# 目次

表一覧
略号及び用語の定義
2.4　非臨床試験の概括評価
2.4.1　非臨床試験計画概略
2.4.2　薬理試験
2.4.2.1　効力を裏付ける試験
2.4.2.1.1　In vitro での効力を裏付ける試験
2.4.2.1.2　In vivo での効力を裏付ける試験
2.4.2.2　副次的薬理試験
2.4.2.3　安全性薬理試験
2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用
2.4.3　薬物動態試験
2.4.3.1　分析法及びバリデーション報告書
2.4.3.2　吸収
2.4.3.3　分布
2.4.3.4　代謝
2.4.3.5　排泄
2.4.3.6　薬物動態学的薬物相互作用
2.4.3.7　その他の薬物動態試験
2.4.4　毒性試験
2.4.4.1　単回投与毒性試験
2.4.4.2　反復投与毒性試験
2.4.4.3　遺伝毒性試験
2.4.4.4　がん原性試験
2.4.4.5　生殖発生毒性試験
2.4.4.5.1　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験
2.4.4.5.2　胚・胎児発生に関する試験
2.4.4.5.3　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
2.4.4.5.4　出生児（幼若動物）への投与あるいは更なる評価を実施した試験
2.4.4.6　局所刺激性試験
2.4.4.7　その他の毒性試験
2.4.4.7.1　抗原性／免疫原性試験
2.4.4.7.2　免疫毒性試験
2.4.4.7.3　毒性発現の機序に関する試験
2.4.4.7.4　依存性試験
2.4.4.7.5　代謝物に関する試験

2.4.4.7.6　不純物に関する試験
2.4.4.7.7　その他の試験
2.4.5　総括及び結論
2.4.6　参考文献

# 表一覧

表 2.4-1　　Sotatercept の定常状態における全身曝露量及び曝露量比の概要

# 略号及び用語の定義

| 略号 | 定義 | |
|---|---|---|
| ACE-011 | sotatercept or MK-7962 | 別名：sotatercept、MK-7962 |
| ActRIIA | activin receptor type IIA | アクチビン受容体 IIA 型 |
| ADA | anti-drug antibodies | 抗薬物抗体 |
| ADME | absorption, distribution, metabolism and excretion | 吸収、分布、代謝及び排泄 |
| ALK | activin receptor-like kinase | アクチビン受容体様キナーゼ |
| AUC | area under the concentration-time curve | 濃度－時間曲線下面積 |
| $AUC_{0\text{-}Xh}$ | area under the concentration-time curve from zero to X hours | 投与後0から X 時間までの濃度－時間曲線下面積 |
| BMP | bone morphogenetic protein | 骨形成蛋白質 |
| BMPR2 | bone morphogenetic protein receptor 2 | II 型骨形成蛋白質受容体 |
| C3 | complement | 補体 |
| $C_{max}$ | observed maximum concentration | 最高濃度 |
| ECL | electrochemical luminescent | 電気化学的発光 |
| ELISA | enzyme-linked immunosorbent assay | 酵素免疫測定 |
| Fc | fragment crystallizable | 結晶化可能フラグメント |
| FSH | follicle stimulating hormone | 卵胞刺激ホルモン |
| GDF | growth and differentiation factor | 成長分化因子 |
| 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 |
| GMP | Good Manufacturing Practice | 医薬品の製造管理及び品質管理の基準 |
| hERG | human ether-à-go-go related gene | ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子 |
| HRP | horseradish peroxidase | ホースラディッシュパーオキシダーゼ |
| $IC_{50}$ | half-maximal inhibitory concentration | 50%阻害濃度 |
| ICH | International Council on Harmonisation | 医薬品規制調和国際会議 |
| IgG | immunoglobulin G | 免疫グロブリン G |
| IgM | immunoglobulin M | 免疫グロブリン M |
| IHC | immunohistochemistry | 免疫組織化学 |
| LH | luteinizing hormone | 黄体形成ホルモン |
| MK-7962 | sotatercept or ACE-011 | 別名：sotatercept、ACE-011 |
| MRHD | maximum recommended human dose | 最大臨床推奨用量 |
| NOAEL | no observed adverse effect level | 無毒性量 |
| NZW | New Zealand white | ニュージーランド白色 |
| OECD | Organisation for Economic Co-operation and Development | 経済協力開発機構 |
| PAH | pulmonary arterial hypertension | 肺動脈性肺高血圧症 |

| 略号 | 定義 | |
|---|---|---|
| Q1W | once weekly | 週1回 |
| Q2W | once every two weeks | 2週間間隔 |
| Q4W | once every four weeks | 4週間間隔 |
| RAP-011 | a murine version of sotatercept | sotatercept のマウス相同分子 |
| Smad | mothers against decapentaplegic, a group of related intracellular proteins critical for transmitting to the nucleus signals from the TGF-β superfamily at the cell surface | |
| SuHx | sugen-hypoxia | |
| TDAR | T-cell dependent antibody response | T 細胞依存性抗体応答 |
| TEM | transmission electron microscopy | 透過型電子顕微鏡 |
| TGF-β | transforming growth factor-β | 形質転換成長因子 β |
| TK | toxicokinetic(s) | トキシコキネティクス |
| UUL | unilateral ureteral ligation | 片側尿管結紮 |
| WHO | World Health Organization | 世界保健機関 |
| WOE | weight of evidence | ウエイトオブエビデンス |

# 2.4　非臨床試験の概括評価

## 2.4.1　非臨床試験計画概略

Sotatercept（別名：MK-7962、ACE-011）はヒト ActRIIA の細胞外領域とヒト免疫グロブリン G1（IgG1）の Fc 領域の遺伝子組換え融合蛋白質であり、WHO 分類第1群である肺動脈性肺高血圧症（PAH）の成人患者に対する治療薬として現在開発中のアクチビンシグナル伝達阻害薬である。

Sotatercept の作用機序は相反する Smad2/3及び Smad1/5/8の細胞内シグナル伝達経路のバランスを回復させることにある。Sotatercept は ActRIIA の可溶型として機能し、アクチビン A、アクチビン B、GDF11、GDF8、BMP10等の ActRIIA に結合する TGF-β ファミリーリガンドを捕捉し、ActRIIA への結合及び下流の Smad2/3シグナルの誘導を阻害する。PAH の病態では、肺血管内皮細胞での BMPR2の機能喪失型変異又は Smad1/5/8シグナル伝達に影響を及ぼす要因（例えば ActRIIA/ALK 経路の活性化）により Smad1/5/8シグナル伝達の不全がみられ、血管平滑筋細胞の過剰な増殖が誘導される。Sotatercept は Smad2/3のシグナル経路の阻害により、相反する Smad 経路のバランスを正常化し、その結果、平滑筋細胞の増殖の恒常性を回復させる。

In vitro での非臨床薬理試験の結果、sotatercept はヒトアクチビン A、アクチビン B、GDF11及び BMP10に高親和性を示した。Sotatercept はレポーター遺伝子を導入した細胞培養系でリガンドによる ActRIIA のシグナル伝達を阻害した。

Sotatercept のマウス相同分子である RAP-011を用いて、in vivo での非臨床薬理試験を実施した。RAP-011は sotatercept のヒト IgG1 Fc をマウス IgG2a Fc に置換した分子である。ActRIIA の細胞外領域のアミノ酸配列及び構造は sotatercept 及び RAP-011では一致している。

PAH のげっ歯類モデルである、モノクロタリン誘発疾患モデル及び血管内皮増殖因子受容体拮抗薬（Sugen5416）を併用した低酸素誘発疾患モデル（SuHx 誘発ラットモデル）で、RAP-011は PAH の疾患の進行を抑制する効果を示した。RAP-011は予防及び治療投与で、肺血管及び心臓のリモデリング、並びに血行動態の測定値に長期的な改善を示し、SuHx モデルでの RAP-011の治療効果は治療終了後も持続又は持続する傾向がみられた。

ICH S6（R1）ガイドライン「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」に従い、安全性薬理の評価（神経学的検査、体温、呼吸数、心電図及び血圧測定）は、サルを用いた GLP 適用慢性毒性試験の項目として実施した。Sotatercept の in vitro hERG アッセイも実施した。

ラット、ウサギ及びサルを用いて sotatercept の薬物動態を評価し、非臨床安全性試験でもこれらの非臨床動物種を使用した。現行の ICH S6（R1）ガイドラインに従って、分布、代謝及び排泄試験は実施しなかった。Sotatercept を用いて実施した非臨床薬物動態試験の概要を[2.6.5.1 項]及び[2.6.7.1 項]に示す。

Sotatercept の非臨床毒性試験プログラムとして、ラットを用いた最長3ヵ月間及びサルを用いた最長9ヵ月間の GLP 適用反復投与毒性試験、ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験、ラットを用いた出生前及び出生後の発生

に関する試験、並びにラットを用いた幼若動物毒性試験を実施した。また、ラット及びサルで認められた sotatercept の腎毒性をさらに理解するため、マウス及びラットを用いた探索的毒性試験を実施した。重要な毒性試験はいずれも臨床投与経路である皮下投与で実施した。各 GLP 適用試験に用いる用量の妥当性を支持するため、包括的な TK 評価を含めて実施した。ICH S6（R1）ガイドラインに従い、遺伝毒性試験は実施しなかった。ADA の発現及びそれに伴う血漿／血清中曝露量の減少が認められたこと、また、sotatercept に起因する腎毒性が長期生存に悪影響を及ぼす懸念があることから、ラットを用いた長期投与試験は実施しなかった。Sotatercept のがん原性については、WOE に基づきリスク評価を実施した。Sotatercept を用いて実施した非臨床毒性試験の概要を[2.6.7.1 項]に示す。

In vivo 毒性試験はラット、ウサギ及びカニクイザルを用いて実施した。これらの動物種は、マウス、ラット、ウサギ、サル及びヒトを通じた ActRIIA 標的リガンド（アクチビン A、アクチビン B、GDF-8、GDF-11、BMP-10）の高度に保存された（≥97%）配列相同性［非臨床試験報告書 PD008（[redacted] 社報告書番号[redacted]）］、立証された薬理学的反応性（ラット、カニクイザル及びヒトにおいてアクチビン A 及び GDF-11の阻害により赤血球パラメータが増加）、並びにこれらの動物種における薬物動態プロファイルに基づき、毒性評価に適切と判断した。

皮下投与の間隔（ラット及びウサギで Q1W、サルで Q2W 又は Q4W）は、各動物種での sotatercept の体循環中半減期に基づき決定した。ラット及びウサギの発生毒性試験において、TK 用検体採取により重要な曝露期間中に sotatercept 濃度が維持されていることが証明された。サルの最長9ヵ月間の試験では、sotatercept のトラフ濃度に基づき反復投与時の曝露量が維持される、又は増加することが示された。ラット及びカニクイザルは、探索的臨床試験のための現行の規制ガイドライン［ICH M3（R2）ガイドライン：医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス等］に基づき、医薬品の毒性評価のための動物モデルとして容認されている。

Sotatercept の予定 MRHD は21日間隔の0.7 mg/kg 皮下投与であり、$AUC_{0\text{-}504h}$ は4,110.24 µg·hr/mL（171.26 µg·day/mL）、$C_{max}$ は9.67 µg/mL となる（[2.7.2 項]参照）。非臨床におけるリスク評価及び曝露量比の決定は、MRHD 投与時の臨床曝露量に基づいている。曝露量比の算出に先立ち、非臨床曝露データから、臨床での投与間隔と同様の $AUC_{0\text{-}504h}$ を推定した。

重要な試験はいずれも GLP の原則に準拠して実施した。また、試験は全て[redacted]米国[redacted]）、[redacted]（米国[redacted]）、[redacted]（米国[redacted]）、[redacted]（米国[redacted]）、[redacted]（米国[redacted]）、[redacted]（米国[redacted]）、[redacted]（米国[redacted]）又は[redacted]（米国[redacted]）で実施した。米国は OECD 加盟国であるため、OECD データ相互受入れ制度が適用される。全ての GLP 適用試験の報告書は GLP 遵守の陳述書を含む。全ての重要な試験で設定した用量の妥当性は、sotatercept の TK 評価により支持された（[2.6.7.2 項]及び

