕著に改善し、単剤で完全又は大幅な疾患コントロール（天疱瘡病変領域指数スコアが 77～100%改善）が達成された。最後に、その他の非臨床試験として、リルザブルチニブはラット抗体介在性受動的アルサス反応モデルで in vivo 抗炎症作用を示し、ラットコラーゲン誘発関節炎薬効評価モデルで疾患進行を抑制し、既存の疾患を回復させた。

雌の Sprague Dawley ラット及び Lewis ラットで、リルザブルチニブの BTK 占有率を指標とする PD 作用と、PK との関連性を評価した。全体として、PO 投与量の増加とともに BTK 占有率が上昇し、14 時間後の占有率は 2 つのラットの系統で同程度であった。この試験により、リルザブルチニブの血漿中濃度が 10 ng/mL 未満に減少した後（投与 14 時間後）も標的占有が維持されることが示された。これらのデータは、リルザブルチニブが BTK に持続的に結合することと一致していた。

コラーゲン誘発関節炎モデルにおいて、雌の Lewis ラットにリルザブルチニブを PO 投与したときの BTK 占有率を分析し、血漿中曝露量との相関を検討した。投与 12 時間後の BTK 占有は用量依存的であり、血漿中曝露が消失した後でも持続していた。全ての用量でコラーゲン誘発関節炎疾患が抑制され、最大効果は 20 mg/kg の 1 日 2 回（BID）投与及び 40 mg/kg の QD 投与で認められた。
20 mg/kg BID 投与の 13 日目に疾患の回復を評価した。リルザブルチニブは臨床関節炎スコアを有意に低下させ、疾患を回復させた。

これらの試験から、非臨床モデルにリルザブルチニブを PO 投与すると BTK が占有され、その結果、B 細胞活性化及び FcγR シグナル伝達が抑制されることにより、抗体及び免疫細胞介在性炎症の進行抑制及び回復が得られることが示された。

2.2 安全性薬理試験

安全性薬理試験のコアバッテリーにおいて、CNS、CV 及び呼吸系に対するリルザブルチニブの影響を、標準的な方法及び手順を用いて評価した（Module 2.6.2 [4 項]）。

2.2.1 中枢神経系

GLP 適用試験でラットに 500 mg/kg までの用量で単回 PO 投与したとき、リルザブルチニブに関連する肉眼での行動学的、生理学的及び神経学的変化は認められなかった。

2.2.2 心血管系

予備的な GLP 非適用 in vitro 試験において、リルザブルチニブは 10 µmol/L の濃度でヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（hERG）カリウムチャネル電流を 33.8%阻害した。GLP 適用 hERG 試験におけるリ

ルザブルチニブの IC_{50} は 3.5 µmol/L（2329 ng/mL）であり、これは臨床における 400 mg BID での非結合型 C_{max}（幾何平均値 3.75 ng/mL、PRN1008-018/EFC17093）の約 621 倍であった。リルザブルチニブの主要代謝物である PRN4400（チオシアネート）は、hERG 試験で評価していないが、チオシアネートはラット、イヌ及びヒトで認められるため、in vivo 試験で適切に評価されたと考えられる。チオシアネートは内因性化合物であることに加えて、ラット ADME 試験で PRN4400（すなわち、チオシアネート）の曝露量はリルザブルチニブに関連する血漿中総曝露量の約 94%に相当することが示された。

テレメーター装着覚醒イヌを用いた試験において、リルザブルチニブに関連する心電図（ECG）波形、ECG 間隔（P 波開始から Q、R 及び S 波［QRS］複合波開始までの時間［PR］、QRS、心拍の間隔［心拍数の算出に使用される、RR］、Q 波開始から T 波終了までの時間［QT］並びに補正 QT 間隔［QTc］）及び体温の変化は、500 mg/kg までの用量で認められなかった。リルザブルチニブに関連する血行動態の変化として、収縮期血圧及び脈圧の上昇が 150 mg/kg 以上の用量で認められた。500 mg/kg の用量では、更なる血行動態の変化として、心拍数の増加並びに拡張期及び平均動脈圧の上昇が認められた。血行動態の変化は持続時間が短く、程度が小さかったことから、毒性変化ではないと判断された。

2.2.3 呼吸系

テレメーター装着覚醒イヌに 500 mg/kg までの用量で PO 投与したとき、リルザブルチニブに関連する呼吸バラメータ（呼吸数、1 回換気量及び分時換気量）の変化は認められなかった。

3 薬物動態試験

3.1 分析法

GLP 適用の毒性試験では、マウス、ラット及びイヌ血漿中のリルザブルチニブ及びその代謝物（PRN834 及び PRN618）濃度を、高速液体クロマトグラフィータンデム質量分析（HPLC/MS/MS）法を用いて定量した。同様に、ラットを用いたブリッジング PK 試験で得られた血漿中のリルザブルチニブ代謝物 PRN4400（チオシアネート）濃度を、HPLC/MS/MS 法を用いて定量した。GLP 適用試験のマウス、ラット及びイヌ血漿中濃度測定用に開発した生体試料分析法は、米国食品医薬品局（FDA）ガイダンス「Bioanalytical Method Validation」(14)に記載されている全てのバリデーション合格基準を満たしていた（Module 2.6.4 [2.1 項]）。

様々な GLP 非適用の PK 試験におけるリルザブルチニブ濃度測定は Principia Biopharma で実施され、血漿中濃度は HPLC/MS/MS 法によって測定した。ノンコンパートメント解析による PK パラメータの算出には、Phoenix WinNonlin 又は PK Solutions 2.0 を使用した。

3.2 吸収及び血漿中濃度

リルザブルチニブは低～中程度の膜透過性及び pH 依存性の低い溶解性を示した。

雌ラット、雄イヌ及びカニクイザルにリルザブルチニブを用量 2 mg/kg で単回 IV 投与又は用量 20 及び 100 mg/kg で PO 投与し、バイオアベイラビリティを評価した。バイオアベイラビリティは 3～53%の範囲であり、サルで最も低く、ラットで最も高かった。サルでは、PO 投与時のバイオアベイラビリティが全ての用量で低かったため、げっ歯類以外の毒性試験用動物種としてイヌを選択した。これらのバイオアベイラビリティ試験における PO 投与時の C_{max} は、動物種及び用量に応じて 181～2795 ng/mL の範囲であった。

試験全体を通して、リルザブルチニブは、動物種及び用量を問わず、概して 0.25～4 時間の最高血漿中濃度到達時間で速やかに吸収されることが示された。リルザブルチニブは、ラット及びイヌにおいて、迅速な血漿クリアランス（肝血流量と同等以上）を示した。

概して、ラット及びイヌを用いた単回及び反復 PO 投与毒性試験における全身曝露量（C_{max} 及び投与開始［時間 0］から最終濃度測定可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積［AUC_{last}］）は雄に比べて雌で高かった。いずれの動物種においても、リルザブルチニブは速やかに吸収され、代謝物 PRN618 及び PRN834 に変換された。いずれの動物種においても、リルザブルチニブ及びその代謝物の曝露量は、おおむね用量に比例するか又は用量比を下回る増加を示した。QD 反復投与してもリルザブルチニブ及びその代謝物の蓄積はほとんど又は全く認められなかった。

妊娠動物（ラット及びウサギ）と非妊娠動物の TK データに軽微な差が認められたが、臨床的に重要ではないと考えられる。

3.3 分布

リルザブルチニブの血漿タンパク結合率は、ヒトで 97.5%、イヌで 96%、げっ歯類で 99%以上であった。全体として、血液／血漿中濃度比から、血漿中濃度の方が約 2 倍高いことが示された。

