ソマプシタン（遺伝子組換え）

2.6.6 毒性試験の概要文

ノボ ノルディスク ファーマ株式会社

目次

ページ

目次 2
表目次 4
略語一覧 6
2.6.6.1 まとめ 10
2.6.6.1.1 毒性試験プログラム 10
2.6.6.1.1.1 動物種の適格性 11
2.6.6.1.1.2 一般毒性試験 12
2.6.6.1.1.2.1 ラットを用いた 1 日 1 回投与による反復投与毒性試験 12
2.6.6.1.1.2.2 ラットを用いた週 2 回投与による反復投与毒性試験 12
2.6.6.1.1.2.3 カニクイザルを用いた反復投与毒性試験 13
2.6.6.1.1.3 遺伝毒性試験 13
2.6.6.1.1.4 がん原性試験 13
2.6.6.1.1.5 生殖発生毒性試験 14
2.6.6.1.1.6 局所刺激性 15
2.6.6.1.1.7 不純物及び有効期間内規格 15
2.6.6.1.1.8 結論 15
2.6.6.1.2 試験概要の概論 15
2.6.6.2 単回投与毒性試験 16
2.6.6.3 反復投与毒性試験 16
2.6.6.3.1 ラットにおける試験 17
2.6.6.3.1.1 ラットを用いた 2 週間用量範囲設定毒性試験及び 2 週間回復性試験（Module 2.6.7.6、210055） 17
2.6.6.3.1.2 Wistar Hannover 系ラットへの 2 週間皮下投与を行った毒性試験（Module 2.6.7.7.A、210472） 18
2.6.6.3.1.3 Wistar Hannover 系ラットを用いた 13 週間反復皮下投与毒性試験及び 2 週間回復性試験（Module 2.6.7.7.B、211355） 22
2.6.6.3.1.3.1 糖尿病の発症に関連すると考えられる所見 23
2.6.6.3.1.3.2 GH の薬理作用に関連すると考えられる病理組織学的所見 24
2.6.6.3.1.4 Wistar Hannover 系ラットに対する 26 週間反復皮下投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（Module 2.6.7.7.C、212304） 25
2.6.6.3.2 サルを用いた試験 28

2.6.6.3.2.1 カニクイザルを用いた用量範囲設定試験（皮下投与）及び薬物動態試験（皮下及び静脈内投与）（Module 2.6.7.6, 210056） 28
2.6.6.3.2.2 カニクイザルを用いた 2 週間皮下投与毒性試験（Module 2.6.7.7.D、210470） 29
2.6.6.3.2.3 カニクイザルにおける 13 週間皮下投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（Module 2.6.7.7.E、210471） 30
2.6.6.3.2.4 カニクイザルにおける 26 週間皮下投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（Module 2.6.7.7.F、212203） 31
2.6.6.4 遺伝毒性試験 33
2.6.6.4.1 *In vitro* 遺伝毒性試験 33
2.6.6.4.1.1 *In silico* 評価 33
2.6.6.4.1.2 5 種のヒスチジン要求性菌株（ネズミチフス菌）を用いたプレート法による復帰突然変異試験（Module 2.6.7.8.A、211097） 33
2.6.6.4.1.3 培養したヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（Module 2.6.7.8.B、211098） 33
2.6.6.4.2 *In vivo* 遺伝毒性試験 34
2.6.6.4.2.1 ソマプシタン投与群ラットの骨髄を用いた小核試験（Module 2.6.7.9、211299） 34
2.6.6.5 がん原性試験 34
2.6.6.6 生殖発生毒性試験 36
2.6.6.6.1 受胎能及び初期胚発生に関する試験 37
2.6.6.6.1.1 雄性 Wistar Hannover 系ラットを用いた皮下投与による受胎能に及ぼす影響に関する試験（Module 2.6.7.12.A, 212376） 37
2.6.6.6.1.2 雌性 Wistar Hannover 系ラットを用いた皮下投与による受胎能及び初期胚発生に関する試験（Module 2.6.7.12.B, 212412） 38
2.6.6.6.2 胚・胎児の発生に関する試験 39
2.6.6.6.2.1 Wistar Hannover 系ラットを用いた皮下投与による EFD 試験（予備試験）（Module 2.6.7.11、211298） 39
2.6.6.6.2.2 Wistar Hannover 系ラットを用いた皮下投与による EFD 試験（Module 2.6.7.13.A、212178） 40
2.6.6.6.2.3 妊娠ウサギを用いた皮下投与による忍容性試験（Module 2.6.7.11、211296） 41
2.6.6.6.2.4 ニュージーランドホワイト種ウサギを用いた皮下投与による EFD 試験（Module 2.6.7.13.B、212177） 42
2.6.6.6.3 母体機能を含む出生前及び出生後の発生に関する試験 43
2.6.6.6.3.1 Wistar Hannover 系ラットを用いた皮下投与による PPND 試験（予備試験）（Module 2.6.7.11、214468） 43

2.6.6.6.3.2　Wistar Hannover 系ラットへの週 2 回皮下投与による PPND 試験（Module 2.6.7.14、214469）.....44
2.6.6.6.4　幼若動物を用いた試験.....46
2.6.6.7　局所刺激性試験.....46
2.6.6.8　その他の毒性試験.....47
2.6.6.8.1　ソマプシタンの肝細胞増殖に及ぼす影響の検討.....47
2.6.6.8.1.1　試験番号 210471 の肝組織における Ki67 陽性細胞数の定量（Module 2.6.7.17、211425）.....47
2.6.6.8.1.2　試験番号 212203 の肝組織における Ki67 陽性細胞数の定量（Module 2.6.7.17、213066）.....47
2.6.6.8.1.3　結論.....47
2.6.6.8.2　目的物質由来不純物の評価.....47
2.6.6.8.3　市販予定ソマプシタン製剤に含まれる添加剤の評価.....48
2.6.6.9　考察及び結論.....49
2.6.6.9.1　考察.....49
2.6.6.9.2　結論.....52
参考文献.....53

表目次

ページ

表 2.6.6-1　毒性試験の概要.....10
表 2.6.6-2　皮下投与による重要な反復投与毒性試験の概要.....17
表 2.6.6-3　ラットにおける 2 週間用量範囲設定毒性試験（210055）の投与群、用量及び動物数.....18
表 2.6.6-4　ラットにおける 2 週間皮下投与試験（210472）の投与群、用量及び動物数.....19
表 2.6.6-5　ラットにおける 13 週間皮下投与試験（211355）の投与群、用量及び動物数.....22
表 2.6.6-6　ラットを用いた 26 週間皮下投与試験（212304）の投与群、用量及び動物数.....25
表 2.6.6-7　雄性カニクイザルにおける用量範囲設定試験及び PK 試験（210056）の投与群、用量及び動物数.....28
表 2.6.6-8　カニクイザルにおける 2 週間皮下投与試験（210470）の投与群、用量及び動物数.....29
表 2.6.6-9　カニクイザルにおける 13 週間皮下投与試験（210471）の投与群、用量及び動物数.....30
表 2.6.6-10　カニクイザルにおける 26 週間皮下投与試験（212203）の投与群、用量及び動物数.....32
表 2.6.6-11　重要な生殖発生毒性試験の概要.....36
表 2.6.6-12　雄性 Wistar Hannover 系ラットを用いた受胎能に及ぼす影響に関する試験（212376）の投与群、用量及び動物数.....37

表 2.6.6-13　雌性 Wistar Hannover 系ラットを用いた受胎能及び初期胚発生への影響に関する試験（212412）の投与群、用量及び動物数 38
表 2.6.6-14　Wistar Hannover 系ラットを用いた EFD 試験（予備試験）（211298）の投与群、用量及び動物数 39
表 2.6.6-15　Wistar Hannover 系ラットを用いた皮下投与による EFD 試験（212178）の投与群、用量及び動物数 40
表 2.6.6-16　妊娠ウサギへの皮下投与による忍容性試験（211296） 42
表 2.6.6-17　ニュージーランドホワイト種ウサギを用いた EFD 試験（212177） 42
表 2.6.6-18　ラットを用いた PPND 試験（予備試験）（214468） 44
表 2.6.6-19　ラットを用いた PPND 試験（214469） 45
表 2.6.6-20　非臨床試験において適格性が認められた不純物－実生産ロットの有効期間内規格案の算出比 48

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（高速液体グロマトグラフィー）
UPLC-MS	:	ultra performance liquid chromatography and mass spectrometry（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（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。

2.6.6.1　まとめ

2.6.6.1.1　毒性試験プログラム

ソマプシタンの毒性試験プログラムは、成人成長ホルモン分泌不全症（以下 AGHD）治療における長期投与を支持することを目的とし、日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）の新規医薬品に関する ICH M3（R2）[1]及び ICH S6（R1）[2]ガイドラインに従って策定した。重要な試験の一覧を表 2.6.6-1 に示す。重要な非臨床安全性試験はいずれも医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に従って、OECD のデータ相互受け入れ制度に参加する加盟国において実施した。

表 2.6.6-1　　毒性試験の概要

Study type and duration	**Route of administration**	**Species**
Repeat-dose toxicity		
Dose-range finding	s.c.	Rat
Dose-range finding and pharmacokinetics	s.c., i.v.	Monkey
2 weeks	s.c.	Rat and monkey
13 weeks with 2 weeks of recovery	s.c.	Rat
13 weeks with 4 weeks of recovery	s.c.	Monkey
26 weeks with 4 weeks of recovery	s.c.	Rat
26 weeks with 6 weeks of recovery	s.c.	Monkey
Genotoxicity		
Ames test (reverse mutation in *Salmonella typhimurium*)	N/A	*In vitro*
Induction of chromosome aberration in cultured human lymphocyes	N/A	*In vitro*
Induction of micronuclei in the bone marrow of treated rats	s.c.	Rat
Reproductive and developmental toxicity		
Fertility study in male rats	s.c.	Rat
Fertility study in female rats	s.c.	Rat
Embryo-foetal development	s.c.	Rat and rabbit
Pre- and postnatal development	s.c.	Rat
Local tolerance		
Subcutaneous injection	s.c.	Rat and monkey
Unintended injection routes	i.m., i.v., i.a.	Rabbit

Study type and duration	Route of administration	Species
Other toxicity studies		
Quantification of Ki67 positive cells in histological liver tissue slides from repeat-dose toxicity studies	s.c.	Monkey
Impurities		
4-week bridging toxicity study	s.c.	Rat

Abbreviations: s.c. = subcutaneous(-ly); i.v. = intravenous(-ly); i.m. = intramuscular(-ly); i.a. = intraarterial(-ly); N/A = not applicable.

ICH S6（R1）ガイドライン[2]に従い、がん原性試験は実施しなかった。がん原性試験を実施しないことは、FDA、EMA（CHMP）及び PMDA において了承されている。2 種類の *in vitro* 遺伝毒性試験及び 1 種類の *in vivo* 遺伝毒性試験を実施し、ソマプシタンの遺伝毒性誘発性を検討した。ICH S5（R2）ガイドラインの推奨[3]に従い、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。局所刺激性は、反復投与毒性試験に組み入れ、ソマプシタン反復投与後に評価した。また、ウサギにおいて、臨床投与経路以外の経路への投与後に局所刺激性を検討した。

2.6.6.1.1.1　動物種の適格性

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。

ラットは他の成長ホルモン（GH）製剤の毒性試験において適格性が確認されており、ヒト成長ホルモン（hGH）への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 Module 2.6.2 を参照のこと）。げっ歯類と霊長類の成長ホルモン受容体（GHR）の生理活性には基本的に異なっている。ヒト及びサルにおいて、内因性 GH は GHR 及びプロラクチン受容体（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 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[4,5,6,7]。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に起因すると考えられる。サルでは、ソマプシタンの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。

カニクイザルにおいて、ヒト GH 及びソマプシタンは、カニクイザルの内因性成長ホルモンと同様に GHR 及び PRLR と結合する。

ラット及びカニクイザルにおいて、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。

2.6.6.1.1.2　一般毒性試験

2.6.6.1.1.2.1　ラットを用いた 1 日 1 回投与による反復投与毒性試験

2 週間及び 13 週間毒性試験では、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。

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

GH を投与したラットで同様の影響が認められていることから、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 は雌性動物で 2 mg/kg/日、雄性動物で 0.4 mg/kg/日であった。

2.6.6.1.1.2.2　ラットを用いた週 2 回投与による反復投与毒性試験

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 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り糖尿病の進行が改善するか検討した。26 週間毒性試験（週 2 回投与）及び 13 週間毒性試験（1 日 1 回投与）において 2 mg/kg 投与群の雄性動物でみられた所見を直接比較したところ、週 2 回投与では糖尿病及び CPN は認められず、投与により影響を受ける組織の範囲が減少するなど、有害と判断される過剰な薬理作用が低減したことが示された。

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 週間毒性試験において新たに認められた所見として、肝細胞の細胞分裂像の極微～軽微な増加がみられた。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。

2.6.6.1.1.2.3　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。

2.6.6.1.1.3　遺伝毒性試験

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。

2.6.6.1.1.4　がん原性試験

ソマプシタンのがん原性評価は、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に基づき実施した。

ICH S6（R1）ガイドラインによると、毒性試験で得られた重要なデータ、クラスエフェクトの情報及び重要な臨床データに基づきがん原性リスクが評価できる場合、バイオ医薬品のがん原性試験を実施する必要はないとされている [2]。

ソマプシタンの *in silico*、*in vitro* 又は *in vivo* 遺伝毒性評価では、変異原性の兆候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。

ラット及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験でみられた所見は、種々の器官の細胞増殖及び肥大といったソマプシタンの GH 部分に関する既知の薬理作用に関連するものであった。ラットは、低用量の曝露であっても肥大及び過形成の発現率が高いことから、サルと比較して hGH の影響に対する感受性が高いと考えられる。hGH に対する反応性がラットで高い理由は、おそらく PRLR の非生理的な活性化に起因すると考えられる。

ノルディトロピン及びその他の 1 日 1 回投与による GH 製剤の長期臨床使用に関する疫学的データからは、デノボ癌発症との関連性は示されなかった。このことに一致して、公表されているラット及びマウスに対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からは、ラット及びマウスの GH のがん原性は認められず、遺伝子導入マウスの GHR に対して特異的かつ過剰に刺激しても、腫瘍を発現しないことが示されている。

結論として、hGH による受容体活性化パターンは、げっ歯類、非ヒト霊長類及びヒト間で異なっている。したがって、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モデルとして、げっ歯類は適切でないと考えられる。

ヒトでは、hGH によりデノボ腫瘍の形成が亢進されることはないものの、現在市販されている GH 製剤のラベルに記載されているように、活動性悪性腫瘍の存在下における投与は禁忌とされている。ソマプシタンのがん原性は既存の GH 製剤と同様と考えられるため、げっ歯類を用いた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は寄与しないと考える。

2.6.6.1.1.5　生殖発生毒性試験

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。

18 mg/kg/日投与群のラットで妊娠第 10～13 日にみられた投与に関連した所見は、長骨の短小／彎曲／肥厚及び肋骨の彎曲であった。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。

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）投与群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おけ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、出生児の PPND に対する NOAEL は 18 mg/kg（週 2 回投与）と考えられた。

2.6.6.1.1.6　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。

2.6.6.1.1.7　不純物及び有効期間内規格

非臨床試験において有効期間内規格の適格性が確認された。また、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。

2.6.6.1.1.8　結論

毒性試験プログラムから、ソマプシタンの薬理作用に基づくと考えられる影響が確認された。これらは、直接的影響又はインスリン様成長因子-I（IGF-I）を介した二次的な影響であり、ノルディトロピン等の 1 日 1 回投与による hGH 製剤で報告されている所見と同様であった。

2.6.6.1.2　試験概要の概論

毒性試験の概要文及び概要表に示すすべての試験に関して、ソマプシタンの投与による影響があったと考えられる評価項目について記述、考察する。また、腫瘍に関する全所見についても検討する。特に明記しない限り、投与に関連した変化とは、対照群と比較して統計学的有意差があることを示す。統計学的有意差については概要表に示す。

有害でない、毒性学的意義のない又は毒性学的関連のない（同義として使用）と考えられた変化に関して、本概要文では用量や、どの性で認められた所見かといった詳細情報を提供しない場合がある。詳細は毒性試験の概要表を参照のこと。

重要な毒性試験はいずれも試験実施時のガイドラインに準拠して実施したことから、本概要では投与群及び評価項目に関して簡潔な記述に留めることとする。結果の解釈が重要でない限り試験デザインの詳細は記述しない。試験デザイン及び評価項目に関する詳細は、個別の試験報告書を参照のこと。

重要な試験の概要では、投与初日を「第 1 日」と表す。

対照群には、ソマプシタンの投与時に用いる溶媒と同一の溶媒を投与した。溶媒投与対照群は一般的に用いられているため、反復投与毒性試験におけるソマプシタン製剤の局所刺激性の評価が可能であった。

すべての重要な試験において、曝露の確認及びトキシコキネティクス（TK）の評価と併せて、濃度が適切か確認するため投与液分析を実施した。特に明記しない限り、ソマプシタン投与動物ではソマプシタンの曝露が認められ、溶媒投与動物ではソマプシタンの曝露は認められなかった。TK に関する情報は、所見の評価において意味があると考えられる場合のみ毒性試験の概要文に含める。ソマプシタンの TK に関する詳細を Module 2.6.4、2.6.5 及び 2.6.7 に示す。

ラットを用いた 13 週間までの反復投与毒性試験では、投与頻度を 1 日 1 回とした。13 週間毒性試験では、GH による既知の糖尿病促進作用に伴い大多数のラットに糖尿病様症状が発現したことから、26 週間毒性試験、受胎能試験及び PPND 試験では投与頻度を週 2 回へと減らした。EFD 試験の投与頻度は 1 日 1 回とした。カニクイザルへの投与頻度は、本動物種におけるソマプシタンの消失半減期の延長に合わせ、全試験で週 2 回とした。ウサギを用いた EFD 試験では、投与頻度を 2 日に 1 回とした。

2.6.6.2　単回投与毒性試験

非臨床安全性プログラムに単回投与毒性試験は組み入れなかった。

2.6.6.3　反復投与毒性試験

反復投与毒性試験は、Wistar Hannover 系ラット及びカニクイザルを用いた重要でない用量範囲設定試験、重要な 2 週間、13 週間及び 26 週間の毒性試験で構成された。

重要な反復投与毒性試験の概要を表 2.6.6-2 に示す。

表 2.6.6-2　　皮下投与による重要な反復投与毒性試験の概要

Species	Duration	Nominal dose levels (mg/kg)	NOAEL (mg/kg)	Effect(s) defining NOAEL	Study ID
Han Wistar rat	2 weeks	0, 0.4, 2, 9 daily administration	9	No treatment-related adverse changes	210472
Han Wistar rat	13 weeks	0, 0.4, 2, 9 daily administration	0.4 in males and 2 in females	Chronic progressive nephropathy	211355
Han Wistar rat	26 weeks	0, 1, 2, 4 twice weekly administration	4	No treatment-related adverse changes	212304
Cynomolgus monkey	2 weeks	0, 0.4, 2, 9 twice weekly administration	9	No treatment-related adverse changes	210470
Cynomolgus monkey	13 weeks	0, 0.4, 2, 9 twice weekly administration	9	No treatment-related adverse changes	210471
Cynomolgus monkey	26 weeks	0, 0.4, 2, 9 twice weekly administration	9	No treatment-related adverse changes	212203

Abbreviations: NOAEL = no observed adverse effect level.

2.6.6.3.1　ラットにおける試験

ラットにおける全試験で Wistar Hannover 系ラット系統を用いたことにより、開発中又は市販の他のヒト GH 製剤との比較が可能となった。ラットでは、すべての反復投与毒性試験において、反復投与後のソマプシタンへの曝露量が単回投与後の曝露量と比較して低下しており、反復投与後にクリアランスが上昇したことが示唆された（Module 2.6.4.3）。

げっ歯類において、ヒト GH は内因性 GHR 及び PRLR の双方に対し高い親和性を有しているが、げっ歯類の GH はげっ歯類の GH 受容体にしか結合しない。げっ歯類の内因性 GH とソマプシタンにおけるこのような受容体シグナル伝達の基本的な差異により、げっ歯類の hGH 又はソマプシタンへの曝露が GHR 及び PRLR の受容体活性化を惹起することが示される [4,5,6,7]。

2.6.6.3.1.1　ラットを用いた 2 週間用量範囲設定毒性試験及び 2 週間回復性試験（Module 2.6.7.6、210055）

本試験（GLP 非適用かつ重要でない試験）の目的は、Wistar Hannover 系ラットに対する 1 日 1 回の 2 週間皮下投与において、ソマプシタンによる全身毒性、抗薬物抗体（ADA）形成及び TK を評価する

ことであった。2 週間の回復期間終了時点で、投与に関連した消失すべき変化を評価した。投与群、用量及び各群の動物数を表 2.6.6-3 に示す。

表 2.6.6-3　　ラットにおける 2 週間用量範囲設定毒性試験（210055）の投与群、用量及び動物数

Group	Treatment	Nominal dose (mg/kg/day)	No. of animals			
			Main study		Recovery study	
			Males	Females	Males	Females
1	Control (vehicle)	0	3	2[a]	5	5
2	Somapacitan	0.4	3	3	5	5
3	Somapacitan	2	3	3	5	5
4	Somapacitan	8	3	3	5	5

[a]Two animals were terminated at Day 1 for humane reasons. One spare animal was included.

試験期間中に下記に示す項目を評価した：生存数、一般状態観察、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、ADA 形成、TK、総 IGF-I 値測定、肉眼的病理検査、選択した器官／組織の重量及び病理組織学的検査。

本試験期間中、29/30 例の動物に ADA 形成が認められた。全例で曝露が認められ、ADA による曝露量の低下の兆候はみられなかった。試験に用いたソマプシタン用量の忍容性は良好であった。投与期間中、体重増加及び摂餌量の増加がみられ、予測したとおり、投与に関連した IGF-I 値の上昇と一致する個体も認められた。回復期間中、体重増加量及び IGF-I 値は低下した。

血液学的検査、血液生化学的検査及び肉眼的病理検査において、有害所見は認められなかった。

肝臓（肝細胞の空胞形成ならびに染色希薄化の増加及び髄外造血）、脾臓（髄外造血）及び乳腺（小葉過形成）でみられた病理組織学的所見は有害ではなく、GH の薬理作用[8,9,10]に一致するものであった。

2.6.6.3.1.2　Wistar Hannover 系ラットへの 2 週間皮下投与を行った毒性試験（Module 2.6.7.7.A、210472）

本試験（重要な試験）の目的は、Wistar Hannover 系ラットを用いたソマプシタンの 2 週間投与（1 日 1 回）における全身毒性及び TK を評価することであった。投与群、用量及び各群の動物数を表 2.6.6-4 に示す。

表 2.6.6-4　　ラットにおける 2 週間皮下投与試験（210472）の投与群、用量及び動物数

Group	Treatment	Nominal dose (mg/kg/day)	No. of animals			
			Main study		Satellite study	
			Males	Females	Males	Females
1	Control (vehicle)	0	10	10	3	3
2	Somapacitan	0.4	10	10	9	9
3	Somapacitan	2	10	10	9	9
4	Somapacitan	9	10	10	9	9

Note: Satellite animals used for toxicokinetic sampling only.

投与期間中又は終了時に下記に示す項目を評価した：生存率、一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、末梢血及び骨髄の血液学的検査、ADA 形成、TK、総 IGF-I 測定、インスリン測定、血液生化学的検査、尿検査、器官重量、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査。

ADA 分析の結果、試験終了時点で雄性動物の約 50%及び雌性動物の 60%が ADA 陽性であり、群間差はみられなかった。全投与群で曝露が認められ、ADA による曝露量の減少の兆候はみられなかった。インスリン様成長因子を分析した結果、9 mg/kg/日を投与した雌雄動物で IGF-I 値の上昇が示されたが、統計学的有意差は認められなかった。ADA の存在と IGF-I 値に及ぼす影響に関連性はみられなかった。試験に用いた全用量群において、ソマプシタンの忍容性は良好であった。

雌雄動物の乳腺に、用量段階的な頻度及び重症度で分泌活性が認められた。このような変化は、PRLR における GH の結合に起因するもの又は GH 濃度と IGF-I 値の上昇に起因するものと考えられた[11,12]。この変化は、ラットに hGH を 1 日 1 回投与後にも既に認められている[9]。これらはソマプシタンの薬理反応を示しており、試験動物における毒性学的意義が全くないことから、有害ではないと考えられる。投与期間終了時に、9 mg/kg/日投与群の雌性動物 1 例に乳腺部位の腫脹がみられた。

2 及び 9 mg/kg/日投与群において体重及び摂餌量の増加がみられた。

2 週間投与後の血液学的検査の結果、全投与群の雄及び 9 mg/kg/日投与群の雌ではヘマトクリット、ヘモグロビン濃度及び赤血球数が減少し、2 mg/kg/日投与群の雌及び 9 mg/kg/日投与群の雌では平均赤血球ヘモグロビン濃度が低下していた。また、全投与群の雌雄で網状赤血球数が増加し、2 及び 9 mg/kg/日投与群の雌雄で平均赤血球ヘモグロビン濃度及び平均赤血球容積が高値となり、0.4 mg/kg/日投与群の雄で平均赤血球容積が増加した。血液学的評価項目で認められた変化は有害ではなく、GH の薬理作用[9,13]に関連するものと考えられる。

血液生化学的検査の結果、全投与群において、赤血球の分解に関連すると考えられる血漿中ビリルビン濃度の上昇が認められた。また、全投与群の雌雄において、血小板数が増加し、プロトロンビン

時間が短縮された。9 mg/kg/日投与群の雄では、活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）の短縮がみられた。同様の影響は、内因性 hGH に関する研究で示されており、GH の薬理作用[14,15,16,17]に関連するものである。関連する病理組織学的所見がみられなかったことから、これらの変化は有害ではないと考えられる。

雌雄において総タンパク質量の用量段階的かつ軽微な増加が認められたが、このことは GH によるタンパク質合成促進に関連すると考えられる。また、尿素濃度の低下は、タンパク質の異化の低下に関連すると考えられる。雄ではコレステロール値及びトリグリセリド値の増加が認められたが、雌ではみられなかった。コレステロール値の増加は、hGH 製剤であるノルディトロピンを投与したラットにおいても認められており[9]、脂質代謝の変化に関連すると考えられる。

全投与群の雌雄でカルシウムの増加が認められた。カルシウム値の増加は、GH の投与に対する既知の反応であり、骨石灰化の促進[18]に起因するものと考えられた。雄において血漿中ナトリウム及び血漿中塩化物の軽微な低下が認められたが、このことはこれらの電解質の尿中排泄量が増加したことに関連していた。9 mg/kg/日投与群では、尿比重は低いものの電解質の尿中濃度及び尿中排泄量の増加が認められた。全投与群の雄で尿中 pH の低下が認められたが、このことは GH の投与[19]に関連するものと考えられる。

雌雄の器官重量の増加は、心臓、肺及び胸腺において顕著であったが、関連する病理組織学的変化はみられなかった。

9 mg/kg/日投与群の雌雄の肉眼的病理検査において、肝重量の増加及び肝の淡色化がみられた。病理組織学的評価から、2 及び 9 mg/kg/日投与群において辺縁性肝細胞空胞化が認められた。肝臓でみられた所見は脂質代謝の変化に関連すると考えられた。

雌雄の絶対器官重量の増加は、腎臓において顕著であった。9 mg/kg/日投与群の動物の一部に腎臓の淡色化が認められた。病理組織学的評価において、2 及び 9 mg/kg/日投与群の雄の約半数に尿細管円柱が認められ、尿中タンパク質が著しく増加していた。尿細管円柱を発現した全例において、尿中タンパク質が対照群と比較して増加したことから、尿細管円柱の発現と尿中タンパク質の増加との関連性が示された。なお、腎臓の構造に変化はいずれも認められなかった。

9 mg/kg/日投与群の雌雄及び 2 mg/kg/日投与群の雄 1 例において、副腎重量の増加を伴う副腎束状帯の極微な肥大がみられた。本所見はノルディトロピンに関する過去の試験においても認められた[20]。病理組織学的所見が極微であり、関連する毒性が認められなかったことから、本所見は有害ではないと考えられる。

全投与群の雄で乳房組織の肥厚及び淡色化の頻度及び重症度の用量段階的な増加が認められ、同様の所見は 9 mg/kg/日投与群の雌でも認められた。病理組織学的評価の結果、全投与群の雌及び 9 mg/kg/日投与群の雄において、用量段階的な極微～重度の小葉過形成が認められた。また、雌雄共に発現頻度及び重症度の用量段階的な分泌活性が認められた。このような変化は、PRLR における GH の結合に起因するもの又は GH 濃度と IGF-I 値の上昇[11,12]に起因するものと考えられた。この変化は、ラットに hGH を投与した場合にも既に認められている[9]。これらはソマプシタンによる薬理反応を示しており、試験動物に対する毒性学的意義がないことから、有害ではないと考えられる。

9 mg/kg/日投与群の雌 4 例に極微～軽微な腟上皮粘液分泌がみられた。本所見は、ノルディトロピンを用いた試験でも認められている[9]。

9 mg/kg/日投与群の雄の全例及び雌の多数において、大腿骨の骨端成長板の軟骨様過形成が認められ、9 mg/kg/日投与群の雌雄の約半数では、胸骨分節の成長板の軟骨様過形成も認められた。2 mg/kg/日投与群の雌雄一部にも同様の所見がみられ、骨形成が示された。骨に関する所見と血漿中カルシウム濃度の上昇には関連があると考えられる。このことは、ラットに hGH を 1 日 1 回投与した場合にも報告されている[18]。

投与期間終了時点で 9 mg/kg/日投与群の雌の乳腺部位に腫脹がみられ、病理組織学的検査の結果、乳腺癌と診断された。その後実施した 13 及び 26 週間試験において乳腺腫瘍がみられなかったことから、本所見は投与により惹起されたものではないと考えられる。しかしながら、軽微な乳腺腫瘍がもともと存在していたが、hGH の投与により進行が促進された可能性が考えられる。乳腺癌は Wistar 系の幼若ラットの背景所見として認められている[21,22,23]。本試験では、当該個体は子宮の脱落膜反応も認められた。これらの試験施設の背景データによると、13～14 週齢の雌性 Wistar Hannover 系ラットにおける脱落膜反応の発現はみられなかったが、本反応は低頻度で自然発生的に発生することがある[24]ことから、この限局性の病変は偶発的であると考えられた。

全体として、投与に関連した病理組織学的変化は、GH の既知の作用又は GH の投与による代謝系の状態変化と一致していた。

Wistar Hannover 系ラットに対してソマプシタンを 1 日 1 回 2 週間皮下投与した結果、認められた一連の所見は概して GH の薬理作用に起因するものであった。

重大な毒性の兆候は認められなかった。本試験における NOAEL は最高用量である 9 mg/kg/日と考えられた。

2.6.6.3.1.3　Wistar Hannover 系ラットを用いた 13 週間反復皮下投与毒性試験及び 2 週間回復性試験（Module 2.6.7.7.B、211355）

本試験（重要な試験）の目的は、Wistar Hannover 系ラットに対するソマプシタンの 13 週間投与（1 日 1 回）後に 2 週間の回復性を評価した毒性試験において、全身毒性及び TK を評価することであった。投与群、用量及び各群の動物数を表 2.6.6-5 に示す。

表 2.6.6-5　ラットにおける 13 週間皮下投与試験（211355）の投与群、用量及び動物数

Group	Treatment	Nominal dose (mg/kg/day)	No. of animals			
			Main study		Recovery	
			Males	Females	Males	Females
1	Control (vehicle)	0	10	10	9	9
2	Somapacitan	0.4	10	10	9	9
3	Somapacitan	2	10	10	9	9
4	Somapacitan	9	10	10	9	9

投与期間中に下記に示す項目を評価した：一般状態観察、体重、摂餌量、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、TK、ADA 測定、インスリン測定、総 IGF-I 測定、器官重量、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査。

ADA 分析の結果、主要試験の終了時点で 38%の動物にソマプシタンに対する ADA が認められた。曝露及び ADA に関する評価には種々の動物種が含まれていたため、抗体形成が曝露に及ぼす潜在的影響は動物レベルでは評価できなかった。しかしながら、全投与群にソマプシタンへの曝露が認められ、その薬理作用は持続した。

ソマプシタンを 1 日 1 回皮下投与した結果、全投与群の雌において良好な忍容性を示し、9 mg/kg/日投与群の雄においても投与初期には良好な忍容性を示した。また、毒性反応の兆候はみられなかった。高用量群の雄の数例において、第 9 週から糖尿病様症状が発現し始めた。高用量群の雌雄の尿からは糖が検出された。糖尿病は、インスリンに対する GH の過剰な拮抗作用に起因すると考えられる [18]。詳細は 2.6.6.3.1.3.1 に記述する。糖尿病の発症は、末端肥大症患者でもみられる所見である [10,25]。

2 又は 9 mg/kg/日投与群では体重増加及び摂餌量の増加が維持されたことから、13 週の試験期間中ソマプシタンの薬理作用が持続したことが示された。これらの変化は、GH 製剤の薬理作用である血漿中 IGF-I 濃度の持続的な上昇に関連していた。回復期間中、体重は対照群と同様であった。ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験（210472）と同様に、血液学的評価項目及び血液生化学的評価項目において軽度の変化が認められた。いずれの変化も程度が小さかったことから、可逆的であり毒性学的意義はないと考えられた。