[2.6.7.3 項])。重要な毒性試験に使用した sotatercept のバッチは、臨床生産工程を代表する臨床 GMP 製造からのバッチ又は開発用バッチであった。被験物質の同一性、含量、純度及び組成に関しては GLP 要件を満たしており、適格な、あるいはバリデーションされた GMP 法を用いて特性を評価した。毒性試験に使用した各ロットの詳細及び比較結果は[2.6.7.4 項]を参照のこと。

## 2.4.2　薬理試験

Sotatercept 及び RAP-011の薬理試験の概要を[2.6.2 項]及び[2.6.3.1項]に記載した。

### 2.4.2.1　効力を裏付ける試験

#### 2.4.2.1.1　In vitro での効力を裏付ける試験

ActRIIA の細胞外領域のアミノ酸配列及び構造は sotatercept 及びそのマウス相同分子では同一である。げっ歯類、カニクイザル及びヒト間の標的リガンドのアミノ酸配列の比較では、アクチビン A 及び GDF11については100%の一致率を示し、アクチビン B 及び BMP10については97%～98%の一致率を示した。

Sotatercept の結合特異性について、表面プラズモン共鳴法、並びに Smad2/3及び Smad1/5/8のシグナル伝達経路応答性のレポーター遺伝子を導入した細胞培養系を用いて検討した。Sotatercept はヒトのアクチビン A、アクチビン B、GDF11及び BMP10と高親和性で結合した。Sotatercept は内因性受容体へのリガンド結合の阻害により、ヒトのアクチビン A、アクチビン B、GDF11及び GDF8による Smad2/3のシグナル伝達を阻害した。

Sotatercept はヒト BMP6及び BMP9に低親和性を示し、BMP6及び BMP9により誘導されるシグナル伝達を阻害しなかった。Sotatercept はヒト TGF-β1、TGF-β2及び TGF-β3とは結合せず、これらリガンドによる細胞内シグナル伝達も阻害しなかった。入手可能なマウス由来の主要なリガンドと sotatercept の結合について、表面プラズモン共鳴法での結合試験を実施した結果、sotatercept はマウス及びヒトのリガンドと類似した結合親和性を示した。

#### 2.4.2.1.2　In vivo での効力を裏付ける試験

Sotatercept のマウスの相同分子である RAP-011を用いて、in vivo での非臨床薬理試験を実施した。RAP-011は sotatercept のヒト IgG1 Fc をマウス IgG2a Fc に置換した分子である。RAP-011は TGF-β ファミリーのリガンドに対して sotatercept と類似した結合親和性及び選択性を示した。

RAP-011は肺血管細胞の増殖を抑制し、薬物誘発性 PAH モデル及び遺伝性 PAH モデル等の PAH の動物モデルで、肺血管のリモデリングを抑制した。RAP-011は肺血管のリモデリングの改善、肺高血圧症の抑制、右室のリモデリング及び機能の改善を示した。また、RAP-011はモノクロタリン

誘発 PAH モデルで、肺炎症を抑制し、炎症マーカーであるマクロファージの肺での浸潤を阻害した。

### 2.4.2.2　副次的薬理試験

赤血球分化因子として報告されているアクチビンは、赤血球の分化の後期に作用することが知られていることから[4.3: 080SHT][4.3: 080RXN]、RAP-011を用いて作用機序から予想される赤血球造血に及ぼす影響を検討した。雄性 C57BL/6マウスに RAP-011を投与した結果、RAP-011の赤血球造血刺激因子としての作用により、赤血球、ヘモグロビン及びヘマトクリットが増加した。また、エリスロポエチン蛋白質の増加が認められた。

生物活性及び特異性を評価する in vitro 試験、有効性を評価する in vivo 試験等、バイオテクノロジー応用医薬品の ICH S6に記載されている薬理試験の主要項目はいずれも効力を裏付ける試験として実施しているため、sotatercept の副次的薬理試験としてその他の試験を実施しなかった。

### 2.4.2.3　安全性薬理試験

Sotatercept の独立した in vivo 安全性薬理試験は実施していない。ただし ICH S6（R1）ガイドラインに従い、カニクイザルを用いて sotatercept を9ヵ月間皮下投与し3ヵ月間の回復期間を設定した毒性試験において、sotatercept の安全性薬理評価を実施した（[2.6.6.3.3.4 項]参照）。評価は、総合的な獣医学的検査及び身体検査（体温、症状観察、呼吸数、心電図及び血圧を含む）、神経学的検査、並びに心血管／呼吸器／腎臓及び神経系の組織の病理組織学的検査に基づき実施した。サルを用いた9ヵ月間投与試験では、全ての安全性薬理パラメータについて sotatercept に関連した影響は認められず、投与期間中の血清中濃度は最大164.4 µg/mL（MRHD 投与時の臨床曝露量 $C_{max}$ の17倍）であった。死後に認められた心臓及び腎臓の変化は、毒性試験の中で記載している（[2.6.6 項]参照）。Sotatercept は高分子の選択的な治療用の蛋白質であることを考慮すると、QT 延長を誘発する hERG チャネルへ直接的に影響することは考えられない。この評価に合致するように、in vitro hERG アッセイ（GLP 適用）で推定された hERG カリウムチャネルに対する sotatercept の阻害作用の $IC_{50}$は1,000 µg/mL 超（曝露マージンは、MRHD 投与時の臨床曝露量 $C_{max}$ の100倍超であった）であった。このことは、不整脈を誘導する可能性は低いことを示唆している。

### 2.4.2.4　薬力学的薬物相互作用

Sotatercept の薬力学的薬物相互作用を評価する非臨床試験を実施していない。

### 2.4.3　薬物動態試験

Sprague-Dawley ラット及びカニクイザルを用いて静脈内及び皮下投与した非 GLP の単回投与薬物動態試験、並びに Sprague-Dawley ラット、NZW ウサギ及びカニクイザルを用いて反復皮下投与した GLP 適用 TK 試験に基づき、sotatercept の薬物動態を評価した。NZW ウサギを用いて sotatercept の胎盤通過性を検討するため非臨床試験を実施した。実施した非臨床 ADME 試験を[2.6.5.1 項]及び[2.6.7 項]に示す。

#### 2.4.3.1　分析法及びバリデーション報告書

サンドイッチ ELISA 法又は競合 ELISA 法により Sprague-Dawley ラット、NZW ウサギ及びカニクイザルの血漿又は血清試料中の sotatercept（MK-7962）濃度を測定した。

GLP 適用毒性試験のラット血清（08010-PQ-R 及び ACE-011-DMPK-1398）、ウサギ血清（207-1904）及びサルの血漿又は血清（07019-PQ-R 及び08020-PQ-R）試料中の sotatercept 濃度測定ではバリデートした分析法を用いた。

ラットにおけるサンドイッチ ELISA 法では、抗ヒト Fc 抗体でコーティングしたプレートを用いて、ビオチン標識ヤギ抗アクチビン受容体 IIA 型（ActRIIA）ポリクローナル抗体及びストレプトアビジン－HRP 複合体を添加することで血清中 sotatercept を検出した（08010-PQ-R）。

サルにおけるサンドイッチ ELISA 法では、マウス抗 ActRIIA モノクローナル抗体プレートを用いて、抗ヒト Fc－HRP を添加することで血清中 sotatercept を検出した（08020-PQ-R）。

ラット、ウサギ及びサルにおける競合 ELISA 法では、ヤギ抗 ActRIIA ポリクローナル抗体及びビオチン標識 sotatercept（トレーサー）を用い、アビジン－HRP とインキュベートすることによって、トレーサーの sotatercept を検出した（ACE-011-DMPK-1398、207-1904及び07019-PQ-R）。

Sprague-Dawley ラット、NZW ウサギ及びカニクイザルにおける抗 sotatercept 抗体の発現を検出するため、ラット（07027-PQ-R、155-1212及び207-1908）、ウサギ（207-1905）及びサル血清（07023-PQ-R 及び155-1204）における ELISA 法又は ECL 法によるブリッジングイムノアッセイをバリデートした。ELISA 法では、捕捉試薬である sotatercept でコーティングしたプレート、並びに検出試薬であるビオチン標識 sotatercept 及びストレプトアビジン－sulfo-tag を用いた。ECL 法では、捕捉試薬である sotatercept でコーティングしたプレート、並びに結合試薬であるビオチン標識 sotatercept 及び sulfo-tag－sotatercept を用い、その後ストレプトアビジンでコーティングしたプレートで捕捉した。

薬物動態及び ADA の分析法のバリデーションは[第2.6.5.3 項]に要約する。

### 2.4.3.2　吸収

Sprague-Dawley ラット、NZW ウサギ及びカニクイザルに静脈内及び／又は皮下投与した際の sotatercept の薬物動態及び TK を評価した。Sotatercept の臨床評価における主要な投与経路は皮下投与である。

ラット及びサルにおける単回静脈内投与試験で sotatercept の薬物動態プロファイルを評価した結果、血漿クリアランスが低値で分布容積も低値であることが示された[2.6.5 項]。終末相消失半減期は、ラットで6～9日、サルで9～11日であった。Sotatercept を1～30 mg/kg の用量範囲で単回静脈内投与した際の AUC は、ラットではほぼ用量比に従って増加し、サルでは用量比をわずかに下回って増加した。Sotatercept を1～30 mg/kg の用量範囲で単回皮下投与した際、ラット及びサルいずれにおいても AUC は用量比をわずかに下回って増加した。

Sprague-Dawley ラットに週1回反復皮下投与した際の sotatercept の薬物動態を評価した。0.3～30 mg/kg の用量範囲で投与した際、Day 1及び92の sotatercept の曝露量は用量比をわずかに下回って増加した。最終投与後の sotatercept の AUC は、低用量でのみ蓄積が認められ、初回投与後の AUC の約2.6倍であった。高用量での蓄積はわずかであり、これは ADA の発現によるものと考えられた。ADA 陽性の動物の一部では薬物濃度が維持されていたが、概して曝露量は減少し、消失半減期は短く、蓄積はわずかであった。Sotatercept に対する ADA は、ラットの43.6%で検出された。ラットの全身曝露量に顕著な性差は認められなかった。

妊娠ウサギ（妊娠7日目及び14日目）に週1回反復皮下投与した際、0.5～50 mg/kg の用量範囲において母動物の全身曝露量はほぼ用量比に従って増加した。最終投与後の終末相消失半減期は2～3日であった。本試験での母動物における ADA 発現割合は40.6%で、sotatercept の蓄積はわずかであった。

サルを用いた反復皮下投与試験で、10～50 mg/kg の用量範囲で sotatercept の曝露量は用量比に従って増加した。最終投与後の sotatercept の曝露量は、すべての用量でわずかな蓄積を認め、初回投与後の曝露量の約1.4～1.7倍であった。これはサルでの消失半減期及び投与間隔から想定される蓄積と矛盾しなかった。サルでの sotatercept に対する ADA の発現割合は16.7%～33.3%であったが、sotatercept の薬物動態に対する影響はほとんどなかった。サルの全身曝露量に明らかな性差は認められなかった。

### 2.4.3.3　分布

現行の ICH S6（R1）ガイドラインである「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」に従って、分布試験は実施しなかった。

ウサギを用いた in vivo 試験により、sotatercept の胎盤通過性を評価した。妊娠ウサギに週1回2週間皮下投与した際、胎児血清中に sotatercept が検出された。胎児血清中濃度は、母動物血清中濃度の1%～39%であった。

授乳ラットに sotatercept を皮下投与した後、sotatercept に関連した影響が授乳児で認められたことから、sotatercept はラット乳汁中に移行することが示唆された[2.6.7.14 項]。

