ソマプシタン（遺伝子組換え）

2.4 非臨床試験の概括評価

ノボ ノルディスク ファーマ株式会社

目次

ページ

目次 2
図目次 3
表目次 3
略語一覧 4
2.4.1 非臨床試験計画概要 8
2.4.1.1 分子 8
2.4.1.2 非臨床試験プログラム 9
2.4.2 薬理試験 10
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 12
2.4.2.1.1 *In vitro* 薬理試験 12
2.4.2.1.2 *In vivo* 薬理試験 12
2.4.2.2 副次的薬理試験 13
2.4.2.3 安全性薬理試験 13
2.4.3 薬物動態試験 13
2.4.3.1 分析法 14
2.4.3.2 吸収 14
2.4.3.3 分布 15
2.4.3.4 代謝 16
2.4.3.5 排泄 16
2.4.3.6 薬物相互作用 17
2.4.4 毒性試験 17
2.4.4.1 動物種の選択 17
2.4.4.2 毒性試験の概要 18
2.4.4.3 一般毒性 18
2.4.4.3.1 ラットを用いた反復投与毒性試験 19
2.4.4.3.2 カニクイザルを用いた反復投与毒性試験 20
2.4.4.4 遺伝毒性 20
2.4.4.5 がん原性 20
2.4.4.6 生殖発生毒性 22
2.4.4.7 局所刺激性 23
2.4.4.8 免疫原性 23
2.4.4.9 添加物及び不純物 23

2.4.4.10 ヒトとの曝露量比較 23
2.4.5 総合的考察及び結論 25
2.4.5.1 概要 25
2.4.5.2 総括 28
参考文献 29

図目次

ページ

図 2.4-1 ソマプシタンの一次構造の模式図 9

表目次

ページ

表 2.4-1 効力を裏付ける試験及び安全性薬理試験の概要 11
表 2.4-2 薬物動態試験の概要 13
表 2.4-3 ラット及びサルを用いた長期毒性試験の第 26 週における、定常状態でのトキシコキネティクスパラメータの種間比較ならびに最大臨床推奨用量投与時のヒトにおける推定曝露量（8 mg／週） 15
表 2.4-4 毒性試験の概要 18
表 2.4-5 動物の NOAEL 及びヒトの MRHD（8 mg/週）における動物－ヒト AUC 曝露量比 24

略語一覧

下記の略語一覧は、非臨床試験の概要全体で用いられるものである。したがって、すべての略語が本概要に関連するとは限らない。

ADA	:	anti drug antibodies（抗薬物抗体）
AGHD	:	adult growth hormone deficiency（成人成長ホルモン分泌不全症）
AIE	:	anion exchange（陰イオン交換）
APD	:	action potential duration（活動電位持続時間）
APD_{60}	:	action potential duration (60% recovery = triangulation)（活動電位持続時間 60%回復性=三角測量）
APD_{90}	:	action potential duration (90% recovery = triangulation)（活動電位持続時間 90%回復性=三角測量）
APD_{60-90}	:	action potential duration (60-90% recovery = triangulation)（活動電位持続時間 60%～90%回復性=三角測量）
APTT	:	activated partial thromboplastin time（活性化部分トロンボプラスチン時間）
AST	:	aspartate aminotransferase（アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ）
AU	:	absorbance unit（吸光度単位）
AUC	:	area under the curve（濃度－時間曲線下面積）
$AUC_{0-\infty}$	:	area under the curve from time zero to infinity（投与後 0～∞時間までの AUC）
AUC_{0-12h}	:	area under the curve from time zero to 12 h（投与後 0～12 時間までの AUC）
AUC_{0-24h}	:	area under the curve from time zero to 24h（投与後 0～24 時間までの AUC）
AUC_{0-168h}	:	area under the curve from time zero to 168h（投与後 0～168 時間までの AUC）
AUC_{last}	:	area under the curve from time zero to time of last measurable concentration（投与後 0～最終定量可能時点までの AUC）
bGH	:	bovine growth hormone（ウシ成長ホルモン）
BMC	:	bone mineral content（骨塩量）
BMD	:	bone mineral density（骨密度）
C_{6h}	:	concentration at 6 h（投与後 6 時間の血中濃度）
C_{12hr}	:	concentration 12 hours post dose（投与後 12 時間の血中濃度）
CHMP	:	committee for Medicinal Products for Human Use（ヒト用医薬品委員会）
CL	:	clearance（クリアランス）
C_{last}	:	last measurable concentration（測定可能な最終濃度）
C_{max}	:	maximum concentration（最高血中濃度）
CNS	:	central nervous system（中枢神経系）
CPN	:	chronic progressive nephropathy（慢性進行性腎症）
CT	:	computerised tomography（コンピュータ断層撮影）
CV	:	coefficient of variation（変動係数）
CYP450	:	cytochrome P450（シトクロム P450）
Cys	:	cysteine（システイン）
DRF	:	dose range finding（用量設定）
EC_{50}	:	concentration required to achieve 50% of maximum effect（50%効果濃度）
ECG	:	electrocardiogram（心電図）
EDTA	:	ethylenediaminetetraacetic acid（エチレンジアミン四酢酸）
EFD	:	embryo-foetal development（胚胎児発生）
ELISA	:	enzyme-linked immuno sorbent assay（酵素免疫吸着測定法）
EMA	:	European Medicines Agency（欧州医薬品庁）
EOSL	:	end of shelf life（有効期間内）

F0	:	parental generation（親世代）
F1	:	first generation offspring（第一世代）
FA	:	fatty acid（脂肪酸）
FA5	:	fatty acid binding site 5（脂肪酸結合部位 5）
FA6	:	fatty acid binding site 6（脂肪酸結合部位 6）
FcRn	:	neonatal Fc receptor（胎児性 Fc 受容体）
FDA	:	U.S. Food and Drug Administration（米国食品医薬品局）
fu	:	fraction unbound（非結合画分）
g	:	gram（グラム）
GD	:	gestational day（妊娠日）
GH	:	growth hormone（成長ホルモン）
GHBP	:	growth hormone binding protein（成長ホルモン結合タンパク質）
GHR	:	growth hormone receptor（成長ホルモン受容体）
GLP	:	Good Laboratory Practice（医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準）
h/hr(s)	:	hour(-s)（時間）
HbA_{1c}	:	glycated haemoglobin（糖化ヘモグロビン）
HEK	:	human embryonic kidney（ヒト胎児腎臓）
hERG	:	cardiac potassium channels（カリウムチャネル）
hGH	:	human growth hormone（ヒト成長ホルモン）
HMWP	:	high molecular weight protein（高分子タンパク質）
HPLC	:	high performance liquid chromatography（高速液体クロマトグラフィー）
hPRL	:	human prolactin（ヒトプロラクチン）
hPRLR	:	human prolactin receptor（ヒトプロラクチン受容体）
HSA	:	human serum albumin（ヒト血清アルブミン）
HSAopt	:	optimised version of human serum albumin（最適化ヒト血清アルブミン）
i.a.	:	intraarterial(-ly)（動脈内）
ICH	:	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use（日米 EU 医薬品規制調和国際会議）
IGF-I	:	insulin like growth factor I（インスリン様成長因子-I）
IGFBP-3	:	insulin like growth factor binding protein 3（インスリン様成長因子結合蛋白 3）
IGFIR	:	insulin-like growth factor-I receptor（インスリン様成長因子-I 受容体）
IgG	:	immunoglobulin G（免疫グロブリン G）
i.m.	:	intramuscular(-ly)（筋肉内）
ISR	:	incurred sample reanalysis
ITC	:	isothermal titration calorimetry（等温滴定熱量計）
i.v.	:	intravenous（静脈内）
JAK/STAT	:	Janus kinase/signal transducer and activator of transcription（JAK-STAT シグナル伝達経路）
Kd	:	dissociation constant（平衡解離定数）
kDa	:	kilodalton（キロダルトン）
kg	:	kilogram（キログラム）
l or L	:	litre（リットル）
LC-MS	:	liquid chromatography-mass spectrometry（液体クロマトグラフィー質量分析）
LD	:	lactational day（授乳日）
LI	:	labelling Index（標識指数）
LLOQ	:	lower Limit of quantification（定量下限値）
LOCI	:	luminescent oxygen channeling assay（蛍光酸素チャネリング免疫測定法）
LSC	:	liquid scintillation counting（液体シンチレーション計数法）
MAPK/ERK	:	mitogen-activated protein kinase/extracellular-signal-regulated kinase（分裂促進因子活性化

		タンパク質キナーゼ／細胞外シグナル調節キナーゼ）
MBq	:	Megabequerel（メガベクレル）
mCi	:	Millicurie（ミリキュリー）
mg	:	milligram（ミリグラム）
min	:	minute（分）
mL	:	millilitre（ミリリットル）
mmol	:	millimol（ミリモル）
MRD	:	maximum rate of depolarisation（最大脱分極速度）
MRHD	:	maximum recommended human dose（最大臨床推奨用量）
N/A	:	not applicable（該当なし）
ng	:	nanogram（ナノグラム）
nmol	:	nanomol（ナノモル）
NOAEL	:	no observed adverse effect Level（無毒性量）
OECD	:	Organisation for Economic Co-operation and Development（経済協力開発機構）
PBS	:	phosphate buffered saline（リン酸緩衝生理食塩水）
PD	:	pharmacodynamic(s)（薬力学的作用）
PK	:	pharmacokinetic(s)（薬物動態）
pmol	:	picomol（ピコモル）
PMDA	:	Pharmaceuticals and Medical Devices Agency, Japan（独立行政法人医薬品医療機器総合機構）
PPN	:	pre- and postnatal（出生前及び出生後）
PPND	:	pre- and postnatal development（出生前及び出生後の発生）
PRLR	:	prolactin receptor（プロラクチン受容体）
P-STAT5	:	phosphorylated signal transducer and activator of transcription 5（リン酸化シグナル伝達兼転写活性化因子 5）
QC	:	quality control（品質管理）
QWBA	:	quantitative whole body autoradiography（定量的全身オートラジオグラフィ）
Rac	:	ratio of accumulation（累積率の値）
Rac_{Obs}	:	observed ratio of accumulation（累積率の実測値）
RE	:	relative error（相対誤差）
RMP	:	resting membrane potential（静止膜電位）
RP	:	reverse phase（逆相）
rPRL	:	rat prolactin（ラットプロラクチン）
RT	:	room temperature（室温）
RU	:	resonance unit（共鳴単位）
SAXS	:	small angle x-ray scatter（X 線小角散乱）
s.c.	:	subcutaneous(-ly)（皮下の）
SD	:	standard deviation（標準偏差）
SEC	:	size exclusion chromatrography（サイズ排除クロマトグラフィー）
SEM	:	standard error of mean（標準誤差）
SPR	:	surface plasmon resonance（表面プラズモン共鳴）
STAT5	:	signal transducer and activator of transcription 5（シグナル伝達兼転写活性化因子 5）
$t_{½}$	:	terminal half-life（消失半減期）
TK	:	toxicokinetics（トキシコキネティクス）
t_{max}	:	Time at which maximum concentration is observed（最高血中濃度到達時間）
UA	:	upstroke amplitude（上昇振幅）
µCi	:	microcurie（マイクロキュリー）
µg	:	microgram（マイクログラム）

