ヨビパス皮下注 168 μg ペン
ヨビパス皮下注 294 μg ペン
ヨビパス皮下注 420 μg ペン

第 2 部（モジュール 2）

2.4 非臨床試験の概括評価

帝人ファーマ株式会社

目次

2.4 非臨床試験の概括評価 5
2.4.1 非臨床試験計画概略 5
2.4.2 薬理試験 9
2.4.2.1 効力を裏付ける試験 9
2.4.2.1.1 in vitro における効力を裏付ける試験 9
2.4.2.1.2 in vivo における効力を裏付ける試験 9
2.4.2.2 安全性薬理試験 10
2.4.3 薬物動態試験 11
2.4.3.1 分析法 11
2.4.3.2 吸収、分布、代謝及び排泄 12
2.4.3.3 トキシコキネティクス評価 12
2.4.4 毒性試験 13
2.4.4.1 反復投与毒性試験 13
2.4.4.1.1 カルシウム及びリンの恒常性 13
2.4.4.1.2 骨端軟骨 14
2.4.4.1.3 骨代謝 14
2.4.4.1.4 曝露及び免疫原性 15
2.4.4.2 遺伝毒性 15
2.4.4.3 がん原性 16
2.4.4.4 生殖発生毒性 16
2.4.4.5 局所刺激性 17
2.4.4.6 添加剤及び製剤 17
2.4.4.7 規格の許容基準及び不純物 18
2.4.5 総括及び結論 18
2.4.6 参考文献 23

略号及び用語の定義一覧

略号	略さない表現	定義又は説明
$1,25(OH)_2D_3$	1,25-dihydroxyvitamin D also known as active vitamin D or calcitriol	1,25-ジヒドロキシビタミンD、活性型ビタミンD又はカルシトリオールとしても知られている
$AUC_{0\text{-}24h}$	Area under the curve from 0 to 24 h	0～24 時間の血漿中濃度－時間曲線下面積
BLA	Biologics license application	生物学的製剤承認申請
BMD	Bone mineral density	骨密度
BPAC	Blood Products Advisory Committee	血液製剤に関する諮問委員会
CHMP	Committee for Medicinal Products for Human Use (EMA)	欧州医薬品庁ヒト用医薬品委員会（EMA）
C_{max}	Maximum plasma concentration	最高血漿中濃度
DXA	Dual energy X-ray absorptiometry	二重エネルギーX 線吸収測定法
EMA	European Medicines Agency (previous EMEA) (EU)	欧州医薬品庁（旧 EMEA）（EU）
EMEA	European Medicines Evaluation Agency (now EMA)	欧州医薬品審査庁（現 EMA）
EOSL	End of shelf life	使用期限
FAMHP	Federal Agency for Medicines and Health Products (Belgium)	連邦医薬品・保健製品庁（ベルギー）
FDA	Food and Drug Administration (US)	食品医薬品局（米国）
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
hERG	Human ether-a-go-go-related gene	ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子
HMWS	High molecular weight species	高分子量分子種
IKr	Delayed rectifier potassium current	急速に活性化する遅延整流カリウム電流
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
kDa	Kilodalton	キロダルトン
mPEG	Methoxypolyethylene glycol	メトキシポリエチレングリコール
NDA	New drug application	新薬承認申請
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	No observed effect level	無影響量
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
PD	Pharmacodynamic(s)	薬力学
PK	Pharmacokinetic(s)	薬物動態
PMDA	Pharmaceuticals and Medical Device Agency (Japan)	独立行政法人医薬品医療機器総合機構（日本）
pQCT	Peripheral quantitative computed tomography	末梢骨定量的コンピュータ断層撮影法

略号	略さない表現	定義又は説明
PTH	Parathyroid hormone	副甲状腺ホルモン
PTH1R	Parathyroid hormone 1 receptor	副甲状腺ホルモン 1 型受容体
QSAR	Quantitative structure–activity relationship	定量的構造活性相関
rh	Recombinant human	ヒト遺伝子組換え
SCOGS	Select Committee on Generally Recognized as Safe Substances	GRAS 物質評価特別委員会
TK	Toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
t_{max}	Time to reach maximum plasma concentration	最高血漿中濃度到達時間
TPTx	Thyroparathyroidectomized	甲状腺副甲状腺摘出

2.4 非臨床試験の概括評価

2.4.1 非臨床試験計画概略

パロペグテリパラチドは、副甲状腺機能低下症の患者において、血中における副甲状腺ホルモン（PTH）を生理的範囲内で 24 時間にわたり持続できるように、1 日 1 回の皮下補充療法として設計されたプロドラッグである。パロペグテリパラチドの推奨開始用量は 18 μg PTH(1-34)/日である。パロペグテリパラチドの用量は全身循環血中の血清カルシウム濃度に基づいて、6 μg PTH(1-34)/日から最大推奨臨床用量の 60 μg PTH(1-34)/日まで、3 μg PTH(1-34)/日単位で調節可能である。

パロペグテリパラチドは、PTH(1-34)が TransCon リンカーを介して担体と結合したものである。PTH(1-34)は、完全長の 84 個のアミノ酸からなるヒト内因性 PTH の N 末端側の 34 個のアミノ酸配列と同一であり、担体との結合により不活性化されている。担体は 40（2 × 20）キロダルトン（kDa）の分岐鎖メトキシポリエチレングリコール（mPEG）である。PTH は、生理的 pH 及び温度においてプロドラッグから自己切断により遊離し、全身循環血中に移行する。PTH は副甲状腺ホルモン 1 型受容体（PTH1R）を介して作用し、血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性を維持する。生体内では、PTH はパロペグテリパラチドから PTH(1-34)又はその主代謝物 PTH(1-33)として遊離される。PTH1R が介在する活性に必要となるのは完全長の PTH の N 末端から 31 番目までのアミノ酸残基のみであるため、PTH(1-33)、PTH(1-34)、及び PTH(1-84)の PTH1R への親和性及び活性化能は同等である [1) 2)]。

非臨床開発プログラムは、パロペグテリパラチドの薬理作用、薬物動態（PK）、及び毒性の特徴を明らかにし、副甲状腺機能低下症治療薬としての製造販売承認と患者の安全な使用をサポートするための情報を取得することを目的に実施された。

非臨床開発プログラム及び本概要に含まれる試験は、医薬品規制調和国際会議（ICH）及びその他の規制ガイドラインに準拠して計画及び実施した。表 2.4-1 に示すプログラムは、米国食品医薬品局（FDA）（FDA Reference ID:5008610）及びベルギー連邦医薬品・保健製品庁（FAMHP）（FAMHP/H/CPR/IIIa/NR/15/06/2020/366）への製造販売承認申請の要件を十分に満たすものであった。FDA、欧州医薬品庁ヒト用医薬品委員会（CHMP）及び独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）（相談受付番号：#P6036、議事録日付：令和 2 年 9 月 17 日、薬機審長発第 0917004 号）が合意した通り、げっ歯類を用いたがん原性試験は必要ないと考えられた（2.4.4.3 項）。すべての重要な非臨床毒性試験・安全性薬理試験は、経済協力開発機構（OECD）のデータ相互受け入れ協定に関する加盟国において、OECD の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。生体試料分析法及び免疫原性測定法は、現行のガイドライン及び関連するホワイトペーパーに基づいて確立し、その信頼性を検証した。さらに、添加剤及び製剤中の不純物は ICH 品質ガイドラインなどに基づいて評価した。

プロドラッグであるパロペグテリパラチド、並びに自己切断後に生じる生成物［すなわち、PTH(1-34)及び mPEG と結合した状態の TransCon リンカー及び主代謝物 PTH(1-33)］は、in silico、in vitro 及び in vivo 試験で構成される非臨床開発プログラムで評価し、動物種として Sprague Dawley ラット［Crl:CD(SD)］、カニクイザル（Macaca fascicularis、モーリシャス産）、及びウサギ［Crl:KBL(NZW)、ニュージーランドホワイト］を選択した。

ラット、ウサギ、サル、及びヒトの間では PTH 及びその主受容体である PTH1R のアミノ酸配列が高度に保存されているため、これらの動物種を選択した。一次構造の高い相同性と一致して、パロペグテリパラチドから遊離される PTH はラット、ウサギ、及びサルで薬理作用が発現することが示されている［2.6.2.3.1 項］。臨床の用法用量に準じて、非臨床試験ではパロペグテリパラチドを動物に 1 日 1 回皮下投与した。また、パロペグテリパラチドの用量を PTH(1-34)の用量で表記し、in vitro 遺伝毒性試験に用いたプロドラッグ全体の用量とは区別した。

