TABLE OF CONTENTS

LIST OF FIGURES 1

1. 緒言 2

LIST OF FIGURES

Figure 1. Somatrogon の構造 2

1. 緒言

Somatrogon は 275 個のアミノ酸残基を有する遺伝子組換え融合糖タンパク質（分子量：約 40,000）であり，1～28，220～247 および 248～275 番目は，それぞれヒト絨毛性ゴナドトロピン β サブユニットの C 末端ペプチド（CTP），29～219 番目はヒト成長ホルモンからなる。また，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）。Somatrogon は，CTP 部位を付加することにより半減期を延長し，週 1 回投与での治療が可能となるよう設計された新規の成長ホルモン（GH）製剤である。

2020 年 12 月現在，本邦で成長ホルモン分泌不全性低身長症（GHD）に対して利用可能な GH 製剤は 5 製品であるが，いずれもその半減期が短いことから 1 週間に 6～7 回の頻回投与が必要である。頻回の注射は患者やその保護者・介護者にとって大きな負担となることから現行の治療における問題点とみなされており，その解決策の一つとして投与頻度を低減することができる長時間作用型 GH 製剤の開発が挙げられている[1,2,3]。GHD 患者を対象に治療レジメンや注射デバイスに関する嗜好を分析した離散選択実験においても，投与頻度は患者が最も重視する因子であることが報告されている[4]。以上のことから，半減期を延長し，投与頻度を低減した GH 製剤は，本邦の GHD 患児および保護者・介護者の時間的・労力的・心理的負荷の軽減，ならびに治療アドヒアランスの向上に資すると考え，本剤の開発に着手するに至った。現在，国内外において小児 GHD に対して承認されている長時間作用型 GH 製剤はない。

Figure 1.　Somatrogon の構造

アミノ酸配列およびジスルフィド結合

```
SSSSKAPPPS LPSPSRLPGP SDTPILPQFP TIPLSRLFDN AMLRAHRLHQ

LAFDTYQEFE EAYIPKEQKY SFLQNPQTSL CFSESIPTPS NREETQQKSN

LELLRISLLL IQSWLEPVQF LRSVFANSLV YGASDSNVYD LLKDLEEGIQ

TLMGRLEDGS PRTGQIFKQT YSKFDTNSHN DDALLKNYGL LYCFRKDMDK

VETFLRIVQC RSVEGSCGFS SSSKAPPPSL PSPSRLPGPS DTPILPQSSS

SKAPPPSLPS PSRLPGPSDT PILPQ
```

S1，S2，S3，S4，S10，S13，S15，S21，S220，S221，S222，S223，S229，S232，S234，S240，S248，S249，S250，S251，S257，S260，S262，S268：部分的糖鎖結合

主な糖鎖の推定構造；NeuAc (α2-3) Gal (β1-3) GalNAc

NeuAc：　*N*-アセチルノイラミン酸，Gal：ガラクトース，GalNAc：*N*-アセチルガラクトサミン

Somatrogon の効能・効果および用法・用量は，添付文書（案）（CTD1.8.1 項）に記載した。

参考文献

1 Fisher BG, Acerini CL. Understanding the growth hormone therapy adherence paradigm: a systematic review. Horm Res Paediatr. 2013;79(4):189-96.

2 Brod M, Højbjerre L, Alolga SL, et al. Understanding treatment burden for children treated for growth hormone deficiency. Patient. 2017;10(5):653-66.

3 Christiansen JS, Backeljauw PF, Bidlingmaier M, et al. Growth Hormone Research Society perspective on the development of long-acting growth hormone preparations. Eur J Endocrinol. 2016;174(6):C1-8.

4 McNamara M, Turner-Bowker DM, Westhead H, et al. Factors driving patient preferences for growth hormone deficiency (GHD) injection regimen and injection device features: a discrete choice experiment. Patient Prefer Adherence. 2020;14:781-93.

TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 2
LIST OF FIGURES 2
1. まとめ 3
1.1. 結果の要約 6
2. 効力を裏付ける試験 8
2.1. In Vitro 薬理試験 8
2.1.1. Somatrogon およびヒト成長ホルモンのラット，ヒト，およびアカゲザル成長ホルモン受容体への結合親和性の比較（報告書番号 CD-04-0029 および CD-04-0058；2.6.3.2 項） 8
2.1.2. BAFB2B2 細胞株における増殖作用（報告書番号 CD-04-0029 および CD-04-0058） 10
2.1.3. STAT5 リン酸化反応を用いた力価の評価（報告書番号 CD-04-0121；2.6.3.2 項） 11
2.1.4. GH 介在性遺伝子調節誘導能（報告書番号 CD-04-0121） 11
2.2. In Vivo 薬理学的試験 14
2.2.1. 体重増加作用 14
2.2.1.1. 下垂体切除ラットを用いた体重増加作用試験（報告書番号 CD-04-0034；2.6.3.2 項） 14
2.2.2. 正常ラットの体重増加に対する作用 15
2.2.3. IGF-1 誘導作用 15
2.2.3.1. 下垂体切除ラットにおける IGF-1 誘導作用（報告書番号 CD-04-0035；2.6.3.2 項） 15
2.2.3.2. 正常ラットにおける IGF-1 誘導作用（4 週間皮下投与） 16
2.2.3.3. アカゲザルにおける IGF-1 誘導作用（4 週間皮下投与） 17
2.2.3.4. アカゲザルにおける IGF-1 誘導作用（26 週間皮下投与） 17
3. 副次的薬理試験 19
4. 安全性薬理試験 19
5. 薬力学的薬物相互作用試験 20
6. 考察及び結論 20
7. 参考文献 21

LIST OF TABLES

Table 1. 非臨床薬理試験の概要 5
Table 2. Somatrogon の薬理作用 7
Table 3. Somatrogon および hGH のヒト，ラットおよびサル GHR への結合の SPR 動態パラメータ 9
Table 4. BAFB2B2 細胞の増殖に対する somatrogon および rhGH の作用 10
Table 5. 下垂体切除ラットにおける体重増加量（g）（単回投与） 14
Table 6. 下垂体切除ラットにおける反復投与後の体重増加量（g）（試験 0 日との比較） 15

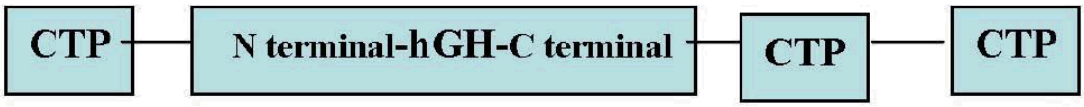
LIST OF FIGURES

Figure 1. Somatrogon の構造 3
Figure 2. Somatrogon および rhGH を添加した時の STAT5 のリン酸化（ウェスタンブロッティング） 11
Figure 3. Somatrogon および rhGH による GH 介在性遺伝子発現調節（ルシフェラーゼ活性） 13
Figure 4. 下垂体切除ラットに somatrogon および rhGH を皮下投与したときの血清中 IGF-1 濃度 16
Figure 5. 雄アカゲザルに 26 週間皮下投与したときの血清 IGF-1 濃度のベースラインからの変化（報告書番号 1592-006） 18
Figure 6. 雌アカゲザルに 26 週間皮下投与したときの血清 IGF-1 濃度のベースラインからの変化（報告書番号 1592-006） 19

1. まとめ

Somatrogon（MOD-4023）は，成長ホルモン分泌不全症（GHD）の治療薬として開発中の新規の長時間作用型ヒト成長ホルモン（hGH）である。Somatrogon は，hGH に 3 コピーのヒト絨毛性ゴナドトロピン（hCG）の β 鎖のカルボキシ末端ペプチド（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（Figure 1）。Table 1 および 2.6.3.1 項に示すとおり，somatrogon の薬理作用は，げっ歯類とアカゲザルを用いた in vitro および in vivo 非臨床薬理試験において検討されている。

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。

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 somatrogon の結合親和性を測定するため，一連の in vitro 受容体結合比較試験を実施した。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）として，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，各被験物質の平衡解離定数（Kd）を求めた。遺伝子導入した hGHR を定常発現する BAF-3 細胞由来のマウス細胞株である BAFB2B2 細胞を用い，somatrogon と rhGH の細胞増殖誘導能の試験を実施し，濃度依存性を比較検討した。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 の濃度依存的なシグナル伝達兼転写活性化因子 5b（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。

体重増加に関する薬理作用については，下垂体切除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（GLP 適用）の中でも評価した。下垂体を切除した雄ラットに 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。その後，下垂体を切除した雄ラットを用いた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。

GH の薬理作用は，インスリン様成長因子 1（IGF-1）の誘導作用が関与している。GH は，肝臓での IGF-1 の産生を促進し，体循環への放出を誘導する。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 日の投与前ならびに投与 1，2，4，8，24，48，および 72 時間後に検体を採取し，血清中 IGF-1 濃度を測定した。

さらに，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，若齢の雌雄アカゲザル（約 1～5 歳）に，6 日間隔で 4 週間にわたり皮下投与した。また，アカゲザル（約 2.5～4 歳）を用いた 26 週間反復投与毒性試験においても，somatrogon による IGF-1 誘導作用を評価した。Somatrogon を，雌雄アカゲザルに，5 日間隔で 26 週間にわたり皮下投与し，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[1]。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（2.6.6.3.1 項）およびアカゲザルを用いた重要な反復投与毒性試験（2.6.6.3.2 項，2.6.6.3.3 項）で評価した。

Table 1.　非臨床薬理試験の概要

試験の種類	報告書番号	用量 [a]	GLP 適用	概要表
効力を裏付ける試験				
In vitro 試験				
hGHR およびラット GHR に対する結合親和性，SPR 分析	CD-04-0029	濃度反応性：Somatrogon 0～625 nmol/L，rhGH 0～62.5 nmol/L	非適用	2.6.3.2
hGHR 発現細胞の増殖，細胞増殖アッセイ	CD-04-0029	濃度反応性：Somatrogon 0.02～1333.3 ng/mL，rhGH 0.001～45 ng/mL	非適用	2.6.3.2
hGHR およびラット GHR に対する受容体結合性，細胞増殖アッセイ	CD-04-0029	濃度反応性：Somatrogon 12 ng/mL，組換え型ラット GHR および hGHR 0.1～1000 ng/mL	非適用	2.6.3.2
hGHR およびアカゲザル GHR に対する結合親和性，SPR 分析	CD-04-0058	濃度反応性：Somatrogon 0～625 nmol/L，rhGH 0～62.5 nmol/L	非適用	2.6.3.2
hGHR 発現細胞の増殖，細胞増殖アッセイ	CD-04-0058	濃度反応性：Somatrogon 0.02～1333.3 ng/mL，rhGH 0～45 ng/mL	非適用	2.6.3.2
hGHR およびアカゲザル GHR に対する受容体結合性，細胞増殖アッセイ	CD-04-0058	濃度反応性：Somatrogon 12 ng/mL，rhGH 0.4 ng/mL 組換え型アカゲザル GHR 0.4～4166.7 ng/mL，組換え型 hGHR 0.01～833.3 ng/mL	非適用	2.6.3.2
STAT5b リン酸化の誘導，細胞アッセイ	CD-04-0121	濃度反応性：Somatrogon 17～1700 ng/mL，rhGH 10～200 ng/mL	非適用	2.6.3.2
GH 介在性遺伝子調節に対する影響，細胞ベースのルシフェラーゼ活性アッセイ	CD-04-0121	濃度反応性：Somatrogon 17～1700 ng/mL，rhGH 10～200 ng/mL	非適用	2.6.3.2
In vivo 試験				
単回投与後の体重増加，下垂体を切除した雄ラット（Sprague Dawley）への皮下投与	CD-04-0034	単回投与：Somatrogon 0.55，1.1 および 5.5 mg/kg，rhGH 0.1 mg/kg/日，10 日間	非適用	2.6.3.2
反復投与後の体重増加，下垂体を切除した雄ラット（Sprague Dawley）への皮下投与	CD-04-0034	反復投与：Somatrogon 0.48，1.45 および 4.34 mg/kg，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），rhGH 0.1 mg/kg/日を 1 日 1 回 14 日間	非適用	2.6.3.2
単回投与後の IGF-1 の誘導，下垂体を切除した雄ラット（Sprague Dawley）への皮下投与	CD-04-0035	単回投与：Somatrogon 0.6 mg および 1.8 mg/kg，rhGH 0.35 mg および 1.05 mg/kg	非適用	2.6.3.2
反復投与後の体重増加，雌雄ラット（Sprague Dawley）へ	1592-003[b] (TP-4-003)	反復投与：Somatrogon 0，3.6，36 または 180 mg/kg を週 2 回，	適用	2.6.3.2

Table 1.　非臨床薬理試験の概要

試験の種類	報告書番号	用量 [a]	GLP 適用	概要表
の皮下投与		4 週間		
反復投与後の IGF-1 の誘導，雌雄ラット（Sprague Dawley）への皮下投与	1592-003 Addendum [b]	反復投与：Somatrogon 0，3.6，36 または 180 mg/kg を週 2 回，4 週間	非適用 [b]	2.6.3.2
反復投与後の IGF-1 の誘導，雌雄サル（アカゲザル）への皮下投与	1592-004 (TP-4-004)	反復投与：Somatrogon 0，1.8，18 または 90 mg/kg を 6 日間隔で 4 週間	適用	2.6.3.2
反復投与後の IGF-1 の誘導，雌雄サル（アカゲザル）への皮下投与	1592-006 (MO4008)	反復投与：Somatrogon 0，1.5，15 または 30 mg/kg を 5 日間隔で 26 週間，rhGH 3.6 mg/kg を 1 日 1 回 26 週間	適用	2.6.3.2
副次的薬理試験				
In vitro オフターゲット結合	CD-04-0127	Somatrogon：12 nmol/L rhGH：10 nmol/L	非適用	2.6.3.3

GHR：成長ホルモン受容体，GLP：医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準，
hGHR：ヒト成長ホルモン受容体，IGF-1：インスリン様成長因子 1，K_d：解離定数，rhGH：組換え型ヒト成長ホルモン，SPR：表面プラズモン共鳴法，STAT5b：シグナル伝達兼転写活性化因子 5B
a. 特に明記されていない限り単回投与。In vitro 試験に関しては，試験で用いた somatrogon および対照の rhGH の濃度を nmol/L または ng/mL で示す。
b. 報告書番号 1592-003 は GLP 適用，報告書の補遺（報告書番号 1592-003 Addendum）は GLP 非適用である。

1.1. 結果の要約

Somatrogon の非臨床薬理試験の結果を，以下の表に要約する。

Table 2. Somatrogon の薬理作用

薬理学的評価項目	報告書番号	Somatrogon（タンパク質含量）[c]	rhGH
hGHR への結合 [a]	CD-04-0029	K_d = 18.46 ± 11.55 nmol/L	K_d = 0.55 ± 0.24 nmol/L
ラット GHR への結合	CD-04-0029	K_d = 6.57 ± 0.64 nmol/L	K_d = 0.54 ± 0.19 nmol/L
hGHR への結合 [b]	CD-04-0058	K_d = 7.39 ± 5.23 nmol/L	K_d = 0.91 ± 0.79 nmol/L
アカゲザル GHR への結合	CD-04-0058	K_d = 13.15 ± 7.92 nmol/L	K_d = 2.09 ± 1.33 nmol/L
BAFB2B2 細胞の増殖 [d]	CD-04-0029	EC_{50} = 15.8 ± 2.0 ng/mL	EC_{50} = 0.36 ± 0.06 ng/mL
rhGHR による増殖の阻害	CD-04-0029	IC_{50} = 29.9 ± 7.2 ng/mL	NT
組換え型ラット GHR による増殖の阻害	CD-04-0029	IC_{50} = 26.5 ± 4.7 ng/mL	NT
BAFB2B2 細胞の増殖 [d]	CD-04-0058	EC_{50}= 12.2 ± 2.4 ng/mL	EC_{50} = 0.37 ± 0.06 ng/mL
rhGHR による増殖の阻害	CD-04-0058	IC_{50} = 67.3 ± 13.2 ng/mL	IC_{50} = 3.74 ± 1.68 ng/mL
組換え型アカゲザル GHR による増殖の阻害	CD-04-0058	IC_{50} = 212.6 ± 25.4 ng/mL	IC_{50} = 13.62 ± 5.97 ng/mL
HEK293 細胞における STAT5b のリン酸化	CD-04-0121	Somatrogon によるリン酸化によって rhGH によるリン酸化と同様な効果を得るには rhGH より高い濃度が必要であった。	
GH 介在性遺伝子調節	CD-04-0121	Somatrogon の用量依存的なルシフェラーゼ反応。用量が同様の場合，somatrogon のルシフェラーゼ活性は rhGH よりも低い。	
下垂体切除ラットにおける体重増加（単回投与）	CD-04-0034	Somatrogon 0.55～5.5 mg/kg の投与で用量依存的な増加	10 日間にわたる 0.1 mg/kg/日の投与で増加
下垂体切除ラットにおける体重増加（反復投与，計 4 回）	CD-04-0034	Somatrogon 0.48～4.34 mg/kg/回の 4 日間隔投与で，somatrogon の用量依存的な増加。0.48 mg/kg/回の用量では，rhGH 0.1 mg/kg/日と同様の反応。0.48 mg/kg および 1.45 mg/kg の週 1 回投与では，4 日間隔投与と比較して反応が低下。	14 日間にわたる 0.1 mg/kg/日の投与で増加
正常ラットにおける体重増加（週 2 回，4 週間投与）	1592-003 [c]	36 mg/kg および 180 mg/kg において平均体重が増加	NT
下垂体切除ラットにおける IGF-1 の誘導（単回投与）	CD-04-0035	Somatrogon 投与後の IGF-1 反応は，rhGH 投与後の反応よりも顕著に高く，長く持続	

Table 2. Somatrogon の薬理作用

薬理学的評価項目	報告書番号	Somatrogon（タンパク質含量）[c]	rhGH
正常ラットにおける IGF-1 の誘導（週 2 回，4 週間投与）	1592-003 Addendum [e]	Somatrogon は，雌雄ラットにおいてすべての用量で薬理活性を示し，体重の増加および IGF-1 濃度の上昇を誘導	NT
アカゲザルにおける IGF-1 の誘導（6 日間隔で 4 週間投与）	1592-004	Somatrogon は，すべての用量で薬理活性を示し，IGF-1 濃度の上昇を誘導	NT
アカゲザルにおける IGF-1 の誘導（5 日間隔で 26 週間投与）	1592-006	Somatrogon は，すべての用量で薬理活性を示し，IGF-1 濃度の上昇を誘導	NT

EC_{50}：50%有効濃度，GH：成長ホルモン，GHR：成長ホルモン受容体，HEK293：ヒト胎児腎 293 細胞，
hGH：ヒト成長ホルモン，hGHR：ヒト成長ホルモン受容体，IC_{50}：50%阻害濃度，
IGF-1：インスリン様成長因子-1，K_d：解離定数，NT：試験せず，
rhGHR：組換え型ヒト成長ホルモン受容体，SPR：表面プラズモン共鳴法，
STAT5b：シグナル伝達兼転写活性化因子 5B
a. 試験は，独立した 3 回の測定により実施した（報告書番号 CD-04-0029）。
b. 試験は，rhGH では 9 回，somatrogon では 11 回の独立した測定により実施した（報告書番号 CD-04-0058）。
c. Somatrogon の濃度は，O 結合型糖鎖の重量を除くタンパク質濃度で示した。
d. BAFB2B2 細胞は，遺伝子導入した hGHR を定常発現させた BAF-3 細胞からなるマウス細胞株である。
e. 報告書番号 1592-003 は GLP 適用，報告書の補遺（報告書番号 1592-003 Addendum）は GLP 非適用である。

2. 効力を裏付ける試験

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。

2.1.1. Somatrogon およびヒト成長ホルモンのラット，ヒト，およびアカゲザル成長ホルモン受容体への結合親和性の比較（報告書番号 CD-04-0029 および CD-04-0058；2.6.3.2 項）

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）。本試験では，組換え型 hGHR の結晶化可能領域（Fc）キメラをセンサーチップに固定化し，somatrogon または rhGH を濃度漸増的に添加した。算出された平衡解離定数（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（Table 3）。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。両試験で算出された hGHR に対する Kd 値の差異は，試験のばらつきや，2 回目の試験ではより多くの繰り返し測定を行って親和性の値を得たためによると考えられる。

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）。本試験では，組換え型ラット GHR の Fc キメラをセン

サーチップに固定化し，somatrogon または rhGH を濃度漸増的に添加した。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（Table 3）。

最後に，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）。本試験では，組換え型アカゲザル GHR または hGHR の Fc キメラをセンサーチップに固定化し，somatrogon または rhGH を濃度漸増的に添加した。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 であった（Table 2）。したがって，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 であった。したがって，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。

Table 3.　Somatrogon および hGH のヒト，ラットおよびサル GHR への結合の SPR 動態パラメータ

チップに固定した基質	被験物質 [a]	報告書番号	$K_{on} \times 10^5$ (M^{-1} S^{-1}) (SD) [b]	$K_{off} \times 10^{-5}$ (S^{-1}) (SD) [b]	K_d (nmol/L) (SD) [b]	χ^2 [b]
hGHR	rhGH (3)	CD-04-0029	4.12 (0.06)	22.7 (9.71)	0.55 (0.24)	0.65 (0.07)
	Somatrogon (3)		0.31 (0.02)	56.5 (35)	18.46 (11.55)	0.47 (0.12)
ラット GHR	rhGH (3)		12.20 (3.46)	67.8 (34.3)	0.54 (0.19)	0.81 (0.30)
	Somatrogon (3)		0.84 (0.42)	54.4 (25.9)	6.57 (0.64)	0.79 (0.53)
hGHR	rhGH (9)	CD-04-0058	8.02 (4.43)	6.03 (4.63)	0.91 (0.79)	0.76 (0.53)
	Somatrogon (10)		1.01 (0.42)	5.80 (2.76)	7.39 (5.23)	1.15 (0.63)
アカゲザル GHR	rhGH (11)		11.62 (12.21)	15.25 (4.58)	2.09 (1.33)	0.76 (0.11)
	Somatrogon (11)		1.31 (0.79)	17.0 (14.1)	13.15 (7.92)	0.46 (0.25)

GHR：成長ホルモン受容体，hGH：ヒト成長ホルモン，hGHR：ヒト成長ホルモン受容体，K_d：解離定数，K_{on}：結合速度定数，K_{off}：解離速度定数，SD：標準偏差，SPR：表面プラズモン共鳴法，χ^2：カイ二乗検定
a.被験物質（反復測定数）として示す。
b. すべての値を平均値（標準偏差）として示す。
（出典：報告書番号 CD-04-0029, Table.1 および CD-04-0058, Table1 から改変）

2.1.2. BAFB2B2 細胞株における増殖作用（報告書番号 CD-04-0029 および CD-04-0058）

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（報告書番号 CD-04-0029 および CD-04-0058）。本試験では，漸増濃度の somatrogon または rhGH を，BAFB2B2 細胞と 19 時間インキュベートした。増殖の程度は，MTS 試薬（3-[4,5-ジメチルチアゾル-2-イル]-5-[3-カルボキシメトキシフェニル]-2-[4-スルホフェニル]-2H-テトラゾリウム，分子内塩）を細胞に添加し，3 時間発色させ，492 nm における吸光度を測定することで定量した。2 回の試験を実施し，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（それぞれ報告書番号 CD-04-0029 および CD-04-0058）。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（それぞれ報告書番号 CD-04-0029 および CD-04-0058）。

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）。本試験では，hGHR を高度に発現する BAFB2B2 細胞を，漸増濃度の可溶性組換え型ラット，アカゲザル，または hGHR の存在下で，一定濃度の somatrogon（12 ng/mL）とインキュベートした。増殖の程度は，MTS 試薬を細胞に添加し，3 時間発色させ，492 nm における吸光度を測定することで定量した。吸光度の値は培養中の生細胞数に比例する。

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（Table 4）。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（Table 4）。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。

Table 4. BAFB2B2 細胞の増殖に対する somatrogon および rhGH の作用

試験	Somatrogon	rhGH
BAFB2B2 細胞の増殖 [a]	EC_{50} = 15.8 ± 2.0 ng/mL	EC_{50} = 0.36 ± 0.06 ng/mL
BAFB2B2 細胞の増殖 [b]	EC_{50} = 12.2 ± 2.4 ng/mL	EC_{50} = 0.37 ± 0.06 ng/mL
hGHR による増殖の阻害 [a]	IC_{50} = 29.9 ± 7.2 ng/mL	NT
hGHR による増殖の阻害 [b]	IC_{50} = 67.3 ± 13.2 ng/mL	IC_{50} = 3.74 ± 1.68 ng/mL
ラット GHR による増殖の阻害 [a]	IC_{50} = 26.5 ± 4.7 ng/mL	NT
アカゲザル GHR による増殖の阻害 [b]	IC_{50} = 212.6 ± 25.4 ng/mL	IC_{50} = 13.62 ± 5.97 ng/mL

BAFB2B2：安定的に遺伝子導入した hGHR を高度に発現するマウス初代 pro-B BAF-3 細胞，EC_{50}：50%有効濃度，IC_{50}：50%阻害濃度，hGHR：ヒト成長ホルモン受容体，NT：試験せず。
a. 報告書番号 CD-04-0029 による値。
b. 報告書番号 CD-04-0058 による値。

（出典：報告書番号 CD-04-0029 および CD-04-0058 より）

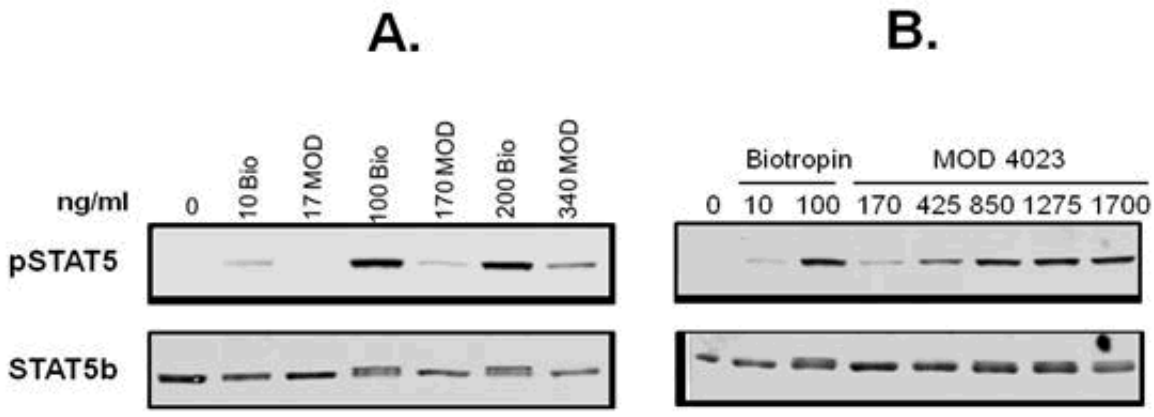
これらの結果は，hGHR とアカゲザル GHR のアミノ酸配列の類似性が 94.1%との報告[2]と符合する。一方，hGHR とラット GHR のアミノ酸配列の相同性は 68.9%である[3]。De Vos らは，hGH と hGHR 間の相互作用に必須なアミノ酸残基の解析を行い，受容体上の R43，W104，E127，K167，W169，および N218 のアミノ酸残基が hGH と hGHR との相互作用に重要であることを示した[4]。アカゲザルではこれらの重要なアミノ酸残基がすべて保存されており，ラットでは 6 アミノ酸中 4 アミノ酸が保存されている。このことから，somatrogon 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。

2.1.3. STAT5 リン酸化反応を用いた力価の評価（報告書番号 CD-04-0121；2.6.3.2 項）

GH による骨格の成長を調節する主な経路のひとつとして，IGF-1 の産生誘導が介在することが挙げられる[5]。GH による IGF-1 産生は，転写因子（STAT）のリン酸化を介したヤヌスキナーゼ（JAK）2 経路のシグナル伝達によって促進される。ヒトにおいて蓄積されつつあるエビデンスから，GH による IGF-1 の誘導には，主に STAT5b が関与していることが示唆されている[5]。そこで，somatrogon の STAT5 リン酸化能を検討した。

hGHR を定常発現する HEK293 細胞（HEK293-hGHR）に，rhGH（10～200 ng/mL）または somatrogon（17～1700 ng/mL）を添加して 20 分間処理した後，細胞溶解物中のリン酸化 STAT5 をウェスタンブロッティング法により検出した。HEK293-hGHR 細胞を，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（Figure 2）。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。

Figure 2.　Somatrogon および rhGH を添加した時の STAT5 のリン酸化（ウェスタンブロッティング）



様々な濃度による STAT5 のリン酸化（A, B）。CTP が 3 個融合されているため，somatrogon の hGH 含量は 72.6%である。Somatrogon は rhGH (Bio-Tropin)と同様の in vitro 活性を得るためには高い濃度の somatrogon が必要であった。Bio = rhGH (Bio-Tropin), MOD = Somatrogon (MOD-4023)。

