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

第 2 部（モジュール 2）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1　緒言

帝人ファーマ株式会社

目次

2.6.1 緒言 4
2.6.1.1.1 名称 4
2.6.1.1.2 パロペグテリパラチドの説明 4
2.6.1.1.3 形状、及び送達 5
2.6.1.1.3.1 組成 6
2.6.1.1.4 非臨床試験戦略 7
2.6.1.2 参考文献 7

表

略号及び用語の定義一覧 3
表 2.6.1-1 パロペグテリパラチドのプレフィルドペンの規格及び容量の概要 6
表 2.6.1-2 パロペグテリパラチド製剤の組成 6

図

図 2.6.1-1 パロペグテリパラチドの構造 4
図 2.6.1-2 パロペグテリパラチドプロドラッグ技術及び活性型 PTH 放出の説明図 5

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
FAMHP	Federal Agency for Medicines and Health Products (Belgium)	ベルギー連邦医薬品・保健製品庁
FDA	Food and Drug Administration (US)	米国食品医薬品局
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
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
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 受容体
活性型ビタミン D	Active vitamin D	（1,25-ジヒドロキシビタミン D 又はカルシトリオールとしても知られている）
プレフィルドペン	Prefilled pen	容量調整機能付き医薬品ペン型注入器付き注射剤

2.6.1 緒言

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、血中の副甲状腺ホルモン（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 回皮下補充療法として設計された徐放性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。全身循環中の血清カルシウム濃度に基づいて、用量は 6 µg PTH(1-34)/日から最大推奨臨床用量の 60 µg PTH(1-34)/日までの範囲内で、3 µg PTH(1-34)/日単位で用量を調整できる。

2.6.1.1.1 名称

INN：パロペグテリパラチド

CAS 登録番号：2222514-07-8

社内開発名：TransCon PTH、TransCon PEG PTH、TransCon PTH（ACP-014）、及び ACP-014

2.6.1.1.2 パロペグテリパラチドの説明

パロペグテリパラチド［分子量：47.4 キロダルトン（kDa）］は徐放性プロドラッグであり、24 時間にわたり生理的範囲内の PTH 曝露を持続するように設計されている。このプロドラッグは、PTH(1-34)が切断可能な独自のリンカー（TransCon リンカー）を介して担体に一過性に結合したものである。PTH(1-34)の配列は、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る。

担体は分岐鎖 40 kDa（2 × 20 kDa）のメトキシポリエチレングリコール（mPEG）部分である。2 本鎖のそれぞれの分子量は約 20 kDa である。TransCon リンカーを介した PTH(1-34)の担体への結合は、PTH(1-34)の受容体への結合を阻害し、腎クリアランスから PTH(1-34)を保護する。N 末端側に TransCon リンカーの修飾を受けた PTH(1-34)は、固相ペプチド合成によって製造される。パロペグテリパラチドの構造を図 2.6.1-1 に示す。

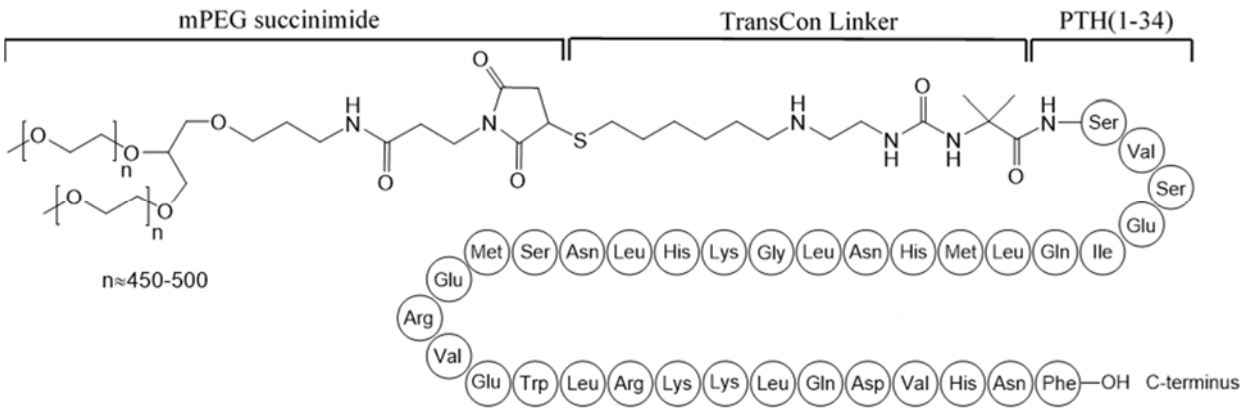


図 2.6.1-1 パロペグテリパラチドの構造

パロペグテリパラチドの分子量は 47.4 kDa、mPEG と結合した状態の TransCon リンカーの分子量は 43.3 kDa、PTH(1-34)及びその主代謝物である PTH(1-33)の分子量はそれぞれ 4.1 kDa 及び 4.0 kDa である。

パロペグテリパラチドは保管条件下（2℃～8℃）では安定であるが、生理的 pH 及び温度（pH 7.4 及び 37℃）で自己切断を開始するように設計されている。自己切断後、活性型 PTH はプロドラッグから PTH(1-34)又は その主代謝物 PTH(1-33)として放出される。内因性 PTH [PTH(1-84)]は、骨及び腎臓に高発現している G タンパク質共役型受容体である副甲状腺ホルモン 1 受容体（PTH1R）を介して、血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性を調節する。PTH1R を介する活性は、PTH の N 末端 31 アミノ酸のみを必要とする。PTH(1-33)、PTH(1-34)、及び PTH(1-84)は PTH1R に対して同程度の親和性及び活性化能を示す[1) 2)]。さらに、PTH(1-34)は PTH(1-84)と同様に、PTH1R を介して骨及び腎臓に対する作用を発現する[3) 4)]。内因性 PTH は、骨からカルシウム及びリンを動員し、腎カルシウムの再吸収及びリン排泄を促進し、活性型ビタミン D（1,25-ジヒドロキシビタミン D 又はカルシトリオールとしても知られている）の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[5)]。骨はカルシウム及びリンの体内の主要な貯蔵庫として機能するため、これらのミネラルイオンの骨へ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しい石灰化骨の再形成と密接に関連している[6) 7) 8)]。

皮下投与後、リンカーの自己切断は一次速度論によって制御された方法で起こり、それによって活性型 PTH はプロドラッグ濃度に比例した割合で放出され、ヒト成人における遊離 PTH のみかけの半減期は約 60 時間となる。放出された活性型 PTH は PTH1R を介して血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性を調節し、活性型ビタミン D の合成を促進する。プロドラッグからの活性型 PTH の放出を図 2.6.1-2 に示す。

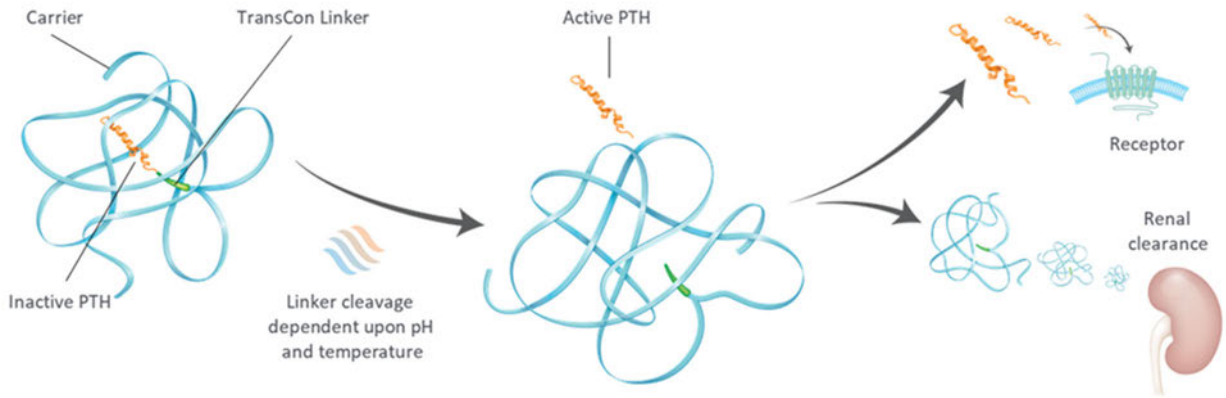


図 2.6.1-2 パロペグテリパラチドプロドラッグ技術及び活性型 PTH 放出の説明図

2.6.1.1.3 形状、及び送達

パロペグテリパラチドの容量調整機能付き医薬品ペン型注入器付き注射剤（以下、プレフィルドペン）は、薬物とデバイスの組み合わせ製剤であり、1 日 1 回の皮下投与を目的とした、患者が自己注射をする使い捨てのペン型注射器として構成されている。

パロペグテリパラチドの市販予定製剤は、異なる 3 規格［PTH（1-34）として 168 µg/0.56 mL、294 µg/0.98 mL、又は 420 µg/1.4 mL］のプレフィルドペンとして開発された。薬剤の構成部分（パロペグテリパラチド製剤）は、無菌、無色、及び澄明な注射用溶液で、表示濃度は 0.3 mg PTH(1-34)/mL であり、1.5 mL のカートリッジに充填されている。

3 規格のプレフィルドペンが提供され、14 日間の使用で 3 種類の投与量のパロペグテリパラチド製剤を投与することを目的としている。

表 2.6.1-1 は、3 種類のプレフィルドペンの規格、各ペンで投与される容量、及び設定容量あたりの PTH(1-34)量を示している。

表 2.6.1-1 パロペグテリパラチドのプレフィルドペンの規格及び容量の概要

Prefilled Pen Presentation	**Dose[a] (Dose Volume)**		
Palopegteriparatide 168 µg/0.56 mL	6 µg (20 µL)	9 µg (30 µL)	12 µg (40 µL)
Palopegteriparatide 294 µg/0.98 mL	15 µg (50 µL)	18 µg (60 µL)	21 µg (70 µL)
Palopegteriparatide 420 µg/1.4 mL	24 µg (80 µL)	27 µg (90 µL)	30 µg (100 µL)

a Dose expressed in content of PTH(1-34)

2.6.1.1.3.1 組成

パロペグテリパラチド製剤の組成を表 2.6.1-2 に示す。製剤に含まれている添加剤はすべて公知であり、ヒト及び動物由来ではない。

表 2.6.1-2 パロペグテリパラチド製剤の組成

Name of Ingredient	**Nominal Quantity**	**Function**	**Reference to Standard**
Palopegteriparatide	0.3 mg PTH(1-34)[a]	Prodrug	In-house
Succinic acid	1.18 mg	Buffering agent	USP-NF, JPE
Mannitol	41.7 mg	Tonicifier	USP-NF, Ph. Eur., JP
Metacresol	2.5 mg	Preservative agent	USP-NF, Ph. Eur.
Sodium hydroxide[b]	3.5 mg	pH adjustment	In-house
Sodium hydroxide[c] / Hydrochloride acid[d]	q.s. to pH 4.0	pH adjustment	In-house
WFI	q.s. to 1.00 mL 4.0	Solvent	USP-NF, Ph. Eur., JP

a Content for Palopegteriparatide is declared as the equivalent amount of PTH(1-34)

b 1 N solution prepared from sodium hydroxide pellets (USP-NF, Ph. Eur., JP)

c 0.1 N solution prepared from sodium hydroxide pellets (USP-NF, Ph. Eur., JP)

d 0.1 N solution prepared from hydrochloric acid fuming 37% (USP-NF, Ph. Eur., JP)

JP = Japanese Pharmacopoeia; JPE = Japanese Pharmaceutical Excipients; Ph. Eur = European Pharmacopoeia; q.s. = quantum satis; USP-NF = United States Pharmacopeia – National Formulary; WFI = water for injection.

本モジュールを通して、パロペグテリパラチドの用量は、in vitro 遺伝毒性試験で使用したプロドラッグ全体の µg とは区別して、µg PTH(1-34)で記載している。

PTH(1-34)の含量又は濃度等価量をパロペグテリパラチドに対応する含量又は濃度等価量に換算するために、[redacted]の理論換算係数を用いた。例えば、濃度を µg パロペグテリパラチド/mL で表すには、µg PTH(1-34)/mL の濃度に[redacted]を掛ける。換算係数は、PTH(1-34)に対するパロペグテリパラチドの平均分子量比［3.2.S.1.3 項］に基づいている。

2.6.1.1.4 非臨床試験戦略

非臨床開発プログラム及び本資料に含まれる試験は、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従い、実施した。このプログラムは、米国食品医薬品局（FDA、FDA Reference ID : 4994119）による販売承認申請に十分であるとみなされた。これまでに副甲状腺機能低下症に対する効能・効果で、欧州（2023 年 11 月）、英国（2024 年 4 月）、米国（2024 年 8 月）で承認されている（2024 年 9 月末日現在）。パロペグテリパラチドのげっ歯類がん原性試験は、FDA、欧州医薬品委員会、及び独立行政法人医薬品医療機器総合機構と実施不要であることを合意・確認している［2.6.6.5 項］。すべての重要な非臨床毒性試験及び安全性薬理試験は、経済協力開発機構（OECD）のデータ相互受け入れ協定に加盟している国で、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実施し、検証した。さらに、添加剤及び製剤中製品の不純物は 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、並びに自己切断後の生成物［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。PTH 及びその受容体である PTH1R のアミノ酸配列は、ラット、ウサギ、サル、及びヒトの間で高度に保存されている。これと一致して、パロペグテリパラチドから放出される PTH は、ラット及びサルに対しても薬理作用を有することが示されている［2.6.2.3.1 項］。臨床用量に合わせて、パロペグテリパラチドは 1 日 1 回、動物に皮下投与した。

2.6.1.2 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）Habener JF, Rosenblatt M, Potts JT Jr. Parathyroid hormone: biochemical aspects of biosynthesis, secretion, action, and metabolism. Physiol Rev.1984;64(3):985-1053.

4）Lee C, Luck MD, Jüppner H, et al. Homolog-scanning mutagenesis of the parathyroid hormone (PTH) receptor reveals PTH-(1-34) binding determinants in the third extracellular loop. Mol Endocrinol. 1995;9(10):1269-1278.
5）Abate EG, Clarke BL. Review of Hypoparathyroidism. Front Endocrinol (Lausanne). 2017; 7:172.
6）Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. Ann N Y Acad Sci. 2006; 1092:385-396.
7）Bilezikian JP, Brandi ML, Cusano NE, et al. Management of Hypoparathyroidism: Present and Future. J Clin Endocrinol Metab. 2016;101(6):2313-2324.
8）Brandi ML, Bilezikian JP, Shoback D, et al. Management of hypoparathyroidism: summary statement and guidelines. J Clin Endocrinol Metab. 2016;101(6):2273-2283.

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）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.2　薬理試験の概要文

帝人ファーマ株式会社

目次

2.6.2 薬理試験の概要文 7
2.6.2.1 まとめ 7
2.6.2.2 作用機序 12
2.6.2.2.1 副甲状腺機能低下症 15
2.6.2.3 効力を裏付ける試験 17
2.6.2.3.1 動物種の適格性 17
2.6.2.3.1.1 副甲状腺機能低下症モデルとしての TPTx ラットの適格性 17
2.6.2.3.2 PTH 作用のバイオマーカー 18
2.6.2.3.3 効力を裏付ける薬理試験（in vitro） 19
2.6.2.3.4 効力を裏付ける薬理試験（in vivo） 20
2.6.2.3.4.1 ラットを用いた単回投与 PK/PD 試験 20
2.6.2.3.4.2 サルを用いた単回投与 PK/PD 試験 20
2.6.2.3.4.3 TPTx 副甲状腺機能低下症モデルラットを用いた 4 週間反復投与薬効確認試験 22
2.6.2.3.5 効力を裏付ける薬理試験（まとめ） 28
2.6.2.4 副次的薬理試験 28
2.6.2.5 安全性薬理試験 28
2.6.2.5.1 in vitro 安全性薬理試験 29
2.6.2.5.2 in vivo 安全性薬理試験 29
2.6.2.5.2.1 ラットにおける神経行動及び呼吸機能評価 29
2.6.2.5.2.2 心血管系機能評価 30
2.6.2.5.3 要約－安全性薬理試験 31
2.6.2.6 薬力学薬物相互作用試験 31
2.6.2.7 考察及び結論 32
2.6.2.7.1 効力を裏付ける試験 32
2.6.2.7.1.1 カルシウムとリンの恒常性に対する作用 32
2.6.2.7.1.2 骨代謝回転への作用 33
2.6.2.7.2 安全性薬理試験 37
2.6.2.7.3 結論 39
2.6.2.8 図表 39
2.6.2.9 参考文献 39

表

略号及び用語の定義一覧 4
表 2.6.2-1 パロペグテリパラチドの薬理試験プログラム 9

表 2.6.2-2 薬理試験プログラムで適用した骨評価 19
表 2.6.2-3 副甲状腺機能低下モデルラットを用いた 4 週間反復投与薬効確認試験における骨密度検査（試験番号 6700404） 26
表 2.6.2-4 副甲状腺機能低下モデルラットを用いた 4 週間反復投与薬効確認試験における骨形態計測（試験番号 6700404） 27
表 2.6.2-5 遊離 PTH 曝露比 : 安全性薬理試験 NOEL 及びヒト曝露最大推奨臨床用量又は類似用量での暴露量 38

図

図 2.6.2-1 内因性 PTH の主な作用 13
図 2.6.2-2 PTH による骨カップリング機構の活性化 14
図 2.6.2-3 副甲状腺機能低下症の骨の構造変化 16
図 2.6.2-4 ラットを用いた単回 PK/PD 試験での血漿カルシウム濃度（試験番号 172388） 20
図 2.6.2-5 サルを用いた単回投与 PK/PD 試験における血漿及び尿中カルシウム排泄量（試験番号 171929） 21
図 2.6.2-6 副甲状腺機能低下症モデルの TPTx ラットを用いた 4 週間反復投与薬効確認試験における血清カルシウム濃度（試験番号 6700404） 23
図 2.6.2-7 副甲状腺機能低下症モデルの TPTx ラットを用いた 4 週間反復投与薬効確認試験における血清リン濃度（試験番号 6700404） 24
図 2.6.2-8 副甲状腺機能低下症モデルの TPTx ラットを用いた 4 週間反復投与薬効確認試験における骨代謝マーカー（試験番号 6700404） 25

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_3 also known as active vitamin D or calcitriol	1,25-ジヒドロキシビタミン D_3、活性型ビタミン D 又はカルシトリオールとして知られている
$AUC_{0\text{-}24h}$	Area under the plasma concentration-time curve from 0 to 24 h	0～24 時間の血漿中濃度－時間曲線下面積
BFR	Bone formation rate	骨形成速度（骨面基準）
BFR/BV	Bone formation rate/bone volume	骨形成速度（骨量基準）
BMC	Bone mineral content	骨塩量
BMD	Bone mineral density	骨密度
BV	Bone volume	骨量
BV/TV	Bone volume fraction (bone volume/total volume)	骨量体積率（骨量／総体積）、場合により、骨量とも呼ぶ
cAMP	Cyclic adenosine monophosphate	環状アデノシン一リン酸
CaSR	Calcium-sensing receptor	カルシウム感受性受容体
CNS	Central nervous system	中枢神経系
CSMI	Cross-sectional moment of inertia	断面二次モーメント
Ct.Wi	Cortical width	皮質骨幅
CTx	C-telopeptide of type 1 collagen	I 型コラーゲン架橋 C-テロペプチド
dLS/BS	Double label surface (double label surface/bone surface)	二重標識面（二重標識面／骨面）
DXA	Dual energy X-ray absorptiometry	二重エネルギーX 線吸収測定法
ECG	Electrocardiographic or electrocardiogram	心電図
F	Female	雌
FGF23	Fibroblast growth factor 23	線維芽細胞増殖因子 23
Fi.S/BS	Fibroblast-like surface (fibroblast-like surface/bone surface)	線維芽細胞様面／骨面
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
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
I_{Kr}	Delayed rectifier potassium current	急速に活性化する遅延整流カリウム電流

