## 2.6.4 薬物動態試験の概要文

# 目次

1.	まとめ4
2.	分析法7
2.1	血清中デノスマブ濃度7
2.2	sNTX濃度7
2.3	抗デノスマブ抗体8
2.4	放射能8
2.5	薬物動態/薬力学(PK/PD)解析8
З.	吸収9
4.	分布11
5.	代謝(消失)
6.	排泄
7.	薬物動態学的薬物相互作用
8.	その他の薬物動態試験
8.1	薬物動態/薬力学(PK/PD)関係29
8.2	トキシコキネティクス(TK)31
	8.2.1 単回投与時のトキシコキネティクス
	8.2.2 反復投与時のトキシコキネティクス
	8.2.3 曝露マージン
	8.2.4 生殖発生毒性試験におけるトキシコキネティクス
8.3	同等性/同質性(CP1 とCP2 の比較)
9.	考察及び結論
10	

,

哈方一見		
略号	略していない表現(英)	略していない表現(日)
AUC	area under the concentration-time curve	濃度一時間曲線下面積
AUC <sub>0-inf</sub>	AUC from time 0 to infinity	0 時間から無限大時間までの AUC
AUC <sub>0-t</sub>	AUC from time 0 to the time of the last quantifiable concentration	0時間から最終の定量可能時点 までの AUC
AUC <sub>0-tau</sub>	AUC over the dosing interval	0時間から投与間隔時間までの AUC
C_	initial serum concentration	0 時間の濃度
CDR	complementarity determining reagion	相補性決定領域
C <sub>max</sub>	maximum serum concentration	最高血清中濃度
EC <sub>50</sub>	half maximal (50%) effective concentration	50%効果濃度
ECL	electrochemiluminescent	電気化学発光
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素免疫吸着測定
E <sub>max</sub>	maximum suppression	最大抑制率
Fc	crystallizable fragment of immunoglobulins	免疫グロブリン結晶化フラグメ ント
FcRn	neonatal Fc receptor	
F <sub>sc</sub>	fraction of bioavailability after subcutaneous dosing	皮下投与時の生物学的利用率
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
HRP	horseradish peroxidase	西洋ワサビペルオキシダーゼ
huRANKL	humanized RANKL	ヒトとマウスのキメラ RANK リ ガンド
Ig	Immunoglobulin	免疫グロブリン
	elimination rate constant	消失速度定数
K <sub>m</sub>	Michaelis constant	
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限值
NA	not applicable	該当せず
ND	not determined	測定せず
NF-ĸB	nuclear factor-ĸB	核内因子 κB
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
NTX	N-telopeptide	N-テロペプチド
PD	pharmacodynamics	莱力学
РК	pharmacokinetics	薬物動態学
PK/PD	pharmacokinetics/pharmacodynamics	<b>薬物動態/薬力学</b>
Q4W	once every 4 weeks	4週間に1回(投与)
QWBA	Quantitative whole-body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフ ィー
RANKL	RANK ligand. In older literature citations, this molecule was referred to as OPG ligand or TRANCE.	RANK リガンド。古い引用文献 では、この分子は OPG リガンド 又は TRANCE と称された。
RANKL-HRP	HRP-labeled RANKL	HRP 標識 RANKL

#### 略号一覧

## 2.6.4 薬物動態試験の概要文

## デノスマブ

略号	略していない表現(英)	略していない表現(日)
sNTX	serum N-telopeptide	血清中 N-テロペプチド
t <sub>1/2, z</sub>	terminal-phase half-life	終末相の半減期
ТК	toxicokinetics	トキシコキネティクス
t <sub>max</sub>	time at peak serum concentration	最高血清中濃度到達時間
ТСА	trichloroacetic acid	トリクロロ酢酸
uNTX	urinary N-telopeptide	尿中 N-テロペプチド
uNTX/Cr	urine NTX corrected for urine	尿中クレアチニンで補正した
	creatinine	uNTX
V	volume of distribution	分布容積
V <sub>0</sub>	volume of distribution at time 0	0時点での分布容積
V <sub>max</sub>	maximum rate of elimination	最大消失速度
V <sub>ss</sub>	volume of distribution at steady state	定常状態での分布容積

#### 1. まとめ

デノスマブを単回投与後の薬物動態(PK)、さらに反復投与後のトキシコキネティクス (TK)について、マウス、ラット及びカニクイザルに静脈内又は皮下投与して評価した。本 概要文(モジュール 2.6.4)に記載する1試験(ラット薬物動態試験:希釈液に Dulbecco リ ン酸緩衝生理食塩液を使用)を除いたすべての試験で用いたデノスマブは、毒性及び臨床試 験で使用したものと同じ製剤を使用した。デノスマブの血清中濃度は、定量下限値(LLOQ) 0.78~10 ng/mL の標準的なサンドイッチ酵素免疫吸着測定(ELISA)法を用いて測定した。 さらに、皮下投与後の組織分布試験(固体シンチレーション計測)及び定量的全身オートラ ジオグラフィー試験(QWBA)をカニクイザルで実施した。

静脈内投与後のデノスマブの薬物動態は、デノスマブがRANKリガンド(RANKL)と結合 しない動物種であるマウス及びラットでは、約0.1~10 mg/kgの用量範囲で線形であった。ク リアランスは低く(肝血流量との比較、Davies and Morris, 1993)、また定常状態での分布容積 (V<sub>ss</sub>)値は血漿容量と同程度であったことから、デノスマブは血管外にはほとんど分布しな いことが示唆された。終末相の半減期はマウス及びラットでそれぞれ19及び11日であった。 単回皮下投与(1 mg/kg)後、いずれの動物種においても、血清中デノスマブ濃度は投与72 時間後に最高濃度(C<sub>max</sub>)に到達し、生物学的利用率(F<sub>SC</sub>)はマウスで86%、ラットで56% であった。デノスマブが結合するhuRANKLを発現させたノックインマウスのクリアランス、 さらに新生仔Fc受容体(FcRn)を欠損させたノックアウトマウスのクリアランスは、野生型 マウスのクリアランスのそれぞれ約6倍及び約15倍高かったことから、RANKL及びFcRnが デノスマブの薬物動態に重要な役割を果たすことが示された。

デノスマブがRANKLと結合する動物種であるカニクイザルにデノスマブを静脈内投与後の薬物動態は、投与量が 0.0016~1 mg/kgの範囲では非線形であったが(最低用量でのクリア ランスは最高用量でのクリアランスの約 16 倍)、1~3 mg/kgの投与量範囲では投与量に対し ほぼ線形であった。V<sub>ss</sub>の値から、デノスマブは血管外にはほとんど分布しないことが示唆さ れた。皮下投与後の薬物動態も、カニクイザルでは 0.0016~1 mg/kgの範囲で非線形であった が、1~3 mg/kgの範囲では投与量に対しほぼ線形であった。コンパートメントモデルによる 解析の結果、F<sub>sc</sub>は投与量に伴い増加する傾向を示し、28%から 100%へ増大した。薬物動態 及び薬力学(PD)データ(骨吸収マーカーである血清中N-テロペプチド [sNTX])のモデ リングから算出された 50%効果濃度(EC<sub>50</sub>)及び最大抑制率(E<sub>max</sub>)はそれぞれ 464 ng/mL、 77.6%で、デノスマブはカニクイザルにおいて骨吸収を急速かつ強力に抑制することが示さ れた。

組織分布試験及びQWBA試験でカニクイザルに<sup>125</sup>I-標識デノスマブを皮下投与後、放射能 は広範な組織に分布したが、その濃度は血中又は血清中濃度と比較し顕著に低値であった。 循環血(血清)中放射能の大部分(>85%)は酸不溶性画分に存在したことから、血中放射能 の大部分がインタクトな抗体である可能性の高いことが示された。骨(例:大腿骨又は腰椎) 及び骨髄の放射能は、血清中濃度と比較して非常に低く(ほぼ<10%)、血清中濃度と並行し て減衰したことから、骨における特異的な取り込み又は骨組織への組込みはないことが示唆 された。リンパ節及び脾臓中に極低濃度の放射能が血清中よりも長期に残存したが、この現 象は、これらの組織でRANKLが発現していること、又はその動物で抗デノスマブ抗体が発現 したこと(抗デノスマブ抗体により血清からの薬物消失速度が増大した)が関連していると 思われる。投与した放射能の76~95%及び1~3%が、それぞれ尿中及び糞中から回収された。 尿中放射能の大部分(75~97%)は酸不溶性ではなかったことから、投与された放射能の大 部分は、遊離ヨウ素又はヨウ素化ペプチド断片として排泄されたと考えられた。

カニクイザルにデノスマブを 0.1~50 mg/kg の用量範囲で週1回又は月1回皮下反復投与 後のトキシコキネティクスを最大 16ヵ月間評価した。単回投与による薬物動態試験と同様、 初回投与後の曝露量はほぼ用量に比例して増大したことから、この用量範囲では薬物動態は 線形であることが確認された。デノスマブのトキシコキネティクスに性差は認められなかっ た。初回投与後の曝露量及び抗デノスマブ抗体陰性動物に対する曝露量と比較した場合、抗 デノスマブ抗体の発現により曝露量が減少することが認められた。抗デノスマブ抗体陰性の 動物では、デノスマブのトキシコキネティクスが経時的に変化する現象は認められなかった。 反復投与毒性試験での抗デノスマブ抗体陰性動物における曝露量は、ヒトに 120 mg を 4 週 間に 1 回(Q4W)で投与時の曝露量より最大 15 倍高値であった。

非臨床試験におけるデノスマブの薬物動態の概要を以下に示す。

- マウス及びラット(デノスマブが RANKL と結合しない動物種)においては投与量に 対して線形の薬物動態を示す。デノスマブが結合する huRANKL を発現させたマウス においてはデノスマブの消失速度が増大する。
- カニクイザル(デノスマブが RANKL と結合する動物種)においては投与量に対して 非線形の薬物動態を示す。サル及びげっ歯類のデータを併せて考察すると、デノスマ ブが RANKL と結合することによりデノスマブの消失速度は増大し、また高用量では この消失過程は飽和してカニクイザルで認められた非線形性の原因になると考えられ る。
- 非飽和性の消失経路は、細網内皮系細胞により非特異的に分解される経路で、FcRn が 関与すると考えられる。
- 1 mg/kg の用量で皮下投与時の良好な生物学的利用率(56~100%)がマウス、ラット、 カニクイザルにおいて確認されている。
- ・ 骨組織にはデノスマブ由来の放射能の残留はみられない一方、リンパ節及び脾臓には
   極低濃度のデノスマブ由来の放射能が認められ、その消失は血清中からの消失よりも
   遅かった。この現象にはおそらく、リンパ節及び脾臓における RANKL の発現、又は

#### 2.6.4 薬物動態試験の概要文

デノスマブ

その動物で抗デノスマブ抗体が発現していたこと(抗デノスマブ抗体により血清からの薬物消失速度が増大した)が関連しているものと考えられる。

- 反復投与により薬物動態が変動する現象は認められなかった。
- 非臨床試験で抗デノスマブ抗体が認められたものの、デノスマブの薬物動態及び毒性 のプロファイルの評価は十分可能であった。
- すべての毒性試験でのデノスマブの曝露量は、骨転移性の進行性乳癌患者に対して申請されている臨床用法用量(120 mg 4QW)でのヒト曝露量を大幅に(例えばカニクイザルの 12 ヵ月試験の場合で 15 倍)上回った。