内因性 PTH は、骨からカルシウム及びリンを動員し、腎におけるカルシウム再吸収及びリン排泄を促進するとともに、活性型ビタミン D［1,25-ジヒドロキシビタミン D（1,25$(OH)_2D_3$）又はカルシトリオールとしても知られている］の生合成を介して、カルシウムの消化管吸収を促進することにより、血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性を維持する [3)]。したがって、パロペグテリパラチドの薬理作用（PD）は、全身循環血中及び尿中のカルシウム及びリン濃度の定量によって評価した。さらに、血漿中の内因性 PTH(1-84)濃度を定量した。全身循環血中のカルシウム濃度は主要な PD マーカーと考えられ、血漿又は血清で定量した。骨からのカルシウム及びリンの動員は、骨リモデリング、すなわち以前に形成された骨の分解とそれに続く新たな骨の形成と密接に関連している [4) 5) 6)]。したがって、骨代謝回転の変化、すなわち一定期間中にリモデリングされる骨の量も、骨代謝マーカー、デンシトメトリー、及び骨形態計測法を用いて評価した。デンシトメトリーには末梢骨定量的コンピュータ断層撮影法（pQCT）及び二重エネルギーX 線吸収測定法（DXA）を用いた。PD の評価に加え、標準的な安全性評価項目を安全性薬理試験及び毒性試験で評価した。非臨床試験では、パロペグテリパラチド、自己切断後に生じる生成物である PTH(1-34)、mPEG、mPEG-リンカー及び主代謝物 PTH(1-33)の PK 及びトキシコキネティクス（TK）プロファイルを評価した。免疫原性は、毒性試験において、抗 PTH 抗体及び抗 PEG 結合抗体測定系を用いて評価した。

表 2.4-1　パロペグテリパラチドの非臨床開発プログラム

Description	GLP	Test System	Study No.	N/group/sex[a] (recovery/TK)	Dose Levels [µg PTH(1-34)/kg/day]	Tabulated Summary
Pharmacology						
Primary Pharmacodynamic Studies						
In Vitro Studies						
Binding of palopegteriparatide and PTH(1-34) to PTH1R[b] by surface plasmon resonance	No	NA	［OX-17/099-071］	NA	NA	［2.6.3.2］
Biopotency of PTH(1-33)	No	HEK293 cells	［45719］	NA	NA	［2.6.3.2］
In Vivo Single-Dose Studies (SC and IV Administration)						
Single-dose pharmacokinetic and pharmacodynamic	No	Rats	［172388］	9 M	0, 10, 30	［2.6.3.2］

Description	GLP	Test System	Study No.	N/group/sex[a] (recovery/TK)	Dose Levels [µg PTH(1-34)/kg/day]	Tabulated Summary
evaluation						
Single-dose pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation	No	Monkeys	[171929] / [redacted] [c]	3 M	1, 5	[2.6.3.2]
In Vivo Repeat-Dose Studies (SC Administration)						
4-week repeat-dose proof-of principle study in a TPTx rat model of hypoparathyroidism	No	Rats	[6700404]	9 F	0, 0, 5, 10, 30	[2.6.3.2]
Secondary Pharmacodynamics - No studies performed						
Safety Pharmacology Studies (SC Administration)						
Single-dose neurobehavioral evaluation	Yes	Rats	[6901267]	8 M	0, 10, 30, 60	[2.6.3.4]
Single-dose respiratory function evaluation	Yes	Rats	[6901268]	6 M	0, 10, 30, 60	[2.6.3.4]
Single-dose cardiovascular function evaluation	Yes	Monkeys	[6901245]	3 M 3 F	0, 0.2, 0.5, 1.5	[2.6.3.4]
Repeat-dose cardiovascular function evaluation was assessed as part of the GLP-compliant 4- and 26-week repeat-dose toxicity studies in monkeys						NA
Pharmacodynamic Drug Interactions - No studies performed						
Pharmacokinetics						
Absorption (IV and SC Administration)						
PK was assessed as part of in vivo single-dose pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluations in rats and monkeys						[2.6.5.3]
Distribution – No studies performed						
Metabolism						
In vitro and in vivo metabolite analysis in plasma	No	NA	[MK1704031]	NA	NA	NA
Metabolism was assessed as TK analysis in the 4-week dose-range-finding toxicity studies in rats and monkeys and the GLP-compliant embryo-fetal development study in rabbits						[2.6.5.9]
Excretion – No studies performed						
Toxicology						
Single-Dose Toxicity Studies - No studies performed						
Repeat-Dose Toxicity Studies (SC Administration)						
4-week dose-range-finding toxicity	No	Rats	[redacted]	escalating phase; 3 repeat dose phase; 6	10, 30, 60 and 120	[2.6.7.6] ([2.6.5.4.1] [d])
4-week repeat-dose	Yes	Rats	[6700371]	10 (5/9)	0, 10, 30	[2.6.7.7.1]

Description	GLP	Test System	Study No.	N/group/sex[a] (recovery/TK)	Dose Levels [µg PTH(1-34)/kg/day]	Tabulated Summary
toxicity with 2 weeks recovery					and 60	([2.6.5.4.2] [d])
26-week repeat-dose toxicity with 6 weeks recovery	Yes	Rats	[6700386]	12 (10/18)	0, 2, 5, 10 and 20	[2.6.7.7.2] ([2.6.5.4.3] [d])
4-week dose-range-finding toxicity	No	Monkeys	[redacted]	1	0.2, 0.5, 1.0 and 2.0/1.5[e]	[2.6.7.6] ([2.6.5.4.4] [d])
4-week repeat-dose toxicity with 2 weeks recovery [f]	Yes	Monkeys	[6700372]	3 (2/-)	0, 0.2, 0.5 and 1.5	[2.6.7.7.3 ([2.6.5.4.5] [d])
26-week repeat-dose toxicity with 13 weeks recovery [g]	Yes	Monkeys	[6700387]	4 (2/-)	0, 0.2, 0.5 and 1.5/1.0[g]	[2.6.7.7.4] ([2.6.5.4.6] [d])
Genotoxicity Studies						
Bacterial reverse mutation assay [h]	Yes	E. coli and S. typhimurium	[9601550]	NA	1.58 -5,000 µg palopegteriparatide/plate[i]	[2.6.7.8.1]
Mammalian chromosome aberration assay [h]	Yes	Human peripheral blood lymphocytes	[9601551]	NA	0.98 -500 µg palopegteriparatide/mL[i]	[2.6.7.8.2]
Bone marrow micronucleus was assessed as part of the GLP-compliant 4-week repeat-dose toxicity study in rats						[2.6.7.9]
Carcinogenicity Studies - No studies performed						
DART Studies (SC Administration)						
Female fertility and early embryonic development	Yes	Rats	[9000921]	22 F[j]	0, 2, 6 and 20	[2.6.7.12.1]
Male fertility and early embryonic development	Yes	Rats	[9001130]	22 M[k]	0, 2, 6 and 20	[2.6.7.12.2]
Embryo-fetal development (preliminary assessment)	No	Rats	[redacted]	6 (-/3) F[l]	0, 2, 10 and 30	[2.6.7.11] ([2.6.5.7.1] [d])
Embryo-fetal development	Yes	Rats	[9000923]	20 F	0, 2, 8 and 30	[2.6.7.13.1]
Embryo-fetal development (preliminary assessment)	No	Rabbits	[redacted]	5 F	0, 1, 3 and 10	[2.6.7.11] ([2.6.5.7.2] [d])
Embryo-fetal development	Yes	Rabbits	[9000925]	20 F	0, 1, 3 and 6	[2.6.7.13.2] ([2.6.5.7.3] [d])
Pre and postnatal development	Yes	Rats	[redacted]	22 F	0, 5, 10 and 20	[2.6.7.14.1]
Local Tolerance (SC Administration)						
Local tolerance was assessed as part of repeat-dose toxicity studies in rats and monkeys						NA

Description	GLP	Test System	Study No.	N/group/sex[a] (recovery/TK)	Dose Levels [µg PTH(1-34)/kg/day]	Tabulated Summary
and in DART studies in rats and rabbits						
Other Toxicity Studies						
In silico (QSAR) analysis of TransCon Linker	No	NA	[redacted]	NA	NA	[2.6.7.17]

a No. of animals in dosing period
b Recombinant human PTH1R protein
c PK samples were collected as part of Study No. 171929 but were analyzed and reported in Study No. [redacted]
d Reference to TK data in Module 2.6.5
e 2.0 was reduced to 1.5 µg PTH(1-34)/kg on Day 5 as a preventive measure
f Cardiovascular function evaluation was included
g 1.5 was reduced to 1.0 µg PTH(1-34)/kg on Day 25/26 as a preventive measure
h In vitro genotoxicity assessment was performed using palopegteriparatide incubated beforehand at physiological pH and temperature, whereby the test article contained both palopegteriparatide and products generated after auto-cleavage.
i Dose level expressed as palopegteriparatide drug substance prior to incubation
j Study also included 22 proven breeder males/group, which were not administered palopegteriparatide
k Study also included 22 palopegteriparatide naïve females/group, which were not administered palopegteriparatide
l Study also included 3 F for PD sampling
DART = developmental and reproductive toxicity; GLP = good laboratory practice; HEK293 = human embryonic kidney 293; IV = intravenous; NA = not applicable; PTH1R = parathyroid hormone 1 receptor; SC = subcutaneous; TBD = to be decided; TK = toxicokinetic(s); TPTx = thyroparathyroidectomized; QSAR = quantitative structure-activity relationship.

