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

2.6.6　毒性試験の概要文

帝人ファーマ株式会社

目次

2.6.6 毒性試験の概要文 6
2.6.6.1 まとめ 6
2.6.6.2 単回投与毒性試験 12
2.6.6.3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 12
2.6.6.3.1 ラットにおける反復投与毒性 14
2.6.6.3.1.1 カルシウム及びリンの恒常性 14
2.6.6.3.1.2 骨端軟骨（成長板） 15
2.6.6.3.1.3 骨 17
2.6.6.3.1.4 空胞化 23
2.6.6.3.1.5 曝露及び免疫原性 23
2.6.6.3.1.6 ラットを用いた反復投与毒性試験の要約 24
2.6.6.3.2 サルにおける反復投与毒性 24
2.6.6.3.2.1 カルシウム及びリンの恒常性 25
2.6.6.3.2.2 骨 25
2.6.6.3.2.3 空胞化 26
2.6.6.3.2.4 曝露及び免疫原性 26
2.6.6.3.2.5 サルを用いた反復投与毒性試験の要約 27
2.6.6.4 遺伝毒性試験 27
2.6.6.4.1 in vitro 遺伝毒性試験 27
2.6.6.4.1.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 28
2.6.6.4.1.2 哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験 29
2.6.6.4.2 in vivo 遺伝毒性試験 29
2.6.6.4.2.1 骨髄を用いる小核試験 29
2.6.6.4.3 遺伝毒性試験の要約 29
2.6.6.5 がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む） 29
2.6.6.6 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む） 32
2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 32
2.6.6.6.1.1 ラットにおける受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 32
2.6.6.6.2 胚・胎児発生に関する試験 34
2.6.6.6.2.1 ラットにおける胚・胎児発生に関する試験 34
2.6.6.6.2.2 ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験 36
2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 37
2.6.6.6.4 幼若動物における試験 39
2.6.6.6.5 生殖発生毒性試験の要約 39
2.6.6.7 局所刺激性試験 39
2.6.6.8 その他の毒性試験 40

2.6.6.8.1 TransCon リンカーの in silico 解析 40
2.6.6.9 非臨床試験で用いた原薬及び製剤の品質に関する妥当性 41
2.6.6.9.1 添加物及び製剤 41
2.6.6.9.2 規格の許容基準及び不純物 42
2.6.6.10 考察及び結論 43
2.6.6.10.1 カルシウム及びリンの恒常性に対する影響 43
2.6.6.10.2 骨端軟骨（成長板）への作用 45
2.6.6.10.3 mPEG 曝露の非臨床評価及び空胞化の閾値 45
2.6.6.10.4 骨代謝に対する作用 48
2.6.6.10.5 生殖発生毒性に関するリスク評価 49
2.6.6.11 結論 52
2.6.6.12 図表 52
2.6.6.13 参考文献 52

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
3R	Replacement, Reduction and Refinement	代替法の活用、使用数の削減、苦痛の軽減
ALP	Alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
AUC_{0-24}	Area under the curve from 0 to 24 h	0～24 時間の血漿中濃度－時間曲線下面積
BfArM	Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte (Federal Institute for Drugs and Medical Devices, Germany)	ドイツ連邦医薬品医療機器審査機関
BLA	Biologics license application	生物学的製剤承認申請
BMD	Bone mineral density	骨密度
BPAC	Blood Products Advisory Committee	血液製剤に関する諮問委員会
BV/TV	Bone volume fraction (bone volume/total volume)	骨量体積率（骨量／総体積）
CHMP	Committee for Medicinal Products for Human Use (EMA)	ヒト用医薬品委員会（EMA）
C_{max}	Maximum observed concentration	最高血漿中濃度
CTx	C-telopeptide of type I collagen	I 型コラーゲン架橋 C-テロペプチド
DNA	Deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
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
EMA	European Medicines Agency (previous EMEA) (EU)	欧州医薬品庁（旧 EMEA）（EU）
EMEA	European Medicines Evaluation Agency (now EMA)	欧州医薬品審査庁（現 EMA）（EU）
FAMHP	Federal Agency for Medicines and Health Products (Belgium)	連邦医薬品・健康製品庁（ベルギー）
FDA	Food and Drug Administration (US)	食品医薬品局（米国）
Fi.S/BS	Fibroblast-like surface (fibroblast-like surface/bone surface)	線維芽細胞様面（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
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use	医薬品規制調和国際会議
IHH	Indian hedgehog	インディアンヘッジホッグ
HMWS	High molecular weight species	高分子量分子種
kDa	Kilodalton	キロダルトン
LLOQ	Lower limit of quantification	定量下限
mPEG	Methoxypolyethylene glycol	メトキシポリエチレングリコール
NaOH	Sodium hydroxide	水酸化ナトリウム
NDA	New drug application	新薬承認申請
NOAEL	No observed adverse effect level	無毒性量
NOEL	No observed effect level	無影響量

略号	略さない表現	定義又は説明
OECD	Organization for Economic Co-operation and Development	経済協力開発機構
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
PMDA	Pharmaceuticals and Medical Device Agency (Japan)	独立行政法人医薬品医療機器総合機構（日本）
PoP	Proof-of-principle	原理証明
pQCT	Peripheral quantitative computed tomography	末梢骨定量的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 型受容体
PTHrP	Parathyroid hormone-related peptide	副甲状腺ホルモン関連ペプチド
QSAR	Quantitative structure–activity relationship	定量的構造活性相関
QWP	Quality Working Party (EMA)	品質ワーキングパーティ (EMA)
rh	Recombinant human	ヒト遺伝子組換え
SCOGS	Select Committee on Generally Recognized as Safe (GRAS) Substances	GRAS 物質評価特別委員会
TK	Toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
TPTx	Thyroparathyroidectomized	甲状腺・副甲状腺摘出

2.6.6　毒性試験の概要文

2.6.6.1　まとめ

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

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

表 2.6.6-1 に示す非臨床毒性試験プログラムは、パロペグテリパラチドの安全性プロファイル及びそれに関連する薬力学（PD）、トキシコキネティクス（TK）並びに免疫原性の特徴を明らかにすることを目的として実施した。

非臨床毒性試験プログラム及び本概要に含まれる試験は、医薬品規制調和国際会議（ICH）及びその他の規制ガイドラインに準拠して計画及び実施した。パロペグテリパラチドを用いたげっ歯類のがん原性試験は FDA、CHMP 及び PMDA により実施不要であることが合意・確認されている（2.6.6.5 項）。すべての重要な非臨床試験は、経済協力開発機構（OECD）のデータ相互受け入れ協定に関する加盟国において、OECD の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠して実施した。生体試料分析法及び免疫原性試験法は、現行のガイドライン及びホワイトペーパー［2.6.4.2 項］に基づいて確立し、その信頼性を検証した。さらに、添加物及び製剤中の不純物は、ICH 品質ガイドライン他の規制要件に基づいて評価した。非臨床安全性評価の一環として、非臨床毒性試験プログラムに加え、安全性薬理についても評価した［2.6.2 項］。

プロドラッグであるパロペグテリパラチド、並びに自己切断後に生じる生成物［すなわち、PTH(1-34)及び mPEG と結合した状態の TransCon リンカー及び主要代謝物 PTH(1-33)］は、in silico、in vitro 及び in vivo 試験で構成される非臨床毒性試験プログラムで評価し、非臨床試験で用いる動物種としてラット（Crl:CD(SD)）及びカニクイザル（Macaca fascicularis、モーリシャス産）及びウサギ（Crl:KBL(NZW)）を選択した（動物種に関する詳細は［2.6.2.3.1 項］に記載）。ラット、ウサギ、サル及びヒトの間では PTH 及びその受容体である PTH1R のアミノ酸配列が高度に保存されているため、これらの動物種を選択した。これと一致して、パロペグテリパラチドから遊離される PTH は、ラット、ウサギ及びサルにおいて薬理作用が発現することが示されている［2.6.2.3.1

項]。臨床の用法用量に準じて、非臨床試験ではパロペグテリパラチドを動物に 1 日 1 回皮下投与した。本資料を通して、パロペグテリパラチドの用量は、in vitro 遺伝毒性試験に用い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。

毒性試験には、PD 及び TK プロファイルに基づき、妥当と考えられる時点で標準的なエンドポイントが設定されている。毒性試験において、PD マーカーとして 1) 血中カルシウム及びリン濃度、2) 尿中カルシウム及びリン排泄量、3) 内因性 PTH(1-84)濃度を評価した［2.6.2.3.2 項］。また、カルシウムの血中濃度は PD マーカーであるだけでなく、安全性マーカーでもあると考えられることから、必要に応じて用量を減量するために定期的に測定した。骨代謝に対するパロペグテリパラチドの作用を評価するため、骨代謝に関する評価項目（生化学的マーカー、デンシトメトリー及び骨形態計測）が毒性試験に含まれている［2.6.2.3.2 項］。TK は、2.6.4 項の［表 2.6.4-3］に示すように、毒性試験の一部として評価し、循環血液中における総 PTH、総 PTH(1-34)、遊離 PTH、遊離 PTH(1-34)、遊離 PTH(1-33)、mPEG 及び mPEG リンカーの濃度を評価した。これらの分析物は 2.6.4 項の［表 2.6.4-1］及び［2.6.4.1 項］に記載されている。免疫原性は、2.6.4 項の［表 2.6.4-5］に記載した毒性試験の一部として、［2.6.4.2.2 項］に記載した抗 PTH 抗体及び抗 PEG 抗体（サルの 26 週間反復投与毒性試験のみ）評価系を用いて評価した。

表 2.6.6-1　パロペグテリパラチドの非臨床毒性試験プログラム

Description	GLP	Test System	N/group/sex[a] (recovery/TK)	Study No.	Dose Levels [µg PTH(1-34)/kg/day]
Single-Dose Toxicity Studies - No studies performed					
Repeat-Dose Toxicity Studies (SC Administration)					
4-week dose-range-finding toxicity	No	Rats	escalating phase; 3 repeat dose phase; 6	[redacted]	10, 30, 60 and 120
4-week repeat-dose toxicity with 2 weeks recovery	Yes	Rats	10 (5/9)	[6700371]	0, 10, 30 and 60
26-week repeat-dose toxicity with 6 weeks recovery	Yes	Rats	12 (10/18)	[6700386]	0, 2, 5, 10 and 20
4-week dose-range-finding toxicity	No	Monkeys	1	[redacted]	0.2, 0.5, 1.0 and 2.0/1.5[b]
4-week repeat-dose toxicity with 2 weeks recovery[c]	Yes	Monkeys	3 (2/-)	[6700372]	0, 0.2, 0.5 and 1.5
26-week repeat-dose toxicity with 13 weeks recovery[c]	Yes	Monkeys	4 (2/-)	[6700387]	0, 0.2, 0.5 and 1.5/1.0[d]
Genotoxicity Studies					
Bacterial reverse mutation assay	Yes	*E. coli* and *S. typhimurium*	NA	[9601550]	0, 1.58 - 5,000 µg palopegteriparatide/plate[e]
Mammalian chromosome aberration assay	Yes	Human peripheral blood lymphocytes	NA	[9601551]	0, 0.98 - 500 µg palopegteriparatide/mL[e]
Bone marrow micronucleus was assessed as part of the GLP-compliant 4-week repeat-dose toxicity study in rats					
Carcinogenicity Studies - No studies performed					
DART Studies (SC Administration)					
Female fertility and early embryonic development	Yes	Rats	22 F[f]	[9000921]	0, 2, 6 and 20
Male fertility and early embryonic development	Yes	Rats	22 M[g]	[9001130]	0, 2, 6 and 20

Description	GLP	Test System	N/group/sex[a] (recovery/TK)	Study No.	Dose Levels [µg PTH(1-34)/kg/day]
Embryo-fetal development (preliminary assessment)	No	Rats	12 F[h]	[redacted]	0, 2, 10 and 30
Embryo-fetal development	Yes	Rats	20 F	[9000923]	0, 2, 8 and 30
Embryo-fetal development (preliminary assessment)	No	Rabbits	5 F	[redacted]	0, 1, 3 and 10
Embryo-fetal development	Yes	Rabbits	20 F	[9000925]	0, 1, 3 and 6
Pre- and post-natal development	Yes	Rats	22 F	[redacted]	0, 5, 10 and 20
Local Tolerance (SC Administration)					
Local tolerance was assessed as part of repeat-dose toxicity studies in rats and monkeys and in DART studies in rats and rabbits					
Other Toxicity Studies					
In silico analysis (QSAR) of TransCon Linker	No	NA	NA	[redacted]	NA

a No. of animals in dosing period.

b Due to severe hypercalcemia after administration of 2.0 µg PTH(1-34)/kg/day from Day 1 to 4, the dose level was reduced to 1.5 µg PTH(1-34)/kg/day from Day 5 to 10 as a preventive measure. As serum calcium levels remained high, a dosing holiday was introduced from Day 11 to 22 whereafter 1.5 µg PTH(1-34)/kg/day were administered from Day 23 to 29.

c Cardiovascular function evaluation was included.

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 (Section 2.6.6.3.2).

e in vitro genotoxicity assessment was performed using palopegteriparatide incubated beforehand at physiological pH and temperature, whereby the test article contained both palopegteriparatide and products generated after auto-cleavage. Dose level expressed as palopegteriparatide drug substance prior to incubation.

f Study also included 22 proven breeder males/group, which were not administered palopegteriparatide.

g Study also included 22 naïve females/group, which were not administered palopegteriparatide.

h Study also included 3 F for PD sampling and 3 F for clinical chemistry

DART = developmental and reproductive toxicity; F = females; GLP = good laboratory practice; M = males; NA = not applicable; PD = pharmacodynamic; SC = subcutaneous; TK = toxicokinetic; QSAR = quantitative structure-activity relationship.

反復投与毒性試験において、パロペグテリパラチドを 26 週間、連日皮下投与した場合の無毒性量（NOAEL）は、ラットで 10 μg PTH(1-34)/kg/日及びサルで 0.5 μg PTH(1-34)/kg/日であった。26 週間反復投与毒性試験において、いずれの動物種も最高用量［ラット：20 μg PTH(1-34)/kg/日；サル：1.5/1.0 μg PTH(1-34)/kg/日[注1)]］までオフターゲット毒性は認められなかった。毒性試験におけるすべての毒性所見は、毒性試験で用いた正常動物が生理的濃度を超える PTH に持続的に曝露されたことによる用量依存的な薬理作用の過剰発現と考えられた。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循環血中 PTH を生理的範囲内に維持する補充療法として用いられることを考慮すると、正常動物における薬理作用の過剰発現は、臨床的に意味のあるものとは考えられなかった。

毒性試験において、用量依存的かつ可逆的な血清カルシウム濃度の増加が認められた一方、尿中カルシウム排泄量は維持され、カルシウムの恒常性に対するパロペグテリパラチドの薬理作用が確認された。試験に使用したすべての動物種において、最高用量では、薬理作用の過剰発現による血清カルシウム濃度の増加が用量制限毒性であり、この用量制限毒性として死亡又は安楽殺に至る顕著な持続性高カルシウム血症、一般状態変化（活動性の低下、呼吸異常、脱水、円背位、筋緊張低下）、体重減少及び軟部組織の石灰化が認められた。軟部組織の石灰化は、主に腎臓で認められたが、大動脈、副腎、心筋、肝臓、肺、膵臓、胃、小腸及び大腸でも認められた。カルシウムの恒常性に対する影響は可逆的と考えられ、すべての試験で回復期間中に血清カルシウム濃度は正常化した。既承認薬である 2 つの PTH アナログ製剤の Natpara®［遺伝子組換えヒト(rh)PTH(1-84)[注2)] [3] [4]］及び Forteo®［rhPTH(1-34)[注3)] [5] [6]］の非臨床試験においても、高カルシウム血症及び軟部組織の石灰化が認められている。

ラットを用いた 4 及び 26 週間反復皮下投与毒性試験において、薬理作用の過剰発現による、用量依存的かつ可逆的な所見が骨端軟骨（成長板）に認められた。26 週反復投与毒性試験でみられた変化は、毒性所見として骨端軟骨の異形成及び非毒性所見として骨端軟骨の肥厚であった。26 週間反復投与毒性試験において、6 週間の回復期間終了時にこれら変化の発生頻度及び重篤度が低かったことから、骨端軟骨への影響は可逆的と考えられた。PTH1R は骨端軟骨に存在し、長骨の成長に必要不可欠な役割を果たしていることから [7] [8] [9]、これらの所見は PTH の薬理作用の過剰発現によるものと考えられた。サルでは、骨端軟骨にパロペグテリパラチドに関連した所見は認められなかった。

ラットの反復投与毒性試験では、用量依存的で可逆的な骨代謝の増加とともに造血に対する二次的影響が認められたが、薬理作用の過剰発現であり毒性ではないと考えた。この骨代謝の増加は、主に、低用量では正味の骨異化作用（骨吸収）を、高用量では正味の骨同化作用（骨形成）をもたらした。正味の骨異化作用は、5 μg PTH(1-34)/kg/日を投与した雌雄で、また 10 μg PTH(1-34)/kg/日を投与した雌で確認された。正味の骨同化作用は、10 μg PTH(1-34)/kg/日を投与した雄及び 20 μg PTH(1-34)/kg/日を投与した雌雄で確認された。正味の骨同化作用は概して雄で顕著であった。し

注1) 死亡を回避するための予防的措置として投与 25/26 日に用量を 1.0 μg PTH(1-34)/kg/日に減量した（2.6.6.3.2 項）。
注2) 米国では Natpara、欧州では Natpar として承認された。本 CTD では Natpara と表記する。
注3) 米国では Forteo、欧州では Forsteo として承認された。本 CTD では Forteo と表記する。

たがって、雌ラットでは骨異化作用が強く、雄では骨同化作用が強いと考えられた。これは、PTHへの持続的な曝露が雌の骨異化作用を促進するとの性差に関する報告と一致した[10) 11)]。

雌ラットに 10 µg PTH(1-34)/kg/日を投与した場合、骨に対する正味の骨異化作用は主に投与 4 週間以内に生じ、13 及び 26 週ではそれ以上の増強はみられなかった。したがって、初期の正味の骨異化作用の後には、安定した骨代謝の状態が続くと考えられた。10 µg PTH(1-34)/kg/日を投与した雄ラットでは、正味の骨同化作用は主に投与 4 から 13 週の間に生じ、13 から 26 週ではそれ以上の増強はみられなかった。回復期間終了時、骨代謝の増加を示すパラメータは、主に、回復過程またはリバウンド様状態のいずれかを示した。サルでは、26 週間反復投与毒性試験において、最高用量で皮質骨の骨密度（BMD）の減少傾向が認められた。サルでは、骨代謝の他の指標に影響はなかったが、この傾向は、皮質骨が生理的濃度以上の PTH に曝露されることで認められる既知の骨吸収作用と一致していた。既承認薬である 2 つの PTH アナログ製剤[4) 6)]を用いた非臨床試験でも、骨代謝の変化が認められている。

ラットを用いた 4 及び 26 週間反復投与毒性試験では、毒性ではない軽微な変化として、赤血球数の減少（貧血）及び脾臓及び肝臓における髄外造血の亢進が認められた。この貧血及び造血系への影響は、骨同化作用及びそれに伴う骨髄腔の狭小化に関連した二次的変化と考えられた。しかし、PTH は骨髄の間葉系幹細胞及び造血幹細胞から骨芽細胞及び破骨細胞への発達を刺激する作用を有することから[12) 13)]、PTH の直接的作用も造血系への影響に関与している可能性が考えられた。これは、同程度の用量で前骨芽細胞数が増加した観察結果とも一致した。造血に対する二次的作用は、既承認薬である 2 つの PTH アナログ製剤[4) 6)]の非臨床試験でも認められている。

一部の高分子量（MW）（30 kDa 以上）の PEG 含有化合物で報告されている空胞化[14)]は、パロペグテリパラチドのラット及びサルを用いた反復投与毒性試験では、脈絡叢上皮細胞やその他の組織では認められなかった。

標準的組合せの遺伝毒性試験による評価において、パロペグテリパラチド及び自己切断後の生成物に遺伝毒性は認められなかった。さらに、TransCon リンカーの in silico 評価では、遺伝毒性に関連する警告構造は認められなかった。

科学的根拠の重要度（weight of evidence）によるがん原性評価では、パロペグテリパラチド、PTH(1-34)及び mPEG に結合した TransCon リンカーは、一般的なヒト集団で予想される以上のがん原性リスクをもたらさないことが裏付けられた。この評価は、パロペグテリパラチドの入手可能な非臨床及び臨床成績、並びに PTH 及び PEG に関連する公表された非臨床及び臨床情報に基づいている。さらに、TransCon リンカーの in silico 評価では、がん原性に関連する警告構造は認められなかった。このため、パロペグテリパラチドのげっ歯類を用いたがん性試験は実施しなかった。

受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験並びに胚・胎児発生に関する試験の最高用量で確認された母動物への毒性は、パロペグテリパラチドの薬理作用の過剰発現に関連しており、反復投与毒性試験で認められた毒性と類似していた。受胎能及び初期胚発生、胚・胎児発生並びに出生前及び出生後の発生に対するパロペグテリパラチド投与に関連した毒性は認められなかった。さらに、TransCon リンカーの in silico 評価では、生殖発生毒性に関連する警告構造は認められなかった。

反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験において、パロペグテリパラチド投与に関連する投与部位の反応は認められなかった。

非臨床毒性試験プログラムでは、すべての血中薬物濃度分析対象物質について、トラフ／ピーク比が小さく持続静脈内投与時の薬物動態（PK）プロファイルに類似した PK プロファイルが得られ、すべての動物試験で全身曝露が確認された［2.6.4.3 項］。抗 PEG 抗体は検出されなかった。抗 PTH 抗体はごく少数の動物で検出されたが、毒性試験の全体的な妥当性及び結論に影響はないと考えられた。

製造販売承認を目的としたパロペグテリパラチド製剤中の添加物［コハク酸、水酸化ナトリウム（NaOH）、マンニトール及びメタクレゾール］は、臨床試験及び非臨床試験において商業生産用の製剤に含まれる添加物の濃度と同等又はそれ以上の濃度で評価した。すべての添加物は最大推奨臨床用量での皮下投与において許容可能と考えられた。

また、副甲状腺機能低下症の患者に対する最大推奨臨床用量における不純物の許容基準は、主にラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験に基づく非臨床安全性評価によってすべて妥当なものであると考えられた。

以上のことから、非臨床毒性試験プログラムは、副甲状腺機能低下症患者に対するパロペグテリパラチドの安全な使用を支持する上で適切と考えられる。

2.6.6.2 単回投与毒性試験

ICH M3(R2)に基づき、急性毒性は反復投与毒性試験で適切に評価可能と考えられるため、パロペグテリパラチドの単回投与毒性試験は実施していない。

2.6.6.3 反復投与毒性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

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、用量設定試験、4 及び 26 週間反復投与毒性試験を実施した（表 2.6.6-1）。反復投与毒性試験は、ICH S6（R1）、ICH M3（R2）、ICH S7B、ICH S4、EMA 反復投与毒性ガイドライン（CPMP/SWP/1042/99 Rev 1 Corr*）に準拠して実施した。また、GLP 適用での 4 及び 26 週間反復投与毒性試験を実施した。

投与開始時、ラットはすべて 8 週齢及びサルはすべて 2～3.5 歳齢であった。

反復投与毒性試験における標準的な評価項目は、死亡率／瀕死の確認、詳細な一般症状観察、体重、摂餌量、臨床検査、肉眼所見、器官重量及び病理組織学的検査とした。さらに、GLP 適用試験では、局所刺激性評価、眼科学的検査、非侵襲的ジャケット付き外部テレメトリーシステムを用いた心電図（ECG；サルのみ、［2.6.2 項］も評価した。カルシウム及びリンの循環血中濃度については、PD マーカーとしてすべての反復投与毒性試験で血清中濃度として評価した。調製液分析も実施した。

さらに、GLP 適用の 4 及び 26 週間反復投与毒性試験では、以下の評価を実施した：

PD マーカー

- 尿中カルシウム及びリン排泄量

- 血漿中内因性 PTH（1-84）濃度

骨評価

- 骨代謝マーカー
- 骨密度測定

末梢定量的コンピュータ断層撮影法（pQCT）

二重エネルギーX 線吸収測定法（DXA；26 週間反復投与毒性試験のみ）

骨形態計測（pQCT 及び DXA 所見をさらに評価；ラットのみ）

PD マーカー及び骨評価の概要を、[2.6.2.3.2 項] に示す。反復投与毒性試験における TK 評価の概要を、総 PTH、遊離 PTH 及び mPEG の結果を含め 2.6.4 項の [表 2.6.4-12～表 2.6.4-14] に示す。免疫原性試験の概要を、抗 PTH 抗体及び抗 PEG 抗体（サルの 26 週間反復投与毒性試験のみ）の評価も含め 2.6.4 項の [表 2.6.4-5] に示す。

パロペグテリパラチドに関連した所見及び標的臓器は、用量設定試験、4 及び 26 週間反復投与毒性試験において同様であったため、パロペグテリパラチドの安全性を評価する上で、最長 26 週間の投与期間は適切と考えられた。また、すべての所見は、文献 [15] 及び承認申請資料 [3) 4) 5) 6)] で報告されているとおり、PTH の薬理作用の過剰発現によると考えられた。さらに、反復投与毒性試験における曝露の定常状態は、ラットでは初回投与後約 7 日（遊離 PTH 及び総 PTH）及び 28 日（mPEG）に、サルでは初回投与後約 3 日（遊離 PTH）、8 日（総 PTH）及び 23 日（mPEG）に達成された（[2.6.4.3.3.1 項] 及び [2.6.4.3.3.2 項]）。

4 及び 26 週間反復投与毒性試験の概略を表 2.6.6-2 に示す。いずれの試験も、認められた変化の可逆性、進行性、又は発現遅延を評価するため、回復期間を設定した。なお、4 及び 26 週間反復投与毒性試験の試験デザイン及び結果が類似しているため、2.6.6.3.1 項及び 2.6.6.3.2 項には、ラット及びサルを用いた 26 週間反復投与毒性試験の結果を中心に示し、必要に応じて他の試験も参照した。

表 2.6.6-2　重要な試験（GLP 試験）の概略

Study No.	Species	Duration of dosing	Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	Free PTH at the NOAEL (At the end of dosing)			
				AUC_{0-24} (h*ng/mL)	C_{max} (ng/mL)	Ratio to human exposure at MRHD[a]	
						AUC_{0-24}	C_{max}
6700371	Rat	4-week	0, 10, 30 and 60	M: NR F: 0.978	M: NR F: 0.0841	-	-
6700386	Rat	26-week	0, 2, 5, 10 and 20	M: 2.39 F: 2.35	M: 0.173 F: 0.191	M: 4.8 F: 4.7	M: 7.6 F: 8.4
6700372	Monkey	4-week	0, 0.2, 0.5 and 1.5	M+F: 0.413	M+F: 0.0223	M+F 0.82	M+F 0.98
6700387	Monkey	26-week	0, 0.2, 0.5 and 1.5/1.0	M+F: 0.171[b]	M+F: 0.00955	M+F 0.3	M+F 0.4

a Human Exposure at MRHD (60 µg PTH(1-34)/day) was 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; AUC_{0-24} 0.502 h*ng/mL, C_{max} 0.0228 ng/mL.
b Exposure on Day 182 in the 26-week repeat-dose toxicity study in monkeys (6700387). Free PTH concentrations were only determined for the highest dose of 1 µg PTH(1-34)/kg/day due to the method sensitivity. Dose proportionality is assumed and AUC and Cmax are therefore divided by 2 to estimate the exposure parameters for the dose of 0.5 µg PTH(1-34)/kg/day
NOAEL (No Observed Adverse-Effect Level) is underlined.
F = Female, M = Male, NR = Not reported; less than 3 consecutive quantifiable concentrations.

2.6.6.3.1　ラットにおける反復投与毒性

雌雄ラットにパロペグテリパラチドの 0、2、5、10 及び 20 µg PTH(1-34)/kg/日を 26 週間、連日皮下投与し、投与期間終了後 6 週間の回復期間を設けた（試験番号 6700386）。

一般状態、局所刺激性、体重、摂餌量、眼科学的検査、凝固系検査、尿検査及び尿化学パラメータ、骨形成マーカー［プロコラーゲンタイプ 1 アミノ末端プロペプチド（P1NP）］及び器官重量の評価において、パロペグテリパラチド投与に関連した変化は認められなかった。

26 週間反復投与毒性試験で用いた 370 例のラットのうち、7 例が死亡又は安楽殺に至ったが、いずれもパロペグテリパラチド投与との関連はないと考えられた。死因として、7 例のうち 4 例は採血処置による合併症が疑われ、1 例は肺の異物が二次的な炎症反応を引き起こしたことによると考えられ、1 例は尾の病変による安楽殺であった。1 例の死因は特定できなかったが、パロペグテリパラチド投与に関連している可能性は低いと考えられた。

2.6.6.3.1.1　カルシウム及びリンの恒常性

試験を通じて、血清カルシウム濃度の用量依存的な増加が、10 µg PTH(1-34)/kg/日以上の用量で認められた。血清カルシウム濃度は、投与 1 日の 12 時間において雌雄で正常範囲を超えた上昇が認められた以外は、正常範囲内に留まった。血清カルシウム濃度の軽度な増加は、5 µg PTH(1-34)/kg/日でも散発的に認められた。回復期間中、血清カルシウム濃度の増加は認められなかった。投与 8 日に、雄では 10 µg PTH(1-34)/kg/日以上で、雌では 20 µg PTH(1-34)/kg/日で、血清リン濃度の一過性の軽微な減少が認められた。投与 28 日以降の血清リン濃度の変化については、加齢に伴ってみられる減少 [16] が各群でみられたため、パロペグテリパラチド投与の影響と判断することが困難

であった。投与 91、183 及び 225 日に評価した尿中カルシウム及びリンの排泄分画は、パロペグテリパラチド投与群と対照群の間で差はみられなかった。

内因性 PTH(1-84)濃度はばらつきが大きかったものの、10 μg PTH(1-34)/kg/日以上で低下が認められ、雄より雌で低い傾向があった。内因性 PTH(1-84)は、雌雄ともに最終投与後 48 時間にベースライン値まで増加した。これは、回復期間中の遊離 PTH 曝露の減少と一致していた。したがって、回復期間中、血清カルシウム濃度及び内因性 PTH(1-84)濃度がベースライン値に戻ったことから、副甲状腺機能低下状態が休薬により回復したと考えられた。

高カルシウム血症に関連した用量依存性の軟部組織の石灰化は、20 μg PTH(1-34)/kg/日以上を投与したラットの毒性試験を通して認められたが、回復期間終了時には発生率及び重篤度ともに減少した。26 週間反復投与毒性試験では、20 μg PTH(1-34)/kg/日群の雌で、投与期間終了時に腎臓で軽微から軽度な石灰化の発生率が増加したが、回復期間終了時には認められなかった。用量設定試験及び 4 週間反復投与毒性試験においても、腎臓の石灰化が 30 μg PTH(1-34)/kg/日群で認められた。4 週間試験の 60 μg PTH(1-34)/kg/日群では心、大動脈及び胃で、用量設定試験の 120 μg PTH(1-34)/kg/日群ではこれらの臓器に加え、副腎、肝、肺、膵臓、小腸及び大腸で石灰化が認められ、血清カルシウム濃度の顕著な増加と相関していた。これらの試験で投与 4 日に認められた心筋及び腎臓の石灰化は、4 週間試験の 60 μg PTH(1-34)/kg/日群及び用量設定試験の 120 μg PTH(1-34)/kg/日群のそれぞれ 2 及び 6 例の死亡又は安楽殺と関連があると考えられた。これら 8 例のうち用量設定試験の 120 μg PTH(1-34)/kg/日群の雄 3 例及び雌 2 例、さらに 4 週間試験の 60 μg PTH(1-34)/kg/日群の雌 1 例、合計 6 例では死亡前に一般状態の異常はなく、いずれも投与 4 日目に死亡が確認された。残りの 2 例については全身状態の悪化により、投与 4 日目に安楽殺に至った。すなわち、用量設定試験の 120 μg PTH(1-34)/kg/日群の雌 1 例では、投与 3 日目に活動性の低下及び衰弱の所見があり、翌投与 4 日目の観察時点において、活動性の低下と衰弱に加え、全身状態の悪化として、呼吸異常（呼吸数減少、浅呼吸）、被毛湿潤（眼窩周囲）、筋緊張の低下、蒼白の所見が認められた。4 週間試験の 60 μg PTH(1-34)/kg/日群の雌 1 例では、円背位が投与 3 日目に観察されたのち、翌投与 4 日目の観察時点において、円背位に加え、全身状態の悪化として、活動性の低下、呼吸の異常（呼吸数増加、浅呼吸）、体温低下、脱水、眼瞼下垂、削痩、及び衰弱の所見が認められた。

2.6.6.3.1.2 骨端軟骨（成長板）

10 及び 20 μg PTH(1-34)/kg/日群の大腿骨の病理組織学的検査及び脛骨の骨形態計測において、長骨の骨端軟骨の軽微から軽度の肥厚が認められた（表 2.6.6-3）。20 μg PTH(1-34)/kg/日群では、この所見に関連して軽微から中等度の骨端軟骨異形成が認められ、軟骨細胞の不規則な配列及び成長板の部分的～広範囲にわたる閉鎖を特徴とした。骨端軟骨の異形成はその重篤度から毒性と考えられた。26 週間反復投与毒性試験では、6 週間の回復期間終了後に骨端軟骨の肥厚及び異形成の発生頻度及び重篤度の低下が認められた。4 週間反復投与毒性試験では、投与期間終了時において 30 μg PTH(1-34)/kg/日以上の用量で、骨形態計測において骨端軟骨の中等度の肥厚が認められたが、異形成は認められなかった（回復期間終了時の骨形態計測は実施しなかった）。回復期間

終了時の重篤度及び発生頻度が低かったことから、骨端軟骨への作用は可逆的であることが示唆された。

表 2.6.6-3　ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験（試験番号 6700386）における大腿骨成長板の病理組織学的所見を認めた動物の割合（%）

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	**Severity**	**Males**		**Females**	
		10	20	10	20
Increased physis thickness					
Week 25/26[a]	Minimal	8	58	8	42
	Mild	0	33	0	33
	Total	*8*	*92*	*8*	*75*
Week 32[b] (recovery period)	Minimal	11	11	0	10
	Mild	0	0	0	0
	Total	*11*	*11*	*0*	*10*
Dysplasia, physis					
Week 25/26[a]	Minimal	8	58	25	0
	Mild	0	42	0	83
	Moderate	0	0	0	8
	Total	*8*	*100*	*25*	*92*
Week 32[b] (recovery period)	Minimal	11	11	0	20
	Mild	0	67	0	50
	Moderate	0	0	0	0
	Total	*11*	*78*	*0*	*70*

a　12 Males + 12 Females/dose level.
b　9-10 Males + 9 Females/dose level.
Data are presented as animals with physeal findings in percentage of total number of animals within group.