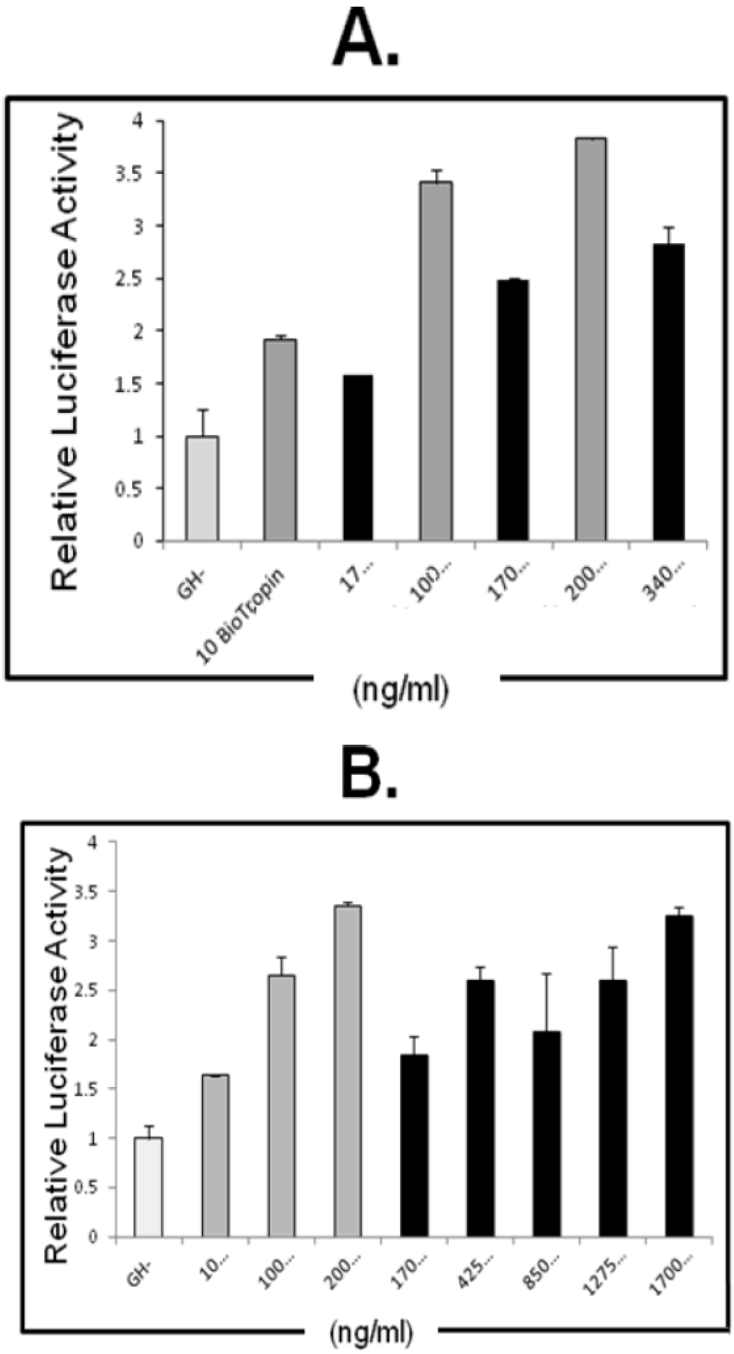
（出典；報告書番号 CD-04-0121, Figure 1 より）

2.1.4. GH 介在性遺伝子調節誘導能（報告書番号 CD-04-0121）

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。ラット Spi 2.1 遺伝子由来の GH 応答配列（GHRE）を 8 個組み込んだルシフェラーゼレポーターコンス

トラクト（pGHRE-LUC）を遺伝子導入したHEK293-hGHR細胞を，rhGH（10, 100および200 ng/mL）またはsomatrogon（17，170，340，425，850，1275および1700 ng/mL）で18～24時間処理した。処理後，採取した細胞溶解物のレポーター活性を，ルシフェラーゼアッセイシステムおよびルミノメーターを用いて分析した。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（Figure 3）。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（Figure 3）。これらの結果は，BAFB2B2細胞株を用いた増殖試験（報告書番号CD-04-0029およびCD-04-0058）では，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。

Figure 3.　Somatrogon および rhGH による GH 介在性遺伝子発現調節（ルシフェラーゼ活性）



様々な濃度の somatorogon および rhGH によるルシフェラーゼ活性の増加。実験は 2 回実施し，それぞれの結果を A および B に示す。灰色バー；rhGH (Bio-Tropin)，黒色バー；somatrogon。CTP カセットが 3 個融合されているため，somatrogon の hGH 含量は 72.6%である。同程度の濃度においてルシフェラーゼ活性を比べると，somatrogon の活性は rhGH よりも若干低かった。（出典；報告書番号 CD-04-0121, Figure 2 より）

2.2. In Vivo 薬理学的試験

2.2.1. 体重増加作用

2.2.1.1. 下垂体切除ラットを用いた体重増加作用試験（報告書番号 CD-04-0034；2.6.3.2 項）

2.2.1.1.1. 下垂体切除ラットにおける体重増加作用試験（単回投与）

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）において検討し，rhGH の連日反復投与と比較した。本試験では，somatrogon の単回皮下投与（0.55，1.1，および 5.5 mg/kg，hGH 含量はそれぞれ 0.4，0.8，および 4 mg/kg，各群 8 匹）を，rhGH の 10 日間連日皮下投与（0.1 mg/kg/日，8 匹）と比較した。対照群としてリン酸緩衝食塩液を試験 0 日に単回皮下投与した。全動物の体重を初回投与前に測定して群分けし，その後は隔日で動物を計 10 日間測定観察した。平均体重増加量（g）を Table 5 に要約した。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。

Table 5.　　下垂体切除ラットにおける体重増加量（g）（単回投与）

	日数				
投与群 [a] / 用量	**0**	**2**	**4**	**7**	**10**
対照群（リン酸緩衝液）	0	0.3 ± 2.9	0.9 ± 3.8	-0.3 ± 3.2	-2.3 ± 3.0
rhGH / 0.1 mg/kg/日	0	5.0 ± 3.9	9.5 ± 4.3	14.1 ± 4.2	19.8 ± 3.1
Somatrogon / 0.55 mg/kg	0	9.3 ± 1.3	8.3 ± 1.5	9.8 ± 2.4	11.3 ± 2.8
Somatrogon / 1.1 mg/kg	0	8.9 ± 1.4	8.6 ± 1.6	8.3 ± 2.4	9.8 ± 2.3
Somatrogon / 5.5 mg/kg	0	11.4 ± 2.9	11.5 ± 1.4	12.3 ± 2.6	13.0 ± 2.6

a. n = 8。データは平均値±標準偏差として示す。

（出典；報告書番号 CD-04-0034, Table 3 より）

2.2.1.1.2. 下垂体切除ラットにおける体重増加作用試験（反復投与）

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）。本試験では，下垂体を切除した雄の Sprague Dawley ラット（3～4 週齢）に，somatrogon（0.48，1.45，および 4.34 mg/kg，hGH 含量はそれぞれ 0.35，1.05，および 3.15 mg/kg）を 4 日間ごとに計 4 回（試験 0，4，8 および 12 日，各群 10 匹），または 7 日間ごとに計 3 回（試験 0，7 および 14 日，各群 10 匹）皮下投与し，rhGH（0.1 mg/kg/日，各群 10 匹）の 14 日間連日皮下投与と比較した（Table 6）。対照群としてリン酸緩衝食塩液を試験 0 日に単回皮下投与した。全動物の体重を初回投与前に測定して群分けし，その後は 21 日間にわたり隔日で測定した。その結果，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 時間までに過ぎないことが示された（試験報告書 CD-04-0035）。このため，somatrogon を 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。

Table 6.　下垂体切除ラットにおける反復投与後の体重増加量（g）（試験 0 日との比較）

	日数								
投与群 [a]（用量）	**0**	**3**	**5**	**7**	**10**	**12**	**14**	**17**	**21**
対照群（リン酸緩衝液）	0	-2.67 ± 2.35	-1.44 ± 1.33	-1.33 ± 3.08	0.22 ± 2.73	1.67 ± 2.65	1.2 ± 2.62	2.9 ± 2.20	3.1 ± 5.09
rhGH（0.1 mg/kg/日）	0	3.1 ± 4.20	7.2 ± 3.85	8.3 ± 3.50	12.8 ± 4.69	14.9 ± 4.82	16 ± 5.23	14.7 ± 5.83	6.9 ± 3.70
Somatrogon（0.48 mg/kg/4 日）	0	1.4 ± 1.17	9.2 ± 2.49	7.8 ± 2.15	12.1 ± 2.88	10.4 ± 3.24	15.8 ± 3.85	14.5 ± 4.45	6.1 ± 2.88
Somatrogon（1.45 mg/kg/4 日）	0	5.3 ± 4.57	13.6 ± 4.90	12.9 ± 5.86	22.1 ± 5.79	18.6 ± 6.59	27.1 ± 8.23	24.6 ± 6.77	10.1 ± 3.93
Somatrogon（4.34 mg/kg/4 日）	0	9.1 ± 2.08	17.6 ± 4.20	20.4 ± 4.60	27.9 ± 8.39	20.5 ± 10.29	36 ± 11.05	31.8 ± 4.73	11.1 ± 4.38
Somatrogon（0.48 mg/kg/7 日）	0	2.4 ± 1.43	4.3 ± 1.95	4.9 ± 2.02	8.0 ± 2.91	8.6 ± 2.88	10.1 ± 2.77	13.5 ± 3.50	8.7 ± 2.06
Somatrogon（1.45 mg/kg/7 日）	0	4.1 ± 1.60	5.0 ± 1.63	5.7 ± 2.06	12.3 ± 1.95	11.2 ± 2.49	12.6 ± 1.65	18.3 ± 2.11	11.9 ± 2.28
Somatrogon（4.34 mg/kg/7 日）	0	7.0 ± 4.35	8.5 ± 4.43	9.5 ± 5.23	19.4 ± 5.15	13.9 ± 6.21	18.9 ± 4.91	25.5 ± 10.56	12.6 ± 3.91

a. n = 10。データは平均値±標準偏差として示す。

（出典；報告書番号 CD-04-0034，Table4 より）

2.2.2. 正常ラットの体重増加に対する作用

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（2.6.6.3.1 項）では，somatrogon を，7 週齢の雌雄 Sprague-Dawley ラット（10 匹/性/用量）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（計 8 回；試験 1 日，5 日，8 日，12 日，15 日，19 日，22 日，および 26 日）（報告書番号 1592-003；2.6.3.2 項）。溶媒対照群および 180 mg/kg 群には雌雄各 5 匹を追加し，4 週間の投与終了後さらに 2 週間休薬した。個体の体重を，投与日ならびに休薬期間中の試験 29 日，33 日，36 日，および 40 日に測定した。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%，雌のでは 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。36 および 180 mg/kg で認められたこれらの体重増加量は，摂餌量の増加と関連しており，somatrogon の薬理作用に基づくものと考えられた。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。

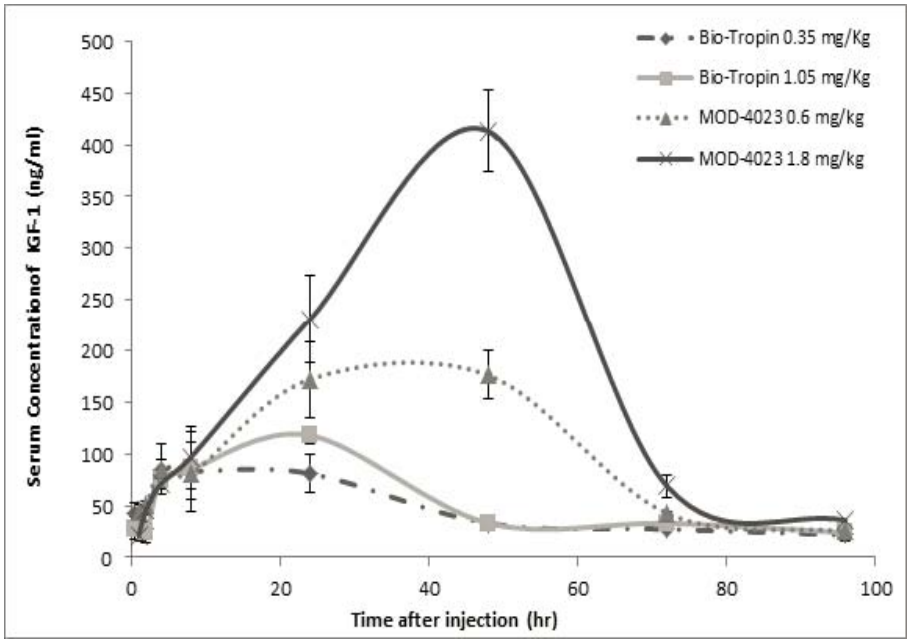
2.2.3. IGF-1 誘導作用

2.2.3.1. 下垂体切除ラットにおける IGF-1 誘導作用（報告書番号 CD-04-0035；2.6.3.2 項）

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[6,7]。下垂体を切除した雄の Sprague-Dawley ラット（3～4 週齢）に，somatrogon は 0.6 または 1.8 mg/kg（hGH 含量はそれぞれ 0.44 または 1.31 mg/kg，12 匹/用量）の用量で，rhGH は 0.35 または 1.05 mg/kg の用量（9 匹/用量）で単回皮下投与した。投与前および投与 0.5，2，4，8，24，48，72，および 96 時間後に検体を採取し，IGF-1 の血清中濃度を測定した。Figure 4 に示すとおり，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。

Figure 4.　下垂体切除ラットに somatrogon および rhGH を皮下投与したときの血清中 IGF-1 濃度



下垂体切除ラットに somatrogon および rhGH を皮下投与したときの血清中 IGF-1 濃度。各時点の値は rhGH（Bio-Tropin）群では各用量 9 匹，somatrogon（MOD-4023）群では各用量 12 匹の平均値 ± 標準偏差で示している。記載した somatrogon 用量は，被験物質の総タンパク質量に関する値である。IGF-1：インスリン様成長因子-1

（出典；報告書番号 CD-04-0035, Figure 3 より）

2.2.3.2. 正常ラットにおける IGF-1 誘導作用（4 週間皮下投与）

ラットを用いた 4 週間反復皮下投与毒性試験および 2 週間の回復性試験（2.6.6.3.1 項）の一環として，トキシコキネティクス評価群の 3 例/性/用量/時点から血液検体を採取し，IGF-1 を定量した（報告書番号 1592-003 Addedum；2.6.3.2 項）。Somatrogon 投与群の動物から試験 1 日および 26 日の投与前ならびに投与 1，2，4，8，24，48，および 72 時間後に検体を採取した。血清中の IGF-1 は，市販の酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）キットを用いて測定した。その結果，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を有することが示された。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。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。

2.2.3.3. アカゲザルにおける IGF-1 誘導作用（4 週間皮下投与）

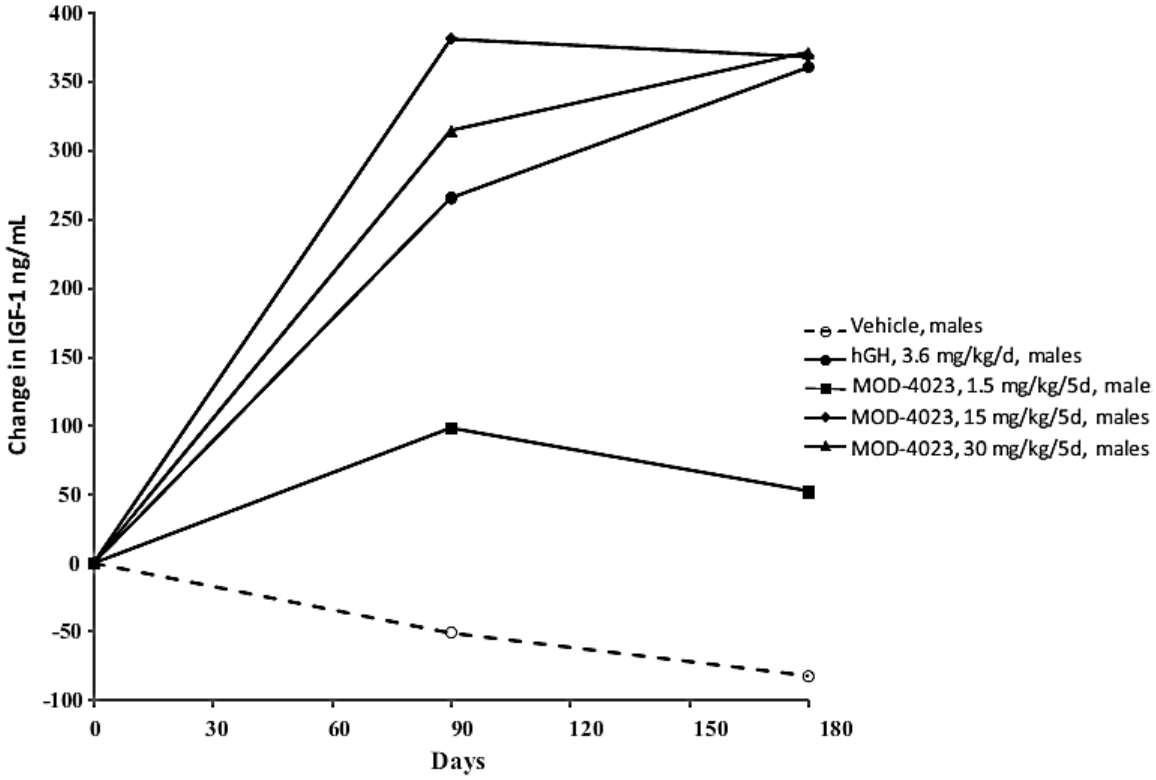
サルを用いた 4 週間反復投与毒性試験および 2 週間回復性試験（2.6.6.3.2 項）では，somatrogon を，若齢（約 1 歳～5 歳）の雌雄アカゲザル（3 または 5 匹/性/用量）に，0（溶媒対照），1.8，18，または 90 mg/kg の用量で，6 日間隔で皮下投与した（計 5 回；試験 1 日，7 日，13 日，19 日，および 25 日）（報告書番号 1592-004；2.6.3.2 項）。IGF-1 の定量のため，試験 1 日および 19 日の投与前ならびに投与 2，4，8，24，48，72，および 96 時間後に全動物の大腿静脈から血液検体を採取した。血清中の IGF-1 は，市販の ELISA キットを用いて測定した。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。

2.2.3.4. アカゲザルにおける IGF-1 誘導作用（26 週間皮下投与）

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（2.6.6.3.3 項）では，somatrogon を，若齢の雌雄アカゲザル（6 匹/性/用量；約 2.5 歳～4 歳）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。IGF-1 濃度を測定するため，すべての動物の大腿血管から血液検体を採取した。溶媒対照群および somatrogon 投与群からは，試験 1 日，91 日，および 181 日の投与前および投与 8，24，48，72，96，および 120 時間後に，検体を採取した。rhGH 投与群の検体は，試験 1 日，91 日，および 181 日の投与前，投与 8 および 24 時間後に採取した。血清中の IGF-1 は，市販の ELISA キットを用いて測定した。

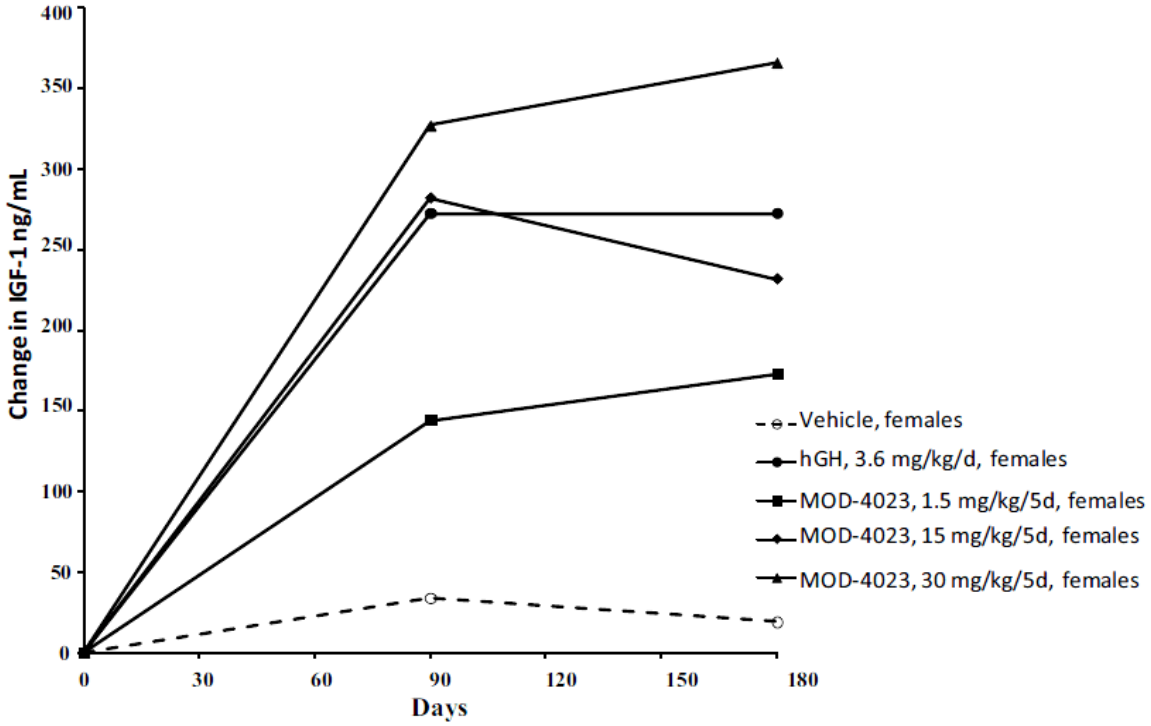
試験 91 および 181 日に，投与間隔に相当する時間として，somatrogon および rhGH 投与群で，投与時からそれぞれ投与 120 および 24 時間後までの血清 IGF-1 濃度を平均し, IGF-1 誘導作用の指標とした。これらの濃度を，試験 1 日の初回投与前に測定したベースラインの IGF-1 濃度と比較し，その結果を Figure 5 および Figure 6 に示した。Somatrogon 投与により，明確な用量反応性は得られなかったものの IGF-1 濃度が増加した。また，rhGH を投与した場合にも IGF-1 濃度が増加した。Somatrogon 低用量（1.5 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, 予想通り 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。

Figure 5.　雄アカゲザルに 26 週間皮下投与したときの血清 IGF-1 濃度のベースラインからの変化（報告書番号 1592-006）



雄アカゲザルに 26 週間，溶媒（Vehicle）または somatrogon（MOD-4023）を 5 日間隔で反復投与，または rhGH（hGH）を連日投与したときの IGF-1 のベースラインからの変化。動物数：6 匹/性/群，d：日，hGH：ヒト成長ホルモン，IGF-1：インスリン様成長因子-1.（出典；報告書番号 1592-006, Appendix L, Figure 6）

Figure 6.　雌アカゲザルに 26 週間皮下投与したときの血清 IGF-1 濃度のベースラインからの変化（報告書番号 1592-006）



雌アカゲザルに 26 週間，溶媒（Vehicle）または somatrogon（MOD-4023）を 5 日間隔で反復投与，または rhGH（hGH）を連日投与したときの IGF-1 のベースラインからの変化。動物数：6 匹/性/群，d：日，hGH：ヒト成長ホルモン，IGF-1：インスリン様成長因子-1.（出典；報告書番号 1592-006, Appendix L, Figure 6）

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。

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 [1]，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。

5. 薬力学的薬物相互作用試験

Somatrogon の薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。

6. 考察及び結論

Somatrogon の薬理活性を検討するため，in vitro および in vivo 試験を実施した。特に，安全性評価に適切と考えられる動物種を用い，現在市販されている rhGH 製剤との比較を行った。

In vitro において，somatrogon は hGHR，アカゲザル GHR，およびラット GHR に結合するが，親和性は rhGH よりも低かった。Somatrogon は下垂体切除ラットおよび正常ラットにおいて体重増加作用を持ち，下垂体切除ラット，正常ラット，およびアカゲザルにおいて IGF-1 を誘導した。これらの活性は，rhGH の薬理作用と相関している。下垂体切除ラットを用いた比較試験において，somatrogon は rhGH よりも体重増加作用の持続性が長いと考えられた。これは somatrogon の半減期が長いことと一致している（2.6.4.3 項）。細胞を用いた試験で得られたデータに基づくと，somatrogon の GHR に対する結合親和性は rhGH よりも低く，in vitro での効力も低くなっているが，これは somatrogon の半減期が長いことによって全体的には代償されると考える。

以上の薬理試験から得られた somatrogon の薬理学的特性から，ヒトに対する somatrogon の長期作用型 GH 製剤としての妥当性を裏付けることができると考えた。

7. 参考文献

1 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」について　薬食審査発 0323 第 1 号　平成 24 年 3 月 23 日.

2 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.

3 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.

4 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.

5 Rosenfeld RG, Hwa V. The growth hormone cascade and its role in mammalian growth. Horm Res. 2009;71(Suppl 2):36-40.

6 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.