尿検査の結果、9 mg/kg/日投与群の雌雄では一貫して尿量が多いことに伴い総電解質排泄量も多く、雄の尿の pH は用量段階的に低下した。尿中タンパク質は雌雄共に用量段階的及び時間の経過に伴い増加し、特に 9 mg/kg/日投与群では顕著であった。このことは、CPN 及び腎臓の尿細管円柱に関連した病理組織学的所見と一致している。いずれの所見も GH の薬理作用[8,9,13,14,15,16,17,18,19,20,26,27]に関連するものと考えられる。

肝臓、腎臓、副腎及び脾臓で器官重量の増加がみられたが、これらの所見は回復性が認められた。下記に示す詳細のとおり、病理組織学的所見は多くの組織で認められ、GH の薬理作用[8,9,19,20,26,28,29,30,31,32,33,34,35]又は糖尿病の発症[36,37,38]に関連するものであった。いずれの所見も軽微であり、組織中に病態を招来せず、また変化が可逆的であったことから、眼における白内障及び腎臓の CPN を除く所見は有害ではないと考えられた。詳細を下記に述べる。

2.6.6.3.1.3.1　糖尿病の発症に関連すると考えられる所見

高用量群の雄の数例に、第 9 週から、過剰な摂水量と尿産生量及び体重減少といった糖尿病様症状に一致する症状が発現し始めた。糖尿病様症状を発現した動物では、尿糖の診断検査の結果、強い陽性が示された。また、第 13 週に採取した血液試料から、糖尿病様症状を発現した動物の血糖値が著しく高い（対照群の約 4 倍）ことが認められた。高用量の 2 群の雄では糖尿病様症状を発現したことから、第 11 週及び回復期間の第 2 週にそれぞれ 1 例ずつ安楽死処置したが、死亡前の血糖値が 23.84 mmol/L 及び 37.53 mmol/L であり、背景データの血糖値（5.24～10.08 mmol/L）と比較して非常に高いことが原因と考えられた。

試験終了時の雌雄に用量段階的なインスリン値の上昇がみられ、GH の既知の作用であるインスリン抵抗性が示唆された。絶食動物の血糖値を測定したが、血糖値の上昇は認められなかった。

13 週間の投与終了時点で、主要試験で用いた動物のうち 9 mg/kg/日投与群の大多数及び 2 mg/kg/日投与群の雄 1 例に膵島細胞の肥大／過形成が認められた。2 週間の回復期間終了時には、雌雄ともほぼ完全に回復したが、9 mg/kg/日投与群の 3 例の雄では膵島細胞の萎縮／変性がみられた。萎縮／変性は糖尿病様症状の発現と一致するものであるが、肥大は GH 誘発性のインスリン抵抗性に対する適応反応と考えられる。

精巣の精細管萎縮、精巣上体の精子数の減少、前立腺及び精嚢のコロイドの減少等の所見は、糖尿病様症状を発現していること及び糖尿病動物が概して状態不良であること[38,39]に関連すると考えられる。

眼科学的検査及び病理組織学的検査の結果、糖尿病様症状を発現した全例の両眼に白内障が認められた。この変化は回復期間終了後にもみられた。糖尿病と白内障発現との関連性は臨床疫学研究及び基礎研究で示されており[36]、糖尿病ラットにおいて白内障の発現が報告されている[37]。

2.6.6.3.1.3.2　GH の薬理作用に関連すると考えられる病理組織学的所見

その他に投与に関連した病理組織学的変化は広範囲の組織で認められ、肥大、過形成及びコラーゲンの増加といったラットでみられる hGH の既知の成長促進作用及び代謝作用と一致していた。これらの所見から明確な用量反応関係が示された。器官ごとの所見に関する詳細は Module 2.6.7.7.B（211355）を参照のこと。

2 週間の回復期間終了後、発現頻度及び重症度は低下したものの、一部の器官に同様の変化がみられた。詳細を Module 2.6.7 に示す。また、膀胱でも変化（筋肥大）が認められた。9 mg/kg/日投与群の雄 2 例に軽微な心筋線維症がみられた。心臓に関する本所見は投与に関連すると考えられ、以前にも心筋肥大が認められていること[40,41]及びそれに引き続き生じる回復期間の退薬症状である肥大作用に起因するものと考えられる。所見が軽微であり、組織を確認したが病態は認められなかったことから、これらの変化は有害ではないと考えられた。

腎臓に関して、9 mg/kg/日投与群の雌雄及び 2 mg/kg/日投与群の雄 2 例に CPN が認められた。本試験でみられた腎臓の変化は、糖尿病性腎症の症状ではなく、高濃度の GH による作用と考えられる。GH により糸球体ろ過量が増加し、肝臓のアルブミンの産生を誘発する。これら 2 つの複合作用により尿中タンパク質排泄量が増加し、腎円柱が形成される。また、GH はラットの尿中 pH を低下させるため、低 pH でタンパク質が沈殿し円柱形成が促進される。タンパク尿が持続化し円柱が形成されることで、経時的に CPN を誘発すると考えられる[42,43,44,45,46,47,48]。CPN は雌性ラットと比較して雄性ラットでより多くみられる所見であり[49]、本試験では、中用量群及び高用量群の雄性ラットならびに高用量群の雌性ラットにおいて認められた。

2 mg/kg/日投与群の雄 1 例の皮膚に皮脂腺腫が認められた。腫瘍は中用量群の 1 例のみでみられ、その後実施した 26 週間試験で同種の腫瘍が認められなかったことから、偶発的であると考えられた。投与部位の病理組織学的検査から、ソマプシタンを投与した動物における皮下炎症細胞浸潤の増加が示唆され、本試験で用いた製剤がラットの免疫反応を惹起したことが示された。

結論として、投与に関連した所見はソマプシタンの薬理作用に起因するものであった。認められた影響は、GH による直接的な影響であるか、血清 IGF-I 値の上昇又は代謝の変化による間接的な影響に関連していた。

また、2 及び 9 mg/kg/日投与群において糖尿病が認められ、13 週間毒性試験の用量又は投与頻度の忍容性が低いことが示唆された。9 mg/kg/日投与群の雌雄ならびにわずかではあるが 2mg/kg/日投与群の雄 2 例の腎臓でみられた CPN の所見及び 9 mg/kg/日投与群の雄で白内障形成が認められたことから、本試験の NOAEL は雌で 2 mg/kg/日、雄で 0.4 mg/kg/日と考えられた。

2.6.6.3.1.4　Wistar Hannover 系ラットに対する 26 週間反復皮下投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（Module 2.6.7.7.C、212304）

本試験（重要な試験）の目的は、Wistar Hannover 系ラットに対する 26 週間皮下投与（週 2 回投与）におけるソマプシタンの全身毒性及び TK を評価することであった。4 週間の休薬期間中に影響の回復性を評価した。投与頻度の減少による薬理作用の緩和を検討するため、雄 6 例を対照群及び中用量群に組み入れ、13 週間投与後に安楽死処置することで、13 週間毒性試験でみられた影響と比較した。週 2 回投与である本試験に対し、13 週間毒性試験では 1 日 1 回投与が行われた。

投与群、用量及び各群の動物数を表 2.6.6-6 に示す。

表 2.6.6-6　　ラットを用いた 26 週間皮下投与試験（212304）の投与群、用量及び動物数

Group	Treatment	Nominal dose (mg/kg/twice weekly)	No. of animals			
			Main study		Recovery	
			Males	Females	Males	Females
1	Control (vehicle)	0[a]	20	20	10	10
2	Somapacitan	1	20	20	10	10
3	Somapacitan	2[a]	20	20	10	10
4	Somapacitan	4	20	20	10	10

[a]Additional 6 males were included and killed during Week 14 to compare between the effects seen in the 13-week study (Study ID 211355) with daily administration to the effect after 13 weeks of twice weekly administration. The following parameters were assessed during and/or at the end of the dosing period: clinical condition, body weight, food consumption, ophthalmic examination, haematology, blood chemistry, urinalysis, toxicokinetic, anti-drug antibody analysis, insulin, glycated haemoglobin (HbA_{1c}), total IGF-I, organ weight, macroscopic pathology and histopathology.

投与期間中又は終了時に下記に示す項目を評価した：一般状態観察、体重測定、摂餌量測定、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、TK、ADA 測定、インスリン測定、総 IGF-I 測定、器官重量、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査。

本試験でみられた所見の大多数は、GH 類似物質であるソマプシタンの薬理作用に直接的又は間接的に起因するものであり、13 週間毒性試験で認められた所見と同様であった。13 週間毒性試験で 1 日 1 回投与を行った 2 mg/kg/日投与群と 26 週間毒性試験で週 2 回投与を行った 2 mg/kg/日投与群とを比較したところ、週 2 回投与により薬理作用が低減し、影響を受ける組織の範囲が減少したことが示された。週 2 回投与を行った本試験での曝露量は、1 日 1 回投与を行った 13 週間毒性試験での曝露量よりも減少した〔Module 2.6.7.7.B、211355（13 週間毒性試験）、Module 2.6.7.7.C、212304（26 週間毒性試験）〕。

ADA 分析の結果、主要試験終了時点で 33%の動物が ADA 陽性であった。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 の力価が非常に高かった 3 例（各投与群 1 例）を除き、試験期間中、薬理作用（IGF-I 濃度）は維持された。詳細は Module 2.6.4 に示す。

全投与群の雄性動物及び 4 mg/kg/日投与群の雌の平均血清インスリン値は、第 26 週では投与前及び対照群と比較して高く、回復期間に低下した。

血漿中 IGF-I 濃度は、全投与群の雌雄動物において投与終了時点で上昇しており、投与終了後には低下した。

ソマプシタンは全投与群で良好な忍容性を示した。投与に関連した症状及び眼科学的所見は認められなかった。

投与期間中、全投与群の雌雄でみられた用量段階的な体重増加量は、対照群よりも多かった。この影響はソマプシタンの薬理作用に起因するものであり、雌は雄より影響が大きかった。回復期間中、投与群の動物では対照群と比較して体重減少又は体重増加抑制が認められた。全投与群で摂餌量が増加した。

ラットを用いた 2 及び 13 週間毒性試験と同様の血液学的検査項目に及ぼす影響が第 13 及び 26 週時で認められ、これらはノルディトロピン及び GH 製剤でみられた影響 [8,9,13] と同様であった。これまでに実施されたラットを用いた試験とは異なり、第 26 週時の 2 及び 4 mg/kg 投与群の雌で網状赤血球数のわずかな減少がみられた。肉眼的病理検査で脾臓の重量増加が認められ、病理組織学的評価でヘモジデリン沈着の増加が認められたことから、赤血球の分解促進が示された。これらの所見は軽微であり可逆的であることから、有害ではないと考えられた。

第 26 週に、4 mg/kg/日投与群の雄ならびに 2 及び 4 mg/kg/日投与群の雌にフィブリノゲン濃度の上昇がみられたが、影響を受けた評価項目は短期試験で認められた項目（APTT の延長、血小板数の増加等）と同様であった。血小板数の増加に関して、回復期間終了までに回復性は認められなかったが、血液凝固時間の変化には完全な回復性がみられた。病理組織学的所見において、このことに関連した所見がみられなかったことから、上記の所見に毒性学的意義はないと考えられる。

一部の血液学的評価項目で対照群との群間差が示され、比較の結果、統計学的有意差が認められた。しかしながら、いずれも用量関連性が軽微であるか認められなかったことから、生物学的意義及び毒性学的意義はないと考えられた。また、投与期間に影響がみられなかった評価項目についても、回復期間終了時点で複数の統計学的有意差が報告されたが、これらも同様に生物学的意義及び毒性学的意義はないと考えられた。

第 13 週及び第 26 週に絶食ラットから採取した血漿を用いて血液生化学的検査を実施したが、検査項目はいずれもラットの検査値として通常認められる範囲内であった。全投与群の雄では血糖値が低く、用量反応性が弱かったが、全投与群の雌では第 26 週に血糖値の上昇が認められた。4 週間の回復期間終了後、4 mg/kg/日投与群の雌の血糖値のみが対照群よりわずかに高かった。ソマプシタン投与群の血糖値は、対照群の血糖値の範囲内であるか試験施設の背景データの範囲内（5.24～10.08 mmol/L）であった。投与期間中、雌雄で高い尿糖値が認められた。

コレステロール、トリグリセリド、アルカリホスファターゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、血漿中アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、血漿尿素及び血漿電解質の変動といった血液生化学的検査項目に対する投与に関連した影響は、短期試験で認められた影響と同様であった。4 mg/kg/日投与群の雌及び全投与群の雄でクレアチニン濃度の上昇が認められたが、回復期間中に低下した。また、クレアチニンの尿中排泄量が増加した。

4 mg/kg/日投与群（週 2 回投与）の雌雄では軟骨様過形成が認められ、骨形成が示唆された。4 週間の回復期間終了後、電解質の変化に回復がみられた。血漿電解質の変化は、用量関連性が軽微であるか認められなかったことから、毒性学的に重要ではないと考えられる。2 及び 4 mg/kg/日投与群の雄では、血漿総タンパク質濃度の上昇がみられた。血漿アルブミン濃度は、第 26 週時点で全投与群の雄で上昇していたが、2 及び 4 mg/kg/日投与群の雌では低下していた。グロブリン分画における用量段階的な複数の変化が雌雄で認められた。雄では回復がみられたが、雌ではみられなかった。タンパク質の尿中排泄量は試験期間中変動しており、試験終了時点では 4 mg/kg/日投与群の雌雄で増加が認められた。雄では回復性がみられたが、雌ではみられなかった。

GH により糸球体ろ過量が増加する[48]ことから、尿量測定値が増加した。本試験でみられた病理組織学的所見の大部分は、ノルディトロピンに関するラットの試験で認められている所見[8,18]であるか、又は GH の投与による影響として報告されている所見[19,20,26,28,29,30,31,32,33,34,35]である。したがって、これらの所見はソマプシタンの薬理作用に関連すると考えられる。

26 週間の投与後、器官重量、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査において短期試験と同様の変化がみられた。器官ごとの所見に関する詳細を Module 2.6.7.7.C, 212304 に示す。

さらに、全投与群及び対照群の雌 2 例に、極微又は軽微な肝細胞の細胞分裂像の増加がみられた。プロラクチンはげっ歯類の肝細胞の細胞分裂促進因子として知られていることから、本所見はラットの PRLR の非生理的な刺激[50]に関連すると考えられる。

偶発的と考えられる所見は全投与群でみられた。低用量群の雌 1 例に下垂体前葉の腺腫が認められ、中用量群の雌 1 例では下垂体前葉の限局性過形成がみられた。下垂体腺腫はラットでよくみられる自

然発生性腫瘍であり、雌で発現率が高い[51]。発現率は加齢に伴い上昇し、40 週齢以前にも発現することが報告されている[21]。週齢に対応する Wistar Hannover 系ラットの背景データによると、発現率は 0.97%であることが示されている。26 週間毒性試験では、低用量群の雌に腺腫がみられ、中用量群の雌に限局性過形成がみられた。腺腫及び限局性過形成の発現はそれぞれ 1 例であり用量反応性も認められないことから、偶発的であり、ソマプシタンの投与とは関連しないと考えられる。

結論として、投与に関連した所見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。本試験でみられた所見の大部分はノルディトロピンを投与したラットの試験においても認められている。本試験の NOAEL は試験に用いた最高用量である 4 mg/kg（週 2 回投与）と考えられた。

2.6.6.3.2 サルを用いた試験

2.6.6.3.2.1 カニクイザルを用いた用量範囲設定試験（皮下投与）及び薬物動態試験（皮下及び静脈内投与）（Module 2.6.7.6, 210056）

本試験（重要でない試験）の目的は、ソマプシタンの 6 週間投与（週 2 回投与）における毒性を評価することであった。本試験の一部として、ソマプシタンの単回皮下及び単回静脈内投与後の薬物動態（PK）を評価した。投与群、用量及び動物数を表 2.6.6-7 に示す。

表 2.6.6-7 雄性カニクイザルにおける用量範囲設定試験及び PK 試験（210056）の投与群、用量及び動物数

Group	End point	Treatment	Route	Dose (mg/kg) (Dose regimen)	No. of animals
1	Pharmacokinetics	Somapacitan	s.c.	0.5 (single dose)	3[a]
2	Pharmacokinetics	Somapacitan	i.v.	0.5 (single dose)	3[b]
3	Toxicity	Somapacitan	s.c.	2.5 (twice weekly)	3[a]
4	Toxicity	Somapacitan	s.c.	10 (twice weekly)	3[b]

[a]The animals of group 1 and 3 were the same. One week wash out period was allowed between the two study parts.
[b]The animals of group 2 and 4 were the same. One week wash out period was allowed between the two study parts.

投与期間中又は終了時に下記に示す項目を評価した：生存率、一般状態観察、眼科学的検査、ECG、血圧、体重、血液学的検査、血液生化学的検査、TK、総 IGF-I 値、尿検査、器官重量、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査。

PK 試験及び毒性試験において、ソマプシタンの忍容性は良好であった。

血液学的検査、血液生化学的検査及び肉眼的病理検査において、有害所見は認められなかった。

腺房拡張及び分泌活性といった乳腺に関連した病理組織学的所見は、有害ではなく、GH の薬理作用に一致するものであった。

2.6.6.3.2.2　カニクイザルを用いた 2 週間皮下投与毒性試験（Module 2.6.7.7.D、210470）

本試験の目的は、カニクイザルに対する 2 週間皮下投与（週 2 回投与）におけるソマプシタンの全身毒性及び TK を評価することであった。投与群、用量及び動物数を表 2.6.6-8 に示す。

表 2.6.6-8　　カニクイザルにおける 2 週間皮下投与試験（210470）の投与群、用量及び動物数

Group	Treatment	Dose (mg/kg)	No. of animals	
			Males	Females
1	Vehicle	0	3	3
2	Somapacitan	0.4	3	3
3	Somapacitan	2	3	3
4	Somapacitan	9	3	3

投与期間中又は終了時に下記に示す項目を評価した：ADA 形成、TK、総 IGF-I 測定、インスリン測定、生存率、心電図、血圧及び脈拍数、神経行動学的観察、一般状態観察、体重、眼科学的検査、末梢血の血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、器官重量、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査。

投与期間中ソマプシタンの忍容性は良好であった。全投与群で第 8 日に、低用量群及び中用量群では第 15 日にも血漿中 IGF-I 値がわずかに上昇したが、対照群との差異は小さく用量関連性は認められなかった。IGF-I 値の上昇は、GH の投与に対する想定された薬理反応である。

投与に関連した血液学的評価項目に及ぼす影響はみられなかった。

第 2 週に採取した血漿の血液生化学的検査からは、投与に関連した変化は示されなかった。全投与群の雄で血糖値の有意な上昇が認められたが、雌ではみられなかった。中用量群及び高用量群の雌のトリグリセリド濃度は、第 2 週時に低下が認められた。これらの所見はサルにおける GH の薬理作用に関連している[9]。

ソマプシタン投与群の雌の大多数ならびに 2 及び 9mg/kg/日投与群の雄各 1 例において、胸腺重量が低値を示した。その他の器官重量の差はいずれも軽微であり、統計学的有意差が認められなかったことから、正常な生物学的変動を反映するものと考えられた。病理組織学的所見として胸腺の小型化が認められ、全投与群の雌でみられた皮質細胞の減少と一致していた。本所見は非特異的なストレスに伴うものであり[52]、毒性学的意義はないと考えられる。

9 mg/kg/日投与群の雌の全例及び 2 mg/kg/日投与群の雌 2 例において、投与最終週に乳腺の腫脹又は乳汁分泌が認められた。全投与群の雌数例で、肉眼的病理検査により乳頭の腫脹及び乳腺組織の肥大が認められ、病理組織学的検査により腺房の発達ならびに腺房及び導管拡張が認められた。GH、IGF-I 値又は PRLR の活性が上昇したことから、乳腺発達の発現頻度の増加はソマプシタン投与に対するホルモン受容体を介した反応[11,12]と考えられる。したがって本所見は、想定された薬理反応に起因するものと考えられる。結論として、カニクイザルに対するソマプシタンの 2 週間皮下投与（週 2 回、最高 9 mg/kg 投与）により種々の所見が認められたが、いずれも本剤の薬理作用に起因するものであった。本試験の NOAEL は試験に用いた最高用量である 9 mg/kg であった。

2.6.6.3.2.3　カニクイザルにおける 13 週間皮下投与毒性試験及び 4 週間回復性試験（Module 2.6.7.7.E、210471）

本試験の目的は、カニクイザルに対する 13 週間皮下投与（週 2 回投与）におけるソマプシタンの全身毒性の可能性及び TK を評価することであった。4 週間の休薬期間中に、影響からの回復性を評価した。投与群、用量及び動物数を表 2.6.6-9 に示す。

表 2.6.6-9　カニクイザルにおける 13 週間皮下投与試験（210471）の投与群、用量及び動物数

Group	Treatment	Nominal dose (mg/kg/twice weekly)	No. of animals			
			Main study		Recovery	
			Males	Females	Males	Females
1	Control (vehicle)	0	3	3	2	2
2	Somapacitan	0.4	3	3	0	0
3	Somapacitan	2	3	3	0	0
4	Somapacitan	9	3	3	2	2

投与期間中、下記に示す項目を評価した：一般状態、体重、眼科学的検査、心電図、血液学的検査、血液生化学的検査、総 IGF-I 及びインスリン様成長因子結合蛋白 3（IGFBP-3）測定、TK、ADA 分析、尿検査、器官重量、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査。

ADA 分析にあたり、第 13 週の最終投与後 72 時間及び回復期間の全例から試料を採取した。0.4 mg/kg/日投与群の 2 例のみから ADA が検出された。

用量関連性は認められなかったものの、投与に関連した血漿中 IGF-I 値の上昇がソマプシタン投与群で認められた。4 週間の回復期間中、IGF-I 値は第 13 週と比較して低下した。ソマプシタン投与群では IGFBP-3 値が上昇した。IGFBP-3 は IGF-I が IGF-I 受容体（IGFIR）に到達するのを阻害する。IGFBP-3 値の上昇は IGF-I 値の上昇を示しており、このことは GH 値が上昇した患者においても同様に認められた。IGFBP-3 値は、回復期間には対照群と同様であった。

カニクイザルにおける 13 週間皮下投与（週に 2 回、最高 9 mg/kg 投与）において、ソマプシタンの忍容性は良好であった。本試験の用量群において重大な毒性の兆候は認められなかった。乳房部位の腫脹は、全投与群の雄の数例、2 ならびに 9 mg/kg/日投与群の雌の全例及び 0.4 mg/kg/日投与群の雌 2 例で認められた。用量段階的な乳汁分泌が 2 mg/kg/日投与群の雄 1 例及び 9 mg/kg/日投与群の雄 2 例でみられ、全雌では投与期間にわたってみられた。4 週間の回復期間後、回復性が認められた。体重増加量は対照群でみられた増加量の範囲内であったが、9 mg/kg/日投与群の雄 1 例のみ増加量が大きかった。同様の所見は hGH の 1 日 1 回投与においても認められた [9]。

第 6 週及び第 13 週に行った血液学的検査の結果、9 mg/kg/日投与群の雄でヘマトクリット、ヘモグロビン濃度及び赤血球数の減少が示され、同様の影響は 2 mg/kg/日投与群の雄においても第 13 週に認められた。雌の赤血球恒数に対する影響は、第 13 週にみられた赤血球数への用量に関連しない影響のみであった。本影響に毒性学的意義はないと考えられた。また、回復性が認められた。

血液生化学的検査値に関して、対照群及び投与開始前の測定値との群間差は示されず、差異はわずかであるか用量関連性が認められない程度であった。

カニクイザルを用いた 2 週間試験（Study ID 210470）でみられた病理組織学的変化と同様の変化が乳腺に認められた。この変化は回復性が認められた。

詳細を Module 2.6.7.7.D, 210470 に示す。結論として、認められた所見はいずれも有害ではなく、GH の薬理学的性質に起因するものと考えられた。本試験の NOAEL は試験に用いた最高用量である 9 mg/kg（週 2 回投与）と考えられた。

2.6.6.3.2.4　カニクイザルにおける 26 週間皮下投与毒性試験及び 6 週間回復性試験（Module 2.6.7.7.F、212203）

本試験の目的は、カニクイザルに対する 26 週間皮下投与（週 2 回投与）におけるソマプシタンの全身毒性の可能性及び TK を評価することであった。6 週間の休薬期間中に、影響からの回復性を評価した。投与群、用量及び動物数を表 2.6.6-10 に示す。

表 2.6.6-10　カニクイザルにおける 26 週間皮下投与試験（212203）の投与群、用量及び動物数

Group	Treatment	Nominal dose (mg/kg/twice weekly)	No. of animals			
			Main study		Recovery	
			Males	Females	Males	Females
1	Control (vehicle)	0	3	3	2	2
2	Somapacitan	0.4	3	3	0	0
3	Somapacitan	2	3	3	0	0
4	Somapacitan	9	3	3	2	2

投与期間中又は終了時に下記に示す項目を評価した：一般状態観察、体重、眼科学的検査、心電図、血液学的検査、血液生化学的検査、総 IGF-I 測定、TK、ADA 分析、尿検査、器官重量、肉眼的病理検査及び病理組織学的検査。

ADA は検出されなかった。

カニクイザルへの 26 週間投与（最高 9 mg/kg）において、ソマプシタンの忍容性は良好であった。

試験期間中、一部の雄及び雌の全例において乳腺の腫脹及び乳汁分泌が認められた。発現頻度及び重症度は用量の増加に伴い上昇した。

投与に関連した死亡はみられなかった。試験開始後 6 週間に対照群の雄 1 例が虚脱を示したことから、人道的理由により安楽死処置した。肉眼的病理検査の結果、急性胃拡張症に関連した所見が認められた。本所見は霊長類でみられる所見として知られている。本動物は対照群であったことから、死亡は投与と関連のないものであった。

第 13 週及び第 26 週に行った血液学的検査の結果、対照群及び投与前値との間に投与に起因した差異は認められなかった。

血液生化学的検査の結果、雄の全例に AST の低下がみられ、9 mg/kg/日投与群の雄に尿素濃度の低下がみられた。6 週間の休薬期間に雄 1 例で回復性が認められた。これらの評価項目の測定値の低下に関して、毒性学的に重要ではないと考えられた。

その他に認められた対照群との差異は概して軽微であり、測定値が投与前値と同様であるか用量関連性が認められなかったことから、投与と関連しないと考えられた。

ソマプシタン投与群において第 13 週及び第 26 週に血漿中 IGF-I 濃度が対照群と比較して著しく上昇したが、用量関連性は認められなかった。雄では、0.4 mg/kg/日投与群の 1 例、2 mg/kg/日投与群の 1 例

及び 9 mg/kg/日投与群の 2 例に体重増加がみられた。雌の大多数において、体重増加量は対照群と同様であった。

乳腺の一般症状、肉眼的病理検査及び顕微鏡学的検査での所見は、以前に実施した 2 及び 13 週間試験でみられた所見と同様であった（Module 2.6.7.7.D、210470 及び Module 2.6.7.7.E、210471）。投与部位において、投与に関連した極微～軽微な痂皮、潰瘍、壊死／コラーゲン変性及び血管周囲の炎症が認められた。6 週間の休薬期間後に回復性が認められた。重症度が軽度であったことから、投与部位の変化は有害ではないと考えられた。

結論として、認められた所見はいずれも有害ではなく、GH の薬理学的特性に起因するものと考えられた。本試験の NOAEL は試験に用いた最高用量である 9 mg/kg（週 2 回投与）と考えられた。

2.6.6.4 遺伝毒性試験

ICH S2（R1）ガイドライン[53]に準拠してフルセットの遺伝毒性バッテリー試験を実施した。遺伝毒性評価には 2 種の *in vitro* 試験と 1 種の *in vivo* 試験が含まれ、いずれの試験も GLP に準拠して実施した。試験の結果、ソマプシタンの遺伝毒性は示されなかった。

2.6.6.4.1 *In vitro* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.1.1 *In silico* 評価

リンカー及びアルブミン結合部位に *in silico* 遺伝毒性スクリーニング分析（Derek）を実施した結果、有害性は認められなかった[54]。

2.6.6.4.1.2 5 種のヒスチジン要求性菌株（ネズミチフス菌）を用いたプレート法による復帰突然変異試験（Module 2.6.7.8.A、211097）

ラットの肝代謝活性化系の存在下及び非存在下において、5 種のヒスチジン要求性菌株（ネズミチフス菌）を用いたプレート法によりソマプシタンの変異活性を評価した。各試験で少なくとも 5 濃度（最高 5000 µg/mL）のソマプシタンを用いた。毒性の兆候は認められなかった。本試験では、ソマプシタンの変異活性を示すと考えられる復帰突然変異体数の増加はみられなかった。

2.6.6.4.1.3 培養したヒト末梢血リンパ球を用いた染色体異常試験（Module 2.6.7.8.B、211098）

ソマプシタンの *in vitro* 細胞遺伝学的試験では、3 名の男性ドナーの血液検体から作製した 2 種の培養ヒトリンパ球を用いて、試験を 2 回実施した。代謝活性化系（S-9）の存在下及び非存在下において処理した。実際に投与可能な最高濃度である 1400 µg/mL まで試験を行った。毒性の兆候は認められなかった。2 回の試験共に S-9 の存在下及び非存在下で培養液にソマプシタン処理したが、構造異常を有

する細胞の発現頻度は陰性対照群と同様であった。ソマプシタン処理群の培養液でみられた異常細胞数（ギャップを除く）は、陰性対照群における異常細胞数の範囲内（通常認められる範囲内）であった。結論として、代謝活性化系の有無に関わらず 1400 µg/mL までの濃度において、ソマプシタンは染色体異常を誘発しなかった。

2.6.6.4.2　*In vivo* 遺伝毒性試験

2.6.6.4.2.1　ソマプシタン投与群ラットの骨髄を用いた小核試験（Module 2.6.7.9、211299）

70 mg/kg（容量 10 mL/kg を用いた皮下投与可能な最高用量）までの 3 用量を皮下投与したラットの骨髄を用いて、ソマプシタンの *in vivo* 小核試験を実施した。雄ラット 6 例から成る各用量群にソマプシタンを 1 日 1 回、計 2 回投与し、多染性赤血球中の骨髄小核の発生率に及ぼす影響を最終投与後 24 時間に評価した。毒性及び骨髄毒性の兆候は認められなかった。投与後 5 分及び 2 時間にサテライト群の血清を解析した結果、全身曝露が確認された。投与群ラットの骨髄における小核細胞の発生率は、陰性対照群と同様であった。結論として、70 mg/kg までを皮下投与したラットにおいて、ソマプシタンは骨髄の多染性赤血球中において小核を誘発しなかった。

2.6.6.5　がん原性試験

ソマプシタンの投与に関連したがん原性リスクの評価は、分子の GH 部分に関し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、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。

ICH S6（R1）ガイドライン [2]によると、毒性試験で得られた重要なデータ、クラス効果の情報及び重要な臨床データに基づきがん原性リスクが評価できる場合、バイオ医薬品のがん原性試験を実施する必要はないとされている。がん原性試験を実施しないことは FDA、EMA（CHMP）及び PMDA から了承されている。

毒性試験で得られた重要なデータとは、反復投与毒性試験で得られたソマプシタンの細胞増殖能の評価及び遺伝毒性試験で得られた DNA 損傷誘発性の評価に関連するデータのことである。

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いと考えられる。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り、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。ソマプシタンを用いた試験又は類似の化学構造を有する他剤の入手可能なデータのいずれからも、分子のアルブミン結合部分に関連した遺伝毒性誘発性は認められなかった。このことに加え、完了した 26 週間毒性試験でみられた増殖性変化が GH の過剰な薬理作用に関連すると考えられることから、アルブミン結合側鎖はがん原性リスクを有さないものと考えられる。また、サルを用いた 13 及び 26 週間試験において肝細胞の増殖促進作用を評価したが、細胞増殖促進は認められなかった。このことは、機能的 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、野生型 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。（Module 2.6.2.2.1, [redacted]130607）。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、野性型 hGH と比較して高くないことが支持される。

ラットを用いた 3 試験において 3 種の腫瘍が認められた。腫瘍の種類、投与量が異なっており、用量反応がなく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 週間試験において高用量群の 1 例に乳腺癌が認められ、13 週間試験では中用量群の 1 例に皮脂腺腺腫がみられた。その後実施した 26 週間試験では、これらの腫瘍はみられなかった。26 週間試験では、低用量群の 1 例で下垂体前葉腺腫が認められた。この週齢のラットでは一般的にみられる腫瘍であり [21,51]、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。

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、がん原性試験における GH のがん原性は認められなかった[55]。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[56]。げっ歯類において hGH により誘発された増殖が GHR 活性及び PRLR 活性の双方に起因するものか、又は PRLR の単独活性に起因するものかを明らかにするため、遺伝子導入マウスを用いた試験が実施されている。非霊長類の GH は GHR のみ活性化し、げっ歯類の PRLR を活性化しないことから、本試験ではウシ成長ホルモン（bGH）遺伝子導入マウスを用いて、PRLR 活性を伴わない GHR 単独刺激の乳腺に及ぼす影響を検討した。マウスの bGH 値は、マウスの正常な GH ピーク値の約 20 倍まで上昇し、IGF-I 値も上昇したが、乳腺腫瘍を発現した bGH 遺伝子導入マウスは認められなかった。この試験では、ラット PRL（rPRL）遺伝子を過剰発現（PRL 値を上昇させ、PRLR にのみ結合）した遺伝子導入マウスを用いて、GHR 活性を伴わない（IGF-I 値は正常）PRLR 単独刺激の乳腺に及ぼす影響も検討されており、rPRL 遺伝子導入マウス全例に乳癌が発現した[57]。

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から、げっ歯類では hGH により増殖性及び肥大性の影響が誘発される。したがって、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。

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、多くの報告及び調査の対象となっている[58,59,60,61]。

追跡調査の結果、GH 治療とデノボ癌[62,63,64,65]又は頭蓋内腫瘍の治療歴のある患者[66,67]における腫瘍の再発との関連性は示されなかった。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が、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[65]。

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。また、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[68,69]。ソマプシタンのがん原性は既存の GH 製剤と同様と考えられるため、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。

2.6.6.6　生殖発生毒性試験

ICH S5（R2）ガイドライン[3]に準拠し、受胎能及び PPND に対するソマプシタンの影響を単一の動物種（ラット）を用いて検討し、EFD に及ぼす影響を 2 種の動物種（ラット及びウサギ）を用いて検討した。重要な生殖発生毒性試験の概要を表 2.6.6-11 に示す。

表 2.6.6-11　　重要な生殖発生毒性試験の概要

Species	Study type	Administration route	Nominal dose levels (mg/kg)	NOAEL (mg/kg)	Effect(s) defining NOAEL	Study ID
Han Wistar rat	Fertility in male rats	Subcutaneous	1, 2, 4 twice weekly	4	No treatment-related adverse changes	212376
Han Wistar rat	Fertility in female rats	Subcutaneous	1, 2, 4 twice weekly	4	No treatment-related adverse changes	212412
Han Wistar rat	EFD study in rats	Subcutaneous	0, 2, 6, 18 daily	6	Increased no. of foetuses and litters with short, bent and thickened long bones of females	212178
New Zealand White rabbit	EFD study in rabbits	Subcutaneous	0, 1, 3, 9 every second day	9 1	No treatment-related effects Reduced foetal weight	214468
Han Wistar rat	PPND	Subcutaneous	0, 4, 9, 18 twice weekly	18	No treatment-related adverse changes	214469

Abbreviations: EFD = embryo-foetal development; NOAEL = no observed adverse effect level; PPND = pre- and postnatal development.

