2.6.1 緒言

目次

2.6.1　緒言 3
2.6.1.1　構造、主薬理作用、及び非臨床試験プログラム 3
2.6.1.2　申請効能又は効果、用法及び用量 6

表の目次

表 2.6.1- 1　FE 999049 の分子式及び分子量 4

図の目次

図 2.6.1- 1　FE 999049 のアミノ酸配列及び主な糖鎖の推定構造 3

2.6.1　緒言

2.6.1.1　構造、主薬理作用、及び非臨床試験プログラム

FE 999049 は、ヒト由来宿主細胞株（ヒト胚性網膜芽細胞）で発現させた遺伝子組換えヒト卵胞刺激ホルモン（rFSH）である。FE 999049 は一つの α サブユニットと一つの β サブユニットからなるヘテロ二量体であり、92 及び 111 個のアミノ酸残基からなる糖タンパク質（分子量：約 34,000）である（表 2.6.1- 1）。FE 999049 のアミノ酸配列は精製卵胞刺激ホルモン（FSH）製剤及び市販の rFSH 製剤と同一である（図 2.6.1- 1）。

α サブユニット

```
APDVQDCPEC TLQENPFFSQ PGAPILQCMG CCFSRAYPTP LRSKKTMLVQ
KNVTSESTCC VAKSYNRVTV MGGFKVENHT ACHCSTCYYH KS
```

β サブユニット

```
NSCELTNITI AIEKEECRFC ISINTTWCAG YCYTRDLVYK DPARPKIQKT
CTFKELVYET VRVPGCAHHA DSLYTYPVAT QCHCGKCDSD STDCTVRGLG
PSYCSFGEMK E
```

α サブユニット N52，N78，β サブユニット N7，N24：糖鎖結合

主な糖鎖の推定構造：

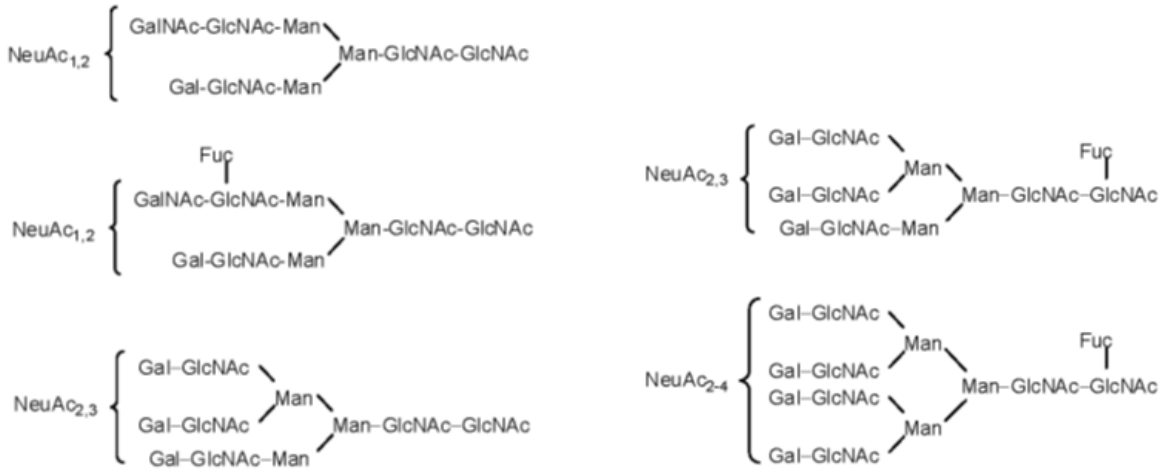


図 2.6.1- 1　FE 999049 のアミノ酸配列及び主な糖鎖の推定構造

表 2.6.1- 1　FE 999049 の分子式及び分子量

	分子式	分子量
FE 999049	$C_{975}H_{1493}N_{267}O_{305}S_{26}$	22,668.58（タンパク質部分、二量体）
α サブユニット	$C_{437}H_{672}N_{122}O_{134}S_{13}$	10,195.59
β サブユニット	$C_{538}H_{821}N_{145}O_{171}S_{13}$	12,472.99

既に承認されているゴナールエフなどの rFSH 製剤は、チャイニーズハムスター卵巣細胞株由来製剤である。FE 999049 の主作用はチャイニーズハムスター卵巣細胞株由来 FSH 製剤とほとんど差はないが、臨床試験では排泄すなわち薬物動態は 2 種類の FSH 間に明らかな差が認められる。この FE 999049 とゴナールエフの間の薬物動態における差異は糖鎖構造の違いによると考えられる。

FE 999049 は女性を対象とした「生殖補助医療における調節卵巣刺激」を効能・効果として開発されている。治療用量は個人によって異なるが、1 日用量 12 µg を超えない。体重 60 kg の女性で最大 1 日用量は 0.2 µg/kg に相当する。治療周期の最大期間は 20 日間である。

FSH は卵巣及び精巣に対して直接的な配偶子形成作用を有する。卵巣での FSH は発育卵胞数を増加させ、卵胞発育を促進する。FSH は莢膜細胞で生じるアンドロゲンを芳香化することによって顆粒膜細胞のエストラジオール産生を増加させる。FSH の薬理作用は一般によく知られていることから、効力を裏付ける試験は少数の試験のみを実施した。副次的薬理試験は実施しなかった。安全性薬理試験は hERG 試験、ラット Irwin 試験、覚醒ラットでの呼吸試験、及びテレメトリー送信器を埋め込んだ覚醒カニクイザルでの心血管試験を実施した。さらに、効力を裏付ける薬理試験及び FSH の代謝について文献調査した。主要な文献情報は各 CTD 項に記載した。

FE 999049 は女性適応のみで開発を進めてきたが、*in vivo* の安全性試験は、ラットを用いた主要な生殖試験を除いて、女性で観察されうる結果の解釈を助けるために雌雄動物を用いて実施した。ラットを用いた単回投与による薬物動態試験を実施した。トキシコキネティックスは安全性プログラムに組み入れて実施した。これ以外の薬物動態試験は、FSH の代謝が文献報告などでよく知られていることから不要と考え、実施しなかった。

マウス及びラットを用いた単回投与試験は、静脈内及び皮下投与で実施した。生殖周期がヒトと類似するカニクイザルを非げっ歯類の反復投与毒性試験動物種として選択した。反復投与試験は、臨床の予定投与経路である皮下投与で実施した。これには、ラット用量設定試験、カニクイザル最大耐量試験、ラット及びカニクイザルの 4 週間反復投与毒性及び 4 週間回復性試験が含まれる。その他に、ラット受胎能及び初期胚発生試験、ウサギ局所刺激性試験、並びにラット中和抗体産生試験を実施した。

被験物質の性質及び効能・効果に基づき、毒性プログラムに 4 週間を超える反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験、胚胎児発生試験、並びに出生前及び出生後の発育試験は含まれていない。4

週間を超える反復投与試験は、強力な抗薬物抗体反応により、毒性試験に用いる動物での曝露を長期間一定に保つことができなくなるため、不適切と判断した。

FE 999049 は、0.005 mg/mL ポリソルベート 20、0.5 mg/mL L-メチオニン、及び 8.3 mg/mL 塩化ナトリウムを含有する 10 mM クエン酸ナトリウム緩衝液（pH 6.5）を用いて 282 µg/mL に調製した凍結溶液（−20℃）として毒性及び安全性薬理試験に提供された。FE 999049 製剤の最終規格には賦形剤として、フェノール 5 mg/mL、ポリソルベート 20 0.005 mg/mL、L-メチオニン 1.0 mg/mL、硫酸ナトリウム十水和物 14 mg/mL、リン酸水素二ナトリウム十二水和物 1 mM、及び注射用水が含まれる。また、pH 調整剤としてリン酸及び／又は水酸化ナトリウムを用いた。硫酸ナトリウムは日本では経口剤の医薬品の添加物として使用実績があるものの（無水和物として一日最大 51.2 mg）（医薬品添加物事典）、レコベル皮下注ペン製剤の投与経路である皮下注を含む注射剤の添加物としての実績はない。今回、レコベル皮下注ペン製剤の投与経路である皮下投与における硫酸ナトリウムの安全性評価を行い、FE 999049 の製造販売承認申請と同時に医薬品新添加物の審査資料も併せて提出する［1.13.4.1.2］。硫酸ナトリウムの安全性評価は、文献あるいは公的機関からの報告などの毒性情報に基づき行った。安全性薬理試験及び毒性試験に用いた FE 999049 の全てのバッチを［2.6.7.4］に示す。

