TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 2
LIST OF FIGURES 2
本項で使用する用語・略語 3
1. 非臨床試験計画概略 4
2. 薬理試験 6
2.1. 概略 6
2.2. 効力を裏付ける試験 7
2.2.1. In vitro 薬理試験 7
2.2.2. In vivo 薬理試験 9
2.3. 副次的薬理試験 11
2.4. 安全性薬理試験 11
2.5. 薬力学的薬物相互作用 11
3. 薬物動態試験 11
3.1. 概略 11
3.2. 分析法 12
3.3. 吸収 12
3.3.1. 単回投与時の薬物動態評価 12
3.3.1.1. ラット 13
3.3.1.2. サル 13
3.3.2. 反復投与時の薬物動態および ADA の評価 13
3.3.2.1. ラット 13
3.3.2.2. サル 14
3.4. 分布 15
3.5. 代謝 15
3.6. 排泄 15
3.7. 薬物動態学的薬物相互作用 15
3.8. その他の薬物動態試験 16
4. 毒性試験 16
4.1. 概略 16
4.2. 単回投与毒性 18
4.3. 反復投与毒性 18

4.4. 遺伝毒性試験 21
4.5. がん原性 21
4.6. 生殖発生毒性 22
4.6.1. ラットを用いた皮下投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 22
4.6.2. ラットを用いた皮下投与による胚・胎児発生に関する試験 23
4.6.3. ラットを用いた皮下投与による出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 24
4.6.4. 幼若動物を用いた試験 24
4.7. 局所刺激性試験 25
4.8. その他の毒性試験 25
4.8.1. 光毒性試験 25
4.8.2. 抗原性試験 25
4.8.3. 免疫毒性試験 26
4.8.4. 毒性発現の機序に関する試験 26
4.8.5. 依存性試験 26
4.8.6. 代謝物の試験 26
4.8.7. 不純物の試験 26
4.8.8. その他の試験 26
4.9. 認められた所見と薬物動態との関連 26
4.10. 標的臓器毒性 28
4.10.1. 注射部位 28
4.10.2. その他の所見 29
5. 総括及び結論 29
6. 参考文献 32

LIST OF TABLES

Table 1. Somatrogon の毒性試験プログラムの概要 16
Table 2. 主な所見と somatrogon の曝露量 27

LIST OF FIGURES

Figure 1. Somatrogon の構造 4

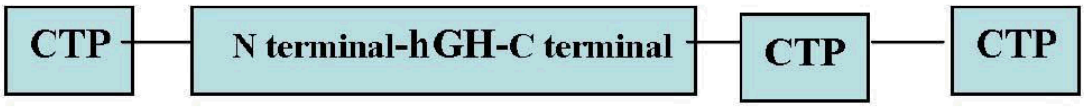
本項で使用する用語・略語

用語・略号	省略していない表現または定義
ADA	anti-drug antibody：抗薬物抗体，本文書中では抗 somatrogon 抗体
AUC	area under the concentration-time curve：血清中濃度 - 時間曲線下面積
AUC_t	area under the concentration-time curve from 0 to the time of measurement： 0 時間から t 時間までの血清中濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{last}	area under the concentration-time curve from 0 to the time of last measurement： 0 時間から最終定量可能時点までの血清中濃度 - 時間曲線下面積
C_{av}	average concentration：平均血清中濃度
CL	clearance：クリアランス
CL/F	apparent clearance：見かけのクリアランス
C_{max}	maximum concentration：最高血清中濃度
CTP	C-terminal peptide：C 末端ペプチド
CYP	Cytochrome P450：シトクロム P450
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay：酵素免疫測定法
EU	Europian Union：欧州連合
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬品局
GHD	growth hormone deficiency：成長ホルモン分泌不全性低身長症
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
hCG	human chorionic gonadotropin：ヒト絨毛性ゴナドトロピン
hGH	human growth hormone：ヒト成長ホルモン
IC_{50}	50% inhibitory concentration：50%阻害濃度
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use：日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IGF	insulin like growth factor：インシュリン様成長因子
Kd	equilibrium dissociation constant：平衡解離定数
NOAEL	no obserbed adverse effect level：無毒性量
OPKO	OPKO Health
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
rhGH	recombinant human growth hormone：組換え型ヒト成長ホルモン
SPR	surface plasmone resonance：表面プラズモン共鳴
STAT5b	signal transducer and activator of transcription 5b : シグナル伝達兼転写活性化因子 5b
$t_{1/2}$	apparent terminal elimination half-life：見かけの終末相消失半減期
T_{max}	time to obtain maximum concentration：最高濃度到達時間

1. 非臨床試験計画概略

Somatrogon（MOD-4023 または PF-06836922）は，長時間作用するよう修飾された新規のヒト成長ホルモン（hGH）であり，hGH に 3 コピーのヒト絨毛性ゴナドトロピン（hCG）のβ鎖の C 末端ペプチド（CTP）を融合させた単鎖ポリペプチドである。CTP は N 末端側に 1 コピー，C 末端側に 2 コピー（タンデム）が融合しており，それぞれの CTP 分子は複数の部位で O-結合型糖鎖修飾を受けている（Figure 1）。本申請における somatrogon の適応症は小児の成長ホルモン分泌不全性低身長症（GHD）である。

Figure 1.　Somatrogon の構造



Somatrogon は 3 コピーの CTP カセットが融合されているため，hGH 含量は 72.6%である。

既承認の組換え型 hGH（rhGH）製剤の用法は連日投与となっているが，somatrogon は CTP 分子の融合により，ポリマー，カプセル充填，ナノ粒子等の技術を用いることなく，投与頻度を減らすことを可能とした。臨床においては，somatrogon は週 1 回の皮下投与を予定している。

本申請書類では，somatrogon 投与液中の濃度をタンパク質濃度（mg/mL）で示す。すなわち，非臨床試験で用いる用量は，タンパク質部分の重量のみを示し，O-結合型糖鎖修飾の関与を除外して表記した。また，somatrogon の用量に rhGH の含量と併記している場合もあり，非臨床試験において陽性対照薬として用いられた市販の rhGH 製剤（Bio-Tropin®）との直接用量比較を可能とした。Somatrogon は，すべての in vivo 非臨床試験において，クエン酸緩衝液（10 mmol/L クエン酸，147 mmol/L 塩化ナトリウム）で調製した液剤として皮下投与した。

Somatrogon の非臨床開発は OPKO Health（以下，OPKO 社）が実施した。初期の試験報告書では，somatrogon 分子の rhGH 含量の見積もりを 58%とし，somatrogon 濃度に 0.58 を乗じて rhGH の含量を算出していた。タンパク質部分の質量のみを考慮した算出方法への変更に伴い，somatrogon の rhGH 含量の見積もりを 72.6%とし, rhGH 含量は 0.726 を乗じて再計算した。本申請書類では，初期の試験報告書に記載されていた値は，新たな相対質量推定値に基づき再計算した値に修正して記載した。

一連の in vitro 受容体結合試験を実施して somatrogon のヒト，ラットおよびアカゲザルの成長ホルモン受容体（GHR）に対する結合親和性を rhGH と比較し，平衡解離定数（Kd）を測定した。さらに，GHR を介した細胞増殖，シグナル伝達兼転写活性化因子 5b（STAT5b）のリン酸化，GH 介在性遺伝子調節を測定する in vitro 試験を実施し，rhGH と比較した。GH の主な薬理効果である体重増加作用について，下垂体摘出ラットを用いた単回および反復投与試験を実施して，rhGH の 1 日 1 回投与と比較した。また，正常な Sprague-Dawley ラットおよびアカゲザルを用いた反復投与毒性試験でも体重増加について評価した。GH の薬理作用にはインスリン様成長因子（IGF）-1 の誘導が関与していることから，下垂体を摘出したラットを用いた薬理試験ならびに正常な

Sprague-Dawley ラットおよびアカゲザルを用いた毒性試験の一部として，somatrogon の単回および反復皮下投与による IGF-1 誘導作用を検討した。以上の試験成績からは，非臨床試験動物種として選択したラットおよびアカゲザルにおいて，somatrogon が薬理学的活性を示すことが示された。

様々な膜貫通型および可溶性受容体，イオンチャネルならびにモノアミントランスポーターに対して，somatrogon および rhGH（陽性対照薬）の親和性を in vitro で評価した。Somatrogon の独立した安全性薬理試験は実施しなかったが，Sprague-Dawley ラットの 4 週間皮下投与毒性試験ならびにアカゲザルの 4 週間皮下投与毒性試験および 26 週間皮下投与毒性試験において，中枢神経系および呼吸器系に対する影響を評価した。アカゲザルを用いた 4 週間および 26 週間の毒性試験においては心血管系への影響も評価した。

Sprague-Dawley ラットおよびアカゲザル（毒性試験に用いた動物種）に somatrogon を単回皮下投与し，薬物動態およびトキシコキネティクス評価を実施した。Somatrogon 反復投与時のトキシコキネティクスおよび免疫原性は，Sprague-Dawley ラットおよびアカゲザルを用いた医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）適用反復皮下投与毒性試験の一部として評価した。rhGH 投与群をラットを用いた単回投与薬物動態試験およびサルを用いた 26 週間投与毒性試験に組み込み，somatrogon 投与群との比較を行った。GLP 適用反復投与毒性試験では，バリデートされた分析法を用いて，somatrogon および rhGH の定量ならびに somatrogon および rhGH に対する抗体の検出を行った。Somatrogon の胚・胎児への曝露について，ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験で評価した。ヒト肝細胞を用いて，in vitro で somatrogon によるシトクロム P450（CYP）誘導について評価した。

Somatrogon の一般毒性は日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイダンス S6（R1）に従って，Sprague-Dawley ラットおよびアカゲザルを用いて最長 26 週間（アカゲザルのみ）投与した重要な試験（GLP 適用）および重要な試験以外の試験において評価した。上述のとおり，in vitro および in vivo 試験において somatrogon が薬理学的活性を示すと考えられることから，毒性試験の動物種としてラットおよびアカゲザルを選択した。また，投与経路には，予定臨床投与経路である皮下投与を選択した。ラットでは免疫応答が認められたが，アカゲザルではその可能性が低いと予想されたことから，慢性毒性試験はアカゲザルを選択した。生殖発生毒性試験は，ICH S5(R2) ガイダンスに準じてデザインした[1]。胚・胎児発生に関する試験，受胎能および着床までの初期胚発生に関する試験，ならびに出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験はラットを用いて実施した。胚・胎児発生に関する試験は，ラットのみで実施しウサギでは実施しなかった。なお，ラットおよびウサギを用いて実施した組換え型ヒト成長ホルモン（rhGH）製剤であるジェノトロピンの胚・胎児発生に関する試験では，催奇形性は認められていない[2]。ICH S6(R1) ガイダンスに基づくとタンパク質をベースにしたバイオ医薬品には遺伝毒性試験は一般的に必要とされないため[3]，somatrogon の遺伝毒性試験は実施していない。また，ICH S1A ガイダンスにおいて，「内因性物質を補充療法として必ず与えなくてはならないような場合，特に既に同様の製品で臨床経験があるような場合には，がん原性試験は一般に必要ではない」と記載されていることから[4]，somatrogon のがん原性試験も実施していない。rhGH 療法を受けた成人患者から得られた臨床データは広く評価されており，発がんリスクと直接の相関はないと判断され，rhGH 投与は腫瘍発生の誘発に対する重要なリスク因子ではないことが示されている[5,6,7]。また，若齢のアカゲザル（約 2.5～4 歳齢）を用いた 26 週間皮下投与毒性試験成績から，発育中の動物に somatrogon を高濃度に曝露しても，発達中の器官への有害作用や細胞分裂促進の可能性は認められなかった。

タンパク質バイオ医薬品ならびにその代謝物（ペプチドおよびアミノ酸）は光毒性を有しないと考えられるため，somatrogon の光毒性試験は実施していない。

毒性試験で投与した最高用量は，皮下投与で投与可能な容量の限界，投与製剤の溶解度，およびヒトに臨床用量を投与したときの 10 倍以上の曝露量が確実に得られることに基づいて設定した。サルの 26 週間皮下投与毒性試験で投与した低用量は，最大の薬理作用が予想され，さらに小児患者における臨床曝露量を上回る曝露量が得られることが予想される用量として設定した。

4 週間および 26 週間投与毒性試験における投与頻度は，投与期間を通じて曝露が得られるよう，Sprague-Dawley ラットでは週 2 回（4 週間試験），アカゲザルでは 5 日間に 1 回（26 週間試験）または 6 日間に 1 回（4 週間試験）とした。投与頻度の差は，Sprague-Dawley ラットと比較してアカゲザルでは somatrogon の半減期が長いためである。Sprague-Dawley ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では，胚・胎児への曝露を最大にするため，投与頻度を 2 日間に 1 回投与とした。一部の毒性試験では陽性対照薬として rhGH を連日投与した。

臨床での安全域（2.4.4.9 項）は，GHD を有する小児集団において 0.66 mg/kg/週を投与した結果からシミュレートした値に基づいて算出した。この時の C_{max} は 0.593 µg/mL，AUC_{last} は 25.2 µg·h/mL であり，この用量における C_{av} は 0.150 µg/mL と算出された。

GLP 適用試験はすべて米国で GLP 規則（米国連邦規則集，21 CFR Part 58）に準拠して実施しており，米国は経済協力開発機構（OECD）のデータ相互受入れ制度の加盟国である。GLP 適用毒性試験については，試験デザインの説明，これらの試験の実施中に発生した試験デザインからの逸脱ならびに実施日を，当該試験報告書または概要表に記載している。試験の記録は，Pfizer Worldwide Research & Development，OPKO 社，または試験が実施された受託検査機関でファイル保管されている。