μmol	:	micromol（マイクロモル）
UPLC	:	ultra performance liquid chromatography（超高速液体グロマトグラフィー）
UPLC-MS	:	ultra performance liquid chromatography and mass spectrometry（超高速液体グロマトグラフィー質量分析）
UPLC-RAM	:	ultra performance liquid chromatography and radioactivity monitoring（超高速液体グロマトグラフィー放射能モニター）
Vz	:	Volume of distribution based on the terminal phase（終末相の分布容積）
WIST(Han)	:	Han Wistar (RccHan™, Wist)（Wistar Hannover 系ラット（RccHan™, Wist））

本概要では、somapacitan を日本語で表記する場合は、医薬品一般名称（JAN）に従いソマプシタンを用いる。

2.4.1　非臨床試験計画概要

ソマプシタンは、成人成長ホルモン分泌不全症（AGHD）、成長ホルモン分泌不全性低身長症（GHD）の小児患者（小児 GHD 患者）ならびに身長がキャッチアップしない小児の Small for Gestational Age（SGA）性低身長を適応として開発している。ソマプシタンの小児における適応は現在臨床開発中であるが、当該申請は AGHD の適応における製造販売承認を目的としている。

ソマプシタンは成長ホルモン受容体（GHR）作動薬である。ヒト成長ホルモン（hGH）と同様、ソマプシタンは GHR の結合及び活性化を介して生物学的作用を発揮する。成長ホルモン（GH）作用に関して、マプシタンの作用機序は、直接作用及びインスリン様成長因子-I（IGF-I）を介する間接作用である。

2.4.1.1　分子

ソマプシタンは、長時間作用型遺伝子組換え hGH 誘導体であり、単一置換（L101C、101 位のロイシンからシステインへの置換）を含むアミノ酸骨格にアルブミン結合部位が接合している。アルブミン結合部位（側鎖）は、親水性のスペーサー及びアルブミンバインダーから構成され、化学結合により hGH のアミノ酸骨格の 101 位に接合している。（図 2.4-1）。アルブミン結合部分は、テトラゾール末端基を有する脂肪酸部位である。ソマプシタンの分子量は 23.2 kDa である（hGH 誘導体部分の分子量：22 kDa、側鎖の分子量：1.2 kDa）。

内因性アルブミンと側鎖との可逆的な非共有結合によりソマプシタンの半減期は延長する。アルブミン結合によってソマプシタンの消失が遅延し、*in vivo* での消失半減期（$t_{1/2}$）が延長することから、その作用が持続化し、本剤はヒトへの週 1 回投与に適したものとなる。アルブミンバインダーの酸性基はアルブミンの脂肪酸結合ポケット周辺部で非共有結合し、テトラゾールはアルブミンの脂肪酸結合ポケット内部で結合すると考えられる。C16 脂肪酸によって酸性基とテトラゾールとの正確な距離が保たれる。この原理は、インスリンデテミル、インスリンデグルデク、リラグルチド及びセマグルチドを含有する市販の複数のタンパク質製剤において血漿中半減期の延長に用いられており、十分に確立された方法である。

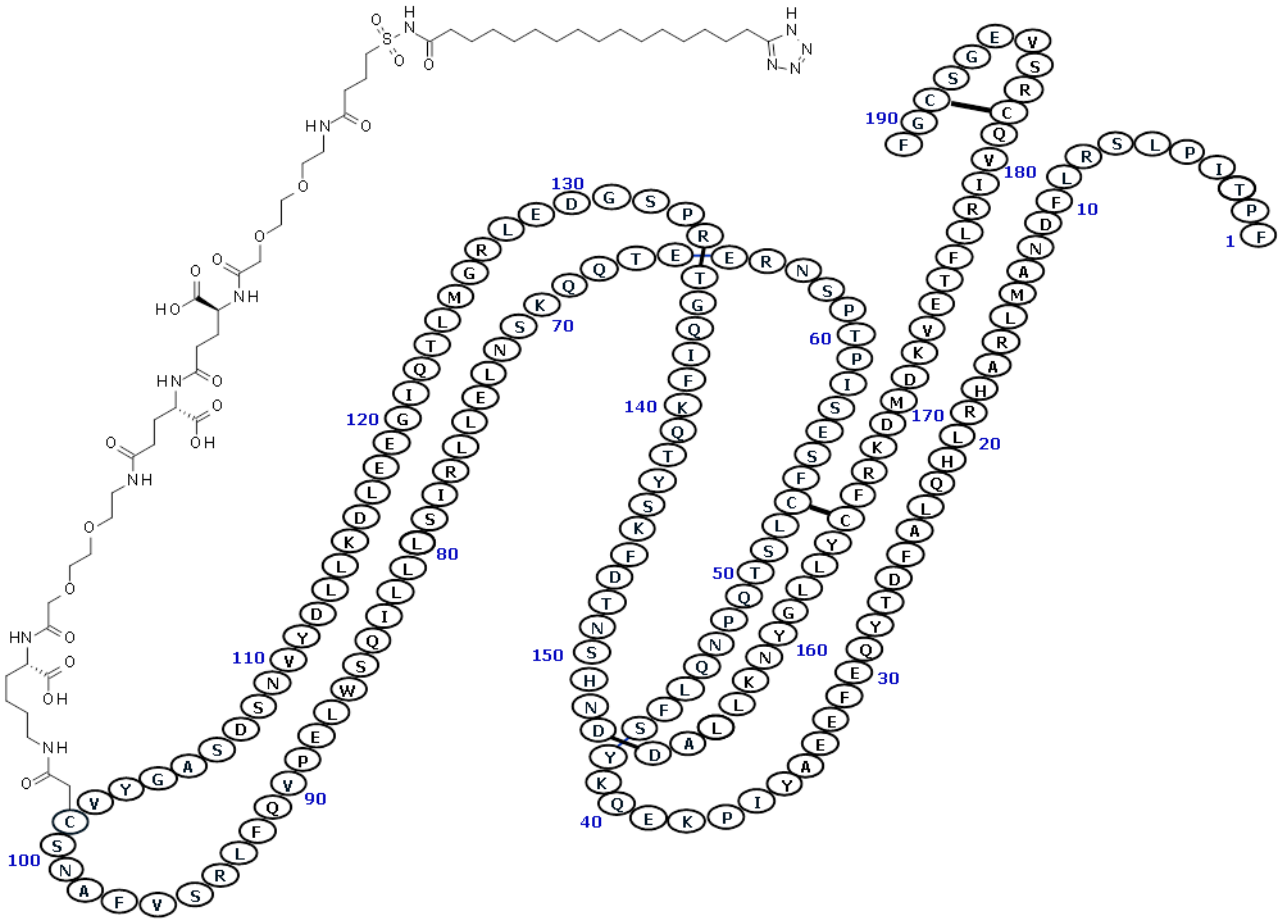


図 2.4-1　　ソマプシタンの一次構造の模式図

2.4.1.2　非臨床試験プログラム

非臨床安全性プログラムは、ICH M3（R2）[1]及び ICH S6（R1）[2]ガイドラインに従って策定した。すべての重要な非臨床安全性試験は医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠し、OECD のデータ相互受入れ制度に参加する加盟国において実施した。各試験の GLP 適合性に関しては、非臨床試験の概要表に示す。

ソマプシタンの *in vivo* 反復投与毒性試験は、薬理反応を示すラット及びカニクイザルの 2 種を用いて実施した。ラット及びカニクイザルは、GH の非臨床安全性評価において一般的に用いられる動物種である。生殖発生毒性試験は、ICH S5（R2）[3]ガイドラインの推奨事項に準拠し、本試験において一般的な動物種であるラット及びウサギを用いて実施した。臨床適用経路が皮下投与であることから、非臨床試験における投与経路を皮下投与とした。ICH M3（R2）[1]に準拠し、反復投与毒性試験にソマプシタン製剤の安全性薬理試験の評価項目及び局所刺激性の評価を組み入れた。また、ソマプシタン製剤の局所刺激性は、ウサギに対する臨床投与経路以外の経路（静脈内、動脈内及び筋肉内）への投与

後に評価した。げっ歯類では、長期投与後に hGH による増殖性変化が誘発される。しかしながら、非ヒト霊長類では受容体の生物学に差異があることが知られており、同様の増殖性変化が生じないことから、げっ歯類のデータをヒトのリスク評価に用いるには関連性が低いと考えられる。したがって、げっ歯類を用いた長期がん原性試験は、ヒトへのリスク評価における意義が低いと考えられたことから実施しなかった。ソマプシタン投与に関連したがん原性リスクの評価は、分子の GH 部分において認められた影響及び分子のアルブミン結合部分の評価を考慮した上で、ソマプシタンに関するデータの総合評価に基づいて実施した。毒性試験の結果から標的組織は特定されず、小児患者に特異的な懸念が確認されなかったこと、ならびに安全性プロファイルが 1 日 1 回投与の GH と同様であったことから、幼若動物を用いた毒性試験は実施しなかった。

