ソマプシタン（遺伝子組換え）

2.6.1 緒言

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 2
略語一覧 3
2.6.1 緒言 7
2.6.1.1 名称 7
2.6.1.2 治験薬に関する記述 7
2.6.1.3 非臨床試験プログラム 9
2.6.1.4 効能又は効果、用法及び用量案 9
参考文献 10

図目次

ページ

図 2.6.1-1 ソマプシタンの一次構造の模式図（原寸に比例しない） 8

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（成長ホルモン結合蛋白）
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。

2.6.1　緒言

本概要では、ソマプシタンの非臨床プログラムについて説明する。

ソマプシタンは、週 1 回皮下投与を目的とした長時間作用型ヒト成長ホルモン（hGH）誘導体である。目標とする適応症は、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）性低身長である。ソマプシタンの小児 GHD 及び SGA 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（2.6.1.4 を参照）。

成人における最大臨床推奨用量は 8 mg/週である。

ヒト成長ホルモン（hGH）と同様に、ソマプシタンは非臨床試験において GHR の結合及び活性化を介して生物学的作用を発揮する。

非臨床試験で認められた本剤の薬物動態特性及び薬力学的特性は、ヒトでの週 1 回投与に適したものであった。

2.6.1.1　名称

“Somapacitan”は本化合物の国際一般名及び米国一般名である。分子式は $C_{1038}H_{1610}N_{273}O_{319}S_9$、分子量は 23.2 kDa である。

Chemical Abstract Service（CAS）登録番号は 1338578-34-9 である。

ソマプシタンの化学名は[101-{S-[(8S,22S,27S)-8,22,27-tricarboxy-2,10,19,24,29,38,42,42,44-nonaoxo-59-(1H-tetrazol-5-yl)-12,15,31,34-tetraoxa-42λ^6-thia-3,9,18,23,28,37,43-heptaazanonapentacontan-1-yl]-L-cysteine}]human somatropin である。

開発期間中、ソマプシタン、NNC195-0092、NNC 0195-0092、NNC0195-0000-0092、NewLAG といった本剤の別名が複数用いられたが、非臨床試験報告書においてはこれらの別名を同義語として用いる。

2.6.1.2　治験薬に関する記述

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。親水性スペーサーによってアルブミン結合部位と GHR 結合部位との間に十分な距離が保たれることで、分子はヒト血清アルブミン（HSA）と結合したまま

GHR を活性化する。側鎖のアルブミン結合部位が内因性アルブミンと非共有結合することにより、本剤の半減期が延長する。

ソマプシタンのペプチド骨格は大腸菌内において組換え DNA 技術を用いて形成され、その後、化学結合により側鎖が結合する。

製剤にはソマプシタンの他に、ヒスチジン、マンニトール、ポリオキシエチレン（160）ポリオキシプロピレン（30）グリコール及びフェノールが含まれる。また、pH を 6.8 に調節するよう、塩酸及び水酸化ナトリウムが用いられる。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。

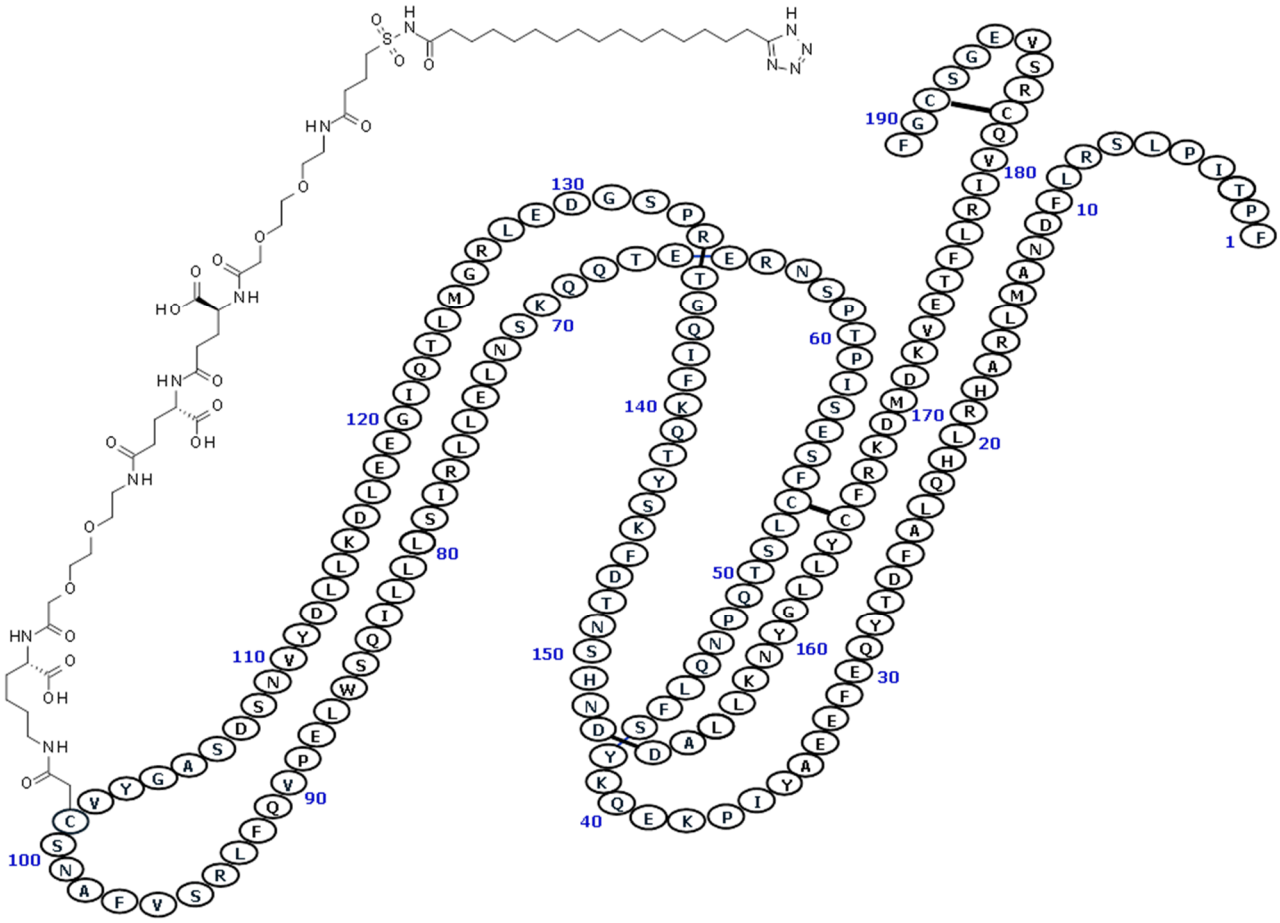


図 2.6.1-1　　ソマプシタンの一次構造の模式図（原寸に比例しない）

2.6.1.3 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。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。当局からの助言に基づき、開発プログラムを検討した。

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 誘導体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。

ソマプシタンの非臨床データには、効力を裏付ける試験、安全性薬理試験、薬物動態／トキシコキネティクス、生殖発生毒性試験、一般毒性試験、遺伝毒性試験及び局所刺激性試験が含まれる。

2.6.1.4 効能又は効果、用法及び用量案

ソマプシタンは、以下の効能又は効果、用法及び用量を予定している。

＜効能は又は効果＞

重症成人成長ホルモン分泌不全症

＜用法及び用量＞

通常、ソマプシタン（遺伝子組換え）として 1 回 1.0 mg～4.0 mg を開始用量とし、以後は、臨床症状及び血清インスリン様成長因子-I（IGF-I）濃度等の患者の状態に応じて、1 週間あたり 8.0 mg を超えない範囲で適宜増減した用量を週 1 回、皮下注射する。

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).

ソマプシタン（遺伝子組換え）

2.6.2 薬理試験の概要文

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 4
略語一覧 5
2.6.2.1 まとめ 9
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 11
2.6.2.2.1 *In vitro* 薬理試験 13
2.6.2.2.1.1 ソマプシタンの *in vitro* 薬力学的作用（Module 2.6.3.2、[redacted]130607） 13
2.6.2.2.1.2 肝細胞アッセイにおけるソマプシタンの作用（Module 2.6.3.2、307728） 16
2.6.2.2.1.3 ヒト血清アルブミン及び血漿タンパク質に対するソマプシタンの結合性に関するアルブミン結合部位、結合化学量論及び結合親和性の確認試験を用いた特性解析（Module 2.6.3.2、311856） 20
2.6.2.2.2 *In vivo* 薬理試験 23
2.6.2.2.2.1 ソマプシタンの薬力学試験（Module 2.6.3.2、[redacted]100604） 23
2.6.2.2.2.2 有効期間内のソマプシタンを用いた薬力学試験（表 2.6.3.2、[redacted]130606） 26
2.6.2.2.2.3 ソマプシタンの薬力学（Module 2.6.3.2、[redacted]110103） 27
2.6.2.2.2.4 サルにおける薬力学試験（Module 2.6.3.2、210056） 33
2.6.2.2.2.5 ミニブタにおける薬力学試験（Module 2.6.3.2、[redacted]091101） 34
2.6.2.3 副次的薬理試験 35
2.6.2.4 安全性薬理試験 35
2.6.2.4.1 心血管系への影響 35
2.6.2.4.1.1 安定的にトランスフェクトされた HEK293 細胞からの hERG テール電流記録に及ぼす影響（Module 2.6.3.4、211037） 35
2.6.2.4.1.2 ウサギの心臓プルキンエ線維の活動電位パラメータに及ぼす影響（Module 2.6.3.4、211039） 35
2.6.2.4.1.3 カニクイザルの心血管系パラメータに及ぼす影響（Module 2.6.3.4、210470、210471、212203） 36
2.6.2.4.2 中枢神経系に及ぼす影響 36
2.6.2.4.3 呼吸器系に及ぼす影響 36
2.6.2.4.3.1 カニクイザルを用いた呼吸器系に関する評価（Module 2.6.3.4、210470） 36
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 36
2.6.2.6 考察及び結論 37

参考文献.....38

図目次

ページ

図 2.6.2-1 ソマプシタンの一次構造の模式図（原寸に比例しない） 12
図 2.6.2-2 ソマプシタン及び hGH によるラット初代肝細胞における GHR 受容体の活性化.....18
図 2.6.2-3 HuH-7 細胞における hGH 及びソマプシタンのシグナル伝達時間及び用量依存性 19
図 2.6.2-4 ソマプシタン皮下投与後の下垂体摘出 Sprague Dawley 系ラットにおける用量段階的な体重増加.....24
図 2.6.2-5 ソマプシタン単回皮下投与後の下垂体摘出雄性 Sprague Dawley ラットにおける血漿中 IGF-I 濃度 25
図 2.6.2-6 ソマプシタン単回皮下投与後の下垂体摘出 Sprague Dawley 系ラットにおける第 0 日（投与開始日）～第 7 日までの鼻尾長の変化.....25
図 2.6.2-7 製造直後及び有効期間内のソマプシタンを単回皮下投与した下垂体摘出 Sprague Dawley 系ラットにおける体重変化の経時的プロファイル 27
図 2.6.2-8 ソマプシタン 14 nmol の週 1 回反復皮下投与ならびに溶媒及び hGH 2 nmol の 1 日 1 回反復皮下投与における下垂体摘出雄性ラットの体重増加量 28
図 2.6.2-9 溶媒及びソマプシタン 14 nmol の週 1 回（計 4 回）皮下投与ならびに hGH 2 nmol/ の 1 日 1 回投与における下垂体摘出ラットの血漿中 IGF-I 濃度－時間プロファイル....29
図 2.6.2-10 溶媒及びソマプシタン 14 nmol の週 1 回（計 4 回）皮下投与ならびに hGH 2 nmol の 1 日 1 回投与における除脂肪体重及び体重で標準化した除脂肪体重.....30
図 2.6.2-11 溶媒及びソマプシタン 14 nmol の週 1 回（計 4 回）皮下投与ならびに hGH 2 nmol の 1 日 1 回投与における体脂肪量及び体重で標準化した体脂肪量.....31
図 2.6.2-12 下垂体摘出ラットに対する溶媒及びソマプシタン 14 nmol の週 1 回（計 4 回）皮下投与ならびに hGH 2 nmol の 1 日 1 回投与後の骨端線から 10 mm の CT スキャン測定による脛骨の骨塩量及び骨密度 32
図 2.6.2-13 溶媒及びソマプシタン 14 nmol の週 1 回（計 4 回）皮下投与ならびに hGH 2 nmol の 1 日 1 回投与後の下垂体摘出ラットにおける血糖値及び血漿インスリン濃度.....32
図 2.6.2-14 雄性カニクイザルに対するソマプシタン 21.5 nmol/kg の静脈内及び皮下への単回投与後における血漿中 IGF-I 濃度 33
図 2.6.2-15 雄性 Göttingen ミニブタに対するソマプシタン 10 nmol/kg の静脈内及び皮下への単回投与後における血漿中 IGF-I 濃度 34