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

TABLE OF CONTENTS

2.6.3.1. PHARMACOLOGY: OVERVIEW 2
2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS 4
2.6.3.3. SECONDARY PHARMACODYNAMICS 10

2.6.3.1. PHARMACOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PF-06836922

Type of Study	Test System	Method of Administration; Doses[a] (mg/kg)	Testing Facility	Sponsor Reference Number	Study Number
Primary Pharmacodynamics					
Binding Affinity to hGHR and rat GHR	In vitro SPR Analysis	In vitro	[redacted][b]	CD-04-0029	PF-06836922_[redacted]_161640
Proliferation of hGHR Expressing Cells	In vitro Cell Proliferation Assay	In vitro	[redacted][c]	CD-04-0029	PF-06836922_[redacted]_161640
Receptor Binding and Activation Kinetics for rat GHR and hGHR	In vitro Cell Proliferation Assay	In vitro	[redacted][c]	CD-04-0029	PF-06836922_[redacted]_161640
Binding Affinity to hGHR and rhesus monkey GHR	In vitro SPR Analysis	In vitro	[redacted][b]	CD-04-0058	PF-06836922_[redacted]_092607
Proliferation of hGHR Expressing Cells	In vitro Cell Proliferation Assay	In vitro	[redacted][c]	CD-04-0058	PF-06836922_[redacted]_092607
Receptor Binding and Activation Kinetics for GHR and rhesus monkey GHR	In vitro Cell Proliferation Assay	In vitro	[redacted][c]	CD-04-0058	PF-06836922_[redacted]_092607
Induction of STAT5b Phosphorylation	In vitro Cell Based Assay	In vitro	[redacted]	CD-04-0121	PF-06836922_[redacted]_025325
Effect of STAT5b Phosphorylation on gene regulation	In vitro Cell Based Luciferase Activity Assay	In vitro	[redacted]	CD-04-0121	PF-06836922_[redacted]_025325
Weight Gain Following Single Dose	Male Hypophysectomized Rats (Sprague Dawley)	SC; 0.55, 1.1, 5.5	[redacted][d]	CD-04-0034	PF-06836922_[redacted]_161925
Weight Gain Following Repeated Dose	Male Hypophysectomized Rats (Sprague Dawley)	SC; 0.48, 1.45, 4.34	[redacted][d]	CD-04-0034	PF-06836922_[redacted]_161925
IGF-1 Induction Following Single Dose	Male Hypophysectomized Rats (Sprague Dawley)	SC; 0.6, 1.8	[redacted][d]	CD-04-0035	PF-06836922_[redacted]_161823
Weight Gain Following Repeated Dose	Male and Female Rats (Sprague Dawley)	SC; 0, 3.6, 36, or 180	In-Life: [redacted][e]	TP-4-003	1592-003
IGF-1 induction Following Repeated Dose	Male and Female Rats (Sprague Dawley)	SC; 0, 3.6, 36, 180	In-Life: [redacted][e] BA: [redacted][f]	TP-4-003	1592-003 Addendum
IGF-1 Induction Following Repeated Dose (4-week)	Male and Female Monkeys (Rhesus)	SC; 0, 1.8, 18, 90	In-Life: [redacted][e] BA:	TP-4-004	1592-004

2.6.3.1. PHARMACOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PF-06836922

Type of Study	Test System	Method of Administration; Doses[a] (mg/kg)	Testing Facility	Sponsor Reference Number	Study Number
IGF-1 Induction Following Repeated Dose (26-week)	Male and Female Monkeys (Rhesus)	SC; 0, 1.5, 15, 30	In-Life: [redacted][f] [redacted][e] BA: [redacted][f]	M04008	1592-006
Secondary Pharmacology In Vitro Off-Target Binding	Broad panel of transmembrane and soluble receptors, ion channels, and monoamine transporters	In vitro 12 nM (0.012 µM) Somatrogon 10 nM (0.01 µM) rhGH	[redacted][g]	NA	CD-04-0127
Safety Pharmacology Not conducted					
Pharmacodynamic Drug Interactions Not conducted					

BA = Bioanalytical; [redacted] = [redacted]; GHR = Growth hormone receptor; hGHR = Human growth hormone receptor; IGF-1 = Insulin-like growth factor 1; NA = Not applicable; SC = Subcutaneous; SPR = Surface plasmon resonance; STAT5b = Signal transducer and activator of transcription 5B.

a. Somatrogon (Mod-4023) doses expressed as mg protein per kg of body weight; rhGH (Bio-Tropin®) doses are expressed as mg per kg of body weight.

b. [redacted], Israel

c. Formally known as [redacted], company name changed to [redacted] and the company purchased by OPKO Biologics, Nes Ziona, Israel.

d. [redacted] Israel

e. [redacted], MI

f. [redacted], CA

g. [redacted], MD

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06836922

Organ Systems Evaluated[a]	Species/ Strain	Method of Administration	Dose[b] (mg/kg)[c]	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number; Sponsor Reference Number
SPR Receptor Binding Kinetics.	Recombinant rat GHR-Fc, and hGHR-Fc Chimeras	In vitro	Dose-response: Somatrogon at 0-625 nM; rhGH at 0-62.5 nM	NA	K_d of Somatrogon: hGHR = 18.46 ± 11.55 nM, rat GHR = 6.57 ± 0.64 nM. Binding affinity of Somatrogon to hGHR 33x lower than rhGH (0.55 ± 0.24 nM). Affinity of Somatrogon for rat GHR and hGHR were similar.	No	PF-06836922_[redacted]_161640; CD-04-0029
Cell Proliferation Assay	BAFB2B2[d] murine cell	In vitro	Dose-response: Somatrogon at 0.02-1333.3 ng protein/mL; rhGH at 0.001-45 ng/mL	NA	Somatrogon Induces cell proliferation mediated by hGHR. In vitro potency of Somatrogon (EC_{50} = 15.8 ± 2.0 ng/mL) 43x lower than rhGH (EC_{50} = 0.36 ± 0.06 ng/mL).	No	PF-06836922_[redacted]_161640; CD-04-0029
Cell Proliferation Inhibition Assay	BAFB2B2 murine cell	In vitro	Dose-response: Somatrogon at 12 ng protein/mL; rat GHR and hGHR at 0.1-1000 ng/mL	NA	Similar ability of the rat and human soluble recombinant GHRs to inhibit Somatrogon induced cell proliferation: rat GHR IC_{50} = 26.5 ± 4.7 ng/mL; hGHR IC_{50} = 29.9 ± 7.2 ng/mL.	No	PF-06836922_[redacted]_161640; CD-04-0029
SPR Receptor Binding Kinetics	Recombinant rhesus monkey GHR-Fc, and hGHR-Fc Chimeras	In vitro	Dose-response: Somatrogon at 0-625 nM; rhGH at 0-62.5 nM.	NA	K_d of Somatrogon: hGHR = 7.39 ± 5.23 nM, Rhesus monkey GHR = 13.15 ± 7.92 nM. Binding Affinity of Somatrogon to hGHR 8.1x lower than rhGH (0.91 ± 0.79 nM), increased replicates reduced variability and improved standard deviation.	No	PF-06836922_[redacted]_092607; CD-04-0058

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06836922

Organ Systems Evaluated[a]	Species/ Strain	Method of Administration	Dose[b] (mg/kg)[c]	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number; Sponsor Reference Number
Cell Proliferation Assay	BAFB2B2[d] murine cell	In vitro	Dose-response: Somatrogon at 0.02-1333.3 ng protein/mL; rhGH at 0.001-45 ng/mL.	NA	Somatrogon Induces Cell Proliferation Mediated By hGHR (EC_{50} = 12.2 ± 2.4 ng/mL). In vitro potency of Somatrogon was 33x lower than rhGH (0.37 ± 0.06 ng/mL).	No	PF-06836922_[redacted]_092607; CD-04-0058
Cell Proliferation Inhibition Assay	BAFB2B2[d] murine cell	In vitro	Dose Response: Somatrogon at 12 ng protein/mL; rhesus monkey GHR and hGHR at 0.4-4166.7 ng/mL; rhGH at 0.4 mg/mL; rhesus monkey GHR and hGHR at 0.01-833.3 ng/mL.	NA	Somatrogon: rhesus monkey GHR IC_{50} = 212.6 ± 25.4 ng/mL; human GHR IC_{50} = 67.3 ± 13.2 ng/mL. rhGH: rhesus monkey GHR IC_{50} = 13.62 ± 5.97 ng/mL; hGHR IC_{50} = 3.74 ± 1.68 ng/mL. For both Somatrogon and rhGH, the ability of monkey soluble recombinant GHR to inhibit Cell-induced Proliferation was about 3x lower as compared to hGHR.	No	PF-06836922_[redacted]_092607; CD-04-0058

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06836922

Organ Systems Evaluated[a]	Species/ Strain	Method of Administration	Dose[b] (mg/kg)[c]	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number; Sponsor Reference Number
Cell Phosphorylation Assay	HEK293-hGHR[e] cells	In vitro	Dose-response: Somatrogon at 17-1700 ng protein/mL; rhGH at 10-200 ng/mL.	NA	Somatrogon dose-dependent phosphorylation of STAT5b response. Concentration required to reach saturation (visual inspection of immunoblots) higher than for rhGH	No	PF-06836922_[redacted]_025325; CD-04-0121
Gene Expression Assay	HEK293-hGHR-pGHRE-LUC[f] cells	In vitro	Dose-response: Somatrogon at 17-1700 ng protein/mL; rhGH at 10-200 ng/mL.	NA	Somatrogon activated GHR gene regulation in a dose-dependent manner but with a lower luciferase response relative to rhGH at similar doses.	No	PF-06836922_[redacted]_025325; CD-04-0121
Evaluation of Somatrogon induced whole body growth in comparison to rhGH	Hypophysectomized Rat/ Sprague Dawley	In vivo; SC	Single dose: Somatrogon at 0.55, 1.1, and 5.5 mg protein/kg; rhGH at 0.1 mg/kg/day, 10 day duration.	Male, N = 8.	Somatrogon a single injection of 0.55 and 1.1 mg protein/kg produced a level of weight gain similar to daily injections of 0.1 mg/kg of rhGH following 4 days of treatment.	No	PF-06836922_[redacted]_161925; CD-04-0034

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06836922

Organ Systems Evaluated[a]	Species/ Strain	Method of Administration	Dose[b] (mg/kg)[c]	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number; Sponsor Reference Number
Evaluation of Somatrogon induced whole body growth in comparison to rhGH	Hypophysectomized Rat/ Sprague Dawley	In vivo; SC	Repeat dosing: Somatrogon at 0.48, 1.45, and 4.34 mg protein/kg 4 days apart for 12 days or 7 days apart for 14 days; rhGH at 0.1 mg/kg/day daily for 14 days.	Male, N = 10.	Somatrogon, when administered at 0.48 mg/kg/dose 4 days apart for 12 days, produced a similar weight gain as daily injections of rhGH at 0.1 mg/kg/day. Following a treatment regimen of dosing once every 7 days, lower weight gain was produced with Somatrogon than occurred with the once every 4 day regimen.	No	PF-06836922_[redacted]_161925; CD-04-0034
Evaluation of Somatrogon induced IGF-1 levels in comparison to rhGH	Hypophysectomized Rat/ Sprague Dawley	In vivo; SC	Single Dose: Somatrogon at 0.6 and 1.8 mg protein/kg; rhGH at 0.35 and 1.05 mg/kg.	Male, N = 12; Male, N = 9.	IGF-1 response following injection of Somatrogon significantly higher and longer than following injection of rhGH.	No	PF-06836922_[redacted]_161823; CD-04-0035

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06836922

Organ Systems Evaluated[a]	Species/ Strain	Method of Administration	Dose[b] (mg/kg)[c]	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number; Sponsor Reference Number
Evaluation of Somatrogon-induced whole body growth and modulation of IGF-1 concentrations	Rat/ Sprague Dawley	In vivo; SC	Repeat dosing: Somatrogon at 0, 3.6, 36, or 180 mg/kg 2x/wk for 4 wk	Male, N = 15 and Female, N = 15 (0, 180 mg/kg); Male, N = 10 and Female, N = 10 (3.6, 36 mg/kg).	Repeat doses of 36 or 180 mg/kg of Somatrogon induced dose-proportional weight gain in both male and female rats. At 3.6 mg/kg, weight gain was unaffected.	Yes	1592-003; TP-4-003
					Increased IGF-1 concentrations at all somatrogon doses.	No	1592-003 Addendum
Evaluation of Somatrogon-induced IGF-1 concentrations	Monkey/ Rhesus	In vivo; SC	Repeat dosing: Somatrogon at 0, 1.8, 18, or 90 mg/kg once every 6 days for 4 wk	Male, N = 5 and Female, N = 5 (0, 90 mg/kg); Male, N = 3 and Female, N = 3 (1.8, 18 mg/kg).	Somatrogon pharmacologically active at all doses, producing increased IGF-1 concentrations.	Yes	1592-004; TP-4-004

2.6.3.2. PRIMARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06836922

Organ Systems Evaluated[a]	Species/ Strain	Method of Administration	Dose[b] (mg/kg)[c]	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Report Number; Sponsor Reference Number
Evaluation of Somatrogon-induced IGF-1 concentrations	Monkey/ Rhesus	In vivo; SC	Repeat dosing: Somatrogon at 0, 1.5, 15, or 30 mg/kg once every 5 days for 26 wk; rhGH at 3.6 mg/kg, once daily for 26 wk.	Male, N = 6 and Female, N = 6.	Somatrogon pharmacologically active at all doses, producing increased IGF-1 concentrations. IGF-1 responses to rhGH and somatrogon (at 15 and 30 mg/kg) was similar.	Yes	1592-006; M04008

rhGH (Bio-Tropin®, commercial recombinant human growth hormone) was used as a comparator and the distinct results were reported for comparison. Fc = Fragment crystallizable; EC_{50} = Concentration corresponding to 50% of the maximum effect; GHR = Growth hormone receptor; GLP = Good laboratory practice; HEK = Human embryonic kidney cells; hGHR = Human growth hormone receptor; IC_{50} = 50% inhibitive concentration; IGF-1 = Insulin-like growth factor 1; K_d = Dissociation constant; LUC = luciferase; N = Number per group; NA = Not applicable; No. = Number; rhGH = Recombinant human growth hormone; SC = Subcutaneous; SPR = Surface plasmon resonance; STAT5b = Signal transducer and activator of transcription 5b; wk = Week.

a. In vitro protein and cell-based assays also denoted.

b. Single dose unless specified otherwise.

c. For In vitro experiments Somatrogon and control rhGH concentrations used in the assay provided in nM or protein/mL values.

d. BAFB2B2 is a murine cell line made up of Baf-3 cells (murine interleukin-3 dependent pro-B cell line), stably transfected and highly expressing the human growth hormone receptor

e. HEK293-hGHR a human embryonic kidney cell line stably over-expressing human growth hormone receptor.

f. HEK293-hGHR-pGHRE-LUC a human cell line stably over-expressing human growth hormone receptor and transiently expressing luciferase (LUC) reporter construct carrying 8x GH response element (GHRE) from the rat Spi2.1 gene in pGL2 plasmid.

2.6.3.3. SECONDARY PHARMACODYNAMICS

Test Article: PF-06836922

Type of Test	Test Cells/ Tissues	Concentration	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number
In Vitro Off-Target Binding	Broad panel of transmembrane and soluble receptors, ion channels, and monoamine transporters	12 nM (0.012 µM) Somatrogon; 10 nM (0.01 µM) rhGH	Glutamate, N-methyl-D-aspartate, phencyclidine site: Somatrogon: 69.95% Inhibition rhGH: 83.98% Inhibition	No	CD-04-0127

GLP = Good Laboratory Practice.

TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 1
本項で使用する用語・略語 2
パラメータの略号および算出法 3
1. まとめ 4
2. 分析法 5
2.1. ラットおよびサル血清中の somatrogon の定量 5
2.2. サル血清中の rhGH の定量 5
2.3. Somatrogon に対する抗体の検出 6
2.4. ラットおよびサル血清中の IGF-1 の定量 7
3. 吸収 7
3.1. 単回投与時の薬物動態評価 7
3.1.1. ラット 8
3.1.2. サル 8
3.2. 反復投与時の薬物動態および ADA の評価 9
3.2.1. ラット 9
3.2.2. サル 12
4. 分布 13
5. 代謝（動物種間の比較） 13
6. 排泄 14
7. In vitro 薬物動態学的薬物相互作用 14
8. その他の薬物動態試験 14
9. 考察および結論 14
10. 引用文献 16

LIST OF TABLES

Table 1. ラットに単回皮下投与したときの somatrogon および rhGH の薬物動態パラメータ 8
Table 2. アカゲザルに単回皮下投与したときの somatrogon の薬物動態パラメータ 9
Table 3. ラットに反復皮下投与したときの somatrogon の薬物動態パラメータ 11
Table 4. アカゲザルに反復皮下投与したときの somatrogon の薬物動態パラメータ 13
Table 5. アカゲザルに rhGH を連日皮下投与したときの薬物動態パラメータ 13

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
ABTS	2,2'-azino-di-(3-ethylbenzthiazoline sulfonic acid) : 2,2'-アジノビス（3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホン酸）
ADA	anti-drug antibody：抗薬物抗体
AUC	area under the serum concentration-time curve：血清中濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{inf}	area under the serum concentration-time curve from zero to infinity： 0 時間から無限大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 zero 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
AUC_t	area under the serum concentration-time curve from zero to time t： 0 時間から t 時間までの血清中濃度 - 時間曲線下面積
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 plasma concentration：最高血清中濃度
CTP	C-terminal peptide：カルボキシ末端ペプチド
CYP	cytochrome P450：シトクロム P450
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay：酵素免疫測定法
F	bioavailability：バイオアベイラビリティ
GH	growth hormone：成長ホルモン
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
HRP	horseradish peroxidase：西洋ワサビペルオキシダーゼ
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use：医薬品規制調和国際会議
IGF-1	insulin like growth factor-1：インスリン様成長因子-1
R^2	decision coefficient：決定係数
rhGH	recombinant human growth hormone：組換え型ヒト成長ホルモン
$t_{½}$	apparent terminal elimination half-life：見かけの終末相消失半減期
T_{max}	time of occurrence of C_{max}：最高血清中濃度到達時間
TMB	tetramethylbenzidine：テトラメチルベンジジン
V_{ss}	steady-state distribution volume：定常状態における分布容積
Vz/F	apparent volume of distribution：見かけの分布容積

パラメータの略号および算出法

略号・用語	定義および算出法
T_{max}	最高血清中濃度到達時間：(hr)
C_{max}	最高血清中濃度：(μg/mL)
AUC_t	0 時間から t 時間までの血清中濃度－時間曲線下面積：(μg･hr/mL) 台形法を用いて算出した。 AUC_{24} は 0 時間から投与後 24 時間までの血清中濃度－時間曲線下面積
AUC_{inf}	0 時間から無限大時間までの血清中濃度－時間曲線下面積：(μg･hr/mL) $AUC_{inf} = AUC_t + C_t / k_{el}$ C_t は最終検出可能時点（t）の血清中濃度，k_{el} は消失速度定数：(hr^{-1})
AUC_{last}	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：(μg･hr/mL) 台形法を用いて算出した。
$t_{½}$	見かけの終末相消失半減期：(hr)　以下の式を用いて算出した。 $t_{½} = \ln 2 / k_{el}$
V_{ss}	定常状態における分布容積：(L/kg)　以下の式を用いて算出した。 $V_{ss} = CL_{tot} / k_{el}$

1. まとめ

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（別名：MOD-4023 または PF-06836922）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［最高血清中濃度（C_{max}）および血清中濃度-時間曲線下面積（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 は組換え型ヒト成長ホルモン（rhGH）と比べて見かけの終末相消失半減期（$t_{1/2}$）および C_{max} 到達時間（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。

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 領域およびカルボキシ末端ペプチド（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 の曝露量およびインスリン様成長因子（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 hGH にヒト絨毛性ゴナドトロピン（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。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 とシトクロム P450（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。全般的に，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た。この in vitro 試験により，somatrogon と rhGH はシトクロム 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ことが示唆されると結論された。

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 は主として蛋白質分解により異化されると考えられる。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。

2. 分析法

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）を適用した反復投与毒性試験では，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，ラットおよびサルの血清中の IGF-1 の定量に酵素免疫測定法（ELISA）を用いた。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。

2.1. ラットおよびサル血清中の somatrogon の定量

ラット血清（報告書番号 AR2545），ラット胎児血清（報告書番号 AR3895），妊娠ラット血清（報告書番号 AR3896）およびサル血清（報告書番号 AR2664）中の somatrogon の定量には，バリデートされた ELISA 法を使用した。

これらの定量分析では，抗 hGH 抗体をマイクロプレート上に固相化し，血清試料中の somatrogon を捕捉した。ビオチン化抗 CTP ポリクローナル抗体と西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）で標識したストレプトアビジンを用いて，抗 hGH 抗体に結合した somatrogon を検出した。3,3’,5,5’-テトラメチルベンジジン（TMB）を基質として使用し，比色測定法で 450 nm の波長を読み取り測定した（補正波長：650 nm）。試料中の濃度は，検量線から補間して求めた。

ラット GLP 適用反復投与毒性試験（報告書番号 1592-003 および 1592-008）では，somatrogon の定量範囲は未希釈（最小必要希釈倍率 1:10）のラット血清試料で 1,400～75,000 pg/mL，未希釈（最小必要希釈倍率 1:10）のラット胎児血清および妊娠ラット血清で 1,500～60,000 pg/mL であった。ラット血清中では室温で少なくとも 4 時間，-70°C で最長 6 ヵ月間，somatrogon は安定であった。また，5 回までの凍結融解安定性が確認された。ラット胎児血清および妊娠ラット血清では，室温で少なくとも 24 時間，-70°C で 6 ヵ月間，somatrogon は安定であった。また，5 回までの凍結融解安定性が確認された。

サル GLP 適用反復投与毒性試験（報告書番号 1592-004 および 1592-006）では，somatrogon の定量範囲は，未希釈（最小必要希釈倍率 1:10）のサル血清で 1,400～75,000 pg/mL であった。サル血清中では，室温で少なくとも 24 時間，-70°C で最長 6 ヵ月間，somatrogon は安定であった。また，5 回までの凍結融解安定性が確認された。

2.2. サル血清中の rhGH の定量

サル GLP 適用反復投与毒性試験（報告書番号 1592-006）において，市販の hGH ELISA キットを改変したサル血清中の rhGH の定量法のバリデーションを実施した（報告書番号 AR3694）。この定量分析では，サル血清試料中の rhGH を捕捉するために，ジゴキシゲニン標識抗 rhGH 抗体

をマイクロプレート上に固相化した。ジゴキシゲニン標識抗 rhGH 抗体に結合した rhGH は，ペルオキシダーゼ標識抗ジゴキシゲニン抗体により検出し，2,2'-アジノビス（3-エチルベンゾチアゾリン-6-スルホン酸）（ABTS）を基質として使用し，比色測定法で 405 nm の波長を読み取り測定した（補正波長：490 nm）。試料中の濃度は，検量線から補間して求めた。rhGH の定量範囲は，未希釈（最小必要希釈倍率 1:500）サル血清試料中で 7,050～180,000 pg/mL であった。安定性試験により，サル血清中では，室温および 2～8°C で少なくとも 24 時間，rhGH は安定であった。また，5 回までの凍結融解安定性が確認された。

2.3. Somatrogon に対する抗体の検出

ラット GLP 適用反復投与毒性試験（報告書番号 1592-003）およびサル GLP 適用反復投与毒性試験（報告書番号 1592-004 および 1592-006）で，試料中の抗 somatrogon 抗体を検出した。somatrogon に対する抗体が陽性の試料はさらに分析し，somatrogon の hGH 領域または CTP 領域に対する抗体の有無を検査した。また，これらの抗体が somatrogon に対して中和活性を示すのか，あるいは somatrogon の hGH 領域に対して特異的に中和活性を示すのかを判断するため，これらの抗体の特性をさらに評価した。サル GLP 適用試験（報告書番号 1592-006）では，試料中の rhGH に対する抗体の有無も検討した。これらの試験で使用したバリデートされた方法を以下に示す。

定性的ブリッジング ELISA により，ラット（報告書番号 AR2546）およびサル（報告書番号 AR2704）の血清中の抗 somatrogon 抗体の有無を検査した。この試験では，血清試料中の somatrogon に対する抗体を捕捉するために somatrogon をマイクロプレート上に固相化した。Somatrogon に結合した抗体はビオチン化 somatrogon と HRP 標識ストレプトアビジンで検出し，TMB を用いて可視化し，比色測定法で 450nm の波長を読み取り測定した（補正波長：650nm）。陽性対照（ウサギ抗 somatrogon 抗体）および陰性対照（正常ラットまたはサルのプール血清）は，分析性能のモニターおよびカットポイントの決定に使用した。ラットおよびサル血清におけるカットポイントの光学密度（OD）は，それぞれ 0.058 および 0.077 であった。段階的に試験試料中の ADA を測定した。まず最初に，スクリーニング試験で試料を 1:10 の希釈倍率でデュプリケートで測定した。OD がカットポイント未満の試料は陰性と判断した。カットポイント以上の OD が生じた試料は再分析し，その特異性が somatrogon に対するものか，または somatrogon の hGH 領域に対するものか判断した。すなわち，somatrogon または hGH を添加してインキュベートした試料の OD と未添加の試料の OD を比較し，阻害率を算出することにより特異性を判断した。抗体価は，カットポイントと同等以上の OD を示した試料の最大希釈倍率の逆数と定義した。抗体価が 10 以上の試料は抗 CTP 抗体を検出するために，以下の方法でさらに分析した。

定性的ブリッジング ELISA により，ラット（報告書番号 AR2769）およびサル（報告書番号 AR2771）の血清中の somatrogon の CTP 領域に対する抗体の有無を検査した。この試験では，血清試料中の CTP に対する抗体を捕捉するために CTP をマイクロプレートに固相化した。CTP に結合した抗体はビオチン化 CTP と HRP 標識ストレプトアビジンで検出し，TMB を用いて可視化し，比色測定法で 450nm の波長を読み取り測定した（補正波長：650nm）。陽性対照（ウサギ抗 CTP 抗体）および陰性対照（正常ラットまたはサルのプール血清）は，分析性能のモニターおよびカットポイントの決定に使用した。ラットおよびサル血清におけるカットポイントの OD は，それぞれ 0.015 および 0.013 であった。試料を 1:10 の希釈倍率でデュプリケートで測定し，OD がカットポイント未満の場合を陰性とし，カットポイント以上の場合を陽性とした。

ラット（報告書番号 AR2911）およびサル（報告書番号 AR2912）血清中の抗体の somatrogon に対する中和活性，ならびにラット（報告書番号 AR2913）およびサル（報告書番号 AR2914）血清中の抗体の hGH に対する中和活性を定性的に検出するために，細胞ベースの試験法をバリデートした。この試験は，somatrogon または hGH が BAFB2B2 マウスリンパ腫細胞の細胞表面に発現している hGH 受容体へ結合することによる細胞増殖作用に基づいている。血清試料を somatrogon または hGH とプレインキュベートし，細胞懸濁液に添加した。somatrogon または hGH に対する中和活性を有する抗体が存在した場合，BAFB2B2 細胞の増殖阻害が認められる。既知の中和抗体（ウサギ抗 somatrogon 抗体またはヤギ抗 hGH 抗体）および陰性対照（正常ラットまたはサルのプール血清）は，分析性能のモニターおよびカットポイントの決定に使用した。

サル血清中の抗 rhGH 抗体を検出するために，定性的ブリッジング ELISA を用いた（報告書番号 AR3695）。この試験では，血清試料中の rhGH に対する抗体を捕捉するために rhGH をマイクロプレートに固相化した。rhGH に結合した抗体は，ビオチン化 rhGH と HRP 標識ストレプトアビジンで検出し，TMB を用いて可視化し，比色測定法で 450nm の波長を読み取り測定した（補正波長：650nm）。陽性対照（抗 rhGH 抗体）および陰性対照（正常サルのプール血清）は，分析性能のモニターおよびカットポイントの決定に使用した。サル血清におけるカットポイントの OD は 0.021 であった。試験試料中の ADA を段階的に測定した。まず最初に，スクリーニング試験で試料を 1:10 の希釈倍率でデュプリケートで測定した。OD がカットポイント未満の試料は陰性と判断した。カットポイント以上の OD を示した試料はさらに分析を進めた。抗体価は，カットポイント以上の OD を示した試料の最大希釈倍率の逆数と定義した。抗体価が 10 以上の試料はさらに特異性を検討した。すなわち，rhGH を添加してインキュベートした試料の OD と未添加の試料の OD と比較し，阻害率を算出することにより特異性を判断した。

2.4. ラットおよびサル血清中の IGF-1 の定量

ラットを用いた GLP 試験（報告書番号 1592-003）およびサルを用いた GLP 試験（報告書番号 1592-004 および 1592-006）において，ラットおよびサルの血清中 IGF-1 濃度を定量するために ELISA 法を用いた。これらの試験では，ラットおよびサルの血清試料中の IGF-1 を捕捉するために，抗 IGF-1 抗体をマイクロプレートに固相化した。抗 IGF-1 抗体に結合した IGF-1 は，HRP 標識抗 IGF-1 ポリクローナル抗体で検出し，TMB を用いて可視化し，比色測定法で 450nm の波長を読み取り測定した（補正波長：650nm）。試料濃度は，検量線から補間して求めた。ラットを用いた試験における IGF-1 の定量範囲は未希釈（最小必要希釈倍率 1:1000）ラット血清試料中で 60,000～1,800,000 pg/mL であった（報告書番号 1592-003 Addendum）。サルを用いた試験における IGF-1 の定量範囲は，未希釈サル血清試料中で 97,500～945,000 pg/mL（報告書番号 1592-004, 最小必要希釈倍率 1:250）および 44,000～287,000 pg/mL（報告書番号 1592-006, 最小希釈倍率 1:100）であった。

3. 吸収

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）。

3.1.1. 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（溶媒：147 mmol/L 塩化ナトリウムを含む 10 mmol/L クエン酸緩衝液）を 0.6 および 1.8 mg/kg（各用量群 12 匹），または rhGH を 0.35 および 1.05 mg/kg（各用量群 9 匹）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 の用量は rhGH と hGH 含量がほぼ同程度になるよう設定した。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（Table 1）。

単回投与毒性試験の一部として，somatrogon（溶媒 : 147 mmol/L 塩化ナトリウムを含む 10 mmol/L クエン酸緩衝液）を 3.6，36 および 180 mg/kg の用量で Sprague-Dawley ラット（雌雄各 6 匹/群）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（Table 1）。

Table 1.　ラットに単回皮下投与したときの somatrogon および rhGH の薬物動態パラメータ

報告書番号	投与量（mg/kg）	性別／匹数	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (h)	AUC_t (μg·h/mL)	AUC_{inf} (μg·h/mL)	CL/F (mL/h/kg)	$t_{½}$ (h)
CD-04-0035	somatrogon 0.6	M/12 [a]	0.681	8.0	11.5	11.5	52.2	7.0
	somatrogon 1.8	M/12 [a]	2.15	8.0	37.7	37.7	47.7	6.8
	rhGH 0.35	M/9 [a]	0.440	0.5	1.28	1.28	274	1.5
	rhGH 1.05	M/9 [a]	1.08	0.5	3.54	3.54	296	1.5
1592-001	somatrogon 3.6	M/6, F/6 [a]	1.76	6.0	25.4	25.4	151	5.5
	somatrogon 36	M/6, F/6 [a]	17.9	8.0	372	372	96.7	5.1
	somatrogon 180	M/6, F/6 [a]	69.4	16	1960	1960	92.0	4.7

AUC_t : 0 時間から 72 時間（報告書番号 1592-001）または 96 時間（報告書番号 CD-04-0035）までの血清中濃度 - 時間曲線下面積
AUC_{inf} : 0 時間から無限大時間までの血清中濃度 - 時間曲線下面積，CL/F : 見かけのクリアランス
C_{max} : 最高血清中濃度，F : 雌，M : 雄，rhGH : 組換え型ヒト成長ホルモン，
T_{max} : 最高血清中濃度到達時間，$t_{1/2}$: 見かけの終末相消失半減期
a. 各時点 3 匹
（出典：報告書番号 CD-04-0035，Table3 および報告書番号 1592-001，Appendix F の Table を改変）