開発期間中、米国食品医薬品局（FDA）、欧州医薬品庁（EMA）ヒト用医薬品委員会（CHMP）、独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）及び欧州各国の規制当局との相談を実施し、助言を求めた。当局との交渉の一部において、がん原性試験の省略を含めた非臨床開発プログラムについて相談し、了承された。助言に基づき、開発プログラムを検討した。

開発期間中、原薬の製造工程の変更に伴い、第 3 相試験（4054 試験、4043 試験及び 4244 試験）で用いた製剤が、初期の非臨床試験及び臨床試験で用いた製剤から変更された。非臨床プログラムでは、変更前後の両工程で製造したソマプシタンを評価し、不純物プロファイルの安全性を確認した。

ソマプシタン製剤に用いられる添加物は、現在、市販の長期皮下投与用医薬品で一般的に使用されており、いずれもヒトへの長期皮下投与における安全性が確認されている。非臨床試験で用いた複数の製剤処方は、タンパク質量及び添加物に関してはいずれも市販予定の製剤処方を代表するものであり、フェノール、マンニトールならびにポリオキシエチレン（160）ポリオキシプロピレン（30）グリコールの含量及び pH がわずかに異なっているのみである。製剤開発中、添加物含量の差異によるソマプシタンの安定性に及ぼす明らかな影響は認められなかった。

2.4.2　薬理試験

ソマプシタンの作用は、複数の *in vitro* 及び *in vivo* 薬理試験において評価した。安全性薬理試験は、*in vitro* 試験に加え、サルを用いた反復投与毒性試験の一部として実施した。試験一覧を表 2.4-1 に示す。

表 2.4-1　　効力を裏付ける試験及び安全性薬理試験の概要

Study type	Administration	Test system/species
Efficacy pharmacology		
GHR and PRLR activation	*In vitro*	Ba/F3 cells with human GHR and PRLR
GHR signalling	*In vitro*	Hepatocytes/rat, human HuH-7 cells
Characterisation of albumin binding	*In vitro*	Protein crystallography, isothermal titration calorimetry
PK/PD	s.c.	Rat, cynomolgus monkey, pig
Disease model	s.c.	Hypophysectomised rat
Secondary pharmacodynamics		
Receptor specificity	*In vitro*	Broad panel (68 receptors)
Safety pharmacology		
Cardiac action potential	*In vitro*	hERG (HEK293 cells), rabbit Purkinje fibres
Effect on cardiovascular system, CNS and respiration	s.c.	Cynomolgus monkey

Abbreviations: CNS = central nervous system; GHR = growth hormone receptor; HEK = human embryonic kidney; PK/PD = pharmacokinetic(-s)/pharmacodynamic(-s); PRLR = prolactin receptor; s.c. = subcutaneous(-ly).

hGH は下垂体から分泌され、そのアミノ酸鎖は 191 残基からなる 4 ヘリックスバンドルを有する。hGH と同様に、ソマプシタンは GHR との結合・活性化を介して生物学的作用を発揮する。GHR は単量体として発現し、1 個の hGH 分子及び 2 個の GHR 分子からなるリガンドー受容体複合体を形成する。それにより細胞膜において受容体の二量体化及び構造変化が生じ、JAK/STAT 系の活性化によるシグナル伝達が発生する。その後、主として肝臓におけるインスリン様成長因子-I（IGF-I）生成量の増加、又は MAPK/ERK 系の活性化による軟骨細胞の分裂促進及び増殖が惹起される。101 位は、hGH の受容体結合領域に含まれないことから、誘導体化における標的とした。

IGF-I は、骨組織を含む多くの組織に対する成長促進作用を有しており、小児期及び青年期における身長増加は hGH の作用としてもっとも広く知られている。hGH は小児の身長増加をはじめ、AGHD 患者の内臓脂肪組織及び体組成において概して好影響となる多くの身体作用（脂肪分解、タンパク質合成及び筋肉量の増加）を有している。また、hGH は肝臓における糖代謝を増加させ、糖の取込みを減少させる。

2.4.2.1　効力を裏付ける試験

2.4.2.1.1　*In vitro* 薬理試験

ヒト GHR 及びプロラクチン受容体（PRLR）でトランスフェクトされた Ba/F3 細胞の増殖を促進するソマプシタンの効力を、hGH 及びヒトプロラクチン（hPRL）と比較した。ヒト GHR との結合及び活性化において、ソマプシタンの効力は hGH の約 1/3～1/4 倍であった。hPRL との結合及び活性化においては、ソマプシタンの効力は野生型 hGH 及び野生型 hPRL と比較して、それぞれ 1/8 及び 1/25 倍であった。

ラット初代肝細胞及びヒト肝がん細胞 HuH-7 で認められた用量依存的、時間依存的な受容体活性化〔リン酸化シグナル伝達兼転写活性化因子 5（P-STAT5）の活性化として測定〕及び脱感作反応は、ソマプシタン及び GH で同様であった。hGH のシグナル伝達速度はソマプシタンと比較して高速かつ高強度であったが、これは hGH の GHR 受容体への親和性がより高いことに起因すると考えられる。

ヒト血清アルブミン（HSA）のドメイン III の脂肪酸結合部位 5（FA5）において、37°C で 1 箇所の結合部位が確認された。そこで得られた結合パラメータから、ソマプシタンと FA5 との結合は高親和性（K_D：約 100～1000 nmol/L）であることが示された。

2.4.2.1.2　*In vivo* 薬理試験

ソマプシタンの薬力学的（PD）作用は、下垂体摘出ラットを用いて、単回投与及び反復投与後の体重、鼻部～尾部の長さ及び IGF-I の循環血漿中濃度の変化を測定し、評価した。また、循環血中 IGF-I 濃度は、単回投与後の Göttingen ミニブタ及びカニクイザルを用いて測定した。

ラットを用いた用量反応試験において、1～150 nmol/kg の用量で単回投与したところ、用量依存的な体重増加が認められた。IGF-I 濃度は急速に上昇し、投与後 1～3 日に約 800～1000 ng/mL に到達した。その後、4～7 日で血漿中 IGF-I 濃度は用量比例的に低下し、低下速度は最低用量で最も速く最高用量で最も遅かった。

下垂体摘出雄性ラットに対し週 1 回 28 日間投与し、ソマプシタンの反復投与による作用を検討した。ソマプシタンの週 1 回投与により、投与間隔ごとの IGF-I 濃度の変動と段階的な体重増加が誘発された。一方、hGH の 1 日 1 回投与では、投与初期に安定した IGF-I 濃度の上昇がみられ、試験期間中は一定の濃度が維持された。このように、双方の IGF-I プロファイルは異なっているが、28 日間投与後の体重の変化及び除脂肪体重の増加、体脂肪量の減少ならびに骨成長の増加（骨塩量として測定）といった体組成の変化は同様であった。

ミニブタ及びカニクイザルを用いた測定結果から、ソマプシタンの単回皮下投与によって IGF-I 濃度が上昇し、4〜10 日間持続することが示された。

2.4.2.2 副次的薬理試験

ソマプシタンは、68 種の受容体結合試験のいずれにおいても、有意（>50%）な阻害を生じなかった。その濃度は 3 µmol/L（70 µg/mL）であり、最大臨床推奨用量（MRHD）である 8 mg/週での曝露量の約 1000 倍に相当する。このことから、ソマプシタンにより非特異的な作用が発現する可能性は低いと考えられる。

2.4.2.3 安全性薬理試験

ソマプシタンの安全性薬理試験において、3 µmol/L まで検討した *in vitro* 試験で心臓活動電位（プルキンエ線維）及び心臓カリウムチャネル（hERG）に及ぼす影響は認められなかった。また、カニクイザルを用いて、9 mg/kg（週 2 回）までの皮下投与試験を実施し、MRHD の 1000 倍を超える曝露が認められたが、中枢神経機能、呼吸及び心血管系に対し、投与に関連した影響は認められなかった。

2.4.3 薬物動態試験

ソマプシタンの薬物動態（PK）は、非臨床安全性プログラムで使用した動物種（Wistar Hannover 系ラット、ニュージーランドホワイト種ウサギ及びカニクイザル）を用いて評価した。PK の評価にはマウス及びミニブタも用いた。また、分布、代謝及び排泄は、非臨床試験で用いた動物種、及び健康被験者において、放射能標識ソマプシタンを使用して評価した。

表 2.4-2 薬物動態試験の概要

Study type	**Administration**	**Species**
Pharmacokinetics/toxicokinetics	.	
Single dose	s.c., i.v.[a]	Mouse, rat, rabbit, minipig, cynomolgus monkey
Repeat dose up to 26 weeks	s.c.	Rat, cynomolgus monkey
Fertility, embryo-foetal development, pre- and postnatal development		Rat, rabbit[c]
Distribution		
Plasma protein binding	*In vitro*	Mouse, rat, rabbit, cynomolgus monkey, human
QWBA	s.c.	Rat
Placental transfer	s.c.	Rat
Milk secretion	s.c.	Rat

Study type	Administration	Species
Metabolism		
Hepatocytes	*In vitro*	Mouse, rat, cynomolgus monkey, human
Plasma, urine, faeces	s.c.	Rat, cynomolgus monkey, human
Metabolite identification	s.c.	Rat, human
Pharmacokinetic drug interaction		
CYP activity in liver homogenate (from 13- and 26[b]-week toxicity studies)	s.c.	Rat, cynomolgus monkey

[a]Only rat, minipig and monkey. [b]Rat only. [c]Embryo-foetal development studies only.
Abbreviations: i.v. = intravenous(-ly); QWBA = quantitative whole body autoradiography; s.c. = subcutaneous(-ly).