### 2.4.3.4　代謝

現行の ICH S6（R1）ガイドラインである「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」に従って、代謝試験は実施しなかった。

### 2.4.3.5　排泄

Sotatercept は、天然に存在する古典的なアミノ酸のみで構成される、IgG ベースの融合蛋白質であり、その排泄は IgG ベースのモノクローナル抗体と類似していると予想される。したがって、非臨床動物種及びヒトを対象にした sotatercept の排泄試験は実施しなかった。

### 2.4.3.6　薬物動態学的薬物相互作用

Sotatercept は蛋白質であり、一般的な蛋白質分解過程によりアミノ酸に異化され、腎臓や肝臓の代謝酵素又はトランスポーターを介した経路では消失しないと考えられているため、通常の低分子薬で想定されるような代謝酵素及びトランスポーターを介して引き起こされる薬物相互作用の影響は受けないと予想される。また、sotatercept の作用機序からサイトカイン濃度の変化は起きないと考えられることから、薬物代謝酵素及びトランスポーターに対する sotatercept の影響は限定的であると考えられる。したがって、薬物代謝酵素及びトランスポーターに対する sotatercept の阻害又は誘導作用を検討するための試験は不要と考え、実施しなかった。

### 2.4.3.7　その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施しなかった。

## 2.4.4　毒性試験

ラットを用いた最長3ヵ月間及びサルを用いた最長9ヵ月間の一連の反復投与毒性試験、ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験、並びにラットを用いた幼若動物毒性試験において、sotatercept の毒性プロファイルを評価した。ICH S6（R1）ガイドラインに従い、遺伝毒性試験は実施しなかった。ADA の発現及びそれに伴う血漿／血清中曝露量の減少が認められたこと、また、sotatercept に起因する腎毒性が長期生存に悪影響を及ぼす懸念があることから、ラットを用いた長期投与試験は実施しなかった。Sotatercept のがん原性については WOE に基づきリスク評価を実施した。Sotatercept を用いて実施した非臨床毒性試験の一覧を、毒性試験概要表[2.6.7.1 項]に示す。

### 2.4.4.1　単回投与毒性試験

GLP 適用の急性毒性試験は実施していない。しかし、単回投与後の毒性は、ラットを用いた反復皮下投与（0.3～30 mg/kg Q1W）又は静脈内投与（1～30 mg/kg Q1W）試験及びサルを用いた反復皮下投与（1 mg/kg Q4W から50 mg/kg Q2W）又は静脈内投与（1～30 mg/kg Q1W）試験で評価可能である[2.4.4.2 項]。単回皮下投与又は静脈内投与後に、投与に関連する死亡は認められなかった。

Sotatercept の単回投与毒性試験として、ラットを用いた GLP 非適用静脈内投与試験のみ実施した。本試験は、ラットを用いた4週間静脈内投与毒性試験で確認された副腎壊死の時間経過を評価する目的で実施した。最高30 mg/kg を単回静脈内投与したときの sotatercept の忍容性は良好であった。試験28日目までは病理組織学的検査で副腎壊死は明らかではなかったが、病変内の鉱質沈着を伴う凝固壊死として試験28日目に10 mg/kg 以上の用量群で認められた。

### 2.4.4.2　反復投与毒性試験

ラットを用いた最長3ヵ月間及びサルを用いた最長9ヵ月間の GLP 適用反復投与毒性試験を実施した。

ラット及びサルを用いた全ての反復投与毒性試験で、sotatercept による有害ではない赤血球パラメータの軽微な増加が認められた。0.3 mg/kg Q1W 以上を皮下投与したラット、1 mg/kg Q4W 以上を皮下投与したサル及び1 mg/kg Q1W 以上を静脈内投与した両動物種において、赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリットあるいは網状赤血球の軽度の増加が認められ、ときに骨髄内の骨髄球系／赤芽球系細胞比の軽度の低下を伴った。これらの変化は最長3ヵ月間の回復期間後にいずれも回復傾向を示した。循環血中の白血球パラメータは、概して対照値と同程度であった。赤血球の成熟に対する sotatercept の影響は、アクチビン A 及び GDF-11の阻害に関連したものである[4.3: 084N7D]。有害ではない赤血球系の変化に対する NOAEL は、ラットを用いた3ヵ月間投与試験で30 mg/kg Q1W 以上（$AUC_{0\text{-}504h}$ は75,900 μg·hr/mL 以上）、サルを用いた9ヵ月間投与試験で10 mg/kg Q2W 以上（$AUC_{0\text{-}504h}$ は51,833 μg·hr/mL 以上）で、いずれも各試験で評価した最高用量であり、このときの曝露量は MRHD での臨床曝露量のそれぞれ18倍以上及び13倍以上であった。

ラットでのみ、sotatercept の皮下投与又は静脈内投与により、有害ではない心臓重量の減少、有害な副腎及び精巣に対する影響が認められたが、ヒトで認められる可能性は低いと考えられる。心臓重量の減少に関連する病理組織学的所見は認められなかった。心臓重量の減少は、急速に成長している思春期のラットに0.3 mg/kg Q1W 以上（曝露量は MRHD での臨床曝露量の0.4倍以上）を3ヵ月間皮下投与及び1 mg/kg Q1W 以上を1ヵ月間静脈内投与したときに認められたが、1ヵ月間の回復期間後に回復又は回復傾向を示し、有害ではないと考えられた。心臓重量の減少は、0.3 mg/kg Q1W 以上（曝露量は MRHD での臨床曝露量の0.6倍以上）を投与した幼若ラットにおいても認められた。急速に成長している若齢マウスに RAP-011（sotatercept のマウスの相同分子）を投与したとき、検討した全ての用量群で心臓重量の減少が認められ、関連する心筋変性が主に明らかな毒性用量で認められた。急速に成長しているラットでみられた所見に対して、思春期のサ

ルに50 mg/kg Q2W（サルを用いた3ヵ月間及び27週間の試験で検討した最高用量であり、曝露量はMRHD での臨床曝露量の42～60倍）を投与したとき、同様の被験物質と関連する心臓への影響は認められず、10 mg/kg Q2W（サルを用いた慢性投与試験における最高用量であり、曝露量は MRHD での臨床曝露量の13倍）を投与したとき、心電図パラメータ又は血圧に変化はみられなかった。心筋の発生及び成長に重要な BMP-10シグナル伝達の調節が、非常に若齢及び急速に成長している思春期のげっ歯類で認められた心臓重量の変化に関与していると考えられる[4.3: 084XWB]。ラットを用いた試験で認められた心臓重量の変化は病理組織学的所見を伴っておらず、有害ではないと考えられた。

アクチビンシグナル伝達は、ラット及びヒト以外の霊長類での出生後の副腎リモデリングにおいて重要である。急速に成長している若齢ラットで認められ、思春期サルで認められなかった副腎の変化は、このシグナル伝達過程の阻害によるものと考えられた。ラットを用いた反復投与毒性試験において、0.3 mg/kg Q1W 以上（曝露量は MRHD での臨床曝露量の0.4倍以上）の sotatercept の皮下投与により、副腎皮質に限局性又はびまん性の軽度のうっ血が認められた。30 mg/kg Q1W（曝露量は MRHD での臨床曝露量の18倍）の用量群では、副腎重量の増加及び重量変化と関連する有害な副腎皮質の多巣性鉱質沈着がみられた。1 mg/kg Q1W 以上を静脈内投与したとき、有害な皮質及び髄質内の壊死がみられ、関連する副腎重量の増加及び肉眼的な変色／病巣を伴う肥大が認められた。これらの変化は、ラットを用いた単回静脈内投与試験で認められた所見（10 mg/kg 以上の用量群で、試験8日目にはみられなかったが、試験28日目に明らかな副腎毒性が認められた）と類似していた。幼若動物毒性試験において非常に若齢のラットの副腎に同様の所見が認められ、0.3 mg/kg Q1W 以上（曝露量は MRHD での臨床曝露量の0.6倍以上）の用量群で副腎皮質の肥大、及び3 mg/kg Q1W 以上（曝露量は MRHD での臨床曝露量の4倍以上）の用量群で壊死がみられた。急速に成長している思春期のラットを用いた重要な3ヵ月間投与毒性試験において、3 mg/kg Q1W 以下（曝露量は MRHD での臨床曝露量の2倍以下）の用量群で副腎の変化に回復性が認められ、急速に成長しているラットにおける NOAEL は3 mg/kg Q1W（$AUC_{0\text{-}504h}$ は6,270 μg·hr/mL、曝露量は MRHD での臨床曝露量の2倍）であった。

胎児発生期から成熟期早期まで継続するラットの副腎リモデリングには、ActRIIA を介したアクチビンシグナル伝達が関与すると考えられる[4.3: 080SJ4]。いずれの動物種においても、未熟な副腎が成熟して成体の構造となる前には、広範なリモデリングが生じる。ラットにおける副腎皮質の機能局在は出生時頃に開始する[4.3: 080RX4]。ラットでみられた病理組織学的所見は、重要な副腎の発生時期における sotatercept を介した ActRIIA シグナル伝達の低下に起因するものであると考えられる。ヒト以外の霊長類では出生後も副腎の発生が続くが、基本的に生後1年以内に完了する[4.3: 080SHQ][4.3: 085JLW]。このような副腎の成熟時期の種差により、急速に成長している若齢ラットと思春期のサルの間で sotatercept と関連する副腎毒性に対する感受性が異なると推察される。

Sotatercept を投与したラットで認められた精巣毒性は、精巣輸出管における流出路閉塞であった。精巣輸出管の解剖学的構造の違いから、ヒトで精巣輸出管の閉塞及び二次的な精巣毒性が認められる可能性は低いと考えられる。ラットを用いた 3 ヵ月間反復投与毒性試験及び雄受胎能試験において、0.3 mg/kg Q1W 以上（曝露量は MRHD での臨床曝露量の 0.4 倍以上）の sotatercept を皮下投与したところ、精巣の変性／萎縮及び精巣の片側性又は両側性の小型化／硬化の剖検所見と関連する精巣上体精管内の精子密度の減少が認められ、これらの所見は有害であると考えられた。雄受胎能試験における精巣輸出管の評価では、やや重度の精子肉芽腫、精子うっ滞、線維化、鉱質沈着あるいは混合性細胞浸潤が認められた。0.3 mg/kg Q1W 以上の用量群では、これらの精巣輸出管の所見と関連する精細管の片側性又は両側性の変性／萎縮が認められ、一部の動物ではさらに精細管拡張、精巣網の精子うっ滞あるいは精子肉芽腫もみられた。ラットで認められたこれらの精巣及び精巣上体への影響は、精巣輸出管における流出路閉塞による二次的なものと考えられた。雄ラット受胎能試験の精巣輸出管／精巣及びラットを用いた 3 ヵ月間投与毒性試験（本試験では精巣輸出管の検査は実施しなかった）の精巣で認められた病理組織学的所見は発現頻度が低く、主に片側性に認められており、その特徴は精巣輸出管の閉塞の結果生じる体液動態の変化に一致している[4.3: 085GRJ][4.3: 085GSF][4.3: 043WCW][4.3: 085GRV][4.3: 085MQ9]。一方で、精巣に対する直接的な毒性作用は通常両側性にみられると考えられる。精子の生存性の維持及び精子の管腔内への輸送には、精巣のセルトリ細胞における体液分泌が必要である[4.3: 043WCW]。また、ラットでは精巣網中の体液の約 90%は精巣輸出管で再吸収される[4.3: 085GRL]。Sotatercept を投与したラットの雄性生殖器で認められた変化は、精巣輸出管の閉塞あるいは体液の再吸収の阻害、精巣の精細管内腔の有害な背圧上昇及び圧力変化に関連する二次的な精巣の萎縮と一致している[4.3: 085GRV][4.3: 085GS4][4.3: 085GS8][4.3: 085MQ9]。フォリスタチンの過剰発現により精巣輸出管における ActIIRA リガンド活性が低下したマウスにおいても、同様の精巣輸出管／精巣所見が認められた[4.3: 085GS4]ことを考慮すると、この毒性発現の機序は sotatercept を介したアクチビンシグナル伝達の阻害に関連するものであると考えられる。これらの変化は 13 週間の回復期間後においても完全には回復しなかった。ラットを用いた 4 週間静脈内投与試験では、10 mg/kg Q1W 以上の用量群で精巣に関する同様の所見（精巣変性、精子肉芽腫）が認められ、30 mg/kg Q1W 群で精子運動性の低下、精巣上体の精子数の減少及び精子断片化の増加がみられた。ラット皮下投与時の精巣毒性に対する NOAEL は 0.3 mg/kg Q1W 未満（$AUC_{0\text{-}504h}$ は 1,962 µg·hr/mL 未満、曝露量は MRHD での臨床曝露量の 0.5 倍未満）であった。Sotatercept の反復投与毒性試験に用いたサルは多くが性成熟していなかったため、利用可能なサルのデータからは霊長類の精巣に対する影響に関する情報は得られない。