略号	略さない表現	定義又は説明
K_D	Equilibrium dissociation constant	平衡解離定数
kDa	Kilodalton	キロダルトン
L4-L5	4th to 5th lumbar vertebrae	第 4～5 腰椎
LVP	Left ventricular pressure	左室圧
M	Male	雄
MAR	Mineral appositional rate	骨石灰化（添加）速度
mPEG	Methoxypolyethylene glycol	メトキシポリエチレングリコール
n	Number	数
NA	Not applicable	該当なし
NDA	New drug application	新薬承認申請
Ob.S/BS	Osteoblast surface (osteoblast surface/bone surface)	骨芽細胞面（骨芽細胞面／骨面）
Oc.S/BS	Osteoclast surface (osteoclast surface/bone surface)	破骨細胞面（破骨細胞面／骨面）
OS/BS	Osteoid surface (osteoid surface/bone surface)	類骨面（類骨面／骨面）
OV/BV	Osteoid volume (osteoid volume/bone volume)	類骨量（類骨量／骨量）
P1NP	Procollagen type 1 amino-terminal propeptide	プロコラーゲンタイプ 1 アミノ末端プロペプチド
PD	Pharmacodynamic(s)	薬力学
PK	Pharmacokinetic(s)	薬物動態
pQCT	Peripheral quantitative computed tomography	末梢定量コンピュータ断層撮影法
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 受容体
QTc	QT interval corrected for heart rate	心拍数で補正した QT 間隔
RANK	Receptor activator of nuclear factor-kappa B	核因子 κB 受容体活性化因子
RANKL	Receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand	核因子 κB 受容体活性化因子リガンド
rh	Recombinant human	ヒト遺伝子組換え
SD	Sprague Dawley	SD
sLS/BS	Single label surface (single label surface/bone surface)	単一標識面／骨面
SPR	Surface plasmon resonance	表面プラズモン共鳴
Tb.N	Trabecular number	骨梁数
Tb.Sp	Trabecular separation	骨梁間隙
Tb.Th	Trabecular thickness	骨梁幅
TK	Toxicokinetic(s)	トキシコキネティックス

略号	略さない表現	定義又は説明
t_{max}	Time to reach maximum observed concentration	最高血漿中濃度到達時間
t_{last}	Time of last measurable concentration	最終測定濃度到達時間
TPTx	Thyroparathyroidectomized	甲状腺副甲状腺摘出

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

パロペグテリパラチドは、副甲状腺ホルモン(PTH)（1-34）が TransCon リンカーを介して担体に一過性に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 PTH の N 末端側の 34 個のアミノ酸配列と同一であり、担体に結合した状態では活性を示さない。担体は 40 キロダルトン（kDa）（2 × 20 kDa）の分岐鎖メトキシポリエチレングリコール（mPEG）である。生理的 pH 及び温度において、PTH は自己切断によりプロドラッグから遊離されるため、全身循環血中の PTH の血中曝露が維持される。

PTH は副甲状腺ホルモン 1 受容体（PTH1R）を介して作用し、骨からのカルシウム及びリンを動員すると共に、腎臓のカルシウム再吸収及びリン排泄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。さらに PTH は、1,25-dihydroxyvitamin D_3［$1,25(OH)_2D_3$、活性型ビタミンD］の生合成を介してカルシウムの消化管吸収を促進する [1)]。副甲状腺機能低下症の患者では、PTH 濃度が極めて低値又は認められないため、血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性が障害され、また骨代謝回転が低下するため、これまでに形成した骨の持続的な分解とそれに続く新たな骨の形成が減少する [2) 3) 4)]。

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 PTH が生理的範囲内で 24 時間にわたり維持できるように、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初回用量は 18 µg PTH(1-34)/日である。全身循環血中の血清カルシウム濃度に基づいて、用量は 6 µg PTH(1-34)/日から最大推奨臨床用量である 60 µg PTH(1-34)/日まで、3 µg PTH(1-34)/日ずつ調整することができる。in vivo では、PTH は PTH(1-34)又はその活性代謝物 PTH(1-33)としてパロペグテリパラチドから遊離される。PTH1R を介する活性は完全長の PTH の N 末端から 31 個のアミノ酸のみを必要とするため、PTH(1-33)、PTH(1-34)、及び PTH(1-84)はこの受容体に対して、同程度の親和性と活性化能を有する [5) 6)]。

薬理試験の目的は、パロペグテリパラチドによる血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性維持と骨代謝に対する薬理作用の評価と、安全性薬理プロファイルを明らかにすることとし、主要な薬力学（PD）マーカーには血清又は血漿カルシウム濃度を用いた。効力を裏付ける試験及び安全性薬理試験の評価項目は、表 2.6.2-1 に概略を示した。中枢神経系（CNS）、呼吸系、及び心血管系の機能に対するパロペグテリパラチドの作用は、Sprague Dawley ラット［Crl:CD(SD)］及びカニクイザル（Macaca fascicularis、モーリシャス産）を用いて評価した。安全性薬理試験及び安全性薬理評価項目を含む反復投与毒性試験は、関連する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従い、経済協力開発機構（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。臨床の用法用量に準じて、パロペグテリパラチドは動物に対しても皮下経路で単回又は連日反復投与した。また、単回投与の薬物動態（PK）/PD 試験では静脈内投与も採用した。

非臨床薬理試験の一環として実施した PK 評価については、［M2.6.4］の［表 2.6.4-3］に、分析対象物質の説明は［M2.6.4］の［表 2.6.4-1］に記載した。総 PTH、総 PTH(1-34)、遊離 PTH、遊

離 PTH(1-34)、遊離 PTH(1-33)、mPEG、及び mPEG-リンカーの血漿中濃度は、［2.6.4.2.1 項］で概説した生体試料中薬物濃度分析法により測定した。さらに、ヒト遺伝子組換え（rh）PTH(1-84)への曝露の証明は、甲状腺副甲状腺摘出（TPTx）ラットで、適格性が確認された分析法［2.6.4.2.1.5 項］により測定した。

本モジュールを通して、パロペグテリパラチドの用量は、プロドラッグ全体の μg 単位とは区別して μg PTH(1-34)単位で記載している。

表 2.6.2-1　パロペグテリパラチドの薬理試験プログラム

Description	GLP	Test System	N/group/sex (recovery)	Study No.	Dose levels [µg PTH(1-34)/kg]
Primary Pharmacodynamics					
In Vitro Studies					
Binding of palopegteriparatide and PTH(1-34) to PTH1R[a] by surface plasmon resonance	No	NA	NA	[OX-17/099-071]	NA
Biopotency of PTH(1-33)	No	HEK293 cells	NA	[45719]	NA
In Vivo Single-dose Studies (SC and IV Administration)					
Single-dose pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation	No	Rats	9 M	[172388]	10, 30
Single-dose pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation	No	Monkeys	3 M	[171929] / [redacted][b]	1, 5
In Vivo Repeat-dose Studies (SC Administration)					
4-week repeat-dose proof-of principle study in a TPTx rat model of hypoparathyroidism[c]	No	Rats	9 F	[6700404]	0, 0, 5, 10, 30
Secondary Pharmacodynamics - No studies performed					
Safety Pharmacology Studies (SC Administration)					
Single-dose neurobehavioral evaluation	Yes	Rats	8 M	[6901267]	0, 10, 30, 60
Single-dose respiratory function evaluation	Yes	Rats	6 M	[6901268]	0, 10, 30, 60
Single-dose cardiovascular function evaluation	Yes	Monkeys	3 M 3 F	[6901245]	0, 0.2, 0.5, 1.5
Repeat-dose cardiovascular function evaluation was assessed as part of the GLP-compliant 4- and 26-week repeat-dose toxicity studies in monkeys	Yes	Monkeys	3 (2) M 3 (2) F	[6700372]	0, 0.2, 0.5, 1.5
	Yes	Monkeys	4 (2) M 4 (2) F	[6700387]	0, 0.2, 0.5, 1.5/1.0[d]
In silico (QSAR) analysis of TransCon Linker	No	NA	NA	[redacted]	NA

表 2.6.2-1　パロペグテリパラチドの薬理試験プログラム（続き）

Pharmacodynamic Drug Interactions - No studies performed

a　Recombinant human PTH1R protein
b　PK samples were collected as part of Study No. 171929 but were analyzed and reported in Study No. [redacted]
c　Recombinant human PTH(1-84) was included as a comparator and was administered to TPTx rats at 70 µg PTH(1-84)/kg/day
d　As a preventive measure, 1.5 was reduced to 1.0 µg PTH(1-34)/kg on Day 25 (F) and Day 26 (M), respectively［2.6.6.3.2］.

F = female; GLP = good laboratory practice; HEK293 = human embryonic kidney 293; IV = intravenous; M = male; NA = not applicable; PTH1R = parathyroid hormone 1 receptor; SC = subcutaneous; TPTx = thyroparathyroidectomized; QSAR = quantitative structure-activity relationship.

Results from the in vivo pharmacology studies were published in Holten-Andersen 2019 [7)] .

表面プラズモン共鳴（SPR）分析による in vitro の検討から、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が、パロペグテリパラチドから遊離した PTH(1-34)は、PTH(1-34)標準品と同等の親和性で PTH1R に結合した。PTH1R を過剰発現したヒト胎児腎由来細胞株 HEK293 では、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 PTH1R に対する生物活性を示した［3.2.S.3.1］。同様に、PTH1R を過剰発現した HEK293 を用い、細胞内シグナルである環状アデノシン一リン酸（cAMP）を指標とした評価により、パロペグテリパラチドの主代謝物である PTH(1-33)もまた、PTH(1-34)標準品と同程度の生物活性を有することが示された。これらの結果は、パロペグテリパラチドから遊離された PTH が内因性 PTH と同等の活性を保持していることを裏付けている。

パロペグテリパラチドの単回投与 PK/PD 試験において、正常ラットを用いた検討では血漿カルシウム濃度の軽度な増加のみが検出され、正常サルでは血漿カルシウム濃度の用量依存的な増加が認められた。この薬理作用は、ラット及びサルを用いた 26 週間反復投与毒性試験でも確認されている［2.6.6.3 項］。さらに、低カルシウム血症、高リン血症、活性型ビタミン D の生合成抑制、及び高石灰化骨を伴う低骨代謝回転の症状を呈する TPTx ラットを用いて、4 週間の薬効確認試験を実施した。この副甲状腺機能低下症の動物モデルに対して、パロペグテリパラチドを連日投与すると、24 時間にわたり血清カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性が回復した。さらに、パロペグテリパラチドは、骨代謝回転を亢進させることで、骨密度（BMD）を低下させた。試験終了時までに、海綿骨の骨リモデリングのバランスは骨吸収に傾き、その結果、同週齢の偽手術ラットと比較して、海綿骨の BMD と骨量（BV/TV）が有意に減少した。骨代謝マーカーの経時的変化から、骨量減少は投与後 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。試験終了時に実施した骨形態計測では、骨吸収を表すパラメータが正常化したのに対し、骨形成を表すパラメータは著しく増加し、海綿骨減少が初期に起こることが裏付けられた。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作用は、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と一致しており[8) 9) 10)]、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、その過剰発現の一因となっている可能性がある。生理的濃度の PTH は血中カルシウム濃度の恒常性維持の一環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中カルシウム濃度及びリン濃度を正常化することを意図した薬剤であり、その結果もたらされる PTH 曝露は、この患者集団に特徴的な骨代謝の低下、及びそれに伴うリモデリングされていない骨及び高石灰化骨の蓄積を改善させることが期待される。

パロペグテリパラチドの in vitro 安全性薬理試験は実施していない。一般的に大きな分子は細胞内への透過が制限されるため、ヒト急速活性型遅延整流カリウムチャネル遺伝子（hERG）にコードされるチャネルタンパク質の結合部位には到達しないことが予想される[11)]。パロペグテリパラチドの大きさ（47.4 kDa）及び PTH の特異性の高い標的分子の性質[12)]により、急速活性化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。ラットでは、60 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単回皮下投与した後、神経行動機能又は呼吸系機能に対する作用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、1.5 µg は予防的措置として 25/26 日目に 1.0 µg PTH(1-34)/kg に減量［2.6.6.3.2 項］）

以下のパロペグテリパラチドを単回又は 1 日 1 回最長で 26 週間反復投与しても、心血管系機能に対する作用は認められなかった。さらに、TransCon リンカーの in silico 評価では、心毒性、肺毒性、及び神経毒性に関する警告構造は確認されなかった。

これらの知見を総合すると、パロペグテリパラチドは、PTH をトラフ／ピーク比の低いプロファイルで持続的に曝露させることにより、血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性を再確立し、副甲状腺機能低下症患者の骨代謝を正常化し、それによって骨質を改善する可能性があることが裏付けられ、また、副甲状腺機能低下症患者におけるパロペグテリパラチドの安全な使用を裏付けるのに十分であると考えられる。

2.6.2.2 作用機序

内因性 PTH は、甲状腺の後面にある副甲状腺によって合成及び分泌される 84 個のアミノ酸からなるポリペプチドである。PTH の分泌は、副甲状腺細胞だけでなく、腎臓の糸球体細胞及び尿細管細胞を含むより広範な細胞に存在するカルシウム感受性受容体（CaSR）を介する負のフィードバック機構を通じて、細胞外カルシウムの変化により厳密に制御される[13]。副甲状腺機能が正常な状態では、循環血中のカルシウム濃度が低いと PTH の分泌が急速に増加する。逆に、循環血中のカルシウム濃度が高くなると、PTH の分泌は徐々に減少する。いずれの場合も、血中 PTH の 1 日の変動は小さいものと考えられている[14) 15)]。

内因性 PTH の主要受容体は骨芽細胞、骨細胞及び腎臓の近位尿細管細胞、並びに腸、心臓及び CNS を含む他のいくつかの組織に高発現している G タンパク質共役型受容体の PTH1R であり、内因性 PTH は PTH1R との結合及び活性化を通して作用する[16) 17) 18) 19) 20)]。PTH の受容体結合及び活性化ドメインは N 末端部分に存在し、PTH1R の活性化には N 末端から 31 番目までのアミノ酸残基のみが必要である[5) 6)]。したがって、N 末端側を有する PTH の欠失変異体、例えば PTH(1-34)及び PTH(1-33)は、完全長の PTH と同等の親和性で受容体に結合する[21)]。

PTH の PTH1R への結合は、Gαs を介したアデニルシクラーゼ／cAMP／タンパク質キナーゼ A シグナル伝達経路の活性化と、Gαq を介したホスホリパーゼ／プロテインキナーゼ C シグナル伝達経路の活性化を促進する[17)]。PTH1R を介して、PTH はカルシウム及びリンを骨から動員する一方、腎臓でのリン排泄の増加とカルシウム再吸収の促進により、血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性を維持する。さらに PTH は、25-ヒドロキシビタミン D_3（別名カルシジオール）を腎臓で 1α-水酸化し、$1,25(OH)_2D_3$ に変換する。活性型ビタミン D は PTH の下流ホルモンとして作用し、小腸におけるカルシウム及びリンの吸収を増加させる（図 2.6.2-1）[22)]。リン濃度の恒常性は、さらに線維芽細胞増殖因子 23（FGF23）によって調節される。FGF23 は、主に後期骨芽細胞及び骨細胞によって産生されるホルモンで、腎臓でのリン再吸収を阻害し、活性型ビタミン D 合成を抑制する[23)]。

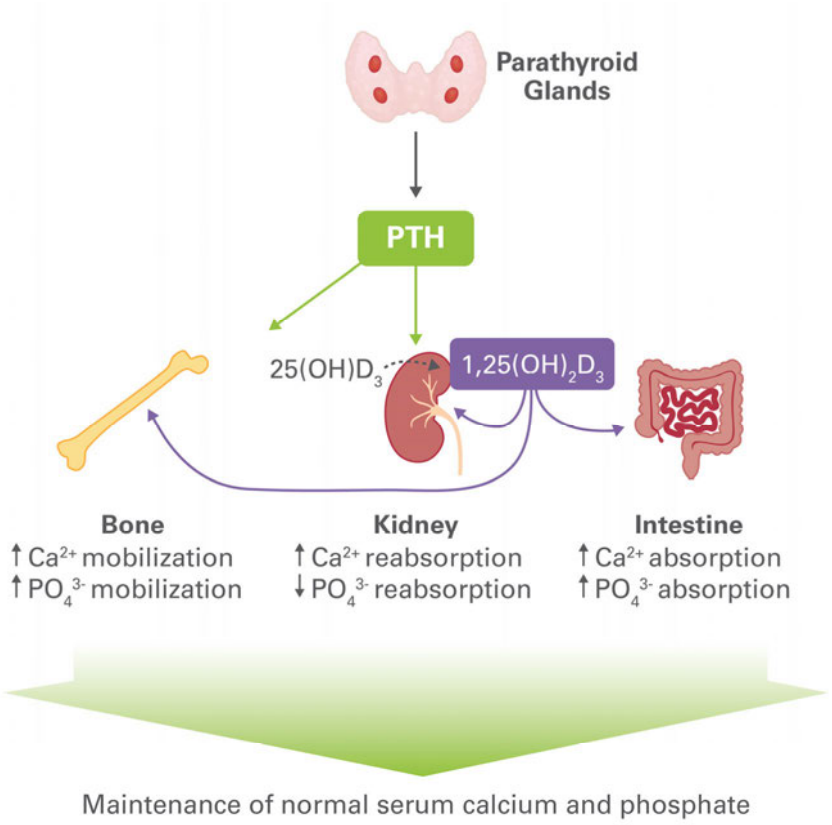


図 2.6.2-1　内因性 PTH の主な作用

正常な状態では、PTH は骨、腎臓、及び腸に作用することで、血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性を制御する。腎臓では、PTH はその下流のホルモンである活性型ビタミン D［$1,25(OH)_2D_3$］の合成を促す。活性型ビタミン D はカルシウムとリンの腸管吸収を増加させるだけでなく、PTH と協調して骨からカルシウム及びリンを動員し、腎臓でのカルシウム再吸収を増加させる。

骨は、カルシウム及びリンイオンの体内の主要な貯蔵庫として機能し、これらのイオンは骨形成時に石灰化骨として貯蔵される。骨吸収が生じると、ミネラルイオンのカルシウム及びリンが遊離される。以前に形成された骨の吸収と、それに続く新しい骨の形成は、骨リモデリングと呼ばれるプロセスで緊密に連関している。一定期間にリモデリングされる骨の総量を骨代謝回転と呼ぶ[24]。このように、骨リモデリングと骨代謝回転は、破骨細胞及び骨芽細胞の作用を通じて血中カルシウム濃度の恒常性と密接に連関しており、それぞれ骨からのカルシウムとリンの遊離と骨への沈着を調節する。陸上脊椎動物では、PTH は骨代謝の主要な調節因子のひとつであり、生理的濃度の PTH は血中カルシウム濃度の恒常性の一環として骨リモデリングを刺激し、骨カルシウム総量の約 1%が毎月交換される[23) 25)]。PTH は骨芽細胞及び骨細胞上の PTH1R に直接結合して活性化し、破骨細胞を活性化する[25)]。具体的には、PTH は骨芽細胞系列の細胞における RANKL［receptor activator of nuclear factor-kappa B (RANK) ligand］の産生を増加させるとともに、RANKL のデコイ受容体であるオステオプロテゲリン（OPG）の産生を減少させることにより、破骨細胞及び破骨細胞前駆体を間接的に刺激する。その結果、RANKL は破骨細胞及び破骨細胞前駆体の RANK を活性化し、破骨細胞を成熟、分化、及び活性化する[26) 27)]。

同時に、骨芽細胞系列の細胞における PTH シグナル伝達は、骨芽細胞新生の亢進、骨芽細胞のアポトーシスの減少、及び静止ライニング細胞の骨芽前駆細胞への再活性化を通して骨形成を刺激する（図 2.6.2-2）[18]。これらの作用は、Wnt/β-カテニンシグナル伝達経路を介した骨芽細胞分化及び生存遺伝子の転写のアップレギュレーションによって調節される。PTH は、骨細胞によって主に産生されるパラクリン型 Wnt シグナルのアンタゴニストであるスクレロスチンの発現を抑制することにより、Wnt/β-カテニンシグナル伝達経路を進行させる[28) 29) 30)]。

このようにして、内因性 PTH は破骨細胞系列と骨芽細胞系列の細胞の共役機構（骨カップリング機構）を活性化することで、骨吸収及び骨形成を共に誘導する。この骨カップリング機構は、石灰化骨内に取り込まれているインスリン様成長因子（IGF）-1 及びトランスフォーミング成長因子（TGF）-β などの成長因子が、骨吸収時に放出されることによって更に活性化される。これらの成長因子は間葉系幹細胞を動員し、静止ライニング細胞や骨芽前駆細胞を活性化し、骨形成を促進する[25) 31)]。PTH はまた、Wnt/β-カテニンシグナル伝達経路の下流にある主要な転写因子の一つである Runt 関連転写因子 2（RUNX2）のプロテアソーム分解を促進するので[29) 32)]、PTH による骨リモデリングは、骨カップリング機構による制御に加えて、骨芽細胞における Wnt を介した分化及び生存に関わる遺伝子の転写アップレギュレーションを自己制限することによっても厳密に制御されている。