表目次

ページ

表 2.6.2-1　効力を裏付ける試験及び安全性薬理試験の概要 12
表 2.6.2-2　hGH 及びソマプシタン原薬ロットと GHBP との結合に対する K_D 値 14
表 2.6.2-3　ソマプシタン原薬ロット、hGH 及び緩衝液に対する HSA の半定量的結合 15
表 2.6.2-4　*in vitro* Ba/F3 細胞増殖アッセイにおける相対効力 16
表 2.6.2-5　固定化ソマプシタンに通した再構成ヒト血漿溶出液中で同定されたタンパク質 22

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（成長ホルモン結合蛋白）
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。

2.6.2.1　まとめ

ソマプシタンは、長時間作用型遺伝子組換えヒト成長ホルモン（hGH）誘導体であり、アルブミン結合成分が接合するアミノ酸骨格（L101C）に単一置換を有している。アルブミン結合成分（側鎖）は、アルブミン結合部位及び化学的結合によりタンパク質の 101 位に接合する親水性スペーサーから成る。親水性スペーサーによってアルブミン結合部位と成長ホルモン受容体（GHR）結合部位との間に十分な距離が確保されることで、分子はヒト血清アルブミン（HSA）と結合したまま GHR を活性化する。側鎖のアルブミン結合部位が内因性アルブミンと非共有結合することにより、ソマプシタンの半減期が延長する。

ソマプシタンは GHR 作動薬であり、hGH と同様の薬理作用を有している。ソマプシタン及び hGH は、GHR への結合とそれに続く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 個のソマプシタン／hGH 分子及び 2 個の GHR 分子から成るリガンド-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 は骨組織を含む複数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 でよく知られている作用である。小児の身長増加に加え、hGH は、成人成長ホルモン分泌不全症（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をもたらす身体作用（脂肪分解、タンパク質合成、筋肉量の増加、等）を有している。また、hGH は肝臓における糖新生を増加させ、ブドウ糖の取込みを減少させる。

ソマプシタンは、体内で HSA と非共有性の可逆的結合をする。HSA のドメイン III の脂肪酸結合部位 5（FA5）において、37ºC 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、ソマプシタンが K_D 約 100～1000 nmol/L の親和性で FA5 と結合することが示された。

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 細胞増殖を促進する効力について、ソマプシタンと hGH 及びヒトプロラクチン（hPRL）を比較した。アルブミンの立体障害により、ヒト GHR との結合及びその活性化に対するソマプシタンの効力は hGH の効力の約 1/3 であった。ヒトプロラクチン受容体（hPRLR）との結合・活性化に対するソマプシタンの効力は、hGH 及び hPRL と比較してそれぞれ 1/8 及び 1/25 であった。

ラット初代肝細胞及びヒト肝がん細胞 HuH-7 で認められた用量及び時間依存的な受容体活性化（P-STAT5 の活性化として測定）ならびに脱感作反応は、ソマプシタン及び hGH の双方において同様であった。hGH のシグナル伝達速度は、ソマプシタンと比較してより高速かつ高強度であったが、これは hGH の GHR に対する親和性が高いことに起因すると考えられる。

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た単回及び反復投与後に体重及びIGF-I の循環血漿中濃度の変化量を測定し、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。

ラットを用いた単回投与試験において用量範囲 1～150 nmol のソマプシタンを投与したところ、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、1～3 日以内に約 800～1000 ng/mL に至った。その後、4～7 日間で血漿中 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、除脂肪体重の増加、骨成長（骨塩量として測定）及び体脂肪量の減少を伴う体組成における変化は同様であった。

ミニブタ及びカニクイザルにおける結果から、ソマプシタン 10～21.5 nmol/kg の単回皮下投与により IGF-I 濃度が上昇し、4～10 日間維持されることが示唆された。

安全性薬理試験では、カニクイザルに対しソマプシタンを最大 9 mg/kg の用量で週 2 回皮下投与したが、中枢神経系、呼吸器系及び心血管系の機能に対する有害影響は認められなかった。また、*in vitro* 試験では、臨床用量である 8 mg/週でのヒトの最大曝露量（62.7 ng/mL）の 1000 倍超に相当する 3 μmol/L までを投与したが、有害影響は認められなかった。

結論

薬理試験において、ヒトでの週 1 回投与に一致したソマプシタンの効果持続時間の延長が認められた。脳下垂体摘出ラットにソマプシタンを投与した結果、投与間隔ごとの IGF-I 濃度の変動が誘発されたものの、IGF-I 値の上昇及び体重増加が認められ、また、除脂肪体重の増加、体脂肪の減少、骨成長などの体組成における予測された変化が認められた。安全性薬理評価からは、オフターゲット効果が発現する可能性及びヒトの生命維持に関わる器官系機能に対する安全性の懸念は認められなかった。

総括として、薬理試験から、ソマプシタン及び 1 日 1 回投与の成長ホルモン（GH）治療における薬理学的プロファイルは同様であることが確認された。

2.6.2.2　効力を裏付ける試験

GH 及び受容体結合能

hGH は脳下垂体前葉から分泌され、そのアミノ酸鎖は 191 残基から成る 4 ヘリックスバンドルを有している。hGH 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 個のソマプシタン/hGH 分子及び 2 個の GHR 分子から成るリガンド-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 IGF-I 生成の増加、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。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 のよく知られている作用である。また、GH は小児の身長増加をはじめ、多くの身体作用（脂肪分解、タンパク質合成、筋肉量の増加、ならびに肝臓での糖代謝の増加及び糖の取込みの減少）を有している。

1 個の受容体分子は hGH 分子の結合部位 1（binding site 1）と高親和性の結合をする。結合部位 1 における結合エネルギーの大部分は、α-ヘリックス I 及び IV のアミノ酸残基 K41、L45、P61、R64、K172、T175、F176 及び R178 から成る[1,2]。続いて、別の受容体分子が hGH 分子の結合部位 2（binding site 2、N 末端の I4 及び α-ヘリックス III の F120 周辺部位）と低親和性の結合をすることで、細胞膜上の受容体の二量体化及び構造変化が生じ、JAK/STAT 系及び MAPK/ERK 系が活性化されてシグナル伝達が発生する[3,4]。hGH の誘導体化により結合部位 1 が遮断された場合には、結合活性がない又は弱結合性の hGH 誘導体が創製される。さらに結合部位 2 も遮断された場合には、完全 hGH アンタゴニストが創製される。L101 位は、結合部位 1 及び 2 における受容体結合部分ではないことから、誘導体化における標的とした。

アルブミン結合部位を有する GH

ソマプシタンの構造を図 2.6.2-1 に示す。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。親水性スペーサーによってアルブミン結合部分と GHR 結合部分との間に十分な距離が確保されることで、分子は HSA と結合したまま GHR を活性化する。側鎖のアルブミン結合部位が内因性アルブミンと非共有結合することにより、ソマプシタンの半減期が延長する。

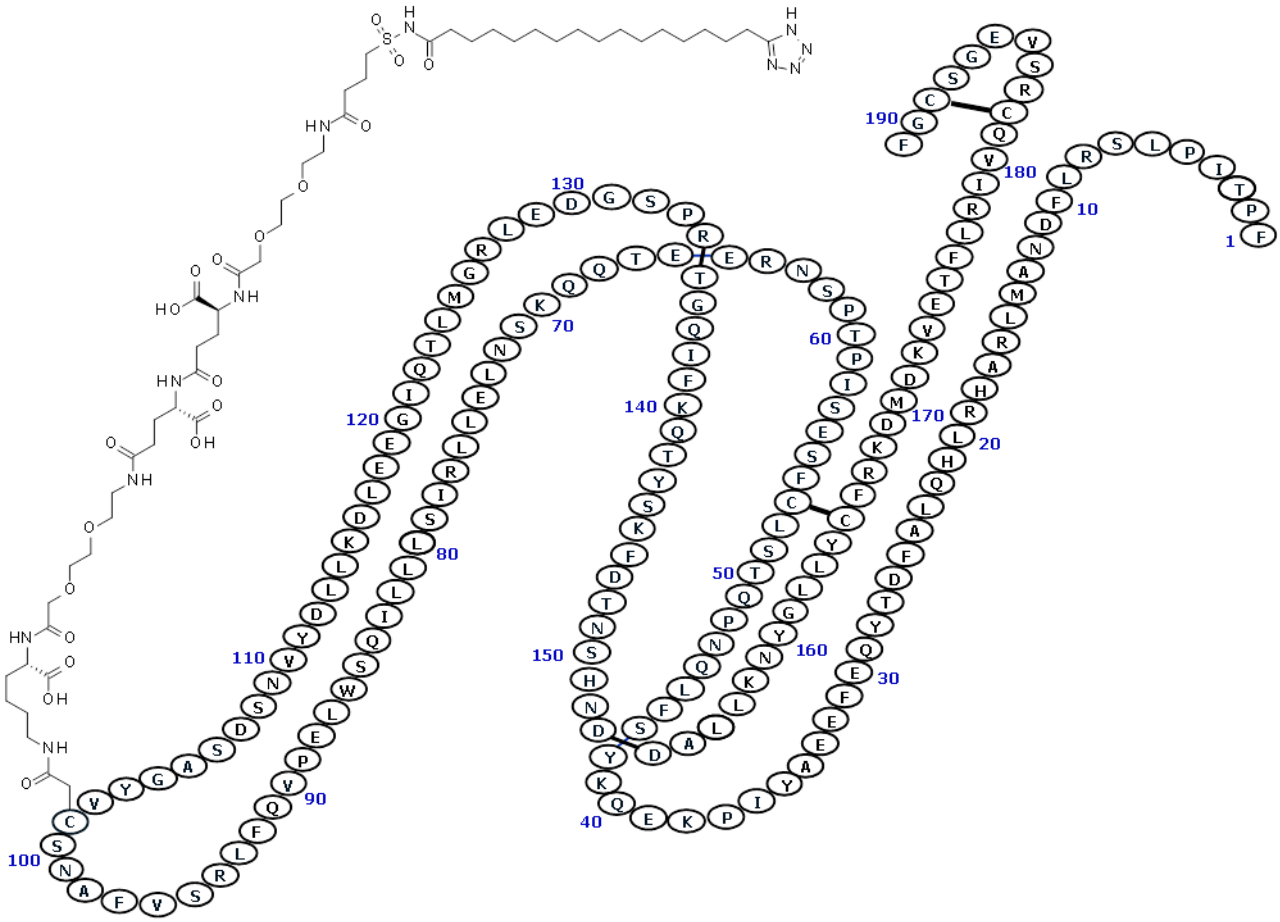


図 2.6.2-1　　ソマプシタンの一次構造の模式図（原寸に比例しない）

ソマプシタンの作用を複数の *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、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。試験一覧を表 2.6.2-1 に示す。

表 2.6.2-1　　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

Study type	Administration	Test system/species
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).

2.6.2.2.1 *In vitro* 薬理試験

2.6.2.2.1.1 ソマプシタンの *in vitro* 薬力学的作用（Module 2.6.3.2、[redacted]130607）

［目的］

ソマプシタンの受容体の薬理学的特性を、表面プラズモン共鳴（SPR）及び機能性 Ba/F3 細胞増殖アッセイにより解析した。さらに、複数の原薬ロット、又は製造直後のロット（*不純物A　の含量が少ない）及び有効期間内ロット（*不純物A　の含量が多い）を用いて特性を比較した。

SPR 分析を用いて、ソマプシタンの成長ホルモン結合タンパク質（GHBP）に対する結合速度を評価し、HSA に対する結合の定性的分析を行った。GHBP は受容体外部領域の放出により産生された GHR であり、GHR 及び GHBP の親和性が同様であることから、GHR の代用として GHBP を用いた。

Ba/F3 hGHR 細胞増殖アッセイは、hGH、hGH アナログ及び hGH 誘導体の効力測定に用いる *in vitro* アッセイである。細胞の増殖及び生存は hGH に依存する。Ba/F3 hPRLR 細胞増殖アッセイは、hGH アナログがヒトプロラクチン受容体（hPRLR）との結合効力測定に用いる *in vitro* アッセイである。細胞の増殖及び生存は hPRL に依存する。

［材料及び方法］

SPR 分析前に対照化合物及びソマプシタン原薬ロットを結合緩衝液で希釈した。GH 特異抗体をセンサーチップの表面に固定後、抗体内の GH を捕捉するため GH 試料を添加した。6 種類の濃度（0、12.5、25、50、100 及び 200 nmol/L）の GHBP を用い、得られたセンサーグラムから K_D 値を含む速度パラメータを算出した。解析は 25℃ で実施した。3 濃度の HSA（0、320 及び 3200 nmol/L）を用い、得られ