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 における効力を裏付ける試験

表面プラズモン共鳴分析を用いた in vitro の検討により、プロドラッグの PTH1R への結合親和性は非常に低いことが確認された。一方、パロペグテリパラチドから遊離した PTH(1-34)は、PTH(1-34)の標準品と同等の親和性で PTH1R に結合した。品質試験の一環で実施した、PTH1R を過剰発現したヒト胎児腎由来細胞株 HEK293 を用いた検討において、パロペグテリパラチドから遊離した PTH(1-34)は、PTH(1-34)標準品と同程度の活性を示した［3.2.S.3.1 項］。また、PTH1R を過剰発現した HEK293 に対する主代謝物である PTH(1-33)の活性は、PTH(1-34)標準品と同程度であった。これらの結果から、パロペグテリパラチドから遊離された PTH は、内因性 PTH と同等の活性を有していることが裏付けられた。

2.4.2.1.2 in vivo における効力を裏付ける試験

正常動物（すなわち副甲状腺機能が正常な動物）を用いた単回投与の PK/PD 試験において、パロペグテリパラチドは、ラットに対して血漿カルシウム濃度を軽度に増加させ、サルに対して、血漿カルシウム濃度を増加させる効果を有することが示された。また、サルでのカルシウムの尿中排泄量は、パロペグテリパラチドの静脈内投与後 24 時間以内及び皮下投与後 72～96 時間で増加した。甲状腺副甲状腺摘出（TPTx）ラットは、低カルシウム血症、高リン血症、$1,25(OH)_2D_3$ の

生合成抑制、及び低骨代謝回転による骨の高石灰化の各症状を呈する副甲状腺機能低下症の動物モデルである。本モデルを用いて、4 週間の有効性確認試験を実施した。TPTx ラットにパロペグテリパラチドを連日投与すると、血清中カルシウム及びリン濃度が 24 時間にわたり正常化し、血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性が回復した。血清カルシウム濃度は、試験期間を通じて、正常範囲内又はわずかに正常範囲を上回るレベルで推移し、投与開始後 12 日以内に初期の尿中カルシウム排泄量の増加がみられた後は、尿中カルシウム排泄量は偽手術対照群と同程度であった。$1,25(OH)_2D_3$ の血中濃度は、パロペグテリパラチドを連日投与したにもかかわらず、TPTx ラットの大部分では検出できなかった。さらにパロペグテリパラチドは、骨代謝回転を亢進させ、骨密度（BMD）を低下させた。海綿骨の骨リモデリングのバランスが骨吸収に傾いた結果、試験終了時には同一週齢の偽手術ラットと比較して、海綿骨の BMD と骨量が有意に減少した。骨代謝マーカーの経時的変化から、骨量減少は投与 11 日頃にピークに達する初期の現象である可能性が示された。このことは、投与 4 週時点で実施した骨形態計測において、骨吸収を表すパラメータが非病態群と同程度であったのに対し、骨形成を表すパラメータが著しく高値であったことからも裏付けられた。パロペグテリパラチドの投与によって生じた骨代謝回転の亢進と海綿骨の骨量減少は、生理的濃度を超える PTH に曝露し続けた場合に報告されている薬理作用の過剰発現[7) 8) 9)]と一致しており、TPTx により内因性のカルシトニン産生が欠乏していることが、その強い作用の一因となっている可能性がある。生理的濃度では、PTH は血中カルシウム濃度の恒常性維持の一部として骨リモデリングを促進する。パロペグテリパラチドは、副甲状腺機能低下症の患者において、PTH を補充することにより血清カルシウム及びリン濃度を正常化することを目的とした臨床使用を想定していることから、その結果としてもたらされる PTH 曝露は、この患者集団に特徴的な骨代謝の低下及びそれに伴う非リモデリング骨及び高石灰化骨の蓄積を回復させることが期待される。

2.4.2.2　安全性薬理試験

パロペグテリパラチドの分子量（47.4 kDa）及び PTH(1-34)の高い標的特異性により、急速活性型遅延整流カリウム電流（I_{Kr}）の阻害に関する in vitro 評価は必要ないと考えられた。一般に、大きな分子は、細胞内への浸透が限られているため、ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子（hERG）がコードするチャネルタンパク質の結合部位には到達しないと考えられる[10)]。PTH は PTH 特異的受容体にのみ結合することが報告されていることから[11)]、パロペグテリパラチドは特異性の高い標的分子と考えられる。

パロペグテリパラチドをラットに 60 µg PTH(1-34)/kg（試験した最高用量）以下の用量で単回皮下投与した結果、神経行動及び呼吸系機能に対する影響は認められなかった。サルでは、1.5/1.0 µg PTH(1-34)/kg（試験した最高用量）以下のパロペグテリパラチドを 1 日 1 回、最長 26 週間反復投与しても、心血管系機能への影響は認められなかった。また、TransCon リンカーの in silico 評価では、心毒性、肺毒性、神経毒性に関連する警告構造は認められなかった。

2.4.3 薬物動態試験

2.4.3.1 分析法

非臨床試験におけるパロペグテリパラチドの PK、TK 及び代謝を評価するため、分析法を開発した。分析対象物質を、その定義及び測定原理も含めて表 2.4-2 に示す。

表 2.4-2 パロペグテリパラチドの PK、TK 及び代謝評価に用いた分析対象物質及びその説明

Analyte	Measure of	Minor Contributions from	Measured as
Total PTH	PTH [PTH(1-34) and PTH(1-33)] in the prodrug in the systemic circulation. Used as surrogate measure of the prodrug concentration[a]	All forms of released and endogenous PTH	Signature peptide 1 after proteolytic digestion of the sample
Total PTH(1-34)	PTH(1-34) in the prodrug in the systemic circulation	PTH(1-34) released from the prodrug	Signature peptide 2 after proteolytic digestion of the sample
Total PTH(1-33) [b]	PTH(1-33) in the prodrug in the systemic circulation	PTH(1-33) released from the prodrug and PTH(1-33) generated from metabolism of the released PTH(1-34)	Signature peptide 3 after proteolytic digestion of the sample
Free PTH(1-34)	PTH(1-34) released from the prodrug	-	Intact peptide PTH(1-34)
Free PTH(1-33)	PTH(1-33) released from the prodrug	PTH(1-33) generated from metabolism of the released PTH(1-34)	Intact peptide PTH(1-33)
Free PTH[c]	Sum of Free PTH(1-34) and Free PTH(1-33)	-	-
mPEG	mPEG bound in the prodrug as well as the mPEG carrier remaining in the circulation after release of PTH	-	mPEG-specific fragment ion after sample hydrolysis
mPEG-linker[d]	mPEG bound in the prodrug as well as the mPEG carrier remaining in the circulation after release of PTH	-	mPEG-linker-specific fragment ion after sample hydrolysis

a Concentration of Total PTH is measured in PTH equivalents, corresponding to approximately 10% of total prodrug in terms of molecular weight ［3.2.S.1.3 General Properties］

b Used only for metabolism assessment, exploratory method

c Calculated value

d Exploratory method used to verify that the linker moiety remained attached to the mPEG after release of PTH

総 PTH、総 PTH(1-34)、総 PTH(1-33)、遊離 PTH(1-34)、遊離 PTH(1-33)、mPEG 及び mPEG-リンカーの血漿中濃度を、超高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法により測定した。表 2.4-2 に示したものに加えて、血漿中の内因性 PTH(1-84)は、リガンド結合測定法（すなわち、酵素免疫測定法）により定量した。さらに、非臨床反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験の妥当性を支持するため、電気化学発光免疫測定法を用いて、血清中の抗 PTH 抗体（ラット、サル及びウサギ）及び抗 PEG 抗体（サルのみ）を検出し、曝露量に対する抗抗体の影響を明らかにした。

2.4.3.2 吸収、分布、代謝及び排泄

パロペグテリパラチドの PK は、雄のラット及びサルを用いた単回投与 PK/PD 試験で評価した。ラット及びサルにおける SC 投与後の総 PTH の平均バイオアベイラビリティはそれぞれ 28%及び 76%であった。総 PTH 及び総 PTH(1-34)の分布容積は、ラットでそれぞれ 49.6 及び 60.8 mL/kg、サルでは 55.4 及び 62.2 mL/kg であり、プロドラッグは主に血管内に局在していることが示された。

定常状態のラットでは、PTH(1-34)の約 20%が同等の効力を持つ主代謝物 PTH(1-33)に代謝された。サルでは代謝率は高く、約 60%が PTH(1-33)に代謝された。ウサギでは代謝率は低く、PTH(1-34)の 4%だけが PTH(1-33)に代謝された。

ラット及びサルの投与 182 日の血中における定常状態での mPEG-リンカー及び mPEG の濃度は同程度であり、パロペグテリパラチドの自己切断後もリンカー分子が mPEG-キャリアに結合したままであることが示唆された。PEG の代謝はヒト及び動物において類似しており、代謝の程度は分子量に依存し、5 kDa を超える PEG 分子はほとんど又は全く代謝されない [12)]。PEG のメトキシル化（パロペグテリパラチドの mPEG 部分と同様）は PEG の特性を変化させないと考えられる [13)]。PEG と同様に、mPEG はほとんど代謝されず、主に尿中に未変化体として排泄されると推測される [13)]。