#### 2. 分析法

#### 2.1 血清中デノスマブ濃度

マウス、ラット及びカニクイザルの血清中デノスマブ濃度を ELISA 法で測定した。96 ウ ェルマイクロタイタープレートにコートした RANKL を捕捉試薬として、西洋ワサビペルオ キシダーゼ(HRP)を結合させた RANKL を検出試薬として使用した。この方法では原理的 には血清中の遊離型(例えば血清中の RANKL などに結合していない)デノスマブが測定さ れる。遊離型のデノスマブは可溶型/膜結合型 RANKL のいずれとも結合できる薬理活性を 持つ分子で、この測定方法により薬物動態や薬物動態/薬力学(PK/PD)の特性が最適に評 価されると考えられる。定量下限値(LLOQ)は 0.78~10 ng/mL の範囲であった。

デノスマブ濃度測定における抗デノスマブ抗体の干渉作用については十分評価されていな い。RANKL 結合ドメイン(相補性決定領域; CDR)に結合する抗デノスマブ抗体はデノス マブの検出を妨害し、さらにデノスマブの薬理活性も阻害する可能性があると考えられる。 一方、抗デノスマブ抗体がフレームワーク領域に結合する場合はデノスマブの測定は妨害さ れないものと考えられる。

カニクイザル血清中のデノスマブの定量には感度特異性に優れた ELISA 法を用いた。 ELISA 法はアムジェン社(
)の時発され、
)の時発され、
(
)の時代は、

(QC サンプル)、カニ クイザル血清試料中のデノスマブは、マイクロタイターウェルにコートされたオステオプロ テグリンリガンド(OPGL、RANKL と同じ)と相互作用して捕捉される。結合しなかった画 分を洗浄後、HRP 標識 RANKL(RANKL-HRP)をウェルに加え、未結合の RANKL-HRP を 洗浄後、基質溶液をウェルに添加した。呈色反応はウェルに結合したデノスマブの量に比例 して進行する。呈色反応を硫酸を添加することで停止させ、450~650 nm の波長での吸光度 を測定した。QC サンプル中又は生体試料中のデノスマブの濃度は検量線の回帰式から算出 した。

ラット血清中デノスマブ濃度測定用の ELISA 法には、カニクイザルの ELISA 法で用いら れた同じ試薬、操作方法を採用した。ラットを用いたパイロット試験(試験報告書 101002) で得られた血清を測定対象試料としバリデートされていない方法で定量した。

マウスを用いたパイロット試験(試験報告書 106892 と試験報告書 106893)の生体試料中 のデノスマブ濃度を、上記と同様のバリデートされていない ELISA 法で定量した。測定の操 作方法は同じであるが使用した試薬が一部異なる:デノスマブの捕捉用の試薬にはリコンビ ナントのヒト RANKL を用い、検出用の試薬には、HRP を標識した抗ヒト IgG1 (Fc 特異的) マウスモノクローナル抗体を用いた。

2.2 sNTX 濃度

カニクイザルのsNTX濃度(カニクイザルの試験で汎用されている骨吸収のバイオマーカー、 試験報告書 101398) はバリデートされたOsteomark<sup>®</sup> NTX Serumキットを用い

で測定した。

#### 2.3 抗デノスマブ抗体

ラットでの薬物動態試験、並びにカニクイザルでの薬物動態、組織分布、及び毒性試験に おいて、デノスマブに対する結合抗体の発現を評価した。分析法としてバイオセンサー共鳴 分析法又は電気化学発光(ECL)免疫測定法を用い、アムジェン社の

で測定した。カニクイザルの GLP 試験では中和抗体の発現についてもさらに評価 した。デノスマブに対する結合抗体の生成が認められた(中和抗体として陽性/陰性にかか わらず)動物を"抗デノスマブ抗体陽性"と判断とした。マウスでの試験(試験報告書 106892) では、血清中のデノスマブに対する結合抗体の評価をアムジェン社の

を見ていた。で ELISA 法を用いて実施した。ELISA 法では捕捉試薬としてデノスマブを、検出 試薬として HRP 標識ヤギ抗マウス IgG を使用した。

#### 2.4 放射能

組織分布試験(試験報告書 104192)では、ホモジナイズした試料中の放射能を Packard COBRA II 5003 固体シンチレーションカウンターで測定した。QWBA 試験(試験報告書 104105)では、凍結した屠体をカルボキシメチルセルロースに包埋後、Leica CM 3600 凍結 ミクロトームを用いて切片を作製し、切片をマイラーフィルムで包み、Amersham Biosciences リン光イメージングスクリーンに露光させた後 Amersham Biosciences Storm を用いてスキャンした。

#### 2.5 薬物動態/薬力学(PK/PD)解析

薬物動態パラメータ又はトキシコキネティクスパラメータをノンコンパートメント法によ り算出した。また、カニクイザルの薬物動態試験(試験報告書 101398)では、血清中デノス マブ濃度の平均値──時間データをコンパートメント法で解析し、さらにベースラインからの 変動率(%)としてあらわした sNTX データ(カニクイザルの試験で汎用されている骨吸収 のバイオマーカー)を間接反応 PD モデル (Dayneka et al, 1993)に当てはめて解析した。

8

#### 3. 吸収

デノスマブを静脈内又は皮下単回投与後の薬物動態について、マウス(試験報告書 101494)、 ラット(試験報告書 101002)、及びカニクイザル(試験報告書 101398)を用いて評価した。 マウス及びラットの静脈内投与試験での投与量は 0.06 mg/kg 又は 0.1~10 mg/kg の範囲であ り、皮下投与時の投与量は 1 mg/kg のみであった。カニクイザルにおける静脈内及び皮下投 与試験の投与量は 0.0016~3 mg/kg の範囲であった。抗デノスマブ抗体の発現についてはラ ット及びカニクイザルの試験で評価し、マウスの試験では評価しなかった。ラットに皮下投 与後 1 例に抗デノスマブ抗体の発現が認められ、このデータを除外した。カニクイザルに静 脈内及び皮下投与後、高用量 3 群の大部分の動物で抗デノスマブ抗体が検出されたが、全例 のデータを評価に含めた。

マウス及びラットに皮下投与後、血清中デノスマブ濃度は投与後 72 時間にC<sub>max</sub>に到達し、 生物学的利用率(F<sub>SC</sub>)はそれぞれの動物種で 86 及び 56%であった。カニクイザルへ皮下投 与後のC<sub>max</sub>到達時間(t<sub>max</sub>)は、投与量 0.0016~1 mg/kgの範囲で投与量に伴い増加する傾向 を示し、0.0016 及び 1 mg/kgの投与量でそれぞれ約 11 時間、96 時間であった(図 3-1)。AUC<sub>0-t</sub> (投与後 0 時間~最終定量可能時点の平均血清中デノスマブ濃度一時間曲線下面積)に基づ く曝露量に顕著な非線形性が認められ、0.0016~1 mg/kgの投与量の範囲では、投与量の増大 比以上にAUC<sub>0-t</sub>が増大した(投与量が 600 倍増大したのに対しAUC<sub>0-t</sub>は最大 28000 倍増大)。 対照的に投与量 1~3 mg/kgの範囲では、AUC<sub>0-t</sub>の平均値はほぼ投与量に比例して増加した(投 与量が 3 倍増大したのに対しAUC<sub>0-t</sub>は最大 2.2 倍増大)。コンパートメントモデルでの解析の 結果、F<sub>SC</sub>は 28%(0.0016 mg/kg)から 100%(1 mg/kg)へ増大し、投与量の増大に伴い増加 する傾向を示した。



図 3-1 カニクイザルにデノスマブを単回皮下投与後の血清中デノスマブ濃度推移 図中のシンボルはn=3/群の平均値+標準偏差、あるいは平均値-標準偏差 出典:試験報告書 101398

#### 2.6.4 薬物動態試験の概要文

デノスマブ

#### 4. 分布

マウス及びラットへ静脈内投与後の定常状態における分布容積( $V_{ss}$ )値は、評価した投与 量の範囲でほとんど変動しなかった(マウス:40~49 mL/kg、ラット:97~106 mL/kg)。こ れらの値は、対応する動物種における血漿容積に類似(30~50 mL/kg; Davies and Morris, 1993) したことから、デノスマブは血管外へはほとんど分布しないことが示唆された。カニクイザ ルに静脈内投与後の平均の $V_{ss}$ 値は評価した投与量の範囲で大きな変動は認められず(31~ 51 mL/kg)、血漿容積と同等であった(45 mL/kg; Davies and Morris, 1993)。

雌性カニクイザルに<sup>125</sup>I-デノスマブを 0.1 又は 1 mg/kgの用量で単回皮下投与し、投与 12 時間後、120時間後、672時間後、及び1344時間後(1mg/kgのみ)に各時点2例を屠殺した。 摘出した組織を溶解又はホモジナイズして、固体シンチレーションによる放射能分析に供し た(試験報告書104192)。投与後672又は1344時間まで採取した血清試料の総放射能及びト リクロロ酢酸(TCA)処理後の沈殿物中放射能を測定し、さらに抗デノスマブ抗体の発現も 評価した。いずれの投与群においても、<sup>125</sup>I-デノスマブ由来の放射能は広範な組織に分布し ており、測定した全組織で定量可能であったが、その濃度は血中又は血清中濃度と比較し顕 著に低値であった。注射部位(皮膚及び皮下組織)、甲状腺/副甲状腺、血清、腋窩及び鼠径 リンパ節、血液、脾臓、卵巣、及び肺で高い濃度の放射能が認められた。注射部位(皮膚及 び皮下組織)、腋窩及び鼠径リンパ節、甲状腺、副甲状腺、及び脾臓を除く全組織で、放射能 は投与 672 又は 1344 時間後までに血清中濃度よりも低下した(表 4-1、図 4-1)。リンパ節及 び脾臓における放射能は減少し続けたが、試験終了の時点(1344時間)では血清中の放射能 よりも高濃度で、これらの組織においては若干長く残留することが示された。カニクイザル におけるRANKLの組織発現については十分に解明されていないと考えられるが、ヒト、マウ ス及びラットではリンパ節、脾臟、又はT及びBリンパ球に発現することが知られている (Wong et al, 1997、Anderson et al, 1997、Lacey et al, 1998)。したがって、リンパ節及び脾臓 で認められたわずかな放射能の残留は、これら特定の組織の常在細胞群のRANKLに<sup>125</sup>I-デノ スマブが結合した可能性があると考えられる。これらの組織中放射能が酸不溶性かどうかの 検討はなされておらず、組織中の放射能がインタクトな抗体、分解産物、又は遊離<sup>125</sup>Iのどれ に由来するのかは不明である。しかし、残留放射能の投与放射能に対する比率は非常に低く (たとえば、脾臓重量を4gと仮定した時、0.1 mg/kg で投与後 672 時間での脾臓での残存量 は投与量の 0.2%未満に相当)、さらにデノスマブをカニクイザルに長期投与後の毒性試験に おいてこれらの組織あるいはその他の組織でも有害作用は認められていない(モジュール 2.6.6)。また、甲状腺に<sup>125</sup>I-デノスマブが見かけ上局在した現象は、甲状腺の生理作用により 遊離の放射性ヨウ素分子<sup>125</sup>Iが能動的に取り込まれたものと考えられ、デノスマブが甲状腺に 特異的に結合したものではないと考えられる。甲状腺が効率よく循環血中のヨウ素分子を捕 捉、能動輸送し甲状腺濾胞の管腔中に濃縮する現象は既に報告されており(Spitzweg and Morris, 2002)、さらにいずれの分布試験(試験報告書 104192、試験報告書 104105) でも<sup>125</sup>I-デノスマブを投与後の血清中放射能に対する甲状腺中放射能の比が経時的に増大し投与後の 遅い時点(672時間)で最高値に到達したことからもこの考察が裏付けられると考えられる。