ラット及びヒトの精巣輸出管には解剖学的な相違があるため、ヒトにおいて精巣輸出管の閉塞により精巣毒性が生じるリスクは低い。ラットの精巣輸出管は長く、精巣上体に入る単一の管に吻合する[4.3: 085GRJ][4.3: 085GSC]が、ヒトの精巣輸出管ははるかに短く、単一の管に吻合することはなく複数の管により精巣上体に入る[4.3: 085GRV][4.3: 085GS3]。このためヒトでは、複数の精巣輸出管の閉塞又は体液の再吸収の阻害にかかわらず体液の流出が生じる。

以上の結果及び文献情報から、ラットでみられた精巣毒性は精巣輸出管の閉塞による二次的な体液動態の変化に起因するものであることが強く示唆される。また、ラットとヒトでは精巣輸出管の構造に解剖学的な相違があることから、精巣への影響がヒトで認められる可能性は低いと考えられる。

ラット及びサルにおいて、3ヵ月間以上の反復皮下投与試験で腎毒性が認められた。ラット及びサルを用いた1ヵ月間静脈内投与毒性試験における腎臓に関する所見は、ラットで認められた腎臓重量の減少のみであった。ラットを用いた重要な3ヵ月間反復皮下投与毒性試験において、0.3 mg/kg Q1W 以上（曝露量は MRHD での臨床曝露量の0.4倍以上）の sotatercept の皮下投与により、軽微な膜性又は膜性増殖性糸球体腎炎及び軽微から軽度の好塩基性尿細管の増加が認められた。また、30 mg/kg Q1W（曝露量は MRHD での臨床曝露量の18倍）の皮下投与により、その他の変化として尿細管の拡張、間質の線維化あるいは間質の単核炎症性細胞浸潤を伴う軽微から軽度の尿細管変性／萎縮、腎臓近傍の体液貯留、及び腎臓重量の減少が認められた。これらの変化と関連する血液生化学的検査値の変化はみられず、いずれの所見も1ヵ月間の回復期間後に回復した。Sotatercept の TK を明らかにし、腎臓のバイオマーカーを探索する目的で、ラットを用いた2回目の3ヵ月間反復投与 TK 試験を同用量で実施した。本試験でみられた腎臓の病理組織学的所見は先の試験と同様であり、主に30 mg/kg Q1W 群で認められた尿中の腎障害バイオマーカーであるオステオポンチン、リポカリン-2及びアルブミンの増加と概して関連していた。1ヵ月間の回復期間後に認められた腎臓の変化は、3 mg/kg Q1W 以下の用量群で発現頻度及び程度は低く、有害でないと考えられた。いずれのラットを用いた3ヵ月間投与試験においても、3 mg/kg Q1W 以下の用量群でみられた腎臓の変化の発現頻度及び程度は低かったことから、腎毒性に対する NOAEL は 3 mg/kg Q1W（$AUC_{0\text{-}504h}$ は6,270 μg·hr/mL、曝露量は MRHD での臨床曝露量の2倍）であった。Sotatercept のサルを用いた3ヵ月間皮下投与試験において、30 mg/kg Q2W 以上（曝露量は MRHD での臨床曝露量の32倍以上）の用量群で軽度から中等度の多巣性又はびまん性の膜性増殖性糸球体腎炎が認められた。また、その他の尿細管の変化が50 mg/kg Q2W 群（曝露量は MRHD での臨床曝露量の42倍）で認められた。これらの変化は、2ヵ月間の回復期間後に部分的に回復した。同用量で実施したサルを用いた27週間皮下投与毒性試験では、30 mg/kg Q2W 以上（曝露量は MRHD での臨床曝露量の32倍以上）の用量群で用量制限毒性が認められた。30 mg/kg Q2W 群の2匹は、腎毒性に一致する臨床症状及び血液生化学的検査値の変化が認められたため試験22週目頃に安楽殺した。投与期間終了時の剖検（試験28週目）では、10 mg/kg Q2W 以上（曝露量は MRHD での臨床曝露量の11倍以上）の用量群において、軽微からやや重度の範囲で用量依存的な腎毒性の程度の増加が認められ、概して肉眼的な腎臓の変色／肥大／肥厚と関連する尿細管間質性腎炎がみられた。また、50 mg/kg Q2W 群（曝露量は MRHD での臨床曝露量の60倍）のみで腎臓重量の増加が認められた。主に30 mg/kg Q2W 以上（曝露量は MRHD での臨床曝露量の32倍以上）の用量群で、軽微から中等度の膜性増殖性糸球体腎炎が認められ、この変化は13週間の回復期間後に部分的に回復した。サルを用いた重要な9ヵ月間反復皮下投与毒性試験において、10 mg/kg Q4W 以上（曝露量は MRHD での臨床曝露量の6倍以上）の用量群でより短期間の試験と同様の腎臓の所

見が認められた。サルにおける腎臓の変化に対する NOAEL は2.6 mg/kg Q4W（$AUC_{0\text{-}504h}$ は8,797 µg·hr/mL、曝露量は MRHD での臨床曝露量の2倍）であった。NOAEL で認められた腎臓の変化は、線維化を伴う軽微な間質の炎症（1匹）及び小型の糸球体係蹄（対照群においても認められた所見）の発現頻度増加のみであった。

サルでのみ、27週間以上の反復皮下投与毒性試験で、脳の脈絡叢における単核細胞浸潤あるいは泡沫状マクロファージの血管周囲への蓄積の発現頻度増加が認められた。脳においてその他の病理組織学的変化はみられず、関連する臨床症状又は神経学的検査所見はみられなかったことから、脈絡叢で認められた変化は有害ではないと考えられた。サルを用いた9ヵ月間投与試験において、脈絡叢の変化に対する NOAEL は10 mg/kg Q2W 以上（$AUC_{0\text{-}504h}$ は51,833 µg·hr/mL 以上、曝露量は MRHD での臨床曝露量の13倍以上）であった。

サルを用いた重要な9ヵ月間投与試験において、sotatercept の ADA による糸球体及び脈絡叢への免疫複合体沈着の可能性について評価するため、一部の動物から採取した腎臓及び脳組織を用いて IHC 検査を実施した。組織検体における免疫複合体あるいは抗 sotatercept 抗体由来の免疫複合体の存在について評価した。IgG、IgM あるいは C3の沈着が腎糸球体で認められ、この所見は脈絡叢の泡沫状マクロファージと関連する血管の変化と共局在しており、sotatercept に対する免疫応答と一致していた。陰性対照組織（サルの肝臓及び肺）では、IHC 検査で同様の沈着は認められなかった。ただし、TEM 検査で腎臓又は脈絡叢に免疫複合体沈着を示す古典的マーカーは認められず、IHC 法でもこれらの沈着物内に sotatercept 分子の ActRIIA 又は IgG Fc 領域は確認されなかった。これらの結果は、腎臓の変化が認められた個々のラット及びサルにおいて、ADA が陽性であることと腎病変の存在との間に明らかな関連性はみられなかったという事実とも一致している。総合すると、これらのデータは、腎臓及び脈絡叢の変化は免疫複合体の沈着によるものではなく、sotatercept の直接的な影響によるものであったことを示唆している。Sotatercept の臨床試験では腎機能を詳細に観察しており、これまでにヒトにおける sotatercept の投与と腎機能障害との関連は確認されていない。

重要な反復投与毒性試験におけるラット及びサルの NOAEL での曝露量比は小さく、ラットを用いた3ヵ月間投与試験における NOAEL（3 mg/kg Q1W、$AUC_{0\text{-}504h}$ は6,270 µg·hr/mL）での曝露量比は、0.7 mg/kg 投与時の臨床 $AUC_{0\text{-}504h}$ の2倍、サルを用いた9ヵ月間投与試験における NOAEL（1 mg/kg Q4W、雌雄合算の $AUC_{0\text{-}504h}$ は4,523 µg·hr/mL）での全身曝露量は、0.7 mg/kg 投与時の臨床曝露量と同程度であった。

### 2.4.4.3　遺伝毒性試験

ICH S6（R1）ガイドライン「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」によると、バイオテクノロジー応用医薬品に関する遺伝毒性試験は必要とされないため、sotatercept の in vivo 及び in vitro 遺伝毒性試験は実施していない。

### 2.4.4.4　　がん原性試験

げっ歯類への長期投与時には、ADA が曝露量に悪影響を及ぼす可能性があること、また腎毒性による動物の生存率の低下が懸念されることから、sotatercept のがん原性試験は実施しなかった。ラットを用いた短期投与試験（TT #[redacted]-7833）において、sotatercept の平均曝露量は試験期間を通して維持された。しかし、3ヵ月間の投与期間終了時までに ADA 発現率は最大65%に達し、多くの動物で sotatercept 濃度は定量下限を下回った。3ヵ月間投与 TK 試験と同様の投与期間で実施したラットを用いた雄受胎能試験（TT #[redacted]-7840）では、ADA の総発現率は57.3%であった。より長期間の投与ではげっ歯類における ADA 発現率はさらに上昇し、sotatercept の曝露量及びげっ歯類を用いた長期投与試験で得られたデータの解釈に悪影響を及ぼすと予想される。また、TT #[redacted]-7833 試験において、0.3 mg/kg Q1W 以上（曝露量は MRHD での臨床曝露量の0.4倍以上）の用量群で sotatercept に起因した、尿中の腎障害バイオマーカーの増加を伴った腎毒性（膜性増殖性糸球体腎炎）が認められた。なお、この影響はこれまでに臨床試験では確認されていない。腎毒性の進行により、特に高齢ラットに好発する慢性進行性腎症の発現と関連して、動物の生存率及びラットを用いた長期投与試験の実現可能性が低下すると予想される。したがって、ICH S6（R1）ガイドライン「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」に従い、sotatercept のがん原性については WOE に基づくリスク評価を実施した（がん原性試験の免除申請[4.3: 086F6B]）。WOE に基づくリスク評価及びがん原性試験の免除申請に関する文書は、米国食品医薬品局（FDA）の発がん性評価委員会に提出済みである［[redacted]へのがん原性試験免除申請は20[redacted]年[redacted]月[redacted]日に提出（[redacted]）］。当委員会は、sotatercept に関してがん原性試験は必要とされないことを了承した。同様に、欧州医薬品庁（EMA）はがん原性試験が必要とされないことに非公式に同意した。

WOE に基づくリスク評価において提示した主な考察を以下に要約する。

Sotatercept は TGF-β スーパーファミリーに属する増殖促進サイトカインを阻害するバイオ医薬品である。Sotatercept の主要なリガンドはアクチビン A/B、GDF-11、GDF-8及び BMP-10である。これらのリガンドは重複する一連の受容体を介してシグナルを伝達し、同じ一連の Smad タンパク質と共役する。このような重複があるものの、リガンド及び受容体の異なる時空間的発現パターン及びシグナル伝達動態、並びに異なる段階で反応を調節する調節性タンパク質の存在により、TGF-β スーパーファミリーの因子間の機能的な重複は制限されている[4.3: 084XW6]。