雌ラットのバイオアッセイに基づく国際単位（IU）を用いた古典的な力価測定は FE 999049 には不適切であることが開発中に明らかになった。そこで、FE 999049 の製造及び投与は重量換算で実施した。非臨床試験の大半の報告書では FE 999049 の投与量が IU/kg 及び IU/mL に基づく力価として記載されており、投与量もこれらの単位に基づいて設定されている。しかし、バッチの特性には IU/mL 及び µg protein/mL の両方の濃度情報が含まれるため、全ての試験で µg protein/kg に換算した投与量の計算が可能である。毒性試験：一覧表［2.6.7.1］及び薬理試験：一覧表［2.6.3.1］では、投与量は IU/kg 及び µg/kg の両方を併記した。それ以外の全ての非臨床試験の記載は、µg/kg に基づいた投与量とした。

ラットを用いた中和抗体産生試験を除いて、全ての安全性薬理試験及び毒性試験は GLP に準拠して実施した。

2.6.1.2　申請効能又は効果、用法及び用量

申請品目

販売名：　レコベル®皮下注 12μg ペン
レコベル®皮下注 36μg ペン
レコベル®皮下注 72μg ペン
一般名：　ホリトロピン　デルタ（遺伝子組換え）

効能又は効果（案）

生殖補助医療における調節卵巣刺激

用法及び用量（案）

通常、ホリトロピン　デルタ（遺伝子組換え）として、投与開始前の血清抗ミュラー管ホルモン（AMH）値及び体重に基づき、下表に従い算出した投与量を、月経周期 2 日目又は 3 日目から 1 日 1 回皮下投与し、卵胞が十分に発育するまで継続する。なお、下表に従い算出した投与量が 6 μg を下回る場合は 6 μg を、12 μg を上回る場合は 12 μg を、1 日あたりの投与量とする。

血清 AMH 値（pmol/L）	＜15	15～16	17	18	19～20	21～22	23～24	25～27	28～32	33～39	≧40
1 日あたりの投与量	12	0.19	0.18	0.17	0.16	0.15	0.14	0.13	0.12	0.11	0.10
	μg	μg/kg（体重）									

2.6.2 薬理試験の概要文

目次

2.6.2.1 まとめ 4

2.6.2.2 効力を裏付ける試験 5

2.6.2.2.1 FSH受容体の放射性リガンドを用いた結合試験［添付資料 4.2.1.1-1］ 5

2.6.2.2.2 FE 999049とゴナールエフの細胞を用いたアッセイによる効力比較［添付資料 4.2.1.1-2］ 8

2.6.2.2.3 FE 999049とゴナールエフによる排卵前卵胞から得たGCの刺激［添付資料4.2.1.1-3］ 8

2.6.2.3 副次的薬理試験 12

2.6.2.4 安全性薬理試験 12

2.6.2.4.1 HEK293細胞のhERGテール電流に対するFE 999049の作用［添付資料 4.2.1.3-1］ 12

2.6.2.4.2 ラットIrwin試験におけるFE 999049の作用［添付資料 4.2.1.3-2］ 12

2.6.2.4.3 覚醒ラットにおける呼吸数及び1回換気量に対するFE 999049の作用［添付資料 4.2.1.3-3］ 13

2.6.2.4.4 テレメトリー送信器埋め込み覚醒カニクイザルにおけるFE 999049の心血管作用［添付資料 4.2.1.3-4］ 14

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用 16

2.6.2.6 考察及び結論 16

2.6.2.7 図表 17

2.6.2.8 参考文献 18

表の目次

表 2.6.2- 1 2 つの rFSH 化合物のヒト受容体への特異的結合 8

表 2.6.2- 2 細胞を用いた *in vitro* 試験で評価した FE 999049 製剤及びゴナールエフの相対効力 8

表 2.6.2- 3 hERG 試験：hERG テール電流に対する溶媒、FE 999049 及び E-4031 の作用 12

表 2.6.2- 4 Irwin 試験：ラットにおける主な症状の頻度 13

表 2.6.2- 5 FE 999049 のラット呼吸に対する作用：呼吸数 14

表 2.6.2- 6 FE 999049 のラット呼吸に対する作用：一回換気量 14

表 2.6.2- 7 テレメトリー送信器埋め込み覚醒カニクイザルにおける心血管試験：雄性 15

表 2.6.2- 8 テレメトリー送信器埋め込み覚醒カニクイザルにおける心血管試験：雌性 15

図の目次

図 2.6.2- 1 [プロピオニル-^{3}H]-FE 999049 の K_D 及び最大結合量（B_{max}）の検討 6

図 2.6.2- 2 FE 999049 及びゴナールエフのヒト FSH 受容体に対する結合能 7

図 2.6.2- 3 FE 999049 又はゴナールエフで刺激した培養 GC でのプロゲステロン及びエストラジオール分泌 9

図 2.6.2- 4　FE 999049 又はゴナールエフで刺激した培養 GC でのインヒビン A 及びインヒビン B 分泌.....10
図 2.6.2- 5　FE 999049 又はゴナールエフで刺激した培養 GC でのインヒビン A、3β-HSD、及び CYP19A1 の遺伝子転写量.....11

略号一覧

略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
ART	Assisted reproductive technology	生殖補助医療
3ß-HSD	3-beta-hydroxysteroid dehydrogenase	3β-水酸化ステロイド脱水素酵素
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate	環状アデノシン一リン酸
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
C_{max}	Maximum concentration	最高血中薬物濃度
COS	Controlled ovarian stimulation	調節卵巣刺激
CYP19A1	Cytochrome P450 19A1	チトクローム P450 19A1
FSH	Follicle-stimulating hormone	卵胞刺激ホルモン
GC	Granulosa cells	顆粒膜細胞
HEK	Human embryonic kidney	ヒト胎児由来腎臓
hERG	Human ether-á-go-go-related gene	ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子
hFSH-R	Human FSH receptor	ヒト FSH 受容体
IC_{50}	Concentration needed to inhibit the receptor 50 percent	受容体を 50%阻害する濃度
IU	International units	国際単位
K_D	Dissociation constant	解離定数
K_i	Inhibition constant	阻害定数
MW	Molar weight	モル重量
NOEL	No observed effect level	無影響量
PLA	Parallel-line analysis	平行線定量法
rFSH	recombinant human follicle-stimulating hormone	遺伝子組換えヒト卵胞刺激ホルモン
T_{max}	Time to maximum observed blood concentration	最高血中濃度到達時間

2.6.2.1　　まとめ

FE 999049 は、ヒト由来の細胞株（ヒト胚性網膜芽細胞）で発現させた遺伝子組換えヒト卵胞刺激ホルモン（rFSH）であり、生殖補助医療（ART）を目的としてフェリング･ファーマ株式会社で開発されている。卵胞刺激ホルモン（FSH）の薬理作用は一般によく知られており、かつ文献(1)でも報告されていることから、効力を裏付ける試験は少数の試験のみを実施した。FE 999049 の副次的薬理試験は実施していない。安全性薬理試験にはコアバッテリー試験を実施した。

FE 999049 の同族受容体への親和性をラジオレセプターアッセイにより検討した。この試験に用いた膜受容体はヒト FSH 受容体（hFSH-R）が安定して発現しているヒト胎児由来腎臓（HEK）293 細胞から調製した。この膜受容体に対する親和性をホリトロピン　アルファ〔ゴナールエフ、Merck Serono（現メルクバイオファーマ株式会社）〕と同じ条件で比較した。両薬の阻害定数（K_i）値はほぼ一致し、FE 999049 の K_i 値と解離定数（K_D）値は同等であった。親和性の値は生理的受容体リガンドの範囲内であった。