2.4.3.1　分析法

非臨床試験では、蛍光酸素チャネリング免疫測定法〔LOCI（AlphaLISA）〕を用いてソマプシタンの血漿中濃度を測定した。開発初期の用量設定試験において、本測定法は定量下限値（LLOQ）が 9.3 ng/mL（0.4 nmol/L）の条件下で使用可能であることが確認された。また、申請に必要な非臨床安全性試験において、本測定法は規制ガイドライン及び推奨事項[4,5,6]に準拠してバリデートされた。ラット及びサルを用いた重要な毒性試験においても、バリデートされた測定法により IGF-I 濃度を測定した。

バリデートしたブリッジング酵素免疫吸着測定（ELISA）法を用いて、ラット及びカニクイザルの血清中のソマプシタンに対する抗薬物抗体（ADA）を検出した。

2.4.3.2　吸収

臨床適用経路が皮下投与であることから、非臨床試験の大多数において、ソマプシタンを皮下投与した。また、ラット、ミニブタ及びカニクイザルにソマプシタンを静脈内投与し、PK 特性を詳細に解析し、皮下投与時のバイオアベイラビリティを評価した。皮下投与時の最高血中濃度到達時間（t_{max}）は 4～24 時間であり、マウス及びラットが最短であった。絶対的バイオアベイラビリティは 40～70%であり、カニクイザルが最も高く、ラット及びミニブタが最も低かった。これらの動物種における単回皮下投与及び単回静脈内投与後の $t_{1/2}$ が同様であったことから、ソマプシタンは皮下投与部位からの吸収が速く、消失速度に影響を及ぼさないことが示唆された。

動物種に共通する特徴として、ソマプシタンの PK は非線形であり、飽和、濃度依存的なクリアランス又は複数の消失機構の関与が示唆されている。非線形性は、ラット、ウサギ及びカニクイザルを用いた反復投与試験により確認された。反復投与試験では、用量比例性を上回る曝露量の増大が認められたが、これは低用量群において最も顕著であった。臨床試験での単回及び反復皮下投与からも、ヒトにおけるソマプシタンの PK は非線形性であることが示された（2.5 臨床に関する概括評価、3.2 項）。

このような PK 特性は、不飽和性経路である腎臓及び飽和性経路である肝臓を介して消失するという、良く知られた hGH による非線形の PK 特性と一致する。

ラット及びカニクイザルへの反復皮下投与後におけるソマプシタンのトキシコキネティクスパラメータの概要を表 2.4-3 に示す。PK に関して、雌雄差はみられなかった。

表 2.4-3　ラット及びサルを用いた長期毒性試験の第 26 週における、定常状態でのトキシコキネティクスパラメータの種間比較ならびに最大臨床推奨用量投与時のヒトにおける推定曝露量（8 mg／週）

Species	Dose (mg/kg)	C_{max} (ng/mL)	AUC[a] (h×ng/mL)	C_{max}/Dose[b]	AUC/Dose[b]	Rac
Rat	1	257	4,560	257	4,560	0.11
	2	819	14,600	410	7,280	0.24
	4[c]	2,880	38,300	720	9,580	0.29
Monkey	0.4	3,600	222,000	9,000	555,000	1.0
	2	28,000	1,810,000	14,000	905,000	1.4
	9[c]	159,000	9,330,000	17,700	1,040,000	1.5
Human	8[d]	62.7	2,680	-	-	-

Note: All values are the mean of male and female animals.

[a]Rat: $AUC_{0\text{-}24h}$, Monkey: $AUC_{0\text{-}72h}$, Human: $AUC_{0\text{-}168h}$. [b]Normalised to 1 mg/kg, not calculated for humans. [c]NOAEL dose. [d]Total dose 8 mg. [e]Human PK model [7].

Abbreviations: AUC = area under the curve; C_{max} = maximum concentration; Rac = ratio of accumulation.

ラットにおけるソマプシタンの曝露量は、単回投与後と比較して反復投与後に低下しており、反復投与後にクリアランスが増大したことが示唆された。このことは、すべての反復投与試験における累積率の値（Rac）が 1 より小さかったことに反映されていた。サルではソマプシタンのわずかな累積が認められた。ラット及びサルに PK の雌雄差の兆候はみられなかった。ラットの曝露量が経時的に減少したことは、循環血中 GH が低レベルに維持されるというげっ歯類に特異的な内因性の作用機序[8]に起因すると考えられる。反復投与後、ラットの 33～46%にソマプシタンに対する ADA が認められた。一部の動物で ADA に起因すると考えられる曝露量の減少がみられたが、他の動物では概して、同様の ADA 反応による曝露量への影響は認められなかった。ADA 陽性及び陰性の双方の動物でソマプシタン濃度の低下が認められたことから、経時的な曝露量の減少は ADA 反応に起因するものではないと考えられた。また、IGF-I 濃度に関しても、ADA 陽性及び陰性の動物で同様と考えられた。

2.4.3.3　分布

放射能標識ソマプシタンをラットに投与した分布試験から、ソマプシタン関連物質は測定した全組織中に分布することが示され、最高濃度は腎皮質で認められた。腎皮質の曝露量は血中曝露量の 6～8 倍高く、ソマプシタン代謝物の消失及び排泄において腎臓が重要な器官であることが考えられた。一

方、他の組織の曝露量は血中曝露量より低かった。ソマプシタンの血漿タンパク質結合能はすべての動物種において高く（99%超）、アルブミンに対する結合親和性が最も高かった。

妊娠ラットにおける反復投与後のソマプシタンの曝露量は、非妊娠動物と同様であった。放射能標識ソマプシタンを投与した妊娠ラットにおいて、ソマプシタン関連物質は胎盤通過が認められ、胎児組織中に一定量分布していた。最高濃度は胎児の腎臓で認められた（胎児の腎臓／母動物の血中濃度比は最大 0.5）。また、放射能標識ソマプシタンを投与した授乳期ラットにおいて、一定量のソマプシタン関連物質の乳汁中分泌がみられた（乳汁／血漿中濃度比は最大 0.5）。

2.4.3.4　代謝

放射能標識ソマプシタンをラット、サル及びヒトに投与後、ソマプシタンは血漿中の主たる成分として認められ、血漿中成分（ソマプシタン及び代謝物）の総曝露量の 59～70%に相当した。種を通して 5～8 種類の代謝物が確認され、ヒトで最も多く認められた血漿中代謝物は、非臨床安全性試験に用いた動物種（ラット及びサル）の血漿中代謝物プロファイルからも認められた。

ヒトで最も多く認められた 3 種類の血漿中代謝物の曝露量 AUC は、全血漿中成分の総曝露量 AUC の 21%（P1）及び 12%（M1 及び M1B の合計）であった。その他の代謝物は総曝露量 AUC の 10%未満であった。3 種類の代謝物の血漿中曝露量は、ラット（NOAEL）及びヒト（推奨用量）におけるソマプシタンの反復投与後に推定した。その結果、代謝物の曝露量はヒトと比較してラットにおいて大きい（5～>70 倍）ことが確認された。以上のことから、ヒトのソマプシタン代謝物は非臨床安全性試験において適切に検討されたと考える。

ヒトの 2 種類の血漿中代謝物（M1 及び M1B）、ラットの 4 種類の血漿中代謝物（M1、M1B、M2 及び M3）及びヒトの 2 種類の尿中代謝物（M4 及び M5）の構造をそれぞれ確認した。ラット及びヒトの血漿中代謝物は、ソマプシタンのペプチド骨格がタンパク質分解による開裂を繰り返した結果、生成された。ヒトの尿中代謝物は、多数のアミド結合を有する配列で予測されたとおり、タンパク質分解によるペプチド骨格の完全な開裂と Cys101 側鎖（構造を図 2.4-1 に示す）のリンカー配列の広範にわたる加水分解による分解生成物であった。また、アルブミン結合部位（テトラゾリルヘキサデカン酸）はβ酸化によって分解されると考えられる。

2.4.3.5　排泄

ソマプシタン関連物質の主たる排泄経路は尿であり、ラット、サル及びヒトとも概して同様の排泄パターンであった。尿及び糞試料中には代謝物のみが認められ、ソマプシタンはみられなかった。

2.4.3.6　薬物相互作用

ラットでは 5 種のシトクロム P450（CYP1A、CYP2B、CYP2C、CYP3A 及び CYP2E1）活性が減少したが、雄性サルにおいてのみ CYP1A 活性がわずかに上昇した。CYP450 アイソフォームの組成及び発現は動物種間で保存されておらず[9]、動物からヒトへの外挿は困難であることから、本所見の臨床上の意義は不明である。hGH がヒト CYP450 活性の変化を誘導する可能性が報告されており、市販の GH 製剤のラベルには CYP450 の基質との併用療法について注意喚起がなされている[10]。

ヒト血清中のアルブミンのモル濃度は、定常状態におけるソマプシタンの濃度の 100000 倍を超える。ソマプシタンに対してアルブミンの量が圧倒的に多いため、アルブミンとの結合が置換されることによる薬物相互作用の可能性は非常に低いと考えられる。

2.4.4　毒性試験

2.4.4.1　動物種の選択

一般毒性試験に最適な動物種として、Wistar Hannover 系ラット及びカニクイザルを選択した。ラットは他の GH 製剤の毒性試験に使用されており、hGH に対して薬理作用を有する動物種（げっ歯類）であることから選択した（詳細は「2.6.2 薬理試験の概要文」を参照）。げっ歯類と霊長類の GHR の生理活性は本質的に異なっている。ヒトでは、内因性 GH は GHR 及び PRLR のいずれに対して高い結合親和性を有しており、ヒト GH はげっ歯類にも同様に、げっ歯類の内因性 GHR 及び PRLR の双方に対して高い結合親和性を有している。しかしながら、げっ歯類の GH はげっ歯類の GHR にしか結合しない。すなわち、げっ歯類に対して hGH 及びソマプシタンを投与すると、GHR 及び PRLR が非生理的に活性化する[11,12,13,14]。また、ラットではソマプシタンへの曝露量が反復投与後に低下したことから、クリアランスの増大が示唆され、このことは循環血中の GH が低レベルに維持されるという、げっ歯類に特異的な内因性の作用機序[8]に起因すると考えられる。一方、サルでは、反復投与後のソマプシタン累積はわずかであった。