たセンサーグラムを比較した。解析は 37°C で実施した。120 秒時点において、各濃度の HSA の飽和共鳴単位（RU）の値を測定した。

Ba/F3 アッセイ実施時、細胞を 37°C, 5 % CO_2 で 24 時間飢餓培養した。次いで、細胞を飢餓培地に 2.22×10^5 細胞/mL となるよう再懸濁し、96 ウェルマイクロタイタープレートに播種した。複数濃度の被験物質を細胞に添加し、プレートを 37°C、5% CO_2 で 68 時間インキュベートした。化合物は n=2 で試験した。細胞に AlmarBlue を添加後、37°C でさらに 4 時間インキュベート後、代謝活性に基づく細胞生存率を 544 nm の励起フィルター及び 590 nm の発光フィルターを用いる蛍光プレートリーダー（NOVOstar）で測定した。

データは PRISM（GraphPad、サンディエゴ、CA、米国）を用いて非線形回帰により分析した。試料の吸光度を化合物濃度の関数としてプロットする。用量反応曲線から効力（EC_{50}）を算定可能である。対数変換した生データ値の一元配置分散分析（分散分析）と Tukey の多重比較検定を統計解析に用いた。

［結果］

hGH 及びソマプシタンの GHBP への結合から得られた K_D 値を表 2.6.2-2 に示す。本試験において測定したソマプシタン原薬ロット間で、GHBP に対する結合の K_D 値に差異は認められなかった。ソマプシタン原薬ロットで得られた K_D 値（2.8～3.1 nmol/L）は、天然型 hGH で得られた K_D 値（2.3 nmol/L）と同様であった。

表 2.6.2-2　　hGH 及びソマプシタン原薬ロットと GHBP との結合に対する K_D 値

hGH (control)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
2.3	3.0	3.0	3.1	3.0	2.8	3.0	3.0

K_D: dissociation constant

ソマプシタン原薬ロット及び hGH と HSA との結合に関して、HSA 処理後 120 秒後の RU 値（半定量数として使用）を表 2.6.2-3 に示す。ソマプシタン原薬ロットは HSA と可逆的に結合することが示されたが、補足された hGH と HSA との相互作用は認められなかった。HSA に対する結合能に関して、ソマプシタン原薬ロット間に差異は認められなかった。

表 2.6.2-3　　ソマプシタン原薬ロット、hGH 及び緩衝液に対する HSA の半定量的結合

Batch no.	HSA binding -Average RU at 120 sec (n≥4) HSA concentration (nmol/L)	
	320	**3200**
[redacted]	107	326
[redacted]	120	305
[redacted]	115	281
[redacted]	119	275
[redacted]	114	342
[redacted]	119	311
[redacted]	119	296
[redacted]	140	310
hGH (control)	5	-6
Buffer	4	35

Ba/F3 hGHR 細胞増殖アッセイにおけるソマプシタンの効力を表 2.6.2-4 に示す。hGHR に対するソマプシタンロットの効力（EC_{50}）は 0.033～0.054 nmol/L（n=34）であり、天然型 hGH の効力は 0.013 nmol/L（n=8）であった。製造直後（[redacted]、[redacted]℃）及び有効期間内（[redacted]、[redacted]℃ で[redacted]）のロットも含め、解析したソマプシタンロット間の効力に統計的な有意差は認められなかった。

さらに、Ba/F3 hPRLR 細胞増殖アッセイの結果、ソマプシタンが hPRLR と結合し活性化する効力（EC_{50}）は 3.55～4.63 nmol/L であった。ロット間の効力に統計学的な有意差は認められなかった。hGH 及び hPRL の効力はそれぞれ 0.52 nmol/L 及び 0.16 nmol/L であり、これらと比較してソマプシタンの効力は有意に低かった。

表 2.6.2-4　　*in vitro* Ba/F3 細胞増殖アッセイにおける相対効力

Batch no.*	**EC_{50} (nmol/L) against hGHR**	**EC_{50} (nmol/L) against hPRLR**
Wild-type hGH	0.013±0.0008 (n=8)	0.52±0.03 (n=7)
Wild-type hPRL	N/C (n=8)	0.16±0.02 (n=3)
[redacted]	0.054±0.006 (n=6)	4.63±0.62 (n=5)
[redacted]	0.047±0.009 (n=6)	3.55±0.74 (n=5)
[redacted]	0.037±0.014 (n=3)	N/A
[redacted]	0.033±0.014 (n=3)	N/A
[redacted]	0.049±0.006 (n=4)	N/A
[redacted]	0.042±0.005 (n=4)	N/A
[redacted]	0.047±0.007 (n=4)	N/A
[redacted]	0.045±0.008 (n=4)	N/A

* Drug product.
Values are expressed as Mean ± SEM of n experiments.
N/C: Not calculated. Wild-type hPRL cannot bind to the hGHR.
N/A: Not applicable.

［結論］

ソマプシタンは *in vitro* で GHBP、HSA、hGHR 及び hPRLR に結合することが確認された。GHBP に対する効力は hGH と同様であり、hPRLR に対する効力は hGH の 1/8 倍、hPRL の 1/25 倍であった。各種含量の脱アミド体を有するロット間において、GHBP 及び HSA への結合親和性又は GHR 及び PRLR 細胞アッセイでの *in vitro* 効力に差異は認められなかった。

2.6.2.2.1.2　肝細胞アッセイにおけるソマプシタンの作用（Module 2.6.3.2、307728）

［目的］

内因性 GHR の発現レベルにおけるソマプシタンのシグナル伝達動態を示すため、GH の一次作用部位である肝臓について検討した。細胞株としてラット初代肝細胞及びヒト肝癌細胞株 HuH-7 を用いた。ヒト細胞株 HuH-7 は、培養液中において分化機能を保持すると報告されている[5]。細胞は JAK2/STAT5 シグナル伝達経路の活性化により hGH の刺激に反応することが事前に確認されており、ヒト P-STAT5 及びヒト STAT5 に対する抗体をアッセイ用に最適化した。

［材料及び方法］

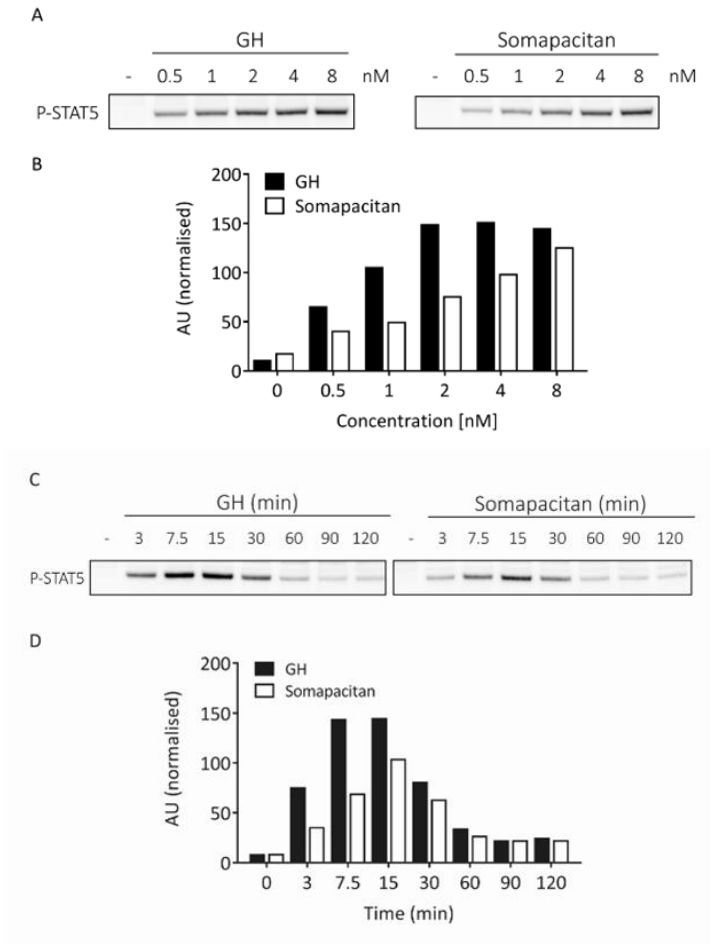
SD 系ラットの初代肝細胞（n=3）をコラゲナーゼ灌流法により単離した。HuH-7 細胞はダルベッコ改変イーグル培地で維持・継代した。適切な細胞培地に希釈した hGH 又はソマプシタンを、ラット初

代肝細胞に 0.5～8 nmol/L の濃度で、HuH-7 細胞には 0.5～32 nmol/L の濃度で処理し 15 分間刺激した。時間依存性試験では、培地に希釈した hGH 又はソマプシタンを 8 nmol/L の濃度でラット初代肝細胞を 3～120 分間、HuH-7 細胞を 3～150 分間刺激した。細胞抽出物から等量のタンパク質を還元 SDS-PAGE によって分離後、抗 P-STAT5 抗体を用いてウェスタンブロッティングを行った。ウェスタンブロッティングは画像解析により定量化した。

［結果］

細胞を 15 分間刺激後の STAT5 のリン酸化の最大反応は、ソマプシタンでは 8 nmol/L で、hGH では 2～4 nmol/L において、それぞれ認められた。すなわち、ソマプシタン及び hGH のいずれも、ラット初代肝細胞において GHR シグナル伝達の用量依存的な活性化を誘発した（図 2.6.2-2A 及び B）。

hGH の刺激により早期に P-STAT5 が誘導され、刺激後 3 分で目視でも確認された。この応答は刺激後 15 分まで大幅に増加後、P-STAT5 のシグナル伝達は 90 分までに低下した。ソマプシタンの刺激による P-STAT5 の活性化は 3 分後に認められた。刺激後 15 分でシグナル値は最大に達した後、シグナル伝達は低下した。刺激後 120 分では、GH 及びソマプシタンともにシグナル伝達は非刺激状態の 2 倍超であった。以上より、ラット初代肝細胞において、hGH 及びソマプシタンによる時間依存的な GHR シグナル伝達（P-STAT5）の活性化が認められた。hGH のシグナル伝達速度は、ソマプシタンと比較してより高速かつ高かった。受容体の脱感作相は、2 種の GH アナログと同様であった（図 2.6.2-2C 及び D）。

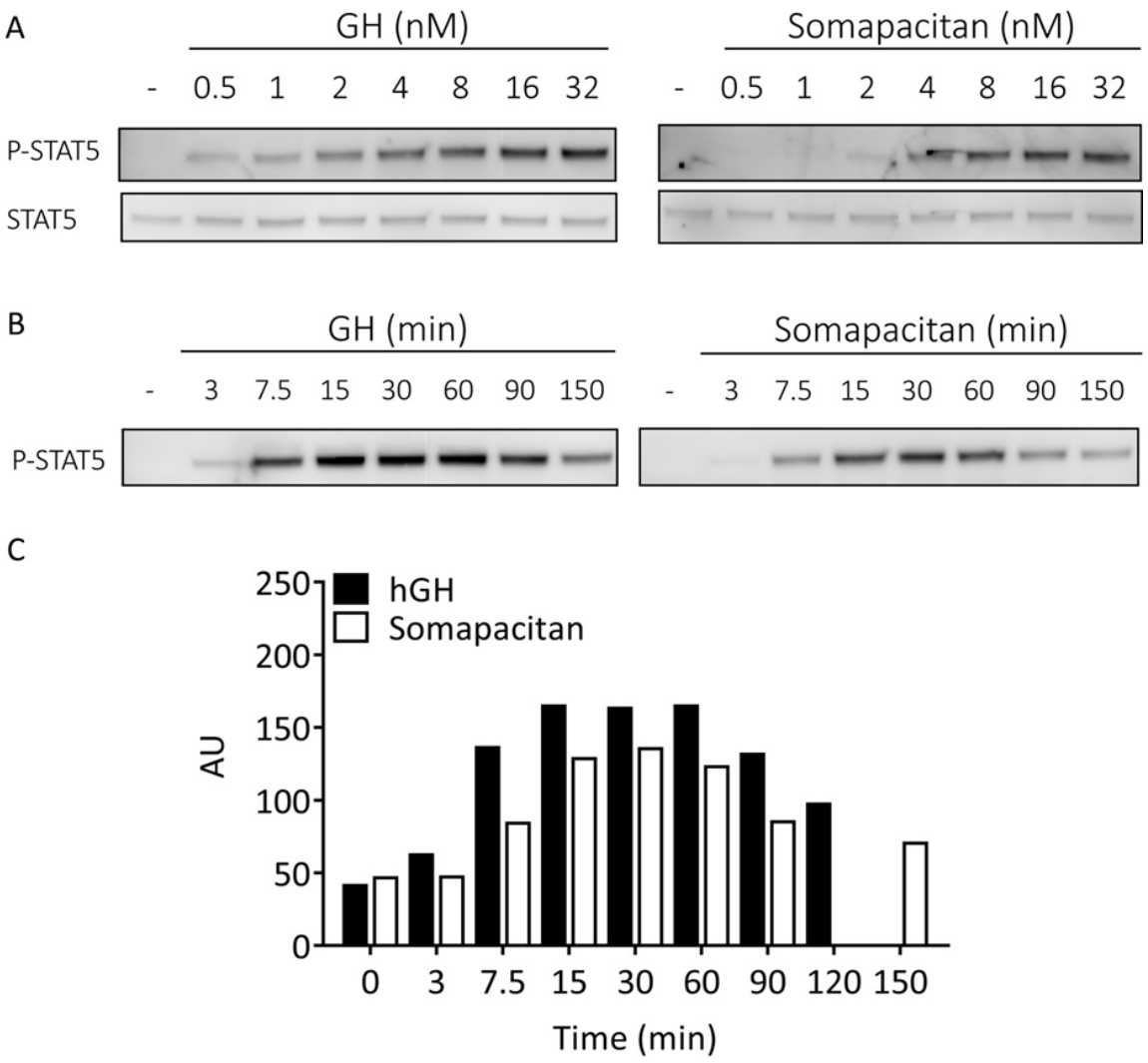


Note: Data presented is a representative experiment of (n=3) repeats.
(A) Western blot showing the dose-dependent activation of P-STAT5 after stimulation with the indicated doses of hGH and somapacitan for 15 min. (B) The P-STAT5 Western blot was quantified and normalised to a non-specific background band. (C) Western blot of P-STAT5 illustrating the time-dependent activation of GHR signalling after stimulation with 8 nmol/L hGH or somapacitan for the indicated minutes. (D) The P-STAT5 Western blot was quantified and normalised to a non-specific background band.
Abbreviations: AU = absorbance unit; GH = growth hormone.