GH に関する臨床経験も背景とした以上の非臨床試験パッケージは，小児患者に対する somatrogon の使用を支持するものと考えられた。また，平成[redacted]年[redacted]月[redacted]日に実施された医薬品医療機器総合機構との対面助言において，[redacted]を確認している（1.13.2 項）。なお，各国の当局との間で somatrogon の[redacted]が行われており，当局との議論の際に得られたフィードバックを非臨床開発計画に組み込んだ。例えば，米国 FDA および EU 当局の助言に従い，[redacted]を完了した。さらに，[redacted]について，米国 FDA および EU 当局と協議し[redacted]と判断された。

2. 薬理試験

2.1. 概略

Somatrogon の薬理作用は，げっ歯類およびアカゲザルを用いた in vitro ならびに in vivo 非臨床薬理試験において検討されている（2.6.3.1 項）。陽性対照としては，下垂体由来の hGH と同一のアミノ酸配列を有する組換え型 hGH（rhGH）である，市販の Bio-Tropin®を用いた。

Somatrogon および rhGH の GHR に対する結合親和性は，表面プラズモン共鳴（SPR）試験により検討し，平衡解離定数（Kd）を求めた。遺伝子導入した hGHR を定常発現する BAFB2B2 細胞を

用い，somatrogon と rhGH の細胞増殖誘導能を比較検討した。その後の阻害試験では，somatrogon または rhGH による BAFB2B2 の増殖の阻害に必要な可溶性組換え型ラット GHR またはアカゲザル GHR の 50%阻害濃度（IC_{50}）を算出した。また，somatrogon の濃度依存的な STAT5b リン酸化能を rhGH と比較した。さらに，somatrogon および rhGH の GH 介在性遺伝子調節誘導能の検討では，ルシフェラーゼレポーターアッセイを用いて評価し，結果を比較した。

体重増加作用については，下垂体切除した雄ラットに単回または反復投与して評価し，加えて正常ラットを用いた反復投与毒性試験の中でも評価した。下垂体切除ラットでは，somatrogon を単回皮下投与して体重増加作用を検討し，rhGH の 10 日間連日投与と比較した後，反復投与体重増加比較試験を実施した。本試験では，somatrogon を 4 日間隔で計 4 回，12 日間または 7 日間隔で計 3 回，14 日間皮下投与し，rhGH の 14 日間連日投与と比較した。

下垂体切除ラットおよび正常ラットの両方において，血清中 IGF-1 濃度に対する somatrogon の作用を検討した。下垂体を切除した雄ラットに somatrogon を単回皮下投与し rhGH による作用と比較した。さらに雌雄の正常ラットに somatrogon を週 2 回 4 週間皮下投与し，試験 1 日および 26 日の投与前後で検体を採取し，血清中 IGF-1 濃度を測定した。また，somatrogon による IGF-1 誘導作用を，アカゲザルへの反復皮下投与でも評価した。Somatrogon を雌雄アカゲザルに 6 日間隔で 4 週間，または 5 日間隔で 26 週間皮下投与した。26 週間試験では，結果を陽性対照薬である rhGH の連日投与と比較した。

In vitro での副次的（オフターゲット）薬理作用の評価では，somatrogon および陽性対照薬である rhGH の，様々な膜貫通型および可溶性受容体，イオンチャネル，ならびにモノアミントランスポーターに対する親和性を in vitro で評価した。ICH S6 (R1)により，タンパク質をベースとする生物学的製剤に関しては，毒性試験に組み込んで評価できるため，somatrogon の独立した安全性薬理試験は実施していない[3]。Somatrogon による呼吸器系，中枢神経系，および心血管系に対する潜在的な影響を，ラットを用いた重要な反復投与毒性試験（2.4.4.3 項）およびアカゲザルを用いた重要な反復投与毒性試験（2.4.4.3 項）で評価した。

これらの試験の結果から，somatrogon は GHR への結合を介し hGH と同じ薬理学的機序によって作用することが示された。In vitro において，somatrogon の GHR への結合親和性は rhGH よりも低かったが，in vivo 試験では somatrogon は rhGH に比べ低頻度の投与により，より低用量（hGH 含量の総量として）で同程度の体重増加効果を発揮した。また，somatrogon は血清中 IGF-1 濃度を増加させ，hGH 含量が同程度である rhGH と比較した場合，somatrogon 投与後の C_{max} は rhGH 投与後の 3～4 倍高いことが確認された。さらに，somatrogon 投与後の IGF-1 濃度の T_{max} は 36～48 時間であったが，rhGH 投与後では 20～24 時間であり，somatrogon の方が作用が持続することが確認された。

2.2. 効力を裏付ける試験

2.2.1. In vitro 薬理試験

Somatrogon の活性を明らかにするため，一連の in vitro 薬理試験を実施した。これらの試験を 2.6.3.2 項に要約する。

hGHR に対する somatrogon および rhGH の結合親和性を，BIAcore システムを用いた SPR 分析により比較した（報告書番号 CD-04-0029）。算出された Kd は，somatrogon では 18.46 ± 11.55 nmol/L

（平均値±標準偏差, 以下同じ）, rhGH では 0.55 ± 0.24 nmol/L であった。Somatrogon および rhGH を用いて 2 回目の結合親和性試験を実施した（報告書番号 CD-04-0058）。本試験では，ばらつきを抑えるため，hGHR に対する somatrogon の Kd 値の測定は 10 回，hGHR に対する rhGH の Kd 値の測定は 9 回実施し，算出された Kd 値は，somatrogon では 7.39 ± 5.23 nmol/L，rhGH では 0.91 ± 0.79 nmol/L であった。

また，ラット GHR および hGHR に対する somatrogon および rhGH の結合親和性を，SPR 分析により比較した（報告書番号 CD-04-0029）。ラット GHR では, somatrogon の Kd 値は 6.57 ± 0.64 nmol/L と算出された。ラット GHR に対する somatrogon の親和性は，この試験（報告書番号 CD-04-0029）で検討した hGHR に対する親和性（18.46 ± 11.55 nmol/L）よりも高かったが，統計学的に有意ではなかった（t 検定，p 値＞0.43）。ラット GHR では，rhGH の Kd 値は 0.54 ± 0.19 nnol/L と算出され，hGHR に対する Kd 値（0.55 ± 0.24 nmol/L）にほぼ等しく，ラットおよびヒト GHR に対する rhGH の親和性は同様であることを示している。

さらに，アカゲザルおよび hGHR に対する somatrogon および rhGH の結合親和性を，SPR 分析により比較した（報告書番号 CD-04-0058）。この試験（報告書番号 CD-04-0058）で検討した somatrogon の Kd 値はアカゲザル GHR では 13.15 ± 7.92 nmol/L，hGHR では 7.39 ± 5.23 nmol/L で，hGHR に対する somatrogon の結合親和性は，アカゲザル GHR に対する値よりも 1.8 倍高かった。一方，rhGH の Kd 値はアカゲザル GHR では 2.09 ± 1.33 nmol/L, hGHR では 0.91 ± 0.79 nmol/L で, hGHR に対する rhGH の結合親和性はアカゲザル GHR に対する値よりも 2.3 倍高かった。これらの結果から，somatrogon および rhGH のアカゲザルの GHR に対する親和性は，hGHR に対してよりも約 2 倍程度低いことが示された。

Somatrogon の BAFB2B2 細胞株増殖誘導能を検討した。BAFB2B2 細胞株は，hGHR を定常発現させたマウス初代 pro-B BAF-3 細胞である。2 回の試験を実施し（それぞれ報告書番号 CD-04-0029 および CD-04-0058），これらの試験において，somatrogon は増殖を誘導し，EC_{50} 値は 15.8 ± 2.0 および 12.2 ± 2.4 ng/mL であった。一方, rhGH は somatrogon よりも低い濃度で増殖を誘導し, EC_{50} 値はそれぞれ 0.36 ± 0.06 および 0.37 ± 0.06 ng/mL であった。

また，本実験系を用いて，somatrogon の受容体結合性を，ラットおよびアカゲザル GHR ならびに hGHR で比較した（報告書番号 CD-04-0029 および CD-04-0058）。可溶性組換え型ラット GHR は，somatrogon による細胞増殖を阻害し，算出されたラット GHR の IC_{50} 値は 26.5 ± 4.7 ng/mL であったのに対し，この試験（報告書番号 CD-04-0029）で求めた hGHR の IC_{50} 値は 29.9 ± 7.2 ng/mL であった。可溶性組換え型アカゲザル GHR は，somatrogon による細胞増殖を阻害し，算出された IC_{50} 値は 212.6 ± 25.4 ng/mL であった。一方, この試験（報告書番号 CD-04-0058）で求めた hGHR の IC_{50} 値は 67.3 ± 13.2 ng/mL であった。rhGH による増殖に関しては, 算出されたアカゲザル GHR の IC_{50} 値が 13.62 ± 5.97 ng/mL であったのに対し, hGHR の IC_{50} 値は 3.74 ± 1.68 ng/mL であった。Somatrogon および rhGH のいずれに関しても，可溶性アカゲザル GHR による細胞誘導性増殖に対する阻害作用は，hGHR よりも約 3 倍低かった。ラット，アカゲザル，およびヒトの可溶性組換え型 GHR は, somatrogon による増殖を近い濃度で阻害したことから, somatrogon のラット GHR およびアカゲザル GHR に対する結合親和性と，somatrogon と hGHR の結合親和性は概ね同様であることが裏付けられた。これらの結果は，hGHR とアカゲザル GHR のアミノ酸配列の類似性が 94.1%との報告[8]と符合する。一方，hGHR とラット GHR のアミノ酸配列の相同性は 68.9%である[9]。De Vos らは，hGH と hGHR 間の相互作用に必須なアミノ酸残基の解析を行い，受容体上

の R43，W104，E127，K167，W169，および N218 のアミノ酸残基が hGH と hGHR との相互作用に重要であることを示した[10]。アカゲザルではこれらの重要なアミノ酸残基がすべて保存されており，ラットでは 6 アミノ酸中 4 アミノ酸が保存されている。このことから，somatrogon は，ラット GHR に対しても hGHR と同様な結合親和性を示したことが推察される。

Somatrogon の STAT5 リン酸化能を検討した（報告書番号 CD-04-0121）。hGHR を定常発現する HEK293 細胞（HEK293-hGHR）を rhGH または somatrogon とインキュベートすると，STAT5 がリン酸化された。リン酸化反応は濃度依存性がみられ，高濃度の somatrogon および rhGH では飽和し，強いバンドが認められた。Somatrogon によるリン酸化は rhGH と同じ効果を得るには，より高い濃度が必要であった。

GH による遺伝子発現調節について評価するため，ルシフェラーゼ活性試験を実施した（報告書番号 CD-04-0121）。hGHR 発現細胞とインキュベートした rhGH および somatrogon の濃度の増加に伴い，ルシフェラーゼ活性が増加した。反応は概ね濃度依存的であった。比較可能な同程度の濃度においてルシフェラーゼ活性を比較すると，somatrogon の活性は rhGH よりも若干低かった。これらの結果は，BAFB2B2 細胞株を用いた増殖試験で rhGH の方が somatrogon よりも高い in vitro 活性を示した結果と一致している。

2.2.2. In vivo 薬理試験

成長ホルモンとしての主な作用である somatrogon による体重増加作用を，経耳的に下垂体切除した雄の Sprague-Dawley ラット（3～4 週齢）を用いた単回投与試験（報告書番号 CD-04-0034；2.6.3.2 項）において検討し，rhGH の連日反復投与と比較した。rhGH 0.1 mg/kg の連日投与 4 日の累積体重増加量は，somatrogon 0.55 および 1.1 mg/kg の単回投与と同様であった。

次に，反復投与による体重増加作用を比較する試験を実施した（報告書番号 CD-04-0034；2.6.3.2 項）。Somatrogon 0.48 mg/kg/回を 4 日間隔で投与したときの体重増加量は，rhGH（0.1 mg/kg/日）と同程度であるが，投与回数は少なく，hGH の総用量も低いことが確認された。Somatrogon 投与後の体重増加量は用量依存的であり，somatrogon を 1.45 および 4.34 mg/kg/回の用量で 4 日間隔で投与した場合，rhGH の連日投与（0.1 mg/kg/日）よりも体重増加量が大きかった。Somatrogon を 0.48 および 1.45 mg/kg/回の用量で 7 日間隔で投与した場合は，rhGH を連日投与したときよりも体重増加量が小さかった。ラットにおける somatrogon の薬物動態プロファイルから，血中に薬剤が認められるのは皮下投与後 96 時間までであることが示された（試験報告書 CD-04-0035）。このため，somatrogon をラットに 7 日間隔で投与すると，血中の成長ホルモン濃度が有効濃度を維持できないことが示唆される。またこの結果から，ラットでは 4 日間隔の投与で有効性が高いことも確認された。

ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験および 2 週間回復性試験（2.4.4.3 項）では，somatrogon を，7 週齢の雌雄 Sprague-Dawley ラットに，0（溶媒対照），3.6，36，または 180 mg/kg の用量で，週 2 回皮下投与した（報告書番号 1592-003；2.6.3.2 項）。溶媒対照群と比較して，180 mg/kg 群のラットでは試験 5 日（雌）および 8 日（雄）から体重が高値となり，投与期間および休薬期間を通じて高値を維持した。溶媒対照群と比較し，雄の平均体重は 4%～13%，雌では 9%～35% 高く，ほとんどの測定日で統計学的に有意であった。36 mg/kg 群では統計学的に有意ではなかったものの，雄の平均体重は試験 15 日からやや高値（約 4%）となった。一方，同群の雌の平均体