リルザブルチニブの分布容積は大きく、イヌ及びラットに IV 投与したときの分布容積は、血液量のそれぞれ 13 倍及び 20 倍であった。

ラットを用いて定量的全身オートラジオグラフィー試験を実施した。リルザブルチニブ（[^{14}C]-リルザブルチニブ）の分布は以下のような特徴を示した。

- 有色ラット及び非有色ラットの両方において、[^{14}C]-リルザブルチニブ由来放射能の分布は良好であり、全ての時点で、大部分の組織中濃度は血中濃度と同等又は僅かに低い程度であった。
- 放射能の大部分は排泄器官及び消化管に分布し、168 時間後まで完全に消失することはなかった。
- Long-Evans ラットに[^{14}C]-リルザブルチニブを投与したとき、脳及び脊髄組織中の放射能濃度は全ての時点で定量下限未満であり、Sprague Dawley ラットでは、脳又は脊髄組織中に低濃度の放射能が点在的に認められた。
- 投与後 168 時間までにリルザブルチニブが完全に消失した器官は、リンパ系、分泌系、生殖系（精嚢を除く）、脂肪及び筋骨格系組織であった。
- 非有色ラットに比べて有色ラットの皮膚では曝露量が若干増加することが確認された。しかし、in vitro 3T3 ニュートラルレッド取り込み試験で光毒性は認められなかった。

3.4 代謝

ラット、イヌ及びヒト由来の肝 S9 画分とのインキュベーションにより、合計 14 種類の代謝物が同定された。これらの代謝物の大部分が微量代謝物であった（質量分析で相対ピーク面積 1～10%）。ヒト特異的代謝物は特定されなかった。代謝物 PRN834 は in vitro 試験では特定されなかった。

ラットに用量 40 mg/kg の放射性標識リルザブルチニブ（[^{14}C]-リルザブルチニブ）を PO 投与し、血漿、尿、胆汁及び糞中の放射能を測定した。プール血漿試料のラジオクロマトグラムでは、シアノ酢酸と共溶出する 1 種類の主要代謝物（その後 PRN4400 と同定）が認められ、PRN834 は実際には微量代謝物であることが明らかになった。これら血中の主要及び微量不活性代謝物濃度はそれぞれ 1.6 及び 0.1 µg eq./mL であった。これら 2 種類の代謝物は、ラット血漿中総曝露量のそれぞれ 94%及び 5.89%を占めていた。詳細情報については、Module [2.6.4]を参照のこと。

PRN4400（チオシアネート）は消失半減期の長い（ラットで約 3 日）内因性化合物であることから、リルザブルチニブ投与後の定常状態における PRN4400 の血漿曝露量を評価するための追加 PK 試験を実施した。その結果、ラットに用量 500 mg/kg/日を投与したときの定常状態における PRN4400

（すなわち、チオシアネート）の血漿中総曝露量（濃度）は、健康被験者及び尋常性天疱瘡又は ITP 患者で認められた曝露量と同等又はそれ以上であることが明らかになった。

In vitro でリルザブルチニブは主にシトクロム P450 3A4（CYP3A4）を介して、副次的には CYP2D6 を介して、広範に代謝されることが明らかになった。

放射性標識体を用いたラット代謝物同定試験に加えて、非標識リルザブルチニブを用いたラット及びイヌ PO 投与用量設定試験、並びにヒト PK 試験で採取した血漿試料から in vivo 代謝物プロファイルが得られた。ラット、イヌ及びヒトで認められた代謝物は類似していた。認められた代謝物の一部（すなわち、PRN834）には肝外代謝が寄与していることが示唆された。これまでに実施された in vitro 及び in vivo 代謝試験において、ヒト特異的代謝物は検出されておらず、全ての代謝物が毒性試験用動物種でカバーされていると考えられた。

3.5 排泄

胆管カニュレーション処置雄ラットに放射性標識リルザブルチニブを PO 投与したときの放射能の主要排泄経路は胆汁中排泄であり、平均して投与量の 67.4%を占めていた。投与量の 22.1%が糞中に回収され、3.5%が尿中に回収された。

PK 及び TK 評価において、最終相消失半減期は概して 1.5～3 時間であった。

4 毒性試験

リルザブルチニブの毒性プロファイルを、マウス、ラット、ウサギ及びイヌを用いて評価した。リルザブルチニブの毒性試験として、単回投与毒性試験（ラット、イヌ）、反復投与毒性試験（ラットで 13 日間、2 週間、1 か月間、3 か月間及び 6 か月間、マウスで 1 又は 2 日間、2 週間及び 1 か月間、イヌで 4 日間、2 週間、12 週間［ブリッジング］、1 か月間、3 か月間及び 9 か月間）、in vitro 遺伝毒性試験（Ames 試験及び染色体異常試験）、in vivo 遺伝毒性試験（ラットを用いる MNT）、生殖発生毒性試験（ラットを用いた雌雄の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・胎児発生に関する試験、並びにラットを用いた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）及びがん原性試験（TgHRAS マウスを用いた 6 か月間試験、ラットを用いた 2 年間試験）を実施した。また、ラットを用いた 3 日間神経毒性試験及び in vitro 光毒性試験を実施した。原薬（適切な場合は製剤）の不純物の安全性確認を、ICH Q3A(R2) (15)に従い、一般毒性試験及び遺伝毒性試験で実施した。実際及び潜在的な MI の評価を、ICH M7(R2) (7)に従って実施した。

表 1 - Toxicology Program (GLP Studies)

Study Type and Duration	Route of Administration	Species	Study Number
Single-dose Toxicity			
Extended single-dose toxicity	PO	rat, dog	DVR0178, DVR0179
Repeated-dose Toxicity			
1-month	PO	rat, dog	DVR0174, DVR0184
3-month	PO	rat, dog	DVR0207, DVR0206
6-month	PO	rat	DVR0376
9-month	PO (capsule)	dog	DVR0377
Genotoxicity			
In vitro reverse mutation assay	In vitro	*S.typhimurium/E. coli*	DVR0169
In vitro chromosome aberration assay	In vitro	HPBL	DVR0170
In vivo micronucleus assay	PO	rat	DVR0185
Carcinogenicity			
1 or 3-day	PO	TgHRAS mouse	DVR0454
1-month	PO	TgHRAS mouse	DVR0407
1-month	PO	TgHRAS mouse	DVR0455
6-month	PO	TgHRAS mouse	1281-20014
2-year	PO	rat	1281-18051
Reproductive and Development Toxicity			

Study Type and Duration	Route of Administration	Species	Study Number
Fertility, male and female	PO	rat	DVR0380
Embryo-fetal development	PO	rat, rabbit	DVR0378, DVR0379
Pre- and post-natal development	PO	rat	DVR0492
Other Toxicity			
3-day Neurotoxicity	PO	rat	DVR0302
3-day Neurotoxicity	PO, IJ	rat	DVR0312
Phototoxicity	In vitro	BALB/c mouse 3T3 fibroblast	PHV0082
Evaluation of mutagenic impurities			
Impurity mutagenicity evaluation	12 bacterial reverse mutation and 1 in vitro L5158Y gene mutation assays were performed [a]		
Qualification of impurities			
Impurity qualification	1 bacterial reverse mutation assay, 8 in vitro human lymphocyte micronucleus assays [b] and 4 rat micronucleus and alkaline comet assays were performed.		
3-month repeat-dose toxicity	PO	Rat	TXC1679

Abbreviations: DS: Drug substance; GLP: Good laboratory practice; HPBL: Human peripheral blood lymphocytes; IJ: Intra-jejunal; PO: Per os (oral)

The test article used in all studies was rilzabrutinib free base unless noted otherwise.

a In addition, 2 exploratory bacterial reverse mutation assays were performed.

b In addition, impurities were present in the rilzabrutinib batch that was used in the in vivo micronucleus assay for the DS.