さらに、臨床での曝露量の15倍を示す高用量で12ヵ月間カニクイザルに反復投与後の甲状腺においても病理学的な変化は認められず(試験報告書102090)、甲状腺でデノスマブ由来の作用は認められていないと考えられる。

なお、動物試験終了時(投与後 672 又は 1344 時間)まで生存した全動物で抗デノスマブ 抗体が発現したが、放射能の分布にどのような影響があったかは不明である。

表 4-1 雌性カニクイザルに<sup>125</sup>Iーデノスマブを 1 mg/kgの用量で単回皮下投与した時の 組織中濃度(試験報告書 104192 より)

组件		デノスマブ当量	と濃度 (ng eq./g)	
<b>产旦 朴</b> 與	12 時間	120 時間	672 時間	1344 時間
	505 (0.07)	577 (0.09)	60.2 (0.14)	1.6
膀胱	403 (0.08)	678 (0.13)	90.1 (0.21)	0.0
血液	3830 (0.59)	3510 (0.60)	229 (0.54)	2.1
骨(大腿骨)	173 (0.03)	92.9 (0.02)	12.4 (0.03)	0.0
骨(第三腰椎)	NS	NS	32.9 (0.08)	0.0
骨(第三胸椎)	350 (0.05)	421 (0.07)	44.5 (0.11)	0.0
骨髄(大腿骨)	787 (0.12)	480 (0.09)	39.9 (0.09)	0.0
脳	67.0 (0.01)	46.9 (0.01)	3.5 (0.01)	0.0
投与部位(皮膚)	176000 (29.4)	15200 (2.67)	222 (0.57)	52.1
投与部位(皮下)	46800 (8.82)	5500 (1.04)	167 (0.44)	155
眼	119 (0.02)	136 (0.02)	29.8 (0.07)	0.0
脂肪	352 (0.06)	650 (0.11)	51.9 (0.13)	1.7
心臟	600 (0.09)	738 (0.13)	66.6 (0.16)	2.2
腎臓	999 (0.16)	896 (0.15)	69.0 (0.17)	3.1
大腸	188 (0.03)	379 (0.07)	49.3 (0.12)	0.0
肝臓	928 (0.14)	930 (0.16)	68.1 (0.17)	2.2
肺	871 (0.14)	1090 (0.19)	110 (0.26)	4.0
リンパ節(腋下)	7180 (1.15)	1090 (0.17)	383 (0.92)	75.7
リンパ節(鼠径部)	630 (0.09)	669 (0.12)	374 (0.89)	97.2
筋肉(大腿部)	77.1 (0.01)	69.9 (0.01)	9.0 (0.02)	0.0
卵巣	1900 (0.29)	1730 (0.31)	155 (0.37)	2.3
唾液腺	209 (0.03)	328 (0.06)	41.6 (0.10)	0.0
血清	6520 (1.00)	5800 (1.00)	424 (1.00)	4.2
皮膚(腹部)	226 (0.04)	446 (0.08)	41.5 (0.10)	0.0
小腸	407 (0.06)	467 (0.08)	47.5 (0.11)	0.0
脾臟	995 (0.16)	731 (0.13)	169 (0.39)	74.8
胃	712 (0.13)	592 (0.11)	71.6 (0.17)	0.0
滑液 (膝)	402 (0.09)	NS	NS	NS
胸腺	225 (0.03)	296 (0.05)	23.5 (0.06)	0.0
甲状腺/副甲状腺	891 (0.16)	9290 (1.55)	9550 (23.0)	2780
子宮	287 (0.05)	979 (0.17)	104 (0.25)	0.0

値は2例の平均値

括弧内の値は血清中濃度を1とした時の濃度比、投与後1344時間については多数の組織中濃度が定量 限界以下のため濃度比を算出せず。

NS:試料無し



図 4-1 カニクイザルに<sup>125</sup>I-デノスマブを 0.1 mg/kg(左図)又は 1 mg/kg(右図)の用量で 皮下投与後、試験終了時に血清中よりも高い濃度で認められた組織中の放射能 図中のシンボルは n = 2/ 群の平均値

骨組織中放射能(図 4-2)は、血清中放射能と比較し低値で、血清中放射能と並行して減 衰したことから、骨組織での特異的な取り込みや骨組織への組込みはなかったことが示唆さ れた。



# 図 4-2 カニクイザルに<sup>125</sup>I-デノスマブを 0.1 mg/kg(左図)又は 1 mg/kg(右図)の用量で 皮下投与後の血清、血液、及び骨組織中の放射能 図中のシンボルは n = 2/群の平均値、T3:第3 胸椎

いずれの投与群においても、投与 0.5 時間後の試料を除き、循環血中の放射能の大部分(各時点 86~99%) は酸不溶性であった(図 4-3) ことから、循環血中の放射能のほとんどはインタクトな抗体であることが示唆された。酸不溶性放射能と血清中デノスマブの濃度値は概ね同程度で、血中濃度推移の遅い時点にわずかな相違が認められた(図 4-3、対数線形プロット)。これは、今回の投与量での薬物濃度範囲において極低濃度では放射能標識体(<sup>125</sup>I-デノスマブ)分子がELISA系のプレートに固定化されたRANKLには結合しない可能性も考えられる。

15





図中のシンボルはn=2/群の平均値

QWBA試験(試験報告書 104105)では、雌雄カニクイザルに<sup>125</sup>I-デノスマブを 0.1 又は 1 mg/kgの用量で単回皮下投与した。投与 12、120、672、及び 1344 時間後(1 mg/kg群のみ) に各時点雌雄各 1 頭を屠殺し、組織分布をQWBAで評価した。投与後 672 又は 1344 時間ま で採取した血清試料について、総放射能、トリクロロ酢酸(TCA)処理後の沈殿物中放射能 を測定し、さらに抗デノスマブ抗体の発現を評価した。0.1 mg/kg投与群及び 1 mg/kg投与群 のいずれにおいても、放射能は雌雄ともに広範な組織に分布し(図 4-4、図 4-5)、投与 12 及 び 120 時間後の時点で測定したほぼすべての組織で放射能が定量可能であったが、これら組 織中の放射能は血清中に比べて顕著に低かった(試験報告書 104192 の結果と一致)。0.1 mg/kg

投与群では、注射部位、眼(角膜)、大腸内容物(雄のみで検出)、リンパ節、脾臓、胃内容 物(雄のみで検出)、及び甲状腺を除くすべての組織で、放射能は投与後 672 時間までに定量 限界まで減衰した。低濃度の放射能が眼(角膜)に長期間認められたが、角膜には通常RANKL は存在しないことから(Su et al, 2004)、これは低濃度の遊離<sup>125</sup>Iが涙液に分泌されたためと考 えられた (Bakheet et al, 1998)。1 mg/kg群では、注射部位、リンパ節、卵巣、脾臓、及び甲 状腺を除くすべての組織で放射能は投与後1344時間までに定量限界まで減衰した。投与672 時間後(0.1 mg/kg投与群)又は1344時間後(1 mg/kg投与群)のリンパ節及び脾臓組織では 放射能が検出され、この結果は組織摘出の分布試験(試験報告書 104192)での結果と同様で あった。投与1344 時間後で1例にのみ低濃度の放射能(50 ng/g未満、<sup>125</sup>I-デノスマブ当量) が卵巣に認められたが、それ以前の測定時点では卵巣中の放射能は血液中濃度未満(24%未 満)であった。甲状腺に<sup>125</sup>L-デノスマブが見かけ上局在した現象は、前述したように、遊離 の放射性ヨウ素分子又は<sup>125</sup>Iが甲状腺の生理機能により能動的に取り込まれたものと考えら れ、デノスマブが甲状腺に特異的に結合したものではないものと考えられる。血清中の総放 射能及び酸不溶性画分中放射能、さらにELISA法で測定したデノスマブ濃度の測定結果も、 試験報告書 104192 の結果と同様であった。試験結果は概して雌雄で同様であり、<sup>125</sup>I-デノス マブ由来の放射能の体内分布には性差のないことが示された。

2.6.4 薬物動態試験の概要文

デノスマブ



図 4-4 雄性カニクイザルに<sup>125</sup>Iーデノスマブを 1 mg/kgの用量で単回皮下投与後 120 時間で の全身オートラジオグラフィー(試験報告書 104105 より)



図 4-5 雌性カニクイザルに<sup>125</sup>Iーデノスマブを 1 mg/kgの用量で単回皮下投与後 120 時間で の全身オートラジオグラフィー(試験報告書 104105 より)

#### 5. 代謝(消失)

デノスマブが RANKL と結合しない動物種であるマウス(試験報告書 101494)及びラット (試験報告書 101002)にデノスマブを静脈内投与した。デノスマブの薬物動態は用量に対し 線形であり、投与量の範囲での全身クリアランスの変動はマウス、ラットでそれぞれ 41%及 び 32%未満であった。血清中デノスマブ濃度の推移は、いずれの動物種においても各投与量 間で並行して経時的に減衰した(代表例としてラットのデータを図 5-1 に示す)。マウスの平 均のクリアランス及び血清中半減期はそれぞれ 0.0642 mL/hr/kg及び 19 日であり、ラットで はそれぞれ 0.282 mL/hr/kg及び 11 日であった。



**図 5-1** Sprague Dawley ラットに単回静脈内又は皮下投与後の血清中デノスマブ濃度推移 図中のシンボルは n = 2/群の平均値(試験報告書 101002、皮下投与群で抗デノスマブ抗体を発現した 1 例 のデータは除外) 凡例中の IV は静脈内、SC は皮下を表す。

デノスマブがRANKLと結合する動物種であるカニクイザルに静脈内投後の薬物動態試験 (試験報告書 101398)では顕著な非線形性が認められ、血清中濃度の低濃度領域で急速な消 失が認められた(図 5-2)。平均のAUC<sub>0-t</sub>値で評価した曝露量は、0.0016~1 mg/kgの投与量の 範囲で用量の増大比以上に増加し(約 600 倍の投与量増大に対しAUC<sub>0-t</sub>値は最大 4600 倍増加)、 このことは最低投与量でのクリアランスが最高投与量でのクリアランスより約 16 倍高いこ とに反映されている。これに対し、投与量 1~3 mg/kgの範囲ではAUC<sub>0-t</sub>の平均値はほぼ投与 量に比例して増加した(3 倍の投与量増大に対し曝露量は 3.5 倍増加)。



図 5-2 カニクイザルにデノスマブを単回静脈内投与後の血清中デノスマブ濃度推移 図中のシンボルはn=3/群の平均値+標準偏差、あるいは平均値-標準偏差 出典:試験報告書 101398

高用量群の大部分のカニクイザルで抗デノスマブ抗体が検出され、これらの抗体の発現に よりデノスマブの消失速度は著しく増大したと考えられた(代表的データとして1mg/kg皮 下投与群のデータを図5-3に示す)。高用量群で抗デノスマブ抗体が高頻度に発現しているこ とから、カニクイザルにおけるデノスマブの投与量ー曝露の非線形性の程度は過小評価され ていると考えられる。さらに、血中濃度の低濃度域で認められたデノスマブ消失速度の増大 は、抗デノスマブ抗体は検出されていない低用量2群の動物と高用量群の抗デノスマブ抗体 陰性の動物でも認められていることから(図5-3)、抗デノスマブ抗体の発現が認められたと