FE 999049 のヒト受容体活性化能を hFSH-R を発現している遺伝子導入細胞（HEK293 細胞）を用い、環状アデノシン一リン酸（cAMP）産生を測定して、ゴナールエフと比較検討した。HEK293 細胞の cAMP 反応は用量依存的であった。両薬の比活性を平行線定量法を用いて解析したところ、差がなかった。

FE 999049 及びゴナールエフによるヒト顆粒膜細胞（GC）の FSH 受容体の機能的活性化を調節卵巣刺激（COS）で生じた細胞を用いて検討した。24 時間培養中のプロゲステロン、エストラジオール、インヒビン A、及びインヒビン B のホルモン分泌、並びに 3β-水酸化ステロイド脱水素酵素（3β-HSD）、チトクローム P450 19A1（CYP19A1）、及びインヒビン A の遺伝子転写量を比較検討した。プロゲステロン及びインヒビン A 分泌は有意な FSH 濃度依存性を示し、3β-HSD 及びインヒビン A の遺伝子発現も濃度依存的であった。測定したパラメータのいずれにも FE 999049 とゴナールエフの間に統計学的有意差はなかった。

ラット及びカニクイザルの反復投与試験の結果から、FE 999049 は卵胞成長促進作用やステロイド産生作用などの FSH によく知られている主要な作用を有していることが示された。

安全性薬理試験はヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子（hERG）試験、ラットでの Irwin 試験、覚醒ラットでの呼吸試験、及びテレメトリー送信器を埋め込んだ覚醒カニクイザルでの心血管試験を実施した。FE 999049 はこれら 4 試験で何ら作用を示さなかった。無影響量（NOEL）は、*in vivo* 試験では 52.2 μg/kg、hERG 試験で 0.313 μg/mL（名目濃度は 2.61 μg/mL）であり、これらはそれぞれ予想される治療用量（0.2 μg/kg、体重 60 kg で FE 999049 を 12 μg/day 投与した場合）の 261 倍及びその最高血中薬物濃度（C_{max}、約 0.411 ng/mL）の約 750 倍であった。

FE 999049 の薬力学的作用プロファイルは、予定される効能・効果に対する有効性及び安全性に関して最適であると考えられる。

2.6.2.2　　効力を裏付ける試験

FSH の主要な薬理作用は内分泌学の原著論文及び成書に詳しく記載されている。雄では、FSH はセトリ細胞に作用し、精子の成熟に必要なタンパク質及び栄養産生を促進し、間接的に生殖細胞の成熟を助ける。雌では、FSH は発達している卵胞の発育を促進し、莢膜細胞及び GC 上の黄体形成ホルモン受容体の発現を誘発する。また、FSH は GC のアロマターゼ活性を調節し、17β-エストラジオール産生を促進する。FSH は視床下部由来のゴナドトロピン放出ホルモンにより下垂体前葉から分泌される。インヒビン A 及びインヒビン B は負のフィードバック制御により下垂体に影響を及ぼし、FSH 分泌を抑制する(1)。FSH 分泌は負のフィードバック制御によりエストラジオールによっても抑制される(2)。主要な薬力学的作用は、ラット及びカニクイザルを用いた反復投与毒性試験で卵巣の絶対及び相対重量の著明な増加として発現した。また、毒性試験ではエストラジオール及びインヒビン B のホルモン濃度の増加並びにそれに伴う病理組織学的変化も見られた。さらに、被験物質の FSH 活性の生物検定法は幼若雌性ラットの卵巣重量に対する作用を検討する標準試験に基づいた［添付資料 3.2.S.4.4］。

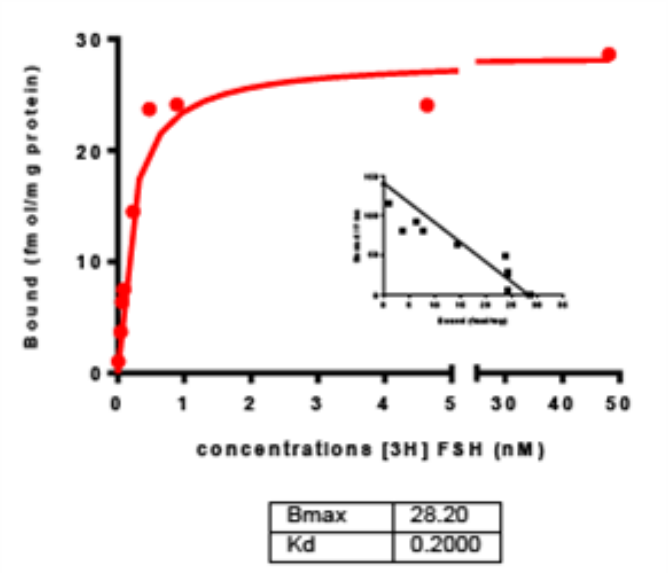
FE 999049 の基本的な FSH 受容体調節性作用をチャイニーズハムスター卵巣（CHO）由来の rFSH であるゴナールエフと比較検討した。

2.6.2.2.1　　FSH 受容体の放射性リガンドを用いた結合試験［添付資料 4.2.1.1-1］

FE 999049 の特異的親和性を検討し、CHO 細胞由来の市販製剤と比較するために受容体結合試験法を開発した。HEK293 細胞に安定して発現させた hFSH 受容体を用い、無細胞膜画分を調製した。放射性リガンドである[プロピオニル-^{3}H]-FE 999049 の 0.0009～48.1238 nM の 12 濃度と 180 µg の膜画分を 37°C で 1 時間培養した。非特異的結合は推定 K_D 値の 100 倍の濃度（0.5 µM）の非標識 FE 999049 で求めた。その結果、受容体は飽和し、[プロピオニル-^{3}H]-FE 999049 の K_D 値は 0.2 nM であった（図 2.6.2-1）。

この確立した試験法を用いて FE 999049 及びゴナールエフの置換能を検討した。[プロピオニル-^{3}H]-FE 999049 0.4 nM と FE 999049 の 10 濃度（10^{-14}～$5x10^{-7}$ M）又はゴナールエフの 8 濃度（$7.4x10^{-15}$～$1.5x10^{-8}$ M）を加えて 37°C で 1 時間培養した Ferring（HEK293）遺伝子組換え膜（180 µg）を 0.5%ウシ血清アルブミン溶液にあらかじめ浸した GF/B ユニフィルターでろ過し、特異的結合（%）を測定した。試験溶液濃度の計算には、以下のモル重量（MW）を用いた：FE 999049 MW=33000 g/mol 及びゴナールエフ MW=31000 g/mol。

その結果、両薬の K_i 値はほぼ一致し、FE 999049 の K_i 値と K_D 値は同等であった（図 2.6.2- 2、表 2.6.2-1）。これより、両薬は[プロピオニル-^{3}H]-FE 999049 結合に対して極めて類似した活性を有すると考えられた。



Bmax	28.20
Kd	0.2000

図 2.6.2- 1　　[プロピオニル-^{3}H]-FE 999049 の K_D 及び最大結合量（B_{max}）の検討

図中のプロットは 2 回の測定の平均値を示す。

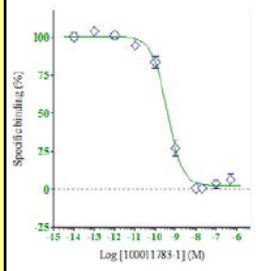
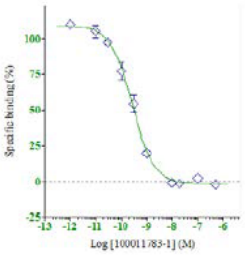
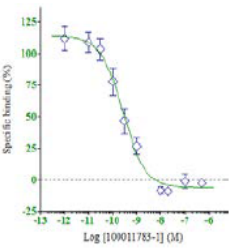
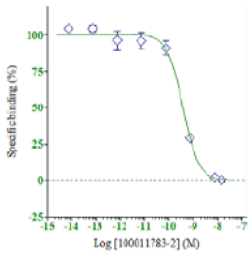
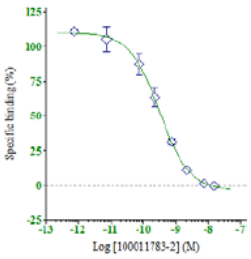
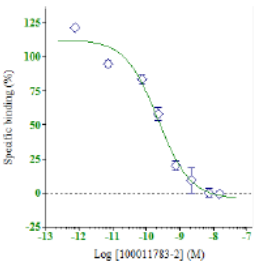
		exp 1	exp 2	exp 3	**mean**	sem
FE 999049 **100011783-1**						
	IC_{50} (M)	3.80E-10	2.70E-10	2.60E-10	**2.99E-10**	3.8E-11
	K_i (M)	1.27E-10	9.00E-11	8.67E-11	**9.96E-11**	1.3E-11
GONAL-F Follitropin alpha **100011783-2**						
	IC_{50} (M)	3.90E-10	3.20E-10	2.20E-10	**3.02E-10**	4.9E-11
	K_i (M)	1.30E-10	1.07E-10	7.33E-11	**1.01E-10**	1.6E-11
Z'		0.83	0.50	0.69	**0.67**	0.10
NS		50	57	120	**76**	22
T0		754	695	730	**726**	17
% NS		7%	8%	16%	**10%**	3%