4.1 単回投与毒性試験

GLP 適用の単回投与毒性試験において、リルザブルチニブをラットに 500 mg/kg までの用量で PO 投与した。被験物質関連の病理組織学的所見が、500 mg/kg 群の雌で脳（髄膜、血管周囲腔及び神経網への好中球浸潤）に認められた。500 mg/kg 群の雄及び 150 mg/kg 以下の群の雌では、リルザブルチニブ関連の毒性所見は認められなかった。

GLP 適用の単回投与毒性試験において、リルザブルチニブをイヌに 500 mg/kg までの用量で PO 投与した。500 mg/kg までの用量で、被験物質関連の毒性所見は認められなかった。

4.2 反復投与毒性試験

ラットを用いて、探索的 2 週間反復投与毒性試験、並びに GLP 適用の 1、3 及び 6 か月間反復投与毒性試験を実施した。リルザブルチニブの遊離塩基の主要な毒性標的器官は、副腎、脳、リンパ系組織（頸部リンパ節、脾臓、胸腺）、肝臓、消化管、肺及び子宮であった。

3 か月後に副腎皮質空胞化（軽微）が認められたが、4 週間の回復期間中に回復した。ラットの脳におけるリルザブルチニブ関連の変化として、髄膜及び血管周囲腔の好中球浸潤（軽微から軽度）、並びに神経網近傍への好中球浸潤（軽微）が、単回投与毒性試験及び反復投与毒性試験（1、3 及び 6 か月後）でみられ、血管周囲混合細胞性炎症（軽微）が 6 か月後に認められた。これらの所見は 4 週

間の回復期間中に回復した。好中球浸潤部位には、神経細胞、神経細胞支持細胞及び血管系の形態学的変化は認められなかった。イオン化カルシウム結合アダプター分子 1（IBA-1）発現（小膠細胞細胞密度）の上昇（軽微から軽度）が、側脳室、第三及び第四脳室、並びに視交叉近傍に認められた。側脳室周囲の IBA-1 発現分布は均等ではなく、脳室の外側面（脳室上衣下胚層）においてより顕著であった。グリア線維性酸性タンパク（GFAP）発現（星状膠細胞）の上昇は、3 及び 6 か月後の IBA-1 発現上昇と同程度であった。リルザブルチニブ関連の IBA-1 及び GFAP 発現上昇は部分的に回復した。ラット脳の神経変性及び細胞変化は認められなかった。リルザブルチニブ関連の消化管の変化として、出血（食道、胃、十二指腸）が 6 か月後に認められた。また、混合細胞性及び好中球性炎症が腺胃に認められた。回復期間後には、被験物質関連の消化管の変化は認められなかった。ラットの頸部リンパ節で 1 か月後にリルザブルチニブ関連の濾胞数減少（軽微から軽度）がみられたが、4 週間の回復期間中に回復した。ラットにおける被験物質関連の肝臓の変化として、肝細胞肥大（軽微、多くは小葉中心性）が 2 週間後、並びに 1、3 及び 6 か月後に認められたが、4 週間の回復期間中に回復した。肝細胞肥大は一般に適応性変化と考えられ、その多くは酵素誘導によるものである。ラットの肺におけるリルザブルチニブ関連の変化として、肺胞腔及び細気管支内の粘液、細気管支粘膜の乳頭状過形成、並びに肺胞マクロファージ増加が 3 か月後に認められた。肺の変化は、4 週間の回復期間後には認められなかった。リルザブルチニブ関連のラット脾臓重量減少及びそれに関連する病理組織学的所見の白脾髄リンパ球減少（軽微）が、14 日後に認められた。被験物質関連の可逆的なびまん性の甲状腺濾胞細胞肥大（軽微）が 3 及び 6 か月後に認められたが、この変化は毒性ではないと考えられた。胸腺の皮質及び髄質におけるリルザブルチニブ関連のリンパ球減少が、ラット 3 か月間反復投与毒性試験で認められたが、4 週間の回復期間中に回復した。関連する病理組織学的変化を伴わない被験物質関連の可逆的なラット子宮重量増加が、6 か月後に認められた。

イヌを用いて、探索的 2 週間反復投与毒性試験及び探索的 12 週間ブリッジング試験、並びに GLP 適用の 1、3 及び 9 か月間反復投与毒性試験を実施した。リルザブルチニブの遊離塩基の主要な毒性標的器官は、骨髄、リンパ系組織（頸部／腸間膜リンパ節、パイエル板、脾臓及び胸腺）、消化管、及び肝臓であった。

脳における IBA-1 発現が、媒体投与動物及びリルザブルチニブ投与動物のいずれにおいても、1、3 及び 9 か月後に認められた。被験物質関連の骨髄（胸骨）細胞密度低下（軽微から軽度）が 1 か月後に認められたが、4 週間の回復期間中に回復した。頸部及び／又は腸間膜リンパ節の胚中心におけるリンパ球数減少が 3 か月後に認められたが、4 週間の回復期間中に回復した。9 か月後に、消化管毒性として、一般状態の変化である嘔吐及び糞便異常（下痢、軟便）がみられ、関連する胃の変化として粘膜萎縮を伴った上皮内リンパ球増加（軽度）が認められたが、4 週間の回復期間中に回復した。肝臓に関連する変化として、空胞化（グリコーゲン蓄積に一致する）が 1 及び 3 か月後に、単細胞壊死（軽微）が 3 か月後に、クッパー細胞色素増加及び肥大が 9 か月後に、それぞれ認められた。トランスアミナーゼ（アラニンアミノトランスフェラーゼ、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ）値増加が、1、3 及び 9 か月後に認められた。クッパー細胞色素を除いて、リルザブルチニブ関連の肝臓の所見は 4 週間の回復期間中に回復した。被験物質関連のパイエル板におけるリンパ球細胞密度

低下が、2 週間、並びに 1 及び 3 か月間反復投与毒性試験で認められた。この変化は 4 週間の回復期間中に回復したと考えられた。関連する病理組織学的所見を伴わない脾臓重量減少が 3 か月後に認められた。4 週間の回復期間終了時に、脾臓重量増加が認められた。被験物質関連の胸腺細胞密度低下が、イヌを用いた 2 週間、並びに 1 及び 3 か月間反復投与毒性試験で認められた。

表 2 - GLP Repeat-dose toxicity study NOAELs and AUCs

Species	Duration/route [a]	Doses (mg/kg/day)	NOAEL (mg/kg/day)	NOAEL AUC (ng•h/mL)
Rat	1-month / PO	50, 150, 500	500	M: 23200 F: 39900
	3-month / PO	50, 150, 500	150	M: 8450 F: 17000
	6-month / PO	15, 50, 150, 300	150 (M) 50 (F)	M: 6170 F: 4960
Dog	1-month / PO	30, 100, 300	300	M: 4550 F: 7480
	3-month / PO	30, 100, 300	30 (M) <30 (F)	M: 1070 F: 1040 [b]
	9-month / PO	15, 30, 50	30	M: 689 F: 751

Abbreviations: AUC: Area under the plasma concentration-time curve; F: Female; GLP: Good laboratory practice; M: Male; NOAEL: No-observed-adverse-effect level; PO: Per os (oral)

a Duration of recovery period for each of the rat and dog study was 4 weeks.

b The female NOAEL was <30 mg/kg/day; AUC value is from 30 mg/kg/day

4.3 遺伝毒性試験

リルザブルチニブは、3 試験からなる遺伝毒性試験のバッテリーにおいて陰性であった。その内容として、ネズミチフス菌の菌株及び大腸菌の菌株 WP2 uvrA を用いる in vitro Ames 試験を 5000 μg/プレートまでの濃度で実施し、HPBL を用いる in vitro 哺乳類細胞染色体異常試験を最高解析濃度までの濃度で実施（高度の細胞毒性が、非活性化 4 時間曝露群では 30 μg/mL 以上、S9 活性化 4 時間曝露群では 45 μg/mL 以上、非活性化 20 時間曝露群では 7.5 μg/mL 以上で認められた）するとともに、Sprague Dawley ラットを用いる in vivo 骨髄 MNT を、雄は 2000 mg/kg/日まで、雌は 1500 mg/kg/日までの用量で実施した。

これらの試験により、リルザブルチニブは遺伝毒性試験の標準バッテリーにおいて変異原性及び染色体異常誘発能を示さないことが判明した。

4.4 がん原性試験

リルザブルチニブは長期使用が予定されているため、ICH ガイドラインに従って、リルザブルチニブのがん原性試験を 2 試験実施した。すなわち TgHRAS マウスモデルを用いた 6 か月間がん原性試験及び Wistar Han ラットを用いた 2 年間がん原性試験である。TgHRAS マウスを用いた 6 か月間がん