2.4.3.3 トキシコキネティクス評価

ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験において、投与 182 日での最高血漿中濃度到達時間（t_{max}）は、総 PTH 及び mPEG では投与後 4～24 時間及び遊離 PTH では投与後 2 時間であった。総 PTH、遊離 PTH 及び mPEG の最高血漿中濃度（C_{max}）及び 0～24 時間の血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24h}$）は用量に比例して増加した。半減期は総 PTH で約 24 時間、遊離 PTH で 23 時間及び mPEG で 375 時間であった。投与 182 日には、すべての測定対象物質で持続的静脈内投与のようなプロファイルを示し、おおむねピーク対トラフ比は 3 未満であった。曝露量は総 PTH 及び mPEG が雄ラットと比較して雌ラットでは高い傾向にあったが、遊離 PTH ではその程度は低かった。抗 PTH 抗体は 320 例中 4 例で検出された（2 試料が初回投与前に採取され、2 試料が回復期間終了時に採取された）。抗 PTH 抗体は遊離 PTH 及び総 PTH の曝露量に影響を与えなかったことから、試験全体の妥当性が確認された。

サルを用いた 26 週間反復投与毒性試験では、曝露量に性差は認められなかったことから、雄及び雌の TK データを統合した。総 PTH 及び mPEG の全身曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）は、おおむね用量に比例して増加した。投与 182 日に測定した総 PTH、遊離 PTH 及び mPEG の t_{max} は、投与

後 2～8 時間であった。半減期は総 PTH が約 37 時間、mPEG 及び mPEG-リンカーが 72～109 時間であった。定常状態では、すべての測定対象物質で持続的静脈内投与のようなプロファイルを示し、おおむねピーク対トラフ比は 3 未満であった。パロペグテリパラチドを投与した 35 例のサルのうち、高用量［1.5/1.0 μg PTH(1-34)/kg/日］を投与した雌のサル 1 例だけが抗 PTH 抗体陽性を示し、投与 91 日から 182 日にかけて抗体価が増加した（それぞれ 200 から 1600）。その結果、この雌サルにおける総 PTH 及び mPEG の曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）は、抗 PTH 抗体陰性動物と比較してわずかに高かった。遊離 PTH の場合、曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$）は、同じ投与用量群の抗 PTH 抗体陰性動物と比較して顕著に高く（最大 170 倍）、投与 91 から 182 日まで増加した。抗 PTH 抗体の存在は試験全体の妥当性に影響を与えなかった。サルでは抗 PEG 抗体は検出されなかった。

胚・胎児発生試験では、妊娠ラットにおける総 PTH の全身曝露量は、非妊娠ラットと同程度であった。出生前後試験では、妊娠及び授乳期間中のラットにおける総 PTH の全身曝露量は、非妊娠ラットと同程度あり、授乳期間中のラットにおける遊離 PTH の全身曝露量は、非妊娠及び非授乳期よりも低い傾向が認められた。妊娠ウサギにおける総 PTH 及び遊離 PTH の TK 評価では、持続的な曝露が明らかとなり、胚・胎児の器官形成に重要な発生段階における曝露を確認した。ウサギにおける総 PTH 及び遊離 PTH(1-34)の全身曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24h}$）は用量に比例して増加した。抗 PTH 抗体は 60 例中 25 例のウサギで検出された。抗 PTH 抗体陽性のウサギでは、曝露量は総 PTH が減少し、遊離 PTH(1-34)が増加した。抗 PTH 抗体はすべての用量で存在し、抗 PTH 抗体陽性動物でも曝露量が確認されたため、試験結果に影響を及ぼさないと考えられた。

2.4.4 毒性試験

2.4.4.1 反復投与毒性試験

反復投与毒性試験において、パロペグテリパラチドを 26 週間まで連日皮下投与した場合の無毒性量（NOAEL）は、ラットで 10 μg PTH(1-34)/kg/日、サルで 0.5 μg PTH(1-34)/kg/日であった。ラット及びサルを用いた 26 週間反復投与毒性試験で試験された最高用量（それぞれ 20 及び 1.5/1.0 μg PTH(1-34)/kg/日）及びその他の非臨床試験でオフターゲット毒性は認められなかった。サルでは、動物の死亡回避のための予防措置として高用量の 1.5 μg PTH(1-34)/kg/日を投与 25/26 日に 1.0 μg PTH(1-34)/kg/日に減量した。これは、投与 24 日に雌 1 例が死亡したこと（パロペグテリパラチドとの関係は否定できない）及びこの投与群で血清カルシウム濃度が正常範囲を上回り持続的に上昇したためである。これら及び非臨床試験におけるすべての毒性所見は、正常動物が生理的濃度を超える PTH に持続的に曝露されたことによる用量依存的な薬理作用の過剰発現によるものと考えられた。副甲状腺機能低下症の患者に対する補充療法としてパロペグテリパラチドを使用することを考慮すると、正常動物における薬理作用の過剰発現は、臨床的に意味のあるものとは考えられなかった。

2.4.4.1.1 カルシウム及びリンの恒常性

非臨床試験において、血清カルシウム濃度の用量依存的かつ可逆的な増加が認められた一方、尿中カルシウム排泄量は対照群と比較して変化しなかったことから、カルシウム濃度の恒常性に

対するパロペグテリパラチドの薬理作用が確認された。すべての動物種において最高用量で認められたカルシウム濃度の恒常性に対する薬理作用の過剰発現は用量制限毒性であり、この用量制限毒性として死亡／安楽殺に至る可能性がある顕著な持続性高カルシウム血症、一般状態変化（活動性の低下、呼吸の異常、脱水、円背位、筋緊張の低下）、体重減少及び軟部組織の石灰化が認められた。軟部組織の石灰化は、主に腎臓（特に雌動物）で認められたが、大動脈、副腎、心筋、肝臓、肺、膵臓、胃、小腸及び大腸でもみられた。概して、ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験において、用量依存的かつ可逆的な血清リン濃度の低下がみられた（ウサギでは測定していない）。サルでは、血清リン濃度の減少は、尿中リンの分画排泄量の一過性の増加と関連していた。ラット及びサルにおいて内因性 PTH(1-84)濃度の抑制が認められ、雄ラットよりも雌ラットでより抑制される傾向があった。カルシウム、リン及び内因性 PTH(1-84)の濃度は 13 週までの休薬期間中に正常化したことから、カルシウム及びリン恒常性に対する作用は可逆的であると考えられた。この所見は、PTH の薬理作用 [14) 15)] の過剰発現と考えられる。注目すべき点として、承認されている 2 つの PTH アナログ Natpara® ［ヒト遺伝子組換え（rh）PTH(1-84)[注1)] ; [16) 17)]］及び Forteo® ［rhPTH(1-34) [注2)] ; [18) 19)]］の非臨床試験においても、カルシウム及びリン恒常性の変化及び軟部組織の石灰化が認められている。

2.4.4.1.2　骨端軟骨

ラットを用いた反復投与毒性試験において、成長板（骨端軟骨）に薬理作用の過剰発現が認められた。薬理作用の過剰発現に関連する所見は、毒性所見として異形成（26 週間反復投与毒性試験の 20 μg PTH(1-34)/kg/日投与のみ）及び非毒性所見として骨端軟骨の肥厚であった。骨端軟骨への影響は 6 週間の回復期間終了時に変化の発生率及び程度が低下していたことから可逆的なものであった。PTH1R は骨端部に存在し、長骨の成長に必要不可欠な役割を果たしていることから [20) 21) 22)]、これらの所見は、この受容体を介した PTH の薬理作用の過剰発現に関連していると考えられた。サルでは、パロペグテリパラチド投与に関連した骨端軟骨への影響は認められなかった。

2.4.4.1.3　骨代謝

パロペグテリパラチドのラットを用いた反復投与毒性試験の 5 μg PTH(1-34)/kg/日以上の用量で、薬理作用の過剰発現による非毒性所見として骨代謝の増加が用量依存的に認められ、この所見は可逆的なものであった。この骨代謝の増加は、低用量ではおおむね正味の骨異化作用が誘導され、高用量ではおおむね正味の骨同化作用が誘導された。正味の骨異化作用は、5 μgPTH(1-34)/kg/日投与時に雌雄で、10 μg PTH(1-34)/kg/日投与時に雌で発現した。正味の骨同化作用は、10 μg PTH(1-34)/kg/日投与時に雄で、20 μg PTH(1-34)/kg/日投与時に雌雄で認められ、雌に比較し雄でより顕著であった。したがって、雌ラットは骨異化反応が発現しやすく、雄ラットは骨同化反応が発現しやすいと考えられた。骨代謝に性差が認められ、PTH への持続的な曝露が雌の骨異化作用を促進するという報告があり [23) 24)]、パロペグテリパラチドを投与したラットで認められた骨代謝への影

注1) 米国では Natpara、欧州では Natpar として承認された。本 CTD では Natpara と表記する。
注2) 米国では Forteo、欧州では Forsteo として承認された。本 CTD では Forteo と表記する。