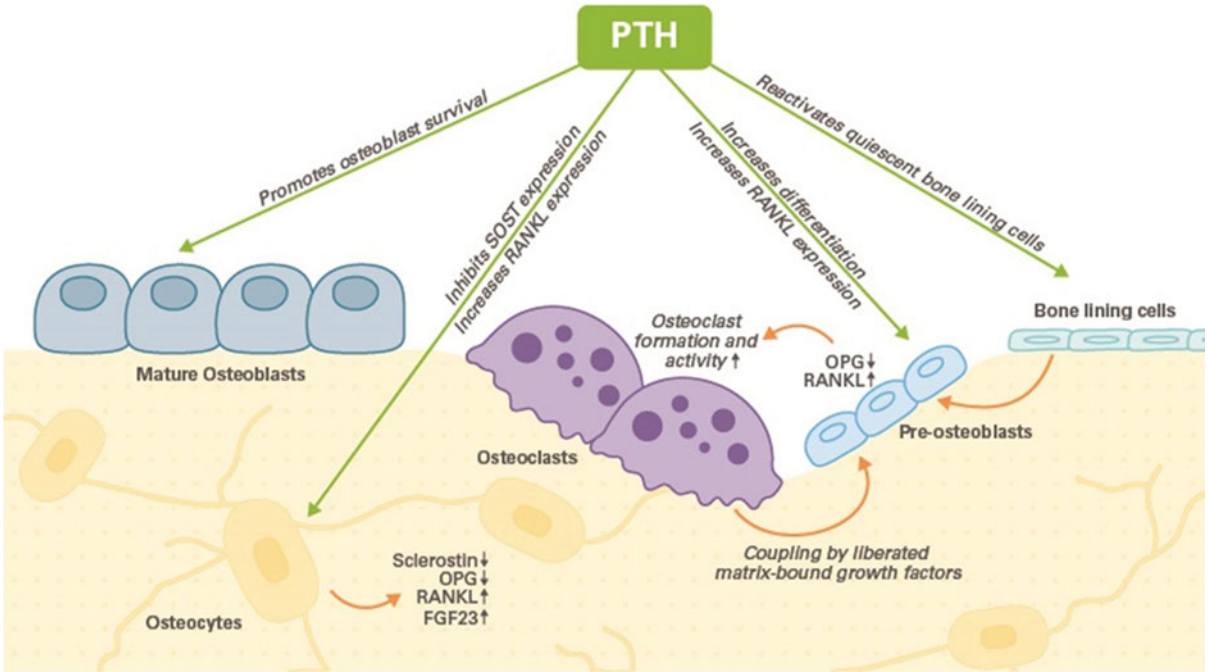


図 2.6.2-2　PTH による骨カップリング機構の活性化

PTH は骨細胞、骨芽細胞、及び破骨細胞の活性化を通して骨リモデリングを促進する。骨形成は、静止状態のライニング細胞の再活性化、骨芽前駆細胞の動員、骨芽細胞系列の分化促進、及び骨芽細胞のアポトーシスの抑制により亢進する。骨芽細胞の動員、分化、及び生存を負に制御する因子であるスクレロスチンが、骨細胞から分泌されるのを PTH は抑制することで骨形成が更に促進される。同時に、骨細胞を含む骨芽細胞系列の細胞における PTH シグナル伝達は、RANKL/OPG 系を介して間接的に骨吸収を刺激し、破骨細胞の分化及び活性化を亢進させる。骨吸収に伴って石灰化骨内から放出される成長因子も、骨カップリング機構に寄与している。OPG = オステオプロテゲリン; RANKL = receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand（核

因子κB受容体活性化因子リガンド）

生理的濃度の内因性PTHによって誘導される、骨カップリング機構を介した骨リモデリングは、骨がカルシウム（及び他のミネラル）の貯蔵庫として機能するために必要な基盤となっていることに加え、持続的な骨代謝回転を可能にし、これにより成熟又は老化した骨は、力学的により優れた新たな骨へと置換され、その結果、骨の完全性と強度を維持するのに役立っている[33)]。副甲状腺が正常な成人の骨では、骨吸収及び骨形成のバランスが保たれており、骨量は増加も減少もしない[23) 34)]。しかし、骨吸収と骨形成が不均衡又はアンカップリングな状態になると、骨量に対する正味の異化作用又は正味の同化作用が生じる。

骨は血中PTH濃度の上昇が間歇的であった場合と持続的であった場合で、異なった作用を示すが、どちらの場合も骨形成と骨吸収の割合の不均衡を引き起こす。生理的濃度を超えるPTHに間歇的に曝露されると正味の骨同化作用が生じるが[35) 36)]、生理的濃度を超えるPTHに持続的に曝露されると正味の異化作用が生じる[8) 10)]。この二律背反的な作用に関与すると考えられる機序の一つは、前駆細胞の分化が骨芽前駆細胞（すなわち非石灰化）段階で停止する現象であり、PTH濃度が持続的に上昇した場合に認められる[29) 37)]。対照的に、PTH濃度が間歇的に上昇した際には、骨芽細胞の分化及び抗アポトーシス作用に対する自己制御が解除されることで[32)]、骨芽細胞への成熟が連続的に進行する[29)]。

さらに、生理的濃度を超えるPTH曝露により生じる骨の同化及び異化作用における、骨髄T細胞の役割を裏付けるデータも報告されている。対照的に、生理的濃度のPTHにより生じる骨リモデリングにT細胞は関与していない[38) 39)]。具体的には、間歇的な生理的濃度を超えるPTH曝露により、$CD8^+$T細胞からWntリガンドであるWnt10bの遊離が起こり、骨芽細胞におけるWntシグナルの活性化を通じて骨形成がもたらされる[40) 41) 42)]。一方、生理的濃度を超えるPTH曝露が持続的であった場合、T細胞のTNFα産生が刺激され、IL-17Aを産生するヘルパーT細胞であるTh17細胞が増加する[38) 39) 43)]。IL-17は骨芽細胞及び骨細胞におけるRANKLの強力な誘導因子であることがin vitroで示されており[44)]、IL-17Aを中和することで、PTHの持続投与によって生じる骨芽細胞及び骨細胞のRANKL産生及び骨量減少が抑制されることが、マウスで示されている[39) 42)]。このようなRANKL産生の亢進は、生理的濃度を超えるPTHの持続的曝露で認められた正味の異化作用を説明するものと考えられる。

2.6.2.2.1　副甲状腺機能低下症

副甲状腺機能低下症は、PTH産生不足を特徴とする希少な内分泌疾患である。症例の大部分（75%以上）は後天性で、前頸部手術により二次的に発症し、その約25%が副甲状腺を誤って損傷又は破壊された結果と報告されている[4) 45)]。これらのうち3～30%は慢性副甲状腺機能低下症、すなわち手術後6ヵ月以上続く副甲状腺機能低下症の症状を示す[4) 46) 47)]。自己免疫疾患は後天性副甲状腺機能低下症の2番目に多い原因であり、その他としては、副甲状腺の遺伝子異常、ヘモクロマトーシス、及び特発性疾患がある[4) 45)]。副甲状腺機能低下症は、血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性を担うPTH及びその下流のホルモンである活性型ビタミンDの欠乏症であり、低カルシウム血症、高リン血症、及び高カルシウム尿症を特徴とし、このうち高カルシウム尿症

は、腎尿細管でろ過されたカルシウムを保持することができないことに起因する[3) 4)]。低カルシウム血症は神経筋の過敏性を引き起こすため、副甲状腺機能低下症の患者はしばしば、大腿周囲のしびれや知覚異常、認知能力の低下（「ブレインフォグ」）、手根骨筋痙攣、喉頭痙攣、テタニー、及び／又は痙攣に悩まされる[48)]。副甲状腺機能低下症は、うつ病や他の精神神経疾患のリスク増加とも関連している[49) 50)]。慢性的な低カルシウム血症及び高リン血症は、腎結石及び腎不全のリスクを 3～4 倍増加させるが、このリスクは従来の治療により悪化する[11)]。

副甲状腺機能低下症の患者はまた、骨代謝回転が低下しており、これにより、持続的かつ強固に連動した石灰化骨の分解とそれに続く新しい骨の形成、すなわち骨リモデリングが減少している[51) 52)]。骨塩又は骨ミネラルは時間の経過とともに骨に蓄積し続けるため[53)]、この骨代謝回転の低下は、皮質骨及び海綿骨の BMD が平均を上回ることからわかるように、高石灰化骨の蓄積につながる[51)]。さらに、骨吸収及び骨形成の両方が減少しているにもかかわらず、両者のバランスは、骨量の増加によって反映されるように、骨形成優位と考えられる[51)]。同時に、骨梁数（Tb.N）及び骨梁幅（Tb.Th）の増加、皮質骨幅（Ct.Wi）の増加と多孔率の減少から明らかなように、骨の微細構造に異常がみられる（図 2.6.2-3）[51) 54)]。このようなリモデリングされていない、つまり過成熟及び高石灰化骨の蓄積は、骨質の低下及び骨折リスクの増加と関連する可能性がある[55) 56)]。

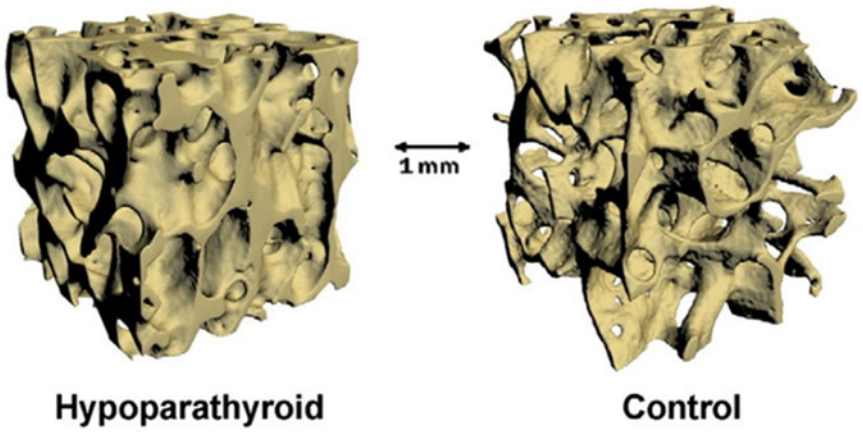


図 2.6.2-3　副甲状腺機能低下症の骨の構造変化

副甲状腺機能低下症骨（左）は、対照の骨（右）と比較して海綿骨量が増加しており、骨梁数（Tb.N）及び骨量幅（Tb.Th）の増加と、骨梁間隙（Tb.Sp）の低下を伴っている。Rubin 2010[54)] より転載[注1]。

現在、副甲状腺機能低下症のホルモン補充療法に使用可能な PTH 製剤はなく、既存の治療法はカルシウムと活性型ビタミン D の補給である。rhPTH(1-84)又は Natpara®[注2]は、補助薬として 2015 年に米国で、2017 年に（条件付きで）EU で承認されたが、本邦では未承認である。

注1 Reprinted from Bone, 2010, 46(1), Rubin MR et al, Three dimensional cancellous bone structure in hypoparathyroidism, pp. 190-195, with permission from Elsevier (2022)
注2 米国では Natpara として、欧州では Natpar として承認されている。本概要では「Natpara」と表記する。

2.6.2.3 効力を裏付ける試験

効力を裏付ける試験として、パロペグテリパラチドを用いた in vitro 及び in vivo 試験を実施した（表 2.6.2-1）。

2.6.2.3.1 動物種の適格性

非臨床試験では、げっ歯類としてラットを、非げっ歯類としてカニクイザルを、胚・胎児発生に関する試験の非げっ歯類としてウサギを選択した。PTH のアミノ酸配列は、陸上脊椎動物間で高度に保存されている。ヒト PTH(1-34)とラット、ウサギ、及びカニクイザル PTH(1-34)の配列相同性は、それぞれ 85%、79%、及び 100%である（ヒト：UniProt P01270；ラット：UniProt KB P04089；ウサギ：UniProt KB G1SNZ6；カニクイザル：UniProt KB Q9XT35）。同様に、ラット、ウサギ及びサルの PTH1R の配列もヒト PTH1R と高い相同性を示す［ヒト：UniProt Q03431；ラット：91%（Uniprot KB P25961）、ウサギ：94%（Uniprot KB G1T397）、カニクイザル：94%（Uniprot KB A0A2K5V724）］。ヒト PTH(1-34)のラット及びヒト PTH1R に対する結合親和性及び生物学的活性は同程度であることが報告されている[57]。ラット、ウサギ、及びサルは、承認された 2 つの PTH アナログ[58)59)60)61)]の非臨床評価でも選択され、パロペグテリパラチドから遊離された（ヒト）PTH(1-34)は、ラット、ウサギ、及びサルでも生物学的活性を有することが示されている（2.6.2.3.4 項、［2.6.6.3 項］及び［2.6.6.6 項］）。

パロペグテリパラチドからの PTH(1-34)の遊離は温度と pH に依存するが［2.6.4.3.1 項］、正常体温が動物種によって異なるにもかかわらず、パロペグテリパラチドを連日投与した場合、評価したすべての動物種でトラフ／ピーク比が低く、同様の PK プロファイルが確認された［2.6.4.3 項］。PTH(1-34)の主代謝物である PTH(1-33)は、ヒト、ラット、及びサルで生成された（［2.6.4.5 項］、［2.7.2.3.1.7 項］）。

以上を総合すると、ラット、ウサギ、及びサルは、パロペグテリパラチドの非臨床評価において薬理学的に適切な動物種と考えられる。

2.6.2.3.1.1 副甲状腺機能低下症モデルとしての TPTx ラットの適格性

表現型がヒトの副甲状腺機能低下症に類似していることから、副甲状腺を甲状腺と一緒に切除した TPTx ラットを疾患モデルとして使用して、パロペグテリパラチドの薬効を確認した。ラットの副甲状腺は非常に小さいため、副甲状腺のみを同定して切除することは困難である。実際、副甲状腺のみを摘出したラットの内因性 PTH 及び／又はカルシウムの血中濃度は、一貫性が認められていない[62)63)]。このため、PTH アナログのカルシウム恒常性や骨代謝回転に対する効果を評価する際には、TPTx ラットに対して甲状腺ホルモンの一種であるチロキシンを補充するモデルが一般的に用いられている[64)65)]。

パロペグテリパラチドを評価した薬効確認試験において、TPTx ラットはヒト副甲状腺機能低下症に類似した生化学的及び骨的特徴を示した（2.6.2.3.4.3 項）。PTH の標的組織の変化はヒト副甲状腺機能低下症（2.6.2.2.1 項）に十分類似していると考えられることから、本モデルはパロペグテリパラチドの薬理作用を評価する上で、病態生理的に適切であると考えられた。

2.6.2.3.2　PTH 作用のバイオマーカー

作用機序の項で述べたように、PTH は血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性に対する主要な調節因子であることから、薬理試験プログラムを通じて、パロペグテリパラチドの単回及び反復投与の in vivo 作用は、これらのミネラルイオンの血中濃度及び尿中濃度を指標に評価した。血中リン濃度が FGF23 によって更に調節されているのに対し、細胞外カルシウム濃度は PTH によって非常に狭い範囲で調節されている。イオン化カルシウムは生物学的活性を有するカルシウムを反映するため、PTH の作用機序を明らかにする上で重要である。しかし、動物実験の環境下では、総カルシウム（イオン化カルシウム並びに陰イオン及びタンパク質に結合したカルシウムを定量したもの）がイオン化カルシウムを示すものと考えられているため、薬理試験プログラム全体を通して主要な PD マーカーとして採用した。本モジュールを通して、血清又は血漿にて定量された総カルシウムの濃度は「血清カルシウム濃度」又は「血漿カルシウム濃度」と呼び、同様に定量された総リン濃度は「血清リン濃度」又は「血漿リン濃度」と呼ぶ。さらに、血中カルシウム濃度の増加に応答する CaSR 介在性の負のフィードバックループを表す指標として、血漿中の全長の PTH をいくつかの試験にて測定し、これを「内因性 PTH(1-84)」と呼ぶ。さらに、カルシウム及びリンの腎排泄は、尿検体中の各濃度を測定後、クレアチニン排泄量で補正した値を算出し、それぞれ「尿中カルシウム排泄量」及び「尿中リン排泄量」と呼ぶ。血清中リン濃度及び尿中リン排泄量と尿中カルシウム排泄量は、二次的な PD マーカーとみなした。

カルシウム濃度の恒常性と骨リモデリングは密接に連関していることから、非臨床開発プログラムを通じて骨代謝の変化を複数の動物種にて検討した。評価指標は、臨床での推奨に従って、骨代謝マーカーである血中のプロコラーゲンタイプ 1 アミノ末端プロペプチド（P1NP）及び尿中の I 型コラーゲン架橋 C-テロペプチド（CTx）を採用した。P1NP は I 型コラーゲンが類骨マトリックスに沈着する時に遊離することから骨形成を反映するマーカーであり、CTx は I 型線維性コラーゲンの分解時に遊離することから骨吸収を反映する [66)]。骨への作用を更に評価するために、二重エネルギーX 線吸収測定法（DXA）及び末梢定量コンピュータ断層撮影法（pQCT）による骨密度検査により、BMD、骨塩量（BMC）、及び骨構造のデータを得た。パロペグテリパラチドの骨への影響を薬理作用機序の観点から理解するために、骨形態計測を実施した。本計測法を用いて、構造パラメータ［例えば、骨量（BV）及び Tb.Th］並びにリモデリングの静的パラメータ［例えば、未石灰化骨、すなわち類骨の割合及び骨芽細胞面（Ob.S/BS）又は破骨細胞面（Oc.S/BS）］を定量した。さらに、骨石灰化面の石灰化前線をフルオロクロム標識することにより、例えば骨形成速度（BFR）及び骨石灰化速度（MAR）など、リモデリングの動的パラメータを定量化した（表 2.6.2-2）。必要に応じ、これらのパラメータは、総体積（TV）、BV、骨面（BS）及び骨周囲長（Pm）を含む標準的な参照値を用いて表示した [67)]。

表 2.6.2-2　非臨床開発プログラムで実施した骨評価

Modality	Parameters	Overall measure of	Measured in
Biochemical marker of bone turnover	P1NP, CTx	Bone formation and resorption	Serum or urine
DXA	Area, BMC, BMD	Areal bone density (assessed in 2D)	*In vivo*/*ex vivo*; Intact, unmodified bone
pQCT	Area, circumference and thickness; BMC, BMD, CSMI	Volumetric bone geometry and density in the trabecular and cortical bone compartments (assessed in 3D)	*In vivo*/*ex vivo*; Intact, unmodified bone
Histomorphometry	Structural (e.g. BV/TV, Tb.N, Th.Th), static (e.g. OV/BV, Ob.S/BS; Oc.S/BS) and dynamic (e.g. BFR, MAR) parameters of remodeling	Bone microarchitecture and the dynamics of bone remodeling	Undecalcified unstained and stained bone sections

BMC = bone mineral content; BMD = bone mineral density; BFR= bone formation rate; BV/TV = bone volume/total volume; CSMI = Cross-sectional moment of inertia; CTx = C-telopeptide of type 1 collagen; P1NP = procollagen type 1 amino-terminal propeptide; Ob.S/BS = osteoblast surface/bone surface; Oc.S/BS = osteoclast surface/bone surface; OV/TV = osteoid volume/total volume; Tb.N = trabecular number; Tb.Th = trabecular thickness.