2.6.6.6.1　受胎能及び初期胚発生に関する試験

2.6.6.6.1.1　雄性 Wistar Hannover 系ラットを用いた皮下投与による受胎能に及ぼす影響に関する試験（Module 2.6.7.12.A, 212376）

本試験の目的は、交配前 4 週から交配後にかけてソマプシタンを週 2 回投与した雄性 Wistar Hannover 系ラットにおいて、雄の受胎能に及ぼす影響を評価することであった（未投与の雌の大多数を交配後 14 日に安楽死処置し、剖検を実施した）。投与群、用量及び動物数を表 2.6.6-12 に示す。

表 2.6.6-12　雄性 Wistar Hannover 系ラットを用いた受胎能に及ぼす影響に関する試験（212376）の投与群、用量及び動物数

Group	Treatment	Dose (mg/kg twice weekly)	No. of male animals
1	Vehicle	0	22
2	Somapacitan	1	22
3	Somapacitan	2	22
4	Somapacitan	4	22

試験中又は試験終了時に、下記に示す項目を評価した：一般状態観察、体重、摂餌量、交配能及び妊娠成績。交配後 14 日に未投与の雌性成熟ラットから得た胎児に関する評価項目を記録した。雄性成熟ラットについては、剖検時に器官重量の測定及び肉眼的病理検査を実施した。

ソマプシタンの忍容性は良好であり、投与に関連した症状は認められなかった。

ソマプシタンの投与により全投与群で用量段階的な体重増加が誘発され、増加量は対照群と比較して多かった。交配前の雄における平均摂餌量は、概して全投与群で対照群と比較して増加し、用量の増加に伴い摂餌量も増加した。体重増加及び摂餌量に及ぼす影響はソマプシタンの薬理作用に関連すると考えられた。

2 及び 4 mg/kg/日投与群では精嚢の絶対重量が対照群と比較して減少した。また、2 及び 4 mg/kg/日投与群では、精巣上体、前立腺、精嚢及び精巣の最終体重の割合である相対器官重量の減少がみられ、1mg/kg/日投与群においても精嚢の相対器官体重の減少がみられた。

肉眼的病理検査の結果、前立腺の淡色化及び副腎の肥大が低頻度で認められた。

交配に要した日数、交配能、妊娠成績、平均着床数、平均胚吸収率及び平均生存胚数に関して、ソマプシタンの投与による影響は全投与群において認められなかった。

結論として、ソマプシタンは雄の受胎能に影響を及ぼさず、NOAEL は 4 mg/kg（週 2 回投与）であった。

2.6.6.6.1.2　雌性 Wistar Hannover 系ラットを用いた皮下投与による受胎能及び初期胚発生に関する試験（Module 2.6.7.12.B, 212412）

本試験の目的は、交配前から交配、着床までの期間にソマプシタンを週 2 回投与した雌性 Wistar Hannover 系ラットにおいて、雌の受胎能及び初期胚発生への影響を評価することであった。投与群、用量及び動物数を表 2.6.6-13 に示す。

表 2.6.6-13　雌性 Wistar Hannover 系ラットを用いた受胎能及び初期胚発生への影響に関する試験（212412）の投与群、用量及び動物数

Group	Treatment	Dose (mg/kg twice weekly)	No. of female animals
1	Vehicle	0	22
2	Somapacitan	1	22
3	Somapacitan	2	22
4	Somapacitan	4	22

試験中又は試験終了時に、下記に示す項目を評価した：一般状態観察、体重、摂餌量、性周期、交配能及び妊娠成績。交配後 14 日に胎児に関する評価項目を記録し、剖検時に肉眼的病理検査を実施した。

ソマプシタンの忍容性は良好であり、投与に関連した症状は認められなかった。

交配前に全投与群で対照群と比較して体重増加がみられた。妊娠第 0～14 日の全体的な体重増加量に関して、投与群と対照群に差異はみられなかった。妊娠初期の 4 日間に、対照群と比較して投与群の体重が減少し、高用量群では有意差が認められた。妊娠第 4～7 日及び 7～14 日に、全投与群で対照群と比較して体重増加がみられた。体重増加はソマプシタンの投与による薬理作用に関連すると考えられる。

2 及び 4 mg/kg 投与群（週 2 回投与）において、妊娠前及び妊娠期に対照群と比較して摂餌量の増加がみられた。

4 mg/kg（週 2 回投与）までの用量群において、交配率、受胎能及び胎児数に及ぼすソマプシタンの影響は認められなかった。不規則な性周期が発現した雌の数は、全投与群で対照群と比較して多くみ

られた。性周期の短縮（3 日）及び延長（最長 5 日）の発現率も、全投与群で対照群と比較して上昇した。また、2 及び 4 mg/kg（週 2 回投与）投与群では、6～10 日の性周期の発現率が上昇した。

交配時の膣栓数は対照群ペアと比較して投与群ペアで減少した。3 個以下の膣栓数を伴う交配回数が増加し、相対的に 4～6 個の膣栓数を伴う交配回数は減少した。また、膣スメアからの推定精子数は対照群と比較して投与群でわずかに減少した。カテゴリー2 以下（無精子、精子が散発的にしか認められない、一部の精子が継続的に認められる）の推定精子数を示す交配回数の増加（対照群で 5 回に対し、1、2 及び 4 mg/kg 群でそれぞれ 9、8 及び 9 回）が認められた。

検討した全用量群において、雌の交配率、受胎能及び同腹児数に関し、投与による影響は全く認められず、肉眼的病理検査による所見も認められなかった。したがって本試験において、性周期、推定精子数及び膣栓数への影響は投与による有害作用ではないと考えられた。

本試験の結果から、Wistar Hannover 系ラットを用いた雌の受胎能、初期胚の生存及び発生に関する試験の NOAEL は 4 mg/kg（週 2 回投与）と結論した。

2.6.6.6.2　胚・胎児の発生に関する試験

2.6.6.6.2.1　Wistar Hannover 系ラットを用いた皮下投与による EFD 試験（予備試験）（Module 2.6.7.11、211298）

本試験の目的は、重要な EFD 試験の適正用量を設定するために、妊娠期の器官形成期（交配後 6～17 日）にソマプシタンを投与した Wistar Hannover 系ラットにおいて、胚・胎児の生存及び発生に対する影響を評価することであった。投与群、用量及び動物数を表 2.6.6-14 に示す。

表 2.6.6-14　Wistar Hannover 系ラットを用いた EFD 試験（予備試験）（211298）の投与群、用量及び動物数

Group	Treatment	Dose (mg/kg day)	No. of female animals
1	Vehicle	0	18
2	Somapacitan	0.4	18
3	Somapacitan	2	18
4	Somapacitan	9	18

ラットを用いた 6 週間 TK 試験（GLP 適用）（Module 2.6.5.4.E, 211163）のデータから、投与後 4～6 日にソマプシタンのクリアランスが急速に増加したことが示された。器官形成期における適切な曝露を確保するため、分割投与を行い全動物の曝露が 4 日間を超えないようにした。また、器官形成期を

完全にカバーするため、各群のラットを 20 例ずつ 3 つのコホートに分類し、それぞれ交配後 6～9 日（コホート 1）、交配後 10～13 日（コホート 2）又は交配後 14～17 日（コホート 3）に 1 日 1 回投与した。交配後 20 日に全例の肉眼的病理検査を実施した。

試験期間中、各群から選択した動物の血液試料を採取し、TK 評価及び IGF-I 測定を実施した。また、一般状態観察、体重及び摂餌量を測定した。成熟雌は交配後 20 日に剖検を実施し、子宮重量及び胎児の評価項目を測定した。胎児に関しては外表異常を検査した。

IGF-I 測定の結果、4 日間の投与期間中、2 及び 9 mg/kg/日投与群において総 IGF-I 値の上昇が示された。

本試験で検討した用量群において有害な毒性反応は認められなかった。高用量群（9mg/kg/日）の雌では、妊娠第 10～13 日の着床後胚損失数がわずかに増加した。このことは、試験動物 2 例の早期吸収数が多かったこと（3 又は 4）に起因すると考えられた。

結論として、以降に実施するラットの EFD 試験には 0.4～9 mg/kg/日の用量を用いることが適切と考えられた。

2.6.6.6.2.2 Wistar Hannover 系ラットを用いた皮下投与による EFD 試験（Module 2.6.7.13.A、212178）

本試験の目的は、妊娠期の器官形成期（交配後 6～17 日）にソマプシタンを皮下投与した Wistar Hannover 系ラットにおいて、胚・胎児の生存及び発生に対する影響を評価することであった。投与群、用量及び動物数を表 2.6.6-15 に示す。

表 2.6.6-15 Wistar Hannover 系ラットを用いた皮下投与による EFD 試験（212178）の投与群、用量及び動物数

Group	Treatment	Dose (mg/kg day)	No. of female animals
1	Vehicle	0	60
2	Somapacitan	2	60
3	Somapacitan	6	60
4	Somapacitan	18	60

試験中又は試験終了時に、下記に示す項目を評価した：一般状態、体重、摂餌量、曝露量及び IGF-I 測定。成熟雌は交配後 20 日に肉眼的病理検査を実施し、子宮重量及び胎児に関する評価項目を測定した。全胎児に対して肉眼的病理検査を実施後、内臓検査又は骨格検査を実施した。

雌に対して妊娠第 6、10 又は 14 日から 1 日 1 回 4 日間投与したところ、ソマプシタンの薬理作用に関連すると考えられる影響（全投与群・投与スケジュールでみられた母動物の体重増加、妊娠第 6～9 日に 6 及び 18 mg/kg/日投与群の雌でみられた摂餌量の増加）が発生した。体重増加は、血漿中 IGF-I 値の上昇と一致していた。

肉眼的病理検査の結果、脾臓の肥大が認められ、その発現頻度は用量段階的に増加した。特に妊娠第 14～17 日の投与コホートでその傾向が高く、このことはコホート 1（妊娠第 6～9 日に投与）及びコホート 2（妊娠第 10～13 日に投与）の剖検前に休薬した期間の長さを反映するものと考えられる。

妊娠成績、胚・胎児の生存、性比、同腹児重量及び胎盤重量に関し、投与による影響は認められなかった。妊娠第 10～13 日に投与を行った雌の全例のみ、雄、雌及び全胎児の平均重量がわずかに増加した。18 mg/kg/日投与群では、妊娠第 10～13 日に投与を行った雌の胎児において長骨の短小／彎曲／肥厚の発現頻度が上昇し、妊娠第 10～13 日及び 14～17 日に投与を行った雌の胎児に肋骨の内側性の肥厚／彎曲が高頻度で発現した。これらの所見は、Wistar Hannover 系ラットの胎児で報告されている軟骨形成異常症候群[70,71]に一致するものである。これらの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 [70,71,72]。本所見はソマプシタン投与により直接誘発された催奇形性ではなく、非特異的なストレスに関連した毒性を介することで、ソマプシタンの投与が本所見を悪化させたものと考えられる。

妊娠第 10～13 日に投与を行った雌の胎児でみられた長骨に関連した所見は、肢芽形成期に投与を行ったことに起因すると考えられる。このことは、18 mg/kg/日投与群で妊娠第 6～9 日及び 14～17 日に投与を行った雌の胎児では、投与に関連したこれらの所見が増加しなかったことからも裏付けられる。同様に、18 mg/kg/日投与群において妊娠第 6～9 日に投与を行った雌の胎児において肋骨の肥厚／彎曲に関連した所見がみられなかったことは、この時期が肋骨形成の初期段階であったことに起因すると考えられる。

結論として、ソマプシタンの母動物の毒性に関する NOAEL は 18 mg/kg/日であった。一方、妊娠第 10～13 日に投与を行った 18 mg/kg/日投与群の胎児／同腹児において長骨の短小／彎曲／肥厚の発現頻度が増加したことから、EFD に関する NOAEL は 6 mg/kg/日であった。

2.6.6.6.2.3　妊娠ウサギを用いた皮下投与による忍容性試験（Module 2.6.7.11、211296）

本試験の目的は、妊娠期の器官形成期（交配後 6～18 日）にソマプシタンを皮下投与したニュージーランドホワイト種ウサギにおいて、本剤の忍容性を評価することであった。投与群、用量及び動物数を表 2.6.6-16 に示す。

表 2.6.6-16　妊娠ウサギへの皮下投与による忍容性試験（211296）

Group	Treatment	Dose (mg/kg every second day)	No. of female animals
1	Somapacitan	0.4	6
2	Somapacitan	9	6
3	Somapacitan	15	6
4	Somapacitan	25	6

器官形成期における十分な曝露を確保するため、各群を 3 例ずつ 2 コホートに分類し、交配後 6、8、10、12、14、16 及び 18 日（コホート 1）又は交配後 12、14、16 及び 18 日（コホート 2）に投与した。交配後 29 日に動物を安楽死処置し、生殖毒性評価及び肉眼的病理検査を実施した。

試験期間中、選択した動物の血液試料を採取し、TK 評価及び IGF-I 分析を実施した。また、一般状態、体重及び摂餌量を測定した。成熟雌は、交配後 29 日に肉眼的病理検査を実施した。

全用量群の妊娠ウサギにおけるソマプシタンの忍容性は良好であった。2 種類の投与方法〔第 6～18 日又は第 12～18 日（Module 2.6.4）〕における曝露量は同様であった。同腹児に関するデータの平均値から、投与による影響は示されなかった。肉眼的病理検査でみられた所見は投与に関連しないと考えられた。IGF-I の最高値及び体重増加量の最大値が 9 mg/kg/日投与群（2 日に 1 回投与）で認められたことから、主要試験に適していると考えられた。

2.6.6.6.2.4　ニュージーランドホワイト種ウサギを用いた皮下投与による EFD 試験（Module 2.6.7.13.B、212177）

本試験の目的は、妊娠期の器官形成期（交配後 6～18 日）にソマプシタンを皮下投与したニュージーランドホワイト種ウサギにおいて、胚・胎児の生存及び発生に及ぼす影響を評価することであった。投与群、用量及び動物数を表 2.6.6-17 に示す。

表 2.6.6-17　ニュージーランドホワイト種ウサギを用いた EFD 試験（212177）

Group	Treatment	Dose (mg/kg every second day)	No. of female animals
1	Vehicle	0	22
2	Somapacitan	1	22
3	Somapacitan	3	22
4	Somapacitan	9	22

一般状態観察、体重及び摂餌量を測定し、曝露量及び IGF-I 値を測定した。成熟雌は交配後 29 日に肉眼的病理検査を実施し、子宮重量及び同腹児に関する評価項目を測定した。全胎児に対して肉眼的病理検査を実施後、内臓検査又は骨格検査を実施した。

1 及び 3 mg/kg/日投与群（2 日に 1 回投与）において、曝露量は概して第 6～18 日に減少した。高用量である 9 mg/kg/日投与群では、いずれの投与スケジュールにおいても曝露量は同様であった。

ソマプシタンの投与による忍容性は良好であり、投与に関連した死亡及び一般症状はみられなかった。3 及び 9 mg/kg/日投与群（2 日に 1 回投与）では、投与により母動物の著しい体重増加が誘発された。このことは、ソマプシタンの薬理作用及び用量段階的な IGF-I 値の上昇に関連するものである。投与終了後、妊娠第 19～29 日の平均体重増加量は対照群と比較して著しく抑制され、さらに摂餌量の減少も認められた。

肉眼的病理検査の結果、投与に関連すると考えられた所見はみられず、平均生存胎児数及び性比に関して、投与による影響は認められなかった。

9 mg/kg/日投与群では、平均胎盤重量及び平均同腹児重量が対照群と比較して少なかった。平均同腹児数は全群で同様であったが、胎児重量は全用量群で対照群と比較して減少した。3 及び 9 mg/kg/日投与群において胎児重量が 10%以上減少したことは、おそらく有害作用と考えられた。

軽微ならびに重大な異常及び骨格変異の発現頻度に関して、投与による影響は認められなかったが、中手骨／指骨の不完全骨化／未骨化の発現頻度が用量段階的に増加し、9 mg/kg 投与群（2 回に 1 回投与）のみ、わずかではあるが背景データの範囲から外れた。本所見は、胎児が相対的に未成熟であることに関連しており、おそらく胎児の低体重による二次的な変化と考えられる。

結論として、雌性ウサギの器官形成期における母動物の毒性ならびに胚・胎児の生存及び形態発生に対する NOAEL は 9 mg/kg（2 日に 1 回投与）であった。胎児の成長における NOAEL は 1 mg/kg（2 日に 1 回投与）と判断された。

2.6.6.6.3　母体機能を含む出生前及び出生後の発生に関する試験

2.6.6.6.3.1　Wistar Hannover 系ラットを用いた皮下投与による PPND 試験（予備試験）（Module 2.6.7.11、214468）

本試験の目的は、Wistar Hannover 系ラットを用いてソマプシタンの PPND に及ぼす影響を評価し、重要な PPND 試験の適正用量を設定することであった。投与群、用量及び動物数を表 2.6.6-18 に示す。

表 2.6.6-18　ラットを用いた PPND 試験（予備試験）（214468）

Group	Treatment	Dose (mg/kg twice weekly)	No. of female animals
1	Vehicle	0	6
2	Somapacitan	6	6
3	Somapacitan	9	6
4	Somapacitan	18	6

F0 世代の雌の妊娠期及び授乳期に、一般状態、体重、摂餌量、妊娠期間、出産、TK 及び肉眼的病理検査について評価した。F1 世代の胎児に関して、出生児数を調整した胎児の出生後 4 日の授乳時及び出生後 11 日の試験終了時点において、一般状態、体重、胎児数、出生児の生存率、性比及び TK を検討した。

F0 世代に対し、交配後 6、9、13、16 及び 20 日と授乳第 1、5 及び 8 日にソマプシタン 6、9 又は 18 mg/kg を週 2 回投与した。F1 世代（出生児）への投与は実施しなかった。対照群には溶媒を投与した。

成熟雌性ラットにおけるソマプシタン投与による忍容性は良好であった。ソマプシタンの薬理作用に一致し、全用量群で妊娠期及び授乳期における体重及び摂餌量の増加が誘発された。

着床数及び生存胎児数の平均、出生児の生存率、出生後の一般状態及び性比に関して、投与による影響は認められなかった。9 及び 18 mg/kg（週 2 回）投与群において、妊娠期間の半日延長が認められた。

全用量群において、出生後 1 日の体重及び出生後 11 日までの体重増加量は対照群と比較して高く、子宮内曝露及び授乳を介した母動物への投与による影響が示唆された。

授乳第 11 日に成熟雌及び出生児の肉眼的病理検査を実施した結果、いずれの用量群においても母動物への投与に関連すると考えられる所見は認められなかった。

結論として、妊娠期及び授乳期の雌において 18 mg/kg（週 2 回）までの用量は良好な忍容性を示した。

2.6.6.6.3.2　Wistar Hannover 系ラットへの週 2 回皮下投与による PPND 試験（Module 2.6.7.14、214469）

本試験の目的は、Wistar Hannover 系ラットを用いてソマプシタンによる PPND に及ぼす影響を評価することであった。投与群、用量及び動物数を表 2.6.6-19 に示す。

表 2.6.6-19　ラットを用いた PPND 試験（214469）

Group	Treatment	Dose (mg/kg twice weekly)	No. of female animals
1	Vehicle	0	22
2	Somapacitan	4	22
3	Somapacitan	9	22
4	Somapacitan	18	22

F0 世代の成熟雌に関して、一般状態、体重、摂餌量、TK、妊娠期間及び出産状態を評価し、全例の肉眼的病理検査を実施した。F1 世代の胎児について、出生児の生存率、性比、一般状態及び体重を評価し、離乳前の感覚検査を実施した。F1 世代に組み入れなかった動物を出生後 4 日に安楽死処置し、血液試料を採取し肉眼的病理検査を実施した。離乳後、選択した F1 世代の出生児の一般状態、体重、感覚反応及び性成熟を評価した。F1 世代の雌の性周期を評価し、その後、F1 世代の交配率、雌雄の受胎能を検討した。F1 世代の成熟動物全例の肉眼的病理検査を実施した。

交配後 6 日～授乳期第 18 日まで、ソマプシタン 4、9 又は 18 mg/kg（週 2 回投与）を各 22 例ずつ 3 群の雌性ラットに皮下投与した（交配後 6、9、13、16、20 日及び授乳期第 1、4、8、11、15、18 日に投与）。また、ソマプシタンを含有しない溶媒投与群も設定した。

ソマプシタン 4、9 及び 18 mg/kg（週 2 回）の投与による忍容性は、概して良好であった。人道的理由から、18 mg/kg 投与群の雌 1 例を妊娠第 22 日に安楽死処置した。肉眼的病理検査の結果、分娩の兆候はみられず、死亡理由は不明であった。本所見は 1 例しか認められず偶発的であり、投与に関連しないと考えられた。

全用量群の妊娠期及び授乳期において、投与に関連した母動物の体重及び摂餌量の増加が認められ、想定されたソマプシタンの薬理作用に一致するものであった。

全投与群において、母動物への投与による妊娠期間、平均着床数及び出生後 21 日までの平均生存率に対する影響は認められず、出生児の性比及び一般状態に及ぼす影響もみられなかった。生存児の出生率の差異に関して、18 mg/kg 投与群で統計学的有意差がみられたが、程度がわずかであったことから毒性学的意義はないと考えられた。試験期間全体で、出生時～出生後 1 日までにみられた同腹児の死亡は 4 例のみであり、いずれも 18 mg/kg 投与群の雌であった。死亡はいずれも偶発的と考えられ、また、他の投与群の結果は極めて良好であった。18 mg/kg 投与群で認められた同腹児の死亡の内訳は、雌 2 例中 2 例（1 腹あたり出生児 1 例）、別の 2 例では 1 腹あたり出生児 2 例であった。この出生児の死亡率は想定された範囲内であり、投与とは関連しないと考えられる。背景データから、対照群では

妊娠期における同腹児の死亡は最大 4 例（1 腹あたりの出生児は最大 2 例）生じることが示唆されている。

1 日齢の出生児の体重に対照群との有意差はみられなかったが、授乳期第 2 週では、雌の出生児の体重増加量が全投与群の雌雄で対照群と比較して有意に高かった。F1 世代に組み入れなかった出生児を 21 日齢に剖検した結果、全投与群において対照群と比較してで腎盂拡張の発現頻度が増加した。本所見は、出生児の一般状態、生存及び成長に影響を及ぼさなかったことから、母動物への投与による有害作用ではないと考えられた。また、成熟期まで飼育した F1 世代に本所見はみられなかった。

検討した全用量群において、母動物への投与による離乳前の発達、運動機能、学習、記憶及び性成熟に及ぼす影響は認められなかった。また、検討した F1 世代のいずれの用量群においても、母動物への投与による性周期、交配に要した日数、交配率、雌雄の受胎能に及ぼす影響はみられず、肉眼的病理検査による所見も認められなかった。

結論として、Wistar Hannover 系ラットを用いた PPND 試験に対する NOAEL は 18 mg/kg（週 2 回投与）であり、母動物の毒性に関しても NOAEL は 18 mg/kg（週 2 回投与）であった。

2.6.6.6.4　幼若動物を用いた試験

毒性試験の結果、小児患者において特に懸念となる標的組織は認められず、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。

2.6.6.7　局所刺激性試験

ICH M3（R2）[1]及び S6（R1）[2]ガイドラインに従って、Wistar Hannover 系ラット及びカニクイザルにおける反復投与毒性試験（Module 2.6.7.16、210472、211355 及び 212304）（Module 2.6.7.16、210470、210471 及び 212203）の一部に局所刺激性評価を組み入れ、ソマプシタンの皮下投与後の局所刺激性を評価した。また、ウサギを用いた単回投与試験を実施し、静脈内、筋肉内及び動脈内投与後の局所組織反応を検討した（Module 2.6.7.16、215150）。ラットを用いた試験では、試験期間中に投与部位の一般状態を評価し、試験終了時に肉眼的病理検査及び病理組織学的評価を行った。ソマプシタン投与群に対する病理組織学的評価の結果、ソマプシタンの薬理作用に起因すると考えられる皮下の線維芽細胞／コラーゲンの増加、及び免疫原性反応に起因すると考えられる皮下の炎症性細胞浸潤がみられた。サルにおける 26 週間試験で投与群と対照群を比較した結果、投与部位の組織の炎症性反応にのみ、わずかな差異が認められた。差異の程度が小さいことから、これらの所見は懸念すべきものではないと考えられた。ウサギに対する静脈内、筋肉内及び動脈内への単回投与後、投与部位に軽度の炎症性変化が認められた。本変化は、投与操作に起因した局所での組織反応のわずかな変動を示すものと考えられた。

結論として、非臨床試験の投与部位反応において懸念となる組織反応は認められなかった。

2.6.6.8　その他の毒性試験

2.6.6.8.1　ソマプシタンの肝細胞増殖に及ぼす影響の検討

本試験の目的は、カニクイザルを用いた 13 及び 26 週間毒性試験において、ソマプシタンによる肝組織（肝細胞）の増殖促進作用を *in vivo* で評価することであった。げっ歯類と霊長類では hGH の受容体活性化パターンが異なっており、ヒトへの安全性評価においては霊長類の組織反応を用いることが適切と考えられたことから、サルを選択した。肝臓は多量の GHR を有する器官の 1 つ[73]であることから選択した。ソマプシタン投与群及び溶媒対照群からそれぞれ 4 例の肝葉を採取し、パラフィン包埋肝組織切片を用いて増殖比〔標識指数（LI）〕の定量的評価を行った。Ki67 抗体を用いた免疫組織化学的検査の試験法に準拠し、増殖性肝細胞を立体的方法で計数し可視化した。その結果を下記に示す。

2.6.6.8.1.1　試験番号 210471 の肝組織における Ki67 陽性細胞数の定量（Module 2.6.7.17、211425）

肝組織における細胞増殖促進作用を *in vivo* で評価するため、13 週間毒性試験のカニクイザルから採取した組織試料を用いて肝細胞増殖を測定した。ソマプシタン 2 又は 9 mg/kg（週 2 回）投与群及び溶媒対照群からそれぞれ採取した肝組織切片を用いて、LI を定量的に評価した。2 及び 9 mg/kg 投与群の LI は溶媒対照群と比較して低く、9 mg/kg 投与群では統計学的な有意差が認められた。

2.6.6.8.1.2　試験番号 212203 の肝組織における Ki67 陽性細胞数の定量（Module 2.6.7.17、213066）

本試験の目的は、26 週間試験で用いたカニクイザルの肝細胞増殖を測定することであった。ソマプシタン 0.4、2 又は 9 mg/kg（週 2 回）投与群及び溶媒対照群からそれぞれ採取した肝組織切片を用いて、LI を定量的に評価した。0.4 mg/kg 投与群の LI は雌雄カニクイザルともに溶媒対照群の LI と比較して高かった。2 mg/kg 投与群の LI は、雌雄それぞれ対照群の LI と比較して、雌で低く、雄でわずかに高かった。9 mg/kg 投与群の LI は、溶媒対照群の LI と比較して雌雄ともに低かった。いずれの差異にも統計学的な有意差は認められなかった。

2.6.6.8.1.3　結論

結論として、上記 2 試験のいずれにおいてもソマプシタンの投与に起因する肝細胞増殖を示す LI の増加はみられなかった。

2.6.6.8.2　目的物質由来不純物の評価

不純物に関するソマプシタン製剤規格については「3.2.P.5.1 製剤規格」及び「3.2.P.5.5 不純物の特性」に示されている。表 2.6.6-20 に示したとおり、製剤規格は非臨床試験における適格性が確認されている。

表 2.6.6-20　非臨床試験において適格性が認められた不純物－実生産ロットの有効期間内規格案の算出比

Test method	Proposed EOSL specification limits	Batch [redacted] present in nonclinical batch administered in the 26-week monkey study (Study ID 212203)	Content of impurity (%) at NOAEL/wk: (18 mg/kg x % impurity) / 100	Content (%) at clinical max. dose 0.11 mg/kg/wk[c] for EOSL (0.11 mg/kg x% EOSL) / 100	Ratio of impurity exposure nonclinical/clinical
HMWP (%)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
Related substances (%)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
*不純物I	[redacted]	[redacted][a]	[redacted]	[redacted]	[redacted][b]
Others (%)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
Related impurities	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]
RP main peak (%)	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]	[redacted]

[a]Qualified by 4-week bridging study (Study ID 213245). [b][redacted] [c]Based on 70 kg/person and a maximum dose of 8 mg/week.

Abbreviations: AIE = anion exchange; EOSL = end-of-shelf-life; HMWP = high molecular weight protein; NOAEL = no observed adverse effect level; RP = reverse phase.