図 2.6.2-2　　ソマプシタン及び hGH によるラット初代肝細胞における GHR 受容体の活性化

HuH-7 細胞では、刺激後 15 分に用量依存的な STAT5 のチロシンリン酸化反応が認められた（図 2.6.2-3）。イムノブロット法による定量化を図 2.6.2-3A に示す。ソマプシタン及び hGH のいずれも、8 nmol/L で STAT5 のチロシンリン酸化の最大反応が認められた。高用量である 16 及び 32 nmol/L での刺激も行ったが、HuH-7 細胞の P-STAT5 活性化レベルは、hGH 及びソマプシタンともに、8 nmol/L で刺激した場合と同様であった。STAT5 及び β-アクチンを処理対照に含めたが、種々の試料の発現レベルにばらつきは認められなかった（図 2.6.2-3A）。

HuH-7 細胞における GHR 活性化の時間依存性を図 2.6.2-3C に示す。HuH-7 細胞を 8 nmol/L のソマプシタン又は hGH で 3～150 分間処理し、SDS-PAGE 及び P-STAT5 によるイムノブロット法により解析した。hGH では、早期（刺激後 3 分）に STAT-5 のリン酸化反応が認められた。ソマプシタン処理後の GHR 活性化反応は、hGH と比較してわずかに遅く、刺激後 7.5 分に STAT-5 のリン酸化反応の開始が認められた。シグナル強度は、hGH 処理後 3 分時点での強度と同様であった。



Note: Data presented is a representative experiment of (n=3) repeats.
(A) Immunoblot showing the dose-dependent activation of P-STAT5 after stimulation with the indicated increasing doses of hGH and somapacitan for 15 min. Immunoblot for total STAT5 was included as control. (B) Western blot of P-STAT5 illustrating the time-dependent activation of GHR signalling after stimulation with 8 nmol/L hGH or somapacitan for the indicated minutes. (C) The P-STAT5 immunoblot was quantified and normalised to a non-specific background band.
Abbreviations: AU = absorbance unit; GH = growth hormone; hGH = human growth hormone.

図 2.6.2-3　　HuH-7 細胞における hGH 及びソマプシタンのシグナル伝達時間及び用量依存性

ソマプシタン及び hGH のいずれも、リガンド処理後 15 及び 60 分間に P-STAT5 の活性は最大となり、以降はリガンド誘導性の GHR 脱感作により P-STAT5 が減少した。最終測定時点は刺激後 120 分とした。hGH 又はソマプシタンで刺激した細胞の STAT5 リン酸化レベルは、初期時点では同様であり、非刺激時のリン酸化レベルを大幅に超えるものであった（図 2.6.2-3C）。

［結論］

ソマプシタン及び hGH に関して、ラット及びヒトの細胞株で同様の GH 受容体活性化及び脱感作反応が認められた。

2.6.2.2.1.3　ヒト血清アルブミン及び血漿タンパク質に対するソマプシタンの結合性に関するアルブミン結合部位、結合化学量論及び結合親和性の確認試験を用いた特性解析（Module 2.6.3.2、311856）

［目的］

本試験の目的は、タンパク質結晶解析、X 線小角散乱（SAXS）、サイズ排除クロマトグラフィー（SEC）及び等温滴定熱量計測（ITC）を用いてソマプシタンの特異的 HSA 結合部位を特定し、結合部位に対する結合化学量論及び結合親和性を解明することであった。再構成ヒト血漿を用いて、ヒト血漿タンパク質に対するソマプシタンの結合についても検討した。

［材料及び方法］

HSA と結合するソマプシタンの結晶構造を、結合に最適化した HSA である HSAopt、新生児の Fc 受容体（FcRn）及びソマプシタンから成る三元複合体を形成することにより検討した。三元複合体のサイズを SAXS 分析及び SEC によって確認した。HSA に対するソマプシタンの結合を SPR 及び ITC によって検討した。

血漿中タンパク質結合性試験では、ソマプシタンを CNBr 活性化セファロース®に固定し、再構成ヒト血漿（HemosIL、Instrumentation Laboratory 社、Bedford、MA、米国）をカラムに通した。十分に洗浄後、低 pH／高濃度塩化ナトリウム緩衝液を用いて結合タンパク質を溶出させ、血漿タンパク質とソマプシタンの結合を遮断した。溶出液中のタンパク質をトリプシンで消化し、高性能質量分析法によって同定した。

［結果］

ソマプシタンの 2 箇所の結合部位は、HSA のドメイン III の脂肪酸結合部位 5（FA5）及びドメイン II の脂肪酸結合部位 6（FA6）であることがそれぞれ確認された。FA6 への結合に関する結晶解析デー

タのみが得られ、検討の結果、FA6 には試験に用いた脂肪酸のカルボキシラート先端基と特異的に接触するアミノ酸残基はなく、その存在箇所は脂肪酸及び鎖長によって異なることが示された。Bhattacharya らによる試験[6]から、ソマプシタンリンカー及びアルブミン結合部位のテトラゾール先端基の配列は、C14～C18 脂肪酸と同様である。

HSA：ソマプシタンのモル比が 1：2 である成分を混合させ、過剰なソマプシタンを SEC によって除去することで、非修飾の遺伝子組換え型 HSA とソマプシタンが 1：1 となる複合体の生成を試験したところ、過剰なソマプシタンは本混合物中には認められなかったが、モル比が 1：3 の混合物中ではその存在が確認された。このことから、FA5 の結合部位が間接的に確認された。また、ソマプシタンが HSA に 2 箇所の結合部位を有することが示された。FcRn を用いてソマプシタン、HSA 及び FcRn の安定した三重複合体を形成したことから、結晶解析において HSA 上のソマプシタン結合部位の 1 箇所が遮断された可能性が高いと考えられる。HSAopt でも試験を繰り返したところ、同様の結果が示された。HSA ドメイン III の FcRn との相互作用表面積は最大であるものの、FcRn の結合により HSA ドメイン I の移動は抑制される。そこで、市販の HSA 製剤のドメインに対するソマプシタンの結合性を検討した。用いたドメインは、ドメイン III を有さないドメイン I＋II 及びドメイン III 単体である。HSA ドメイン：ソマプシタン複合体の化学量論的組成について、上述した HSA：ソマプシタン複合体と同様に、SEC による試験を実施した。その結果、ソマプシタンはおそらくドメイン III に対する結合性を有すると考えられ、一方、ドメイン I＋II が有する HSA との結合部位は 1 箇所のみであり、これは結晶構造により限局された部位に相当することが示された。この知見に基づき、2 箇所の部位でソマプシタンと結合する HSA モデル（ドメイン II の FA6 で結合し、結晶構造から測定するモデル及びドメイン III の FA5 で結合し、HSA の完全長及びドメインの SEC 試験から推定するモデル）の作成が可能となった。

ITC によって 13～37°C でタイトレーションした HSA：ソマプシタンのプロファイルから、ソマプシタンが HSA と結合することが確認された。初めに、すべての試験温度で 1 個のソマプシタン分子が HSA と高親和に結合した。13～25°C では、ソマプシタン分子の低親和性の結合がみられた。モル比 4（ソマプシタン／HSA≒4）で、完全に飽和した。独立した 2 種類の結合部位を有するモデルは 13～25°C でのタイトレーションプロファイルを明確に反映し、1 箇所の結合部位を有するモデルは 31 及び 37°C でのプロファイルを明確に反映した。結合エンタルピーの比較から、高親和性部位及び低親和性部位における正反対の温度依存性、すなわち、高親和性部位での負の熱容量変化（ΔCp）及び低親和性部位での正の熱容量変化（ΔCp）が明らかになった。その結果、高親和性部位及び低親和性部位の結合機序には著しい差があることが示唆された。負の熱容量変化（ΔCp）が大きいことに関して、高親和性結合は疎水性の相互作用の影響を受けることが示唆される[7]。一方、低親和性結合は他の影響（静電相互作用とみられる）を強く受けるものと考えられる。

ヒトタンパク質データベースに対する質量分析データ検索により同定されたタンパク質一覧を表 2.6.2-5 に示す。

表 2.6.2-5　　固定化ソマプシタンに通した再構成ヒト血漿溶出液中で同定されたタンパク質

Description	**Area**	**Ratio**
Serum albumin	1.96E+11	1.0000
Histidine-rich glycoprotein	2.12E+09	0.0108
Complement factor H	1.63E+09	0.0083
C4b-binding protein alpha chain	6.39E+08	0.0033
Transthyretin	1.46E+09	0.0074
Dermcidin	6.34E+08	0.0032
Fibrinogen alpha chain	9.03E+08	0.0046
Alpha-2-macroglobulin	1.13E+08	0.0006
IgG-1 chain C region	1.24E+09	0.0063
Alpha-1-antitrypsin	3.21E+08	0.0016
Complement C4-A	3.21E+08	0.0016
Calmodulin-like protein 5	1.76E+08	0.0009

Note: The quantification is based on the intensity of the three dominant precursor ion signals and the numbers listed in the area column are used as an estimation of relative amounts.

最も多く認められたタンパク質は血清アルブミンであり、他のタンパク質の少なくとも 100 倍であった。これらのタンパク質はアルブミンに関連して存在しており、ソマプシタンとの直接結合に起因するものではないと考えられる。この結果は、血漿からアルブミンが除去されると他のタンパク質も共に消失することからも支持される。

本実験では、アルブミンを除去した血漿を用いて繰り返し実施した。これにより、約 99%のアルブミン及び 90%の IgG が除去される。アルブミン未除去血漿を用いた場合であっても、最も多く検知されたタンパク質はアルブミンであり、同定されたその他のタンパク質は上記で認められたものと同一であった。

［結論］

得られた結合パラメータから、ソマプシタンは 1 箇所の高親和性部位（FA5、K_D 約 100～1000 nmol/L）及び 2 箇所の低親和性部位（FA6、K_D 約 1000～10000 nmol/L）と結合するが、31 及び 37°C で

は高親和性部位のみと結合（疎水性相互作用）することが確認された。ソマプシタンと結合する主たるタンパク質は血清アルブミンであり、その他のタンパク質の 100 倍以上であった。

2.6.2.2.2 *In vivo* 薬理試験

ラットにおける薬力学試験

ソマプシタンの薬力学を、AGHD の標準的なげっ歯類モデルである下垂体摘出ラットにおいて検討し、単回及び反復投与後の体重変化量の測定と IGF-I の血漿濃度の算出により評価した。IGF-I は、hGH の治療効果における薬力学的バイオマーカーとみなされている[8,9]。

［単回投与］

2.6.2.2.2.1 ソマプシタンの薬力学試験（Module 2.6.3.2、[redacted]100604）

［目的］

下垂体摘出雄性 Sprague Dawley 系ラットに単回皮下投与後のソマプシタンの薬力学的特性を検討した。

［材料及び方法］

下垂体摘出雄 Sprague Dawley 系ラット（10 例/群）に 1、5、15、50 又は 150 nmol（0.023、0.12、0.35、1.16 又は 3.5 mg）のソマプシタン又は溶媒（グリシン 20 mg/mL、マンニトール 2 mg/mL、$NaHCO_3$ 2.4 mg/mL、pH 8.2 に調整）を単回皮下投与した。7 日間の試験期間中に体重及び血漿中 IGF-1 の濃度－時間プロファイルを測定すると共に、第 0 及び 7 日に鼻－尾長、血糖値及び血漿中インスリン濃度を測定した。

［結果］

下垂体摘出ラットにおけるソマプシタン単回投与後 7 日間の用量依存的な体重変化量を図 2.6.2-4 に示す。投与前に、ラットを対照（溶媒投与）群又はソマプシタン投与群に無作為割付けし、投与日の体重を共変量として用い、体重増加量を評価した。1～150 nmol の投与量において、投与後 7 日に用量段階的な体重増加（約 7～24 g）が認められた。最初の 3～6 日間で急速に体重が増加し、最大値に達した後、減少し始めた。体重増加量に関して、投与量の増加に伴い最大値に達するまでの時間も延長したことから、投与量の増加により効果持続時間が延長することが示された。