肺高血圧症の動物モデルにおいて、sotatercept は血管平滑筋細胞に対して増殖抑制作用を示す。包括的な非臨床毒性試験プログラムの一環として検討したいずれの動物種においても、健康な正常動物では sotatercept の投与による増殖性又は前腫瘍性の変化は認められなかった。また、sotatercept はバイオ医薬品であるため、遺伝毒性のリスクを伴わない。

アクチビンは主に下垂体からの FSH 放出を刺激することで、ホルモンのシグナル伝達を調節する。FSH のシグナル伝達あるいは血漿中濃度の増加は、一部の乳癌及び卵巣上皮癌の発現頻度増

加に関連するが、これらのがん種に対する sotatercept の潜在的な影響は不明である。ホルモン調節における GDF-11、GDF-8及び BMP-10の関与は報告されていない。Sotatercept を投与した雌雄ラットにおいて、生殖器の構造あるいは機能に認められた変化はアクチビン阻害によるものであり、ホルモン調節によるものではないと考えられる。雄ラットの精巣及び精巣上体で認められた変化並びに雄受胎能に対する影響は、精巣輸出管レベルでの流出路閉塞による二次的なものと考えられ、性ホルモンに対する潜在的な直接的影響とは一致しなかった。雌ラットにおける着床前及び着床後胚損失率の上昇は、作用機序に基づくアクチビンの減少に起因すると考えられる。アクチビンは、着床のための子宮内膜の脱落膜化及びプライミングに重要である[4.3: 080SJ7]。Sotatercept の幼若ラットを用いた試験で認められた LH、FSH あるいはエストラジオールのごく軽微な変化は、毒性学的に意味のあるものではないと考えられた。また、個々の動物におけるエリスロポエチン濃度の増加は軽微であり、投与との関連は不明であった。非臨床試験で用いたサルは性成熟していなかったが、sotatercept を最長9ヵ月間投与したとき、投与と関連する雌雄生殖器の変化は認められなかった。以上より、科学文献及び非臨床データは、作用機序に基づく sotatercept のリガンドの減少が、発がん促進的にホルモンシグナル伝達に影響を及ぼす可能性は低いという結論を支持している。

アクチビン A は免疫応答の調節に関与しており、重要な炎症性及び免疫調節性サイトカインとして知られている。アクチビン A 及びそのアンタゴニストであるフォリスタチンは全身性の炎症に応じて増加し、免疫細胞の多くはアクチビン A の産生能及び応答能を有する。その応答は細胞型間で異なり、細胞の成熟度及び活性化状態、並びに免疫応答の空間的及び時間的背景に応じて異なる。アクチビン A は、マクロファージにおいてその活性化状態に応じて炎症促進性又は抗炎症性反応のいずれかを調節する。また文献データでは、アクチビン A が B 細胞による抗体産生を刺激し、制御性 T 細胞の発生にも影響することが示唆されている[4.3: 084XXC]。一方、GDF-8及び GDF-11が免疫機能に及ぼす潜在的な影響については十分に報告されていない。アクチビンのシグナル伝達が免疫機能の調節に関与している可能性はあるものの、sotatercept が免疫機能に影響するという明確なエビデンスはない。Sotatercept のサルを用いた試験の1つ（TT #[redacted]-7826）では、多くの動物でマラリア原虫感染が認められ、かつ1匹は劇症マラリアのため早期に安楽殺したことから、試験を早期に中止した。マラリア原虫は試験開始前に存在していたが、9週間の投与期間を通してその発現頻度及び重症度は増加した。Sotatercept を介した免疫機能の変化がこれらの動物の感受性を高めた可能性はあるものの、赤血球生成促進剤により潜在的な宿主細胞集団が増加し、マラリア原虫感染が亢進する可能性があることは広く認識されている[4.3: 084XWP]。そのため、sotatercept を介した免疫機能の変化ではなく、sotatercept を介した赤血球の増加によりマラリア原虫に対する試験動物の感受性が高まったと考えられる。完了した sotatercept の非臨床試験のうち、サルを用いた27週間投与試験（TT #[redacted]-7812）の10 mg/kg Q2W 以上の用量群の胸腺及び9ヵ月間投与試験（TT #[redacted]-7938）の2.6 mg/kg Q4W 以上の用量群の脾臓において、軽微から中等度のリンパ球の枯渇が認められた。一方で、評価した全用量群のサル及び成熟ラットにおいて、胸腺又は脾臓の変性又は壊死を示す所見、その他のリンパ組織における有害な所見及び循環血中白血球の意

味のある変化はみられなかった。幼若ラットで認められたリンパ系の変化は、概して脾臓の白脾髄辺縁帯における軽微から軽度の細胞充実性の低下、あるいは赤脾髄における軽微から軽度の細胞充実性の増加のみであった。幼若ラットを用いた重要な試験では、TDAR アッセイにおいて sotatercept と関連する変化は認められず、イムノフェノタイピングデータから免疫抑制は示唆されなかった。非臨床試験のデータを総じて、sotatercept には毒性学的に意味のある免疫調節作用はなく、がん原性に影響を及ぼさないことが示唆される。

Sotatercept のリガンド及びその様々な細胞内シグナル伝達経路の役割に関して、腫瘍生物学との関連性については科学文献の多くで結論が出ていない。アクチビン A 及び GDF-11は、一定の条件下ではアポトーシス又は増殖抑制を誘導し、それ以外では増殖を促進することが示されている[4.3: 084XWJ]。また、アクチビン A と構造的に類似し、シグナル伝達経路の重要な部分が共通している TGF-β は、がん原性において二重の役割をもつとされている[4.3: 084XW6]。Sotatercept は多面的なリガンド結合プロファイルをもつこと、また科学的文献の結論が一致していないことを考慮すると、このデコイ受容体が腫瘍増殖に対して負又は正の影響を及ぼす可能性について意味のある結論を導き出すことは困難である。同様に、腫瘍免疫学におけるアクチビン A の作用は、細胞型／腫瘍本体及び免疫応答の状況に応じて異なるため、予測が困難である[4.3: 084XW6]。Sotatercept のリガンドの受容体（ACVR2A、ACVR2B、ALK1、ALK4、ALK5及び ALK7）とヒト腫瘍との関連性を、ヒト遺伝学データベース［Online Mendelian Inheritance in Man（www.omim.org）、the Open Targets Genetics portal（https://genetics.opentargets.org）］、ヒトがん遺伝子データベース［Catalogue of Somatic Mutations In Cancer（https://cancer.sanger.ac.uk）及び Intogen（https://www.intogen.org）］を用いて評価した。データベースの検索は20[redacted]年[redacted]月から[redacted]月に実施した。その結果、これらの受容体と潜在的なヒトがん原性リスクとの直接的な関連性は確認されなかった。

以上より、sotatercept の非臨床プロファイル及び文献データは、本生物学的分子が遺伝毒性を示さず、PAH の動物モデルにおいて増殖抑制活性及び線維化抑制作用を示し、ホルモンに悪影響を及ぼさず、動物で免疫毒性、過形成又は腫瘍発生を誘発しないこと、また sotatercept のリガンドの結合に係わる受容体がヒトにおけるがん原性と直接的に関連しないことを示している。本 WOE に基づき、sotatercept のがん原性リスクは低いと考える。

### 2.4.4.5　生殖発生毒性試験

ラットを用いた受胎能及び初期胚発生に関する試験、ラット及びウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験、ラットを用い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、並びにラットを用いた幼若動物毒性試験において sotatercept を評価した。重要な試験はいずれも GLP に準拠し実施した。

アクチビン A 及び B は、正常な生殖及び発生に必要な多様な生理学的過程において重要な役割を果たしている[4.3: 080SJ7]。アクチビン A あるいは B は視床下部－下垂体－性腺系では FSH シ

グナル伝達を調節し、生殖器へは直接的に作用する[4.3: 080SJ7]。以下に考察するように、sotatercept の動物への投与により精巣輸出管／精巣毒性、雌雄受胎能の低下、着床前及び着床後胚損失率の上昇並びに胎児／出生後の成長及び成熟の遅延を含む生殖及び発生に対する有害な影響が認められ、これらは ActRIIA シグナル伝達の低下と機序的に一致するものであった。

### 2.4.4.5.1　受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

ラットを用いた雄受胎能試験で、sotatercept を同居10週間前から同居3週間後まで Q1W で皮下投与したとき、精巣上体尾部における用量依存性の精子密度の減少、精巣輸出管内における精子肉芽腫及び線維化／鉱質沈着／混合性細胞浸潤、並びに精巣及び精細管の変性／萎縮が認められ、これらは全て精巣輸出管レベルでの流出路閉塞による二次的なものと考えられた。[2.4.4.2 項]に記載のとおり、ヒト及びラットの精巣輸出管には解剖学的な相違があることから、精巣輸出管／精巣毒性がヒトで認められる可能性は低いと考えられる。全用量群で精巣／精巣上体の組織学的変化が持続的に認められた一方で、最高用量群でみられた受胎能パラメータの低下は回復期間後に回復した。雄の受胎能に対する NOAEL は3 mg/kg Q1W（$AUC_{0\text{-}504h}$ は8,880 µg·hr/mL、MRHD での臨床曝露量の2倍）であった。

ラットを用いた雌受胎能試験で、sotatercept を交配2週間前から妊娠7日目まで Q1W で皮下投与したとき、受胎率及び妊孕率の低下、妊娠子宮重量の減少、着床前及び着床後胚損失率の上昇（完全吸収胚の発現頻度の増加を含む）、並びに同腹児数の減少がみられた。最高用量群ではその他の変化として、性周期の延長及び交尾率の低下が認められた。雌の受胎能及び初期胚発生に対する NOAEL は5 mg/kg（$AUC_{0\text{-}504h}$ は8,205 µg·hr/mL、MRHD での臨床曝露量の2倍）であった。

### 2.4.4.5.2　胚・胎児発生に関する試験

ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験で、妊娠ラットに sotatercept を妊娠6日目及び13日目に Q1W で皮下投与したとき、胎児体重の減少及び骨化遅延が認められた。最高用量群ではその他の変化として、後期胎児死亡率の上昇、着床後胚損失率の上昇、生存同腹児数の減少、並びに関連する胸椎及び腰椎数の増加／減少を伴う過剰肋骨の発現頻度増加を反映した骨化点数の変化が認められた。母動物毒性に対する NOAEL は50 mg/kg、発生毒性に対する NOAEL は5 mg/kg（$AUC_{0\text{-}504h}$ は7,926 µg·hr/mL、MRHD での臨床曝露量の2倍）であった。

ウサギを用いた用量設定発生毒性試験で、妊娠ウサギに sotatercept を妊娠 7 日目及び14日目に皮下投与した。高用量群及び中用量群の忍容性は不良で、体重減少／体重増加量の減少、有害な臨床症状、ケージトレイの赤色物質、又は計画外の死亡が認められた。最高用量群では心嚢液貯留が高い発現頻度で認められた。高用量群及び中用量群では、着床後胚損失率の上昇、並びにそれと関連する同腹児数及び生存胎児数の減少が認められた。全用量群において胎児体重の減少が

みられた。また、全用量群において胎児の血清中に sotatercept が検出された（母動物における濃度に対して1%～39%）。本試験における低用量を、重要な試験の最高用量として用いた。

ウサギを用いた重要な胚・胎児発生に関する試験で、妊娠ウサギに sotatercept を妊娠7日目及び14日目に Q1W で皮下投与したとき、高用量群及び中用量群において着床後胚損失率の上昇、生存胎児数の減少、あるいは発育遅延が認められた。ウサギにおける母動物毒性に対する NOAEL は5 mg/kg、発生毒性に対する NOAEL は0.5 mg/kg（$AUC_{0\text{-}504h}$ は1,477 µg·hr/mL、MRHD での臨床曝露量の0.4倍）であった。