臨床予測可能なデータを確保するために、パロペグテリパラチドの骨に対する作用は、推奨される非臨床骨評価法[68)]に従って、2 種の動物（ラット及びサル）の付属肢骨格大腿骨及び／又は脛骨）及び軸骨格（腰椎）両方の代表的部位を対象に評価した。これらのデータから、非臨床における海綿骨（腰椎、大腿骨遠位部及び脛骨近位部）及び皮質骨（大腿骨中間部及び脛骨中間部）における骨作用を総合的に評価した。

2.6.2.3.3　効力を裏付ける薬理試験（in vitro）

パロペグテリパラチド及び遊離 PTH(1-34)の PTH1R への結合を、SPR 法により検討した（試験番号［OX-17-099-071］）。C 末端側にポリヒスチジン（His）タグを付加した、ヒト PTH1R［rh PTH1R（UniProtKB/Swiss-Prot：Q03431）］の細胞外ドメイン（Met 1-Gly 188）リコンビナントタンパク質を、His タグを介してセンサーチップに固定化し、パロペグテリパラチドから遊離した PTH(1-34)との定常状態でのアフィニティー分析を 1～16 μM PTH(1-34)の濃度範囲で実施し、PTH (1-34)標準品と比較した。その結果、PTH(1-34)標準品及び遊離 PTH(1-34)の平衡解離定数（K_D）値は、それぞれ 4.17 μM 及び 3.85 μM で同程度であった。パロペグテリパラチドと PTH1R との相互作用の K_D 値は、検討可能であった 1～16 μM のパロペグテリパラチド濃度の範囲内において計測不能であった。このことは、PTH1R に対するパロペグテリパラチドの親和性が、PTH(1-34)の標準品と比較して著しく低いことを示している。

PTH1R を過剰発現させたヒト胎児腎由来細胞株 HEK293 で PTH 依存性の cAMP 産生を測定したとき、パロペグテリパラチドから遊離した PTH(1-34)は完全な活性を示した［3.3.2.S.3.1 項］。また、PTH(1-34)の主代謝物である PTH(1-33)は［2.6.4.5 項］、PTH1R を過剰発現させた HEK293 を用いた評価において、PTH(1-34)標準品と同等の活性を示した（試験番号［45719］）。以上のことから、パロペグテリパラチドから遊離した PTH は、完全な生物活性を保持していることが裏付けられた。

2.6.2.3.4　効力を裏付ける薬理試験（in vivo）

2.6.2.3.4.1　ラットを用いた単回投与 PK/PD 試験

SD ラット（投与時 14～15 週齢）を用いて単回投与 PK/PD 試験を実施した（試験番号［172388］）。パロペグテリパラチドを 10 及び 30 µg PTH(1-34)/kg で皮下及び静脈内投与し、血漿カルシウム濃度及び血漿リン濃度の経時変化を評価した。パロペグテリパラチドの投与により血漿カルシウム濃度は軽度に増加したが、パロペグテリパラチド投与後 24 時間では正常範囲内又は正常範囲をわずかに上回る程度で、明らかな用量依存的な作用は認められなかった（図 2.6.2-4）。血漿リン濃度については、パロペグテリパラチド投与による変化は認められず、正常範囲内で推移した。併せて実施した PK において、血中総 PTH 及び血中 mPEG で表される全身曝露量は、パロペグテリパラチド投与後、C_{max} 及び AUC ともに用量に比例して増加した［2.6.4.3.2.1 項］。

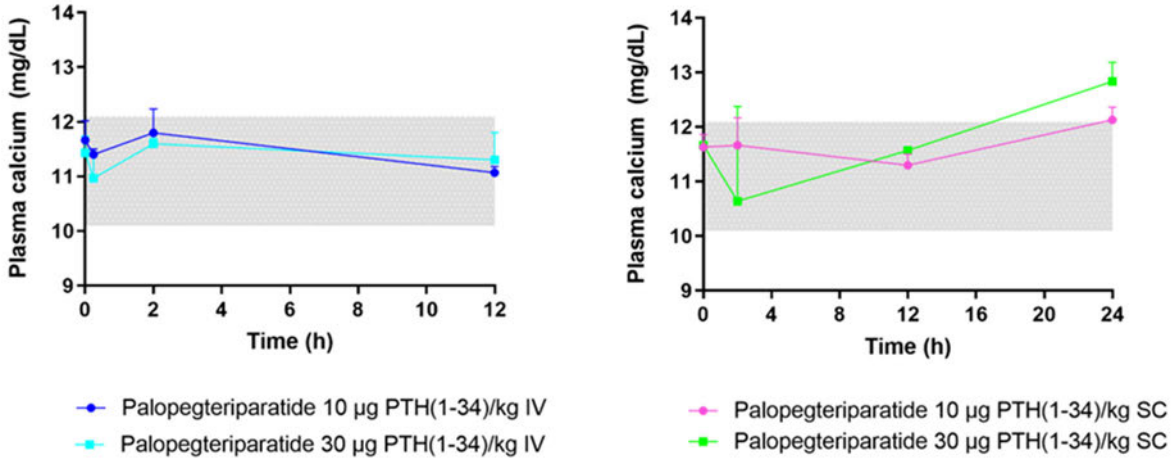


図 2.6.2-4　ラットを用いた単回 PK/PD 試験での血漿カルシウム濃度（試験番号［172388］）

データは平均値 ＋ 上限 SD（エラーバー）で表示。N＝3/群。x 軸の数字は投与後時間。血漿カルシウム濃度の正常範囲（10.1～12.1 mg/dL）は灰色網掛けで示した。IV＝ 静脈内；SC＝ 皮下；SD＝ 標準偏差

2.6.2.3.4.2　サルを用いた単回投与 PK/PD 試験

モーリシャス産の雄カニクイザル（投与時 2～3 歳齢）を用いて単回 PK/PD 試験を実施した（試験番号［171929］）。1 及び 5 µg PTH(1-34)/kg のパロペグテリパラチドを皮下及び静脈内投与し、カルシウム及びリンの血漿中濃度及び尿中排泄量の経時変化を評価した。重篤な食餌性高カルシ

ウム血症を避けるため、通常使用している飼料（約 1.15%）よりもカルシム含量が低く、推奨最小含量[69]に相当する 0.55%の飼料を使用した。

血漿カルシウム濃度は、1 及び 5 μg PTH(1-34)/kg のパロペグテリパラチド投与後に用量依存的に増加し、投与経路の違いによる明らかな差はみられなかった。1 μg PTH(1-34)/kg のパロペグテリパラチド投与では血漿カルシウム濃度は正常範囲内で推移した。5 μg PTH(1-34)/kg の投与では、投与後 8～12 時間で血漿カルシウム濃度は正常範囲上限を超えて増加し、24 時間に正常範囲内に低下し、以降 96 時間までの採血期間を通じてわずかな変動を示した（図 2.6.2-5）。尿中カルシウム排泄量は、1 及び 5 μg PTH(1-34)/kg のパロペグテリパラチドの静脈内投与後、ともに最初の 24 時間に増加し、その後 72～96 時間にはベースライン値に向かって減少した。ベースライン時、尿中カルシウム排泄量は、両用量の皮下投与後にも増加する傾向にあった。皮下投与でみられたこの作用は、主に 72～96 時間の採尿期間中及び高用量の 5 μg PTH(1-34)/kg で顕著であった。

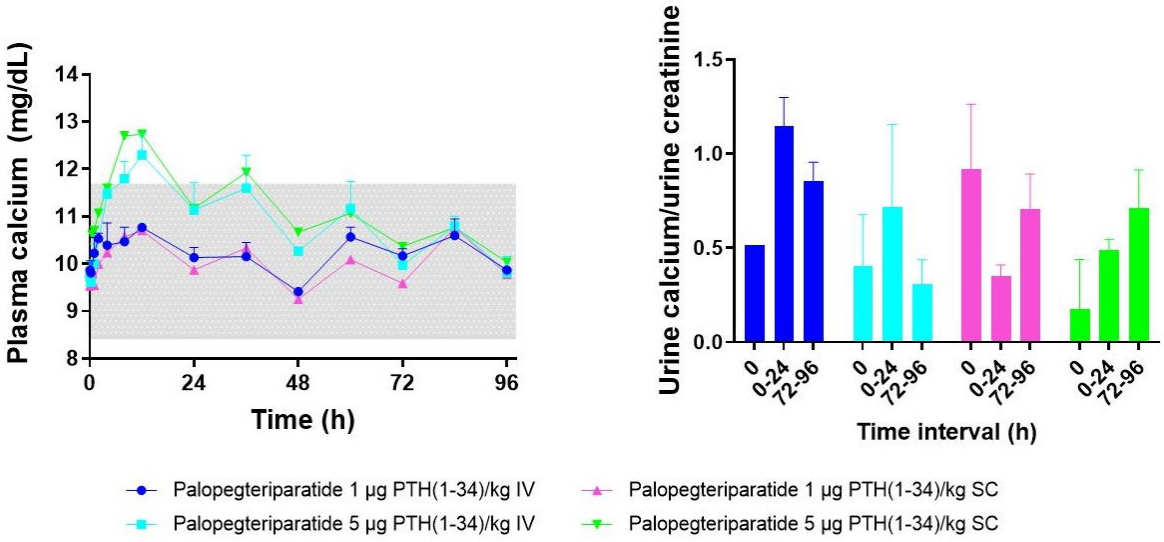


図 2.6.2-5　サルを用いた単回投与 PK/PD 試験における血漿及び尿中カルシウム排泄量（試験番号［171929］）

パロペグテリパラチドの単回投与は、 1μg 静脈内投与（青色）、5μg 静脈内投与（水色）、1μg 皮下投与（赤色）及び 5μg 皮下投与（緑色）により実施した。データは平均値 + 上限 SD（エラーバー）で表示。N = 3/群。x 軸の数字は投与後時間を表す。尿は投与前（0 時間）、投与後 0～24 時間、及び投与後 72～96 時間の 3 時点で採取した。血漿カルシウム濃度の正常範囲（8.44～11.68 mg/dL）は灰色網掛けで示した。
IV = 静脈内；SC = 皮下；SD = 標準偏差。

投与用量及び投与経路にかかわらず、血漿リン濃度は採血したすべての時点で正常範囲内にあった。尿中リン排泄量は、すべての採尿時点において定量下限（4.95 mg/dL）未満であった。血中総 PTH 及び血中 mPEG で表される全身曝露量は、パロペグテリパラチド投与後、C_{max} 及び AUC ともに用量に比例して増加した［2.6.4.3.2.2 項］。

2.6.2.3.4.3　TPTx 副甲状腺機能低下症モデルラットを用いた 4 週間反復投与薬効確認試験

パロペグテリパラチドの薬効確認試験として、TPTx ラットを用いた 4 週間反復投与試験を実施した（試験番号［6700404］）。12~13 週齢の雌 SD ラットに対して、副甲状腺及び甲状腺摘出術を実施し、施術約 1 週間後にチロキシンペレットを皮下に埋植し、合計 5 週間、機能的に副甲状腺機能低下状態に置いた。その後、17~18 週齢の時点で媒体、5、10、及び 30 μg PTH(1-34)/kg/日のパロペグテリパラチド又は 70 μg rhPTH(1-84)/kg/日のいずれかの投与を開始した。比較対照薬として、Natpara と同一のアミノ酸配列を有する rhPTH(1-84）を投与した。rhPTH(1-84)の用量（7.4 nmol/kg/日）は既報 [69] を元に設定した。この用量は、パロペグテリパラチドの最高用量［7.2 nmol/kg/日に相当する 30 μg PTH(1-34)/kg/日］と同程度の mol 数に相当し、5 及び 10 μg PTH(1-34)/kg/日（それぞれ 1.2 及び 2.4 nmol/kg/日に対応する）に対して 3 及び 6 倍の mol 数となる。また、偽手術を施し媒体を投与する副甲状腺機能が正常な偽手術対照群、及び TPTx ラットに媒体を投与する TPTx ラット対照群をそれぞれ設定した。血清及び尿中のカルシウム濃度及びリン濃度、並びに骨代謝マーカー（血清 P1NP 及び尿中 CTx）を、投与前及び 4 週間の投与期間中の複数の時点で、測定した。PTH1R シグナル伝達を確認するために、初回投与後に尿中の cAMP 量を測定した。4 週間の投与終了時に、$1,25(OH)_2D_3$ の血清中濃度を測定するとともに、剖検前後の各組織及び組織標本を対象に、pQCT の測定［大腿骨中間骨幹部、大腿骨遠位骨幹部、第 4～5 腰椎（L4～L5)］、及び骨形態計測（脛骨中間骨幹部、近位骨幹部）を実施した。

パロペグテリパラチドの最高用量［30 μg PTH(1-34)/kg/日］では、2 匹のラットが 4 日目に死亡していた。この群の生存個体についても、一般状態の変化（活動性低下、衰弱、皮膚温低下、皮膚蒼白、努力性呼吸）に加え、血清カルシウム濃度の急速かつ持続的な増加が認められたため、投与後 7 日の時点で投与を中止し、すべて安楽死させた。これらの動物を剖検したところ、肉眼及び病理組織学的所見として、大動脈、心臓、腎臓、胃、及び膵臓に軟組織の石灰化が認められた。パロペグテリパラチドを 10 μg PTH(1-34)/kg/day で投与した TPTx ラットの 4 週間投与後の剖検時における肉眼所見として、蒼白色病巣と表面粗造を伴った大動脈の顕著な拡張を認めた。この群では病理組織学的検査は実施しなかったが、30 μg PTH(1-34)/kg/日及び正常ラットの反復投与毒性試験［2.6.6.3.1 項］で認められた病理組織学的所見を考慮すると、10 μg PTH(1-34)/kg/日での肉眼所見は、パロペグテリパラチドの薬理作用が過剰発現した場合に予想される軟部組織の石灰化［2.6.6.10.1 項］と一致している。5 μg PTH(1-34)/kg/日では、パロペグテリパラチドに関連する肉眼所見はみられなかった。

PTH1R シグナル伝達（2.6.2.2 項）を初回投与後に確認したところ、尿中 cAMP 濃度の増加が、パロペグテリパラチド及び rhPTH(1-84)のそれぞれの群で認められた。rhPTH(1-84)投与では、投与後 4 時間でのみ cAMP 産生が増加したが、パロペグテリパラチドの投与では、投与後 4 時間から 24 時間まで尿中 cAMP 濃度が用量依存的に増加した。パロペグテリパラチドを 10 μg PTH(1-34)/kg/日で投与した TPTx ラットの総 PTH 曝露量は、4 週間反復投与毒性試験（試験番号［6700371］）で、同用量のパロペグテリパラチドを投与した正常ラットよりも高かった。

TPTx ラット対照群の個体は、ヒトの副甲状腺機能低下症で報告されている血液生化学的特徴を示した。重要なことは、低カルシウム血症（図 2.6.2-6）、高リン血症（図 2.6.2-7）、$1,25(OH)_2D_3$ の

血清中濃度が定量下限（42.0 pmol/L）未満であったこと、及びリンの尿中排泄低下が本モデルにおいて確認されたことである。尿中カルシウム排泄量は、副甲状腺機能低下症患者と異なり、偽手術対照群と比較して低値傾向から同程度で推移したが、これは恐らく、患者に対して行われるようなカルシウムや活性型ビタミン D の補充も行われておらず[70]、腎臓でのろ過カルシウム量が通常よりも低下していることを反映していると考えられる。

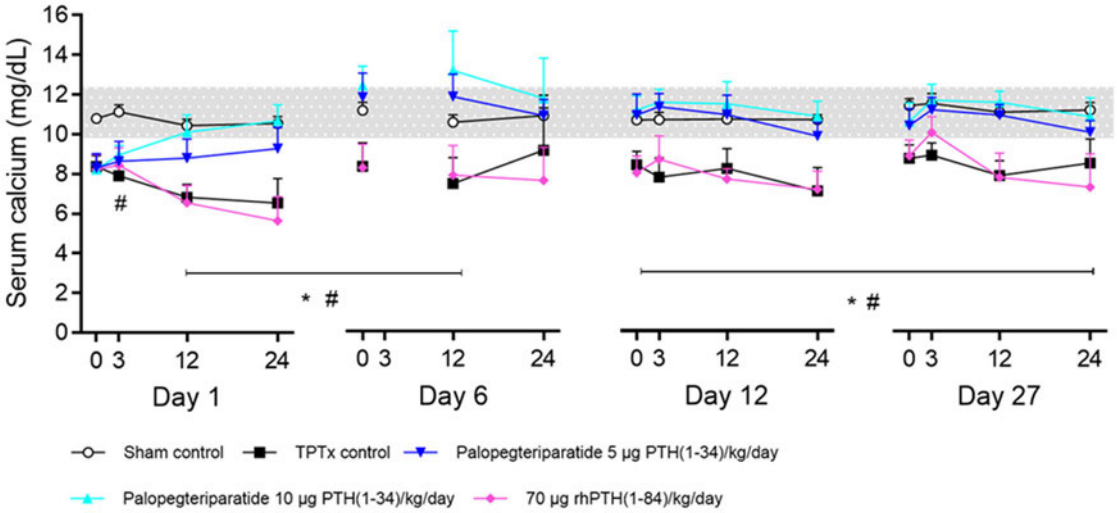


図 2.6.2-6　副甲状腺機能低下症モデルの TPTx ラットを用いた 4 週間反復投与薬効確認試験における血清カルシウム濃度（試験番号[6700404]）

データは平均値 + 上限 SD（エラーバー）で表示。N = 9/群。X 軸の数字は投与後時間を表す。血清カルシウム濃度の正常範囲（9.9～12.3 mg/dL）は灰色の網掛けで示した。6 日目の投与後 3 時間では採血不実施による欠測値がある。* = 5 µg PTH(1-34)/kg/日のパロペグテリパラチド投与群は TPTx ラット対照群と比較して統計学的な有意差（$p<0.05$）を示した；# = 10 µg PTH(1-34)/kg/日のパロペグテリパラチド投与群は TPTx ラット対照群と比較して統計学的な有意差（$p<0.05$）を示した。TPTx = 甲状腺副甲状腺摘出；SD = 標準偏差

TPTx ラット対照群と比較すると、血清カルシウム濃度は 5 及び 10 µg PTH(1-34)/kg/日のパロペグテリパラチド投与により 1 日目から増加した。血清カルシウム濃度は、パロペグテリパラチドの初回投与後 12～24 時間までに正常範囲内まで増加し、本試験期間中、この範囲内又は正常範囲上限をわずかに上回って推移した（図 2.6.2-6）。

血清リン濃度はパロペグテリパラチド初回投与後 24 時間以内に正常範囲内まで減少し、試験期間を通じて正常範囲内を維持した（図 2.6.2-7）。

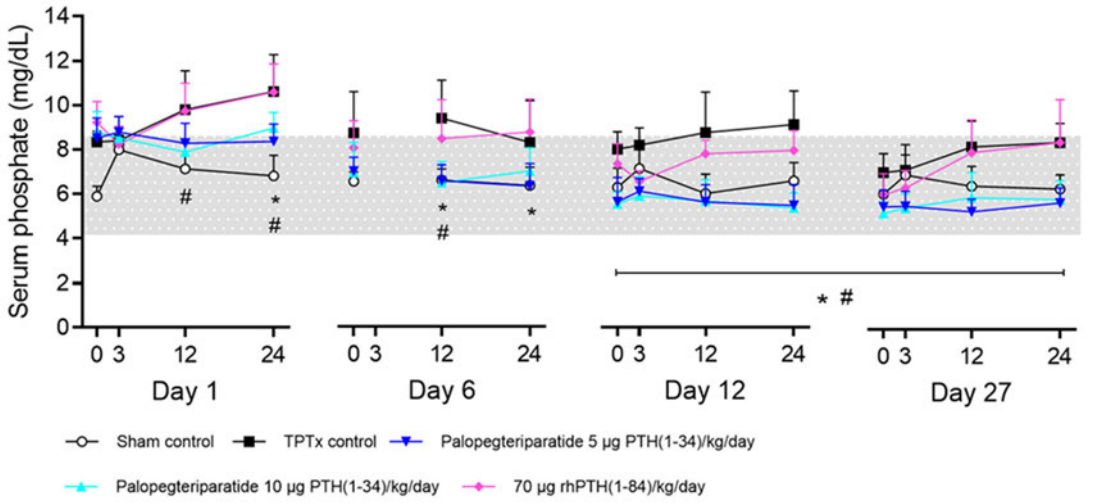


図 2.6.2-7　副甲状腺機能低下症モデルの TPTx ラットを用いた 4 週間反復投与薬効確認試験における血清リン濃度（試験番号［6700404］）

データは平均値 ＋ 上限 SD（エラーバー）で表示。N = 9/群。X 軸の数字は投与後時間。正常範囲（4.25～8.65 mg/dL）は灰色の網掛けで示した。6 日目の投与後 3 時間では採血不実施による欠測値がある。* = 5 µg PTH(1-34)/kg/日のパロペグテリパラチド投与群は TPTx ラット対照群と比較して統計的な有意差（$p<0.05$）を示した；# = 10 µg PTH(1-34)/kg/日のパロペグテリパラチド投与群は TPTx ラット対照群と比較して統計的な有意差（$p<0.05$）を示した。SD = 標準偏差；TPTx = 甲状腺副甲状腺摘出

TPTx ラット対照群と比較して、いずれの用量のパロペグテリパラチドを投与した群でも尿中カルシウム排泄量が初期（1～12 日目）に増加し、その後は減少し、27 日目には TPTx ラット対照群と同程度になった。

尿中リン排泄量は、TPTx ラット対照群と比較して、いずれの用量でもパロペグテリパラチド投与により増加したが、試験終了時には TPTx ラット対照群と同程度であった。

投与終了時、$1,25(OH)_2D_3$ の血中濃度は、パロペグテリパラチドを投与した 18 匹の TPTx ラットのうち 17 匹で定量下限以下であり、TPTx ラット対照群と同様であった。