いう事象は、カニクイザルでの薬物動態が投与量又は血清中濃度に依存して非線形性を示す という結論に影響を与えないと考えられる。



図 5-3 カニクイザルに 1 mg/kg の投与量でデノスマブを単回皮下投与した後の血清中 デノスマブ濃度推移

白シンボルは抗デノスマブ抗体陽性の個体<sup>a)</sup>、黒シンボルは抗デノスマブ抗体陰性<sup>b)</sup>の個体 a: 投与 29 日目又はそれ以前にデノスマブに対する抗体を発現した。 b: 投与 43 日目まで抗体を発現しなかった。 出典: 試験報告書 101398

デノスマブの代謝を目的とした試験は実施しなかった。しかし、デノスマブは他の免疫グ ロブリン同様、主として分解により消失する(Waldmann and Strober, 1969)可能性が最も高 いと考えられる。FcRn は酸性条件化エンドソームで抗体の Fc 部位と結合した後に細胞表面 に抗体を放出することでリソソームでの抗体の分解を防ぎ、抗体の体内分布と消失における 防御的な役割を果たしている(Junghans and Anderson, 1996)。そこで、デノスマブの薬物動 態における FcRn の役割をさらに検討するため、FcRn ノックアウトマウスを用いた試験を実 施した。加えて、先に述べた標的抗原 RANKL のデノスマブ消失における役割を評価するた め、デノスマブが結合する huRANKL を発現したマウスを用いてデノスマブの薬物動態を検 討した。

FcRnノックアウトマウス及び野生型マウスに、デノスマブを 0.1 又は 1 mg/kgの投与量で単 回急速静脈内投与した(試験報告書 106893)。心穿刺により投与後 1344 時間まで血液を採取 し、ELISA法により血清中デノスマブ濃度を測定した。0 時間の血清中濃度( $C_0$ )及び分布 容積( $V_0$ )値はFcRnノックアウトマウス及び野生型マウスで同様であった。投与後 0 時間~ 無限大時間までの濃度一時間曲線下面積(AUC<sub>0-inf</sub>)値で評価した曝露量は、FcRnノックア ウトマウスに比べ野生型マウスで 14~15 倍高く、クリアランスはFcRnノックアウトマウス で 14~15 倍高かった(図 5-4)。野生型マウスではV<sub>ss</sub>値がV<sub>0</sub>値よりも約2 倍高かったことか ら、デノスマブが血管外へ分布する程度は小さいことが示唆された。また、FcRnノックアウ トマウスでは、V<sub>ss</sub>値とV<sub>0</sub>値の差は 33%以下であったことから、FcRn非存在下ではデノスマ ブの血管外への分布はさらに制限されることが示唆された。FcRnノックアウトマウスでのデ ノスマブの血清中濃度推移の終末相の半減期(t<sub>1/2, z</sub>)は最大 0.80 日で、野生型マウスの半減 期(最大 21 日)と比較して顕著に短く、さらにFcRnノックアウトマウスでのマウス抗体の 半減期(最大 0.64 日、Junghans and Anderson, 1996)と同程度であったことから、FcRnノック アウトマウスでのデノスマブの分解速度及び分布はマウスIgGと同様であることが示唆され た。これらの結果から、FcRnはデノスマブの体内からの消失を防ぎ、その組織分布にも影響 を及ぼすことが示唆された。





血清中デノスマブ濃度推移

図中のシンボルは n = 3/時点/群の平均値±標準偏差 凡例中の WT は野生型(wild type) マウス、KO はノックアウト(knockout) マウスを表す。

huRANKL発現ノックイン雌雄マウス及び野生型マウスに 0.1 mg/kgの用量でデノスマブを 単回急速静脈内投与後のデノスマブの薬物動態を評価した(試験報告書 106892)。心穿刺に より投与後 1344 時間まで血液を採取し、ELISA法により血清中デノスマブ濃度を測定した。 各群の平均の血清中デノスマブ濃度ー時間データを、ノンコンパートメント法を用いて解析 した。AUC<sub>0-inf</sub>で評価した曝露量は、huRANKLノックインマウスに比べ野生型マウスで 5.9 倍高く、また終末相の半減期も野生型マウスの方が 5.4 倍長かった(図 5-5)。曝露量の差異

#### 2.6.4 薬物動態試験の概要文

#### デノスマブ

はクリアランスにも反映され、huRANKLノックインマウスのクリアランスは 5.9 倍高い値を 示した。以上より、デノスマブが結合するタイプのRANKL(huRANKL)を発現するマウス では、デノスマブが標的抗原に結合することにより、消失速度が野生型マウスよりも増大す ることが示され、デノスマブの分布及び消失に標的抗原が関与している(その結果カニクイ ザルで非線形を示し、マウス及びラットで線形を示す)ものと推測された。



図 5-5 huRANKLノックイン又は野生型マウスにデノスマブ 0.1 mg/kg を静脈内投与した後のデノスマブ血清中濃度推移

図中のシンボルは n = 3/時点/群の平均値±標準偏差. 凡例中の WT は野生型(wild type)、KI はノックイン(knock-in)を表す。

#### 6. 排泄

試験104192(第4項に記載、カニクイザル)で、0.1及び1mg/kg投与群でそれぞれ投与後 672及び1344時間までの尿及び糞便試料を採取した。<sup>125</sup>I-デノスマブ由来の放射能の主要排 泄経路は尿で、0.1 mg/kg投与群及び1mg/kg投与群でそれぞれ投与した放射能の80~95%及 び76~79%が尿中に排泄された。糞中の放射能の回収率は、0.1 mg/kg投与群及び1mg/kg投 与群でそれぞれ投与した放射能の1.8~3.1%及び1.1~2.8%であった。尿中放射能の酸不溶性 画分の割合は3.4~25%で、投与された放射能の0.75%以下(各採取期間での平均値)に相当 した。糞中放射能の酸不溶性画分の割合は試料中放射能の20~60%で、投与された放射能の 0.15%以下(採取期間での平均値)であった。以上より、<sup>125</sup>I-デノスマブ由来の放射能は主と して遊離ヨウ素又はヨウ素化ペプチド小断片として排泄されるものと考えられた。投与 672 及び1344時間後(それぞれ0.1 mg/kg投与群及び1 mg/kg投与群)での放射能の総回収率(飼 育ケージからの回収も含める)は、それぞれ92~106%及び83~89%であった(表 6-1、図 6-1)。

		累利	賣排泄率(%、	投与量に対する	)	
投与後時間	质	尿	ł	糞	尿と糞	の合計
	総放射能	TCA画分a)	総放射能	TCA画分 <sup>a)</sup>	総放射能	TCA画分 <sup>a)</sup>
0~12 時間	3.5	0.3	0.0	0.0	3.5	0.3
0~24 時間	9.0	0.7	0.1	0.0	9.1	0.7
0~48 時間	18.5	1.2	0.2	0.0	18.7	1.2
0~72 時間	25.6	1.5	0.3	0.1	25.9	1.6
0~96 時間	31.9	2.1	0.4	0.1	32.3	2.2
0~120 時間	37.1	2.7	0.5	0.1	37.6	2.8
0~144 時間	41.7	3.1	0.6	0.2	42.3	3.3
0~168 時間	44.6	3.5	0.7	0.2	45.3	3.7
0~192 時間	48.3	3.9	0.8	0.2	49.1	4.1
0~216 時間	51.5	4.2	0.9	0.3	52.4	4.5
0~240 時間	54.4	4.5	1.1	0.3	55.5	4.8
0~264 時間	57.1	4.7	1.2	0.4	58.3	5.1
0~288 時間	60.0	5.0	1.4	0.4	61.4	5.4
0~312 時間	62.6	5.2	1.4	0.4	64.0	5.6
0~336 時間	64.2	5.3	1.5	0.4	65.7	5.7
0~504 時間	73.4	5.8	1.7	0.5	75.1	6.3
0~672 時間	76.0	5.9	1.9	0.7	77.9	6.6
0~840 時間	77.1	NC	2.0	NC	79.1	NC
0~1008 時間	77.6	NC	2.0	NC	79.6	NC
0~1176 時間	77.8	NC	2.0	NC	79.8	NC
0~1344 時間	77.9	NC	2.0	NC	79.9	NC

表 6-1 雌性カニクイザルに<sup>125</sup>Iーデノスマブを 1 mg/kgの用量で単回皮下投与した時の尿 及び糞中放射能の累積排泄率(試験報告書 104192 より)

a: 尿及び糞試料をトリクロロ酢酸(TCA)処理して得られた沈殿物を分離し放射能を測定 NC:算出せず(Not Calculated)

値は2例の平均値(投与後1344時間まで評価した群)

投与後1344時間までに飼育ケージから回収された放射能は6.0%(投与量に対して、2例の平均値)





図中のシンボルは2例の平均値 投与後1344時間までに飼育ケージから回収された放射能は投与放射能の6.0%

#### 7. 薬物動態学的薬物相互作用

薬物動態学的薬物相互作用試験は実施されていない。しかし、12 ヵ月間の骨粗鬆症予防試 験(試験報告書 106564) において、カニクイザルにアレンドロネートを 6 ヵ月間事前投与 (50 μg/kg、週 2 回)後にデノスマブの皮下投与(25 mg/kg、月 1 回)に切り替えた群のデノ スマブの薬物動態(投与開始 7 ヵ月後のデータ)を評価し、アレンドロネートの代わりにコ ントロール用溶媒を投与した群(投与開始 7 ヵ月後のデータ)、さらに全期間デノスマブを投 与した群(投与開始 1 ヵ月後のデータ)での薬物動態と比較している。その結果、これら 3 群間でのC<sub>max</sub>及びAUC<sub>0-336hr</sub>の平均値の差異はそれぞれ 19%未満及び 9%未満で、アレンドロ ネートの事前投与によりデノスマブの薬物動態は顕著に変化しないことが示された。

#### 8. その他の薬物動態試験

#### 8.1 薬物動態/薬力学(PK/PD)関係

カニクイザルに単回投与時の薬物動態試験(試験報告書 101398)では、骨吸収マーカーで あるsNTX濃度を測定してデノスマブの薬力学プロファイルを評価した。静脈内投与後の薬物 濃度の平均値を、線形及び非線形(Michaelis-Menten型)の消失経路を伴う2-コンパートメン トモデルに当てはめた。線形の消失過程での消失速度定数( $k_0$ )及び分布容積(V)の計算 値はそれぞれ0.00885 hr<sup>-1</sup>及び28 mL/kgであり、これは0.248 mL/hr/kgのクリアランス(= $k_0 \times$ Vから算出)に相当する。このクリアランス値は1及び3 mg/kgの投与量におけるノンコンパ ートメント法での計算値(0.277~0.310 mL/hr/kg)と近似したことから、高用量での薬物の 消失の大部分は線形の消失経路によることが示唆された。飽和性(非線形)の消失経路での 最大消失速度( $V_{max}$ )、及び最大消失速度の半分に達するのに必要な濃度(Michaelis定数、 K<sub>m</sub>)は、それぞれ120 ng/hr/kg及び41 ng/mLであった。モデルから予測した血中濃度推移は、 実測値と比較的よく一致した(図 8-1)。