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（溶媒：147 mmol/L 塩化ナトリウムを含む 10 mmol/L クエン酸緩衝液）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（Table 2）。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。

Table 2.　アカゲザルに単回皮下投与したときの somatrogon の薬物動態パラメータ

報告書番号	投与量 (mg/kg)	性別／匹数	C_{max} (µg/mL)	T_{max} (h)	AUC_t (µg·h/mL)	AUC_{inf} (µg·h/mL)	CL/F (mL/h/kg)	$t_{½}$ (h)	Vz/F (L/kg)
1592-002	1.8	M/3, F/3	2.07	4.0	38.7	39.0	47.5	10	0.701
	90	M/3, F/3	109	11	2440	2470	37.0	9.9	0.529

AUC_t：0 時間から 72 時間までの血清中濃度 - 時間曲線下面積，
AUC_{inf}：0 時間から無限大時間までの血清中濃度 - 時間曲線下面積，CL/F：見かけのクリアランス，
C_{max}：最高血清中濃度，F：雌，M：雄，T_{max}：最高血清中濃度到達時間，
$t_{1/2}$：見かけの終末相消失半減期，Vz/F：見かけの分布容積
（出典：報告書番号 1592-002，Appendix K の Table より改変）

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および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）。

3.2.1. 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（各用量群 11 匹[a]）に somatrogon（溶媒：147 mmol/L 塩化ナトリウムを含む 10 mmol/L クエン酸緩衝液）を 0（溶媒対照），3.6，36 および 180 mg/kg（週 2 回投与）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）。試験 1 日および試験 26 日（最終投与後）に血清試料を採取した。Somatrogon の曝露量（Cmax 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（Table 3）。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。試験 27 日の評価ではトキシコキネティクス動物の安楽殺時の試料を用い，溶媒対照群では主試験動物の剖検時試料も追加した。また試験 40 日では，回復性試験動物の剖検時試料を用いた。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

[a]各用量につき各時点で雌雄各 3 匹から採取した。

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-1，2.6.2.2.2 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-04-001）。溶媒対照群（トキシコキネティクス評価動物）において試験 1 日および試験 26 日の投与 8 時間後に採取した試料を用いて somatrogon に対する ADA の有無を追加検査したところ，試験 1 日の試料では somatrogon に対する ADA はすべて陰性であったが，試験 26 日の試料では somatrogon に対する ADA はすべて陽性であり，somatrogon の hGH 領域に対して特異的であった。これらの結果を以下と合わせて検討したところ，対照群が somatrogon で汚染された可能性は低いと結論された。

- 溶媒対照群の血清 somatrogon 濃度は定量限界未満であった。
- 被験物質および溶媒対照試料の表示が適切に行われていることを確認した。
- 残存していた溶媒対照群の緩衝液中に somatrogon は存在しなかった。

このように調査の結果，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（溶媒：147 mmol/L 塩化ナトリウムを含む 10 mmol/L クエン酸緩衝液）を 0（溶媒対照），3，10 および 30 mg/kg（2 日間に 1 回投与）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}）はおおむね同程度であった（Table 3）。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。

Table 3.　ラットに反復皮下投与したときの somatrogon の薬物動態パラメータ

報告書番号	日	投与量 (mg/kg)	性別／匹数	C_{max} (µg/mL)	T_{max} (h)	AUC_{last} (µg·h/mL)	AUC_{inf} (µg·h/mL)	CL/F (mL/h/kg)	$t_{½}$ (h)
1592-003 [a,b]	1	3.6	M/9, F/9	1.28	4.0	18.2	18.2	198	4.1
		36	M/9, F/9	12.7	8.0	278	278	129	4.9
		180	M/9, F/9	45.7	8.0	1490	1490	121	5.2
	26	3.6	M/9, F/9	2.49	8.0	44.8	44.9	80.2	7.5 [c]
		36	M/9, F/9	25.7	24	750	750	48.0	4.8 [c]
		180	M/9, F/9	95.7	24	3280	3280	54.9	6.2

報告書番号	日	投与量 (mg/kg)	性別／匹数	C_{max} (µg/mL)	T_{max} (h)	AUC_{24} (µg·h/mL)	AUC_{48} (µg·h/mL)	AUC_{inf} (µg·h/mL)	CL/F (mL/h/kg)	$t_{½}$ (h)
1592-008 [b,d]	GD6	3	F/9	2.02	4.0	24.4	25.1	25.2	119	5.0
		10	F/9	5.03	8.0	69.7	76.5	76.7	130	5.0
		30	F/9	14.3	8.0	236	315	316	94.9	5.1
	GD18	3	F/9	1.69	8.0	22.5	NC	NC	NC	NC
		10	F/9	6.21	8.0	89.5	NC	NC	NC	NC
		30	F/9	8.96	8.0	180	NC	NC	NC	NC

AUC_{24}：0 時間から 24 時間までの血清中濃度 - 時間曲線下面積，AUC_{48}：0 時間から 48 時間までの血清中濃度 - 時間曲線下面積，
AUC_{last}：0 時間から 72 時間（最終定量可能時点）までの血清中濃度 - 時間曲線下面積，AUC_{inf}：0 時間から無限大時間までの血清中濃度 - 時間曲線下面積，
CL/F：見かけのクリアランス，C_{max}：最高血清中濃度，F：雌，GD：妊娠日齢，M：雄，NC：算出せず，　T_{max}：最高血清中濃度到達時間，
$t_{½}$：見かけの終末相消失半減期
a. ラットには試験 1，5，8，12，15，19，22 および 26 日に投与した（週 2 回投与）。
b. 各時点各用量群で雌雄各 3 匹。
c. 平均値の元データは，正確な $t_{½}$ を求めるには不十分であった可能性がある（消失相の R^2 は 0.72～0.88 の範囲であった）。
d. ラットには，妊娠 6 日から 18 日まで 2 日毎に投与した。

（出典：報告書番号 1592-003，Apendix L，Table 1 および 1592-008，Appendix N，Table 7.1 より）

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（各群 3 匹または 5 匹）に somatrogon（溶媒：147 mmol/L 塩化ナトリウムを含む 10 mmol/L クエン酸緩衝液）を 0（溶媒対照），1.8，18，および 90 mg/kg（1 回/6 日間）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）。試験 1 日および試験 19 日に血清試料を採取した。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（Table 4）。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。予想されたとおり，全てのサルで IGF-1 濃度の上昇が認められた。

Somatrogon に対する ADA の有無を対照群および 90 mg/kg 群で評価した。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。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，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（各群 6 匹）に somatrogon（溶媒：147 mmol/L 塩化ナトリウムを含む 10 mmol/L クエン酸緩衝液）を 0（溶媒対照），1.5，15，および 30 mg/kg（1 回/5 日間）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（Table 4）。試験 91 日および 181 日の投与前濃度が測定可能なレベルであったことから，試験期間中は somatrogon の曝露量が維持されていることが分かった。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，$t_{1/2}$，および見かけの分布容積（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（雌雄各 6 匹）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（Table 5）。

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），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）は somatrogon 投与で認められたものと同程度であった。

Table 4.　アカゲザルに反復皮下投与したときの somatrogon の薬物動態パラメータ

報告書番号	日	投与量 (mg/kg)	性別／匹数	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (h)	AUC_{last} (μg·h/mL)[a]	AUC_{inf} (μg·h/mL)	CL/F (mL/h/kg)	$t_{½}$ (h)	Vz/F (L/kg)
1592-004[b]	1	1.8	M/3, F/3	3.48	6.7	78.3	78.9	23.2	13	0.446
		18	M/3, F/3	29.3	7.3	765	771	23.8	13	0.443
		90	M/5, F/5	125	14	4060	4140	22.2	17	0.547
	19	1.8	M/3, F/3	3.82	4.7	80.7	81.2	22.4	13	0.403
		18	M/3, F/3	22.0	15	748	759	24.0	14	0.493
		90	M/5, F/5	119	9.6	4100	4210	22.3	16	0.510
1592-006[c]	1	1.5	M/6, F/6	2.30	6.0	56.6	56.7	27.4	16	0.618
		15	M/6, F/6	22.3	9.3	654	658	23.4	16	0.541
		30	M/6, F/6	50.9	7.7	1430	1440	21.1	18	0.557
	91	1.5	M/6, F/6	4.26	9.0	191	227	20.5	15	0.342
		15	M/6, F/6	25.2	12	1150	1190	19.1	17	0.389
		30	M/6, F/6	62.5	13	3400	3920	13.3	24	0.339
	181	1.5	M/6, F/6	3.73	8.7	134	139	19.6	17	0.405
		15	M/6, F/6	28.8	17	1260	1310	17.2	18	0.371
		30	M/6, F/6	54.7	17	3010	3410	16.6	20	0.364

AUC_{last}：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,
AUC_{inf}：0 時間から無限大時間までの血清中濃度 - 時間曲線下面積，CL/F：見かけのクリアランス，C_{max}：最高血清中濃度,
F：雌，M：雄，　T_{max}：最高血清中濃度到達時間，$t_{1/2}$：見かけの終末相消失半減期,
Vz/F：見かけの分布容積
a. AUC_{last}：1592-004 試験では 0～96 時間，1592-006 試験では 0～120 時間
b. サルに試験 1 日，7 日，13 日，19 日，および 25 日に（6 日毎に）投与した。
c. サルに 5 日毎に 26 週間投与した。
（出典：報告書番号 1592-004，Appendix N，Table 1 および試験報告書 1592-006，Appendix L，Table 1 より）

Table 5.　アカゲザルに rhGH を連日皮下投与したときの薬物動態パラメータ

報告書番号	日	投与量 (mg/kg)	性別／匹数	C_{max} (μg/mL)	T_{max} (h)	AUC_{last} (μg·h/mL)	AUC_{inf} (μg·h/mL)	CL/F (mL/h/kg)	$t_{½}$ (h)	Vz/F (L/kg)
1592-006	1	3.6	M/6, F/6	1.71	3.3	17.3	17.3	212	3.1	0.939
	91		M/6, F/6	1.84	2.2	16.2	17.9	212	4.5	1.36
	181		M/6, F/6	1.03	3.3	11.8	12.0	336	5.6	2.67

AUC_{last}：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,
AUC_{inf}：0 時間から無限大時間までの血清中濃度 - 時間曲線下面積，CL/F：見かけのクリアランス，C_{max}：最高血清中濃度,
F：雌，M：雄，　T_{max}：最高血清中濃度到達時間，$t_{1/2}$：見かけの終末相消失半減期,
Vz/F：見かけの分布容積
（出典：試験報告書 1592-006，Appendix L，Table 1 より）

4. 分布

非臨床動物種を用いた 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（2.6.4.3.2.1 項）。

5. 代謝（動物種間の比較）

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[1,2]。

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[3,4,5,6]。

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。

7. In vitro 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 somatrogon 濃度 100，500，および 1000 ng/mL で実施した（対照薬：rhGH）（報告書番号 8307138，2.6.5.12 項）。CYP 誘導剤の陽性対照として，CYP1A2 にはオメプラゾール（50 µmol/L），CYP2B6 にはフェノバルビタール（1000 µmol/L），CYP3A4 にはリファンピン（20 µmol/L）を用いた。Somatrogon はドナー2 の CYP1A2 mRNA を 500 ng/mL で誘導（5.3 倍）したが，100 および 1000 ng/mL では誘導されなかった。ドナー1 およびドナー3 では somatrogon による CYP1A2 の mRNA レベルの誘導はなく，3 例の肝細胞提供者いずれにおいても CYP1A2 酵素活性の誘導は認められなかった。これらのデータから，somatrogon は CYP1A2 誘導剤ではないことが示唆された。また，somatrogon は，CYP2B6 の mRNA レベルおよび CYP2B6 酵素活性を誘導しなかったため，CYP2B6 誘導剤ではないと判断された。Somatrogon は，ドナー2（最大 6.7 倍）およびドナー3（最大 10.7 倍）で CYP3A4 の mRNA レベルを誘導したが，ドナー1 の肝細胞では誘導は認められなかった。3 例のドナーの肝細胞のいずれにおいても，somatrogon は CYP3A4 酵素活性を誘導しなかった。これらのデータから，somatrogon は CYP3A4 の弱い誘導剤であることが示唆された。比較のため，この試験では rhGH による CYP1A2，CYP2B6 および CYP3A4 の誘導も評価したが，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。

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。

9. 考察および結論

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。

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。胎児の濃度は母動物の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。

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，腎臓内の糸球体濾過量が減少することにより $t_{1/2}$ が延長すると考えられている。

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される。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。

10. 引用文献

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

2 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.

3 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.

4 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.

5 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.

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

TABLE OF CONTENTS

2.6.5.1 PHARMACOKINETICS OVERVIEW 2
2.6.5.2A OVERALL SUMMARY OF ANALYTICAL METHOD VALIDATION REPORTS AND ASSOCIATED TOXICOKINETIC STUDIES 6
2.6.5.2B QUANTITATIVE ANALYTICAL METHODS AND VALIDATION REPORTS, NONCLINICAL 8
2.6.5.2C ANALYTICAL METHODS AND VALIDATION REPORTS, NONCLINICAL 9
2.6.5.3A SINGLE DOSE PHARMACOKINETICS 10
2.6.5.3B PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER A SINGLE DOSE 11
2.6.5.3C PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER A SINGLE DOSE 12
2.6.5.4A PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER REPEATED DOSES 13
2.6.5.4B PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER REPEATED DOSES 14
2.6.5.4C PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER REPEATED DOSES 15
2.6.5.7 PHARMACOKINETICS: STUDY IN PREGNANT ANIMALS 17
2.6.5.12 PHARMACOKINETICS: INDUCTION OF CYP ENZYMES 19
2.6.5.16 PHARMACOKINETICS: OTHER 21

2.6.5.1 PHARMACOKINETICS OVERVIEW

Test Article: Somatrogon

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report Number
Analytical Methods and Validations				
Quantification of Somatrogon	Rat Serum	NA	[redacted][a]	AR2545
Addendum to Report AR2545 (Long-term frozen stability)	Rat Serum	NA	[redacted][a]	AR2545 Addendum 1
Quantification of Somatrogon	Fetal Rat Serum	NA	[redacted][a]	AR3895
Addendum to Report AR3895 (Long-term frozen stability)	Fetal Rat Serum	NA	[redacted][a]	AR3895 Addendum 1
Quantification of Somatrogon	Pregnant Rat Serum	NA	[redacted][a]	AR3896
Addendum to Report AR3896 (Long-term frozen stability)	Pregnant Rat Serum	NA	[redacted][a]	AR3896 Addendum 1
Quantification of Somatrogon	Rhesus Monkey Serum	NA	[redacted][a]	AR2664
Addendum to Report AR2664 (Long-term frozen stability)	Rhesus Monkey Serum	NA	[redacted][a]	AR2664 Addendum 1
Quantification of Bio-Tropin®	Rhesus Monkey Serum	NA	[redacted][a]	AR3694

Notes: In study reports, somatrogon may also be referred to as MOD-4023 or PF-06836922.
NA = Not applicable.
a. [redacted], [redacted] CA (currently known as [redacted]).

2.6.5.1 PHARMACOKINETICS OVERVIEW (CONTINUED) Test Article: Somatrogon

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report Number
Detection of Anti-Somatrogon Antibodies	Rat Serum	NA	[redacted][a]	AR2546
Detection of Anti-Somatrogon Antibodies	Rhesus Monkey Serum	NA	[redacted][a]	AR2704
Addendum to Report AR2704 (Freeze-Thaw Stability)	Rhesus Monkey Serum	NA	[redacted][a]	AR2704 Addendum 1
Detection of Anti-CTP Antibodies	Rat Serum	NA	[redacted][a]	AR2769
Detection of Anti-CTP Antibodies	Rhesus Monkey Serum	NA	[redacted][a]	AR2771
Detection of Anti-Somatrogon Neutralizing Antibodies	Sprague-Dawley Rat Serum	NA	[redacted][a]	AR2911
Detection of Anti-Somatrogon Neutralizing Antibodies	Rhesus Monkey Serum	NA	[redacted][a]	AR2912
Detection of Anti-hGH Neutralizing Antibodies	Sprague-Dawley Rat Serum	NA	[redacted][a]	AR2913
Detection of Anti-hGH Neutralizing Antibodies	Rhesus Monkey Serum	NA	[redacted][a]	AR2914
Addendum to Report AR2914 (Neutralizing Antibodies to Somatropin)	Rhesus Monkey Serum	NA	[redacted][a]	AR2914 Addendum 1
Detection of Anti-rhGH Antibodies	Rhesus Monkey Serum	NA	[redacted][a]	AR3695

Notes: In study reports, somatrogon may also be referred to as MOD-4023 or PF-06836922.
hGH = Human growth hormone; NA = Not applicable.
a. [redacted], CA. (currently known as [redacted]).

2.6.5.1 PHARMACOKINETICS OVERVIEW (CONTINUED)

Test Article: Somatrogon

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report Number
Pharmacokinetics				
Single Dose PK[a]	Male Hypophysectomized Sprague-Dawley Rats	SC 0.6 or 1.8 mg/kg	[redacted][b]	CD-04-0035
Toxicokinetics				
Single Dose TK	Male and Female Sprague-Dawley Rats	SC 3.6, 36, or 180 mg/kg	[redacted][c]	1592-001 (TP-4-001)
	Male and Female Rhesus Monkeys	SC 1.8 or 90 mg/kg	[redacted][c]	1592-002 (TP-4-002)
Repeat Dose TK (4-week)[d]	Male and Female Sprague-Dawley Rats	SC 3.6, 36, or 180 mg/kg	[redacted][c]	1592-003 (TP-4-003), M-04-001[e]
	Male and Female Rhesus Monkeys	SC 1.8, 18, or 90 mg/kg	[redacted][c]	1592-004 (TP-4-004)
Repeat Dose TK (26-week)[a,d]	Male and Female Rhesus Monkeys	SC 1.5, 15, or 30 mg/kg	[redacted][c]	1592-006 (M04008)
Embryo-Fetal Development TK[d]	Female Sprague-Dawley Rats	SC 3, 10, or 30 mg/kg	[redacted][c]	1592-008 (M-04-010)

Notes: Somatrogon is also referred to as MOD-4023 or PF-06836922.
GLP = Good laboratory practice; PK = Pharmacokinetics; SC = Subcutaneous; TK = Toxicokinetics.
a. In addition, study included a comparator (rhGH; Bio-Tropin®).
b. [redacted], [redacted] Israel.
c. [redacted], [redacted], MI (currently known as [redacted]).
d. GLP studies.
e. Investigative study M-04-001 (CD-04-0014) was conducted in support of Study 1592-003.

2.6.5.1 PHARMACOKINETICS OVERVIEW (CONTINUED) Test Article: Somatrogon

Type of Study	Test System	Method of Administration	Testing Facility	Report Number
Pharmacokinetic Drug Interactions				
CYP Enzyme Induction	Human Hepatocytes	In Vitro 0.5 to 1000 ng/mL	[redacted][a]	8307138
Other Pharmacokinetics				
PK/PD Comparison of Different Lots of Somatrogon	Male Rats (Sprague-Dawley)	SC 1.5 mg/kg	[redacted]	PF-06836922_[redacted]_115204

Notes: Somatrogon is also referred to as MOD-4023 or PF-06836922.
CYP = Cytochrome P450; PK/PD = Pharmacokinetics/Pharmacodynamics; SC = Subcutaneous.
a. [redacted], [redacted] WI.

2.6.5.2A OVERALL SUMMARY OF ANALYTICAL METHOD VALIDATION REPORTS AND ASSOCIATED TOXICOKINETIC STUDIES

Test Article: Somatrogon

Method Validation Study/Report Number	Species/Matrix	Type of Analytical Method	Range (pg/mL)	Associated Toxicokinetic Study Description, Report Number
Quantification of Somatrogon				
AR2545	Rat Serum (Sprague-Dawley)	ELISA	1400 to 75,000	Repeat Dose TK (4-week), 1592-003
AR3895	Fetal Rat Serum (Sprague-Dawley)	ELISA	1500 to 60,000	Embryo-Fetal Development TK, 1592-008
AR3896	Pregnant Rat/Serum (Sprague-Dawley)	ELISA	1500 to 60,000	Embryo-Fetal Development TK, 1592-008
AR2664	Monkey Serum (Rhesus)	ELISA	1400 to 75,000	Repeat Dose TK (4-week), 1592-004 Repeat Dose TK (26-week), 1592-006
Quantification of Bio-Tropin®				
AR3694	Monkey Serum (Rhesus)	ELISA	7050 to 180,000	Repeat Dose TK (26-week), 1592-006
Detection of Anti-Somatrogon Antibodies				
AR2546	Rat Serum (Sprague-Dawley)	ELISA	NA	Repeat Dose TK (4-week), 1592-003
AR2704	Monkey Serum (Rhesus)	ELISA	NA	Repeat Dose TK (4-week), 1592-004 Repeat Dose TK (26-week), 1592-006
Detection of Anti-CTP Antibodies				
AR2769	Rat Serum (Sprague-Dawley)	ELISA	NA	Repeat Dose TK (4-week), 1592-003
AR2771	Monkey Serum (Rhesus)	ELISA	NA	Repeat Dose TK (4-week), 1592-004 Repeat Dose TK (26-week), 1592-006

CTP = C-terminal peptide; ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay; NA = Not applicable; TK = Toxicokinetic.

2.6.5.2A OVERALL SUMMARY OF ANALYTICAL METHOD VALIDATION REPORTS AND ASSOCIATED TOXICOKINETIC STUDIES (CONTINUED) Test Article: Somatrogon

Method Validation Study/Report Number	Species/Matrix	Type of Analytical Method	Range (pg/mL)	Associated Toxicokinetic Study Description, Report Number
Detection of Anti-Somatrogon Neutralizing Antibodies				
AR2911	Rat Serum (Sprague-Dawley)	ELISA	NA	Repeat Dose TK (4-week), 1592-003
AR2912	Monkey Serum (Rhesus)	ELISA	NA	Repeat Dose TK (4-week), 1592-004 Repeat Dose TK (26-week), 1592-006
Detection of Anti-hGH Neutralizing Antibodies				
AR2913	Rat Serum (Sprague-Dawley)	ELISA	NA	Repeat Dose TK (4-week), 1592-003
AR2914	Monkey Serum (Rhesus)	ELISA	NA	Repeat Dose TK (4-week), 1592-004 Repeat Dose TK (26-week), 1592-006
Detection of Anti-Bio-Tropin® Antibodies				
AR3695	Monkey Serum (Rhesus)	ELISA	NA	Repeat Dose TK (26-week), 1592-006

ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay; hGH = Human growth hormone; NA = Not applicable; TK = Toxicokinetic.

2.6.5.2B QUANTITATIVE ANALYTICAL METHODS AND VALIDATION REPORTS, NONCLINICAL

Test Article: Somatrogon

Study/Report Number	AR2545	AR3895	AR3896	AR2664
Species:	Rat Serum	Fetal Rat Serum	Pregnant Rat Serum	Monkey Serum
Analyte:	Somatrogon	Somatrogon	Somatrogon	Somatrogon
Sample:	Serum	Serum	Serum	Serum
Method:	ELISA	ELISA	ELISA	ELISA
Range (pg/mL)	1400 – 75,000 pg/mL	1500 – 60,000 pg/mL	1500 – 60,000 pg/mL	1400 – 75,000 pg/mL
MRD	1:10	1:10	1:10	1:10
Long Term Stability	-70°C/6 months	-70°C/6 months	-70°C/6 months	-70°C/6 months
Intra-Assay Variability (%RE)				
Low (Concentration)	13.4 (100 pg/mL)	13.3 (100 pg/mL)	-12.6 (100 pg/mL)	0.2 (100 pg/mL)
Low-Medium (Concentration)	2.7 (200 pg/mL)	7.1 (200 pg/mL)	-12.0 (200 pg/mL)	-5.4 (200 pg/mL)
Medium (Concentration)	2.8 (1200 pg/mL)	6.2 (1200 pg/mL)	-10.5 (1200 pg/mL)	-6.8 (1200 pg/mL)
Medium-High (Concentration)	-8.1 (6000 pg/mL)	-2.4 (6000 pg/mL)	-11.2 (6000 pg/mL)	-13.2 (6000 pg/mL)
High (Concentration)	-5.6 (10,000 pg/mL)	-4.8 (10,000 pg/mL)	-12.6 (10,000 pg/mL)	-14.5 (10,000 pg/mL)
Inter-Assay Variability (%CV)				
Low (Concentration)	30.8 (100 pg/mL)	5.8 (100 pg/mL)	23.9 (100 pg/mL)	22.1 (100 pg/mL)
Low-Medium (Concentration)	25.5 (200 pg/mL)	5.3 (200 pg/mL)	12.1 (200 pg/mL)	23.5 (200 pg/mL)
Medium (Concentration)	17.8 (1200 pg/mL)	3.8 (1200 pg/mL)	9.7 (1200 pg/mL)	21.1 (1200 pg/mL)
Medium-High (Concentration)	20.5 (6000 pg/mL)	6.4 (6000 pg/mL)	6.2 (6000 pg/mL)	15.9 (6000 pg/mL)
High (Concentration)	19.8 (10,000 pg/mL)	9.0 (10,000 pg/mL)	13.4 (10,000 pg/mL)	13.3 (10,000 pg/mL)

Notes: The analytical method validation summarizing the quantification of rhGH (Bio-Tropin ®) in monkey serum is presented in AR3694. CV = Coefficient of variation;
ELISA = Enzyme linked immunosorbent assay; MRD = Minimum required dilution;
RE = Relative error.

2.6.5.2C ANALYTICAL METHODS AND VALIDATION REPORTS, NONCLINICAL

Test Article: Somatrogon

Study/Report Number	AR2546	AR2704	AR2769	AR2771
Species:	Rat	Monkey	Rat	Monkey
Analyte:	Anti-Somatrogon Antibodies	Anti-Somatrogon Antibodies	Anti-CTP Antibodies	Anti-CTP Antibodies
Sample:	Serum	Serum	Serum	Serum
Method:	ELISA	ELISA	ELISA	ELISA
MRD	1:10	1:10	1:10	1:10
Positive Control	Rabbit Affinity Purified Anti-Somatrogon (100, 200, and 400 ng/mL)	Rabbit Affinity Purified Anti-Somatrogon (100, 200, and 400 ng/mL)	Rabbit affinity purified anti-CTP (12.5, 25, and 100 ng/mL)	Rabbit affinity purified anti-CTP (12.5, 25, and 100 ng/mL)
Negative Control	Pooled Rat Serum	Pooled Monkey Serum	Pooled Rat Serum	Pooled Monkey Serum
Intra-Assay Variability of the Positive Control: Mean Log Titer (% CV)	6.2 (100 ng/mL), 5.7 (200 ng/mL), 4.6 (400 ng/mL)	8.6 (100 ng/mL), 6.2 (200 ng/mL), 8.4 (400 ng/mL)	6.2 (12.5 ng/mL), 7.6 (25 ng/mL), 5.3 (100 ng/mL)	3.6 (12.5 ng/mL), 2.5 (25 ng/mL), 7.0 (100 ng/mL)
Inter-Assay Variability of the Positive Control: Mean Log Titer (% CV ± SD)	23.3 ± 0.094 (100 ng/mL), 23.1 ± 0.189 (200 ng/mL), 15.8 ± 0.248 (400 ng/mL)	33.4 ± 0.108 (100 ng/mL), 33.7 ± 0.211 (200 ng/mL), 31.1 ± 0.383 (400 ng/mL)	15.2 ± 0.034 (12.5 ng/mL), 12.0 ± 0.055 (25 ng/mL), 3.7 ± 0.059 (100 ng/mL)	10.2 ± 0.026 (12.5 ng/mL), 10.4 ± 0.054 (25 ng/mL), 6.0 ± 0.100 (100 ng/mL)
Inter-Assay Cutpoint OD: Mean ± SD Negative Control (% CV)	0.058 ± 0.025 (42.4)	0.077 ± 0.042 (54.7)	0.015 ± 0.003 (22.3)	0.013 ± 0.001 (9.5)

Notes: The analytical method validations summarizing the detection of neutralizing antibodies and detection of anti-rhGH (Bio-Tropin®) antibodies in rat or monkey serum are presented in AR2911, AR2912, AR2913, AR2914 and AR3695.
CTP = C-terminal peptide; CV = Coefficient of variance; MRD = Minimum required dilution; OD = Optical Density; SD = Standard deviation.