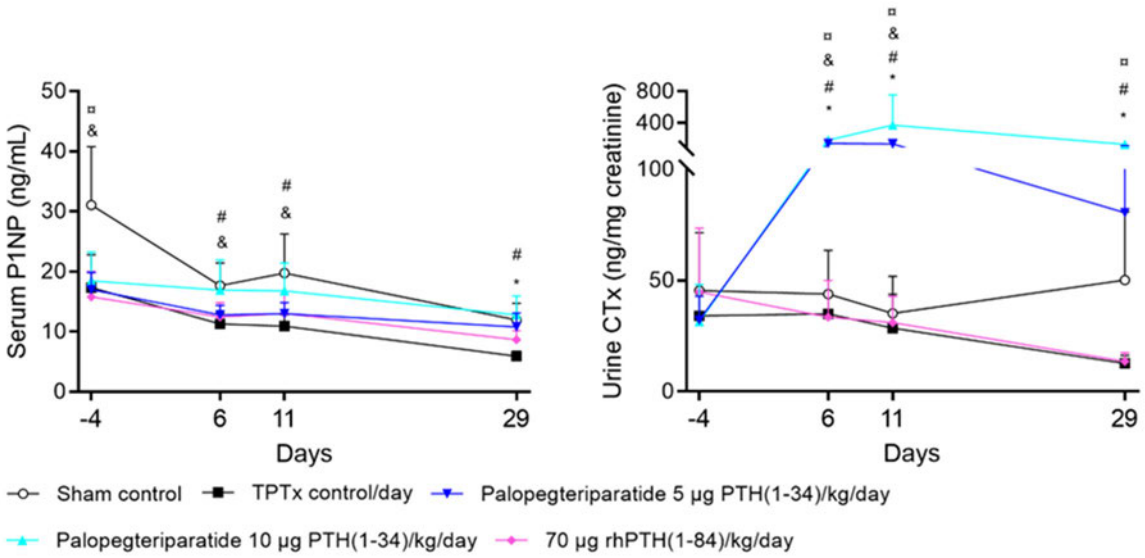


図 2.6.2-8　副甲状腺機能低下症モデルの TPTx ラットを用いた 4 週間反復投与薬効確認試験における骨代謝マーカー（試験番号［6700404］）

データは平均値 + 上限 SD（エラーバー）で表示。N = 9/群。X 軸の数字は投与後の日数を表す。* = 5μg PTH(1-34)/kg/日のパロペグテリパラチド投与群は TPTx ラット対照群と比較して統計学的な有意差(p<0.05)を示した；# = 10 μg PTH(1-34)/kg/日のパロペグテリパラチド投与群は TPTx ラット対照群と比較して統計学的な有意差（p<0. 05）を示した；& = 5 μg PTH(1-34)/kg/日のパロペグテリパラチド投与群は偽手術対照群と比較して統計学的な有意差（p<0.05）を示した；¤ = 10 μg PTH(1-34)/kg/日のパロペグテリパラチド投与群は偽手術対照群と比較して統計学的な有意差（p<0.05）を示した。CTx = I 型コラーゲンの C-テロペプチド、P1NP =I 型コラーゲンのアミノ末端プロペプチド、SD = 標準偏差；TPTx = 甲状腺副甲状腺摘出

TPTx ラットは、偽手術対照ラットと比較して、骨代謝マーカー（図 2.6.2-8）及び骨形態計測により低骨代謝回転状態を示したことから、副甲状腺機能低下症の重要な骨の特徴を反映していると考えられた。骨形態計測において、TPTx ラット対照群の海綿骨では、骨リモデリングの状態を表す動的パラメータ（MAR、BFR/BV）及び静的パラメータ［類骨量及び類骨面（OV/BV 及び OS/BS%）、Ob.S/BS、Oc.S/BS］がすべて著しく低下していた（表 2.6.2-4）。この低骨代謝回転状態は、pQCT で評価した第 4～5 腰椎（L4-L5）における海綿骨 BMD の増加にも反映されている（表 2.6.2-3）。大腿骨骨幹端の海綿骨量も増加する傾向にあったが、皮質骨が大部分を占める大腿骨又は脛骨骨幹部では、pQCT や骨形態計測でも皮質骨 BMD、形状又は構造に対する有意な変化は認められなかった。

パロペグテリパラチドの 4 週間投与により、骨代謝マーカーは TPTx ラット対照群と比較して用量依存的に増加した（図 2.6.2-8）。注目すべきは、骨形成マーカーである血中 P1NP 濃度は、偽手術対照群と同程度まで増加したのに対して、骨吸収マーカーである尿中 CTx 排泄量は 11 日目をピークに、偽手術対照群を著しく上回り続けたことである。

骨吸収が骨形成を上回ると考えられる骨代謝マーカーの変化と一致して、pQCT で得られた大腿骨骨幹端及び腰椎 L4-L5 の各海綿骨 BMD は、TPTx 及び偽手術対照の両群と比較して、5 及び 10 μg PTH(1-34)/kg/日ともに減少した（表 2.6.2-3）。偽手術対照群と有意な差はみられなかったが、TPTx ラット対照群と比較して、10 μg PTH(1-34)/kg/日の投与により、大腿骨骨幹部の皮質骨面積、BMC、及び Ct.Wi が減少した。

骨形態計測は、偽手術対照群、TPTx ラット対照群及び rhPTH(1-84)又はパロペグテリパラチドを 5 μg PTH(1-34)/kg/日で投与した群を対象に実施した。骨密度検査と一致して、パロペグテリパラチドを投与した群では、TPTx ラット対照群及び偽手術対照群と比較して、脛骨の海綿骨における骨量（BV/TV）が減少した。これは主に、Tb.N の減少及び骨梁間隙（Tb.Sp）の増加に起因する（表 2.6.2-4）。骨代謝マーカーによって示された骨形成と骨吸収の増加と一致して、海綿骨骨形成の動的パラメータ（MAR 及び BFR）及び静的パラメータ（OV/BV、OS/BS%、Ob.S/BS）は、TPTx ラット対照群及び偽手術対照群の両方と比較して、パロペグテリパラチド投与後に増加した。同様に、骨吸収の静的パラメータである破骨細胞面（Oc.S/BS）は、TPTx ラット対照群と比較して有意な増加を示し、偽手術対照群と同程度であった（表 2.6.2-4）。

脛骨骨幹部の骨形態計測において、骨形状のパラメータに変化はみられていないが、パロペグテリパラチド投与により、皮質骨内周囲長あたりの浸食線（Ec.E.Pm/Ec.Pm）が増加しており、脛骨内腔で骨吸収が亢進していると考えられた（表 2.6.2-4）。このことは、パロペグテリパラチドを

投与した TPTx ラットの大腿骨骨幹部の pQCT で認められた皮質骨面積及び Ct.Wi のわずかな減少と一致している（表 2.6.2-3）。また、これらの皮質骨の変化は、pQCT から得られた骨スライス内の BMD 及び石灰化骨の空間分布から計算される、骨の曲げ強度とねじり強度の指標である断面 2 次モーメント（CSMI）のわずかな減少とも関連している。

表 2.6.2-3 副甲状腺機能低下モデルラットを用いた 4 週間反復投与薬効確認試験における骨密度検査（試験番号［6700404］）

	Sham control	**TPTx control**	**Palopegteriparatide5 µg PTH(1-34)/kg**	**Palopegteriparatide10 µg PTH(1-34)/kg**	**70 µg rhPTH (1- 84)/kg**
Femur Metaphysis					
Trabecular BMD (mg/cm^3)	397.88 (±58.98)	477.27 (±93.71)	281.33 (±94.95)*#	362.41 (±74.89)#	556.74 (±102.46)*
Femur Diaphysis					
Cortical area (mm^2)	6.647 (±0.243)	6.807 (±0.267)	6.514 (±0.357)	6.310 (±0.289) #	6.770 (±0.467)
Cortical BMD (mg/cm^3)	1311.69 (±10.68)	1307.41 (±13.40)	1307.94 (±11.18)	1300.56 (±15.46)	1303.20 (±9.48)
Cortical thickness (mm)	0.7528 (±0.0234)	0.7802 (±0.0297)	0.7503 (±0.0337)	0.7366 (±0.0340)#	0.7726 (±0.0397)
Cortical perimeter (mm)	11.1974 (±0.2523)	11.1764 (±0.2098)	11.0438 (±0.3939)	10.8946 (±0.4764)	11.1866 (±0.3666)
CSMI (mm^4)	6.0256 (±0.5760)	6.1152 (±0.4959)	5.8568 (±0.8747)	5.4086 (±0.6747)	6.1770 (±0.7418)
Lumbar vertebrae L4-L5					
Trabecular BMD (mg/cm^3)	381.11 (±38.76)	443.23 (±33.85)*	339.57 (±17.81)*#	339.37 (±27.04)#	549.01 (±51.33)*

Data are presented as mean ±SD. N = 9/group. * = Statistically significantly different from sham control; # = statistically significantly different from TPTx control; BMD = Bone mineral density; CSMI = Cross-sectional area of inertia in the plane of bending; SD = standard deviation. Differences among groups treated with palopegteriparatide and rhPTH(1-84) are not shown.

表 2.6.2-4　副甲状腺機能低下モデルラットを用いた 4 週間反復投与薬効確認試験における骨形態計測（試験番号［6700404］）

	Sham control	TPTx control	Palopegteriparatide5 µg PTH (1-34)/kg/day	70 µg rhPTH(1-84) /kg/day
Proximal Tibia Metaphysis, Trabecular Structural Parameters				
BV/TV (%)	24.26 (±4.42)	26.82 (±7.95)	14.62 (±5.21)*#	33.68 (±6.52)*
Tb.Th (µm)	67.8 (±5.5)	71.1 (±5.1)	61.2 (±8.9)#	90.7 (±8.5)*#
Tb.Sp (µm)	217.6 (±48.6)	210.1 (±67.9)	388.6 (±110.6)*#	183.7 (±38.3)
Tb.N (/mm)	3.580 (±0.509)	3.749 (±0.953)	2.327 (±0.515)*#	3.697 (±0.470)
OV/BV (%)	0.037 (±0.060)	0.000 (±0.000)*	1.556 (±1.754)*#	0.238 (±0.255)*#
OS/BS (%)	4.68 (±3.10)	0.14 (±0.18)*	23.00 (±9.31)*#	11.87 (±5.29)*#
Oc.S/BS (%)	0.83(±0.35)	0.19 (±0.08)*	0.68 (±0.31)#	0.12 (±0.12)*
Ob.S/BS (%)	4.67 (±3.09)	0.14 (±0.18)*	22.12 (±8.59)*#	11.72 (±5.28)*#
Fi.S/BS (%)	0.00 (±0.00)	0.00 (±0.00)	0.79 (±1.80)	0.00 (±0.00)
MS/BS (%)	17.68 (±7.73)	2.84 (±0.99)*	28.81 (±6.12)*#	45.82 (±7.65)*#
Proximal Tibia Metaphysis, Trabecular Dynamic Parameters				
sLS/BS (%)	19.88 (±6.66)	5.16 (±1.74)*	32.14 (±5.55)*#	47.81 (±5.26)*#
dLS/BS (%)	7.73 (±4.65)	0.28 (±0.27)*	12.76 (±3.84)#	21.92 (±6.87)*#
MAR (µm/d)	1.491 (±0.212)	0.931 (±0.523)	2.329 (±0.432)*#	1.147 (±0.149)
BFR/BV (%/y)	287.67 (±121.15)	27.81 (±21.48)*	793.18 (±155.36)*#	427.13 (±98.53)*#
Tibia Diaphysis, Cortical Structural Parameters				
Ct.Ar (mm^2)	4.333 (±0.259)	4.151 (±0.333)	3.962 (±0.281)	4.193 (±0.304)
Ct.Wi (µm)	703.7 (±46.0)	703.9 (±54.7)	666.1 (±37.0)	693.3 (±51.9)
Ec.E.Pm/Ec.Pm (%)	3.574 (±4.754)	2.592 (±2.904)	10.201 (±5.467)*#	1.242 (±1.206)
Tibia Diaphysis, Cortical Dynamic Parameter				
Ec.BFR/BS (μm^3 /μm^2 /y)	79.12 (±36.82)	98.42 (±75.50)	94.00 (±84.13)	100.60 (±58.65)

Data are presented as mean ±SD. N = 9/group. * = Statistically significantly different from sham control; # = statistically significantly different from TPTx control. Differences among groups treated with palopegteriparatideand rhPTH(1-84) are not shown. BV/TV = bone volume/total volume; BFR/BV = bone formation rate/bone volume; Ct.Ar = cortical area; Ct.Wi = cortical width; dLS/BS = double label surface/bone surface; Ec.E.Pm/Ec.Pm = Endocortical eroded perimeter/endocortical perimeter (endocortical eroded surface); Fi.S/BS = fibroblast-like surface/bone surface; MS/BS = mineralized surface/bone surface; Ob.S/BS = osteoblast surface/bone surface; Oc.S/BS = osteoclast surface/bone surface; OV/BV = osteoid volume/bone volume; OS/BS = osteoid surface/total surface; SD = standard deviation; sLS/BS = single label surface/bone surface; Tb.N = trabecular number; Tb.Sp = trabecular separation; Tb.Th = trabecular thickness.

パロペグテリパラチドとは対照的に、rhPTH(1-84)の連日投与では、血清カルシウム濃度が初回投与後 3 時間に一過的でわずかな増加を示し、その後は、TPTx ラット対照群と同程度もしくはわずかに減少した。血清リン濃度は初回投与後 3 時間ではわずか一過的な減少傾向を示し、その後は、TPTx ラット対照群と同等レベルで推移した（図 2.6.2-6、図 2.6.2-7）。カルシウム及びリンの尿中排泄量は投与による影響を受けなかった。血中 $1,25(OH)_2D_3$ 濃度は TPTx ラット対照群と比較

して高値を示し、偽手術対照群と同程度であった。血中 P1NP 濃度は TPTx ラット対照群と比較して、試験期間を通じて高値で推移した。尿中 CTx 排泄量は、試験期間中、TPTx ラット対照群と同程度であった（図 2.6.2-8）。pQCT で評価した結果、L4-L5 及び大腿骨骨幹部において、TPTx ラット対照群で認められた海綿骨 BMD の増加は、rhPTH(1-84)投与により更に増強された（表 2.6.2-3）。この所見と一致して、骨形態計測では、主に Tb.Th の増加によって脛骨近位部骨幹端の海綿骨における BV/TV が中程度に増加した。TPTx ラット対照群及び偽手術対照群と比較すると、骨形成の動的及び静的パラメータのほとんどが顕著に増加したが、MAR は TPTx ラット対照群とほぼ同程度であった。同様に、Oc.S/BS も TPTx ラット対照群とほぼ同程度であった。rhPTH(1-84)の投与による、大腿骨又は脛骨の骨幹部における皮質骨量、形状、又は構造に対する作用は認められなかった（表 2.6.2-4）。

2.6.2.3.5 効力を裏付ける薬理試験（まとめ）

パロペグテリパラチドは、正常ラットにおける単回投与 PK/PD 試験では血漿カルシウム濃度の軽度な増加が検出され、正常サルにおける単回投与 PK/PD 試験では用量依存的な血漿カルシウム濃度の増加作用が認められた。また、副甲状腺機能低下症の疾患モデルである TPTx ラットにおいても、パロペグテリパラチドを連日投与すると、血清カルシウム濃度及びリン濃度が、24 時間にわたり安定して正常範囲内を推移するようになった。さらに、骨代謝マーカー及び骨形態学的に認められるように、骨代謝回転が亢進し、海綿骨 BMD 及び骨量が減少することが示された。

2.6.2.4 副次的薬理試験

薬理試験プログラムでは、パロペグテリパラチド、自己切断後に生成される産物［PTH(1-34)、主代謝物の PTH(1-33)及び mPEG に結合した TransCon リンカー］について、副次的な PD 作用は確認されなかった。したがって、独立した副次的薬理試験は実施していない。

2.6.2.5 安全性薬理試験

ICH S7A に従い、パロペグテリパラチドの安全性薬理試験のコアバッテリーを実施した（表 2.6.2-1）。コアバッテリーは、覚醒雄 SD ラット［Crl:CD®(SD)］の CNS 及び呼吸系並びにモーリシャス産の覚醒雌雄カニクイザル（Macaca fascicularis）の心血管系に対するパロペグテリパラチドの有害作用の可能性を検討した。反復投与毒性に関する欧州医薬品庁（EMA）ガイドライン 2010（CPMP/SWP/1042/99 Rev 1 Corr*）、ICH S6、ICH M3、及び ICH S7A に従い、サルを用いた 4 及び 26 週間の反復投与毒性試験に心電図（ECG）の評価項目も含めた。さらに、TransCon リンカーの心毒性、肺毒性、及び神経毒性の可能性を in silico 解析で評価した。in vitro 安全性薬理試験は実施しなかった（2.6.2.5.1 項）。

安全性薬理試験には、薬理学的に適切な種として認められているラット及びサルを選択した（2.6.2.3 項）。パロペグテリパラチドの反復投与毒性試験にも同じ動物種を選択した。安全性薬理試験の投与開始時、ラットはすべて約 11 週齢、サルはすべて約 2.5 歳齢であった。ECG 評価を含む反復投与毒性試験では、サルは 2～3.5 歳齢であった。

2.6.2.5.1 in vitro 安全性薬理試験

いくつかの大型分子は I_{Kr} を阻害することが実証されており [70) 72) 73) 74) 75)]、したがって、大型分子については I_{Kr} 阻害を除外することはできない。しかし、より大きな分子（14 kDa 超）は、細胞内への透過が制限されているため I_{Kr} を阻害する可能性は低く、したがって、細胞内の hERG チャネルタンパク質の結合部位に到達しないと考えられる [11)]。TransCon リンカーは低分子であるが、in vivo では mPEG 部分に結合したままである［2.6.4.3.3 項］。したがって、パロペグテリパラチドのサイズが 47.4 kDa であること及び TransCon リンカーは mPEG（43.3 kDa）に結合したままであることから、これらの成分を用いて hERG 試験を実施する意義はないものと考えられた。さらに、TransCon リンカーの in silico 解析では、QT 間隔延長を含む心毒性に関する警告構造は確認されなかった。

安全性薬理学会の勧告によれば、特異性の高い標的分子の心血管系評価は、in vivo 心血管系評価のみで実施することができる [11)]。パロペグテリパラチドから遊離される PTH は、PTH に特異的な受容体にのみ結合することが報告されており、特異性の高い標的分子と考えられている [12)]。このことは、パロペグテリパラチドの非臨床毒性プログラムで確認され、オフターゲット作用は認められなかった［2.6.6.11 項］。

さらに、パロペグテリパラチド又は PTH アナログ [58) 59) 60) 61)] を用いて実施した臨床試験及び in vivo 非臨床試験において、催不整脈リスクは確認されていない。Natpara で実施された hERG 及びプルキンエ線維試験では、このサイズの分子に予想されるように、ヒトへの曝露に相当する濃度では hERG チャネルに対する阻害作用は認められず、活動電位の延長も認められなかった [60) 61)]。

2.6.2.5.2 in vivo 安全性薬理試験

in vivo 安全性薬理試験では、CNS、呼吸系、及び心血管系に対するパロペグテリパラチドの有害作用の可能性を PK 及び PD を考慮した測定時点で検討した。安全性薬理試験のコアバッテリー試験においては、総 PTH の曝露確認を実施し、4 週間反復投与毒性試験（試験番号［6700371］、［6700372］）におけるラット及びサルにおける遊離 PTH の曝露プロファイルとの同等性を確認した。すべての反復投与毒性試験と同様に、ECG 評価項目を含む試験ではトキシコキネティックス（TK）評価も実施した［2.6.5.4 項］。PD マーカーである血清カルシウム濃度及び血清リン濃度も、特定の安全性薬理試験及び ECG 評価を含む反復投与毒性試験で検討した。

2.6.2.5.2.1 ラットにおける神経行動及び呼吸機能評価

神経行動及び呼吸機能の評価は、雄ラットを用いた 2 つの独立した試験（試験番号：［6901267］及び［6901268］）で行い、パロペグテリパラチドを 0、10、30、及び 60 µg PTH(1-34)/kg の用量で単回皮下投与した。これらの試験の評価時点は、パロペグテリパラチド及びその自己切断産物の PK プロファイルを考慮して設定した。機能観察総合評価法による神経行動学的評価は、投与前及び投与後 8、12、24、48、96、及び 120 時間に実施した。呼吸機能は、動物を「ヘッドアウト」プレチスモグラフに入れて評価した。換気パラメータ（一回換気量、呼吸数、及び分時換気量）は、投与前（最低 15 分間）及び投与後 7～9 時間、11～13 時間、23～25 時間、47～49 時間、及び 95