雌受胎能試験並びにラット及びウサギの胚・胎児発生毒性試験で認められた発生及び生殖への影響は、sotatercept を介したActRIIAシグナル伝達の阻害と機序的に一致する。アクチビンAあるいはBは卵巣の濾胞形成に影響し、妊娠の成立及び維持に関与する[4.3: 08DF5Q][4.3: 080SJ7][4.3: 08DJNP][4.3: 08DF5M]。アクチビン[4.3: 080SJ7][4.3: 08DJNP][4.3: 08DF5M]及びBMP[4.3: 08DF5J]はActRIIAを介してシグナル伝達を行うが、これらは子宮内膜受容性及び胚着床の重要な調節因子でもある。胚あるいは胎児発生では、ActRIIAシグナル伝達は軟骨及び骨の形成／成長中に生じ[4.3: 08DL7H]、アクチビンAシグナル伝達は成長の制御に重要である[4.3: 08DF5P]。

### 2.4.4.5.3　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

ラットを用い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、妊娠又は授乳ラットに sotatercept を Q1W で皮下投与したとき、その忍容性は最高用量まで概して良好であった。妊娠期又は授乳期に sotatercept を投与したときの母動物に対する NOAEL は、それぞれ5 mg/kg 又は10 mg/kg であった。妊娠期又は授乳期に sotatercept を投与したとき、$F_0$世代の胎児に対する影響はみられず、妊娠期に投与した母動物の $F_1$出生児にも影響はみられなかった。乳汁を介して sotatercept に曝露された $F_1$出生児では、高用量群及び中用量群の雌雄において発育遅延（体重減少／体重増加量の減少及び性成熟の遅延）が認められた。乳汁を介して sotatercept に曝露された出生児で認められた体重増加量（成長）の減少及び性成熟の遅延は、アクチビン A シグナル伝達の阻害と一致するものであった[4.3: 08DF5P]。$F_1$出生児における生存及び成長に対する NOAEL は、妊娠ラットに sotatercept を妊娠期に投与したときには5 mg/kg（$AUC_{0\text{-}504h}$ は7,926 µg·hr/mL、MRHD での臨床曝露量の2倍）であり、授乳期に投与したときには1.5 mg/kg（$AUC_{0\text{-}504h}$ は2,403 µg·hr/mL、MRHD での臨床曝露量の0.6倍）であった。

### 2.4.4.5.4　出生児（幼若動物）への投与あるいは更なる評価を実施した試験

幼若ラットに sotatercept を生後7日目から91日目まで Q1W で皮下投与した。初回の幼若動物を用いた毒性試験（TT #[redacted]-7832）では死亡率が高く、試験の質が懸念されたことから再試験（TT #[redacted]-7864）を実施した。両試験で認められた被験物質と関連する所見は概して類似していた。

幼若ラットでは、sotatercept を投与した全用量群で概して体重及び摂餌量の減少、並びに性成熟の遅延が認められた。全用量群において赤血球パラメータが増加し、主に高用量群で腎毒性と一致する血液生化学的検査値及び尿検査値の変化が認められた。全用量群で概して心臓重量の減少、並びに腎臓、副腎及び精巣／精巣上体の病理検査所見がみられ、これらは成熟ラットで認められた所見と同様であった。回復期間後の動物では、交尾及び受胎能パラメータの低下、並びに持続的な血液生化学的検査値の軽微な変化がみられ、病理検査所見は投与期間終了時の剖検で観察された所見と概して類似していた。幼若ラットにおける成長、発生、生殖、赤血球系細胞及び副腎の成熟、並びに精巣機能に対する sotatercept の影響は、いずれも他の sotatercept の毒性試験においてラットで認められた影響と類似しており、ActRIIA シグナル伝達の低下と機序的に一致している（[2.4.4.2 項]及び[2.4.4.5 項]参照）。

両試験で TDAR 及びイムノフェノタイピング評価を実施した。より多くの動物数で評価した重要な幼若ラットを用いた試験において、TDAR アッセイでは被験物質と関連する変化は認められず、イムノフェノタイピングデータでは免疫抑制を示唆する所見はみられなかった。

重要な幼若動物を用いた毒性試験の NOAEL は1 mg/kg Q1W 未満（$AUC_{0\text{-}504h}$ は9,240 µg·hr/mL 未満、MRHD での臨床曝露量の2倍未満）であった。

### 2.4.4.6　局所刺激性試験

局所刺激性は、ラット及びサルを用いた反復静脈内及び皮下投与試験の一環として評価した。いずれの投与経路においても、ラット及びサルでの sotatercept の忍容性は良好であった。

### 2.4.4.7　その他の毒性試験

#### 2.4.4.7.1　抗原性／免疫原性試験

反復投与毒性試験において、sotatercept の免疫原性に起因すると考えられる過敏症又はアナフィラキシーは認められなかった。ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験、生殖発生毒性試験、並びに幼若ラットを用いた毒性試験において sotatercept の免疫原性（ADA 反応）を評価した。Sotatercept は反復投与後に ADA 反応を誘導したが、この反応は動物で多くのバイオ医薬品に認められるものである。

#### 2.4.4.7.2　免疫毒性試験

文献の in vitro 及び in vivo データに基づくと、アクチビンは免疫応答の調節に関与することが知られている。その応答は細胞型間で異なり、細胞の成熟度及び活性化状態、並びに免疫応答の空間的及び時間的背景に応じて異なる[4.3: 085GRQ]。アクチビン A は、マクロファージにおいてその活性化状態に応じて炎症促進性又は抗炎症性反応のいずれかを調節する[4.3: 085GRX][4.3:

085GRQ]。さらに、アクチビン A が B 細胞による抗体産生を刺激し、制御性 T 細胞の発生にも影響することが示唆されている[4.3: 085GRX][4.3: 085GRQ]。一方、GDF-8、GDF-11及び BMP-10が免疫機能に及ぼす潜在的な影響については十分に報告されていない[4.3: 085GRX]。Sotatercept は循環血中のアクチビン濃度を調節する一方で、標的細胞受容体における残存リガンドによるシグナル伝達を阻害することはなく、オートクリン及びパラクリンによるアクチビンシグナル伝達に干渉する可能性も低い。

免疫機能を調節する可能性を示唆する文献がある一方で、sotatercept が免疫機能に影響するという明確なエビデンスはない。Sotatercept のサルを用いた試験の1つ（TT #[redacted]-7826）では、多くの動物でマラリア原虫感染が認められ、かつ1匹が劇症マラリアによって早期に死亡したことから、試験を早期に中止した。マラリア原虫は試験開始前に存在していたが、9週間の投与期間を通してその発現頻度及び重症度は増加した。Sotatercept を介した免疫機能の変化がこれらの動物の感受性を高めた可能性はあるものの、赤血球生成促進剤により潜在的な宿主細胞集団が増加し、マラリア原虫感染が亢進する可能性があることは広く認識されている[4.3: 084XWP]。そのため、sotatercept を介した免疫機能の変化ではなく、sotatercept を介した赤血球及び網状赤血球の増加によりマラリア原虫感染に対する試験動物の感受性が高まったと考えられる。

完了した sotatercept の非臨床試験のうち、サルを用いた27週間投与試験（TT #[redacted]-7812）の 10 mg/kg Q2W 以上の用量群の胸腺及び9ヵ月間投与試験（TT #[redacted]-7938）の2.6 mg/kg Q4W 以上の用量群の脾臓において、軽微から中等度のリンパ球の枯渇が認められた。しかし、評価した全用量群のサル及び成熟ラットにおいて、胸腺又は脾臓の変性又は壊死を示す所見、その他のリンパ組織における有害な所見、循環血中白血球の意味のある変化及び血清中グロブリン濃度の変化はみられなかった。サル及び幼若ラットで認められた骨髄における骨髄球系／赤芽球系細胞比の軽微な変化は、薬理学的作用を介した軽度の赤血球パラメータの増加と一致しており、有害な循環血中白血球の変化を伴っていなかった。幼若ラットで認められたリンパ系の変化は、概して脾臓の白脾髄辺縁帯における軽微から軽度の細胞充実性の低下、あるいは赤脾髄における軽微から軽度の細胞充実性の増加のみであった。幼若ラットを用いた重要な試験では、TDAR アッセイにおいて被験物質と関連する変化は認められず、イムノフェノタイピングデータから免疫抑制は示唆されなかった。最後に、いずれの sotatercept の非臨床試験においても、過形成を示す強いシグナル及び腫瘍形成に係わるエビデンスは認められなかった。結論として、非臨床試験のデータを総じて、sotatercept には毒性学的に意味のある免疫調節作用はないことが示唆される。

### 2.4.4.7.3　毒性発現の機序に関する試験

作用機序を副次的薬理試験の一環として評価した。その他の毒性発現の機序に関する試験は実施しなかった。

#### 2.4.4.7.4　依存性試験

Sotatercept はアミノ酸配列に基づき算出したホモ二量体としての分子量が78 kDa のタンパク質であり、血液脳関門を通過しない。薬物乱用傾向を示唆する sotatercept の薬理学的プロファイルはみられなかった。さらに、反復投与毒性試験において向精神作用（すなわち鎮静又は興奮作用）を示唆する神経学的検査所見又は臨床症状は認められなかった。したがって、薬物乱用に関する動物を用いた試験は実施しておらず、乱用傾向を示す可能性は極めて低いと考えられる。

#### 2.4.4.7.5　代謝物に関する試験

Sotatercept は天然に存在するアミノ酸のみで構成されるタンパク質であり、通常のタンパク質分解経路を介した異化作用を受けると予想される。Sotatercept の代謝物の潜在的な毒性を、反復投与毒性試験の一環として評価した。その他の代謝物に関する試験は実施しなかった。

#### 2.4.4.7.6　不純物に関する試験

いずれの不純物についても非臨床試験は実施しなかった。原薬中の不純物は、sotatercept の様々なバッチ／ロットを用いて実施した毒性試験において、その特定されたレベルでの安全性を評価した。

#### 2.4.4.7.7　その他の試験

##### 2.4.4.7.7.1　光毒性試験

ICH S10ガイドライン（医薬品の光安全性評価ガイドラインについて）に記載のとおり、本ガイドラインは「一般的に、ペプチド、蛋白質、抗体薬物複合体あるいはオリゴヌクレオチドに適用されない」ことから、sotatercept のようなタンパク質製剤の光毒性評価を実施する必要はないと考えられる。この根拠に基づき、sotatercept の非臨床光毒性試験は実施しておらず、実施する予定はない。

##### 2.4.4.7.7.2　その他の試験

GLP 非適用探索的毒性試験として、マウスに RAP-011（sotatercept のマウス相同分子）を投与し、2種類のラット腎疾患モデル（5/6腎摘除モデル及び UUL モデル）に RAP-011及び sotatercept を投与した。

ヒト ActRIIA の細胞外ドメイン及びマウス IgG Fc 領域を含む RAP-011は、sotatercept と比較してマウスにおける免疫原性が低いと予想される。RAP-011を投与したマウスで腎毒性が軽減した場合、ラット及びサルで認められた腎臓への影響に、免疫複合体形成が関与している可能性を示唆すると考えられる。

マウスに RAP-011を最大50 mg/kg の用量で週2回、最長3ヵ月間腹腔内投与したとき、その忍容性は不良であった。最低用量群においても被験物質と関連する死亡が認められた。明らかな毒性はみられない用量群で認められた所見は、概して薬理学的作用を介した赤血球パラメータの増加、脾臓における髄外造血、血胸を示唆する胸腔内の赤色液貯留、心臓及び腎臓重量の減少、並びに脈絡叢内の鉱質沈着であった。これらの所見の多くや全用量群でみられた死亡を伴う RAP-011の忍容性不良は、本試験でのみ認められ、恐らく RAP-011、マウス又は腹腔内投与経路に固有のものであり、概してラット及びサルに sotatercept を静脈内投与又は皮下投与したときの影響を示すものではない。本試験において RAP-011は明らかな腎毒性を示さなかったものの、マウスで顕著な毒性が認められたため試験結果の解釈は困難である。