図 2.6.2- 2　　FE 999049 及びゴナールエフのヒト FSH 受容体に対する結合能

SEM = standard error of the mean, IC_{50} = 50% inhibitory concentration, K_i = inhibition constant

表 2.6.2- 1　　2 つの rFSH 化合物のヒト受容体への特異的結合

	FE 999049	GONAL-F
K_D (nM)	0.400	Not done
K_i (nM)	0.0996	0.101

2.6.2.2.2　　FE 999049 とゴナールエフの細胞を用いたアッセイによる効力比較［添付資料 4.2.1.1-2］

この試験は FE 999049 製剤及びゴナールエフの効力を測定する目的で、FE 999049 製剤とゴナールエフの相対効力の差を明らかにするために検証された、*in vitro* の細胞を用いたアッセイにより行った［添付資料 3.2.S.4.3］。

FE 999049 及びゴナールエフは絶対質量に基づいて投与された。FSH が hFSH-R に結合すると、アデニル酸シクラーゼを活性化し、細胞内の cAMP 濃度が上昇する。相対効力は、細胞内に蓄積される cAMP を直接測定して得られる。このアッセイでは、hFSH-R を安定して発現させた HEK293 細胞培養液中に FE 999049 又はゴナールエフを添加して培養し、産生される cAMP 量を HitHunter® cAMP アッセイキットを用いて競合免疫測定法により測定した。両薬とも 6.45nM から 0.001691nM の 10 濃度を用いた。生データは対数変換し、平行線定量法（PLA 2.0 build 552 software、Stegmann Systems Germany）を用いて解析した。

その結果、FE 999049 製剤とゴナールエフの相対効力は同等であった（表 2.6.2- 2）。今回の試験結果から、両薬のタンパク質量が同じならば標的受容体で同等の刺激作用を示すと結論付けられた。

表 2.6.2- 2　　細胞を用いた *in vitro* 試験で評価した FE 999049 製剤及びゴナールエフの相対効力

Sample no.	Material ID	Batch or Lot No.	Manufacture	Relative potency	Confidence interval
1	GONAL-F	AU009535	Merck-Serono	89%	80%～99%
2	FE 999049	FSMB01/2	Ferring	85%	79%～92%
Acceptance criteria				80%～125%	-

値は 2 つの独立した実験結果の平均値を示す。

2.6.2.2.3　　FE 999049 とゴナールエフによる排卵前卵胞から得た GC の刺激［添付資料 4.2.1.1-3］

FE 999049 及びゴナールエフによるヒト GC の FSH 受容体の機能的活性化について比較検討した。IVF を受けている年齢 26～39 歳（平均 34.5±1.2 歳）の 13 名の女性をアゴニストロング法又は標準アンタゴニスト法で刺激し、ヒト絨毛性ゴナドトロピン（hCG）を投与して 36 時間後に卵胞を吸引した。吸引した卵胞より卵母細胞を分離後、GC を採取し、リンパ球分離溶液を用いて精製した。8 名から得られた GC を 48 時間培養後、FE 999049 又はゴナールエフを 4 濃度（0、1.1、11.1、27.7 ng/mL）添加して 24 時間培養し、培養液中でのプロゲステロン、エストラジオール、インヒビン A、及びインヒビン B の分泌、並びに 3β-HSD、CYP19A1、及びインヒビン A の遺伝子転写量の増加を比較検討した。プロゲステロン、エストラジオール、インヒビン A、及びインヒビン B は市販の酵素免疫測定法キットを用いて測定した。また、CYP19A1、3β-HSD、及びインヒビン A の遺伝子転写量は融解した GC より mRNA を精製し、1st strand cDNA を合成後、定量的リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応法により測定

した。実験は各濃度／製剤の組合せについて 2 回の繰り返し測定を行った。なお、両薬の FSH 含量を国際単位（IU）で校正された酵素免疫測定法で測定し、バイアルの全含量を測定して表示含量に基づき質量単位に変換した。

プロゲステロン及びインヒビン A 分泌は有意な FSH 濃度依存性を示し、3β-HSD 及びインヒビン A の遺伝子発現も濃度依存的であった（図 2.6.2- 3、図 2.6.2- 4、図 2.6.2- 5）。測定したいずれのパラメータでも FE 999049 とゴナールエフの間に統計学的有意差はなかった。