図 8-1 カニクイザルにデノスマブを静脈内投与した時の血清中デノスマブ濃度推移の モデル予測(実線)及び実測値

図中のシンボルはn=3/群の平均値+標準偏差、あるいは平均値-標準偏差 出典:試験報告書 101398

#### 2.6.4 薬物動態試験の概要文

デノスマブ

血清中デノスマブ濃度の関数としたときのsNTX産生速度抑制率の平均値を、シグモイド (又はヒル)係数を用いた間接反応モデルに当てはめた。sNTXは急速に低下し(1日以内)、 デノスマブの破骨細胞に対する作用が急速であること、また骨吸収マーカーの変化も速やか であることが示唆された。sNTXのEC<sub>50</sub>及びE<sub>max</sub>の推定値は、それぞれ 464 ng/mL及び 77.6% であった。薬効反応の実測値の個体間差が大きいことを考慮すると、予測した薬力学プロフ ァイルは実測値と概ね一致していると考えられた(図 8-2)。また、皮下投与でのデノスマブ PK/PDの解析結果も同様であった(図示せず)。



図 8-2 カニクイザルにデノスマブを静脈内投与した後のベースラインに対する sNTX (ベースラインに対する変動%)の推移

実線はモデル予測値、破線は実測値、図中のシンボルは n = 3 の平均±標準偏差

カニクイザルでの薬物動態データと薬力学データのモデリング解析、さらにアロメトリックスケーリングによるヒト薬物動態の予測を実施した。これらの情報を元にデノスマブの最初の臨床試験(第1相臨床試験)の試験デザインを行って、0.01~3 mg/kgの広範な投与量(静脈内及び皮下投与)での臨床評価を行うことができた(モジュール 2.7.2)。

8.2 トキシコキネティクス (TK)

8.2.1 単回投与時のトキシコキネティクス

心血管系及び呼吸器系に関する安全性試験の中で少数のトキシコキネティクス試験用試料 を採取した(試験報告書101606)。デノスマブの血清中濃度は3用量群(0.3、3.0、及び30 mg/kg) でともに投与 96 時間後に最高値に達し、最高血清中濃度は 100 倍の用量範囲で 2890 ng/mL から 291000 ng/mL と、投与量に比例して増大した。

#### 8.2.2 反復投与時のトキシコキネティクス

カニクイザルにおける反復投与時のトキシコキネティクスプロファイルについて、デノス マブを 0.1~10 mg/kgの用量で週1回4週間(試験報告書 101447)、デノスマブを1、10、又 は50 mg/kgの用量で月1回12ヵ月(試験報告書102090)、さらにデノスマブを25又は50 mg/kg の用量で月1回16ヵ月(試験報告書103981)投与して評価した。トキシコキネティクスパ ラメータの平均値を表 8-1 に示す(試験報告書 101447 の 0.1 mg/kg投与群及び静脈内投与群 を除く)。検討した用量範囲において、曝露量(C<sub>max</sub>及びAUC<sub>0-tau</sub>)はほぼ用量に比例して増 加し、月1回投与の長期試験ではデノスマブの血清中濃度に顕著な蓄積は認められなかった (初回投与時のパラメータ値に対する比<2.1倍)。

				討	、験番号			
		10	1447	102	2090	103981		
投与	投与量 (mg/kg/月) <sup>b)</sup>	C <sub>max</sub> (µg/mL)	AUC <sub>0-tau</sub> (µg∙hr/mL)	C <sub>max</sub> (µg/mL)	AUC <sub>0-tau</sub> (µg·hr/mL)	C <sub>max</sub> (µg/mL)	AUC <sub>0-tau</sub> (µg·hr/mL)	
	1	14.0 (3.14)	1800 (430)	15.8 (1.81)	4100 (1150)	NA	NA	
र्भान	10	155 (27.6)	20200 (3640)	162 (25.4)	61500 (16000)	NA	NA	
初回	25	NA	NA	NA	NA	143 (58.7)	59600 (22900)	
	50	NA	NA	853 (79.3)	343000 (52200)	336 (67.6)	139000 (34600)	
	1	27.5 (14.0)	3410 (2080)	ND	ND	NA	NA	
最終	10	302 (151)	42000 (22700)	115 (37.1)	48200 (21100)	NA	NA	
<b>Д</b> Д //-S <sup>-</sup>	25	NA	NA	NA	NA	222 (49.9)	101000 (26100)	
	50	NA	NA	666 (156)	268000 (90300)	413 (160)	171000 (72400)	

表 8-1 1、12、及び 16 ヵ月間<sup>a)</sup>反復皮下投与毒性試験におけるカニクイザルでの デノスマブのトキシコキネティクスパラメータ

a: それぞれ試験報告書 101447、試験報告書 102090、及び試験報告書 103981 の投与期間 b: 試験 101447 (週1回投与) を除く

値は平均値(括弧内は標準偏差)

NA= 該当せず

ND = 測定せず

#### 8.2.3 曝露マージン

カニクイザルの6又は12ヵ月反復投与試験で、無毒性量(NOAEL)である50 mg/kg/月で デノスマブを投与した際の4週間でのAUC<sub>0-tau</sub>値は268 mg·hr/mL(11166  $\mu$ g·day/mL)であっ た。このAUC<sub>0-tau</sub>値にはNOAELで12ヵ月間試験を継続した16例中14例の抗デノスマブ抗体 陰性動物データを使用した。第II相臨床試験(20040113 試験)において、デノスマブ120 mg Q4Wの用法用量で乳癌患者あるいは骨転移を有する癌患者に投与後の定常状態における曝 露量(4週間のAUC)は752  $\mu$ g·day/mLである(モジュール2.7.2)。以上より、カニクイザル の12ヵ月反復毒性試験におけるNOAELでの曝露量は、良好な安全性及び忍容性が確認され ている臨床試験の用法用量(120 mg Q4W)での曝露量(AUCに基づく)より約15倍高値で あった。また、16ヵ月毒性試験における曝露マージンは最高で9.5倍であった。

#### 8.2.4 生殖発生毒性試験におけるトキシコキネティクス

胚・胎児発生に関する試験(試験報告書 102842)及び受胎能及び着床までの初期胚発生に 関する試験(試験報告書 102843)において、デノスマブを2.5、5.0、又は12.5 mg/kgの用量 で週1回カニクイザルに投与時のデノスマブのトキシコキネティクスプロファイルを検討し た。曝露量は、過去にカニクイザルで実施した試験での曝露量と同等であった(例:12.5 mg/kg/ 週の投与群の平均のAUC<sub>0-tau</sub>値は、試験報告書 101447 の 10 mg/kg/週の投与群で認められた値 と同様)。これらは短期の試験であるため、臨床における4週間の曝露量と比較するには問題 がある。しかし12.5 mg/kg/週の投与量でカニクイザルの曝露量が定常状態に達したと仮定す ることにより(すなわち抗デノスマブ抗体陰性動物での曝露量が41 mg·hr/mL×4 週として計 算され164 mg·hr/mLと算出される)、第III相臨床試験(20040113 試験)の120 mg Q4Wでの曝 露量に対するマージンは約9.1 倍と算出される。以上より、これらの生殖毒性試験で得られ た総曝露量は、予定される臨床用法用量での曝露量を上回った。

		試験者	香号	
	102	842 <sup>a)</sup>	102	2843 <sup>b)</sup>
(mg/kg/週) -	C <sub>max</sub>	AUC <sub>0-tau</sub>	C <sub>max</sub>	AUC <sub>0-tau</sub>
	(µg/mL)	(µg·hr/mL)	(µg/mL)	(µg·hr/mL)
2.5	58.8	8800	26.5	4220
	(19.8)	(3050)	(36.7)	(5940)
5	114	15500	115	16400
	(52.3)	(6350)	(81.7)	(11400)
12.5	282	41000	476	67800
	(89.6)	(10600)	(279)	(39600)

表 8-2 生殖毒性試験における皮下投与後のカニクイザルでの血清中デノスマブの トキシコキネティクスパラメータ

a:5回目投与は抗デノスマブ抗体陰性動物のみ

b: 初回交配前の投与(9~11回目投与)、全動物(抗デノスマブ抗体の発現は評価せず)

値はn=7~14(試験報告書102842)またはn=4~5(試験報告書102843)の平均値(括弧内は標準偏差)

#### 8.3 同等性/同質性 (CP1 と CP2 の比較)

非臨床試験と早期の臨床試験に使われたデノスマブ製剤は、初期の製造方法(CP1)を用 いて 製造所C\* で製造された。その後、収率と頑健性を改善し改良さ れた市販用の製造方法(CP2)が に導入された。試験103948 製造所C\* では、CP1 及びCP2 を用いて製造されたデノスマブの同等性/同質性を評価した。各プロセ スでは同一細胞株を使用しているが、CP2 では細胞培養培地及び精製工程の改良を行った。 雌性カニクイザルに 0.1 mg/kgの用量でCP1 又はCP2 デノスマブを単回皮下投与し、血清中デ ノスマブ濃度、さらに血清中と尿中の骨吸収マーカー濃度を投与後 672 時間まで評価した。 大部分の動物(16例中13例)で、他の試験で認められたように、デノスマブの消失を早め ると推測される抗デノスマブ抗体が発現した。しかし、投与336時間後の時点で抗デノスマ ブ抗体を発現しなかった動物(CP1 投与群で 5 例、CP2 投与群で 3 例)でのCmax及びAUC0-336hr の平均値の差異はそれぞれ23及び16%未満であった(平均の血清中濃度推移を図8-3に示す)。 さらに、骨吸収マーカーの全体的な変化はCP1 及びCP2 を投与した動物において同様であっ た(投与後 336 時間で抗デノスマブ抗体が陰性だった動物のuNTX/Cr 「尿中クレアチニンで 補正したuNTX]の平均値の推移を図 8-4 に示す)。以上より、カニクイザルにおける薬物動 態及び薬力学プロファイル評価の結果、デノスマブのCP1 及びCP2 は同等であると判断され た。



## 図 8-3 カニクイザルに CP1 又は CP2 のデノスマブを 0.1 mg/kg の用量で皮下投与後の 血清中デノスマブ濃度推移

図中のシンボルは平均値±標準偏差 平均値に含まれる動物は、投与後 336 時間まで抗デノスマブ抗体陰性であった。

33



図 8-4 カニクイザルに CP1 又は CP2 のデノスマブを 0.1 mg/kg の用量で皮下投与後の uNTX/Cr 変化率(%、ベースライン値に対する)の推移 図中のシンボルは平均値±標準偏差

平均値に含まれる動物は、投与後336時間まで抗デノスマブ抗体陰性であった。

#### 考察及び結論

複数の非臨床動物種を用いた試験を実施してデノスマブの薬物動態を評価した。さらにヒ トでのデノスマブの薬物動態を支配しうるメカニズムについても考察を加えた。カニクイザ ルでの薬物動態は非線形で、デノスマブがRANKLと結合しない動物種であるマウス及びラッ トでの薬物動態は線形であったことから、カニクイザルでのデノスマブ消失過程のうち飽和 性を示す部分(非線形の原因)は、RANKLとの結合が関与していることが示唆された。 huRANKL発現させたノックインマウスで認められた顕著なクリアランスの増大(野生型と比 較して)はこの仮説を裏付けており、この機序が同様に、ヒトで認められている用量依存の 非線形性(モジュール2.7.2)の原因になりうると考えられる。飽和のある抗原依存的消失過 程に由来する非線形の薬物動態は、オマリズマブ(Xolair<sup>®</sup>US添付文書、2010)及びエファリ ズマブ(Raptiva<sup>®</sup> US添付文書、2009、Coffey et al, 2005、Mortensen et al, 2005)等、他のモノ クローナル抗体でも認められている。さらに、FcRnノックアウト動物でのデータから、デノ スマブの薬物動態にはこのサルベージ受容体が関与していることと、非飽和性の消失渦程は 他の抗体と共通の消失メカニズム(細網内皮系での非特異的分解)が寄与していることが示 唆された。カニクイザルでの組織分布の結果は、血清中濃度の解析から得られた分布容積に 基づく考察と一致しており、デノスマブが血管外へ分布しにくいことが示された。また、骨 組織における特異的な取り込みや骨組織への組込みのないことも確認された。非臨床試験の 多くの動物個体で抗デノスマブ抗体が検出されたものの、デノスマブの薬物動態及び毒性プ ロファイルの評価は十分可能であった。また、毒性試験における無毒性量(NOAEL)でのデ ノスマブの曝露量は、臨床での推奨される用法用量での曝露量を大幅に上回った。

#### 10. 参考文献

Anderson DM, Maraskovsky E, Billingsley WL, et al. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. Nature. 1997;390:175-179.