原性試験及びラットを用いた 2 年間がん原性試験で使用した用量は、米国 FDA エグゼクティブがん原性評価委員会（eCAC）により審査された。2018 年 6 月 26 日（Module 2.6.6 [5.2.1 項]）及び 2020 年 4 月 21 日（Module 2.6.6 [5.1.5 項]）に開催された会議で、eCAC は提案された用量に同意した。

TgHRAS マウスを用いた 6 か月間がん原性試験において、検討した最高用量である 300 mg/kg/日までの用量で、リルザブルチニブ関連の生存への影響及び新生物発現率の変化は認められなかった。全身曝露量には明らかな性差は認められなかった。

ラット 2 年間がん原性試験では、検討した最高用量（雄で 100 mg/kg/日、雌で 50 mg/kg/日）までの用量で、リルザブルチニブ関連の生存への影響は認められなかった。2 年間（生涯）の連日投与によるリルザブルチニブ関連の脳組織の変化は認められなかった。甲状腺腫瘍（濾胞細胞腺腫／癌）及び膵臓腫瘍（島細胞腺腫）の発現率上昇が 100 mg/kg/日群の雄で認められた。リルザブルチニブは、ラットにおいて、雄では 30 mg/kg/日以下、雌では 50 mg/kg/日の用量で発がん性を示さないと結論された。

甲状腺腫瘍に関する外部専門家の結論(16)として、ラットにおける甲状腺腫瘍誘導は、肝臓での第 II 相 UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ（UGT）酵素誘導による甲状腺ホルモン秩序の障害に一致するものであり、このことはラット肝臓スフェロイドを用いたトランスクリプトームプロファイリングで確認された。UGT 酵素誘導の結果として、甲状腺刺激ホルモン増加によりラット甲状腺濾胞細胞が慢性的に刺激されることで（リルザブルチニブのラット 3 及び 6 か月試験で認められた）肥大が引き起こされ、その後、過形成（前腫瘍性変化）及び最終的には濾胞腫瘍形成に至る。これはラットにおける非遺伝毒性的発がんメカニズムであり、ヒトへの関連性はないと考えられる。膵島細胞腺腫はラットで普通にみられる加齢性の腫瘍であり、観察された発現率は利用可能な背景対照を超えるものではなく、膵島細胞に対するリルザブルチニブの増殖作用を支持する他の所見は認められなかった。したがって、膵臓腺腫は自然発生的な加齢性所見であり、ヒトへの関連性のないメカニズムと考えられた。

さらに、リルザブルチニブ投与群の雄ラットで認められた膵臓の線維化及び炎症の所見は、ラットにおける自然発生的背景変化であり、公表されている BTK 阻害薬の作用に一致するものであった。他の動物種では同様の変化は認められなかった。雄ラットにおける同様の所見が他の BTK 阻害薬の臨床使用時の曝露量で報告されていることから、BTK 阻害薬による膵臓の変化は動物種及び性に特異的なものと考えられる(17)(18)(19)(20)(21)。病理組織学的変化は対照ラットで報告されている自然発生的所見に一致しており、高齢ラットにおける一般的な背景所見が被験物質に関連して加速した可能性がある。膵臓の変化は、回復期間後に完全又は部分的に回復することが示されている(18)。膵臓への影響に対する感受性は性及びラットの系統に依存しており、Sprague Dawley ラットは Wistar ラットより感受性が高い(17)(18)。BTK 阻害薬による膵臓の病変には、投与期間に伴った重症度及び発現率の上昇も認められる(17)。BTK 阻害薬に関してラットに特異的な違いが生じるメカニズムは明確には特定されていないが、原発性微小血管傷害が関与している可能性がある(17)(22)。

したがって、検討した最高用量の 100 mg/kg/日（雄）及び 50 mg/kg/日（雌）まで、ヒトへの関連性があると考えられる腫瘍は認められなかった。

全体として、リルザブルチニブは、げっ歯類のがん原性試験において、ヒトへの関連性があると考えられる新生物を誘導しなかった。

4.5 生殖発生毒性試験

4.5.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

雌雄の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において、性周期、交尾能、受胎能、精子パラメータ、並びに卵巣及び子宮パラメータを含むいずれの生殖パラメータにも、リルザブルチニブ関連の変化は認められなかった。雌雄のラットでの生殖に関する無毒性量（NOAEL）は、検討した最高用量の 300 mg/kg/日であった。

4.5.2 胚・胎児発生に関する試験

ラットを用いた探索的な胚・胎児発生に関する用量設定試験において、リルザブルチニブを 500 mg/kg/日の用量で投与したところ、母動物での最大耐量を超えた。着床後胚胎児死亡率及び早期吸収率上昇、並びに胎児体重減少が、500 mg/kg/日で認められた。胎児の外表、内臓及び骨格の変化が、500 mg/kg/日で認められた。150 mg/kg/日以下では奇形は認められなかった。

ウサギを用いた探索的な胚・胎児発生に関する用量設定試験では、観察された母動物毒性に関連する可能性がある軽度の早期吸収率上昇が 150 mg/kg/日で認められた。胎児内臓異常が 50 mg/kg/日以上（CV）及び 150 mg/kg/日（腎臓）で認められたことから、リルザブルチニブの催奇形性が示唆されたが、用量依存的な発現率上昇は認められなかったことから、被験物質との関連性は不明確と考えられた。

ラット及びウサギを用いた最終的な胚・胎児発生に関する試験では、リルザブルチニブに関連する胚・胎児発生の変化、並びに胎児の外表、内臓及び骨格の形態変化は認められなかった。ラット及びウサギでの胚・胎児発生に関する NOAEL は、それぞれ検討した最高用量の 300 mg/kg/日及び 100 mg/kg/日と判断された。

4.5.3 ラットを用いた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

リルザブルチニブを母動物に着床から離乳まで投与したときの母動物の妊娠、分娩及び授乳、並びに F_1 出生児の成長、生存性及び発達に対する影響を評価した。この試験でのリルザブルチニブに関連する 150 mg/kg/日以上での妊娠期間中の体重増加量及び摂餌量の減少、並びに 300 mg/kg/日での授乳期間中の体重及び摂餌量減少に基づき、母動物（F_0）の全身毒性に関する NOAEL は 50 mg/kg/日と判断された。F_1 新生児／発達毒性に関する NOAEL は、300 mg/kg/日で一般状態の変化、並びに平均体重及び体重増加量の減少が認められたことから、150 mg/kg/日と判断された。F_1 親動物の全身毒性、F_1 の生殖毒性及び F_2 の胚毒性に関する NOAEL は、検討した最高用量の 300 mg/kg/日と判断された。

4.6 その他の毒性試験

4.6.1 光毒性

溶解度、pH 及び用量設定試験に基づき、リルザブルチニブの 1.00～56.2 µg/mL の濃度で評価を実施した。リルザブルチニブは、3T3 細胞を用いた in vitro 試験において、紫外線照射下及び非照射下で光毒性を示さなかった。

4.6.2 薬物乱用傾向評価

リルザブルチニブ及びその主要代謝物である PRN4400（チオシアネート）は、その分子構造、並びに非臨床安全性及び PK データのレビューに基づくと、薬物乱用及び依存性の可能性は低いと考えられる。In vitro CEREP アッセイで認められたムスカリン M2 受容体、ニューロキニン NK2 受容体、ナトリウムチャネル部位 2 及びドパミントランスポーターへのリルザブルチニブの結合は、臨床的にはあまり重要でない。タニモト類似性係数を用いると、リルザブルチニブ及び PRN4400 は、既知の乱用薬物との構造類似性をほとんど示さない。また、いずれの安全性薬理試験及び毒性試験においても、依存性又は乱用傾向を示す行動の CNS 徴候は認められなかった。以上、リルザブルチニブ及び PRN4400 の乱用性及び依存性を示唆するエビデンスは認められない。

4.6.3 不純物

実際及び潜在的な MI の評価を、ICH M7(R2) (7)に従い、予定臨床用量、投与期間及び治療適応を考慮に入れて実施した。MI は、製造工程を通して、許容限度未満に効果的にパージされる（Module 3.2.S.3.2 不純物）。利用可能な安全性及び品質データによると、原薬に関連する明らかなヒトへの変異原性リスクはない。