重は試験 8 日から溶媒対照群よりも有意に高値（8%～21%）であった。3.6 mg/kg 群の雌雄の平均体重は溶媒対照群と同程度であり，somatrogon の投与による影響は認められなかった。

GH は，肝臓での IGF-1 の産生および体循環への放出を促進する。IGF-1 は，小児の線形成長の促進，ならびに成人の代謝および身体組成の制御に関与している[11,12]。下垂体を切除した雄の Sprague-Dawley ラットに，somatrogon は 0.6 または 1.8 mg/kg の用量で，rhGH は 0.35 または 1.05 mg/kg の用量で単回皮下投与した。Somatrogon を投与したときの血清中 IGF-1 濃度は，rhGH を投与したときよりも高く，モル濃度が同程度である somatrogon 0.6 mg/kg 群を rhGH 0.35 mg/kg 群と，somatrogon1.8 mg/kg 群を rhGH 1.05 mg/kg 群と比較したところ，somatrogon 投与後の IGF-1 の C_{max} は rhGH 投与後の 3～4 倍高いことが確認された。Somatrogon 投与後の IGF-1 の T_{max} は 36～48 時間であったが，rhGH 投与後では 20～24 時間であり，somatrogon の方が作用が持続することが裏付けられた。

ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験および 2 週間の回復性試験（2.4.4.3 項）の一環として，トキシコキネティクス評価群の血液検体を用い，IGF-1 を定量した（報告書番号 1592-003 Addedum；2.6.3.2 項）。雌雄いずれにおいても試験 1 日および 26 日の IGF-1 濃度が投与前値よりも高かったことから，somatrogon は全用量で薬理学的に活性であったことが示された。3.6 および 36 mg/kg 群の雌雄ラットでは，試験 26 日の投与前の IGF-1 濃度が試験 1 日の投与前の濃度よりも高かったことから，somatrogon に対する反応は持続性があると考えられた。雌雄いずれにおいても，3.6 mg/kg 群における IGF-1 反応の方が 36 mg/kg 群における反応よりも高く，反応は用量比例的ではなかった。雌では，180 mg/kg の高用量で，試験 1 日および 26 日の両日に最も高い IGF-1 反応が認められた。このように IGF-1 濃度は somatrogon の全用量で上昇していたが，明確な用量反応性は認められなかった。

サルを用いた 4 週間反復投与毒性試験および 2 週間回復性試験（2.4.4.3 項）では，somatrogon を，若齢（約 1 歳～5 歳）の雌雄アカゲザルに，0（溶媒対照），1.8，18，または 90 mg/kg の用量で，6 日間隔で皮下投与した（報告書番号 1592-004；2.6.3.2 項）。試験 1 日および 19 日に，雌雄いずれにおいても投与後 96 時間まで IGF-1 濃度が対照群よりも高いことが認められ，somatrogon は全投与群で試験を通して薬理学的に活性を有することが示された。雌では試験 1 日の 18 mg/kg 群における IGF-1 濃度が 90 mg/kg 群よりも高く，明確な用量反応性は得られなかったが，雌雄いずれにおいても 1.8 mg/kg 群の濃度は最も低かった。雄の 90 mg/kg 群ならびに雌の 18 および 90 mg/kg 群における試験 19 日の投与前の IGF-1 濃度は，試験 1 日の投与前の濃度より著明に高く，作用の持続性が示唆された。これらの結果から，somatrogon はアカゲザルにおいて hGH 様の生物活性を有することが示された。

サルを用いた 26 週間反復投与毒性試験および 4 週間回復性試験（2.4.4.3 項）では，somatrogon を若齢の雌雄アカゲザルに，0（溶媒対照），1.5，15，または 30 mg/kg の用量で 26 週間，5 日間隔で皮下投与した（報告書番号 1592-006；2.6.3.2 項）。さらに，陽性対照として，rhGH 3.6 mg/kg/日を雌雄各 6 匹に 1 日 1 回皮下投与した。Somatrogon 投与により，明確な用量反応性は得られなかったものの IGF-1 濃度が増加した。また，rhGH を投与した場合にも IGF-1 濃度が増加した。Somatrogon 低用量（1.5 mg/kg）群における IGF-1 濃度増加は，溶媒投与群よりは大きかったが，中・高用量群または rhGH 投与群と比較すると小さかった。rhGH における IGF-1 濃度増加は，somatrogon の中（15 mg/kg）および高用量（30 mg/kg）群と同様であった。試験 91 日以降の IGF-1 反応は安定したようにみられ，試験 181 日の IGF 濃度は試験 91 日とほぼ同様であった。下垂体

機能が正常な動物では，内因性成長ホルモンの関与や正常レベルの IGF-1 が誘導されていることから，GH と IGF-1 の用量反応関係を評価することは困難であった。しかし，IGF-1 濃度が上昇していたことから，somatrogon は GH と同様の生理活性を有していることが示された。

2.3. 副次的薬理試験

Somatrogon および陽性対照薬である rhGH について，様々な膜貫通型および可溶性受容体，イオンチャネル，ならびにモノアミントランスポーターに対する親和性（オフターゲット結合）を in vitro で評価した（報告書番号 CD-04-0127；2.6.3.3 項）。Somatrogon は 12 nmol/L，rhGH は 10 nmol/L の単一の濃度において，ラット大脳皮質由来のグルタミン酸（N-メチル-D-アスパラギン酸，フェンサイクリジン部位）受容体を除き，すべての標的に対する結合阻害率は 50%未満であった。グルタミン酸受容体に対する阻害率は，somatrogon が約 70%，rhGH が約 84%であり，概してこのオフターゲット結合試験において，somatrogon と rhGH との間に差は認められなかった。Somatrogon は rhGH と同様の結合パターンを示し，somatrogon は長時間作用性にするために CTP を rhGH に融合させているが，rhGH との比較において，この CTP 融合による被験物質のオフターゲット結合プロファイルに対する影響はないことが示唆された。

2.4. 安全性薬理試験

ICH S6（R1）により，タンパク質をベースとする生物学的製剤に関しては，毒性試験に組み込んで評価することが可能なため[3]，独立した somatrogon の安全性薬理試験は実施していない。アカゲザルを用いた重要な試験（報告書番号 1592-004 および 1592-006）では，心電図パラメータ（心拍数，RR 間隔，PR 間隔，QRS 間隔，QT 間隔，および補正 QT 間隔）を含む安全性薬理に関する評価項目を設定し，ラット（報告書番号 1592-003）およびアカゲザルを用いた重要な試験では，中枢神経系および呼吸器系に対する影響を評価した。中枢神経系，呼吸器系，および心血管系において，被験物質投与に関連した影響は認められなかった。

2.5. 薬力学的薬物相互作用

Somatrogon の薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。

3. 薬物動態試験

3.1. 概略

Sprague-Dawley ラットおよびアカゲザル（毒性試験に用いた動物種）に somatrogon を皮下に単回投与することにより，薬物動態試験およびトキシコキネティクス試験を実施した。曝露量（C_{max} および AUC により評価）は，ほぼ用量に比例して増加した。曝露量に明らかな性差は認められなかった。ラットに単回投与したとき，somatrogon は rhGH と比べて見かけの終末相消失半減期（$t_{1/2}$）および T_{max} は長く，見かけのクリアランス（CL/F）が低かった。

Somatrogon のトキシコキネティクスおよび免疫原性は，ラット（4 週間毒性試験）およびアカゲザル（4 週間および 26 週間毒性試験）を用いた反復皮下投与による，重要な反復投与毒性試験の一環として評価した。ラットを用いた 4 週間毒性試験では，曝露量はほぼ用量に比例して増加した。曝露量は試験 1 日よりも試験 26 日の方が大きかった。試験 1 日よりも試験 26 日の方が $t_{1/2}$ は延長し，CL/F は低下し，T_{max} は遅延した。サルを用いた 4 週間および 26 週間の毒性試験では，曝露量はほぼ用量に比例して増加した。26 週間毒性試験において，予想された通り rhGH 投与群

と比較して，somatrogon 投与群では $t_{1/2}$ および T_{max} が長く，CL/F が低く，その結果曝露量が大きかった。Somatrogon は hGH に hCG の β 鎖の CTP 配列を 3 コピー（1 コピーは N 末端，2 コピーは C 末端）融合することにより形成される。この負荷電で高度にシアル化した CTP 領域をグリコシル化することにより，腎クリアランスの減少やアシアロ糖タンパク質受容体を介したクリアランスの減少が生じ，その結果として血中半減期が延長することが期待される。

妊娠ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では，somatrogon の胎児への曝露量は用量の増加に伴い増加することが確認されたが，胎児の濃度は母動物よりも著明に低かった。

抗 somatrogon 抗体の発現率はラットの方がアカゲザルより高く，両動物種とも，somatrogon の hGH 領域および CTP 領域の両方に対する抗体が検出された。中和活性も認められたが，これらの動物では somatrogon の曝露量および IGF-1 応答は影響を受けなかった。rhGH に対する抗薬物抗体（ADA）の発現率は somatrogon 投与で認められた発現率と同程度であった。

Somatrogon は，糸球体濾過のカットオフを超える分子量を持つ他の蛋白質と同様に，主に蛋白質分解により異化されると考えられる。Somatrogon のようなバイオテクノロジー応用医薬品については ICH-S6(R1)「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」の考え方に基づき，必ずしも排泄試験を実施する必要はないと考えられることから，動物を用いた排泄試験は実施しなかった。

hGH と CYP 基質であるアンチピリンとの臨床的薬物相互作用が認められたため，ヒト肝細胞を用いた somatrogon と rhGH の in vitro 試験を実施した。Somatrogon および rhGH は，CYP1A2，CYP2B6 および CYP3A4 に対して類似した in vitro 誘導プロファイルを示し，CYP1A2 および CYP2B6 の誘導剤ではないが CYP3A4 の弱い誘導剤であることが示唆された。

Somatrogon は主として蛋白質分解により異化されるため，生物製剤や低分子化合物は somatrogon の薬物動態に影響を及ぼさないと考えられる。Somatrogon が薬物代謝酵素およびトランスポーターを阻害する可能性については，非臨床 in vivo 試験および臨床 in vivo 試験とも検討されていない。

Somatrogon の非臨床薬物動態試験および分析法の一覧を 2.6.5.1 項に示す。

3.2. 分析法

Sprague-Dawley ラットおよびアカゲザルを用いた反復投与毒性試験（GLP 適用）では，somatrogon の定量および somatrogon に対する抗体の検出のため，バリデートされた分析法を使用した。アカゲザルを用いた GLP 適用反復投与毒性試験では，バリデートされた分析法を用いて rhGH の定量および rhGH に対する抗体の検出も行った。また，Sprague-Dawley ラットおよびアカゲザルを用いた GLP 適用反復投与毒性試験では，酵素免疫測定法（ELISA）を用いたラットおよびサルの血清中の IGF-1 を定量した。分析法の概要を以下の項，および 2.6.5.2A，2.6.5.2B，2.6.5.2C に示す。

3.3. 吸収

3.3.1. 単回投与時の薬物動態評価

Somatrogon 単回皮下投与後の薬物動態は，ラットおよびアカゲザル（毒性試験に用いた動物種）を用いて評価した（2.6.6.2 項）。

3.3.1.1. ラット

下垂体切除した雄の Sprague-Dawley ラットを用いた薬理試験の一部として，somatrogon を 0.6 および 1.8 mg/kg，または rhGH を 0.35 および 1.05 mg/kg の用量で単回皮下投与したときの somatrogon および rhGH の血清中濃度推移を比較した（報告書番号 CD-04-0035，2.6.5.3A 項）。Somatrogon および rhGH はともに，C_{max} および AUC がほぼ用量に比例して増加した。Somatrogon の C_{max} および AUC は rhGH に比べてそれぞれ 2 倍および 10 倍高く，somatrogon の $t_{1/2}$ および T_{max} はそれぞれ 5 倍および 16 倍長かった。Somatrogon と rhGH の $t_{1/2}$ および CL/F は用量に依存せず，それぞれ約 7.0 時間と 1.5 時間，および 50 mL/h/kg と 270 mL/h/kg であった。

単回投与毒性試験の一部として，somatrogon を 3.6，36 および 180 mg/kg の用量で雌雄の Sprague-Dawley ラットに単回皮下投与したときの血清中濃度推移を検討した（報告書番号 1592-001，2.6.5.3B および 2.6.7.5 項）。Somatrogon の薬物動態パラメータに性差は認められず，曝露量は用量にほぼ比例して増加した。T_{max} は 6 時間以上，CL/F および $t_{1/2}$ はそれぞれ 92～151 mL/h/kg および 4.7～5.5 時間であった。

3.3.1.2. サル

単回投与毒性試験の一部として，雌雄のアカゲザル（各用量群 3 匹）に somatrogon を 1.8 mg/kg および 90 mg/kg の用量で単回皮下投与したときの血清中濃度推移を検討した（報告書番号 1592-002，2.6.5.3C および 2.6.7.5 項）。Somatrogon の曝露量（C_{max} および AUC に基づく）に性差は認められず，ほぼ用量に比例して増加した。T_{max} は，1.8 mg/kg の用量で 4 時間，90 mg/kg の用量では 11 時間であった。Somatrogon の $t_{1/2}$ および CL/F は用量に依存せず，それぞれ約 10 時間および 37～48 mL/h/kg であった。

3.3.2. 反復投与時の薬物動態および ADA の評価

Somatrogon 反復皮下投与後の薬物動態および ADA の評価は，ラットとアカゲザルを用いた反復投与毒性試験ならびにラットを用いた受胎能および胚・胎児発生に関する試験の一部として実施したトキシコキネティクス評価を用いた（2.6.6.3 および 2.6.6.6 項）。