長期毒性試験に用いたロット中には存在しない不純物（*不純物I　）の適格性を評価するため、ラットを用いた 4 週間比較毒性試験を実施した（Module 2.6.7.6, 213245）。本試験でみられた所見は、ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験（212304）でみられた所見と同様であり、NOAEL は本試験の最高用量である 4 mg/kg（週 2 回投与）であった。

2.6.6.8.3　市販予定ソマプシタン製剤に含まれる添加剤の評価

市販予定ソマプシタンは、ヒスチジン（0.68 mg/mL）、マンニトール（44 mg/mL）、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（1.0 mg/mL）及びフェノール（4.0 mg/mL）から成る水溶媒中で製剤化される（「3.2.P.1 製剤及び処方」を参照のこと）。なお、ラット及び非ヒト霊長類における 26 週間毒性試験で用いたソマプシタン製剤の成分〔ヒスチジン水溶液（0.68 mg/mL）、マンニトール（44 mg/mL）、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（3.0 mg/mL）及びフェノール（3 mg/mL）〕は、市販予定製剤組成と完全に同一ではない。

ウサギにおける静脈内、筋肉内及び動脈内投与後の局所組織反応を検討した試験（Module 2.6.7.16, 215150）では、ソマプシタンの最終製剤を使用した。本試験の結論として、投与部位でみられた軽度の炎症性変化は、投与操作に起因した局所での組織反応のわずかな変動を示すものと考えられた。

これらの添加剤は、他の既承認の長期皮下投与用医薬品において広く知られており、欧州薬局方、米国薬局方及び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。非臨床試験では、いずれの添加剤も臨床用製剤と同濃度で用いており、良好な忍容性を示し、投与部位における反応はごく軽度であるか認められなかった。

2.6.6.9　考察及び結論

2.6.6.9.1　考察

ICH M3（R2）[1]及び ICH S6（R1）[2]ガイドラインに従って策定した毒性プログラムを通して、ソマプシタンはラット及びカニクイザルにおける忍容性は概して良好であった。認められた所見は GH に関する既知の薬理作用に関連するものであった。

ラットを用いた反復投与毒性試験において、2 週間連日投与後の NOAEL は 9 mg/kg/日であり、26 週間投与後（週 2 回投与）の NOAEL は 4 mg/kg であった。13 週間反復投与毒性試験の NOAEL は、慢性進行性腎症（CPN）及び糖尿病様症状が発現したことから、雄で 0.4 mg/kg/日、雌で 2 mg/kg/日であった。本試験では、5～6 箇月齢の動物に CPN が高頻度に発現したが、CPN は通常 12 箇月齢以降の動物で発現頻度が増加することから[27]、ソマプシタンの投与により CPN が誘発されたと考えられる。ラットの CPN は複合的な診断であるが、主に尿細管の変化がみられ、引き続き髄質の円柱形成を発現するものと考えられる。このことは、カロリー摂取量及び食餌中のタンパク質量に関連する可能性があり[74]、雌性ラットと比較して雄性ラットでより多くみられる[49]。GH により糸球体ろ過量が増加し肝臓のアルブミン産生を誘発することから、本試験における CPN の発現は GH の薬理作用と考えられる。過剰なアルブミンは腎臓を介して排泄され、タンパク尿となる。同時に、GH は尿中 pH を低下させ、タンパク質が沈殿し円柱が形成される。タンパク尿及び円柱形成が持続化することで尿細管が経時的に損傷を受け、CPN を発現する。投与後 2 週間にみられた所見はタンパク尿及び尿細管の円柱形成のみであったが、連日投与後 13 週にはタンパク尿の持続化により腎臓に慢性的な尿細管の変化が誘発され、CPN を発現した。このことからも、CPN の発現における時間依存性はさらに支持される。また、GH の糖尿病誘発作用（インスリン抵抗性及び高血糖）により、13 週間試験において 9 mg/kg/日投与群の雄の一部に糖尿病様症状が発現した。これらの糖尿病動物の膵臓及び眼に認められた種々の所見は、膵島細胞の萎縮／変性及び両眼のレンズ核変性といった糖尿病の症状に直接的に起因するものであった。糖尿病は、インスリンに対する GH の過剰な拮抗作用により誘発されることが知られている。このことは、末端肥大症患者でもみられる[10,25]。ラットを用いた試験では他にも血液学的評価項目、血液生

化学的評価項目、尿検査項目及び病理組織学的検査に及ぼす影響がみられたが、これらの所見はいずれもラット及びサルへのノルディトロピンの投与後においても認められており、GH による影響として論文でも発表されている。

ラットにおいて、13 週間試験の連日投与から 26 週間試験で週 2 回投与へ変更したところ、用量の減少により忍容性が増加し、所見の重症度及び発現頻度が低減した。投与後 24 時間までのソマプシタンに対する血漿中曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）は、両試験の 2 mg/kg/日投与群とも同様であった。しかしながら、13 週間毒性試験ではラットに 1 日 1 回投与を行ったため、ソマプシタンの総曝露量はより高値であった。

カニクイザルにおけるソマプシタンの忍容性は良好であり、26 週間試験での NOAEL は 9 mg/kg（週 2 回投与）であった。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}168h}$ について、NOAEL と最大臨床推奨用量（MRHD、8 mg/週）との曝露量比は 1000 倍超であった（Module 2.6.4、表 2.6.4-7 を参照のこと）。いずれの所見も GH の薬理作用に起因するものであり、GH、IGF-I 値又は PRLR の活性が上昇したことから、主にみられた乳腺組織の発達はソマプシタン投与に対するホルモン受容体を介した反応と考えられた [11,12]。サルにおいて投与に関連した腎臓の所見はみられなかった。

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、全体として、ラットはサルよりソマプシタンの影響に対する感受性が高いと考えられる。ラット及びサルのソマプシタン及び他の GH 製剤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に関連すると考えられる。げっ歯類及び霊長類において、霊長類の GH は内因性 GHR 及び PRLR の双方に対し高い結合親和性を有しているが、げっ歯類の内因性 GH はげっ歯類の GHR にしか結合しない [4,5,6,7]。受容体シグナル伝達におけるこの基本的な差異により、hGH 又はソマプシタンに対するげっ歯類の曝露により、非生理的なラット又はマウス PRLR の活性化が示される。

ソマプシタンに関して変異原性は認められず、また *in vitro* 遺伝毒性試験の結果、培養したヒト末梢血リンパ球における染色体異常の誘発もみられなかった。*In vitro* 増殖アッセイで測定したところ、ソマプシタンの効力は hGH の約 1/3～1/4 倍であった。また、ソマプシタンを投与したサルにおいて *in vivo* での肝細胞分裂促進作用を測定したところ、細胞増殖は認められなかった。げっ歯類では、hGH の長期投与後に増殖性変化及び肥大性変化が誘発される。しかしながら、受容体の生物学における既知の差異から、げっ歯類はがん原性に関するヒトへのリスク評価に適した動物モデルではないと考えられる。ノルディトロピン及び他の GH 製剤の長期臨床使用に関する疫学的データからは、デノボ癌発症との関連性は示されなかった。このことと一致して、ラット及びマウスに対してそれぞれ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 はがん原性を示さず、また、GHR の特異的かつ過剰な刺激は遺伝子導入マウスの腫瘍発現を誘

発しないことが示された。得られた非臨床データ及び文献のデータから、ソマプシタンのがん原性は既存の GH 製剤と同様と考えられる。

雌雄ラットの受胎能及び雌性ラットの初期胚発生に対するソマプシタンによる影響は認められず、NOAEL はいずれも 4 mg/kg（MRHD の曝露量の 46 倍）であった。

ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験で唯一認められた所見は、本系統において特異的かつ一過性に発現したが、出生後には消失したストレスに関連すると考えられる影響であった。高用量群である 18 mg/kg/日投与群では、妊娠第 10～13 日に投与を行った雌の胎児において長骨の短小／彎曲／肥厚の発現頻度が増加し、妊娠第 10～13 日及び 14～17 日に投与を行った雌の胎児において肋骨の内側性の肥厚／彎曲が高頻度で発現した。これらの所見は、Wistar Hannover 系ラットの胎児で報告されている軟骨形成異常症候群[70,71]と一致するものである。これらの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[70,71,72]。本所見はソマプシタン投与により直接誘発された催奇形性ではなく、非特異的なストレスに関連した毒性を介することで、ソマプシタンの投与が本所見を悪化させたものと考えられる。妊娠第 10～13 日に投与を行った 18 mg/kg/日投与群の雌の胎児において認められた長骨の短小／彎曲／肥厚の発現頻度の増加に基づき、母動物の毒性におけるソマプシタンの NOAEL は 18 mg/kg/日（MRHD の曝露量の 600 倍超）であり、胚・胎児発生に関する NOAEL は 6 mg/kg/日（MRHD の曝露量の 30 倍）であった。

ウサギでは、1 mg/kg を超える投与群の胎児に体重減少が認められたことから、NOAEL は 1 mg/kg であった（MRHD の曝露量の 18 倍）。胎児重量の減少は、ソマプシタン投与終了後に母動物の IGF-I 値が低下したことに関連すると考えられた。母動物における内因性 GH 及び IGF-I 産生は生理学的に正常なレベルまで回復しなかった。本試験デザインからは、この所見を評価できない。胎児重量の減少は、ライフサイクル後期段階における発達に影響を及ぼす可能性があることから、有害作用と考えられた。母動物の NOAEL は 18 mg/kg（MRHD の曝露量の 500 倍超）であった。

重要な PPND 試験及び予備試験において、妊娠期／授乳期の雌、着床～離乳までの間に曝露した雌の胎児又は出生児の発達に対する有害作用は認められなかった。出生児に体重増加がみられ、授乳期の母動物に及ぼすソマプシタン投与による影響が示唆された。このことは、曝露した母動物の乳汁中にソマプシタンが認められたこと又は乳汁分泌量の増加（PRLR 活性化による二次的な変化）に関連すると考えられた（詳細を Module 2.6.4.5 に記す）。出生後 7～14 日に GH を 1 mg/日投与した場合には、乳汁分泌量は対照群と比較して 41.1%増加する[75]。さらに、曝露した母動物の乳汁中に分泌される IGF-I 値の上昇に伴い出生児の IGF-I 値が上昇したことも、上述した体重増加に寄与した可能性が考えられる。ラット乳児において、授乳後 30 分間にわたり空腸から乳汁中 IGF-I が検出され、経腸投与後の門脈血中に活性型 IGF-I が認められた[76]。

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。ソマプシタン投与部位の一部では、溶媒対照群と比較してわずかではあるが投与部位反応がみられ、本剤が軽微な刺激性を有するか、特にラットではわずかではあるが免疫原性を有していることが示唆された。

非臨床試験において有効期間内規格の適格性が確認された。また、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。

2.6.6.9.2　結論

毒性試験プログラムから、ソマプシタンの薬理作用に基づくと考えられる影響が認められた。これらは、直接的影響又は IGF-I を介した二次的影響であり、いずれもノルディトロピン等の hGH で報告されている所見と同様の影響であった。

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

[5] 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.

[6] 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.

[7] 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.

[8] 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.

[9] 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.

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

[11] Ng ST, Zhou J, Adesanya OO, Wang J, LeRoith D, Bondy CA. Growth hormone treatment induces mammary gland hyperplasia in aging primates. Nat Med. 1997;3(10):1141-4.

[12] Cline JM, Wood CE. The Mammary Glands of Macaques. Toxicol Pathol. 2008;36(7):134s-41s.

[13] Stahnke N, Blunck W, Schroter W. Action of growth hormone on erythropoiesis: changes in red blood cell enzyme activities in growth-retarded patients with and without growth hormone deficiency. Pediatr Res. 1976;10(9):802-6.

[14] Xu Y, Wang S, Shen M, Zhang Z, Chen S, Chen F, et al. hGH promotes megakaryocyte differentiation and exerts a complementary effect with c-Mpl ligands on thrombopoiesis. Blood. 2014;123(14):2250-60.

[15] Murphy WJ, Durum SK, Anver MR, Longo DL. Immunologic and hematologic effects of neuroendocrine hormones. Studies on DW/J dwarf mice. J Immunol. 1992;148(12):3799-805.

[16] Murphy WJ, Tsarfaty G, Longo DL. Growth hormone exerts hematopoietic growth-promoting effects in vivo and partially counteracts the myelosuppressive effects of azidothymidine. Blood. 1992;80(6):1443-7.

[17] Hanley MB, Napolitano LA, McCune JM. Growth hormone-induced stimulation of multilineage human hematopoiesis. Stem Cells. 2005;23(8):1170-9.

[18] Jorgensen KD. Comparison of the pharmacological properties of pituitary and biosynthetic human growth hormone. Demonstration of antinatriuretic/antidiuretic and barbital sleep effects of human growth hormone in rats. Acta Endocrinol (Copenh). 1987;114(1):124-31.

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

[20] 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.

[21] 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.

[22] Barsoum NJ, Gough AW, Sturgess JM, de la Iglesia FA. Morphologic features and incidence of spontaneous hyperplastic and neoplastic mammary gland lesions in Wistar rats. Toxicol Pathol. 1984;12(1):26-38.

[23] Novo Nordisk A/S. Neoplastic findings in the mammary of female Han Wistar rat. Background Data Report. 24 June 2014.

[24] Elcock LH, Stuart BP, Mueller RE, Hoss HE. Deciduoma, uterus, rat. In: Jones TC, Mohr U, Hunt RD, editors. Genital system (Monographs on pathology of laboratory animal). 1st ed: Springer-Verlag; 1987. p. 140-6.

[25] 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.

[26] 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.

[27] Percy DH, Barthold SW. Rat. Pathology of laboratory rodents and rabbits. 3rd ed: Blackwell Publishing; 2007. p. 161-3 (part of Chapter 2).

[28] 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.

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

[30] 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.

[31] 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.

[32] 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.

[33] 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.

[34] 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.

[35] 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.

[36] Pollreisz A, Schmidt-Erfurth U. Diabetic cataract-pathogenesis, epidemiology and treatment. J Ophthalmol. 2010;2010:608751.

[37] Bron AJ, Sparrow J, Brown NA, Harding JJ, Blakytny R. The lens in diabetes. Eye (Lond). 1993;7 (Pt 2):260-75.

[38] Uslu BA, Ilhan F, Gulyuz F, Karasu A, Tas A, Sendag S, et al. The effects of sildenafil citrate and vitamins A, C and E on testicular damage in alloxan-diabetic rats. J Anim Vet Adv. 2012;11(1):56-63.

[39] Rehm S, White TE, Zahalka EA, Stanislaus DJ, Boyce RW, Wier PJ. Effects of food restriction on testis and accessory sex glands in maturing rats. Toxicol Pathol. 2008;36(5):687-94.

[40] Cittadini A, Stromer H, Katz SE, Clark R, Moses AC, Morgan JP, et al. Differential cardiac effects of growth hormone and insulin-like growth factor-1 in the rat. A combined in vivo and in vitro evaluation. Circulation. 1996;93(4):800-9.

[41] Rubin SA, Buttrick P, Malhotra A, Melmed S, Fishbein MC. Cardiac physiology, biochemistry and morphology in response to excess growth hormone in the rat. J Mol Cell Cardiol. 1990;22(4):429-38.

[42] Rao GN. Diet and kidney diseases in rats. Toxicol Pathol. 2002;30(6):651-6.

[43] Abbate M, Zoja C, Remuzzi G. How does proteinuria cause progressive renal damage? J Am Soc Nephrol. 2006;17(11):2974-84.

[44] Peter CP, Burek JD, van Zwieten MJ. Spontaneous nephropathies in rats. Toxicol Pathol. 1986;14(1):91-100.

[45] Coombes JD, Mreich E, Liddle C, Rangan GK. Rapamycin worsens renal function and intratubular cast formation in protein overload nephropathy. Kidney Int. 2005;68(6):2599-607.

[46] Keenan KP, Coleman JB, McCoy CL, Hoe CM, Soper KA, Laroque P. Chronic nephropathy in ad libitum overfed Sprague-Dawley rats and its early attenuation by increasing degrees of dietary (caloric) restriction to control growth. Toxicol Pathol. 2000;28(6):788-98.

[47] Karl IE, Garcia P, White WL, Recant L, Kissane JM. Proteinuria Induced by Albumin Injection; Effect on Kidney and Liver Enzymes in the Rat. Lab Invest. 1964;13:1600-11.

[48] Mori H, Yamashita H, Nakanishi C, Koizumi K, Makino S, Kishimoto Y, et al. Proteinuria induced by transplantable rat pituitary tumor MtT SA5. Model for homologous protein-overload proteinuria. Lab Invest. 1986;54(6):636-44.

[49] McInnes EF. Wistar and Sprague-Dawley rats, Urinary system. Background lesions in laboratory animals. 1st ed: Saunders Elsevier; 2012. p. 28-30 (part of Chapter 2).

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

[51] 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).

[52] Everds NE, Snyder PW, Bailey KL, Bolon B, Creasy DM, Foley GL, et al. Interpreting stress responses during routine toxicity studies: a review of the biology, impact, and assessment. Toxicol Pathol. 2013;41(4):560-614.

[53] ICH S2(R1). Guidance On Genotoxicity Testing And Data Interpretation For Pharmaceuticals Intended For Human Use. Current Step 4 version, dated 9 November 2011.

[54] Novo Nordisk A/S. Derek - in silico genotoxic screening - 195_92 - 18 December 2009.

[55] 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.

[56] 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.

[57] 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.

[58] 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.

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

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

[61] 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.

[62] 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.

[63] 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.

[64] 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.

[65] 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.

[66] 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.

[67] 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.

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

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

[70] 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.

[71] 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.

[72] 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.

[73] Hocquette JF, Postel-Vinay MC, Kayser C, de Hemptinne B, Amar-Costesec A. The human liver growth hormone receptor. Endocrinology. 1989;125(4):2167-74.

[74] Hard GC, Khan KN. A contemporary overview of chronic progressive nephropathy in the laboratory rat, and its significance for human risk assessment. Toxicol Pathol. 2004;32(2):171-80.

[75] Philipps AF, Dvorak B, Kling PJ, Grille JG, Koldovsky O. Absorption of milk-borne insulin-like growth factor-I into portal blood of suckling rats. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2000;31(2):128-35.

[76] Philipps AF, Kling PJ, Grille JG, Dvorak B. Intestinal transport of insulin-like growth factor-I (IGF-I) in the suckling rat. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2002;35(4):539-44.

ソマプシタン（遺伝子組換え）

2.6.7 毒性試験の概要表

ノボ ノルディスク ファーマ株式会社

目次

ページ

目次 2
表目次 3
2.6.7.1 毒性試験の一覧表 4
2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表 9
2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧 10
2.6.7.4 毒性試験に用いた被験物質（バッチ毎）一覧 14
2.6.7.5 単回投与毒性試験 15
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 16
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 18
2.6.7.7.A Wistar Hannover 系ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験（210472） 18
2.6.7.7.B Wistar Hannover 系ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験（211355） 23
2.6.7.7.C Wistar Hannover 系ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験（212304） 39
2.6.7.7.D カニクイザルを用いた 2 週間反復投与毒性試験（210470） 53
2.6.7.7.E カニクイザルを用いた 13 週間反復投与毒性試験（210471） 55
2.6.7.7.F カニクイザルを用いた 26 週間反復投与毒性試験（212203） 59
2.6.7.8 遺伝毒性試験：*in vitro* 64
2.6.7.8.A Ames 試験（復帰突然変異試験）（211097） 64
2.6.7.8.B 染色体異常試験（211098） 68
2.6.7.9 遺伝毒性試験：*in vivo* 70
2.6.7.10 がん原性試験 72
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 73
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 75
2.6.7.12.A 雄性 Wistar Hannover 系ラットを用いた受胎能に関する試験（212376） 75
2.6.7.12.B 雌性 Wistar Hannover 系ラットを用いた受胎能に関する試験（212412） 77
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児の発生に関する試験 80
2.6.7.13.A Wistar Hannover 系ラットを用いた胚・胎児の発生に関する試験（212178） 80
2.6.7.13.B ニュージーランドホワイト種ウサギを用いた胚・胎児の発生に関する試験（212177） 83
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験 86
2.6.7.15 幼若動物を用いた試験 91
2.6.7.16 局所刺激性 91
2.6.7.17 その他の毒性試験 93

表目次

ページ

表 2.6.7-1　Wistar Hannover 系ラットを用いた反復投与毒性試験 10
表 2.6.7-2　Wistar Hannover 系ラットを用いた生殖発生毒性試験 11
表 2.6.7-3　ニュージーランドホワイト種ウサギを用いた生殖発生毒性試験 12
表 2.6.7-4　カニクイザルを用いた反復投与毒性試験 13

2.6.7.1 毒性試験の一覧表

Test article: somapacitan

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	GLP compliance	Testing facility	Study ID	Location in CTD
Single-dose toxicity No studies performed								
Repeat-dose toxicity non-pivotal studies	Rat, WIST (Han)	s.c.	2 weeks	0. 0.4, 2, 8	No	Novo Nordisk	210055	4.2.3.2-1
	Cynomolgus monkey	s.c.	6 weeks	2.5, 10	No	[redacted]	210056	4.2.3.2-2
	Rat, WIST (Han)	s.c.	4 weeks	0, 1, 2, 4	Yes	[redacted]	213245	4.2.3.2-3
Repeat-dose toxicity pivotal studies	Rat, WIST (Han)	s.c.	2 weeks	0. 0.4, 2, 9	Yes	[redacted]	210472	4.2.3.2-4
	Rat, WIST (Han)	s.c.	13 weeks	0. 0.4, 2, 9	Yes	[redacted]	211355	4.2.3.2-5
	Rat, WIST (Han)	s.c.	26 weeks	0, 1, 2, 4	Yes	[redacted]	212304	4.2.3.2-6
	Cynomolgus monkey	s.c.	2 weeks	0. 0.4, 2, 9	Yes	[redacted]	210470	4.2.3.2-7
	Cynomolgus monkey	s.c.	13 weeks	0. 0.4, 2, 9	Yes	[redacted]	210471	4.2.3.2-8
	Cynomolgus monkey	s.c.	26 weeks	0. 0.4, 2, 9	Yes	[redacted]	212203	4.2.3.2-9

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	GLP compliance	Testing facility	Study ID	Location in CTD
Genotoxicity: *in vitro*								
Ames test	*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 and TA102	-	-	-	Yes	[redacted]	211097	4.2.3.3.1-1
Chromosome aberration test *in vitro*	Human Lymphocytes	-	-	-	Yes	[redacted]	211098	4.2.3.3.1-2
Genotoxicity: *in vivo*								
In vivo micronucleus	Rat, WIST (Han)	s.c.	Twice on one day	up to 70	Yes	[redacted]	211299	4.2.3.3.2-1
Carcinogenicity								
No studies performed								
Reproductive and developmental toxicity non-pivotal studies								
Preliminary EFD in the rat	Rat, WIST (Han)	s.c.	Gestation day 6-9, 10-13 and 14-17	0.4, 2, 9	Yes	[redacted]	211298	4.2.3.5.2-1
Tolerance in the rabbit	Rabbit/New Zealand White	s.c.	Gestation day 6-18 or 12-18	0, 0.4, 9, 15, 25	Yes	[redacted]	211296	4.2.3.5.2-2
Preliminary study for effects on pre- and postnatal development	Rat, WIST (Han)	s.c.	Gestation day 6 to lactation day 8	0, 6, 9, 18	No	[redacted]	214468	4.2.3.5.3-1

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	GLP compliance	Testing facility	Study ID	Location in CTD
Reproductive and developmental toxicity fertility and early embryonic development to implantation pivotal								
Male fertility	Rat, WIST (Han)	s.c.	Twice weekly for approximately 6 weeks	0, 1, 2, 4	Yes	[redacted]	212376	4.2.3.5.1-1
Female fertility	Rat, WIST (Han)	s.c.	Twice weekly for 2 weeks before pairing, during pairing and on Days 0, 4 and 7 after mating	0, 1, 2, 4	Yes	[redacted]	212412	4.2.3.5.1-2
Reproductive and developmental toxicity effects on embryo-foetal development								
Main EFD in the rat	Rat, WIST (Han)	s.c.	Gestation day 6-9, 10-13 or 14-17	0, 2, 6, 18	Yes	[redacted]	212178	4.2.3.5.2-3
Main EFD in the rabbit	Rabbit/New Zealand White	s.c.	Gestation day 6, 8, 10, 12, 14, 16 and 18	0, 1, 3, 9	Yes	[redacted]	212177	4.2.3.5.2-4

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	GLP compliance	Testing facility	Study ID	Location in CTD
Reproductive and developmental toxicity effects on pre- and postnatal development, including maternal function								
Main study for effects on pre- and postnatal development	Rat, WIST (Han)	s.c.	Gestation day 6 to lactation day 18	0, 4, 9, 18	Yes	[redacted]	214469	4.2.3.5.3-2
Studies in juvenile animals								
No studies performed								
Local tolerance								
Two-week toxicity study by the subcutaneous route	Rat, WIST (Han)	s.c	2 weeks	0. 0.4, 2, 9	Yes	[redacted]	210472 (part of toxicity study)	4.2.3.2-4
13-week toxicity study by the subcutaneous route	Rat, WIST (Han)	s.c.	13 weeks	0. 0.4, 2, 9	Yes	[redacted]	211355 (part of toxicity study)	4.2.3.2-5

Type of study	Species and strain	Method of administration	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	GLP compliance	Testing facility	Study ID	Location in CTD
26-week toxicity study by the subcutaneous route	Rat, WIST (Han)	s.c.	26 weeks	0. 1, 2,4	Yes	[redacted]	212304 (part of toxicity study)	4.2.3.2-6
2-week toxicity study by the subcutaneous route	Cynomolgus monkey	s.c.	2 weeks	0. 0.4, 2, 9	Yes	[redacted]	210470 (part of toxicity study)	4.2.3.2-7
13-week toxicity study by the subcutaneous route	Cynomolgus monkey	s.c.	13 weeks	0. 0.4, 2, 9	Yes	[redacted]	210471 (part of toxicity study)	4.2.3.2-8
26-week toxicity study by the subcutaneous route	Cynomolgus monkey	s.c.	26 weeks	0. 0.4, 2, 9	Yes	[redacted]	212203 (part of toxicity study)	4.2.3.2-9
Single-dose local tolerance study in rabbits	Rabbit	i m., i.v., i.a.	Single dose	12 mg/rabbit	Yes	[redacted]	215150	4.2.3.6-1
Other toxicity studies								
Quantification of Ki67 positive cells in histological liver tissue slides from Study 210471	Cynomolgus monkey	s.c.	13 weeks	0. 0.4, 2, 9	No	Novo Nordisk	211425	4.2.3.7.7-1
Quantification of Ki67 positive cells in cynomolgus monkey liver tissue dosed 26 weeks from Study 212203	Cynomolgus monkey	s.c.	26 weeks	0. 0.4, 2, 9	No	Novo Nordisk	213066	4.2.3.7.7-2

[a]For repeat-dose toxicity, the highest NOAEL (no observed adverse effect level) is underlined.

2.6.7.2 トキシコキネティクス試験の一覧表

Test article: somapacitan

Type of study	Test system	Method of administration	Doses (mg/kg)	GLP compliance	Study ID	Location in CTD
Repeat-dose toxicity (dose range finder)	Rat, WIST (Han)	s.c.	0.4, 2, 8 OD	No	210055	4.2.3.2-1
Repeat-dose toxicity (bridging study)	Rat, WIST (Han)	s.c.	1, 2, 4 TW	Yes	213245	4.2.3.2-3
Repeat-dose toxicity	Rat, WIST (Han)	s.c.	0.4, 2, 9 OD	Yes	210472	4.2.3.2-4
Repeat-dose toxicity	Rat, WIST (Han)	s.c.	0.4, 2, 9 OD	Yes	211355	4.2.3.2-5
Repeat-dose toxicity	Rat, WIST (Han)	s.c.	1, 2, 4 TW	Yes	212304	4.2.3.2-6
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	s.c.	0.4, 2, 9 TW	Yes	210470	4.2.3.2-7
Repeat-dose toxicity (dose range finder)	Cynomolgus monkey	s.c.	2.5, 10 TW	No	210056	4.2.3.2-2
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	s.c.	0.4, 2, 9 TW	Yes	210471	4.2.3.2-8
Repeat-dose toxicity	Cynomolgus monkey	s.c.	0.4, 2, 9 TW	Yes	212203	4.2.3.2-9
Main EFD	Rat, WIST (Han)	s.c.	0, 2, 6, 18 OD	Yes	212178	4.2.3.5.2-1
Preliminary PPN	Rat, WIST (Han)	s.c.	0, 6, 9, 18 TW	No	214468	4.2.3.5.3-1
Main PPN	Rat, WIST (Han)	s.c.	0, 4, 9, 18 TW	Yes	214469	4.2.3.5.3-2
Tolerance in pregnant rabbits	Rabbit/New Zealand White	s.c.	0.4, 9, 15, 25 TW	Yes	211296	4.2.3.5.2-2
Main EFD in the rabbit	Rabbit/New Zealand White	s.c.	1, 3, 9 TW	Yes	212177	4.2.3.5.2-4

OD = once daily; TW = twice weekly.

2.6.7.3 トキシコキネティクス試験成績の一覧

Test article: somapacitan

表 2.6.7-1　Wistar Hannover 系ラットを用いた反復投与毒性試験

Type of study	Study ID	Sex and no./group	Dosing frequency	Nominal dose (mg/kg)	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr × ng/mL)	
					Male	Female
					Day 1 - Day 14	**Day 1 - Day 14**
DRF	210055	3-4M, 3-4F	Daily	0.4	19,700 - 1,510	2,410 - 2,030
		2-8 samples per time point		2	130,000 - 9,740	32,700 - 12,500
				8	693,000 - 85,200	412,000 - 102,000
					Day 1 - Day 29	**Day 1 - Day 29**
Bridging study	213245	9M, 9F	Twice weekly	2[a]	98,300 - 77,200	32,300 - 22,100
		3 samples per time point		2[b]	99,000 - 68,800	36,700 - 27,300
				4[a]	154,000 - 139,000	106,000 - 61,000
				4[b]	177,000 - 134,000	148,000 - 102,000
				4[c]	108,000 - 82,700	62,700 - 54,800
					Day 1 - Day 14	**Day 1 - Day 14**
2-week toxicity	210472	3M, 3F	Daily	0.4	7,830 - NR	NR - 1,840
		3 samples per time point		2	69,500 - 5,180	35,300 - NR
				9	441,000 - 30,500	326,000 - 53,800
					Day 1 - Week 13	**Day 1 - Week 13**
13-week toxicity	211355	10M, 10F	Daily	0.4	7,090 - NR	NR
		3 samples per time point		2	66,400 - 29,200	33,800 - 7,750
				9	405,000 - 530,000	333,000 - 464,000
					Day 1 - Week 26	**Day 1 - Week 26**
26-week toxicity	212304	10M, 10F	Twice weekly	1	41,500 - 4,750	NR - 4,370
		3 samples per time point		2	107,000 - 10,800	49,200 - 18,300
				4	143,000 - 34,600	128,000 - 42,000

Route of administration was s.c. in all studies.

[a]Nonclinical batch. [b]New impurity batch. [c]End-of-shelf-life batch.

NR: No result as concentration was <LLOQ in all samples, or $AUC_{0\text{-}24hr}$ not available.

表 2.6.7-2　Wistar Hannover 系ラットを用いた生殖発生毒性試験

Type of study	Study ID	Sex and no./group	Dosing frequency	Nominal dose (mg/kg)	Day	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr × ng/mL)
Embryo-foetal development	212178	60F 3 cohorts/dose (n=20) 3 samples/time point	Daily	2	GD6 - GD9 GD10 - GD13 GD14 - GD17	40,400 - NR 61,600 - 10,900 26,600 - 19,100
				6	GD6 - GD9 GD10 - GD13 GD14 - GD17	248,000 - 51,000 251,000 - 93,000 163,000 - 106,000
				18	GD6 - GD9 GD10 - GD13 GD14 - GD17	793,000 - 668,000 884,000 - 782,000 588,000 - 655,000
Preliminary PPN	214468	6F 2 samples/time point	Twice weekly	6 9 18	GD6 - GD16 - LD8 GD6 - GD16 - LD8 GD6 - GD16 - LD8	148,000 - 93,000 - 162,000 295,000 - 174,000 - 286,000 808,000 - 503,000 - 823,000
Main PPN	214469	4F 2 samples/time point	Twice weekly	4 9 18	GD6 - GD16 - LD8 GD6 - GD16 - LD8 GD6 - GD16 - LD8	157,000 - 61,400 - 68,000 617,000 - 368,000 - 252,000 1,450,000 - 846,000 - 1,210,000

GD = gestational day; LD = lactational day; NR = not reported; PPN = pre- and postnatal.

表 2.6.7-3　ニュージーランドホワイト種ウサギを用いた生殖発生毒性試験

Type of study	Study ID	Sex and no./group	Dosing frequency	Nominal dose (mg/kg)	Day	$AUC_{0\text{-}48hr}$ (hr × ng/mL)
Tolerance study in pregnant rabbits	211296	6F 2 cohorts/dose (n=3) Cohort 1: GD6-GD18 Cohort 2: GD12-GD18 Full profiles	Every second day	0.4	GD6 - GD12 - GD18 GD12 - GD18	10,90[a] - 3,780[a] - NR 3,940[a] - 3,740[a]
				9	GD6 - GD12 - GD18 GD12 - GD18	1,790,000 - 2,300,000 - 1,720,000 2,170,000 - 2,810,000
				15	GD6 - GD12 - GD18 GD12 - GD18	3,500,000 - 4,780,000 - 4,620,000 3,510,000 - 5,500,000
				25	GD6 - GD12 - GD18 GD12 - GD18	6,010,000 - 8,590,000 - 9,040,000 6,930,000 - 10,800,000
						C_{12hr} (ng/mL)
Embryo-foetal development	212177	22F Single concentration at expected t_{max} (12 hr) in a subset of animals (n=6)	Every second day	1	GD6 - GD18	2,560 - 834
				3	GD6 - GD18	12,700 - 3,560
				9	GD6 - GD18	40,400 - 54,900

[a]$AUC_{0\text{-}12hr}$ or $AUC_{0\text{-}24hr}$

GD = gestational day; NR = not reported.