Bakheet SM, Hammami MM, Hemidan A, Powe JE, Bajaafar F. Radioiodine secretion in tears. J Nucl Med. 1998;39(8):1452-1454.

Coffey GP, Fox JA, Pippig S, Palmieri S, Reitz B, Gonzales M, Bakshi A, Padilla-Eagar J, Fielder PJ. Tissue distribution and receptor-mediated clearance of anti-CD11a antibody in mice. Drug Metab Dispos. 2005;33(5):623-629.

Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. Pharm Res. 1993;10(7):1093-1095.

Dayneka NL, Garg V, Jusko WJ. Comparison of four basic models of indirect pharmacodynamic responses. J Pharmacokinet Biopharm. 1993;21(4):457-478.

Junghans RP, Anderson CL. The protection receptor for IgG catabolism is the  $\beta_2$ -microglobulin-containing neonatal intestinal transport receptor. Proc Natl Acad Sci USA. 1996;93(11):5512-6.

Lacey DL, Timms E, Tan HL, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. Cell. 1998;93(2):165-76.

Mortensen DL, Walicke PA, Wang X, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of multiple weekly subcutaneous efalizumab doses in patients with plaque psoriasis. J Clin Pharmacol. 2005;45:286-298.

Raptiva® (efalizumab) [package insert]. South San Francisco, CA: Genentech, Inc.; 2009.

Spitzweg C, Morris JC. The sodium iodide symporter: its pathophysiological and therapeutic implications. Clin Endocrinol (Oxf). 2002;57(5):559-574.

Su et al. A gene atlas of the mouse and human protein-encoding transcriptomes. Proc Natl Acad Sci. 2004;101(16):6062-6067.

Waldmann TA, Strober W. Metabolism of immunoglobulins. Prog Allergy. 1969;13:1-110.

Wong BR, Rho J, Arron J, Robinson E, Orlinick J, Chao M, Kalachikov S, Cayani E, Bartlett FS 3rd, Frankel WN, Lee SY, Choi Y. TRANCE is a novel ligand of the tumor necrosis factor receptor family that activates c-Jun N-terminal kinase in T cells. J Biol Chem. 1997b;272(40):25190-4.

Xolair® (Omalizumab) [package insert]. South San Francisco, CA: Genentech, Inc; 2010.

目次

1.	<b>薬物動態試験:一覧表</b>	.2
2.	分析方法及びバリデーション試験	.3
3.	薬物動態試験:吸収:単回投与	.4
4.	薬物動態試験:吸収:反復投与	11
5.	薬物動態試験:分布 組織中濃度	12
6.	薬物動態試験:分布 定量的全身オートラジオグラフィー	13
7.	薬物動態試験:たん白結合	14
8.	薬物動態試験:妊娠又は授乳動物における試験	15
9.	薬物動態試験:その他の分布試験	16
10.	薬物動態試験:代謝 In Vivo	17
11.	薬物動態試験:代謝 In Vitro	18
12.	薬物動態試験:推定代謝経路	19
13.	薬物動態試験:薬物代謝酵素の誘導/阻害	20
14.	薬物動態試験:排泄	21
15.	薬物動態試験:排泄 胆汁中	22
16.	薬物動態試験:薬物相互作用	23
17.	薬物動態試験:その他 生物学的同等性試験	24
18.	薬物動態試験:その他 PK/PD試験	25

# 1. 薬物動態試験:一覧表

Type of Study		Test System	Method of Administration	Testing Facility	Study No.	Location in CTD
Absorption	Denosumab Concentration in Serum	huRANKL Knock-in Mouse	Single 1V	Amgen Inc.,	106892	4.2.2.2.1
	Denosumab Concentration in Serum	Mouse	Single IV and SC	Amgen Inc.,	101494	4.2.2.2.2
	Denosumab Concentration in Serum	FcRn Knockout Mouse	Single IV	Amgen Inc.,	106893	4.2.2.2.3
	Denosumab Concentration in Serum	Rat	Single IV and SC	Amgen Inc.,	101002	4.2.2.2.4
	Radioactivity Concentration in Serum	Cynomolgus Monkey	Single SC		104192	4.2.2.2.5
	Denosumab Concentration in Serum	Cynomolgus Monkey	Single IV and SC	Amgen Inc.,	101398	4.2.2.2.6
Distribution	Quantitative Whole-body Autoradiography	Cynomolgus Monkey	Single SC		104105	4.2.2.3.1
	Radioactivity Concentration in Tissues	Cynomolgus Monkey	Single SC		104192	4.2.2.3.2 (4.2.2.2.5)
Metabolism	-			-		-
Excretion	Radioactivity excretion in urine and feces	Cynomolgus Monkey	Single SC		104192	4.2.2.5.1 (4.2.2.2.5)
Other Pharmacokineto	Comparability Study for Formulations	Cynomolgus Monkey	Single SC	Amgen Inc.,	103948	4.2.2.7.1
Studies	PK/PD	Cynomolgus Monkey	Single IV and SC	Amgen Inc.,	101398	4.2.2.7.2 (4.2.2.2.6)

## 2. 分析方法及びバリデーション試験

				Validation Study			Applied PK Study
Species / matirx	Method / Validated	Study No.	Location in CTD	Calibraion range (ng/mL)	Capture	Detection	Study No.
Cynomolgus Monkey / Serum	ELISA / Yes	101496	4.2.2.1.1	0.96-40	OPGL	OPGL Conjugated to HRP (RANKL-HRP)	101398 102090 101606 101447
	ELISA / Yes	103472	4.2.2.1.2	0.96–40	OPGL	OPGL Conjugated to HRP (RANKL-HRP)	104192 103948 104105 102842 102843
	ELISA / Yes	105373	4.2.2.1.3	3.943–246.032; 6.151–196. 825	OPGL	OPGL Conjugated to HRP (RANKL-HRP)	106564
	ELISA / Yes	105373	4.2.2.1.4 (4.2.2.1.3)	3.8–246	OPGL	OPGL Conjugated to HRP (RANKL-HRP)	103981

## 3. 薬物動態試験:吸収:単回投与

	Type of Study /				
Study No. / Title	Status	Species	Objective	Methods	Summary of Results
106892 / A Single Dose Pharmacokinetics Study of Denosumab (AMG 162) Following Intravenous Administration to Male or Female huRANKL Knock-In and Wild-Type Mice	Single Dose/ Non-GLP	Mouse	To characterize the single dose pharmacokinetics (PK) of denosumab (AMG 162) following intravenous administration to male or female huRANKL knock-in and wild-type mice.	Single IV bolus dose of 0.1 mg/kg; Serum denosumab concentrations were determined up to 1344 hr post-dose and composite mean serum denosumab concentration-time data were analyzed by non-compartmental methods.	Exposure based on AUC <sub>0-inf</sub> was 6.6-fold greater and the terminal half-life was 11-fold longer in wild-type relative to huRANKL knock-in mice. The difference in exposure reflects 6.6-fold higher clearance in the huRANKL knock-in animals. These results suggest that, in mice expressing a form of RANKL to which denosumab binds (huRANKL), binding of denosumab to its target antigen leads to an accelerated rate of elimination (relative to elimination in wild-type animals). Thus, binding of denosumab to huRANKL appears to play a significant role in the elimination of the antibody.

#### 薬物動態パラメータ

Study No.	Species	Route	Dose (mg/kg)	Sex	n/timepoint	C <sub>0</sub> (μg/mL)	AUC <sub>0-inf</sub> (μg·hr/mL)	t <sub>1/2,z</sub> (hr)	CL (mL/hr/kg)	V <sub>0</sub> (mL/kg)	V <sub>ss</sub> (mL/kg)
106892	WT mouse	IV	0.1	M/F	3	2.60	881	426	0.114	38.5	74.0
	KI mouse	IV	0.1	M/F	3	2.19	150	78.6	0.667	45.7	72.7

Values for parameters are mean. WT: wild type KI: knock-in

## 3. 薬物動態試験:吸収:単回投与(続き)

	Type of Study /				
Study No. / Title	Status	Species	Objective	Methods	Summary of Results
101494 /	Single Dose/	Mouse	To determine the	IV, SC bolus dosing	Following IV dosing of 0.1 to 10.0 mg/kg,
Pharmacokinetic Study	Non-GLP		pharmacokinetics of	0.1, 1.0, 10.0 mg/kg IV,	denosumab PK was approximately linear with
of Denosumab			denosumab in mice	1.0 mg/kg SC;	dose. Exposure based on $C_0$ and $AUC_{0-inf}$
(AMG 162) in Male			following intravenous	Serum samples were collected	values increased approximately
Mice Following			or subcutaneous	to determine denosumab	dose-proportionally (76- to 130-fold for the
Intravenous or			administration.	concentrations; serum	100-fold increase in dose). Across the IV
Subcutaneous			,	denosumab concentration-time	dose range, CL values were similar (<41%
Administration				data were analyzed by	different, mean value 0.0642 mL/hr/kg), as
				non-compartmental methods.	were V <sub>ss</sub> (<21% different, mean value
				-	44.1 mL/kg) and $t_{1/2,z}$ (<11% different, mean
				·	value 18.7 days) values.
					Following SC administration of 1.0 mg/kg,
					$C_{max}$ was reached 72 hours post-dose, $t_{1/2,z}$ was
					similar to those observed following IV dosing,
					and bioavailability was approximately 86%.