3.3.2.1. ラット

Somatrogon の反復投与時の血清中濃度推移および ADA の有無を，雌雄の Sprague-Dawley ラットに somatrogon を 0（溶媒対照），3.6，36 および 180 mg/kg の用量で皮下投与した 4 週間反復投与毒性試験の一部として評価した（報告書番号 1592-003，2.6.5.4A および 2.6.7.7A 項）。Somatrogon の曝露量（C_{max} および AUC）に性差は認められず，ほぼ用量に比例して増加した。試験 26 日の曝露量（C_{max} および AUC）は，試験 1 日に比べて高かった。また，試験 1 日と比べて試験 26 日の $t_{1/2}$ は延長し，クリアランスは低下し，T_{max} は遅延した。なお，薬理作用から予想されたとおり，IGF-1 濃度の上昇が確認された。Somatrogon に対する ADA の有無を，投与前，溶媒対照群，および 180 mg/kg 群において評価した。投与前の分析では ADA は検出されなかった。一方，反復投与終了時では，溶媒対照群および 180 mg/kg 群のほぼすべての動物が抗体陽性と判断された。ただし溶媒対照群では，試験 1 日および試験 26 日の投与 8 時間後に採取した試料において，somatrogon 濃度は定量下限未満であった。さらに，産生した ADA の somatrogon の hGH 領域または CTP 領域に対する ADA の特異性を判断するために，ADA 陽性試料をさらに検査したところ，somatrogon の hGH 領域および CTP 領域の両方に対する抗体が存在すると考えられた。また，溶媒対照群および 180 mg/kg 群の両方で中和活性が認められた。なお，Somatrogon を投与された動

物で投与期間を通じて観察されたように，この ADA の誘導は somatrogon の曝露量および生物学的反応（体重増加量および IGF-1，2.6.2.2 項）のいずれにも影響を及ぼさなかった。

溶媒対照群において somatrogon に対する ADA が検出されたことに関して，追加の調査・検討を実施した（報告書番号 M-040-001）。溶媒対照群の緩衝液中に somatrogon は存在しないと結論されたが，試験 1 日から試験 26 日までの間の各投与日に調製した投与製剤および試験 1 日および試験 26 日以外の各試験日における溶媒対照群の血液試料について somatrogon の測定は行っていない。このため，試験中に somatrogon に曝露した可能性を完全には否定できない。しかしながら，溶媒対照群に ADA が存在したことは，本試験のトキシコキネティクス解析で得られた結論に影響を及ぼすものではなかった。

妊娠ラット（妊娠 6 日～18 日）に somatrogon を 0（溶媒対照），3，10 および 30 mg/kg で皮下投与した胚・胎児発生に関する試験（報告書番号 1592-008，2.6.5.7 および 2.6.7.13 項）では，somatrogon の曝露量は用量の増加に伴って増加した。妊娠 6 日と 18 日の曝露量（AUC_{24} および AUC_{48}）はおおむね同程度であった。妊娠 18 日の投与 24 時間後に採取し同腹児ごとにプールした胎児血液試料中に somatrogon が検出され，somatrogon の胎児への曝露が確認された。胎児の血清中 somatrogon 濃度（妊娠 18 日投与 24 時間後）は，母動物よりも著明に低値を示したものの，用量の増加に伴い増加した。母動物に 1 回当たり 3，10，および 30 mg/kg を投与したときの胎児の somatrogon 濃度は，それぞれ 2.52，5.09，および 14.9 ng/mL であった。

3.3.2.2. サル

サルに somatrogon を反復投与したときの血清中濃度推移および ADA の有無を，雌雄のアカゲザルに somatrogon を 0（溶媒対照），1.8，18，および 90 mg/kg の用量で皮下投与した 4 週間反復投与毒性試験の一部として評価した（報告書番号 1592-004，2.6.5.4B および 2.6.7.7B 項）。Somatrogon の曝露量（C_{max} および AUC）に性差は認められず，ほぼ用量に比例して増加した。曝露量は試験 1 日と 19 日で同程度であった。試験 1 日および 19 日の T_{max} は，投与後 4.7～15 時間であった。Somatrogon を投与した全てのサルで IGF-1 濃度の上昇が認められた。90 mg/kg 群のサル 1 匹（1/10）で抗体陽性（抗体価は低値）が認められたが，somatrogon の曝露量には影響しなかった。このサルから採取した試料をさらに検査したところ，CTP 領域に対する抗体は陰性であり，ADA は hGH 領域に対して特異性を示すと考えられた。また，産生された ADA は中和活性を持たないと判断された。

次に，雌雄のアカゲザルに somatrogon を 0（溶媒対照），1.5，15，および 30 mg/kg の用量で皮下投与した 26 週間反復投与毒性試験でも，薬物動態および ADA の有無を評価した（報告書番号 1592-006，2.6.5.4C および 2.6.7.7C 項）。Somatrogon の曝露量（C_{max} および AUC）に性差は認められず，ほぼ用量に比例して増加した。AUC の値は試験 1～91 日の間に増加したが，試験 181 日には更なる増加は認められなかった。C_{max} の値に反復投与後の増加はみられなかった。なお，試験 91 日および試験 181 日に血清中濃度の個体間変動が認められた。T_{max} は試験 1 日で 6.0～9.3 時間，反復投与後は最大 17 時間であった。CL/F，$t_{1/2}$，および Vz/F は用量群間で同程度であったが，試験 91 日および 181 日で投与群内での個体間変動が認められた。本試験では追加の群を設定して，陽性対照薬として rhGH を 3.6 mg/kg/日で連日投与した。予想されたとおり，somatrogon は rhGH と比べて $t_{1/2}$ が延長し，T_{max} が遅延し，CL/F が小さいことから，曝露量は rhGH より大きかった。各時点で血清 IGF-1 濃度を測定し，投与前の IGF-1 濃度と比較した。Somatrogon 投与による血清 IGF-1 濃度反応は，rhGH 投与後と同程度であった。Somatrogon の曝露量（AUC）と

同様に，この反応は，反復投与により試験 1 日から 91 日にかけ増加したが，その後更には増加しなかった。全用量群で somatrogon に対する抗体が検出されたが（1.5，15 および 30 mg/kg 群でそれぞれ 4/12，5/12 および 8/12 例），抗体価は低かった。すべての ADA 陽性試料で hGH 領域に対する抗体が産生されており，程度は低いものの CTP 領域に対する抗体も産生されていた。ADA 陽性の試料の一部で中和活性が認められたが，中和活性が陽性であった動物はすべて投与前にも中和活性が認められたことから，中和抗体が somatrogon 投与に起因する可能性は低いと考えられた。rhGH による ADA の発現率（5/12 例）は somatrogon 投与で認められたものと同程度であった。

3.4. 分布

非臨床試験で選択した動物種を用いた somatrogon の蛋白結合および組織分布の試験は実施していないが，ラット胚・胎児発生に関する試験（報告書番号 1592-008）において，somatrogon は低濃度で胎児に分布することが確認されている（2.4.3.3.2.1 項）。

3.5. 代謝

Somatrogon の代謝試験は実施しなかった。somatrogon は主として蛋白質分解により代謝されると考えられる[13,14]。

Somatrogon は，hGH に 3 コピーの CTP を融合したものであり，1 コピーは N 末端に，2 コピー（タンデム）は C 末端に融合されている。Somatrogon の負荷電で高度にシアル化した CTP 領域をグリコシル化することにより，腎クリアランスの減少やアシアロ糖タンパク質受容体を介したクリアランスの減少が生じ，その結果として血中半減期が延長することが期待される[15,16,17,18]。

3.6. 排泄

低分子薬に対して通常実施される標準的な排泄試験は，somatrogon のようなバイオテクノロジー応用医薬品については ICH-S6(R1)「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」の考え方に基づき，必ずしも排泄試験を実施する必要はないと考えられることから，somatrogon については，動物を用いた排泄試験は実施しなかった。

3.7. 薬物動態学的薬物相互作用

Somatrogon による CYP1A2，CYP2B6 および CYP3A4 の mRNA 発現や酵素活性を誘導する可能性の評価は，3 例のドナーから得たヒト凍結保存肝細胞を用いて実施した（対照薬：rhGH）（報告書番号 8307138，2.6.5.12 項）。その結果，somatrogon は CYP1A2 および CYP2B6 の誘導剤ではないこと，および CYP3A4 の弱い誘導剤であることが示唆された。また，rhGH は somatrogon と類似した CYP 誘導プロファイルを示した。

生物学的製剤および低分子化合物は，somatrogon の薬物動態に影響しないと考えられる。Somatrogon および他の生物学的製剤はいずれも，一般的なタンパク質分解過程によってアミノ酸に分解されると考えられる。同様に，somatrogon の薬物動態は，クリアランス機序が異なるため低分子薬の影響を受ける可能性は低い。Somatrogon が薬物代謝酵素およびトランスポーターを阻害する可能性については，非臨床 in vivo 試験および臨床 in vivo 試験とも検討されていない。

3.8. その他の薬物動態試験

雄ラットに somatrogon を 1.5 mg/kg の用量で単回皮下投与し，3 ロットの somatrogon の薬物動態を比較した（報告書番号 PF-06836922_[redacted]_115204，2.6.5.16 項）。Somatrogon の薬物動態パラメータおよび血清 IGF-1 濃度の上昇の程度は 3 ロット間で同程度であった。

4. 毒性試験

4.1. 概略

一連の毒性試験で，somatrogon を評価した（Table 1 および 2.6.7.1 項）。トキシコキネティクス試験の概要およびトキシコキネティクスデータの要約は，それぞれ 2.6.7.2 および 2.6.7.3 項に示した。また，毒性試験で使用した被験物質のロットを 2.6.7.4 項に要約した。これらの試験の投与経路には，予定臨床投与経路である皮下投与を選択した。

げっ歯類および非げっ歯類として，それぞれ Sprague-Dawley ラットおよびアカゲザルを選択した。ラットおよびアカゲザルでは in vitro ならびに in vivo で somatrogon の薬理活性が認められたことから，これらを毒性試験に用いる動物種として選択した。ラットでは免疫応答（ADA）が発現する可能性があり，アカゲザルにはこの可能性が低いと考えられるため，長期の試験にはアカゲザルを選択した。

Table 1.　Somatrogon の毒性試験プログラムの概要

試験 [a,b]	報告書番号	用量（mg/kg）	GLP 適用状況	概要表
単回投与毒性試験				
Sprague-Dawley ラットを用いた単回皮下投与毒性試験（観察期間 6 日間）	1592-001	3.6, 36, 180	非適用	2.6.7.5
アカゲザルを用いた単回皮下投与毒性試験（観察期間 13 日間）	1592-002	1.8, 90	非適用	2.6.7.5
反復投与毒性試験				
Sprague-Dawley ラットを用いた 4 週間皮下投与毒性試験および 2 週間回復性試験	1592-003	0, 3.6, 36, 180 [c]	適用	2.6.7.7A
アカゲザルを用いた 4 週間皮下投与毒性試験および 2 週間回復性試験	1592-004	0, 1.8, 18, 90 [d]	適用	2.6.7.7B
アカゲザルを用いた 26 週間皮下投与毒性試験および 4 週間回復性試験	1592-006	被験物質 [e]： 0, 1.5, 15, 30 陽性対照物質（1 日 1 回）： rhGH（Bio-Tropin®）3.6	適用	2.6.7.7C
遺伝毒性試験				
実施せず				
がん原性試験				
実施せず				
生殖発生毒性試験				

Table 1.　Somatrogon の毒性試験プログラムの概要

試験 [a,b]	報告書番号	用量（mg/kg）	GLP 適用状況	概要表
Sprague-Dawley ラットを用いた皮下投与による胚・胎児発生に関する試験のための用量設定試験	1592-007	0, 2.5, 5, 10, 30 [f]	適用	2.6.7.11
Sprague-Dawley ラットを用いた皮下投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験	1592-009	0, 3, 10, 30 [g]	適用	2.6.7.12
Sprague-Dawley ラットを用いた皮下投与による胚・胎児発生に関する試験	1592-008	0, 3, 10, 30 [f]	適用	2.6.7.13
Sprague-Dawley ラットを用いた皮下投与による出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験	1592-010	0, 3, 10, 30 [h]	適用	2.6.7.14
局所刺激性試験				
実施せず				
その他の毒性試験				
探索的試験：Sprague-Dawley ラットを用いた 4 週間皮下投与試験および 2 週間回復性試験の対照群における抗体の検出に関する試験	M-04-001	対照物質（9 mL/kg）[c]： クエン酸緩衝液（バイアル入り） クエン酸緩衝液（バルクの予備サンプル） PBS	非適用	2.6.7.17

GLP：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，PBS：リン酸緩衝生理食塩水，rhGH：組換え型ヒト成長ホルモン
a. GLP 適用試験はすべて，経済協力開発機構（OECD）のデータ相互受入れ制度への加盟国（米国）で実施。
b. 胚・胎児発生に関する試験のための用量設定試験および重要な胚・胎児発生に関する試験（それぞれ報告書番号 1592-007 および 1592-008）では雌のみを使用，その他の in vivo 試験はすべて雌雄の動物を用いて実施。
c. 週 2 回投与（試験 1，5，8，12，15，19，22 および 26 日）
d. 6 日間に 1 回投与
e. 5 日間に 1 回投与
f. 2 日間に 1 回投与（妊娠 6～18 日）
g. 2 日間に 1 回投与（雄には交配前 28 日間から同居期間を通じて安楽殺まで，雌には交配前 14 日間から同居期間を通じて妊娠 7 日まで）
h. 雌に，妊娠 6 日から授乳 20 日まで 2 日間に 1 回投与