響はこの文献報告と一致するものであった。雌ラットにパロペグテリパラチドを 10 μgPTH(1-34)/kg/日で投与した反復投与毒性試験の結果から、正味の骨異化作用は主に投与後 4 週間以内に生じたのに対し、雄に 10 μg PTH(1-34)/kg/日を投与した場合に認められたような正味の骨同化作用は主に投与後 4 週間から 13 週間の間に発現した。その後、正味の骨異化作用及び骨同化作用に続いて、安定したバランスのとれた骨代謝がみられた。骨がリモデリングされる際、骨吸収が骨形成に先行することから、骨リモデリングの初期段階において骨吸収が支配的となることが想定される[25]。パロペグテリパラチドのラットを用いた反復投与毒性試験の回復期間終了時、骨代謝の増加を表すパラメータはおおむね回復過程又はリバウンド様作用（例えば、腰椎 BMD の減少が対照群と比較すると増加に転じる）のいずれかを示した。回復期間終了時にみられたこの作用は、PTH に曝露され続けた後では蓄積した骨芽細胞がもはや骨芽細胞以前の状態（非石灰化状態）で停止していないため、骨の成熟サイクルを終了させることができる正常な副甲状腺機能状態が再確立されるという報告[26][27]に一致する。一方、サルでは、パロペグテリパラチドの 26 週間反復投与毒性試験において、最高用量において皮質骨 BMD の減少傾向が認められた。サルでは他の骨代謝マーカーには影響はなかったが、BMD の減少傾向は皮質骨に対する PTH の既知の骨吸収作用と一致するものであった。注目すべき点は、承認されている 2 つの PTH アナログ[17][19]の非臨床試験においても、骨代謝の変化が認められていることである。

2.4.4.1.4 曝露及び免疫原性

総 PTH、mPEG 及び遊離 PTH の全身曝露はおおむね雄ラットに比較し雌ラットで高い傾向があった。この傾向は、主要な PD マーカーである血清カルシウム濃度には顕著な影響を及ぼさず、その値は雌雄で同程度であった。血清カルシウム濃度の上昇に対する代償反応における性差の可能性については、内因性 PTH(1-84)の抑制が雌でより顕著であったこと、腎臓の石灰化の増加が主に雌でみられること及び骨に対する正味の同化作用が雌に比較し雄で低用量から発現することが挙げられた。ラットについてはパロペグテリパラチド投与に関連した変化で性差が疑われるものは他に認められず、サルについてはいずれの変化においても性差はみられなかった。

抗 PTH 抗体は、26 週間反復投与毒性試験において、ラットでは 320 例中 4 例、サルでは 36 例中 1 例に認められた。抗 PTH 抗体が陽性となった動物の数は少なく、陽性となった動物について同じ用量の他の動物と比較した場合、薬力学的反応に意義のある差は認められなかったため、抗 PTH 抗体は試験の全体的な妥当性と結論に影響を及ぼすものではないと考えられた。

2.4.4.2 遺伝毒性

標準的組合せの遺伝毒性試験でパロペグテリパラチド及び自己切断による生成物を評価した結果、遺伝毒性は認められなかった。in vitro 遺伝毒性試験として実施した試験の最高処理濃度は、細菌を用いる復帰突然変異試験では 5000 μg パロペグテリパラチド/plate、哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験では、500 μg パロペグテリパラチド/mL であった。in vivo 遺伝毒性試験として骨髄小核試験をラット 4 週間反復投与毒性試験の中で実施し、最高用量は 60 μg PTH(1-34)/kg/日

であった。さらに、TransCon リンカーの in silico 評価では、遺伝毒性及び非遺伝毒性発がん性並びに遺伝毒性に関連する警告構造は認められなかった。

2.4.4.3 がん原性

科学的根拠の重要度（weight of evidence）に基づく発がん性評価では、パロペグテリパラチド、PTH(1-34)及び mPEG に結合した TransCon リンカーは、発がん性リスクがないことを裏付ける結果となった。

医薬品として既に承認されている短時間作用型 PTH アナログである Forteo 及び Natpara は、ラットを用いたがん原性試験における骨肉腫の発生に基づき、米国では枠囲み警告が付されているか[28]、過去に付されていた[29]。EU では、短時間作用型 PTH アナログの医薬品市販承認取得者は、骨肉腫の発生を評価するために承認後試験を実施する義務がある[16][18]。しかし、その他の動物種や慢性副甲状腺機能亢進症などでみられるような生理的濃度以上の PTH に長期間曝露されたヒトにおいて、PTH によって骨肉腫が誘発されるという証拠はない[30][31]。同様に、Forteo で最長 2 年間治療された骨粗鬆症患者において骨肉腫の発生率が増加することはない[32][33][34][35][36][37][38]。

非臨床試験におけるパロペグテリパラチドの骨への作用はすべて、生理的濃度を超える PTH に曝露され続けたことによる薬理作用の過剰発現によるものと考えられた。パロペグテリパラチドを用いた第 II 相及び第 III 相臨床試験（[TCP-201]、[TCP-304]）では、正味の骨同化作用は認められず、むしろ、骨代謝亢進の初期段階として骨吸収と骨形成のバランスが骨吸収側で優勢であることが示された。この初期段階の後、骨代謝マーカーは年齢及び性別を考慮した標準値に向かって徐々に減少する傾向にあった。これに伴い、BMD の平均 Z スコアは、慢性副甲状腺機能低下症に特徴的な高ミネラル化及び高成熟の骨状態とは逆に年齢及び性別で予想される標準値に向かって低下した。したがって、PTH(1-34)単独ではヒトにおける骨肉腫のリスクは認められていないことに加え、パロペグテリパラチドは生理的な PTH レベルの維持を達成し、骨代謝を正常化する補充療法であり、一般的なヒト集団での骨肉腫リスクを上回るものではないと考えられる。

担体である mPEG には変異原性も発がん性もないため、発がん性のリスク要因ではないと考えられた[12][39]。また、医薬品の PEG 修飾は 30 年以上使用された手法であり、現在までのところ入手可能な高分子量の PEG に関する安全性情報では、ヒト及び動物における長期（慢性）使用における安全性に関する懸念は示されていない[40][41][42]。さらに、TransCon リンカーの in silico 評価では、がん原性に関する警告構造は認められなかった。

したがって、FDA（2019 年 6 月 27 日付 FDA 電子メール：SN0012）CHMP（EMA/CHMP/SAWP/277942/2019）及び PMDA（相談受付番号：#P6036、議事録日付：令和 2 年 9 月 17 日、薬機審長発第 0917004 号）との合意により、パロペグテリパラチドのげっ歯類を用いたがん原性試験は実施しなかった。

2.4.4.4 生殖発生毒性

生殖発生毒性試験では、最高用量群（ラットでは 30 µg PTH(1-34)/kg/日、ウサギでは 6 µg PTH(1-34)/kg/日）で母動物に毒性がみられた。母動物にみられた所見は反復投与毒性試験で認められた

ものと同様、パロペグテリパラチドの薬理作用の過剰発現に関連しており、安楽殺に至る持続性高カルシウム血症、一般状態の変化（活動性の低下、呼吸異常、脱水、円背位）及び体重減少並びに心筋、肺、大動脈、腎臓及び胸腔における軟部組織の石灰化又は壊死といった肉眼的病理変化が観察された。出生前後試験では、最高用量群（20 μg PTH(1-34)/kg/日）で血清カルシウム濃度の増加が観察された。パロペグテリパラチドに関連する受胎能及び初期胚発生、胚・胎児発生並びに出生前後の発生・発育への影響は認められなかった。受胎能試験、胚・胎児発生試験及び出生前後試験の試験成績、mPEG に結合した TransCon リンカーの生殖リスク評価、既知の母体における高カルシウム血症の生殖リスク及び循環 PTH レベルを正常な生理学的範囲内に維持する補充療法としてのパロペグテリパラチドの臨床使用に基づくと、パロペグテリパラチドが生殖発生毒性を引き起こす可能性は低いと考えられる。また、TransCon リンカーの in silico 評価では、生殖発生毒性の可能性を示唆する警告構造は認められなかった。

2.4.4.5　局所刺激性

独立した局所刺激性試験は実施していない。反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験において、パロペグテリパラチドに関連した投与部位の変化は認められなかった。

2.4.4.6　添加剤及び製剤

パロペグテリパラチド製剤［3.2.P.1 Description and Composition of the Drug Product］に含まれる添加剤（コハク酸、水酸化ナトリウム、D-マンニトール及び *m*-クレゾール）は、副甲状腺機能低下症の患者に使用することが許容されると考えられた。

添加剤の評価は、最大推奨臨床用量における用量あたりの最大添加剤濃度に基づいている。すべての添加剤は不活性成分と位置付けられており（FDA Inactive Ingredient List）、過去の使用実績として報告されている製剤中の最大濃度は副甲状腺機能低下症の患者がパロペグテリパラチド製剤で曝露される濃度を上回る（FDA Inactive Ingredient List）。また、*m*-クレゾール以外のすべての添加剤は、”Select Committee on General Recognized as Safe Substances (SCOGS) type 1”として”Generally Recognized as Safe” (GRAS）に指定されている。

m-クレゾールは承認済みの非経口医薬品（例えば、Apidra[43) 44)]）にも添加されており、副甲状腺機能低下症の患者がパロペグテリパラチド製剤で曝露される以上の濃度で使用されている。