表 2.6.7-4　カニクイザルを用いた反復投与毒性試験

Type of study	Study ID	Sex and no./group	Dosing frequency	Nominal dose (mg/kg)	$AUC_{0\text{-}72hr}$ (hr × ng/mL)
					Mean of male and female animals
					Day 1 - Day 36
DRF	210056	3M	Twice weekly	2.5	2,070,000 - 9,430,000
		Full profiles		10	5,250,000 - 25,600,000
					Day 1 - Day 12
2-week toxicity	210470	3M, 3F	Twice weekly	0.4	129,000 - 251,000
		Full profiles		2	845,000 - 1,670,000
				9	4,430,000 - 8,890,000
					Day 1 - Week 13
13-week toxicity	210471	3-5M, 3-5F	Twice weekly	0.4	145,000 - 188,000
		Full profiles		2	890,000 - 1,850,000
				9	4,490,000 - 9,400,000
					Day 1 - Week 26
26-week toxicity	212203	3-5M, 3-5F	Twice weekly	1	223,000 - 222,000
		Full profiles		2	1,270,000 - 1,810,000
				4	6,060,000 - 9,330,000

Route of administration was s.c. in all studies

Mean of male and female animals listed as exposure was similar between the two sexes

2.6.7.4 毒性試験に用いた被験物質（バッチ毎）一覧

Test article: somapacitan

Batch no.	Purity (%)	Specified impurities	Study ID	Type of study
[redacted]	[redacted]	[redacted]	210055	2-week DRF in rats
			210056	6-week DRF in cynomolgus monkeys
			210472	2-week repeat-dose toxicity study in rats
			211355	13-week repeat-dose toxicity study in rats
			210470	2-week repeat-dose toxicity study in cynomolgus monkeys
			210471	13-week repeat-dose toxicity study in cynomolgus monkeys
			211097	*In vitro* genotoxicity AMES
			211098	*In vitro* genotoxicity chromosome aberrations
			211299	*In vivo* micronucleus test in the rat
			211298	Preliminary EFD in rats
			211296	Tolerance in rabbits
			212203	26-week repeat-dose toxicity study in cynomolgus monkeys
			212304	26-week repeat- dose toxicity study in rats
			212178	Main EFD in rats
			212177	Main EFD in rabbits
			212412	Female fertility
			212376	Male fertility
			213245	4-week bridging study in rats
			213245	4-week bridging study in rats
			213245	4-week bridging study in rats
			213245	4-week bridging study in rats
			214468	Preliminary study for effects on pre- and postnatal development
			214469	Main study for effects on pre- and postnatal development

[redacted]

2.6.7.5 単回投与毒性試験

No studies performed.

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

Test article: somapacitan

Species/ Strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy findings	Study ID
Rat, WIST (Han)	s.c.	2 weeks	0. 0.4, 2, 8	8M+8F	8	The findings reported in this study were all consistent with the pharmacological action of growth hormone; increase of the body weight, body weight gain and food consumption was evident in animals receiving 2-8 mg/kg/day during the dosing period and treatment related increase in IGF-I. During the recovery period, both the body weight gain and the IGF-I levels of the Somapacitan-treated groups decreased.	210055
Cynomolgus monkey	s.c.	6 weeks	2.5, 10 twice weekly	3M	10	The findings reported in this study were all consistent with the pharmacological action of growth hormone (slightly higher weight gains, swelling of mammary glands, lactation and slight secretory activity at microscopic examination, though the range of individual responses showed wide variation and in terms of incidence there was no dose-response).	210056

Species/ Strain	Method of administration (vehicle/ formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy findings	Study ID
Rat, WIST (Han)	s.c.	4 weeks	2, 4 twice weekly	10M+10F	4 mg/kg	Twice weekly subcutaneous administration of three different batches of somapacitan to Han Wistar rats at doses of 2 or 4 mg/kg for four weeks produced a wide range of findings that were related to direct effects of growth hormone. The range and extent of the majority of the reported treatment-related changes were generally similar between the three batches, though the EOSL batch showed a slightly lower systemic exposure as indicated by the toxicokinetic investigations and the magnitude of effect on bodyweight for animals receiving the EOSL batch was lower than that of the other two batches, despite IGF-I levels being comparable across groups.	213245

2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験

Test article: somapacitan

2.6.7.7.A Wistar Hannover 系ラットを用いた 2 週間反復投与毒性試験（210472）

Report Title: Toxicity study by subcutaneous administration to Han Wistar rats for 2 weeks **Study ID:** 210472

Species/Strain: Rat/Han Wistar	**Duration of Dosing:** 2 weeks	**Location in CTD:** 4.2.3.2-4
Initial Age: 10-12 weeks	**Duration of Postdose:** Not Applicable	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: 10 May 2011	**Method of Administration:** Subcutaneous Injection	
	Vehicle/Formulation: Aqueous solution containing 1.55 mg/mL histidine, 36 mg/mL mannitol and 21 mg/mL sucrose (pH7)	

Parameters collected:
Body Weight, Food Consumption, Clinical Observations, Ophthalmoscopy, Haematology, Serum Chemistry, Antibodies, Urinalysis, Toxicokinetics, Organ Weights, Gross Pathology, Histopathology

Special Features: Insulin Analysis, Measurement of insulin-like growth factor-I (IGF-I)

No Observed Adverse-Effect Level: 9 mg/kg/day

Brief conclusion: It is concluded, that daily subcutaneous administration of somapacitan to Han Wistar rats for two weeks produced a range of findings which were generally attributable to its pharmacological action as a long-acting growth hormone. There was no evidence of any significant toxicity. The toxicokinetic investigations demonstrated high levels of exposure after the first dose, with diminished exposure after repeated administration. The NOAEL was 9 mg/kg/day.

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.4 mg/kg/day**		**2 mg/kg/day**		**9 mg/kg/day**	
Number of Animals (Main)	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Number of Animals (TK)	**M: 3**	**F: 3**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Toxicokinetics:								
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (h × ng/mL) Day 1	-	-	7,830	NR	69,500	35,300	441,000	326,000
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (h × ng/mL) Day 14	-	-	NR	1,840	5,180	NR	30,500	53,800
Antibodies – positive (%)	0	10	40	60	50	70	60	50
Total IGF-I (ng/mL)								
Pre treatment	1410	1240	1780	1330	1510	1320	1520	1260

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.4 mg/kg/day**		**2 mg/kg/day**		**9 mg/kg/day**	
Day 7	1630	1090	1400	1060	1630	1210	2180	1990
Day 14	1660	995	938	1090	1270	1030	2580	2190
Noteworthy Findings								
Bodyweight gain (Day 1-15) (g)	7	12	10	28**	32**	49**	58**	90**
Bodyweight gain (Day 1-15) (%[a])			43	133**	357**	308**	729**	650**
Food Consumption (g/animal/day)	23	17	24	17	26**	19**	28**	24**
Food Consumption (%[a])			4	0	13**	12**	22**	41**
Haematology (fasted)								
Haematocrit (L/L)	0.474	0.452	0.461	0.438	0.445**	0.445	0.420**	0.414**
Haemoglobin (g/dL)	15.9	15.2	15.4*	14.6	14.9**	14.6	13.7**	13.6**
Erythrocyte count ($x10^{12}$/L)	9.03	8.46	8.57**	8.09*	8.07**	7.81**	7.62**	7.22**
Reticulocyte count (%)	1.98	2.28	2.43*	3.05*	3.52**	2.83*	4.32**	4.81**
MCH (pg)	17.6	17.9	18.1	18.0	18.5*	18.7*	18.0*	18.9**
MCHC (g/dL)	33.6	33.5	33.5	33.3	33.4	32.8*	32.5*	32.9*
MCV (fL)	52.5	53.5	53.9*	54.1	55.2**	57.0**	55.2**	57.3**
WBC ($x10^9$/L)	7.85		5.82*		6.79*		6.75*	
Eosinophil ($x10^9$/L)	0.09		0.07		0.07*		0.04**	
PLT ($x10^9$/L)	957	1035	1129*	1183	1290**	1338*	1594**	1629**
PT (sec)	20.8	20.7	18.4**	19.2*	17.5**	18.7**	16.7**	18.5**
APTT (sec)	22.3		20.7		20.1		17.3**	
Clinical Chemistry (fasted)								
Alkaline phosphatase (U/L)	80	38	26**	25**	30**	34	39**	47
AST (U/L)		74		62		70		55*
Bilirubin (µmol/L)	1	1	2**	2	3**	2*	4**	3**
Urea (mmol/L)	5.96	7.65	5.49	6.67	5.20*	7.32	4.94**	5.66**
Cholesterol (mmol/L)	1.94		2.64**		3.09**		3.15**	
Triglycerides (mmol/L)	0.53		1.01**		0.87**		0.98**	
Calcium (mmol/L)	2.65	2.76	2.84**	2.86*	2.98**	2.92**	3.03**	2.87**
Phosphorus (mmol/L)	2.33	2.11	2.10**	1.88	2.24	2.09	2.35	2.41*
Sodium (mmol/L)	143	140	142*	140	141**	142	142**	140

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.4 mg/kg/day**		**2 mg/kg/day**		**9 mg/kg/day**	
Chloride (mmol/L)	102		99**		98**		98**	
Potassium levels (mmol/L)		3.8		4.1		4.2		4.5**
Total protein concentration (g/L)	64	71	77**	77**	81**	78**	79**	73
Albumin (g/L)	31	37	41**	42**	41**	41**	39**	35
alpha 1 (g/L)	13	12	16**	15**	18**	17**	17**	16**
Alpha 2 (g/L)	5		5		6**		7**	
A/G ratio	0.92	1.10	1.16**	1.20**	1.05**	1.12	0.98	0.94**
Urinalysis (fasted)								
Vol (mL)	6.1	4.1	5.5	4.1	6.8	4.1	11.9**	8.7**
pH	6.5		6.2*		5.9**		5.8**	
SG (g/L)	1030	1032	1033	1028	1034	1032	1025*	1023**
Total-Na (mmol)	0.575	0.362	0.423	0.364	0.509	0.315	0.789*	0.545*
Total-K (mmol)	1.032	0.551	1.053	0.604	1.384**	0.727	1.854**	1.267**
Total-Cl (mmol)	0.552	0.303	0.413	0.311	0.497	0.307	0.887**	0.658**
Protein content g/L	0.92	0.16	0.32**	0.17	2.36	0.26	1.86	0.18
Organ Weights								
Adrenals (g)	0.070	0.074	0.079*	0.083	0.093**	0.086**	0.113**	0.106**
Adrenal (%) [b]			13*	12	33**	16**	61**	43**
Liver(g)	9.488	5.917	10.161	7.332**	12.649**	8.617**	15.064**	11.577**
Liver(%)[b]			7	24**	33**	46**	59**	96**
Kidney	2.083	1.247	1.897	1.414*	2.178	1.512**	2.462**	1.890**
Kidney(%)[b]			-9	13*	5	21**	18**	52**
Heart (g)	0.924	0.654	0.954	0.714*	1.022**	0.750**	1.149**	0.957**
Heart(%)[b]			3	9*	11**	15**	24**	46**
Lungs (g)	1.322	0.998-	1.274	1.019	1.403	1.077*	1.700**	1.353**
Lungs(%)[b]			-4	2	6	8*	29**	36**

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.4 mg/kg/day**		**2 mg/kg/day**		**9 mg/kg/day**	
Spleen (g)	0.595	0.427	0.582	0.510	0.761**	0.618**	0.963**	1.005**
Spleen(%)[b]			-2	19	28**	45**	62**	135**
Seminal vesicles (g)	1.145		1.097		1.085		0.748**	
Seminal vesicles(%)[b]			-4		-5		-35**	
Thymus (g)	0.382	0.318	0.364	0.347	0.402	0.411*	0.524**	0.577**
Thymus(%)[b]			-5	9	5	29*	37**	81**
Macropathology [a]								
Number of tissues examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Mammary – thickened	0	0	4	0	3	7	10	10
Mammary – pale	0	0	3	0	3	0	9	4
Mammary-mass	0	0	0	0	0	0	0	1
Liver – pale	0	0	0	0	0	0	4	4
Spleen – enlarged		0		0		0		8
Adrenals - enlarged	0	0	0	1	3	4	10	9
Kidneys – pale	0	0	0	0	0	0	2	2
Seminal vesicles - small	0		0		0		5	
Minimal adipose tissue	0	0	0	0	0	0	0	2
Histopathology [a]								
Number of tissues examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Mammary - lobular hyperplasia	0	0	0	8	0	10	5	10
Mammary - secretory activity	0	0	6	4	8	8	10	10
Mammary gland adenocarcinoma		0		0		0		1
Liver – periportal hepatocyte vacuolation	0	0	0	0	7	7	8	8
Spleen – extramedullary haemopoiesis	0	0	4	4	9	7	10	10
Adrenals – zona fasciculata hypertrophy	0	0	0	0	1	0	4	5
Kidneys – cortical tubular casts within dilated tubules	0		0		6		4	
Femur and joint – epiphyseal growth plate, chondroid hyperplasia	0	0	0	0	1	2	10	6
Sternum – intersternebral growth plate, chondroid hyperplasia	0	0	0	0	2	1	5	6

Daily Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.4 mg/kg/day**		**2 mg/kg/day**		**9 mg/kg/day**	
Aorta – periaortic adipose tissue, increased unilocular cytoplasmic vacuolation	0	0	3	2	8	4	10	7
Vagina – epithelial mucification		0		0		0		4

- No noteworthy findings

NA = not applicable; NR = not reported.

* - $p<0.05$ ** - $p<0.01$

[a]At end of dosing period. Group means are shown.

[b]Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weight.

2.6.7.7.B Wistar Hannover 系ラットを用いた 13 週間反復投与毒性試験（211355）

Report Title: Toxicity study by subcutaneous administration to Han Wistar rats for 13 weeks followed by a 2 week recovery period **Study ID:** 211355

Species/Strain: Rat/Han Wistar	**Duration of Dosing:** 13 weeks	**Location in CTD:** 4.2.3.2-5
Initial Age: 6 to 7 weeks	**Duration of Postdose:** 2 weeks	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: 27 October 2011	**Method of Administration:** Subcutaneous Injection	
	Vehicle/Formulation: Aqueous solution containing 1.55 mg/mL histidine, 36 mg/mL mannitol and 21 mg/mL sucrose (pH7)	

Parameters collected:
Body Weight, Food Consumption, Clinical Observations, Ophthalmoscopy, Haematology, Serum Chemistry, IGF-I, Insulin, Antibodies, Urinalysis, Toxicokinetics, Organ Weights, Gross Pathology, Histopathology

Special Features: None

No Observed Adverse-Effect Level: 0.4 mg/kg/day for males and 2 mg/kg/day for females.

Brief conclusion: Daily subcutaneous administration of somapacitan to Han Wistar rats at doses of 0.4, 2 or 9 mg/kg/day for 13 weeks produced a wide range of findings, the majority of which were attributable to its pharmacological action as a long-acting growth hormone. At the highest dose there was drug induced diabetes mellitus in a few animals which was complicit in the death of two males. The toxicokinetic investigations demonstrated exposure in all treatment groups, although exposure at the lowest dose could not be confirmed in all animals. The extent of exposure decreased between Day 1 and Week 3 but increased thereafter. The dose of 9 mg/kg/day was considered to have exceeded the maximum tolerated dose and in view of renal changes being evident at 2 mg/kg/day in males the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) in the study was considered to be 0.4 mg/kg/day for males and 2 mg/kg/day for females.

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**0.4 mg/kg/day**		**2 mg/kg/day**		**9 mg/kg/day**	
Number of Animals (Main)		**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Number of Animals (Recovery)		**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**	**M: 9**	**F: 9**
Toxicokinetics:									
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (h × ng/mL) Day 1				7,090	NR	66,400	33,800	405,000	333,000
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (h × ng/mL) Week 13				NR	NR	29,200	7,750	530,000	464,000
Antibodies – positive (%)									
End of treatment period		40	100	10	30	30	50	30	80
End of recovery period		89	75	11	17	56	14	86	100
Noteworthy Findings									
Died or Sacrificed Moribund		0	1[a]	0	3[a]	0	2[a]	2[b]	0
Clinical signs		Two high dose animals killed prematurely showed signs indicative of ill health including thin build, abdominal distension, hunched posture, piloerection, pallor, staining of the ventral body surface, ungroomed coat, dull eyes and partially closed eyelids. Three high dose males had reddened and ungroomed abdomen attributed to increased urine production.							
Bodyweight gain:	Week 0-13 (g)	207	97	213	134**	329**	243**	467**	434**
	Week 0-13 (%[c])			+4	+37**	+59**	+150**	+126**	+345**
	Recovery Week R0-R2 (g[d])	-10	+4	-5	-3**	-22	-26**	-60**	-68**
Food Consumption[c]:	Week 1-13 (g)	169	131	176	139	204**	162**	265**	223**
	Week 1-13 (%[c])			+4	+6	+21**	+24**	+57**	+70**
	Recovery Week R1-R2 (g[d])	158	136	163	139	194*	174*	347**	222**
Total IGF-I ng/mL	Pretreatment	388	566	359	494	370	408	325	470
	Week 7	1600	966	1100**	1100	2350**	1870**	2730**	3200**
	Week 13	1590	907	1340	1100	2420**	2560**	3460**	3470**
	Recovery	1270	691	1220	813	1270	1190**	1320	1330**
Insulin (fasted) (ng/mL)	Week 13	0.434	0.214	0.206*	0.241	0.400	0.369*	1.78**	0.712**
	Recovery	0.518	0.425	0.490	0.300	0.630	0.313	0.833	0.450

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		0.4 mg/kg/day		2 mg/kg/day		9 mg/kg/day	
Ophthalmoscopy									
- Anterior suture line opacity:	Week 13	0	0	0	0	0	0	1	0
	Recovery	0	0	0	0	0	0	3	0
- Arcuate opacity:	Week 13	0	0	0	0	0	0	1	0
	Recovery	0	0	0	0	0	0	1	0
Haematology (fasted)									
Haematocrit (L/L)	Treatment	0.456	0.430	0.445	0.440	0.441*	0.424	0.433**	0.396**
	Recovery	0.456	0.441	0.475	0.460	0.472	0.443	0.467	0.427*
Haemoglobin (g/dL)	Treatment	15.6	14.4	15.5	14.9	15.0*	14.2	14.6**	13.4**
	Recovery	15.6	14.8	16.3	15.8**	16.2	15.3	16.1	14.7
Erythrocyte counts ($x10^{12}$/L)	Treatment	8.83	7.94	8.23**	8.15	7.74**	7.55	7.38**	7.09**
	Recovery	8.77	8.16	8.94	8.36	8.51	8.25	8.88	7.97
Reticulocyte counts (%)	Treatment	2.29	2.97	2.49	2.81	2.96**	3.24	2.68**	3.38
	Recovery	1.80	1.76	1.55	1.47	1.42*	1.32*	1.25**	1.08**
MCH (pg)	Treatment	17.6	18.2	18.9**	18.3	19.4**	18.9**	19.8**	18.9**
	Recovery	17.8	18.2	18.3	18.9	19.0	18.5	18.2	18.4
MCV (Fl)	Treatment	51.7	54.2	54.1**	54.1	57.0**	56.0*	58.7**	55.9*
	Recovery	52.1	54.0	53.2	55.0	55.5**	53.7	52.6	53.6
WBC ($x10^9$/L)	Treatment	4.86	2.88	4.19	3.30	4.79	3.89*	6.49	5.36**
	Recovery	3.97	2.20	4.29	3.33*	4.19	3.98**	7.09**	4.62**
Neutrophils ($x10^9$/L)	Treatment	0.94	0.49	0.76	0.51	0.74	0.64	1.89**	0.98**
	Recovery	0.89	0.50	0.90	0.53	0.80	0.59	2.07**	0.87**
Lymphocytes ($x10^9$/L)	Treatment	3.69	2.25	3.24	2.67	3.82	3.06*	4.21	4.05**
	Recovery	2.90	1.57	3.17	2.64**	3.17	3.21**	4.70**	3.49**

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**0.4 mg/kg/day**		**2 mg/kg/day**		**9 mg/kg/day**	
Monocytes (x10^9/L)	Treatment	0.11	0.06	0.08	0.06	0.12	0.10*	0.21**	0.17**
	Recovery	0.11	0.05	0.10	0.08	0.10	0.07	0.15*	0.13**
Large unstained cells (x10^9/L)	Treatment	0.04	0.02	0.03	0.02	0.04	0.02	0.09*	0.04**
	Recovery	0.02	0.01	0.02	0.02	0.03	0.02	0.04*	0.04**
Platelets (x10^9/L)	Treatment	985	1049	1216**	1185	1414**	1306**	1399**	1551**
	Recovery	1080	1035	1171	1208	1274	1136	1150	1363*
Prothrombin time (sec)	Treatment	23.3		21.3**		21.3**		19.4**	
	Recovery	23.3		22.8		21.4		19.9**	
Activated partial thromboplastin time (sec)									
	Treatment	17.6	17.1	16.6	17.7	13.5*	15.7	12.3**	12.1**
	Recovery	19.6	20.8	19.4	18.6	16.0*	16.7**	15.2**	16.7**
Fibrinogen (g/L)	Treatment	2.59	1.80	1.80**	1.61	2.91	2.20*	4.31**	3.24**
	Recovery	2.56	1.75	2.58	1.94	3.08**	2.16**	4.40**	2.89**
Blood glucose (non-fasted) (mmol/L)		9.54	9.12	9.53	9.07	8.74	9.25	29.05	8.31
Clinical Chemistry (fasted)									
Glucose (mmol/L)	Treatment	8.94		7.40*		8.04*		5.51**	
	Recovery	8.23		8.58		8.24		10.60*	
Alkaline phosphatase (U/L)	Treatment	61		26**		43**		36**	
	Recovery	59		37**		37**		39**	
Alanine amino-transferase (U/L)	Treatment	43	40	38	32*	28**	27**	29**	22**
	Recovery	44	71	35	66	38	58	52	42
Bilirubin (µmol/L)	Treatment	1	2	2**	2	3**	2	3**	3**
	Recovery	2	2	1	2	2	2	1	2

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		0.4 mg/kg/day		2 mg/kg/day		9 mg/kg/day	
Urea (mmol/L)	Treatment	7.90		5.82**		6.32**		5.73**	
	Recovery	7.25		6.25		6.48		10.23	
Creatinine (µmol/L)	Treatment	36		38		42**		41**	
	Recovery	32		33		34		35	
Cholesterol (mmol/L)	Treatment	2.39	1.78	3.03**	2.41	3.71**	3.19**	6.02**	3.54**
	Recovery	2.09	1.47	2.34	2.32**	3.28**	2.64**	6.50**	3.92**
Triglycerides (mmol/L)	Treatment	1.03	0.40	0.60**	0.45	0.50**	0.50	0.90**	0.55*
	Recovery	0.75	0.50	0.86	0.36	0.91	0.41	2.13**	0.74**
Calcium (mmol/L)	Treatment	2.74	2.80	2.92**	2.91**	2.93**	2.91**	3.02**	3.00**
		2.70	2.71	2.74	2.80	2.65	2.71	2.68	2.71
Phosphorus (mmol/L)	Treatment	1.91	1.83	2.01	2.07*	2.45**	2.41**	2.28**	2.21**
	Recovery	1.77	1.39	1.98	1.93**	2.15**	1.94**	2.32**	1.98**
Chloride (mmol/L)	Treatment	102	103	101	102	99**	102*	98**	101**
	Recovery	103	104	102	102*	102	101**	99**	101**
Sodium (mmol/L)	Treatment	140	141	142**	142	140	141	140	139*
	Recovery	144	144	144	143	143	142	142*	142*
Total protein concentration (g/L)	Treatment	65	68	73**	73**	71**	70**	73**	74**
	Recovery	65	67	66	69	64	65	64	66
Albumin (g/L)	Treatment	31	36	39**	37	34**	35	30	32
	Recovery	30	35	30	35	29	30**	25**	29**

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		0.4 mg/kg/day		2 mg/kg/day		9 mg/kg/day	
alpha-1 globulin (g/L)	Treatment	12	11	14**	15**	14**	15**	16**	17**
	Recovery	13	11	14	13**	14	14**	17**	17**
β-globulin (g/L)	Treatment	14	12	13	12	16*	14	19**	17**
	Recovery	15	13	15	14	14	13	16	14*
A/G ratio	Treatment	0.90	1.15	1.15**	1.14	0.92	0.97**	0.71**	0.77**
	Recovery	0.86	1.13	0.85	1.03*	0.83	0.88**	0.61**	0.77**
Urinalysis (fasted)									
Glucose (samples taken for diagnostic purposes in Week 12)								3/3 ++++	
Glucose	Treatment	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	0/10	1/10 +++	1/10 +++
	Recovery	0/9	2/8+	1/9	0/6	0/9	0/7	2/8+++	1/9
Vol (mL)	Treatment	13.0	14.0	11.2	15.0	15.3	16.1	28.1**	25.1**
	Recovery	15.1	16.8	15.2	12.8	18.2	12.8	22.5	19.4
pH	Treatment	7.6	6.7	6.9**	6.5	6.7**	6.6	6.0**	6.3**
	Recovery	7.2	6.5	7.4	6.6	7.1	6.5	6.6	6.8
Protein (g/L)	Treatment	0.47	0.07	0.26	0.16	0.82	0.29**	6.84**	2.11**
	Recovery	0.54	0.07	0.24	0.11	0.64	0.18*	8.74**	1.80**
SG (g/L)	Treatment	1017	1014	1020	1016	1019	1018	1023	1021**
	Recovery	1016	1014	1016	1017	1016	1021	1033**	1019
Total-Na (mmol)	Treatment	0.563	0.643	0.566	0.557	0.888**	0.987**	1.508**	1.631**
	Recovery	0.530	0.410	0.548	0.439	0.788*	0.517	1.037*	0.848**
Total-K (mmol)	Treatment	0.763	0.623	0.922	0.703	1.400**	1.069**	2.076**	1.941**
	Recovery	0.882	0.624	1.019	0.625	1.206*	0.841	1.760**	1.304**

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		0.4 mg/kg/day		2 mg/kg/day		9 mg/kg/day	
Total-Cl (mmol)	Treatment	0.407	0.481	0.471	0.438	0.799**	0.825**	1.765**	1.620**
	Recovery	0.443	0.370	0.551	0.280	0.699	0.342	1.216**	0.627**
Organ Weights[e]									
Liver (g[c])	Treatment	9.64	6.16	11.73**	9.00**	16.69**	13.17**	27.04**	23.15**
Liver (%[c])	Treatment			22**	46**	73**	114**	180**	276**
Liver (g)	Recovery	9.41	6.40	9.93**	7.06	12.09**	9.28**	20.97**	14.04**
Kidney(g[c])	Treatment	2.15	1.38	2.13	1.67**	3.03**	2.31**	5.15**	3.43**
Kidney (%[c])	Treatment			-1	21**	41**	67**	140**	149**
Kidney (g)	Recovery	2.12	1.41	2.21	1.65	2.60**	2.05**	6.02**	2.90**
Adrenal (g[c])	Treatment	0.066	0.069	0.098**	0.078	0.138**	0.109**	0.195**	0.152**
Adrenal (%[c])	Treatment			48**	13	109**	58**	195**	120**
Adrenal (g)	Recovery	0.070	0.072	0.093*	0.073	0.109**	0.097**	0.142**	0.121**
Spleen (g)	Treatment	0.602	0.423	0.643	0.556**	1.073**	0.918**	1.503**	1.430**
Spleen (%)	Treatment			7	31**	78**	117**	150**	238**
Spleen (g)	Recovery	0.596	0.429	0.621	0.488	0.862**	0.688**	1.133**	0.929**
Macropathology									
Number of animals examined - treatment		**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Number of animals examined - recovery[g]		**9**	**8**	**9**	**6**	**9**	**7**	**7**	**9**
Mammary – thickened	Treatment	0	0	1	2	3	5	8	9
	Recovery	0	0	0	0	1	1	5	8
Mammary – dark	Recovery	0	0	0	0	0	1	0	5
Mammary – cysts	Treatment	0	0	0	0	0	0	5	0
	Recovery	0	0	0	0	0	0	1	0
Skin – thickened	Treatment	0	0	2	2	5	3	8	9
	Recovery	0	0	3	0	3	2	7	8
Non-glandular stomach - thickened	Recovery	0	0	0	0	0	0	2	1
Glandular stomach – thickened	Recovery	0	0	0	0	0	0	3	1
Duodenum – thickened	Treatment	0	0	0	1	0	0	3	4
	Recovery	0	0	0	0	0	0	2	1

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		0.4 mg/kg/day		2 mg/kg/day		9 mg/kg/day	
Jejunum – thickened	Treatment	0	0	0	1	0	2	3	5
	Recovery	0	0	0	0	0	0	1	1
Ileum – thickened	Treatment	0	0	0	1	0	2	2	4
	Recovery	0	0	0	0	0	0	2	1
Caecum – thickened	Treatment	0	0	0	0	0	0	2	2
	Recovery	0	0	0	0	0	0	0	1
Colon – thickened	Treatment	0	0	0	0	0	0	0	2
	Recovery	0	0	0	0	0	0	1	2
Rectum – thickened	Treatment	0	0	0	0	0	2	0	4
	Recovery	0	0	0	0	0	0	5	3
Spleen – enlarged	Treatment	0	0	0	0	2	1	6	8
Adrenals – enlarged	Treatment	0	0	6	1	9	6	10	10
	Recovery	0	0	2	0	6	3	7	9
Adrenals – dark	Treatment	0	0	2	0	7	0	6	2
	Recovery	0	0	1	0	0	0	2	0
Kidneys – enlarged	Treatment	0	0	0	0	0	0	4	0
	Recovery	0	0	0	0	0	0	4	0
Kidneys – pale areas	Treatment	0	0	0	0	0	1	1	2
	Recovery	0	0	0	0	0	0	3	0
Kidneys – irregular surface	Recovery	0	0	0	0	0	0	2	0
Kidneys – granular	Recovery	0	0	0	0	0	0	3	0
Ovaries – enlarged	Treatment		1		3		7		10
	Recovery		2		2		5		8
Thymus – enlarged	Treatment	0	0	0	0	0	0	0	3
Urinary bladder – thickened	Recovery	0	0	0	0	0	0	4	3
Clitoral glands – enlarged	Treatment		0		0		0		6
Preputial glands – enlarged	Treatment	0		0		0		5	
Prostate – mass	Recovery	0		0		0		1	
Prostate – small	Recovery	0		0		0		2	
Prostate – firm	Recovery	0		0		0		3	
Prostate - dark	Recovery	0		0		0		3	
Prostate – green	Recovery	0		0		0		1	
Testes – small	Recovery	0		0		0		1	
Testes – flaccid	Recovery	0		0		0		2	

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		0.4 mg/kg/day		2 mg/kg/day		9 mg/kg/day	
Seminal vesicles – small	Recovery	0		0		0		3	
Epididymides – small	Treatment	0		0		0		2	
Histopathology[g]									
Number of animals examined - treatment		**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Number of animals examined - recovery[h]		**9**	**8**	**9**	**6**	**9**	**7**	**7**	**9**
Mammary – lobular hyperplasia	Treatment	0	0	0	4	1	7	0	9
	Recovery	0	0	0	0	0	2	0	7
Mammary – feminisation and lobular hyperplasia	Treatment	0	0	0	0	1	0	7	0
	Recovery	0	0	0	0	0	0	2	0
Mammary – feminisation	Treatment	0	0	3	0	9	0	3	0
	Recovery	0	0	5	0	9	0	5	0
Mammary – secretory activity	Treatment	0	0	1	5	9	7	9	9
	Recovery	0	0	0	1	3	2	3	3
Mammary – mineral in secretion	Treatment	0	0	0	2	0	0	8	0
	Recovery	0	0	0	0	2	0	5	0
Mammary – acinar dilatation	Treatment	0	0	0	0	2	0	6	0
Mammary – pigmented acinar cells	Recovery	0	0	0	0	0	6	0	4
Mammary – increased interlobular collagen/fibroblasts	Treatment	0	0	0	6	7	2	9	2
	Recovery	0	0	0	0	2	2	4	0
Liver – hepatocyte vacuolation, periportal	Treatment	0	0	0	0	7	4	9	8
	Recovery	0	0	0	0	0	0	2	0
Liver – hepatocyte hypertrophy, centrilobular	Treatment	0	0	0	0	1	1	3	5
	Recovery	0	0	0	0	0	0	2	1

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		0.4 mg/kg/day		2 mg/kg/day		9 mg/kg/day	
Pancreas – islet cell hypertrophy/hyperplasia with/without eosinphilic intranuclear inclusions	Treatment	0	0	0	0	1	0	7	8
	Recovery	0	0	0	0	0	0	2	4
Pancreas – islet cell atrophy/degeneration with associated vacuolation, single cell necrosis and with/without inflammatory cell infiltrate (mononuclear)	Recovery	0	0	0	0	0	0	3	0
Pancreas – islet cell vacuolation with/without associated inflammatory cell infiltrate (mononuclear)	Treatment	0	0	0	0	0	0	1	1
	Recovery	0	0	0	0	0	0	1	0
Kidneys – generalised hypertrophy	Treatment	0	0	0	1	0	4	9	10
	Recovery	0	0	0	0	0	0	0	6
Kidneys – chronic progressive nephropathy	Treatment	0	0	0	0	2	0	6	2
	Recovery	0	0	0	0	1	0	7	1
Kidneys – cortical tubular basophilia	Treatment	0	0	1	0	3	1	4	6
	Recovery	0	0	1	0	2	0	0	5
Kidneys – cortical tubular basophilia with associated basement membrane thickening	Treatment	0	0	0	0	3	0	0	0
	Recovery	1	0	0	0	3	0	0	6
Kidneys – tubular casts within dilated tubules in outer/mid cortex and medulla	Treatment	0	0	0	0	3	0	9	6
	Recovery	0	0	0	0	3	0	6	4