Somatrogon は，すべての単回および反復投与毒性試験ならびに生殖発生毒性試験において，クエン酸緩衝液（10 mmol/L クエン酸，147 mmol/L 塩化ナトリウム）で調製した液剤として皮下投与した。Somatrogon の濃度は溶媒で 20.2～40 mg/mL に調製し，投与容量はアカゲザルで最大 4.5 mL/kg，ラットでは最大 9 mL/kg とした。毒性試験で投与した最高用量は，皮下投与で投与可能な容量の限界，投与製剤の溶解度，およびヒトに臨床用量を投与したときの 10 倍以上の曝露量が確実に得られることに基づいて設定した。4 週間および 26 週間試験における投与頻度は，投与期間を通じて曝露が得られるよう，Sprague-Dawley ラットでは週 2 回（4 週間試験），アカゲ

ザルでは 5 日間に 1 回（26 週間試験）または 6 日間に 1 回（4 週間試験）とした。投与頻度が異なるのは，アカゲザルでは Sprague-Dawley ラットに比べて somatrogon の半減期が長いためである（2.4.3.3 項）。生殖発生毒性試験では，2 日間に 1 回投与することとした。

実施した非臨床試験の結果に基づき，ラットおよびアカゲザルのいずれにおいても，注射部位の所見が唯一の標的臓器として特定された。注射部位の所見は重症度が軽微から軽度であり，かつ休薬期間終了時には概ね回復したことから，これらの所見は毒性変化ではないと判断された。ラットでは，成長ホルモンの主要な薬力学的作用であり，IGF-1 上昇の二次的な影響である体重増加が認められた。その他，ラットの乳腺，肝臓，腎臓および脾臓に薬理作用に関連する所見が認められたが，2 週間の休薬期間後には部分的または完全に回復した。ラットを用いた 4 週間試験およびアカゲザルを用いた 26 週間試験における無毒性量はそれぞれ 180 mg/kg および 30 mg/kg であり，これらの無毒性量における C_{max} 値および AUC_{last} 値は，ラットで 95.7 µg/mL および 3280 µg•h/mL（C_{av} は 39.0 µg/mL），アカゲザルでは 50.9 µg/mL および 1430 µg•h/mL（C_{av} は 11.9 µg/mL）である。C_{max} および C_{av} に基づく臨床との曝露量比[a]は，ラットでそれぞれ 161 倍および 260 倍，アカゲザルでそれぞれ 86 倍および 79 倍であった。反復投与毒性試験で認められた所見に関するリスク評価は 2.4.4.10 項，認められた所見と薬物動態との関連は 2.4.4.9 項，Table 2 に示した。

4.2. 単回投与毒性

Sprague-Dawley ラットに somatrogon を 3.6，36 または 180 mg/kg の用量で単回皮下投与し，その後 6 日間を観察期間とした（報告書番号 1592-001，2.6.7.5 項）。ラットに 180 mg/kg までの用量を単回皮下投与したときの忍容性が確認され，概略の致死量は 180 mg/kg 超であった。ラットに 180 mg/kg の用量で単回皮下投与したときの C_{max} および AUC_{last} はそれぞれ 69.4 µg/mL および 1960 µg•h/mL であった。

アカゲザルに somatrogon を 1.8 mg/kg または 90 mg/kg の用量で単回皮下投与し，その後 13 日間を観察期間とした（報告書番号 1592-002，2.6.7.5 項）。アカゲザルに 90 mg/kg までの用量で単回皮下投与したときの忍容性が確認され，概略の致死量は 90 mg/kg 超であった。アカゲザルに 90 mg/kg の用量で単回皮下投与したときの C_{max} および AUC_{last} はそれぞれ 109 µg/mL および 2440 µg•h/mL であった。

4.3. 反復投与毒性

ラットでは免疫応答が発現する可能性が懸念されること，ならびに[redacted]，慢性毒性試験はアカゲザルのみを用いて実施した。ラットでは somatrogon の週 2 回皮下投与による 4 週間の試験を実施し，高用量（180 mg/kg）において ADA（抗 somatrogon 抗体）が高い頻度で認められている。この抗体は somatrogon と hGH の双方に中和活性を示したことから，これより長期の試験では，曝露量と IGF-1 反応がともに低下する可能性があると考えられた。

[a] 小児 GDH 患者に臨床投与量である 0.66 mg/kg/週を投与した結果からシミュレートした C_{max} および C_{av} はそれぞれ 0.593 µg/mL および 0.150 µg/mL である。ヒトの C_{av} は AUC 値（25.2 µg•h/mL）を投与間隔（168 時間）で除した値である（2.7.2.6.1 項）。

4 週間皮下投与毒性試験および 2 週間回復性試験では，雌雄の 6 週齢 Sprague-Dawley ラット（雌雄各 10 匹/群）に somatrogon を 0（溶媒対照），3.6，36 または 180 mg/kg の用量で週 2 回皮下投与した（報告書番号 1592-003，2.6.7.7A 項）。溶媒対照群および 180 mg/kg 群には雌雄各 5 匹の動物を追加し，これらの動物は投与後 2 週間の休薬期間を設け観察を継続した。また，別途サテライト群（溶媒対照群に雌雄各 5 匹，3.6，36 および 180 mg/kg 群には雌雄各 11 匹）を設定し，試験 1 日および 26 日に血清中 somatrogon 濃度を測定した。

すべての動物が投与終了後の安楽殺時点まで生存し，一般状態，血液凝固検査値，尿検査値または剖検所見に被験物質投与に関連した毒性所見は認められなかった。36 mg/kg 群および 180 mg/kg 群の雌雄では，溶媒対照群と比較して，被験物質投与に関連した体重および摂餌量の増加が認められた。投与終了時には，180 mg/kg 群の雌雄で赤血球パラメータ（赤血球数，ヘモグロビンおよびヘマトクリット），36 mg/kg 群では赤血球数が対照群と比較してわずかに減少し（5%～12%），180 mg/kg 群の雌では，このわずかな貧血に関連して網状赤血球数の増加が認められた。血小板数の軽微な増加が 36 mg/kg 群および 180 mg/kg 群の雌雄で用量反応性に認められたが，これらは被験物質投与に関連した変化であり，骨髄に対する再生活性を示している可能性があると考えられた。これらの変化はすべて，雌雄ともに休薬期間中に概ね回復し，被験物質投与に起因する可能性はあるが毒性変化ではないと判断された。36 mg/kg 群および 180 mg/kg 群では，投与終了時に雌雄ともに溶媒対照群と比較して軽微なトリグリセリドの上昇（14%～85%）が用量反応性に認められた。休薬後には，180 mg/kg 群のトリグリセリドは雌では溶媒対照群と同程度であり，雄ではわずかに高値であった。臨床病理検査値におけるこれらの変化は，被験物質投与との関連が示唆されるものの，成長ホルモンを用いた先行試験で観察されている変化（貧血）と一致するか[19]，または被験物質投与による間接的な影響（すなわち，タンパク質同化作用に関連した変化）と考えられるものであり，その性質，程度および回復性を考慮すると毒性変化ではないと判断された。C_{max} および AUC により評価した曝露量に性差は認められず，用量にほぼ比例して増加し，試験 26 日の曝露量は試験 1 日に比べて高値であった。

IGF-1 濃度は，すべての用量において雌雄ともに試験 1 日および 26 日の両日で投与前値より増加したことから，somatrogon は薬理作用を発揮していることが確認された。また，3.6 mg/kg 群および 36 mg/kg 群の雌雄で，試験 26 日の投与前の IGF-1 濃度が試験 1 日の投与前の濃度よりも高値であったことから，somatrogon に対する反応は持続するものと考えられた。

投与終了時および 2 週間の休薬期間後に溶媒対照群および 180 mg/kg 群の大半の動物で ADA（抗 somatrogon 抗体）が認められた。Somatrogon を投与された動物で投与期間を通じて観察されたように，この反応は対照群との比較において somatrogon の曝露量および生物学的反応（体重増加量および IGF-1）のいずれにも影響を及ぼさなかった。

剖検時に被験物質投与に関連した肉眼的変化は認められなかった。総じて，somatrogon 投与により観察された解剖学的病理所見への影響は他の成長ホルモン製剤における報告と一致しており，目的とする薬理作用から予測できたものであった [19]。

被験物質を投与された動物では体重が増加したために複数の器官の絶対重量が高値を示し，被験物質投与に関連した相対重量（対体重比および対脳重量比）の増加は副腎（雄のみ），肝臓，脾臓および胸腺に認められた。相対器官重量への影響は，副腎重量の増加がすべての用量群の雄で認められたことを除き，雌では 36 mg/kg 以上，雄では 180 mg/kg の用量で観察された。これに関

連する病理組織学的変化は，全用量群の雄および 36 mg/kg 以上の雌の肝臓でのみ認められた（軽微から中等度の門脈周囲空胞化）。これらの変化は脂肪蓄積／摂餌量増加およびトリグリセリド上昇と一致するものであり，被験物質投与による間接的影響と考えられた。休薬期間後には，被験物質投与に関連した器官重量の変化は 180 mg/kg 群の雌の肝臓および雄の脾臓のみに認められた。

被験物質投与に関連した病理組織学的所見は，乳腺における軽微から軽度の雌性化（全用量群の雄）および軽微から中等度の小葉過形成（36 mg/kg 以上の用量群の雌），肝臓における軽微から中等度の門脈周囲空胞化（全用量群の雄および 36 mg/kg 以上の用量群の雌），注射部位における軽微から軽度の単核球細胞浸潤（対照群を含めた全用量群の雌雄で観察され，雄では 180 mg/kg の用量で，雌では 36 mg/kg 以上の用量で発現頻度が増加），腎臓における軽微から軽度の尿細管石灰化（180 mg/kg 群の雌），ならびに脾臓における髄外造血の軽微な増加（180 mg/kg 群の雄）であった。休薬期間後には，被験物質投与に関連した変化は，乳腺（特に雄）にのみ持続して認められた。観察された病理組織学的変化は，被験物質の薬理作用から予測される変化，適応性の変化または投与手技に関連した変化であり，概して可逆的であることが示された。この結果より，これらの変化は毒性変化ではないと判断された。乳腺の変化［雌性化（雄）および小葉過形成（雌）］は，rhGH を投与されたラットにおいて過去に報告されている[20]。腎臓における尿細管石灰化は腎皮髄境界部に認められ，これは雌ラットでよくみられる所見であり，摂餌量の増加および食餌中のカルシウム：リン比の低下との関連が先行研究により報告されている[21]。

注射部位における局所刺激性に関連した一般状態および病理組織学的変化を除き，somatrogon の反復皮下投与後に認められたすべての影響は，予想される薬理作用と直接または間接的に関連したものであると判断され，2 週間の休薬期間後には部分的または完全に回復した。したがって，最高 180 mg/kg までの用量は忍容性があると判断されたことから，無毒性量は 180 mg/kg であり，この用量における試験 26 日の C_{max} および AUC_{last} はそれぞれ 95.7 µg/mL および 3280 µg•h/mL であった。

アカゲザルを用いた 4 週間皮下投与毒性試験および 2 週間回復性試験では，雌雄のアカゲザル（初回投与時に約 1～5 歳齢，雌雄各 3 匹/群）に somatrogon を 0（溶媒対照），1.8，18 または 90 mg/kg の用量で 6 日間に 1 回，4 週間皮下投与した（報告書番号 1592-004，2.6.7.7B 項）。溶媒対照群および 90 mg/kg 群には雌雄各 2 匹の動物を追加し，これらの動物は投与後 2 週間の休薬期間を設け観察を継続した。一般状態，体重，眼科学的検査，心電図，臨床病理検査，剖検または器官重量のパラメータには被験物質投与に関連した毒性所見は認められなかった。全体として，somatrogon に免疫原性は認められなかった。Somatrogon の hGH 領域のみに対する低抗体価の ADA が 90 mg/kg 群の雄 1 匹で認められ，CTP 領域に対する抗体は産生されなかった。この抗体は，somatrogon または hGH に対して中和活性を示さなかった。ADA 陽性に伴う毒性影響は認められず，抗体の存在による曝露量または生物学的反応性への影響も認められなかった（投与期間を通じて投与後に IGF-1 濃度の上昇が認められたことから）。全ての somatrogon 投与群で注射部位に軽微から軽度の急性炎症および単核細胞性血管周囲炎，18 mg/kg 群および 90 mg/kg 群で軽微な線維増殖が観察された。これらは主として真皮深層および皮下組織に認められ，真皮浅層および注射部位に隣接する骨格筋に達するものはほとんどなかった。注射部位における変化以外には，被験物質に関連した明らかな病理組織学的変化は認められなかった。休薬期間終了後には上記のいずれの病理組織学的変化も認められなかったことから，これらの変化は可逆的であり，毒性変化ではないと判断された。C_{max} および AUC により評価した曝露量は，用量の増加に伴って増加

した。曝露量に顕著な性差はなく，試験 1 日と試験 19 日の曝露量は同程度であった。初回投与後および 4 回目の投与後の IGF-1 濃度は被験物質を投与されたすべての動物で溶媒対照群に比べて高値であったことから，被験物質は投与期間を通じて薬理作用を発揮することが示された。これらの試験結果に基づくと無毒性量は 90 mg/kg と判断され，この用量における試験 19 日の C_{max} および AUC_{last} はそれぞれ 119 µg/mL および 4100 µg•h/mL であった。