2.6.5.3A SINGLE DOSE PHARMACOKINETICS

Test Article: Somatrogon or rhGH
Report Number: CD-04-0035

Species (Strain):	Hypophysectomized Rats (Sprague Dawley)	Hypophysectomized Rats (Sprague Dawley)	Hypophysectomized Rats (Sprague Dawley)	Hypophysectomized Rats (Sprague Dawley)
Sex (Male/Female)/Number of Animals:	Male/12[a]	Male/12[a]	Male/9[a]	Male/9[a]
Feeding Condition:	Fed	Fed	Fed	Fed
Vehicle:	10 mM Citrate Buffer, 147 mM NaCl	10 mM Citrate Buffer, 147 mM NaCl	10 mM Citrate Buffer, 147 mM NaCl	10 mM Citrate Buffer, 147 mM NaCl
Method of Administration:	SC	SC	SC	SC
Dose (mg/kg):	0.6 of somatrogon[b]	1.8 of somatrogon[b]	0.35 of rhGH	1.05 of rhGH
Sample:	Serum	Serum	Serum	Serum
Analyte:	Somatrogon	Somatrogon	rhGH	rhGH
Assay:	ELISA	ELISA	ELISA	ELISA
Mean Pharmacokinetic Parameters:				
C_{max} (µg/mL)	0.681	2.15	0.440	1.08
T_{max} (h)	8.0	8.0	0.5	0.5
AUC_{inf} (µg•h/mL)	11.5	37.7	1.28	3.54
AUC_t (µg•h/mL)	11.5	37.7	1.28	3.54
CL/F (mL/h/kg)	52.2	47.7	274	296
$t_{½}$ (h)	7.0	6.8	1.5	1.5

Notes: The pharmacokinetics/toxicokinetics of somatrogon and rhGH (Bio-Tropin®) were conducted as part of a pharmacology study (CD-04-0035).
AUC_{inf} = Area under the concentration-time curve from time 0 to infinite time; AUC_t = Area under the concentration-time curve from time 0 to 96 hours; CL/F = Apparent clearance; C_{max} = Maximum observed concentration; ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay; NaCl = Sodium Chloride; SC = Subcutaneous; t½ = Apparent terminal elimination half-life; T_{max} = Time to reach C_{max}.
a. 3 rats per timepoint.
b. Doses of somatrogon were comparable to those of Bio-Tropin® (0.6 and 1.8 mg/kg somatrogon contains 0.35 and 1.05 mg/kg of rhGH, respectively).

2.6.5.3B PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER A SINGLE DOSE

Test Article: Somatrogon
Report Number: 1592-001

Species (Strain):	Rats (Sprague Dawley)	Rats (Sprague Dawley)	Rats (Sprague Dawley)
Sex (Male/Female)/Number of Animals:	Male/6, Female/6[a]	Male/6, Female/6[a]	Male/6, Female/6[a]
Feeding Condition:	Fed	Fed	Fed
Vehicle:	10 mM Citrate Buffer, 147 mM NaCl	10 mM Citrate Buffer, 147 mM NaCl	10 mM Citrate, 147 mM NaCl
Method of Administration:	SC	SC	SC
Dose (mg/kg):	3.6	36	180
Sample:	Serum	Serum	Serum
Analyte:	Somatrogon	Somatrogon	Somatrogon
Assay:	ELISA	ELISA	ELISA
Mean Pharmacokinetic Parameters:			
C_{max} (µg/mL)	1.76	17.9	69.4
T_{max} (h)	6.0	8.0	16
AUC_{inf} (µg•h/mL)	25.4	372	1960
AUC_t (µg•h/mL)	25.4	372	1960
CL/F (mL/h/kg)	151	96.7	92.0
$t_{½}$ (h)	5.5	5.1	4.7

Notes: The pharmacokinetics/toxicokinetics of somatrogon were conducted as part of a pilot SC PK and TK study (1592-001). The overall mean values presented in this table were calculated manually.
AUC_{inf} = Area under the concentration-time curve from time 0 to infinite time; AUC_t = Area under the concentration-time curve from time 0 to 72 hours; CL/F = Apparent systemic clearance; C_{max} = Maximum observed concentration; ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay; h = Hours; NaCl = Sodium Chloride; SC = Subcutaneous; $t_{½}$ = Apparent terminal elimination half-life; T_{max} = Time to reach C_{max}.
a. 3 rats/sex per timepoint.

2.6.5.3C PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER A SINGLE DOSE

Test Article: Somatrogon
Report Number: 1592-002

Species (Strain):	Monkey (Rhesus)	Monkey (Rhesus)
Sex (Male/Female)/Number of Animals:	Male/3, Female/3	Male/3, Female/3
Feeding Condition:	Fed	Fed
Vehicle:	10 mM Citrate Buffer, 147 mM NaCl	10 mM Citrate Buffer, 147 mM NaCl
Method of Administration:	SC	SC
Dose (mg/kg):	1.8	90
Sample:	Serum	Serum
Analyte:	Somatrogon	Somatrogon
Assay:	ELISA	ELISA
Mean Pharmacokinetic Parameters:		
C_{max} (µg/mL)	2.07	109
T_{max} (h)	4.0	11
AUC_{inf} (µg•h/mL)	39.0	2470
AUC_t (µg•h/mL)	38.7	2440
CL/F (mL/h/kg)	47.5	37.0
Vz/F (L/kg)	0.701	0.529
$t_{½}$ (h)	10	9.9

Notes: The pharmacokinetics/toxicokinetics of somatrogon were conducted as part of an exploratory toxicity study (1592-002).
AUC_{inf} = Area under the concentration-time curve from time 0 to infinite time; AUC_t = Area under the concentration-time curve from time 0 to 72 hours; CL/F = Apparent clearance; C_{max} = Maximum observed concentration; ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay; NaCl = Sodium Chloride; SC = Subcutaneous; t½ = Apparent terminal elimination half-life; T_{max} = Time to reach C_{max}.

2.6.5.4A PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER REPEATED DOSES

Test Article: Somatrogon
Report Number: 1592-003

Species (Strain):		Rats (Sprague Dawley)	Rats (Sprague Dawley)	Rats (Sprague Dawley)
Sex (Male/Female)/Number of Animals:[a]		Male/9, Female/9	Male/9, Female/9	Male/9, Female/9
Feeding Condition:		Fed	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:		10 mM Citrate Buffer, 147 mM NaCl	10 mM Citrate Buffer, 147 mM NaCl	10 mM Citrate Buffer, 147 mM NaCl
Method of Administration:		SC	SC	SC
Dose (mg/kg):		3.6	36	180
Dosing Interval/Duration:[b]		Twice Weekly/4-weeks	Twice Weekly/4-weeks	Twice Weekly/4-weeks
Sample:		Serum	Serum	Serum
Analyte:		Somatrogon	Somatrogon	Somatrogon
Assay:		ELISA	ELISA	ELISA
Mean Pharmacokinetic Parameters:				
Day 1	C_{max} (µg/mL)	1.28	12.7	45.7
	T_{max} (h)	4.0	8.0	8.0
	AUC_{inf} (µg•h/mL)	18.2	278	1490
	AUC_{last}(µg•h/mL)	18.2	278	1490
	CL/F (mL/h/kg)	198	129	121
	t½ (h)	4.1	4.9	5.2
Day 26	C_{max} (µg/mL)	2.49	25.7	95.7
	T_{max} (h)	8.0	24	24
	AUC_{inf} (µg•h/mL)	44.9	750	3280
	AUC_{last}(µg•h/mL)	44.8	750	3280
	CL/F (mL/h/kg)	80.2	48.0	54.9
	t½ (h)	7.5[c]	4.8[c]	6.2

Notes: The pharmacokinetics/toxicokinetics of somatrogon were conducted as part of GLP toxicity study (1592-003).
AUC_{inf} = Area under the concentration-time curve from time 0 to infinite time; AUC_{last} = Area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration; CL/F = Apparent systemic clearance; C_{max} = Maximum observed concentration; ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay; NaCl = Sodium Chloride; SC = Subcutaneous; t½ = Apparent terminal elimination half-life; T_{max} = Time to reach C_{max}.
a. n=3/timepoint/sex/dose group.
b. Rats were dosed twice per week on Days 1, 5, 8, 12, 15, 19, 22 and 26.
c. Contributing data to the mean may not have been sufficient to properly characterize t½ (R^2 of the elimination phase ranged from 0.72 to 0.88).

2.6.5.4B PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER REPEATED DOSES

Test Article: Somatrogon
Report Number: 1592-004

Species (Strain):		Monkey (Rhesus)	Monkey (Rhesus)	Monkey (Rhesus)
Sex (Male/Female)/Number of Animals:		Male/3, Female/3	Male/3, Female/3	Male/5, Female/5
Feeding Condition:		Fed	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:		10 mM Citrate Buffer, 147 mM NaCl	10 mM Citrate Buffer, 147 mM NaCl	10 mM Citrate Buffer, 147 mM NaCl
Method of Administration:		SC	SC	SC
Dose (mg/kg):		1.8	18	90
Dosing Interval/Duration:[a]		Every 6 days/4-weeks	Every 6 days/4-weeks	Every 6 days/4-weeks
Sample:		Serum	Serum	Serum
Analyte:		Somatrogon	Somatrogon	Somatrogon
Assay:		ELISA	ELISA	ELISA
Mean Pharmacokinetic Parameters:				
Day 1	C_{max} (µg/mL)	3.48	29.3	125
	T_{max} (h)	6.7	7.3	14
	AUC_{inf} (µg•h/mL)	78.9	771	4140
	AUC_{last}(µg•h/mL)	78.3	765	4060
	CL/F (mL/h/kg)	23.2	23.8	22.2
	V_z/F (L/kg)	0.446	0.443	0.547
	t½ (h)	13	13	17
Day 19	C_{max} (µg/mL)	3.82	22.0	119
	T_{max} (h)	4.7	15	9.6
	AUC_{inf} (µg•h/mL)	81.2	759	4210
	AUC_{last}(µg•h/mL)	80.7	748	4100
	CL/F (mL/h/kg)	22.4	24.0	22.3
	V_z/F (L/kg)	0.403	0.493	0.510
	t½ (h)	13	14	16

Notes: The pharmacokinetics/toxicokinetics of somatrogon were conducted as part of GLP toxicity study (1592-004).
AUC_{inf} = Area under the concentration-time curve from time 0 to infinite time; AUC_{last} = Area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration; CL/F = Apparent clearance; C_{max} = Maximum observed concentration; ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay; NaCl = Sodium Chloride; SC = Subcutaneous; t½ = Apparent terminal elimination half-life; T_{max} = Time to reach C_{max}; Vz/F = Apparent volume of distribution.
a. Monkeys were dosed on Days 1, 7, 13, 19 and 25.

2.6.5.4C PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER REPEATED DOSES

Test Article: Somatrogon
Report Number: 1592-006

Species (Strain):		Monkey (Rhesus)	Monkey (Rhesus)	Monkey (Rhesus)	Monkey (Rhesus)
Sex (Male/Female)/Number of Animals:		Male/6, Female/6	Male/6, Female/6	Male/6, Female/6	Male/6, Female/6
Feeding Condition:		Fed	Fed	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:		10 mM Citrate, 147 mM NaCl	10 mM Citrate, 147 mM NaCl	10 mM Citrate, 147 mM NaCl	Saline
Method of Administration:		SC	SC	SC	SC
Dose (mg/kg):		1.5	15	30	3.6
Dosing Interval/Duration:		Every 5 days/26-weeks	Every 5 days/26-weeks	Every 5 days/26-weeks	Once Daily/26-weeks
Sample:		Serum	Serum	Serum	Serum
Analyte:		Somatrogon	Somatrogon	Somatrogon	rhGH
Assay:		ELISA	ELISA	ELISA	ELISA
Mean Pharmacokinetic Parameters:					
Day 1	C_{max} (µg/mL)	2.30	22.3	50.9	1.71
	T_{max} (h)	6.0	9.3	7.7	3.3
	AUC_{inf} (µg•h/mL)	56.7	658	1440	17.3
	AUC_{last}(µg•h/mL)	56.6	654	1430	17.3
	CL/F (mL/h/kg)	27.4	23.4	21.1	212
	V_z/F (L/kg)	0.618	0.541	0.557	0.939
	t½ (h)	16	16	18	3.1
Day 91	C_{max} (µg/mL)	4.26	25.2	62.5	1.84
	T_{max} (h)	9.0	12	13	2.2
	AUC_{inf} (µg•h/mL)	227	1190	3920	17.9
	AUC_{last}(µg•h/mL)	191	1150	3400	16.2
	CL/F (mL/h/kg)	20.5	19.1	13.3	212
	V_z/F (L/kg)	0.342	0.389	0.339	1.36
	t½ (h)	15	17	24	4.5

Notes: The pharmacokinetics/toxicokinetics of somatrogon were conducted as part of GLP toxicity study (1592-006).
AUC_{inf} = Area under the concentration-time curve from time 0 to infinite time; AUC_{last} = Area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration; CL/F = Apparent clearance; C_{max} = Maximum observed concentration; ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay; NaCl = Sodium Chloride; SC = Subcutaneous; t½ = Apparent terminal elimination half-life; T_{max} = Time to reach C_{max}; Vz/F = Apparent volume of distribution.

2.6.5.4C PHARMACOKINETICS: ABSORPTION AFTER REPEATED DOSES

Test Article: Somatrogon or rhGH
Report Number: 1592-006

Species (Strain):		Monkey (Rhesus)	Monkey (Rhesus)	Monkey (Rhesus)	Monkey (Rhesus)
Sex (Male/Female)/Number of Animals:		Male/6, Female/6	Male/6, Female/6	Male/6, Female/6	Male/6, Female/6
Feeding Condition:		Fed	Fed	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:		10 mM Citrate, 147 mM NaCl	10 mM Citrate, 147 mM NaCl	10 mM Citrate, 147 mM NaCl	Saline
Method of Administration:		SC	SC	SC	SC
Dose (mg/kg):		1.5	15	30	3.6
Dosing Interval/Duration:		Every 5 days/26-weeks	Every 5 days/26-weeks	Every 5 days/26-weeks	Daily/26-weeks
Sample:		Serum	Serum	Serum	Serum
Analyte:		Somatrogon	Somatrogon	Somatrogon	rhGH
Assay:		ELISA	ELISA	ELISA	ELISA
Mean Pharmacokinetic Parameters:					
Day 181	C_{max} (µg/mL)	3.73	28.8	54.7	1.03
	T_{max} (h)	8.7	17	17	3.3
	AUC_{inf} (µg•h/mL)	139	1310	3410	12.0
	AUC_{last}(µg•h/mL)	134	1260	3010	11.8
	CL/F (mL/h/kg)	19.6	17.2	16.6	336
	V_z/F (L/kg)	0.405	0.371	0.364	2.67
	t½ (h)	17	18	20	5.6

Notes: The pharmacokinetics/toxicokinetics of somatrogon were conducted as part of GLP toxicity study (1592-006).
AUC_{inf} = Area under the concentration-time curve from time 0 to infinite time; AUC_{last} = Area under the concentration-time curve from time 0 to the time of last quantifiable concentration; CL/F = Apparent clearance; C_{max} = Maximum observed concentration; ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay; NaCl = Sodium Chloride; SC = Subcutaneous; t½ = Apparent terminal elimination half-life; T_{max} = Time to reach C_{max}; Vz/F = Apparent volume of distribution.

2.6.5.7 PHARMACOKINETICS: STUDY IN PREGNANT ANIMALS

Test Article: Somatrogon
Report Number: 1592-008

Species (Strain):		Rat (Sprague Dawley)	Rat (Sprague Dawley)	Rat (Sprague Dawley)
Number of Animals[a]:		9/dose group	9/dose group	9/dose group
Feeding Condition:		Fed	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:		10 mM Citrate Buffer, 147 mM NaCl	10 mM Citrate Buffer, 147 mM NaCl	10 mM Citrate Buffer, 147 mM NaCl
Method of Administration:		SC	SC	SC
Dose (mg/kg):		3	10	30
Doing Interval/Duration[b]		Every 2 days/GD 6 to 18	Every 2 days/GD 6 to 18	Every 2 days/GD 6 to 18
Sample:		Serum	Serum	Serum
Analyte:		Somatrogon	Somatrogon	Somatrogon
Assay:		ELISA	ELISA	ELISA
Mean Pharmacokinetic Parameters				
GD6	C_{max} (µg/mL)	2.02	5.03	14.3
	T_{max} (h)	4.0	8.0	8.0
	AUC_{inf} (µg•h/mL)	25.2	76.7	316
	AUC_{24} (µg•h/mL)	24.4	69.7	236
	AUC_{48} (µg•h/mL)	25.1	76.5	315
	CL/F (mL/h/kg)	119	130	94.9
	t½ (h)	5.0	5.0	5.1

Notes: The pharmacokinetics/toxicokinetics of somatrogon were conducted as part of GLP toxicity study (1592-008).
AUC_{inf} = Area under the concentration-time curve from time 0 to infinite time; AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; AUC_{48} = Area under the concentration-time curve from time 0 to 48 hours
C_{max} = Maximum observed concentration; CL/F = Apparent clearance; GD = Gestational day; ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay; NaCl = Sodium Chloride; NC = Not calculated because terminal slope could not be estimated; SC = Subcutaneous; t½ = Apparent terminal elimination half-life; T_{max} = Time to reach C_{max}.
a. n=3 timepoint/dose.
b. Rats were dosed every 2 days beginning on GD6 and continuing through GD18.
c. Pooled fetal serum was collected at 24 hours postdose on GD 18.

2.6.5.7 PHARMACOKINETICS: STUDY IN PREGNANT ANIMALS (CONTINUED)

Test Article: Somatrogon
Report Number: 1592-008

Species (Strain):		Rat (Sprague Dawley)	Rat (Sprague Dawley)	Rat (Sprague Dawley)
Number of Animals[a]:		9/dose group	9/dose group	9/dose group
Feeding Condition:		Fed	Fed	Fed
Vehicle/Formulation:		10 mM Citrate Buffer, 147 mM NaCl	10 mM Citrate Buffer, 147 mM NaCl	10 mM Citrate Buffer, 147 mM NaCl
Method of Administration:		SC	SC	SC
Dose (mg/kg):		3	10	30
Doing Interval/Duration[b]		Every 2 days/GD 6 to 18	Every 2 days/GD 6 to 18	Every 2 days/GD 6 to 18
Sample:		Serum	Serum	Serum
Analyte:		Somatrogon	Somatrogon	Somatrogon
Assay:		ELISA	ELISA	ELISA
Mean Pharmacokinetic Parameters				
GD18	C_{max} (µg/mL)	1.69	6.21	8.96
	T_{max} (h)	8.0	8.0	8.0
	AUC_{inf} (µg•h/mL)	NC	NC	NC
	AUC_{24} (µg•h/mL)	22.5	89.5	180
	AUC_{48} (µg•h/mL)	NC	NC	NC
	CL/F (mL/h/kg)	NC	NC	NC
	t½ (h)[c]	NC	NC	NC
Concentration of Somatrogon in Pooled Fetal Serum (ng/mL)[c]		2.52	5.09	14.9

Notes: The pharmacokinetics/toxicokinetics of somatrogon were conducted as part of GLP toxicity study (1592-008).
AUC_{inf} = Area under the concentration-time curve from time 0 to infinite time; AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; AUC_{48} = Area under the concentration-time curve from time 0 to 48 hours
C_{max} = Maximum observed concentration; CL/F = Apparent clearance; GD = Gestational day; ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay; NaCl = Sodium Chloride; NC = Not calculated because terminal slope could not be estimated; SC = Subcutaneous; t½ = Apparent terminal elimination half-life; T_{max} = Time to reach C_{max}.
a. n=3 timepoint/dose.
b. Rats were dosed every 2 days beginning on GD6 and continuing through GD18.
c. Pooled fetal serum was collected at 24 hours postdose on GD 18.

2.6.5.12 PHARMACOKINETICS: INDUCTION OF CYP ENZYMES

Test Article: Somatrogon or rhGH
Report Number: 8307138

Type of Study:	CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4/5 Induction by Somatrogon
Method:	In vitro incubation with cryopreserved human hepatocytes
Analytical Method:	LC-MS/MS and qPCR
Concentration of Somatrogon:	100, 500, and 1000 ng/mL
Concentrations of CYP Substrates:	100 µM phenacetin (CYP1A2), 500 µM bupropion (CYP2B6), 250 µM testosterone (CYP3A4/5)

Hepatocyte Lot	Somatrogon Concentration (ng/mL)	CYP1A2 Phenacetin O-Deethylase Activity (Fold Induction)	CYP2B6 Bupropion Hydroxylase Activity (Fold Induction)	CYP3A4/5 Testosterone 6β-Hydroxylase Activity (Fold Induction)	CYP1A2 mRNA (Fold Induction)	CYP2B6 mRNA (Fold Induction)	CYP3A4/5 mRNA (Fold Induction)
Donor 1 (CDP)	100	0.980	0.789	1.14	1.83	0.385	0.539
	500	0.950	0.797	1.70	1.99	0.356	0.567
	1000	0.981	0.804	1.23	1.77	0.280	0.488
Donor 2 (HU8114)	100	0.435	0.900	1.00	3.02	1.12	3.56
	500	1.18	0.760	1.81	5.26	0.769	6.73
	1000	0.784	0.801	1.14	2.12	0.552	6.09
Donor 3 (HUM4016)	100	1.06	0.756	0.924	1.67	0.569	5.66
	500	1.43	0.865	1.52	0.630	0.184	1.83
	1000	1.19	0.776	1.12	1.66	0.713	10.7

CYP = Cytochrome P450; LC-MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; mRNA = Messenger ribonucleic acid; qPCR = Quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction.

2.6.5.12 PHARMACOKINETICS: INDUCTION OF CYP ENZYMES (CONTINUED)

Test Article: Somatrogon or rhGH
Report Number: 8307138

Type of Study: CYP1A2, CYP2B6, and CYP3A4/5 Induction by rhGH
Method: In vitro incubation with cryopreserved human hepatocytes
Analytical Method: LC-MS/MS and qPCR
Concentration of rhGH: 72.6, 363, and 726 ng/mL
Concentrations of CYP Substrates: 100 μM phenacetin (CYP1A2), 500 μM bupropion (CYP2B6), 250 μM testosterone (CYP3A4/5)

Hepatocyte Lot	rhGH Concentration (ng/mL)	CYP1A2 Phenacetin O-Deethylase Activity (Fold Induction)	CYP2B6 Bupropion Hydroxylase Activity (Fold Induction)	CYP3A4/5 Testosterone 6β-Hydroxylase Activity (Fold Induction)	CYP1A2 mRNA (Fold Induction)	CYP2B6 mRNA (Fold Induction)	CYP3A4/5 mRNA (Fold Induction)
Donor 1 (CDP)	72.6	1.13	0.748	1.57	0.496	0.382	2.14
	363	1.28	0.810	1.67	0.889	0.370	2.02
	726	1.05	0.757	2.04	1.62	1.33	5.88
Donor 2 (HU8114)	72.6	1.02	0.685	2.05	0.307	0.228	1.97
	363	1.14	0.769	2.19	0.434	0.359	10.7
	726	1.00	0.742	2.43	0.452	0.288	8.08
Donor 3 (HUM4016)	72.6	0.954	0.924	1.47	0.238	0.0912	1.02
	363	0.876	0.803	1.65	0.102	0.0641	0.607
	726	0.142	0.900	1.93	0.144	0.0884	0.985

CYP = Cytochrome P450; hGH = Human growth hormone; LC-MS/MS = Liquid chromatography-tandem mass spectrometry; mRNA = Messenger ribonucleic acid; qPCR = Quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction.

2.6.5.16 PHARMACOKINETICS: OTHER

Test Article: Somatrogon
Report Number:
PF-06836922_[redacted]_115204

Species (Strain):	Rats (Sprague Dawley)	Rats (Sprague Dawley)	Rats (Sprague Dawley)
Lot Number	648-01-[redacted]-003A	EN648-01-[redacted]-019A	101824
Sex (Male/Female)/Number of Animals:	Male/9[a]	Male/9[a]	Male/9[a]
Feeding Condition:	Fed	Fed	Fed
Method of Administration:	SC	SC	SC
Dose (mg/kg):	1.5	1.5	1.5
Sample:	Serum	Serum	Serum
Analyte:	Somatrogon	Somatrogon	Somatrogon
Assay:	ELISA	ELISA	ELISA
Mean Pharmacokinetic Parameters:			
C_{max} (µg/mL)	2.42	1.69	1.56
T_{max} (h)	8.0	12	12
AUC_{inf} (µg•h/mL)	27.7	23.2	17.6
AUC_t (µg•h/mL)	27.6	23.2	17.6
CL/F (mL/h/kg)	54.3	64.7	85.2
$t_{½}$ (h)	4.5	4.2	4.6
Mean Pharmacodynamic Parameters (IGF-1):			
C_{max} (µg/mL)	1.58	1.86	1.70
T_{max} (h)	24	24	24
AUC_t (µg•h/mL)	103	113	106

AUC_{inf} = Area under the concentration-time curve from time 0 to infinite time; AUC_t = Area under the concentration-time curve from time 0 to 96 hours; CL/F = Apparent systemic clearance; C_{max} = Maximum observed concentration; ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay; IGF-1 = Insulin-like growth factor-1; SC = Subcutaneous; t½ = Apparent terminal elimination half-life; T_{max} = Time to reach C_{max}.
a. 3 rats per timepoint.