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		0.4 mg/kg/day		2 mg/kg/day		9 mg/kg/day	
Kidneys – tubular casts at corticomedullary junction and/or in medulla	Treatment	0	0	0	1	1	0	0	0
	Recovery	0	0	1	0	0	0	0	0
Urinary bladder – muscle hypertrophy									
	Recovery	0	0	0	0	1	0	5	2
Heart – generalised myocardial hypertrophy									
	Treatment	0	0	0	1	0	6	7	10
	Recovery	0	0	0	0	1	1	5	6
Heart – myocardial degeneration	Recovery	1	0	2	1	3	1	4	3
Heart – fibrosis	Recovery	0	0	0	0	0	0	2	0
Spleen – increased cellularity of red pulp, periarteriolar lymphoid sheath and marginal zone	Treatment	0	0	0	2	1	5	8	10
	Recovery	0	0	0	0	1	0	2	2
Spleen – extramedullary haemopoiesis									
	Treatment	0	1	5	1	10	5	8	6
Spleen – haemosiderosis	Recovery	0	1	0	0	4	2	4	7
Thymus – generalised increased cellularity									
	Treatment	0	0	0	0	0	0	0	5
Thymus – apoptosis, cortex	Treatment	1	0	0	1	1	0	1	4
Parathyroids – increased collagen, interstitial/periglandular	Treatment	0	0	3	3	4	2	6	5
Adrenals – zona fasciculata hypertrophy, generalised, bilateral	Treatment	0	0	0	0	6	8	10	10
	Recovery	0	0	2	0	0	2	4	8
Pituitary – reduced cellularity, pars distalis									
	Treatment	0	0	0	0	1	0	6	0

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		0.4 mg/kg/day		2 mg/kg/day		9 mg/kg/day	
Mandibular lymph node – increased internodal collagen	Treatment	0	0	0	0	2	0	5	2
Mandibular lymph node – plasmacytosis	Treatment	0	0	0	0	1	3	5	5
Parotid salivary gland – increased interlobular collagen	Treatment	0	0	0	1	1	3	5	5
	Recovery	0	0	0	0	2	2	2	3
Oesophagus – hypertrophy, tunica muscularis	Treatment	0	0	0	1	0	2	2	3
Stomach, pyloric glands neck region – basophilia	Treatment	0	0	0	0	0	0	0	3
Duodenum – villous hypertrophy	Treatment	0	0	0	0	5	3	8	10
Jejunum – villous hypertrophy	Treatment	0	0	0	1	2	2	6	7
	Recovery	0	0	0	0	0	0	1	0
Ileum – villous hypertrophy	Treatment	0	0	0	0	2	1	6	3
	Recovery	0	0	0	0	0	0	1	2
Caecum – mucosal hypertrophy	Treatment	0	0	0	0	0	0	6	5
	Recovery	0	0	0	0	0	0	1	0
Colon – mucosal hypertrophy	Treatment	0	0	0	0	0	3	5	7
	Recovery	0	0	0	0	1	0	1	1
Rectum – mucosal hypertrophy	Treatment	0	0	0	1	0	2	4	8
	Recovery	0	0	0	0	0	0	1	2
Rectum – hypertrophy, tunica muscularis	Recovery	0	0	0	0	0	0	1	1
Skin – increased subcutaneous collagen/fibroblasts	Treatment	0	0	0	0	0	0	0	2
Skin-B-Sebaceous Cell Adenoma	Recovery	0	0	0	0	1	0	0	0

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		0.4 mg/kg/day		2 mg/kg/day		9 mg/kg/day	
Lachrymal glands – acinar cell hypertrophy, bilateral	Treatment	0	0	2	0	0	0	8	0
Lachrymal glands – increased interlobular collagen	Treatment	0	0	0	0	0	0	9	0
	Recovery	0	0	0	0	1	0	2	3
Eyes – lenticular degeneration, bilateral	Recovery	0	0	0	0	0	0	3	0
Sternum, intersternal growth plate – chondroid hyperplasia	Treatment	0	0	0	0	1	1	8	10
Sternum – increased trabecular bone	Treatment	0	0	0	0	1	0	3	1
Femur – increased height of articular cartilage	Treatment	0	0	0	0	0	0	6	5
	Recovery	0	0	0	0	0	1	2	4
Femur, epiphyseal growth plate – chondroid hyperplasia	Treatment	0	0	0	0	6	4	9	8
Femur – increased trabecular bone	Treatment	0	0	0	0	0	3	6	7
Femur – synovial inflammatory cell infiltrate	Treatment	0	0	0	1	0	1	0	3
Femur – synovial inflammatory cell infiltrate	Recovery	0	0	0	0	0	0	1	4
Femur – decreased height of epiphyseal growth plate	Recovery	0	0	0	0	1	3	4	3
Brain – dilated ventricles	Treatment	1	0	0	0	1	0	4	3
	Recovery	0	0	0	0	0	0	3	2
Testes – seminiferous tubular atrophy, bilateral	Treatment	0		0		1		2	
	Recovery	0		0		0		1	

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		0.4 mg/kg/day		2 mg/kg/day		9 mg/kg/day	
Epididymides – reduced numbers of spermatozoa	Treatment	0		0		1		1	
	Recovery	0		0		0		1	
Prostate – inflammation	Treatment	0		0		0		5	
	Recovery	0		0		0		3	
Prostate – acinar atrophy	Treatment	0		1		3		0	
Recovery		2		1		3		3	
Prostate – colloid absent	Recovery	0		0		0		1	
Prostate – reduced colloid	Recovery	0		0		0		2	
Prostate – abscessation	Recovery	0		0		0		1	
Seminal vesicles – epithelial hyperplasia	Treatment	0		0		0		7	
Seminal vesicles – reduced colloid	Recovery	0		0		0		3	
Seminal vesicles – atrophy	Recovery	0		0		0		2	
Seminal vesicles – inflammation	Recovery	0		0		0		3	
Preputial glands – duct(s) distended with secretory material	Treatment	0		0		0		4	
	Recovery	1		0		0		0	
Ovaries – increase in size of corpora lutea	Treatment		0		0		4		6
	Recovery		0		0		2		5
Vagina – epithelial mucification	Treatment		0		0		6		9
Clitoral glands – duct(s) distended with secretory material	Treatment		0		0		0		6
	Recovery		0		0		0		2
Treated site 1 ([f]) – increased subcutaneous collagen/fibroblasts	Treatment	0	0	8	10	7	5	10	8
	Recovery	0	0	5	5	5	5	6	6

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		0.4 mg/kg/day		2 mg/kg/day		9 mg/kg/day	
Treated site 1 ([f]) – subcutaneous inflammatory cell infiltrate	Treatment	0	1	1	1	1	2	3	6
	Recovery	0	0	0	0	0	0	0	1
Brown adipose tissue, interscapular – increased unilocular cytoplasmic vacuolation									
	Treatment	0	0	0	0	4	2	10	9
	Recovery	0	0	3	0	3	0	7	5
Brown adipose tissue, interscapular – increased cytoplasmic eosinophilia									
	Treatment	0	0	6	4	2	2	0	1
Brown adipose tissue, periaortic – increased unilocular cytoplasmic vacuolation									
	Treatment	0	0	0	0	5	5	8	10
	Recovery	0	0	0	0	2	0	4	0
Brown adipose tissue, periaortic – increased cytoplasmic eosinophilia									
	Treatment	0	0	2	0	0	0	0	0
Left axillary lymph node – increased internodal collagen	Treatment	0	0	3	0	4	0	4	0
	Recovery	0	0	1	0	2	0	1	0
Right axillary lymph node – increased internodal collagen	Treatment	0	0	6	1	3	0	9	0
	Recovery	0	0	3	0	1	0	2	0
Left inguinal lymph node – increased internodal collagen	Treatment	0	0	0	0	2	0	3	3
	Recovery	0	0	3	0	1	1	5	0

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)		0.4 mg/kg/day		2 mg/kg/day		9 mg/kg/day	
Right inguinal lymph node – increased internodal collagen	Treatment	0	0	5	2	6	0	8	1
	Recovery	0	0	2	0	2	0	2	1

- No noteworthy findings. NR = not reported.

* - $p<0.05$ ** - $p<0.01$ +++ marked

[a]Death was incidental to treatment.

[b]Death was associated with treatment.

[c]Absolute weight (g) at end of treatment or recovery periods unless otherwise specified is shown. For treated groups, percent differences (%) from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[d]Actual body weight change during recovery period.

[e]For controls, absolute weight is shown. Both absolute and relative weights differed from controls in the direction indicated. Number indicates percent difference for the absolute organ weights.

[f]Incidences are representative of all treatment sites (1 to 5), therefore data for treatment sites 2 to 5 are not presented.

[g]Treatment or recovery data are included only if there are findings, i.e. if treatment or recovery is not mentioned under a specific tissue, no findings in this tissues has been observed.

[h]Animals killed on completion of the recovery period. Whilst premature decedents were examined, these data are not included in the group mean incidence tables.

2.6.7.7.C Wistar Hannover 系ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験（212304）

Report Title: Toxicity study by subcutaneous administration to Han Wistar rats for 26 weeks followed by a 4-week recovery period **Study ID:** 212304

Species/Strain: Rat/Han Wistar	**Duration of Dosing:** 26 weeks	**Location in CTD:** 4.2.3.2-6
Initial Age: 6 to 7 weeks	**Duration of Postdose:** 4 weeks	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: 10 September 2012	**Method of Administration:** Subcutaneous Injection	
	Vehicle/Formulation: Aqueous solution containing 0.68 mg/mL histidine, 3.0 mg/mL polyoxyethylene (160) polyoxypropylene (30) glycol, 44 mg/mL mannitol and 3 mg/mL phenol	

Parameters collected:
Body Weight, Food Consumption, Clinical Observations, Ophthalmoscopy, Haematology, Blood Chemistry, Glycated haemoglobin (HbA_{1c}), IGF-I, Insulin, Antibodies, Urinalysis, Toxicokinetics, Organ Weights, Gross Pathology, Histopathology

Special Features: Six males were allocated to the Control and 2 mg/kg dose group and killed after 13 weeks to allow comparison between the effects seen on a previous 13-week study (Study ID 211355) where somapacitan was administered daily, compared to the twice weekly dose regimen used on this study, to investigate whether a reduced frequency of dosing ameliorated the pharmacological and especially the diabetogenic effects. The changed dose regiment demonstrated reduction of the treatment related findings seen in the previous 13-week study in rats.

No Observed Adverse-Effect Level: 4 mg/kg twice weekly.

Brief conclusion: Twice weekly subcutaneous administration of somapacitan to Han Wistar rats at doses of 1, 2 or 4 mg/kg for 26 weeks produced a wide range of findings that were related to direct effects of growth hormone and IGF-I. Since the changes could be attributed to the pharmacological action of the test material and these effects were non-adverse, the no observed adverse effect level (NOAEL) in this study was considered to be 4 mg/kg twice weekly.

Twice weekly Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**1 mg/kg**		**2 mg/kg**		**4 mg/kg**	
Number of Animals (Main)	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**	**M: 20**	**F: 20**
Number of Animals (Recovery)	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**	**M: 10**	**F: 10**
Number of Animals (Week 13 interim kill)	**M: 6**				**M: 6**			
Toxicokinetics:								
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (h × ng/mL) Day 1			41,500	NR	107,000	49,200	143,000	128,000
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (h × ng/mL) Week 26			4,750	4,370	10,800	18,300	34,600	42,000
C_{6hr} (ng/mL):								
Week 1			1,980	1,140	4,040	3,770	8,500	8,060
Week 4			935	405	2,070	912	4,290	3,910
Week 8			499	337	1,230	508	3,040	2,660
Week 13			614	372	1,160	859	3,540	2,980

Twice weekly Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**1 mg/kg**		**2 mg/kg**		**4 mg/kg**	
Week 20			431	190	662	256	1,760	1,070
Week 26			193	229	763	747	810	1,600
Antibodies – positive (%)								
Week 14[e]			47	50	33	27	67	34
End of treatment period (Week 27)			37	33	33	10	60	23
End of Recovery period			30	10	30	10	30	20
Noteworthy Findings								
Bodyweight gain: Week 0-26 (g)	284	123	335**	180**	368**	233**	434**	310**
Recovery Week R0-R4 (g)	-5	3	-16**	-7**	-19**	-16**	-27**	-28**
Food Consumption (g): Week 1-26	157g	128g	172**	139**	182**	150**	196**	167**
Recovery Week R1-R4	153g	132g	157	143*	171*	149**	185**	172**
Total IGF-I ng/mL [a] Pretreatment	917	919	1010	1020	999	974	903	1230**
Week 13	1890	1300	2050	1570*	1689	1550*	1760	1540*
Week 26	1520	948	1740**	1510**	1910**	1860**	1840**	2140**
Recovery	1470	845	1810**	1090*	1700**	1290**	1780**	1289**
Serum Insulin ng/mL [a](fasted)	0.768				0.836			
Week 14[e]								
Week 26	0.551	0.301	0.909*	0.425	0.779*	0.410	1.30**	1.01**
Recovery	1.36	0.516	0.865	0.465	1.71	0.569	1.33	0.545
Haematology [a](fasted)								
Haematocrit (L/L) Treatment (Week 14[e])	0.447				0.442			
Treatment (Week 13)	0.484	0.450	0.470*	0.446	0.469**	0.432**	0.458**	0.428**
Treatment (Week 26)	0.448	0.431	0.432*	0.425	0.424**	0.412**	0.427**	0.398**
Recovery	0.441	0.442	0.435	0.431	0.447	0.429	0.439	0.435
Haemoglobin (g/dL) Treatment (Week 14[e])	15.1				15.1			
Treatment (Week 13)	16.2	15.1	16.1	14.8	15.9*	14.4**	15.4**	14.3**
Treatment (Week 26)	15.8	15.4	15.5	15.2	15.2	14.9**	15.3**	14.4**
Recovery	14.8	14.9	14.7	14.7	15.1	14.6	15.0	14.8

Twice weekly Dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**1 mg/kg**		**2 mg/kg**		**4 mg/kg**	
Erythrocyte counts (x10^{12}/L)									
	Treatment (Week 14[e])	8.30				7.87			
	Treatment (Week 13)	9.2	8.13	8.65**	8.16	8.65**	7.86*	8.21**	7.71**
	Treatment (Week 26)	8.88	8.15	8.20**	8.15	8.12**	7.83*	7.93**	7.54**
	Recovery	8.42	7.83	8.05	7.76	8.29	7.62	8.42	7.84
Reticulocyte counts (x10^{12}/L)									
	Treatment(Week 14[e])	0.302				0.317			
	Treatment (Week 13)	0.171	0.147	0.163	0.141	0.179	0.156	0.163	0.142
	Treatment (Week 26)	0.179	0.159	0.158	0.150	0.176	0.133**	0.182-	0.135**
	Recovery	0.233	0.190	0.200	0.184	0.232	0.174	0.192*	0.161
MCH (pg)	Treatment (Week 14[e])	18.2				19.3			
	Treatment (Week 13)	17.7	18.5	18.6**	18.2	18.4**	18.4	18.7**	18.5
	Treatment (Week 26)	17.8	19.0	18.9**	18.6	18.7**	19.0	19.3**	19.1
	Recovery	17.6	19.1	18.3	18.9	18.3	19.1	17.8	18.9
MCHC (g/dl)	Treatment (Week 14[e])	33.9				34.2			
	Treatment (Week 13)	33.6	33.6	34.1	33.3	33.9	33.5	33.5	33.4
	Treatment (Week 26)	35.3	35.8	35.9	35.7	35.8	36.2	35.8	36.0
	Recovery	33.6	33.9	33.7	34.1	33.9	34.0	34.2	34.0
MCV (Fl)	Treatment (Week 14[e])	53.8				56.5			
	Treatment (Week 13)	52.6	55.1	54.4**	54.7	54.3**	54.9	55.9**	55.5
	Treatment (Week 26)	50.4	52.9	52.7**	52.2	53.3**	52.6	54.0**	52.9
	Recovery	52.4	56.4	54.2	55.6	54.0	56.3	52.1	55.5
WBC (x10^{9}/L)									
	Treatment (Week 14[e])	4.83				3.60*			
	Treatment (Week 13)	8.24	4.40	7.40	4.67	7.73	4.80	6.60**	5.07
	Treatment (Week 26)	5.95	4.29	4.82**	3.74	5.81	4.07	4.53**	4.51
	Recovery	3.42	1.79	3.65	2.35	4.35	2.97**	4.81**	2.83**
Platelets (x10^{9}/L)	Treatment(Week 14[e])	961				1266**			
	Treatment (Week 13)	1093	1024	1168	1088	1141	1049	1163	1105
	Treatment (Week 26)	1017	965	1027	1045	1176*	1028	1104*	1060*
	Recovery	924	957	1026	997	1091**	1057	1145**	1104

Twice weekly Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**1 mg/kg**		**2 mg/kg**		**4 mg/kg**	
Prothrombin time (secs) Treatment(Week 14[e])	23.1				23.5			
Treatment (Week 13)	22.9	21.3	23.5	20.9	22.2	20.7	21.9*	20.9
Treatment (Week 26)	23.0	23.5	23.2	23.0	22.6	21.9**	21.2**	21.8**
Recovery	23.0	22.0	24.3	22.7	23.4	23.6	23.7	23.2
Activated partial thromboplastin time (secs)								
Treatment (Week 14[e])	18.0				18.4			
Treatment (Week 13)	21.3	18.3	23.0	19.3	18.2*	21.1	21.5	19.4
Treatment (Week 26)	16.1	17.3	17.1	18.3*	15.5	16.8	18.2**	18.2*
Recovery	14.4	15.5	12.8	15.1	13.4	17.9	13.9	16.5
Fibrinogen (g/L) Treatment (Week 14[e])	2.26				1.83*			
Treatment (Week 13)	2.34	1.68	2.02**	1.65	1.90**	1.71	1.91**	2.05**
Treatment(Week 26)	2.66	1.72	2.66	1.95	2.91	2.41**	3.15**	2.85**
Recovery	2.81	1.58	2.82	1.53	3.05	1.70	3.09	1.99**
Clinical Chemistry [a] (fasted)								
Glucose (mmol/L) Treatment (Week 14[e])	8.33				8.51			
Treatment(Week 13)	10.75	6.82	9.29**	6.89	9.35**	7.31	9.03**	8.21**
Treatment (Week 26)	8.71	6.83	7.40**	7.51*	7.85**	7.83**	7.24**	8.26**
Recovery	9.35	7.59	8.21	7.50	8.43	7.39	8.74	8.46*
Alkaline phosphatase (U/L)								
Treatment (Week 14[e])	65				31**			
Treatment (Week 13)	74	33	46**	30	39**	30	35**	34
Treatment (Week 26)	56	26	35**	28	30**	26	27**	29
Recovery	48	20	38	22	44	19	36**	18
Alanin amino-transferase (U/L)								
Treatment (Week 14[e])	60				65			
Treatment (Week 13)	45	39	37*	38	40*	36	37*	38
Treatment (Week 26)	44	53	39	48	39	48	35*	45
Recovery	49	39	47	35	49	33	40	41

Twice weekly Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**1 mg/kg**		**2 mg/kg**		**4 mg/kg**	
Aspartate amino-transferase (U/L)								
Treatment (Week 14[e])	70				76			
Treatment (Week 13)	68	76	57**	69	72	68	68	70
Treatment (Week 26)	68	88	60	71*	72	85*	63	72*
Recovery	59	69	66	71	77	79	62	88*
Bilirubin (µmol/L) Treatment (Week 14[e])	1				1			
Treatment (Week 13)	2	2	2	2*	2	2**	2	2**
Treatment (Week 26)	2	2	4**	2	4**	2	4**	3
Recovery	1	2	2	2	2	2	2	2
Urea (mmol/L)								
Treatment (Week 14[e])	8.45				9.22			
Treatment (Week 13)	7.92	7.13	7.95	6.57	7.47	6.47*	7.11*	6.11**
Treatment (Week 26)	5.75	7.09	5.10*	6.63	5.15*	5.89**	5.00*	5.47**
Recovery	7.33	6.53	6.56	7.01	7.59	6.74	6.69	7.37
Creatinine (µmol/L)								
Treatment (Week 14[e])	38				46*			
Treatment (Week 13)	39	36	43	36	42	38	43*	40**
Treatment (Week 26)	38	43	43**	41	44**	43	46**	47**
Recovery	40	38	37	40	37	43*	34**	42*
Cholesterol (mmol/L) Treatment (Week 14[e])	2.08				2.87*			
Treatment (Week 13)	1.70	1.90	2.72**	1.96	2.71**	2.41**	3.20**	2.64**
Treatment (Week 26)	2.11	2.35	2.73**	2.60	2.87**	3.10**	3.41**	3.72**
Recovery	2.61	2.00	2.50	2.16	2.66	3.00**	2.72	2.82**
Triglycerides (mmol/L) Treatment (Week 14[e])	1.00				1.85			
Treatment (Week 13)	1.28	0.59	1.34	0.67	1.34	0.57	1.88**	0.99**
Treatment (Week 26)	1.00	0.56	0.81	0.75*	0.83	0.81*	1.14	1.33**
Recovery	1.03	0.51	0.95	0.49	0.97	0.56	1.17	0.63

Twice weekly Dose (mg/kg)		0 (Control)		1 mg/kg		2 mg/kg		4 mg/kg	
Calcium (mmol/L)	Treatment (Week 14[e])	2.57				2.68*			
	Treatment (Week 13)	2.60	2.56	2.64	2.64**	2.65*	2.67**	2.78**	2.74**
	Treatment (Week 26)	2.57	2.65	2.63**	2.68	2.73**	2.70	2.76**	2.74**
	Recovery	2.54	2.55	2.54	2.56	2.60*	2.60	2.65**	2.64**
Phosphorus (mmol/L)	Treatment (Week 14[e])	1.82				1.72			
	Treatment (Week 13)	1.82	1.56	1.77	1.57	1.85	1.72*	1.93	1.93**
	Treatment (Week 26)	1.53	1.41	1.58	1.35	1.69**	1.55	1.70**	1.52
	Recovery	1.19	1.52	1.24	1.52	1.80**	1.50	1.56**	1.67
Chloride (mmol/L)	Treatment (Week 14[e])	102				101			
	Treatment (Week 13)	100	101	100	100	99	99**	98**	99**
	Treatment (Week 26)	102	103	102	103	101**	102	100**	102
	Recovery	102	102	102	101**	102	101**	101	101**
Sodium (mmol/L)	Treatment (Week 14[e])	144				143*			
	Treatment (Week 13)	141	141	141	141	140	140*	141	140*
	Treatment (Week 26)	142	142	142	142	141	141**	141	140**
	Recovery	142	142	142	142	143	141	142	142
Potassium (mmol/L)	Treatment (Week 14[e])	4.0				4.1			
	Treatment (Week 13)	5.3	4.1	4.5**	4.2	5.5	4.3	4.6**	4.5*
	Treatment (Week 26)	4.2	3.5	4.1	3.6	4.2	3.9**	4.1*	4.0**
	Recovery	3.8	3.7	3.9	3.7	4.2**	3.9	4.1**	3.9
Total protein concentration (g/L)									
	Treatment (Week 14[e])	65				72**			
	Treatment (Week 13)	67	68	69	70	70**	72**	75**	71**
	Treatment (Week 26)	68	71	69	71	74**	72	74**	72
	Recovery	69	69	68	68	69	69	69	68
Albumin (g/L)	Treatment (Week 14[e])	32				36**			
	Treatment (Week 13)	31	35	34**	38*	34**	37	38**	35
	Treatment (Week 26)	31	37	33**	36	34**	35*	33**	33**
	Recovery	30	35	30	33	31	32**	30	31**

Twice weekly Dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**1 mg/kg**		**2 mg/kg**		**4 mg/kg**	
alpha-1 globulin (g/L)	Treatment (Week 14[e])	12				14			
	Treatment (Week 13)	12	11	13	13**	13	13**	15**	15**
	Treatment (Week 26)	12	11	11**	11	13	12	15**	12
	Recovery	14	12	13	12	14	14*	14	13*
alpha-2 globulin (g/L)	Treatment (Week 14[e])	6				5*			
	Treatment (Week 13)	6	5	4**	5	4**	4**	5**	3**
	Treatment (Week 26)	5	5	5	5	5	6**	5	6**
	Recovery	5	4	4	4	4	4	4	4
β-globulin (g/L)	Treatment (Week 14[e])	14				15*			
	Treatment (Week 13)	15	13	14	13	14	14**	15	15**
	Treatment (Week 26)	15	14	16*	14	17**	15*	17**	17**
	Recovery	16	14	16	14	16	15*	16	15**
Gamma (g/L)	Treatment (Week 14[e])	2				3			
	Treatment (Week 13)	3	4	4	3**	4	3	3	3
	Treatment (Week 26)	4	5	4	4	5	4	4	4**
	Recovery	4	5	5	5	5	5	5	5
A/G ratio	Treatment (Week 14[e])	0.95				1.03			
	Treatment (Week 13)	0.85	1.09	0.97**	1.16*	0.96**	1.07	1.04**	0.99**
	Treatment (Week 26)	0.83	1.06	0.93	1.06	0.86	0.95**	0.82	0.87**
	Recovery	0.79	1.06	0.77	0.96**	0.80	0.87**	0.76	0.84**
Urinalysis [ad](fasted)									
Vol (mL)									
	Treatment Week 25	6.6	3.2	5.9	4.8*	6.2	6.0**	7.4	7.3**
	Recovery	5.2	3.3	5.8	4.2	4.4	5.7**	5.4	5.2**
pH									
	Treatment Week 25	6.7	5.7	6.5	5.9	6.2**	6.0*	6.1**	5.9*
	Recovery	6.7	5.6	7.1	5.9	6.5	6.0*	6.6	5.9*
Protein (g/L)									
	Treatment Week 25	1.00	0.19	0.30**	0.19	0.51**	0.23	2.02*	0.28*
	Recovery	0.91	0.17	0.54*	0.18	0.81	0.19	1.02	0.26**

Twice weekly Dose (mg/kg)		0 (Control)		1 mg/kg		2 mg/kg		4 mg/kg	
SG (g/L)									
	Treatment Week 25	1032	1042	1031	1034	1033	1035*	1031	1030**
	Recovery	1032	1038	1030	1039	1040	1033	1037	1040
Total glucose (µmol)									
	Treatment Week 25	3.555	2.060	2.175	2.872**	3.553	3.285**	3.536	4.281**
	Recovery	3.082	2.154	3.169	2.733	3.134	3.091*	3.861	3.852**
Total Creatinine (µmol)									
	Treatment Week 25	69.122	33.375	56.583	44.762**	65.666	56.119**	74.816	71.871**
	Recovery	59.296	33.002	64.427	44.977	65.152	57.249**	76.291	73.070**
Total-Na (mmol)									
	Treatment Week 25	0.525	0.311	0.269**	0.469*	0.244**	0.546**	0.257**	0.666**
	Recovery	0.387	0.237	0.296	0.286	0.268	0.431*	0.309	0.314*
Total-K (mmol)									
	Treatment Week 25	0.936	0.488	0.865	0.734**	0.885	0.882**	1.020	0.992**
	Recovery	0.722	0.509	0.755	0.667	0.713	0.752*	0.849	0.851**
Total-Cl (mmol)									
	Treatment Week 25	0.358	0.210	0.229*	0.329	0.238*	0.413**	0.292*	0.512**
	Recovery	0.282	0.183	0.225	0.203	0.197	0.255	0.222	0.198
Organ Weights[b]									
Adrenal (g)	After 13 weeks of treatment	0.065				0.103**			
	After 26 weeks of treatment	0.053	-	0.079**	-	0.089**	-	0.101**	-
	Recovery	0.049		0.061*		0.070**		0.066**	
Adrenal (%)	After 26 weeks of treatment			50**		68**		92**	
Spleen (g)	After 26 weeks of treatment	0.669	0.540	0.806**	0.736**	0.872**	0.919**	1.027**	1.082**
	Recovery	0.633	0.469	0.698	0.505	0.812*	0.620**	0.773*	0.657**
Spleen (%)	After 26 weeks of treatment			20**	36**	30**	70**	53**	100**
Thymus (g)	After 26 weeks of treatment	-	0.179	-	0.225*		0.288**		0.391**
	Recovery		0.173		0.211		0.193		0.223*

Twice weekly Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**1 mg/kg**		**2 mg/kg**		**4 mg/kg**	
Thymus (%) After 26 weeks of treatment				26*	-	61**	-	119**
Macropathology								
Findings after 13 weeks of treatment								
No. of animals examined	**6**				**6**			
Adrenals – marked enlargement	0				4			
Adrenals – dark colour	0				3			
Liver – dark colour	0				5			
Skin and subcutis - thickened	0				2			
Findings after 26 weeks of treatment								
No. of animals examined	**20**	**20**	**20**	**20**	**20**	**20**	**20**	**20**
Mammary – thickened	0	0	0	0	0	0	0	4
Skin and subcutis - thickened	0	0	0	0	0	0	2	0
Findings after 4 weeks of recovery								
Number of animals examined	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Skin and subcutis - thickened	0	0	0	0	1	0	2	0
Histopathology								
Findings after 13 weeks of treatment								
No. of animals examined	**6**				**6**			
Mammary - feminisation	0				5			
Mammary – secretory activity	0				4			
Mammary – increased interlobular collagen/fibroblasts	0				3			
Kidneys (PAS staining) – reduced intensity of staining of proximal convoluted tubule brush border	0				2			
Adrenals – zona fasciculata hypertrophy, generalised, bilateral	0				6			
Skin and subcutis – increased subcutaneous collagen/fibroblasts	0				3			
Injection site 1 – increased subcutaneous collagen/fibroblasts	0				5			

Twice weekly Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**1 mg/kg**		**2 mg/kg**		**4 mg/kg**	
Injection site 2 – increased subcutaneous collagen/fibroblasts	0				6			
Injection site 3 – increased subcutaneous collagen/fibroblasts	0				4			
Injection site 4 – increased subcutaneous collagen/fibroblasts	0				5			
Injection site 5 – increased subcutaneous collagen/fibroblasts	0				6			
Lachrymal glands – increased interlobular collagen/fibroblasts	0				1			
Brown adipose tissue, periaortic – increased unilocular cytoplasmic vacuolation	0				3			
Brown adipose tissue, interscapular – increased unilocular cytoplasmic vacuolation	0				2			
Brown adipose tissue, interscapular – increased cytoplasmic eosinophilia	0				3			
Findings after 26 weeks of treatment								
Number of animals examined	**20**	**20**	**20**	**20**	**20**	**20**	**20**	**20**
Mammary – lobular hyperplasia	0	0	0	1	0	16	2	16
Mammary – feminisation	0		14		19		20	
Mammary – secretory activity	0	1	10	2	15	10	13	17
Mammary – mineral in secretion	0	0	0	0	2	1	1	5
Mammary – increased interlobular collagen /fibroblasts	0	0	1	2	5	17	10	16
Liver – increase in hepatocyte mitotic figures	0	2	2	5	6	8	6	7
Liver – hepatocellular microvacuolation, periportal	0	0	0	0	5	1	8	4
Liver – hepatocellular vacuolation, centrilobular	1	0	5	0	6	0	3	0
Liver – inflammatory cell infiltration with associated haemorrhage, parenchymal	1	0	9	0	6	0	8	1
Pancreas – islet cell hypertrophy/hyperplasia	0	0	0	0	1	0	5	1

Twice weekly Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**1 mg/kg**		**2 mg/kg**		**4 mg/kg**	
Kidneys – generalised bilateral hypertrophy	0	0	0	0	0	1	5	2
Kidneys – cortical tubular basophilia	1	0	0	1	3	0	4	2
Kidneys – tubular casts within dilated tubules in outer/mid cortex and medulla (positive staining with PAS)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)	4 (4)	2 (1)
Kidneys – tubular casts within dilated tubules in outer/mid cortex (positive staining with PAS)	0 (0)	0 (0)	1 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	2 (1)
Kidneys – reduced intensity of PAS staining of proximal convoluted tubule brush border	1	1	2	2	3	2	5	2
Kidneys – positive PAS staining of increased number of cytoplasmic droplets in proximal convoluted tubules	2	2	4	4	10	5	15	7
Heart – generalised myocardial hypertrophy	0	0	0	0	0	0	4	2
Spleen – extramedullary haemopoiesis, increased	1	17	4	10	5	18	9	20
Spleen – increased haemosiderosis	2	12	16	12	11	13	12	14
Adrenals – generalised hypertrophy, zona fasciculata, bilateral	0	0	1	0	7	1	13	4
Pituitary – reduced cellularity, pars distalis	0	0	2	0	1	0	1	1
Pituitary- adenoma, pars distalis	0	0	0	1	0	0	0	0
Mandibular lymph node – increased internodal collagen	0	0	0	0	0	0	1	1
Parotid salivary gland – increased interlobular collagen	0	0	0	1	1	1	5	2
Parotid salivary gland – focal basophilic acinar cell hypertrophy	0	1	1	6	4	4	0	5
Oesophagus – hypertrophy, tunica muscularis	0	0	0	0	0	0	0	3
Skin and subcutis – increased subcutaneous collagen/fibroblasts	0	0	0	0	1	1	2	8
Lachrymal glands – increased acinar cell hypertrophy, bilateral	6	0	6	0	9	0	8	0

Twice weekly Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**1 mg/kg**		**2 mg/kg**		**4 mg/kg**	
Lachrymal glands – increased interlobular collagen/fibroblasts	0	0	0	0	2	0	6	3
Sternum – increased adipocytes in marrow	0	0	1	0	4	0	8	0
Femur – increased height of articular cartilage	0	0	0	0	0	0	14	5
Femur, epiphyseal growth plate – chondroid hyperplasia	0	0	0	0	0	0	16	6
Femur – increased adipocytes in marrow	1	0	2	0	10	0	8	0
Brain – dilated ventricles	0	0	0	0	1	0	4	0
Male preputial glands / female clitoral glands – duct(s) distended with secretory material	8	4	9	3	13	4	7	4
Male preputial glands / female clitoral glands – focal granuloma(ta)	5	1	7	4	9	8	13	7
Ovaries – increase in size of corpora lutea		0		1		4		1
Vagina – epithelial mucification		0		2		3		5
Injection site 3[c] – increased subcutaneous collagen/fibroblasts	0	0	16	13	17	18	14	17
Brown adipose tissue, interscapular – increased unilocular cytoplasmic vacuolation	0	0	9	13	14	18	10	18
Brown adipose tissue, periaortic – increased unilocular cytoplasmic vacuolation	0	0	5	3	3	6	8	11
Inguinal lymph node – increased internodal collagen (right lymph node presented)	0	0	1	1	4	3	6	1
Findings after 4 weeks of recovery								
Number of animals examined - recovery	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Mammary – lobular hyperplasia	0	0	0	0	0	1	0	2
Mammary – feminisation	0		5		9		9	
Mammary – secretory activity	0	2	1	3	0	2	1	7
Mammary – mineral in secretion	0	0	0	1	0	0	1	0
Mammary – increased interlobular collagen/fibroblasts	0	0	0	3	3	5	2	6

Twice weekly Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**1 mg/kg**		**2 mg/kg**		**4 mg/kg**	
Liver – hepatocellular microvacuolation, periportal	0	0	0	1	1	1	2	0
Liver – inflammatory cell infiltration with associated haemorrhage, parenchymal	0	0	0	0	1	0	2	1
Pancreas – islet cell hypertrophy/hyperplasia	0	0	0	0	0	0	1	0
Kidneys – generalised bilateral hypertrophy	0	0	0	0	0	0	0	1
Kidneys – cortical tubular basophilia	0	0	0	1	1	0	3	0
Kidneys – tubular casts within dilated tubules in outer/mid cortex and medulla (positive staining with PAS)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (2)	0 (0)
Kidneys – reduced intensity of PAS staining of proximal convoluted tubule brush border	0	0	0	0	0	0	0	1
Kidneys – positive PAS staining of increased number of cytoplasmic droplets in proximal convoluted tubules	0	0	2	0	1	0	1	1
Spleen – increased haemosiderosis	4	5	6	3	4	6	8	9
Adrenals – generalised hypertrophy in zona fasciculata, bilateral	0	0	0	0	1	0	1	0
Mandibular lymph node – increased internodal collagen	0	0	2	0	1	0	2	0
Parotid salivary gland – increased interlobular collagen	0	0	2	1	3	0	4	1
Parotid salivary gland – focal acinar cell hypertrophy, basophilic	0	3	1	4	0	2	0	4
Oesophagus – hypertrophy, tunica muscularis	0	0	0	0	0	0	0	1
Lachrymal glands – increased acinar cell hypertrophy, bilateral	0	0	2	0	2	0	1	0
Lachrymal glands – increased interlobular collagen/fibroblasts	0	0	0	0	1	0	1	1
Sternum – increased adipocytes in marrow	0	0	9	1	8	0	7	2
Femur – increased height of articular cartilage	0	0	0	0	1	0	1	1
Femur – increased adipocytes in marrow	0	0	0	0	0	0	2	0

Twice weekly Dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**1 mg/kg**		**2 mg/kg**		**4 mg/kg**	
Brain – dilated ventricles	0	0	0	0	0	0	1	0
Injection site 3[c]– increased subcutaneous collagen/fibroblasts	0	0	3	3	9	5	9	5
Brown adipose tissue, interscapular – increased unilocular cytoplasmic vacuolation	0	0	1	2	2	3	4	4
Brown adipose tissue, periaortic – increased unilocular cytoplasmic vacuolation	0	0	0	0	0	0	1	0
Left inguinal lymph node – increased internodal collagen	0	0	1	0	2	1	2	1
Right inguinal lymph node – increased internodal collagen	0	0	1	0	1	0	1	1

- No noteworthy findings.
* - $p<0.05$ ** - $p<0.01$
[a]At interim sampling, week 14 ínterim kill, 26 week terminal kill or recovery periods unless otherwise specified.
[b]Absolute organ weight or percent difference from the control for the absolute organ weights.
[c]Injection site 3 only presented, as being representative of all treatment sites (1 to 5).
[d]Urinalysis investigations were performed in Weeks 2, 6, 12, 20 and 25 of treatment. Week 25 only are reported as being representative of the whole period.
[e]Interim kill at week 14 (group 1 and 3 and males only).