アカゲザルを用いた 26 週間皮下投与毒性試験および 4 週間回復性試験では，雌雄の若齢アカゲザル（雌雄各 6 匹/群，約 2.5～4 歳齢）に somatrogon を 0（溶媒対照），1.5，15 または 30 mg/kg の用量で 5 日間に 1 回 26 週間皮下投与した（報告書番号 1592-006，2.6.7.7C 項）。また，追加の雌雄各 6 匹の動物を用い，陽性対照薬として 3.6 mg/kg/日の rhGH を 1 日 1 回投与した。投与期間終了時に各群の雌雄各 4 匹を安楽死させ，残る雌雄各 2 匹は投与後 4 週間の休薬期間に移行して観察を継続した。すべての動物が剖検時まで生存し，一般状態，体重，眼科学的検査，心電図または臨床病理検査の所見には被験物質投与に関連した影響は認められなかった。ADA は rhGH または somatrogon を投与された動物の約半数で検出された。Somatrogon に対する抗体はすべての用量群で検出され，いずれも低抗体価であった。ADA 陽性の検体はすべて，hGH 領域に対する抗体が産生されており，一部の ADA 陽性検体では CTP 領域に対する抗体も産生されていた。rhGH に対する ADA 産生の頻度は somatrogon で認められた頻度と同程度であった。IGF-1 反応に対する影響は認められなかったことから，somatrogon の生物学的作用は低抗体価の ADA では阻害されないことが示唆された。rhGH 群の動物では中和活性は認められず，somatrogon 群の動物では中和活性（hGH 領域に対する中和抗体）が散発的にみられたのみで，特定の傾向は認められなかった。全体として，somatrogon は軽度の免疫原性を有するが，顕著な中和活性は生じないと考えられた。IGF-1 濃度は被験物質の全用量群で上昇したが，明確な用量反応性は認められなかった。被験物質投与に関連した剖検所見または器官重量の変化は認められなかった。病理組織学的評価では，注射部位のみに変化が認められ，主な所見は rhGH 群および somatrogon 群（1.5 mg/kg 以上）でみられた軽微な混合細胞浸潤であった。その他の変化［滲出液，線維化，炎症，出血，および変性／壊死（somatrogon 群のみ）など］は rhGH 群および somatrogon 群で散発的に認められ，発現頻度は低く，重症度は軽微から軽度であった。休薬期間後にはこれらの影響の大部分が回復しており，rhGH 群の雄 1 匹および雌 1 匹に混合細胞浸潤が認められたのみであった。これらの試験結果に基づくと無毒性量は 30 mg/kg と判断され，無毒性量における試験 1 日の C_{max} および AUC_{last} はそれぞれ 50.9 µg/mL および 1430 µg•h/mL であった。

4.4. 遺伝毒性試験

ICH S6（R1）ガイダンスに基づくと，タンパク質をベースにしたバイオ医薬品には遺伝毒性試験は一般的に必要とされないため [3]，somatrogon の遺伝毒性試験は実施していない。

4.5. がん原性

ICH S1A ガイダンスには「内因性物質を補充療法として必ず与えなくてはならないような場合（すなわち生理的レベル），特に既に同様の製品（例えば，動物インシュリン，下垂体由来の成長ホルモン，およびカルシトニンなど）で臨床経験があるような場合には，がん原性試験は一般に必要ではない」と記載されていることから [4]，somatrogon のがん原性試験は実施していない。Somatrogon は，長時間作用型の rhGH であるものの，市販の rhGH よりも大きい発がんリスクはないと考えられる。加えて，somatrogon の治療目標の 1 つに IGF-1 濃度の正常化（すなわち，過

剰にならない）があり[22]，これは，IGF-1 濃度の上昇に関連したリスクの管理を助けるアプローチとなる。

GH および IGF-1 とがんの関連性は生物学的に説明し得るものであるにもかかわらず，過去数十年間に rhGH の主要な製造業者または国際レジストリによって実施された疫学研究では，rhGH 療法と腫瘍発生との因果関係を示す明確なエビデンスは得られていない[23]。また，IGF-1 濃度の上昇とがんの発生との関連性を示す分子機構および疫学的エビデンスがあるにもかかわらず，小児期および青年期の GH 療法とがんの新規発生との関連性は示されていない[6]。小児がん生存者ではその後の新生物のリスクが全体的にやや上昇する可能性はあるが，このリスクは時間とともに低下する。全体として，がんの発生に対する GH または IGF-1 の直接的な影響の機序を示すエビデンスはない。

また，ラットおよびマウスの rGH に関する試験が実施されて，がん原性はないことが示されており[24]，この結果は，発がんリスクの上昇が認められないことを示す臨床データと一致する[5,6,7]。

若齢（約 2.5～4 歳齢）サルを用いた 26 週間皮下投与毒性試験，ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験ならびに出生前及び出生後の発生に関する試験においても，発育中の動物への高用量の somatrogon の投与に伴う発育への形態学的影響または幼若組織における細胞分裂促進の可能性を示す徴候は認められなかった。ラットおよびサルを用いた毒性試験では，増殖性病変は観察されなかった。

ラットでは，somatrogon の投与による最長 4 週間の試験を実施した。これより長期の試験を実施することは可能であると考えられるが，従来の 2 年間がん原性試験は ADA の産生および注射部位の所見によって試験が完了できない可能性がある。ラットを用いた 4 週間試験では，この期間中には ADA 誘導による薬力学的反応またはトキシコキネティクスへの影響は認められなかったが，この抗体は somatrogon と hGH の双方に中和活性を示したことから，これより長期の試験では，曝露量と IGF-1 反応がともに低下する可能性があると考えられた。

以上のことおよび，ラットおよびサルでみられた所見に基づくと，somatrogon のがん原性のリスクプロファイルは市販の rhGH と同様であり，がん原性試験は実施していない妥当性は支持されると考える。この詳細は Carcinogenicity Assessment（4.3.1 項）に記載した。

4.6. 生殖発生毒性

[redacted]，胚・胎児発生に関する試験はラットのみを用いて実施した。生殖発生毒性試験では，GH について知られているものとは異なる予期せぬ毒性は認められなかった。観察された所見は，ジェノトロピン®（ソマトロピン，rhGH）で報告された所見と同様であり，ラットおよびウサギを用いて実施したジェノトロピンの胚・胎児発生に関する試験では催奇形性は認められていない[2]。

4.6.1. ラットを用いた皮下投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

雌雄の Sprague-Dawley ラット（雌雄各 25 匹/群）に somatrogon を 0（溶媒対照），3，10 または 30 mg/kg の用量で 2 日間に 1 回皮下投与した（報告書番号 1592-009，2.6.7.12 項）。雄への投与は交配の 28 日前から同居期間を通じて安楽殺までとし，全投与期間は約 8 週間であった。雌への投与は交配の 14 日前から同居期間を通じて妊娠 7 日までとした。被験物質投与に関連した一

般状態の変化は認められなかった。30 mg/kg の雄では投与期間のほぼ全体を通じて体重および体重増加量が溶媒対照群と比較して統計学的に有意に増加し，10 mg/kg 群でも体重増加がみられ，体重増加量は時に統計学的に有意に達した。雌では全用量群で，交配前および妊娠期間中に用量依存的かつ統計学的に有意な体重の増加が認められ，交配前の期間の体重増加量も有意に高値を示したが，妊娠中の体重増加量は高値であったものの，妊娠期間を通じての一貫した統計学的有意差は認められなかった。摂餌量は，10 mg/kg 以上の雄および雌（交配前）ならびに妊娠期間中には全用量群の雌で有意に増加した。体重および摂餌量の増加は被験物質の薬理作用に関連したものであり，毒性変化ではないと判断された。発情周期の長さおよび交尾間隔は 10 mg/kg 以上の群で明らかに長く，発情周期の回数は全用量群で有意に少なかったが，交尾率，受胎率および受精率への影響は認められなかった。子宮の検査では，溶媒対照，3，10 および 30 mg/kg 群で 25 腹中それぞれ 25，22，21 および 22 腹が評価可能であった。10 mg/kg 以上の用量群で黄体数，30 mg/kg 群で着床数の有意な増加が認められ，10 mg/kg 以上の用量群で着床前胚損失率のわずかな増加が認められたが，その他の子宮パラメータはすべて溶媒対照群と同程度であった。同様の影響（発情周期の延長，交尾までの時間の延長，黄体数および着床数の増加など）が他の成長ホルモン製剤でも観察されている [2,25]。精子パラメータ（運動性，濃度および形態）には，被験物質に関連した影響は認められなかった。剖検では，被験物質投与に関連した肉眼的所見は認められなかった。10 mg/kg 以上の用量群の雌および 30 mg/kg 群の雄で被験物質に関連した器官重量の増加が少数の器官にみられ，体重増加との関連が認められた。これらの結果に基づくと，雌雄の一般毒性学的影響，生殖に及ぼす影響および次世代の発生に及ぼす影響に関する無毒性量は 30 mg/kg であった。

4.6.2. ラットを用いた皮下投与による胚・胎児発生に関する試験

胚・胎児発生に関する試験（重要な試験）の実施に先立ち，用量設定試験を実施した。この試験では，交配済みの雌の Sprague-Dawley ラット（5 匹/群）に somatrogon を 0（溶媒対照），2.5，5，10 または 30 mg/kg の用量で妊娠 6 日から 18 日まで 2 日間に 1 回皮下投与した（報告書番号 1592-007，2.6.7.11 項）。すべての動物が試験終了時の安楽殺時点まで生存し，被験物質投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。母動物の体重は，30 mg/kg 群で溶媒対照群と比較して統計学的に有意に高値を示し，10 mg/kg 以下の群では対照群と比較してわずかに増加した。投与期間中（妊娠 6～18 日）の母動物の体重増加量は，5 mg/kg 以上の群で統計学的に有意に増加し，2.5 mg/kg 群で増加傾向が認められた。10 mg/kg 群および 30 mg/kg 群では，試験期間（妊娠 6～20 日）のほぼ全体を通して体重増加量が統計学的に有意に高値を示した。これらの増加は被験物質の薬理作用に関連したものである。母動物の摂餌量，肉眼所見，子宮パラメータ，胎児体重，性比または胎児の外表の形態には被験物質に関連した影響は認められなかった。これらの所見に基づき，母動物の一般毒性学的影響および生殖に及ぼす影響に関する無毒性量ならびに次世代の発生に及ぼす影響に関する無影響量は 30 mg/kg と判断した。

胚・胎児発生に関する試験（重要な試験）では，交配済みの雌の Sprague Dawley ラット（25 匹/群）に somatrogon を 0（溶媒対照），3，10 または 30 mg/kg の用量で妊娠 6 日から 18 日まで 2 日間に 1 回皮下投与した（報告書番号 1592-008，2.6.7.13 項）。被験物質に関連した一般状態の変化は認められなかった。全用量群で体重および体重増加量，10 mg/kg 以上の用量群で摂餌量に，溶媒対照群と比較して統計学的に有意かつ用量依存的な被験物質に関連した増加が認められた。これらの所見は被験物質の薬理作用に関連したものであり，毒性変化ではないと判断された。剖検所見，子宮パラメータ，胎児体重，性比または外表，骨格および内臓の変異もしくは奇形に対

する被験物質投与に関連した影響は認められなかった。C_{max} および AUC により評価した曝露量は概ね用量の増加に伴って増加した。胎児の血清中濃度は，母動物の濃度よりも低値（50 分の 1 以下）であったが，母動物の用量増加に伴って増加した。これらのデータに基づき，母動物の一般毒性学的影響および生殖に及ぼす影響に関する無毒性量および次世代の発生に及ぼす影響に関する無影響量は 30 mg/kg と判断し，この用量における妊娠 18 日の C_{max} および AUC_{24} はそれぞれ 8.96 µg/mL および 180 µg•h/mL であった。

4.6.3. ラットを用いた皮下投与による出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

妊娠および授乳期の雌の Sprague-Dawley ラット（25 匹/群）に somatrogon を 0（溶媒対照），3，10 または 30 mg/kg の用量で妊娠 6 日から授乳 20 日まで 2 日間に 1 回皮下投与した（報告書番号 1592-010，2.6.7.14 項）。F0 世代の雌には被験物質投与に関連した一般状態の変化は認められなかった。10 mg/kg 群および 30 mg/kg 群の F0 世代の雌で，妊娠および授乳中に，溶媒対照群と比較して統計学的に有意な体重，体重増加量および摂餌量の増加が認められ，3 mg/kg 群では統計学的に有意な体重増加量の増加が散発的に認められた。F0 世代の雌にみられた体重，体重増加量および摂餌量の増加は被験物質投与と関連があると考えられたが，これらの変化は被験物質の薬理作用に一致するものであり [2,25]，毒性変化ではないと判断された。剖検では，F0 世代の雌で副腎の腫大が用量依存的に認められた（3，10 および 30 mg/kg 群でそれぞれ 1，2 および 8 匹）。しかし，この所見は体重増加と関連があると考えられ，被験物質の薬理作用によるものであり，毒性変化ではないと判断された。F0 動物の分娩，F1 の同腹児数，離乳前の F1 動物の評価（性比，離乳までの生存率，一般状態，もしくは行動，発育および感覚の評価）または離乳後の F1 動物の評価［生存率，性成熟，行動評価（自発運動，学習および記憶），生殖能，受胎能ならびに肉眼的評価］において，被験物質に関連した影響は認められなかった。10 mg/kg 以上の群で，授乳 7 日から生後 28 日まで，雌雄の F1 動物の体重に溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。この増加は用量依存的であり，10 mg/kg 群で 6%～13%，30 mg/kg 群では 9%～20%高値であった。30 mg/kg 群では，F1 雄の体重は交配前，交配および交配後の期間を通じて 6%～8%高値であり，F1 雌の交配前および妊娠中の体重は約 6%～12%高値であった。F1 世代の雌雄にみられた体重の増加は被験物質の薬理作用と一致する変化であり [2,25]，毒性変化ではないと判断された。30 mg/kg 群の F1 雌では交尾間隔が 4.5 日と，対照群に比べてわずかに延長されたが，交尾間隔の延長は，発情周期の延長と一致しており，他の成長ホルモン製剤においても観察されている [2,25]。したがって，交尾率への影響はなかったことから，この交配間隔の延長は毒性変化ではないと考えられた。これらの所見に基づくと，F0 世代（母動物）の一般毒性学的影響および生殖に及ぼす影響ならびに次世代の発生に及ぼす影響に関する無毒性量は，検討した最高用量である 30 mg/kg であった。