#### 薬物動態パラメータ

Study No.	Species	Sex	Route	Dose (mg/kg)	n/ timepoint	T <sub>max</sub> (hr)	$C_{max}$ or $C_o$ (µg /mL)	t <sub>1/2,z</sub> (hr)	AUC <sub>0-t</sub> (μg·hr/mL)	AUC <sub>0-inf</sub> (μg·hr/mL)	CL or CL/F (mL/hr/kg)	V <sub>ss</sub> (mL/kg)	MRT <sub>0-t</sub> (hr)
		M	SC	1	2	72	23.1	444	NA	15600	0.0642	NA	NA
101404	Manaa	M	IV	0.1	2 .	NA	3.91	420	NA	1680	0.0594	43.5	NA
101494	Mouse	M	IV	1	2	NA	31.9	463	NA	18100	0.0553	40.2	NA
		M	IV	10	2	NA	511	461	NA	128000	0.0778	48.6	NA

Values for each parameter are mean. NA: not available

## 3. 薬物動態試験:吸収:単回投与(続き)

	Type of Study /				
Study No. / Title	Status	Species	Objective	Methods	Summary of Results
106893 / A Single Dose	Single Dose/	Mouse	To characterize the	Single IV bolus dose of 0.1 or	Following a single bolus IV dose of 0.1
Pharmacokinetics Study	Non-GLP		single dose	1.0 mg/kg;	or 1.0 mg/kg denosumab, $C_0$ and $V_0$
of Denosumab (AMG			pharmacokinetics of	Serum denosumab concentrations	values were similar in FcRn KO and WT
162) Following			denosumab (AMG 162)	were determined up to 1344 hr	mice. The WT mice displayed 14- to
Intravenous			following intravenous	post-dose and composite mean serum	15-fold greater exposure based on
Administration to Male			administration to male	denosumab concentration-time data	AUC <sub>0-inf</sub> values, reflecting 14- to 15-fold
or Female FcRn			or female FcRn	were analyzed by non-compartmental	higher CL values in the FcRn KO
Knockout and Wild			knockout and wild type	methods.	animals. V <sub>ss</sub> values were approximately
Type Mice			mice.		2-fold higher than $V_0$ values in WT
					animals, indicating modest tissue
					distribution of denosumab. In contrast,
					$V_{ss}$ values were $\leq 33\%$ different than $V_0$
					values in FcRn KO animals, indicating
					more limited tissue distribution of
					denosumab in the absence of FcRn. The
					higher CL and smaller V <sub>ss</sub> in FcRn KO
					animals resulted in markedly (25- to
					27-fold) shorter $t_{1/2,z}$ values relative to
					WT mice.

薬物動態パラメータ

Study No	Species	Route	Dose	Sev	n/timenoint	C <sub>0</sub>	$AUC_{0-inf}$	t <sub>1/2,z</sub>	CL	$V_0$	V <sub>ss</sub>
Study NO.	species	Route	(mg/kg)	BUN	munepoint	$(\mu g/mL)$	(µg·hr/mL)	(hr)	(mL/hr/kg)	(mL/kg)	(mL/kg)
	WT mouse	IV	0.1	M/F	3	2.21	685	489	0.146	45.2	97.6
10/002	FcRn KO mouse	IV	0.1	M/F	3	2.55	48.5	18.1	2.06	39.3	52.3
106893	WT mouse	1V	1	M/F	3	20.8	6910	506	0.145	48.0	100
	FcRn KO mouse	IV	1	M/F	3	21.7	455	20.2	2.20	46.0	58.6

Values for parameters are mean. WT: wild type FcRn: neonatal Fc receptor KO: knockout

### 2.6.5 薬物動態試験概要表

## デノスマブ

## 3. 薬物動態試験:吸収:単回投与(続き)

	Type of Study /				
Study No. / Title	Status	Species	Objective	Methods	Summary of Results
101002 / Pilot	Single Dose/	Rat	To determine the	IV, SC bolus dosing	Denosumab displayed dose-linear IV
Pharmacokinetic Study	Non-GLP		pharmacokinetic	0.0628, 1.0, 10 mg/kg IV,	pharmacokinetics in the dose range of 0.0628 to
of AMG 162			profiles of a human	1.0 mg/kg SC;	10 mg/kg, with a steady state volume of
Administered			IgG2 monoclonal	Serum samples were collected	distribution of approximately 101 mL/kg. The
Subcutaneously or			antibody (Hu-Mab) to	to determine denosumab	mean terminal-phase half-life was
Intravenously in Male			osteoprotegrin ligand	concentrations and the	$270 \pm 9.4$ hrs. Following SC administration
and Female Sprague			(OPGL), AMG 162 in	presence of anti-denosumab	of 1.0 mg/kg, peak levels of 6,870 ng/mL
Dawley Rats			rats following	antibodies; serum denosumab	occurred 72 hr post-dose and mean
			intravenous or	concentration-time data were	bioavailability was 58%.
			subcutaneous	analyzed by	
			administration.	non-compartmental methods.	

薬物動態パラメータ

Study	Species	Sev	Route	Dose	n/	T <sub>max</sub>	C <sub>max</sub> or C <sub>o</sub>	t <sub>1/2</sub>	AUC <sub>0-t</sub>	AUC <sub>0-inf</sub>	CL or CL/F	V <sub>ss</sub>	MRT <sub>0-t</sub>
No.	species	Der	Route	(mg/kg)	timepoint	(hr)	(µg /mL)	(hr)	(µg∙hr/mL)	(µg∙hr/mL)	(mL/hr/kg)	(mL/kg)	(hr)
		F	SC	1	1	72	6.87	106	1780	1970	0.507	NA	NA
101000	D-4	M/F	IV	0.0628	2	NA	1.97	240	148	201	0.318	98.6	NA
101002	Kat	M/F	IV	1	2	NA	22.9	270	3090	3580	0.287	107	NA
		M/F	IV	10	2	NA	318	290	34700	41800	0.242	97.2	NA

•

Values for each parameter are mean. NA: not available

# 3. 薬物動態試験:吸収:単回投与(続き)

	Type of Study	······································			
Study No. / Title	/ Status	Species	Objective	Methods	Summary of Results
104192 / Absorption,	Single Dose/	Cynomolgus	To assess the	Single SC bolus dose of	Except for the 0.5 hr time-point, the majority of
Distribution and	Non-GLP	Monkey	extent of	0.1 or 1.0 mg/kg	circulating radioactivity (86% to 99% at each
Excretion in			absorption,	Up to 672 or 1344 hours post-dose, 2	time point) in serum was acid-precipitable in both
Cynomolgus			distribution, and	animals per time point were	dose groups, indicating that most of the
Monkeys Following			excretion of	sacrificed and tissues processed prior	circulating species was intact antibody.
a Single			radioactivity	to radioactivity analysis by liquid	Denosumab serum PK was nonlinear with dose,
Subcutaneous			following a single	scintillation counting. Serum	with a 23-fold increase in AUC <sub>0-inf</sub> for the 10-fold
Administration of			subcutaneous	samples collected up to 672 or 1344	increase in dose. The percent change from
<sup>125</sup> I-AMG 162			administration of	hours were analyzed for total	baseline serum CTX ranged from approximately
			<sup>125</sup> I-AMG 162	radioactivity, trichloroacetic acid	-41% to -59% from 12 to 336 hours post-dose for
			given to female	(TCA)-precipitable radioactivity, and	the 0.1 mg/kg dose group, while it ranged from
			cynomolgus	the development of antibodies to	approximately -56% to -70% from 12 to 672
			monkeys.	denosumab. In addition, serum	hours post-dose for the 1 mg/kg dose group.
				denosumab and C-telopeptide (CTX)	
				concentrations were determined.	
				Urine and fecal samples were also	
				collected up to 672 and 1344 hours	
				post-dose in the 0.1 and 1.0 mg/kg	
				dose groups, respectively. Serum	
				denosumab concentration-time data	
				were analyzed by non-compartmental	
				methods.	

薬物動態パラメータ

Study No.	Species	Route	Dose (mg/kg)	Sex	n/timepoint	T <sub>max</sub> (hr)	C <sub>max</sub> (ng/mL)	$t_{1/2,z}$ (hr)	AUC <sub>0-t</sub> (µg·hr/mL)	AUC <sub>0-inf</sub> (µg·hr/mL)	CL/F (mL/hr/kg)	MRT (hr)
104102	Cynomolgus	SC	0.1	F	6	120	612	34.6	NR	126	0.795	139
104192	Monkey	SC	1	F	8	120	8870	37.9	NR	2930	0.341	274

Values for parameters are mean. NR: not reported

## 3. 薬物動態試験:吸収:単回投与(続き)

	Type of Study				
Study No. / Title	/ Status	Species	Objective	Methods	Summary of Results
101398 / A Single	Single Dose/	Cynomolgus	To evaluate the	IV, SC bolus	Denosumab displayed non-linear pharmacokinetics in
Dose Intravenous and	GLP	Monkey	pharmacokinetics and	0.0016, 0.00532, 0.0848,	cynomolgus monkeys following IV and SC administration. CL
Subcutaneous			pharmacodynamics	1.0, 3.0 mg/kg (IV or SC);	increased 16-fold (0.277 to 4.40 mL/hr/kg) following IV
Pharmacokinetic and			of AMG 162 when	Serum samples were	administration and CL/F increased 30-fold (0.353 to
Pharmacodynamic			administered, as a	collected to determine	10.6 L/hr/kg) following SC administration as dose decreased
Study of AMG 162 in			single subcutaneous	denosumab concentrations	from 3.0 mg/kg to 0.0016 mg/kg. However, denosumab PK
Cynomolgus			or intravenous	and the presence of	was approximately dose-linear from 1 to 3 mg/kg for both IV
Monkeys			injection to	anti-denosumab antibodies;	and SC administration. Mean V <sub>ss</sub> was similar to that of
			cynomolgus	serum denosumab	plasma volume (~ 40 mL/kg). Denosumab IV PK was well
			monkeys.	concentration-time data	described by a two-compartmental model with parallel linear
				were analyzed by	and nonlinear Michaelis-Menten elimination.
				non-compartmental	Following SC administration, bioavailability showed a trend
				methods.	of increasing from 28% to 100% with increasing dose (based
					on compartmental analysis). Although, a decrease of
					bioavailability from 100% (at 1 mg/kg) to 59% (at 3 mg/kg)
					was observed, the actual bioavailability for the 3 mg/kg dose
					is likely higher due to an under-estimation of the exposure
					over a large majority of the timepoints. Overall study
					conclusions are not affected, since bioavailability still shows a
					trend of increasing with dose and, at the higher doses, still
					indicates favorable bioavailability of $>50\%$ .
					SC dosing of denosumab caused a rapid (within 24 hours)
					reduction in bone resorption based on N-telopeptide in serum
					(sNTX), at doses above $0.00532 \text{ mg/kg}$ . The duration of sNTX
					reduction increased with dose up to 8 weeks over the dose
					range investigated. A serum denosumab concentration
					corresponding to half-maximal inhibition of bone resorption
					$(EC_{50})$ of 464 ng/mL was estimated based on PK/PD modeling
					using an indirect effect model.
					The development of antibodies to denosumab was not route
					dependent and was associated with more rapid elimination of
					denosumab for doses above 0.0848 mg/kg.