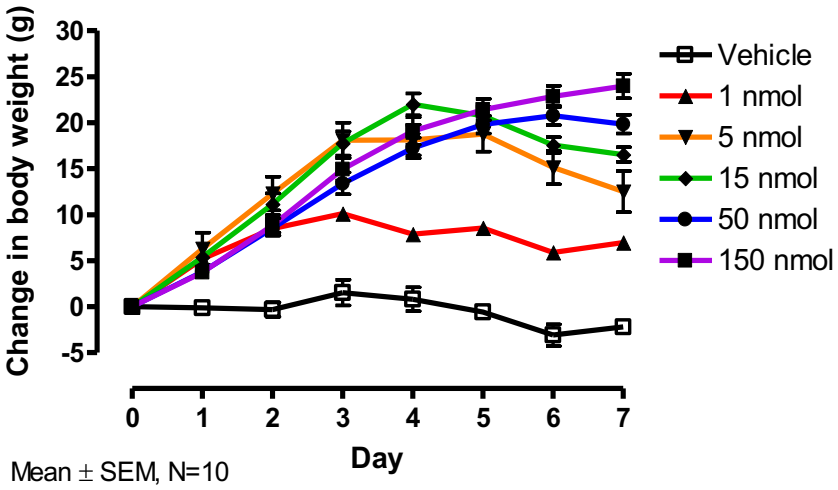


図 2.6.2-4　　ソマプシタン皮下投与後の下垂体摘出 Sprague Dawley 系ラットにおける用量段階的な体重増加

下垂体摘出ラットにおける単回皮下投与後の IGF-I 濃度－時間プロファイルを図 2.6.2-5 に示す。

ソマプシタン単回投与後、第 1～3 日に IGF-I 濃度は約 800～1000 ng/mL まで急速に上昇した。以降は用量段階的に低下し、低下速度は最少用量の 1 nmol 群において最も速く、最高用量の 150 nmol 群で最も遅かった。最高用量では、IGF-I 濃度が低下する 1～3 日前においても、800 ng/mL を超える濃度が維持された。血漿中 IGF-I 濃度の上昇及び低下の経時変化は、過去に実施した試験の hGH1 日 1 回投与でみられたものと同様であった[10]。

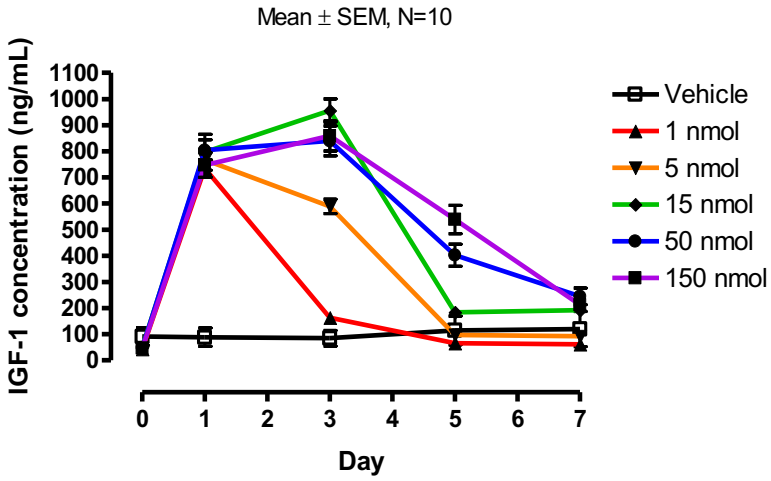
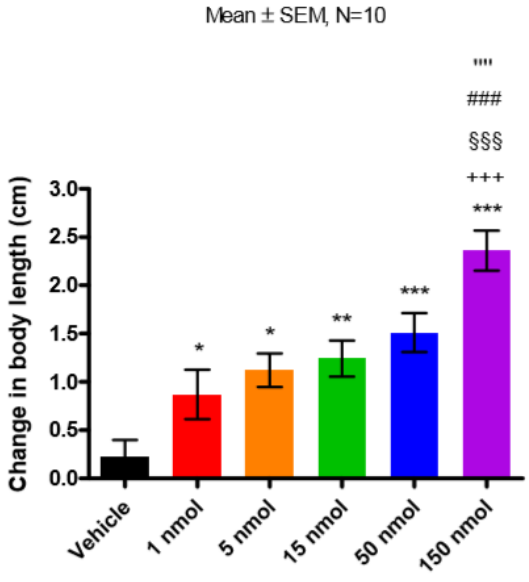


図 2.6.2-5　　ソマプシタン単回皮下投与後の下垂体摘出雄性 Sprague Dawley ラットにおける血漿中 IGF-I 濃度

第 0 及び 7 日における体長（鼻尾長）の変化を図 2.6.2-6 に示す。鼻－尾長は 1～50 nmol 群では 1～1.5cm 伸長し、150 nmol 群では 2～2.5cm 伸長した。



One-way ANOVA p<0.001, Newman-Keuls Multiple Comparison Test: *** p<0.001 vs. Vehicle, ** p<0.01 vs. Vehicle, * p<0.05 vs. vehicle, +++ p<0.001 vs. 1 nmol, §§§ p<0.001 vs. 5 nmol, ### p<0.01 vs. 15 nmol, “” p<0.01 vs. 50 nmol.

図 2.6.2-6　　ソマプシタン単回皮下投与後の下垂体摘出 Sprague Dawley 系ラットにおける第 0 日（投与開始日）～第 7 日までの鼻尾長の変化

高インスリン血症やインスリン感受性の低下は認められなかった。すべてのグルコース濃度は正常血糖範囲内であった。

［結論］

ソマプシタンは 7 日間の試験期間中に体重及び鼻尾長の用量段階的な増加、ならびに高 IGF-I 血漿濃度の用量段階的な持続時間延長を誘導した。

2.6.2.2.2.2　有効期間内のソマプシタンを用いた薬力学試験（表 2.6.3.2、[redacted]130606）

［目的］

単回皮下投与後の下垂体摘出 Sprague Dawley 系ラットを用いて、製造直後（[redacted]℃で保存したロット）及び有効期間内［[redacted]℃で[redacted]間保存したロット、*不純物A　及び高分子タンパク質（HMWP）の有効期間内規格を反映］のソマプシタンにおける薬力学的作用の差異を検討した。

［材料及び方法］

下垂体摘出雄性 Sprague Dawley 系ラット（10 例／群）に対し、製造直後又は有効期間内のソマプシタン各 1.5、15 又は 150 nmol（0.03、0.35 又は 3.50 mg）又は溶媒（マンニトール 40.8 mg/mL、フェノール 5 mg/mL、pH 7.2 に調整）をそれぞれ単回皮下投与した。7 日間の試験期間中に体重及び血漿中 IGF-1 の濃度－時間プロファイルを測定すると共に、第 0 及び 7 日に鼻尾長、血糖値及び血漿中インスリン濃度を測定した。第 7 日には体脂肪量、骨密度（BMD）及び骨塩量（BMC）も測定した。

投与群間の平均値の統計学的有意差は、一元配置分散分析及び Tukey の多重比較検定により検討した。

［結果］

溶媒投与対照群と比較して、製造直後及び有効期間内のソマプシタン単回皮下投与後の体重は用量段階的に顕著に増加した。製造直後及び有効期間内のソマプシタン投与群間に統計学的有意差は認められなかった。

IGF-I 濃度は、ベースラインから最高濃度まで、用量段階的に急速に上昇した。最高濃度は投与後 1～3 日に認められ、第 7 日にベースライン付近まで急速に低下した。製造直後及び有効期間内のソマプシタン投与群間に統計学的有意差は認められなかった。

7 日間の投与期間中、溶媒投与対照群と比較して、製造直後及び有効期間内のソマプシタンにより鼻尾長の著しい伸長が誘発された。

また、溶媒投与対照群と比較して、製造直後及び有効期間内のソマプシタン全投与群において、体脂肪量の有意な低下がみられ、除脂肪体重の増加が認められた。

製造直後及び有効期間内のソマプシタン全投与群において、BMC 及び BMD に有意差は認められなかった。

例として、製造直後及び有効期間内のソマプシタンを投与した下垂体摘出 Sprague Dawley 系ラットの体重における経時的変化を図 2.6.2-7 に示す。

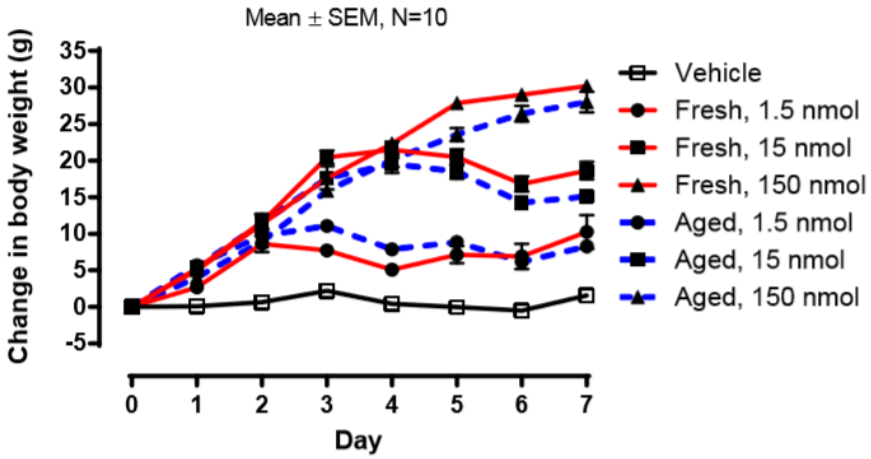


図 2.6.2-7　製造直後及び有効期間内のソマプシタンを単回皮下投与した下垂体摘出 Sprague Dawley 系ラットにおける体重変化の経時的プロファイル

［結論］

下垂体摘出 Sprague Dawley 系ラットに対する製造直後及び有効期間内のソマプシタン皮下投与において、薬力学的特性に有意差は認められなかった。

［反復投与］

2.6.2.2.2.3　ソマプシタンの薬力学（Module 2.6.3.2、[redacted]110103）

［目的］

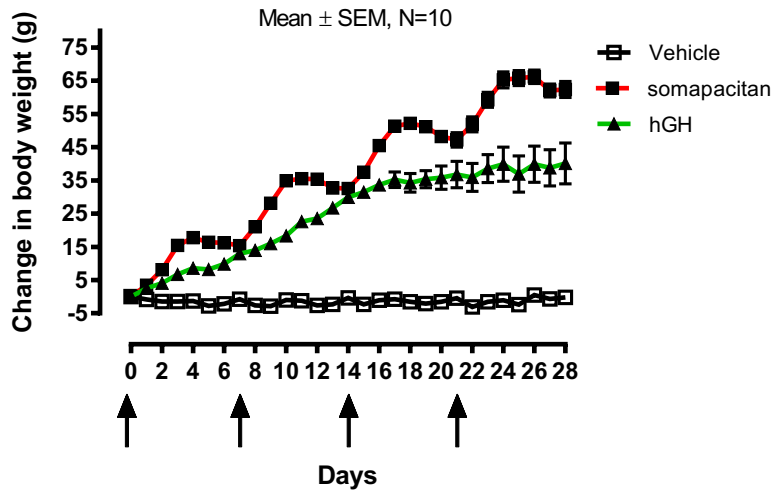
下垂体摘出雄性ラットに対しソマプシタンを週 1 回 28 日間投与し、ソマプシタンの反復投与による作用を検討した。

［材料及び方法］

下垂体摘出雄性 Sprague Dawley 系ラット（10 例／群）に対し、ソマプシタン 14 nmol（0.33 mg）又は溶媒（グリシン 20 mg/mL、マンニトール 2 mg/mL、$NaHCO_3$ 2.4 mg/mL、pH 8.2 に調整）を週 1 回反復皮下投与し、hGH 2 nmol（0.05 mg）を 1 日 1 回反復皮下投与した。28 日間の試験期間中に体重及び血漿中 IGF-1 の濃度ー時間プロファイルを測定すると共に、第 0 及び 28 日に鼻尾長、血糖値及び血漿中インスリン濃度を測定した。第 28 日には CT スキャンにより BMD 及び BMC も測定した。定量的 MR スキャンにより体脂肪量及び徐脂肪体重を測定した。投与群間の平均値の統計学的有意差は、一元配置分散分析及び Newman-Keuls の比較検定により検討した。