カニクイザルは、GH のアミノ酸配列に関してヒトとの相同性が 99%であり、hGH に対し薬理反応を示すことから、非げっ歯類動物種として選択した。GHR 及び PRLR に対するカニクイザルでの hGH 及びソマプシタンの結合パターンは、ヒトにおける hGH の結合パターンと同様である。

ICH S5（R2）[3]ガイドラインの推奨事項に準拠し、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験を実施した。

2.4.4.2 毒性試験の概要

ソマプシタンの非臨床安全性評価は、ICH M3（R2）[1]及び ICH S6（R1）[2]ガイドラインに準拠して実施した。毒性試験の概要を表 2.4-4 に示す。

表 2.4-4 毒性試験の概要

Study type	Administration	Species
Repeat-dose toxicity		
DRF/MTD, 2-, 4-[a], 6-[b], 13- and 26-week	s.c.	Rat, cynomolgus monkey
Genotoxicity		
Ames test, chromosome aberration	*In vitro*	-
Micronucleus induction	s.c.	Rat
Reproductive and developmental toxicity		
Fertility	s.c.	Rat
Embryo-foetal development	s.c.	Rat, rabbit
Pre- and postnatal development	s.c.	Rat
Local tolerance		
Subcutaneous injection	s.c.	Rat, cynomolgus monkey
Unintended injection routes	i.a., i.m., i.v.	Rabbit
Other toxicity studies		
Quantification of Ki67 positive cells in liver from repeat-dose toxicity studies	s.c.	Cynomolgus monkey
Impurities		
4-week bridging	s.c.	Rat

[a]Rat only. [b]Cynomolgus monkey only.
Abbreviations: DRF = dose range finding; i.a. = intraarterial(-ly); i.m. = intramuscular(-ly); i.v. = intravenous(-ly); MTD = maximum tolerated dose;); s.c. = subcutaneous(-ly).

2.4.4.3 一般毒性

ソマプシタンの毒性プロファイルは、Wistar Hannover 系（RccHan™：WIST）ラット及びカニクイザルにおける反復皮下投与後に評価した。ラット及びカニクイザルにおける毒性試験プログラム実施期間を通して、ソマプシタンの忍容性は概して良好であった。本プログラムで認められた所見は GH の既知の薬理作用に関連するものであった。

2.4.4.3.1　ラットを用いた反復投与毒性試験

2 週間及び 13 週間毒性試験において、Wistar Hannover 系ラットに対しソマプシタン 0.4、2、9 mg/kg/日を投与した。本試験でみられた所見は GH の薬理作用に起因するものであり、その多くは過去の hGH の試験で報告されているか、又は論文で発表されているものであった[15,16,17]。

ラットを用いた 2 週間毒性試験における無毒性量（NOAEL）は 9 mg/kg/日と考えられ、これは本試験に用いた最高用量であった。13 週間毒性試験において、ソマプシタンは第 9～10 週まで良好な忍容性を示したが、9 mg/kg/日投与群の雄性動物に糖尿病の兆候（摂水量の増加、尿産生量の増加及び体重の増加抑制）がみられた。認められた糖尿病の症状は、血糖値及び尿糖値の著しい上昇であった。糖尿病に関連した病理組織学的変化は、膵臓、眼及び生殖器官で認められた。高レベルの GH 曝露後に糖尿病を発症することは、末端肥大症患者ではよく知られている[17,18]。

GH を投与したラットで同様の影響が認められている[15,19]ことから、血液学的及び血液生化学的評価項目の軽微な変化はソマプシタンの薬理作用に起因するものと考えられた。

肥大、過形成及びコラーゲン量の増加といった GH の薬理作用である成長促進作用[15,16,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29]に関連し、種々の器官で多くの病理組織学的変化が認められた。9 mg/kg/日投与群の雌雄及び 2 mg/kg/日投与群の雄 2 例の腎臓に慢性進行性腎症（CPN）がみられた。この症状はラットで一般的にみられる自然発生性の所見であるが、高用量の GH により誘発されたタンパク産生の亢進とそれに続発するタンパク血症により、早期に発症したと考えられる。

CPN 及び糖尿病発症に関連する白内障形成の所見がみられたことから、ラットの 13 週間毒性試験における NOAEL は雌で 2 mg/kg/日、雄で 0.4 mg/kg/日であった。

Wistar Hannover 系ラットを用いた 26 週間毒性試験では、ソマプシタン 1、2 及び 4 mg/kg/日を投与した。投与方法を週 2 回投与に変更し、投与頻度の減少による糖尿病の進行の改善、及び反復投与後のラットでみられたソマプシタンのクリアランス誘発の低減の有無について検討した。両試験の同一用量（2 mg/kg）群における C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$ は同様であったが、26 週間毒性試験は週 2 回投与であったため、ソマプシタンに対する総曝露量は 13 週間毒性試験と比較して低かった。

病理組織学的所見の範囲は 13 週間毒性試験と比較して軽微であり、いずれの所見も GH の薬理作用に起因するものであった。週 2 回投与の 26 週間毒性試験で新たに認められた所見として、肝細胞の細胞分裂像の軽微～軽度の増加がみられた。PRL は肝細胞の細胞分裂促進因子であることが知られている[30]ことから、本所見は、想定どおり、げっ歯類における PRLR 刺激に続く細胞増殖活性の増加と一致するものであった。

ラットにおける 26 週間投与（週 2 回投与）では糖尿病誘発作用及び CPN の兆候はみられなかった。毒性学的に意義のある所見がみられなかったことから、NOAEL は 4 mg/kg と考えられた。

2.4.4.3.2　カニクイザルを用いた反復投与毒性試験

ソマプシタンをサルに最大 9 mg/kg の用量で週 2 回、2、13 又は 26 週間皮下投与する 3 試験を実施した。ソマプシタン投与による忍容性は良好であり、雌性動物の乳腺における腫脹、乳汁分泌、腺房ならびに乳管拡張及び腺上皮の乳頭状過形成等、認められた所見は GH の薬理作用に起因するものと考えられた。3 試験から、カニクイザルの NOAEL は 9 mg/kg（週 2 回）と考えられた。

カニクイザルを用いた 13 週間及び 26 週間反復投与毒性試験において、肝細胞増殖に及ぼす影響を検討した。ソマプシタンの投与による肝細胞増殖は誘発されなかった。

2.4.4.4　遺伝毒性

ソマプシタンの遺伝毒性誘発性を、ネズミチフス菌を用いた復帰突然変異試験（Ames 試験）、培養ヒトリンパ球を用いた染色体異常試験及びソマプシタンを投与したラットの骨髄を用いた小核誘発性試験で評価した。*In vitro* 及び *in vivo* 試験から遺伝毒性誘発性は認められず、また、*in silico* による評価でも変異原性は認められなかった。

2.4.4.5　がん原性

ソマプシタン投与に関連したがん原性リスクの評価は、分子の GH 部分に関連した影響及び分子のアルブミン結合部分の評価を考慮し、ソマプシタンに関して得られたデータの総合評価に基づき実施した。

26 週間毒性試験でみられた増殖作用は、生理学的な範囲を超える用量における hGH の既知の増殖作用に関連することから、分子のアルブミン結合部分における潜在的リスクは遺伝毒性に関連するかどうかである。

ソマプシタンの *in silico*、*in vitro* 又は *in vivo* 遺伝毒性評価では、変異原性誘発性は認められなかった。また、カニクイザルを用いた 13 及び 26 週間反復投与毒性試験において、ソマプシタン投与による肝細胞増殖は認められなかった。このことは、Ba/F3 細胞増殖アッセイから得られた *in vitro* 増殖データ（hGHR 及び hPRLR の活性化に関するソマプシタンの効力は、hGH と比較してそれぞれ約 1/3～1/4 倍及び 1/8 倍）によりさらに裏付けられた。以上のデータから、hGHR 及び hPRLR との結合に関するソマプシタンの細胞分裂促進作用リスクは、hGH と比較して高くないことが支持される。

Wistar Hannover 系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いて、26 週間までソマプシタンを投与したところ、生理学的範囲を超える用量での hGH による既知の細胞増殖促進作用が確認された。投与後、ソマプシタンの GH 部分による過剰な薬理作用に関連した細胞増殖の所見（体重及び器官重量の増加、骨ならびに乳腺の過形成及び多数の臓器の肥大）が認められた。サルでは乳腺の細胞増殖促進作用のみが認められたことから、ラットではサルより hGH の影響に対する感受性が高かった。ラット及びサルの hGH に対する感受性の差異は、げっ歯類及び霊長類の受容体活性化における既知の差異、すなわち、げっ歯類では hGH 又はソマプシタンの曝露によって、PRLR が非生理的に活性化することによるものと考えられる[31,32]。

遺伝子組換えラット GH 及び遺伝子組換えマウス GH をそれぞれ投与したラット及びマウスを用いたがん原性試験（PRLR 刺激による誘発はない）の結果、GH のがん原性は認められなかった[33]。一方、hGH 遺伝子導入マウスでは乳腺癌が認められたが、本所見は非生理的な PRLR 刺激により誘発されたものと考えられる [32]。このことは、GHR 及び PRLR 刺激を受けた遺伝子導入マウスにおいてさらに裏付けられた。PRLR 刺激を受けた遺伝子導入マウスにおいて、GHR を活性化させず IGF-I が通常の濃度である場合に、乳腺腫瘍の形成がみられた。一方、GHR の特異的刺激を受けたマウスでは、マウスで通常みられるピーク GH レベルの約 20 倍まで GH レベルが上昇し、IGF-I 濃度も上昇した場合には、乳腺腫瘍は誘発されなかった [31]。

結論として、げっ歯類とヒトにおける hGH の受容体活性化パターンの差異を考慮すると、ソマプシタンのがん原性に関連するヒトへのリスク評価用モデルとして、げっ歯類は適切ではないと考えられる。したがって、げっ歯類を用いた 2 年間のがん原性試験に関しては、ヒトへのリスク評価においてさらに意義のあるデータが得られないことから、実施しなかった。