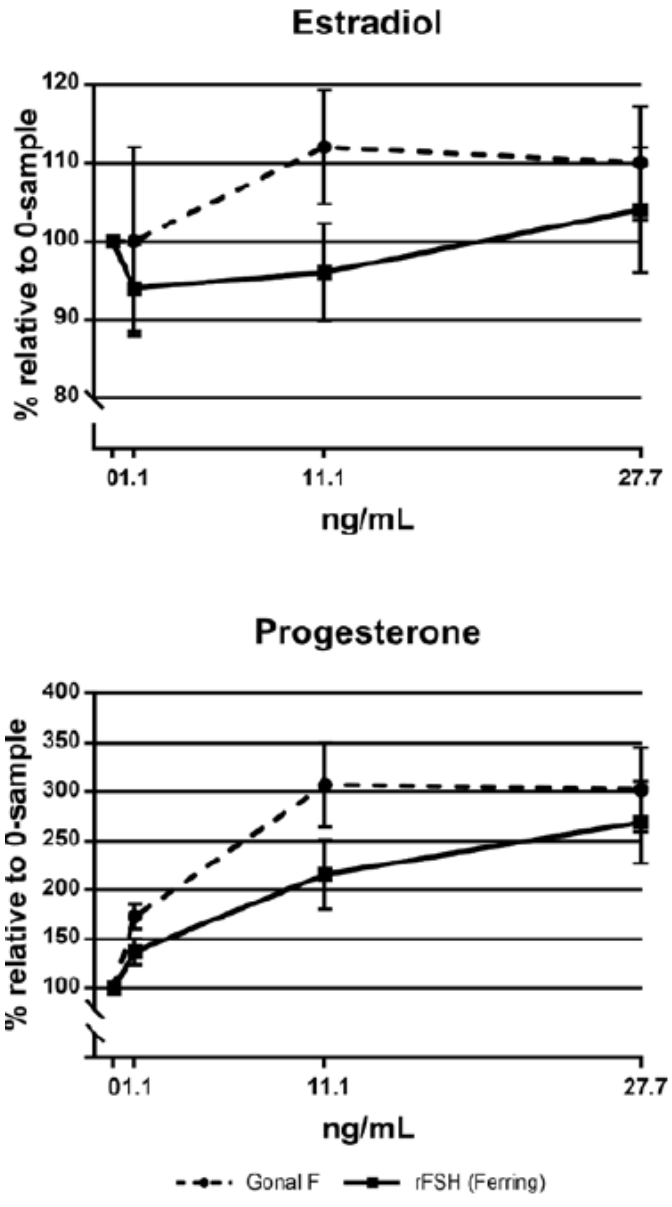


図 2.6.2- 3　FE 999049 又はゴナールエフで刺激した培養 GC でのプロゲステロン及びエストラジオール分泌

非刺激 GC を 100%ベースライン産生を表す 0-標本とした。エラーバーは標準誤差を示す。

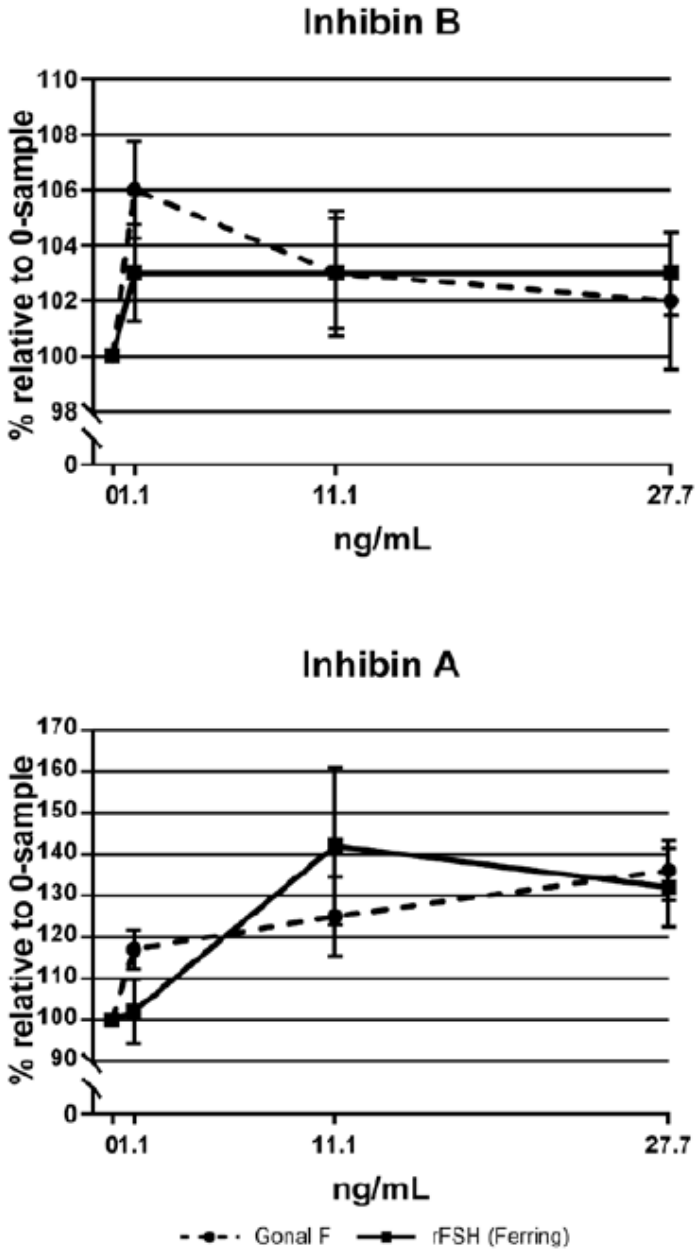


図 2.6.2- 4　FE 999049 又はゴナールエフで刺激した培養 GC でのインヒビン A 及びインヒビン B 分泌

非刺激 GC を 100%ベースライン産生を表す 0-標本とした。エラーバーは標準誤差を示す。

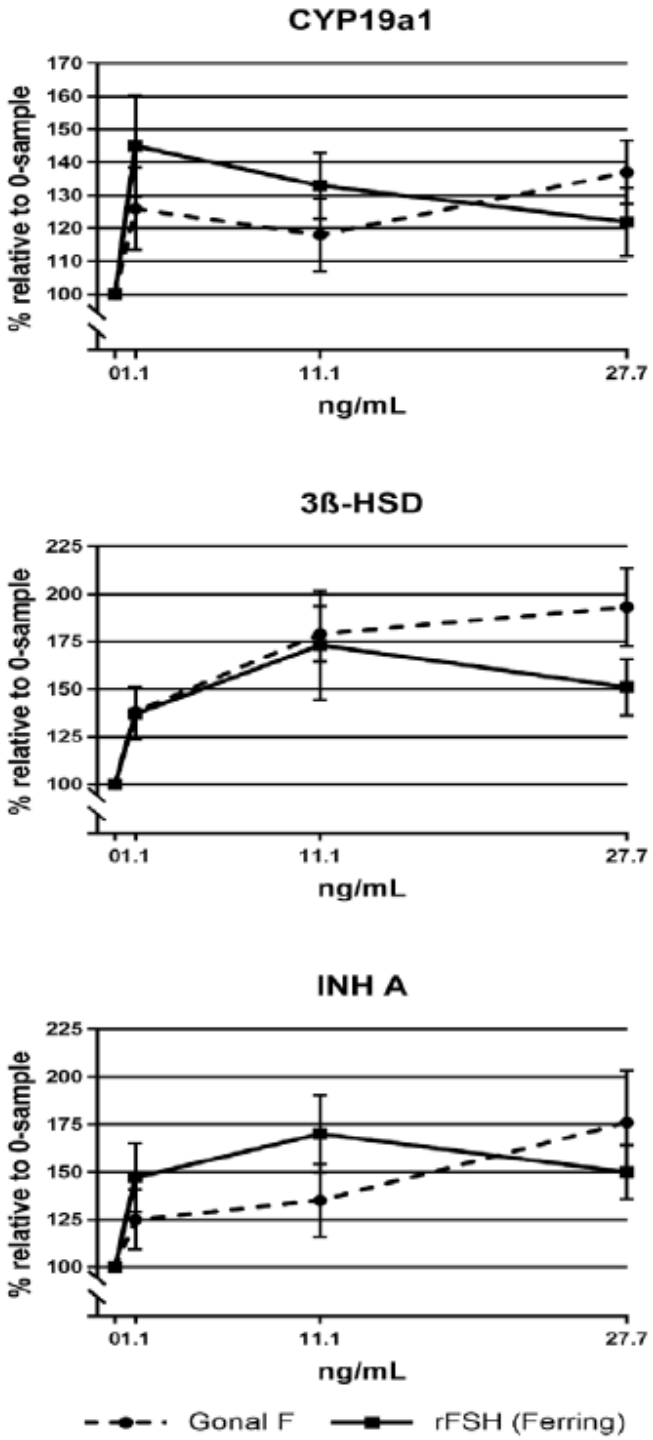


図 2.6.2- 5　FE 999049 又はゴナールエフで刺激した培養 GC でのインヒビン A、3β-HSD、及び CYP19A1 の遺伝子転写量

非刺激 GC を 100%ベースライン産生を表す 0-標本とした。エラーバーは標準誤差を示す。

2.6.2.3　副次的薬理試験

FSH 受容体は生殖腺に限局しているため、FSH の薬理学的用量での副次的薬理作用は報告されていない。これは FE 999049 とは異なるタイプの rFSH で実施した安全性薬理試験で確認されている(3)。この背景から FE 999049 の副次的薬理作用は実施しなかった。

2.6.2.4　安全性薬理試験

安全性薬理試験として 4 試験、すなわち、hERG 試験、ラットでの Irwin 試験、覚醒ラットでの呼吸試験、及びテレメトリー送信器を埋め込んだカニクイザルでの心血管試験を実施した［2.6.3.4 安全性薬理試験］［2.4 非臨床試験の概括評価 表 2.4- 2］。FE 999049 は女性を対象とした効能・効果のみで開発している。しかし、雌での所見の解釈を助け、今後の男性での効能・効果の開発を支援できるように *in vivo* 試験では雄も含めた。