［結果］

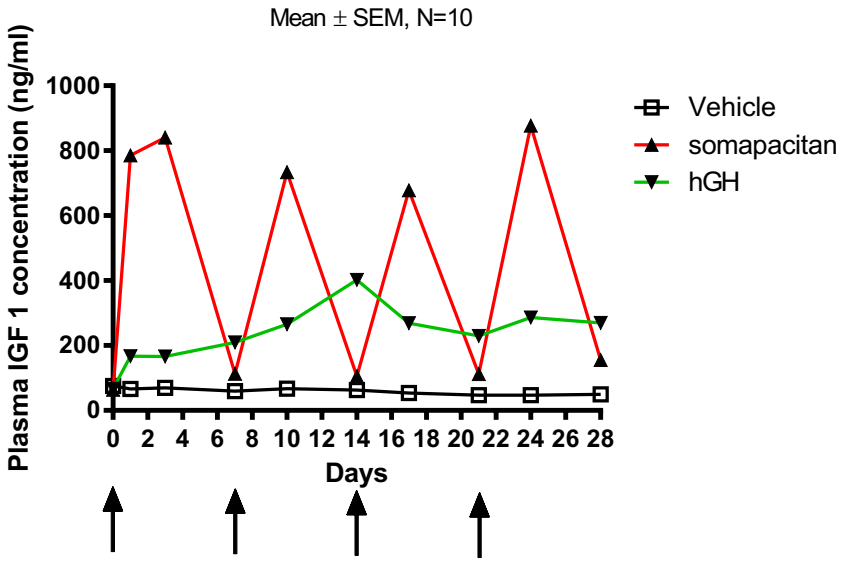
ソマプシタンを週 1 回投与後、溶媒対照群と比較して用量段階的かつ有意な体重増加が認められた（図 2.6.2-8）。投与間隔ごとの最初の 3～4 日間に体重増加量は急増し、最高値に達した後、次回投与までわずかに減少した。次回投与後 3～4 日間に体重増加量は再び増加した。28 日以降の平均体重増加量は 62.3 g であり、ソマプシタン（14 nmol）の週 1 回投与における体重増加量の 61%に相当した。hGH の 1 日 1 回投与群においても、溶媒投与対照群と比較して有意な体重増加がみられたが、最初の 16 日間に概ね直線的に増加（約 2g/日）し、以降はほとんど増加がみられなかった。このことは、ラットにおける抗薬物抗体の形成に起因するものと考えられる。溶媒投与対照群では体重増加はみられなかった。hGH の 1 日 1 回投与による平均体重増加量は 40.1 g であり、体重の 40%の増加に相当した。



Note: Arrows are indicating the dosing times on Day 0, 7, 14 and 21 for somapacitan.
Abbreviations: hGH = human growth hormone.

図 2.6.2-8　ソマプシタン 14 nmol の週 1 回反復皮下投与ならびに溶媒及び hGH 2 nmol の 1 日 1 回反復皮下投与における下垂体摘出雄性ラットの体重増加量

IGF-I 濃度は約 50～100 ng/mL のベースラインから急速に上昇した（図 2.6.2-9）。最高濃度は 650～850 ng/mL であり、投与後 2～4 日に認められた。次回投与前までに、IGF-I 濃度は再びベースラインまで急速に低下した。IGF-I 濃度の急速な上昇は、各投与間隔で最初に認められた体重増加と時期が一致しており、濃度低下は、次回投与前の体重増加プロファイルと一致していた。

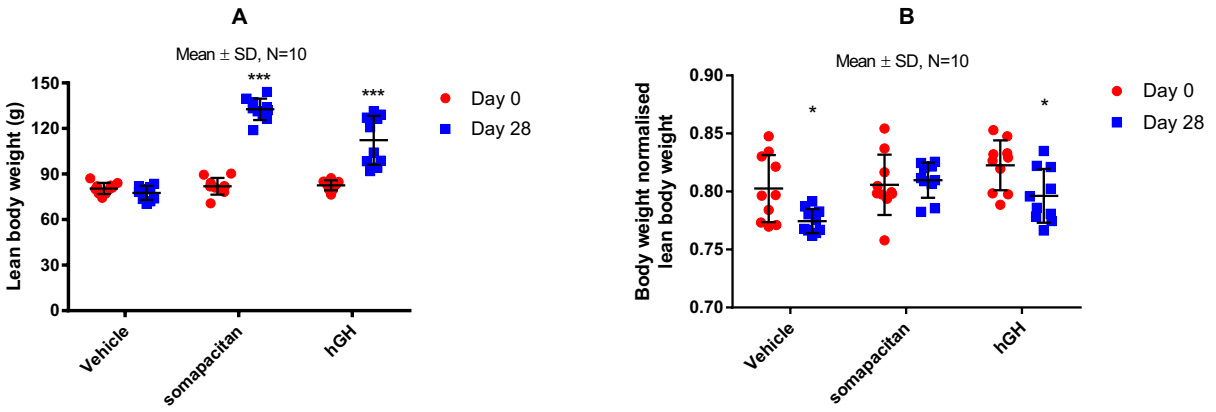


Note: Arrows indicate the dosing times on Days 0, 7, 14 and 21 for somapacitan.

図 2.6.2-9　溶媒及びソマプシタン 14 nmol の週 1 回（計 4 回）皮下投与ならびに hGH 2 nmol/の 1 日 1 回投与における下垂体摘出ラットの血漿中 IGF-I 濃度ー時間プロファイル

ソマプシタンの週 1 回投与群では、投与間隔ごとの IGF-I 濃度の変動及び段階的な体重増加が誘発された。その後、投与後 2～3 日に曝露プロファイルは最高値に達し、次回投与前には投与開始前の濃度に近いレベルまで急速に低下した。したがって、投与間隔ごとのソマプシタン又は IGF-I 濃度の累積は認められなかった。hGH の 1 日 1 回投与群では、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。しかしながら、このことは、hGH 投与前にトラフ試料を 1 回しか採取しておらず、各投与間隔における採血頻度が低かったことに起因すると考えられる。投与後最初の 2 週間は、一定の体重増加が認められた。

体重で標準化した体脂肪量及び除脂肪体重の変化を図 2.6.2-10 及び図 2.6.2-11 に示す。



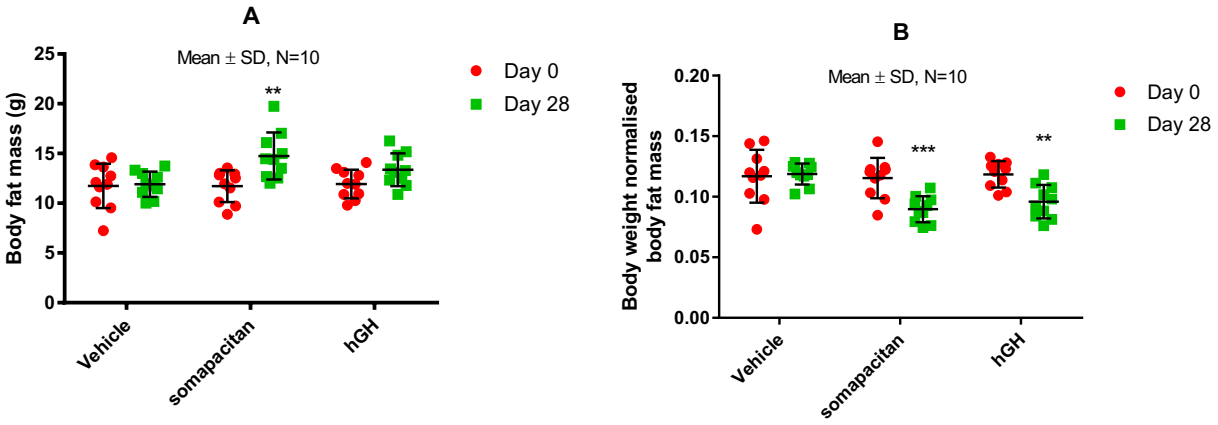
Note: Panel A shows lean body weight, and Panel B shows body weight normalised lean body weight. One-way ANOVA, Newman-Keuls multiple comparisons test.

***p<0.001 vs. Day 0, *p<0.05 vs. Day 0.

Abbreviations: hGH = human growth hormone.

図 2.6.2-10　溶媒及びソマプシタン 14 nmol の週 1 回（計 4 回）皮下投与ならびに hGH 2 nmol の 1 日 1 回投与における除脂肪体重及び体重で標準化した除脂肪体重

第 28 日時点で、ソマプシタンの週 1 回投与群及び hGH の 1 日 1 回投与群における除脂肪体重は、溶媒投与対照群と比較して有意に増加したことが認められた。体重で標準化した除脂肪体重は、ソマプシタンの週 1 回投与群では変化がみられなかったが、溶媒投与対照群及び hGH の 1 日 1 回投与群ではわずかながら有意に減少した。hGH の 1 日 1 回投与群における除脂肪体重の減少は予測されなかったが、投与後 16 日以降に成長が止まったことにより実証された。



Note: Panel A shows body fat mass, and Panel B shows body weight normalised body fat mass. One-way ANOVA, Newman-Keuls multiple comparisons test.

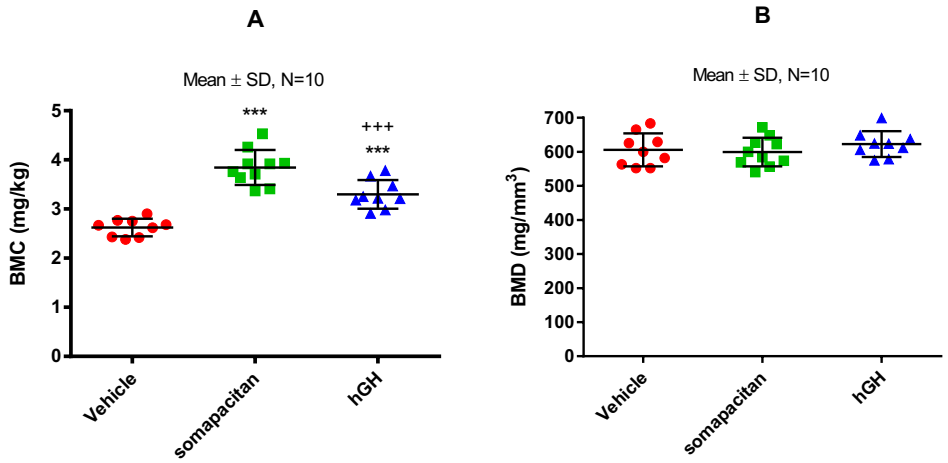
***p<0.001 vs. Day 0, **p<0.01 vs. Day 0.

Abbreviations: hGH = human growth hormone.

図 2.6.2-11　溶媒及びソマプシタン 14 nmol の週 1 回（計 4 回）皮下投与ならびに hGH 2 nmol の 1 日 1 回投与における体脂肪量及び体重で標準化した体脂肪量

第 28 日時点で、ソマプシタンの週 1 回投与群では絶対体脂肪量が有意に増加していたが、hGH の 1 日 1 回投与群及び溶媒投与対照群では大きな変化は認められなかった。また、ソマプシタンの週 1 回投与群及び hGH の 1 日 1 回投与群では、体重で標準化した体脂肪量が第 28 日時点で有意に減少していたが、溶媒投与対照群では変化は認められなかった。

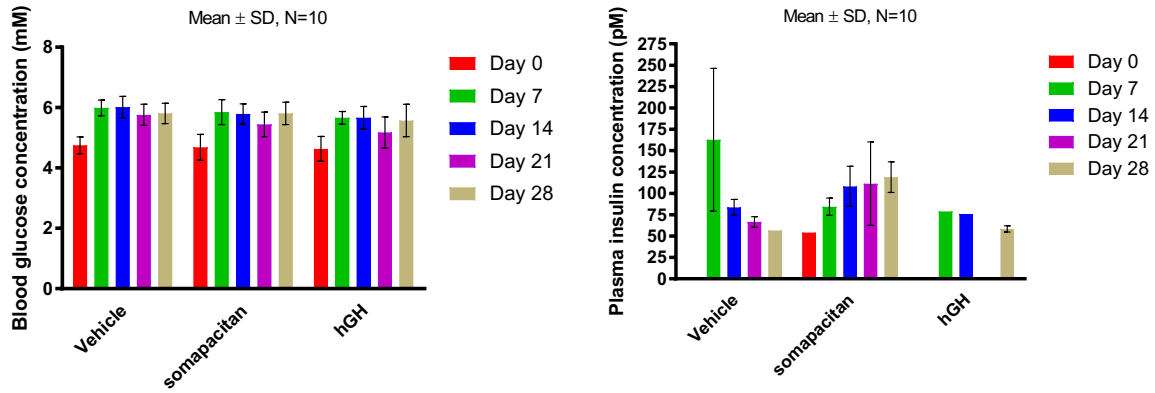
ソマプシタンの週 1 回投与群及び hGH の 1 日 1 回投与群の BMC は、溶媒投与対照群と比較して有意に増加しており、さらに、ソマプシタンの週 1 回投与群の BMC 増加量は hGH の 1 日 1 回投与群より著しく大きかった。BMD に変化はみられなかった（図 2.6.2-12）。本データから、ソマプシタン及び hGH の投与後にみられた骨量の増加は、骨容量の比例的な増加を伴うことが示唆された。



Note: Panel A shows BMC, and Panel B shows BMD. One-way ANOVA, Newman-Keuls multiple comparisons test.
Abbreviations: BMC = bone mineral content; BMD = bone mineral density; hGH = human growth hormone..
*** p<0.001 vs. Vehicle, +++ p<0.001 vs. somapacitan.