ラットを用いた 3 試験において、3 例の単発性の腫瘍がみられた。腫瘍の種類、ソマプシタンの投与量及び投与後の発現時期が異なることから、これらは偶発的でありソマプシタンの投与により誘発されたものではないと考えられる。2 週間毒性試験では高用量群で乳腺癌が認められ、13 週間毒性試験では中間用量群で皮脂腺の腺腫が認められた。その後実施した 26 週間毒性試験では、これらの腫瘍はみられなかった。26 週間毒性試験では低用量群で下垂体前葉腺腫が認められたが、この週齢のラットでは一般的にみられる腫瘍であり[34,35]、低用量群の 1 例でしか認められなかったことから、偶発的であると考えられた。

ヒトにおいて、GH 補充療法と長期投与による悪性腫瘍の発現リスク増加との潜在的関連性は、多くの報告書及び調査の対象となっている[36,37,38,39]。追跡調査の結果、GH 治療とデノボ癌[40,41,42,43]又は頭蓋内腫瘍の治療歴のある患者における腫瘍の再発との関連性は示されなかった[44,45]。1 つの対象集団では、小児がん生存者における原発がんとは異なる二次がんのリスクがわずかに増加したことが認められた。

しかしながら、このリスクは GH 治療開始後、経時的に低下した。GH Research Society Consensus Guideline は、小児への適応が認められた GH の使用を制限するには二次がんのリスクと GH 治療との関連性は不十分であると結論した[43]。また、現時点の知見が不確実であるため慎重な観察が必要ではあるものの、小児がん生存者における系統的メタアナリシスから、GH 治療による二次がんのリスクの上昇の可能性は低いと判断された[45]。しかしながら、GH の既知の成長促進作用によって、活動性悪性腫瘍の存在下における GH 治療は禁忌とされ、既往の悪性腫瘍は症状がみられない状態である必要がある。なお、米国及び欧州の市販の GH 製剤のラベルには、悪性腫瘍の治療は GH 治療の開始前に終了させる必要があることが記載されている[46,47]。

ソマプシタンによる治療は補充療法であり、その目的は基準範囲内の IGF-I 値を達成することである。非臨床及び臨床試験において、ソマプシタンの週 1 回投与時の、それぞれの投与間隔内（1 週間）での IGF-I 濃度の変動は、GH の 1 日 1 回投与時と比較して大きいことが示された。循環血中及び局所組織において、遊離型 IGF-I は 1 個の IGF 結合蛋白（IGFBP）と結合することにより、遊離型 IGF-I 濃度は一定に制御されている[48,49,50]。このことに一致して、カニクイザル及びヒトでは、ソマプシタン投与後にインスリン様成長因子結合蛋白 3（IGFBP-3）の値が上昇した（Module 2.6.6.3.2 及び Module 2.5.4.5）。ソマプシタン投与後の総 IGF-I の変動が遊離型 IGF-I の変動と同様である可能性は低いことから、両者の成長促進作用は異なると考えられる。したがって、これまでに得られたソマプシタンのデータ、IGF-I 値を基準範囲内で維持することを目的とした AGHD の実臨床、IGFBP による遊離型 IGF-I の制御、ならびに GH を過剰発現する末端肥大症患者及び動物に関する文献を考慮すると、ソマプシタンの週 1 回投与時の GH 部分及び総 IGF-I における動態プロファイルは、GH の 1 日 1 回投与時と比較して差異が認められるものの、腫瘍の発現リスクは上昇させないものと考えられる。

2.4.4.6　生殖発生毒性

Wistar Hannover 系ラットを用いた受胎能に関する試験において、雌雄の受胎能及び雌における初期胚の発生へのソマプシタンによる影響は認められず、NOAEL は 4 mg/kg であった。ラットの胚・胎児の発生（EFD）に関する試験において、器官形成期に投与時の母動物の毒性に対する NOAEL は 18 mg/kg/日であったが、EFD に対する NOAEL は 6 mg/kg/日であった。

妊娠 10～13 日における 18 mg/kg/日の投与に関連した所見は、長骨の短小／彎曲／肥厚及び肋骨の曲尾であった。これらの所見は、Wistar Hannover 系ラットの胎児でみられる軟骨形成異常症候群と一致する所見であるが、ソマプシタンの投与で増悪した可能性が考えられる。軟骨形成異常症に関連する所見は出生後に消失することが示されており、不可逆的な異常ではなく、軽微な奇形と考えられる[51,52,53]。

ウサギを用いた EFD 試験において、母動物の毒性ならびに胚・胎児の生存及び発生に対する NOAEL は 9 mg/kg（2 日に 1 回投与）であった。器官形成期に投与した結果、3 及び 9 mg/kg（2 日に 1 回投与）では胎児重量の減少がみられたことから、胎児の成長に対する NOAEL は 1 mg/kg（2 日に 1 回投与）であった。

ラットにおける出生前及び出生後の発生（PPND）試験では、最大 18 mg/kg を週 2 回投与したが、妊娠雌及び授乳雌に対する忍容性は良好であり、母動物全群の体重ならびに摂餌量の増加及び出生児の体重増加等の想定された薬理作用が確認された。PPND に対する有害作用は認められず、NOAEL は 18 mg/kg（週 2 回投与）と考えられた。

2.4.4.7　局所刺激性

ラット、カニクイザル及びウサギの投与部位におけるソマプシタンの忍容性は良好であった。

2.4.4.8　免疫原性

免疫原性の評価を毒性試験に組み入れた。免疫原性は、サルでは低頻度で、ラットでは中～高頻度で認められたが、十分な曝露及び薬力学的作用が確認されていることから、試験の妥当性は損なわれない。

2.4.4.9　添加物及び不純物

ソマプシタン製剤の有効期間内規格は、ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験のうち最長 26 週間投与による非臨床試験において十分に検討されたと考えられる。製剤中の添加物はいずれも日本薬局方に収載されており、皮下投与製剤における各含有量は日本における既承認製剤の最大使用量の範囲内である。

2.4.4.10　ヒトとの曝露量比較

NOAEL での動物の曝露量及び MRHD（8 mg/週）でのヒトの曝露量に関する動物－ヒト曝露量比を表 2.4-5 に示す。

表 2.4-5　　動物の NOAEL 及びヒトの MRHD（8 mg/週）における動物ーヒト AUC 曝露量比

Species	Study	Type	Dose frequency	Dose (mg/kg)	AUC[1] (h*ng/mL)	Safety Margin[2]
Rat	212304	26-week chronic toxicity	Twice weekly	4	76,600	29
	212376	Male fertility	Twice weekly	4	34,600	26
	212412	Female fertility	Twice weekly	4	42,000	31
	212178	EFD	Daily	6	83,300	31
				18	702,000	260
	214469	PPND	Twice weekly	18	846,000[3]	630
Rabbit	212177	EFD	Every 2nd day	1	14,000	18
				3	8,130[4]	130
Monkey	212203	26-week chronic toxicity	Twice weekly	9	18,700,000	>1000

[1] $AUC_{0\text{-}24h}$ for rats. In studies 212376 and 212412, as no measurement of exposure was performed, the exposure is the steady state exposure from the 26-week study in rats (study 212304) where identical dose levels and dosing frequency were used (see Table 2.6.4-7 in PK Written Summary for details of calculation of safety margins). For study 212178, the AUC is the average $AUC_{0\text{-}24h}$ on the last dosing day in each cohort. In study 212177, only C_{12h} was determined and the estimate of AUC for dose level 1 mg/kg was based on extrapolation of the $AUC_{0\text{-}12h}$ or $AUC_{0\text{-}24h}$ (GD6, GD12 and GD18) reported in study 211296 and for 3 mg/kg based on C_{12h}.

[2] The margin was determined by calculating $AUC_{0\text{-}168h}$ for each dose level. This was done by multiplying the AUC with the number of doses administered during one week. The $AUC_{0\text{-}168h}$ was compared with the clinical $AUC_{0\text{-}168h}$ (except for study 212178, where the $AUC_{0\text{-}24h}$ was used alone as each cohort was dosed for a short time only (four days), see text above for details). For study 212177 (3 mg/kg), the margin is based on the C_{12h} and the clinical C_{max}. The margins have been rounded to the nearest two significant figures.

[3] $AUC_{0\text{-}48h}$; [4] C_{12h}

Clinical exposure at 8 mg/week to a person weighing 85 kg:

C_{max}: 62.7 ng/mL

$AUC_{0\text{-}168h}$: 2,678 h*ng/mL

Abbreviations: EFD = embryo-foetal development; PPND = prenatal/postnatal development

2.4.5　総合的考察及び結論

2.4.5.1　概要

ソマプシタンは長時間作用型 GH 誘導体である。GH と同一の作用機序を有し、GHR と結合し活性化させる。ソマプシタンは作用の持続化により、患者への週 1 回投与に適したものとなっている。ペプチド骨格に結合した脂肪酸長鎖を介して内因性アルブミンと非共有結合することで、半減期が延長される。他の GH 製剤と同様、ソマプシタンは小児患者の長軸成長を促すことが期待され、AGHD 患者の体組成及び代謝不均衡を改善する。

GHR 及び hPRLR を活性化するソマプシタンの効力は、内因性 hGH 及び hPRL と比較して低かったが、ソマプシタン及び hGH に関して、ラット及びヒトの細胞系で同様の GH 受容体活性化及び脱感作反応が認められた。*In vivo* 薬理試験で示された作用持続時間の延長は、ヒトでの週 1 回投与の結果と一致していた。脳下垂体摘出ラットにソマプシタンを投与した結果、IGF-I 値の上昇及び体重増加、ならびに除脂肪体重の増加、体脂肪の減少、骨及び筋肉の成長等の体組成に有意な変化が認められた。総括として、薬理試験から、ソマプシタンの週 1 回投与による投与間隔ごとの IGF-I 濃度の変動は GH の 1 日 1 回投与時と比較して大きかったものの、両者の薬理学的プロファイルは同様であることが確認された。AGHD 患者を対象とした第 3 相試験（4054 試験、4043 試験及び 4244 試験）の結果、IGF-I 標準偏差（SD）スコア及び IGFBP-3 SD スコアにおいてソマプシタンとノルディトロピンとの間のベースラインから投与終了時までの変化量に統計的な有意差は認められなかった（Module 2.5.4.5）。IGF-I SD スコアに対して個別の用量漸増法を用いて、現在の AGHD の実臨床の目的である基準範囲内の IGF-I 値は確実に維持された。