一般毒性に関する原薬（適切な場合は製剤）中不純物の安全性確認を、ICH Q3A(R2) (15)に従い、0.15%以上の濃度で存在すると予測される、又は 1 日摂取量が 1 mg 以上と予測される不純物について実施した。遺伝毒性評価を、1 日摂取量が 1 mg 以上と予測される不純物について実施した（表 3）。一般毒性に関する安全性確認での用量マージンは、GLP 適用反復投与毒性試験の NOAEL での不純物曝露量（mg/kg）及び 60 kg の患者におけるリルザブルチニブの治療用量 800 mg での不純物の予測曝露量を用い、各不純物に関する提案中の許容基準を考慮に入れて算出した。遺伝毒性評価として、Ames 試験及び in vitro MNT を実施した。In vitro MNT の結果が陽性であった不純物については、in vivo COM 試験（in vivo MNT とコメット試験の組合せ）を実施した。不純物は、ICH Q3A(R2) (15)に従って、提案中の個別規格設定濃度（Module 3）における安全性が確認されていると考えられる。

表 3 - Summary of rilzabrutinib impurities qualified under ICH Q3A(R2)

Impurity		GLP genotoxicity study results			GLP repeat-dose toxicity margin[a]	
Identification	RA Code	Ames	In vitro MNT	COM assay[b]	Rat study	Margin
PRN835	[redacted]	Negative	Positive	Negative	3-month	64
PRN2960	[redacted]	Negative	Negative[c]	NE	3-month	23
PRN1253	[redacted]	Negative	Negative	NE	3-month	27
PRN1418	[redacted]	Negative	Positive	Negative	6-month (M) / 3-month (F)	8 (M) / 7 (F)
PRN2468	-	NE[d]	NE[d]	NE	3-month	9
PRN3232	[redacted]	Negative	Positive	Negative	3-month	4
PRN3612	[redacted]	Negative	Positive	Negative	3-month	25
PRN3222	[redacted]	Negative	Negative	NE	1-month	45
PRN3767	[redacted]	Negative	Negative	NE	3-month	9
PRN3590	[redacted]	Negative	Negative	NE	6-month	13 (M) / 9 (F)

Abbreviations: F: Female; GLP: Good laboratory practice; M: Male; MNT: Micronucleus test; NE: Not evaluated; - : no RA code

a Dose margin based on a daily dose of 800 mg rilzabrutinib in a 60 kg person

b Combined in vivo micronucleus & comet study

c PRN2960 was present in the batch that was used in the in vivo micronucleus assay with rilzabrutinib.

d [redacted]

4.6.4 代謝物

リルザブルチニブはヒトで広範に（主に CYP3A4 により）代謝されるが、いずれの代謝物（PRN4400、PRN834、PRN618）も薬理活性にはほとんど寄与しない。チオシアネート（PRN4400、M1）は BTK 阻害作用を示さず、微量代謝物である PRN834 の BTK 阻害作用はリルザブルチニブの 10 分の 1 未満であった。ヒトにおける微量代謝物の PRN618 はリルザブルチニブと同程度の効力を示したが、BTK 占有の持続時間はより短かった。現時点でのデータに基づくと、ヒト特異的代謝物は特定されていない。総放射能の 10%閾値を上回る 1 種類の主要代謝物（PRN4400）が特定されている。PRN4400 は、一般毒性試験、がん原性試験及び生殖発生毒性試験で使用された 1 種類以上の動物種において、十分な曝露量で生成した。そのため、PRN4400 はリルザブルチニブについて実施した非臨床毒性試験で安全性が確認されていると考えられる。利用可能な文献のレビューに基づくと、チオシアネートに関する安全性上の懸念は認められなかった。

4.6.5 探究的毒性試験

リルザブルチニブをラットに 100 mg/kg/日までの用量で 3 日間空腸内（IJ）投与したときの脳における IBA-1 発現を、探索的 PK-PD 試験で検討した。側脳室の脳室周囲領域における IBA-1 発現上昇

（軽微）が、100 mg/kg/日群の雌 1 匹で認められた。脳室の外側面上における IBA-1 発現は、内側面と比較してわずかに増加が認められた。小脳（髄質を伴う）には、IBA-1 発現上昇は認められなかった。50 mg/kg/日 IJ 投与群のラットには、IBA-1 発現上昇は認められなかった。

リルザブルチニブによる脳の急性神経変性性変化の有無を評価するため、2 つの 3 日間試験を実施した。最初の試験では、ラットに 500 mg/kg/日までの用量で 3 日間 PO 投与し、12～72 時間後に剖検した。リルザブルチニブに関連した脳の好中球浸潤が、雄は 500 mg/kg/日で、雌は 150 mg/kg/日以上でみられ、脳室周囲 IBA-1 発現上昇が 150 mg/kg/日以上で認められた。被験物質に関連した神経変性性の病理組織学的所見は、500 mg/kg/日までの用量で認められなかった。2 番目の 3 日間神経毒性試験では、リルザブルチニブを PO 又は IJ 投与したときの脳におけるリルザブルチニブ関連の変化を評価した。リルザブルチニブの PO 投与により、脳の好中球浸潤が 500 mg/kg/日でみられ、一過性の脳室周囲 IBA-1 発現上昇が 150 mg/kg/日以上で認められた。IBA-1 発現上昇は一過性で、神経細胞、神経細胞支持細胞及び血管系には、その他の病理組織学的変化はみられず、関連する病理学的所見も認められなかった。一過性脳室周囲 IBA-1 発現上昇が 150 mg/kg/日 IJ でも認められた。IJ 投与後のリルザブルチニブに関連した IBA-1 発現上昇の発現率及び重症度は、同じ曝露量での PO 投与と比較して低度であった。リルザブルチニブに関連した神経変性性の病理組織学的所見は、PO 投与及び IJ 投与のいずれにおいても認められなかった。

ヒト及びラットの転写プロファイルにおけるリルザブルチニブ関連の変化を、ラット及びヒトの肝臓スフェロイドを用いて評価した。ラット肝臓スフェロイドにおいて、リルザブルチニブはフェノバルビタール様のミクロソーム酵素誘導剤プロファイルを示し、第 I 相及び第 II 相代謝に関与する複数の遺伝子の誘導が認められ、その中には甲状腺ホルモンの代謝及び消失に関与することが知られる遺伝子も含まれていた。リルザブルチニブはヒト肝臓スフェロイドにおいて第 II 相代謝遺伝子を誘導しなかったことから、甲状腺ホルモン消失を変化させる可能性はなかった。

5　総括及び結論

一連の薬理、PK 及び毒性試験でリルザブルチニブの非臨床特性を評価した。非臨床試験において、リルザブルチニブは ITP 治療薬として開発される可逆的な共有結合型 BTK 阻害薬であることが示された。

リルザブルチニブは、標的の非共有結合性及び共有結合性（Cys481）部分に適合する 2 か所で結合することにより、強力な阻害作用、オフターゲット作用の低下、及び持続的な標的占有を示す。結合動態の評価により、リルザブルチニブは BTK に対する結合速度が速く、解離速度が遅いことが示された。阻害作用機序は、ATP 結合の競合的阻害によるものであった。リルザブルチニブと BTK との相互作用は、共有結合にもかかわらず、完全に可逆的であった。細胞を用いた試験系において、リルザブルチニブの予想される BCR、FcγR 及び FcεR シグナル伝達に対するオンターゲット作用が確認され、細胞を用いた適切なクロススクリーニングにおいて、オフターゲット活性の欠如が確認された。その他のオフターゲットキナーゼのうち、リルザブルチニブが強い効力を示したものはほとんどなく（T 細胞 X 染色体キナーゼ［TXK］、TEC、染色体 X 上の骨髄チロシンキナーゼ［BMX］及び B 細胞リンパ球キナーゼ［BLK］のみ）、他のキナーゼの阻害作用の持続時間は BTK よりも短かった。他のキナーゼ（EGFR、インターロイキン-2 誘導性 T 細胞キナーゼ［ITK］及びヤヌスキナーゼ 3［JAK3］が含まれるがこれに限定されない）に対するリルザブルチニブの阻害作用は弱かったが、これらのキナーゼはイブルチニブなどの不可逆的 BTK 阻害薬によって通常阻害される(23)。リルザブルチニブは B 細胞活性化、BCR 依存性 B 細胞増殖及び de novo 抗体産生に対して阻害作用を示した。リルザブルチニブの投与による ex vivo 血小板凝集への影響は認められなかったことから、BTK シグナル伝達経路を迂回する代替的シグナル伝達経路が血小板に存在し、正常な血小板機能を保持しうることが示された。