2種類の腎疾患モデルを用いて、sotatercept 又は RAP-011を13週間投与したときの疾患の進行に及ぼす影響を評価した。UUL 処置ラット腎不全モデルにおいて、媒体対照、sotatercept 及び RAP-011投与群で閉塞性腎症の程度に顕著な差は認められなかった。一方で、sotatercept 又は RAP-011を投与した5/6腎摘除ラットでは、媒体対照群の腎摘除モデル又はシャム手術動物と比較して、糸球体及び尿細管間質の病変が顕著に増悪し、リン酸化 Smad2（pSmad2）及び α 平滑筋アクチン（αSMA）の免疫染色像の増加、並びに尿中のアルブミン、TIM-1（T cell Ig mucin、別名 KIM-1）、リポカリン-2あるいはオステオポンチン濃度の増加がみられた。腎障害は ADA 陰性動物において一層顕著であったことから、ADA による免疫複合体形成は sotatercept に起因する腎毒性の主たる機序ではないことが示唆された。

### 2.4.5　総括及び結論

Sotatercept はアクチビンシグナル伝達阻害薬であり、ヒト ActRIIA の細胞外領域とヒト IgG1 Fc 領域を結合させた WHO 分類第1群である PAH の成人患者の治療用の遺伝子組換え融合蛋白質である。Sotatercept は ActRIIA の可溶型として機能し、アクチビン A、アクチビン B、GDF11、GDF8、BMP10等の ActRIIA に結合する TGF-β ファミリーリガンドを捕捉し、ActRIIA への結合及び下流の Smad2/3シグナルの誘導を阻害する。この作用機序により、sotatercept は相反する Smad2/3及び Smad1/5/8の細胞内シグナル伝達経路のバランスを正常化し、その結果、PAH での平滑筋細胞の増殖の恒常性を回復させる。

In vitro での非臨床薬理試験の結果、sotatercept はヒト ActRIIA リガンドであるアクチビン A、アクチビン B、GDF11、GDF8、BMP10に結合し、レポーター遺伝子を導入した細胞培養系でこれらリガンドによる ActRIIA のシグナル伝達を阻害した。

Sotatercept のマウス相同分子である RAP-011は薬物誘発性 PAH モデル及び遺伝性 PAH モデル等の PAH の動物モデルで、肺血管のリモデリングの予防及び改善、肺高血圧症の予防及び改善、右室のリモデリング及び機能の改善を示した。また、RAP-011はモノクロタリン誘発 PAH モデルで、肺炎症を抑制し、炎症マーカーであるマクロファージの肺での浸潤を阻害した。

副次的薬理試験として RAP-011を C57BL/6マウスに投与した結果、赤血球、ヘモグロビン及びヘマトクリットが増加した。

以上の一連の効力を裏付ける試験により sotatercept の特徴が明らかとなった。得られた試験成績は sotatercept の作用機序を裏付け、WHO 分類第1群である PAH の成人患者の治療薬としての製造販売承認申請を担保するものである。

ICH S6（R1）ガイドラインに従い、安全性薬理試験の評価はサルを用いた9ヵ月間反復投与毒性試験において実施した。MRHD での臨床 $C_{max}$ の最大17倍の血清中濃度においても、心電図、血圧、体温、呼吸数又は神経学的検査の評価項目に変化はみられなかった。hERG カリウム電流に対する阻害作用の $IC_{50}$は1,000 µg/mL を上回ると推定され、そのときの曝露量比は0.7 mg/kg 投与時の臨床 $C_{max}$ の100倍を超えている。アミノ酸配列に基づき算出したホモ二量体としての分子量が78 kDa である sotatercept は細胞膜を通過して hERG チャネルに到達することはできないため、主要なアミノ酸残基と相互作用し、hERG チャネルへの結合及び機能的な hERG チャネルの細孔の遮断を起こす可能性は低いと考えられる。In vitro hERG アッセイ及びサルにおける QT/QTc 間隔に影響がみられなかったことから、心室再分極に対する sotatercept の臨床的に意義のある影響は認められなかった。

Sotatercept と他剤との相互作用の可能性は臨床試験でのみ検討できるため、sotatercept の薬力学的薬物相互作用を評価する非臨床試験は実施していない。

ラット、ウサギ及びサルにおける終末相消失半減期は長く（皮下投与時：ラットで4～8日、ウサギで2～9日、サルで7～9日）、クリアランス及び分布容積は低く、sotatercept は一般的な融合蛋白質の薬物動態プロファイルを示した。一方、ヒトにおける半減期は20～30日であった。Sotatercept の全身曝露量は概して用量比に従って増加し、性差は認められなかった。通常の蛋白質分解経路は異化経路であるため、sotatercept についても異化経路が主たる消失経路であると予想される。非臨床試験に用いた全ての動物種において、sotatercept に対する ADA の発現が認められた。

Sotatercept の毒性プロファイルを確立し、患者での慢性的な使用を支持するため、広範な一連の毒性試験において sotatercept を評価した。ラットを用いた3ヵ月間投与毒性試験において、最大75,900 µg·hr/mL の曝露量（$AUC_{0\text{-}504h}$）の sotatercept を評価した。ADA の発現及びそれに伴う血漿／血清中曝露量の減少が認められたこと、また、sotatercept を介した腎毒性が長期生存に悪影響を及ぼす懸念があることから、ラットを用いた長期投与試験は実施しなかった。サルを用いた27週間及び9ヵ月間投与毒性試験において、それぞれ最大247,559 µg·hr/mL 及び51,833 µg·hr/mL の曝露量（$AUC_{0\text{-}504h}$）の sotatercept を評価した。評価した各動物における曝露量比は、ラットで MRHD での臨床曝露量（4,110.24 µg·hr/mL）の最大18倍、サルで最大60倍であり、sotatercept の毒性プロファイルを網羅的に評価するために十分な高さの曝露量であった。ラット又はサルにおいて sotatercept の曝露量に性差はなかったことから、曝露量比は雌雄を合算した TK データに基づいている。重要な非臨床試験で得られた曝露量比を[表 2.4-1]に示す。

表 2.4-1 Sotatercept の定常状態における全身曝露量及び曝露量比の概要

| Daily Dose | $C_{max}$ (µg/mL) | AUC[a] (µg·hr/mL) | $AUC_{0\text{-}504h}$[b] (µg·hr/mL) | Exposure Margin to Clinical $AUC_{0\text{-}504h}$ at 0.7 mg/kg[c] |
|---|---|---|---|---|
| **3-Month SC Toxicity Study in Rats with a 1-Month Recovery (TT #[redacted]-7823)** | | | | |
| Dosages were 0.3, 3, and 30 mg/kg Q1W. Sampling was insufficient to determine $C_{max}$ or AUC (only trough concentrations were determined). Exposure margins for this study were calculated using data from TT #[redacted]-7833. | | | | |
| **3-Month SC TK Study in Rats with a 1-Month Recovery (TT #[redacted]-7833)** | | | | |
| Systemic exposure expressed as $AUC_{0\text{-}168h}$[d] | | | | |
| Note: Values are presented as sex-combined mean (male mean/female mean). For the sparse TK data, composite sex-combined, male, and female $C_{max}$ values might be observed at different timepoints resulting in the sex-combined $C_{max}$ being smaller than both male and female $C_{max}$ values. | | | | |
| 0.3 mg/kg Q1W | 3.94 (4.39/4.15) | 610 (654/564) | 1830 (1962/1692) | 0.4-fold (0.5/0.4-fold) |
| 3 mg/kg Q1W **(NOAEL)** | 14.2 (20.3/9.32) | 2090 (2960/1220) | 6270 (8880/3660) | 2-fold (2/0.9-fold) |
| 30 mg/kg Q1W | 162 (188/168) | 25,300 (28,000/22,600) | 75,900 (84,000/67,800) | 18-fold (20/16-fold) |
| **3-Month SC Toxicity Study in Monkeys with a 2-Month Recovery (TT #[redacted]-7824)** | | | | |
| Systemic exposure expressed as $AUC_{0\text{-}312h}$[e] | | | | |
| 10 mg/kg Q2W | 142 | 32,139 | 52,065 | 13-fold |
| 30 mg/kg Q2W **(NOAEL)** | 351 | 82,389 | 133,470 | 32-fold |
| 50 mg/kg Q2W | 530 | 107,155 | 173,591 | 42-fold |
| **27-Week SC Toxicity Study in Monkeys with a 13-Week Recovery (TT #[redacted]-7812)** | | | | |
| Systemic exposure expressed as $AUC_{0\text{-}336h}$[f] | | | | |
| 10 mg/kg Q2W **(NOAEL <10 mg/kg)** | 187 | 29,336 | 44,004 | 11-fold |
| 30 mg/kg Q2W | 443 | 87,589 | 131,384 | 32-fold |
| 50 mg/kg Q2W | 1404 | 165,039 | 247,559 | 60-fold |
| **9-Month SC Toxicity Study in Monkeys with a 3-Month Recovery (TT #[redacted]-7938)** | | | | |
| Systemic exposure expressed as $AUC_{0\text{-}672h}$ for the 1, 2.6, and 10 mg/kg Q4W dose groups and $AUC_{0\text{-}336h}$ for the 10 mg/kg Q2W dose group[g] | | | | |
| Note: Study Week 37/39 values are presented as sex-combined mean (male mean/female mean). | | | | |
| 1 mg/kg Q4W **(NOAEL)** | 21.4 (25.2/17.7) | 6030 (6462/5597) | 4523 (4847/4198) | 1-fold (1/1-fold) |
| 2.6 mg/kg Q4W | 51.2 (41.6/62.8) | 11,729 (11,087/12,499) | 8797 (8315/9374) | 2-fold (2/2-fold) |
| 10 mg/kg Q4W | 126.7 (124.4/128.6) | 30,776 (31,684/30,020) | 23,082 (23,763/22,515) | 6-fold (6/5-fold) |
| 10 mg/kg Q2W | 164.4 (166.7/162.1) | 34,555 (37,053/32,058) | 51,833 (55,580/48,087) | 13-fold (14/12-fold) |
| **Fertility SC Study in Male Rats (TT #[redacted]-7840)** | | | | |
| Male systemic exposure data are from TT #[redacted]-7833 (3-Month SC TK Study in Rats with 1-Month Recovery) and are expressed as $AUC_{0\text{-}168h}$[d] | | | | |
| 0.3 mg/kg Q1W | 4.39 | 654 | 1962 | 0.5-fold |
| 3 mg/kg Q1W **(Reproductive NOAEL)** | 20.3 | 2960 | 8880 | 2-fold |
| 30 mg/kg Q1W | 188 | 28,000 | 84,000 | 20-fold |