TABLE OF CONTENTS

LIST OF TABLES 2
本項で使用する用語・略語 3
1. まとめ 4
1.1. 供試動物 6
1.2. 用量設定の根拠 7
1.3. 結果の要約 7
2. 単回投与毒性試験 9
2.1. Sprague-Dawley ラットを用いた単回皮下投与毒性試験 9
2.2. アカゲザルを用いた単回皮下投与急性毒性試験 10
3. 反復投与毒性試験 10
3.1. 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 10
3.2. 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 12
3.3. 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 13
4. 遺伝毒性試験 15
5. がん原性試験 15
6. 生殖発生毒性試験 16
6.1. 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用量設定試験 16
6.2. 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 16
6.3. 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 17
6.4. 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 18
7. 局所刺激性試験 19
8. その他の毒性試験 19
8.1. 光毒性試験 19
8.2. 抗原性試験 20
8.3. 免疫毒性試験 20
8.4. 毒性発現の機序に関する試験 20
8.5. 依存性試験 20
8.6. 代謝物の試験 21

8.7. 不純物の試験 21
8.8. その他の試験 21
9. 考察および結論 21
9.1. 標的臓器毒性 21
9.1.1. 注射部位 21
9.1.2. その他の所見 22
9.2. 結論 22
10. 図表 23
参考文献 24

LIST OF TABLES

Table 1. Somatrogon の毒性試験プログラムの概要 5

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：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濃度 - 時間曲線下面積
C_{av}	average concentration：平均血清中濃度
C_{max}	maximum concentration：最高血清中濃度
CTP	C-terminal peptide：カルボキシ末端ペプチド
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay：酵素免疫測定法
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
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
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-1	Insulin like growth factor-1：インシュリン様成長因子-1
OECD	organisation for economic co-operation and development：経済協力開発機構
rhGH	recombinant human growth hormone：組換え型ヒト成長ホルモン
SD	Sprague-Dawley
T_{max}	time to obtain maximum concentration：最高濃度到達時間

1. まとめ

Somatrogon（MOD-4023 または PF-06836922）は，成長ホルモン分泌不全性低身長症（GHD）の治療薬として開発中の新規の長時間作用型ヒト成長ホルモン（hGH）である。Somatrogon は，hGH に 3 コピーのヒト絨毛性ゴナドトロピン（hCG）の β 鎖のカルボキシ末端ペプチド（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。

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。Somatrogon の一般毒性は，Sprague-Dawley ラットおよびアカゲザルを用いた最長 26 週間の重要な試験および重要な試験以外の試験で評価した。ラットおよびアカゲザルを用いた単回投与試験で用量を設定した後，ラットおよびアカゲザルを用いてそれぞれ最長 4 週間および 26 週間（それぞれ 2 週間および 4 週間の休薬期間を設定）の反復投与毒性試験（重要な試験）を実施した。医薬品規制調和国際会議（ICH）ガイドライン S6（R1）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[1]，somatrogon の遺伝毒性試験は実施していない。また，ICH S1A ガイドラインにおいて，「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（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[2]，somatrogon のがん原性試験も実施していない。加えて，ラットおよびマウスの組換え型成長ホルモンを用いたげっ歯類のがん原性試験の結果により，がん原性はないことが示されており[3]，これは，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している。ラットを用いて，胚・胎児発生に関する試験のための用量設定試験を実施し，重要な試験で用いる用量を決定した。胚・胎児発生に関する試験（重要な試験），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。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[4]。その他，ラットを用いた 4 週間皮下投与毒性試験において，溶媒対照群の血液試料中に somatrogon に対する抗体が検出されたことに関する探索的試験を実施した。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。

ラットおよびアカゲザルを用いた反復投与毒性試験では，一般状態，体重，摂餌量，心電図および眼科学的検査（アカゲザルのみ），臨床病理検査，トキシコキネティクス，免疫原性［（抗薬物抗体（ADA）産生］およびインスリン様成長因子-1（IGF-1，成長ホルモンの同化作用を媒介する成長因子）産生，ならびに剖検および病理組織学的検査を含めた包括的な評価を行った。Somatrogon の局所刺激性は，重要な反復投与毒性試験において皮下注射部位の肉眼検査および病理組織学的検査により評価した。また，ラットおよびアカゲザルの両動物種で投与終了後に最長 4 週間までの休薬期間を設け，回復性についても評価した。

なお，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）。

動物を用いた毒性試験における用量は体重に対するタンパク質の量（mg）として表し，2.6.6 項「毒性試験の概要文」および 2.6.7 項「毒性試験の概要表」の全体を通して「mg/kg」で示した。

重要な試験のすべてに，医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を適用した。生殖発生毒性試験は，ICH S5（R2）ガイドラインを満たすようにデザインした[5]。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。

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				
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	1592-010	0, 3, 10, 30 [h]	適用	2.6.7.14

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
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				
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

1.1. 供試動物

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。ラットを用いる一般毒性試験，生殖発生毒性試験および探索的試験では，いずれの試験でも [redacted]（ミシガン州ポーテージ）より入手した [redacted] ラットを使用した[a]。すべての毒性試験で使用したアカゲザルは，[redacted] またはイスラエルの [redacted] より入手した[b]。

[a] 4 週間の探索的試験用のラットはイスラエルの [redacted] より入手した。

[b] サルはすべて中国原産である。

1.2. 用量設定の根拠

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。また，すべての反復投与毒性試験および生殖発生毒性試験において，溶媒対照群（0 mg/kg）の全動物に被験物質と同容量の溶媒を投与した。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（2.6.4.3 項）。生殖発生毒性試験では，規定の投与期間中，2 日間に 1 回投与することとした。

1.3. 結果の要約

ラットを用いた単回投与毒性試験（重要な試験以外の試験）では，somatrogon を 3.6，36 または 180 mg/kg の用量で単回皮下投与した。すべてのラットが生存し，体重または一般状態には被験物質投与に関連した影響はなく，180 mg/kg の用量で忍容性が認められた。アカゲザルを用いた単回投与毒性試験（重要な試験以外の試験）では，somatrogon を 1.8 または 90 mg/kg の用量で単回皮下投与した。すべてのアカゲザルは生存し，一般状態，体重，血液学的検査，血液凝固検査または血液生化学検査のパラメータには被験物質投与に関連した影響はなく，90 mg/kg の用量で忍容性が認められた。

ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験では，somatrogon を 0，3.6，36 または 180 mg/kg の用量で週 2 回（計 8 回）皮下投与した。Somatrogon の薬理作用から予想されたとおり，36 mg/kg 群および 180 mg/kg 群の雌雄で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。この結果の詳細は，2.6.4.3.2.1 項に示している。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 群および 180 mg/kg 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，36 mg/kg 群および 180 mg/kg 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（溶媒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 群，雌では 36 mg/kg 群および 180 mg/kg 群で発現頻度が増加），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。休薬期間後にも被験物質に関連した変化が持続して認められたのは乳腺のみ（特に雄）であり，重篤度は投与終了時の剖検では軽微から軽度であったが，休薬期間終了時の剖検では軽微であった。これらの所見は，予想される薬理作用に関連したものであり，他の成長ホルモン（GH）アナログで既に報告されており（乳腺および脾臓）[6,7]，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。したがって，これらの所見は毒性ではないと判断された。この結果に基づくと，無毒性量は 180 mg/kg であり，この用量における試験 26 日の最高血漿中濃度（C_{max}）および濃度-時間曲線下面積（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（約 1～5 歳齢）を用いた 4 週間反復投与毒性試験では，somatrogon を 0，1.8，18 または 90 mg/kg の用量で 6 日間に 1 回（計 5 回）皮下投与した。一般状態，体重，眼科学的所見，心電図，臨床病理所見，剖検所見または器官重量には被験物質投与に関連した変化は観察されず，somatrogon の免疫原性は認められなかった。IGF-1 濃度は投与期間を通じて上昇し，1 匹のみが ADA 陽性を示したが，この動物では中和活性は認められなかった。注射部位における可逆性の炎症／線維増殖以外には，被験物質投与に関連した病理組織学的所見は認められなかった。この結果に基づくと無毒性量は 90 mg/kg であり，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（約 2.5～4 歳齢）を用いた 26 週間反復投与毒性試験では，somatrogon を 0，1.5，15 または 30 mg/kg の用量で 5 日間に 1 回皮下投与した。追加の群には 3.6 mg/kg/日の rhGH を 1 日 1 回皮下投与した。この年齢のサルは幼若／若齢とみなされる[8]。一般状態，体重，眼科学的所見，心電図，臨床病理所見，剖検所見または器官重量には被験物質投与に関連した変化は観察されず，被験物質は，軽度の免疫原性を有するが，rhGH を投与された動物と同様の頻度で顕著な中和活性を有しないと考えられた。IGF-1 濃度は被験物質の全用量群で上昇した。病理組織学的変化は注射部位のみに認められ，軽微な混合細胞浸潤がみられた。その他の変化（滲出液，線維化，炎症，出血，変性／壊死など）は rhGH 群および被験物質投与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，被験物質投与群ではこれらの影響は回復性を示し，rhGH 群の雄 1 匹および雌 1 匹に持続して認められたのみであった。無毒性量は 30 mg/kg であり，この用量における試験 1 日[a]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。全体として，毒性プロファイルは somatrogon と rhGH で類似していた。

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験では，ラットに somatrogon を 0，3，10 または 30 mg/kg の用量で 2 日間に 1 回皮下投与した。雄には交配の 28 日前から同居期間を通じて安楽殺まで投与し，全投与期間は約 8 週間であった。雌には交配の 14 日前から同居期間を通じて妊娠 7 日まで投与した。受胎能または生殖能のパラメータには，被験物質投与に関連した毒性は認められなかった。10 mg/kg 以上の群の雄および全用量群の雌で，被験物質投与に関連した体重，体重増加量および摂餌量の増加が認められた。これらの増加は被験物質の薬理作用から予想されるものであった。雌では，発情周期に影響が認められ（10 mg/kg 以上の用量群で発情周期が延長，3 mg/kg 以上の用量群で発情周期の回数が減少），10 mg/kg 以上の用量群で交尾間隔が延長した。発情周期の長さへの影響は，他の成長ホルモン製剤でも観察されている[4,9]。さらに，10 mg/kg 以上の用量群で黄体数の増加，30 mg/kg 群で着床数の増加が認められた。受胎能への影響は認められなかったことから，雌にみられたこれらの変化は毒性変化ではないと考えられた。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いずれも 30 mg/kg であった。

胚・胎児発生に関する試験では，妊娠した雌ラットに somatrogon を 0，3，10 または 30 mg/kg の用量で妊娠 6～18 日に 2 日間に 1 回皮下投与した。子宮パラメータ，胎児の発生または外表，骨格および内臓の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。観察された被験

[a] 試験 91 日および 181 日には個体間変動が認められたため，試験 1 日の曝露量を示している（2.6.4.3.2.2 項）。

物質投与に関連した影響は，全用量群でみられた体重および体重増加量の増加，ならびに10 mg/kg 以上の群でみられた摂餌量の増加のみで，これらの増加は被験物質の薬理作用から予想されるものであった。次世代の発生に関する無影響量は 30 mg/kg であった。母動物の一般毒性および生殖に及ぼす影響に関する無毒性量は 30 mg/kg であり，この用量における妊娠 18 日の AUC_{24} 値は 180 µg•h/mL であった。

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では，妊娠・授乳中の母動物（F0 世代）の雌ラットに somatrogon を 0，3，10 または 30 mg/kg の用量で妊娠 6 日～授乳 20 日に 2 日間に 1 回皮下投与した。F0 の雌の生存率および一般状態には被験物質投与に関連した影響は認められなかった。妊娠中および授乳中に被験物質投与に関連し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 10 mg/kg 以上の群の F0 世代の雌で認められ，3 mg/kg 群でも散発的に観察された。この増加は，被験物質の薬理作用に一致するものであり，毒性変化ではないと判断された。全用量群の F0 世代の雌で副腎の腫大が用量依存的に認められた。この所見は被験物質の薬理作用に起因する体重増加と関連があると考えられ，毒性変化ではないと判断された。10 mg/kg 以上の用量群で，第 1 世代（F1）の動物の体重に，被験物質投与に関連した統計学的に有意な増加が認められた。また，30 mg/kg 群の F1 雄で交配後の期間まで，F1 雌では妊娠期間まで体重増加が観察された。これらの影響は，被験物質の薬理作用と一致するものであり，毒性変化ではないと判断された。F0 動物の分娩，F1 世代の同腹児数，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，生殖能，受胎能ならびに肉眼的評価）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。30 mg/kg 群の F1 世代の雌では交尾間隔が 4.5 日に延長されたが，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所見である [4,9]。したがって，交尾率への影響はなかったことから，この交尾間隔の延長は毒性変化ではないと考えられた。F0 世代（母動物）の一般毒性および生殖ならびに次世代発生の評価に及ぼす影響に関する無毒性量は 30 mg/kg であった。

2. 単回投与毒性試験

2.1. Sprague-Dawley ラットを用いた単回皮下投与毒性試験

Sprague-Dawley ラット（雌雄各 6 匹/群）に somatrogon（溶媒：147 mmol/L 塩化ナトリウムを含む 10 mmol/L クエン酸緩衝液）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）。被験物質（濃度 20.66 mg/mL）の投与容量は，それぞれ 0.17，1.7 または 8.7 mL/kg であった。ケージサイドからの観察，一般状態観察および体重測定を実施した。被験物質のトキシコキネティクス評価のため，試験 1 日の投与前ならびに投与後 1，2，4，8，24，48 および 72 時間の各時点で，各用量群の雌雄各 3 匹の眼窩静脈叢から血液検体を採取した。試験 7 日の試験終了時にすべての動物を安楽殺し，さらなる評価は行わなかった。

すべての動物が試験終了時まで生存し，一般状態または体重に被験物質投与に関連した影響は認められなかった。概して，C_{max} および AUC_{last} は用量の増加に伴って増加し，性差は認められなかった。被験物質に関連した所見が認められなかったことから，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。

2.2. アカゲザルを用いた単回皮下投与急性毒性試験

アカゲザル（雌雄各 3 匹/群）に somatrogon（溶媒：147 mmol/L 塩化ナトリウムを含む 10 mmol/L クエン酸緩衝液）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）。被験物質（濃度 20.66 mg/mL）の投与容量は，それぞれ 0.09 mL/kg または 4.4 mL/kg であった。ケージサイドからの観察，一般状態観察および体重測定を実施した。身体的検査（投与開始前）を行い，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学検査および尿検査を実施した。血清中被験物質濃度およびトキシコキネティクスパラメーターを評価するため，試験 1 日の投与前ならびに投与後 1，2，4，8，24，48 および 72 時間の時点で全動物から血液検体を採取した。試験終了後，動物はストックコロニーに戻した。

すべての動物が試験終了時まで生存し，一般状態，体重または臨床病理所見に被験物質投与に関連した影響は認められなかった。概して，C_{max} および AUC_{last} は用量の増加に伴って増加し，性差はなかった。被験物質に関連した所見が認められなかったことから，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。

3. 反復投与毒性試験

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 回皮下投与による最長 4 週間までの試験を実施し，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。

3.1. 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

雌雄の 8 週齢 Sprague-Dawley ラット（雌雄各 10 匹/群）に somatrogon を 0（溶媒対照：147 mmol/L 塩化ナトリウムを含む 10 mmol/L クエン酸緩衝液），3.6，36 または 180 mg/kg の用量（投与容量はそれぞれ 9，0.18，1.8 または 9 mL/kg，濃度は 20.2 mg/mL）で週 2 回（試験 1，5，8，12，15，19，22 および 26 日，計 8 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。ケージサイドからの観察および一般状態観察ならびに体重および摂餌量測定を実施した。投与終了時および休薬期間終了時の剖検前に，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査および尿検査を実施した。ADA 検査は投与前，ならびに溶媒対照および 180 mg/kg 群に対して実施し，溶媒対照群の主試験およびトキシコキネティクス評価動物，180 mg/kg 群のトキシコキネティクス評価動物の投与終了時，ならびに溶媒対照群，180 mg/kg 群の休薬期間終了時の剖検時（主試験）または安楽殺時（トキシコキネティクス評価動物）に採取した検体を用いた。投与終了時または休薬期間終了時に動物を剖検し，肉眼的異常の有無を検査した。選択した一部の器官重量（脳，心臓，腎臓，副腎，肝臓，肺，脾臓，胸腺，下垂体，唾液腺，卵巣，精巣，精巣上体および甲状腺/副甲状腺）を測定し，病理組織学的検査を実施した（対照群および 180 mg/kg 群の動物については試験 27 日に全組織を評価，3.6 mg/kg 群および 36 mg/kg 群については試験 27 日に，回復性

試験群の動物については試験 41 日に注射部位，肝臓，乳腺，脾臓および腎臓を評価）。血清中の被験物質濃度およびトキシコキネティクスパラメーターを評価するための血液検体は，試験 1 日および 26 日（最終投与日）の投与前ならびに投与後 1，2，4，8，24，48 および 72 時間の各時点で，各用量群の雌雄各 3 匹から採取した。なお溶媒対照群からは，投与後 8 時間の時点に採血した。トキシコキネティクス解析用に採取した検体は，定量的酵素免疫測定法（ELISA）を用いた分析法（GLP 非適用）により IGF-1 濃度についても測定した。

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，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と一致するか（貧血）[6]，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 日の全身曝露量は試験 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。これらの結果の詳細は，2.6.4.3.2.1 項に示している。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 [6]。

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[7]。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[10]。

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。

3.2. 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

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：147 mmol/L 塩化ナトリウムを含む 10 mmol/L クエン酸緩衝液），1.8，18 または 90 mg/kg の用量（投与容量はそれぞれ 4.5，0.09，0.9 または 4.5 mL/kg，濃度は 20.2 mg/mL）で 6 日間に 1 回（試験 1，7，13，19 および 25 日，計 5 回）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。ケージサイドからの観察および一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，心電図測定，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査ならびに尿検査を実施した。ADA の有無は，投与開始前，試験 25 日の投与前および試験 6 週に採取した検体で検査した。投与終了時または休薬期間終了時に動物を剖検し，肉眼所見の有無を検査した。選択した一部の器官重量（脳，心臓，腎臓，副腎，肝臓，肺，脾臓，胸腺，下垂体，唾液腺，卵巣，精巣，精巣上体および甲状腺/副甲状腺）を測定し，病理組織学的検査（全組織）を実施した。血

清中の被験物質濃度およびトキシコキネティクスパラメーターを評価するため，試験 1 日および 19 日の投与前ならびに投与後 2，4，8，24，48，72 および 96 時間の時点での血液検体を採取した。また，トキシコキネティクス解析用に採取した検体を用い，IGF-1 濃度についても測定した。

高用量群の雌 1 匹（90 mg/kg/回群，動物番号 132）が試験 23 日に死亡した。同個体では，死亡前に一般状態の変化は観察されておらず，剖検時には被験物質に関連した明らかな肉眼または病理組織学的所見は認められなかった。剖検結果は，背景病変と考えられた鼓腸の症例で観察されている所見と一致しており，被験物質投与に起因するものではなかった[11]。この死亡動物には被験物質に関連した所見が認められなかったことから，被験物質に起因する死亡ではないと結論された。また，この用量群の他のいずれの動物にも毒性を示す所見が認められなかったことからも，この死亡は被験物質投与と関連がないものと考えられた。他の動物はすべて，計画屠殺時まで生存した。

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（動物番号 124）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。

3.3. 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

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：147 mmol/L 塩化ナトリウムを含む 10 mmol/L クエン酸緩衝液），1.5，15 または 30 mg/kg の用量（投与容量はそれぞれ 1.428，0.07142，0.7142 または 1.428 mL/kg，濃度は 21 mg/mL）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。各動物の肩甲部の 2 箇所を注射部位とし，交互に注射を行った。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。ケージサイドからの観察および一般状態観察，体重測定，摂餌量測定，眼科学的検査，心電図測定，血液学的検査，血液凝固検査，血液生化学的検査ならびに尿検査を実施した。ADA 検査は投与開始前，ならびに試験 1，91 および 181 日の投与 120 時間後（rhGH 群では試験 1，91 および 181 日の投与 24 時間後）の血液検体で，IGF-1 濃度測定は投与開始前，ならびに試験 1，91 および 181 日の投与 8，24，48，72，96 および 120 時間後（rhGH 群では試験 1，91 および 181 日の投与 8 時間後および 24 時間後）の血液検体で実施した。投与終了時または休薬期間終了時に動物を剖検し，肉眼所見の有無を検査した。選択した一部の器官重量（脳，心臓，腎臓，副腎，肝臓，肺，脾臓，胸腺，下垂体，唾液腺，卵巣，精巣，精巣上体および甲状腺/副甲状腺）を測定し，病理組織学的検査（全組織）を実施した。血清中の被験物質濃度およびトキシコキネティクスパラメーターを評価するため，投与前ならびに試験 1，91 および 181 日の投与 1，2，4，8，24，48，72，96 および 120 時間後の時点で血液検体を採取した（rhGH 群の検体は，投与前ならびに試験 1，91 および 181 日の投与 1，2，4，8 および 24 時間後に採取した）。

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。

T_{max} 値は概して 6～17 時間であった。C_{max} および AUC はほぼ用量に比例して増加し，性差は認められなかった。AUC は，試験 1 日から試験 91 日にかけ増加したが，試験 181 日にはさらなる増加はなかった。C_{max} は，反復投与後の上昇はみられなかった。なお，試験 91 日および 181 日の血中 somatrogon 濃度に個体間変動が認められた。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。これらの結果の詳細は，2.6.4.3.2.2 項に示している。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。下垂体が正常に機能している動物では，内因性 GH の関与があり，かつ IGF-1 濃度が正常であるため，GH/IGF-1 軸の用量反応関係を評価することは困難であるが，IGF-1 濃度が上昇したことにより，somatrogon が GH と同様の生物学的活性を有することが示された。

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. 遺伝毒性試験

ICH S6（R1）ガイドラインに基づくと，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[1]，somatrogon の遺伝毒性試験は実施していない。

5. がん原性試験

ICH S1A ガイドラインには「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[2]，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，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[12]。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[13]。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[3]，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[13,14,15]。

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 週間までの試験を実施した。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。

6. 生殖発生毒性試験

[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[4]。

6.1. 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用量設定試験

胚・胎児発生に関する試験（重要な試験 2.6.6.3 項）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：147 mmol/L 塩化ナトリウムを含む 10 mmol/L クエン酸緩衝液），2.5，5，10 または 30 mg/kg の用量（投与容量はそれぞれ 1.428，0.119，0.238，0.476 または 1.428 mL/kg，濃度は 21 mg/mL）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）。ケージサイドからの観察および一般状態観察を実施し，妊娠体重および摂餌量を記録した。妊娠 20 日に帝王切開を行い，剖検を実施した。子宮の検査（生存胎児数，死亡胎児数，吸収胚数，着床数，黄体数）ならびに胎児の体重，性比および外表の検査を実施した。

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。

6.2. 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：147 mmol/L 塩化ナトリウムを含む 10 mmol/L クエン酸緩衝液），3，10 または 30 mg/kg の用量（投与容量はそれぞれ 1.428，0.1428，0.4762 および 1.428 mL/kg，濃度は 21 mg/mL）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。ケージサイドからの観察および一般状態観察を実施し，体重および摂餌量を記録した。交配期間は，最長 21 日間または交尾の証拠（精子または膣栓）が確認されるまでとした。交配前および交配期間中は，交尾の証拠が観察されるまで毎日発情周期を確認した。雌は妊娠 13 日に帝王切開を行い，着床数，着床状態（胎児の生死）および吸収胚数を記録した。また，各卵巣について黄体数を記録した。試験終了時の体重を記録して全動物の剖検を実施し，臓器および組織を採取，検査し，重量を測定した後に保管した。また，精子検査（運動性，濃度および形態）も実施した。

溶媒対照群および 30 mg/kg 群の雄各 1 匹を，外傷により，それぞれ試験 43 日および 7 日に安楽死させた。溶媒対照群の雄は尾，30 mg/kg 群の雄は左前足に外傷があり，いずれも皮膚から骨が露出しており，被験物質との関連はないと考えられた。溶媒対照群の他の 1 匹の雄が試験 60 日に死亡発見された。これらの 3 匹の雄を除いた，すべての動物は試験終了時の安楽殺時点まで生存した。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 [4,9]。

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。

6.3. 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）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：147 mmol/L 塩化ナトリウムを含む 10 mmol/L クエン酸緩衝液），3，10 または 30 mg/kg の用量（投与容量はそれぞれ 1.428，0.1428，0.4762 および 1.428 mL/kg，濃度は 21 mg/mL）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）。ケージサイドからの観察および一般状態観察を実施し，母動物の体重および摂餌量を記録した。妊娠 20 日に帝王切開を行い，剖検を実施した。子宮検査（生存胎児数，死亡胎児数，吸収胚数，着床数および黄体数）ならびに胎児検査（体重，性比ならびに外表，骨格および内臓の奇形および変異）を実施した。血清中の被験物質濃度およびトキシコキネティクスパラメーターを評価するため，トキシコキネティクス評価群を設定し（溶媒対照群：3 匹，各用量群：9 匹），妊娠 6 日および 18 日の投与前ならびに投与後 1，2，4，8，24 および 48 時間の各時点で各用量群 3 匹の動物からの血液検体を採取し，溶媒対照群の 3 匹からも妊娠 6 日および 18 日の投与 8 時間後に血液検体を採取した。加えて，妊娠 18 日の投与 24 時間後にトキシコキネティクス評価動物の胎児から血液を採取した。

10 mg/kg の雌 1 匹が妊娠 15 日に死亡発見された。この動物の一般状態には異常がなく，剖検時に観察された所見は，副腎の赤色化，咽頭に近い口腔内の赤色の液体，肺および主気管支の赤色化であった。同様の剖検所見は被験物質を投与された他のいずれの動物にも認められず，30 mg/kg 群に死亡は認められなかったことから，10 mg/kg 群にみられたこの死亡は被験物質との関連はないと考えられた。

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。

6.4. 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：147 mmol/L 塩化ナトリウムを含む 10 mmol/L クエン酸緩衝液），3，10 または 30 mg/kg の用量（投与容量はそれぞれ 0.75，0.075，0.25 または 0.75 mL/kg，濃度は 40 mg/mL）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）。

母動物（F0 世代）では，妊娠・授乳中の一般状態，体重，体重増加量および摂餌量，分娩および同腹児のデータ，離乳までの哺育成功の評価ならびに剖検を実施した。出生児（F1 世代）では，生存率，性別，体重，肉眼的異常および身体的発達を評価した。離乳後，選択した一部の F1 動物について，一般状態および体重の観察ならびに剖検（子宮の検査を含む）を実施した。また，選択したこれらの F1 動物の成長，性成熟，行動，生殖能および受胎能も評価した。

30 mg/kg 群の雌 1 匹（瀕死状態のため授乳 5 日に安楽殺）を除き，F0 世代の雌はすべて試験終了時の安楽殺時点まで生存した。瀕死屠殺した雌で観察された一般状態の変化は，活動性低下，呼吸促迫，右後肢の障害，蒼白および冷触感であり，剖検では，副腎，肝臓および脾臓の腫大ならびに全身黄疸が認められた。副腎の腫大は 30 mg/kg 群の他の少数の動物にも認められたものの，同群の他の動物には一般状態の毒性変化または同様の剖検所見（副腎の腫大以外）はみられなかったことから，30 mg/kg のこの雌の死亡は被験物質投与との関連はないと考えられた。

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[4,9]，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，観察された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[4,9]，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[4,9]。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。

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（2.6.6.3.1 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（2.6.6.3.2 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（2.6.6.3.3 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。

8. その他の毒性試験

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。

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。

8.3. 免疫毒性試験

Somatrogonの免疫毒性試験は実施していない。

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。

8.5. 依存性試験

Somatrogonの依存性試験は実施していない。

8.6. 代謝物の試験

Somatrogon の代謝物の試験は実施していない。

8.7. 不純物の試験

Somatrogon の不純物の試験は実施していない。

8.8. その他の試験

Somatrogon のその他の試験は実施していない。

9. 考察および結論

9.1. 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。

9.1.1. 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，休薬期間後に回復性であったことに基づき，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。

[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）。

9.1.2. 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[6,7]。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[10]。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，ラットに rhGH を投与した先行研究で報告されている[6]。

9.2. 結論

ラットおよびアカゲザルを用いて，それぞれ最長 4 週間および 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（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。ラットを用いて，胚・胎児発生に関する試験のための用量設定試験を実施し，重要な試験で用いる用量を決定した。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。

---

[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）。

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。

以上のように，これまでに得られたデータにより somatrogon は rhGH と同じ作用機序によって機能することが示唆され，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。

10. 図表

図表は本文中および 2.6.7 項に記載した。

参考文献

[1] 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．

[2] 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．

[3] 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.

[4] Genotropin Package Insert. New York, NY: Pfizer; 2019 (revised).

[5] ICH S5 ガイダンス：医薬品の生殖発生毒性試験についてのガイドラインの改定について．薬審発　第 316 号　平成 9 年 4 月 14 日；ICH S5(R2) 補遺．医薬審発　第 1834 号　平成 12 年 12 月 27 日．

[6] 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.

[7] 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.

[8] Kim NN, Parker RM, Weinbauer GF, et al. Points to consider in designing and conducting juvenile toxicology studies. Int J Toxicol 2017;36(4):325-39.

[9] 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.

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

[11] Brady AG, Morton DG. Digestive system. In: Bennett BT, Abee CR, Henrickson R, editors. Nonhuman Primates in Biomedical Research, Diseases. San Diego: Academic Press; 1998: Chapter 10.

[12] 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.

[13] 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.

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

[15] 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.

TABLE OF CONTENTS

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW 2
2.6.7.2 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS STUDIES 4
2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA 5
2.6.7.4 TOXICOLOGY: DRUG SUBSTANCE 6
2.6.7.5 SINGLE-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES 8
2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY 10
2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY 16
2.6.7.7C REPEAT-DOSE TOXICITY 20
2.6.7.11 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES 25
2.6.7.12 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION 26
2.6.7.13 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT 30
2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION 34
2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES 38

2.6.7.1 TOXICOLOGY: OVERVIEW

Test Article: PF-06836922

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Sponsor Reference Number
Single-Dose Toxicity								
Single-Dose	Rat/Sprague Dawley	SC	Single Dose	3.6, 36, 180	No	[redacted][b]	1592-001	TP-4-001
Single-Dose	Monkey/Rhesus	SC	Single Dose	1.8, 90	No	[redacted][b]	1592-002	TP-4-002
Repeat-Dose Toxicity[c]								
4-Week With 2-Week Recovery	Rat/Sprague Dawley	SC	4 Weeks[d]	0, 3.6, 36, 180	Yes[e]	[redacted][b]	1592-003	TP-4-003
4-Week With 2-Week Recovery	Monkey/Rhesus	SC	4 Weeks[f]	0, 1.8, 18, 90	Yes[e]	[redacted][b]	1592-004	TP-4-004
26-Week With 4-Week Recovery	Monkey/Rhesus	SC	26 Weeks[g]	0, 1.5, 3.6[h], 15, 30	Yes[e]	[redacted][b]	1592-006	M04008
Genotoxicity								
Not conducted								
Carcinogenicity								
Not conducted								
Reproductive and Developmental Toxicity								
Fertility and Early Embryonic Development to Implantation	Rat/Sprague Dawley	SC	Prior to mating up to GD 7[i]	0, 3, 10, 30	Yes	[redacted][b]	1592-009	M-04-011
Range-Finding Developmental Toxicity	Rat/Sprague Dawley	SC	GD 6-18[j]	0, 2.5, 5, 10, 30	Yes	[redacted][b]	1592-007	M-04-009
Developmental Toxicity	Rat/Sprague Dawley	SC	GD 6-18[j]	0, 3, 10, 30	Yes[e]	[redacted][b]	1592-008	M-04-010
Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function	Rat/Sprague Dawley	SC	GD 6-LD 20[k]	0, 3, 10, 30	Yes	[redacted][b]	1592-010	TP-4-004
Local Tolerance								
Not conducted								

2.6.7.1 Toxicology: Overview **Test Article: PF-06836922 (continued)**

Type of Study	Species/Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg)	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number	Sponsor Reference Number
Other Toxicity Studies								
Investigative – Detection of Antibodies in Control Group in 4-Week Study With 2-Week Recovery	Rat/Sprague Dawley	SC	4 Weeks[d]	Vialed citrate buffer, Bulk citrate buffer, PBS (each at 9 mL/kg)	No	[redacted][l]	M-04-001	CD-04-0014

Note: In study reports, somatrogon may also be referred to as MOD-4023 or PF-06836922.
GD = Gestation day; GLP = Good Laboratory Practice; LD = Lactation day; PBS = Phosphate buffered saline; SC = Subcutaneous.
a. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight.
b. [redacted], [redacted], MI.
c. For repeat-dose toxicity studies, the NOAEL (no observed adverse effect level) is underlined.
d. Dosed on Days 1, 5, 8, 12, 15, 19, 22, and 26.
e. Toxicokinetic analysis was conducted non-GLP.
f. Dosed once every 6 days.
g. Dosed once every 5 days.
h. Comparator (rhGH; Bio-Tropin®), dosed once daily.
i. Dosed every 2 days (in males from 28 days prior to mating through cohabitation to euthanasia, and in females from 14 days prior to mating through cohabitation up to GD 7).
j. Dosed every 2 days.
k. Females dosed every 2 days from GD 6 to LD 20.
l. [redacted], Israel.