2.6.7.7.D　カニクイザルを用いた２週間反復投与毒性試験（210470）

Report Title: Toxicity study by subcutaneous administration to cynomolgus monkeys for 2 weeks **Study ID:** 210470

Species/Strain: Primate/Cynomolgus monkey	**Duration of Dosing:** 2 weeks	**Location in CTD:** 4.2.3.2-7
Initial Age: 30-34 months	**Duration of Postdose:** N/A	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: 12 May 2011	**Method of Administration:** Subcutaneous injection	
Vehicle/Formulation: Aqueous solution containing 1.55 mg/mL histidine, 36 mg/mL mannitol and 21 mg/mL sucrose (pH7)		

Parameters collected:
Body Weight (%), Clinical Observations, Ophthalmoscopy, Electrocardiography, Haematology, Serum Chemistry, Toxicokinetics, Urinalysis, Organ Weights (%),Gross Pathology, Histopathology

Special Features: Neurobehavioural screening, Insulin Analysis, Measurement of insulin-like growth factor-I (IGF-I)

No Observed Adverse-Effect Level: 9 mg/kg twice weekly

Brief conclusion: It is concluded that twice weekly subcutaneous administration of somapacitan to the cynomolgus monkeys for 2 weeks at doses up to 9 mg/kg produced findings that were attributable to its pharmacological action as a long-acting growth hormone, such as stimulation of mammary tissue. All findings were non-adverse, and the no-observed-adverse-effect level (NOAEL) was 9 mg/kg twice weekly.

Twice weekly dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.4**		**2.0**		**9.0**	
Number of Animals	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Toxicokinetics:								
$AUC_{0\text{-}72hr}$ (hr × ng/mL)								
Day 1	-		129,000		845,000		4,430,000	
Day 12	-		251,000		1,670,000		8,890,000	
(mean of male and female animals)								
Noteworthy Findings								
Mortality	0	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Signs:								
Nipple – lactation (one or both)	0	0	0	2	0	3	0	3
Mammary swelling (one or both)	0	0	0	0	0	2	0	3

Twice weekly dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.4**		**2.0**		**9.0**	
Macroscopic examination:								
Swollen nipples	0	0	0	1	0	1	0	1
Thickening of mammary tissue	0	0	0	1	0	1	0	2
Thymus small	0	0	0	3	1	2	1	2
Histopathology:								
Mammary gland								
Acinar development	0	0	0	1	0	1	0	3
Acinar dilatation -	0	0	0	0	0	2	0	3
Ductular dilatation -	0	0	0	2	0	3	0	3
Thymus								
Cortex, reduced cellularity	0	0	0	2	0	2	0	1

2.6.7.7.E カニクイザルを用いた 13 週間反復投与毒性試験（210471）

Report Title: Toxicity study by subcutaneous administration to cynomolgus monkeys for 13 weeks followed by a 4 week off-treatment period **Study ID:** 210471

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus	**Duration of Dosing:** 13 Weeks	**Location in CTD:** 4.2.3.2-8
Initial Age: 28 to 35 months	**Duration of Postdose:** 4 Weeks	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: 30 June 2011	**Method of Administration:** Subcutaneous injection	
	Vehicle/Formulation: 1.55 mg/mL histidine, 36 mg/mL mannitol and 21 mg/mL sucrose (pH7)	

Parameters collected: Body Weight, Clinical Observations, Ophthalmoscopy, Electrocardiography, Haematology, Serum Chemistry, Urinalysis, Organ Weights, Gross Pathology, Histopathology

Special Features: Insulin analysis, Antibody assay, Measurement of insulin-like growth factor-I, Measurement of insulin-like growth factor binding protein-3

No Observed Adverse-Effect Level: 9 mg/kg twice weekly in males and females

Brief conclusion: It is concluded that twice weekly subcutaneous administration of somapacitan to the cynomolgus monkeys for 13 weeks at doses up to 9 mg/kg twice weekly produced findings that were attributable to its pharmacological action as a long-acting growth hormone. There was swelling and lactation of the mammary glands and reversible changes in red blood cell parameters in males. These were attributable to the pharmacological action of the test material and therefore considered non- adverse. The no-observed-adverse-effect level (NOAEL) was 9 mg/kg dosed twice weekly.

Twice weekly dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.4**		**2.0**		**9.0**	
Number of Animals (main)	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Number of Animals (Recovery)	**M: 2**	**F: 2**					**M: 2**	**F: 2**
Toxicokinetics:								
$AUC_{0\text{-}72hr}$ (hr × ng/mL)								
Week 1		-		145,000		890,000		4,490,000
Week 6		-		271,000		1,990,000		8,930,000
Week 13		-		188,000		1,850,000		9,400,000
(mean of male and female animals)								
Noteworthy Findings								
Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0

Twice weekly dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**0.4**		**2.0**		**9.0**	
Clinical Signs									
	Mammary swelling	0	0	1	3	2	3	4	5
	Lactation	0	0	0	3	1	3	2	5
Body Weight		No treatment-related findings							
Haematology (fasted)									
Haematocrit (L/L)	Week 6	0.413	-	0.399	-	0.385	-	0.374**	-
	Week 13	0.396	-	0.386	-	0.358*	-	0.360**	-
	Week 4R	0.390	-	-	-	-	-	0.399	-
Haemaglobin (g/dL)	Week 6	13.4	-	12.9	-	12.6	-	12.0*	-
	Week 13	12.9	-	12.5	-	11.8**	-	11.5**	-
	Week 4R	11.7	-	-	-	-	-	11.9	-
Erythrocyte ($x10^{12}$/L)	Week 6	5.63	5.15	5.36	4.71	5.18	4.90	5.09*	5.04
	Week 13	5.52	5.48	5.24	4.78*	4.93*	4.96*	4.99**	5.09**
	Week 4R	5.53	5.42	-	-	-	-	5.33	5.25
White Blood Cells ($x10^{9}$/L)	Week 6	11.67	-	10.98	-	8.30	-	8.95	-
	Week 13	13.79	-	11.48	-	9.06	-	9.94*	-
	Wek4R	12.83	-	-	-	-	-	13.98	-
Neutrophils ($x10^{9}$/L)	Week 6	4.99	4.88	3.21	3.51	2.47	3.54	1.99**	3.05
	Week 13	6.84	8.17	3.63*	6.37	3.73*	6.53	3.43**	4.25*
	Week 4R	2.78	5.80	-	-	-	-	3.99	4.11
Eosinophiles ($x10^{9}$/L)	Week 6	0.07	-	0.07	-	0.13	-	0.26**	-
	Week 13	0.09	-	0.06	-	0.11	-	0.15	-
	Week 4R	0.06	-					0.19	-

Twice weekly dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**0.4**		**2.0**		**9.0**	
Clinical chemistry (fasted)									
Creatinine (µmol/L)	Week 6	72	-	60	-	70	-	59*	-
	Week 13	69	-	56	-	64	-	54**	-
	Week R4	65						57	
									-
alpha1 (g/L)	Week 6	4	-	4	-	4	-	3**	
	Week 13	3		3		3		3	
Triglycerides (mmol/L)	Week 6	0.44	-	0.38	-	0.29	-	0.34*	-
	Week 13	0.38		0.36		0.24		0.30*	
Bilirubin (µmol/L)	Week 6	-	3	-	3	-	3	-	3
	Week 13	-	2	-	2		2	-	3*
	Week4R	-	2					-	4
Phosphate (mmol/L)	Week 6	1.80	-	1.94	-	1.80	-	1.90	-
	Week 13	1.58	-	1.84	-	1.65	-	1.92**	-
Total IGF-I (ng/mL) (male and females)									
	Week 4	436		589		608		526	
	Week 8	427		568		581		478	
	Week 13	545		777		721		700	
	Off-treatment Week 1	490		-		-		497	
	Off-treatment Week 4	434		-		-		341	

Twice weekly dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.4**		**2.0**		**9.0**	
IGFBP-3 (ng/mL) (male and females)								
Week 4	4120		6590		6450		5860	
Week 8	3700		5840		6520		5850	
Week 13	4410		7140		6710		6220	
Off-treatment Week 1	5540		-		-		5540	
Off-treatment Week 4	4500		-		-		4260	
Antibodies-positive Week 13	0/5	0/5	2/3	0/3	0/3	0/3	0/5	0/5
Organ weight								
Spleen (absolute) (g)	4.92	3.34	4.48	4.12	3.52	3.96	3.31	2.95
Spleen (% of terminal main bodyweight)	0.15	0.12	0.14	0.14	0.12	0.13	0.10	0.12
Spleen (% diff from 1M/F)	-	-	-8.9	23	-28.5	3.0	-32.7	-12
Macropathology								
Mammary gland – swollen								
Week 13	0	0	0	1	0	2	1	3
Off-treatment Week 4	0	0					0	2
Histopathology Week 13								
Mammary gland								
Acinar Dilation	0	0	0	0	0	3	0	3
Ductular Dilation	0	0	1	0	3	3	1	3
Epithelial Papillary Hyperplasia	0	0	0	0	0	1	0	1
Histopathology Off-treatment Week 4								
Mammary gland								
Ductular Dilation	0	0					2	2

* - $p<0.05$ ** - $p<0.01$

2.6.7.7.F カニクイザルを用いた 26 週間反復投与毒性試験（212203）

Report Title: Toxicity study by subcutaneous administration to cynomolgus monkeys for 26 weeks followed by a 6 week recovery period **Study ID:** 212203

Species/Strain: Monkey/Cynomolgus	**Duration of Dosing:** 26 Weeks	**Location in CTD:** 4.2.3.2-9
Initial Age: 29 to 31 months	**Duration of Postdose:** 6 Weeks	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: 12 July 2012	**Method of Administration:** Subcutaneous injection	
	Vehicle/Formulation: 0.68 mg/mL histidine, 3 mg/mL polyoxyethylene (160) polyoxypropylene (30) glycol, 44 mg/mL mannitol and 3 mg/mL phenol	

Parameters collected: Body Weight, Clinical Observations, Ophthalmoscopy, Electrocardiography, Haematology, Serum Chemistry, Urinalysis, Toxicokinetics, Organ Weights, Gross Pathology, Histopathology

Special Features: Insulin analysis, Antibody assay, Measurement of insulin-like growth factor-I

No Observed Adverse-Effect Level: 9 mg/kg dosed twice weekly

Brief conclusion: It is concluded that twice weekly subcutaneous administration of somapacitan to the cynomolgus monkeys for 26 weeks at doses up to 9 mg/kg produced findings that were attributable to the pharmacological action as a long-acting growth hormone. In the mammary glands swelling, lactation, acinar and ductular dilation and papillary hyperplasia of the acinar epithelium were observed. These findings were considered non-adverse. The no-observed-adverse-effect level (NOAEL) was 9 mg/kg twice weekly.

Twice weekly dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.4**		**2.0**		**9.0**	
Number of Animals (main)	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**	**M: 3**	**F: 3**
Number of Animals (recovery)	**M: 2**	**F: 2**					**M: 2**	**F: 2**
Toxicokinetics: $AUC_{0\text{-}72hr}$ **(hr × ng/mL)**								
Week 1	-		223,000		1,270,000		6,060,000	
Week 13	-		290,000		2,080,000		10,300,000	
Week 26	-		222,000		1,810,000		9,330,000	
(mean of male and female animals)								

Twice weekly dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**0.4**		**2.0**		**9.0**	
Noteworthy Findings									
Died or Sacrificed Moribund		1	0	0	0	0	0	0	0
Clinical Signs									
	Mammary swelling	0	4	1	3	3	3	4	5
	Lactation	0	0	1	3	3	3	3	5
Body Weight Gain (kg) **Week 1-26**		0.45	0.60	0.73	0.57	0.67	0.69	0.76	0.68
Haematology (fasted)									
Haematocrit (L/L)	Week 13		0.437		0.388**		0.381**		0.390**
	Week 26		0.445		0.391*		0.394*		0.401**
	Week6R		0.378						0.361
Haemoglobin (g/dL)	Week 13	13.0	13.3	12.3	12.0*	11.9	11.8*	12.0*	12.1**
	Week 26	13.3	13.9	12.6	12.3*	12.4	12.7*	12.6	12.7**
	Week 6R	12.9	12.4					12.3	12.2
Erythrocyte count ($x10^{12}$/L)	Week 13		5.70		5.19*		4.84*		5.25*
	Week 26		5.72		5.18		5.10		5.35
Mean cell haemoglobin concentration (g/dL)									
	Week 13	32.7		31.8		31.5		30.9*	
	Week 26	31.0		31.3		31.6		31.1	
White Blood Cell count ($x10^{9}$/L)									
	Week 26	17.52		11.09*		12.58*		11.45*	
	Week 6R	18.37						13.37	

Twice weekly dose (mg/kg)		**0 (Control)**		**0.4**		**2.0**		**9.0**	
Neutrophil count (x10^9/L)									
	Week 26	7.77		3.31		3.92		4.25*	
	Week6R	11.31						4.63	
Clinical chemistry (fasted)									
AST (U/L)									
	Week 13	50		43		35*		32**	
	Week 26	50		37**		35**		32**	
	Week 6R	50						42	
Urea (mmol/L)	Pretreatment	5.17		4.55		5.42		4.90	
	Week 13	8.35		7.99		9.28		6.21*	
	Week 26	6.32		6.48		6.20		4.22*	
	Week 6R	5.05[a]						4.98	
Glucose									
	Pretreatment		4.73		4.12		3.60		3.71
	Week 13		3.53		2.98		3.51		3.35
	Week 26		5.02		3.91**		4.18**		3.83**
	Week6R		4.64						3.94
Albumin (g/L)	Week 13	39		37		38		36*	
	Week 26	35		34		36		36	
Beta (g/L)	Week 13	9		11		9		12*	
	Week 26	10		12		10		11	
		1.18							
A/G ratio	Week 13	1.07		1.13		1.25		0.98**	
	Week 26			0.99		1.17		1.01	

Twice weekly dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.4**		**2.0**		**9.0**	
Total IGF-I (ng/mL)(male and female)								
Pretreatment	312		+3		-9		-2	
Day 1	336		366		300		341	
Week 13	278		500		447		445	
Week 26	422		639		638		541	
Off-treatment Week 6	335		-		-		319	
Antibody positive								
Week 26	0/5	0/5	1/3	0/3	0/3	0/3	0/5	0/5
Organ weight								
Thymus (absolute) (g)	3.74	2.77	4.47	3.30	3.13	4.11	2.86	1.72
Thymus (% of terminal bodyweight)	0.132	0.096	0.142	0.115	0.106	0.0142	0.086	0.053
Thymus (% diff from 1M/F)			20	20	-16	48	-24	-38
Macropathology								
Mammary gland - Cyst(s)								
Week 26	0	0	0	1	0	1	0	2
Off-treatment Week 6	0	0					0	1
Mammary gland - swollen								
Week 26	0	0	2	0	3	0	3	0
Off-treatment Week 6	0	0					0	0
Mammary gland - Thickened								
Week 26	0	0	0	2	0	3	0	3
Off-treatment Week 6	0	0					0	1
Injection site[b] – Red areas								
Week 26	3	4	3	2	8	7	8	5
Injection site – Cutaneous scab(s)								
Week 26	0	1	0	0	1	0	5	0

Twice weekly dose (mg/kg)	**0 (Control)**		**0.4**		**2.0**		**9.0**	
Histopathology Week 26								
Mammary Gland								
Acinar Dilation	0	0	1	2	0	3	0	3
Ductal Dilation	0	0	2	3	1	3	3	3
Epithelial Papillary Hyperplasia	0	0	0	1	0	3	0	2
Injection sites[b]								
Scabs	0/18	1/18	0/18	0/18	0/18	0/18	3/18	0/18
Ulcers	0/18	0/18	0/18	0/18	0/18	0/18	3/18	0/18
Necrosis/collagen degeneration with or without oedema	0/18	0/18	0/18	1/18	0/18	1/18	6/18	2/18
Perivascular inflammation	0/18	0/18	0/18	11/18	0/18	0/18	2/18	2/18
Histopathology Off-treatment Week 6								
Mammary gland								
Ductular Dilation	1	2					1	2
Acinar Dilation	0	0					0	1
Epithelial Papillary Hyperplasia	0	0					0	1

[a]Urea : Value from one control animal. Value of animal no. 139: 5.05 mmol/L. Value of animal no. 141: 21.39 mmol/L.

[b]18 injection sites/group/sex.

2.6.7.8 遺伝毒性試験：*in vitro*

Test article: somapacitan

2.6.7.8.A Ames 試験（復帰突然変異試験）（211097）

Report Title: Reverse mutation in five histidine-requiring strains of *Salmonella typhimurium* using a treat and plate methodology

Test Article: Somapacitan

Test for Induction of: Reverse Mutations (Ames)

No. of Independent Assays:2

Study ID: 211097

Strains: *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 and TA102

No. of Replicate Cultures: 5 (vehicle), 3 (test article and positive control)

Location in CTD: 4.2.3.3.1-1

Metabolizing System: Aroclor induced rat liver S-9

No. of Cells Analysed/Culture: N/A

GLP Compliance: Yes

Vehicles: For Test Article: Aqueous solution containing 1.55 mg/mL histidine, 36 mg/mL, mannitol, and 21 mg/mL sucrose (pH7)

For Positive Controls: DMSO (2NF, AAN, MMS, MNNG, ICR-191), Water (NQO, MMC).

Treatment: Treat and plate methodology (Experiment 1 and Experiment 2 with and without activation (S-9)).

Date of Treatment: May to August 2011

Cytotoxic Effects: None.

Genotoxic Effects: Negative.

			Assay 1 revertant Colony Counts				
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration or Dose Level (µg/plate)**	**TA98**	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**TA102**
Without Activation	Somapacitan	Vehicle	30 ± 5	88 ± 10	10 ± 1	6 ± 4	247 ± 16
		Untreated controls	24 ± 4	92 ± 11	9 ± 5	5 ± 3	213 ± 25
		8	24 ± 6	85 ± 20	15 ± 3	5 ± 1	199 ± 31
		40	19 ± 3	93 ± 15	11 ± 4	4 ± 4	211 ± 62
		200	27 ± 6	79 ± 8	10 ± 5	4 ± 2	213 ± 18
		1000	29 ± 4	80 ± 12	16 ± 8	6 ± 3	218 ± 10
		5000	23 ± 6	82 ± 6	16 ± 3	3 ± 2	201 ± 5
	Positive Control	Compound	2NF	NQO	MNNG	ICR-191	MMC
		Concentration (µg/plate)	25	1	2.5	1	0.05
		Revertants	445 ± 9	211 ± 14	238 ± 32	370 ± 27	878 ± 164

NQO: 4-nitroquinoline 1-oxide

MMC: Mitomycin C

MNNG: N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

ICR-191: ICR-191 mutagen

2NF: 2-nitrofluorene

			Assay 1 revertant Colony Counts				
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration or Dose Level (µg/plate)**	**TA98**	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**TA102**
With Activation	Somapacitan	Buffer solution	32 ± 8	128 ± 21	13 ± 3	7 ± 1	208 ± 5
		Untreated controls	18 ± 3	126 ± 17	17 ± 4	3 ± 2	203 ± 10
		8	24 ± 3	133 ± 8	15 ± 4	9 ± 2	184 ± 26
		40	25 ± 14	142 ± 5	14 ± 7	3 ± 1	215 ± 2
		200	28 ± 13	153 ± 17	19 ± 2	7 ± 3	184 ± 23
		1000	50 ± 10	149 ± 6	15 ± 0	6 ± 5	209 ± 18
		5000	26 ± 3	139 ± 15	10 ± 4	6 ± 0	195 ± 22
	Positive Control	Compound	AAN	AAN	AAN	AAN	MMS
		Concentration (µg/plate)	2.5	2.5	5	2.5	1250
		Revertants	412 ± 77	420 ± 109	95 ± 15	59 ± 2	676 ± 18

AAN: 2-aminoanthracene
MMS: Methyl methanesulphonate

			Assay 2 revertant Colony Counts				
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration or Dose Level (µg/plate)**	**TA98**	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**TA102**
Without Activation	Somapacitan	Vehicle	28 ± 3	99 ± 9	13 ± 2	7 ± 3	235 ± 20
		Untreated control	26 ± 7	99 ± 13	13 ± 1	7 ± 2	206 ± 12
		312.5	26 ± 6	113 ± 13	16 ± 3	8 ± 2	199 ± 21
		625	24 ± 11	115 ± 18	15 ± 3	10 ± 3	230 ± 7
		1250	17 ± 4	119 ± 7 M B	20 ± 4	7 ± 7	226 ± 15
		2500	28 ± 2	111 ± 4	13 ± 3	11 ± 9	248 ± 25
		5000	24 ± 8	117 ± 14	13 ± 5	12 ± 2	216 ± 22
	Positive Control	Compound	2NF	NQO	MNNG	ICR-191	MMC
		Concentration (µg/plate)	25	1	2.5	1	0.05
		Revertants	798 ± 24	329 ± 176	49 ± 1	539 ± 139	1108 ± 98

NQO: 4-nitroquinoline 1-oxide
MMC: Mitomycin C
MNNG: N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine
ICR-191: ICR-191 mutagen
2NF: 2-nitrofluorene
B: Bubbles or splits in the agar
M: Plate counted manually

			Assay 2 revertant Colony Counts				
Metabolic Activation	**Test Article**	**Concentration or Dose Level (µg/plate)**	**TA98**	**TA100**	**TA1535**	**TA1537**	**TA102**
With Activation	Somapacitan	Vehicle	29 ± 10	115 ± 19	20 ± 5	8 ± 1	189 ± 12
		Untreated control	31 ± 3	119 ± 20	14 ± 3	7 ± 2	199 ± 21
		312.5	34 ± 13	78 ± 23	18 ± 2	6 ± 4	220 ± 23
		625	38 ± 10	127 ± 11	19 ± 4	8 ± 7	146 ± 18
		1250	37 ± 2	129 ± 2	26 ± 12	5 ± 3	193 ± 22
		2500	28 ± 14 [M B]	141 ± 5 [M B]	18 ± 1	6 ± 2	212 ± 1
		5000	31 ± 4	136 ± 11	20 ± 3	5 ± 1	201 ± 41
	Positive Control	Compound	AAN	AAN	AAN	AAN	MMS
		Concentration (µg/plate)	2.5	2.5	5	2.5	1250
		Revertants	360 ± 88	439 ± 29	820 ± 379	T	T

MMS: Methyl methanesulphonate
AAN: 2-Aminoanthracene
B: Bubbles or splits in the agar
M: Plate counted manually
T: Toxic

2.6.7.8.B 染色体異常試験（211098）

Report Title: Induction of chromosome aberrations in cultured human peripheral blood lymphocytes
Test Article: Somapacitan
Test for Induction of: Chromosome aberrations
No. of Independent Assays: Two
Study ID: 211098
Strain: Primary human lymphocytes
No. of Replicates: 4 (solvent), 2 (test article, positive controls)
Location in CTD: 4.2.3.3.1-2
Metabolizing System: Aroclor 1254 induced rat liver S-9
No. of Cells Analysed/Culture: 100 (where possible)
GLP Compliance: Yes
Vehicles: For Test Article: Aqueous solution containing 1.55 mg/mL histidine, 36 mg/mL, mannitol, and 21 mg/mL sucrose (pH7)
For Positive Controls: DMSO
Date of Treatment:
Experiment 1 = 6 June 2011
Experiment 2 = 27 June 2011

Treatment: Experiment 1 – 3+17 hour treatment in the absence and presence of metabolic activation (S-9), Experiment 2 – 20+0 hour treatment in the absence of metabolic activation (S-9) and 3+17 hour treatment in the presence of S-9.
Cytotoxic Effects: None.
Genotoxic Effects: None.

Experiment 1

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/mL)	Cytotoxicity (%) †	Aberrant Cells Mean %	Total Abs/Cell	Total Polyploid cells
3+17 hour Without Activation	Vehicle	0	-	0.00	0.000	0
	Somapacitan	600.0	0	0.50	0.005	0
	Somapacitan	1000	5	1.00	0.010	0
	Somapacitan	1400	0	0.50	0.005	0
	4-Nitroquinoline (NQO)	2.50	ND	24.07***	0.3704	0
3+17 hour With Activation	Vehicle	0	-	0.50	0.005	0
	Somapacitan	600.0	7	0.00	0.000	0
	Somapacitan	1000	16	2.50	0.025	0
	Somapacitan	1400	5	0.50	0.005	0
	Cyclophosphamide (CPA)	12.50	ND	36.04***	0.5766	0

Fisher's exact test *** $p < 0.001$

† Mitotic inhibition (%) = [1 - (mean MI_T/mean MI_C)] x 100% (where T = treatment and C = negative control).

ND = not determined.

Experiment 2

Metabolic Activation	Test Article	Concentration (µg/mL)	Cytotoxicity (%) †	Aberrant Cells Mean %	Total Abs/Cell	Total Polyploid cells
	Somapacitan Placebo	0	-	1.50	0.015	1
20+0 hour	Somapacitan Drug Product	500.0	0	0.00	0.000	2
Without	Somapacitan Drug Product	1000	6	0.00	0.000	0
Activation	Somapacitan Drug Product	1400	23	0.50	0.005	1
	4-Nitroquinoline (NQO)	2.50	ND	14.37***	0.2241	0
	Somapacitan Placebo	0	-	1.50	0.015	0
3+17 hour	Somapacitan Drug Product	500.0	0	0.00	0.000	1
With	Somapacitan Drug Product	1000	0	0.00	0.000	3
Activation	Somapacitan Drug Product	1400	14	1.00	0.010	0
	Cyclophosphamide (CPA)	12.50	ND	29.55***	0.4318	1

Fisher's exact test *** $p < 0.001$

† Mitotic inhibition (%) = [1 - (mean MI_T/mean MI_C)] x 100% (where T = treatment and C = negative control).

ND = not determined.

2.6.7.9 遺伝毒性試験：*in vivo*

Test article: somapacitan

Report Title: Han Wistar rat *in vivo* micronucleus test		**Study ID:** 211299
Test for Induction of: Induction of micronuclei in the bone marrow of treated rats	**Treatment Schedule:** Animals were treated with somapacitan subcutaneously at 17.5, 35 and 70 mg/kg/day, on two occasions, approximately 24 hours apart	**Location in CTD:** 4.2.3.3.2-1
Species/Strain: Han Wistar RccHan^{TM}:WIST.	**Sampling Time:** 24 hours after the 2nd dose (vehicle and somapacitan treatment groups) 24 hours after 1st dose (positive control group)	**GLP Compliance:** Yes
Age: 7-8 weeks	**Method of Administration:** Subcutaneously at a dose volume of 10 mL/kg	
Cells Evaluated: Polychromatic erythrocytes (PCE)	**Vehicle/Formulation:** 1.55 mg/mL histidine, 36 mg/mL mannitol, 21 mg/mL sucrose (pH 7) (Somapacitan placebo 0 mg/mL)	**Date of Treatment:** 21/22 February 2012 (vehicle and somapacitan treatment groups) 22 February 2012 (positive control group)
No. of Cells Analyzed/Animal: 2000 PCE's		
Special Features: Formulation analysis and Bioanalysis		
Toxicokinetics: Satellite animals for plasma analysis bled 5 minutes and 2 hours after one dose of Somapacitan at 70 mg/kg/day. Systemic exposure of somapacitan in plasma confirmed after one dose of 70 mg/kg/day.		
Toxic/Cytotoxic Effects: None		
Genotoxic Effects: None		
Evidence of Exposure: Somapacitan was measurable in all plasma samples from dosed animals and was not measurable in any control group samples. Concentration ranges: 2890-5713 ng/mL (5 minutes) and 62558-112654 ng/mL (2 hours)		
Brief conclusion: It is concluded that somapacitan did not show any evidence of causing an increase in the induction of micronucleated polychromatic erythrocytes or bone marrow cell toxicity in male Han Wistar rats when administered subcutaneously in this *in vivo* test procedure		

Test Article	Dose (mg Somapacitan/kg) Nominal/actual	No. of Animals	Sampling Time (hours) after last dose	Group Mean % PCE	Group Mean % Micronucleated PCE (±SD)	Mean plasma concentrations (ng/mL)	
						5 minutes	2 hours
Vehicle	0	6M	24	61.5	0.3 (0.51)		
Somapacitan	17.5	6M	24	59.8	0.7 (1.63)		
Somapacitan	35	6M	24	53.9	0.2 (0.40)		
Somapacitan	70	6M	24	51.7	0.5 (0.83)	4096	86543
Positive control[#]	20	5M	24	43.9**	45.6** (15.32)		

Positive control cyclophosphamide M = male SD = standard deviation
Significant: ** = $p<0.01$

2.6.7.10 がん原性試験

No studies performed - rationale provided in Nonclinical Summary 2.6.6.5.