2.6.6.3.1.3　骨

薬理作用に起因した用量依存的及び可逆的な骨代謝の亢進が認められた。26 週間反復投与後、骨代謝の亢進として、5 µg PTH(1-34)/kg/日群の雌雄及び 10 µg PTH(1-34)/kg/日群の雌で正味の骨異化作用（骨吸収）が認められた。さらに、骨代謝の亢進として、10 µg PTH(1-34)/kg/日群の雄及び 20 µg PTH(1-34)/kg/日群の雌雄で、正味の骨同化作用（骨形成）が認められた。骨に対する作用は、骨代謝マーカー（図 2.6.6-1）、大腿骨又は脛骨の骨幹端部（海綿骨と皮質骨）及び骨幹部（皮質骨）の pQCT（図 2.6.6-2）、第 1～4 腰椎（主に海綿骨だが皮質骨も含む、図 2.6.6-4）の DXA、脛骨骨幹端部（海綿骨）及び骨幹部（皮質骨）の骨形態計測（図 2.6.6-3、図 2.6.6-5）、並びに鼻腔、大腿骨及び胸骨の病理組織学的検査により評価した。

骨吸収マーカーである I 型コラーゲン架橋 C-テロペプチド（CTx）は、26 週間反復投与毒性試験における雄の 5 µg PTH(1-34)/kg/日以上、雌の 10 µg PTH(1-34)/kg/日以上、4 週間反復投与毒性試験における 30 µg PTH(1-34)/kg/日以上の群で、それぞれ対照群と比較して増加した。

26 週間反復投与毒性試験では、骨形成マーカーである P1NP 濃度に影響は認められなかったが、骨形成の代用マーカーと考えられているアルカリホスファターゼ（ALP）活性は、10 µg PTH(1-34)/kg/日以上の群で増加した。ALP 活性は、ラットの PTH への持続曝露により上昇することが知られており [17]、骨形態計測で認められた線維芽細胞／前骨芽細胞集団の増加［線維芽細胞様表面（Fi.S/BS）］と一致する線維芽細胞／前骨芽細胞様活性 [18] [19] を反映したものと考えられる（図

2.6.6-5)。したがって、ALP 活性及び P1NP 濃度に対するパロペグテリパラチドの作用にはみかけ上の不一致があるものの、線維芽細胞／前骨芽細胞様活性の増加により説明されると考えられる。なお、P1NP 濃度を反映する、骨へのコラーゲン沈着は増加しなかった。4 週間反復投与毒性試験において、30 µg PTH(1-34)/kg/日以上の用量の雌雄では、ALP 及び P1NP が増加し、線維芽細胞／骨芽細胞様活性及びコラーゲン沈着の増加と一致した正味の骨同化作用が確認された。

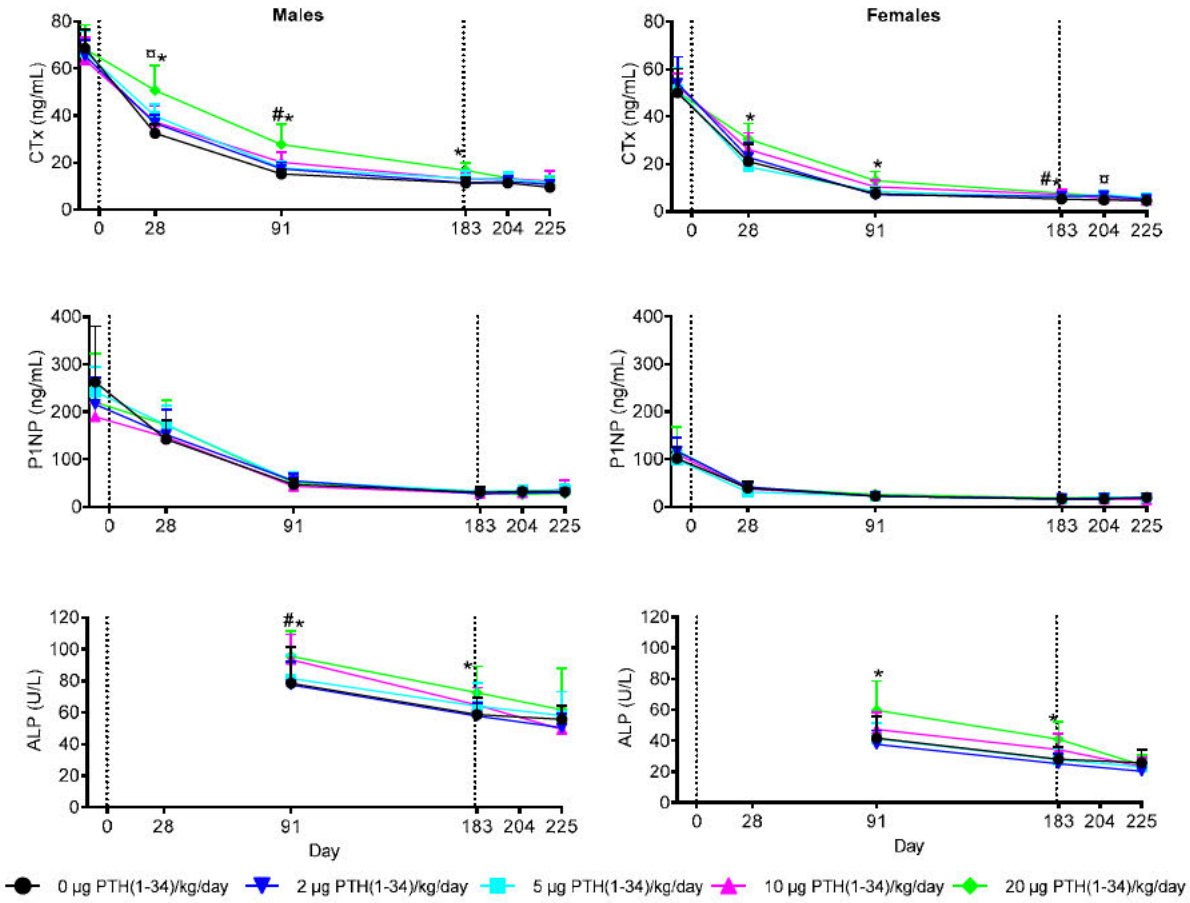


図 2.6.6-1　ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験における骨代謝マーカー（試験番号 6700386）

Data presented as mean plus upper SD (denoted by an error bar). Dotted lines represent Day 1 and last day of dosing (Day 182). N = 9-10/group/time point/sex. Day 91, 183 and 225 represent mid- and end dosing period and end of recovery period, respectively. Samples for ALP was collected as part of the clinical chemistry panel on Days 91, 183 and 225. * = 20 µg PTH(1-34)/kg/day statistically significantly ($p<0.05$) different from control group; # = 10 µg PTH(1-34)/kg/day statistically significantly ($p<0.05$) different from control group; ¤ = 5 µg PTH(1-34)/kg/day statistically significantly ($p<0.05$) different from control group. ALP = alkaline phosphatase; CTx = C-Telopeptide of Type I Collagen; P1NP = Procollagen type 1 amino-terminal propeptide; SD = standard deviation.

26 週間反復投与毒性試験において、5 µg PTH(1-34)/kg/日群の雌雄及び 10 µg PTH(1-34)/kg/日群の雌では、脛骨骨幹端部の骨形態計測により、骨量体積率（BV/TV；骨量／総体積）の減少として正味の骨異化作用が示唆された。（図 2.6.6-3）。雌における正味の骨異化作用は、26 週間反復投与

毒性試験における 5 及び 10 µg PTH(1-34)/kg/日群及び 4 週間反復投与毒性試験における 10 µg PTH(1-34)/kg/日群での pQCT で検出された海綿骨 BMD の減少により裏付けられた（図 2.6.6-2）。

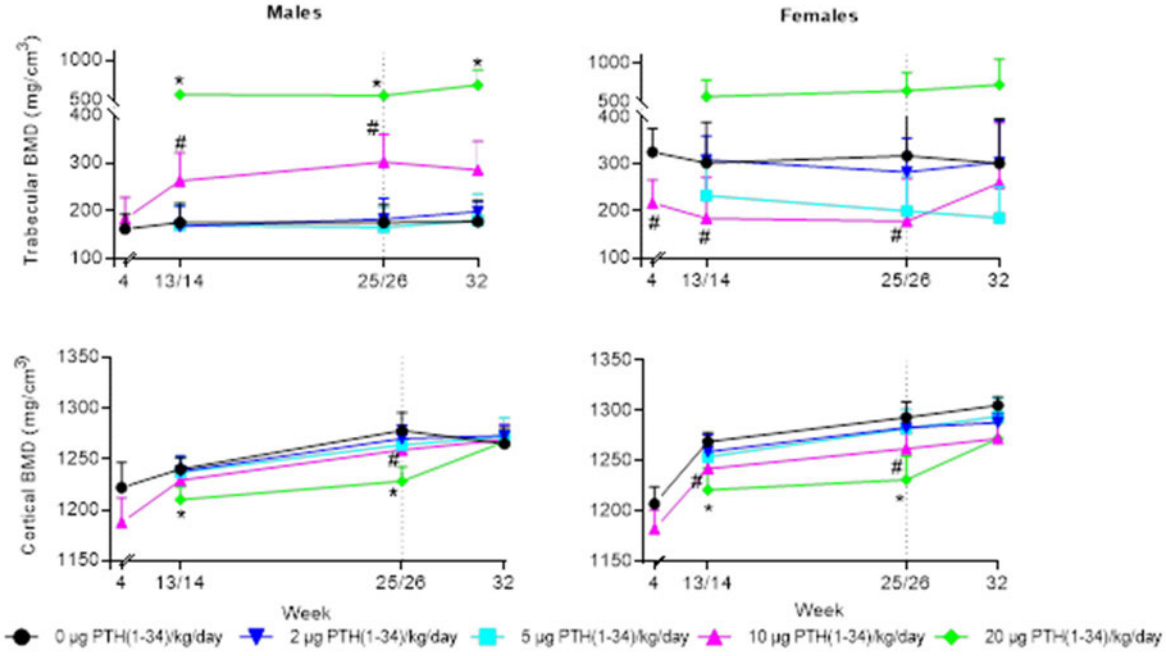


図 2.6.6-2　ラット（試験番号 6700371、6700386）の反復投与毒性試験における pQCT で評価した海綿骨及び皮質骨の骨密度（長管骨）

Data presented as mean plus upper SD (denoted by an error bar). Dotted lines represent last day of dosing (Day 182). N = 10/group/time point/sex for 4-, 13/14- and 25/26-week time points and N = 5/group/time point/sex for 32-week time point. 4-week time points represent data obtained in 4-week repeat-dose toxicity study (6700371) where ex vivo pQCT was performed on proximal diaphysis and metaphysis of the femur. 13/14-, 25/26- and 32-week time points represent data obtained in 26-week repeat-dose toxicity study (6700386) where *in vivo* pQCT was performed on proximal diaphysis and metaphysis of the tibia. 13/14-, 25/26- and 32-week time points represent mid- and end dosing period and end of recovery period in the 26-week repeat-dose toxicity study, respectively.* = 20 µg PTH(1-34)/kg/day statistically significant ($p<0.05$) different from control group; # = 10 µg PTH(1-34)/kg/day statistically significant ($p<0.05$) different from control group. BMD = bone mineral density; pQCT = peripheral quantitative computed tomography; SD = standard deviation.

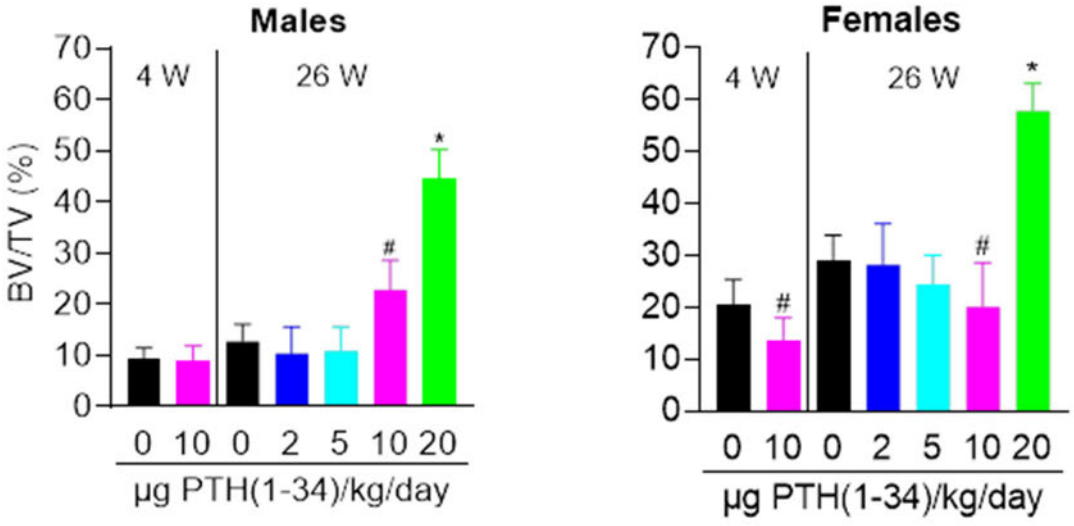


図 2.6.6-3　ラットの反復投与毒性試験（試験番号 6700371、6700386）における組織形態学的に評価した骨体積率（長管骨）

Data presented as mean plus upper SD (denoted by an error bar). N = 8-10/group/time point/sex for 4- and 26-week time points. 4-week time points represent data obtained in 4-week repeat-dose toxicity study (6700371). 26-week time points represent data obtained in 26-week repeat-dose toxicity study (6700386). * = 20 µg PTH(1-34)/kg/day statistically significant ($p<0.05$) different from control group; # = 10 µg PTH(1-34)/kg/day statistically significant ($p<0.05$) different from control group. BV/TV = bone volume fraction (bone volume/total volume); SD = standard deviation; W = week.

26 週間反復投与毒性試験において、長管骨では、正味の骨同化作用は高用量での BV/TV の増加として示され（図 2.6.6-3）、同用量での海綿骨 BMD の増加によっても明らかであった（図 2.6.6-2）。4 週間反復投与毒性試験では、雌雄とも 30 µg PTH(1-34)/kg/日群以上の群で海綿骨 BMD 及び BV/TV が増加した（データは未収載）。pQCT 及び骨形態計測により認められた正味の骨同化作用と一致して、4 週間及び 26 週間反復投与毒性試験における 10 µg PTH(1-34)/kg/日以上の群では大腿骨及び胸骨の増加が、26 週間反復投与毒性試験における 20 µg PTH(1-34)/kg/日群の雌雄各 1 例では臼蓋骨の増加が病理組織学的に認められた。増加した骨は、海綿骨基質の増加、骨芽細胞の細胞密度増加及び増加した骨基質の骨内面に沿った紡錘形細胞の細胞密度増加によって特徴付けられた。

ラットの骨格におけるハバース管骨リモデリングの欠如[20)]と一致して、皮質骨で認められた変化は相対的に軽度であった。したがって、4 及び 26 週間反復投与毒性試験において、それぞれ 30 µg PTH(1-34)/kg/日以上及び 10 µg PTH(1-34)/kg/日以上の群で、皮質骨に吸収作用がみられた。この作用は、26 週間反復投与毒性試験において、10 µg PTH(1-34)/kg/日以上の群で、pQCT で評価した皮質骨 BMD の低下として発現した（図 2.6.6-2）。皮質骨の吸収作用と一致して、26 週間反復投与毒性試験の病理組織学的検査において、雌雄ともすべての用量で、用量に依存して鼻腔骨の空隙率の軽微から軽度な増加が認められた。また、4 週間反復投与毒性試験の病理組織学的検査

において、10 µg PTH(1-34)/kg/日以上の群で、用量に依存して胸骨及び大腿骨の空隙率の軽微から顕著な増加が示された。

これらの所見に関連して、DXA では、雄の 2 µg PTH(1-34)/kg/日群で投与 13/14 週において、対照と比較して腰椎 BMD の軽度な減少がみられた（図 2.6.6-4）。5 µg PTH(1-34)/kg/日以上の群では、投与 13/14 週及び 25/26 週において、雌雄とも BMD の軽微から軽度の減少が認められた。しかし、20 µg PTH(1-34)/kg/日群の雄における腰椎 BMD の減少は顕著なものではなく、この用量において長管骨では pQCT 及び骨形態計測法で正味の骨同化作用を認めていることと矛盾はなかった。4 週間反復投与毒性試験では DXA は実施しなかった。

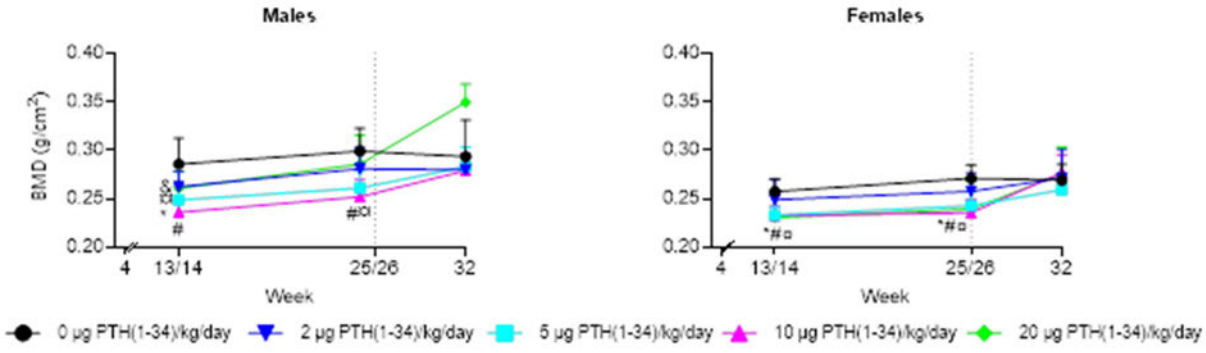


図 2.6.6-4　ラットの反復投与毒性試験で評価した DXA による骨密度（試験番号 6700386）

Data presented as mean plus upper SD (denoted by an error bar). Dotted lines represent last day of dosing (Day 182). N = 10/group/time point/sex for 13/14- and 25/26-week time points and N = 5/group/time point/sex for 32-week time point. 13/14-, 25/26- and 32-week time points represent mid- and end dosing period and end of recovery period in the 26-week repeat-dose toxicity study, respectively.* = 20 µg PTH(1-34)/kg/day statistically significant ($p<0.05$) different from control group; # = 10 µg PTH(1-34)/kg/day statistically significant ($p<0.05$) different from control group; □ = 5 µg PTH(1-34)/kg/day statistically significant ($p<0.05$) different from control group; & = 2 µg PTH(1-34)/kg/day statistically significant ($p<0.05$) different from control group. BMD = bone mineral density; DXA = dual energy X-ray absorptiometry; SD = standard deviation.

脛骨骨幹端部を組織形態学的に評価した Fi.S/BS は、26 週間反復投与毒性試験において、10 µg PTH(1-34)/kg/日以上の群の雄及び 5 µg PTH(1-34)/kg/日以上の群の雌で用量依存的に増加した（図 2.6.6-5）。4 週間反復投与毒性試験では、線維芽細胞様面は 10 µg PTH(1-34)/kg/日以上の群で増加した［4 週間反復投与毒性試験は、10 µg PTH(1-34)/kg/日投与群のデータのみ図 2.6.6-5 に示す］。この線維芽細胞様面の増加は、線維芽細胞様表現型を有する前骨芽細胞と考えられるライニング細胞に起因しており、増加した骨基質の骨内表面に沿った紡錘形細胞の細胞密度の増加という病理組織学的所見とおおむね一致していた。

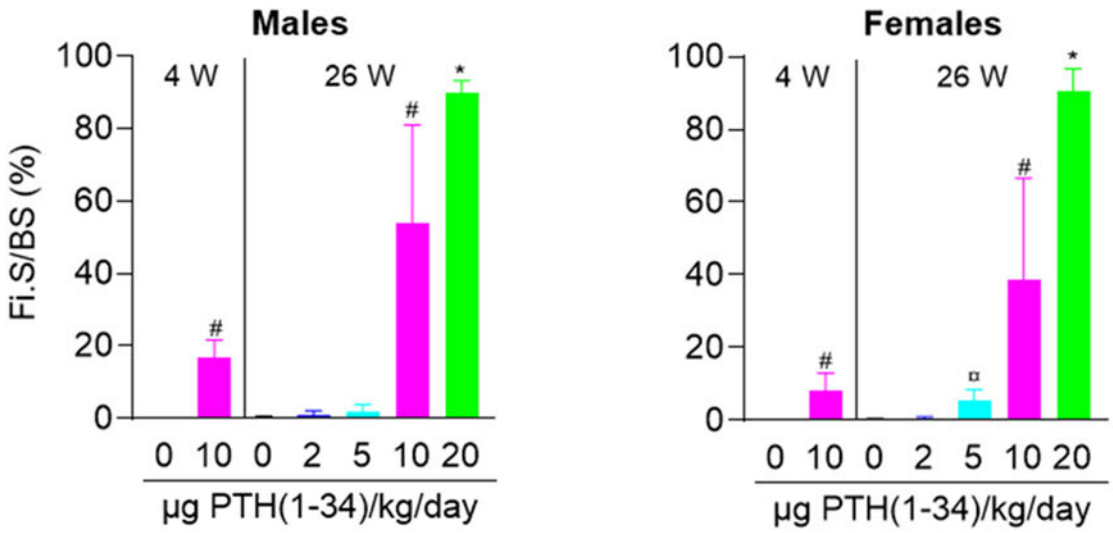


図 2.6.6-5　ラットの反復投与毒性試験（6700371, 6700386）における骨形態計測で評価した線維芽細胞様表面

Data presented as mean plus upper SD (denoted by an error bar). N = 8-10/group/time point/sex for 4- and 26-week time points. 4-week time points represent data obtained in 4-week repeat-dose toxicity study (6700371). 26-week time points represent data obtained in 26-week repeat-dose toxicity study (6700386). * = 20 µg PTH(1-34)/kg/day statistically significant ($p<0.05$) different from control group; # = 10 µg PTH(1-34)/kg/day statistically significant ($p<0.05$) different from control group; □ = 5 µg PTH(1-34)/kg/day statistically significant ($p<0.05$) different from control group. Fi.S/BS = fibroblast-like surface (fibroblast-like surface/bone surface); SD = standard deviation; W = week.

回復期間終了時において、皮質骨の変化は部分的又は完全に回復性を示した（図 2.6.6-2）。海綿骨コンパートメントの変化は全体的に残存していたが、いくつかのパラメータでは回復傾向又はリバウンド様の状態が認められた（図 2.6.6-2、図 2.6.6-4）。リバウンド様作用は、20 µg PTH(1-34)/kg/日群の雄において、DXA による BMD が 26 週間の投与期間終了時では軽微から軽度な減少であったが、6 週間の回復期間終了時には増加傾向に移行したことにより示唆された（図 2.6.6-4）。

26 週間の投与期間終了後、脾臓及び肝臓における髄外造血の亢進が、20 µg PTH(1-34)/kg/日群の数例で認められた。これらの毒性所見は、血液学的パラメータ（赤血球及び白血球パラメータ、血小板）の軽微で毒性学的意義がない変化とおおむね関連しており、骨髄腔の狭小化をもたらす骨量の増加に関連した変化と考えられた [21)]。6 週間の回復期間終了時には、脾臓及び肝臓における髄外造血は認められなかった。更に、血球パラメータに対する影響は、投与期間終了時から回復又は回復傾向が認められた。同様の変化は、4 週間反復投与毒性試験の 30 µg PTH(1-34)/kg/日群でも認められた。

2.6.6.3.1.4　　空胞化

ラットを用いた毒性試験の病理組織学的評価では、脈絡叢上皮細胞やその他の組織・器官において、パロペグテリパラチドに関連する空胞化は認められなかった。

2.6.6.3.1.5　　曝露及び免疫原性

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、総 PTH、遊離 PTH 及び mPEG の持続的な全身曝露が確認された［2.6.5.4.3 項］。総 PTH、mPEG 及び遊離 PTH の全身曝露は、雄と比較して雌でおおむね高い傾向があった［2.6.4.3.3.1 項］。一方、主要な薬力学的マーカーである血清カルシウム濃度の変化は、雌雄で同程度であった。ただし、内因性 PTH(1-84)の減少が雌でより顕著であったこと、腎臓の石灰化の増加はそのほとんどが雌でみられたこと及び正味の骨同化作用（骨形成）は雌よりも雄の方が低い用量で生じたことから、血清カルシウム濃度の上昇に対する代償性の反応には性差がある可能性が示唆された。その他のパロペグテリパラチド投与に関連した変化に性差はなかった。なお、サルにおいても性差は認められていない（2.6.6.3.2 項）。

26 週間反復投与毒性試験では、投与 1 日と比較して投与 91～182 日に遊離 PTH の増加がみられ、また、遊離 PTH の変化よりも軽度ではあるが総 PTH の曝露の増加が認められた［2.6.4.3.3.1 項］。パロペグテリパラチドに関連した変化の中で血球パラメータの変化のみが投与期間の延長により増強したことから、蓄積作用が示唆された。しかし、血清カルシウム濃度及び骨への影響を含む他のパロペグテリパラチド投与に関連した変化は、いずれもその程度が試験期間を通じて同程度であった。したがって、26 週間反復投与毒性試験の結果から薬力学的な作用に明らかな蓄積性はないものと考えられた。全身曝露の定常状態への推定到達時期は、総 PTH 及び遊離 PTH では投与 7 日頃、mPEG では投与 28 日頃であった。

抗 PTH 抗体は、26 週間反復投与毒性試験において 320 例中 4 例で検出されたが、試験の妥当性や結論に影響するものではないと考えられた［2.6.4.3.3.1 項］。ラットを用いた 4 週間反復投与毒性試験では、抗 PTH 抗体は検出されなかった。

ラットを用いた 4 及び 26 週間反復投与毒性試験における mPEG－リンカーの曝露と最大推奨臨床用量における mPEG－リンカーの推定曝露の比を以下に示した（表 2.6.6-4）。

表 2.6.6-4　ラットを用いた 4 及び 26 週間反復投与毒性試験（試験番号 6700371 及び 6700386）における無毒性量（NOAEL）での mPEGーリンカーの Cmax 及び AUC と、最大臨床推奨用量における mPEGーリンカーの推定 Cmax 及び推定 AUC の比較

Species	Dose	$AUC_{0\text{-}24h}$ (h*ng/mL)	C_{max} (ng/mL)	Exposure Ratio to MRHD	
				AUC	C_{max}
4-Weeks Repeat-Dose (NOAEL) (Study No. 6700371)					
Rats (M)[a]	10 µg PTH(1-34)/kg	52100	2250	2.1	2.1
Rats (F)[a]	10 µg PTH(1-34)/kg	55300	2480	2.2	2.4
26-Weeks Repeat-Dose (NOAEL) (Study No. 6700386)					
Rats (M)[b]	10 µg PTH(1-34)/kg	82600	4470	3.3	4.3
Rats (F)[b]	10 µg PTH(1-34)/kg	85900	4720	3.4	4.5
MRHD					
Humans[c]	60 µg PTH(1-34)	25100	1050	-	-

Assumed that the exposures of mPEG and mPEG-linker were the same
a Exposure of mPEG on Day 28 in the 28-day repeat-dose toxicity study in rats (6700371)
b Exposure of mPEG-linker on Day 182 in the 26-week repeat-dose toxicity study in rats (6700386)
c Exposure of mPEG based on the simulation using the population PK model (Table 13 in [redacted])
$AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the curve from 0 to 24 h; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; M = male; MRHD =maximum recommended human dose; NOAEL = no observed adverse effect level; PK = Pharmacokinetic(s)

2.6.6.3.1.6　ラットを用いた反復投与毒性試験の要約

ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験において、20 µg PTH(1-34)/kg/日群で認められた毒性所見である骨端軟骨異形成に基づいて、NOAEL は 10 µg PTH(1-34)/kg/日と判断した。NOAEL における、遊離 PTH の定常状態曝露［0～24 時間の血漿中濃度ー時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}24}$）及び最高血漿中濃度（C_{max}）］は、最大推奨臨床用量[注4)]で推定された曝露量の 4.7～4.8 倍及び及び 7.6～8.4 倍、総 PTH については 2.3～3.6 倍及び 4.0～5.1 倍、mPEG については 3.3～3.4 倍及び 4.3～4.5 倍であった。

2.6.6.3.2　サルにおける反復投与毒性

雌雄サルにパロペグテリパラチドの 0、0.2、0.5 及び 1.5/1.0 µg PTH(1-34)/kg/日を、26 週間、連日皮下投与し、その後 13 週間の回復期間を設けた（試験番号 6700387）。

重篤な食餌性高カルシウム血症を避けるため、サルを用いた全ての毒性試験において、試験実施施設で一般的に用いられている飼料（カルシウム含量：約 1.15%）よりもカルシウム含量を低く（カルシウム含量：約 0.6～0.9%）したが、この設定濃度はサル用の飼料で求められるカルシウムの最小推奨濃度（0.55%）以上であった[22)]。

注4) 副甲状腺機能低下症の患者に対する最大推奨臨床用量［60 µg PTH(1-34)/日］における定常状態の曝露は、健康被験者及び成人副甲状腺機能低下症被験者の第 I、II 及び III 相の臨床試験データに基づいて作成した母集団薬物動態（PK）モデルを使用して予測した［2.6.4.3.3.3 項］。

サルを用いた 26 週間反復投与毒性試験において、一般状態観察、局所刺激性評価、体重、摂餌量、眼科学的検査、定量的及び定性的心電図検査、臨床検査パラメータ（血液学的検査、凝固系検査及び尿検査）、骨代謝マーカー、DXA による骨密度測定並びに臓器重量にパロペグテリパラチド投与に関連した変化は認められなかった。

26 週間反復投与毒性試験で用いた 48 例のサルのうち、最高用量である 1.5 µg PTH(1-34)/kg/日を投与した雌 1 例が投与 24 日に死亡した。この死亡例では、死亡と関連すると考えられる一般状態変化は認められなかった。この動物の血清カルシウム濃度は、投与開始 1 週間前の投与前値 10.5 mg/dL から死亡 9 日前（この動物の最終測定値）では 15.1 mg/dL まで上昇した。最高用量群におけるこの雌の死因について考察可能な病理肉眼的又は病理組織学的所見は認められなかった。しかし、この死亡例では血清カルシウム濃度が上昇していたため、死亡がパロペグテリパラチド投与による可能性は否定できず、早期の死亡は PTH の薬理作用の過剰発現によるものと考えられた。さらに、1.5 µg PTH(1-34)/kg/日を投与したほとんどの動物で、正常範囲を超える持続的な血清カルシウム濃度の上昇が認められた。最高用量群における重度の高カルシウム血症による死亡を回避するための予防的措置として、投与 25 日（雌）及び投与 26 日（雄）に最高用量を 1.0 µg PTH(1-34)/kg/日に減量した。

2.6.6.3.2.1 カルシウム及びリンの恒常性

1.0 µg PTH(1-34)/kg/日未満の用量では、サルを用いたいずれの毒性試験においても血清カルシウム濃度の増加は認められなかった。1.5 µg PTH(1-34)/kg/日では、血清カルシウムの正常範囲を超える顕著かつ持続的な増加が投与期間中の投与前及び投与後 12 時間の採血時点で認められた。投与 25/26 日に用量を 1.0 µg PTH(1-34)/kg/日に減量した後も、血清カルシウム濃度の上昇が認められ、この上昇はおおむね投与後 12 時間に最も顕著であり、正常範囲を上回った。投与 182 日の最終投与後、1.5/1.0 µg PTH(1-34)/kg/日群の動物の血清カルシウム濃度は減少し、正常レベルとなった。1.5/1.0 µg PTH(1-34)/kg/日群では血清カルシウム濃度が増加したにもかかわらず、尿中カルシウムの分画排泄量はいずれの用量及び測定時期（投与 15、91、183 及び 273 日）においても対照群と同等であった。同様の結果は 4 週間反復投与毒性試験でも観察された。

血清リン濃度の減少は、0.2 µg PTH(1-34)/kg/日以上の群（雌で最も顕著）で投与 57 日まで認められたが、投与 91 日では認められなかった。血清リン濃度の減少と関連して、尿中リンの分画排泄量の一過性の増加が投与 15 日に 1.5 µg PTH(1-34)/kg/日群で認められた。

投与期間中、0.5 µg PTH(1-34)/kg/日以上の群で内因性 PTH(1-84)の用量依存的な減少が認められた。回復期間中に遊離 PTH への曝露が減少するのに伴い、血清カルシウム及び内因性 PTH(1-84)の濃度がベースラインに戻ったことから、副甲状腺機能の低下が回復したと考えられた。

2.6.6.3.2.2 骨

1.5/1.0 µg PTH(1-34)/kg/日群の投与 25/26 週に、pQCT で脛骨骨幹部の皮質骨 BMD の減少傾向が認められた。しかし、骨代謝マーカーや、他の骨密度指標である pQCT（脛骨骨幹端及び骨幹）及び DXA（腰椎）では意義のある変化は認められず、パロペグテリパラチド投与に関連した骨の病

理組織学的所見も認められなかった。同様に、26 週間反復投与毒性試験の低用量及びサルの 4 週間反復投与毒性試験においても、骨代謝マーカー、pQCT（第 3～4 腰椎、大腿骨骨幹端及び骨幹）及び骨の病理組織学的検査においてパロペグテリパラチド投与に関連した影響は認められなかった。

26 週間の投与期間終了時、1.5/1.0 μg PTH(1-34)/kg/日群の雌 1 例に大腿寛骨臼関節（股関節）に重度の両側変性関節症が認められた。この所見はその重篤度に基づいて毒性と判断した。同じ動物の大腿脛骨関節には変性性変化はみられなかった。この試験で変性関節病変は 1 例のみで認められた変化ではあったが、パロペグテリパラチド投与との関連性は否定できなかった。しかし、変性関節病変は高齢のサルでは自然発生所見としてみられるものであり、また若齢のサルでも起こり得ることから [23) 24) 25) 26)]、この所見は偶発的な変化である可能性も考えられる。また、変性関節病変は、他の PTH アナログのサルへの投与では投与の影響として認められないことが報告されている [3) 4) 5) 6)]。なお、大腿寛骨臼関節の変性関節症を示唆する変化は 26 週間反復投与毒性試験の回復群の動物及びサルを用いたその他の 2 つの反復投与毒性試験において認められなかった。

2.6.6.3.2.3 空胞化

サルを用いた反復投与毒性試験の病理組織学的検査では、脈絡叢上皮細胞やその他の組織・臓器において、パロペグテリパラチド投与に関連する空胞化は認められなかった。

2.6.6.3.2.4 曝露及び免疫原性

サルを用いた 3 つの反復投与毒性試験すべてにおいて、総 PTH と mPEG への持続的な全身曝露が確認された。試験法の感度［2.6.4.2.1.2 項］のため、遊離 PTH は 4 及び 26 週間反復投与毒性試験における最高用量でのみ測定可能であった。

26 週間反復投与毒性試験では、抗 PEG 抗体は検出されなかった。パロペグテリパラチドを投与した 35 例のサルのうち、抗 PTH 抗体が陽性であった動物は最高用量の雌 1 例のみで、投与 91～182 日の間に力価が上昇した。この雌では、同群の他の個体と比較して、総 PTH 及び mPEG の全身曝露が軽度（3 倍未満）に高く、遊離 PTH の全身曝露は顕著に高かった（最大 170 倍）[2.6.4.3.3.2.1 項]。この動物における薬力学及び骨代謝マーカーの変化は、薬力学的反応の軽度な増加を示唆しており、顕著に高かった遊離 PTH 曝露とは比例しなかった。さらに、この雌では病理組織学的所見は認められなかった。この所見は 1 例に限られたため、試験の全体的な妥当性及び結論には影響しないと考えられた。

サルを用いた 4 及び 26 週間反復投与毒性試験における mPEGーリンカーの曝露と最大推奨臨床用量における mPEGーリンカーの推定曝露の比を以下に示した（表 2.6.6-5）。

表 2.6.6-5　サルを用いた 4 及び 26 週間反復投与毒性試験（試験番号 6700372 及び 6700387）における無毒性量（NOAEL）での mPEGーリンカーの Cmax 及び AUC と、最大臨床推奨用量における mPEGーリンカーの推定 Cmax 及び推定 AUC の比較

Species	Dose	$AUC_{0\text{-}24h}$ (h*ng/mL)	C_{max} (ng/mL)	Exposure Ratio to MRHD	
				AUC	C_{max}
4-Weeks Repeat-Dose (NOAEL) (Study No. 6700372)					
Monkeys (M)[a]	1.5 µg PTH(1-34)/kg	15900	696	0.6	0.7
Monkeys (F)[a]	1.5 µg PTH(1-34)/kg	16500	785	0.7	0.7
26-Weeks Repeat-Dose (NOAEL) (Study No. 6700387)					
Monkeys (M)[b]	0.5 µg PTH(1-34)/kg	7200	335	0.3	0.3
Monkeys (F)[b]	0.5 µg PTH(1-34)/kg	6920	320	0.3	0.3
MRHD					
Humans[c]	60 µg PTH(1-34)	25100	1050	-	-

Assumed that the exposures of mPEG and mPEG-linker were the same
a Exposure of mPEG on Day 28 in the 28-day repeat-dose toxicity study in monkeys (6700372)
b Exposure of mPEG-linker on Day 182 in the 26-week repeat-dose toxicity study in monkeys (6700387)
c Exposure of mPEG based on the simulation using the population PK model (Table 13 in [redacted])
$AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the curve from 0 to 24 h; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; M = male; MRHD =maximum recommended human dose; NOAEL = no observed adverse effect level; PK = Pharmacokinetic(s)

2.6.6.3.2.5　サルを用いた反復投与毒性試験の要約

26 週間反復投与毒性試験では、1.5 µg PTH(1-34)/kg/日投与時に認められた投与期間初期の動物の死亡、1.5/1.0 µg PTH(1-34)/kg/日投与時に認められた血清カルシウム濃度の顕著かつ持続的な増加及び 1 例に認められたパロペグテリパラチド投与と関連する可能性がある重度の変性関節病変に基づき、NOAEL は 0.5 µg PTH(1-34)/kg/日と判断した。最大推奨臨床用量[注 4)]で推定される全身曝露と比較した場合、NOAEL における定常状態での全身曝露（$AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max}）は遊離 PTH がそれぞれ 0.3 及び 0.4 倍、総 PTH がそれぞれ 0.7 及び 0.8 倍、mPEG がそれぞれ 0.3 及び 0.3 倍であった。

2.6.6.4　遺伝毒性試験

パロペグテリパラチド及びその切断産物は ICH S2(R1)に従って標準的組み合わせの遺伝毒性試験で評価した。実施した試験一覧を表 2.6.6-1 に示す。

さらに、TransCon リンカーの in silico 評価では、細菌における変異原性について陰性である可能性を示し、その他の遺伝毒性／非遺伝毒性発がん性及び遺伝毒性に関連する警告構造は認められなかった（2.6.6.8.1 項）。

2.6.6.4.1　in vitro 遺伝毒性試験

生体におけるパロペグテリパラチドの自己切断による生成物の遺伝毒性を評価するため、生理的条件下（37℃、pH 7.4）であらかじめインキュベートしたパロペグテリパラチドを用いて、2 つ

の in vitro 遺伝毒性試験を実施した。インキュベートによりパロペグテリパラチドに含まれるPTH(1-34)の 56.2%が遊離した。このことから、被験物質はパロペグテリパラチド、PTH(1-34)及びTransCon リンカーに結合した mPEG を含んでいた。

2 つの in vitro 遺伝毒性試験の用量は、培養前のパロペグテリパラチドとしての用量（μg）で記載した。

2.6.6.4.1.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

細菌を用いた復帰突然変異試験（試験番号 9601550）は、1.58～5000 μg パロペグテリパラチド/plate の用量で実施し、5 種類の菌株を用いて、点突然変異、フレームシフト変異、DNA 修復の欠損を評価した：

- *Salmonella typhimurium* TA1535 *his*G46 *rfa ΔuvrB*
- *Salmonella typhimurium* TA1537 *his*C3076 *rfa ΔuvrB*
- *Salmonella typhimurium* TA98 *his*D3052 *rfa ΔuvrB* pKM101
- *Salmonella typhimurium* TA100 *his*G46 *rfa ΔuvrB* pKM101
- *Escherichia coli* WP2 *trp uvrA*

最高用量（5000 μg パロペグテリパラチド/plate）は、インキュベーション後、プレートあたり、[redacted]μg のパロペグテリパラチド、[redacted]μg の遊離 PTH(1-34)、[redacted] μg の TransCon リンカーに結合した mPEG 及び[redacted]μg の[redacted]に相当した。試験した 5 つの菌株のうち 2 つの菌株（*Salmonella typhimurium* TA98 *his*D3052 *rfa ΔuvrB* pKM101 及び *Salmonella typhimurium* TA100 hisG46 *rfa ΔuvrB* pKM101）では、最高用量から 2 用量（TA98 株：2812 及び 5000 μg パロペグテリパラチド/plate）又は最高用量（TA100 株：5000 μg パロペグテリパラチド/plate）において、代謝活性化系の存在下（ラット肝 S9 mix）でのみ、再現性のある「不確か（equivocal）な結果」となった。PTH(1-34)のアミノ酸配列にはヒスチジンが含まれている。ラット肝臓ホモジネート（S9 mix と同様）を用いて代謝した PTH(1-34)は、ヒスチジン周辺に位置する切断部位と一致する PTH(1-34)の断片を生成することが報告されている [27)]。したがって、PTH(1-34)の代謝後の分解生成物には、ヒスチジン又は末端にヒスチジン部分を持つ断片が含まれている可能性がある。ヒスチジンは、細菌を用いる復帰突然変異試験で偽陽性を引き起こすことが知られている [28) 29)] [ICH S2(R1)]。さらに、PTH(1-34)は、細菌を用いる復帰突然変異試験の S9 mix 存在下でヒスチジンの遊離によると考えられる細菌の過増殖によって偽陽性の結果を示すことが報告されている [30)]。したがって、2812 μg 及び 5000 μg パロペグテリパラチド/plate の用量における「不確か（equivocal）な結果」は、真の復帰変異体ではなく、代謝された PTH(1-34)から遊離したヒスチジンが供給されて増殖したヒスチジン要求性 *Salmonella typhimurium* 菌によるものであると考えられる。以上のことから、細菌を用いた復帰突然変異試験では、代謝活性化の有無にかかわらず、パロペグテリパラチド及びその切断産物は変異原性を示さないと判断した。