4.6.4. 幼若動物を用いた試験

幼若動物を用いた試験は実施していないが，26 週間皮下投与毒性試験で用いたアカゲザル（約 2.5～4 歳齢）は幼若／若齢と考えられる。

ヒトでの GH 療法の使用実績および CTP 融合に伴う somatrogon の新たな標的臓器毒性はみられていないことから，既に得られている非臨床試験成績により，somatrogon の小児患者に対する使用に対して，適切にリスク評価ができると考える。

4.7. 局所刺激性試験

Somatrogon の独立した局所刺激性試験は実施していないが，反復投与毒性試験において，通常の一般状態観察ならびに剖検および病理組織学的検査で注射部位における局所刺激性を評価した。ラットを用いた 4 週間試験（2.4.4.3 項）では，溶媒対照群を含めた全用量群の雄（180 mg/kg 群で発現頻度が増加）ならびに 36 mg/kg 群および 180 mg/kg 群の雌で，被験物質投与に関連した軽微から軽度の単核球細胞浸潤が注射部位に認められた。同様に，アカゲザルを用いた 4 週間試験（2.4.4.3 項）では，somatrogon の全用量群で軽微から軽度の急性炎症および単核細胞性血管周囲炎，18 mg/kg 群および 90 mg/kg 群で線維増殖が注射部位に認められた。アカゲザルで観察された所見は主として真皮深層および皮下組織に認められ，真皮浅層および注射部位に隣接する骨格筋に達するものはほとんどなかった。アカゲザルを用いた 26 週間試験（2.4.4.3 項）では，1.5 mg/kg 以上の用量群で，皮下組織および真皮深層に見られ時に血管周囲に集簇する軽微な混合細胞浸潤が注射部位に認められた。注射部位におけるその他の炎症性変化および注射に関連した変化は散発的であり，発現頻度も重症度も低いものであった。いずれの動物種においても，局所変化は可逆的であった。

4.8. その他の毒性試験

4.8.1. 光毒性試験

Somatrogon のようなバイオ医薬品およびその代謝物（ペプチドおよびアミノ酸）に光毒性はないと考えられるため，somatrogon の光毒性試験は実施していない。

4.8.2. 抗原性試験

ラットを用いた 4 週間皮下投与毒性試験および 2 週間回復性試験（報告書番号 1592-003, 2.6.4.3.2.1 項）では，投与終了時および 2 週間の休薬期間後に溶媒対照群ならびに 180 mg/kg 群のほぼすべての動物で抗 somatrogon 抗体が認められた。これらの検体をさらに検査し，この ADA が somatrogon の hGH または CTP 領域のどちらに対して特異的であるかを検討した結果，hGH および CTP 領域両方の抗体が産生されたことが示された。投与前に検査した少数の動物（雄 2 匹および雌 2 匹）では，抗 somatrogon 抗体は検出されなかった。ラットの ADA 陽性率は溶媒対照群と 180 mg/kg 群とで同程度であったが，抗体価は 180 mg/kg 群の動物の方がわずかに強かった。加えて，溶媒対照群および 180 mg/kg 群の双方で，抗体は中和活性を有することが示された。しかし，この免疫原性反応は，somatrogon の曝露量にも IGF-1 反応にも影響を及ぼさなかった。

ラットを用いた 4 週間毒性試験および 2 週間回復性試験の妥当性を裏付けるための探索的試験（報告書番号 M-04-001，2.6.4.3.2.1 項）を実施し，溶媒対照群における抗 somatrogon 抗体の存在について検討した。この探索的試験の結果，溶媒対照群の緩衝液には somatrogon は存在しないと結論されたが，各投与日に調製した投与用製剤は分析しておらず，試験 1 および 26 日以外の各試験日における溶媒対照群血液中の somatrogon も分析していないため，試験中に somatrogon に曝露した可能性を完全には除外できない。但し，溶媒対照群における ADA の存在は，この試験のトキシコキネティクス解析で得られた結論には影響を及ぼさなかった。

アカゲザルを用いた 4 週間皮下投与毒性試験および 2 週間回復性試験（報告書番号 1592-004, 2.6.4.3.2.2 項）では，somatrogon の免疫原性は認められなかった。90 mg/kg 群の 1 匹のみで，somatrogon に対する ADA が低抗体価で検出された。同個体の検体をさらに検査し，ADA が somatrogon の hGH または CTP 領域のどちらに対して特異的であるかを検討した結果，ADA は

hGH 領域に対する抗体であった。この ADA は中和活性を持たず，ADA 陽性に伴う毒性学的影響も，曝露量または生物学的反応への影響も認められなかった（投与期間を通じて投与後に IGF-1 濃度の上昇が認められたことから）。

アカゲザルを用いた 26 週間皮下投与毒性試験および 4 週間回復性試験（報告書番号 1592-006, 2.6.4.3.2.2 項）では，すべての用量群［rhGH（3.6 mg/kg）または somatrogon（1.5, 15 および 30 mg/kg）］で ADA が検出された。免疫原性の解析では，somatrogon に対する ADA 陽性の検体はすべて hGH 領域に対する抗体が産生されており，一部では CTP 領域に対する ADA も検出された。IGF-1 の反応に対する影響は認められなかったことから，somatrogon の生物学的作用は低抗体価の抗体では阻害されないことが示唆された。rhGH 群の動物では中和抗体の産生は認められず，somatrogon 群の動物では中和活性（hGH 領域に対する中和抗体）が散発的にみられたのみであった。

4.8.3. 免疫毒性試験

Somatrogon の免疫毒性試験は実施していない。

4.8.4. 毒性発現の機序に関する試験

Somatrogon の毒性発現機序に関する試験は実施していない。

4.8.5. 依存性試験

Somatrogon の依存性試験は実施していない。

4.8.6. 代謝物の試験

Somatrogon の代謝物の試験は実施していない。

4.8.7. 不純物の試験

Somatrogon の不純物の試験は実施していない。

4.8.8. その他の試験

Somatrogon のその他の試験は実施していない。

4.9. 認められた所見と薬物動態との関連

ラットおよびサルに somatrogon を反復皮下投与したときの曝露量（C_{max} および AUC）に性差は認められず，ほぼ用量に比例して増加した。また，ラットおよびサルに反復投与したところ，ADA の発現が認められたが，ADA の発現頻度はサルよりもラットの方が高かった。妊娠ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験では，somatrogon の胎児への曝露量は用量の増加に伴い増加することが確認されたが，胎児の濃度は母動物よりも著明に低かった。

認められた主な所見とそのときの血清中 somatrogon 濃度および曝露量比を Table 2 に示す。

Table 2.　主な所見と somatrogon の曝露量

主な所見	投与量 (mg/kg)	C_{max} [a] (μg/mL)	C_{av} [b] (μg/mL)	C_{max} 曝露量比 [c]	C_{av} 曝露量比 [c]
反復投与毒性試験					
ラットを用いた 4 週間皮下投与毒性試験（10 または 15 匹/性/用量）（1592-003）					
IGF-1↑，乳腺（雌性化；雄），肝臓（門脈周囲空胞化；雄）	3.6	2.49	0.53	4.2	3.5
上記に加えて，体重↑，摂餌量↑，注射部位（単核球細胞浸潤;雌），乳腺（小葉過形成；雌），肝臓（門脈周囲空胞化；雌）	36	25.7	8.93	43	60
上記に加えて，注射部位（単核球細胞浸潤;雄），腎臓（尿細管石灰化；雌），脾臓（髄外造血↑；雄）	180 (NOAEL)	95.7	39.0	161	260
アカゲザルを用いた 4 週間皮下投与毒性試験（3 または 5 匹/性/用量）（1592-004）					
IGF-1↑，注射部位（炎症）	1.8	3.82	0.56	6.4	3.7
上記に加えて，注射部位（線維増殖）	18	22.0	5.19	37	35
上記と同じ	90 (NOAEL)	119	28.5	201	190
アカゲザルを用いた 26 週間皮下投与毒性試験（6 匹/性/用量）（1592-006）					
IGF-1↑，注射部位（混合細胞浸潤）[d]	1.5	2.30 [e]	0.47 [e]	3.9	3.1
上記と同じ	15	22.3 [e]	5.45 [e]	38	36
上記と同じ	30 (NOAEL)	50.9 [e]	11.9 [e]	86	79
生殖発生毒性試験					
ラットを用いた皮下投与による受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（25 匹/性/用量）（1592-009）					
雌の体重↑，雌の体重増加量↑，雌の摂餌量↑，発情周期の回数↓	3	NA	NA	NA	NA
上記に加えて，体重↑，体重増加量↑，摂餌量↑，発情周期の長さ↑，交尾間隔↑，黄体数↑，着床前胚損失率↑	10	NA	NA	NA	NA
上記に加えて，着床数↑	30 (NOAEL) [f]	NA	NA	NA	NA

Table 2. 主な所見と somatrogon の曝露量（続き）

主な所見	投与量 (mg/kg)	C_{max} [a] (µg/mL)	C_{av} [b] (µg/mL)	C_{max} 曝露量比 [c]	C_{av} 曝露量比 [c]
ラットを用いた皮下投与による胚・胎児発生に関する試験（25 匹/雌/用量）（1592-008）					
体重↑，体重増加量↑	3	1.69	0.94 [g]	2.8	6.3
上記に加えて，摂餌量↑	10	6.21	3.73 [g]	10	25
上記と同じ	30 (NOAEL) [h]	8.96	7.50 [g]	15	50
ラットを用いた皮下投与による出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（25 匹/雌/用量）（1592-010）					
F0 の副腎の腫大	3	NA	NA	NA	NA
上記に加えて，F0 の体重↑，体重増加量↑，摂餌量↑，F1 の体重↑	10	NA	NA	NA	NA
上記に加えて，F1 雌の交尾間隔↑	30 (NOAEL) [i]	NA	NA	NA	NA

AUC = 血清中濃度 - 時間曲線下面積; C_{av} = 平均血清中濃度; C_{max} = 最高血清中濃度; F0 = 母世代; F1 = 第 1 世代; IGF-1 = インシュリン様成長因子-1; NA = 該当せず; NOAEL = 無毒性量.

a. C_{max} は最高血漿中濃度を示す。なお，特記しないかぎり各値は試験終了時付近の値である。

b. 非臨床毒性試験では，C_{av} は AUC の値を投与間隔（時間）で除して計算される。

c. Somatrogon の曝露量比（安全域）は反復投与および生殖発生毒性試験における C_{max} および C_{av} の値を，小児患者に臨床投与量である 0.66 mg/kg/週を投与した結果からシミュレートした C_{max} および C_{av}（それぞれ 0.593 µg/mL および 0.150 µg/mL）で除した値である。ヒトの C_{av} は AUC 値（25.2 µg•h/mL）を投与間隔（168 時間）で除して求めた。（2.7.2.6.1 項）。

d. Somatrogon および rhGH（Bio-Tropin®）投与群で見られた注射部位所見は同様の所見であった。

e. 試験 91 日および試験 181 日の曝露量に個体間変動がみられたため試験 1 日の曝露量を用いた（2.4.3.3.2.2 項）。

f. 受胎能および生殖に及ぼす影響に関する NOAEL

g. 終末相のデータポイントが不十分であったため，C_{av} の算出には AUC_{48} ではなく AUC_{24} を用いた。

h. 母動物および発生に及ぼす影響に関する NOAEL

i. 母動物および生殖に及ぼす影響に関する NOAEL

4.10. 標的臓器毒性

実施した非臨床試験に基づき，ラットおよびアカゲザルのいずれにおいても，注射部位の所見が唯一の標的臓器として特定された。その他の所見として，ラットでは成長ホルモンの主要な薬力学的作用であり，IGF-1 上昇の二次的な影響である体重増加が認められ，また乳腺，肝臓，腎臓および脾臓において，somatrogon の薬理活性に関連する所見が認められた。

4.10.1. 注射部位

ラットの 4 週間皮下投与毒性試験では，溶媒対照群を含む全用量群の雌雄で注射部位に軽微から軽度の単核球細胞浸潤が認められた（雄では 180 mg/kg の用量で，雌では 36 mg/kg 以上の用量で発現頻度が増加）。アカゲザルを用いた 4 週間皮下投与毒性試験では，注射部位所見として，全ての somatrogon 投与群で軽微から軽度の急性炎症および単核細胞性血管周囲炎，18 mg/kg および 90 mg/kg の用量で軽微な線維増殖が認められた。これらは主として真皮深層および皮下組織に認

められ，真皮浅層および注射部位に隣接する骨格筋に達するものはほとんどなかった。アカゲザルを用いた 26 週間皮下投与毒性試験では，被験物質投与と関連した病理組織学的所見として，1.5 mg/kg 以上の用量で軽微な注射部位における混合細胞浸潤のみが認められた。浸潤は皮下および真皮深部に認められ，血管周囲に集簇することもあった。本試験では，somatrogon 投与群で認められた注射部位所見は，対照群の rhGH 投与群で認められた所見と同様であった。みられた所見の程度は軽微から軽度であり，休薬期間後に回復したことに基づき，注射部位所見は毒性学的意義の乏しい変化と考えられた。アカゲザルの 26 週間皮下投与毒性試験の無毒性量である 30 mg/kg（最高用量）における試験 1 日の投与後平均血中薬物濃度（C_{av}，AUC を投与間隔で除した値）は 11.9 µg/mL（雌雄合算）であり，小児 GHD 患者に 0.66 mg/kg/週を投与した時の曝露量（C_{av}）[a]（2.7.2.6.1 項）の 79 倍であった。