また、すべての添加剤は、厚生労働省通知に基づく「医薬品添加物辞典 2021」に掲載されており、最大推奨臨床用量における添加剤の各々の投与量は、その最大使用量未満であった。

さらに、すべての添加剤は、主要な非臨床毒性試験で使用した製剤に同程度又は同等以上の濃度で含まれていた。

以上のように、パロペグテリパラチド製剤の添加剤の安全性は適正に評価されており、最大推奨臨床用量における皮下投与に許容できるものと考えられた。

2.4.4.7 規格の許容基準及び不純物

重要な非臨床試験に用いたバッチと臨床試験に用いたバッチは、同等の品質を有しており、商業バッチの代表と考えられる（[3.2.S.3.2 Impurities］及び［3.2.S.4.4 Batch Analyses]）。

パロペグテリパラチド製剤のプレフィルドペンに含まれる不純物の許容基準［3.2.P.5.6 Justification of Specifications］及び原薬の許容基準［3.2.S.4.5 Justification of Specification］は、主に重要な試験であるラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験（試験番号 6700386）の結果に基づく非臨床安全性評価により妥当なものであると考えられた。該当する不純物は、総不純物、高分子量分子種（HMWS）、遊離 PTH(1-34)の総不純物並びに遊離 PTH(1-34)の不純物である[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]及び[redacted]である。使用期限（EOSL）の許容基準に達したパロペグテリパラチドを副甲状腺機能低下症の患者に最大推奨臨床用量である 60 μg PTH(1-34)/日の用量で投与した場合と比較して、動物では同等又は同等以上の不純物が投与されている。

プレフィルドペンに充填したパロペグテリパラチド製剤中の不純物として、遊離 PTH(1-34)を 1.7%以下とする許容基準は、全身循環中の遊離 PTH の曝露評価に基づいて妥当と判断された。皮下投与後のヒトにおける遊離 PTH の曝露は、製剤中の遊離 PTH(1-34)が 1.7%以下であっても、プロドラッグから放出される遊離 PTH の PK パラメータ（AUC 及びピーク－トラフ比）を実質的に変化させない。

以上より、パロペグテリパラチドの規格・承認基準の策定は妥当であると考えられる。

2.4.5 総括及び結論

PTH の作用機序と一致して、パロペグテリパラチドは、正常ラット、サル、及びウサギを用いた単回投与 PK/PD、反復投与毒性及び生殖発生毒性試験において、血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性を維持する薬理作用を示した。さらに、副甲状腺機能低下症の疾患モデルである TPTx ラットでは、24 時間にわたり血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性が回復し、意図した薬理作用が確認された。

正常動物及び副甲状腺機能低下動物の両方で観察された急性のカルシウム尿反応は、腎臓における PTH のカルシウム保持特性を超えたカルシウムろ過量の増加を反映していると考えられる。TPTx ラットでは、多量のカルシウムが高石灰化骨に貯蔵されているため、骨からの寄与がこのろ過量を増強したと考えられる。同様に、パロペグテリパラチドを投与した TPTx ラットで $1,25(OH)_2D_3$ の生合成が明らかに回復しなかったのも、選択した用量では PTH が生理的濃度を超えていたことによる代償機構を反映したものと思われる。$1,25(OH)_2D_3$ の内因性濃度の用量依存的な減少は、パロペグテリパラチドを投与した健康被験者でも認められた［2.7.2.3.2.3.3 項］。総じて、動物試験で認められた血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性に対する作用は、パロペグテリパラチドを副甲状腺機能低下症の患者に補充療法として連日投与すると、腎におけるカルシウムの保持及び PTH 依存性の内因性ビタミン D 合成を含む血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性が回復したことを示す臨床試験の結果と一致している（[2.7.3.3.2.3 項]、[2.7.3.3.2.4 項]）。

反復投与毒性試験において、パロペグテリパラチドは骨代謝を増加させた。低用量における骨代謝の増加は、正常ラット及び TPTx ラットに対し投与 4 週以内に正味の骨異化作用をもたらした。正常ラットにおける正味の骨異化作用は、投与 4 週間以降、増強しなかった。サルでは、骨異化作用の可能性が、pQCT による皮質骨 BMD の減少傾向として 26 週間反復投与毒性試験の最高用量でのみ認められた。TPTx ラットでは、生化学的マーカー及び骨形態計測から、海綿骨の減少は投与初期である投与 11 日頃にピークとなる可能性があることを裏付ける結果となった。TPTx ラットのような副甲状腺機能低下状態に対して生じる骨吸収が支配的な初期段階は、蓄積した非リモデリング骨及び高石灰化骨を置換することにより、正常な骨特性を回復するための意図されたプロセスの一部でもある。さらに、初期にみられる正味の骨異化作用と、それに続く安定した骨代謝への移行は、パロペグテリパラチドによる治療を受けた副甲状腺機能低下症患者で得られた成績と一致していた。第 II 相及び第 III 相臨床試験（[TCP-201]、[TCP-304]）における骨代謝マーカーの経時変化から、薬剤介入の初期段階において骨吸収優位な骨代謝の活性化が認められ、第 12 及び 26 週にピークに達した後、第 58 週にかけて年齢及び性別に応じた正常値範囲へと徐々に低下する傾向がみられた［2.7.3.3.2.6 項］。また、BMD の平均 Z スコアの経時変化は、26 週にかけて性別及び年齢に応じた正常範囲に向けて低下し、その後 58 週にかけて一定となった［2.7.3.3.2.7 項］。ラットの反復投与毒性試験における高用量では、骨代謝の増加により正味の骨同化作用が認められた。この反応は、副甲状腺機能低下症の患者において、生理的濃度を超える PTH［最大推奨臨床用量；60 µg PTH(1-34)/日における推定遊離 PTH 曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max}）の少なくとも 4.8 倍］に、持続的に曝露されることによる薬理作用の過剰発現と一致した（表 2.4-3）。正味の骨同化作用は、副甲状腺機能が正常なラットにおいて、最大推奨臨床用量で推定される臨床的曝露量をはるかに上回り、生理的濃度を超える PTH の曝露においてのみ生じたため、この作用は臨床的に意味のあるものではないと考えられる。

表 2.4-3　遊離 PTH 曝露量比：NOAEL 及び NOEL におけるラット、ウサギ及びサルの曝露量並びに最大推奨臨床用量又は類似用量におけるヒトの曝露量

Species	Animal Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	Human Dose [µg PTH(1-34)/day]	Exposure Ratio	
			AUC_{0-24h}	C_{max}
Safety Pharmacology, Single-Dose (NOEL)				
Rat (M)	60	72[a]	7.3	24.1
Monkey (M)	1.5		NA	2.6
Safety Pharmacology, 4 and 26-Weeks Repeat-Dose (NOEL)				
Monkey (M+F)	1.5[b]	60[c]	0.68	0.84
	1.0[d]		0.82	0.98
Toxicology, 26-Weeks Repeat-Dose (NOAEL)				
Rat (M)	10	60[c]	4.8	7.6
Rat (F)			4.7	8.4
Monkey (M+F)	0.5		0.3	0.4
DART Studies, Repeat-Dose (Developmental NOEL)				
Rat (M)[e]	20	60[c]	3.7	5.6
Rat (F) non-pregnant and pregnant [f]			5.2	8.9
Rat (F) lactating [g]			NA	3.7
Rat (F) non-pregnant and pregnant [h]	30		7.9	13.3
Rabbit (F)	6		6.6	7.6

a　Dose level in the Phase 1 clinical trial (CT-103) single ascending dose in healthy subjects similar to the MRHD (60 µg PTH(1-34)/day) in patients with hypoparathyroidism. Observed exposure used for exposure ratio calculation.
b　Cardiovascular NOEL in monkeys based on the 4-week repeat-dose toxicity study
c　MRHD (60 µg PTH(1-34)/day) in patients with hypoparathyroidism. Predicted exposure used for exposure ratio calculations. Exposure predicted using the population PK model based on Phase 1 (［CT-103］, ［TCP-104］ and ［TCP-105］), Phase 2 ［TCP-201］ and Phase 3 ［TCP-304］ data.
d　Cardiovascular NOEL in monkeys based on the 26-week repeat-dose toxicity study where 1.5 was reduced to 1.0 µg PTH(1-34)/kg on Day 25/26 as a preventive measure. Since observed exposure on Day 182 was used for the exposure ratio calculation, dose level in this table was described as 1.0 µg PTH(1-34)/kg whereas the dose level was described as 1.5/1.0 µg PTH(1-34)/kg for overall study.
e　NOAEL for parental toxicity (9001130). 20 µg PTH(1-34)/kg/day exposure was calculated using linear extrapolation from the 30 µg PTH(1-34)/kg/day exposure for males for Free PTH (6700371).
f　NOAEL for parental toxicity and NOEL for early embryonic development (9000921). 20µg PTH(1-34)/kg/day exposure was calculated using linear extrapolation from the 30 µg PTH(1-34)/kg/day exposure (6700371).
g　NOAEL for maternal toxicity ([redacted]). PoE taken at LD20/21 (2 hours post-dose) in the dams from the PPND study ([redacted]) at 20 µg PTH(1-34)/kg/day.
h　NOEL for early embryonic development (9000923). 30 µg PTH(1-34)/kg/day exposure (NOEL for EFD toxicity) was based on the 30 µg PTH(1-34)/kg/day exposure (6700371).
See Module 2.6.2, Table 5 and Module 2.6.4, Tables 15 and 21 for exposure levels and further details on studies.
AUC_{0-24h} = area under the curve from 0 to 24 h; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; M = male; MRHD =maximum recommended human dose; NA = not applicable; NOAEL = no observed adverse effect level; NOEL = no observed effect level for functional effects on the central nervous-, respiratory- and cardiovascular systems; PK = pharmacokinetic(s).