2.6.6.4.1.2 哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験（試験番号 9601551）は、0.98～500 µg パロペグテリパラチド/mL の用量で実施し、代謝活性化系（S9 mix）の存在下及び非存在下でヒト末梢血リンパ球における染色体構造異常の誘発性を評価した。最高用量（500 µg パロペグテリパラチド/mL）は、インキュベーション後、[redacted] µg/mL のパロペグテリパラチド、[redacted] µg/mL の遊離 PTH(1-34)、[redacted]µg/mL の TransCon リンカーに結合した mPEG 及び[redacted]µg/mL の[redacted]に相当した。哺乳類培養細胞を用いた染色体異常試験では、代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの用量においても、パロペグテリパラチド及びその切断産物は染色体構造異常誘発性を示さないと判断した。

2.6.6.4.2 in vivo 遺伝毒性試験

2.6.6.4.2.1 骨髄を用いる小核試験

骨髄を用いた小核試験は、雌雄ラットにパロペグテリパラチドの 0、10、30 又は 60 µg PTH(1-34)/kg/日を投与した 4 週間反復投与毒性試験（試験番号 6700371）において実施した。in vivo 小核試験では、4 週間皮下投与後の雌雄ラットの骨髄塗抹標本を作製し、赤血球中の小核の発現を指標に評価した（評価動物数：5 例／群／性）。その結果、パロペグテリパラチド又はその切断産物は遺伝毒性を示さないと判断した。

2.6.6.4.3 遺伝毒性試験の要約

パロペグテリパラチド又はその自己切断後の生成物について、遺伝毒性リスクは確認されなかった。この結果は、PTH の遺伝毒性リスクが確認されなかった 2 つの承認済み PTH アナログ [3) 4) 5) 6)] と一致している。

2.6.6.5 がん原性試験（トキシコキネティクス評価を含む）

がん原性リスク評価は、プロドラッグ（パロペグテリパラチド）及びその切断産物［PTH(1-34)及び TransCon リンカーに結合した mPEG］について評価した。評価は、パロペグテリパラチド及び自己切断後の生成物に関する非臨床及び臨床成績、並びに PTH 及び PEG について公表された非臨床及び臨床情報を含めた科学的根拠の重要度（weight of evidence）に基づいている。

医薬品として既に承認されている短時間作用型 PTH アナログである Forteo 及び Natpara は、ラットを用いたがん原性試験における骨肉腫の発生に基づき、米国では枠囲み警告（boxed warning）が付されているか [31)]、過去に付されていた [32)]。EU では、短時間作用型 PTH アナログの医薬品市販承認取得者は、骨肉腫の発生を評価するために承認後試験を実施する義務がある [3) 5)]。Forteo は骨粗鬆症の治療薬として 1 日 1 回の皮下投与が承認されている骨同化作用（骨形成）薬である。Natpara は、副甲状腺機能低下症患者の低カルシウム血症治療のために、カルシウム及びビタミン D サプリメントの補助として 1 日 1 回皮下投与されるが、正味の骨同化作用も有する。Natpara 及び Forteo は、ヒトにおける半減期が短いため（それぞれ約 3 時間及び約 1 時間）、これらの活性型

薬剤への間歇的で生理的レベルを超える曝露と高いトラフ／ピーク比を有する PK プロファイルを示す[31) 32) 33) 34)]。PTH への間歇的な全身曝露は、正味の骨同化作用と関連している［2.6.2 項］。2 年間のがん原性試験において、Fischer 344 ラットに Natpara［10、50、150 µg PTH(1-84)/kg[35)]］及び Forteo［5、30、75 µg PTH(1-34)/kg[36) 37)]］を連日、皮下投与したところ、Natpara の 10 µg/kg/日を除くすべての用量で、骨腫、骨芽細胞腫、特に骨肉腫の発生が有意に増加した。ラットにおける骨肉腫の発生は、PTH の投与用量及び曝露期間に依存することが広く知られている。多くの文献データから短時間作用型 PTH アナログをラットに生涯に近い期間曝露させることにより発がん性を示すことが裏付けられている。注目すべき点として、この発がん性が認められたのは、短期作用型 PTH アナログを高用量及び骨同化作用が発現する用量でラットに連日、投与した場合のみであったことである。短期作用型 PTH アナログのラットがん原性データを用いたリスク／ベネフィット解析では、骨肉腫の誘発は、PTH への間歇的曝露によって誘発されるラットの骨の同化反応とメカニズム的に関連しているという仮説が裏付けられている[38) 39)]。しかし、サルを含むその他の動物種や慢性副甲状腺機能亢進症などでみられるように生理的濃度以上の PTH に長期間曝露されたヒトにおいて、PTH によって骨肉腫が誘発されるという証拠はない[40) 41) 42) 43) 44)]。同様に、Forteo で最長 2 年間治療された骨粗鬆症患者において骨肉腫の発生率が増加するという報告はない[45)46) 47) 48) 49) 50) 51)]。これらの理由により、2020 年 11 月に Forteo の添付文書から骨肉腫に関する枠囲み警告が削除されるとともに治療期間が更新され、骨折リスクが高い状態が続いている患者、又は骨折リスクが高い状態に戻った患者については、2 年を超えて治療を行うことが可能となった[32)]。また、Natpara による治療後の骨肉腫のリスク増加は、最長で 8 年間報告されていない。全体として、パロペグテリパラチドから遊離する活性型 PTH がヒトにおいて骨肉腫のリスクをもたらすという証拠はない。

パロペグテリパラチドの非臨床及び臨床成績は、骨において期待される PTH の薬理作用と一致するものであった。副甲状腺摘出（TPTx）雌ラットにパロペグテリパラチドの 5 及び 10 µg PTH(1-34)/kg/日［2.6.2.3.4.3 項］を投与した原理証明（PoP）試験では、正味の骨異化作用が認められた。正味の骨異化作用は、雌雄の正常ラットに 5 µg PTH(1-34)/kg/日を投与した際にも認められた。この用量における遊離 PTH の全身曝露（C_{max}）[注5)]は、最大推奨臨床用量[注 4)]で予測される臨床全身曝露の 3.7～4.7 倍であった。雄では 10 µg PTH(1-34)/kg/日、雌では 20 µg PTH(1-34)/kg/日で正味の骨同化作用が認められ、これらの用量における遊離 PTH の全身曝露（$AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max}）は最大推奨臨床用量[注 4)]で予測される全身曝露の少なくとも 4.8 倍に相当した。一般的に生理的濃度を超える PTH の曝露を続けると骨異化作用が生じるが［2.6.2.2 項］、PTH に曝露され続けることによって骨形成が増加するという非臨床試験及び臨床試験の成績も報告されている[17) 18) 52) 53) 54)]。しかし、パロペグテリパラチドによって誘導される正味の骨同化作用のメカニズムは、短時間作用型 PTH アナログによるものとは異なると考えられ、これは PTH への曝露プロファイルの違い（それぞれ連続的又は間歇的曝露）によるものである。短時間作用型 PTH アナログは、PTH への間歇的で生理的濃度を大きく超える高曝露をもたらし、ラットにおいて骨芽細胞分化及び抗アポトーシス作用の自己制限的性質を失うことによって正味の骨同化作用を誘発する[55) 56) 57) 58)]。これとは

注5) 算出に使用した遊離 PTH の曝露量は、［2.6.5.4.3 項］のラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験における投与 182 日の値である。

対照的に、パロペグテリパラチドを PTH への曝露が持続的に生理的濃度よりも高くなる用量で投与すると、骨代謝のバランスが骨形成側にシフトするため、ラットでは正味の骨同化作用が誘発されると考えられている。このシフトに寄与すると考えられる要因として、高い PTH の曝露により生じる持続的な高カルシウム血症が骨芽細胞の増殖及び分化を刺激し、破骨細胞の生存を抑制することが挙げられる [59) 60)]。サルの 4 及び 26 週間反復投与毒性試験の最高用量[注6)]では、骨における正味の同化作用は認められず、この用量における遊離 PTH の全身曝露（$AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max}）は最大推奨臨床用量[注 4)] で予測された曝露量のそれぞれ 0.68 及び 0.98 倍に相当した。ラット及びサルを用いた非臨床試験において、最長 26 週間、パロペグテリパラチドを連日、投与したことに関連する腫瘍性病変は認められず、また、標準的組合せの遺伝毒性試験において、パロペグテリパラチド又はその切断産物の遺伝毒性リスクは認められなかった。さらに、パロペグテリパラチドを用いて実施された第 II 相及び第 III 相臨床試験（TCP-201、TCP-304）では、正味の骨同化作用は認められず、むしろ、骨代謝亢進の初期段階として P1NP よりも CTx の変化の方が比率的に大きく、骨形成と骨吸収のバランスが骨吸収側で優勢であることが示された。この初期段階の後、CTx 及び P1NP は、試験 58 週には年齢及び性別を考慮した標準値に向かって徐々に減少する傾向にあった［2.7.3.3.2.6 項］。これに伴い、BMD の平均 Z スコアは、慢性副甲状腺機能低下症に特徴的な過成熟及び過石灰化した骨状態とは逆に、年齢及び性別で予想される標準値に向かって低下した［2.7.3.3.2.7 項］。したがって、PTH(1-34)単独ではヒトにおける骨肉腫のリスクはないことに加え、パロペグテリパラチドは、生理的な PTH レベルを維持して骨代謝を正常化する補充療法であり、一般的なヒト集団での骨肉腫リスクを上回るものではないと考えられる。

パロペグテリパラチドの不活性担体は分岐した 40 kDa の mPEG である。PEG は、非経口、経口、直腸及び外用投与経路用の化粧品、食品及び医薬品の添加物として数十年にわたって用いられてきた [61)]。さらに、医薬品の PEG 修飾は、タンパク質の免疫原性を低下させ、様々な臨床疾患を治療するための治療用タンパク質の循環半減期を延長するために 30 年以上用いられてきた [14)]。一般的に、ヒト及び動物において、高分子量の PEG を含む PEG 化タンパク質を長期（慢性）使用した場合、現在までのところ、安全性に関する懸念は示されておらず [14) 61) 62)]、PEG には変異原性及びがん原性がないことが報告されている [62) 63)]。したがって、パロペグテリパラチドに含まれる mPEG 担体は、がん原性のリスクはないと考えられる。

TransCon リンカーを in silico で評価した結果、がん原性に関連する警告構造は認められなかった（2.6.6.8.1 項）。さらに、ラット及びサルを用いた 26 週間反復投与毒性試験における TK 評価では、パロペグテリパラチドの自己切断後、リンカー分子は意図した通り mPEG 担体に結合した状態であることが示された［2.6.4.3.3 項］。したがって、mPEG のがん原性評価結果は、TransCon リンカーががん原性リスクを有するとは考えられないという結論を支持するものと考えられた。

以上のように、科学的根拠の重要度（weight of evidence）及び 3R（代替法の活用、使用数の削減、苦痛の軽減）の原則に基づき、FDA（FDA 参照 ID：2019 年 6 月 27 日付 FDA 電子メール：SN0012）及び CHMP（EMA/CHMP/SAWP/277942/2019）が合意した通り、パロペグテリパラチドについてげっ歯類を用いたがん原性試験は必要ないと考えられた。また、独立行政法人医薬品医

[注6)] サルを用いた 4 及び 26 週間反復投与毒性試験の最高用量は、それぞれ 1.5 µg PTH(1-34)/kg/日及び 1.5/1.0 µg PTH(1-34)/kg/日である。

療機器総合機構（PMDA）相談（相談受付番号：#P6036、議事録日付：令和 2 年 9 月 17 日、薬機審長発第 0917004 号）の結果、げっ歯類のがん原性試験を実施しないことについて受け入れ可能との回答を得ている。さらに、補充療法として意図されたパロペグテリパラチドの臨床使用は、PTH の全身曝露を生理的濃度範囲内で持続させるものであり、副甲状腺機能低下症の患者に対して、一般的なヒト集団での発がんリスクを上回るものではないと判断した。

2.6.6.6 生殖発生毒性試験（用量設定試験及びトキシコキネティクス評価を含む）

パロペグテリパラチドの生殖発生毒性試験はラット［Crl:CD(SD)］及びウサギ［Crl:KBL(NZW)］を用い、ICH S5(R2)又は(R3)に準拠して実施した。

実施した試験一覧を表 2.6.6-1 に示す。生殖リスク評価並びに FDA（FDA Reference ID: 4994119）、BfArM（BfArM Reference ID:63-3320）及び FAMHP（FAMHP/H/CPR/IIIa/NR/15/06/2020/366）からの助言に基づき、EU 及び米国での販売承認申請時には出生前後試験を実施しなかったが、その後、PMDA からの要請により試験を実施した。

パロペグテリパラチドの生殖発生毒性を評価するため、げっ歯類としてはラットを選択し、胚・胎児発生試験におけるげっ歯類以外の動物種としてはウサギを選択した。生殖発生毒性試験での評価項目には、死亡及び瀕死、一般状態、体重、摂餌量、雌の卵巣及び子宮内検査、肉眼的病理検査並びに PD マーカー（血清カルシウム濃度及び試験によっては血清リン濃度）が含まれている。遊離 PTH 又は総 PTH について、TK 評価又は曝露証明をすべての生殖発生毒性試験で実施した。［2.6.4.3.4 項］。免疫原性及び抗 PTH 抗体については、ウサギでのみ評価した（2.6.4 項、［表 2.6.4-5］）。

2.6.6.6.1 受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.6.6.1.1 ラットにおける受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

雄ラットを用いた受胎能試験（試験番号 9001130）及び雌ラットを用いた受胎能試験（試験番号 9000921）では、雌雄ラットにパロペグテリパラチドの 0、2、6 及び 20 µg PTH(1-34)/kg/日を連日、皮下投与した。雄には交配前 28 日間、交配期間中及び交配期間終了後 3 週間（合計 63～66 日間の投与）、雌には交配前 14 日間、交配期間中及び妊娠 7 日までパロペグテリパラチドを投与し、雄は投与 10 週に、雌は妊娠 13 日に剖検した。受胎能試験では 2.6.6.6 項に記載した評価項目に加え、交尾能、受胎能、雄の生殖器系臓器重量及び精子検査並びに交配前における雌の性周期を評価し、総 PTH の曝露評価を実施した。

20 µg PTH(1-34)/kg/日群の雄及び雌は、血清カルシウム濃度の増加（投与 4 日の血清カルシウム濃度が対照群と比較して 20.1%及び 13.8%）及び一過性の体重変化（雄では投与-1～3 日の体重増加量が対照群の 17.6 g に対して 11.5 g、雌では投与 4 及び 8 日の体重が対照群と比較して-4.8%及び-4.9%）を示したが、摂餌量に投与の影響は認められなかった。体重に対する一過性の変化が観察された後、雄及び雌では投与 7～10 日及び投与 8～11 日の体重増加量が代償的に増加した。血清カルシウム濃度及び体重に対する同様の影響は、雄の 6 µg PTH(1-34)/kg/日群で軽度ながら観察された。受胎能試験で認められたパロペグテリパラチド投与によるこれらの変化はいずれも毒性

学的には意義のない変化であると考えられた。また、雄の精子への影響も含め、雌雄の受胎能及び初期胚発生に対する影響は認められなかった。

以上の結果から、親動物の一般毒性及び受胎能に対する NOAEL 並びに初期胚発生に対する無影響量（NOEL）はいずれも 20 µg PTH(1-34)/kg/日と判断した。最大推奨臨床用量[注7)]で推定される全身曝露と比較した場合、受胎能試験の NOAEL 及び NOEL における定常状態での曝露（$AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max}）は遊離 PTH が 3.7 及び 8.9 倍、総 PTH が 3.9 及び 7.4 倍であった。また、受胎能試験における mPEGーリンカーの推定曝露と、最大推奨臨床用量における mPEGーリンカーの推定曝露の比を以下に示した（表 2.6.6-6）。

注7) 副甲状腺機能低下症の患者に対する最大推奨臨床用量［60 µg PTH(1-34)/日］における定常状態の曝露は、健康被験者及び成人副甲状腺機能低下症被験者の第 I、II 及び III 相の臨床試験データに基づいて作成した母集団 PK モデルを使用して予測した［2.6.4.3.4.3 項］。

表 2.6.6-6　ラットにおける受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験（試験番号 9000921 及び 9001130）における無毒性量（NOAEL）での mPEGーリンカーの Cmax 及び AUC と、最大臨床推奨用量における mPEGーリンカーの推定 Cmax 及び推定 AUC の比較

Species	Dose	$AUC_{0\text{-}24h}$ (h*ng/mL)	C_{max} (ng/mL)	Exposure Ratio to MRHD	
				AUC	C_{max}
NOAEL for parental toxicity and NOEL for early embryonic development (Study No. 9000921)					
Rats (F)[a]	20 µg PTH(1-34)/kg	123000	6250	4.9	6.0
NOAEL for parental toxicity and NOEL for early embryonic development (Study No. 9001130)					
Rats (M)[a]	20 µg PTH(1-34)/kg	86000	3830	3.4	3.6
MRHD					
Humans[c]	60 µg PTH(1-34)	25100	1050	-	-

Assumed that the exposures of mPEG and mPEG-linker were the same
a　20 µg PTH(1-34)/kg/day exposure was calculated using linear extrapolation from the 30 µg PTH(1-34)/kg/day exposure of mPEG (6700371)
b　Exposure of mPEG based on the simulation using the population PK model (Table 13 in [redacted])
$AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the curve from 0 to 24 h; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; M = male; MRHD =maximum recommended human dose; NOAEL = no observed adverse effect level; NOEL = No observed effect level; PK = Pharmacokinetic(s)

2.6.6.6.2　　胚・胎児発生に関する試験

ラット及びウサギを用いた胚･胎児発生試験として、用量設定試験（ラット：試験番号[redacted]、ウサギ：試験番号[redacted]）及び GLP 適用試験（ラット：試験番号 9000923、試験番号ウサギ：9000925）を実施し、パロペグテリパラチドの胚・胎児発生に及ぼす影響を評価した。胚・胎児発生試験では 2.6.6.6 項に記載した評価項目に加え、胎児体重の測定並びに胎児の外表、内臓及び骨格検査を実施した。総 PTH 及び遊離 PTH の TK 評価は、総 PTH の曝露証明のみを行ったラットを用いた GLP 適用の胚・胎児発生試験を除いたすべての胚・胎児発生試験で実施した［2.6.4.3.4 項］。免疫原性及び抗 PTH 抗体の評価は、ウサギを用いた GLP 適用の胚・胎児発生試験のみで実施した。

2.6.6.6.2.1　　ラットにおける胚・胎児発生に関する試験

GLP 適用の胚・胎児発生試験では、妊娠ラットにパロペグテリパラチドの 0、2、8 及び 30 µg PTH(1-34)/kg/日を妊娠 6～17 日に連日、皮下投与し、妊娠 21 日に剖検した。

30 µg PTH(1-34)/kg/日群では、摂餌量の減少（妊娠 6～12 日の摂餌量が対照群と比較して 24～29%減少）に伴い、体重増加量が妊娠 6～9 日に対照群の 17 g に対して-10 g、妊娠 6～12 日に対照群の 35.1 g に対して 4.2 g と低値を示し、血清カルシウム濃度は妊娠 9 日に対照群と比較して 18.5%増加した。さらに、30 µg PTH(1-34)/kg/日群では、数例の妊娠ラットに脱水様の症状や円背位といった一般状態の変化が一過性に認められた。30 µg PTH(1-34)/kg/日群における一般状態、体重及び摂餌量の変化は血清カルシウム濃度の増加と相関し、パロペグテリパラチドによる毒性と考えられた。8 µg PTH(1-34)/kg/日群では、体重増加量が妊娠 6～12 日に対照群の 35.1 g に対して

30.2 g と低値を示し、血清カルシウム濃度が対照群と比較して 4.24%増加したが、これらは毒性ではないと判断した。用量設定試験及び GLP 適用の胚・胎児発生試験において、いずれの用量でも母動物の生殖機能に対する影響並びに胚・胎児に対する致死、発育抑制及び催奇形性は認められなかった。

胚・胎児発生試験では、総 PTH への持続的な曝露が認められた。胚・胎児発生試験のための用量設定試験において、妊娠ラットの総 PTH への全身曝露は、4 週間反復投与毒性試験における非妊娠ラットと同等であった［2.6.4.3.4.1 項］。

ラットを用いた GLP 適用の胚・胎児発生試験の結果から、母動物の一般毒性に対する NOAEL は 8 µg PTH(1-34)/kg/日、胚・胎児発生に対する NOEL は 30 µg PTH(1-34)/kg/日と判断した。最大推奨臨床用量[注 7)]で推定される全身曝露と比較した場合、母動物の一般毒性に対する NOAEL における推定曝露（$AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max}）は遊離 PTH が 1.6 及び 3.0 倍、総 PTH が 2.6 及び 2.8 倍であった。また、胚・胎児発生に対する NOEL における推定曝露（$AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max}）は遊離 PTH が 7.9 及び 13.3 倍、総 PTH が 10.1 及び 11.2 倍であった。また、GLP 適用の胚・胎児発生試験における mPEGーリンカーの推定曝露と、最大推奨臨床用量における mPEGーリンカーの推定曝露の比を以下に示した（表 2.6.6-7）。

表 2.6.6-7 ラットにおける胚・胎児発生に関する試験（試験番号 9000923）における無毒性量（NOAEL）での mPEGーリンカーの Cmax 及び AUC と、最大臨床推奨用量における mPEGーリンカーの推定 Cmax 及び推定 AUC の比較

Species	Dose	$AUC_{0\text{-}24h}$ (h*ng/mL)	C_{max} (ng/mL)	Exposure Ratio to MRHD	
				AUC	C_{max}
NOAEL for maternal toxicity (Study No. 9000923)					
Rats (F)[a]	8 µg PTH(1-34)/kg	44200	1980	1.8	1.9
NOEL for early embryonic development (Study No. 900923)					
Rats (F)[b]	30 µg PTH(1-34)/kg	184000	9370	7.3	8.9
MRHD					
Humans[c]	60 µg PTH(1-34)	25100	1050	-	-

Assumed that the exposures of mPEG and mPEG-linker were the same

a 8 µg PTH(1-34)/kg/day exposure was calculated using linear extrapolation from the 10 µg PTH(1-34)/kg/day exposure of mPEG (6700371)

b 30 µg PTH(1-34)/kg/day exposure was based on the exposure of mPEG (6700371)

c Exposure of mPEG based on the simulation using the population PK model (Table 13 in [redacted])

$AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the curve from 0 to 24 h; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; M = male; MRHD =maximum recommended human dose; NOAEL = no observed adverse effect level; NOEL = No observed effect level; PK = Pharmacokinetic(s)

2.6.6.6.2.2 ウサギにおける胚・胎児発生に関する試験

胚・胎児発生試験のための用量設定試験では、妊娠ウサギにパロペグテリパラチドの 0、1、3 及び 10 µg PTH(1-34)/kg/日を妊娠 7～19 日に連日、皮下投与し、妊娠 29 日に剖検した。

10 µg PTH(1-34)/kg/日群では、妊娠 7 日（投与初日）から一般状態の変化（活動性低下、皮膚温低下、脱水様症状、泌尿生殖器周囲の被毛の濡れ及び呼吸異常）、体重減少、摂餌量の減少又は摂餌の廃絶が認められ、妊娠 14 又は 15 日（初回投与後 7～8 日）に投与を中止した。投与を中止した同群の妊娠ウサギでは、血清カルシウム濃度及びリン濃度が増加し、心筋、肺、大動脈、腎臓及び胸腔に軟部組織の石灰化又は壊死といった肉眼的病理変化が認められた。これらの結果から、GLP 適用の胚・胎児発生試験では最高用量を減量し、パロペグテリパラチドの 1、3 及び 6 µg PTH(1-34)/kg/日を妊娠 7～19 日に投与し、妊娠 29 日に剖検した。

GLP 適用の胚・胎児発生試験では、6 µg PTH(1-34)/kg/日群において、摂餌量の減少に伴って妊娠 10-13 日の体重増加量は-0.05 kg、妊娠 7～20 日の体重増加量は対照群の-73%であった。。投与期間終了後、投与初期の体重減少が回復するには至らなかったが、体重増加量は対照群と同程度であった。また、6 µg PTH(1-34)/kg/日群の雌 1 例には妊娠 16～29 日に摂餌量減少及び体重減少に伴う背骨隆起がみられたが、パロペグテリパラチドに関連した肉眼的病理所見は認められなかった。

妊娠 7 日の投与後 12 時間には、用量に依存した血清カルシウム濃度の増加傾向がみられ、6 µg PTH(1-34)/kg/日群での増加はより顕著であり、妊娠 19 日においても増加が継続していた。妊娠29 日における 3 及び 6 µg PTH(1-34)/kg/日群の血清カルシウム濃度は対照群より低値であった。GLP 適用の胚・胎児発生試験では血清リン濃度の測定は実施しなかった。

用量設定試験及び GLP 適用の胚・胎児発生試験において、いずれの用量においても胚・胎児に対する致死、発育抑制及び催奇形性は認められなかった。

本薬を投与したすべての妊娠ウサギにおいて、総 PTH への全身曝露が確認された。遊離 PTH(1-34)への曝露は 1 µg PTH/kg/日群の妊娠 19 日並びに 3 及び 6 µg PTH/kg/日群の妊娠 7 及び 19 日には妊娠ウサギで確認された。

妊娠 19 日には、すべての用量で抗 PTH 抗体が検出された（2.6.4 項、[表 2.6.4-18]）。抗 PTH 抗体が陽性であった雌では、陰性であった同一用量の雌と比較した場合、総 PTH の全身濃度は低下し、遊離 PTH の濃度は上昇した［2.6.4.3.4.2 項］。PD マーカーである血清カルシウム濃度は、6 µg PTH(1-34)/kg/日群の抗体が陽性であった雌では、陰性であった雌と比較して軽度上昇したが、1 及び 3 µg PTH(1-34)/kg/日群では上昇しなかった。抗 PTH 抗体が陽性であった雌と陰性であった雌の母動物の一般毒性及び生殖機能並びに胚・胎児発生に関する結果に違いは認められなかったことから、抗 PTH 抗体は試験の妥当性と結論に影響を及ぼさないと考えられた。

ウサギを用いた GLP 適用の胚・胎児発生試験の結果から、母動物の一般毒性に対する NOAEL は 3 µg PTH(1-34)/kg/日、胚・胎児発生に対する NOEL は 6 µg PTH(1-34)/kg/日と判断した。最大推奨臨床用量[注 7)]で推定される全身曝露と比較した場合、母動物の一般毒性の NOAEL における定常状態での曝露（$AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max}）は遊離 PTH が 2.7 及び 3.2 倍、総 PTH が 2.6 及び 2.7 倍であった。また、胚・胎児発生に対する NOEL における推定曝露（$AUC_{0\text{-}24}$ 及び C_{max}）は遊離 PTH が 6.6～7.6 倍、総 PTH が 5.1 及び 5.4 倍であった［2.6.4.3.4.4 項］。

2.6.6.6.3 出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

GLP 適用の出生前後試験（試験番号 [redacted]）では、パロペグテリパラチドの 0、5、10 及び 20 µg PTH(1-34)/kg を妊娠 6 日～授乳 20/21 日まで連日、皮下投与した。本試験の最高用量の設定に際して、30 µg PTH(1-34)/kg/日の用量は、胚・胎児発生に関する試験（2.6.6.6.2.1 項）の結果から妊娠ラットにおいて忍容性がないと考えられた。

出生前後試験では 2.6.6.6 項に記載した評価項目に加え、母動物（F0）の分娩及び哺育、離乳前の出生児（F1）では同腹児観察、反射及び身体発達、離乳後の出生児（F1）では視覚機能、性成熟、行動及び生殖能を評価した。また、パロペグテリパラチドの曝露証明のための採血を実施した。

妊娠 9 日の投与前には、PTH の薬理作用により、20 µg PTH(1-34)/kg/日群で血清カルシウム濃度がわずかに増加した（対照群と比較して 13.6%の増加）。出生児（F1）では、20 µg PTH(1-34)/kg/日群において受胎率（妊娠動物数／交尾動物数）及び妊娠率（妊娠動物数／同居動物数）が低下し、受胎率については対照群と比較して統計学的な有意差が認められたが、交尾率、性成熟に関するパラメータ、交尾所要日数及び性周期に投与の影響はなかったこと、試験実施施設における背景値の範囲内であることから、毒性とは判断しなかった。

総 PTH の曝露は、妊娠期間中はすべての用量のすべてのサンプルで、授乳期間中はほとんどのサンプルで定量可能であった。遊離 PTH (1-33)及び遊離 PTH (1-34)は、生後 4 日の出生児のプールサンプルにおいて LLOQ 以下であった。なお、一腹のプールサンプルでは遊離 PTH (1-34)の濃

度が 9.02 pg/mL であり、LLOQ の 7.00 pg/mL をわずかに超えていたが、ex vivo でのアーチファクトと考えられた［2.6.4.3.4.3 項］。

以上の結果から、母動物並びに胚・胎児発生及び出生児（F1）の発育に対する NOAEL は、最高用量である 20 µg PTH(1-34)/kg/日と判断した。最大推奨臨床用量[注4)]で推定される全身曝露と比較した場合、NOAEL における遊離 PTH の曝露（C_{max}）は 3.7 倍、総 PTH の曝露（C_{max} 及び AUC）は、それぞれ 7.4 及び 6.8 倍であった。また、GLP 適用の出生前後試験における mPEGーリンカーの推定曝露と、最大推奨臨床用量における mPEGーリンカーの推定曝露の比を以下に示した（表 2.6.6-8）。

表 2.6.6-8　ラットにおける出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（試験番号 [redacted]）における無毒性量（NOAEL）での mPEGーリンカーの Cmax 及び AUC と、最大臨床推奨用量における mPEGーリンカーの推定 Cmax 及び推定 AUC の比較

Species	Dose	$AUC_{0\text{-}24h}$ (h*ng/mL)	C_{max} (ng/mL)	Exposure Ratio to MRHD	
				AUC	C_{max}
NOAEL for maternal toxicity (Study No. [redacted])					
Rats (F)[a]	20 µg PTH(1-34)/kg	123000	6250	4.9	6.0
MRHD					
Humans[c]	60 µg PTH(1-34)	25100	1050	-	-

Assumed that the exposures of mPEG and mPEG-linker were the same
a　20 µg PTH(1-34)/kg/day exposure was calculated using linear extrapolation from the 30 µg PTH(1-34)/kg/day exposure of mPEG (6700371)
b　Exposure of mPEG based on the simulation using the population PK model (Table 13 in [redacted])
$AUC_{0\text{-}24h}$ = area under the curve from 0 to 24 h; C_{max} = maximum observed concentration; F = female; M = male; MRHD =maximum recommended human dose; NOAEL = no observed adverse effect level; PK = Pharmacokinetic(s)

2.6.6.6.4　　幼若動物における試験

パロペグテリパラチドは成人を対象とした副甲状腺機能低下症の治療薬として販売承認申請を予定しているため、幼若動物を用いた試験は実施していない。

2.6.6.6.5　　生殖発生毒性試験の要約

生殖発生毒性の評価において、受胎能試験、胚・胎児発生試験並びに出生前後試験ではパロペグテリパラチドの影響は認められなかった。さらに、ラット（2.6.6.3.1 項）及びカニクイザル（2.6.6.3.2 項）を用いた反復投与毒性試験では、パロペグテリパラチドに関連する生殖器官の病理組織学的所見は観察されず、TransCon リンカーの in silico 評価では、生殖発生毒性に関連する警告構造は認められなかった（2.6.6.8.1 項）。

2.6.6.7　　局所刺激性試験

ラット、ウサギ及びサルを用いた反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験において、パロペグテリパラチド及び使用した媒体の皮下投与後における急性及び慢性の局所刺激性を評価した。反復投与毒性試験及び生殖発生試験の概略を表 2.6.6-1 に、媒体の組成を表 2.6.6-に示す。さらに、TransCon リンカーの皮膚刺激性、皮膚感作性及び光毒性を in silico で評価した（2.6.6.8.1 項）。

ラット及びサルを用いた 4 週間反復投与毒性試験では週 1 回、26 週間反復投与毒性試験では少なくとも 7 週間毎に Draize 変法スコアを用いて局所刺激性を評価した。さらに、ラット、ウサギ及びサルを用いた反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験において、一般状態観察の一環として、投与部位の反応を評価した。また、反復投与毒性試験においては投与部位の反応を肉眼的病理検査及び病理組織学的検査でも評価した。

ラット及びサルを用いた 4 及び 26 週間反復投与毒性試験において、投与部位の反応はその発現頻度及び重症度が媒体群及びパロペグテリパラチド投与群で同程度であったことから、媒体又は投与処置と関連するものと考えられ、パロペグテリパラチド投与に関連するものではないと考えられた。ラットにおける投与部位の肉眼的病理所見としては腫脹が認められ、この所見は病理組織学的検査における皮下投与部位又は筋層における亜急性炎症及び軽微から軽度に散見された筋線維変性／壊死と対応するものであった。サルでは、投与部位の反応として、線維化、混合細胞炎症及び病理組織学的検査での出血と関連する肉眼的病理所見として暗色巣が認められた。同様の所見は、本試験に先立って実施した用量設定試験においても認められた。ラット及びウサギの生殖発生毒性試験では、パロペグテリパラチド投与と関連すると考えられる投与部位の反応は認められなかった。

TransCon リンカーの in silico 評価では、皮膚刺激性、皮膚感作性及び光毒性に関連する警告構造は認められなかった。

以上のように、パロペグテリパラチド及び使用した媒体の組成による局所刺激性は、副甲状腺機能低下症の患者におけるパロペグテリパラチドの安全性を十分に支持すると考えられた。

2.6.6.8 その他の毒性試験

2.6.6.8.1 TransCon リンカーの in silico 解析

TransCon リンカーの毒性評価の一環として、mPEG に対する分岐点の有無を含めた TransCon リンカーの 4 つの構造について、包括的な in silico 解析（定量的構造活性相関（QSAR）、[redacted]）を行った。

in silico 評価では、4 つの TransCon リンカー構造（[redacted]）について遺伝毒性／非遺伝毒性発がん性、遺伝毒性、肝毒性、腎毒性、心毒性、生殖発生毒性及び全身毒性の可能性を評価した。光毒性は、発がん性、遺伝毒性及び全身毒性を評価する際に合わせて評価した。in silico 評価は、ICH M7(R1)、ICH S2B 及び遺伝毒性不純物の限度値に関する EMA ガイドライン（EMEA/CHMP/QWP/251344/2006）に従って実施した。また、in silico 評価は、ルールベースのプラットフォームである DEREK Nexus 及び CASE Ultra GT Expert 並びに統計ベースのプラットフォームである CASE Ultra 及び SARAH Nexus の 2 つの QSAR 予測手法を用い、専門家によるレビューを行った。解析の結果、TransCon リンカーの 4 つの構造は、細菌における変異原性について陰性（ICH M7 Class 5）であり、その他の遺伝毒性／非遺伝毒性発がん性、遺伝毒性、肝毒性、腎毒性、心毒性、生殖発生毒性、皮膚刺激性、皮膚感作性及び光毒性を含む全身毒性についても陰性であると結論された。

2.6.6.9 非臨床試験で用いた原薬及び製剤の品質に関する妥当性

2.6.6.9.1 添加物及び製剤

商業生産のための臨床製剤に含まれるすべての添加物（コハク酸、NaOH、マンニトール及び *m*-クレゾール）は、非臨床試験及び臨床試験において商業生産用の臨床製剤に含まれる濃度と同等又はそれ以上の濃度が含まれる製剤を用いて評価されている表 2.6.6-。また、添加物は最大推奨臨床用量における用量あたりの最大添加物含量に基づいて評価した。

さらに、添加物の評価は、FDA の Inactive Ingredient List 及び Generally Recognized as Safe（GRAS）リストの検索、並びに同じ添加物を含む他の医薬品や文献情報との比較に基づいて行った。

表 2.6.6-9　パロペグテリパラチドの媒体組成

Succinic acid (mg/mL)	**Mannitol (mg/mL)**	**Meta-cresol (mg/mL)**	**Non-clinical Use**	**Clinical Use**
1.18	46.0	none	Dose-range-finding studies in rats and monkeys	None
1.18	41.0	3.0	4- and 26-week GLP-compliant toxicity studies in rats and monkeys GLP-compliant FEED and EFD studies in rats Preliminary EFD study in rabbits	Phase 1 clinical trial (CT-103)
1.18	41.7	2.5	GLP-compliant EFD study in rabbits GLP-compliant PPND study in rats	Phase 2 clinical trial (TCP-201) Phase 3 clinical trial (TCP-304) Intended market vehicle ［2.3.P.1］ Description and Composition of the Drug Product)

pH of all vehicle formulations was adjusted to 4.0 with NaOH 1 N solution. DART = developmental and reproductive toxicity; FEED = Fertility and early embryonic development: EFD = Embryo-fetal development; PPND = Pre- and postnatal development; NA = not applicable; NaOH = sodium hydroxide.