ラット in vivo での BTK 占有は、リルザブルチニブが循環血中から消失した後も長時間持続していたことから、リルザブルチニブの持続的な PD 作用が確認された。マウス ITP モデルでリルザブルチニブの疾患修飾活性を評価した。リルザブルチニブの投与により、血小板減少が用量依存的に抑制された。さらに、新たに診断された自然発症落葉状天疱瘡を有するイヌにおいて、リルザブルチニブは、従来のコルチコステロイド投与を必要とすることなく、疾患を安全かつ速やかにコントロールした。ラット関節炎モデルにおいても、リルザブルチニブは抗炎症作用を示し、ヒトで達成される標的占有率で、完全な疾患抑制及び回復が認められた。ラットコラーゲン誘発関節炎モデルにおいて、BTK 占有率 16%以上で、足関節径増加抑制を指標とする疾患抑制が認められた。リルザブルチニブを 20 mg/kg BID の用量で反復 PO 投与すると疾患の完全な回復が認められ、そのときの投与開始（時間 0）から 12 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}12}$）は 621 ng•h/mL（総曝露量［$AUC_{0\text{-}24}$］は 1242 ng•h/mL）、トラフ BTK 占有率は約 80%であった。このモデルに基づくと、ヒトで臨床

的有効性が認められるトラフ BTK 占有率の範囲は、50～80%と考えられる。また、ラット抗体介在性受動的アルサス反応モデルでも抗炎症作用が認められた。

非臨床試験プログラムにおけるリルザブルチニブの主要な所見を以下に要約する。

- In vitro において、リルザブルチニブは、B 細胞の活性化及び増殖に対する阻害作用並びに FcγR 介在性単球活性化に対する阻害作用など、ITP の治療に有益と考えられる複数の免疫機能への作用を示した。
- リルザブルチニブは in vitro の血小板凝集に影響を及ぼさなかった。
- マウス ITP モデルにおいて、外因性抗体の注入による血小板減少症の誘発から 6 時間後の血小板の減少に対して、リルザブルチニブは用量依存的な抑制作用を示した。この結果から、リルザブルチニブは抗体介在性血小板破壊を抑制することが示された。
- リルザブルチニブは、イヌの自然発症落葉状天疱瘡及びラットコラーゲン誘発関節炎モデルといったその他の自己抗体誘発性疾患にも治療効果を示した。これらの 2 つの疾患では内因性に自己抗体が形成され、リルザブルチニブの有益な効果も認められた。
- CEREP スクリーニングプロファイルにおいて、リルザブルチニブが 10 µmol/L の濃度で 50%を上回る活性を示したのは、4 つの標的（ムスカリン M2 受容体、ニューロキニン NK2 受容体、ナトリウムチャネルサイト 2 及びドパミントランスポーター）のみであり、その他の受容体、トランスポーター及びイオンチャネルに対する活性は、いずれも 50%未満であった。
- 安全性薬理試験において、hERG に対するリルザブルチニブの IC_{50} は 3.5 µmol/L（2329 ng/mL）であり、これは臨床における 400 mg BID での非結合型 C_{max}（幾何平均値 3.75 ng/mL、PRN1008-018/EFC17093）の約 621 倍であった。ラットにリルザブルチニブを 500 mg/kg までの用量で単回 PO 投与したとき、リルザブルチニブに関連する肉眼での行動学的、生理学的及び神経学的変化は認められなかった。テレメーター装着イヌに 500 mg/kg までの用量で PO 投与したとき、CV 及び呼吸系に、リルザブルチニブに関連する有害な影響は認められなかった。
- リルザブルチニブは急速かつ広範に代謝された。In vitro 及び in vivo でヒト特異的代謝物は認められなかった。したがって、リルザブルチニブの代謝物を用いた特別な毒性試験は実施しなかった。ヒトに放射性標識体を投与したときの血漿中総放射能曝露量に占める割合は、未変化体が 0.760%、PRN4400（血中の主要不活性代謝物）が 94.2%、PRN834 が 1.09%であり、その他の代謝物は微量であった（1%未満）。ヒトマスバランス試験でも同様のプロファイルが認められた（PRN1008-015 試験、Module [2.7.2]）。
- 薬理活性に大きく寄与すると予想される代謝物は認められなかった。生化学的アッセイ及び細胞アッセイにおいて、PRN4400（チオシアネート）は BTK を阻害せず、BTK 占有も確認

されなかった。PRN834 についても、BTK 占有は確認されず、生化学的アッセイでの BTK 阻害作用はリルザブルチニブの 10 分の 1 未満であった。ごく微量のヒト代謝物である PRN618 は、生化学的キナーゼアッセイでリルザブルチニブと同等の BTK 阻害作用を示したが、細胞アッセイでの阻害効果は低く、BTK 占有率は経時的に低下することが確認された。

- リルザブルチニブの主要代謝物である PRN4400 は、ヒトマスバランス試験で初めて同定されたため、ラットを用いてブリッジング PK 試験を実施した。その結果、ラットにリルザブルチニブの用量 500 mg/kg/日を投与したときの PRN4400 曝露量（血漿中濃度－時間曲線下面積［AUC］）は、ヒトに治療用量である 400 mg を BID 投与したときに認められた定常状態での曝露量と同等又はそれ以上（最大 1.59 倍）であることが明らかになった。したがって、リルザブルチニブのラット毒性試験で PRN4400 を間接的に評価した。
- リルザブルチニブの血漿タンパク結合率は、ヒト、イヌ及びげっ歯類でそれぞれ 97.5%、95.9%及び 99%以上であった。
- 動物種全体を通して、血液／血漿中濃度比から、血漿中濃度の方が約 2 倍高いことが示された。
- ラット、イヌ及びカニクイザルに用量 20 mg/kg のリルザブルチニブを単回 PO 投与したときのバイオアベイラビリティはそれぞれ 12.3%、7.5%及び 3.2%であった。サルにおける総曝露量が低かったことから、げっ歯類以外の毒性試験用動物種としてイヌを選択した。
- 実施した PK 試験において、リルザブルチニブの分布容積は大きく、血漿からの消失は速やかであった。
- ラット、イヌ及びサルに PO 投与したときの最終相の平均消失半減期は 1.5～2.6 時間の範囲であった。
- In vitro 及び in vivo 代謝試験結果の比較から、リルザブルチニブの代謝の一部に肝外経路が関与している可能性が明らかになった（すなわち、PRN834 は in vitro で同定されなかった）。
- ヒト肝細胞を用いた試験から、リルザブルチニブの代謝に関与する主要なシトクロム P450 分子種は CYP3A4 であることが明らかになった［代謝寄与率（fm）= 89.3～92.0%］。
- マスバランス試験において、主要排泄経路は肝・胆道系を介した排泄であることが明らかになった。胆管カニュレーション処置ラットにおいて、腎臓を介したリルザブルチニブの排泄は非常に限られている一方、糞中に放射能の 20%超が回収された。
- ラットを用いた 6 か月間反復投与毒性試験におけるリルザブルチニブ関連の所見として、死亡及び脳の好中球浸潤が雌は 150 mg/kg/日以上、雄は 300 mg/kg/日で認められ、その性質及び重症度に基づき、NOAEL は雄で 150 mg/kg/日（AUC_{last} は 6860 ng•h/mL）、雌で 50 mg/kg/日（AUC_{last} は 5760 ng•h/mL）と判断された。脳における IBA-1 発現に関する無影響量