| Daily Dose | $C_{max}$ (µg/mL) | AUC[a] (µg·hr/mL) | $AUC_{0\text{-}504h}$[b] (µg·hr/mL) | Exposure Margin to Clinical $AUC_{0\text{-}504h}$ at 0.7 mg/kg[c] |
|---|---|---|---|---|
| **Fertility and Early Embryonic Development SC Study in Female Rats (TT #[redacted]-7863)[h]** Systemic exposure expressed as $AUC_{0\text{-}168h}$[d] | | | | |
| 5 mg/kg Q1W **(Developmental NOAEL)** | 24.8 | 2735 | 8205 | 2-fold |
| 15 mg/kg Q1W **(Maternal NOAEL)** | 108 | 12,300 | 36,900 | 9-fold |
| 50 mg/kg Q1W | 268 | 28,761 | 86,283 | 21-fold |
| **Embryo Fetal Developmental SC Toxicity Study in Rats (TT #[redacted]-7913)** Systemic exposure expressed as $AUC_{0\text{-}168h}$[d] | | | | |
| 5 mg/kg Q1W **(Developmental NOAEL)** | NA | 2642 | 7926 | 2-fold |
| 15 mg/kg Q1W | NA | 5088 | 15,264 | 4-fold |
| 50 mg/kg Q1W **(Maternal NOAEL)** | NA | 19,885 | 59,655 | 15-fold |
| **Embryo Fetal Developmental SC Toxicity Study in Rabbits (TT #[redacted]-7841)** Systemic exposure expressed as $AUC_{0\text{-}366h}$[f] | | | | |
| 0.5 mg/kg Q1W **(Developmental NOAEL)** | 6.89 | 1070 | 1477 | 0.4-fold |
| 1.5 mg/kg Q1W | 17.6 | 1780 | 2456 | 0.6-fold |
| 5 mg/kg Q1W **(Maternal NOAEL)** | 61.5 | 10,900 | 15,042 | 4-fold |
| **Pre and Postnatal Development and Reproductive SC Toxicity Study in Rats (TT #[redacted]-7830)** Pregnant female systemic exposure data are from TT #[redacted]-7913 (Embryo Fetal Developmental SC Toxicity Study in Rats) and are expressed as $AUC_{0\text{-}168h}$[d] | | | | |
| 1.5 mg/kg[i] **(Lactation NOAEL)** | NA | 801 | 2403 | 0.6-fold |
| 5 mg/kg **(Gestation NOAEL)** | NA | 2642 | 7926 | 2-fold |
| 10 mg/kg[j] | NA | 5284 | 15,852 | 4-fold |
| **13-Week SC Toxicity Study of Sotatercept in Juvenile Rats with an 18-Week Recovery (TT #[redacted]-7864)** Systemic exposure expressed as $AUC_{0\text{-}168h}$[d] | | | | |
| 1 mg/kg Q1W **(NOAEL <1 mg/kg)** | 21.1 | 3080 | 9240 | 2-fold |
| 3 mg/kg Q1W | 34.0 | 5040 | 15,120 | 4-fold |
| 10 mg/kg Q1W | 93.1 | 13,700 | 41,100 | 10-fold |

AUC=area under the concentration-time curve; $AUC_{0\text{-}Xh}$=area under the concentration-time curve from time 0 to X hours; $C_{max}$=observed maximum concentration; NA=not applicable; NOAEL=no observed adverse effect level; Q1W=once weekly; Q2W=once every two weeks; Q4W=once every four weeks; SC=subcutaneous(ly); TK=toxicokinetic(s).

a The dosing interval varied across nonclinical studies and is indicated in the header for each individual study.

b The nonclinical exposure was extrapolated to $AUC_{0\text{-}504h}$.

c The clinical systemic exposure ($AUC_{0\text{-}504h}$) at 0.7 mg/kg administered once every 21 days is 4110.24 µg·hr/mL (171.26 µg·day/mL, see [2.7.2 項]).

d $AUC_{0\text{-}504h}$ was determined by multiplying the AUC by 3.

e $AUC_{0\text{-}504h}$ was determined by multiplying the AUC by 1.62.

f $AUC_{0\text{-}504h}$ was determined by multiplying the AUC by 1.38 for TT #[redacted]-7841 and by multiplying the AUC by 1.5 for TT #[redacted]-7812.

g $AUC_{0\text{-}504h}$ was determined for the 1, 2.6, and 10 mg/kg Q4W dose groups by multiplying the AUC by 0.75, and for the 10 mg/kg Q2W group by multiplying the AUC by 1.5.

h Presented $AUC_{0\text{-}168h}$ and $C_{max}$ data, and associated $AUC_{0\text{-}504h}$ and exposure margins are from the 1st dose. $AUC_{0\text{-}168h}$ values after the 3rd dose were calculated incorrectly in the study TK report (see Note to File for TT #[redacted]-7863).

i No measured exposure in pregnant rats dosed at 1.5 mg/kg; therefore, the exposure in pregnant rats at 5 mg/kg of 2642 µg·hr/mL was divided by 3.3.

j No measured exposure in pregnant rats dosed at 10 mg/kg; therefore, the exposure in pregnant rats at 5 mg/kg of 2642 µg·hr/mL was multiplied by 2.

Sotatercept の非臨床プログラムにおいて、ラットの副腎及び精巣輸出管／精巣、ラット及びサルの腎臓、並びに雌雄動物の生殖発生に関する評価項目で有害な影響が認められた。標的器官の成熟又は構造には種差があることが知られており、sotatercept を投与したラットでみられた副腎及び精巣輸出管／精巣の有害な所見がヒトで認められる可能性は低いと考えられた。

急速に成長している若齢ラットで認められた副腎毒性は、成熟期早期までのラットで生じるアクチビン依存性の副腎リモデリングにおける異常に一致していた[4.3: 080SJ4]。Sotatercept の高用量群で認められた副腎皮質の鉱質沈着、皮質及び髄質の壊死、並びに副腎の肥大及び変色／病巣の剖検所見は、有害であると考えられた。ヒト以外の霊長類においてもアクチビン依存性の副腎の発生／リモデリングが生じるが、基本的に生後1年以内に完了すると考えられている[4.3: 080SHQ][4.3: 085JLW]。Sotatercept の毒性試験プログラムで用いたカニクイザルは、試験開始時に2.4歳以上であったことから、副腎リモデリングは投与開始前に完了していたと予想される。ヒトにおいても副腎のリモデリングが起こり、またアクチビン A は in vitro で胎児の副腎細胞の成長及びステロイド産生に影響するものの、成人のそれには影響しない[4.3: 085JLS]。このような副腎の成熟時期の種差により、急速に成長している若齢ラットと幼若サルとの間で sotatercept に起因する副腎毒性に対する感受性が異なると推察される。さらに、ヒトにおける副腎のリモデリング及びアクチビンを介したアポトーシスの影響を受けやすい胎児層の喪失は、生後3～6週の間に生じる[4.3: 080SHR][4.3: 085JLZ]。したがって、高年齢の小児及び成人においては、sotatercept に起因する副腎毒性に対する感受性を示さないことが示唆される。Sotatercept の臨床試験において、副腎機能不全を示唆する有害事象はこれまでに認められていない。成熟ラットにおける副腎への影響に対する NOAEL（3 mg/kg Q1W）での sotatercept の全身曝露量は、MRHD での臨床曝露量の2倍であった。幼若ラットを用いた重要な試験における NOAEL は最低用量未満（1 mg/kg Q1W 未満）であり、sotatercept の曝露量は MRHD での臨床曝露量の2倍未満であった。

Sotatercept を0.3 mg/kg Q1W 以上の用量で投与した雄ラットで、13週間の回復期間後に完全には回復しない有害な精巣輸出管／精巣毒性が認められた。関連する雄受胎能パラメータに対する有害な影響は高用量（30 mg/kg Q1W）群のみで認められたが、これは本用量群において精巣への影響が両側性に高い発現頻度で出現したためと考えられる。精巣輸出管／精巣毒性に対する NOAEL は0.3 mg/kg Q1W 未満（$AUC_{0\text{-}504h}$ は1,962 µg·hr/mL 未満）であり、このときの全身曝露量は MRHD での臨床曝露量を下回っている。雄受胎能に対する NOAEL は3 mg/kg Q1W（$AUC_{0\text{-}504h}$ は8,880 µg·hr/mL）であり、曝露量は MRHD での臨床曝露量の2倍であった。ラットでは sotatercept を介した ActRIIA シグナル伝達の阻害と一致する影響である精巣輸出管の閉塞が主要な毒性であり（[2.4.4.2 項]参照）、片側性又は両側性の精巣変性／萎縮をもたらした。ラットとヒトの精巣輸出管には解剖学的な相違があるため、ヒトでは精巣輸出管の閉塞による精巣毒性のリスクは低い（[2.4.4.2 項]参照）。

ラットの30 mg/kg Q1W 群及びサルの10 mg/kg Q4W 以上の用量群において、糸球体及び尿細管の有害かつ不可逆的な変化（糸球体腎炎又は尿細管間質性腎炎）が認められた。ラット及びサルにおける NOAEL はそれぞれ3 mg/kg Q1W 及び2.6 mg/kg Q4W で、$AUC_{0\text{-}504h}$ はそれぞれ6,270 µg·hr/mL 及び8,797 µg·hr/mL であった。動物でみられた腎臓への影響は、免疫複合体の沈着と一致しておらず、sotatercept の直接的な影響によるものであると考えられる。腎臓の変化に対する NOAEL でのラット及びサルにおける全身曝露量は、MRHD での臨床曝露量の2倍であった。Sotatercept の臨床試験では腎機能をモニタリングしているが、腎機能パラメータの変化はこれまでに認められていない。

Sotatercept の投与により、ラットあるいはウサギにおいて受胎能及び生殖能に有害な変化が認められ、大部分が ActRIIA シグナル伝達の阻害と一致するものであった（[2.4.4.2 項]及び[2.4.4.5 項]参照）。雄ラットにおいて、0.3 mg/kg Q1W 以上の用量群で sotatercept に起因する精巣輸出管／精巣毒性がみられ、30 mg/kg Q1W 群で受胎能が低下したが、これらの変化がヒトで認められる可能性は低いと考えられる。雌ラットにおいて、15 mg/kg Q1W 以上の用量群で受胎能パラメータの低下、並びに着床前及び着床後胚損失率の上昇がみられ、50 mg/kg Q1W 群で性周期の延長が認められた。雌受胎能試験における受胎能及び発生に対する NOAEL は5 mg/kg Q1W（$AUC_{0\text{-}504h}$ は8,205 µg·hr/mL）で、曝露量は MRHD での臨床曝露量の2倍であった。ラット又はウサギにおいて sotatercept による催奇形性はみられなかった。しかし、胚・胎児発生に関する試験において sotatercept の投与と関連する着床後胚損失率の上昇、胎児体重の減少／骨化遅延及び骨化に係わる変化が認められた。ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験における NOAEL は5 mg/kg（$AUC_{0\text{-}504h}$ は7,926 µg·hr/mL、MRHD での臨床曝露量の2倍）であった。ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験における NOAEL は0.5 mg/kg（$AUC_{0\text{-}504h}$ は1,477 µg·hr/mL、MRHD での臨床曝露量の0.4倍）であった。出生前及び出生後の発生に関する試験において、乳汁を介して sotatercept に曝露された出生児に、sotatercept と関連する発育遅延（授乳期に5 mg/kg 以上を投与した母動物の出生児における体重減少及び性成熟の遅延）が認められた（授乳期投与の NOAEL は1.5 mg/kg、$AUC_{0\text{-}504h}$ は2,403 µg·hr/mL、MRHD での臨床曝露量の0.6倍であった）。総合すると、これらのデー

タは、治療濃度の sotatercept が女性の受胎能及び妊娠に有害な影響を及ぼす可能性を示唆している。

最後に、sotatercept に起因する毒性は幼若ラット及び成熟ラットで同様であったが、幼若ラットでは概して程度が高く、かつ低い用量で認められた。全用量群で有害な影響が認められ（幼若ラットを用いた重要な試験における NOAEL は1 mg/kg Q1W 未満、$AUC_{0\text{-}504h}$ は9,240 µg·hr/mL 未満、MRHD での臨床曝露量の2倍未満）、sotatercept が未成熟の器官系により顕著な影響を及ぼす可能性を示唆している。

結論として、sotatercept と結合するリガンドである TGF-β スーパーファミリーは、多数の組織及び器官系の成長、発生及び恒常性に幅広い影響を及ぼす。Sotatercept の非臨床毒性試験では、ラット及びサルにおける有害な腎臓の変化が認められたが、この変化はこれまでにヒトにおいて認められていない。また、雌のラット及びウサギにおける生殖発生に対する有害な影響が、概して MRHD での曝露量よりも低い曝露量で認められた。Sotatercept の非臨床プロファイルは、WHO 分類第1群である PAH の成人患者を対象とする予定臨床用量での安全な使用を支持するものである。

## 2.4.6　参考文献

参考文献を[1.12 項]の「4.3参考文献」に示した。