コハク酸は、食品及び医薬品において複数の用途で用いられている。この添加物は、”Select Committee on Generally Recognized as Safe Substances（SCOGS；GRAS 物質評価特別委員会）type 1”として GRAS に指定されており、FDA のリストに示された筋肉内投与用及び静脈内投与用の不活性成分で、過去の使用実績として報告されている製剤での最大濃度は、副甲状腺機能低下症の患者にパロペグテリパラチド製剤で用いられる濃度を超えている。

NaOH 及びマンニトールは、GRAS（SCOGS type 1）に指定されている。また、FDA のリストには皮下投与用の添加物として示されており、過去の使用実績として報告されている製剤中の最大含量は、副甲状腺機能低下症の患者にパロペグテリパラチド製剤で用いられる投与量を超えている。

m-クレゾールは、パロペグテリパラチドに含まれる含量以上で皮下投与用の FDA inactive ingredient list に掲載されており、承認済みの非経口医薬品（例：Apidra[64) 65)]）では、パロペグテリパラチドに含まれる以上の含量で使用されている。

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

以上のように、パロペグテリパラチド製剤の添加物はすべて評価され、最大推奨臨床用量における皮下投与において許容できるものと考えられる。

2.6.6.9.2　規格の許容基準及び不純物

パロペグテリパラチドの原薬及び製剤規格の許容基準（3.2.S.4.5 Justification of Specification 及び 3.2.P.5.6 Justification of Specifications）は、非臨床試験において適切に評価されたものと考えられる。

不純物の安全性については、総不純物、高分子量分子種（HMWS）、遊離 PTH(1-34)の総不純物並びに遊離 PTH(1-34)の不純物である[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]及び[redacted]について評価した。

ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験（試験番号 6700386）で使用した原薬バッチ（1068485）及び成人の副甲状腺機能低下症を対象とした臨床試験で使用した製剤バッチ（ASRI011、ASRI012 及び ASRI013）の配合に使用した原薬バッチ（1074269）の不純物プロファイルは、商業生産用のバッチ［3.2.S.3.2 Impurities］及び［3.2.S.4.4 Batch Analyses］と比較し純度及び不純物プロファイルの点で同等であり、商業生産用のバッチの不純物評価において妥当なバッチと考えられた。非臨床試験における不純物評価の妥当性は、主にラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験（試験番号 6700386）の結果に基づいている。

使用期限の許容基準［2.6.7.4 項］に達したパロペグテリパラチドのバッチを最大推奨臨床用量で投与された副甲状腺機能低下症の患者の不純物摂取量と比較し、動物ではこの臨床バッチと同等又はそれ以上の量の不純物が投与されているため、非臨床安全性評価の観点から許容基準は妥当と判断した。

HMWS の主な懸念事項は、免疫原性ポテンシャルが変動する可能性である。ICH S6(R1)及び FDA ガイダンス（2014）[66] に基づくと、ヒトにおける免疫応答の可能性を動物モデルで評価することは困難とされている。ヒトにおけるパロペグテリパラチドの免疫原性は、臨床試験で検討されており、免疫原性を示唆する有害事象は認められていない。詳細は、［2.7.4.4.4 項］の免疫原性の要約に記載した。

プレフィルドペンに充填したパロペグテリパラチド製剤中の不純物として、[redacted]を[redacted]%以下とする許容基準は、全身循環中の遊離 PTH の曝露評価に基づいて妥当と判断された。製剤を皮下投与後のヒトにおける遊離 PTH の全身曝露から、製剤中の[redacted]が[redacted]%以下で管理されていれば、プロドラッグから遊離する遊離 PTH が PK パラメータ（AUC 及びピーク-トラフ比）に影響しないことが示されている。

また、Module 3 には、残留溶媒［3.2.S.3.2 Impurities］及び製剤容器の抽出物及び溶出物［3.2.P.2.4 Container Closure System - Primary Container Closure］の評価とその妥当性に関する記載が含まれている。

以上のように、パロペグテリパラチドの許容・規格基準の策定は妥当であると考えられる。

2.6.6.10 考察及び結論

2.6.6.10.1 カルシウム及びリンの恒常性に対する影響

反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験では、ラット、ウサギ及びサルにおいて用量依存的かつ可逆的な血清カルシウム濃度の増加がみられ、パロペグテリパラチドがカルシウムの恒常性に対して薬理作用を有することが確認された。効力を裏付ける試験［2.6.2.3.4 項］でも、同じ薬理作用が認められたことから、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、従来の治療に依存することなく正常カルシウム値を維持することができると考えられた［2.7.3.3.2.3 項］及び［2.7.3.3.2.5 項］。

ラット及びサルを用いた 4 及び 26 週間反復投与毒性試験では、血清カルシウム濃度が正常範囲内及び正常範囲を超えて上昇したにもかかわらず、尿中カルシウム排泄分画は対照群と同等であった。効力を裏付ける薬理試験［2.6.2.3.4 項］及び［2.6.2.7.1.1 項］では尿中カルシウム排泄量の急性増加が認められ、4 及び 26 週間反復投与毒性試験においても投与 12 日以前に同様の変化が発現していた可能性が考えられるが、4 及び 26 週間反復投与毒性試験では尿サンプリングスケジュール上、検出されなかったと考えられる。しかし、非急性期に尿中カルシウムの増加が認められないことは、腎においてカルシウムの再吸収を増加させる PTH の薬理作用と一致しており、また、消化管におけるカルシウム吸収の減少及び骨へのカルシウム沈着の増加といった、より長期的な代償機序の活性化とも関連している可能性がある。後者の作用は、ラットにパロペグテリパラチドの高用量を投与した後に認められた骨同化作用（骨形成）にも寄与している可能性がある。

PTH の作用に関連して TPTx ラットを用いた PoP 試験［2.6.2.3.4 項］及び［2.6.2.7.1.1 項］においても観察されたように、反復投与毒性試験では、ラット及びサルにおいて、概して用量依存的かつ可逆的な血清リン濃度の低下が認められた。サルでは、血清リン濃度の減少は、尿中リン排泄量の一過性の増加に関連していた。

ラット、ウサギ及びサルにおいて、パロペグテリパラチドの高用量投与時に、顕著又は重篤な高カルシウム血症が発現し、動物の死亡／安楽殺に至った。ラット及びウサギにおける高カルシウム血症は、全身状態の悪化、体重減少及び軟部組織の石灰化をもたらし、石灰化は主に腎臓で認められたが、他の組織でも認められた。同様の所見は、パロペグテリパラチドを投与した TPTx ラットの PoP 試験でも認められた［2.6.2.3.4.3 項］。パロペグテリパラチド投与に関連した軟部組織の石灰化はサルでは認められなかった。高カルシウム血症及びそれに関連した毒性は、正常動物における生理的濃度を超えた PTH の薬理作用の過剰発現によるものと考えられる。これらの結果は、ラットに高用量の PTH(1-34)を投与し続けた後にみられる非臨床所見[17) 18) 52)]及びラット、イヌ及びサルに既承認の 2 つの PTH アナログ製剤を投与した際にみられる所見と一致している[4) 6)]。

毒性学的に意義のある持続性高カルシウム血症及びそれに関連した所見は、パロペグテリパラチドを用いて実施したすべての非臨床試験において用量制限毒性であり、PTH の薬理作用の過剰発現によるものと考えられた。これらの所見が発現する用量は試験した動物種によって異なっていた。ラットの 26 週間反復投与毒性試験における NOAEL は、サルの 26 週間反復投与毒性試験における NOAEL の 20 倍であり、GLP に準拠して実施した胚・胎児発生試験における妊娠ウサギの NOAEL の 3.3 倍であった。ラットが PTH の高カルシウム血症に対して感受性が低い理由の一つとしてラットにおけるカルシトニンの強力な抗カルシウム作用[67)]が考えられる。既承認の 2 つの PTH 製剤[3) 4) 5) 6)]でも同様の動物種差が報告されている。

26 週間反復投与毒性試験において、ラット及びサルにおいて内因性 PTH(1-84)が減少した。これらの変化は、パロペグテリパラチドが誘発した血清カルシウム濃度上昇の結果、副甲状腺における負のフィードバック機構が活性化し、内因性 PTH(1-84)産生が抑制されたことと一致した。パロペグテリパラチドの投与を中止すると内因性 PTH(1-84)の低下が増加に転じることは、この考えを裏付けるものである。

要約すると、パロペグテリパラチドの薬理作用として意図したカルシウム及びリンの恒常性に対する影響は、非臨床毒性試験プログラムで確認された。更に、カルシウム及びリンの恒常性に

対する毒性及びそれに関連した毒性は用量制限毒性であり、持続的かつ生理的な濃度を大きく超えた PTH の曝露による薬理作用の過剰発現によるものと考えられた。パロペグテリパラチドの臨床における使用目的は、低カルシウム血症及び高リン血症の副甲状腺機能低下症患者の血清カルシウム及びリン濃度を正常化することであるため、持続的な高カルシウム血症及びそれに関連した毒性は、目的とする臨床集団の危険因子とはみなされない。したがって、最大推奨臨床用量における遊離 PTH の曝露は、サルにおける NOAEL での曝露を上回ったが、サルにおける毒性試験成績は、補充療法としてパロペグテリパラチドを安全に用いることを裏付けるものと考えられる。

2.6.6.10.2 骨端軟骨（成長板）への作用

ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験で、長骨において、可逆的な骨端軟骨の肥厚及び異形成が認められた。4 週間反復投与毒性試験では、骨端軟骨の肥厚は認められたが、異形成は認められなかった。この所見は、ラットに PTH を 4 週間連続曝露した結果、骨端軟骨が肥厚したとの報告[17]と一致している。主な PTH 受容体である PTH1R が骨端軟骨に存在することから、骨端軟骨への影響は PTH の薬理作用の過剰発現と考えられた[68]。PTH 関連ペプチド（PTHrP）は、アミノ末端ドメインにおいて PTH と構造的に類似しているため、PTH1R に結合して活性化することができ[69]、PTH1R の内因性リガンドと考えられている[70][71]。PTHrP は主に関節周囲の静止細胞で合成され、軟骨細胞の成熟を制御するためにインディアンヘッジホッグ（IHH）と協調して働く[70]。骨端軟骨では、PTHrP は未熟な増殖軟骨細胞の肥大を抑制し、未熟な軟骨細胞が十分に産生されるまで、新しい軟骨細胞が肥大経路を進むのを防ぐように働く[70][72]。しかし、循環 PTH が過剰に高い場合には、PTH が骨端軟骨の PTH1R と相互作用して、局所的に産生される PTHrP の作用を模倣している可能性が高い。このように、PTH は、軟骨細胞と関節周囲の静止細胞との間の距離によって生じる PTHrP の骨膜濃度勾配によって通常発揮される制御なしに、増殖軟骨細胞の数を増加させるように作用する[68]。したがって、パロペグテリパラチドの高用量を投与したラットで認められた骨端軟骨の肥厚は、PTH によって軟骨細胞が増殖状態にあり分化の程度が小さい状態に保持されたことを反映している可能性がある。更に、緊密に結合した PTHrP と IHH のシグナル伝達ループの中断は、早期の骨端軟骨（成長板）閉鎖と関連しており[73]、骨端軟骨の部分的閉塞を含む異形成を説明できる可能性がある。サルの骨端軟骨にはパロペグテリパラチド投与に関連した所見は認められなかった。

要約すると、パロペグテリパラチドによるラットの骨端軟骨の変化は、薬理作用の過剰発現によるもの考えられる。この非臨床所見は、生理的範囲内の PTH 濃度を維持することを目的としてパロペグテリパラチドによる治療を受ける患者には、重要な所見ではないと考えられた。加えて、骨格が成熟した副甲状腺機能低下症の患者では骨端軟骨（成長板）は閉鎖している［ヒトの大腿骨骨端軟骨（成長板）閉鎖の平均年齢は、女性で 15.5 歳、男性で 17.5 歳[74]］。

2.6.6.10.3 mPEG 曝露の非臨床評価及び空胞化の閾値

パロペグテリパラチドの担体として、分岐した 40 kDa（2x20）の mPEG が用いられている。実験動物に高分子量（≥30 kDa）の PEG を非常に高い用量で非経口的に投与すると、脈絡叢上皮細

胞及び様々な臓器のマクロファージにおいて細胞の空胞化が認められる[75]。空胞化は、異物に対する細胞の生理的反応である。従って、PEG を含有する薬物の投与による細胞の空胞化は、毒性学的反応というよりもむしろ、薬物受容体介在性経路による細胞への異物の取り込み又は非特異的飲作用を介した細胞への異物の取り込みに対する適応反応である[76][77][78][79]。複数の非臨床試験のレビュー結果から、PEG による空胞化は細胞及び組織の変性又は機能障害を伴わないことが裏付けられている[14][79][80]。このことは、100 mg 40 kDa PEG/kg/週をラットに 24 週間投与しても全身毒性が発現しないことを示した最近の研究によって強く裏付けられている[81]。

mPEG の長期安全性は、最近発表された長期安定型の PEG 化製品の臨床情報によって裏付けられており、この臨床情報では長期間の PEG 曝露に起因する有害事象は報告されていない。Stidl（2018）[61] が発表した大規模調査では、数十年間使用した PEG 化治療薬又は PEG 添加物において、神経系、腎臓又は肝臓の有害事象も含めて PEG に起因する有害事象は認められなかった。このことは、Zhu（2020）[82] による低又は高分子量の PEG 分子を含む一連の薬剤及び PEG 化されていない同じ薬剤について得られたファーマコビジランス情報を比較した論文でさらに立証されている。この研究の対象期間は 14 年間であり、薬剤の PEG 化によって有害事象が有意に増加することはなかったと結論づけている[82]。

CHMP 安全性作業部会は、脈絡叢上皮細胞における空胞化について用量に基づく閾値を 0.40 µmol PEG/kg/月と定めており、これは 1 日用量として 530 µg PEG（40 kDa）/kg に相当する。脈絡叢上皮細胞の空胞化の用量に基づく閾値は、PEG 化化合物を用いて実施したカニクイザルの反復投与毒性試験から算出されたものである[75]。パロペグテリパラチドのサルを用いた 26 週間反復投与毒性試験の最高用量における mPEG の用量は 9.7 µg mPEG/kg/日であり、空胞化の用量に基づく閾値の 1/55 であった（表 2.6.6-）。

脈絡叢上皮細胞における空胞化について全身曝露に基づく閾値は、カニクイザルに 40 kDa PEG 含有化合物を長期投与後の定常状態の全身曝露として 100,000 ng PEG/mL とされている[83][84]。これに対し、パロペグテリパラチドのサルを用いた 26 週間反復投与毒性試験の最高用量における mPEG の定常状態の全身曝露は C_{max} 値として 528 ng/mL であり全身曝露に基づく閾値の 1/189 であった（表 2.6.6-）。

表 2.6.6-10　ヒト及び動物における mPEG の用量及び曝露、並びに脈絡叢上皮細胞における空胞化発現の用量及び曝露に基づく閾値に対する比

Species	Dose	Corresponding mPEG Dose and Exposure		Ratio to Thresholds	
	µg PTH(1-34)/kg/day	µg mPEG[a]/kg/day	C_{max}, ng/mL	Dose-Based[b]	Exposure-Based[c]
Rats	20[d]	194	11,700	NR	NR
Monkeys	1.0[d]	9.7	528	55	189
Humans	1.2[e]	11.6	1,050[f]	46	95

a　9.7 µg mPEG pr 1 µg PTH(1-34) in palopegteriparatide
b　The CHMP Safety Working Party defined a dose-based threshold for vacuolation in choroid plexus epithelial cells at 0.40 µmol PEG/kg/month corresponding to a daily dose of 530 µg PEG (40 kDa)/kg (CHMP 2012) using an arbitrary body weight of 50 kg as stated in the ICH Q3d(R1)
c　An exposure-based threshold of 100,000 ng PEG/mL at systemic steady state has been established for vacuoles in choroid plexus epithelial cells after chronic administration of 40 kDa PEG-containing compounds in cynomolgus monkeys (BPAC 2017, Baumann 2020)
d　Highest dose in 26-week repeat-dose toxicity studies in rats and monkeys (6700386, 6700387)
e　MRHD of 60 µg PTH(1-34)/day in a 50 kg person
f　Steady state mPEG 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 (Module 2.6.4, Section 3.3.3).
PK = pharmacokinetic(s); NR = not relevant; MRHD = maximum recommended human dose.

パロペグテリパラチドのサルを用いた反復投与毒性試験では、脈絡叢上皮細胞やその他の組織又は臓器に空胞化は認められず、このことは反復投与毒性試験における mPEG の用量及び全身曝露レベルが用量及び全身曝露に基づく閾値より少なくとも 10 倍以上低いことと一致するものである。なお、パロペグテリパラチドのサルを用いた反復投与毒性試験における病理組織学的検査ではヘマトキシリン・エオジン染色で空胞が認められなかったため、mPEG について追加の特殊染色は行わなかった。

パロペグテリパラチドのラットを用いた反復投与毒性試験においても、脈絡叢上皮細胞やその他の組織にパロペグテリパラチド投与に関連した空胞は認められなかった。パロペグテリパラチドのラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験において、mPEG の用量及び全身曝露（C_{max}）は、副甲状腺機能低下症の患者に対する最大推奨臨床用量における mPEG の用量及び定常状態の全身曝露を上回った（表 2.6.6-）。さらに、ラットにおける最長 26 週間の mPEG の曝露期間は、ラットがヒトに比較し 30 倍速い成熟速度を有することを考慮すると、ヒトにおける 15 年間の安全性を裏付けるものである [85) 86)]。

副甲状腺機能低下症患者に対するパロペグテリパラチドの最大推奨臨床用量では、mPEG の用量及び定常状態における推定曝露量はそれぞれ 11.6 µg mPEG/kg/日及び 1050 ng/mL であり、脈絡叢上皮細胞空胞化発現の用量及び全身曝露の閾値のそれぞれ 1/46 及び 1/95 であった（表 2.6.6-表 2.6.6-）。反復投与された多くの薬物と同様に、パロペグテリパラチドから遊離した mPEG は、最大血中濃度又は最大組織濃度に達するまで漸増し、それを超えるとそれ以上の濃度上昇は起こらない。ヒトでは mPEG の全身曝露は投与 8 週頃に定常状態に達し、第 II 相臨床試験（TCP 201）

で投与 84 週までモニターした結果、mPEG レベルは安定して推移し、蓄積性は認められなかった［2.7.2.3.1.5.3 項］。

以上のように、パロペグテリパラチドのラット又はサルの反復投与毒性試験において、mPEG 担体投与に関連すると考えられる空胞化は、脈絡叢上皮細胞やその他の組織・臓器で認められなかった。これは、パロペグテリパラチドのサルの反復投与毒性試験における mPEG の用量及び全身曝露がサルで脈絡叢上皮細胞の空胞化が認められる mPEG の用量及び全身曝露レベルでの閾値以下であることと一致していた。同様に、副甲状腺機能低下症の患者における最大推奨臨床用量での mPEG の用量及び全身曝露レベルは、脈絡叢上皮細胞空胞化発現の閾値を大幅に下回っていたため、パロペグテリパラチドで治療した副甲状腺機能低下症の患者において、mPEG 投与に関連した空胞が形成される可能性は極めて低いと考えられた。

2.6.6.10.4 骨代謝に対する作用

パロペグテリパラチドのラットを用いた反復投与毒性試験では、毒性変化ではない骨代謝の用量依存的な増加が認められた。TPTx ラット及び正常ラットにおける低用量のパロペグテリパラチドは、投与後 4 週間以内の早い段階において骨代謝の増加により正味の骨異化作用（骨吸収）を誘発した。この作用は持続的かつ過剰な濃度の PTH に曝露される副甲状腺機能亢進症患者[87) 88)]や、浸透圧ポンプの皮下埋め込みにより PTH(1-34)を投与した正常ラット及びヒトで認められる所見と一致していた[17) 89) 90)]。一方、正常ラットにおける高用量のパロペグテリパラチドは、骨代謝の増加によって正味の骨同化作用（骨形成）を誘発した。一般的に、生理的濃度を超える PTH の曝露を続けると正味の骨異化作用が生じるが［2.6.2.2 項］、PTH に曝露し続けることによって骨形成が増加するという非臨床試験及び臨床試験の成績も報告されている[17) 18) 52) 53) 54)]。パロペグテリパラチドの骨代謝を増加させる効果は、ラットの正味の骨吸収又は正味の骨形成のいずれかを促進するものであり、PTH の薬理作用の過剰発現での変化と一致する。

雌ラットでは 10 µg PTH(1-34)/kg/日の用量で正味の骨異化作用が認められたのに対し、雄ラットでは正味の骨同化作用が認められたことから、雌ラットは雄ラットよりも骨異化反応を起こしやすいと考えられた。さらに、20 µg PTH(1-34)/kg/日の用量では、雄雌ラットともに正味の骨同化作用が認められ、雄ラットでより顕著であった。これらの結果はこれまでに報告された性差と一致しており、PTH への持続的な曝露は雌の骨異化作用を促進する[10) 11)]。

ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験における 6 週間の回復期間は、ラットにおける骨リモデリングの約 1 サイクルに相当する[91)]。ラットへのパロペグテリパラチド投与期間終了後、20 µg PTH(1-34)/kg/日群で低下した皮質 BMD には回復がみられた。同じ用量において、海綿骨 BMD は、投与期間終了時に比較して回復期間終了時に増加した。回復期間終了時の皮質海綿骨 BMD の増加は、組織形態学的及び病理組織学的検査で観察されたように、多くの前骨芽細胞が投与期間中に生じた過剰な類骨を石灰化する成熟骨形成性骨芽細胞となったことに起因すると考えられる。これは、持続的かつ生理的濃度を大きく超える PTH の曝露は前骨芽細胞の分化を阻止し、PTH の曝露が高い限り、成熟した骨形成骨芽細胞になるのを妨げるという報告と一致している[17) 18) 90) 92)]。この考え方は、ラットを用いた 26 週間反復投与毒性試験における投与期間中の骨形成

マーカーである ALP 及び P1NP の反応によってさらに支持される。ALP が増加する一方で P1NP に変動がみられなかったことは、PTH への持続的な曝露が前駆細胞から骨芽細胞への分化を促進するものの、分化が骨芽細胞前段階（すなわち、未石灰化）に留まったことを示している。

ラットを用いた 4 及び 26 週間反復投与毒性試験では、両試験における 10 µg PTH(1-34)/kg/日群での変化から正味の骨異化作用及び正味の骨同化作用の経時的推移が明らかとなった。雌における正味の骨異化作用は投与 4 週と 26 週で組織形態学的に BV/TV の減少が同程度であったことから、投与開始後 4 週間で生じると考えられた。これは雌で 13/14 週及び 25/26 週に pQCT 値が安定していたことからも支持される。正味の骨異化作用が投与 4 週以降は増強されなかったことから、骨形成と骨吸収のバランスが取れた骨代謝は、初期の正味の骨吸収期後に達成されたと考えられた。骨リモデリングでは骨吸収が骨形成に先行するため、初期段階では骨吸収が支配的である[93]。また、雄における正味の骨同化作用は投与開始後 13/14 週に発現すると考えられた。雄では、投与 13/14 週と 25/26 週の pQCT 値の増加は同程度であったが、組織形態学的に BV/TV の増加は投与 4 週よりも投与 26 週の方が高かった。

ラットの投与 26 週後、20 µg PTH(1-34)/kg/日群で認められた正味の骨同化作用は、骨髄腔の狭小化、脾臓及び肝臓における髄外造血の亢進並びに毒性変化ではない血球数の軽微な減少と関連していた。造血系の変化は、骨髄腔狭小化に対する骨形成の適応反応[21]と考えられ、誘導された貧血に対する代償反応として二次的に造血が亢進する[94]。骨髄の間葉系幹細胞及び造血幹細胞から骨芽細胞及び破骨細胞の発生を促す PTH の直接作用[12][13]も、この貧血誘発性造血亢進に関与している可能性がある。同様の所見は、承認されている 2 つの PTH アナログ[4][6]でも認められた。

サルでは、26 週間反復投与毒性試験の最高用量［1.5/1.0 µg PTH(1-34)/kg/日］で皮質骨 BMD の減少傾向が認められた。骨代謝に関連する他の指標には影響がなかったが、この傾向はパロペグテリパラチド投与後のラットで認められた皮質骨に対する PTH の既知の骨吸収作用[17][87][89]と一致していた。さらに、承認されている 2 つの PTH アナログも、サルの皮質骨における薬理作用が認められている[4][6]。

以上のように、パロペグテリパラチド投与後のラットにおける骨代謝に関する非臨床毒性試験での所見は、正常動物における持続的かつ生理的濃度を大きく超える PTH の曝露により薬理作用が増強されたことによる変化と考えられる。パロペグテリパラチドが目的とする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清カルシウム及びリン濃度を正常化するという臨床使用は、骨代謝を正常化して骨質を改善することが期待される。

2.6.6.10.5 生殖発生毒性に関するリスク評価

生殖発生毒性試験として、ラットを用いた受胎能試験、胚・胎児発生試験及び出生前後試験並びにウサギを用いた胚・胎児発生試験を実施し、パロペグテリパラチド及び自己切断後の生成物による影響を検討した。評価は ICH S5(R3)ガイドラインにおけるステージ A～F を対象とした。

パロペグテリパラチドによる生殖発生毒性は認められなかった。受胎能試験及び胚・胎児発生試験で観察された所見は薬理作用の過剰発現によるものと考えられた。投与期間が短い胚・胎児

発生試験において 30 µg PTH(1-34)/kg/日投与群で高カルシウム血症に関連する重篤な影響が観察されたため、出生前後試験では 20 µg PTH(1-34)/kg/日を最高用量とした。同試験の 20 µg PTH(1-34)/kg/日群では妊娠 9 日に血清カルシウム濃度が増加し、正常動物への PTH 投与で予想される薬理作用が発現した。

結論として、生殖発生毒性試験の試験成績及び市販されている PEG 化製剤または PTH 製剤の情報に基づき、パロペグテリパラチド及び自己切断後の生成物が生殖発生毒性を引き起こすことはないと考えられた。

2.6.6.10.5.1 mPEG に結合した TransCon リンカーの生殖発生毒性に関するリスク評価

mPEG 及び TransCon リンカーの濃度は、ラット及びサルの慢性毒性試験の投与 26 週に定常状態での全身循環中濃度を測定した。mPEG 及び TransCon リンカーのそれぞれの濃度－時間プロファイルはすべての用量において同等であったことから、TransCon リンカーはパロペグテリパラチドの自己切断後も mPEG に結合したままであることが示された。したがって、mPEG に結合した TransCon リンカーの評価は、mPEG の評価に含まれていると考えられる。

mPEG に結合した TransCon リンカーの分子量は 43.3 kDa であること、TransCon リンカーは mPEG に結合したままであることから、胎盤を通過する移動は最小限か全くないと報告されている [95) 96)]。したがって、mPEG に結合した TransCon リンカーが胎盤を通過する可能性は低いと考えられ、このことはパロペグテリパラチドについて実施されたすべての生殖発生毒性試験において生殖発生毒性が認められなかったことからも支持される。

PEG は、バイオ医薬品を修飾するための最もよく知られたポリマーであり、PK、安全性及び有効性を改善するために、多くの承認済み医薬品に広く用いられている [97)]。PEG は生物学的に不活性であることが既知であり、ヒト治療薬の安全な成分として世界の規制当局から承認されており、小児用に用いる製剤の添加物としても長い使用実績がある [62)]。現在承認されている PEG 化製剤の長期臨床安全性は、20 年以上にわたる承認後の臨床使用経験により確立されている。非臨床試験から得られたデータは、幅広い分子量の PEG の良好な安全性プロファイルを示しており、急性又は慢性投与後、主要臓器に PEG に関連した毒性は認められていない [62)]。PEG 分子のサイズ及び構造が異なる可能性はあるものの、その他の 40 kDa の PEG 治療薬のデータが本評価に最も関連があると考えられる。シムジア® [関節リウマチ及びクローン病の治療薬として承認されている PEG 化（40 kDa）抗 TNFα 生物学的製剤] の投与によって 40 kDa PEG に曝露された 1,300 人以上の妊婦において、胎児異常の徴候は認められていない [98) 99) 100) 101)]。臨床用量のシムジアを妊婦に投与した結果、分娩時の妊婦における PEG 血漿中濃度中央値は 30.0 µg/mL であり [99)]、PEG の胎盤移行はごくわずかであった [98)99)]。全妊娠期間を通じて実施されたシムジアの臨床試験の結果は、一般的なヒト集団と比較して催奇形性、胎児死亡及び早産のリスクは増加しないことを示唆している [98) 99) 100)]。さらに、シムジアのラットを用いた出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験では、最大 100 mg/kg を週 2 回投与しても生殖発生毒性は認められなかった [101) 102)]。この用量はシムジアの臨床用量（400 mg を 2 週間隔又は 4 週間隔で投与 [103) 104)] の少なくとも 50 倍である。シムジアの臨床用量での妊婦における PEG の曝露量は、パロペグテリパラチドの最大

推奨臨床用量[注4)]を投与後の定常状態における mPEG の推定平均 C_{max}（1.05 μg/mL）の約 30 倍であった[99)]。

シムジアを投与された授乳中の母親において、PEG の乳汁中への移行は観察されず、乳児における臨床所見は、曝露を受けていない同年齢の乳児と同様であった[100)]。TransCon リンカーは全身循環で mPEG に結合しているので、mPEG に結合した TransCon リンカーは乳汁中に移行しないと考えられる。

以上のことから、パロペグテリパラチドの生殖発生毒性試験並びにシムジアの非臨床及び臨床試験成績から、PEG に結合した TransCon リンカー及び PEG 自体が生殖能並びに胎児及び出生児の発育に影響を及ぼすことはないと考えられる。さらに、胎児が mPEG に結合した TransCon リンカーの胎盤移行により曝露される、あるいは乳児が乳汁を介して曝露される可能性は低いと考えられる。

2.6.6.10.5.2　胎児及び乳児におけるパロペグテリパラチド及びパロペグテリパラチドから遊離される PTH への曝露

パロペグテリパラチド（47.4 kDa）、遊離 PTH［PTH(1-34)（4.1 kDa）及び PTH(1-33)（4.0 kDa）］の分子量から、胎盤移行は最小限又は全くないと予想され[95) 96)]、アカゲザルに投与した PTH は胎盤を通過しなかった[105)]。したがって、パロペグテリパラチド遊離 PTH が胎盤を通過する可能性は低いと考えられる。

Natpara は授乳期のラットの乳汁中に排泄されたが、血漿中より 42 倍低い濃度であった[31) 34)]。Natpara の乳汁／血漿比が小さいこと及びパロペグテリパラチドは生理的レベルの PTH 維持を目的とした補充療法として処方されることを考慮すると、母乳中のパロペグテリパラチド及び遊離 PTH の濃度は非常に低いと予想される。さらに、PTH のバイオアベイラビリティはないか非常に低いため[106) 107)]、遊離 PTH が乳汁中に排泄される可能性はあるものの、乳汁摂取後の乳児への曝露はないか無視できるレベルと考えられる。出生前後試験（試験番号[redacted]）では、授乳中にパロペグテリパラチドを投与された母動物の出生児に投与の影響は観察されなかった。

以上のように、妊娠中及び授乳中のパロペグテリパラチドの投与は、パロペグテリパラチド及び遊離 PTH のいずれについても、胎児又は乳児への曝露は最小限又は全くないと考えられる。

2.6.6.10.5.3　副甲状腺機能亢進症の妊婦における高カルシウム血症と胎児合併症との関連

原発性副甲状腺機能亢進症の妊婦における血中カルシウム濃度と胎児及び新生児合併症の発生率には関連性があることがよく知られている[108) 109) 110) 111) 112)]。合併症の重症度は妊婦の血清カルシウム濃度に比例すると考えられており[111) 113)]、多くの胎児がカルシウム恒常性を維持できずに正期産まで生存できない[108) 113)]。

近年、Qamar（2021）[114)]は妊娠中期（第 17～第 25 週）における妊婦の PTH 値が正常範囲の上位 80 パーセンタイル内であれば、分娩時の胎児の骨格発育障害とは関連がないことを報告している。同報告で血清カルシウム濃度は測定されていないが、副甲状腺機能が正常な妊婦における PTH

濃度と胎児の骨格成長障害との間に関連がないことは、胎児及び新生児の合併症の重症度が妊婦の血清カルシウム濃度の程度に比例することをさらに裏付けるものである。

さらに、持続注入ポンプを用いて rhPTH(1-34)を皮下投与された副甲状腺機能低下症の妊婦 2 人の症例報告では、胎児に異常は認められていない[115) 116)]。

2.6.6.11 結論

非臨床毒性試験では、オフターゲット作用は認められなかった。局所刺激性、遺伝毒性及び生殖発生毒性に関して、パロペグテリパラチド投与に関連する影響は認められなかった。反復投与毒性試験の高用量群並びに受胎能試験及び胚・胎児発生試験の母動物で観察されたパロペグテリパラチド投与に関連する所見は、正常動物が生理的濃度を大きく超える PTH に持続的に曝露されたことによって生じた薬理作用の過剰発現に関連した変化と考えられた。パロペグテリパラチドが、血中 PTH 濃度を正常な生理的範囲で維持することを目的とした補充療法として使用されることを考慮すれば、生理的な PTH 濃度を超えたことによって発現した毒性所見は、副甲状腺機能低下症の患者において臨床的に意味のあるものではない考えられた。

したがって、非臨床毒性学的プログラムは、補充療法としてのパロペグテリパラチドの安全性を十分に支持するものである。

2.6.6.12 図表

関連する各項目の本文中に記載した。

2.6.6.13 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) Natpar EPAR - Public Assessment Report, 2017. accessed 31 October 2024. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/natpar-epar-public-assessment-report_en.pdf

4) Natpara BLA 125511. Approval date: 1/23/2015. accessed 31 October 2024. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2015/125511Orig1s000TOC.cfm

5) Forsteo EPAR – Scientific Discussion, 2005. accessed 31 October 2024. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/forsteo-epar-scientific-discussion_en.pdf

6) Forteo NDA 21-318. Approval date: 11/26/2002. accessed 31 October 2024. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2002/21-318_Forteo.cfm.

7) Iwamoto M, Jikko A, Murakami H, et al. Changes in parathyroid hormone receptors during

chondrocyte cytodifferentiation. J Biol Chem. 1994;269(25):17245-17251.

8）Chen X, Macica CM, Nasiri A, et al. Regulation of articular chondrocyte proliferation and differentiation by indian hedgehog and parathyroid hormone-related protein in mice. Arthritis Rheum. 2008;58(12):3788-3797.

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

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

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

12）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.

13）Fan Y, Hanai JI, Le PT, et al. Parathyroid Hormone Directs Bone Marrow Mesenchymal Cell Fate. Cell Metab. 2017;25(3):661-672.

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

15）Clarke J, Hurst C, Martin P, et al. Duration of chronic toxicity studies for biotechnology-derived pharmaceuticals: is 6 months still appropriate? Regul Toxicol Pharmacol. 2008;50(1):2-22.

16）Evans GO. A Practical handbook for toxicologists and biomedical researchers, second edition, Chapter 6, Fluid Balance, Electrolytes and Mineral Metabolsim. 2009;115-144.

17）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.

18）Lotinun S, Sibonga JD, Turner RT. Evidence that the cells responsible for marrow fibrosis in a rat model for hyperparathyroidism are preosteoblasts. Endocrinology. 2005;146(9):4074-4081.

19）Rutkovskiy A, Stensløkken KO, Vaage IJ. Osteoblast Differentiation at a Glance. Med Sci Monit Basic Res. 2016;22:95-106.

20）Gasser JA, Kneissel, M. Bone physiology and biology. Bone Toxicology. Springer. 2017;2:27-94.

21）Fossey S, Vahle J, Long P, et al. Nonproliferative and proliferative lesions of the rat and ouse skeletal tissues (Bones, Joints, and Teeth). J Toxicol Pathol. 2016;29(3 Suppl):49S-103S.

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

23）Carlson CS, Loeser RF, Jayo MJ, et al. Osteoarthritis in cynomolgus macaques: a primate model of naturally occurring disease. J Orthop Res. 1994;12(3):331-339.

24）Carlson CS, Loeser RF, Purser CB, et al. Osteoarthritis in cynomolgus macaques. III: Effects of

age, gender, and subchondral bone thickness on the severity of disease. J Bone Miner Res. 1996;11(9):1209-1217.

25）Miller LM, Novatt JT, Hamerman D, et al. Alterations in mineral composition observed in osteoarthritic joints of cynomolgus monkeys. Bone. 2004;35(2):498-506.

26）McCoy AM. Animal models of osteoarthritis: comparisons and key considerations. Vet Pathol. 2015;52(5):803-818.

27）Liao S, Qie JK, Xue M, et al. Metabolic stability of human parathyroid hormone peptide hPTH (1-34) in rat tissue homogenates: kinetics and products of proteolytic degradation. Amino Acids. 2010;38(5):1595-1605.

28）Aeschbacher HU, Finot PA, Wolleb U. Interactions of histidine-containing test substances and extraction methods with the Ames mutagenicity test. Mutation Research – Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. 1983;113(2):103-116.

29）Gatehouse D. Critical features of bacterial mutation assays. Mutagenesis. 1987;2(5):397-409.

30）Thompson C, Morley P, Kirkland D, et al. Modified bacterial mutation test procedures for evaluation of peptides and amino acid-containing material. Mutagenesis. 2005;20(5):345-350.

31）Natpara USPI (recent major change 2018, accessed 31 October 2024). https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2020/125511s020lbl.pdf

32）Forteo USPI (recent major change 2020, accessed 31 October 2024). https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2020/021318s054lbl.pdf

33）Forsteo SmPC (latest renewal 2013, accessed 31 October 2024). https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/forsteo-epar-product-information_en.pdf

34）Natpar SmPC (latest renewal 2021, accessed 31 October 2024). https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/natpar-epar-product-information_en.pdf

35）Jolette J, Wilker CE, Smith SY, et al. Defining a noncarcinogenic dose of recombinant human parathyroid hormone 1-84 in a 2-year study in Fischer 344 rats. Toxicol Pathol. 2006;34(7):929-940.

36）Vahle JL, Sato M, Long GG, et al. Skeletal changes in rats given daily subcutaneous injections of recombinant human parathyroid hormone (1-34) for 2 years and relevance to human safety. Toxicol Pathol. 2002;30(3):312-321.

37）Vahle JL, Long GG, Sandusky G, et al. Bone neoplasms in F344 rats given teriparatide [rhPTH(1-34)] are dependent on duration of treatment and dose. Toxicol Pathol. 2004;32(4):426-438.

38）Tashjian AH Jr, Chabner BA. Commentary on clinical safety of recombinant human parathyroid hormone 1-34 in the treatment of osteoporosis in men and postmenopausal women. J Bone Miner Res. 2002;17(7):1151-1161.

39）Tashjian AH Jr, Goltzman D. On the interpretation of rat carcinogenicity studies for human PTH(1-34) and human PTH(1-84). J Bone Miner Res. 2008;23(6):803-811.