2.6.7.2 Toxicokinetics: Overview of Toxicokinetics Studies

Test Article: PF-06836922

Type of Study	Species	Method of Administration	Doses[a] (mg/kg)	GLP Compliance	Study Number (Sponsor Reference Number)
Single-Dose	Rat/Sprague Dawley	SC	3.6, 36, 180	No	1592-001 (TP-4-001)
Single-Dose	Monkey/Rhesus	SC	1.8, 90	No	1592-002 (TP-4-002)
4-Week With 2-Week Recovery	Rat/Sprague Dawley	SC	0, 3.6, 36, 180	Yes[b]	1592-003 (TP-4-003)
4-Week With 2-Week Recovery	Monkey/Rhesus	SC	0, 1.8, 18, 90	Yes[b]	1592-004 (TP-4-004)
26-Week With 4-Week Recovery	Monkey/Rhesus	SC	0, 1.5, 15, 30	Yes[b]	1592-006 (M04008)
Developmental Toxicity	Rat/Sprague Dawley	SC	0, 3, 10, 30	Yes[b]	1592-008 (M-04-010)

GLP = Good Laboratory Practice; SC = Subcutaneous.
a. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight.
b. The bioanalytical portion of the study was conducted GLP; the toxicokinetic analysis was conducted non-GLP.

2.6.7.3 TOXICOKINETICS: OVERVIEW OF TOXICOKINETICS DATA

Test Article: PF-068369

Dose[a] (mg/kg)	Study Type[b]	Study Number	Steady State Total AUC_t (µg•h/mL) (Mean)				
			Rat		Monkey		Human[c]
			M	F	M	F	M + F
0.66	Once-Weekly[d]	CP-4-006	-	-	-	-	25.2[e]
1.5	Repeat-Dose Toxicity, 26-Week[f]	1592-006	-	-	138	131	-
1.8	Repeat-Dose Toxicity, 4-Week[g]	1592-004	-	-	74.8	86.6	-
3	Developmental Toxicity, GD 6-18[h]	1592-008	-	22.5	-	-	-
3.6	Repeat-Dose Toxicity, 4-Week[i]	1592-003	52.5	37.1	-	-	-
10	Developmental Toxicity, GD 6-18[h]	1592-008	-	89.5	-	-	-
15	Repeat-Dose Toxicity, 26-Week[f]	1592-006	-	-	1490	1020	-
18	Repeat-Dose Toxicity, 4-Week[g]	1592-004	-	-	679	817	-
30	Repeat-Dose Toxicity, 26-Week[f]	1592-006	-	-	3440	2570	-
30	Developmental Toxicity, GD 6-18[h]	1592-008	-	180	-	-	-
36	Repeat-Dose Toxicity, 4-Week[i]	1592-003	682	819	-	-	-
90	Repeat-Dose Toxicity, 4-Week[g]	1592-004	-	-	3760	4430	-
180	Repeat-Dose Toxicity, 4-Week[i]	1592-003	2930	3630	-	-	-

- = No data; AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours (1 day); AUC_t = Area under the concentration-time curve from time 0 to the last measurable concentration; F = Female; GD = Gestation day; GHD = Growth hormone deficiency; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; rhGH = Recombinant human growth hormone; TK = Toxicokinetic.

a. All doses are expressed as mg of protein per kg of body weight.

b. Only TK data from the GLP repeat-dose toxicity and embryo-fetal development studies are included in this overview table.

c. Data presented for both sexes combined.

d. Five (5) weeks administration in pediatric GHD subjects who were naïve to treatment with rhGH (Phase 3 study CP-4-006).

e. PMAR-EQDD-C031b-DP3-1093, Table 11.

f. Dosed every 5 days. Day 181 TK data presented.

g. Dosed every 6 days. Day 19 TK data presented.

h. Dosed every 2 days. GD 18 TK data (AUC_{24}) presented.

i. Dosed twice weekly (Days 1, 5, 8, 12, 15, 19, 22, and 26). Day 26 TK data presented.

2.6.7.4 Toxicology: Drug Substance

Lot Number[a]	Concentration	Purity[b]	Specified Impurities[b]	Study Number	Type of Study
Acceptance Criteria[c]:	20 mg/mL: 18-22 mg/mL 40 mg/mL: 36-44 mg/mL	NLT 92% Monomer	≤100 ng/mg protein (ppm)		
EN648-01-[redacted]-005[d]	20.5	[redacted]	<[redacted]	1592-001	Single-Dose Toxicity
				1592-002	Single-Dose Toxicity
EN648-01-[redacted]-002[e]	20.2	[redacted]	<[redacted]	1592-003	4-Week Toxicity in Rats with 2-Week Recovery
				1592-004	4-Week Toxicity in Monkeys with 2-Week Recovery
EN648-01-[redacted]-014A[f,g]	21	[redacted]	[redacted]	1592-006	26-Week Toxicity in Monkeys with 4-Week Recovery
				1592-009	Fertility and Early Embryonic Development in Rats
				1592-007	Range-Finding Developmental Toxicity in Rats
				1592-008	Developmental Toxicity in Rats
EN648-01-[redacted]-019A[h]	21	[redacted]	[redacted]	1592-006	26-Week Toxicity in Monkeys with 4-Week Recovery
				1592-009	Fertility and Early Embryonic Development in Rats
1009976[i]	42	>[redacted]	[redacted]	1592-010	Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function, in Rats

2.6.7.4 Toxicology: Drug Substance

Lot Number[a]	Concentration	Purity[b]	Specified Impurities[b]	Study Number	Type of Study
Acceptance Criteria[c]:	20 mg/mL: 18-22 mg/mL 40 mg/mL: 36-44 mg/mL	NLT 92% Monomer	≤100 ng/mg protein (ppm)		

NLT = Not less than; ppm = Parts per million; [redacted] = [redacted]
a. Chronological by batch manufacture date.
b. Measured by [redacted] (Refer to 3.2.S.4.4 Batch Analyses).
c. Acceptance criteria at time of batch/lot release.
d. Manufactured [redacted] 20[redacted].
e. Manufactured [redacted] 20[redacted].
f. Manufactured [redacted] 20[redacted].
g. Also referred to as 648-01-[redacted]-014A in some study reports.
h. Manufactured [redacted] 20[redacted].
i. Manufactured [redacted] 20[redacted].

2.6.7.5 SINGLE-DOSE TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES

Test Article: PF-06836922

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg)	Number/ Sex/Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Rat/Sprague Dawley	SC injection, 0.17 to 8.7 mL/kg[b] (10 mM citrate buffer, 147 mM NaCl, pH 6.0) Lot EN648-01-[redacted]-005	1 Day	3.6, 36, 180	6M, 6F	Not reported	None	1592-001 (TP-4-001)/ No

Toxicokinetic Parameters (Combined Sexes):			
Dose (mg/kg)	3.6	36	180
C_{max} (µg/mL)	1.76	17.9	69.4
AUC_{last} (µg•h/mL)	25.4	372	1960

AUC_{last} = Area under the concentration-time curve from time 0 to the last measurable concentration; C_{max} = Maximum observed concentration; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; NOAEL = No observed adverse effect level; SC = Subcutaneous.

a. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight.

b. Based on a test article concentration of 20.66 mg/mL, doses were achieved by administering different dose volumes (0.17, 1.7, 8.7 mL/kg for 3.6, 36, 180 mg/kg, respectively).

2.6.7.5 Single-Dose Toxicity: Nonpivotal Studies **Test Article: PF-06836922**

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses[a] (mg/kg)	Number/ Sex/Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Monkey/Rhesus	SC injection, 0.09 or 4.4 mL/kg[b] (10 mM Citrate buffer, 147 mM NaCl, pH 6.0) Lot EN648-01-[redacted]-005	1 Day	1.8, 90	3M, 3F	Not reported	None	1592-002 (TP-4-002)/ No
Toxicokinetic Parameters (Combined Sexes):							
Dose (mg/kg)			1.8	90			
C_{max} (µg/mL)			2.07	109			
AUC_{last} (µg•h/mL)			38.7	2440			

AUC_{last} = Area under the concentration-time curve from time 0 to the last measurable concentration; C_{max} = Maximum observed concentration; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; M = Male; NOAEL = No observed adverse effect level; SC = Subcutaneous.
a. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight.
b. Based on a test article concentration of 20.66 mg/mL, doses were achieved by administering different dose volumes (0.09 and 4.4 mL/kg for 1.8 and 90 mg/kg, respectively).

2.6.7.7A REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: A 4-Week Subcutaneous Toxicity Study of MOD-4023 in Sprague Dawley Rats With a 2-Week Recovery

Test Article: PF-06836922

Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley
Age at First Dose: ~8 Weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Vehicle/Formulation: 10 mM Citrate, 147 mM NaCl

Duration of Dosing: 4 Weeks
Duration of Postdose: 2 Weeks
Method of Administration: SC injection, twice weekly[a], 20.2 mg/mL, dose volume of 9, 0.18, 1.8, or 9 mL/kg for 0, 3.6, 36, or 180 mg/kg, respectively

Study Number: 1592-003
Sponsor Reference Number: TP-4-003
Lot Number: EN648-01-[redacted]-002
GLP Compliance: Yes

Special Features: Anti-PF-06836922 and anti-CTP antibodies, PF-06836922 and hGH neutralizing antibodies, and insulin-like growth factor-1 were evaluated.
No Observed Adverse Effect Level: 180 mg/kg

Dose[b] (mg/kg)	**0 (Control)**		**3.6**		**36**		**180**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals								
Toxicity[c]	15	15	10	10	10	10	15	15
Toxicokinetics	5	5	11	11	11	11	11	11
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (µg/mL)								
Day 1	NA[d]		1.28		12.7		45.7	
Day 26	NA[d]		2.49		25.7		95.7	
AUC_{last} (µg•h/mL)								
Day 1	NA[d]		18.2		278		1490	
Day 26	NA[d]		44.8		750		3280	
Immunogenicity[e] - Day 27								
Anti-PF-06836922 Antibodies (Incidence)	13/15	14/15	NM	NM	NM	NM	9/11	11/11
Anti-CTP Antibodies (Incidence)	8/13	12/14	NM	NM	NM	NM	2/9	1/11
PF-06836922 Neutralizing Antibodies (Incidence)	5/5	5/5	NM	NM	NM	NM	10/11	11/11
hGH Neutralizing Antibodies (Incidence)	5/5	5/5	NM	NM	NM	NM	9/11	11/11
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund								
Toxicity	0	0	0	0	0	0	0	0
Toxicokinetics	0	0	0	0	0	0	0	0

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity **Study Number: 1592-003 (continued)**

Dose[b] (mg/kg)	0 (Control)		3.6		36		180	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Body Weight (g)[f]								
Day 5	-	191.8	-	0.99	-	1.05	-	1.09†
Day 8	290.1	202.2	0.99	1.02	1.01	1.08†	1.04*	1.14†
Day 26	392.5	239.1	0.99	1.02	1.04	1.19†	1.10†	1.29†
Food Consumption (g)[f]								
Week 1	23.92	15.78	0.97	1.02	1.11†	1.24†	1.18†	1.37†
Week 4	25.81	17.45	1.01	1.02	1.11†	1.22†	1.18†	1.32†
Clinical Observations								
Scabs	0	0	0	0	1	0	1	4
Hematology/Coagulation								
Erythrocytes (10^6/µL)	8.387	8.479	8.047	8.310	7.956*	7.971*	7.656†	7.483†
Hemoglobin (g/dL)	16.04	16.13	16.20	16.09	16.01	15.41	15.30*	14.71†
Hematocrit (%)	49.51	48.18	48.97	47.78	48.88	46.82	46.88*	44.82†
Reticulocytes (10^3/µL)	-	165.09	-	170.00	-	189.25	-	225.97†
Platelets (10^3/µL)	1091.4	1173.2	1159.0	1058.5	1234.7*	1360.0	1307.2†	1540.6*
Clinical Chemistry								
Triglycerides (mg/dL)	53.8	38.2	43.9	45.4	61.5	52.9	76.9†	70.6†
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Insulin-like Growth Factor-1 (ng/mL)								
Day 1								
Predose	NA[g]	NA[g]	561	504	708	843	1038	572
1 Hour postdose	NA[g]	NA[g]	737	693	976	905	693	511
2 Hours postdose	NA[g]	NA[g]	562	589	655	583	655	345
4 Hours postdose	NA[g]	NA[g]	388	479	848	505	608	296
8 Hours postdose	NA[g]	NA[g]	368	293	371	371	371	379
24 Hours postdose	NA[g]	NA[g]	480	441	652	439	1931	1421
48 Hours postdose	NA[g]	NA[g]	1450	1100	1724	1409	2642	1608
72 Hours postdose	NA[g]	NA[g]	1036	884	1092	1209	1321	1385

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity **Study Number: 1592-003 (continued)**

Dose[b] (mg/kg)	0 (Control)		3.6		36		180	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Day 26								
Predose	NA[g]	NA[g]	1444	847	1497	1523	1391	624
1 Hour postdose	NA[g]	NA[g]	716	206	1844	1300	1332	1054
2 Hours postdose	NA[g]	NA[g]	1177	1404	1498	1509	1078	1105
4 Hours postdose	NA[g]	NA[g]	1124	1385	1460	807	1719	1245
8 Hours postdose	NA[g]	NA[g]	1874	1403	2116	1972	1643	1696
24 Hours postdose	NA[g]	NA[g]	1762	854	1010	659	1607	2043
48 Hours postdose	NA[g]	NA[g]	1763	626	1040	645	1945	2287
72 Hours postdose	NA[g]	NA[g]	885	620	823	1110	730	693
Organ Weights[f]								
Liver								
Absolute (g)	11.594	6.598	0.97	1.1	1.13*	1.4†	1.22†	1.6†
Relative (g/100 g body weight)	3.3288	3.2068	0.97	1.1	1.07	1.2†	1.10*	1.2†
Relative (g/g brain weight)	6.1399	3.7164	0.97	1.1	1.13*	1.4†	1.19†	1.5†
Spleen								
Absolute (g)	0.673	0.475	1.07	1.08	1.11	1.39†	1.32†	1.56†
Relative (g/100 g body weight)	0.1936	0.2300	1.07	1.04	1.05	1.13	1.18†	1.18*
Relative (g/g brain weight)	0.3558	0.2672	1.07	1.06	1.12	1.34†	1.29†	1.48†
Thymus								
Absolute (g)	0.499	0.400	1.04	1.15	1.17	1.65†	1.31*	1.83†
Relative (g/100 g body weight)	0.1434	0.1942	1.04	1.09	1.11	1.33†	1.18	1.36†
Relative (g/g brain weight)	0.2649	0.2252	1.03	1.12	1.18	1.58†	1.27*	1.71†
Adrenal Gland								
Absolute (g)	0.069	-	1.29†	-	1.32†	-	1.51†	-
Relative (g/100 g body weight)	0.0199	-	1.29†	-	1.25†	-	1.35†	-
Relative (g/g brain weight)	0.0368	-	1.27†	-	1.32†	-	1.46†	-

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity **Study Number: 1592-003 (continued)**

Dose[b] (mg/kg)	0 (Control)		3.6		36		180	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Histopathology								
Number Examined	10	10	10	10	10	10	10	10
Mammary Gland								
Feminization								
Minimal	1	0	6	0	5	0	3	0
Mild	0	0	1	0	5	0	7	0
Hyperplasia, lobular								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	3
Mild	0	0	0	0	0	1	0	3
Moderate	0	0	0	0	0	2	0	0
Liver								
Vacuolation, periportal								
Minimal	1	0	4	1	4	2	3	1
Mild	0	0	2	0	1	3	3	5
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Injection Site								
Infiltration, mononuclear cell								
Minimal	3	3	2	6	1	6	3	2
Mild	0	2	3	0	2	3	7	8
Kidney								
Mineralization, tubular								
Minimal	0	2	0	4	0	4	0	5
Mild	0	1	0	1	0	0	0	3
Spleen								
Hematopoiesis, extramedullary, increased								
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	0

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity **Study Number: 1592-003 (continued)**

Dose[b] (mg/kg)	0 (Control)		3.6		36		180	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Postdose Evaluation								
Number Evaluated	5	5	NA	NA	NA	NA	5	5
Immunogenicity[e] - Day 40								
Anti-PF-06836922 Antibodies (Incidence)	5/5	4/5	NM	NM	NM	NM	5/5	5/5
Anti-CTP Antibodies (Incidence)	3/5	4/4	NM	NM	NM	NM	0/5	0/5
PF-06836922 Neutralizing Antibodies (Incidence)	5/5	5/5	NM	NM	NM	NM	5/5	5/5
hGH Neutralizing Antibodies (Incidence)	5/5	5/5	NM	NM	NM	NM	5/5	5/5
Body Weight (g)[f]								
Day 29	406.0	246.6	NA	NA	NA	NA	1.13†	1.35†
Day 40	423.8	241.6	NA	NA	NA	NA	1.05	1.21†
Food consumption (g)[f]								
Week 5	29.14	20.40	NA	NA	NA	NA	1.13*	1.25*
Week 6	28.70	18.15	NA	NA	NA	NA	1.07	1.15*
Clinical Chemistry								
Triglycerides (mg/dL)	45.2	-	NA	NA	NA	NA	62.4	-
Organ Weights[f]								
Liver								
Absolute (g)	-	7.293	NA	NA	NA	NA	-	1.34†
Relative (g/100 g body weight)	-	3.1551	NA	NA	NA	NA	-	1.11*
Relative (g/g brain weight)	-	3.9940	NA	NA	NA	NA	-	1.30†
Spleen								
Absolute (g)	0.762	-	NA	NA	NA	NA	1.21*	-
Relative (g/100 g body weight)	0.1874	-	NA	NA	NA	NA	1.15	-
Relative (g/g brain weight)	0.3829	-	NA	NA	NA	NA	1.14	-
Histopathology								
Number Examined	5	5	NA	NA	NA	NA	5	5
Mammary Gland								
Feminization								
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	5	0
Hyperplasia, lobular								
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	0	1

2.6.7.7A Repeat-Dose Toxicity **Study Number: 1592-003 (continued)**

∗ p ≤0.05; † p ≤0.01, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; AUC_{last} = Area under the concentration-time curve from time 0 to the last measurable concentration; C_{max} = Maximum observed concentration; CTP = C-terminal peptide; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; hGH = Human growth hormone; M = Male; NA = Not applicable; NM = Not measured; SC = Subcutaneous.
a. Doses administered once daily on Days 1, 5, 8, 12, 15, 19, 22, and 26.
b. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight per dose. Based on a test article concentration of 20.2 mg/mL, doses were achieved by administering different dose volumes (9, 0.18, 1.8, or 9 mL/kg for 0, 3.6, 36, or 180 mg/kg, respectively).
c. Five (5) animals/sex in the 0 (control) and 180 mg/kg groups were maintained on study for a 2-week recovery period.
d. All samples below assay limit of quantitation (0.0014 µg/mL).
e. Immunogenicity analyses were evaluated at baseline (2 unassigned animals/sex) and in the 0 (control) and 180 mg/kg dose groups prior to terminal or recovery necropsy for toxicity animals and at euthanasia for toxicokinetic animals.
f. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
g. Samples not analyzed (per subsequent study protocol amendment).

2.6.7.7B REPEAT-DOSE TOXICITY

Report Title: A 4-Week Subcutaneous Toxicity Study of MOD-4023 in Rhesus Monkeys with a 2-Week Recovery

Test Article: PF-06836922

Species/Strain: Monkey/Rhesus
Age at First Dose: ~ 1 to 4.8 Years
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Vehicle/Formulation: 10 mM Citrate, 147 mM NaCl

Duration of Dosing: 4 Weeks
Duration of Postdose: 2 Weeks

Method of Administration: SC injection, every 6 days[a], 20.2 mg/mL, dose volume of 4.5, 0.09, 0.9, or 4.5 mL/kg for 0, 1.8, 18, or 90 mg/kg, respectively.

Study Number: 1592-004
Sponsor Reference Number: TP-4-004
Lot Number: EN648-01-[redacted]-002
GLP Compliance: Yes

Special Features: Anti-PF-06836922 and anti-CTP antibodies, PF-06836922 and hGH neutralizing antibodies, and insulin-like growth factor-1 were evaluated.
No Observed Adverse Effect Level: 90 mg/kg

Dose[b] (mg/kg)	**0 (Control)**		**1.8**		**18**		**90**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[c]	5	5	3	3	3	3	5	5
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
C_{max} (µg/mL)								
Day 1	NA[d]		3.48		29.3		125	
Day 19	NA[d]		3.82		22.0		119	
AUC_{last} (µg•h/mL)								
Day 1	NA[d]		78.3		765		4060	
Day 19	NA[d]		80.7		748		4100	
Immunogenicity – Day 25[e]								
Anti-PF-06836922 Antibodies (Incidence)	0/5	0/5	NM	NM	NM	NM	1/5	0/5
Anti-CTP Antibodies (Incidence)[f]	NM	NM	NM	NM	NM	NM	0/1	NM
PF-06836922 Neutralizing Antibodies (Incidence)[f]	NM	NM	NM	NM	NM	NM	0/1	NM
hGH Neutralizing Antibodies (Incidence)[f]	NM	NM	NM	NM	NM	NM	0/1	NM
Noteworthy Findings[g]								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	1[h]
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity **Study Number: 1592-004 (continued)**

Dose[b] (mg/kg)	0 (Control)		1.8		18		90	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Physical Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry								
Cholesterol (mg/dL)								
Baseline	201.8	160.4	184.7	151.3	203.0	165.0	185.4	162.2
Week 1	189.0	149.6	154.0†	142.3	166.7	138.7	143.2†	153.0
Week 2	185.6	148.0	156.7	146.3	169.7	142.0	142.8†	144.6
Week 4	188.0	154.8	158.7	126.7	157.3	128.7	138.4†	140.5
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Insulin-like Growth Factor-1 (ng/mL)								
Day 1								
Predose	300	274	199	410	184	429	286	366
2 Hours Postdose	317	273	254	378	246	412	245	320
4 Hours Postdose	259[i]	264	272	442	240	439	248	346
8 Hours Postdose	324	274	302	496	311	501	303	490
24 Hours Postdose	303	254	358	406	306	581	449	481
48 Hours Postdose	266	244	389	462	394	736	532	567
72 Hours Postdose	264	227	353	406	386	775	621	632
96 Hours Postdose	294	264	343	376	392	728	607	628
Day 19								
Predose	316	303	278	388	248	589	663	715
2 Hours Postdose	296	252	244	330	201	521	631	704
4 Hours Postdose	293	255	257	375	222	631	676	745
8 Hours Postdose	364	320	338	439	364	715	732	764
24 Hours Postdose	331	287	342	454	272	648	749	698
48 Hours Postdose	309	285	493	559	468	989	790	673
72 Hours Postdose	326	277	458	533	401	480	686	619
96 Hours Postdose	219	230	345	414	526	968	783	703

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity **Study Number: 1592-004 (continued)**

Dose[b] (mg/kg)	0 (Control)		1.8		18		90	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Histopathology								
Number Examined	3	3	3	3	3	3	3	3
Injection Site								
Inflammation, acute								
Minimal	0	0	1	0	1	3	2	3
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0
Inflammation, mononuclear cell, adventitia								
Minimal	0	0	2	1	1	2	0	3
Mild	0	0	0	0	1	0	3	0
Inflammation, granulomatous								
Minimal	0	0	0	0	1	0	0	0
Fibroplasia								
Minimal	0	0	0	0	1	0	0	2
Degeneration/necrosis, myofiber								
Minimal	0	0	0	1	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	0	0	0	3
Inflammation, subacute, skeletal muscle								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Mild	0	0	0	0	0	0	0	2
Postdose Evaluation	-	-	NA	NA	NA	NA	-	-
Number Evaluated	2	2	NA	NA	NA	NA	2	2

2.6.7.7B Repeat-Dose Toxicity **Study Number: 1592-004 (continued)**

† p ≤0.01, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; AUC_{last} = Area under the concentration-time curve from time 0 to the last measurable concentration; C_{max} = Maximum observed concentration; CTP = C-terminal peptide; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; hGH = Human growth hormone; M = Male; NA = Not applicable; NM = Not measured; SC = Subcutaneous.
a. Doses administered once daily on Days 1, 7, 13, 19, and 25.
b. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight per dose. Based on a test article concentration of 20.2 mg/mL, doses were achieved by administering different dose volumes (4.5, 0.09, 0.9, or 4.5 mL/kg for 0, 1.8, 18, or 90 mg/kg, respectively).
c. Two (2) animals/sex in the 0 (control) and 90 mg/kg groups were maintained on study for a 2-week recovery period.
d. All samples below assay limit of quantitation (0.0014 µg/mL).
e. Anti-PF-06836922 antibodies were measured in a limited number of animals prior to test article administration (Day -7) and were negative at all doses.
f. Assay conducted on all samples exhibiting a positive antibody response to PF-06836922.
g. Food consumption was qualitatively estimated and recorded. Qualitative food assessment results were not included in the final report.
h. One (1) female was found dead on Day 23 (4 days after the 4th dose); necropsy results were consistent with bloat and therefore the death was not considered test article related.
i. One (1) animal was below the lower limit of quantitation (0.39 ng/mL); therefore, a value of 0.20 ng/mL was used for this animal when calculating the mean concentration.