～97 時間に測定した。投与前、投与後 9、13、25、29、97、及び 121 時間（神経行動学的評価のみ）の各時点において、神経行動機能（n=4）及び呼吸機能（n=3）を評価した後、PD マーカーである血清カルシウム濃度及び血清リン濃度を測定するために、スパースサンプリングを用いた採血を行った。パロペグテリパラチドは、60 μg PTH(1-34)/kg 以下の用量では神経行動機能又は呼吸機能に明らかな影響を及ぼさなかった。神経行動機能評価試験では、30 μg PTH(1-34)/kg 以上で投与後 9、13、及び 25 時間に、呼吸機能評価試験では 60 μg PTH(1-34)/kg で投与後 25 及び 97 時間に、血清カルシウム濃度の一過性の中等度な増加が認められた。神経行動系及び呼吸機能の評価時点には、単回 PK/PD 試験［2.6.4.3.2.1 項］の 10 及び 30 μg PTH(1-34)/kg 群で検討した遊離 PTH(1-34)の最終測定濃度到達時間（t_{last}）（投与後 24～48 時間）が含まれている。60 μg PTH(1-34)/kg の単回投与後の t_{last} は測定しなかったため、60 μg PTH(1-34)/kg での t_{last} が評価期間に含まれているかどうかは不明である。遊離 PTH(1-34)の最高血漿中濃度到達時間（t_{max}）（推定値 2～4 時間、［2.6.4.3.2.1 項］及び［2.6.5.4.2 項］）は評価時点には含まれなかったが、単回 PK/PD 試験［2.6.4.3.2.1 項］の 30 μg PTH(1-34)/kg 群で検討した遊離 PTH(1-34)の半減期が 18.6 時間と長かったことから、投与後 7～9 時間は t_{max} の近似値として許容できると考えられた。全体として、評価時点は PK プロファイルを十分にカバーし、試験の妥当性を裏付けるものであると考えられた。また、主要な PD マーカーである血清カルシウム濃度の増加が複数の時点で認められたことも試験の妥当性を裏付けている。

TransCon リンカーの in silico 解析［2.6.6.8.1 項］では、肺毒性又は神経毒性に関連する警告構造は認められなかった。

2.6.2.5.2.2 心血管系機能評価

心血管系機能は、独立した安全性薬理試験としての単回投与心血管系試験（試験番号［6901245］）及び 2 つの反復投与毒性試験（試験番号［6700372］及び［6700387］）の一環として、雌雄サルを用いて評価した。

単回投与の心血管系試験では、雌雄サルにクロスオーバー法により、0、0.2、0.5、及び 1.5 μg PTH(1-34)/kg の用量でパロペグテリパラチドを皮下投与した。外科的に埋め込んだ送信機を用いて、体温及び心血管系パラメータを投与後 48 時間まですべての動物で連続的に記録した。心血管系パラメータとして、全身血圧（収縮期血圧、拡張期血圧、平均動脈血圧）、脈圧、左室圧（LVP）パラメータ［収縮期及び拡張末期 LVP、最大収縮率（+dP/dt）及び最大弛緩率（-dP/dt）］、心拍数、及び ECG［PR、RR、QRS、QT 及び心拍数で補正した QT 間隔（QTc）の両方を評価することによる QT 間隔の延長］を評価した。QTc は各個体のベースラインから得られた個々の QT を心拍数で補正して算出した [76)]。ECG 波形の定性的評価は、各投与前に 2 回、投与後 0.5、2、4、8、12、24、36、及び 48 時間に行った。パロペグテリパラチドは、試験した最高用量である 1.5 μg PTH(1-34)/kg までの用量において、サルの心血管系パラメータに影響を及ぼさなかった。

反復投与毒性試験では、雌雄サルに 0、0.2、0.5、及び 1.5/1.0 μg PTH(1-34)/kg の用量でパロペグテリパラチドを 4 及び 26 週間連日皮下投与した。非侵襲的ジャケット型外部テレメトリーシステムを用いて、投与 2 日目（4 週間反復投与毒性試験のみ）、4/5 週目及び 25/26 週目に、投与 2 時間

前から投与後少なくとも 22 時間、心血管系パラメータ［心拍数、ECG の持続時間/間隔（PR、RR、QRS、QT、及び QTc）］を連続記録した。ECG 波形の定性的評価は投与前、投与後 0.5、8、及び 12 時間に行い、4 及び 26 週間反復投与毒性試験の最終評価ポイントは、それぞれ投与後 22～24 時間及び 20 時間であった。1.5 µg 以下の PTH(1-34)/kg のパロペグテリパラチド投与は、サルで 4 及び 26 週間の反復投与後、心血管パラメータに影響を及ぼさなかった。

サルを用いた 4 及び 26 週間の反復投与毒性試験における TK プロファイルに基づくと、1.5 及び 1.5/1.0 µg PTH(1-34)/kg の反復投与後の定常状態における遊離 PTH の t_{max}（2～8 時間）及び t_{last}（24 時間）が観察時点に含まれていることから、単回及び反復投与の心血管系評価は妥当であると考えられた（［2.6.5.4.5 項］及び［2.6.5.4.6 項］）。

TransCon リンカーの in silico 解析［2.6.6.8.1 項］では、QT 間隔延長を含む心毒性に関する警告構造は認められなかった。

2.6.2.5.3 要約－安全性薬理試験

パロペグテリパラチドの大きさ（47.4 kDa）、PTH(1-34)の特異性の高い標的分子としての性質、及び TransCon リンカーが mPEG（43.3 kDa）に結合したままであることから、これらの成分で hERG 試験を実施する意義はないものと考えられた。パロペグテリパラチドは、ラット及びサルを用いた安全性薬理試験のコアバッテリー試験及び反復投与毒性試験において、それぞれ 60 及び 1.5/1.0 µg PTH(1-34)/kg までの用量で、CNS、呼吸系、又は心血管系への機能的影響は認められなかった。さらに、in silico 評価では、TransCon リンカーについて、肺毒性、神経毒性、又は心毒性に関する警告構造は確認されなかった。

2.6.2.6 薬力学薬物相互作用試験

ビスフォスフォネート系薬剤、サイアザイド系及びループ利尿薬、全身性コルチコステロイド、リチウムなど、血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性に影響を及ぼす薬剤との相互作用の可能性については、海外で承認されている Natpara[78) 80)]（本邦では未承認）について記載されている。さらに、高カルシウム血症は、原因が何であろうと、ジゴキシンの強心作用に相加的に働き、ジゴキシン中毒を起こしやすいため、PTH アナログとジゴキシンを併用する際には、ジゴキシン中毒の徴候や症状をモニターする必要がある[77) 78) 79) 80) 81)]。パロペグテリパラチドによって惹起されるカルシウム及びリンの血中濃度に対する作用についても、同様の相互作用が予想される。

TransCon リンカーは、ラット及びサルにおいて in vivo で mPEG-担体との結合を維持していることが確認されており［2.6.4.3.3 項］、mPEG は生物学的に不活性であると考えられている[82)]。したがって、パロペグテリパラチドの自己切断に伴って生成する mPEG-リンカーは、薬物相互作用の可能性を評価する必要はない。したがって、パロペグテリパラチドを用いた非臨床 PD 薬物相互作用試験は実施していない。

2.6.2.7 考察及び結論

2.6.2.7.1 効力を裏付ける試験

2.6.2.7.1.1 カルシウムとリンの恒常性に対する作用

正常ラットにおけるパロペグテリパラチドの単回投与 PK/PD 試験では、血漿カルシウム濃度の軽度な増加のみが認められた。正常サルにおいてパロペグテリパラチドを単回投与すると、主要な PD マーカーである血漿カルシウム濃度の増加が認められたが、リンの血漿中濃度又は尿中排泄量の用量依存的変化は認められなかった。低カルシウム血症及び高リン血症を呈する副甲状腺機能低下症のモデルである TPTx ラットにおいて、パロペグテリパラチドを連日投与すると、24 時間にわたり安定して血清カルシウム濃度が増加し、血清リン濃度が減少したことから、血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性を回復させる薬理作用が確認された。パロペグテリパラチドの正常動物における反復投与毒性試験では、血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性に対する薬理作用の過剰発現が確認された（[2.6.6.3.1.1 項] 及び [2.6.6.3.2.1 項]）。これらの毒性試験では、カルシウム調節作用よりもリン調節作用の発現が遅いことが示されており、パロペグテリパラチドの単回投与時にリン調節作用が検出できなかったことの要因と考えられる。

正常サルにおける尿中カルシウム排泄量は、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 時間に増加がみられた。同様の一過的（1～12 日目）な尿中カルシウム排泄量の上昇が、5 及び 10 μg PTH(1-34)/kg/日のパロペグテリパラチドを投与した TPTx ラットで認められている。これは、投与初期には PTH の腎臓でのカルシウム再吸収に対する作用の上限を超えて、カルシウムの尿中排泄が増加した結果と考えられる [83)]。TPTx ラットでは、投与後 6 日目前後に血清カルシウム濃度がピークに達していることも、投与初期のろ過量増加を裏付けていると思われる。カルシウムろ過量の増加の機序としては、PTH 補充により PTH1R シグナル伝達が回復し、腸管でのカルシウム吸収及び骨からのカルシウム動員がそれぞれ増加した結果と考えられる。TPTx ラットの特徴的な病態の 1 つとして、高石灰化骨に過剰量のカルシウムが貯蔵されていることを踏まえると、骨からのカルシウム動員の寄与が大きいと考えられる。パロペグテリパラチドの 4 週間投与後、TPTx ラットの尿中カルシウム排泄量は偽手術対照ラットと同程度となった。この時点では、骨からのカルシウム動員が投与初期に比べて減少していることに加えて、パロペグテリパラチド投与終了時の TPTx ラットの血中 $1,25(OH)_2D_3$ 濃度が低かったことからも示唆されるように、消化管でのカルシウム吸収減少などの、高カルシウム血症を防ぐための代償機構が活性化している可能性が考えられる。ラット及びサルを用いた 4 及び 26 週間反復投与試験において、血清カルシウム濃度が正常範囲の上限付近を推移しているにもかかわらず、尿中カルシウム排泄量の上昇が投与後 15 日にのみ認められていることからも、高カルシウム尿症はカルシウム恒常性維持のための急性の代償機構であることを示している（[2.6.6.3.1.1 項] 及び [2.6.6.3.2.1 項]）。

TPTx ラット対照群及びパロペグテリパラチド投与群の血中 $1,25(OH)_2D_3$ の濃度は、ほとんどの例で定量下限未満であったため、今回の検討では活性化ビタミン D に対する影響を明らかにできなかった可能性がある。TPTx ラット対照群では、PTH を介した腎臓でのカルシジオールの 1α-水酸化が失われているため、$1,25(OH)_2D_3$ の血中濃度の低下が予想される（2.6.2.2 項）。一方で、パロペグテリパラチドを投与した TPTx ラットにおいても $1,25(OH)_2D_3$ の血中濃度を検出できなかっ

たのは、上述したように、血中カルシウム濃度及び／又は PTH 濃度の持続的な上昇に対する代償機構を反映している可能性がある。この解釈を裏付けるように、副甲状腺機能亢進症患者では血清中の活性型ビタミン D 濃度が低いことが報告されており[84]、血清カルシウム濃度が高いこと[85][86]又は PTH の過剰なシグナル伝達時に骨細胞から遊離される FGF23[87]により、本来誘導されるべき活性型ビタミン D の合成阻害又は代謝促進が関与しているものと思われる。

血清カルシウム濃度が一過的には正常範囲上限を超えて用量依存的に増加した結果、短期及び長期の代償機構が活性化されたことから、パロペグテリパラチドが TPTx ラットの血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性に対して目的とした薬理作用を発現することが示された。しかし、これらの所見は、今回検討した用量でのパロペグテリパラチドの薬理作用が、TPTx ラットに対して過剰発現した可能性を示している。また、4 週間の用量設定毒性試験（試験番号［[redacted]］）では、血清カルシウム濃度が 7 日目と比較して 2 日目にさらに高値を示したことから［2.6.7.6 項］、TPTx ラットへのパロペグテリパラチドの投与に伴う血清カルシウムの最高濃度は、1 及び 6 日目の測定値よりも大きかった可能性がある。10 μg PTH(1-34)/kg/日のパロペグテリパラチドを投与した群においてみられた、軟部組織の石灰化を示す肉眼所見は、この考えを裏付けるものである。同様に、最高用量である 30 μg PTH(1-34)/kg/日における、血清カルシウム濃度の急速かつ持続的な増加、早期の死亡、体重減少及び病理組織学的な軟部組織の石灰化も、反復投与毒性試験［2.6.6.10.1 項］で認められた薬理作用の過剰発現に類似している。TPTx ラットの 4 週間薬効確認試験及び 4 週間反復投与毒性試験（試験番号［6700371］）で得られた総 PTH 曝露量を比較すると、10 μg PTH(1-34)/kg/日を投与した TPTx ラットは、有害作用が認められた用量である 30 μg PTH(1-34)/kg/日を投与した正常ラットと同程度の PTH に曝露されていた。

以上、薬理試験プログラムにて行った、正常動物及び副甲状腺機能低下動物の検討から、パロペグテリパラチドは、血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性に対して、目的とする作用を発現することが示された。また、これらの結果は、PTH(1-34)が哺乳動物種全体にわたって作用することを裏付け、薬理作用及び安全性評価のための動物種としてラット及びサルが適切であることを示すものである。

2.6.2.7.1.2 骨代謝回転への作用

骨形成マーカーである血中 P1NP 濃度及び骨吸収マーカーである尿中 CTx 排泄量が用量依存的に増加することから明らかなように、TPTx ラットモデルにおける低骨代謝回転は、パロペグテリパラチドを連日投与することにより回復することが示された。注目すべきことに、パロペグテリパラチド投与後、血中 P1NP 濃度は正常化（すなわち、偽手術対照群で認められる濃度と同程度まで増加）したが、尿中 CTx 排泄量は偽手術対照群と比較して有意に高値となり、骨吸収の増加が骨形成の増加を上回っていることが示唆された。この結果と一致して、パロペグテリパラチド投与により、TPTx ラットモデルの高石灰化骨状態が回復した。しかし、BMD 及び BV/TV は偽手術対照群より低下していることから、骨代謝回転の活性化作用が過剰に発現しており、正味の異化作用、すなわち海綿骨の骨量を減少させている。対照的に、パロペグテリパラチドの皮質骨に対する異化作用は、骨量や骨密度も偽手術対照群と同程度にとどまっており、最小限であった。

これらの骨構造及び骨密度の軽度から中等度の変化は、有害なものではないと考えられたため、骨力学測定は実施しなかった。しかし、骨曲げ強度の代用指標であり pQCT の皮質骨の構造パラメータから算出される CSMI は、パロペグテリパラチドを投与した TPTx ラットでわずかに低下し、皮質骨の形状及び BMD のわずかな変化を反映していた。ただし、曲げ／ねじり強度は、曲げ軸付近の骨よりも外面付近の骨により影響されることを踏まえると、CSMI は、曲げ軸に対する皮質ミネラルの分布を示しているに過ぎず、それ自体が骨折リスクを示すものではない点に留意が必要である。

尿中 CTx 排泄量はパロペグテリパラチドを 4 週間投与した後も高い状態が続いていたが、投与後 11 日頃にピークを示しており、観察された海綿骨の減少は投与開始初期に起こったことが示唆される点は、重要に思われる。このことは、4 週間投与後の骨形態計測で得られた骨リモデリングに関する指標によって裏付けられている。すなわち、骨形成及び類骨形成のパラメータが顕著に増加しているのに対して、骨吸収の活性部位を表すパラメータである破骨細胞面の増加は、偽手術対照群と同程度に留まっている。投与後 4 週間の時点で骨吸収の骨形態学的指標に顕著な増加がみられなかったことは、海綿骨の骨量減少が投与開始初期に生じたものである可能性を支持している。このことは、正常雌ラットを用いた 4 及び 26 週間反復投与毒性試験において、海綿骨 BMD の減少が、最も測定時点の早い投与後 4 週間の時期ですでに生じていることからも推察される［2.6.6.10.4 項］。

2.6.2.2 項で記載したように、骨吸収と骨形成は密接に連関しており、骨リモデリングは一般的に破骨細胞の分化と活性化から始まり、次いで骨吸収、骨芽細胞の活性化及び遊走、そして最終的な骨形成へと続く[25)]。したがって、骨吸収が有意な投与初期の反応は予想外ではなく、TPTx ラットのような副甲状腺機能低下状態では、高石灰化骨を置換することにより正常な骨特性を再確立するための過程の一部でもある。加えて、TPTx ラットモデル及び副甲状腺機能低下症に固有の因子が、骨吸収と骨形成の間の時間的差を強調している可能性がある。線維芽細胞様面／骨面（Fi.S/BS）に着目して比較すると、パロペグテリパラチド 10 μg PTH(1-34)/kg/日を投与した TPTx 雌ラット（Fi.S/BS が 1%未満）は、パロペグテリパラチド 4 週間反復投与毒性試験における正常雌ラット（試験番号［6700371］; Fi.S/BS が 8%）よりも低値を示しており、PTH によって引き起こされる休止期の骨芽細胞の再活性化と骨芽細胞系細胞の動員が、TPTx ラットでは減弱している可能性が示唆されている。骨芽前駆細胞の活性化能が低下すると、骨芽細胞の成熟が遅れるため、骨吸収反応を相殺するのに必要な骨形成能の発現に至らないと考えられる。

パロペグテリパラチドの骨量に対する正味の異化作用の発現の有無は、観察期間や、骨密度測定及び骨形態計測の実施タイミングによっても異なると思われるが、生理的濃度を超える PTH に継続して曝露されると骨吸収優位の骨代謝が誘発されることはよく知られているため、投与量にも依存している可能性がある。PTH の持続的な曝露に伴う、骨に対する薬理作用の過剰発現は、骨形態計測の所見や骨代謝マーカーの変化にも反映されている（2.6.2.2 項）。パロペグテリパラチドの 4 週間投与後に TPT x ラットにおいて認められた類骨体積及び骨芽細胞面の著しい増加は、骨芽細胞系細胞の活性化及び動員を示すものである。しかし、これらの骨形態計測パラメータは、骨に対する正味の同化作用がみられた rhPTH(1-84)の投与群よりも高かった。パロペグテリパラチド投与群では、骨形態計測における一次標識面及び二次標識面の値が、rhPTH(1-84)投与群に比べ

低値傾向にあることや、血中 P1NP がわずかな増加にとどまっていることは、持続的な PTH 曝露による骨への作用の過剰発現によって生じる骨芽細胞の成熟停止を反映している可能性がある（2.6.2.2 項）。2.6.2.7.1.1 項で考察したように、パロペグテリパラチドを 5 及び 10 μg PTH(1-34)/kg/日で投与した TPTx ラットでは、血清カルシウム濃度が正常範囲の上限付近を推移した結果として、短期及び長期の代償作用が活性化していた点も、薬理作用が過剰に発現していたことを示す根拠の 1 つである。

TPTx ラットは、甲状腺の傍濾胞細胞で産生されるカルシトニンを欠いている。外科的 TPTx 処置の際に、副甲状腺だけでなく甲状腺も摘出されており、チロキシンペレットを埋め込んだのみであるため、甲状腺の外分泌機能は完全には回復していない。カルシトニンは、通常、血清カルシウム濃度の増加に反応して分泌され、in vitro では破骨細胞による骨吸収に対して強力な阻害活性を示し[88]、破骨細胞由来の骨形成因子の発現を増加させる[89]。カルシトニン／カルシトニン遺伝子関連ペプチド-α を欠損したノックアウトマウスでは、PTH の投与による骨吸収の亢進を介した血中カルシウム反応が、野生型マウスに比べ顕著であった[90]。同様に、甲状腺を欠損したラットでも、PTH の血中カルシウムに対する作用の増強が報告されている[91) 92)]。したがって、カルシトニンの欠乏がパロペグテリパラチドを投与した TPTx ラットでの骨吸収の過剰発現に関与している可能性があり、TPTx ラットでは投与後早期に死亡個体が発生するにもかかわらず、正常ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験（試験番号［6700371］）では、30 μg PTH(1-34)/kg/日の用量でも臨床的な忍容性を示した理由である可能性がある。したがって、正常ラットにおける甲状腺からのカルシトニン分泌は、PTH により誘発される骨からのカルシウム動員を弱めている可能性があり、この代償機構は TPTx ラットでは機能していない。