40）Jerome CP, Burr DB, Van Bibber T, et al. Treatment with human parathyroid hormone (1-34) for 18 months increases cancellous bone volume and improves trabecular architecture in ovariectomized cynomolgus monkeys (Macaca fascicularis). Bone. 2001;28(2):150-159.

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

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

43）Fox J, Miller MA, Newman MK, et al. Treatment of skeletally mature ovariectomized rhesus monkeys with PTH(1-84) for 16 months increases bone formation and density and improves trabecular architecture and biomechanical properties at the lumbar spine. J Bone Miner Res. 2007;22(2):260-273.

44）Vahle J, Zuehlke U, Schmidt A et al. Lack of bone neoplasms and persistence of bone efficacy in cynomolgus macaques after long-term treatment with teriparatide [rhPTH(1-34)]. J Bone Miner Res. 2008;23(12): 2033-2039.

45）Andrews EB, Gilsenan AW, Midkiff K, et al. The US postmarketing surveillance study of adult osteosarcoma and teriparatide: study design and findings from the first 7 years. J Bone Miner Res. 2012;27(12):2429-2437.

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

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

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

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

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

51）Forteo Patient Registry 2015. Accessed 15 May 2022. https://www.rtihs.org/publications/long-term-cancer-surveillance-five-year-update-Forteo-patient-registry-surveillance

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

53）Parisien M, Cosman F, Mellish RW, et al. Bone structure in postmenopausal hyperparathyroid, osteoporotic, and normal women. J Bone Miner Res. 1995;10(9):1393-1399.

54）Vogel M, Hahn M, Delling G. Trabecular bone structure in patients with primary hyperparathyroidism. Virchows Arch. 1995;426(2):127-134.

55）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.

56）Frolik CA, Black EC, Cain RL, et al. Anabolic and catabolic bone effects of human parathyroid hormone (1-34) are predicted by duration of hormone exposure. Bone. 2003;33(3):372-379.

57）Li JY, Walker LD, Tyagi AM, 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.

58）Morimoto A, Kikuta J, Nishikawa K, et al. SLPI is a critical mediator that controls PTH-induced bone formation. Nat Commun. 2021;12(1):2136.

59）Moonga BS, Moss DW, Patchell A, et al. Intracellular regulation of enzyme secretion from rat osteoclasts and evidence for a functional role in bone resorption. J Physiol. 1990;429:29-45.

60）Feng Y, Zhou M, Zhang Q, et al. Synergistic effects of high dietary calcium and exogenous parathyroid hormone in promoting osteoblastic bone formation in mice. Br J Nutr. 2015;113(6):909-922.

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

62）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.

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

64）Apidra SmPC (latest renewal 2009, accessed 31 October 2024). https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/apidra-epar-product-information_en.pdf

65）Apidra USPI (recent major change 2022, accessed 31 October 2024). https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2022/021629s042lbl.pdf

66）FDA Guidance on Immunogenicity Assessment for Therapeutic Protein Products. CDER/CBER. FDA-2013-D-0092. August 2014. https://www.fda.gov/media/85017/download

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

68）Kozhemyakina E, Lassar AB, Zelzer E. A pathway to bone: signaling molecules and transcription factors involved in chondrocyte development and maturation. Development. 2015;142(5):817-831.

69）Jüppner H, Abou-Samra AB, Freeman M, et al. A G protein-linked receptor for parathyroid

hormone and parathyroid hormone-related peptide. Science. 1991;254(5034):1024-1026.

70）Karp S, Schipani E, St-Jacques B, et al. Indian Hedgehog coordinates endochondral bone growth and morphogenesis via Parathyroid Hormone related-Protein-dependent and -independent pathways. Development 2000;127(3):543-548.

71）Miao D, Li J, Xue Y, et al. Parathyroid hormone-related peptide is required for increased trabecular bone volume in parathyroid hormone-null mice. Endocrinology. 2004;145(8):3554-3562.

72）Vortkamp A, Lee K, Lanske B, et al. Regulation of rate of cartilage differentiation by Indian hedgehog and PTH-related protein. Science. 1996;273(5275):613-622.

73）Koyama E, Mundy C, Saunders, et al. Premature growth plate closure caused by a Hedgehog cancer drug is preventable by co-administration of a retinoid antagonist in mice. J Bone Min Res 2021,36(7):1387-1402.

74）Kilborn SH, Trudel G, Uhthoff H. Review of growth plate closure compared with age at sexual maturity and lifespan in laboratory animals. Contemp Top Lab Anim Sci. 2002;41(5):21-26.

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

76）Conover C, Lejeune L, Linberg R, et al. Transitional vacuole formation following a bolus infusion of PEG-hemoglobin in the rat. Artif Cells Blood Substit Immobil Biotechnol. 1996;24(6):599-611.

77）Bendele A, Seely J, Richey C, et al. Short communication: renal tubular vacuolation in animals treated with polyethylene-glycol-conjugated proteins. Toxicol Sci. 1998;42:152-157.

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

79）Rudmann D, Alston J, Hanson J, et al. High molecular weight polyethylene glycol cellular distribution and PEG-associated cytoplasmic vacuolation is molecular weight dependent and does not require conjugation to proteins. Toxicol Pathol. 2013; 41(7):970-983.

80）Irizarry Rovira AR, Bennet BM, Bolon B, et al. Scientific and Regulatory Policy Committee Points to Consider: Histopathologic Evaluation in Safety Assessment Studies for PEGylated Pharmaceutical Products. Toxicol Pathol. 2018;46(6):616-635.

81）Fang JL, Vanlandingham MM, Beland FA, et al. Toxicity of high-molecular-weight polyethylene glycols in Sprague Dawley rats. Toxicol Lett. 2022;359:22-30.

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

83）BPAC Briefing Document. BLA 125611 Coagulation Factor IX (Recombinant), GlycoPEGylated N9-GPN9-GP. FDA Blood Products Advisory Committee. April 4, 2017.

84）Baumann A. PEGylated biologics in haemophilia treatment: Current understanding of their long-

term safety. Haemophilia. 2020;26(1):e11-e13.

85）Andreollo NA, Santos EF, Araújo MR, et al. Rat's age versus human's age: what is the relationship? ABCD Arq Bras Cir Dig. 2012;25(1):49-51.

86）Sengupta P. The laboratory rat: relating its age with human's. Int J Prev Med. 2013;4(6):624-630.

87）Khan A, Bilezikian J. Primary hyperparathyroidism: pathophysiology and impact on bone. CMAJ. 2000;163(2):184-187.

88）Silva BC, Costa AG, Cusano NE, et al. Catabolic and anabolic actions of parathyroid hormone on the skeleton. J Endocrinol Invest. 2011;34(10):801-810.

89）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.

90）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.

91）Baron R, Tross R, Vignery A. Evidence of sequential remodeling in rat trabecular bone: Morphology, dynamic histomorphometry, and changes during skeletal maturation. Anat Rec.1984; 208(1):137–145.

92）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.

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

94）Jolette J, Attalla B, Varela A, et al. Comparing the incidence of bone tumors in rats chronically exposed to the selective PTH type 1 receptor agonist abaloparatide or PTH(1-34). Regul Toxicol Pharmacol. 2017;86:356-365.

95）Syme MR, Paxton JW, Keelan JA. Drug transfer and metabolism by the human placenta. Clin Pharmacokinet. 2004;43(8):487-514.

96）Martin PL, Breslin W, Rocca M, et al. Considerations in assessing the developmental and reproductive toxicity potential of biopharmaceuticals. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2009;86(3):176-203.

97）Harris JM, Chess RB. Effect of pegylation on pharmaceuticals. Nat Rev Drug Discov. 2003;2(3):214-221.

98）Mahadevan U, Wolf DC, Dubinsky M, et al. Placental transfer of anti-tumor necrosis factor agents in pregnant patients with inflammatory bowel disease. Clin Gastroenterol Hepatol. 2013;11(3):286-292.

99）Mariette X, Förger F, Abraham B, et al. Lack of placental transfer of certolizumab pegol during pregnancy: results from CRIB, a prospective, postmarketing, pharmacokinetic study. Ann Rheum Dis. 2018;77(2):228-233.

100）Clowse MEB, Scheuerle AE, Chambers C, et al. Pregnancy Outcomes After Exposure to Certolizumab Pegol: Updated Results From a Pharmacovigilance Safety Database. Arthritis Rheumatol. 2018;70(9):1399-1407.

101）Cimzia SmPC (latest renewal 2023, accessed 31 October 2024). https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/cimzia-epar-product-information_en.pdf

102）Cimzia BLA 125160. Center for Drug Evaluation and Research, Food & Drug Administration. Approved 04-22-2008. accessed 31 October 2024. https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2008/125160s000TOC2.cfm

103）Cimzia EPAR - Public Assessment Report, 2009. accessed 31 October 2024. https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/cimzia-epar-public-assessment-report_en.pdf

104）Cimzia USPI (2008, accessed 31 October 2024). https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2008/125160s000lbl.pdf

105）Northrop G, Misenhimer HR, Becker FO. Failure of parathyroid hormone to cross the nonhuman primate placenta. Am J Obstet Gynecol. 1977;129(4):449-453.

106）Leone-Bay A, Sato M, Paton D, et al. Oral Delivery of Biologically Active Parathyroid Hormone. Pharm Res. 2001;18:964-970.

107）Hwang SR, Seo DH, Byun Y, et. al. Preparation and in vivo evaluation of an orally available enteric-microencapsulated parathyroid hormone (1-34)-deoxycholic acid nanocomplex. Int J Nanomedicine. 2016;11:4231-4246.

108）Krysiak R, Wilk M, Okopien B. Recurrent pancreatitis induced by hyperparathyroidism in pregnancy. Arch Gynecol Obstet. 2011;284:531-534.

109）Kovacs CS. Bone development and mineral homeostasis in the fetus and neonate: roles of the calciotropic and phosphotropic hormones. Physiol Rev. 2014;94(4):1143-1218.

110）Dochez V, Ducarme G. Primary hyperparathyroidism during pregnancy. Arch Gynecol Obstet. 2015;291:259-263.

111）McCarthy A, Howarth S, Khoo S, et al. Management of primary hyperparathyroidism in pregnancy: a case series. Endocrinol Diabetes Metab Case Rep. 2019;2019:19-0039.

112）Ali DS, Dandurand K, Khan AA. Primary Hyperparathyroidism in Pregnancy: Literature Review of the Diagnosis and Management. J Clin Med. 2021;10(13):2956.

113）Norman J, Politz D, Politz L. Hyperparathyroidism during pregnancy and the effect of rising calcium on pregnancy loss: a call for earlier intervention. Clin Endocrinol (Oxf). 2009;71(1):104-109.

114）Qamar H, Perumal N, Papp E, et al. Higher maternal parathyroid hormone concentration at delivery is not associated with smaller newborn size. Endocr Connect. 2021;10(3):345-357.

115）Ilany J, Vered I, Cohen O. The effect of continuous subcutaneous recombinantPTH(1-34) infusion during pregnancy on calcium homeostasis - a case report. Gynecol Endocrinol.

2013;29(9):807-810.

116）Shulman D. Subcutaneous infusion of rhPTH1-34 during pregnancy and nursing in a woman with autosomal dominant hypoparathyroidism 1. J Endocr Soc. 2022;6(5):bvac031.

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

2.6.7　毒性試験概要表

帝人ファーマ株式会社

目次

2.6.7 毒性試験概要表 3
2.6.7.1 毒性試験：毒性試験の一覧 3
2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表 6
2.6.7.3 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧表 8
2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧 13
2.6.7.5 単回投与毒性試験 14
2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験 15
2.6.7.7 反復投与毒性試験：重要な試験 19
2.6.7.7.1 ラット 4 週間反復投与毒性試験 19
2.6.7.7.2 ラット 26 週間反復投与毒性試験 34
2.6.7.7.3 サル 4 週間反復投与毒性試験 50
2.6.7.7.4 サル 26 週間反復投与毒性試験 56
2.6.7.8 in vitro 遺伝毒性試験 62
2.6.7.8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 62
2.6.7.8.2 哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験 64
2.6.7.9 in vivo 遺伝毒性試験 66
2.6.7.10 がん原性試験 68
2.6.7.11 生殖発生毒性試験：重要な試験以外の試験 69
2.6.7.12 生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 71
2.6.7.12.1 雌ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 71
2.6.7.12.2 雄ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験 74
2.6.7.13 生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験 78
2.6.7.13.1 ラット胚・胎児発生に関する試験 78
2.6.7.13.2 ウサギ胚・胎児発生に関する試験 81
2.6.7.14 生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 84
2.6.7.14.1 ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験 84
2.6.7.15 幼若動物を用いた試験 89
2.6.7.16 局所刺激性試験 90
2.6.7.17 その他の毒性試験 91

2.6.7　毒性試験概要表

2.6.7.1　毒性試験：毒性試験の一覧

Overview						Test Article: TransCon PTH[a]	
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Doses [b] [µg PTH(1-34)/kg]**	**GLP Compliance**	**Testing Facility**	**Study Number**
Single-Dose Toxicity Studies - No studies performed							
Repeat-Dose Toxicity Studies							
4-week dose-range-finding toxicity	Sprague Dawley rats (Crl:CD(SD))	Daily SC	7 days in escalating dose phase 4 weeks in repeat-dose phase	10, 30, 60 and 120 in escalating-dose phase 10 and 30 in repeat-dose phase	No	[redacted]	[redacted]
4-week repeat-dose toxicity with 2 weeks recovery	Sprague Dawley rats (Crl:CD(SD))	Daily SC	4 weeks	0, 10, 30 and 60	Yes	[redacted]	[6700371]
26-week repeat-dose toxicity with 6 weeks recovery	Sprague Dawley rats (Crl:CD(SD))	Daily SC	26 weeks	0, 2, 5, 10 and 20	Yes	[redacted]	[6700386]
4-week dose-range-finding toxicity	Cynomolgus mauritius monkeys (*Macaca fascicularis*)	Daily SC	Up to 4 weeks	0.2, 0.5, 1 and 2/1.5	No	[redacted]	[redacted]
4-week repeat-dose toxicity with 2 weeks recovery	Cynomolgus mauritius monkeys (*Macaca fascicularis*)	Daily SC	4 weeks	0, 0.2, 0.5 and 1.5	Yes	[redacted]	[6700372]
26-week repeat-dose toxicity with 13 weeks recovery	Cynomolgus mauritius monkeys (*Macaca fascicularis*)	Daily SC	26 weeks	0, 0.2, 0.5 and 1.5/1.0	Yes	[redacted]	[6700387]

Overview							Test Article: TransCon PTH[a]
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Doses [b] [µg PTH(1-34)/kg]**	**GLP Compliance**	**Testing Facility**	**Study Number**
Genotoxicity Studies							
Bacterial reverse mutation assay[c]	Salmonella typhimurium and E. coli tester strains	NA	NA	0, 1.58 - 5000 µg TransCon PTH[b]/plate[d]	Yes	[redacted]	[9601550]
Mammalian chromosome aberration assay[c]	Human peripheral blood lymphocytes	NA	NA	0, 0.98 - 500 µg TransCon PTH[a]/mL[d]	Yes	[redacted]	[9601551]
Bone marrow micronucleus evaluation	Sprague Dawley rats (Crl:CD(SD))	Daily SC	4 weeks	0, 10, 30 and 60	Yes	[redacted]	[6700371]
Carcinogenicity Studies - No studies performed							
DART Studies							
Female fertility and early embryonic development	Sprague Dawley rats (Crl:CD(SD))	Daily SC	At least 21 days	0, 2, 6 and 20	Yes	[redacted]	[9000921]
Male fertility and early embryonic development	Sprague Dawley rats (Crl:CD(SD))	Daily SC	63 to 66 days	0, 2, 6 and 20	Yes	[redacted]	[9001130]
Embryo-fetal development (preliminary assessment)	Sprague Dawley rats (Crl:CD(SD))	Daily SC	12 days	0, 2, 10 and 30	No	[redacted]	[redacted]
Embryo-fetal development	Sprague Dawley rats (Crl:CD(SD))	Daily SC	12 days	0, 2, 8 and 30	Yes	[redacted]	[9000923]
Embryo-fetal development (preliminary assessment)	New Zealand White rabbits (Crl:KBL(NZW))	Daily SC	13 days	Non-pregnant: 0, 1, 5, 10 and 20 Pregnant: 0, 1, 3 and 10	No	[redacted]	[redacted]

Overview						Test Article: TransCon PTH[a]	
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Duration of Dosing**	**Doses [b] [µg PTH(1-34)/kg]**	**GLP Compliance**	**Testing Facility**	**Study Number**
Embryo-fetal development	New Zealand White rabbits (Crl:KBL(NZW))	Daily SC	13 days	0, 1, 3 and 6	Yes	[redacted]	[9000925]
Pre- and postnatal development	Sprague Dawley rats (Crl:CD(SD))	Daily SC	GD 6 to LD 20	0, 5, 10 and 20	Yes	[redacted]	[redacted]
Local Tolerance - Assessed as part of repeat-dose toxicity and in DART studies							
Other Toxicity Studies							
In silico analysis (QSAR) of TransCon Linker	NA	NA	NA	NA	No	[redacted], US	[redacted]

a TransCon PTH is an internal developmental name for palopegteriparatide.

b For Repeat-Dose Toxicity, the highest NOAEL (No Observed Adverse-Effect Level) is underlined.

c Conducted with TransCon PTHa after in vitro incubation at physiological conditions.

d Dose level expressed as TransCon PTH[a] drug substance prior to incubation.

CA = Canada; [redacted] DART = developmental and reproductive toxicity; GLP= good laboratory practice; LLC = limited liability company; NA = not applicable; PTH = parathyroid hormone; SC = subcutaneous; QSAR = quantitative structure-activity relationship; ULC = unlimited liability company; US = United States of America.

2.6.7.2 トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験の一覧表

Overview of Toxicokinetic Studies				Test Article: TransCon PTH[a]	
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Doses [µg PTH(1-34)/kg]**	**GLP Compliance**	**Study Number**
Dose range repeat-dose toxicity	Sprague Dawley rats (Crl:CD(SD))	Daily SC	10, 30, 60 and 120	No	[redacted]
4-week repeat-dose toxicity with 2 weeks recovery	Sprague Dawley Rat (Crl:CD(SD))	Daily SC	0, 10, 30 and 60	Yes	[6700371]
26-week repeat-dose toxicity with 6 weeks recovery	Sprague Dawley Rat (Crl:CD(SD))	Daily SC	0, 2, 5, 10 and 20	Yes	[6700386]
Dose range repeat-dose toxicity	Cynomolgus mauritius monkey (*Macaca fascicularis*)	Daily SC	0.2, 0.5, 1.0 and 2.0/1.5	No	[redacted]
4-week repeat-dose toxicity with 2 weeks recovery	Cynomolgus mauritius monkey (*Macaca fascicularis*)	Daily SC	0, 0.2, 0.5 and 1.5	Yes	[6700372]
26-week repeat-dose toxicity with 13 weeks recovery	Cynomolgus mauritius monkey (*Macaca fascicularis*)	Daily SC	0, 0.2, 0.5 and 1.5/1.0	Yes	[6700387]
Fertility and early embryonic development [b]	Sprague Dawley Rat (Crl:CD(SD))	Daily SC	0, 2, 6 and 20	Yes	[9000921 (Female)] [9001130 (Male)]
Embryo-fetal development (preliminary assessment)	Sprague Dawley Rat (Crl:CD(SD))	Daily SC	0, 2, 10 and 30	No	[redacted]
Embryo-fetal development (preliminary assessment) and repeat-dose toxicity	New Zealand White rabbits (Crl:KBL(NZW))	Daily SC	Non-pregnant: 0, 1, 5, 10 and 20 Pregnant: 0, 1, 3 and 10	No	[redacted]
Embryo-fetal development [b]	Sprague Dawley Rat (Crl:CD(SD))	Daily SC	2, 8, and 30	Yes	[9000923]
Embryo-fetal development	New Zealand White rabbits (Crl:KBL(NZW))	Daily SC	0, 1, 3 and 6	Yes	[9000925]
Pre- and postnatal development	Sprague Dawley Rat IGS (Crl:CD[SD])	Daily SC	0, 5, 10 and 20	Yes	[redacted]

a TransCon PTH is an internal developmental name for palopegteriparatide.

b Only spare sampling was applied, as proof of exposure measures
GLP = good laboratory practice; NA = not applicable; PTH = parathyroid hormone; SC = subcutaneous.

2.6.7.3　トキシコキネティクス：トキシコキネティクス試験成績の一覧表

Study No	Test System	Sex	Dose [µg PTH(1-34)/ kg/day]	Day	t_{max}[a] 9(h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24} (h*ng/mL)	RCmax[b]	RAUC[c]	Peak to Trough[d]
			Total PTH (PTH eq.)							
［6700371］	Sprague Dawley Rat (Crl:CD(SD))	Male	10	28	12	39.4	880	NC	3.60	1.06
			30	28	12	108	2,370	NC	4.00	1.09
			60	28	18	220	4,580	NC	3.33	1.17
		Female	10	28	18	57.1	1,290	NC	4.41	1.09
			30	28	3	216	4,430	NC	5.84	1.25
			60	28	12	399	8,440	NC	4.00	1.26
［6700386］	Sprague Dawley Rat (Crl:CD(SD))	Male	2	91	18	7.74	157	1.78	NC	1.19
			2	182	24	12.4	174	2.85	NC	NA[e]
			5	91	12	20.0	390	2.34	4.43	1.40
			5	182	18	24.7	424	2.89	4.81	1.08
			10	91	12	25.4	580	1.49	2.58	1.00
			10	182	24	67.6	932	3.96	4.14	NA[e]
			20	91	2	76.8	1,580	1.86	3.58	1.30
			20	182	24	117	1,470	2.83	3.33	NA[e]
		Female	2	91	18	15.6	318	2.33	4.02	1.11
			2	182	24	14.3	282	2.15	3.57	NA[e]
			5	91	2	32.9	736	2.20	4.31	1.09
			5	182	18	48.2	772	3.23	4.53	2.99
			10	91	18	60.4	1,170	2.33	3.00	1.16
			10	182	4	86.3	1,450	3.33	3.71	1.49
			20	91	24	164	3,510	2.76	4.10	NA[e]
			20	182	18	128	2,630	2.15	3.07	1.07

Study No	Test System	Sex	Dose [µg PTH(1-34)/ kg/day]	Day	t_{max}[a] 9(h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24} (h*ng/mL)	RCmax[b]	RAUC[c]	Peak to Trough[d]
			Free PTH							
［6700371］	Sprague Dawley Rat (Crl:CD(SD))	Male	10	28	NR	NR	NR	NC	NR	NR
			30	28	3	0.191	2.76	NC	NC	2.41
			60	28	3	0.298	5.65	NC	1.94	1.53
		Female	10	28	3	0.0841	0.978	NC	NC	1.87
			30	28	3	0.304	3.95	NC	NC	2.39
			60	28	3	0.460	7.62	NC	2.5	1.87
［6700386］	Sprague Dawley Rat (Crl:CD(SD))	Male	2	91	NR	NR	NR	NC	NC	NR
			2	182	NR	NR	NR	NC	NC	NR
			5	91	2	0.0471	NC	NC	NC	1.80
			5	182	2	0.0847	NC	NC	NC	2.09
			10	91	2	0.101	NC	NC	NC	2.46
			10	182	2	0.173	3.74	NC	NC	2.14
			20	91	2	0.248	NC	NC	NC	2.67
			20	182	2	0.348	9.21	NC	NC	2.52
		Female	2	91	NR	NR	NR	NC	NC	NR
			2	182	NR	NR	NR	NC	NC	NR
			5	91	2	0.0647	NC	NC	NC	1.89
			5	182	2	0.107	NC	NC	NC	3.14
			10	91	2	0.115	NC	NC	NC	1.85
			10	182	2	0.191	3.72	NC	NC	2.71
			20	91	2	0.292	NC	NC	NC	2.37
			20	182	2	0.380	10.3	NC	NC	2.15

Study No	Test System	Sex	Dose [µg PTH(1-34)/ kg/day]	Day	t_{max}[a] 9(h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24} (h*ng/mL)	RCmax[b]	RAUC[c]	Peak to Trough[d]
			mPEG							
［6700371］	Sprague Dawley Rat (Crl:CD(SD))	Male	10	28	24	2,250	52,100	NC	NC	NA
			30	28	8	5,740	129,000	NC	NC	1.01
			60	28	18	10,600	224,000	NC	14.7	1.09
		Female	10	28	3	2,480	55,300	NC	NC	1.14
			30	28	3	9,370	184,000	NC	19.6	1.33
			60	28	6	17,400	392,000	NC	13.5	1.09
［6700386］	Sprague Dawley Rat (Crl:CD(SD))	Male	2	91	8	887	19,500	NC	NC	1.04
			2	182	24	863	16,200	NC	NC	NA[e]
			5	91	24	2,130	40,100	14.5	NC	NA[e]
			5	182	8	2,590	44,600	17.6	NC	1.04
			10	91	24	4,220	79,400	14.1	23.1	NA[e]
			10	182	24	4,520	81,600	15.1	23.8	NA[e]
			20	91	2	8,430	177,000	14.1	30.0	1.33
			20	182	8	7,760	151,000	13.0	25.6	1.38
		Female	2	91	24	1,220	22,500	NC	NC	NA[e]
			2	182	24	1,330	23,100	NC	NC	NA[e]
			5	91	8	2,270	47,900	9.50	NC	1.00
			5	182	4	2,130	46,900	8.90	NC	1.62
			10	91	18	4,740	84,600	10.4	16.4	1.36
			10	182	18	4,760	85,000	10.5	16.5	1.26
			20	91	24	12,200	223,000	17.0	25.2	NA[e]
			20	182	24	11,700	220,000	16.3	24.9	NA[e]

Study No	Test System	Sex	Dose [µg PTH(1-34)/ kg/day]	Day	t_{max}[a] 9(h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24} (h*ng/mL)	RCmax[b]	RAUC[c]	Peak to Trough[d]
			Total PTH (PTH eq.)							
[6700372]	Cynomolgus mauritius monkey *(Macaca fascicularis)*	Combined	0.2	28	6	4.27	85.3	2.70	3.00	1.48
			0.5	28	7	12.4	250	3.15	3.49	2.47
			1.5	28	6	36.1	765	2.68	3.11	1.33
[6700387[f]]	Cynomolgus mauritius monkey *(Macaca fascicularis)*	Combined	0.2	182	4	5.27	111	3.03	3.39	1.37
			0.5	182	6	13.7	298	3.38	3.83	1.23
			1.5/1.0	182	6	25.9	561	3.25	3.87	1.26
			Free PTH							
[6700372]	Cynomolgus mauritius monkey *(Macaca fascicularis)*	Combined	0.2	28	NR	NR	NR	NR	NR	NR
			0.5	28	NR	NR	NR	NR	NR	NR
			1.5	28	3	0.0223	0.403[g]	NC	NC	1.68[g]
[6700387[f]]	Cynomolgus mauritius monkey *(Macaca fascicularis)*	Combined	0.2	182	NR	NR	NR	NR	NR	NR
			0.5	182	NR	NR	NR	NR	NR	NR
			1.5/1.0	182	4	0.0191	0.342[g]	NA	NA	1.80[g]
			mPEG							
[6700371]	Cynomolgus mauritius monkey *(Macaca fascicularis)*	Combined	0.2	28	6	99.1	2,070	4.20	5.00	1.45
			0.5	28	6	243	5,140	4.95	5.61	2.28
			1.5	28	3	740	16,200	4.53	5.34	1.21
[6700387[f]]	Cynomolgus mauritius monkey *(Macaca fascicularis)*	Combined	0.2	182	4	107	2,310	5.39	6.92	1.24
			0.5	182	4	299	6,480	5.32	6.34	1.21
			1.5/1.0	182	3	528	11,400	5.02	6.86	1.19
			Total PTH (PTH eq.)							
[9000925]	New Zealand White rabbits (Crl:KBL(NZW))	Pregnant female	1	GD 7	24	5.54	81.7	NA	NA	NA
			1	GD 19	4	15.5	347	3.02	4.68	1.18
			3	GD 7	24	14.6	213	NA	NA	NA

Study No	Test System	Sex	Dose [µg PTH(1-34)/ kg/day]	Day	t_{max}[a] 9(h)	C_{max} (ng/mL)	AUC_{0-24} (h*ng/mL)	RCmax[b]	RAUC[c]	Peak to Trough[d]
			3	GD 19	4	37.9	840	2.77	4.29	1.39
			6	GD 7	24	28.9	412	NA	NA	NA
			6	GD 19	12	74.9	1,660	2.68	4.24	1.34
			Free PTH							
［9000925］	New Zealand White rabbits (Crl:KBL(NZW))	Pregnant female	1	GD 7	12	9.36	156	NA	NA	NA
			1	GD 19	4	42.3	816	2.50	2.77	1.70
			3	GD 7	12	26.3	435	NA	NA	NA
			3	GD 19	4	144	2,940	5.77	7.16	1.67
			6	GD 7	12	50.9	854	NA	NA	NA
			6	GD 19	4	439	8,610	8.75	10.3	1.44

a Median for monkey studies.

b RC_{max} = Day 28/91/182 C_{max}/Day 1 C_{max}

c RAUC = Day 28/91/182 AUC_{0-24}/Day 1 AUC_{0-24}

d Peak to trough = C_{max}/C24h

e C_{max} = C24h

f Without Animal no. 4502 (anti-PTH antibody positive) from Day 91.

g Results estimated using extrapolated plasma concentrations.

AUC_{0-24} = area under the curve from 0 to 24 h; C_{max}= maximum observed concentration; eq = equivalents; mPEG = methoxypolyethylene glycol; NA = not applicable; NC = not calculated; NR = no results; R = ratio; tmax = time to reach maximum observed concentration; GD = gestation day

2.6.7.4 毒性試験：被験物質一覧

Batch No.	TransCon PTH[a] (%): [redacted]	Total Impurities (incl. [redacted])	[redacted]S[b] (Area-%)	Released PTH(1-34) (%): Total Impurity of Released PTH(1-34)	Study Number	Type of Study
					Test Article: TransCon PTH[a]	
PROPOSED SPECIFICATION FOR DRUG PRODUCT:	≤[redacted]	≤[redacted]	≤[redacted][c]	≤[redacted]	NA	NA
1065160[d]	<0.10[e]	1.3[e]	0.77[e]	13.7[e]	[6700371] [6700372]	4-week repeat-dose toxicity studies in rats and monkeys
1068485[d]	<0.10[e]	1.4[e]	0.83[e]	6.3[e]	[6700386]	26-week repeat-dose toxicity study in rats
1070215[d]	<0.10	0.52	0.29[e]	4.4[e]	[6700387] [9000921] [9001130] [9000923]	26-week repeat-dose toxicity study in monkeys Female and male FEED EFD in rats
VVRD291 (drug product)	<0.10	0.72	0.19	6.0	[9000925]	EFD in rabbits
ASTL022	<0.10	0.63	NA	3.3	[redacted]	PPND in rats

a TransCon PTH is an internal developmental name for palopegteriparatide

b Measured by [redacted]

c [redacted]

d DS Batch used to compound DP (stock solution) used in non-clinical study

e Data were acquired at a later time point than during release (in the period May-August 2018). Results of the performed batch re-analysis were acquired March to June 2018, as the test parameter was not included at initial batch release. Re-analysis was performed by applying the current procedures for purity testing of drug substance [3.2.S.4.4 Batch Analyses]

DS = drug substance; DP = drug product; EFD = embryo fetal development; FEED = fertility and early embryonic development; [redacted]; NA = not applicable; PTH = parathyroid hormone; [redacted]

2.6.7.5　単回投与毒性試験

試験は実施していない。実施しなかった妥当性は M2.6.6.2 項に記載している。

2.6.7.6 反復投与毒性試験：重要な試験以外の試験

		Non-Pivotal Studies				Test Article: TransCon PTH[a], Batch No. HD-BLU-000164.002	
Test System	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Duration of Dosing**	**Doses [µg PTH (1-34)/kg]**	**Number of Animals/ Sex/Group**	**NOAEL [µg PTH (1-34)/kg]**	**Noteworthy Findings**	**Study Number**
Sprague Dawley rats (Crl:CD(SD))	Daily SC, (10 mM succinic acid, 46 g/L mannitol, pH adjusted to 4.0 with 4 N NaOH)	Escalating phase: 7 days	Escalating phase: 10, 30, 60 and 120	Escalating phase: 3	Escalating phase MTD: 60	Escalating phase: 10: None, although increases above baseline in serum calcium were noted for both males and females on Day 2. 30 and 60: Lower body weight gain for F at 30 µg PTH(1-34)/kg and weight loss in 1 F at 60 µg PTH(1-34)/kg. Dose-dependent increases in serum calcium and decreases in serum phosphate on Days 2 and 7. The increase in serum calcium above baseline was smaller on Day 7 relative to Day 2. Decrease in serum phosphate was not considered toxicological significant. 60: Microscopic findings: minimal medial degeneration in the aorta of 1/3 F. 120: Unscheduled death/ premature euthanasia of all animals on Day 4. Prior to death, decreased activity, labored/shallow breathing, decreased respiratory rate, cold to touch, wetted fur (periorbital), hunched posture, prostate, decreased muscle tone, and skin pallor. Microscopic findings: soft tissue mineralization noted in the aorta, adrenal gland, heart, kidney, liver, lung, pancreas, and small and/or large intestine, often associated with varying degrees of necrosis and/or inflammation. Mineralization	[redacted]

Test System	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Non-Pivotal Studies Duration of Dosing	Doses [µg PTH (1-34)/kg]	Number of Animals/ Sex/Group	NOAEL [µg PTH (1-34)/kg]	Test Article: TransCon PTH[a], Batch No. HD-BLU-000164.002 Noteworthy Findings	Study Number
						correlated macroscopically with pale foci in the heart and kidney. Renal tubular mineralization was considered the proximate cause of death for these rats. In bone (sternum and femur): mild to marked increased cellularity of osteoclasts with minimal to mild single cell necrosis of osteoblasts and/or osteocytes in affected bone and occasionally accompanied by karyorrhectic debris in marrow space. Correlating with marked increases in the serum calcium levels noted on Day 2. At injection site: Sporadic swelling noted macroscopically and correlated with subacute inflammation of some rats at 120 µg PTH(1-34)/kg, suggesting a relationship to Test Item administration.	
		Repeat phase: 4 weeks	Repeat phase: 10 and 30	Repeat phase: 6	Repeat phase MTD: 30	Repeat phase: 10: Hyperreactivity during dosing. No or minimal increases in serum calcium. In bone: minimally to mildly increased trabecular bone[b] and increased cortical bone resorption[c] in the femur. 30: Hyperreactivity during dosing. No or minimal increases in serum calcium, except on Day 2. Serum calcium values increased above baseline on Days 2 and 7. In bone: minimally to mildly increased trabecular bone[b] and increased cortical bone resorption[c] in the femur and sternum.	

Test System	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Non-Pivotal Studies Duration of Dosing	Doses [µg PTH (1-34)/kg]	Number of Animals/ Sex/Group	NOAEL [µg PTH (1-34)/kg]	Test Article: TransCon PTH[a], Batch No. HD-BLU-000164.002 Noteworthy Findings	Study Number
						At injection site: Macroscopic findings of dark focus and/or scab and correlating microscopically with subacute inflammation and minimal to mild myofiber degeneration/necrosis in the subcutaneous tissues and/or muscle layer.	
Cynomolgus mauritius monkey (*Macaca fascicularis*)	Daily SC injection, (10 mM succinic acid, 46 g/L mannitol, pH adjusted to 4.0 with 4 N NaOH)	4 weeks	0.2 0.5 1.0 2.0/1.5	1	MTD: 1.5 for 7 days	0.2: None. 0.5: Increased urinary calcium levels (F). ≥ 0.5: increased urinary calcium levels (M). ≥ 1: Increased serum calcium levels (F) and macroscopic dark foci at the injection site. ≥ 2/1.5[d]: Increased serum calcium levels, decreased serum phosphate levels, increased serum urea nitrogen levels, and increased partial thromboplastin time. Minimal neutrophilic tubulointerstitial nephritis with tubular dilatation and mineralization was noted in the F. Even though an effect of palopegteriparatide cannot be excluded, these findings were interpreted to be most likely incidental. Histopathological changes at the injection site: Minimal to mild fibrosis and/or mixed cell inflammation in M at ≥ 0.5 µg PTH(1-34)/kg/day and in F at 1 µg PTH(1-34)/kg/day. Minimal to mild hemorrhage was noted in M at ≥ 1 µg PTH(1-34)/kg/day and in F at 1 µg PTH(1-34)/kg/day and correlated with macroscopic dark foci. These changes are not uncommon in SC	[redacted]

Test System	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Non-Pivotal Studies Duration of Dosing	Doses [µg PTH (1-34)/kg]	Number of Animals/ Sex/Group	NOAEL [µg PTH (1-34)/kg]	Test Article: TransCon PTH[a], Batch No. HD-BLU-000164.002 Noteworthy Findings	Study Number
						administration studies and can represent either a direct effect of the test item or be secondary to the experimental procedures (i.e. injection). In the absence of control animals, the exact relationship between these changes and administration of palopegteriparatide is uncertain.	

a TransCon PTH is an internal developmental name for palopegteriparatide

b Increased trabecular bone was characterized by increased bone matrix and increased numbers of osteoblasts aligned along the endosteal surface of the trabeculae

c Increased bone resorption was characterized by increased porosity of the cortical bone and increased osteoclast cellularity. These findings were most prominent in the metaphysis and/or along the inner aspect of the cortex in the femoral diaphysis

d High-dose level was 2 µg PTH(1-34)/kg/day from Day 1 to 4. Due to severe hypercalcemia, the dose level was reduced to 1.5 µg PTH(1-34)/kg/day from Days 5 to 10, a dosing holiday was introduced from Day 11 to 22, and animals were dosed with 1.5 µg PTH(1-34)/kg/day again from Days 23 to 29

F = female; M= males; MTD = maximum tolerated dose; NA = not applicable; NaOH = sodium hydroxide; NOAEL = no observed adverse effect level; PTH = parathyroid hormone; SC = subcutaneous.