ラット、ウサギ、ブタ及びカニクイザルを含む複数の非臨床動物種において、PK 特性解析を実施した。ソマプシタンの PK 特性は hGH と一致しており、腎臓での非飽和性の排泄及び肝臓での飽和性の排泄、ならびに用量比例的な増加を上回る曝露量を伴った非線形性の PK がみられた。皮下投与後のバイオアベイラビリティは、ラット及びミニブタで約 40%、サルで 70%であり、許容範囲内のレベルであった。内因性アルブミンとの非共有結合により作用が持続化するという原理に一致し、ソマプシタンはヒト及び動物共に高いタンパク質結合性（>99%）を有し、アルブミンが主たる結合成分であった。

ラットにおいて反復投与後に認められたソマプシタンのレベルは単回投与後と比較して低く、ソマプシタンのクリアランスが誘発されたことが示唆された。ADA 陽性及び陰性の双方の動物でソマプシタン濃度の低下が認められたことから、クリアランスの上昇はソマプシタンに対する ADA の形成に起因するものではないと考えられる。一方、曝露量の経時的な減少は、循環中の GH を低レベルに維持するというげっ歯類に特異的な内因性の作用機序に起因するものと考えられる。

ソマプシタンの代謝をラット、カニクイザル及びヒトにおいて評価した。ソマプシタンは血漿中を循環する主たる成分であり、タンパク質分解によるペプチド骨格の完全な開裂と Cys101 側鎖のリンカー配列の広範にわたる加水分解により代謝された。また、アルブミン結合部位はβ酸化により分解されると考えられる。ヒトで最も多く認められた 3 種類の血漿中代謝物の曝露量は、血漿中成分の総曝露量 AUC の 21%（P1）及び 12%（M1 及び M1B の合計）であった。その他の代謝物は 10%未満であった。代謝物の曝露量はヒトと比較してラットにおいて大きかった（5〜>70 倍）。以上のことから、ヒトのソマプシタン代謝物は非臨床安全性試験において適切に検討されたと考える。

ソマプシタンの薬力学的作用が GHR を介した hGH と同様であることから、市販の GH 製剤における既知の薬物相互作用分類に共通する作用は、ソマプシタンにも適用可能と考えられる。したがって、CYP450 基質との併用を含む薬物相互作用に関するラベルの推奨事項についても、ソマプシタンに適用する予定である。他のアルブミン結合製剤は、ソマプシタンと比較してアルブミンが過量であることから、他のアルブミン結合製剤と置換されることによる薬物相互作用の可能性は低いと考えられる。

動物試験におけるソマプシタンの忍容性は良好であった。ラットを用いた 13 週間毒性試験での 1 日 1 回投与後に、広く知られている GH の過剰な薬理作用に関連した有害作用（例：糖尿病の発症）がみられたが、その他の用量制限毒性は認められなかった。これらの所見は、適切な曝露量を維持しながら週 2 回投与を行った 26 週間長期毒性試験ではみられなかった。ソマプシタンの臨床プログラムでは、一部の患者に血糖値の上昇がみられた。大多数の症例は軽度又は中等度の上昇であり、概ね回復した。ソマプシタンを投与されたすべての患者（特に糖尿病又はその発症リスクを有する患者）では、定期的に血糖値を監視する必要がある（Module 2.5.6.3.2）。

一般毒性試験において、GH の既知の作用に関連した過剰な薬理作用がソマプシタンにより惹起された。ラットでは、体重及び器官重量の増加、種々の臓器の過形成及び肥大、ならびに一部の臓器におけるコラーゲンの増加がみられた。サルでは、乳腺の過形成の増加のみが認められた。ラットはサルと比較して、hGH の作用に対する感受性が高かった。このことは、霊長類とげっ歯類間の受容体活性化に関する既知の差異に関連すると考えられる。げっ歯類が hGH 又はソマプシタンに曝露すると、げっ歯類の内因性 GH による受容体の活性化ではなく、PRLR が活性化される。ラット及びサルにおける 26 週間毒性試験の NOAEL での曝露量は、ヒトの MRHD での曝露量を超える（20 倍以上、表 2.4-5）ものであった。

ラット、カニクイザル及びウサギの注射部位におけるソマプシタンの忍容性は良好であった。このことに一致して、AGHD 患者及び小児 GHD 患者を対象として完了した臨床試験においても、局所での忍容性に関する大きな問題は認められなかった（Module 2.5.5.7.2）。

ソマプシタンのがん原性試験は、分子の GH 部分及びアルブミン結合部分に関連するリスクの評価ならびに GH 及び IGF-I のがん原性に関する非臨床及び臨床の文献データに基づき実施した。*In vitro* 及び *in vivo* 毒性試験においてソマプシタンの遺伝毒性誘発性は認められず、また、側鎖の *in silico* 解析において遺伝毒性アラートは認められなかった。さらに、*in vitro* 及び *in vivo* 細胞増殖に関して、本剤の細胞分裂促進作用に関する懸念は特定されなかった。

非臨床安全性試験で認められた作用は、生理学的範囲を超える用量を動物に投与した場合に hGH で生じる既知の作用と一致するものである。ノルディトロピン及び他の GH 含有製剤の長期臨床使用に関する疫学的データからは、デノボ癌の発症との関連性は示されていない[43]。このことと一致して、遺伝子組換えラット GH 及び遺伝子組換えマウス GH を 2 年間投与したがん原性試験の結果、ラット及びマウスの GH にがん原性は認められなかった[33]。AGHD 患者を対象としたソマプシタンの臨床試験において、ソマプシタンの投与による新生物の発現頻度の上昇は認められなかった（Module 2.5.5.7.4）。活動性悪性腫瘍の存在下における GH 治療は禁忌とされており、現在市販されている GH 製剤のラベルにも記載されている。

GH の 1 日 1 回投与と比較して PK／PD プロファイルは異なるものの、非臨床プログラムで認められた所見は GH の既知の作用に関連するものである。さらに、げっ歯類では hGH により PRLR が非生理的に活性化することから、長期がん原性試験を含む追加の動物試験は、ヒトへのリスク評価に寄与しないと考えられる。入手したデータから、ソマプシタンのがん原性は現在市販されている GH 製剤と同様であると想定される。ソマプシタンの長期投与による潜在的な影響については、リスク管理計画のもとで対応する。

生殖発生毒性試験において、最大 4 mg/kg（MRHD でのヒト曝露量の 29 倍以上）を投与した雌雄の受胎能に有害作用は認められなかった。

器官形成期の妊娠ラット及び妊娠ウサギに対し、MRHD（8 mg/週）で推定される曝露量を十分に超える曝露量（MRHD での曝露量の 18 倍以上）となる用量のソマプシタンを皮下投与したが、胎児に及ぼす影響を示唆する兆候は確認されなかった。ラット及びウサギの高用量群〔それぞれ 9 mg/kg/日及び 3 mg/kg（2 日に 1 回投与）〕の曝露量は、MRHD での推定臨床曝露量のそれぞれ 250 倍以上及び 130 倍以上と考えられる。この高用量群のラット及びウサギにおいて、出生後に消失することが知られている軽微な奇形及び胎児の成長抑制がそれぞれ認められた。また、ラットに対し、曝露量が MRHD（8 mg/週）での推定臨床曝露量の 600 倍以上となる用量のソマプシタンを皮下投与したが、PPND に及ぼす有害作用は認められなかった。妊娠中のソマプシタンの投与に関する臨床経験はない。したがって、妊娠中の女性及び適切な避妊法を実施していない妊娠可能な女性には、ソマプシタンの使用は推奨されない。

ソマプシタンは、ラットでの胎盤通過及び授乳ラットの乳汁移行が認められたが、血漿中濃度と比較して低かった。

ソマプシタン製剤の不純物は、非臨床試験において検討され、非臨床安全性評価プログラムでの適格性が確認されたと考えられる。また、ソマプシタン製剤の添加物は、長期皮下投与用医薬品に広く使用されていることから、安全性は確保されていると考えられる。

2.4.5.2　総括

非臨床プログラムから、ソマプシタンの非臨床での有効性及び安全性プロファイルは 1 日 1 回投与の GH 製剤と同様であることが確認された。非臨床安全性試験では、ラット及びサルに対し MRHD での曝露量の 29 倍以上となるソマプシタンを 26 週間まで投与した。その結果認められたものは、GHR の活性化及びその二次作用に関連した GH の既知の薬理作用のみであった。ソマプシタンは GH と同様の非臨床安全性プロファイルであることから、がん原性に関しても、ソマプシタンと現在市販されている GH 製剤は同様と考えられる。

全体的に、非臨床プログラムからは、ヒトへの長期皮下投与（週 1 回投与）を妨げるような安全性の懸念は認められなかった。

参考文献

[1] ICH M3(R2). Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals. Current Step 4 version, dated 11 June 2009.

[2] ICH S6(R1). Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals. Parent Guideline, dated 16 July 1997. Current Step 4 version, Addendum dated 12 June 2011 incorporated at the end of June 2011.

[3] ICH S5(R2). Detection of Toxicity to Reproduction for Medical Products & Toxicity to Male Fertility. Current Step 4 version Parent Guideline dated 24 June 1993 (Addendum dated 9 November 2000 incorporated in November 2005).

[4] FDA. Guidance to Industry. Bioanalytical Method Validation. U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Center for Veterinary Medicine (CVM). May 2001.

[5] DeSilva B, Smith W, Weiner R, Kelley M, Smolec J, Lee B, et al. Recommendations for the bioanalytical method validation of ligand-binding assays to support pharmacokinetic assessments of macromolecules. Pharm Res. 2003;20(11):1885-900.