ヒトでは、カルシトニンは血中カルシウム濃度の恒常性維持に中心的な役割を果たしてはいないと考えられており[93]、甲状腺摘出術は高カルシウム血症の傾向を示さないものの、甲状腺摘出患者が BMD の低下を引き起こすかどうかについては、相反する報告がある[94) 95) 96) 97)]。カルシウムストレス下での過剰な骨吸収に対するカルシトニンを介した防御機構や、甲状腺以外の組織によるカルシトニン産生の種差に関する比較研究は少ないが、種差が存在する可能性が指摘されている[98]。ラットはカルシトニン感受性が高い動物種である可能性があり、TPTx モデルで認められた過剰な反応を説明するのに役立つ可能性がある。

以上をまとめると、TPTx ラットにおけるパロペグテリパラチド投与後の海綿骨の骨量減少は、PTH の持続的な曝露に伴う薬理作用の過剰発現によるものと考えられる。生理的濃度の PTH は、血中カルシウム濃度の恒常性維持の一環として骨リモデリングを促進しており（2.6.2.2 項）、パロペグテリパラチドは、副甲状腺機能低下症の患者に PTH を補充することにより、血中カルシウム濃度及びリン濃度を正常化する目的で使用されることを踏まえると、投与によって生じる PTH の持続的な曝露により患者の低骨代謝回転が活性化し、リモデリングされていない高石灰化骨の蓄積を回復させる作用が期待される。

TPTx ラットにおけるパロペグテリパラチドの骨に対する正味の異化作用とは対照的に、TPTx ラットに rhPTH(1-84)を投与した際には、海綿骨量と骨密度が更に増加することが示された。しかし、骨形態計測における破骨細胞面は低値のままであり、骨リモデリングが低い状態が回復していないことを示しており、このことは投与期間を通じて尿中 CTx 排泄量が低いことからも裏付け

られている。これらの結果は、骨吸収が増加していないにもかかわらず、骨に対する正味の同化作用が認められたことを示すものであり、以前に TPTx モデルで認められた結果[64]及びヒトで報告された Natpara 投与後の作用[99]とも一致する。TPTx ラットモデルにおける rhPTH(1-84)の作用の一貫性や、副甲状腺機能低下症患者への外挿性は、パロペグテリパラチドの骨に対する薬理作用を評価する上で、TPT x ラットモデルを用いることの妥当性を更に裏付けるものである。なお、カルシトニンは破骨細胞の骨吸収活性のみを調節しているため、TPTx ラットのカルシトニン欠乏状態が、rhPTH(1-84)投与による破骨細胞の活性化を伴わない骨への同化作用に影響を与えた可能性は低いと考えられる。

パロペグテリパラチド投与による骨の変化は、皮質骨に比較して海綿骨でより顕著に発現した。リモデリングは、皮質骨面に比較して表面積がはるかに大きい海綿骨面でより旺盛に行われているため[52]、骨形成と骨吸収の不均衡に対してより脆弱である[33]。このことは、TPTx ラットの反復投与薬効確認試験や、正常ラットを用いた 4 及び 26 週間反復投与毒性試験［2.6.6.3.1.3 項］において、海綿骨の骨量減少が顕著であったことを裏付けるものである。さらに、高等動物種とは対照的に、ラットの骨リモデリング能力は限られており、主に内骨面、骨膜面及び骨梁面で起こる[100]。この特性が、ラットにおけるパロペグテリパラチドの骨に対する正味の異化作用の発現が、海綿骨に偏って生じることに寄与していると思われる。実際、サルを用いた 26 週間反復毒性試験では、皮質骨においても骨量減少の傾向がみられている［2.6.6.3.2.2 項］。

非臨床の反復投与薬効確認試験及び毒性試験で認められた骨に対する薬理作用は、第II相及び第III相臨床試験（試験番号［TCP-201］及び［TCP-304］）において、パロペグテリパラチドを投与した副甲状腺機能低下症患者で得られた結果と一致している。さらに、これらの臨床試験の結果は、TPTx ラットで認められた海綿骨量の過度な減少が、副甲状腺機能低下症患者には無関係で、ラット特有の過剰な作用発現であったことを裏付けている。TPTx ラット及び正常ラット［2.6.6.10.4 項］においてパロペグテリパラチドの投与初期に認められた、骨に対する正味の異化作用と同様に、副甲状腺機能低下症患者においても、投与開始とともに P1NP と CTx がともに一過性に上昇し、骨吸収優位な骨代謝回転が亢進する初期期間の存在が認められた。しかし、これらの骨代謝マーカーはそれぞれ 12 週目（CTx）と 26 週目（P1NP）でピークに至った後、58 週目には年齢と性別が一致する標準値に向かって徐々に下降する傾向がみられた［2.7.3.3.2.6 項］。これと同様に、DXA で得られた BMD 平均 Z スコアは、投与開始から 26 週目にかけて年齢と性別が一致する標準値に向かって低下し、その後 58 週目にかけて安定傾向となった。注目すべきは、Z スコアの最も大きな変化は 26 週目に認められたことであり、58 週目には更に低下傾向を示したものの、すべての骨部位の平均 Z スコアはゼロを上回ったままであった［2.7.3.3.2.7 項］。

骨代謝回転の正常化及び高石灰化状態からの回復は、骨質を全体的に改善する効果があると考えられている[33][101]。これは、骨代謝回転の低下自体が、微小骨折を起こしやすい損傷骨の除去や、物理的特性に優れた新しい骨組織への置換を妨げているためである。さらに、時間の経過とともに骨に大きなミネラル結晶が蓄積するため、古い骨は骨組織のミネラル結晶の不均一性が低下している[102]。不均一性が不足することにより高石灰化骨はより脆くなり、弾性変形によって生じるエネルギーを吸収できなくなる[33]。

2.6.2.7.2　安全性薬理試験

ラットを用いた試験においてパロペグテリパラチドの最高用量では、CNS 及び呼吸系への機能的影響は認められなかった。この用量での遊離 PTH の曝露は、最大推奨臨床用量と同程度の用量で認められた臨床曝露量の 7.3～24.1 倍であった（表 2.6.2-5）。他の非臨床試験［2.6.6.10.1 項］で認められた一般状態の変化は、PTH の薬理作用が過剰発現した結果であり、パロペグテリパラチドが神経行動系及び呼吸機能に直接的に作用するものではないと考えられた。さらに、反復投与毒性試験［2.6.6.3 項］では、CNS 及び呼吸系にパロペグテリパラチドに関連した病理組織学的変化は認められなかった。これは、副甲状腺機能低下症及びその治療に関連することが知られている有害事象以外で、パロペグテリパラチドによる治療中に発生した有害事象がないことを示した臨床試験の結果と一致していた［2.7.4.2 項］。このことは、承認されている 2 つの PTH アナログ[56) 57) 58) 59)]において、CNS 及び呼吸系への作用が報告されていないこととも一致している。

覚醒サルにパロペグテリパラチドを単回及び反復投与しても、心血管系機能への影響は認められなかった。この用量での遊離 PTH の曝露量は、単回投与後に観察された臨床曝露量の 2.6 倍であり、反復投与後は、最大推奨臨床用量で予測される臨床曝露量の 0.68～0.98 倍であった（表 2.6.2-5）。さらに、反復投与毒性試験［2.6.6.3 項］では、パロペグテリパラチドに関連した心血管系の病理組織学的変化はみられなかった。この結果は、投与後の ECG 検査を実施した第 I 相臨床試験（[CT-103]、124 μg PTH(1-34)/日の単回投与）において最高用量レベルで臨床的に有意な QT 延長がみられなかったことを含め、パロペグテリパラチドが心血管系に関連する有害事象を示さなかった臨床試験の結果と一致していた［2.7.4.4.3 項］。

承認されている 2 種類の PTH アナログは、静脈内及び皮下投与後、麻酔下及び覚醒下の動物で心血管系への影響が認められている。その心血管作用には、四肢の一過性の赤色化、左心室の最大収縮力の増加、心拍数の増加及び血圧の低下などがある。これらの作用は、血管拡張及びそれに伴う心血管系の代償反応によるものであると考えられた[56) 57) 58) 59)]。これら PTH アナログ投与後の動物における心血管作用の発現と、パロペグテリパラチド投与後に心血管作用が認められなかったことの相違は、これら承認されている PTH アナログの C_{max} がかなり高いことで説明できる可能性がある。しかし、動物種（ラット、イヌ、及びサル）、投与経路（静脈内及び皮下）、ECG 記録期間（短期及び連続モニタリング）、及び麻酔の使用法が異なるため、これら PTH アナログとパロペグテリパラチドを用いた安全性薬理試験を直接比較することは困難であった。

表 2.6.2-5　遊離 PTH 曝露比：安全性薬理試験 NOEL 及びヒト曝露最大推奨臨床用量又は類似用量での暴露量

NOEL	Species	Dose (per day)	AUC_{0-24h} (h*ng/mL)	C_{max} (ng/mL)	Ratio to Human Exposure	
					AUC	C_{max}
Single-Dose						
Neurobehavioral and respiratory	Rats (M)	60 µg PTH(1-34)/kg[a]	3.05	0.185	7.3	24.1
Cardiovascular	Monkeys	1.5 µg PTH(1-34)/kg[b]	NA	0.02	-	2.6
NA	Humans	72 µg PTH(1-34)[c]	0.420	0.00767	-	-
Repeat-Dose						
Cardiovascular	Monkeys	1.0 µg PTH(1-34)/kg[d]	0.342	0.0191	0.68	0.84
		1.5 µg PTH(1-34)/kg[e]	0.413	0.0223	0.82	0.98
NA	Humans	60 µg PTH(1-34)[f]	0.502	0.0228	-	-

[a] Free PTH exposure on Day 1 after SC administration of 60 µg PTH(1-34)/kg in the 4-week repeat-dose toxicity study in rat［6700371］. The neurobehavioral and respiratory NOEL was set to 60 µg PTH(1-34)/kg in the single-dose dedicated neurobehavioral and respiratory function evaluations studies in rat (［6901267］, ［6901268］).

[b] Free PTH exposure on Day 1 after SC administration of 1.5 µg PTH(1-34)/kg in the 4-week repeat-dose toxicity study in monkey［6700372］. The cardiovascular NOEL was set to 1.5 µg PTH(1-34)/kg in the single-dose dedicated cardiovascular function evaluations study in monkey［6901245］.

[c] Free PTH after single SC administration of 72 µg PTH(1-34) in healthy human subjects ［CT-103］. Dose level considered similar to the MRHD (60 µg PTH(1-34)/day) in patients with hypoparathyroidism. Observed exposure used for exposure ratio calculation.

[d] Steady state Free PTH exposure on Day 182 after daily SC administration of 1.0 µg PTH(1-34)/kg in the 26-week repeat-dose toxicity study in monkey ［6700387］ with cardiovascular NOEL of 1.5/1.0 µg PTH(1-34)/kg after repeat dosing in the same study. 1.5 was reduced to 1.0 µg PTH(1-34)/kg on Day 25/26 as a preventive measure.

[e] Steady state Free PTH exposure on Day 28 after daily SC administration of 1.5 µg PTH(1-34)/kg in the 4-week repeat-dose toxicity study in monkey ［6700372］ with cardiovascular NOEL of 1.5 µg PTH(1-34)/kg after repeat dosing in the same study.

[f] Steady state Free PTH exposure (predicted based on the Phase 1 (［CT-103］, ［TCP-104］ and ［TCP-105］), Phase 2 ［TCP-201］ and Phase 3 ［TCP-304］ population PK model) for MRHD administered to adults with hypoparathyroidism.
M = male; MRHD = maximum recommended human dose; NA = not applicable; NOEL = no observed effect level;
NR = not relevant; SC = subcutaneous.

非臨床心血管系試験、反復投与毒性試験（2.6.2.5.2.2 項）、及び臨床試験［2.7.4.4.3 項］において、QTc 延長及び不整脈の徴候は認められなかった。これは、他の PTH アナログ[58) 59) 60) 61)]で実施された臨床試験又は in vivo 非臨床試験で催不整脈リスクが特定されなかったことと一致している。

要約すると、薬理試験プログラムにおける神経行動系、呼吸系、及び心血管系の機能評価は、副甲状腺機能低下症患者におけるパロペグテリパラチドの安全な使用を裏付けるのに十分であると考えられた。

2.6.2.7.3　結論

薬理試験プログラムの結果を総合すると、パロペグテリパラチドは、低いトラフ／ピーク比の持続的な PTH の曝露を実現することにより、副甲状腺機能低下症患者の血中カルシウム濃度及びリン濃度の恒常性を再確立し、骨代謝を正常化することで、骨質を改善する可能性を裏付けるとともに、パロペグテリパラチドの安全な使用を裏付けるのに十分であると考えられる。

2.6.2.8　図表

2.6.2.9　参考文献

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

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

3）Bilezikian JP, Brandi ML, Cusano NE, et al. Management of hypoparathyroidism: present and future. J Clin Endocrinol Metab. 2016;101(6):2313-2324.

4）Brandi ML, Bilezikian JP, Shoback D, et al. Management of hypoparathyroidism: summary statement and guidelines. J Clin Endocrinol Metab. 2016;101(6):2273-2283.

5）Takasu H, Bringhurst RF. 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.

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

7）Holten-Andersen L, Pihl S, Rasmussen CE, et al. Design and preclinical development of TransCon PTH, an investigational sustained-release PTH replacement therapy for hypoparathyroidism. J Bone Miner Res. 2019; 34(11):2075-2086.

8）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.

9）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.

10）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.

11）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.

12）Murray TM, Rao LG, Divieti P, at el. 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.

13）Goodman WG. Calcium-sensing receptors. Semin Nephrol. 2004;24(1):17-24.

14）Samuels MH, Veldhuis J, Cawley C, et al. Pulsatile secretion of parathyroid hormone in normal young subjects: assessment by deconvolution analysis. J Clin Endocrinol Metab. 1993;77(2):399-403.

15）el-Hajj Fuleihan G, Klerman EB, Brown EN, et al. The parathyroid hormone circadian rhythm is truly endogenous—a general clinical research center study. J Clin Endocrinol Metab. 1997;82(1):281-286.

16）Ureña P, Kong XF, Abou-Samra AB, et al. Parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide receptor messenger ribonucleic acids are widely distributed in rat tissues. Endocrinology. 1993;133(2):617-623.

17）Reppe S, Stilgren L, Abrahamsen B, et al. Abnormal muscle and hematopoietic gene expression may be important for clinical morbidity in primary hyperparathyroidism. Am J Physiol Endocrinol Metab. 2007 ;292(5):E1465-1473.

18）Datta NS, Abou-Samra AB. PTH and PTHrP signaling in osteoblasts. Cell Signal. 2009; 21(8): 1245-1254.

19）Lee M, Partridge NC. Parathyroid hormone signaling in bone and kidney. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2009;18(4):298-302.

20）Lupp A, Klenk C, Röcken C, Evert M, Mawrin C, Schulz S. Immunohistochemical identification of the PTHR1 parathyroid hormone receptor in normal and neoplastic human tissues. Eur J Endocrinol. 2010;162(5):979-986.

21）Drechsler N, Fröbel J, Jahreis G, et al. Binding specificity of the ectodomain of the parathyroid hormone receptor. Biophys Chem. 2011;154(2-3):66-72.

22）Henry HL. Regulation of vitamin D metabolism. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2011;25(4):531-541.

23）Martin TJ, Sims NA, Seeman E. Physiological and pharmacological roles of PTH and PTHrP in bone using their shared receptor, PTH1R. Endocr Rev. 2021;42(4):383-406.

24）Parfitt AM. Misconceptions (2): turnover is always higher in cancellous than in cortical bone Bone. 2002;30(6): 807-809.

25）Goodman HM. Hormonal regulation of calcium metabolism. Basic Medical Endocrinology (Third Edition). Academic Press. 2003;8:255-289.

26）Huang JC, Sakata T, Pfleger LL, et al. PTH differentially regulates expression of RANKL and OPG. J Bone Miner Res. 2004;19(2):235-244.

27）Fu Q, Manolagas SC, O'Brien CA. Parathyroid hormone controls receptor activator of NF-κB ligand gene expression via a distant transcriptional enhancer. Mol Cell Biol. 2006;26(17):6453-6468.

28）Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, et al. Osf2/Cbfa1: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. Cell. 1997;89(5):747-754.

29）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.

30）Silva BC, Bilezikian JP. Parathyroid hormone: anabolic and catabolic actions on the skeleton. Curr Opin Pharmacol. 2015;22:41-50.

31）Crane JL, Cao X. Function of matrix IGF-1 in coupling bone resorption and formation. J Mol Med. 2014;92(2):107-115.

32）Bellido T, Ali AA, Plotkin LI, et al. Proteasomal degradation of Runx2 shortens parathyroid hormone-induced anti-apoptotic signaling in osteoblasts. A putative explanation for why intermittent administration is needed for bone anabolism. J Biol Chem. 2003;278(50):50259-50272.

33）Fonseca H, Moreira-Gonçalves D, Coriolano HJA, et al. Bone quality: the determinants of bone strength and fragility. Sports Med. 2014;44(1):37-53.

34）Langdahl BL, Mortensen L, Vesterby A, et al. Bone histomorphometry in hypoparathyroid patients treated with vitamin D. Bone 1996;18(2): 103-108.

35）Neer, RM. Arnaud CD, Zanchetta JR, et al. Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. N Engl J Med. 2001;344 (19):1434-1441.

36）Jiang Y, Zhao JJ, Mitlak BH, et al. Recombinant human parathyroid hormone (1-34) [teriparatide] improves both cortical and cancellous bone structure. J Bone Miner Res 2003;18 (11):1932-1941.

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

38）Tawfeek H, Bedi B, Li JY, et al. Disruption of PTH receptor 1 in T cells protects against PTH-induced bone loss. PLoS One. 2010;5(8):e12290.

39）Li JY, D'Amelio P, Robinson J, et al. IL-17A is increased in humans with primary hyperparathyroidism and mediates PTH-induced bone loss in mice. Cell Metab 2015;22(5): 799-810.

40）Terauchi M, Li JY, Bedi B, et al. T lymphocytes amplify the anabolic activity of parathyroid hormone through Wnt10b signaling. Cell Metab. 2009;10(3):229-240.

41）Li JY, Walker LD, Tyagi AM, Adams J, et al. The sclerostin-independent bone anabolic activity of intermittent PTH treatment is mediated by T-cell-produced Wnt10b. J Bone Miner Res. 2014;29(1):43-54.

42）Yu M, D'Amelio P, Tyagi AM, et al. Regulatory T cells are expanded by Teriparatide treatment in humans and mediate intermittent PTH-induced bone anabolism in mice. EMBO Rep. 2018;19(1): 156-171.

43）Li JY, Yu M, Tyagi AM, et al. IL-17 receptor signaling in osteoblasts/osteocytes mediates PTH-

induced bone loss and enhances osteocytic RANKL production. J Bone Miner Res. 2019;34(2):349-360.

44）Nakashima T, Kobayashi Y, Yamasaki, S et al. Protein expression and functional difference of membrane-bound and soluble receptor activator of NF-κB ligand: modulation of the expression by osteotropic factors and cytokines. Biochem and Biophys Res Commun. 2000;275(3): 768-775.

45）Clarke BL, Brown EM, Collins MT, et al. Epidemiology and diagnosis of hypoparathyroidism. J Clin Endocrinol Metab. 2016;101(6): 2284-2299.

46）Mannstadt M, Clarke BL, Vokes T, et al. Efficacy and safety of recombinant human parathyroid hormone (1-in hypoparathyroidism (REPLACE): a double-blind, placebo-controlled, randomised, phase 3 study. Lancet Diabetes Endocrinol. 2013;1(4):275-283.

47）Shoback DM, Bilezikian JP, Costa AG, et al. Presentation of hypoparathyroidism: etiologies and clinical features. J Clin Endocrinol Metab. 2016;101(6):2300-2312.

48）Shoback D. Hypoparathyroidism. N Engl J Med. 2008;359(4):391-403.

49）Sikjaer T, Rejnmark L, Mosekilde L. PTH treatment in hypoparathyroidism. Curr Drug Saf. 2011;6(2):89-99.

50）Underbjerg L, Sikjaer T, Mosekilde L, et al. Postsurgical hypoparathyroidism—risk of fractures, psychiatric diseases, cancer, cataract, and infections. J Bone and Miner Res. 2014;29(11):2504-2510.

51）Rubin MR, Dempster DW, Zhou H, et al. Dynamic and structural properties of the skeleton in hypoparathyroidism. J Bone Miner Res. 2008;23(12):2018-2024.

52）Langdahl B, Ferrari S, Dempster DW. Bone modeling and remodeling: potential as therapeutic targets for the treatment of osteoporosis. Ther Adv Musculoskelet Dis. 2016;8(6):225-235.