2.6.7.7　反復投与毒性試験：重要な試験

2.6.7.7.1　ラット 4 週間反復投与毒性試験

Report Title: A 28-Day Subcutaneous Injection Toxicity Study of TransCon PTHa (ACP-014) in the Albino Rat with a 2-Week Recovery Period

Test Article: TransCon PTH, Batch No. 1065160

Test System: Sprague Dawley rats (Crl:CD(SD))

Duration of Dosing: 4 weeks

Study No.: ［6700371］

Initial Age: 8 weeks old

Duration of Postdose: 2 weeks

Location in CTD: 4.2.3.2

Date of First Dose:
[redacted]: [redacted] 20[redacted]
[redacted]: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Daily SC injection

Vehicle/Formulation: 10 mM succinic acid, 41.0 mg/mL mannitol, 3.0 mg/mL metacresol adjusted to pH 4.0 by 1 N NaOH

GLP Compliance: Yes

Special Features: Local irritation assessment, markers of bone turnover (P1NP, OC, CTx and DPD), pharmacodynamics parameters (serum calcium, serum phosphate and plasma endogenous PTH(1-84)), ex vivo bone densitometry (pQCT), anti-PTH antibody analysis, micronucleus testing and histomorphometry.

No Observed Adverse Effect Level: 10 µg PTH(1-34)/kg/day

a TransCon PTH is an internal developmental name for palopegteriparatide

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg]	**0 (Control)**		**10**		**30**		**60**	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Recovery:	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
Toxicokinetics – Total PTH								
Day 1								
AUC_{0-24} (h*ng PTH/mL)	NA	NA	245	293	592	758	1,370	2,110
C_{max} (ng PTH/mL)	NA	NA	19.3	20.6	47.0	59.2	104	162
Day 28								
AUC_{0-24} (h*ng PTH/mL)	NA	NA	880	1,290	2,370	4,430	4,580	8,440
C_{max} (ng PTH/mL)	NA	NA	39.4	57.1	108	216	220	399
Toxicokinetics - Free PTH								
Day 1								
AUC_{0-24} (h*ng PTH/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	2,920	3,050

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg]	0 (Control)		10		30		60	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Recovery:	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
C_{max} (pg/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	188	185
Day 28								
AUC_{0-24} (h*pg/mL)	NA	NA	NA	978	2,760	3,950	5,650	7,620
C_{max} (pg/mL)	NA	NA	NA	84.1	191	304	298	460
Toxicokinetics – mPEG								
Day 1								
AUC_{0-24} (h*ng/mL)	NA	NA	NR	NR	NR	9,390	15,200	28,900
C_{max} (ng/mL)	NA	NA	254	272	672	920	1,480	2440
Day 28								
AUC_{0-24} (h*ng/mL)	NA	NA	52,100	55,300	129,000	184,000	224,000	392,000
C_{max} (ng/mL)	NA	NA	2,250	2,480	5,740	9,370	10,600	17,400
Pharmacodynamic	Following administration of palopegteriparatide, concentrations of endogenous PTH(1-84) were BQL across the dose levels tested on Day 1. Similarly, on Day 28, the plasma concentrations of endogenous PTH(1-84) were generally BQL at the 12 and 24 h timepoints, indicating a dose dependent suppression of the endogenous PTH(1-84). At the 336 h postdose on Day 28, the mean endogenous PTH(1-84) concentration increased notably (from 1 to 5x the concentrations observed for control samples). No apparent sex difference in endogenous PTH(1-84) was observed.							
Anti-PTH Antibody	-	-	-	-	-	-	-	-
Micronucleus Testing (2.6.7.9)	-	-	-	-	-	-	-	-
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	2[a]
Body Weight (%[b])								
Day 28	481.9 g	-	-1	-	-1	-	-9C	-

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg]	0 (Control)		10		30		60	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Recovery:	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
Noteworthy Findings								
Body Weight Gain (g)								
Day -1 to Day 28	214.4	75.5	210.3	80.1	210.1	76.7	172.7C	52.4C
Food Consumption (%[b])								
Day 22 to Day 28	-	22.77 g	-	+3	-	+6	-	+26
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Local Irritation Assessment	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations[c]								
Red skin	4 (3)	18 (11)	2 (2)	14 (7)	0	20 (11)	0	11 (6)
Hematology (Day 29)								
White Blood Cell Count (10^3/µL)	9.036	7.208	9.740	6.824	7.001	6.262	6.353D	5.276
Red Blood Cell Count (10^6/µL)	6.904	6.569	6.851	6.440	6.498A	5.985A	6.202C	5.833B
Reticulocyte (10^9/L)	264.38	203.89	382.68	189.51	292.54	248.52A	321.1A	303.59C
Mean Corpuscular Volume (fL(um^3))	57.14	55.08	57.14	55.15	59.56B	56.49A	61.35C	58.40C
Mean Corpuscular Hemoglobin (pg)	18.94	18.46	18.63	18.64	19.40	18.86	19.98C	19.51C
Red Blood Cell Distribution Width (%)	12.38	11.36	12.54	10.97	13.43B	13.05D	15.79C	15.59F
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry (Day 29)								
Alkaline phosphatase (U/L)	135.2	77.0	168.6	106.1A	200.3B	118.9C	226.4C	124.8C
sCa (mg/dL)	10.42	10.56	10.25	10.61	10.17	10.60	11.16	12.19F
sP (mg/dL)	7.87	7.03	8.43	7.30	8.21	7.39	6.90	5.91
Chloride (mmol/L)	101.2	101.2	101.1	101.3	102.2	102.1	104.0C	103.6B

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg]	0 (Control)		10		30		60	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Recovery:	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
Noteworthy Findings								
Magnesium (mg/dL)	2.01	2.17	2.26B	2.31	2.39C	2.34	2.21A	2.26
sCa, 12 h postdose (mg/dL)								
Day 1	10.93	11.25	11.47C	11.77	12.25C	12.38F	12.85C	13.03F
Day 8	11.17	11.70	11.21	11.52	11.59D	11.73	12.83F	12.75C
Day 15	11.07	11.32	11.30	11.34	11.88F	12.03F	13.48F	13.35F
Day 22	11.39	11.34	11.55	11.16	12.46F	11.73	14.65F	13.28F
Day 28	11.14	11.21	11.15	11.36	11.83D	12.01F	13.69F	13.63F
sP, 12 h postdose (mg/dL)								
Day 1	9.51	8.42	10.13B	9.29B	10.15B	8.93	8.66C	8.11
Day 8	9.24	8.55	9.57	8.32	9.47	7.80B	7.71C	6.68C
Day 15	8.81	7.83	9.07	7.77	8.43	7.39	6.73C	6.62F
Day 22	8.27	7.71	8.25	7.42	7.87A	7.19A	6.53C	6.07C
Day 28	8.29	7.25	8.42	7.76	8.10	7.09	6.40C	5.30F
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Urine Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Biochemical Markers of Bone Turnover (Day 29)								
Bone Formation Markers								
P1NP (ng/mL)	59.249	18.247	66.359	23.753	86.450F	30.586F	88.808D	24.943D
OC (ng/mL)	771.068	570.209	1213.967	856.673	1843.772F	1503.882F	2672.609F	1866.061F
Bone Resorption Markers								
CTx (ng/mL)	31.409	19.796	38.403	22.073	45.822B	34.611F	56.443C	38.260F
DPD (nM/nM creatinine)	206.878	91.958	244.916	182.697	341.943B	234.987F	362.681B	312.931F

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg]	0 (Control)		10		30		60	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Recovery:	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
Noteworthy Findings								
Bone Densitometry – Right Tibia – pQCT								
Metaphysis								
Total BMC (mg/mm)	10.826	10.507	10.648	9.471	15.437C	13.393C	16.022C	12.709C
Total BMD (mg/cm^3)	476.27	636.12	498.15	543.84C	631.16C	697.10C	659.68C	742.67C
Trabecular BMC (mg/mm)	1.847	2.427	1.960	1.706B	6.548C	4.961C	7.383C	5.269C
Trabecular BMD (mg/cm^3)	161.85	325.72	182.79	217.66C	535.33C	572.08C	611.37C	686.58C
Cortical/subcortical BMC (mg/mm)	8.981	8.081	8.686	7.765	8.890	8.432	8.637	7.441
Cortical/subcortical BMD (mg/cm^3)	790.68	889.78	813.40	810.91C	726.66B	799.46C	707.52C	788.38C
Diaphysis								
Total area (mm^2)	12.558	9.670	12.529	10.043	13.328	10.970A	14.053	11.461C
Cortical thickness (mm)	0.7651	0.6848	0.7376	0.6674	0.8570	0.7447	1.1910F	0.9560C
Periosteal circumference (mm)	12.5505	11.0166	12.5343	11.2239	12.9229	11.7227A	13.2588	11.9960C
Endosteal circumference (mm)	7.7442	6.7135	7.9001	7.0314	7.5379	7.0439	5.7746C	5.9887A
Cortical BMC (mg/mm)	9.474	7.328	8.936	7.198	9.689	7.968	11.208	8.873C
Cortical BMD (mg/cm^3)	1221.92	1207.22	1187.47	1181.90	1106.90F	1140.74C	998.62F	1037.43C
Cortical area (mm^2)	7.755	6.068	7.528	6.095	8.776	7.000A	11.353F	8.576C
Cross-sectional moment of inertia in the plane of bending (mm4)	8.5494	5.5554	8.4111	5.7532	9.7605	6.6654	12.0859	7.6073C
Vertebral body (L4 and L5)								
Trabecular BMC (mg/mm)	1.267	0.746	0.924A	0.636	1.217	0.850	2.051C	1.058C
Trabecular BMD (mg/cm^3)	285.30	272.03	201.46B	223.24	246.66	287.41	405.07C	358.84B
Total BMC (mg/mm)	5.391	4.474	4.529B	3.976	5.463	4.791	7.055C	5.527C

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg]	0 (Control)		10		30		60	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Recovery:	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
Noteworthy Findings								
Total BMD (mg/cm^3)	546.34	572.52	447.44C	491.75C	500.68A	570.72	626.46C	655.12C
Total area (mm^2)	9.872	-	10.139	-	10.896A	-	11.316B	-
Histomorphometry – Left Tibia								
Cancellous Bone (Tibial Metaphysis)								
BV/TV (%)	9.28	20.59	9.01	13.75A	38.86C	35.93C	NA	NA
Tb.N (1/mm)	1.846	3.386	1.839	2.440B	5.503C	4.654C	NA	NA
Tb.Th (µm)	50.1	60.3	48.6	56.0	70.9C	77.8E	NA	NA
Ep.Pl.Th (µm)	294.0	222.4	348.3	230.8	575.5C	318.3F	NA	NA
MS/BS (%)	40.88	-	29.71C	-	29.94C	-	NA	NA
BFR/BS (µm^3/µm^2/y)	334.26	-	232.43B	-	255.93A	-	NA	NA
Fi.S/BS (%)	0.06	0.06	16.84D	8.06D	84.48F	79.36F	NA	NA
Cortical Bone (Tibial Diaphysis)								
Me.Ar (mm^2)	1.694	1.271	1.635	1.499A	1.938	1.680C	NA	NA
Ec.Pm (mm)	5.204	4.463	5.254	4.993	5.855	5.325B	NA	NA
Ct.Wi (µm)	693.8	609.9	663.6	584.9	623.4B	564.0A	NA	NA
Organ Weight (%[b])- Day 29								
Number of animals examined	10	10	10	10	10	10	10	9
Spleen								
Absolute value	0.8577 g	0.5495 g	+7	+10	+6	+8	+17	+15
% of body weight	0.1879 g	0.2090 g	+8	+5	+6	+3	+31E	+21
% of brain weight	39.3780 g	27.8597 g	+5	+6	+7	+6	+19	+15
Kidney								

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg]	0 (Control)		10		30		60	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Recovery:	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
Noteworthy Findings								
Absolute value	2.8963 g	1.8039 g	-5	+2	+5	+5	-1	+21C
% of body weight	0.6357 g	0.6811 g	-3	-1	+5	+1	+11	+29C
% of brain weight	133.0951 g	91.2898 g	-6	-1	+6	+3	+1	+23C
Gross Pathology[de] - Day 29								
Number of animals examined	10	10	10	10	10	10	10	9
Bone Femur	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)
Abnormal consistency, friable	0	0	0	0	3	0	1	2
Bone Sternum	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)
Abnormal consistency, friable	0	0	0	0	2	0	1	2
Bone Tibia	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)
Abnormal consistency, friable	0	0	0	0	3	0	2	2
Bone Vertebra L1	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)
Abnormal consistency, friable	0	0	0	0	3	0	1	2
Bone Vertebra L2	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)
Abnormal consistency, friable	0	0	0	0	3	0	1	2
Bone[a]	(0)	(0)	(1)	(0)	(3)	(2)	(5)	(3)
Abnormal consistency, friable	0	0	1	0	4	2	6	5
Kidney	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)
Discoloration, pale	0	0	0	0	1	1	0	5
Irregular surface	0	0	0	0	0	0	0	2
Focus, pale	0	0	0	0	0	1	0	0
Histopathology[dg]- Day 29								

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg]	0 (Control)		10		30		60	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Recovery:	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
Noteworthy Findings								
Number of animals examined	10	10	10	10	10	10	10	9
Bone Calvarium								
Increased bone	(0)	(0)	(0)	(0)	(3)	(1)	(5)	(3)
Mild	0	0	0	0	3	1	5	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	3
Increased resorption	(0)	(0)	(0)	(0)	(3)	(2)	(5)	(3)
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	0
Mild	0	0	0	0	3	1	4	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	3
Bone Femur								
Increased bone	(0)	(0)	(8)	(9)	(10)	(10)	(10)	(9)
Minimal	0	0	8	9	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	7	6	0	0
Moderate	0	0	0	0	3	4	3	4
Marked	0	0	0	0	0	0	7	5
Increased resorption	(0)	(0)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)	(9)
Minimal	0	0	10	10	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	7	6	0	0
Moderate	0	0	0	0	3	4	3	5
Marked	0	0	0	0	0	0	7	4
Bone Sternum								
Increased bone	(0)	(0)	(0)	(0)	(7)	(7)	(10)	(9)

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg]	0 (Control)		10		30		60	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Recovery:	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
Noteworthy Findings								
Minimal	0	0	0	0	5	7	0	0
Mild	0	0	0	0	1	0	1	4
Moderate	0	0	0	0	1	0	2	3
Marked	0	0	0	0	0	0	7	2
Increased resorption	(0)	(0)	(0)	(0)	(10)	(10)	(10)	(9)
Minimal	0	0	0	0	0	10	0	0
Mild	0	0	0	0	9	0	1	4
Moderate	0	0	0	0	1	0	2	3
Marked	0	0	0	0	0	0	7	2
Heart								
Vascular mineralization	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(2)
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	2
Aorta								
Mineralization	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(2)
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	1
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Kidney								
Mineralization	(0)	(2)	(0)	(3)	(1)	(6)	(5)	(9)
Minimal	0	2	0	3	0	6	3	1
Mild	0	0	0	0	1	0	2	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	7
Basophilia, tubular	(2)	(2)	(1)	(0)	(1)	(2)	(8)	(8)

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg]	0 (Control)		10		30		60	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Recovery:	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
Noteworthy Findings								
Minimal	2	2	1	0	1	2	6	2
Mild	0	0	0	0	0	0	1	5
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	1
Dilatation, tubular	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(2)	(2)
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0
Mild	0	0	0	0	1	0	1	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Inflammation, chronic	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(0)	(4)	(5)
Minimal	0	1	0	0	0	0	4	1
Mild	0	0	0	0	0	0	0	4
Liver								
Extramedullary hematopoiesis	(0)	(0)	(0)	(0)	(3)	(0)	(9)	(4)
Minimal	0	0	0	0	3	0	9	4
Spleen								
Increased hematopoiesis	(0)	(0)	(0)	(0)	(4)	(4)	(10)	(8)
Minimal	0	0	0	0	4	4	4	3
Mild	0	0	0	0	0	0	6	4
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Stomach								
Mineralization	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Postdose Evaluation (Recovery)								

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg]	0 (Control)		10		30		60	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Recovery:	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
Noteworthy Findings								
Hematology (Day 43)								
Reticulocyte (10^9/L)	253.18	148.82	226.90	160.92	229.22	151.84	284.54	237.65D
Red Blood Cell Count (10^6/µL)	7.518	7.434	7.676	7.074	7.384	6.946	6.840B	5.843C
Mean Corpuscular Volume (fL (um^3))	54.28	53.82	54.18	55.76	55.80	55.70	60.48C	61.28C
Mean Corpuscular Hemoglobin (pg)	18.20	18.42	18.46	19.24	19.20	19.24	20.42C	21.23C
Red Blood Cell Weight (%)	12.74	11.28	13.14	12.16	13.30	12.26	14.82C	14.85C
Biochemical Markers of Bone Turnover (Day 43)								
Bone Formation Marker P1NP (ng/mL)	-	16.770	-	14.986	-	12.428	-	11.058
Bone Densitometry – Right Tibia – pQCT								
Metaphasis								
Total BMC (mg/mm)	12.256	11.170	14.044	11.842	17.182C	16.906C	19.182C	18.003C
Total BMD (mg/cm^3)	494.00	651.70	550.70	675.14	641.10C	905.40C	603.50B	932.23C
Trabecular BMC (mg/mm)	2.098	2.024	2.676	2.052	5.900C	5.486C	7.378C	6.363C
Trabecular BMD (mg/cm^3)	169.38	291.46	209.60	288.22	441.18C	737.06	464.32C	823.30D
Cortical/subcortical BMC (mg/mm)	10.160	9.146	11.370	9.788	11.282	11.418B	11.800A	11.645B
Cortical/subcortical BMD (mg/cm^3)	818.72	892.30	892.08	932.68	840.46	1017.70C	742.18	1004.85B
Total area (mm^2)	25.010	-	25.566	-	26.924	-	31.878B	-
Diaphysis								
Total area (mm^2)	14.056	10.432	14.364	10.342	14.550	11.130	15.648	11.185
Cortical thickness (mm)	0.7764	0.7190	0.8140	0.7178	0.8810	0.7836A	1.2906C	1.0235C
Cortical area (mm^2)	8.412	6.602	8.852	6.564	9.470	7.334A	12.800E	8.840C

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg]	0 (Control)		10		30		60	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Recovery:	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
Noteworthy Findings								
Periosteal circumference (mm)	13.2806	11.4410	13.4288	11.3930	13.5180	11.8232	14.0130	11.8533
Endosteal circumference (mm)	8.4022	6.9228	8.3142	6.8828	7.9802	6.9008	5.9038C	5.4210C
Cortical BMC (mg/mm)	10.524	8.184	11.026	8.186	11.758	9.162A	15.226C	10.860C
Cortical BMD (mg/cm^3)	1251.26	-	1245.10	-	1241.62	-	1190.10C	-
Cortical area (mm^2)	8.412	6.602	8.852	6.564	9.470	7.334A	12.800E	8.840C
Cross-sectional moment of inertia in the plane of bending (mm^4)	10.7938	6.5956	11.2602	6.2008	11.5028	7.4970	14.9080B	8.1343 A
Vertebral body (L4+L5)								
Trabecular BMC (mg/mm)	1.473	0.878	1.070	0.916	1.452	0.964	2.554	1.553C
Trabecular BMD (mg/cm^3)	318.18	310.38	230.22	292.62	295.02	309.60	460.26	491.23
Total BMC (mg/mm)	5.830	4.918	5.396	5.268	6.800	5.768	9.518D	7.633E
Total BMD (mg/cm^3)	566.75	609.52	523.12	593.36	626.62	650.68A	775.74C	854.90C
Total area (mm^2)	10.325	-	10.298	-	10.812	-	12.226A	-
Organ Weight (%[b]) - Day 43								
Number of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	4
Spleen								
Absolute value	0.8586 g	0.5274 g	+6	+12	-3	+11	+24A	+22
% of body weight	0.1696 g	0.1899 g	+8	+4	-3	+12	+27D	+28
% of brain weight	38.5663 g	25.8121 g	+4	+10	-4	+11	+21	+25
Kidney								
Absolute value	3.0872 g	1.8072 g	+1	+7	+5	+4	+7	+19
% of body weight	0.6104 g	0.6471 g	+3	+1	+5	+4	+9	+24

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg]	0 (Control)		10		30		60	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Recovery:	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
Noteworthy Findings								
Gross Pathology[de] - Day 43								
Number of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	4
Kidney	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(5)	(4)
Focus, pale	0	0	0	0	0	0	1	1
Discoloration, pale	0	0	0	0	0	0	0	2
Histopathology[dg] - Day 43								
Number of animals examined	5	5	5	5	5	5	5	4
Aorta								
Mineralization	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)
Mild	0	0	0	0	0	0	0	1
Bone Femur								
Increased bone	(0)	(0)	(0)	(0)	(5)	(5)	(5)	(4)
Minimal	0	0	0	0	5	0	0	0
Mild	0	0	0	0	0	5	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	5	4
Increased resorption	(0)	(0)	(0)	(0)	(3)	(0)	(5)	(4)
Minimal	0	0	0	0	3	0	3	2
Mild	0	0	0	0	0	0	2	2
Bone Sternum								
Increased bone	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(5)	(4)
Minimal	0	0	0	0	1	0	0	3
Mild	0	0	0	0	0	0	5	1

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg]	0 (Control)		10		30		60	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Recovery:	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
Noteworthy Findings								
Increased resorption	(0)	(0)	(0)	(0)	(2)	(0)	(5)	(4)
Minimal	0	0	0	0	2	0	3	4
Mild	0	0	0	0	0	0	2	0
Kidney								
Tubular basophilia	(1)	(1)	(1)	(0)	(0)	(1)	(3)	(3)
Minimal	1	1	1	0	0	1	2	0
Mild	0	0	0	0	0	0	1	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	1
Mineralization	(0)	(1)	(1)	(1)	(0)	(5)	(2)	(4)
Minimal	0	1	1	1	0	4	1	1
Mild	0	0	0	0	0	1	1	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	2
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
Tubular dilatation	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(0)	(2)	(0)
Minimal	0	0	1	0	0	0	0	0
Mild	0	0	0	0	0	0	2	0
Chronic inflammation	(0)	(0)	(1)	(0)	(0)	(2)	(1)	(1)
Minimal	0	0	0	0	0	2	1	0
Mild	0	0	1	0	0	0	0	1
Liver								
Extramedullary hematopoiesis	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(2)	(1)
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	1

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg]	0 (Control)		10		30		60	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Recovery:	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**	**5**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**	**9**
Noteworthy Findings								
Spleen								
Increased hematopoiesis	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(3)	(4)
Minimal	0	0	0	0	0	0	3	4
Stomach								
Mineralization	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1

a One female died prematurely and one female was euthanized on Day 4 due to poor and deteriorating condition and moderate to severe changes in clinical pathology were noted prior to the death. The contributing factors to the unscheduled deaths were determined to be mineralization of the kidney and associated tubular findings in the kidney.

b For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

c Number of occurrences (Number of animals affected).

d Incidence is presented.

e Number in parentheses represent the number of animals examined.

f Friable bone was seen in the calvarium of 1 male, 3 males and 5 males receiving 10, 30 and 60 µg PTH(1-34)/kg/day, respectively, and in 2 and 3 females receiving 30 and 60 µg PTH(1-34)/kg/day, respectively. The abnormal consistency of calvarium in the male receiving 10 µg PTH(1-34)/kg/day was not considered related to administration of palopegteriparatide because the gross pathology finding was not associated with histopathological changes. Friable bone was seen generalized in 2 males receiving 30 and 60 µg PTH(1-34)/kg/day, respectively, and in 2 females receiving 60 µg PTH(1-34)/kg/day.

g Number in parentheses represent the number of animals with the findings.

- = no noteworthy findings; AUC_{0-24} = area under the curve from 0 to 24 h; BMC = bone mineral content; BMD = bone mineral density; BFR/BS = bone formation rate, surface referent; BV/TV = bone volume fraction (bone volume/total volume); BQL = below quantifiable limit; Cmax = maximum observed concentration; Ct.Wi = cortical width; CTx = C-telopeptide of type 1 collagen; DPD = Deoxypyridinoline; Ec.Pm = endocortical perimeter; Ep.Pl.Th = epiphyseal plate width; F = female; Fi.S/BS = fibroblast-like surface (fibroblast-like surface/bone surface); GLP = good laboratory practice; M = male; Me.Ar = medullary area; mPEG = methoxypolyethylene glycol; MS/BS = mineralizing surface/bone surface; NA = not applicable; NaOH = sodium hydroxide; NR = no results; OC = Osteocalcin; P1NP = Procollagen type 1 amino-terminal propeptide; PTH = parathyroid hormone; pQCT = peripheral quantitative computed tomography; SC = subcutaneous; sCa = serum calcium; sP = serum phosphate; Tb.N = trabecular number; Tb.Th = trabecular thickness.

Significantly different from control group (Group 1) value: A - $P \leq 0.05$; B - $P \leq 0.01$; C - $P \leq 0.001$ (Dunnett)
D - $P \leq 0.05$; E - $P \leq 0.01$; F - $P \leq 0.001$ (Dunn)

2.6.7.7.2　ラット 26 週間反復投与毒性試験

Report Title: A 26-Week Subcutaneous Injection Toxicity Study of TransCon PTH[a] (ACP-014) in the Albino Rat Followed by a 6-Week Recovery Period

Test Article: TransCon PTH[a], Batch No. 1068485

Test System: Sprague Dawley rats (Crl:CD(SD))

Duration of Dosing: 26 weeks

Study No.: ［6700386］

Initial Age: 8 weeks old

Duration of Postdose: 6 weeks

Location in CTD: 4.2.3.2

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Daily SC

Vehicle/Formulation: 10 mM succinic acid, 41.0 mg/mL mannitol, 3.0 mg/mL metacresol adjusted to pH 4.0 by 1 N NaOH

GLP Compliance: Yes

Special Features: Local irritation assessment, markers of bone turnover (P1NP and CTx), pharmacodynamics parameters (serum calcium, serum phosphate, and plasma endogenous PTH(1-84)), anti-PTH antibody analysis, *in vivo* bone densitometry (pQCT and DXA) and histomorphometry.

No Observed Adverse Effect Level: 10 µg PTH(1-34)/kg/day

a TransCon PTH is an internal developmental name for Palopegteriparatide

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	**0 (Control)**		**2**		**5**		**10**		**20**	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
Recovery:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**
Toxicokinetics Total PTH										
Day 1										
$AUC_{0\text{-}24}$ (h*ng PTH/mL)	NA	NA	NR	79.0	88.2	171	225	392	442	855
C_{max} (ng PTH/mL)	NA	NA	4.34	6.68	8.56	14.9	17.1	25.9	41.3	59.5
Day 91										
$AUC_{0\text{-}24}$ (h*ng PTH/mL)	NA	NA	157	318	390	736	580	1,170	1,580	3,510
C_{max} (ng PTH/mL)	NA	NA	7.74	15.6	20.0	32.9	25.4	60.4	76.8	164
Day 182										
$AUC_{0\text{-}24}$ (h*ng/mL)	NA	NA	174	282	424	772	932	1,450	1,470	2,630
C_{max} (ng PTH/mL)	NA	NA	12.4	14.3	24.7	48.2	67.6	86.3	117	128

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)		2		5		10		20	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
Recovery:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**
Toxicokinetics Free PTH										
Day 1										
AUC_{0-24} (h*pg/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1400
C_{max} (pg/mL)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	89.0
Day 91										
AUC_{0-24} (h*pg/mL)	NA	NA	NA	NA	865	984	1,450	1,890	3,300	3,720
C_{max} (pg/mL)	NA	NA	NA	NA	47.1	64.7	101	115	248	292
Day 182										
AUC_{0-24} (h*pg/mL)	NA	NA	NA	NA	1,180	1,270	2,390	2,350	4,330	4,980
C_{max} (pg/mL)	NA	NA	NA	NA	84.7	107	173	191	348	380
Toxicokinetics mPEG										
Day 1										
AUC_{0-24} (h*ng/mL)	NA	NA	NC	NC	NR	NR	3,430	5,160	5,910	8,860
C_{max} (ng/mL)	NA	NA	NC	NC	147	239	299	455	598	718
Day 91										
AUC_{0-24} (h*ng/mL)	NA	NA	19,500	22,500	40,100	47,900	79,400	84,600	177,000	223,000
C_{max} (ng/mL)	NA	NA	887	1,220	2,130	2,270	4,220	4,740	8,430	12,200
Day 182										
AUC_{0-24} (h*ng/mL)	NA	NA	16,200	23,100	44,600	46,900	81,600	85,000	151,000	220,000
C_{max} (ng/mL)	NA	NA	863	1,330	2,590	2,130	4,520	4,760	7,760	11,700
Pharmacodynamics Parameters										
Endogenous PTH(1-84)	Following administration of palopegteriparatide, concentrations of endogenous PTH(1-84) were generally similar at low doses (2 and 5 µg PTH(1-34)/kg/day for F, 2, 5 and 10 µg PTH(1-34)/kg/day for M) compared to the control animals.									

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)		2		5		10		20	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
Recovery:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**
	At 10 and 20 µg PTH(1-34)/kg/day, the concentrations of endogenous PTH(1-84) decreased with a tendency towards more values below the LLOQ on all occasions which was more marked for females compared to males. In general, at 48 h postdose on Day 182 for males (at 20 µg PTH(1-34)/kg/day for M and at 10 and 20 µg PTH(1-34)/kg/day for F) and during the recovery phase, endogenous PTH(1-84) returned to quantifiable concentrations.									
Anti-PTH Antibody[a]										
Day -6 - Predosing	0/25	0/25	0/40	0/40	0/40	0/40	0/40	0/40	0/40	2/40
Day 91 - Predose	0/25	0/25	0/40	0/40	0/40	0/40	0/40	0/40	0/40	0/40
Day 182 – 24 h postdose (Day 183)	0/25	0/25	0/40	0/39	0/40	0/40	0/39	0/40	0/39	0/40
Day 225 - End of recovery	0/13	0/13	0/27	0/27	0/28[b]	2/27	0/27	0/28	0/27	0/27
Noteworthy Findings										
Died or Euthanized Moribund[c]	0	0	1[d]	1[e]	1[e]	1[e]	1[d]	0	1[f]	1[e]
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Local Irritation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology										
Red blood cell count (10^6/µL)										
Day 90	8.848	7.971	8.747	8.042	8.733	7.910	8.703	7.871	8.333 B	7.250 C
Day 183	8.480	7.423	8.433	7.430	8.397	7.375	8.287	7.433	7.708 B	6.703 B
Hemoglobin (g/dL)										
Day 90	16.02	15.08	15.93	15.18	15.76	14.78	15.80	14.87	15.59	14.27 C
Day 183	14.22	13.57	14.43	13.56	14.11	13.46	14.15	13.66	13.64	12.99

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)		2		5		10		20	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
Recovery:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**
Hematocrit (%)										
Day 90	47.42	43.37	46.81	43.95	46.72	42.51	47.08	42.89	46.17	40.92 C
Day 183	44.98	42.09	45.34	41.92	44.78	41.70	44.82	42.20	42.97	39.76
Mean corpuscular volume (fL(μm^3))										
Day 90	53.60	54.42	53.52	54.69	53.54	53.75	54.10	54.53	55.49 B	56.50 C
Day 183	52.95	56.69	53.74	56.37	53.29	56.48	54.07	56.70	55.72 B	59.29 C
Mean corpuscular hemoglobin (pg)										
Day 90	18.13	18.95	18.22	18.89	18.06	18.71	18.18	18.89	18.72 A	19.70 C
Day 183	16.79	18.29	17.13	18.27	16.81	18.26	17.10	18.40	17.70C	19.39 C
Red blood cell distribution width (%)										
Day 90	13.97	12.02	13.33	12.05	13.50	11.97	13.65	12.11	14.44	13.16 F
Day 183	15.08	11.76	14.26	12.07	14.40	12.05	14.40	12.05	15.22	12.46 C
Platelet count ($10^3/\mu L$)										
Day 90	1131.1	1012.5	1134.0	1011.4	1194.0	1046.7	1147.9	941.5	1080.1	956.0
Day 183	1203.8	1026.5	1163.7	988.5	1186.5	995.9	1125.6	950.1	1070.4	889.4 B
White blood cell count ($10^3/\mu L$)										
Day 183	-	4.914	-	4.800	-	5.224	-	4.361	-	3.892
Neutrophil count ($10^3/\mu L$)										
Day 90	1.291	-	1.257	-	1.058	-	1.285	-	1.050	-
Lymphocyte count ($10^3/\mu L$)										
Day 183	-	3.736	-	3.469	-	3.815	-	3.312	-	2.866
Monocyte count ($10^3/\mu L$)										
Day 183	0.334	0.172	0.378	0.165	0.376	0.179	0.398	0.150	0.262	0.115

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)		2		5		10		20	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
Recovery:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**
Basophil count (10^3/µL)										
Day 183	0.025	0.011	0.027	0.010	0.027	0.010	0.027	0.010	0.020	0.007
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry										
Alkaline phosphatase (U/L)										
Day 91	78.4	41.8	77.5	37.8	81.6	41.4	93.4 A	47.4	95.6 B	59.8 F
Day 183	58.6	28.0	57.7	25.2	64.1	27.7	64.7	34.4	72.6 B	41.0 C
Sodium (mmol/L) – Day 91	142.9	142.8	143.8	143.1	145.0 B	143.4	148.0 C	145.4 C	148.4 C	147.0 C
Chloride (mmol/L) – Day 91	99.5	100.2	100.0	100.8	101.1 B	100.0	102.3 C	101.4	102.3 C	103.4 C
sCa (mg/dL)										
Day 1										
Predose (Day -6)[g]	10.65	11.07	10.60	10.89	10.47	10.89	10.46	10.94	10.53	10.89
12 h Postdose[h]	10.98	11.33	11.06	11.51	11.21	11.66 A	11.44 C	11.92 C	11.89 C	12.19 C
Day 8										
Predose[h]	11.24	11.29	11.21	11.15	10.95 B	10.98	10.74 C	10.91 A	10.75 C	11.15
12 h Postdose[h]	11.00	11.31	11.18	11.39	11.07	11.29	11.11	11.38	11.18	11.68 D
Day 28										
Predose[g]	11.16	10.97	10.95	11.15	10.83 A	10.86	11.32	11.34 B	11.21	11.24
12 h Postdose[h]	10.74	10.95	10.69	10.90	10.81	10.90	10.99 D	11.24	11.34 F	11.37 B
Day 91										
Predose[g]	10.70	10.91	10.76	10.91	10.73	11.28	10.95	11.35 D	11.44 F	11.69 F
Day 182										
24 h Postdose (Day 183)[g]	10.52	11.28	10.60	11.17	10.59	11.53	10.58	11.64	10.67	11.72

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)		2		5		10		20	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
Recovery:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**
sP (mg/dL)										
Day 1										
Predose (Day -6) [g]	10.72	9.70	10.43	8.98 B	10.57	8.93 B	10.18	9.49	10.45	9.35
12 h Postdose[h]	10.65	8.72	10.07 A	8.94	10.17	8.96	10.48	9.30	10.67	9.17
Day 8										
Predose[h]	8.40	7.63	8.53	7.28	8.00	7.10 A	7.95	6.67 C	7.04 C	6.50 C
12 h Postdose[h]	10.18	8.64	9.90	8.29	9.83	8.23	9.60 A	8.51	9.27 C	7.56 C
Day 28										
Predose[g]	8.67	6.79	8.41	6.79	8.30	6.23 A	8.78	7.13	8.61	7.08
12 h Postdose[h]	7.50	6.67	7.64	6.67	7.43	6.50	7.78	6.90	7.35	6.18
Day 91										
Predose[g]	7.30	5.83	7.15	5.63	7.00	6.17	7.35	6.15	7.64	5.65
Day 182										
24 h Postdose (Day 183) [g]	6.35	6.86	6.72	6.15	6.74	6.53	6.76	6.44	6.37	5.70
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Urine Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Markers of Bone Turnover										
Formation Marker - PINP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Resorption Marker - CTx (ng/mL)										
Day 28	32.43	21.05	36.78	22.85	39.81 D	18.74	37.33	26.08	50.73 F	30.50 B
Day 91	15.14	7.41	17.39	7.00	17.68	8.34	20.16 D	10.36	27.71 F	12.98 E
Day 183	11.30	5.20	11.45	6.29	13.27	6.18	13.01	7.14 A	16.72 C	7.69 B
Bone Densitometry – In Vivo										

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)		2		5		10		20	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
Recovery:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**
DXA										
Lumbar spine (L3-L4)										
BMC (g)										
Week 13/14	0.846	0.583	0.739 A	0.546	0.728 A	0.503	0.697 B	0.520	0.775	0.511
Week 25/26	0.968	0.645	0.884	0.599	0.836	0.558	0.825	0.553	0.942	0.563
BMD (g/cm^2)										
Week 13/14	0.286	0.258	0.262 A	0.249	0.249 C	0.233 B	0.236 C	0.233 B	0.261 A	0.231 B
Week 25/26	0.299	0.271	0.281	0.258	0.261 B	0.243 B	0.252 C	0.236 C	0.286	0.240 B
pQCT										
Tibia proximal metaphysis										
Total										
BMC (g)										
Week 13/14	13.24	9.71	12.27	9.69	12.43	8.52 D	14.22	9.05	20.42 E	11.93
Week 25/26	14.28	10.26	13.63	9.82	13.33	8.71 E	15.36	9.05	20.38 C	12.30
BMD (mg/cm^3)										
Week 13/14	533.2	833.9	528.5	822.4	524.1	799.8	594.5 C	769.1 A	693.3 C	904.3 A
Week 25/26	609.8	902.2	585.7	872.5	580.0	845.2	645.1	812.9 B	712.6 C	958.5
Trabecular										
BMC (g)										
Week 13/14	1.746	0.704	1.557	0.730	1.623	0.497	2.539	0.439	6.688 F	1.546
Week 25/26	1.662	0.722	1.706	0.640	1.526	0.415 D	2.880 B	0.401 D	6.365 C	1.713
BMD (mg/cm^3)										
Week 13/14	175.2	302.7	167.7	309.3	169.6	232.9	262.5 C	184.2 D	567.0 C	569.0