（NOEL）は、雄で 50 mg/kg/日（AUC_{last} は 2060 ng•h/mL）、雌で 15 mg/kg/日（AUC_{last} は 721 ng•h/mL）と判断された。リルザブルチニブに関連する IBA-1 及び GFAP 発現の変化に関する外部専門家の結論(24)によると、これらの変化は反応性膠細胞の存在を示しているが、神経実質に可視的な構造損傷がみられなかったことから、これらの所見は毒性ではない。

- イヌを用いた 9 か月間反復投与毒性試験で観察されたリルザブルチニブ関連の所見である 50 mg/kg/日群の雄 1 匹の人道的安楽殺及び胃粘膜萎縮の性質及び重症度に基づき、NOAEL は 30 mg/kg/日（AUC_{last} は雄で 689 ng•h/mL、雌で 751 ng•h/mL）と判断された。
- リルザブルチニブは in vitro 及び in vivo 遺伝毒性試験のバッテリーにおいて陰性であった。
- TgHRAS マウスを用いた 6 か月間がん原性試験において、生存率及び新生物発現率にはリルザブルチニブ関連の変化はみられず、腫瘍性所見に関する NOEL は 300 mg/kg/日と判断された。ラットを用いた 2 年間がん原性試験では、雄で 100 mg/kg/日、雌で 50 mg/kg/日までの用量で、リルザブルチニブ関連の生存率の変化は認められなかった。甲状腺腫瘍（濾胞細胞腺腫［主として］／癌）及び膵臓腫瘍（島細胞腺腫）の発現率上昇が、100 mg/kg/日群の雄に認められた。ラットにおける甲状腺腫瘍誘導は、ラットでの既知の非遺伝毒性的発がんメカニズムに一致しており、ヒトへの関連性はないと考えられる。膵島細胞腺腫はラットで普通にみられる加齢性の腫瘍であり、自然発生的な加齢性所見と考えられた。観察された発現率上昇は、この動物種での BTK 阻害薬による膵臓の自然発生的背景変化の悪化に対する二次的変化の可能性があり、このメカニズムは他の動物種では認められず、ヒトへの関連性はないと考えられる。したがって、検討した最高用量（雄は 100 mg/kg/日、雌は 50 mg/kg/日）までの用量で、ヒトへの関連性があると考えられる腫瘍は認められなかった。
- ラットにおいてリルザブルチニブ関連の受胎能の変化は認められなかった。
- ラットを用いた探索的な胚・胎児発生に関する用量設定試験において、着床後胚胎児死亡率及び早期吸収率の上昇、並びに胎児体重減少が、500 mg/kg/日で認められた。胎児の外表、内臓及び骨格の変化が、500 mg/kg/日で認められた。150 mg/kg/日以下では奇形は認められなかった。ウサギを用いた探索的な胚・胎児発生に関する用量設定試験では、観察された母動物毒性に関連する可能性がある軽度の早期吸収率上昇が 150 mg/kg/日で認められた。胎児内臓異常が 50 mg/kg/日以上（CV）及び 150 mg/kg/日（腎臓）で認められたが、用量依存的な発現率上昇は認められなかったことから、被験物質との関連性は不明確と考えられた。
- ラット及びウサギを用いた最終的な胚・胎児発生に関する試験では、それぞれ高用量の 300 mg/kg/日及び 100 mg/kg/日まで変化は認められなかった。
- ラットを用いた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において、母動物（F_0）の全身毒性に関する NOAEL は 50 mg/kg/日、F_1 新生児／発達毒性に関する NOAEL は

150 mg/kg/日、F_1親動物の全身毒性、F_1の生殖毒性及びF_2の胚毒性に関するNOAELは、検討した最高用量の300 mg/kg/日と判断された。

- 2つの3日間神経毒性試験において、リルザブルチニブを500 mg/kg/日までの用量でPO投与したところ、好中球浸潤、脳室周囲IBA-1発現上昇及び神経変性性の病理組織学的所見が認められた。
- リルザブルチニブは、BALB/c 3T3細胞を用いたin vitroニュートラルレッド取込み光毒性試験において光毒性を示さなかった。
- リルザブルチニブ及びその主要代謝物であるチオシアネート（PRN4400）は、依存性及び乱用性の徴候を示さず、化学構造、物理化学的特性、薬理作用及び作用機序によると、既知の乱用薬物との類似性は認められなかった。
- ICH M7(R2) (7)ガイドラインに従った潜在的MIの評価の結論として、リルザブルチニブのバッチに関連したヒトへの明らかな変異原性リスクは認められなかった。MIは、製造工程を通して、許容限度未満に効果的にパージされる。提案中の個別規格設定濃度にある原薬（適切な場合は製剤）中不純物は、ICH Q3A(R2) (15)に従った一般毒性試験及び遺伝毒性試験で適切に安全性が確認された。

反復投与毒性試験、がん原性試験及び胚・胎児発生に関する試験のNOAELでの動物におけるリルザブルチニブの血漿中曝露量を、最大推奨用量の400 mg BIDでの定常状態のヒト曝露量（Module [5.3.5.1] [PRN1008-018/EFC17093]）と比較した曝露量比を表4に要約する。

表4 - Summary of rilzabrutinib NOAELs, exposures, and exposure margins

Study Type	Species	NOAEL[a] (mg/kg/day, PO)	TK Time Point	AUC_{last} (ng•h/mL) (M/F)	Exposure Ratio[b] (M/F)
Repeat-dose					
3-month	Rat	150	91/92 days	8450 (M) / 17000 (F)	5.5 / 11.0
6-Month	Rat	150 (M) / 50 (F)	182 days	6860 (M) / 5760 (F)	4.5 / 3.7
3-month	Dog	30 (M) / <30 (F)	91/92 days	1070 (M) / 1040 (F) [c]	0.7 / 0.7
9-Month	Dog	30	273 days	689 (M) / 751 (F)	0.4 / 0.5
Embryo-fetal toxicity					
Exploratory rangefinder	Rat	150	6 to 17 days of gestation	15300	10.0
Definitive	Rat	300 (F) [d]	7 to 17 days of gestation	17100	11.1
Exploratory rangefinder	Rabbit	≤50	6 to 19 days of gestation	1760 [e]	1.1
Definitive	Rabbit	100 (F) [d]	7 to 19 days of gestation	6920	4.5

Study Type	Species	NOAEL[a] (mg/kg/day, PO)	TK Time Point	AUC_{last} (ng•h/mL) (M/F)	Exposure Ratio[b] (M/F)
Carcinogenicity					
6-month	Mouse	300	66 days	40300 (M) / 71100 (F)	26.1 / 46.2
2-year	Rat	100 (M) [f] / 50 (F)	176 days	3670 (M) / 6930 (F)	2.4 / 4.5
Investigative toxicology					
3-day PO neurotoxicity	Rat	500 [g]	3 days	18300 (M) / 49800 (F)	11.9 / 32.3
3-day PO or IJ neurotoxicity	Rat	500 150 (IJ)	3 days 3 days	29000 (M) / 69600 (F) 7140 (M) / 15600 (F)	18.8 / 45.2 4.6 / 10.1

Abbreviations: AUC: Area under the plasma concentration-time curve; AUC_{last}: Area under the plasma concentration-time curve from time zero to last measurable concentration; AUCss: Area under the plasma concentration-time curve at steady state; BID: Twice daily; F: Female; IJ: Intra-jejunal; M: Male; NOAEL: No-observed-adverse-effect-level; PO: Per os (oral)

a Route of administration was oral (PO) unless otherwise noted.

b Animal AUC / Human AUCss; per [Study No. PRN1008-018/EFC17093] (Phase 3) at 400 mg BID; Mean Clinical AUCss 1540 ng•h/mL)

c Female NOAEL was <30 mg/kg/day; AUC value is from 30 mg/kg/day

d Developmental NOAEL

e AUC at 50 mg/kg/day

f Based on human-relevant findings

g NOAEL for neurodegenerative changes following oral administration of rilzabrutinib.