2.6.2.4.1　HEK293 細胞の hERG テール電流に対する FE 999049 の作用［添付資料 4.2.1.3-1］

In vitro 試験用の被験物質の調製に用いた溶媒はポリソルベート 20 を含有するが、hERG 細胞の細胞膜を分解する。したがって、試験前に約 261 µg/mL の FE 999049 を 100 倍希釈する必要がある。最初の実験では 2.61 µg/mL の最大濃度で hERG テール電流に対する抑制は認められなかった。続いて、この結果を 4 個の細胞で確認した。試験の記録段階前に記録槽内の溶液濃度を測定したところ、FE 999049 の溶解性は低く、名目濃度の約 10%しか認められなかった。テール電流阻害薬である E-4031 の抑制率は 95.4%で、十分反応した。この試験系での抑制率は、溶媒処置後で 6.3%であり、FE 999049 処置後は 0.3%の増加であった。溶媒と FE 999049 処置群間に統計学的有意差はなかった（表 2.6.2- 3）。結論として、FE 999049 は名目濃度 2.61 µg/mL（実測値は 0.313 µg/mL）でテール電流に対して影響を及ぼさなかった。

表 2.6.2- 3　hERG 試験：hERG テール電流に対する溶媒、FE 999049 及び E-4031 の作用

	Tail current, % of control		
Treatment	**Mean**	**Standard error of the mean**	**n**
100 µM Sodium citrate buffer	93.7	1.9	4
2.61 µg/mL FE 999049	100.3	3.0	4
100 nM E-4031	4.6	1.2	4

溶媒及び被験物質処置群間で統計学的に有意な差はなかった（P≥0.05；対応のない両側 Student の t 検定）。

2.6.2.4.2　ラット Irwin 試験における FE 999049 の作用［添付資料 4.2.1.3-2］

1 群雌雄各 6 例の Sprague-Dawley ラットに FE 999049 の 0（溶媒、クエン酸ナトリウム緩衝液、pH 6.6）、0.522、5.22、又は 52.2 µg/kg を単回皮下投与した。この用量はそれぞれ臨床予想投与量（0.2 µg/kg）の 2.61、26.1、又は 261 倍であった。Irwin 試験に記載されている一連の観察項目を各ラットで投与後 4、8、24、及び 48 時間に体系的に評価した。投与後 8 時間は予想される最高血中濃度到達時間（T_{max}）であり、投与後 24 時間は予想される半減期の 3 倍の時間である。FE 999049 投与群のラットでは受動性、流涙、及び啼鳴、雄では鼻口部の汚れ、雌では眼球突出が見られた（表 2.6.2- 4）。この種の所見は対照動物でも一般的に見られるものであり、その多くが今回の溶媒投与群でも見られ

た。したがって、これらの所見は FE 999049 の作用ではなく、NOEL は高用量の 52.2 µg/kg と考えられた。

表 2.6.2- 4　Irwin 試験：ラットにおける主な症状の頻度

		Observation time after dosing, hours							
Observations	**Dose, µg/kg**	**4**		**8**		**24**		**48**	
Sex		**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Passivity	0	5/6	4/6	6/6	4/6	5/6	5/6	6/6	5/6
Lacrimation		2/6	-	3/6	-	-	-	-	-
Vocalisation		-	-	-	2/6	-	-	-	-
Exophthalmus		-	-	-	4/6	-	2/6	-	-
Passivity	0.522	4/6	3/6	6/6	2/6	6/6	2/6	6/6	5/6
Lacrimation		4/6	4/6	-	-	2/6	-	2/6	-
Vocalisation		-	-	-	3/6	-	2/6	-	3/6
Exophthalmus		-	-	-	3/6	-	2/6	-	-
Passivity	5.22	4/5	2/6	4/5	2/6	4/5	4/6	4/5	5/6
Lacrimation		2/5	-	3/5	3/6	-	2/6	-	-
Vocalisation		2/5	-	2/5	2/6	-	2/6	-	-
Exophthalmus		-	-	-	-	-	-	-	-
Passivity	52.2	5/5	-	5/5	2/5	4/5	2/5	3/5	5/5
Lacrimation		-	-	-	-	4/5	3/5	4/5	-
Vocalisation		-	-	-	3/5	-	2/5	-	-
Exophthalmus		-	-	-	-	-	-	-	-
Dirty muzzle		-	-	-	-	2/5	-	-	-

M: male, F: female
他の正常状態からの変化はいずれも 1/6 であり、被験物質投与による変化とは考えられなかった。

2.6.2.4.3　覚醒ラットにおける呼吸数及び 1 回換気量に対する FE 999049 の作用［添付資料 4.2.1.3-3］

1 群雌雄各 8 例の Sprague-Dawley ラットに FE 999049 の 0（溶媒、クエン酸ナトリウム緩衝液、pH 6.6）、0.522、5.22 又は 52.2 µg/kg を単回皮下投与した。この用量はそれぞれ臨床予想投与量（0.2 µg/kg）の 2.61、26.1、又は 261 倍であった。呼吸数及び 1 回換気量をプレチスモグラフィー法により投与前、投与後 8 及び 24 時間に測定した。投与後 8 時間は予想される T_{max} であり、投与後 24 時間は予想される半減期の 3 倍の時間である。いずれの時間でも呼吸数及び 1 回換気量に作用は認められなかった（表 2.6.2- 5 及び表 2.6.2- 6）。NOEL は高用量の 52.2 µg/kg と考えられた。

表 2.6.2- 5　FE 999049 のラット呼吸に対する作用：呼吸数

	Respiration rate, breaths/minute at time post-dose					
Treatment	**Pre-dose**		**8 hours**		**24 hours**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Vehicle	154.88±18.71	155.71±13.80	158.06±17.45	131.53±7.61	175.63±17.03	136.74±13.25
0.522 µg/kg	179.69±15.05	165.10±17.77	150.76±9.23	124.91±14.53	192.79±23.43	160.74±11.17
5.22 µg/kg	156.21±18.39	137.55±21.62	158.88±16.20	143.68±17.60	181.34±18.05	145.37±11.87
52.2 µg/kg	161.58±14.66	141.41±15.06	133.23±19.43	121.58±11.53	190.70±25.24	129.46±9.95

M: male, F: female
溶媒は 10 mM クエン酸ナトリウム緩衝液（pH 6.6）。雌雄各群 8 例。データは平均値±標準誤差で表した。
処置群間で統計学的有意差はなかった（p≥0.05；ANOVA + Dunnett 検定）。

表 2.6.2- 6　FE 999049 のラット呼吸に対する作用：一回換気量

	Tidal volume, mL at time post-dose					
Treatment	**Pre-dose**		**8 hours**		**24 hours**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Vehicle	1.46±0.12	1.32±0.11	1.54±0.18	1.44±0.06	1.58±0.24	1.58±0.13
0.522 µg/kg	1.76±0.25	1.45±0.08	1.86±0.28	1.54±0.11	1.62±0.09	1.58±0.10
5.22 µg/kg	1.69±0.12	1.58±0.06	1.71±0.06	1.49±0.10	1.71±0.11	1.79±0.15
52.2 µg/kg	1.90±0.09	1.52±0.14	1.96±0.12	1.57±0.14	1.85±0.14	1.64±0.11

M: male, F: female
FE 999049 の溶媒は 10 mM クエン酸ナトリウム緩衝液（pH 6.6）。雌雄各群 8 例。データは平均値±標準誤差で表した。処置群間で統計学的有意差はなかった（p≥0.05；ANOVA + Dunnett 検定、投与後 24 時間の雄のデータは Kruskal-Wallis + Dunn の検定を用いた）。

2.6.2.4.4　テレメトリー送信器埋め込み覚醒カニクイザルにおける FE 999049 の心血管作用［添付資料 4.2.1.3-4］

雌雄各 4 例のカニクイザルに溶媒のクエン酸ナトリウム緩衝液（pH 6.6）又は FE 999049 52.2 µg/kg を単回皮下投与した。この用量は臨床予想投与量（0.2 µg/kg）の 261 倍であった。動脈圧（収縮期及び拡張期）、心拍数、RR-、PR-、QT-、QTcF 及び QTcQ 間隔、並びに QRS 時間を投与前 30 分から予想される T_{max} を含むように投与後 1080 分まで測定した。さらに、心電図波形にリズム及び形状の変化がないかを目視で検査した。曝露量は投与後 240 分に採取した血液サンプルで確認した。溶媒投与後では FE 999049 は検出できなかった。雄及び雌カニクイザルでの FE 999049 の平均血中濃度はそれぞれ 69.4 ng/mL 及び 49.1 ng/mL であった。あらかじめ計画した用量である 52.2 µg/kg ではいずれの項目にも変化は見られなかったことから、追加試験は不要と判断した。血圧及び心拍数のデータは表 2.6.2- 7 及び表 2.6.2- 8 に示した。結論として、サルの心血管に対する作用の NOEL は 52.2 µg/kg であった。