2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity

Report Title: A 26-Week Subcutaneous Toxicity Study of MOD-4023 in Rhesus Monkeys with a 4-Week Recovery

Test Article: PF-06836922

Species/Strain: Monkey/Rhesus
Age at First Dose: 2 Years and 7 months to 3 years and 11 months
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Vehicle/Formulation: 10 mM Citrate, 147 mM NaCl

Duration of Dosing: 26 Weeks
Duration of Postdose: 4 Weeks
Method of Administration: SC injection; every 5 days for PF-06836922 and QD for rhGH (rhGH); 21 mg/mL for PF-06836922 and dose volume of 1.428, 0.07142, 0.7142, or 1.428 mL/kg for 0, 1.5, 15, or 30 mg/kg, respectively; dose volume of 0.6545-0.7826 mL/kg for rhGH

Study Number: 1592-006
Sponsor Reference Number: M04008
Lot Numbers[a]: EN648-01-[redacted]-014A and 648-01-[redacted]-019A
GLP Compliance: Yes

Special Features: An additional group was administered control article rhGH (Bio-Tropin®), QD and served as a comparator. Anti-PF-06836922, anti-rhGH, and anti-CTP antibodies; PF-06836922, hGH, and rhGH neutralizing antibodies; and insulin-like growth factor-1 were evaluated.
No Observed Adverse Effect Level: 30 mg/kg

Dose[b] (mg/kg)	**0 (Control)**		**3.6 rhGH (Control Article)**		**1.5**		**15**		**30**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals[c]	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
Toxicokinetics:	Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes		Combined Sexes	
PF-06836922 or rhGH:										
C_{max} (µg/mL)										
Day 1	NA[d]		1.71		2.30		22.3		50.9	
Day 91	NA[d]		1.84		4.26		25.2		62.5	
Day 181	NA[d]		1.03		3.73		28.8		54.7	
AUC_{last} (µg•h/mL)										
Day 1	NA[d]		17.3		56.6		654		1430	
Day 91	NA[d]		16.2		191		1150		3400	
Day 181	NA[d]		11.8		134		1260		3010	

2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity

Study Number: 1592-006 (continued)

Dose[b] (mg/kg)	**0 (Control)**		**3.6 rhGH (Control Article)**		**1.5**		**15**		**30**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Immunogenicity										
Anti-PF-06836922/hGH Antibodies (Incidence)[e,f]										
Day 91	0/6	0/6	NM	NM	2/6	2/6	3/6	2/6	3/6	4/6
Day 181	0/6	0/6	NM	NM	2/6	2/6	3/6	2/6	3/6	5/6
Anti-rhGH Antibodies (Incidence)										
Day 91	NC	NC	2/6	3/6	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Day 181	NC	NC	1/6	2/6	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Anti-CTP Antibodies (Incidence)[g]										
Day 91	NC	NC	NC	NC	1/2	1/2	1/3	1/2	0/3	2/4
Day 181	NC	NC	NC	NC	1/2	2/2	2/3	2/2	2/3	5/5
PF-06836922 Neutralizing Antibodies (Incidence)[h]										
Day 91	NC	NC	NC	NC	0/2	0/1	0/3	0/2	0/2	0/2
Day 181	NC	NC	NC	NC	1/2	0/1	0/3	0/2	0/2	0/2
hGH Neutralizing Antibodies (Incidence)[h]										
Day 91	NC	NC	NC	NC	2/2	0/1	0/3	0/2	0/2	0/2
Day 181	NC	NC	NC	NC	1/2	0/1	0/3	0/2	0/2	0/2
rhGH Neutralizing Antibodies (Incidence)										
Day 91	NC	NC	0/2	0/3	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Day 181	NC	NC	0/1	0/2	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Noteworthy Findings[i]										
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Physical Examinations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology/Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Insulin-like Growth Factor-1 (ng/mL)										
Day 1										

2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity

Study Number: 1592-006 (continued)

Dose[b] (mg/kg)	0 (Control)		3.6 rhGH (Control Article)		1.5		15		30	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Predose	379	363	290	357	224	359	297	468	316	398
8 Hours postdose	282	279	236	315	216	340	237	370	300	336
24 Hours postdose	305	312	249	359	287	410	336	471	324	387
48 Hours postdose	253	368	NA[j]	NA[j]	301	453	432	609	494	540
72 Hours postdose	263	270	NA[j]	NA[j]	317	452	430	664	353	583
96 Hours postdose	277	338	NA[j]	NA[j]	305	476	539	499	299	570
120 Hours postdose	300	356	NA[j]	NA[j]	283	421	418	498	304	537
Day 91										
Predose	363	438	611	610	315	437	603	668	561	667
8 Hours postdose	334	414	537	645	308	443	620	652	574	681
24 Hours postdose	325	375	517	634	307	498	636	660	550	774
48 Hours postdoes	305	338	NA[j]	NA[j]	362	633	787	918	676	799
72 Hours postdose	286	385	NA[j]	NA[j]	355	552	766	828	696	738
96 Hours postdose	321	376	NA[j]	NA[j]	310	481	691	779	643	650
120 Hours postdose	364	452	NA[j]	NA[j]	296	477	646	745	715	765
Day 181										
Predose	322	413	673	680	266	504	681	707	677	864
24 Hours postdose	305	397	653	637	275	526	604	670	660	808
48 Hours postdose	270	366	624	572	263	567	660	725	649	768
48 Hours postdose	303	344	459	479	306	575	684	666	675	759
72 Hours postdose	317	396	420	437	320	566	725	769	726	763
96 Hours postdose	280	373	357	352	274	505	702	673	756	775
120 Hours postdose	280	384	322	332	229	481	605	689	670	610
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Number Examined	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4

2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity

Study Number: 1592-006 (continued)

Dose[b] (mg/kg)	**0 (Control)**		**3.6 rhGH (Control Article)**		**1.5**		**15**		**30**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Histopathology										
Number Examined	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Injection Site										
Infiltration, mixed cell, perivascular										
Minimal	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0
Infiltration, mixed leukocyte										
Minimal	0	0	2	4	0	2	2	3	2	4
Fibrosis										
Minimal	0	0	2	1	0	0	1	0	1	0
Degeneration/necrosis, vascular										
Mild	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Exudate, epidermal surface										
Minimal	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Hemorrhage										
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
Foreign material, hair/keratin										
Minimal	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
Inflammation, granulomatous										
Minimal	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
Postdose Evaluation										
Number Evaluated	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Immunogenicity – Day 209:										
Anti- PF-06836922/hGH Antibodies (Incidence)[e]	NM	NM	NM	NM	1/2	0/2	0/2	1/2	1/2	2/2
Anti-rhGH Antibodies (Incidence)	NM	NM	0/2	1/2	NM	NM	NM	NM	NM	NM
Anti-CTP Antibodies (Incidence)[g]	NM	NM	NM	NM	1/1	NM	NM	1/1	0/1	1/1
PF-06836922 Neutralizing Antibodies[h]	NM	NM	NM	NM	1/1	NM	NM	0/1	0/1	0/1
hGH Neutralizing Antibodies[h]	NM	NM	NM	NM	1/1	NM	NM	0/1	0/1	0/1
Histopathology										
Number Examined	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Injection Site										
Infiltration, mixed leukocyte										

2.6.7.7C Repeat-Dose Toxicity

Study Number: 1592-006 (continued)

Dose[b] (mg/kg)	0 (Control)		3.6 rhGH (Control Article)		1.5		15		30	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Minimal	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
Hemorrhage										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Inflammation, granulomatous										
Minimal	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0

- = No noteworthy findings; AUC_{last} = Area under the concentration-time curve from time 0 to the last measurable concentration; C_{max} = Maximum observed concentration; CTP = C-terminal peptide; F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; hGH = Human growth hormone; M = Male; NA = Not available; NC = Not calculated; NM = Not measured; QD = Once daily; rhGH = Recombinant human growth hormone; SC = Subcutaneous.

a. Lots also referred to as 648-01-[redacted]-014A and EN-648-01-[redacted]-019A, respectively.

b. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight per dose. Based on a test article concentration of 21 mg/mL, doses were achieved by administering different dose volumes (1.428, 0.07142, 0.7142, or 1.428 mL/kg for 0, 1.5, 15, or 30 mg/kg, respectively). For 3.6 mg/kg rhGH (Bio-Tropin®), dose volumes ranged from 0.6545 to 0.7826 mL/kg.

c. Two (2) animals/sex/group were maintained on study for a 4-week recovery period.

d. All samples below assay limit of quantitation (0.0014 µg/mL).

e. All anti-PF-06836922 antibody positive samples were also positive for anti-hGH antibodies and in general, the assays demonstrated a similar response (% inhibition) when samples were incubated with PF-06836922 and hGH. In addition, a subset of anti-PF-06836922 antibody positive samples were also positive for anti-CTP antibodies.

f. One control female had a positive titer to PF-06836922 on Day 1 at predose, but not to CTP.

g. Assay conducted on all samples exhibiting a positive antibody response to PF-06836922.

h. Positive neutralizing antibody responses on Days 91, 181, or 209 only occurred in animals that also exhibited a positive neutralizing antibody response on Day 1 at predose.

i. A daily qualitative assessment of food intake/appetite was conducted on all animals. Quantitative food consumption measurements were not conducted. Qualitative food assessment results were not included in the final report.

j. Samples not collected (per subsequent study protocol amendments).

2.6.7.11 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY: NONPIVOTAL STUDIES **Test Article: PF-06836922**

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/Formulation) Test Article Lot Number	Dosing Period	Doses[a] (mg/kg)	Number/ Sex/ Group	Noteworthy Findings	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Rat/ Sprague-Dawley	SC injection; 1.428, 0.119, 0.238, 0.476, 1.428 mL/kg (for 0, 2.5, 5, 10, 30 mg/kg, respectively) (10 mM Citrate buffer, 147 mM NaCl / Solution) Lot EN648-01-[redacted]-014A	GD 6-GD 18 (every 2 days; 7 doses)	0, 2.5, 5, 10, 30	5F (timed-pregnant)	**≥5 mg/kg:** ↑ mean BWG[b] **30 mg/kg:** ↑ mean BW	1592-007 (M-04-009)/ Yes

BW = Body weight; BWG = Body weight gain; F = Female; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; SC = Subcutaneous.
a. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight.
b. Mean body weight gain was observed during interval GD 6 to 18 and was increased in a dose-dependent manner at 5, 10, and 30 mg/kg.

2.6.7.12 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – FERTILITY AND EARLY EMBRYONIC DEVELOPMENT TO IMPLANTATION

Report Title: A Subcutaneous Study of Fertility and Early Embryonic Development to Implantation of MOD-4023 in Rats

Test Article: PF-06836922

Design Similar to ICH 4.1.1: Yes
Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley
Age at First Dose: **M:** ~ 6 Weeks
F: ~ 11 Weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Dosing Period: Approximately 6 weeks:
M: 28 Days prior to mating through cohabitation to euthanasia
F: 14 Days prior to mating through cohabitation up to GD 7
Day of Mating (F): GD 0
Day of Cesarean Section: GD 13
Method of Administration: SC injection, every 2 days, dose volume of 1.428, 0.1428, 0.4762, or 1.428 mL/kg for 0, 3, 10, or 30 mg/kg, respectively
Vehicle/Formulation: 10 mM Citrate, 147 mM sodium chloride/Solution

Study Number: 1592-009
Sponsor Reference Number: M-04-011
Lot Number: **EN**648-01-[redacted]-014A
GLP Compliance: Yes

Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level:
Male Systemic Toxicity: 30 mg/kg
Female Systemic Toxicity: 30 mg/kg
Male Fertility: 30 mg/kg
Female Fertility and Early Embryonic Development: 30 mg/kg

Dose[a] (mg/kg)	**0 (Control)**		**3**		**10**		**30**	
Sex	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Number of Animals	25	25	25	25	25	25	25	25
Males								
Number Died or Euthanized Moribund	2[b]		0		0		1[c]	
Clinical Observations	-		-		-		-	
Body Weight (g)[d]								
Day 3	348.3		1.0		1.0		1.0†	
Day 31	460.9		1.0		1.0		1.1†	
Day 59	548.5		1.0		1.0		1.2†	
Body Weight Change (g)[d]								
Day 1-3	9.7		1.3		1.8†		2.6†	
Day 15-17	9.9		1.1		1.5†		1.7†	
Day 47-49	6.7		1.3		1.5		1.8†	
Food Consumption (g)[d]								
Days 4-8	30.2		1.0		1.1		1.1†	
Days 25-29	33.8		1.0		1.1†		1.2†	
Week 8	32.3		1.1		1.1†		1.3†	

2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity – Fertility and Early Embryonic Development to Implantation

Study Number: 1592-009 (continued)

Dose[a] (mg/kg)	**0 (Control)**	**3**	**10**	**30**
Reproduction and Fertility				
Number of Males Paired	25	25	25	24
Number of Males Mated	25	25	24	22
Number of Males Impregnating a Female	25	24	23	21
Male Mating Index (%)	-	-	-	-
Male Fertility Index (%)	-	-	-	-
Male Fecundity Index (%)	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Sperm Analysis				
Sperm Motility (% Motility)	-	-	-	-
Total Sperm Concentration/Cauda Epididymis x 10^8	-	-	-	-
Sperm Concentration/g Cauda Epididymis x 10^8	-	-	-	-
Percent Abnormal	-	-	-	-
Females				
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Premating Body Weight (g)[d]				
Day 3	216.1	1.0	1.0	1.1†
Day 5	220.3	1.0*	1.1†	1.1†
Day 15	246.1	1.1†	1.1†	1.3†
Gestation Body Weight (g)[d]				
GD 0	250.4	1.1†	1.1†	1.4†
GD 13	322.7	1.1†	1.1†	1.3†
Premating Body Weight Change (g)[d]				
Days 1-15	36.4	1.4†	1.7†	2.8†
Gestation Body Weight Change (g)[d]				
GD 0-4	24.2	1.1	0.86	1.2*
GD 10-13	20.1	0.96	0.88	0.89
Premating Food Consumption (g)[d]				
Days 1-4	20.3	1.0	1.0	1.1†
Days 11-15	22.6	1.1	1.2†	1.3†

2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity – Fertility and Early Embryonic Development to Implantation

Study Number: 1592-009 (continued)

Dose[a] (mg/kg)	**0 (Control)**	**3**	**10**	**30**
Gestation Food Consumption (g)[d]				
GD 0-4	26.8	1.1†	1.1*	1.3†
GD 10-13	28.7	1.1†	1.1	1.3†
Premating Estrous Cycling				
Estrous Cycle Length (Days)	4.3	5.0	7.0†	7.1
Number of Cycles (Count)	2.4	1.8†	1.5†	1.4†
Reproduction and Fertility				
Number of Females Paired	25	25	25	25
Number of Females Mated	25	25	24	23
Number of Pregnant Females	25	24	23	22
Female Mating Index (%)	-	-	-	-
Female Fertility Index (%)	-	-	-	-
Female Fecundity Index (%)	-	-	-	-
Females With Confirmed Mating Day	25	23	22	23
Copulatory Interval (Days)	2.4	2.3	5.0†	6.7†
Necropsy Observations	-	-	-	-
Uterine Examination				
Number Evaluated With Viable Embryos (GD 13)	25	22	21	22
Number Pregnant With No Confirmed Mating Date	0	2	2	0
Mean Number Corpora Lutea	16.6	18.0	20.2†	22.5†
Mean Number Implantation Sites	14.8	16.0	16.2	17.6†
Mean % Preimplantation Loss	9.75	9.64	17.15	20.21
Mean Number Viable Embryos	-	-	-	-
Mean % Postimplantation Loss	-	-	-	-
Number Early + Late Resorptions	-	-	-	-

2.6.7.12 Reproductive and Developmental Toxicity – Fertility and Early Embryonic Development to Implantation **Study Number: 1592-009 (continued)**

∗ p ≤0.05; † p ≤0.01, significantly different from control based on appropriate trend or pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; F = Female; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Conference on Harmonisation; M = Male; SC = Subcutaneous.
a. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight.
b. Two control males, one euthanized due to injury and one found dead, on Days 43 and 60, respectively, and deaths not considered treatment related.
c. One 30 mg/kg male was euthanized on Day 7 due to injury and considered not test-article related.
d. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.

2.6.7.13 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT

Report Title: A Subcutaneous Developmental Toxicity Study of MOD-4023 in Rats with a Toxicokinetic Evaluation

Test Article: PF-06836922

Design Similar to ICH 4.1.3: Yes
Species/Strain: Rat/Sprague-Dawley
Age at First Dose: ~ 8-10 Weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Dosing Period: GD 6 to GD 18
Day of Mating: GD 0
Day of Cesarean Section: GD 20
Method of Administration: SC injection, every 2 days: dose volume of 1.428, 0.1428, 0.4762, or 1.428 mL/kg for 0, 3, 10, or 30 mg/kg, respectively
Vehicle/Formulation: 10 mM Citrate, 147 mM sodium chloride/Solution

Study Number: 1592-008
Sponsor Reference Number: M-04-010
Lot Number: EN648-01-[redacted]-014A
GLP Compliance: Yes

Special Features: None
No Observed Adverse Effect Level (Maternal): 30 mg/kg
No Observed Effect Level (Developmental): 30 mg/kg

Dose[a] (mg/kg)	**0 (Control)**	**3**	**10**	**30**
Maternal Females				
Number of Animals				
Toxicity	25	25	25	25
Toxicokinetics	3	9	9	9
Toxicokinetics:				
GD 6				
C_{max} (µg/mL)	NA[b]	2.02	5.03	14.3
AUC_{24} (µg•h/mL)	NA[b]	24.4	69.7	236
AUC_{48} (µg•h/mL)	NA[b]	25.1	76.5	315
AUC_{inf} (µg•h/mL)	NA[b]	25.2	76.7	316
GD 18				
C_{max} (µg/mL)	NA[b]	1.69	6.21	8.96
AUC_{24} (µg•h/mL)	NA[b]	22.5	89.5	180
AUC_{48} (µg•h/mL)	NA[b]	NC[c]	NC[c]	NC[c]
AUC_{inf} (µg•h/mL)	NA[b]	NC[c]	NC[c]	NC[c]
GD 18 (24 hours postdose)				
Mean Pooled Fetal Serum Concentrations (µg/mL)	NA[b]	0.00252	0.00509	0.0149
Number Died or Euthanized Moribund				
Toxicity	0	0	1[d]	0
Toxicokinetics	0	0	0	0

2.6.7.13 Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Embryo-Fetal Development **Study Number: 1592-008 (continued)**

Dose[a] (mg/kg)	0 (Control)	3	10	30
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight (g)[e]				
GD 8	254.8	1.0	1.0	1.1†
GD 14	296.2	1.0*	1.1†	1.2†
GD 20	370.6	1.1†	1.1†	1.2†
Body Weight Change (g)[e]				
GD 6-8	8.2	1.4*	1.9†	2.8†
GD 12-14	16.2	1.1	1.3†	1.5†
GD 18-20	29.8	1.1	1.1	1.4†
Food Consumption (g)[e]				
GD 6-8	24.0	1.0	1.0	1.1†
GD 12-14	27.6	1.0	1.1	1.1†
GD 18-20	29.3	1.1	1.1†	1.2†
Gravid Uterine Weight	-	-	-	-
Final Body Weight (g)[e]	370.6	1.1†	1.1†	1.2†
Adjusted Final Body Weight (g)[e]	298.1	1.1†	1.1†	1.3†
Adjusted Body Weight Change (g)[e]	96.3	1.2†	1.4†	1.7†
Necropsy Observations	-	-	-	-
Uterine and Ovarian Examination				
Number Pregnant	25	25	25	25
Number Evaluated	25	25	24	25
Number Died Pregnant	0	0	1[d]	0
Number Females with Viable Fetuses (GD 20)	25	25	24	25
Mean Number Corpora Lutea	-	-	-	-
Mean Number Implantation Sites	-	-	-	-
Mean % Preimplantation Loss	-	-	-	-
Mean Number Viable Fetuses	-	-	-	-
Mean % Postimplantation Loss	-	-	-	-
Mean Number Nonviable Fetuses	-	-	-	-
Mean Litter Size	-	-	-	-
Mean Number Early + Late Resorptions	-	-	-	-
Mean Number Early Resorptions	-	-	-	-
Mean Number Late Resorptions	-	-	-	-

2.6.7.13 Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Embryo-Fetal Development **Study Number: 1592-008 (continued)**

Dose[a] (mg/kg)	0 (Control)	3	10	30
Fetal Evaluation				
Number Litters Evaluated	25	25	24	25
Fetal Sex Ratio (% males)	-	-	-	-
Mean Fetal Body Weight (g)	-	-	-	-
Fetal Examination[f]				
External Observations	-	-	-	-
Number Litters /Number Fetuses Evaluated	25/295	25/296	24/269	25/294
External Malformations	-	-	-	-
Number Litters /Number Fetuses Evaluated	25/295	25/296	24/269	25/294
External Variations	-	-	-	-
Number Litters /Number Fetuses Evaluated	25/295	25/296	24/269	25/294
Visceral Observations	-	-	-	-
Number Litters /Number Fetuses Evaluated	25/149	25/147	24/135	25/147
Visceral Malformations	-	-	-	-
Number Litters /Number Fetuses Evaluated	25/149	25/147	24/135	25/147
Visceral Observations	-	-	-	-
Number Litters /Number Fetuses Evaluated	25/149	25/147	24/135	25/147
Skeletal Observations	-	-	-	-
Number Litters /Number Fetuses Evaluated	25/146	25/149	24/134	25/147
Skeletal Malformations	-	-	-	-
Number Litters /Number Fetuses Evaluated	25/146	25/149	24/134	25/147
Skeletal Variations	-	-	-	-
Number Litters /Number Fetuses Evaluated	25/146	25/149	24/134	25/147

2.6.7.13 Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Embryo-Fetal Development **Study Number: 1592-008 (continued)**

∗ p ≤0.05; † p ≤0.01, significantly different from control based on appropriate pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; AUC_{24} = Area under the concentration-time curve from time 0 to 24 hours; AUC_{last} = Area under the concentration-time curve from time 0 to the last measurable concentration; C_{max} = Maximum observed concentration; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Conference on Harmonisation; NA = Not applicable; NC = Not calculated; SC = Subcutaneous.
a. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight.
b. All samples below assay limit of quantitation (0.0015 µg/mL).
c. Not calculated due to insufficient datapoints in the terminal phase.
d. Found dead on GD 15. Necropsy findings consisted of red discolored adrenal glands, red fluid in oral cavity near pharynx, and red discoloration of lung and mainstem bronchi, and not considered test article related.
e. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
f. Approximately one-half of the viable fetuses from each litter were utilized for visceral examinations and the remaining fetuses were utilized for skeletal examinations.

2.6.7.14 REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL TOXICITY – EFFECTS ON PRE- AND POSTNATAL DEVELOPMENT, INCLUDING MATERNAL FUNCTION

Report Title: Pre- and Postnatal Development Study, Including Maternal Function, of MOD-4023 in Rats

Test Article: PF-06836922

Design Similar to ICH 4.1.2: Yes
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley
Initial Age: ~ 9-11 Weeks
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]
Special Features: None

Dosing Period: GD 6 to LD 20
Day of Mating: GD 0
Method of Administration: SC Injection, every 2 days; dose volumes of 0.75, 0.075, 0.25, and 0.75 mL/kg for 0, 3, 10, and 30 mg/kg, respectively.
Vehicle/Formulation: 10 mM Citrate, 147 mM sodium chloride/Solution
Litters Culled/Not Culled: Culled to 4/sex/litter

Study Number: 1592-010
Sponsor Reference Number: TP-4-004
Lot Number: 1009976
GLP Compliance: Yes

No Observed Adverse Effect Level:
F_0 Females: 30 mg/kg
F_1 Males: 30 mg/kg
F_1 Females: 30 mg/kg

Dose[a] (mg/kg)	**0 (Control)**	3	10	30
F_0 Females				
Number of Animals	25	25	25	25
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	1[b]
Number Pregnant	25	24	24	25
Clinical Observations	-	-	-	-
Gestation Body Weight (g)[c]				
GD 10	275.2	1.0	1.0	1.1†
GD 14	298.0	1.0	1.1†	1.1†
GD 20	367.5	1.0	1.1†	1.1†
Lactation Body Weight (g)[c]				
LD 0	291.5	1.0	1.1†	1.2†
LD 10	320.0	1.0	1.1†	1.2†
LD 21	321.1	1.0	1.1†	1.3†
Gestation Body Weight Change (g)[c]				
GD 6-10	18.9	1.1	1.5†	2.1†
GD 14-17	27.7	1.3†	1.4†	1.3†
GD 17-20	41.8	1.0	1.2	1.3†
Lactation Body Weight Change (g)[c]				
LD 4-7	10.6	0.90	1.3	1.9*

2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function **Study Number: 1592-010 (continued)**

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**	3	10	30
LD 10-14	1.2	6.7	0.58	12.1†
Gestation Food Consumption (g)[c]				
GD 14-17	22.7	1.0	1.1*	1.1*
GD 17-20	22.5	1.1*	1.1†	1.2†
Lactation Food Consumption (g)[c]				
LD 4-7	41.8	1.1	1.2†	1.2†
LD 14-17	57.9	1.1	1.2†	1.3†
Necropsy Gross Observations				
Number Examined	25	25	25	25[d]
Adrenal glands, enlarged				
Mild	0	1	2	5
Moderate	0	0	0	3
Parturition Observations				
Female Fertility Index (%)	-	-	-	-
Females Delivering Litters	-	-	-	-
With Stillborn Pups	-	-	-	-
With All Stillborn Pups	-	-	-	-
Gestation Length (Days)	-	-	-	-
Abnormal Parturition	-	-	-	-
F_1 Litters (Preweaning)				
Number Litters Evaluated	25	24	24	25
Mean Number Pups/Litter (at Day 0)	11.4	11.5	12.2	11.2
Mean Number Liveborn Pups/Litter	11.4	11.5	11.8	10.9
Mean Number Stillborn Pups/Litter	0	0	0.3	0.3
Postnatal Survival to Day 4 (%/litter)	97.73	97.19	93.31	96.82
Postnatal Survival to Weaning (%/litter)	98.43	99.48	100	94.50
Change in Body Weights (g)[c,e]	47.9	1.0	1.14†	1.23†
Sex Ratios (% males) at Day 0	50.83	53.11	49.43	50.52
Clinical Observations	-	-	-	-
Motor Activity (total movement)	-	-	-	-
Learning and Memory	-	-	-	-
Necropsy Gross Observations	-	-	-	-

2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function

Study Number: 1592-010 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**	3	10	30
F_1 Males (Postweaning)				
Number Evaluated	25	25	25	25
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight (g)[c]				
Week 4	329.5	1.0	1.1	1.1†
Week 13	606.4	1.0	1.0	1.1*
Preputial Separation (PND) Day 35	43.4	44.1	43.7	44.9
Motor Activity (total movements)	-	-	-	-
Passive Avoidance (%)	-	-	-	-
Mean Number Days Prior to Mating copulatory interval	2.8	2.8	3.0	4.5
Number of Males Mated (Confirmed)	25	25	25	24
Number of Fertile Males	24	25	24	23
Necropsy Observations	-	-	-	-
F_1 Females (Postweaning)				
Number Evaluated	25	25	25	25
Number Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Body Weight (g)[c]				
Postweaning Day 28	88.95	1.0	1.1*	1.1†
Premating				
Week 1	115.2	1.0	1.1	1.1†
Week 8	282.1	0.99	1.0	1.1*
Gestation				
GD 0	287.5	0.99	1.0	1.1†
GD 13	356.8	0.99	1.0	1.1*
Gestation Body Weight Change (g)[c]				
GD 7-10	4.5	2	1.1	2.4*
GD 10-13	28.1	0.92	0.95	0.83*
Mean Age of Vaginal Patency (days)	32.8	32.6	32.5	33.8
Motor Activity (total movements)	-	-	-	-
Passive Avoidance (%)	-	-	-	-
Number of Females Mated (Confirmed)	25	25	25	24

2.6.7.14 Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function

Study Number: 1592-010 (continued)

Dose[a] (mg/kg/day)	**0 (Control)**	3	10	30
Number of Pregnant Females	24	25	24	23
Necropsy Gross Observations	-	-	-	-
Cesarean Section Observations				
Number Evaluated females with viable embryos on GD 13	24	25	23	21
Mean Number Corpora Lutea (per animal)	-	-	-	-
Mean Number Implantations (per animal)	-	-	-	-
Mean % Preimplantation Loss (per animal)	-	-	-	-
Mean % Postimplantation Loss (per animal)	-	-	-	-
Mean Number Viable Conceptuses (per animal)	-	-	-	-
Mean Number Early + Late Resorptions (per animal)	-	-	-	-

∗ p ≤0.05; † p ≤0.01, significantly different from control based on appropriate pairwise comparison. A full description of the statistical decision tree can be found in the final report for this study.
- = No noteworthy findings; F_0 = Maternal/paternal generation; F_1 = First generation; GD = Gestation Day; GLP = Good Laboratory Practice; ICH = International Conference on Harmonisation; LD = Lactation Day; PND = Postnatal Day; SC = Subcutaneous.
a. All doses are expressed as mg protein per kg of body weight. Doses were administered once every 2 days.
b. Euthanized as moribund on LD 5 due to decreased activity, rapid breathing, impaired right hind limb, pale, and cold to touch; morbidity was not considered test-article related.
c. Group means are shown for controls. Changes from controls, expressed as multiples, are shown for groups administered test article. Statistical significance is based on actual data and not on the multiples.
d. Includes unscheduled death on LD 5.
e. From birth to weaning (calculated from LD21-LD0 = absolute change in body weight [g], vs control values).

2.6.7.17 OTHER TOXICITY STUDIES

Test Article: PF-06836922

Study Type	Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation) Test Article Lot Number	Duration of Dosing	Doses	Number/ Sex/ Group	Noteworthy Findings[a]	Study Number (Sponsor Reference Number)/ GLP Compliance
Investigative – Detection of Antibodies in Control Group in 4-Week Study With a 2-Week Recovery[b]	Rat/Sprague Dawley	SC injection (Vialed dispensed citrate buffer/Solution) Lot [redacted]-03	4 weeks[c]	9 mL/kg/dose	1M, 1F	**Baseline:** No immune response **Day 29:** No immune response	M-04-001 (CD-04-0014)/ No
		(Bulk citrate buffer back-up/Solution) Lot SR09-054			4M, 4F	**Baseline:** No immune response **Day 29:** Immune response was observed in all animals[d]	
		(PBS/Solution) Lot 913450			4M, 4F	**Baseline:** No immune response **Day 29:** No immune response[e]	

F = Female; GLP = Good Laboratory Practice; hGH = Human growth hormone; M = Male; PBS = Phosphate buffered saline; SC = Subcutaneous.
a. Samples collected prior to the first injection (baseline) and 72 hours after the last injection (Day 29).
b. Study 1592-003 (Sponsor Reference Number TP-4-003).
c. Doses administered once daily on Days 1, 5, 8, 12, 15, 19, 22, and 26.
d. Antibody titers ranged from 250 to 1250, and were shown to be somatrogon specific but not hGH specific.
e. One (1) female animal dosed with PBS showed a low positive titer (250); this was not specific to somatrogon.