パロペグテリパラチドをラットに投与した結果、最高用量においても中枢神経系及び呼吸器系への影響は認められなかった。この用量における遊離 PTH の全身曝露（AUC_{0-24h} 及び C_{max}）は、

最大推奨臨床用量（72 PTH(1-34)の単回投与）と同程度の第 I 相臨床試験（CT-103）における用量で認められた全身曝露のそれぞれ 7.3 及び 24.1 倍であった（表 2.4-3）。また、パロペグテリパラチドのサルを用いた試験では、最高用量においても、心循環系への影響はなく、催不整脈リスクもなかった。この用量における遊離 PTH の全身曝露は、臨床試験において単回投与後に認められた全身曝露の 2.6 倍であり、反復投与後には、最大推奨臨床用量で予測された全身曝露（$AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max}）のそれぞれ 0.68 及び 0.98 倍であった（表 2.4-3）。これらの成績は、パロペグテリパラチド投与後に心電図が記録された第 I 相臨床試験（CT-103、124 μg PTH(1-34)/日の単回投与）の最高用量において臨床的に意義のある QT 延長が認められなかったことも含め、パロペグテリパラチドがこれらの臓器系に対して有害事象を示さなかったとする臨床成績と一致していた［2.7.4.4.3 項］。

非臨床試験で認められた総 PTH 及び遊離 PTH の PK プロファイルから、パロペグテリパラチドの 1 日 1 回の皮下投与により、PTH が 24 時間にわたって持続的に遊離し、持続的静脈内投与のようなプロファイルを示すことを確認した（おおむねピーク対トラフ比は 3 未満）。これは、第 1 相臨床試験（CT-103）において、遊離 PTH が持続的な曝露（ピーク対トラフ比が 1.3～1.6）を示したことと一致している。

サルにおいて、PTH(1-34)の約 62%が代謝された。ラット及びウサギでは、代謝率はより低かった。in vitro 評価では、PTH(1-34)及び PTH(1-33)が同等の効力を持つことを確認し、パロペグテリパラチドから遊離した PTH が生物学的活性を完全に保持していることが示された。ラットにパロペグテリパラチドを投与後の血漿試料中総 PTH、総 PTH(1-34)及び総 PTH(1-33)を測定したところ、総 PTH(1-34)及び総 PTH(1-33)の合計と総 PTH の差異はごくわずかであり、総 PTH の全身曝露量はほとんど総 PTH(1-34)及び総 PTH(1-33)で構成されていることが示唆された。

パロペグテリパラチドの非臨床試験ではオフターゲット毒性は認められず、パロペグテリパラチド投与に関連した毒性所見は、生理的濃度を超える PTH の動物への持続曝露により予想された薬理作用の過剰発現に関連したもののみであった。したがって、パロペグテリパラチドから遊離する活性型 PTH である遊離 PTH がヒト及び動物の全身曝露を比較する際に最も妥当な分析対象と考えられる。最長 26 週間の反復投与毒性試験において、ラット及びサルの NOAEL における遊離 PTH の全身曝露は、最大推奨臨床用量で予測される全身曝露（$AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max}）のそれぞれ 4.7 及び 8.4 倍並びに 0.3 及び 0.4 倍であった（表 2.4-3）。最大推奨臨床用量における遊離 PTH の全身曝露は、サルの NOAEL における全身曝露を上回ったが、サルにおける用量制限毒性が高カルシウム血症及びそれに関連する毒性所見であったことは、副甲状腺機能低下症の患者にパロペグテリパラチドを安全に用いることを裏付けるものと考えられる。高カルシウム血症は、副甲状腺機能が正常であり血清カルシウムが正常に保たれている動物におけるイオン恒常性に対する PTH の薬理作用の過剰発現である。一方、副甲状腺機能低下患者におけるカルシウム濃度の恒常性に対する PTH の薬理作用は、カルシウム濃度を正常化させることである。したがって、臨床においてはパロペグテリパラチドの投与開始時又は用量調節時にカルシウム濃度を慎重にモニターする必要がある。

複数の高分子量（≥30 kDa）PEG 含有化合物で報告されている空胞化[40)]は、パロペグテリパラチドのラット及びサルを用いた反復投与毒性試験において、脈絡叢上皮細胞及びその他の組織では認められなかった。副甲状腺機能低下症の患者に対するパロペグテリパラチドの最大推奨臨床

用量における mPEG の用量（[redacted]µg mPEG/kg/日）[注3)] 及び mPEG の定常状態の全身曝露推定値（平均 C_{max} 1050ng/mL）[注4)] は、脈絡叢上皮細胞空胞化に関する用量（530 µgPEG (40 kDa)/kg/日）[注5)] 及び曝露に基づく閾値（100,000ng PEG/mL）のそれぞれ 1/46 及び 1/95 である [45) 46) 47)]。さらに、 mPEG 曝露に起因する可能性がある予期せぬ安全性に関する所見は、パロペグテリパラチドの臨床試験全体で確認されていない。第 II 相及び第 III 相臨床試験（[TCP-201]、[TCP-304]）におけるパロペグテリパラチドの安全性プロファイルは、PTH の薬理作用及び皮下投与経路に関連するものと一致していた［2.7.4.4.5 項］。

科学的根拠の重要度（weight of evidence）による発がん性評価では、パロペグテリパラチド、PTH(1-34)及び mPEG に結合した TransCon リンカーは発がん性リスクを示さず、パロペグテリパラチドのがん原性試験は必要ないことを裏付ける結果となった。この評価は、パロペグテリパラチドの入手可能な非臨床及び臨床成績、並びに PTH 及び PEG について公表された非臨床及び臨床情報に基づいている。したがって、副甲状腺機能低下症の患者に対する補充療法としてのパロペグテリパラチドの使用は、一般的なヒト集団での発がんリスクを上回る懸念を示すものではないと判断した。

ラット及びウサギを用いた生殖発生毒性試験において、パロペグテリパラチドの最高用量群で受胎能及び初期胚発生、胚・胎児発生に対する影響は認められなかった。胚・胎児発生に関する試験のラット及びウサギの最高用量群における遊離 PTH への曝露量は、それぞれ最大推奨臨床用量で予測される臨床曝露量（$AUC_{0\text{-}24h}$ 及び C_{max}）の 7.9 及び 13.3 倍並びに 6.6 及び 7.6 倍に相当する（表 2.4-3）。したがって、パロペグテリパラチドの生殖発生毒性試験における成績は、ヒトにおける受胎能、胚・胎児の致死、発育抑制、催奇形性及び生後発育のリスクを示唆するものではなかった。パロペグテリパラチドの妊婦適用に関するデータは不十分だが、PEG 化製剤や持続注入ポンプを用いて PTH(1-34)を皮下投与された妊婦での症例報告では、薬剤に関連する母体の流産や生殖機能、先天異常、胎児及び出生児の発育に影響は認められていない［2.6.6.10.5.3 項］。

反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験では、パロペグテリパラチドに関連した投与部位の変化は認められなかった。

以上のように、非臨床開発プログラムは、パロペグテリパラチドの薬理学的、薬物動態学的及び毒性学的な評価を適切に実施していると考えられ、副甲状腺機能低下症患者における補充療法としてのパロペグテリパラチドの安全性及び販売承認を支持するものである。

注3) 60µg PTH(1-34)/day * [redacted] = [redacted] µg mPEG/day は [redacted] g mPEG/day/50 kg = [redacted] µg mPEG/kg/day.に相当する。

注4) 副甲状腺機能低下症の患者における最大推奨臨床用量における定常状態の mPEG の全身曝露（第 I 相臨床試験（［CT-103］、［TCP-104］ 及び［TCP-105］）、第 II 相臨床試験［TCP-201］及び第 III 相臨床試験［TCP-304］の集団 PK モデルをもとに推定) ［2.6.4.3.3.3 項］

注5) CHMP 安全性作業部会は脈絡叢上皮細胞空胞化に関する用量の閾値を 0.40µmol PEG/kg/月に設定し、この用量は 1 日当たり 530µg PEG (40 kDa)/kg（ICH Q3D(R1)に示されている標準体重 50kg を使用）に相当する [45)]。

2.4.6　参考文献

1）Takasu H, Bringhurst FR. Type-1 parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide (PTHrP) receptors activate phospholipase C in response to carboxyl-truncated analogs of PTH(1-34). Endocrinology. 1998;139(10):4293-4299.

2）Morley P, Whitfield JF, Willick GE. Design and applications of parathyroid hormone analogues. Curr Med Chem. 1999;6(11):1095-1106.

3）Abate EG, Clarke BL. Review of Hypoparathyroidism. Front Endocrinol (Lausanne). 2017;7:172.