表 2.6.2- 7　テレメトリー送信器埋め込み覚醒カニクイザルにおける心血管試験：雄性

	Systolic arterial blood pressure, mmHg		Diastolic arterial blood pressure, mmHG		Mean arterial blood pressure, mmHg		Heart rate, beats per minute	
Time, minutes	**Vehicle 0.5 mL/kg**	**FE 999049 52.2 µg/kg**	**Vehicle 0.5 mL/kg**	**FE 999049 52.2 IU/kg**	**Vehicle 0.5 mL/kg**	**FE 999049 52.2 IU/kg**	**Vehicle 0.5 mL/kg**	**FE 999049 52.2 IU/kg**
-30	120±6	125±7	83±2	84±3	101±5	104±5	159±13	166±12
30	124±7	126±7	86±5	84±5	105±7	105±6	172±21	174±14
60	120±8	125±8	82±5	82±4	101±7	104±6	155±19	163±9
90	121±9	124±10	84±5	83±7	102±8	103±9	152±16	156±9
120	119±8	114±8	82±3	76±5	100±6	95±6	144±14	133±6
180	114±5	123±7	78±1	83±4	95±3	103±6	140±11	157±13
240	117±9	117±7	80±4	77±4	98±6	97±6	135±14	131±9
480	109±2	103±6	73±4	69±4	90±2	86±6	101±9	102±4
720	114±4	105±8	74±3	68±4	94±2	87±6	108±14	95±4
1080	119±12	110±5	81±6	74±3	100±9	93±4	137±10	122±8

4 例の動物の平均値±標準誤差
溶媒と処置群との間に統計学的有意差はなかった（p≥0.05、Student の t-test）。

表 2.6.2- 8　テレメトリー送信器埋め込み覚醒カニクイザルにおける心血管試験：雌性

	Systolic arterial blood pressure, mmHg		Diastolic arterial blood pressure, mmHG		Mean arterial blood pressure, mmHg		Heart rate, beats per minute	
Time, minutes	**Vehicle 0.5 mL/kg**	**FE 999049 52.2 µg/kg**	**Vehicle 0.5 mL/kg**	**FE 999049 52.2 µg/kg**	**Vehicle 0.5 mL/kg**	**FE 999049 52.2 µg/kg**	**Vehicle 0.5 mL/kg**	**FE 999049 52.2 µg/kg**
-30	116±3	110±3	76±2	73±3	96±2	92±3	174±15	169±10
30	117±1	111±2	77±1	73±2	97±1	93±2	186±15	171±8
60	115±3	108±2	75±2	70±3	96±3	89±3	153±13	144±11
90	115±2	111±2	75±4	75±3	95±3	93±3	149±12	158±12
120	117±2	117±6	78±3	80±6	98±3	98±6	160±9	160±7
180	113±2	108±5	76±2	72±5	94±2	91±6	182±17	143±7
240	109±2	113±2	69±3	75±2	89±2	94±2	134±12	164±6
480	97±2	96±1	62±3	62±3	79±2	79±2	104±7	111±6
720	105±4	100±1	65±6	65±4	85±5	83±3	101±8	108±7
1080	109±2	107±5	71±2	70±6	91±1	89±6	122±8	127±20

4 例の動物の平均値±標準誤差
溶媒と処置群との間に統計学的有意差はなかった（p≥0.05、Student の t-test）。

2.6.2.5　　薬力学的薬物相互作用

ART におけるゴナドトロピンの使用については詳しい報告がある(4)ため、薬力学的薬物相互作用に関する試験は実施しなかった。

2.6.2.6　　考察及び結論

FSH の薬理作用は一般によく知られており、かつ文献でも報告されていることから、効力を裏付ける試験は少数の試験のみを実施した。FE 999049 の副次的薬理試験は実施しなかった。

FE 999049 の同族受容体への親和性をラジオレセプターアッセイで検討した。この試験に用いた膜受容体は hFSH-R が安定して発現している HEK293 細胞から調製した。この膜受容体に対する親和性をゴナールエフと同じ条件で比較した。両薬の K_i 値はほぼ一致し、FE 999049 の K_i 値と K_D 値は同等であった。親和性の値は生理的受容体リガンドの範囲内であった。

ヒト受容体活性化能を hFSH-R を発現している HEK293 細胞を用い、cAMP 産生を測定することにより比較検討した。HEK293 細胞の cAMP 反応は用量依存的であった。FE 999049 及びゴナールエフの比活性に差はなかった。

FE 999049 及びゴナールエフによるヒト GC の FSH 受容体の機能的活性化を COS から得られた細胞を用いて検討した。24 時間培養中のプロゲステロン、エストラジオール、インヒビン A、及びインヒビン B のホルモンの分泌、並びに 3β-HSD、CYP19A1、及びインヒビン A の遺伝子転写量を比較検討した。プロゲステロン及びインヒビン A 分泌は有意な FSH 濃度依存性を示し、3β-HSD 及びインヒビン A の遺伝子発現も濃度依存的であった。しかし、測定したいずれのパラメータでも FE 999049 とゴナールエフの間に統計学的有意差はなかった。

FSH の薬理作用に関しては、Moyle & Campbell の成書(1)に概説されており、Ulloa-Aguirre 及び Timossi の文献(5)では更に詳細が報告されている。ゴナドトロピンのオリゴ糖鎖にみられる不均一性についてのヒトにおける生理学的役割は、Ulloa-Aguirre ら(6)、Andersen 及び Byskov(7)、Bousfield 及び Dias(8)、並びに Santi 及び Simoni(9)の文献に報告されている。FSH の単一アイソフォームの受容体調節性の特異的作用が記載され、アイソフォーム組成における主にステロイドを介した微調整について考察されている。同時に各種哺乳類の FSH の糖鎖構造はお互い異なり、一定したパターンを取らないとされていることから(8) (10)、単一の動物種に基づく限り一般的な結論は得られないと考えられる。ヒト FSH の糖鎖付加の違いが排泄に影響を及ぼすことは明らかであるが、受容体活性化に与える特異的な影響については明確にされていない。受容体結合、黄体化 GC の活性化、及び HEK293 細胞のヒト受容体の活性化について FE 999049 とゴナールエフを比較した結果では両者間に差は認められなかった。ELONVA®のように強く修飾された化合物でもそのような差は報告されていない(11)。

糖鎖付加が異なるゴナドトロピンの存在の詳細は少数のグループから報告されている(12) (13)。しかし、異なった各糖鎖付加体が生理的条件下で選択的な生物学的作用を示すかどうか、また生殖での特異的標的器官（例えば、卵管、子宮内膜）で調節作用を示すかどうかは、まだ推測の域を出ていない。現在、関連性があるのは全体としての FSH イソホルモンプールであると考えられているが、全体の生物反応に対する各糖鎖付加体の特異的作用については検討する余地がある。

安全性薬理試験については hERG 試験、ラットでの Irwin 試験、覚醒ラットでの呼吸試験、及びテレメトリー送信器を埋め込んだ覚醒カニクイザルでの心血管試験を実施した。NOEL は、*in vivo* 試験では 52.2 µg/kg、hERG 試験で 0.313 µg/mL（名目濃度は 2.61 µg/mL）であり、これらはそれぞれ予想される治療用量（0.2 µg/kg）の 261 倍及びその C_{max}（約 0.411 ng/mL）の約 750 倍であった。

FSH の薬理学的プロファイルはよく知られている。FE 999049 は、卵胞発育促進及びホルモン産生などの主作用、並びに副次的薬理作用がないことに関して、FSH のプロファイルに極めて一致していることが示されている。FE 999049 は予定される効能・効果に関連した薬力学的作用以外は有さないと結論付けられる。薬理作用に基づくと FE 999049 は予定される効能・効果に対して安全かつ有効であると考えられる。

2.6.2.7　図表

関連する各項目の本文中に記載した。

2.6.2.8　参考文献

(1) Moyle W, Campbell R. Gonadotropins. In DeGroot L, ed. Endocrinology. 3 ed. Philadelphia, WB Saunders Company, 1995, 230-241.