以上、リルザブルチニブの非臨床試験は適切な ICH ガイドライン及び国際的ガイダンスに基づいて実施され、安全性及び活性プロファイルは良好であったことから、ITP 患者の治療を目的としたリルザブルチニブの登録は支持される。

6 参考文献一覧

1. Neys SFH, Hendriks RW, Corneth OBJ. Targeting Bruton's tyrosine kinase in inflammatory and autoimmune pathologies. Front Cell Dev Biol. 2021 Jun 4;9:668131.
2. Zhang D, Gong H, Meng F. Recent advances in BTK inhibitors for the treatment of inflammatory and autoimmune diseases. Molecules. 2021 Aug 13;26(16):4907.
3. Carnero Contentti E, Correale J. Bruton's tyrosine kinase inhibitors: a promising emerging treatment option for multiple sclerosis. Expert Opin Emerg Drugs. 2020 Dec;25(4):377-81.
4. Burger JA. Bruton tyrosine kinase inhibitors: present and future. Cancer J. 2019 Nov/Dec;25(6):386-93.
5. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals - M3(R2). Geneva, Switzerland: ICH harmonised tripartite guideline, 2009. Available from: https://database.ich.org/sites/default/files/M3_R2__Guideline.pdf
6. ICH guideline M3(R2) - Guidance on nonclinical safety studies for the conduct of human clinical trials and marketing authorization for pharmaceuticals - questions and answers - Step 5 - EMA/CHMP/ICH/507008/2011. Available from: https://www.ema.europa.eu/documents/other/international-conference-harmonisation-technical-requirements-registration-pharmaceuticals-human-use_en.pdf
7. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk - M7(R2). Geneva, Switzerland: ICH harmonised tripartite guideline, 2023. Available from: https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_M7%28R2%29_Guideline_Step4_2023_0216_0.pdf
8. ICH guideline M7 on assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk - questions & answers - Step 2b - EMA/CHMP/ICH/321999/2020. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/questions-answers-ich-guideline-m7-assessment-control-dna-reactive-mutagenic-impurities_en.pdf
9. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Safety pharmacology studies for human pharmaceuticals - S7A. Geneva, Switzerland: ICH harmonised tripartite guideline, 2000. Available from: https://database.ich.org/sites/default/files/S7A_Guideline.pdf
10. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). The non-clinical evaluation of the potential for delayed ventricular repolarization (QT interval

prolongation) by human pharmaceuticals – S7B. Geneva, Switzerland: ICH harmonised tripartite guideline, 2005. Available from: https://database.ich.org/sites/default/files/S7B_Guideline.pdf

11. Bradshaw JM, McFarland JM, Paavilainen VO, Bisconte A, Tam D, Phan VT, et al. Prolonged and tunable residence time using reversible covalent kinase inhibitors. Nat Chem Biol. 2015 Jul;11(7):525-31.
12. Serafimova IM, Pufall MA, Krishnan S, Duda K, Cohen MS, Maglathlin RL, et al. Reversible targeting of noncatalytic cysteines with chemically tuned electrophiles. Nat Chem Biol. 2012 Apr 1;8(5):471-6.
13. Chang BY, Huang MM, Francesco M, Chen J, Sokolove J, Magadala P, et al. The Bruton tyrosine kinase inhibitor PCI-32765 ameliorates autoimmune arthritis by inhibition of multiple effector cells. Arthritis Res Ther. 2011 Jul 13;13(4):R115.
14. U.S. Department of Health and Human Services - Food and Drug Administration (FDA) - Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Bioanalytical Method Validation. Rockville MD, USA. FDA-2013-D-1020. May 2018. Available from: https://www.fda.gov/media/70858/download
15. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). Impurities in new drug substances - Q3A(R2) Geneva, Switzerland: ICH harmonised tripartite guideline, October 2006. Available from: https://database.ich.org/sites/default/files/Q3A%28R2%29%20Guideline.pdf
16. Rosol TJ. Pathogenesis and interpretation of in vivo and in vitro thyroid effects of rilzabrutinib (SAR444671/PRN1008). Consultant pathologist report - DIV2065. Jul-2022
17. Erickson RI, Schutt LK, Tarrant JM, McDowell M, Liu L, Johnson AR, et al. Bruton's tyrosine kinase small molecule inhibitors induce a distinct pancreatic toxicity in rats. J Pharmacol Exp Ther. 2017 Jan;360(1):226-38.
18. Bhaskaran M, Cornwell PD, Sorden SD, Elwell MR, Russell NR, Pritt ML, et al. Pancreatic effects of a Bruton's tyrosine kinase small-molecule inhibitor in rats are strain-dependent. Toxicol Pathol. 2018 Jun;46(4):460-72.
19. Center for Drug Evaluation and Research. Summary Basis of Approval, Ibrutinib. Application number 205552Orig1s000. 2013. available from: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2013/205552orig1s000clinpharmr.pdf
20. Center for Drug Evaluation and Research. Summary Basis of Approval, Acalabrutinib. Application number 210259Orig1s000. 2017. Available from: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2017/210259Orig1s000MultidisciplineR.pdf
21. Crawford JJ, Johnson AR, Misner DL, Belmont LD, Castanedo G, Choy R, et al. Discovery of GDC-0853: A potent, selective, and noncovalent Bruton's tyrosine kinase inhibitor in early clinical development. J Med Chem. 2018 Mar 22;61(6):2227-45.
22. Brenneman KA, Ramaiah SK, Rohde CM, Messing DM, O'Neil SP, Gauthier LM, et al. Mechanistic investigations of test article-induced pancreatic toxicity at the endocrine-exocrine interface in the rat. Toxicol Pathol. 2014 Jan;42(1):229-42.

23. Langrish CL, Bradshaw JM, Francesco MR, Owens TD, Xing Y, Shu J, et al. Preclinical efficacy and anti-inflammatory mechanisms of action of the Bruton tyrosine kinase inhibitor rilzabrutinib for immune-mediated disease. J Immunol. 2021 Apr 1;206(7):1454-68.
24. Bolon B. What interpretation should be applied to increased peri-ventricular labeling with a microglial cell marker (Iba1) in rats treated orally with the tyrosine kinase inhibitor PRN1008 (rilzabrutinib)? GEMpath Expert Neuropathology Opinion - EXP0162. May-2023

7 添付資料

7.1 添付資料 1 - データ欠如の理由

CTD の項	理由
4.2.1 薬理試験	
4.2.1.4 薬力学的薬物相互作用試験	薬物動態学的薬物相互作用を評価するために実施した試験の結果で十分であり、PD 薬物相互作用試験は必要ないと判断した。
4.2.2 薬物動態試験 - データの欠如なし	
4.2.3 毒性試験	
4.2.3.5.4 出生児（幼若動物）への投与及び／又は更なる評価を行う試験	リルザブルチニブは成人患者の ITP 治療を目的としているため、最終的な（GLP 適用の）幼若動物を用いた毒性試験は実施しなかった。
4.2.3.6 局所刺激性試験	該当しない－経口投与
4.2.3.7.1 抗原性試験 4.2.3.7.2 免疫毒性試験 4.2.3.7.3 機序解明試験	一般毒性試験において、試験結果の解釈を助けるためにそれらの試験が必要となるような所見は認められなかったことから、これらの試験は実施しなかった。
4.2.3.7.4 依存性試験	DALA の結果に基づき、リルザブルチニブの乱用傾向の評価に特化した試験は実施しなかった。リルザブルチニブ及びその主要代謝物である PRN4400（すなわち、チオシアネート）の分子構造、非臨床データ及び PK によると、これらの化合物には薬物乱用傾向又は依存性の素因はないと考えられる。いずれの安全性薬理試験及び毒性試験においても、依存性又は乱用傾向を示す行動の CNS 徴候は認められなかった。したがって、乱用性又は依存性を示唆するエビデンスは得られなかったため、リルザブルチニブ及び PRN4400（すなわち、チオシアネート）自体について、薬物依存及び乱用のリスクを評価するための特定の行動試験は実施しなかった。

略号：CNS：中枢神経系、DALA：薬物乱用傾向評価、GLP：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準、ITP：免疫性血小板減少症、PD：薬力学