53）Boivin G, Meunier PJ. Changes in bone remodeling rate influence the degree of mineralization of bone. Connect Tissue Res. 2002;43(2–3):535–537.

54）Rubin MR, Dempster DW, Kohler T, et al. Three dimensional cancellous bone structure in hypoparathyroidism. Bone. 2010;46(1):190-195.

55）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

56）Bilezikian JP. Hypoparathyroidism. J Clin Endocrinol Metab. 2020;105(6): 1722-1736.

57）Cheloha RW, Maeda A, Dean T, et al. Backbone modification of a polypeptide drug alters duration of action in vivo. Nat Biotechnol. 2014; 32(7):653-655.

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

59）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

60）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

61）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/2015/125511Orig1s000TOC.cfm

62）Ferreira JC, Ferrari GO, Neves KR, et al. Effects of dietary phosphate on adynamic bone disease in rats with chronic kidney disease – role of sclerostin? PLoS One. 2013;8(11): e79721.

63）Jung SY, Kim HY, Park HS, et al. Standardization of a physiologic hypoparathyroidism animal model. PLoS One. 2016;11(10): e0163911.

64）Shimizu M, Joyashiki E, Noda H, et al. Pharmacodynamic actions of a long-acting PTH analog (LA-PTH) in thyroparathyroidectomized (TPTX) rats and normal monkeys. J Bone Miner Res. 2016;31(7):1405-1412.

65）Krishnan V, Ma YL, Chen CZ, et al. Repurposing a novel parathyroid hormone analogue to treat hypoparathyroidism. Br J Pharmacol. 2018;175(2):262-271.

66）Vasikaran S, Eastell R, Bruyère O, et al. Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for international reference standards. Osteoporos Int. 2011;22(2):391-420.

67）Dempster DW, Compston JE, Drezner MK, et al. Standardized nomenclature, symbols, and units for bone histomorphometry: a 2012 update of the report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. J of Bone and Miner Res. 2013;28(1): 2-17.

68）FDA guidance document. Osteoporosis: Nonclinical Evaluation of Drugs Intended for Treatment Guidance for Industry, 2019. Division of Bone, Reproductive, and Urologic Products in the Center for Drug Evaluation and Research at the Food and Drug Administration. Accessed 25 Oct 2024. https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/osteoporosis-nonclinical-evaluation-drugs-intended-treatment-guidance-industry

69）National Research Council. Nutrient requirements of nonhuman primates. Minerals. 2nd Revised Edition. National Academy of Sciences. 2003;6:94-112.

70）Brandi ML, Bilezikian JP, Shoback D, et al. Management of hypoparathyroidism: summary statement and guidelines. J Clin Endocrinol Metab. 2016; 101(6); 2273–2283.

71）Qu Y, Fang M, Gao B, et al. BeKm-1, a peptide inhibitor of human ether-a-go-go-related gene potassium currents, prolongs QTc intervals in isolated rabbit heart. J Pharmacol Exp Ther. 2011;337(1):2-8.

72）Leifert A, PanY, Kinkeldey A, et al. Differential hERG ion channel activity of ultrasmall gold nanoparticles. Proc Natl Acad Sci USA. 2013;110(20):8004-8009.

73）Kim TW, Kim KS, Seo JW, et al. Antisense oligonucleotides on neurobehavior, respiratory, and

cardiovascular function, and hERG channel current studies. J Pharmacol Toxicol Methods. 2014; 69(1):49-60.

74）Yue Y, Castrichini M, Srivastava U, et al. Pathogenesis of the novel autoimmune-associated long-QT syndrome. Circulation. 2015;132(4):230-240.

75）Piscopo S, Brown ER. Zinc oxide nanoparticles and voltage-gated human Kv 11.1 potassium channels interact through a novel mechanism. Small. 2018;14(15):e1703403.

76）Holzgrefe H, Ferber G, Champeroux P, et al. Preclinical QT safety assessment: cross-species comparisons and human translation from an industry consortium. J Pharmcol Toxicol Methods. 2014:69(1):61-101.

77）Natpar SmPC. Latest renewal 2023, accessed 25 Oct 2024. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/natpar-epar-product-information_en.pdf

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

79）Forsteo SmPC. Latest renewal 2022, accessed 25 Oct 2024. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/forsteo-epar-product-information_en.pdf

80）Forteo USPI. Latest renewal 2024, accessed 25 Oct 2024. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2024/021318s057lbl.pdf

81）Lanoxin USPI. Latest renewal 2024, accessed 25 Oct 2024. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2024/009330Orig1s039lbl.pdf

82）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.

83）Peterson MC, Riggs MM. A physiologically based mathematical model of integrated calcium homeostasis and bone remodeling. Bone. 2010;46(1):49-63.

84）Silverberg SJ. Vitamin D deficiency and primary hyperparathyroidism. J Bone Miner Res. 2007;22 Suppl 2:V100-V104.

85）DeLuca HF. The kidney as an endocrine organ for the production of 1,25-dihydroxyvitamin D3, a calcium-mobilizing hormone. N Engl J Med. 1973;289(7):359-365.

86）Panda DK, Miao D, Bolivar I, et al. Inactivation of the 25-hydroxyvitamin D 1α-hydroxylase and vitamin D receptor demonstrates independent and interdependent effects of calcium and vitamin D on skeletal and mineral homeostasis. J Biol Chem. 2004;279(16): 16754-16766.

87）Prié D, Friedlander G. Reciprocal control of 1,25-dihydroxyvitamin D and FGF23 formation involving the FGF23/Klotho system. Clin J Ame Soc Nephrol. 2010;5(9):1717-1722.

88）Chambers TJ, Athanasou NA, Fuller K. Effect of parathyroid hormone and calcitonin on the cytoplasmic spreading of isolated osteoclasts. J Endocrinol 1984;102:281-286.

89）Hsiao C-Y, Chen TH, Chu TH, et al. Calcitonin induces bone formation by increasing expression of Wnt10b in osteoclasts in ovariectomy-induced osteoporotic rats. Frontiers in Endocrinol

(Lausanne). 2020;11:613.

90）Hoff AO, Catala-Lehnen P, Thomas PM, et al. Increased bone mass is an unexpected phenotype associated with deletion of the calcitonin gene. J. Clin. Invest. 2002;110(12):1849-1857.

91）Cooper CW, Hirsch PF, Munson PL. Importance of endogenous thyrocalcitonin for protection against hypercalcemia in the rat. Endocrinology. 1970;86(2):406-415.

92）Rodriguez, M, Felsenfeld AJ, Torres A, et al. Calcitonin, an important factor in the calcemic response to parathyroid hormone in the rat. Kidney Int. 1991;40(2): 219-225.

93）Hirsch PF, Lester GE, Talmage RV. Calcitonin, an enigmatic hormone: does it have a function? J Musculoskelet Neuronal Interact 2001;1(4):299-305.

94）Hurley DL, Tiegs RD, Wahner HW, et al. Axial and appendicular bone mineral density in patients with long-term deficiency or excess of calcitonin. N Engl J Med. 1987;317(9): 537-541.

95）Baran DT, Braverman LE. Editorial: thyroid hormones and bone mass. J Clin Endocrinol Metab 1991; 72:1182-1183.

96）Gonzalez DC, Mautalen CA, Correa PH, et al. Bone mass in totally thyroidectomized patients. Role of calcitonin deficiency and exogenous thyroid treatment. Acta Endocrinol. 1991;124(5): 521-525.

97）Giannini S, Nobile M, Sartori L, et al. Bone density and mineral metabolism in thyroidectomized patients treated with long-term L-thyroxine. Clin Sci. 1994;87(5): 593-597.

98）Felsenfeld AJ, Levine BS. Calcitonin, the forgotten hormone: does it deserve to be forgotten? Clin Kidney J 2015;8(2):180-187.

99）Rubin MR, Cusano NE, Fan WW, et al. Therapy of hypoparathyroidism with PTH(1-84): a prospective six year investigation of efficacy and safety. J Clin Endocrinol Metab. 2016;101(7):2742-2750.

100）Lelovas PP, Xanthos TT, Thoma SE, et al. The laboratory rat as an animal model for osteoporosis research. Comp Med. 2008;58(5): 424-430.

101）Burr DB, Turner CH, Naick P, et al. Does microdamage accumulation affect the mechanical properties of bone? J Biomech. 1998;31(4):337–345.

102）Yerramshetty JS, Akkus O. The associations between mineral crystallinity and the mechanical properties of human cortical bone. Bone. 2008;42(3): 476-482.

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）

2.6　非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.3　薬理試験概要表

帝人ファーマ株式会社

目次

2.6.3 薬理試験概要表 3
2.6.3.1 薬理試験プログラム 3
2.6.3.2 効力を裏付ける試験 5
2.6.3.3 副次的薬理試験 10
2.6.3.4 安全性薬理試験 11
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験 12

2.6.3　薬理試験概要表

2.6.3.1　薬理試験プログラム

一覧表　　被験物質：パロペグテリパラチド（TransCon PTH[a]）

Type of Study	Test System	Method of Administration	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number
Primary Pharmacodynamics					
***In Vitro* Studies**					
Binding of palopegteriparatide and PTH(1-34) to PTH1R[b] by surface plasmon resonance	NA	NA	No	[redacted]	[OX-17/099-071]
Biopotency of PTH(1-33)	HEK293 cells	NA	No	[redacted]	[45719]
***In Vivo* Single-Dose studies**					
Single-dose pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation	Sprague Dawley male rats (Crl:CD(SD))	SC and IV	No	[redacted]	[172388]
Single-dose pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation	Cynomolgus male mauritius monkeys (*Macaca fascicularis*)	SC and IV	No	[redacted]	[171929] / [redacted] [c]
***In Vivo* Repeat-Dose studies**					
4-week repeat-dose proof-of principle study in a TPTx rat model of hypoparathyroidism	TPTx Sprague Dawley female rats (Crl:CD(SD))	Daily SC	No	[redacted]	[6700404]
Secondary Pharmacodynamics - No studies performed					
Safety Pharmacology					

Type of Study	Test System	Method of Administration	GLP Compliance	Testing Facility	Study Number
Single-dose neurobehavioral evaluation	Sprague Dawley male rats (Crl:CD(SD))	SC, single dose	Yes	[redacted]	[6901267]
Single-dose respiratory function evaluation	Sprague Dawley male rats (Crl:CD(SD))	SC, single dose	Yes	[redacted]	[6901268]
Single-dose cardiovascular function evaluation	Cynomolgus male mauritius monkeys (*Macaca fascicularis*)	SC, single dose	Yes	[redacted]	[6901245]
Cardiovascular function evaluation (part of 4-week repeat-dose toxicity study)	Cynomolgus male mauritius monkeys (*Macaca fascicularis*)	Daily SC for 4 weeks	Yes	[redacted]	[6700372]
Cardiovascular function evaluation (part of 26-week repeat-dose toxicity study)	Cynomolgus male mauritius monkeys (*Macaca fascicularis*)	Daily SC for 26 weeks	Yes	[redacted]	[6700387]
In silico (QSAR) analysis of TransCon Linker	NA	NA	No	[redacted]	[redacted]
Pharmacodynamic Drug Interactions - No studies performed					

a TransCon PTH is an internal developmental name for palopegteriparatide

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]

[redacted] GLP = good laboratory practice; HEK293 = human embryonic kidney 293; IV = intravenous; [redacted] NA = not applicable; PK = pharmacokinetic(s); PTH = parathyroid hormone; PTH1R = parathyroid hormone 1 receptor; QSAR = quantitative structure-activity relationship; SC = subcutaneous; TPTx = thyroparathyroidectomized; [redacted]

2.6.3.2　効力を裏付ける試験

被験物質：パロペグテリパラチド（TransCon PTH[a]）

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses [µg PTH(1-34)/kg]	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
Binding of palopegteriparatide and PTH(1-34) to PTH1R[b] by surface plasmon resonance	NA	NA	NA	NA	Similar K_D values were determined for a PTH(1-34) reference standard and for PTH(1-34) released from palopegteriparatide (4.17 µM and 3.85 µM, respectively). The affinity of palopegteriparatide to PTH1R was greatly reduced compared to the PTH(1-34) reference compound but palopegteriparatide could not be applied in adequately high concentrations to determine a numerical value for the K_D of the interaction with PTH1R.	［OX-17/099-071］
Biopotency of PTH(1-33)	HEK293 cells	NA	NA	NA	In HEK293 cells overexpressing PTH1R, PTH(1-33) induced similar cAMP production as a PTH(1-34) as the relative potency for PTH(1-33) was 100.4% compared to PTH(1-34), having an assigned activity of 10,000 IU/mg.	［45719］
Single-dose pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation	Sprague Dawley rat (Crl:CD(SD))	SC and IV, single dose	10 IV 30 IV 10 SC 30 SC	9M	Plasma calcium levels increased within or slightly above the normal range (10.1 – 12.1 mg/dL) after a single-dose of palopegteriparatide at 10 and 30 µg PTH(1-34)/kg administered either SC or IV. The maximal increase (12.8 mg/dL) was observed 24 h after administration of palopegteriparatide at 30 µg PTH(1-34)/kg SC. No apparent palopegteriparatide-related effects were observed for plasma phosphate. For PK results see ［2.6.5.3.1］	［172388］
Single-dose	Cynomolgus	SC and IV, single	1 SC	3M	1 SC: Mean plasma calcium increased within	［171929］/

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses [µg PTH(1-34)/kg]	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation	mauritius monkeys (*Macaca fascicularis*)	dose	5 SC 1 IV 5 IV		normal range up to 24 h postdose with a maximum concentration at 12 h postdose. Urinary calcium/urinary creatinine decreased 0 to 24 h postdose and increased to a level similar to predose values 72 to 96 h postdose. 5 SC: Mean plasma calcium increased above historical range at the 4, 8, 12 and 36 h postdose time points. Urinary calcium/urinary creatinine increased 0 to 24 h and 72 to 96 h postdose. 1 IV: Mean plasma calcium increased within normal range up to 24 h postdose with maximum concentration between 1 and 12 h postdose. Urinary calcium/urinary creatinine was increased at 0 to 24 h postdose and decreased towards predose values at 72 to 96 h postdose. 5 IV: Mean plasma calcium increased above historical range at the 8 and 12 h postdose timepoint. Urinary calcium/urinary creatinine increased at 0 to 24 h postdose and comparable to predose values at 72 to 96 h postdose. For PK results see ［2.6.5.3.2］	［[redacted]］[c]
4-week repeat-dose proof-of principle study in a TPTx rat model of hypoparathyroidism	TPTx Sprague Dawley rat (Crl:CD(SD))	Daily SC injection for 4 weeks	0 – sham 0 – TPTx 5 10 30 70 µg rhPTH(1-84)/kg/day	9F	≤10: Rapid increases in serum calcium to a level similar to or higher than sham controls from 3 (at 10 µg PTH(1-34)/kg/day) to 12 (5 µg PTH(1-34)/kg/day) h after the first administration of palopegteriparatide, consistent with a normalization of serum calcium. These increases were persistent over time, resulting in statistically significant higher serum calcium values (+13 to +77%) compared to TPTx controls at all time points	［6700404］

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses [µg PTH(1-34)/kg]	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
					up to Day 29 except Day 6, 24 h postdose. Occasionally, some individuals presented serum calcium values above normal range and statistically significantly higher than sham controls. Serum phosphate decreased into the normal range within 24 h after the first administration of palopegteriparatide and remained herein at all timepoints from Day 1, 24 h postdose. After an initial increase (Days 1 to 12; up to + 425%) in urinary calcium/urinary creatinine as compared to TPTx controls, urinary calcium excretion declined in palopegteriparatide-treated TPTx rats and was comparable to TPTx and sham controls by Day 27. Urinary phosphate/urinary creatinine increased relative to TPTx controls and was comparable to sham controls at the end of study. At the end of treatment, circulating levels of active vitamin D remained below LLOQ in 17 out of 18 TPTx rats administered palopegteriparatide. Biochemical markers of bone turnover increased dose-dependently after initiation of palopegteriparatide treatment. After 4 weeks of dosing, femoral and vertebral trabecular BMD and/or BMC as well as tibial bone volume fraction were decreased compared to both TPTx and sham controls. Histomorphometrically-derived dynamic and static parameters of trabecular bone formation were increased after palopegteriparatide treatment compared to both TPTx and sham controls. Likewise, Oc.S/BS, the static	

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses [µg PTH(1-34)/kg]	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
					parameter of bone resorption, was significantly increased compared to TPTx controls and approached the values observed in sham controls. At 10 µg PTH(1-34)/kg/day, macroscopic findings in the aorta consisted of a firm aorta, aortic dilatation, pale foci or irregular surface were noted (microscopic evaluation was not performed). 30: Serum calcium rapidly increased and was significantly increased compared to vehicle-treated sham-operated control rats 24 h after first dose. On Day 4, 2 animals in this group died preterminally. Clinical observations consisting of decreased level of activity, weakness, cold to touch, pale with pale eyeball and/or labored breathing were noted in the remaining animals from this group which were consequently euthanized. Macroscopic and microscopic findings of soft tissue mineralization were noted in the aorta, heart, kidneys, stomach and pancreas in this group. The preterminal deaths were attributed to mineralization of the heart associated with the rapid and persistent increases in serum calcium level. 70 µg rhPTH(1-84)/kg/day: Transient increases (+7 to + 12%) in serum calcium at the 3 h postdose time point but serum calcium values remained lower than in sham control rats at all time points. Serum phosphate remained comparable to TPTx controls throughout the study. Urinary calcium/urinary creatinine and urinary phosphate/urinary	

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses [µg PTH(1-34)/kg]	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number
					creatinine were unaffected by treatment. At the end of study, circulating levels of active vitamin D increased (+206%) as compared to TPTx controls and was comparable to sham controls. Slight increases (up to +46%) in biochemical marker of bone formation, which remained lower than in sham controls. No changes in biochemical marker of bone resorption, remaining lower than in sham controls at the end of study. Femoral and vertebral trabecular BMD as well as tibial trabecular bone volume fraction was increased. Compared to TPTx and sham controls, marked increases in most dynamic and static markers of bone formation were noted. Oc.S/BS remained low compared to sham controls.	

a TransCon PTH is an internal developmental name for palopegteriparatide

b Recombinant human PTH1R protein (extracellular domain with C-terminal His tag)

c PK samples were collected as part of Study No. ［171929］ but were analyzed and reported in Study No. ［[redacted]］

F = female; IV = intravenous; K_D = equilibrium dissociation constant; M = male; NA = not applicable; Oc.S/BS = osteoclast surface/bone surface; PD = pharmacodynamic(s); PK = pharmacokinetic(s); PTH = parathyroid hormone; PTH1R = parathyroid hormone 1 receptor; SC = subcutaneous; sham control = vehicle-treated sham-operated rats; TPTx = thyroparathyroidectomized; TPTx control = vehicle-treated TPTx rats.

2.6.3.3　副次的薬理試験

副次的薬理試験は実施していない。その理由は［2.6.2.4 項］に記載している。

2.6.3.4　安全性薬理試験

被験物質：パロペグテリパラチド、Batch No. 1065160

Organ Systems Evaluated	Test System	Method of Admin.	Doses [µg PTH(1-34)/kg]	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number
Central Nervous System	Sprague Dawley rat (Crl:CD(SD))	SC, single dose	0 10 30 60	8M	None related to the central nervous system. 30: Slight increase in serum calcium levels at 9 (+9%), 13 (+12%) and 25 (+12%) h postdose. 60: Slight increase in serum calcium levels at 9 (+13%), 13 (+15%) and 25 (+32%) h postdose.	Yes	[6901267]
Respiratory System	Sprague Dawley rat (Crl:CD(SD))	SC, single dose	0 10 30 60	6M	None related to the respiratory system. 60: Increase in serum calcium levels at 25 (+13%) and 49 h postdose (+12%).	Yes	[6901268]
Cardiovascular System	Cynomolgus mauritius monkey (*Macaca fascicularis*)	SC, single dose	0 0.2 0.5 1.5	3M 3F	None	Yes	[6901245]
Cardiovascular System	Cynomolgus mauritius monkey (*Macaca fascicularis*)	Daily SC for 4 weeks	0 0.2 0.5 1.5	3M+3F (5M+5F for 0.2 and 1.5)	None related to the cardiovascular system. For remaining results see [2.6.7.7.3]	Yes	Assessed as part of [6700372]
Cardiovascular System	Cynomolgus mauritius monkey (*Macaca fascicularis*)	Daily SC for 26 weeks	0 0.2 0.5 1.5/1.0	6M+6F	None related to the cardiovascular system. For remaining results see [2.6.7.7.4]	Yes	Assessed as part of [6700387]

2.6.3.5　薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。その理由は［2.6.2.6 項］に記載している。