4.10.2. その他の所見

成長ホルモンの主要な薬力学的作用であり，IGF-1 上昇の二次的な影響に伴うことから予想されたとおり，ラットにおいて体重の増加が認められた。また，somatrogon 投与と関連する所見が，ラットの乳腺，肝臓，腎臓および脾臓にも認められたが，これらの臓器の所見は薬理作用と関連しており，2 週間の休薬期間後に部分的または完全な回復性が認められた。ラットでは，肝臓の門脈周囲空胞化は摂餌量の増加およびトリグリセリドの増加による脂肪蓄積と関連していた。乳腺の変化［雌性化（雄）および小葉過形成（雌）］は rhGH を投与したラットで報告されている[19,20]。腎臓の尿細管石灰化は腎皮髄境界部に認められ，これは雌ラットでよくみられる所見であり，摂餌量の増加および食餌中のカルシウム：リン比の低下との関連が先行研究により報告されている[21]。脾臓の髄外造血は少数のラット（180 mg/kg 群の雄，10 匹中 2 匹）で認められ，程度は軽微であり，脾臓重量の増加との相関は認められなかった。また，脾臓の髄外造血はラットに rhGH を投与した先行研究でも報告されている[19]。

5. 総括及び結論

Somatrogon は GHR への結合を介した hGH と同じ薬理学的機序によって作用する。Somatrogon は rhGH に比べ低頻度の投与により，より低用量（hGH 含量の総量として）で同程度の体重増加効果を発揮した。また，hGH 含量が同程度である somatrogon と rhGH を投与したときの血清中 IGF-1 濃度は，somatrogon 投与後では T_{max} が 36～48 時間であったが，rhGH 投与後では 20～24 時間であり，somatrogon の方が作用が持続することが裏付けられた。

Somatrogon および rhGH について，様々な膜貫通型および可溶性受容体，イオンチャネル，ならびにモノアミントランスポーターに対する親和性（オフターゲット結合）を in vitro で評価した。Somatrogon および rhGH は，ラット大脳皮質由来のグルタミン酸（N-メチル-D-アスパラギン酸，フェンサイクリジン部位）受容体を除き，すべての標的に対する結合阻害率は 50%未満であった。グルタミン酸受容体に対する阻害率は somatrogon が約 70%，rhGH が約 84%であり，このオフターゲット結合試験において，somatrogon は rhGH と同様の結合パターンを示した。Somatrogon は長

[a] 小児 GDH 患者に臨床投与量である 0.66 mg/kg/週を投与した結果からシミュレートした C_{max} および C_{av} はそれぞれ 0.593 µg/mL および 0.150 µg/mL である。ヒトの C_{av} は AUC 値（25.2 µg•h/mL）を投与間隔（168 時間）で除した値である（2.7.2.6.1 項）。

時間作用性にするために CTP を rhGH に融合させているが，rhGH との比較において，この CTP 融合によるオフターゲット結合プロファイルに対する影響はないことが示唆された。安全性薬理試験エンドポイントについては，アカゲザルおよびラットを用いた反復投与毒性試験（重要な試験）に組み込んで評価したが，中枢神経系，呼吸器系，および心血管系において，被験物質投与に関連した影響は認められなかった。

Somatrogon の単回皮下投与による薬物動態評価をラットおよびアカゲザル（毒性試験に用いた動物種）を用いた薬理試験および単回投与毒性試験の一部として実施した。Somatrogon の反復投与時の薬物動態および免疫原性は，ラット（4 週間）およびアカゲザル（4 週間および 26 週間）に反復皮下投与した，反復投与毒性試験の一部として評価した。曝露量（C_{max} および AUC）はほぼ用量に比例して増加した。全般的に，曝露量には明らかな性差は認められなかった。予想されたとおり，ラットおよびサルにおいて somatrogon の $t_{1/2}$ が著明に延長したため，曝露量は rhGH より高かった。上記のとおり，ラットおよびサルにおいて somatrogon の $t_{1/2}$ は rhGH と比べて著明に延長したが，これは CL/F が低いためと考えられる。CL/F の低下は，somatrogon 中の負に荷電し高度にシアル化された CTP 領域のグリコシル化に起因しており，腎クリアランスの減少やアシアロ糖タンパク質受容体を介したクリアランスの減少が生じることにより $t_{1/2}$ が延長すると考えられている。

抗 somatrogon 抗体の発現率はラットの方がアカゲザルより高く，両動物種とも，somatrogon の hGH 領域および CTP 領域の両方に対する抗体が検出された。中和活性も認められたが，これらの動物で somatrogon 曝露量および IGF-1 反応は影響を受けなかった。rhGH に対する ADA の発現率は somatrogon 投与で認められた発現率と同程度であった。

妊娠ラットを用いた胚・胎児発生試験では，somatrogon の胎児への曝露が確認された。胎児の血清中濃度は母動物の血清中濃度よりも著明に低かったが，母動物への投与量の増加に伴い増加した。

ヒト肝細胞を用いた in vitro 試験では，somatrogon は CYP1A2 および CYP2B6 の誘導剤である可能性は低いが，CYP3A4 の弱い誘導剤である可能性があると結論した。この試験では rhGH も評価したが，somatrogon と同様の CYP 誘導プロファイルであった。

生物製剤や低分子化合物は，somatrogon の薬物動態に影響を及ぼさないと考えられており，somatrogon は主に蛋白質分解により代謝される。Somatrogon が薬物代謝酵素やトランスポーターを阻害する可能性については検討していない。

ラットおよびアカゲザルを用いて，それぞれ 4 週間および最長 26 週間の皮下投与毒性試験で somatrogon を評価した。実施した非臨床試験の結果に基づき，注射部位の所見が両動物種において唯一の標的臓器として特定された。ラットでは，成長ホルモンの主要な薬力学的作用であり，IGF-1 上昇の二次的な影響である体重増加が認められた。また，注射部位における病理組織学的所見［炎症，単核球細胞浸潤および変性／壊死など］が溶媒を含む被験物質投与に関連した影響として認められた。注射部位の所見は重症度が軽微から軽度であり，かつ休薬期間終了時には概ね回復したことから，これらの所見は毒性変化ではないと判断された。Somatrogon に関連したその他の所見は，ラットの乳腺［雌性化（雄）および小葉過形成（雌）］，肝臓（門脈周囲空胞化），腎臓（腎尿細管石灰化）および脾臓（髄外造血）に認められた。しかし，これらの所見は，薬理

作用に関連して予想されたものであり，他の GH アナログで既に報告されており（乳腺および脾臓），摂餌量の増加との関連が認められ（肝臓および腎臓），かつ 2 週間の休薬期間後には部分的または完全に回復した。アカゲザルを用いた 26 週間試験では，somatrogon の細胞分裂促進活性（がん原性の可能性など）は認められなかった。ラットを用いた 4 週間試験およびアカゲザルを用いた 26 週間試験における無毒性量はそれぞれ 180 mg/kg および 30 mg/kg であり，これらの無毒性量における C_{max} 値および AUC_{last} 値は，ラットで 95.7 µg/mL および 3280 µg•h/mL（C_{av} は 39.0 µg/mL），アカゲザルでは 50.9 µg/mL および 1430 µg•h/mL（Cav は 11.9 µg/mL）である。C_{max} および C_{av} に基づく臨床との曝露量比[a]は，ラットでそれぞれ 161 倍および 260 倍，アカゲザルでそれぞれ 86 倍および 79 倍であった。ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験（重要な試験）では，母動物（一般毒性，生殖）および次世代の発生に及ぼす影響に関する無毒性量は 30 mg/kg であった。ラットを用いた受胎能および初期胚発生に関する試験では，一般毒性，生殖および次世代の発生に及ぼす影響に関する無毒性量は雌雄ともに 30 mg/kg であった。また，出生前および出生後の発生に関する試験では，F0 世代（母動物）の一般毒性および生殖ならびに次世代の発生に及ぼす影響に関する無毒性量は，検討した最高用量である 30 mg/kg であった。

結論として，somatrogon は rhGH と同じ作用機序によって機能し，同様の毒性学的プロファイルを有すると考えられ，somatrogon 投与による新たな安全性上の懸念は特定されなかった。

[a] 小児 GDH 患者に臨床投与量である 0.66 mg/kg/週を投与した結果からシミュレートした C_{max} および C_{av} はそれぞれ 0.593 µg/mL および 0.150 µg/mL である。ヒトの C_{av} は AUC 値（25.2 µg•h/mL）を投与間隔（168 時間）で除した値である（2.7.2.6.1 項）。

6. 参考文献

1 ICH S5 ガイダンス：医薬品毒性試験法ガイドラインの改訂（［3］生殖発生毒性試験）.1997 年 4 月；ICH S5(R2) 補遺. 2000 年 12 月.

2 Genotropin Package Insert. New York, NY: Pfizer; 2019（revised）.

3 ICH S6(R1)ガイダンス:バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価．薬食審査発 0323 第 1 号　平成 24 年 3 月 23 日.

4 ICH S1A ガイダンス：医薬品におけるがん原性試験の必要性に関するガイダンスについて．薬審第 315 号　平成 9 年 4 月 14 日.

5 Reed ML, Merriam GR, Kargi AY. Adult growth hormone deficiency - benefits, side effects, and risks of growth hormone replacement. Front Endocrinol 2013;4:64.

6 Raman S, Grimberg A, Waguespack SG, et al. Risk of neoplasia in pediatric patients receiving growth hormon therapy-a report from the pediatric endocrine society drug and therapeutics committee. J Clin Endocrinol Metab 2015;100(6):2192-203.

7 Child CJ, Zimmermann AG, Jia N, et al. Assessment of primary cancer incidence in growth hormone-treated children: comparison of a multinational prospective observational study with population databases. Horm Res Paediatr 2016;85(3):198-206.

8 Vottero A, Kimchi-Sarfaty C, Kratzsch J, et al. Relative abundance of growth hormone receptor isoforms in rhesus monkey tissues and human transformed lymphocytes. Horm Metab Res. 2003;35(1):1-6.

9 Baumbach WR, Horner DL, Logan JS. The growth hormone-binding protein in rat serum is an alternatively spliced form of the rat growth hormone receptor. Genes Dev. 1989;3(8):1199-205.

10 De Vos AM, Ultsch M, Kossiakoff AA. Human growth hormone and extracellular domain of its receptor: Crystal structure of the complex. Science. 1992;255(5042):306-12.

11 Cook DM, Yuen KC, Biller BM, et al. American Association of Clinical Endocrinologists medical guidelines for clinical practice for growth hormone use in growth hormone-deficient adults and transition patients - 2009 update. Endocr Pract. 2009;15(Suppl 2):1-29.

12 Drake WM, Howell SJ, Monson JP, et al. Optimizing gh therapy in adults and children. Endocr Rev. 2001;22(4):425-50.

13 Lobo ED, Hansen RJ, Balthasar JP. Antibody pharmacokinetics and pharmacodynamics. J Pharm Sci. 2004;93(11):2645-68.

14 Mascelli MA, Zhou H, Sweet R, et al. Molecular, biologic, and pharmacokinetic properties of monoclonal antibodies: impact of these parameters on early clinical development. J Clin Pharmacol. 2007;47(5):553-65.

15 Birken S, Canfield RE. Isolation and amino acid sequence of COOH-terminal fragments from the beta subunit of human choriogonadotropin. J Biol Chem. 1977;252(15):5386-92.

16 Stefanich EG, Ren S, Danilenko DM, et al. Evidence for an asialoglycoprotein receptor on nonparenchymal cells for O-linked glycoproteins. J Pharmacol Exp Ther. 2008;327(2):308-15.

17 Fares F, Guy R, Bar-Ilan A, et al. Designing a long-acting human growth hormone (hGH) by fusing the carboxyl-terminal peptide of human chorionic gonadotropin beta-subunit to the coding sequence of hGH. Endocrinology. 2010;151(9):4410-7.

18 Fares F, Azzam N. Development of long-acting recombinant glycoprotein hormones by increasing the carbohydrate content. Drug Discov Today. 2019;24(4):1017-22.

19 Jørgensen KD, Svendsen O, Greenough RJ, et al. Biosynthetic human growth hormone: subchronic toxicity studies in rats and monkeys. Pharmacol Toxicol 1988;62(5):329-33.

20 Lucas JN, Rudmann DG, Credille KM, et al. The rat mammary gland: morphologic changes as an indicator of systemic hormonal perturbations induced by xenobiotics. Toxicol Pathol 2007;35:199-207.

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

22 Grimberg A, DiVall SA, Polychronakos C, et al. Guidelines for Growth Hormone and Insulin-Like Growth Factor-I Treatment in Children and Adolescents: Growth Hormone Deficiency, Idiopathic Short Stature, and Primary Insulin-Like Growth Factor-I Deficiency. Horm Res Paediatr 2016;86(6):361-97.

23 Swerdlow AJ, Cooke R, Beckers D, et al. Cancer risks in patients treated with growth hormone in childhood: The SAGhE european cohort study. J Clin Endocrinol Metab 2017;102(5):1661-72.

24 Farris GM, Miller GK, Wollenberg GK, et al. 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.

25 Jørgensen KD, Svendsen O, Agergaard N, et al. Effect of human growth hormone on the reproduction of female rats. Pharmacol Toxicol 1991;68(1):14-20.