図 2.6.2-12　下垂体摘出ラットに対する溶媒及びソマプシタン 14 nmol の週 1 回（計 4 回）皮下投与ならびに hGH 2 nmol の 1 日 1 回投与後の骨端線から 10 mm の CT スキャン測定による脛骨の骨塩量及び骨密度

試験期間中、血糖値は正常範囲内（4.5～6.5 nmol/L）で安定しており、ソマプシタンの週 1 回投与群、hGH の 1 日 1 回投与群及び溶媒投与対照群における群間差は認められなかった。溶媒投与対照群では、インスリン濃度が見かけ上経時的に低下し、ソマプシタン投与群では濃度の上昇がみられた。しかしながら、濃度のばらつきにより統計学的有意差は認められなかった（図 2.6.2-13）。



Note: Missing bars in the insulin graph reflects that all concentration were below LLOQ of 50 pM.
Abbreviations: hGH = human growth hormone; LLOQ = lower limit of quantification.

図 2.6.2-13　溶媒及びソマプシタン 14 nmol の週 1 回（計 4 回）皮下投与ならびに hGH 2 nmol の 1 日 1 回投与後の下垂体摘出ラットにおける血糖値及び血漿インスリン濃度

［結論］

ソマプシタン及び hGH でみられた所見から、下垂体摘出ラットにおける投与に起因した体重増加は、筋重量及び骨量の増加量が体脂肪の増加量よりも大きかったことによるものと確認された。

2.6.2.2.2.4　サルにおける薬力学試験（Module 2.6.3.2、210056）

［目的］

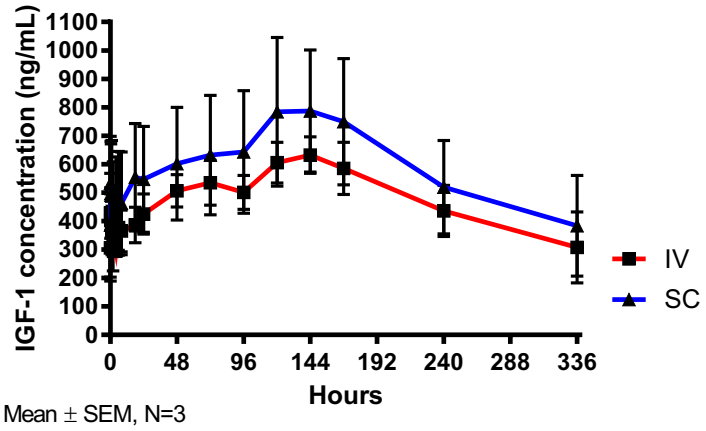
カニクイザルを用いた用量範囲設定試験（210056）の一部として、ソマプシタンを単回皮下投与及び単回 bolus 静脈内投与時の IGF-I プロファイルを評価した。

［材料及び方法］

雄性カニクイザル（3 例／群）にソマプシタン 21.5 nmol/kg（0.5 mg/kg）を静脈内又は皮下経路で単回投与した。血漿中 IGF-I 濃度を測定し、皮下及び静脈内投与プロファイルを比較した。

［結果］

雄性カニクイザルにおける IGF-I プロファイルを図 2.6.2-14 に示す。プロファイルに示したとおり、投与後最初の 24 時間では IGF-I 濃度に変化は認められなかった。ソマプシタンの静脈内及び皮下投与後に得られた IGF-I 濃度はほぼ同様であった。



Note: Predose levels of IGF-I were 334-508 ng/mL.
Abbreviations: IGF-1 = insulin-like growth factor-I; IV = intravenous(-ly); SC = subcutaneous(-ly).

図 2.6.2-14　雄性カニクイザルに対するソマプシタン 21.5 nmol/kg の静脈内及び皮下への単回投与後における血漿中 IGF-I 濃度

［結論］

本試験から、皮下投与により最大作用が得られることが示唆された。

2.6.2.2.2.5　ミニブタにおける薬力学試験（Module 2.6.3.2、[redacted]091101）

［目的］

Göttingen 種ミニブタを用いた単回投与薬物動態試験（[redacted]091101）の一部として、ソマプシタンを単回皮下投与及び単回 bolus 静脈内投与時の IGF-I プロファイルを評価した。

［材料及び方法］

雄性 Göttingen 種ミニブタ（4 例／群）にソマプシタン 10 nmol/kg（0.2 mg/kg）を静脈内又は皮下経路で単回投与した。血漿中 IGF-I 濃度を測定し、皮下及び静脈内投与プロファイルを比較した。

［結果］

雄性 Göttingen 種ミニブタにおける IGF-I プロファイルを図 2.6.2-15 に示す。ソマプシタンを皮下投与後のバイオアベイラビリティは 36%と推定されたものの、ミニブタの循環血中 IGF-I 濃度は静脈内及び皮下投与で同様であった。したがって、皮下投与後のソマプシタンの曝露量が約 1/3 に減少したことにより、静脈内投与後と同様の IGF-I 反応が誘発されたと考えられる。

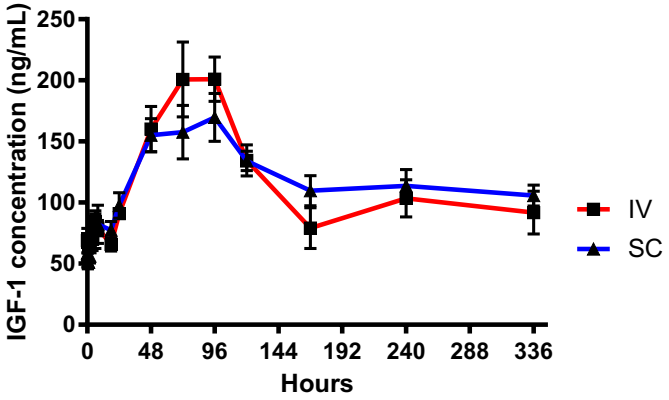


図 2.6.2-15　雄性 Göttingen ミニブタに対するソマプシタン 10 nmol/kg の静脈内及び皮下への単回投与後における血漿中 IGF-I 濃度

［結論］

本試験から、皮下投与での曝露量によりソマプシタンの最大作用が得られた、あるいはソマプシタン濃度と血漿中 IGF-I 濃度には直接的な直線関係がないことのいずれかが示された。

2.6.2.3　副次的薬理試験

In vitro オフターゲット結合試験（Module 2.6.3.3、211077）において、68 種の受容体測定法でのソマプシタンの結合性を、放射性リガンド結合試験により評価した。濃度 3 µmol/L（70 µg/mL）で、ソマプシタンは、68 種の受容体測定法のいずれにおいても有意（>50%）な阻害を生じなかった。この濃度は、ヒトへの 8 mg/週の投与における C_{max} 曝露量である 62.7 ng/mL の約 1000 倍に相当する。このことから、ソマプシタンによるオフターゲット効果の発生の可能性は低いと考えられる。

2.6.2.4　安全性薬理試験

ソマプシタンの安全性薬理に関する検討は、ICH S7A[11]、S7B[12]及び M3（R2）[13]ガイドラインに従って実施し、重要な臓器機能〔中枢神経系（CNS］、心血管系及び呼吸器系）への影響を評価した。

hERG パッチクランプ法及びウサギのプルキンエ線維活動電位試験の 2 種類の *in vitro* 試験を実施した。CNS、呼吸器系及び心血管系の機能に関する *in vivo* 評価は、カニクイザルを用いた反復投与毒性試験の一部に組み入れた。

2.6.2.4.1　心血管系への影響

2.6.2.4.1.1　安定的にトランスフェクトされた HEK293 細胞からの hERG テール電流記録に及ぼす影響（Module 2.6.3.4、211037）

hERG cDNA により安定的にトランスフェクトされた HEK293 細胞を使用し、ソマプシタンによる hERG イオンチャネルテール電流に及ぼす影響を、パッチクランプ法を用いて記録・評価した。4 個の細胞を用いてソマプシタン及び溶媒による影響を検討した。

3 µmol/L（70 µg/mL）の濃度のソマプシタンを灌流したが、溶媒と比較して hERG イオンチャネルテール電流の阻害は認められなかった。

2.6.2.4.1.2　ウサギの心臓プルキンエ線維の活動電位パラメータに及ぼす影響（Module 2.6.3.4、211039）

ウサギ摘出プルキンエ線維の心筋活動電位に対するソマプシタンの影響を検討し、心室再分極への影響を評価した。ソマプシタン処理群及び溶媒対照群の各群 4 用量を処理した。ウサギ摘出プルキンエ線維を順次、濃度 0.03、0.3 及び 3 µmol/L のソマプシタン又は溶媒に約 30 分間曝露させた。

ソマプシタンによる心筋活動電位に対する影響は、溶媒と比較しても認められなかった。以上のことから、血漿中濃度が 3 µmol/L（70 µg/mL）までのソマプシタンが心室再分極に直接的な影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

2.6.2.4.1.3　カニクイザルの心血管系パラメータに及ぼす影響（Module 2.6.3.4、210470、210471、212203）

心血管系の評価は、カニクイザルを用いた 2、13 及び 26 週間反復投与毒性試験に組み込れた。最大 9.0 mg/kg（週に 2 回）を投与した 2 週間試験（210470）において、ソマプシタンによる血圧（tail-cuff 法で測定）、心拍数及び ECG（標準的な四肢誘導で測定）での変化は認められなかった。また、カニクイザルに対し最大 9 mg/kg（週に 2 回）を投与した 13 週間（210471）及び 26 週間（212203）反復投与毒性試験において、QT 間隔を含む ECG に及ぼす影響はみられなかった。

2.6.2.4.2　中枢神経系に及ぼす影響

カニクイザルを用いた 2 週間反復投与毒性試験に神経行動学的評価（Irwin の変法）を組み込れ、投与前、第 2 及び 13 日に実施した。いずれの用量（0.4、2.0 及び 9.0 mg/kg、週 2 回投与）においても、ソマプシタンによる試験動物の行動に及ぼす影響は認められなかった。

2.6.2.4.3　呼吸器系に及ぼす影響

2.6.2.4.3.1　カニクイザルを用いた呼吸器系に関する評価（Module 2.6.3.4、210470）

呼吸機能（30 秒間の呼吸数測定値）は、2 週間毒性試験で実施した神経行動学的観察と併せて評価した。いずれの用量（0.4、2.0 及び 9.0 mg/kg、週 2 回投与）においても、ソマプシタンによるカニクイザルの呼吸数に及ぼす影響は認められなかった。

2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用試験

ソマプシタンに関する非臨床薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。ソマプシタンの薬力学的薬物相互作用は、市販されている 1 日 1 回投与の GH 製剤の作用と同一であると考えられる[14,15]。

2.6.2.6　考察及び結論

ラット初代肝細胞及びヒト HuH-7 細胞における用量及び時間依存的な P-STAT5 の活性化は、hGH とソマプシタンで同様であった。hGH における下流シグナル伝達経路の受容体活性化は、ソマプシタンと比較してわずかに速く、かつ強かったが、これは受容体親和性の差異に起因すると考えられる。ソマプシタン及び hGH の受容体脱感作の動態は同様であった。また、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 の効力と比較して低かった。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。

下垂体摘出ラット、ミニブタ及びカニクイザルを用いた結果、ソマプシタンの単回皮下投与により IGF-I 濃度が上昇し、4～10 日間持続することが示された。IGF-I 濃度の上昇及び持続化は、静脈内及び皮下投与のいずれにおいても同様であった。

下垂体摘出ラットにソマプシタンを反復皮下投与した結果、投与間隔ごとの段階的な体重増加及び IGF-I 濃度－時間プロファイルの変動が示された。また、反復投与によって、除脂肪体重の増加及び体脂肪量の減少を伴う体組成の有意な変化、ならびに骨及び筋肉の有意な増殖が誘発された。

*不純物A　の有効期間内規格が示されている製造直後及び有効期間内ロットに関して、下垂体摘出ラットにおける薬力学的作用の差異は認められず、有効期間内ロットは完全な薬力学的作用を有することが支持された。

安全性薬理評価の結果、カニクイザルにおける最大曝露量（78900 ng/mL、9 mg/kg を週 2 回投与）は、最大臨床推奨用量（MRHD、8 mg／週）でのヒトにおける曝露量（62.7 ng/mL）の 1000 倍以上に相当し、オフターゲット効果が発生する可能性及びヒトの生命維持に関わる器官系に対する安全性の懸念は認められなかった。

結論として、薬理試験の結果、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、ソマプシタン及び GH 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。

参考文献

[1] Wells JA. Binding in the growth hormone receptor complex. Proc Natl Acad Sci USA. 1996;93(1):1-6.

[2] Walsh ST, Sylvester JE, Kossiakoff AA. The high- and low-affinity receptor binding sites of growth hormone are allosterically coupled. Proc Natl Acad Sci USA. 2004;101(49):17078-83.