4）Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. Ann N Y Acad Sci. 2006;1092:385-396.

5）Bilezikian JP, Cusano NE, Khan AA, Liu JM, Marcocci C, Bandeira F. Primary hyperparathyroidism. Nat Rev Dis Primers. 2016;2:16033.

6）Brandi ML, Bilezikian JP, Shoback Roger DB, Clarke BL, Thakker RV, et al. Management of hypoparathyroidism: summary statement and guidelines. J Clin Endocrinol Metab. 2016;101(6):2273-2283.

7）Uzawa T, Hori M, Ejiri S, et al. Comparison of the effects of intermittent and continuous administration of human parathyroid hormone(1-34) on rat bone. Bone. 1995;16(4):477-484.

8）Lotinun S, Evans GL, Bronk JT, et al. Continuous parathyroid hormone induces cortical porosity in the rat: effects on bone turnover and mechanical properties. J Bone Miner Res. 2004;19(7):1165-1171.

9）Horwitz MJ, Tedesco MB, Sereika SM, et al. A 7-day continuous infusion of PTH or PTHrP suppresses bone formation and uncouples bone turnover. J Bone Miner Res. 2011;26(9):2287-2297.

10）Vargas HM, Bass AS, Breidenbach A, et al. Scientific review and recommendations on preclinical cardiovascular safety evaluation of biologics. J Pharmacol Toxicol Methods. 2008;58(2):72-76.

11）Murray TM, Rao LG, Divieti P, et al. Parathyroid hormone secretion and action: evidence for discrete receptors for the carboxyl-terminal region and related biological actions of carboxyl-terminal ligands. Endocr Rev. 2005;26(1):78-113.

12）Webster R, Didier E, Harris P, et al. PEGylated proteins: evaluation of their safety in the absence of definitive metabolism studies. Drug Metab Dispos. 2007;35(1):9-16.

13）Webster R, Elliott V, Park BK, et al. PEG and PEG conjugates toxicity: towards an understanding of the toxicity of PEG and its relevance to PEGylated biologicals. PEGylated Protein Drugs: Basic Science and Clinical Applications. 2009;127-146

14）Hock JM, Gera I. Effects of continuous and intermittent administration and inhibition of resorption on the anabolic response of bone to parathyroid hormone. J Bone Miner Res. 1992;7(1):65-72.

15）Lotinun S, Sibonga JD, Turner RT. Evidence that the cells responsible for marrow fibrosis in a

rat model for hyperparathyroidism are preosteoblasts. Endocrinology. 2005;146(9):4074-4081.

16）Natpar EPAR. Public Assessment Report, 2017. Accessed 25 Oct 2024. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/natpar-epar-public-assessment-report_en.pdf

17）BLA #125511-Natpara. Center for Drug Evaluation and Research, Food & Drug Administration. 2015. Accessed 25 Oct 2024. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2015/125511Orig1s000AdminCorres.pdf

18）Forsteo EPAR. Scientific Discussion, 2005. Accessed 25 Oct 2024. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/forsteo-epar-scientific-discussion_en.pdf

19）NDA #21-318-Forteo [teriparatide]. Center for Drug Evaluation and Research. Food & Drug Administration. 2002. Accessed 25 Oct 2024. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2002/21-318_Forteo.cfm

20）Iwamoto M, Jikko A, Murakami H, et al. Changes in parathyroid hormone receptors during chondrocyte cytodifferentiation. J Biol Chem. 1994;269(25):17245-17251.

21）Chen X, Macica CM, Nasiri A, Broadus AE. Regulation of articular chondrocyte proliferation and differentiation by indian hedgehog and parathyroid hormone-related protein in mice. Arthritis Rheum. 2008;58(12):3788-97.

22）Qiu T, Xian L, Crane J, et al.PTHreceptor signaling in osteoblasts regulates endochondral vascularization in maintenance of postnatal growth plate. J Bone Miner Res. 2015;30(2):309 317.

23）Ma YL, Cain RL, Halladay DL, et al. Catabolic effects of continuous humanPTH(1--38) in vivo is associated with sustained stimulation of RANKL and inhibition of osteoprotegerin and gene-associated bone formation. Endocrinology. 2001;142:4047-4054.

24）Babey M, Wang Y, Kubota T, et al. Gender-Specific Differences in the skeletal response to continuous PTH in mice lacking the IGF1 receptor in mature osteoblasts. J Bone Miner Res. 2015; Jun;30(6):1064-1076.

25）Goodman HM. Hormonal Regulation of Calcium Metabolism. Basic Medical Endocrinology (Third Edition). Academic Press. 2003;8:255-289.

26）Wang YH, Liu Y, Buhl K, et al. Comparison of the action of transient and continuousPTHon primary osteoblast cultures expressing differentiation stage-specific GFP. J Bone Miner Res. 2005;20(1):5-14.

27）Wang YH, Liu Y, Rowe DW. Effects of transient PTH on early proliferation, apoptosis, and subsequent differentiation of osteoblast in primary osteoblast cultures. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2007;292(2):E594-E603.

28）Natpara USPI. Prescribing Information for Natpara. Latest renewal 2022, accessed 25 Oct 2024. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2022/125511s028lbl.pdf

29）Forteo USPI. Prescribing Information for Forteo, 2020. Accessed 25 Oct 2024. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2020/021318s054lbl.pdf

30）Jimenez C, Yang Y, Kim HW, et al. Primary hyperparathyroidism and osteosarcoma: examination of a large cohort identifies three cases of fibroblastic osteosarcoma. J Bone Miner Res. 2005;20(9):1562-1568.

31）Cinamon U, Turcotte RE. Primary hyperparathyroidism and malignancy: “studies by nature”. Bone. 2006;39(2):420-423.

32）Andrews EB, Gilsenan AW, Midkiff K, Sherrill B, Wu Y, Mann BH, et al. The US postmarketing surveillance study of adult osteosarcoma and teriparatide: study design and findings from the first 7 years. J Bone Miner Res. 2012;27(12):2429-37.

33）Cipriani C, Irani D, Bilezikian JP. Safety of osteoanabolic therapy: a decade of experience. J Bone Miner Res. 2012;27(12):2419-2428.

34）Nishikawa A, Yoshiki F, Taketsuna M, et al. Safety and effectiveness of daily teriparatide for osteoporosis in patients with severe stages of chronic kidney disease: post hoc analysis of a postmarketing observational study. Clin Interv Aging. 2016;11:1653-1659.

35）Gilsenan A, Harding A, Kellier-Steele N, et al. The Forteo Patient Registry linkage to multiple state cancer registries: study design and results from the first 8 years. Osteoporos Int. 2018;29(10):2335-2343.

36）Gilsenan A, Harris D, Reynolds M, et al. Long-Term Cancer Surveillance: Results from the Forteo Patient Registry Surveillance Study. Osteoporos Int. 2021;32:645-651.

37）Gilsenan A, Midkiff K, Harris D, et al. Teriparatide Did Not Increase Adult Osteosarcoma Incidence in a 15-Year US Postmarketing Surveillance Study. J Bone Miner Res. 2021;36(2):244-251.

38）Forteo Patient Registry. Accessed 25 Oct 2024. https://www.rtihs.org/publications/long-term-cancer-surveillance-five-year-update-forteo-patient-registry-surveillance

39）Palombo M, Deshmukh M, Myers D, et al. Pharmaceutical and toxicological properties of engineered nanomaterials for drug delivery. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2014;54:581-598.

40）Ivens IA, Achanzar W, Baumann A, et al. PEGylated biopharmaceuticals: current experience and considerations for nonclinical development. Toxicol Pathol. 2015;43(7):959-983.

41）Stidl R, Denne M, Goldstine J, et al. Polyethylene Glycol Exposure with Antihemophilic Factor (Recombinant), PEGylated (rurioctocog alfa pegol) and Other Therapies Indicated for the Pediatric Population: History and Safety. Pharmaceuticals (Basel). 2018;11(3):75.

42）Zhu Z, Gao P, Hu Y, et al. PEGylated versus non-PEGylated drugs: A cross-sectional analysis of adverse events in the FDA Adverse Event Reporting System (FAERS) Database. Int J Clin Pharmacol Ther. 2020;58(6):332-342.

43）Apidra SmPC. Latest renewal 2024, accessed 25 Oct 2024. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/apidra-epar-product-information_en.pdf

44）Apidra USPI. Latest renewal 2022, accessed 25 Oct 2024.

https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2022/021629s042lbl.pdf

45）CHMP Safety Working Party's response to the PDCO regarding the use of PEGylated drug products in the paediatric population. 2012. 16 November 2012. EMA/CHMP/SWP/647258/2012.

46）BPAC Briefing Document. BLA 125611 Coagulation Factor IX (Recombinant), GlycoPEGylated N9-GPN9-GP. FDA Blood Products Advisory Committee. April 4, 2017. Accessed 25 Oct 2024. https://public4.pagefreezer.com/content/FDA/26-05-2022T13:14/https://www.fda.gov/media/104091/download

47）Baumann A. PEGylated biologics in haemophilia treatment: Current understanding of their long-term safety. Haemophilia. 2020;26(1):e11-e13.