(2) Bassett SG, Zeleznik AJ. Acute suppression of FSH secretion by oestradiol in the ovariectomized rhesus monkey. J Reprod Fertil. 1990 Mar;88(2):441-6.

(3) Biffoni M, Cantelmo A, Marcucci I, Martelli F, Suzuki H, Borrelli F, Suzuki K. General pharmacology studies on recombinant human follicle stimulating hormone. Arzneimittelforschung. 1994 Sep;44(9):1096-102.

(4) Levin ER, Vitek WS, Hammes SR. Estrogens, progestines, and the female reproductive tract. Chapter 44. Goodman and Gilman's the Pharmacological Basis of the Therapuetics. 13th edition. McGraw Hill; 2018.

(5) Ulloa-Aguirre A, Timossi C. Biochemical and functional aspects of gonadotrophin-releasing hormone and gonadotrophins. Reprod Biomed Online. 2000;1(2):48-62.

(6) Ulloa-Aguirre A, Timossi C, Méndez JP. Is there any physiological role for gonadotrophin oligosaccharide heterogeneity in humans? I. Gondatrophins are synthesized and released in multiple molecular forms. A matter of fact. Hum Reprod. 2001 Apr;16(4):599-604.

(7) Andersen CY, Byskov AG. Estradiol and regulation of anti-Müllerian hormone, inhibin-A, and inhibin-B secretion: analysis of small antral and preovulatory human follicles' fluid. J Clin Endocrinol Metab. 2006 Oct;91(10):4064-9.

(8) Bousfield GR, Dias JA. Synthesis and secretion of gonadotropins including structure-function correlates. Rev Endocr Metab Disord. 2011 Dec;12(4):289-302.

(9) Santi D, Simoni M. Biosimilar recombinant follicle stimulating hormones in infertility treatment. Expert Opin Biol Ther. 2014 Oct;14(10):1399-409.

(10) Green ED, Baenziger JU. Asparagine-linked oligosaccharides on lutropin, follitropin, and thyrotropin. II. Distributions of sulfated and sialylated oligosaccharides on bovine, ovine, and human pituitary glycoprotein hormones. J Biol Chem. 1988 Jan 5;263(1):36-44.

(11) van Schanke A, van de Wetering-Krebbers SF, Bos E, Sloot WN. Absorption, distribution, metabolism and excretion of corifollitropin alfa, a recombinant hormone with a sustained follicle-stimulating activity. Pharmacology. 2010;85(2):77-87.

(12) Wide L, Eriksson K. Dynamic changes in glycosylation and glycan composition of serum FSH and LH during natural ovarian stimulation. Ups J Med Sci. 2013 Aug;118(3):153-64.

(13) Bousfield GR, Butnev VY, Butnev VY, Hiromasa Y, Harvey DJ, May JV. Hypo-glycosylated human follicle-stimulating hormone ($hFSH^{21/18}$) is much more active in vitro than fully-glycosylated hFSH ($hFSH^{24}$). Mol Cell Endocrinol. 2014 Feb 15;382(2):989-97.

2.6.3 薬理試験概要表

目次

2.6.3.1 薬理試験：一覧表 3
2.6.3.2 効力を裏付ける試験 4
2.6.3.3 副次的薬理試験 5
2.6.3.4 安全性薬理試験 6
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 7

2.6.3.1　薬理試験：一覧表

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Dose Levels (IU/kg)	Dose Levels[1] (µg/kg)
Primary Pharmacodynamics						
Development of a binding assay	FSH receptor preparation	*In vitro*	[redacted]	[100011783]	Not applicable	Not applicable
Potency determination of FE 999049 drug product versus GONAL-f by a cell based assay	HEK293 cells expressing the human FSH receptor	*In vitro*	[redacted] Israel	[redacted-REP-008011]	Not applicable	Not applicable
Stimulation of granulosa cells from preovulatory follicles with two different FSH products	Human granulosa cells	*In vitro*	[redacted], Denmark	[FE07018-10394]	Not applicable	Not applicable
Secondary Pharmacodynamics	No studies on secondary pharmacodynamics have been carried out					
Safety Pharmacology						
hERG tail current study	Stably transfected HEK293 cells	*In vitro*	[redacted]	[ZNA16669.002]	0-50 IU/mL	0-2.61 µg/mL
Irwin test	Rats / Sprague-Dawley	Subcutaneous injection	[redacted]	[ZNA 16669.003]	0, 10, 100, 1000	0, 0.522, 5.22, 52.2
Respiration rate and tidal volume	Rats / Sprague-Dawley	Subcutaneous injection	[redacted]	[ZNA 16669.004]	0, 10, 100, 1000	0, 0.522, 5.22, 52.2
Cardiovascular effects by telemetry	Cynomolgus monkeys	Subcutaneous injection	[redacted]	[ZNA 16669.001]	0, 1000	0, 52.2
Pharmacodynamic Drug Interactions	No studies on pharmacokinetic drug interactions have been carried out.					

[1] Conversion factor = 0.0522 µg/IU

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

Study	Test system	Test Facility	Study Number	Results
Development of a binding assay	FSH receptor preparation	[redacted]	[100011783]	Using a cell free membrane fraction of HEK293 cells transfected with the human FSH-receptor, the specific binding of FE 999049 and GONAL-F was shown to have very similar activities. K_i was 0.0966 nM for FE 999049 and 0.101 nM for GONAL-F.
Potency determination of FE 999049 drug product versus GONAL-F by a cell based assay	HEK293 cells expressing the human FSH receptor	[redacted] Israel	[[redacted]-REP-008011]	The relative potency of FE 999049 and GONAL-F was determined using a cell-based assay consisting of HEK293 cells expressing the human FSH receptor. It was concluded that equal protein mass exhibit equivalent stimulation at the target receptor.
Stimulation of granulosa cells from preovulatory follicles with two different FSH products	Human granulosa cells	[redacted], Denmark	[FE 07018-10394]	The functional activation of FSH receptors on human granulosa cells by FE 999049 and GONAL-F was investigated in cells derived from controlled ovarian stimulation. Hormone release of progesterone, estradiol, inhibin A, and inhibin B, as well as induced gene transcriptions for 3β-HSD, CYP19A1, and inhibin A was assessed. Secretion of progesterone and inhibin A demonstrated a significant dose response in relation to FE 999049 concentration as did the gene expression of 3β-HSD and inhibin A. There was no difference between FE 999049 and GONAL-F for any of the measured parameters.

2.6.3.3　副次的薬理試験

該当なし。

2.6.3.4　安全性薬理試験

Organ Systems Evaluated	Species/ Strain	Method of Admin.	Dose Levels[1] (µg/kg)	No. and Gender per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number
hERG study	HEK293 cells	*In vitro*	0-2.61 µg/mL	-	FE 999049 had no effects on tail current in HEK293 cells. The analysed content of 0.313 µg/mL (corresponding to 2.61 µg/mL, nominally) was the NOEL.	Yes	[ZNA 16669.002]
CNS	Rats/ Sprague-Dawley	Subcutaneous injection	0, 0.522, 5.22, 52.2	6M+6F	FE 999049 did not affect any response variable in the Irwin's test at any dose level. 52.2 µg/kg was the NOEL.	Yes	[ZNA 16669.003]
Respiratory	Rats/ Sprague-Dawley	Subcutaneous injection	0, 0.522, 5.22, 52.2	8M + 8F	FE 999049 had no effects on respiration rate or tidal volume. 52.2 µg/kg was the NOEL.	Yes	[ZNA 16669.004]
Cardiovascular	Cynomolgus monkeys	Subcutaneous injection	0, 52.2	4M + 4F	FE 999049 did not cause any changes to cardiovascular parameters. The NOEL was 52.2 µg/kg.	Yes	[ZNA 16669.001]

[1] Single dose. M, male; F, female.

2.6.3.5　　薬力学的薬物相互作用試験

該当なし。