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)		2		5		10		20	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
Recovery:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**
Week 25/26	175.7	317.8	182.6	283.4	165.2	200.1	302.0 C	178.0 D	553.1 C	644.8
Cortical/subcortical										
BMC (g)										
Week 13/14	11.49	9.00	10.71	8.95	10.81	8.02	11.68	8.61	13.73 C	10.38
Week 25/26	12.62	9.54	11.93	9.17	11.80	8.30 E	12.49	8.65	14.02 A	10.60
BMD (mg/cm^3)										
Week 13/14	773.0	967.3	769.5	951.0	761.2	943.3	816.1 A	916.4	777.4	988.1
Week 25/26	899.9	1049.1	855.2	1020.3	857.1	1008.5	872.8	972.4 C	819.0 B	1037.3
Tibia diaphysis										
Total Area (mm^2)										
Week 25/26	10.64	-	10.93	-	11.41	-	11.18	-	12.25 B	-
Cortical										
BMC (mg/mm)										
Week 13/14	-	6.583	-	6.785	-	6.611	-	6.666	-	6.029
Week 25/26	-	7.082	-	7.078	-	7.096	-	7.143	-	6.691
BMD (mg/cm^3)										
Week 13/14	1240.4	1268.9	1238.2	1258.9	1237.3	1254.3	1228.6	1242.2B	1210.0C	1221.2C
Week 25/26	1277.6	1293.0	1270.1	1282.6	1264.3	1282.5	1259.5A	1264.0B	1228.0C	1230.8C
Cortical thickness (mm)										
Week 13/14	0.897	0.802	0.914	0.810	0.885	0.809	0.864	0.782	0.821 C	0.740 B
Week 25/26	0.988	0.836	0.964	0.840	0.937	0.836	0.871 C	0.829	0.819 C	0.787
Periosteal circumference (mm)										
Week 25/26	11.55	-	11.71	-	11.97	-	11.84	-	12.40 B	-

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)		2		5		10		20	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
Recovery:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**
Endosteal circumference (mm)										
Week 13/14	5.298	3.948	5.181	4.107	5.625	3.982	5.497	4.412	6.102 C	4.366
Week 25/26	5.338	3.923	5.660	3.933	6.082 A	3.987	6.367 C	4.230	7.248 C	4.450
Organ Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology[i]										
Bone – acetabulum right (No. Examined)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Thick	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Bone Marrow (No. Examined)	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Abnormal consistency; Firm	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Bone Femur (No. Examined)	12	12	12	12	12	12	12	11	11	8
Thick	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3
Irregular surface	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Focus; depressed	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1
Bone Tibia (No. Examined)	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Thick	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Histopathology[ij]										
Bone Femur (No. Examined)	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Increased bone	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(8)	(7)	(12)	(12)
Minimal	0	0	0	0	0	0	5	5	0	0
Mild	0	0	0	0	0	0	3	2	0	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
Marked	0	0	0	0	0	0	0	0	9	12

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)		2		5		10		20	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
Recovery:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**
Increased thickness; physis	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(1)	(11)	(9)
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	1	7	5
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	4	4
Dysplasia: physis	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(3)	(12)	(11)
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	3	7	0
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	5	10
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Bone – acetabulum right (No. Examined)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Increased bone	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	(1)	(1)
Mild	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0	1
Moderate	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	0
Bone Sternum (No. Examined)	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Increased bone	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(5)	(0)	(12)	(10)
Minimal	0	0	0	0	0	0	5	0	4	6
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	4	3
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	4	1
Body Cavity, Nasal (No. Examined)	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Increased resorption; bone	(0)	(0)	(6)	(8)	(8)	(11)	(8)	(12)	(12)	(12)
Minimal	0	0	6	8	8	11	8	7	7	0
Mild	0	0	0	0	0	0	0	5	5	12
Spleen (No. Examined)	12	12	NA	NA	NA	NA	NA	NA	12	12
Increased hematopoiesis;	(0)	(0)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	(1)	(3)

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)		2		5		10		20	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
Recovery:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**
extramedullary										
Minimal	0	0	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	3
Liver (No. Examined)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)	(12)
Extramedullary hematopoiesis	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(2)	(5)
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	2	5
Kidney (No. Examined)	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Mineralization	(0)	(1)	(0)	(1)	(0)	(2)	(0)	(1)	(1)	(3)
Minimal	0	1	0	1	0	2	0	1	1	2
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Undecalcified Bone Histology[ij]										
Qualitative microscopic observations										
Bone Tibia (No. Examined)	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
Dysplasia; physis	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(5)	(8)	(10)	(10)
Minimal	0	0	0	0	0	0	4	6	1	4
Mild	0	0	0	0	0	0	1	2	6	5
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1
Diffuse calcein labeling; trabecular bone	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(2)	(2)	(10)	(10)
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	2	1	2
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	7	8
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
Increased cortical porosity	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(2)	(4)	(10)
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	2	4	4

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)		2		5		10		20	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
Recovery:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
Bone Histomorphometry										
Tibial Cancellous										
BV/TV (%)	12.79	28.92	10.44	28.21	10.86	24.49	22.88 C	20.07 A	44.64 C	57.78 C
Tb.N (1/mm)	1.694	4.007	1.330	4.301	1.570	3.927	2.305	2.885 B	5.170 C	5.567 C
Tb.Sp (µm)	-	181.9	-	176.4	-	201.1	-	311.8	-	77.7 E
Tb.Th (µm)	76.7	72.2	77.5	64.6	76.4	62.1	99.0 C	69.1	88.0	105.3 C
Ep.Pl.Th (µm)	205.1	190.1	209.4	184.0	222.4	202.7	279.9 F	229.7 C	NA[k]	NA[k]
OV/BV (%)	0.290	0.003	0.535	0.029	0.634	0.057	2.542 F	0.465 D	2.113 F	0.241 E
O.Th (µm)	4.77	-	4.36	-	4.50	-	5.54	-	5.47 D	-
Omt (d)	3.62	-	2.88	-	3.04	-	2.54 B	-	2.99	-
Fi.S/BS (%)	0.25	0.30	0.93	0.56	1.89	5.65 D	54.05 F	38.66 F	89.99 F	90.66 F
OS/BS (%)	21.02	8.89	33.67	13.56	38.24	28.88	73.50 F	57.23 F	90.18 F	91.08 F
Ob.S/BS (%)	20.72	8.56	32.72	13.01	36.28	23.23	19.40	18.56	0.11 D	0.41 D
dLS/BS (%)	9.13	2.43	14.11	3.17	20.29 C	1.85	30.81 C	7.72	17.90 B	11.18 E
MS/BS (%)	21.04	15.13	24.21	15.83	31.10 A	16.59	40.46 C	23.55 A	35.45 C	37.40 C
MAR (µm/d)	1.341	1.226	1.549	1.156	1.497	1.018	2.213 F	1.726 A	1.856 F	1.423
BFR/BV (%/y)	268.1	-	354.1	-	447.1 D	-	666.3 F	-	552.3 E	-
BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/y$)	104.3	69.1	138.1	69.8	172.0	64.1	329.9 F	147.2 B	242.3 E	197.2 C
Tibial Cortical										
Ct.Wi (µm)	936.1	735.5	887.2 A	735.2	822.7 C	717.0	783.6 C	687.1 A	716.1 C	683.7 A
Me.Ar (mm^2)	1.577	1.014	1.678	1.091	2.059 A	1.073	2.114 B	1.425 B	2.789 C	1.349 A
Ec.Pm (mm)	5.736	4.649	5.927	4.807	6.537 A	4.897	6.721 B	5.526 B	7.785 C	5.798 C

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)		2		5		10		20	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
Recovery:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**
Ct.Ar (mm^2)	7.013	-	6.773	-	6.422 B	-	6.186 C	-	6.033 C	-
Ec.E.Pm/Ec.Pm (%)	3.671	0.834	3.149	1.403	5.639	1.058	7.042 B	3.296 D	6.886 B	4.646 E
Ec.dL.Pm/Ec.Pm (%)	0.57	0.65	1.64	0.25	2.04	0.87	7.66 F	0.89	13.50 F	5.99 E
Ec.L.Pm/Ec.Pm (%)	8.24	4.33	9.15	4.76	9.81	6.98	16.16 D	5.69	20.78 F	15.20 F
Ec.MAR (µm/d)	0.536	0.356	0.906	0.290	1.203	0.535	1.659 E	0.628	1.987 F	1.858 F
Ec.BFR/BS ($µm^3/µm^2/y$)	18.2	6.8	32.1	5.0	44.6	16.9	102.2 E	16.5	154.4 F	110.4 F
Postdose Evaluation (recovery)										
Hematology – Day 225										
Red blood cell count (10^6/µL)	8.010	6.907	7.789	6.989	7.975	6.896	7.913	6.923	7.566	6.419 D
Mean corpuscular volume (fL($µm^3$))	52.16	55.66	52.78	56.27	52.67	55.55	52.96	56.13	54.04	58.64 B
Mean corpuscular hemoglobin (pg)	17.03	18.68	17.30	18.60	17.19	18.67	17.18	18.60	17.60	19.70 B
Markers of Bone Turnover										
Resorption Marker – CTx (ng/mL)										
Day 204	11.37	4.87	11.93	6.58	13.02	7.09 B	13.26	5.58	13.48	6.33
Day 225	9.52	4.55	10.73	5.11	11.54	5.70	12.12	4.62	10.69	4.17
Bone Densitometry – In Vivo										
DXA										
Lumbar spine (L3-L4) - Week 32										
Area (cm^2)	3.174	-	3.130	-	3.362	-	3.370	-	3.516	-
BMC (g)	0.938	-	0.876	-	0.952	-	0.940	-	1.232 B	-
BMD (g/cm^2)	0.294	-	0.280	-	0.283	-	0.279	-	0.350	-
pQCT										
Proximal tibia metaphysis										

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)		2		5		10		20	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
Recovery:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**
- Week 32										
Total										
Area (mm^2)	23.10	11.18	23.56	11.09	25.07	10.75	25.02	11.48	29.23 E	12.12
BMC (g)	13.92	10.15	14.52	9.98	15.38	9.37	16.70 D	10.14	25.54 F	13.06
BMD (mg/cm^3)	602.6	908.0	616.7	900.8	613.7	873.8	667.3	881.4	874.8 E	1074.8
Trabecular										
BMC (g)	1.654	0.674	1.868	0.680	1.810	0.400	2.868	0.614	8.020 E	1.762
BMD (mg/cm^3)	177.2	301.7	198.1	304.3	180.2	185.3	285.4	259.6	684.8 E	719.1
Cortical/subcortical										
BMC (g)	12.26	9.47	12.66	9.30	13.57	8.97	13.84	9.534	17.52 F	11.30
BMD (mg/cm^3)	886.1	1059.6	896.1	1051.1	904.4	1047.3	921.9	1037.0	1001.5C	1163.5B
Tibia diaphysis - Week 32										
Total Area (mm^2)	11.02	-	10.88	-	12.24	-	11.44	-	12.95 A	-
Cortical										
BMD (mg/cm^3)	-	1304.7	-	1288.0	-	1294.1	-	1271.7A	-	1271.5A
Periosteal circumference (mm)	11.75	-	11.69	-	12.39	-	11.98	-	12.75 A	-
Endosteal circumference (mm)	5.779	-	5.504	-	6.216	-	6.152	-	7.038 B	-
Gross Pathology [i]										
Bone – calvarium (No. Examined)	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Thick	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1	NA
Bone Femur (No. Examined)	10	10	9	10	10	10	9	10	9	10
Thick	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Histopathology[ij]										

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)		2		5		10		20	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**	**12**
Recovery:	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**	**10**
Toxicokinetic:	**3**	**3**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**	**18**
Body Cavity, Nasal (No. Examined)	10	10	9	10	10	10	9	10	9	10
Increased resorption; bone	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(4)	(7)	(6)	(6)
Minimal	0	0	0	0	0	0	4	7	6	6
Bone Femur (No. Examined)	10	10	9	10	10	10	9	9	9	10
Increased bone	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(6)	(4)	(9)	(9)
Minimal	0	0	0	0	0	0	6	2	0	0
Mild	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0
Moderate	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2
Marked	0	0	0	0	0	0	0	0	4	7
Increased thickness; physis	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(1)
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Dysplasia: physis	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(1)	(0)	(7)	(7)
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	0	1	2
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	6	5
Bone Sternum (No. Examined)	10	10	9	10	10	10	9	10	9	10
Increased bone	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(2)	(0)	(9)	(8)
Minimal	0	0	0	0	0	0	2	0	7	5
Mild	0	0	0	0	0	0	0	0	2	3

a Animal positive/Total of animals. Confirmed positive anti-PTH antibodies were observed in 4 out of 320 rats but did not appear to affect the exposure in these animals. No difference was identified between the main and TK study animals.

b Analysis of Animal No. 3040 performed on Day 224 due to its unscheduled euthanasia.

c There were no preterminal deaths related to the administration of palopegteriparatide during the dosing or recovery period.

d Preterminal deaths during dosing period.

e Preterminal death of toxicokinetic animals.

f Preterminal deaths during recovery period.

g Animals were fasted.
h Animals were not fasted.
i Incidence is presented.
j Numbers in parentheses represent the number of animals with the finding.
k Measurement of Ep.Pl.Th was not considered appropriate in one or both sections levels due to the extent of physeal dysplasia at 20 µg PTH(1-34)/kg/day.
- = no noteworthy findings; AUC_{0-24} = area under the curve from 0 to 24 h; AUC_{0-t} = area under the concentration vs time curve from the start of dose administration to the time after dosing at which the last quantifiable concentration was observed; BFR = bone formation rate; BFR/BS = BFR, surface referent; BFR/BV = BFR, volume referent; BQL = below quantifiable limit; BV/TV = bone volume fraction (bone volume/total volume); BMC = bone mineral content; BMD = bone mineral density; Cmax = maximum observed concentration; Ct.Ar = cortical area; Ct.Wi = cortical width; CTx = C-telopeptide of type 1 collagen: dLS/BS = double label surface (double label surface/bone surface); DXA = dual Energy X-Ray Absorptiometry; Ec.BFR/BS = endocortical BFR surface referent; Ec.dL.Pm/Ec.Pm = endocortical double label surface; Ec.E.Pm/Ec.Pm = endocortical eroded perimeter/endocortical perimeter (endocortical eroded surface); Ec.L.Pm/Ec.Pm = endocortical labeled surface; Ec.MAR = endocortical mineral apposition rate; Ec.Pm = endocortical perimeter; Ep.Pl.Th = epiphyseal plate width; F = female; Fi.S/BS = fibroblast-like surface (fibroblast-like surface/bone surface); GLP = good laboratory practice; LLOQ = lower level of quantification; M = male, MAR = mineral apposition rate; Me.Ar = medullary area; mPEG = methoxypolyethylene glycol; MS/BS = mineralizing surface; NA = not applicable; NaOH = sodium hydroxide; NC = not calculated; NR = results not reported (less than 3 quantifiable concentrations of Total PTH at separate time points); Omt = osteoid maturation time; Ob.S/BS = osteoblast surface (osteoblast surface/bone surface); O.Th = osteoid thickness; OS/BS = osteoid surface (osteoid surface/bone surface); OV/BV = osteoid volume (osteoid volume/bone volume); P1NP = Procollagen type 1 amino-terminal propeptide; pQCT = peripheral quantitative computed tomography; PTH = parathyroid hormone; SC = subcutaneous; sCa = serum calcium; sP = serum phosphate; Tb.N = trabecular number; Tb. Sp = trabecular separation; Tb. Th = trabecular thickness.
Significantly different from control group (Group 1) value: A - $P \leq 0.05$; B - $P \leq 0.01$; C - $P \leq 0.001$ (Dunnett)
D - $P \leq 0.05$; E - $P \leq 0.01$; F - $P \leq 0.001$ (Dunn)

2.6.7.7.3　サル 4 週間反復投与毒性試験

Report Title: A 28-Day Subcutaneous Injection Toxicity Study of TransCon PTH[a] (ACP-014) in the Cynomolgus Monkey with a 2-Week Recovery Period

Test Article: TransCon PTH[a], Batch No. 1065160

Test System: Cynomolgus mauritius monkeys (*Macaca fascicularis*)

Duration of Dosing: 4 weeks

Study No.: ［6700372］

Initial Age: 2.25 to 2.75 years old

Duration of Postdose: 2 weeks

Location in CTD: 4.2.3.2

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Daily SC injection

Vehicle/Formulation: 10 mM succinic acid, 41.0 mg/mL mannitol, 3.0 mg/mL metacresol adjusted to pH 4.0 by 1 N NaOH

GLP Compliance: Yes

Special Features: Local irritation assessment, electrocardiology (quantitative and qualitative), markers of bone turnover (P1NP, BAP, CTx and NTx), pharmacodynamics parameters (serum calcium , serum phosphate and endogenous PTH(1-84)), anti-PTH antibody analysis, and ex vivo bone densitometry (pQCT).

No Observed Adverse Effect Level: 1.5 µg PTH(1-34)/kg/day

a TransCon PTH is an internal developmental name for Palopegteriparatide

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	**0 (Control)**		**0.2**		**0.5**		**1.5**	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**
Recovery:	**0**	**0**	**2**	**2**	**0**	**0**	**2**	**2**
Toxicokinetics[a]								
Total PTH								
Day 1								
AUC_{0-24} (h*ng PTH/mL)		NA		31.3		78.8		261
C_{max} (ng PTH/mL)		NA		1.66		4.22		14.1
Day 28								
AUC_{0-24} (h*ng PTH/mL)		NA		85.3		250		765
C_{max} (ng PTH/mL)		NA		4.27		12.4		36.1
Free PTH								
Day 1								

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)		0.2		0.5		1.5	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**
Recovery:	**0**	**0**	**2**	**2**	**0**	**0**	**2**	**2**
$AUC_{0\text{-}24}$ (h*pg/mL)	NA		NA		NA		NC	
C_{max} (ng/mL)	NA		NA		NA		20.0	
Day 28								
$AUC_{0\text{-}24}$ (h*pg/mL)	NA		NA		NA		413	
C_{max} (ng/mL)	NA		NA		NA		22.3	
mPEG								
Day 1								
$AUC_{0\text{-}24}$ (h*ng/mL)	NA		451		983		3,240	
C_{max} (ng/mL)	NA		25.1		52.2		170	
Day 28								
$AUC_{0\text{-}24}$ (h*ng/mL)	NA		2,070		5,140		16,200	
C_{max} (ng/mL)	NA		99.1		243		740	
Pharmacodynamics								
EndogenousPTH(1-84)	Following administration of palopegteriparatide at 0.2, 0.5, and 1.5 µg PTH(1-34)/kg, the mean endogenous PTH(1-84) concentrations in plasma generally decreased on Days 1, 8, 14, and 28. The concentration of endogenous PTH(1-84) decreased with increasing dose, but was impacted by the drug interference of Total PTH in the assay. A larger decrease below baseline of endogenous PTH(1-84) was generally observed for males compared to females which may be due to the lower baseline observed for the females in the treatment groups.							
Anti-PTH Antibody[b]								
Day 1 – Predosing	NA	NA	0/5	0/5	0/3	0/3	0/5	0/5
Day 14 – Predosing	NA	NA	0/5	0/5	0/3	0/3	0/5	0/5
Day 28 - 24 h Postdosing	NA	NA	0/5	0/5	0/3	0/3	0/5	0/5
Week 6 - Recovery period	NA	NA	0/2	0/2	NA	NA	0/2	0/2

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)		0.2		0.5		1.5	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**
Recovery:	**0**	**0**	**2**	**2**	**0**	**0**	**2**	**2**
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Evaluation	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiology	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Local Irritation	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry								
sCa (mg/dL)								
Day 1[c]								
Predose	10.60	10.33	10.60	10.60	10.33	10.77	10.36	10.12
8 h postdose	11.00	10.50	10.62	10.48	10.67	11.30	11.06	11.22
12 h postdose	11.70	11.23	11.56	10.96	11.80	11.33	12.02	11.68
Day 8[c]								
Predose	10.73	10.77	10.66	10.66	10.63	10.77	11.80	11.80
8 h postdose	10.73	11.30	11.16	10.74	11.17	11.57	12.96 E	13.04
12 h postdose	12.17	11.43	11.92	11.50	11.73	11.60	13.28	12.84 D
Day 15								
Predose[d]	10.60	10.10	10.28	10.18	10.80	10.23	11.52	11.08 B
8 h postdose[c]	11.13	10.97	10.98	11.12	11.07	10.90	12.50 A	12.76 D

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)		0.2		0.5		1.5	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**
Recovery:	**0**	**0**	**2**	**2**	**0**	**0**	**2**	**2**
12 h postdose[c]	11.20	11.53	10.78	11.26	10.83	10.93	12.48	12.48
Day 22[c]								
Predose	11.03	10.77	10.90	10.26	11.10	10.50	12.00	11.38
8 h postdose	11.53	11.70	11.30	10.94	11.47	11.67	13.14 A	12.96 A
12 h postdose	12.10	11.57	11.68	11.26	12.00	11.77	13.18	12.82 A
Day 28								
Predose[d]	10.60	10.77	10.22	10.42	10.53	10.63	10.98	11.50 A
8 h postdose[c]	11.43	11.10	11.40	10.92	11.30	11.23	12.86	12.96 D
12 h postdose[c]	11.13	10.37	11.22	10.82	11.10	11.23	12.24 A	12.22 D
sP (mg/dL)								
Day 1[c]								
Predose	6.07	5.90	6.34	5.86	6.40	5.80	5.78	5.56
8 h postdose	5.63	4.90	5.94	5.42	5.93	5.23	6.06	5.86
12 h postdose	6.50	6.03	6.68	6.32	6.80	5.93	6.24	5.92
Day 8[c]								
Predose	6.00	5.53	6.04	5.78	6.13	4.53	4.86	4.76
8 h postdose	5.37	5.53	5.32	5.32	5.23	5.03	4.44	5.02
12 h postdose	7.57	8.43	7.26	7.18	6.33 A	6.20 A	5.56 C	5.72 B
Day 15								
Predose[d]	6.00	5.97	6.90	6.22	7.20	6.07	5.84	5.86
8 h postdose[c]	5.27	5.17	5.98	5.34	6.17	5.83	4.76	4.14
12 h postdose[c]	6.83	7.37	7.12	6.62	6.77	6.23	5.30 A	5.18 B

Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)		0.2		0.5		1.5	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**	**3**
Recovery:	**0**	**0**	**2**	**2**	**0**	**0**	**2**	**2**
Day 22[c]								
Predose	5.97	6.30	6.26	5.74	6.33	4.50	4.78	4.28 D
8 h postdose	5.93	5.53	5.66	5.50	6.20	4.80	4.62	3.82 C
12 h postdose	7.00	6.93	7.10	6.60	6.57	5.43 B	4.84 A	4.88 C
Day 28								
Predose[d]	6.83	5.57	7.26	5.32	7.43	5.53	6.52	5.16
8 h postdose[c]	5.27	4.33	6.20	5.02	6.10	4.27	5.42	4.36
12 h postdose[c]	7.60	6.23	8.08	5.78	7.37	5.53	6.22	4.40 B
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Urine Chemistry	-	-	-	-	-	-	-	-
Biochemical Markers of Bone Turnover								
Formation Markers	-	-	-	-	-	-	-	-
Resorption Markers	-	-	-	-	-	-	-	-
Bone Mineral Densitometry - Ex Vivo	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Postdose Evaluation (Recovery)	-	-	-	-	-	-	-	-

a Medians are presented for t_{max} and means are presented for C_{max} and AUC_{0-24}

b Animal positive/Total of animals

c Animals were not fasted

d Animals were fasted

- = no noteworthy findings; AUC_{0-24} = area under the curve from 0 to 24 h; BAP = bone alkaline phosphatase; C_{max} = maximum observed concentration; CTx = C-telopeptides of type 1 collagen; F = female; GLP = good laboratory practice; M = male; mPEG = methoxypolyethylene glycol; NA = not applicable; NaOH = sodium hydroxide; NC = not calculated; NTx = Cross-Linked N-Telopeptides of Type 1 Collagen; PINP = procollagen type 1 amino-terminal propeptide; pQCT = peripheral quantitative computed tomography; PTH = parathyroid hormone; SC = subcutaneous; sCa = serum calcium; sP = serum phosphate; t_{max} = time to reach maximum observed concentration.

Significantly different from control group (Group 1) value: A - P ≤ 0.05; B - P ≤ 0.01; C - P ≤ 0.001 (Dunnett)
D - P ≤ 0.05; E - P ≤ 0.01; F - P ≤ 0.001 (Dunn)

2.6.7.7.4　サル 26 週間反復投与毒性試験

Report Title: A 26-Week Subcutaneous Injection Toxicity Study of TransCon PTH[a] (ACP-014) in the Cynomolgus Monkey Followed by a 13-Week Recovery Period

Test Article: TransCon PTH[a], Batch No. 1070215

Test System: Cynomolgus mauritius monkeys (*Macaca fascicularis*)

Duration of Dosing: 26 weeks

Study No.: ［6700387］

Initial Age: 2 to 3.5 years old

Duration of Postdose: 13 weeks

Location in CTD: 4.2.3.2

Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]

Method of Administration: Daily SC injection

Vehicle/Formulation: 10 mM succinic acid, 41.0 mg/mL mannitol, 3.0 mg/mL metacresol adjusted to pH 4.0 by 1 N NaOH

GLP Compliance: Yes

Special Features: Local irritation assessment, electrocardiology (quantitative and qualitative), markers of bone turnover (P1NP and CTx), pharmacodynamics parameters (serum calcium, serum phosphate and plasma endogenous PTH(1-84)), anti-PTH and anti-PEG-antibody analysis, and in vivo bone densitometry (pQCT and DXA).

No Observed Adverse Effect Level: 0.5 µg PTH(1-34)/kg/day

a TransCon PTH is an internal developmental name for Palopegteriparatide

Dose [µg PTH(1-34)/kg]	**0 (Control)**		**0.2**		**0.5**		**1.5/1.0[a]**	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**
Recovery:	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**
Toxicokinetics - Total PTH								
Day 1								
AUC_{0-24} (h*ng PTH/mL)	NA		33.6		79.9		238	
C_{max} (ng PTH/mL)	NA		1.77		4.12		12.3	
t_{max} (h)[b]	NA		8		12		15	
Day 91								
AUC_{0-24} (h*ng PTH/mL)	NA		92.9		265		495	
C_{max} (ng PTH/mL)	NA		4.37		12.4		23.4	
t_{max} (h)[b]	NA		8		4		6	

Dose [µg PTH(1-34)/kg]	0 (Control)		0.2		0.5		1.5/1.0[a]	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**
Recovery:	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**
Day 182								
AUC_{0-24} (h*PTH ng/mL)	NA		111		298		561	
C_{max} (ng PTH/mL)	NA		5.27		13.7		25.9	
t_{max} (h)[b]	NA		4		6		6	
Toxicokinetics – Free PTH	Following administration of palopegteriparatide, plasma concentrations of Free PTH were not reportable on Day 1. On Day 91, only one male and one female (Animal Nos. 4005 and 4502, respectively) had reportable concentrations of Free PTH throughout the 24 h sampling period. On Day 182, only one female (Animal No. 4502) had reportable concentrations of Free PTH up to the 24 h time point. Of note, in Animal No. 4502, Free PTH(1-34) and Free PTH(1-33) plasma concentrations were notably higher compared to its dose-matched counterparts and males. This female (Animal No. 4502) was confirmed positive for anti-PTH antibodies on Days 91 and 182.							
Toxicokinetics – mPEG								
Day 1								
AUC_{0-24} (h*ng/mL)	NA		376		1,050		2,970	
C_{max} (ng/mL)	NA		20.7		56.8		161	
t_{max} (h)[b]	NA		24		24		24	
Day 91								
AUC_{0-24} (h*ng/mL)	NA		3,080		8,730		12,700	
C_{max} (ng/mL)	NA		138		391		595	
t_{max} (h)[b]	NA		4		3		4	
Day 182								
AUC_{0-24} (h*ng/mL)	NA		2,310		6,480		11,400	
C_{max} (ng/mL)	NA		107		299		528	
t_{max} (h)[b]	NA		4		4		3	

Dose [µg PTH(1-34)/kg]	0 (Control)		0.2		0.5		1.5/1.0[a]	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**
Recovery:	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**
Pharmacodynamics	Following administration of palopegteriparatide, the mean endogenous PTH(1-84) concentrations were generally similar to control at 0.2 µg PTH(1-34)/kg/day on Days 1, 91 and 182 whereas at 0.5 and 1.5/1.0 µg PTH(1-34)/kg, a dose dependent decrease was observed for males and females with concentration below LLOQ on many occasions. During the recovery period, the mean endogenous PTH(1-84) concentrations generally returned to quantifiable concentrations comparable to predose sample and control animals. No apparent sex difference in endogenous PTH(1-84) was observed.							
Anti-PTH Antibody[c]	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	1/6
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund[d]	0	0	0	0	0	0	0	1
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Appetence	-	-	-	-	-	-	-	-
Local Irritation	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology	-	-	-	-	-	-	-	-
Coagulation	-	-	-	-	-	-	-	-
Serum Chemistry								
sCa, 12 h postdose (mg/dL)								
Day 1	11.78	11.10	11.37	11.15	11.63	11.18	12.80B	12.12C
Day 8	11.70	11.33	11.37	11.42	11.87	11.22	14.08C	13.80C
Day 15	11.00	11.65	11.07	11.33	11.27	11.55	13.75C	14.17C
Day 29	NA[e]	10.98	NA[e]	11.25	NA[e]	11.13	NA[e]	11.80
Day 57	11.18	10.96	10.97	10.88	11.33	10.93	12.08B	11.48

Dose [µg PTH(1-34)/kg]	0 (Control)		0.2		0.5		1.5/1.0[a]	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**
Recovery:	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**
Day 91	10.92	10.68	10.75	10.90	11.72	11.00	12.28B	11.86A
sP, 12 h postdose (mg/dL)								
Day 1	6.32	6.20	6.37	5.93	5.80	5.43	6.77	5.72
Day 8	6.97	6.15	6.65	5.93	5.93A	5.35	5.48B	4.52B
Day 15	7.22	6.83	6.45	6.02	6.00A	5.40A	4.60C	4.27C
Day 29	7.92	6.20	6.48A	5.52	6.98	5.23	5.37C	4.60A
Day 57	7.15	8.03	6.73	6.15	6.12B	5.83D	5.80C	6.62
Day 91	6.27	4.90	7.22	5.82	6.47	5.08	5.95	5.24
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Urine Chemistry								
Phosphate Fractional Excretion (%)								
Day 15	1.593	6.087	1.892	4.767	2.410	3.652	10.003	11.325
Biochemical Markers of Bone Turnover								
Bone Formation Marker - P1NP (µg/L)								
Day 29	-	2,137	-	1,379	-	1,746	-	2,112
Day 91	-	1,269	-	1,117	-	1,294	-	1,875
Bone Densitometry								
Lumbar Spine (L1-L4) - DXA	-	-	-	-	-	-	-	-
Right Tibia - pQCT								
Proximal Metaphysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Diaphysis								
Cortical BMD (mg/cm3)								
Week 25/26	1,018	1,054	1,021	1,077	998	1,063	982	1,056

Dose [µg PTH(1-34)/kg]	0 (Control)		0.2		0.5		1.5/1.0[a]	
Number of Animals/Sex/Group:	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**	**M**	**F**
Main:	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**
Recovery:	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**	**2**
Organ Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology[f]								
Number of animals examined	4	4	4	4	4	4	4	4
Bone								
Focus; depressed (left acetabulum)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1
Irregular surface (left acetabulum)	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	1
Bone, Femur								
Thick (articular capsule of the femoroacetabular articulations)	0	0	0	0	0	0	0	1
Material accumulation; clot (acetabulum)	0	0	0	0	0	0	0	1
Focus; depressed (femoral heads)	0	0	0	0	0	0	0	1
Focus; raised (femoral heads)	0	0	0	0	0	0	0	1
Irregular surface (femoral heads)	0	0	0	0	0	0	0	1
Histopathology[f]								
Number of animals examined	4	4	4	4	4	4	4	4
Bone, Femur								
Degenerative joint disease								
Severe	0	0	0	0	0	0	0	1
Postdose Evaluation (Recovery)	-	-	-	-	-	-	-	-

a Following the preterminal death, as a preventive measure and since sustained elevated sCa levels were observed in most animals administered 1.5 µg PTH(1-34)/kg/day, the dose level of high dose animals was lowered from 1.5 µg PTH(1-34)/kg/day to 1.0 µg PTH(1-34)/kg/day. 1.5 µg PTH(1-34)/kg/day was administered from Day 1 to Day 24 (F) or Day 25 (M). 1.0 µg PTH(1-34)/kg/day was administered from Day 25 (F) or Day 26 (M) to the end of the dosing period (Day 182).

b Medians are shown.

c Animal positive/Total of animals.

d One female that was administered 1.5 µg PTH(1-34)/kg/day was found dead on Day 24. Consistent with continuous exposure to PTH, serum calcium levels were markedly elevated (up to 15.1 mg/dL, mean predose values were 10.6 mg/dL) and may have contributed to the preterminal death of this animal. Microscopically, minimal hepatocellular necrosis and mixed inflammatory cell infiltrates in the liver, minimal mononuclear cell infiltrates and minimal tubular mineralization in the kidney, minimal perivascular infiltrates of pigmented macrophages in the brain, and mild focal unilateral thrombosis in the ovary were observed. A definitive cause of death could not be formally established, although sustained elevated serum calcium levels have been reported to induce sudden death.

e Due to technical difficulties during analysis of the samples, no results are available for interpretation.

f Incidence is presented.

- = no noteworthy findings; AUC_{0-24} =area under the curve from 0 to 24 h; BMD = bone mineral density; C_{max} = maximum observed concentration; CTx = C-telopeptides of type 1 collagen; DXA = dual energy X-Ray absorptiometry; F = female; GLP = good laboratory practice; LLOQ = lower limit of quantification; M = male; mPEG = methoxypolyethylene glycol; NA = not applicable; NaOH = sodium hydroxide; P1NP = procollagen type 1 amino-terminal propeptide: PEG = polyethylene glycol; PTH = parathyroid hormone; PTH(1-84) = parathyroid hormone (1-84); pQCT = peripheral quantitative computed tomography; SC = subcutaneous; sCa = serum calcium; sP = serum phosphate; tmax = time to reach maximum observed concentration.

Significantly different from control group (Group 1) value: A - $P \leq 0.05$; B - $P \leq 0.01$; C - $P \leq 0.001$ (Dunnett)
D - $P \leq 0.05$; E - $P \leq 0.01$; F - $P \leq 0.001$ (Dunn)

2.6.7.8 in vitro 遺伝毒性試験

2.6.7.8.1 細菌を用いる復帰突然変異試験

Report Title: Partly Hydrolyzed TransCon PTHa (ACP-014): Bacterial Reverse Mutation Test in Salmonella Typhimurium and Escherichia Coli

Test Article: TransCon PTHa after in vitro incubation at physiological conditions, 56.2% of PTH(1-34) was released, Batch No. HD-GM1-000339.001

Test for Induction of: Reverse mutation in bacterial cells

No. of Independent Assays: 2

Study No.: ［9601550］

Strains: *S. typhimurium and E. coli*[b]

No. of Replicate Cultures: 3[c]

Location in CTD: 4.2.3.3.1

Metabolizing System: Aroclor 1254-induced rat liver S9

No. of Cells Analyzed/Culture: NA

Vehicles: **For Test Article:** Buffer[d]

For Positive Controls: DMSO for all positive controls

GLP Compliance: Yes

Treatment: Plate incorporation

Date of Treatment: [redacted] 20[redacted] (initial test) and [redacted] 20[redacted] (supplemental test)

Cytotoxic Effects: None

Genotoxic Effects: Equivocal for TA 98 and TA 100

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level[e] (µg/Plate)	TA1535	TA1537	TA98	TA100	WP2 *uvrA*
Without Activation							
	Buffer	-	20±5	13±2	28±3	120±8	45±0
	Test Item	50	11±1	15±0	23±5	126±17	40±4
		158	22±5	12±6	32±4	128±18	46±15
		500	18±2	17±6	27±3	99±4	41±7
		1581	15±4	12±3	25±6	108±10	43±8
		5000	18±3	13±4	38±9	129±5	44±9
	NaAz	0.5	439[f]±10			528[f]±29	
	9AC	50		428[f]±12			

Metabolic Activation	Test Article	Dose Level[e] (µg/Plate)					
	2NF	1			121[f]±8		
	NQO	0.5					274[f]±28
With Activation	Buffer	-	19±3	16±3	41±6	158±7	50±5
Initial test	Test Item	50	15±3	16±2	35±9	136±22	45±5
		158	18±2	15±2	34±10	150±8	51±9
		500	22±7	24±7	38±9	130±11	42±11
		1581	17±5	19±5	55±4	191±13	56±18
		5000	27±4	19±5	81[f]±19	248[g]±8	54±6
	2AA	5	291[f]±19				
	2AA	20					133[f]±9
	BaP	5		84[f]±8	318[f]±5	878[f]±26	
With Activation	Buffer	-			41±13	130±8	
Supplemental test	Test Item	889			54±12	142±13	
		1581			63±11	163±13	
		2812			72[g]±11	185±12	
		5000			76[g]±16	205[g]±16	
	BaP	5			427[f]±7	1234[f]±131	

a TransCon PTH is an internal developmental name for palopegteriparatide.

b Salmonella typhimurium TA1535 hisG46 rfa ΔuvrB, Salmonella typhimurium TA1537 hisC3076 rfa ΔuvrB, Salmonella typhimurium TA98 hisD3052 rfa, ΔuvrB pKM101, Salmonella typhimurium TA100 hisG46 rfa ΔuvrB pKM101 and Escherichia coli WP2 trp uvrA.

c 3 replicate plates were used throughout, except for the supplemental test where 5 replicate plates were used for the Buffer and Test Item groups.

d Succinate buffer (6.4 mM succinate, 26 g/L mannitol, 72 mM phosphate, 0.2 w% metacresol, pH 7.9).

e Dose levels are expressed as TransCon PTHa drug substance prior to incubation.

f Substantial increase in revertant colony counts (≥ 2-fold) compared to concurrent negative control (Buffer).

g Count outside normal limits based on historical control values (in excess of the 98% tolerance limit).

- = no noteworthy findings; 2AA = 2-Aminoanthracene; 2NF = 2-Nitrofluorene; 9AC = 9-Aminoacridine hemihydrate; BaP = benzo(a)pyrene; DMSO = dimethyl sulfoxide; GLP = good laboratory practice; NA = not applicable; NaAz = sodium azide; NQO = 4-Nitroquinoline N-oxide; PTH = parathyroid hormone.