[3] Lichanska AM, Waters MJ. New insights into growth hormone receptor function and clinical implications. Horm Res. 2008;69(3):138-45.

[4] Brooks AJ, Wooh JW, Tunny KA, Waters MJ. Growth hormone receptor; mechanism of action. Int J Biochem Cell Biol. 2008;40(10):1984-9.

[5] Nakabayashi H, Taketa K, Miyano K, Yamane T, Sato J. Growth of human hepatoma cell lines with differentiated functions in chemically defined medium. Cancer Res. 1982;42(9):3858-63.

[6] Bhattacharya AA, Curry S, Franks NP. Binding of the general anesthetics propofol and halothane to human serum albumin. High resolution crystal structures. J Biol Chem. 2000;275(49):38731-8.

[7] Nielsen AD, Borch K, Westh P. Thermochemistry of the specific binding of C12 surfactants to bovine serum albumin. Biochim Biophys Acta. 2000;1479(1-2):321-31.

[8] Brabant G. Insulin-like growth factor-I: marker for diagnosis of acromegaly and monitoring the efficacy of treatment. Eur J Endocrinol. 2003;148 Suppl 2:S15-20.

[9] Ezzat S, Fear S, Gaillard RC, Gayle C, Marcovitz S, Mattioni T, et al. Circulating IGF-I levels in monitoring and predicting efficacy during long-term GH treatment of GH-deficient adults. Eur J Endocrinol. 2003;149(6):499-509.

[10] Novo Nordisk A/S. Dose response study of the long acting growth hormone derivative NNC 126-0083 in hypophysectomised Sprague Dawley rats, Study Report. Study No. PTT060101. 19 May 2006.

[11] ICH S7A. Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceuticals. Current Step 4 version, dated 8 November 2000.

[12] ICH S7B. The Non-clinical Evaluation of the Potential for Delayed Ventricular Repolarization (QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceuticals. Current Step 4 version, dated 12 May 2005.

[13] 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.

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

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

ソマプシタン（遺伝子組換え）

2.6.3 薬理試験の概要表

ノボ ノルディスク ファーマ株式会社

目次

ページ

目次 2
2.6.3.1 薬理試験の概要表 3
2.6.3.2 効力を裏付ける試験 5
2.6.3.3 副次的薬理試験 8
2.6.3.4 安全性薬理試験 9
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 10

2.6.3.1 薬理試験の概要表

Test article: somapacitan

Type of study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study ID	Location in CTD
Primary pharmacodynamics					
Receptor pharmacological characterisation of "fresh" and "end-of-shelf life" batches of somapacitan	Ba/F-3 cell proliferation assay Surface plasmon resonance analysis	*In vitro*	Novo Nordisk, DK	[redacted]130607	4.2.1.1-1
Effect of somapacitan in cellular liver assays	Cellular assays; primary rat hepatocytes and the HuH-7 human hepatoma cell line	*In vitro*	Novo Nordisk, DK	307728	4.2.1.1-2
Somapacitan albumin binding	Protein crystallisation Surface plasmon resonance analysis Isothermal titration calorimetry	*In vitro*	Novo Nordisk, DK	311856	4.2.1.1-3
Dose response study of somapacitan in hypophysectomised Sprague Dawley rats	Hypophysectomised Sprague Dawley rat	s.c.	Novo Nordisk, DK	[redacted]100604	4.2.1.1-4
Pharmacodynamic characterisation of somapacitan end-of-shelf-life product in hypophysectomised Sprague Dawley rats	Hypophysectomised Sprague Dawley rat	s.c.	Novo Nordisk, DK	[redacted]130606	4.2.1.1-5
Effect of once weekly subcutaneous dosing of somapacitan and daily subcutaneous dosing of human growth hormone on the pharmacodynamics in hypophysectomised Sprague Dawley rats	Hypophysectomised Sprague Dawley rat	s.c.	Novo Nordisk, DK	[redacted]110103	4.2.1.1-6

Type of study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study ID	Location in CTD
Dose range finding study by subcutaneous administration and pharmacokinetic study by subcutaneous and intravenous administration to cynomolgus monkeys	Cynomolgus monkey	s.c., i.v.	[redacted], UK	210056 (part of toxicity study)	4.2.3.2-1
Pharmacokinetics of NNC0195-0089, NNC0195-0090 and somapacitan after single dose, i.v. and s.c. administration in Göttingen minipigs	Göttingen minipig	s.c., i.v.	[redacted], DK	[redacted]091101	4.2.2.2-2
Secondary pharmacodynamics					
Effect on receptor profiling screen	Receptors/selectivity	*In vitro*	[redacted], Taiwan	211077	4.2.1.2-1
Safety pharmacology					
Effect on hERG tail current	HEK293 transfected cells	Perfusion, *in vitro*	[redacted], UK	211037	4.2.1.3-1
Effect on action potential parameters	Rabbit Purkinje fibres	Perfusion, *in vitro*	[redacted], Italy	211039	4.2.1.3-2
2-week repeat-dose toxicity study including cardiovascular system, central nervous system and respiratory system	Cynomolgus monkey	s.c.	[redacted], UK	210470 (part of toxicity study)	4.2.3.2-7
13-week repeat-dose toxicity study including ECG	Cynomolgus monkey	s.c.	[redacted], UK	210471 (part of toxicity study)	4.2.3.2-8
26-week repeat-dose toxicity study including ECG	Cynomolgus monkey	s.c.	[redacted], UK	212203 (part of toxicity study)	4.2.3.2-9
Pharmacodynamic drug interactions					
No studies performed					

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

Type of study[a]	Test system or species/strain	Method of administration	Doses[b]	Gender and no. per group	Noteworthy findings and conclusions	Study ID
Receptor pharmacological characterisation of "fresh" and end-of-shelf-life batches of somapacitan	Surface plasmon resonance analysis *In vitro* Ba/F-3 cells proliferation assay	N/A	N/A	N/A	It was confirmed that somapacitan binds to GHBP, HSA, hGH receptor and hPRL receptor *in vitro*. Its potencies were identical to hGH for GHBP and was 8-fold lower than that of hGH and 25-fold lower than that of hPRL. No difference in potency between the tested batches was observed, supporting full pharmacological effect of the end of shelf-life batch.	[redacted]130607
Effect of somapacitan in cellular liver assays	Cellular assays; primary rat hepatocytes and the HuH-7 human hepatoma cell line	N/A	N/A	N/A	Very similar GH receptor activation and desensitisation responses are observed in the rat and human cellular systems for somapacitan and hGH after time and dose-dependent GH receptor activation.	307728
Somapacitan albumin binding	Protein crystallisation Surface plasmon resonance analysis Isothermal titration calorimetry Mass spectrometry; human plasma	N/A	N/A	N/A	High affinity binding site on albumin identified at fatty acid binding site 5 (FA5). Serum albumin was by far the most abundant protein identified binding somapacitan (at least 100 times more abundant than other plasma proteins).	311856
Dose response study of somapacitan in hypophysectomised Sprague Dawley rats	Hypophysectomised Sprague Dawley rat	s.c.	0.023, 0.12, 0.35, 1.16 and 3.50 mg (1, 5, 15, 50 and 150 nmol)	10M	Somapacitan induced a dose-dependent increase in body weight over 7 days. IGF-I plasma concentrations increased dose-independently to peak levels of 750-1000 ng/mL 1-3 days after dosing and declined again in a dose-dependent manner over the 7-day study period with the fastest decline seen with the lowest dose levels. The nose-to-tail length increased 1-1.5 cm for	[redacted]100604

Type of study[a]	Test system or species/strain	Method of administration	Doses[b]	Gender and no. per group	Noteworthy findings and conclusions	Study ID
					dose levels 0.023-3.50 mg, whereas dose levels 35 mg/kg increased the nose-to-tail length 2-2.5 cm. No hyperinsulinemia or reduction in insulin sensitivity was observed. All glucose concentrations were within the normo-glycaemic range.	
Pharmacodynamic characterisation of somapacitan, end-of-shelf-life product in hypophysectomised Sprague Dawley rats	Sprague Dawley rat	s.c.	0.03, 0.35 and 3.50 mg (1.5, 15 and 150 nmol)	10M	No significant differences were observed in the pharmacodynamic properties of "fresh" and end-of-shelf-life batches of somapacitan after s.c. administration to hypophysectomised Sprague Dawley rats.	[redacted]130606
Effect of once-weekly s.c. dosing of somapacitan and daily s.c. dosing of human GH on the pharmacodynamics in hypophysectomised Sprague Dawley rats	Hypophysectomised Sprague Dawley rat	s.c.	0.33 mg (14 nmol)	10M	Somapacitan induced a step-wise increase in body weight associated with a fluctuating IGF-I concentration within each dosing interval. Daily dosing of hGH induced a near linear increase in body weight for the first two weeks followed by an almost constant body weight for the rest of the study period. The IGF-I concentration increased initially and remained within a narrow interval during the entire study. Somapacitan had a more pronounced effect on changes in body composition and tibia bone growth compared to vehicle than hGH. The treatment-induced increase in body weight could be explained by an increase in muscle and bone weight and not an increase in body fat mass or water retentions. No hyperinsulinemia or reduction in insulin sensitivity was observed.	[redacted]110103
Somapacitan dose range finding study by s.c. administration and pharmacokinetic study by s.c. and i.v. administration to cynomolgus	Cynomolgus monkey	s.c., i.v.	0.5 mg/kg	3M	IGF-I concentrations increased from pre-dose levels of 400-500 ng/mL to peak levels of approximately 600-800 ng/mL. Peak levels were measured between 120-144 hr (5–6 days)	210056 (part of toxicity study)

Type of study[a]	Test system or species/strain	Method of administration	Doses[b]	Gender and no. per group	Noteworthy findings and conclusions	Study ID
monkeys					post dosing. Increased IGF-I levels were measured for at least 240 hr (10 days) compared to pre-dose levels. IGF-I concentrations declined again to pre-dose levels 336 hr (14 days) post dosing.	
Pharmacokinetics of NNC0195-0089, NNC0195-0090 and somapacitan after single dose, i.v. and s.c. administration in Göttingen minipigs	Göttingen minipig	s.c., i.v.	0.2 mg/kg	4M	The level of circulating IGF-I was almost similar in minipigs after i.v. and s.c. administration although the bioavailability of somapacitan was estimated to be only 36% after s.c. administration. An approximately 3-fold lower exposure of somapacitan after s.c. administration could therefore induce an almost similar IGF-I response as that measured after i.v. administration, indicating no directly linear relationship between somapacitan plasma concentration and IGF-I plasma concentration.	[redacted]091101

[a]Non-GLP compliant study. [b]Single dose unless specified otherwise.

2.6.3.3 副次的薬理試験

Type of study[a]	Test system or species/strain	Method of administration	Doses	Gender and no. per group	Noteworthy findings and conclusions	Study ID
Effect on receptor profiling screen	Receptors/selectivity	*In vitro*	3 µmol/L	N/A	Binding activity of somapacitan in 68 different receptor assays using a radio ligand binding assay receptor screen assay demonstrated that somapacitan did not cause significant (>50%) inhibition in any of the 68 receptor binding assays at a concentration of 3 µmol/L.	211077

[a]Non-GLP compliant study.

2.6.3.4 安全性薬理試験

Test article: somapacitan

Organ systems evaluated	Species/ strain	Method of administration	Doses[a] (mg/kg)	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP compliance	Study ID
Cardiovascular system *in vitro*	HEK293 stably transfected with hERG cDNA	Perfusion	3 µmol/L	n=4 cells for both vehicle and test substance groups	No significant inhibition of hERG tail current was observed when compared to the vehicle.	Yes	211037
Cardiovascular system *in vitro*	Rabbit Purkinje fibres	Perfusion	0.03, 0.3 and 3 µmol/L	n=4 fibres for both vehicle and test substance groups	No significant effect on action potentials (RMP, UA, MRD, APD_{60}, APD_{90} or APD_{60-90}) when compared to vehicle-treated fibres.	Yes	211039
CNS, respiratory and cardiovascular system *in vivo*	Cynomolgus monkey	s.c.	0, 0.4, 2.0 and 9.0 twice weekly for 2 weeks	3M+3F	No noteworthy findings in blood pressure, heart rate, ECG, respiratory rate or behaviour.	Yes	210470 (part of toxicity study)
Cardiovascular system *in vivo*	Cynomolgus monkey	s.c.	0, 0.4, 2.0 and 9.0 twice weekly for 13 weeks	3-5M + 3-5F	No effects on ECG or heart rate.	Yes	210471 (part of toxicity study)
Cardiovascular system *in vivo*	Cynomolgus monkey	s.c.	0, 0.4, 2.0 and 9.0 twice weekly for 26 weeks	3-5M + 3-5F	No effects on ECG or heart rate.	Yes	212203 (part of toxicity study)

[a]Single dose unless specified otherwise.

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

No studies performed - rationale provided in Nonclinical Summary 2.6.2.5.