2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験

Test article: somapacitan

Species / Strain	Method of administration (vehicle/ Formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	Noteworthy findings	Study ID
Rat / Han Wistar	s.c.	Cohort 1: daily during Days 6 to 9 after mating (4 doses) Cohort 2: daily during Days 10 to 13 after mating (4 doses) Cohort 3: daily during Days 14 to 17 after mating (4 doses)	0.4, 2 or 9 mg/kg/day	18 females /group (The 6 lowest numbered animals in each group formed Cohort 1, the next 6 animals per group formed Cohort 2 and the remaining females – the 6 highest numbered - formed Cohort 3.	There was no clear evidence of any adverse toxicological reaction at the dose levels tested in this study. In the high dose group, mean post-implantation loss was slightly increased for 9 mg/kg dose females dosed on Days 10-13 of gestation, however, this was considered to be due to the influence of two animals which showed a high number (3 or 4) of early resorptions. Generally, relatively few females show 3 or more resorptions and it is possible that the presence of two such affected females out of 6 animals dosed during this specific phase of pregnancy (Days 10-13 of gestation) could suggest a treatment related effect.	211298
Rabbit / New Zealand White	s.c.	Cohort 1: every 2 days during Days 6 to 18 after mating (7 doses) Cohort 2: every 2 days during Days 12 to 18 after mating (4 doses)	0.4, 9, 15 or 25 mg/kg/occasion	6 females per group (The 3 lowest numbered animals in each group formed Cohort 1 with the remaining females forming Cohort 2.	There was no evidence of a toxicological reaction at the dose levels tested in this study in the dose levels of 0.4 to 25 mg/kg/occasion.	211296

Species / Strain	Method of administration (vehicle/ Formulation)	Duration of dosing	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	Noteworthy findings	Study ID
Rat / Han Wistar	s.c.	Gestation day 6 to lactation day 8 (twice weekly)	0, 6, 9, 18	6 females per group	Dosing was well tolerated by pregnant and lactating females. Increased body weight of dams and offspring are considered an expected pharmacological effect. There was a tendency towards a longer gestational length, though this finding should be treated with caution due to the small group size.	214468

2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

Test article: somapacitan

2.6.7.12.A 雄性 Wistar Hannover 系ラットを用いた受胎能に関する試験（212376）

Report Title: Study for effects on fertility in the male Han Wistar rat by subcutaneous administration **Study ID:** 212376

Design similar to ICH S5 Paragraph 4.1.1: Yes		**Location in CTD:** 4.2.3.5.1-1
Species/Strain: Rat / Han Wistar"	**Duration of Dosing: M:** Twice weekly for Approximately 6 weeks **F:** Untreated	
	Day of Mating: Day 0	**GLP Compliance:** Yes
Initial Age: 69 to 75 days	**Day of C-Section**: Day 14	
Date of First Dose: 20 November 2012"	**Method of Administration:** Subcutaneous injection	
	Vehicle/Formulation: 0.68 mg/mL histidine, 3 mg/mL polyoxyethylene (160) polyoxypropylene (30) glycol, 44 mg/mL mannitol and 3 mg/mL phenol at pH 6.5	

Parameters collected:
Males: Clinical Observations, Necropsy Observations, Body Weight, Food Consumption, Pre-coital interval incidences (and %), No. of Males that Mated, No. of pairings achieving pregnancy, conception rate (%), Fertility index (%), numbers of copulation plugs at mating, sperm count estimates, Organ weights
Females: Clinical Observations (not reported), Body Weight (not reported), Mean No. Corpora Lutea, Mean No. Implantations, Mean % Preimplantation Loss, Mean No. Live Conceptuses, Mean No. Resorptions, Mean % Post implantation Loss

Special Features: Twice weekly dosing; females untreated.

No Observed Adverse-Effect Level
F0 Males: NOAEL = 4 mg/kg twice weekly

Brief conclusion:
Treatment at all dose levels elicited increased bodyweight gain and food consumption at all dose levels, considered to be related to the pharmacological action of the test material. Mating performance, fertility and litter size were unaffected by treatment with somapacitan at dose levels up to 4 mg/kg/occasion.
Based on the results of this study it was concluded that the No-Adverse-Effect-Level (NOAEL) of twice weekly administration of somapacitan for male fertility in the Han Wistar rat was 4 mg/kg/occasion

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	1 mg/kg/occasion	2 mg/kg/occasion	4 mg/kg/occasion
Males				
No. Evaluated	22	22	22	22
Overall bodyweight gain (Days 1-53)	102	122*	135**	174**
Overall mean food consumption before pairing	22	24**	24**	26**
Sperm count estimates				
Category 1 (occasional sperm) or less	0	3	3	3
Absolute Organ weights				
Terminal Bodyweight (g)	394	416	426*	470**
Seminal Vesicles (g)	1.583	1.450	1.377*	1.399*
Organ weights (% to bodyweight)				
Epididymides	0.338	0.316	0.292**	0.274**
Prostate	0.216	0.212	0.185**	0.193**
Seminal Vesicles	0.406	0.355*	0.328**	0.298**
Testes	0.981	0.925	0.853**	0.799**
Macrosocpic findings (incidence)				
Prostate – pale areas	0	2	4	2
Adrenals - enlarged	0	3	6	7
Females				
No. Evaluated	22	22	22	22
No. Pregnant	22	21	21	21
Mean No. Resorptions	0.8	0.7	0.7	0.8
Mean No. Live embryos	11.7	11.0	11.0	11.5

2.6.7.12.B　雌性 Wistar Hannover 系ラットを用いた受胎能に関する試験（212412）

Report Title: Study for effects on fertility and early embryonic development in the female Han Wistar rat by subcutaneous administration

Study ID: 212412

Design similar to ICH S5 Paragraph 4.1.1: Yes		**Location in CTD:** 4.2.3.5.1-2
Species/Strain: Rat / Han Wistar	**Duration of Dosing: F:** Twice weekly for 2 weeks before pairing, during pairing and on Days 0, 4 and 7 after mating.	
	Day of Mating: Day 0	**GLP Compliance:** Yes
Initial Age: 64 to 70 days	**Day of C-Section**: Day 14	
Date of First Dose: 08 January 2013	**Method of Administration:** Subcutaneous injection	
	Vehicle/Formulation: 0.68 mg/mL histidine, 3 mg/mL polyoxyethylene (160) polyoxypropylene (30) glycol, 44 mg/mL mannitol and 3 mg/mL phenol at pH 6.5	

Parameters collected: Clinical and Necropsy Observations, Body Weight, Food Consumption, Oestrous cycles, Pre-coital interval incidences (and %), No. achieving pregnancy, percentage mating (%), conception rate (%), Fertility index (%), numbers of copulation plugs at mating, sperm count estimates, Mean No. Corpora Lutea, Implantations, live embryos, Mean % Preimplantation Loss, Mean No. Resorptions, Mean % Post implantation Loss

Special Features: Twice weekly dosing

No Observed Adverse-Effect Level for F0 Females: NOAEL = 4 mg/kg twice weekly

Brief conclusion:

Treatment at all dose levels elicited increased bodyweight gain and food consumption at all dose levels which were considered to be related to the pharmacological action of the test material. Mating performance, fertility and litter size were unaffected by treatment with somapacitan at dose levels up to 4 mg/kg/occasion.
The number of females with irregular oestrous cycles was higher in treated groups than in Controls. The incidence of shortened and extended cycles was also increased at all dose levels compared with Controls. In addition, the incidence of cycles of between 6 to 10 days in length was increased at 2 or 4 mg/kg/occasion. Numbers of copulation plugs and sperm count estimates at mating were also lower in treated groups than in Controls. These findings suggest that the receptivity of some treated females to their untreated stock male partners at the time of mating had been altered by treatment. However, there was no obvious correlation in the 4 mg/kg/occasion group between the length of the last oestrus cycle shown by a female and the number of copulation plugs and sperm count estimate at mating.

Since mating performance, fertility and litter size of females was clearly unaffected by treatment at all dose levels investigated, these effects on oestrous cycles, sperm count estimates and numbers of copulation plugs are considered not to represent an adverse effect of treatment within the context of this study.

Based on the results of this study it was concluded that the No-Adverse-Effect-Level (NOAEL) for twice weekly administration of somapacitan for female mating performance, fertility and early embryonic survival and development in the Han Wistar rat was 4 mg/kg/occasion.

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	1 mg/kg/occasion	2 mg/kg/occasion	4 mg/kg/occasion
Females				
No. Evaluated	22	22	22	22
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Overall group mean pre-pairing bodyweight gain (g) (Days 1-15)	28	35**	42**	49**
Gestation group mean bodyweight gain (g):				
Days 0-4	17	14	15	13*
Days 4-7	8	11*	11*	12**
Days 7-14	26	30*	30**	31**
Overall mean food consumption before pairing (g/animals)				
Days 1-7	17	17	18*	18**
Days 8-14	17	17	19**	19**
Days 1-14	17	17	18**	19**
Gestation food consumption (g/animal)				
Days 0-6	20	21	23**	24**
Days 7-13	22	23	25**	26**
Days 0-13	21	22	24**	25**
Oestrous cycles				
No. females with irregular cycle (2, 3 or 6-10 days)	0	2	11	14
Incidence of 3-day cycles	0	1*	4**	10**
No. of females with at least one 3-day cycle	0	1	4	8
Incidence of 5-day cycles	2	16*	12**	17**
No. females with at least one 5-day cycle	2	13*	12**	12**
Incidence of 6-10-day cycles	1	1*	10**	16**
No. females with at least one 6-10-day cycle	1	1	8	12
Incidence of copulation plugs at mating:				
3 or fewer	0	2	7	6
4-6	18	16	14**	13*

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	1 mg/kg/occasion	2 mg/kg/occasion	4 mg/kg/occasion
Sperm count estimates				
Category 2 (continuous few sperm) or less	5	9	8	9
No. pregnant	22	21	22	20
Mean No. corpora lutea	13.1	14.2	14.0	14.6
Mean No. implantations	12.1	13.0	12.9	13.1
Mean No. Live embryos	11.3	12.5	11.1	11.9
Mean No. Early Resorptions	0.7	0.6	1.7	1.2
Mean % post-implantation loss	7.6	4.6	12.3	9.7

* - $p<0.05$ ** - $p<0.01$

2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児の発生に関する試験

Test article: somapacitan

2.6.7.13.A Wistar Hannover 系ラットを用いた胚・胎児の発生に関する試験（212178）

Report Title: Study for effects on embryo-fetal development in the Han Wistar rat by subcutaneous administration

Study ID: 212178

Design similar to ICH S5 Paragraph 4.1.3: Yes		**Location in CTD:** 4.2.3.5.2-3
Species/Strain: Rat RccHan;Wist	**Duration of Dosing: F**: Days 6-9, 10-13 OR 14-17 after mating	
	Day of Mating: Day 0	
Initial Age: 76 - 82 days of age	**Day of C-Section**: Day 20 pc	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: 21 Aug 2012	**Method of Administration**: Subcutaneous Adm.	
	Vehicle/Formulation: 0.68 mg/mL histidine, 3 mg/mL polyoxyethylene (160) polyoxypropylene (30) glycol, 44 mg/mL mannitol, 3 mg/mL phenol (pH = 6.5)	

Parameters collected:

Dams: Clinical Observations, Necropsy Observations, Body Weight and Body Weight Gain (%[a]), Food Consumption and Increased Food Consumption (%[a]), Gravid uterine weight, Mean No. Corpora Lutea, Mean No. Implantations, Mean % Preimplantation Loss

Litter: Mean % Postimplantation Loss, Mean Foetal Body Weight (g), Foetal Sex Ratios, Foetal Anomalies, Gross External, Visceral Anomalies, Skeletal abnormalities and variants, Total Affected Foetuses (Litters)

Special Features: Toxicokinetic analysis and IGF-I analysis included. Previous toxicokinetic results indicate that clearance of somapacitan rapidly increases around day 4-6 of treatment, possibly due to formation of anti-somapacitan antibodies. To ensure adequate exposure throughout organogenesis, a split-dose design was employed so that no animal was dosed for more than 4 days. Cohort 1 (20 females per group) dosed on Days 6-9 after mating, Cohort 2 (20 females per group) dosed on Days 10-13 after mating, Cohort 3 (20 females per group) dosed on Days 14-17 after mating.

No Observed Adverse-Effect Level

F0 Females: NOAEL 18 mg/kg/day

F1 Litters: NOAEL 6 mg/kg/day

Brief conclusion: The foetal findings relating to short/bent/thickened long bones and medially thickened/kinked ribs were considered to be part of a syndrome characteristic of this strain of rat, and it is considered that treatment with somapacitan may have exacerbated this finding via non-specific, and possibly stress-related, toxicity rather than a primary teratogenic effect. Based on the results of this study it was concluded that the No-Adverse-Effect-Level (NOAEL) of somapacitan for maternal toxicity was 18 mg/kg/day, whilst the NOAEL for embryo-foetal development was 6 mg/kg/day, when administered during organogenesis.

Dose (mg/kg/occasion)	0 (Control)	2 mg/kg/occasion	6 mg/kg/occasion	18 mg/kg/occasion
Dams				
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr × ng/mL) Day 6	-	40,400	248,000	793,000
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr × ng/mL) Day 9	-	9,890 ($AUC_{0\text{-}12hr}$)	51,000	668,000
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr × ng/mL) Day 10	-	61,600	251,000	884,000
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr × ng/mL) Day 13	-	10,900	93,000	782,000
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr × ng/mL) Day 14	-	26,600	163,000	588,000
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr × ng/mL) Day 17	-	19,100	106,000	655,000
Total IGF-I level (ng/mL): Day 6	1590	1290	1440	1770
Total IGF-I level (ng/mL): Day 9	1550	2120	3070	3110
Total IGF-I level (ng/mL): Day 10	1410	1240	1540	1570
Total IGF-I level (ng/mL): Day 13	1110	1710	2250	2370
Total IGF-I level (ng/mL): Day 14	720	648	809	665
Total IGF-I level (ng/mL): Day 17	475	1030	1250	1310
No. Pregnant	59	59	58	60
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
No. with Total Resorption of Litter	0	1	1	0
Mean Body weight change				
Cohort 1 Days 6-10(g)	16	27**	38**	41**
Cohort 1 Days 6-10[a](%)		+ 69 **	+ 138 **	+ 156 **
Cohort 2 Days 10-14(g)	15	38**	42**	41**
Cohort 2 Days 10-14[a](%)		+ 153 **	+ 180 **	+ 173 **
Cohort 3 Days 14-18(g)	34	52**	55**	56**
Cohort 3 Days 14-18[a](%)		+ 53 **	+ 62 **	+ 65 **
Cohort 2 Days 14-20(g)	59	55	50*	51*
Enlarged spleen at macroscopic exam. (No. females affected)				
Cohort 1 (dosed Days 6-9)	0	0	1	0
Cohort 2 (dosed Days 10-13)	0	0	0	0
Cohort 3 (dosed Days 14-17)	0	1	5	6

Dose (mg/kg/occasion)	0 (Control)	2 mg/kg/occasion	6 mg/kg/occasion	18 mg/kg/occasion
Litters:				
No. Litters Evaluated				
Cohort 1 (dosed Days 6-9)	20	19	19	20
Cohort 2 (dosed Days 10-13)	20	19	19	20
Cohort 3 (dosed Days 14-17)	19	20	19	20
Mean No. Live Fetuses				
Cohort 1 (dosed Days 6-9)	11.0	10.6	11.2	11.8
Cohort 2 (dosed Days 10-13)	11.5	11.4	11.1	10.7
Cohort 3 (dosed Days 14-17)	11.4	11.1	10.5	11.0
Mean No. Resorptions				
Cohort 1 (dosed Days 6-9)	1.0	0.7	0.7	1.0
Cohort 2 (dosed Days 10-13)	0.9	0.7	1.0	1.0
Cohort 3 (dosed Days 14-17)	0.6	0.5	1.5	0.6
Mean fetal weights				
Cohort 2 (dosed Days 10-13) male weight	3.54	3.71	3.71	3.74*
Cohort 2 (dosed Days 10-13) female weight	3.38	3.59 *	3.54 *	3.57 *
Cohort 2 (dosed Days 10-13) overall fetal weight	3.47	3.67 *	3.63 *	3.67 *
Detailed fetal examinations				
No. fetuses (litters) affected				
Short/bent/thickened long bones				
Cohort 1 (dosed Days 6-9)	0	0	0	0
Cohort 2 (dosed Days 10-13)	1 (1)	0	0	10 (5)
Cohort 3 (dosed Days 14-17)	0	0	1 (1)	2 (2)
Medially thickened/kinked ribs				
Cohort 1 (dosed Days 6-9)	5 (4)	0	2 (2)	1 (1)
Cohort 2 (dosed Days 10-13)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	14 (8)
Cohort 3 (dosed Days 14-17)	3 (3)	0	2 (2)	20 (10)

* - $p<0.05$ ** - $p<0.01$

[a]Bodyweights and food consumption: Group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown as well. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.13.B　ニュージーランドホワイト種ウサギを用いた胚・胎児の発生に関する試験（212177）

Report Title: Study for effects on embryo-fetal development in the New Zealand White rabbit by subcutaneous administration

Study ID: 212177

Design similar to ICH S5 Paragraph 4.1.3: Yes		**Location in CTD:** 4.2.3.5.2-4
Species/Strain: Rabbit New Zealand White	**Duration of Dosing: F**: Days 6, 8, 10, 12, 14, 16 and 18 after mating	
	Day of Mating: Day 0	
Initial Age: 18 - 26 weeks	**Day of C-Section**: Day 29	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: 9 September 2012	**Method of Administration**: Subcutaneous Adm.	
	Vehicle/Formulation: 0.68 mg/mL histidine, 3 mg/mL polyoxyethylene (160) polyoxypropylene (30) glycol, 44 mg/mL mannitol, 3 mg/mL phenol, pH = 6.5.	

Parameters collected: Dams: Clinical Observations, Necropsy Observations, Body Weight, Food Consumption, Gravid uterine weight, Mean No. Corpora Lutea, Mean No. Implantations, Mean % Preimplantation Loss

Litter: Mean % Postimplantation Loss, Mean Foetal Body Weight (g), Foetal Sex Ratios, Foetal Anomalies, Gross External, Visceral Anomalies, Skeletal abnormalities and variants, Total Affected Foetuses (Litters)

Special Features: Dosing once every 2 days from Days 6-18 of gestation. Toxicokinetic analysis and IGF-I analysis included.

No Observed Adverse-Effect Level

F0 Females: NOAEL - 9 mg/kg/occasion

Fetuses: NOAEL for embryo-foetal survival and morphological development – 9 mg/kg/occasion
NOAEL for foetal growth – 1 mg/kg/occasion

Brief conclusion: No maternal toxicity and no effect on embryo-foetal survival and morphological development were observed.The No-Adverse-Effect-Level (NOAEL) for maternal toxicity and embryo-foetal survival and morphological development was 9 mg/kg/day, when somapacitan is administered once every two days during the period of organogenesis in the female rabbit. Due to decreased foetal weight the NOAEL for foetal growth was 1 mg/kg/occasion.

Dose (mg/kg/occasion)	0 (Control)	1 mg/kg/occasion	3 mg/kg/occasion	9 mg/kg/occasion
Dams				
C_{12hr} (ng/mL) Day 6	-	2,560	12,700	40,400
C_{12hr} (ng/mL) Day 18	-	834	3,560	54,900
Total IGF-I level (ng/mL): Day 6	173	175	174	203
Total IGF-I level (ng/mL): Day 18	150	181	351	409
No. Pregnant	20	21	18	21
No. Aborted (AB) or with Total Resorption of Litter (R)	-	1 (AB)	1 (AB)	1 (R)
Mean Body weight Change				
Days 6-19(kg)[a]	0.10	0.11	0.21*	0.21*
Days 6-19 (%)[a]		+ 10	+ 110 *	+110 *
Days 19-29 (kg)[a]	0.20	0.17	0.04**	0.08**
Days 19-29 (%)[a]		- 15	- 80 **	- 60 **
Mean Food Comsumption				
Mean food consumption (g)Day 1	127	120	136	115
Mean food consumption (%)Day 1[a]		-6	+ 7	-9
Mean food consumption (g)Day 14	103	59**	104	119
Mean food consumption (%)Day 14[a]		- 43 **	- 9	+ 116
Mean food consumption (g) Day 15	107	60**	97	126
Mean food consumption (%) Day 15[a]		- 44 **	- 20	+ 18
Mean food consumption (g) Day 16	105	64**	84	132*
Mean food consumption (%) Day 16[a]		- 39 **	- 29	+ 26 *
Mean food consumption (g) Day 22	105	100	75*	80**
Mean food consumption (%) Day 22[a]		- 5	-28*	- 24 **
Mean food consumption (g) Day 23	103	102	71**	78**
Mean food consumption (%) Day 23[a]		- 1	- 31**	- 26 **
Mean food consumption (g) Day 24	103	107	71**	76**
Mean food consumption (%) Day 24[a]		+ 4	- 31 **	- 24 **

Dose (mg/kg/occasion)	0 (Control)	1 mg/kg/occasion	3 mg/kg/occasion	9 mg/kg/occasion
Litters:				
No. Litters Evaluated	20	20	17	20
Mean No. Live Foetuses	7.2	7.6	7.9	7.1
Foetal weight				
Mean male foetal weight	48.8	45.2 *	42.7 **	42.8 **
Mean female foetal weight	47.0	43.6 *	41.4 **	40.9 **
Mean overall foetal weight	48.1	44.4 **	42.5 **	42.0 **
Mean placental weight	5.8	5.5	5.4	5.0 **
Mean litter weight	338.4	331.4	333.0	295.6
Skeletal abnormalities				
Incomplete ossified/unossified metacarpals/ phalanges: no fetuses affected (litters)	0 (0)	5(4)	9(5)	16(9)

* - $p<0.05$ ** - $p<0.01$

[a]Bodyweights and food consumption: For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生ならびに母体の機能に関する試験

Test article: somapacitan

Report Title: Study for effects on pre- and postnatal development in the Han Wistar rat by twice weekly subcutaneous administration

Study ID: 214469

Design similar to ICH S5 Paragraph 4.1.2: Yes		**Location in CTD:** 4.2.3.5.3-2
Species/Strain: Rat, Han Wistar	**Duration of Dosing**: Twice weekly, GD6, 9, 13, 16, 20 and LD1, 4, 8, 11, 15 and 18	
	Day of Mating: Day 0	
Initial Age: 76-83 days at GD0	**Method of Administration**: Subcutaneous injection	**GLP Compliance:** Yes
Date of First Dose: 21 Apr 2015	**Vehicle/Formulation:** 0.68 mg/mL histidine, 1 mg/mL polyoxyethylene (160) polyoxypropylene (30) glycol, 44 mg/mL mannitol and 4 mg/mL phenol (pH 6.8)	
	Litters Culled/Not Culled: Culled	

Special Features: Toxicokinetics from F0 females GD6 and 16, LD8 and 21, and from F1 offspring on PND4 and 21.

No Observed Adverse-Effect Level
F0 Females: 18 mg/kg/occasion
F1 Males: 18 mg/kg/occasion
F1 Females: 18 mg/kg/occasion

Brief conclusion: Twice weekly subcutaneous injection administration of somapacitan to female Han Wistar rats on Days 6, 9, 13, 16 and 20 after mating and Days 1, 4, 8, 11, 15 and 18 of lactation, at doses of 4, 9 or 18 mg/kg/occasion, was generally well tolerated, and elicited expected effects upon body weight performance and food consumption due to the pharmacological action of the test material at all dose levels investigated. It is concluded that a dose level of 18 mg/kg/occasion is the NOAEL for pre- and post-natal development of the offspring of Han Wistar rats, and is the NOAEL for maternal toxicity.

Daily Dose (mg/kg)		**0 (Control)**	**4 mg/kg/occasion**	**9 mg/kg/occasion**	**18 mg/kg/occasion**
F0 Females:	**Toxicokinetics:**				
	AUC_{last} (hr × ng/mL) GD6	-	157,000	617,000	1,450,000
	AUC_{last} (hr × ng/mL) GD16	-	61,400	368,000	846,000
	AUC_{last} (hr × ng/mL) LD8	-	68,000	252,000	1,210,000
	No. Pregnant	22	22	22	22
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	1

Daily Dose (mg/kg)	0 (Control)	4 mg/kg/occasion	9 mg/kg/occasion	18 mg/kg/occasion
Gestation Body Weight				
Gestational body weight (g) GD6-20	78	105**	115**	119**
Gestational body weight (%) GD6-20[a]		+35**	+47**	+53**
Lactation Body Weight (LD)				
LD1-4 (g)	8	8	12	15**
LD1-4(%)[a]		0	+50	+88**
LD8-11(g)	8	15**	14**	21**
LD8-11(%)[a]		+88**	+75**	+163**
LD11-15 (g)	7	14	18**	17**
LD11-15 (%)[a]		+100	+157**	+143**
LD15-18 (g)	7	12	15*	16**
LD15-18(%)[a]		+71	+114*	+129**
LD1-21(g)	37	59**	66**	74**
LD1-21(%)[a]		+59**	+78**	+100**
Gestation Food Consumption				
GD9-12 (g)	20	21	21*	22*
GD9-12 (%[a])		+5	+5*	+10*
GD13-15 (g)	21	23*	24**	24**
GD13-15 (%[a])		+10*	+14**	+14**
GD16-19(g)	21	23*	23**	24**
GD16-19 (%[a])		+10*	+10**	+14**
Lactation Food Consumption				
LD1-3(g)	35	35	41	40*
LD1-3 (%[a])		0	+17	+14*
LD4-7(g)	42	46	48	49*
LD4-7 (%[a])		+10	+14	+17*
LD8-10 (g)	51	56	58*	63**
LD8-10 (%[a])		+10	+14*	+24**
LD11-14 (g)	56	66**	73**	76**
LD11-14 (%[a])		+18**	+30**	+36**
LD15-17 (g)	63	75**	82**	86**
LD15-17 (%[a])		+19**	+30**	+37**

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)	4 mg/kg/occasion	9 mg/kg/occasion	18 mg/kg/occasion
	LD18-20 (g)	65	77**	83**	87**
	LD18-20 (%[a])		+18**	+28**	+34**
	Gestation length – group incidence				
	22 days - No. animals (%)	6 (27)	14 (64)	9 (41)	4 (19)
	22.5 days - No. animals (%)	6 (27)	4 (18)	6 (27)	8 (38)
	23 days - No. animals (%)	9 (41)	4 (18)	7 (32)	9 (43)
	23.5 days - No. animals (%)	1 (5)	0	0	0
F1 Litters:	**No. Litters Evaluated**	22	22	22	21
(Pre-weaning)	**Mean No. of Implantations**	11.5	11.8	11.7	11.7
	Mean No. Pups/Litter	10.6	11.1	11.0	11.0
	Mean No. Liveborn Pups/Litter	10.6	11.1	11.0	10.7
	Live birth index (Total/Live Day 1)	100	100	100	97.5*
	Postnatal Survival to Day 4 (%)	99.1	99.6	99.5	99.4
	Postnatal Survival to Weaning (%)	99.4	100	98.9	99.4
	No. of Total Litter Losses	0	0	0	0
	Pup body weight on Day 1 (g)				
	Males	6.4	6.3	6.5	6.7
	Females	6.1	6.0	6.1	6.3
	Change in Pup Body Weights				
	Males Days 1-21 (g)	39.5	44.4**	48.2**	48.9**
	Males Days 1-21 (%[a])		+12**	+22**	+24**
	Females Days 1-21(g)	38.6	43.2**	45.9**	47.3**
	Females Days 1-21(%[a])		+12**	+19**	+23**
	Pup Necropsy Obs. (No. pups (litters) affected)				
	Unilateral/bilateral dilated renal pelvis	2 (2)	7 (5)	6 (4)	13 (8)
F1 Males:	**No. Evaluated Post-weaning**	20	20	20	20
(Post-weaning)	**No. Died or Sacrificed Moribund**	0	1	0	0
	Body weight Day 1 of the F1 generation (g)	81	83	87	88
	Body Weight Change				
	Days 1-71(g)	317	320	320	321
	Days 1-71 (%[a])		+1	+1	+1

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)	4 mg/kg/occasion	9 mg/kg/occasion	18 mg/kg/occasion
	Balano Preputial Separation				
	Age at completion	45	45	45	45
	Body Weight at completion	185	191	196	199*
	Motor Activity – group mean scores				
	High beam breaks (Total)	99.2	100.3	103.0	114.8
	Low beam breaks (Total)	379.0	381.6	441.1	433.3
	Mean No. Days Prior to Mating (group incidence)				
	1-4 number	20	20	20	17
	5-8 number	0	0	0	2
	No. males paired for mating	20	20	20	19
	No. of Males that Mated	20	20	20	19
	No. of Fertile Males (no. achieving pregnancy)	20	19	17	19
F1 Females: (Postweaning)	**No. Evaluated Postweaning**	20	20	20	20
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	1
	Premating Body-Weight Change				
	Premature Body-Weight Change (g)	131	130	136	131
	Premating Body-Weight Change (%[a])		-1	+4	0
	Gestation Body-Weight Change				
	Gestation Body-Weight Change (g)	49	47	51	47
	Gestation Body-Weight Change (%[a])		-4	+4	-4
	Vaginal opening				
	Age at completion	34	34	34	33
	Body Weight at completion	102	103	107	104
	Motor Activity – group mean scores				
	High beam breaks (Total)	105.8	93.3	108.1	110.3
	Low beam breaks (at 6 minutes)	110.9	114.2	138.1	148.5*
	Low beam breaks (Total)	373.4	351.8	382.8	427.8
	Oestrous cycle length (no. animals)				
	4-day	19	18	19	15
	4/5-day	1	2	1	2
	Acyclic	0	0	0	2

Daily Dose (mg/kg)		0 (Control)	4 mg/kg/occasion	9 mg/kg/occasion	18 mg/kg/occasion
	Mean No. Days Prior to Mating (group incidence)				
	1-4 number	20	20	20	17
	5-8 number	0	0	0	2
	No. of Females Sperm-Positive	20	20	20	19
	No. of Pregnant Females	20	19	17	19
	Mean No. Corpora Lutea	12.8	12.8	13.5	13.2
	Mean No. Implantations	11.3	11.3	12.8	12.3
	Mean % Preimplantation Loss	10.6	11.4	5.3	7.1
F2 Litters:	**Mean No. Live Conceptuses/Litter**	10.4	10.4	12.3	11.3
	Mean No. Resorptions	0.9	0.9	0.5	1.0
	Mean % Postimplantation Loss	7.6	7.0	4.3	8.4

* - $p<0.05$ ** - $p<0.01$.

[a]For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

G = gestation day; L = lactation day.

2.6.7.15 幼若動物を用いた試験

Test article: somapacitan

No studies performed - rationale provided in Nonclinical Summary 2.6.6.6.4.

2.6.7.16 局所刺激性

Test article: somapacitan

Species/ Strain	Method of administration	Doses	Gender and no. per group	Noteworthy findings	Study ID
Rat/WIST (Han)	s.c.	0, 0.4, 2, 9	10M+10F	The injection site reactions were mild and similar between treated animals and vehicle controls. The injections with the test item were well tolerated.	210472
Rat/WIST (Han)	s.c.	0, 0.4, 2, 9	10M+10F	Collagen and fibroblasts were increased at the treated injection sites due to the pharmacological effect of somapacitan. Subcutaneous inflammatory cell infiltrate was seen at a notably higher incidence in animals treated with 9 mg/kg/day. In conclusion, the injections with the test item were well tolerated.	211355
Rat/WIST (Han)	s.c.	0, 1, 2, 4	20M+20F	Collagen and fibroblasts were increased at the treated injection sites due to the pharmacological effect of somapacitan.	212304
Monkey/Cynomolgus	s.c.	0, 0.4, 2, 9	3M+3F	No treatment-related changes at the injection sites.	210470
Monkey/Cynomolgus	s.c.	0, 0.4, 2, 9	3M+3F	No treatment-related changes at the injection sites.	210471
Monkey/Cynomolgus	s.c.	0, 0.4, 2, 9	3M+3F	Treatment-related degenerative and inflammatory changes of mild severity at the treated sites, indicating that somapacitan was mildly irritating. Since the changes were mild and showed full recovery after six weeks off-treatment, they were considered not adverse.	212203

Species/ Strain	Method of administration	Doses	Gender and no. per group	Noteworthy findings	Study ID
Adult New Zealand White rabbits from Charles River Deutschland GmbH	Intramuscular, intravenous and intraarterial injection	12 mg/rabbit. The dose volume was 1.2 mL of the test item or 0.9% sodium chloride per injection site for all groups	Female 4 animals/group	The injections with the test item were well tolerated, comparable to injections with 0.9% sodium chloride, and showed no potential for local irritation 4 days after dosing.	215150

2.6.7.17 その他の毒性試験

Test article: somapacitan

Study	Species/strain	Route of administration	Doses (mg/kg)	Gender and no. per group	Noteworthy findings	Study ID
Quantification of Ki67 positive cells in cynomolgus monkey liver tissue dosed 13 weeks from Study 210471	Cynomolgus monkey	s.c.	0.4, 2, 9	3M+3F	Treatment showed no increase in the hepatocyte proliferation Labelling Index (LI) compared to the vehicle control group.	211425
Quantification of Ki67 positive cells in cynomolgus monkey liver tissue dosed 26 weeks from Study 212203	Cynomolgus monkey	s.c.	0.4, 2, 9	3M+3F	Treatment showed no increase in the hepatocyte proliferation LI compared to the vehicle control group.	213066