2.6.7.8.2　哺乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

Report Title: Partly Hydrolyzed TransCon PTH[a] (ACP-014):
In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test in Human Peripheral Blood Lymphocytes

Test Article: TransCon PTH[a] after in vitro incubation at physiological conditions, 56.2% of PTH(1-34) was released, Batch No. HD-GM1-000339.001

Test for Induction of: Chromosome aberration

No. of Independent Assays: 1

Study No.: ［9601551］

Strains: Primary human peripheral lymphocyte

No. of Replicate Cultures: 2

Location in CTD: 4.2.3.3.1

Metabolizing System: Phenobarbital / 5,6-Benzoflavone-induced rat liver S9

No. of Cells Analyzed/Culture: 150

Vehicles: **For Test Article:** Buffer[b] **For Positive Controls:** Water

GLP Compliance: Yes

Treatment: 4 h treatment (initial) and 21 h treatment (confirmatory)

Date of Treatment: [redacted]20[redacted]

Cytotoxic Effects: None

Genotoxic Effects: None

Metabolic Activation	Test Article	Concentration[c] (µg/mL)	Cytotoxicity[d] (% of Control)	Aberrant Cells (Mean %)[e]	Aberrations per Cell[e]	Total Polyploid Cells	Total Endoreduplicated Cells
4 h treatment							
Without Activation	Buffer	-	100	0.0	0.000	0	0
	Test Item	125	80	0.7	0.007	0	0
		250	82	0.3	0.003	0	0
		500	101	0.7	0.007	0	0
With Activation							
	Buffer	-	100	2.7	0.027	0	0
	Test Item	125	98	2.0	0.020	0	0
		250	108	2.0	0.027	0	0
		500	135	2.0	0.020	0	1

Metabolic Activation	Test Article	Concentration[c] (µg/mL)	Cytotoxicity[d] (% of Control)	Aberrant Cells (Mean %)[e]	Aberrations per Cell[e]	Total Polyploid Cells	Total Endoreduplicated Cells
		4.0	98	15.7B	0.197	0	0
21 h Treatment							
Without Activation	Buffer	-	100	1.3	0.013	0	0
	Test Item	125	89	2.3	0.023	0	0
		250	93	3.0	0.030	0	0
		500	99	2.7	0.027	0	0
	MMC	0.05	57	9.3B	0.103	0	0

a TransCon PTH is an internal developmental name for palopegteriparatide.

b Succinate buffer (6.4 mM succinate, 26 g/L mannitol, 72 mM phosphate, 0.2 w% metacresol, pH 7.9).

c Dose level expressed as TransCon PTH[a] drug substance prior to incubation.

d Mitotic index relative to concurrent negative control (buffer) for at least 500 cells per culture analyzed.

e Does not include cells with only gap, polyploidy or endoreduplication.

A = $p \leq 0.05$, B = $p \leq 0.01$, otherwise $p > 0.05$ Fisher's exact test with single-sided probabilities (not significant), MMC = mitomycin C; PTH = parathyroid hormone.

2.6.7.9 in vivo 遺伝毒性試験

Report Title: A 28-Day Subcutaneous Injection Toxicity Study of TransCon PTH[a] (ACP-014) in the Albino Rat with a 2-Week Recovery Period

Test Article: TransCon PTH[a], Batch No. 1065160

Test for Induction of: Micronuclei in bone marrow

Treatment Schedule: Daily for 28 days

Study No. ［6700371］

Test System: Sprague Dawley rats (Crl:CD(SD))

Sampling Time: Necropsy (day following last dose)

Location in CTD: 4.2.3.2

Age: 8 weeks old

Method of Administration: Daily SC

Cells Evaluated: Immature erythrocytes

Vehicle/Formulation: 10 mM succinic acid, 41.0 mg/mL mannitol, 3.0 mg/mL metacresol adjusted to pH 4.0 by 1 N NaOH

GLP Compliance: Yes

No. of Cells Analyzed/Animal: 4,000

Date of Dosing:
[redacted] 20[redacted] ([redacted])
20[redacted] ([redacted])

Special Features: None

Toxic/Cytotoxic Effects: Administration at 60 µg PTH(1-34)/kg/day resulted in 2 female mortalities. However, there were no substantial decreases in the proportion of immature erythrocytes, indicating that palopegteriparatide was non-toxic to the bone marrow at the dose levels tested.

Genotoxic Effects: None (no palopegteriparatide-related substantial increases in the incidence of MIE were noted) compared to the Reference Item.

Evidence of Exposure: Following administration of palopegteriparatide at 10, 30 and 60 µg PTH(1-34)/kg/day, plasma concentrations of Total PTH were quantifiable up to the 24 h time point on Day 1 and 28.

a TransCon PTH is an internal developmental name for palopegteriparatide

Treatment	Dose (µg PTH(1-34)/kg/day)	No. of Animals		%MIE		Total Incidence MIE		Incidence MIE[a] (Mean ± SD)	
		M	F	M	F	M	F	M	F
Reference Item	0	5	5	0.135	0.145	27	29	5.4 ± 2.1	5.8 ± 2.7
Palopegteriparatide	10	5	5	0.115	0.110	23	22	4.6 ± 1.8	4.4 ± 2.8
Palopegteriparatide	30	5	5	0.150	0.180	30	36	6.0 ± 2.6	7.2 ± 4.9
Palopegteriparatide	60	5	5	0.105	0.135	21	27	4.2 ± 3.5	5.4 ± 2.9
Cyclophosphamideb	NA	3	NA	2.108	NA	253A	NA	84.3 ± 14.6	NA

a statistical analyses were performed on total incidence of MIE.

b positive control, cyclophosphamide, dosed at 20 mg/kg, once by oral gavage, 24 h prior to sampling.

NA = not applicable; %MIE = percentage of micronucleated immature erythrocytes; GLP = good laboratory practice; F = female; M = male; MIE = number of micronucleated immature erythrocytes observed per group (4,000 immature erythrocytes examined per animal); NaOH = sodium hydroxide; PTH = parathyroid hormone; SD = standard deviation.
Significantly different from control (group 1) value: A = $p \leq 0.001$ (Fisher's)

2.6.7.10　がん原性試験

試験は実施していない。実施しなかった妥当性は M2.6.6.5 項に記載している。

Nonpivotal Studies				Test Article: TransCon PTH[a], Batch No. 1069351		
Test System	**Method of Administration (Vehicle/ Formulation)**	**Dosing Period**	**Doses [µg PTH(1-34)/kg]**	**No. of Females per Group**	**Noteworthy Findings**	**Study Number**
Sprague Dawley rats (Crl:CD(SD))	Daily subcutaneous injection (10 mM succinic acid, 41.0 mg/mL mannitol, 3.0 mg/mL metacresol adjusted to pH 4.0 by 1 N NaOH)	GD 6 to 17	0 2 10 30	6 Main Study 3 Toxicokinetic 3 Clinical Chemistry	Systemic exposure of Total PTH was demonstrated in all animals. 2 and 10: None. 30: Slight initial body weight loss and reduced food intake, as well as increases in serum calcium level. No evidence of embryo-lethality, fetotoxicity or dysmorphogenesis at any dose level.	[redacted]
New Zealand White rabbits (Crl:KBL(NZW))	Subcutaneous injection (10 mM succinic acid, 41.0 mg/mL mannitol, 3.0 mg/mL metacresol adjusted to pH 4.0 by 1 N NaOH)	Toxicity phase: Days 1 to 13	Toxicity phase: 1 5 10 20	Toxicity phase: 3 non-pregnant	Systemic exposure of Total PTH and Free PTH was demonstrated in all pregnant and non-pregnant animals after 13 daily doses. Toxicity phase: 1: Slight body weight loss. 5 and 10: Slight body weight loss, reduced food consumption and dose dependent increases in serum calcium levels. 20: Preterminal euthanasia on Day 4 or 6 generally following a period of low or no food intake, body weight loss, markedly increased serum calcium levels and deteriorating clinical condition. Macroscopic changes compatible with soft tissue mineralization and/necrosis were noted in most animals. Based on these changes, dose levels of 1, 3 and 10 µg PTH(1-34)/kg/day were selected for administration to pregnant females in the EFD phase.	[redacted]

Test System	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dosing Period	Doses [µg PTH(1-34)/kg]	No. of Females per Group	Noteworthy Findings	Study Number
		Nonpivotal Studies		**Test Article: TransCon PTH[a], Batch No. 1069351**		
		EFD phase: GD 7 to 19	EFD phase: 0 1 3 10	EFD phase: 5 pregnant	EFD phase: 1: None. 3: Slight increase in serum calcium levels on GD 7, 12 h postdose. 10: All five F were euthanized preterminally on GD 14 or 15, after a period of low or no food intake, body weight loss/stasis, markedly increased serum calcium and serum phosphate levels and deteriorating clinical condition. Macroscopic changes compatible with soft tissue mineralization and/necrosis were noted in most animals. No evidence of embryo-lethality, fetotoxicity or dysmorphogenesis at ≤ 3 µg PTH(1-34)/kg/day or for those females examined preterminally at 10 µg PTH(1-34)/kg/day.	

a TransCon PTH is an internal developmental name for palopegteriparatide

EFD = embryo-fetal development; F = female; GD = gestation day; NA = not applicable; NaOH = sodium hydroxide; PTH = parathyroid hormone; SC = subcutaneous.

2.6.7.12　生殖発生毒性試験：受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

2.6.7.12.1　雌ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

Report Title: A Subcutaneous Injection Fertility and Early Embryonic Development Study of TransCon PTH[a] (ACP-014) in the Female Rat		**Test Article:** TransCon PTH[a], Batch No. 1070215
Design Similar to ICH S5(R2) 4.1.1? Yes	**Duration of Dosing F0 Females:** 2-weeks prior to cohabitation for mating (Days 1 to 15), during the mating period and continuing until gestation (postcoitum) GD 7	**Study No.:** ［9000921］
Test System: Sprague Dawley rats (Crl:CD(SD))	**Day of Mating: GD 0**	**Location in CTD:** 4.2.3.5.1
Initial Age: 77 days old	**Day of C-Section:** GD 13	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Daily SC injection	**GLP Compliance:** Yes
Special Features: Clinical chemistry (serum calcium only)	**Vehicle/Formulation:** 10 mM succinic acid, 41.0 mg/mL mannitol, 3.0 mg/mL metacresol adjusted to pH 4.0 by 1 N NaOH	
No Observed Adverse Effect Level:		
F_0 Females: 20 µg PTH(1-34)/kg/day		
F_1 Litters: No Observed Effect Level 20 µg PTH(1-34)/kg/day		

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)	2	6	20
Females				
Systemic Exposure Evaluation				
No. Evaluated	22	21	21/20[b]	22
Total PTH				
Day 14, 12 h postdose (ng PTH/mL)	0.00 (BQL)	11.5	39.1	134
GD 7, terminal sampling (ng PTH/mL)	NA	12.0	35.0	125
Noteworthy Findings				
No. Evaluated	22	22	22	22
Clinical Chemistry				
Calcium Day 3, 12 h postdose (mg/dL)	10.55	10.51	10.77	12.01 A

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)	2	6	20
Calcium Day 3, 12 h postdose (%[c])	10.55 mg/dL	-0.4	2.1	13.8 A
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Premating Body Weight				
Day 15	302.5 g	-1.4	0.0	-3.7
Premating Body Weight Gain (%[c])				
Day 1 to 15	29.7 g	-5.7	3.4	-5.7
Gestation Body Weight (%[c])				
GD 7	341.4 g	-0.9	1.5	-2.5
GD 13	382.1 g	-2.6	0.8	-2.0
Gestation Body Weight Gain (%[c])				
GD 0 to 7	35.0 g	-2.3	0.3	-7.1
GD 7 to 13	40.7 g	-16.5 B	-4.9	2.2
Premating Food Consumption (%[c])				
GD 1 to 15	272.9 g	-1	3	-1
Gestation Food Consumption (%[c])				
GD 0 to 7	167.5 g	-1	2	2
GD 7 to 13	157.8 g	-2	3	-1
Average Cycle Length of Observed Cycles (Days)	4.27	4.21	4.24	4.08
Mean No. Days Prior to Mating	2.3	2.2	2.6[d]	2.7
No. of Females Sperm-Positive	22	22	21	22
No. with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
No. of Pregnant Females	22	21	20	22
Mean No. Corpora Lutea	18.6	17.9	18.6	18.8
Mean No. Implantations	17.5	14.9	17.5	17.2

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)	2	6	20
Mean % Preimplantation Loss	5.4	18.3	5.8	7.6
Mean No. Live Conceptuses	16.3	13.8	16.5	15.8
Mean No. Resorptions	1.2	1.1	1.0	1.4
No. Dead Conceptuses	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean % Postimplantation Loss	7.3	8.7	5.5	8.2

a TransCon PTH is an internal developmental name for palopegteriparatide.

b On GD 7 no sample for unmated female No. 3511.

c For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

d Only 21 values were included to calculate the mean.

- no noteworthy findings; BQL = below quantitation limit (< 1.00 ng PTH/mL); GD = gestation day; GLP = good laboratory practice; NA = not applicable; NaOH = sodium hydroxide; PTH = parathyroid hormone; SC = subcutaneous.

Significantly different from control group (Group 1) value, A - $p \leq 0.01$ (Kruskal-Wallis & Dunn) and B - $p \leq 0.05$ (Dunnett)

2.6.7.12.2　雄ラット受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験

Report Title: A Subcutaneous Injection Fertility and Early Embryonic Development Study of TransCon PTH[a] (ACP-014) in the Male Rat		**Test Article:** TransCon PTH[a], Batch No. 1070215
Design Similar to ICH S5(R2) 4.1.1? Yes	**Duration of Dosing F_0 Males:** 4-weeks (from Days 1 to 28) and continuing after the end of mating, for a total of at least 63 days of dosing	**Study No.** ［9001130］
Test System: Sprague Dawley rats (Crl:CD(SD))	**Day of Mating:** GD 0	**Location in CTD:** 4.2.3.5.1
Initial Age: 88 days old (males) 78 days old at mating (untreated females)	**Day of C-Section:** GD 13	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Method of Administration:** Daily SC injection	**GLP Compliance:** Yes
Special Features: Clinical chemistry (serum calcium and phosphate only)	**Vehicle/Formulation:** 10 mM succinic acid, 41.0 mg/mL mannitol, 3.0 mg/mL metacresol adjusted to pH 4.0 by 1.0 N NaOH	
No Observed Adverse Effect Level: **F_0 Males:** 20 µg PTH(1-34)/kg/day **F_1 Litters:** No Observed Effect Level 20 µg PTH(1-34)/kg/day		

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	**0 (Control)**	**2**	**6**	**20**
Males				
Systemic Exposure Evaluation				
No. Evaluated	22	22	22	22
Total PTH 12 h postdose (ng PTH/mL)				
Day 1	NA	3.35	8.50	29.9
Day 3	NA	8.60	25.0	74.3
Day 28	0.00 (BQL)	8.47	25.1	77.3
Day 63	NA	9.63	29.8	92.5
Noteworthy findings				
No. Evaluated	22	22	22	22

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)	2	6	20
Clinical Chemistry				
sCa (mg/dL) – 12 h postdose				
Day 1	10.80	11.00	11.34 F	11.90 F
Day 3	11.04	11.11	11.66 F	13.26 F
Day 28	10.66	10.76	10.80	11.17 C
Day 63	10.65	10.64	10.77 F	10.88 A
sCa (%[b]) – 12 h postdose				
Day 1	10.80 mg/dL	2	5 F	10 F
Day 3	11.04 mg/dL	1	6 F	20 F
Day 28	10.66 mg/dL	1	1	5 C
Day 63	10.65 mg/dL	0	1	2 A
sP (mg/dL) – 12 h postdose				
Day 1	7.87	7.97	8.39 C	8.50 C
Day 3	8.35	7.93 B	8.03	7.17 C
Day 28	7.78	7.50	7.65	7.75
Day 63	7.03	7.04	7.03	7.00
sP (%[b]) – 12 h postdose				
Day 1	7.87 mg/dL	1	7 C	8 C
Day 3	8.35 mg/dL	-5 B	-4	14 C
Day 28	7.78 mg/dL	-4	-2	0
Day 63	7.03 mg/dL	0	0	0
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight (%[b])				
Day 28	603.6 g	1	1	1

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg/day]	0 (Control)	2	6	20
Body Weight Gain (%[b])				
Days -1 to 3	17.6 g	0	9	-35 B
Days 7 to 10	14.0 g	18	23	59 C
Days -1 to 28	147.8 g	4	4	5
Days 28 to 42	41.7 g	7	-17	-22
Days 42 to 63	37.1 g	34	41	56 A
Food Consumption (%[b])				
Days -1 to 28	916.5 g	1	1	4
Mean No. Days Prior to Mating	2.9	3.4	2.4	2.2
No. of Males that Mated	22	22	22	22
No. of Fertile Males	22	22	20	22
Untreated Females				
Noteworthy findings				
No. Evaluated	21	21	20	22
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
No. of Females Sperm Positive	22	22	22	22
No. of Pregnant Females	22	22	20	22
Sum of Early Resorptions and Dead Embryos	1.2	0.8	0.9	1.4
No. with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Mean No. Corpora Lutea	19.7	19.1	19.7	18.3
Mean No. Implantations	18.0	17.8	18.1	16.7
Mean % Preimplantation Loss	8.6	6.9	7.5	9.0
Mean No. Live Conceptuses	16.7	17.0	17.2	15.3
No. Dead Conceptuses	0.0	0.0	0.0	0.0
Mean % Postimplantation Loss	6.8	4.6	5.0	9.1

a TransCon PTH is an internal developmental name for palopegteriparatide.

b For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

- no noteworthy findings, BQL = below quantitation limit (< 1.00 ng PTH/mL); GD = gestation day; GLP = good laboratory practice; NA = not applicable; NaOH = sodium hydroxide; PTH = parathyroid hormone; SC = subcutaneous; sCa = serum calcium; sP = serum phosphate.
Significantly different from control group (Group 1) value: A = $p \leq 0.05$, B = $p \leq 0.01$, C = $p \leq 0.001$ (Dunnett) F = $p \leq 0.001$ (Dunn)

2.6.7.13　生殖発生毒性試験：胚・胎児発生に関する試験

2.6.7.13.1　ラット胚・胎児発生に関する試験

Report Title: An Embryo-Fetal Development Study of TransCon PTH[a] (ACP-014) by Subcutaneous Injection in Rats		**Test Article:** TransCon PTH[a], Batch No. 1070215
Design Similar to ICH S5(R2) 4.1.3? Yes	**Duration of Dosing:** GD 6 to 17	**Study No.** ［9000923］
	Day of Mating: GD 0	
Test System: Sprague Dawley rats (Crl:CD(SD))	**Day of C-Section:** GD 21	**Location in CTD:** 4.2.3.5.2
Initial Age: 73 to 84 days old	**Method of Administration:** Daily SC injection	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:** 10 mM succinic acid, 41.0 mg/mL mannitol, and 3.0 mg/mL metacresol, adjusted to pH 4.0 by 1.0 N NaOH	**GLP Compliance:** Yes
Special Features: Clinical chemistry (serum calcium only)		
No Observed Adverse Effect Level:		
F_0 Females:	8 µg PTH(1-34)/kg/day	
F_1 Litters:	No Observed Effect Level 30 µg PTH(1-34)/kg/day	

Daily Dose (µg PTH(1-34)/kg)	0 (Control)	2	8	30
Dams/Does				
Systemic Exposure Evaluation				
No. Evaluated	20	19	19[b]/20	17
Total PTH (ng PTH/mL)				
GD 17 8 h postdose	0.00 (BQL)	11.7	38.2	160
GD 21 96 h postdose	NA	0.00 (BQL)	1.47	10.7
Noteworthy findings				
No. Evaluated	20	19	20	17
Clinical Chemistry				
sCa GD 9 (predose) (mg/dL)	11.45	11.50	11.94 A	13.57 B

Daily Dose (µg PTH(1-34)/kg)	0 (Control)	2	8	30
sCa GD 9 (predose) (%[c])	11.45 mg/dL	0.44	4.24 A	18.52 B
sCa GD 21 (96 h postdose) (mg/dL)	10.45	10.27	10.27	9.80 C
Calcium GD 21 (96 h postdose) (%[c])	10.45 mg/dL	-1.69	-1.72	-6.18 C
No. Pregnant	20	19	20	17
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
No. Aborted or with Total Resorption of Litter	1	0	0	0
Clinical Observations[d]				
Suspected dehydration	0	0	0	6 (4)
Hunched posture	0	0	0	10 (5)
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight GD 9 (%[c])	292.6g	-0.7	0.2	-8.0 C
Body Weight GD 12 (%[c])	310.6g	-0.6	-0.2	-8.8 D
Body Weight Gains: GD 6-9 (%[c])	17.0g	-23.5	-20.0	-159.4 B
Body Weight Gains: GD 9-12 (%[c])	18.1g	1.7	-7.7	-21.5
Corrected Body Weight Gains (Change from Day 21) (%[c])	30.8g	-18.15	2.07	-49.60 C
Food Consumption GD 6-9 (%[c])	21.3g	0	2	-29
Food Consumption GD 9-12 (%[c])	22.3g	6	0	-24
Mean No. Corpora Lutea	15.1	15.2	15.6	15.9
Mean No. Implantations	13.4	13.3	13.5	14.1
Mean % Preimplantation Loss	11.63	13.61	12.73	10.96
Litters				
No. Litters Evaluated	19	18	20	17
No. Live Fetuses	12.6	12.5	12.7	13.6
Mean No. Resorptions	0.9	0.8	0.8	0.5
No. of Litters with Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean % Postimplantation Loss	10.22	5.58	6.12	3.12

Daily Dose (µg PTH(1-34)/kg)	0 (Control)	2	8	30
Mean Fetal Body Weight (g)[e]	5.806	5.893	5.986	5.816
Fetal Sex Ratios (% males)	47.89	53.78	45.96	44.56
Fetal Anomalies				
External, Visceral and Skeletal Malformations:	-	-	-	-
External and Visceral Variations	-	-	-	-
Skeletal Variations	-	-	-	-

a TransCon PTH is an internal developmental name for palopegteriparatide.
b On GD 17 8 h postdose, only 19 samples were evaluated.
c For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).
d Number of occurrences (Number of animals affected).
e Males and females combined.
- = no noteworthy findings; BQL = below quantitation limit (< 1.00 ng PTH/mL); GD = gestation day; GLP = good laboratory practice; NA = not applicable; NaOH = sodium hydroxide; PTH = parathyroid hormone; SC = subcutaneous.
Significantly different from control group (Group 1) value: A - $p \leq 0.01$, B - $p \leq 0.001$ (Dunn) and C - $p \leq 0.01$, D -$p \leq 0.001$ (Dunnett)

2.6.7.13.2　ウサギ胚・胎児発生に関する試験

Report Title: An Embryo-Fetal Development Study of TransCon PTH[a] (ACP-014) by Daily Subcutaneous Injection in Rabbits		**Test Article:** TransCon PTH[a], Batch No. VVRD291 (Drug Product)
Design Similar to ICH S5(R2) 4.1.3? Yes	**Duration of Dosing:** GD 7 to 19	**Study No.** ［9000925］
Test System: Rabbit/New Zealand White (Crl:KBL(NZW))	**Day of Mating:** GD 0	**Location in CTD:** 4.2.3.5.2
	Day of C-Section: GD 29	**GLP Compliance:** Yes
Initial Age: 4 to 5 months old	**Method of Administration:** Subcutaneous injection	
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	**Vehicle/Formulation:** 10 mM succinic acid, 41.0 mg/mL mannitol, and 3.0 mg/mL metacresol; adjusted to pH 4.0 by 1.0 N NaOH	
Special Features: Clinical chemistry (serum calcium only) and anti- PTH antibody		
No Observed Adverse Effect Level:	**F_0 Females:** 3 µg PTH(1-34)/kg/day	
No Observed Effect Level:	**F_1 Litters:** 6 µg PTH(1-34)/kg/day	

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg]	**0 (Control)**	**1**	**3**	**6**
Females				
Toxicokinetics				
No. Evaluated	20	20	20	20
Total PTH[b]				
C_{max} (ng PTH/mL)				
GD 7	-	5.54	14.6	28.9
GD 19	-	15.5	37.9	74.9
AUC_{0-24} (h*ng PTH/mL)				
GD 7	-	81.7	213	412
GD 19	-	347	840	1660
Free PTH[c]				
C_{max} (ng/mL)				
GD 7	NA	NC	NC	NC
GD 19	NA	NC	NC	816[c]

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg]	0 (Control)	1	3	6
AUC_{0-24} (h*pg/mL)				
GD 7	NA	NC	NC	NC
GD 19	NA	NC	NC	16300[c]
Anti-PTH Antibody[d]- No. Evaluated	20	20	20	17
GD 19, 24 h postdose (no. pregnant, positive)	0	3	9	8
GD 29 (no. pregnant, positive)	0	3	10	10
Noteworthy findings:				
No. Evaluated	19	20	20	17
Clinical Chemistry (%)[e]				
Calcium GD 7 (predose)	14.28 mg/dL	0.57	1.27	0.19
Calcium GD 7 (12 h postdose)	14.41 mg/dL	1.77	3.29 A	6.99 B
Calcium GD 19 (12 h postdose)	13.68 mg/dL	1.94	1.80	16.54 C
Calcium GD 29	12.55 mg/dL	0.82	-1.10	-6.70
No. Pregnant	19	20	20	17
No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	0	0
No. Aborted of with Total Resorption of Litter	0	0	0	0
Clinical Observations[f]				
Thinness	0	0	0	3 (1)
Prominent backbone	0	0	0	6 (1)
Necropsy Observations	-	-	-	-
Body Weight Gains: GD 7-20 (%[e])	0.15 kg	-6.7	-33.3	-73.3
Body Weight Gains: GD 7-29 (%[e])	0.26 kg	11.5	-7.7	-46.2
Food Consumption GD 7-20 (%[e])	1666 g	2.8	-5.0	-25.0 A
Food Consumption GD 7-29 (%[e])	2428 g	8.7	-5.3	-14.8
Mean No. Corpora Lutea	12.1	12.6	12.6	11.8
Mean No. Implantations	11.3	11.2	11.7	10.4

Daily Dose [µg PTH(1-34)/kg]	0 (Control)	1	3	6
Mean % Preimplantation Loss	6.44	11.28	6.71	12.12
Litters:				
No. Litters Evaluated	19	20	20	17
No. Live Fetuses	10.5	10.9	11.1	9.6
Mean No. Resorptions	0.8	0.4	0.6	0.8
No. of Litters with Dead Fetuses	0	0	0	0
Mean % Postimplantation Loss	6.70	3.09	4.94	7.07
Mean Fetal Body Weight (g)[g]	39.9	39.8	40.0	39.5
Fetal Sex Ratios (% Males)	50.9	49.0	51.6	49.6
Fetal Anomalies:				
External, Visceral and Skeletal Malformations:	-	-	-	-
External and Visceral Variations	-	-	-	-
Skeletal Variations	-	-	-	-

a TransCon PTH is an internal developmental name for palopegteriparatide.

b Systemic exposure to Total PTH increased for all anti-PTH antibody negative pregnant females and for most of confirmed anti-PTH antibody positive pregnant females on GD 19 relative to GD 7.

c Plasma concentrations of Free PTH were only determined in the high dose group on Day 19 due to limitation in sensitivity of the method.

d Number of animals with anti-PTH antibodies.

e For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

f Number of occurrences (Number of animals affected).

g Combined (male and female) fetal weight.

- = no noteworthy findings; AUC_{0-24} = area under the curve from 0 to 24 h; C_{max} = maximum observed concentration; GD = gestation day; GLP = good laboratory practice; NA = not applicable; NaOH = sodium hydroxide; NC = not calculated; PTH = parathyroid hormone.

Significantly different from control group (Group 1) value: A - $p \leq 0.05$, B - $p \leq 0.001$(Dunnett), C - $p \leq 0.001$ (Dunn)

2.6.7.14　生殖発生毒性試験：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

2.6.7.14.1　ラット出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験

Report Title: A Pre and Postnatal Development Study of TransCon PTH (ACP-014) by Daily Subcutaneous Injection in Rats		**Test Article:** TransCon PTH (ACP-014)
Design similar to ICH 4.1.2? Yes	**Duration of Dosing:** Daily, from GD 6 to LD 20/21	Study No. [redacted]
	Day of Mating: GD 0	
Species/Strain: Rat/ CD® Sprague Dawley IGS (Crl:CD[SD])	**Method of Administration:** SC, daily dosing	**Location in CTD:** 4.2.3.5.3
Initial Age: 11 to 12 weeks	**Vehicle/Formulation:** Placebo for TransCon PTH (ACP-014)	
Date of First Dose: [redacted]20[redacted]	**Litters Culled/Not Culled:** Culled PND 4	**GLP Compliance:** Yes

Special Features: Plasma bioanalysis (Total PTH for F0 females and Free PTH for F0 females and F1 pups), and clinical chemistry parameters

No Observed Adverse Effect Level

F0 Females: 20 µg PTH(1 34)/kg/day

F1 Males and Females: 20 µg PTH(1 34)/kg/day

Daily Dose (µg PTH(1-34)/kg)		**0 (Control)**	**5**	**10**	**20**
F0 Females:		**F: 22**	**F: 22**	**F: 22**	**F: 22**
Pregnant F0 Females:		**N=21**	**N=21**	**N=21**	**N=22**
Toxicokinetics: Plasma Concentration					
		Total PTH (ng/mL)			
	GD 17	BLQ	17.7	40.7	81.1
	LD 10	BLQ	31.3	63.1	112
	LD 20/21	BLQ	37.3	73.8	141
		Free PTH (1-33) (ng/mL)			
	LD 10	BLQ	0.00759	0.0162	0.0274
	LD 20/21	BLQ	0.00949	0.0161	0.0335
		Free PTH (1-34) (ng/mL)			
	LD 10	BLQ	0.0108	0.0277	0.0539
	LD 20/21	BLQ	0.00958	0.0223	0.0496

Daily Dose (µg PTH(1-34)/kg)		**0 (Control)**	**5**	**10**	**20**
F0 Females:		**F: 22**	**F: 22**	**F: 22**	**F: 22**
Pregnant F0 Females:		**N=21**	**N=21**	**N=21**	**N=22**
		Free PTH (1-33) + Free PTH (1-34) (ng/mL)			
	LD 10	NA	0.0242	0.0461	0.0886
	LD 20/21	NA	0.0244	0.0459	0.0844
		Free PTH/Total PTH Ratios (%)			
	LD 10	NA	0.0761	0.0717	0.0799
	LD 20/21	NA	0.0700	0.0643	0.0606
No. Pregnant		21	21	21	22
No. Died or Sacrificed Moribund		0	1[a]	0	0
No. With Total Res. of Litter		0	0	0	0
Clinical Observations		-	-	-	-
Clinical Chemistry – Calcium		-	-	-	-
Necropsy Observations		-	-	-	-
Gestation Body Weight (%[b])					
	GD 20 (%)	398.8 g	0.3	0.2	-0.7
Lactation Body Weight (%[b])					
	LD 21 (%)	356.3 g	-1.7	-1.7	-3.8
Gestation Food Consumption (%[b])					
	GD 6 to 20 (%)	7.69 g	6.96	-20.65	-6.56
Lactation Food Consumption (%[b])					
	LD 1 to 14 (%)	54.70 g	-6	-2	-3
Mean Duration of Gestation (days)		21.0	21.1	21.1	21.0
Abnormal Parturition		-	-	-	-
Maternal Observation		-	-	-	-
F1 Litters: (Preweaning)					
No. Litters Evaluated		21	21	21	22
Plasma Concentration (ng/mL) – PND 4					
	Free PTH (1-33)	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ
	Free PTH (1-34)	BLQ	BLQ	0[c]	BLQ

Daily Dose (µg PTH(1-34)/kg)		0 (Control)	5	10	20
F0 Females:		**F: 22**	**F: 22**	**F: 22**	**F: 22**
Pregnant F0 Females:		**N=21**	**N=21**	**N=21**	**N=22**
	Mean No. of Implantations	13.7	13.0	12.9	13.5
	Mean No. Liveborn Pups/Litter	13.0	12.2	12.1	12.5
	No. of Litters with Stillborn Pups	0	1	3	2
	Postnatal Survival to Day 4 (%)	98.18	99.17	99.70	99.04
	Postnatal Survival to Weaning (%)	100.00	100.00	100.00	100.00
	No. of Total Litter Losses	0	0	0	0
	Pup Body Weights – sex combined (%[b])				
	PND 21	59.44 g	-0.56	1.00	-0.47
	Pup Sex Ratios (%Live Males/Litter on PND 21)	45.83	50.60	47.62	46.19
	Pup Clinical Signs	-	-	-	-
	Clinical Chemistry – Calcium	-	-	-	-
	Pinna unfolding	-	-	-	-
	Eye Opening	-	-	-	-
	Auricular Startle	-	-	-	-
	Pup Necropsy Observations	-	-	-	-
F1 Males: (Postweaning)					
	No. Evaluated Postweaning	20	21	21	22
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	1[a]	0	1[a]
	Body Weight Change (g)				
	PNDs 28 to 84	428.5	438.8	429.2	443.2
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Clinical Chemistry - Calcium	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Preputial Separation	-	-	-	-
	Visual Function	-	-	-	-
	Behavioral Performance	-	-	-	-
	No. of Males that Mated	19	20	20	21

Daily Dose (µg PTH(1-34)/kg)		0 (Control)	5	10	20
F0 Females:		**F: 22**	**F: 22**	**F: 22**	**F: 22**
Pregnant F0 Females:		**N=21**	**N=21**	**N=21**	**N=22**
	No. of Fertile Males	19	19	18	16
	Male Mating Index (%)	95.0	95.2	95.2	100.0
	Male Fertility Index (%)	100.0	95.0	90.0	76.2A
	Male Pregnancy Index (%)	95.0	90.5	85.7	76.2
F1 Females: (Postweaning)					
	No. Evaluated Postweaning	21	21	21	22
	No. Died or Sacrificed Moribund	0	0	1[a]	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Clinical Chemistry – Calcium	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Premating Body Weight Change (g)				
	PNDSs 28 to 84	203.0	217.2	202.8	204.0
	Gestation Body Weight Change (g)				
	GDs 0 to 13	69.3	58.3B	68.0	70.9
	Vaginal Opening	-	-	-	-
	Visual Function	-	-	-	-
	Behavioral Performance	-	-	-	-
	Mean No. Estrous Cycles	2.6	2.6	2.4	2.5
	Mean No. Days Prior to Mating	2.5	3.0	2.8	3.3
	No. of Females Sperm-Positive	20	20	20	22
	No. of Pregnant Females	20	19	18	17
	Female Mating Index (%)	95.2	95.2	95.2	100.0
	Female Fertility Index (%)	100.0	95.0	90.0	77.3A
	Female Pregnancy Index (%)	95.2	90.5	85.7	77.3
	Mean No. Corpora Lutea	17.0	17.0	17.6	17.7
	Mean No. Implantations	15.9	16.4	17.2	16.8
	Mean % Preimplantation Loss	7.83	4.71	2.82	5.70

Daily Dose (µg PTH(1-34)/kg)	0 (Control)	5	10	20
F0 Females:	**F: 22**	**F: 22**	**F: 22**	**F: 22**
Pregnant F0 Females:	**N=21**	**N=21**	**N=21**	**N=22**
F2 Litters:				
Mean No. Live Conceptuses/Litter	14.7	15.9	15.1	15.5
Mean No. Early Resorptions	1.2	0.5	2.1	1.4
No. of Litter with Dead Conceptuses	0	0	0	0
Mean No. Dead Conceptuses	0	0	0	0
Mean % Postimplantation Loss	7.89	2.77	11.93	7.74

- = No noteworthy findings; BLQ = Below limit of quantitation (<4.79 pg/mL for Free PTH [1-33] and <7.00 pg/mL for main metabolite Free PTH [1-34]); GD = Gestation Day; LD = Lactation Day; PND = Postnatal Day

a Mortality was unrelated to the administration of TransCon PTH (ACP-014)

b For controls, group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown.

c Free PTH (1-33) and Free PTH (1-34) were below the bioanalytical limit of quantification (BLQ) (<4.79 pg/mL for Free PTH (1-33) and <7.00 pg/mL for Free PTH (1-34)) in the selected litters (pooled pups) on PND 4 at all dose levels, except for the pooled sample from the litter of Female No. 354 (mid-dose) which showed a concentration level of Free PTH (1-34) of 0.00902 ng/mL (9.02 pg/mL), slightly above the LLOQ of 7.00 pg/mL

Significantly different from control group (Group 1) value: A: $P \leq 0.05$ (Fisher's Exact), B: $P \leq 0.05$ (Dunnett)

2.6.7.15　幼若動物を用いた試験

試験は実施していない。実施しなかった妥当性は M2.6.6.6.7 項に記載している。

2.6.7.16　局所刺激性試験

試験番号［6700371］、［6700372］、［[redacted]］、［[redacted]］、［6700386］及び［6700387］の一部として評価した。

2.6.7.17　その他の毒性試験

Test Article: TransCon Linker				
Type of Study	**Method**	**Investigated Moieties**	**Noteworthy Findings**	**Study Number**
In silico (QSAR) analysis of TransCon Linker	Computational assessment (statistical and rule-based platforms: CASE Ultra[a], Konsolidator Database[b], DEREK Nexus[c], and Sarah Nexus[d])	[redacted]	It was concluded that the four structures of the TransCon Linker were negative (ICH M7 Class 5) for potential bacterial mutagenicity and negative for potential genotoxic and non-genotoxic carcinogenicity, geno-, hepato-, renal-, cardiotoxicity, DART, skin irritation, skin sensitization and systemic toxicity including phototoxicity in humans.	[redacted]

a CASE Ultra 1.8.0.5 FDA, CASE Ultra 1.8.0.5 MultiCASE, and CASE Ultra 1.8.0.5 bacterial mutagenicity for OECD 471 for genotoxic and non-genotoxic carcinogenicity, bacterial mutagenicity, genotoxicity, hepatotoxicity, renal toxicity, cardiotoxicity, and reproductive and developmental toxicity.

b Konsolidator Database BMUT_KONSOLIDATOR_DB ver. 4.0 containing 16392 chemicals with bacterial mutagenicity experimental data for bacterial mutagenicity.

c Derek Nexus 6.1.0, Nexus 2.3.0, Derek KB 2020 1.0 for genotoxic and non-genotoxic carcinogenicity, skin irritation, skin sensitization and systemic toxicity including phototoxicity.

d Sarah Nexus 3.1.0 for bacterial mutagenicity.

DART = developmental and reproductive toxicity; kDa = kilodalton; PEG = polyethylene glycol; QSAR = quantitative structure-activity relationship.