[6] Viswanathan CT, Bansal S, Booth B, DeStefano AJ, Rose MJ, Sailstad J, et al. Quantitative bioanalytical methods validation and implementation: best practices for chromatographic and ligand binding assays. Pharm Res. 2007;24(10):1962-73.

[7] Novo Nordisk A/S. Prediction of human steady state exposure of somapacitan at a dose level of 8 mg once weekly. Memo. 18 December 2018.

[8] Gonzalez L, Curto LM, Miquet JG, Bartke A, Turyn D, Sotelo AI. Differential regulation of membrane associated-growth hormone binding protein (MA-GHBP) and growth hormone receptor (GHR) expression by growth hormone (GH) in mouse liver. Growth Horm IGF Res. 2007;17(2):104-12.

[9] Martignoni M, Groothuis GM, de Kanter R. Species differences between mouse, rat, dog, monkey and human CYP-mediated drug metabolism, inhibition and induction. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2006;2(6):875-94.

[10] Huang SM, Zhao H, Lee JI, Reynolds K, Zhang L, Temple R, et al. Therapeutic protein-drug interactions and implications for drug development. Clin Pharmacol Ther. 2010;87(4):497-503.

[11] Ben-Jonathan N, LaPensee CR, LaPensee EW. What can we learn from rodents about prolactin in humans? Endocr Rev. 2008;29(1):1-41.

[12] Ranke MB, Stanley CA, Tenore A, Rodbard D, Bongiovanni AM, Parks JS. Characterization of somatogenic and lactogenic binding sites in isolated rat hepatocytes. Endocrinology. 1976;99(4):1033-45.

[13] Goffin V, Shiverick KT, Kelly PA, Martial JA. Sequence-function relationships within the expanding family of prolactin, growth hormone, placental lactogen, and related proteins in mammals. Endocr Rev. 1996;17(4):385-410.

[14] Bartke A, Chandrashekar V, Bailey B, Zaczek D, Turyn D. Consequences of growth hormone (GH) overexpression and GH resistance. Neuropeptides. 2002;36(2-3):201-8.

[15] Novo Nordisk A/S. Assessment of the toxicity of biosynthetic human growth hormone (B-hGH) Nordisk in rats after subcutaneous administration for 90 days. Study Report. Lab. No. 10900/90 days. 20 May 1987.

[16] Jorgensen KD, Svendsen O, Greenough RJ, Kallesen T, Goburdhun R, Skydsgaard K, et al. Biosynthetic human growth hormone: subchronic toxicity studies in rats and monkeys. Pharmacol Toxicol. 1988;62(5):329-33.

[17] Colao A, Ferone D, Marzullo P, Lombardi G. Systemic complications of acromegaly: epidemiology, pathogenesis, and management. Endocr Rev. 2004;25(1):102-52.

[18] Holly JM, Amiel SA, Sandhu RR, Rees LH, Wass JA. The role of growth hormone in diabetes mellitus. J Endocrinol. 1988;118(3):353-64.

[19] Novo Nordisk A/S. Liquid Norditropin 10 mg, degraded: Three month subcutaneous toxicity study in the rat. Study Report. Study No. 22643, Sponsor's Ref. No. 970128. 09 March 1998.

[20] Welbourne TC, Cronin MJ. Growth hormone accelerates tubular acid secretion. Am J Physiol. 1991;260(6 Pt 2):R1036-42.

[21] Brem G, Wanke R, Wolf E, Buchmuller T, Muller M, Brenig B, et al. Multiple consequences of human growth hormone expression in transgenic mice. Mol Biol Med. 1989;6(6):531-47.

[22] Chan E, Swaminathan R. Role of prolactin in lactation-induced changes in brown adipose tissue. Am J Physiol. 1990;258(1 Pt 2):R51-6.

[23] Hughes JP, Friesen HG. The nature and regulation of the receptors for pituitary growth hormone. Annu Rev Physiol. 1985;47:469-82.

[24] Doessing S, Heinemeier KM, Holm L, Mackey AL, Schjerling P, Rennie M, et al. Growth hormone stimulates the collagen synthesis in human tendon and skeletal muscle without affecting myofibrillar protein synthesis. J Physiol. 2010;588(Pt 2):341-51.

[25] Dunaiski V, Belford DA. Contribution of circulating IGF-I to wound repair in GH-treated rats. Growth Horm IGF Res. 2002;12(6):381-7.

[26] Reimers TJ. The pituitary gland. In: Pineda M, Dooley MP, editor. McDonald's Veterinary Endocrinology and Reproduction. 5th ed: Iowa State Press; 2003. p. 17-34.

[27] Morrhaye G, Kermani H, Legros JJ, Baron F, Beguin Y, Moutschen M, et al. Impact of growth hormone (GH) deficiency and GH replacement upon thymus function in adult patients. PLoS One. 2009;4(5):e5668.

[28] Malozowski S, Tanner LA, Wysowski D, Fleming GA. Growth hormone, insulin-like growth factor I, and benign intracranial hypertension. N Engl J Med. 1993;329(9):665-6.

[29] Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, McIntush EW. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum. Physiol Rev. 2000;80(1):1-29.

[30] Buckley AR, Putnam CW, Russell DH. Prolactin as a mammalian mitogen and tumor promoter. Adv Enzyme Regul. 1988;27:371-91.

[31] Wennbo H, Gebre-Medhin M, Gritli-Linde A, Ohlsson C, Isaksson OG, Tornell J. Activation of the prolactin receptor but not the growth hormone receptor is important for induction of mammary tumors in transgenic mice. J Clin Invest. 1997;100(11):2744-51.

[32] Tornell J, Carlsson B, Pohjanen P, Wennbo H, Rymo L, Isaksson O. High frequency of mammary adenocarcinomas in metallothionein promoter-human growth hormone transgenic mice created from two different strains of mice. J Steroid Biochem Mol Biol. 1992;43(1-3):237-42.

[33] Farris GM, Miller GK, Wollenberg GK, Molon-Noblot S, Chan C, Prahalada S. Recombinant rat and mouse growth hormones: risk assessment of carcinogenic potential in 2-year bioassays in rats and mice. Toxicol Sci. 2007;97(2):548-61.

[34] Greaves P. Endocrine glands, Pituitary gland. Histopathology of preclinical toxicity studies - Interpretation and relevance in drug safety evalution. 4th ed: Elsevier Academic Press; 2012. p. 736-9 (part of Chapter 13).

[35] Son WC, Bell D, Taylor I, Mowat V. Profile of early occurring spontaneous tumors in Han Wistar rats. Toxicol Pathol. 2010;38(2):292-6.

[36] Cohen P, Clemmons DR, Rosenfeld RG. Does the GH-IGF axis play a role in cancer pathogenesis? Growth Horm IGF Res. 2000;10(6):297-305.

[37] Ogilvy-Stuart AL, Gleeson H. Cancer risk following growth hormone use in childhood: implications for current practice. Drug Saf. 2004;27(6):369-82.

[38] Jenkins PJ, Mukherjee A, Shalet SM. Does growth hormone cause cancer? Clin Endocrinol (Oxf). 2006;64(2):115-21.

[39] Clayton PE, Banerjee I, Murray PG, Renehan AG. Growth hormone, the insulin-like growth factor axis, insulin and cancer risk. Nat Rev Endocrinol. 2011;7(1):11-24.

[40] Sperling MA, Saenger PH, Ray H, Tom W, Rose SR, Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society LEC, et al. Growth hormone treatment and neoplasia-coincidence or consequence? J Clin Endocrinol Metab. 2002;87(12):5351-2.

[41] Karavitaki N, Warner JT, Marland A, Shine B, Ryan F, Arnold J, et al. GH replacement does not increase the risk of recurrence in patients with craniopharyngioma. Clin Endocrinol (Oxf). 2006;64(5):556-60.

[42] Carel JC, Ecosse E, Landier F, Meguellati-Hakkas D, Kaguelidou F, Rey G, et al. Long-term mortality after recombinant growth hormone treatment for isolated growth hormone deficiency or childhood short stature: preliminary report of the French SAGhE study. J Clin Endocrinol Metab. 2012;97(2):416-25.

[43] Allen DB, Backeljauw P, Bidlingmaier M, Biller BM, Boguszewski M, Burman P, et al. GH safety workshop position paper: a critical appraisal of recombinant human GH therapy in children and adults. Eur J Endocrinol. 2016;174(2):P1-9.

[44] Swerdlow AJ, Reddingius RE, Higgins CD, Spoudeas HA, Phipps K, Qiao Z, et al. Growth hormone treatment of children with brain tumors and risk of tumor recurrence. J Clin Endocrinol Metab. 2000;85(12):4444-9.

[45] Tamhane S, Sfeir JG, Kittah NEN, Jasim S, Chemaitilly W, Cohen LE, et al. GH Therapy in Childhood Cancer Survivors: A Systematic Review and Meta-Analysis. J Clin Endocrinol Metab. 2018;103(8):2794-801.

[46] Norditropin®, US Prescribing Information (PI). Revised February 2018.

[47] Norditropin® FlexPro®, EU Summary of Product Characteristics (SmPC). Revised April 2018.

[48] Bach LA. IGF-binding proteins. J Mol Endocrinol. 2018;61(1):T11-T28.

[49] Clemmons DR. Role of IGF Binding Proteins in Regulating Metabolism. Trends Endocrinol Metab. 2016;27(6):375-91.

[50] Allard JB, Duan C. IGF-Binding Proteins: Why Do They Exist and Why Are There So Many? Front Endocrinol (Lausanne). 2018;9(Article 117):1-12.

[51] Kimmel CA, Garry MR, DeSesso JM. Relationship between bent long bones, bent scapulae, and wavy ribs: malformations or variations? Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2014;101(5):379-92.

[52] Mitchard T, Stewart J. Reduced post-natal versus pre-natal incidence of bent long bones and scapulae in a preliminary investigation using the Han Wistar rat. Reprod Toxicol. 2014;45:39-44.

[53] De Schaepdrijver L, Delille P, Geys H, Boehringer-Shahidi C, Vanhove C. In vivo longitudinal micro-CT study of bent long limb bones in rat offspring. Reprod Toxicol. 2014;46:91-7.