## 3. 薬物動態試験:吸収:単回投与(続き)

薬物動態パラメータ

Study	Species	Say	Route	Dose	n/	T <sub>max</sub>	C <sub>max</sub> or C <sub>o</sub>	t <sub>1/2</sub>	AUC <sub>0-t</sub>	AUC <sub>0-inf</sub>	CL or CL/F	V <sub>ss</sub>	MRT <sub>0-t</sub>
No.	species	Sex	Route	(mg/kg)	timepoint	(hr)	(µg /mL)	(hr)	(µg·hr/mL)	(µg·hr/mL)	(mL/hr/kg)	(mL/kg)	(hr)
		T	50	0.0016	2	10.7	0.00433	41.9	0.143	0.301	10.6	NA	17.0
		Г	sc	0.0010	5	(11.5)	(0.00166)	(0.134)	(0.0339)	(NA)	(3.56)	INA	(9.00)
		Б	sc	0.0053	3	18.7	0.0229	35.8	1.54	1.64	6.15	NA	40.4
		1'	30	0.0055	J	(9.24)	(0.000500)	(6.30)	(0.119)	(0.203)	(0.720)	INA	(3.17)
		Б	SC	0.0848	2	56.0	0.728	24.1	126	126	0.808	NA	111
		I.	SC	0.0040	J	(36.7)	(0.0911)	(7.00)	(21.2)	(21.2)	(0.125)	INA	(4.29)
		Б	SC	1.0	2	96.0	16.5	28.9	3940	3940	0.298	NA	182
		ľ	SC.	1.0	3	(0.00)	(5.83)	(18.8)	(1820)	(1820)	(0.147)	INA	(55.5)
		Б	50	3.0	2	64.0	35.8	29.5	8790	8790	0.353	NA	192
101308	Cynomolgus	1'	30	5.0	5	(27.7)	(9.02)	(16.8)	(2080)	(2080)	(0.0737)	INA	(90.3)
101570	Monkey	Б	IV	0.0016	2	NA	0.0625	8.37	0.779	0.763	4.40	51.4	12.1
		1	14	0.0010	5	INA	(0.0120)	(1.15)	(0.310)	(0.302)	(1.80)	(15.3)	(1.50)
		Б	IV	0.0052	2	NA	0.243	14.3	4.80	4.77	2.10	45.1	21.5
		1	11	0.0055	5	INA	(0.0199)	(1.80)	(0.320)	(0.310)	(0.133)	(1.88)	(2.31)
		Б	W	0 0949	2	NIA	3.72	36.9	187	189	0.542	38.4	72.5
		1,	1.	0.0040	5	INA	(0.245)	(17.5)	(34.1)	(37.0)	(0.106)	(1.38)	(13.6)
		Б	IV	1.0	2	NIA	35.9	19.3	3590	3590	0.310	30.7	106
		Г	11	1.0	5	INA	(5.11)	(4.18)	(1540)	(1540)	(0.110)	(5.21)	(33.9)
		Б	IV	2.0		NIA	105	27.5	12400	12400	0.277	31.2	131
		r	11	5.0	3	INA	(40.5)	(11.7)	(4850)	(4850)	(0.134)	(7.96)	(63.6)

Values for each parameter are mean, and values in parenthesis are standard deviation. NA: not available

## 4. 薬物動態試験:吸収:反復投与

## 5. 薬物動態試験:分布 組織中濃度

	Type of Study				
Study No. / Title	/ Status	Species	Objective	Methods	Summary of Results
104192 / Absorption,	Single Dose/	Cynomolgus	To assess the	Single SC bolus dose of	In both dose groups, <sup>125</sup> I-denosumab-derived
Distribution and	Non-GLP	Monkey	extent of	0.1 or 1.0 mg/kg	radioactivity was widely distributed and quantifiable in
Excretion in			absorption,	Up to 672 or 1344 hours	all tissues examined, but generally at levels markedly
Cynomolgus			distribution, and	post-dose, 2 animals per time	lower than those in blood or serum. The highest
Monkeys Following			excretion of	point were sacrificed and tissues	concentrations were observed in the injection site (skin
a Single			radioactivity	processed prior to radioactivity	and subcutaneous tissue), thyroid/parathyroid, serum,
Subcutaneous			following a single	analysis by liquid scintillation	axillary and inguinal lymph nodes, blood, spleen,
Administration of			subcutaneous	counting. Serum samples	ovaries, and lungs. The concentration of radioactivity
<sup>125</sup> I-AMG 162			administration of	collected up to 672 or 1344	declined to levels less than those in serum by 672 or
			<sup>125</sup> I-AMG 162	hours were analyzed for total	1344 hours post-dose in all tissues except at the
			given to female	radioactivity, trichloroacetic	injection site (skin and subcutaneous tissue), axillary
			cynomolgus	acid (TCA)-precipitable	and inguinal lymph nodes, and spleen. The
			monkeys.	radioactivity, and the	radioactivity in lymph nodes and spieen continually
				development of antibodies to	decreased, with higher concentrations than seruin at
				denosumab. In addition,	these tissues. It was not determined whether the
				C tolonontido (CTV)	radioactivity in these tissues was acid precipitable
				c-telopeptide (CIX)	Thus, it is unknown if the radioactivity corresponds to
				Urine and feast samples were	intact antibody a catabolic product or free <sup>125</sup> All
· · ·				also collected up to 672 and	animals that remained on-study to 672 or 1344 hours
				1344 hours post-dose in the 0.1	developed antibodies to denosumab the effects of
				and 1.0 mg/kg dose groups	which on the distribution of the radiolabel are
				respectively Serum	unknown Radioactivity in hone tissues was low
				denosumab concentration-time	relative to serum and declined in parallel indicating a
				deta were analyzed by	lack of specific untake or sequestration in osseous
				non-compartmental methods	tissues
				non-compartmental methods.	Except for the 0.5 hr time-point, the majority of
					circulating radioactivity (86% to 99% at each time
					point) in serum was acid-precipitable in both dose
					groups, indicating that most of the circulating species
					was intact antibody.

## 6. 薬物動態試験:分布 定量的全身オートラジオグラフィー

## 7. 薬物動態試験:たん白結合

## 8. 薬物動態試験:妊娠又は授乳動物における試験

### 9. 薬物動態試験:その他の分布試験

10. 薬物動態試験:代謝 In Vivo

.

デノスマブ

## 11. 薬物動態試験:代謝 In Vitro

# 12. 薬物動態試験:推定代謝経路

## 13. 薬物動態試験:薬物代謝酵素の誘導/阻害

## 14. 薬物動態試験:排泄

	Type of Study				
Study No. / Title	/ Status	Species	Objective	Methods	Summary of Results
104192 / Absorption,	Single Dose/	Cynomolgus	To assess the extent of	Single SC bolus dose of	Urine was the major route of elimination of
Distribution and	Non-GLP	Monkey	absorption,	0.1 or 1.0 mg/kg	<sup>125</sup> I-denosumab-derived radioactivity, accounting
Excretion in			distribution, and	Up to 672 or 1344 hours	for approximately 80%-95% and 76%-79% of the
Cynomolgus			excretion of	post-dose, 2 animals per time	administered radioactivity in the 0.1 and 1.0
Monkeys Following			radioactivity following	point were sacrificed and tissues	mg/kg dose groups, respectively. The
a Single			a single subcutaneous	processed prior to radioactivity	corresponding fecal recovery values were
Subcutaneous			administration of	analysis by liquid scintillation	1.8%-3.1% and 1.1%-2.8%. The percentage of
Administration of			<sup>125</sup> I-AMG 162 given to	counting. Serum samples	urinary radioactivity that was acid-precipitable
			female cynomolgus	collected up to 6/2 or 1344	generally ranged from 3.4%-25% and represented
			monkeys.	nours were analyzed for total	on average $\leq 0.75\%$ of the administered
				radioactivity, incluoroacetic	radioactivity at each conjection interval. The
				radioactivity and the	sample radioactivity and $\leq 0.15\%$ of administered
				development of antibodies to	radioactivity Therefore
				denosumah In addition	<sup>125</sup> I-denosumah-derived radioactivity was
				serum denosumab and	primarily excreted as free jodide or small
				C-telopeptide (CTX)	iodinated peptide fragments. Overall recovery
				concentrations were determined.	of radioactivity ranged from 92%-106% and
				Urine and fecal samples were	83%-89% in the 0.1 and 1.0 mg/kg dose groups at
				also collected up to 672 and	672 and 1344 hours post-dose, respectively.
				1344 hours post-dose in the 0.1	
				and 1.0 mg/kg dose groups,	
				respectively. Serum	
				denosumab concentration-time	
				data were analyzed by	
				non-compartmental methods.	

## 15. 薬物動態試験:排泄 胆汁中

## 16. 薬物動態試験:薬物相互作用

## 17. 薬物動態試験:その他 生物学的同等性試験

	Type of Study /			· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
Study No. / Title	Status	Species	Objective	Methods	Summary of Results
103948 /	Single Dose/	Cynomolgus	To compare the	SC bolus	A majority of animals (13 of 16)
Pharmacokinetic and	Non-GLP	Monkey	pharmacokinetic profiles of	0.1 mg/kg of CP1 or CP2 ;	developed antibodies to denosumab
Pharmacodynamic			AMG 162 manufactured by	Serum samples were collected to	that, as observed in other studies,
Comparability Study for			two different processes (CP1	determine denosumab	appeared to lead to more rapid
Two Manufacturing			and CP2) following	concentrations and the presence	elimination of denosumab.
Processes of AMG 162			subcutaneous administration of	of anti-denosumab antibodies;	However, in a subset of animals (n
in Female Cynomolgus			0.1 mg/kg to naïve female	serum denosumab	= 5, CP1; n $=$ 3, CP2) that did not
Monkeys			cynomolgus monkeys. The	concentration-time data were	develop antibodies to denosumab
			secondary objective of this	analyzed by non-compartmental	at 336 hours, mean $C_{max}$ and
			study was to compare the methods.		AUC <sub>0-336 hr</sub> values were less than
			pharmacodynamic effects of		23% and 16% different,
			AMG 162 manufactured by		respectively. In addition, overall
			two processes (CP1 and CP2)		changes in bone turnover markers
			following SC administration of		were similar in animals
			0.1 mg/kg to naïve female		administered CP1 and CP2.
			cynomolgus monkeys by		Therefore, the PK and PD of
			assessing the serum biomarker		denosumab CP1 and CP2 were
			Type 1 C-telopeptide and urine		determined to be comparable in the
			N-telopeptice.		cynomolgus monkey.

#### 薬物動態パラメータ

Study No.	Species	Route	Dose (mg/kg)	Sex	n <sup>a)</sup>	Process	T <sub>max</sub> (hr)	C <sub>max</sub> (ng/mL)	AUC <sub>0-336 hr</sub> (µg·hr/mL)
103948 Cynomolgus Monkey	SC	0.1	F	5	CP1	72 (24-168)	958 (479)	188 (46.4)	
	Monkey	SC	0.1	F	3	CP2	78 (48-72)	785 (163)	163 (40.4)

Values for parameters are mean, and values in parenthesis are standard deviations. a: Anti-denosumab antibody-negative on Day 14

#### 2.6.5 薬物動態試験概要表

デノスマブ

**\_\_** 

#### 18. 薬物動態試験:その他 PK/PD 試験 Type of Study

	Type of Study	~ •			
Study No. / Title	/ Status	Species	Objective	Methods	Summary of Results
101398 / A Single	Single Dose/	Cynomolgus	To evaluate the	IV, SC bolus	Denosumab displayed non-linear pharmacokinetics in
Dose Intravenous and	GLP	Monkey	pharmacokinetics and	0.0016, 0.00532, 0.0848,	cynomolgus monkeys following IV and SC administration. CL
Subcutaneous			pharmacodynamics	1.0, 3.0 mg/kg (IV or SC);	increased 16-fold (0.277 to 4.40 mL/hr/kg) following IV
Pharmacokinetic and			of AMG 162 when	Serum samples were	administration and CL/F increased 30-fold (0.353 to
Pharmacodynamic			administered, as a	collected to determine	10.6 L/hr/kg) following SC administration as dose decreased
Study of AMG 162 in			single subcutaneous	denosumab concentrations	from 3.0 mg/kg to 0.0016 mg/kg. However, denosumab PK
Cynomolgus			or intravenous	and the presence of	was approximately dose-linear from 1 to 3 mg/kg for both IV
Monkeys			injection to	anti-denosumab antibodies;	and SC administration. Mean $V_{ss}$ was similar to that of
			cynomolgus	serum denosumab	plasma volume (~ 40 mL/kg). Denosumab IV PK was well
			monkeys.	concentration-time data	described by a two-compartmental model with parallel linear
				were analyzed by	and nonlinear Michaelis-Menten elimination.
				non-compartmental	Following SC administration, bioavailability showed a trend
				methods.	of increasing from 28% to 100% with increasing dose (based
					on compartmental analysis). Although, a decrease of
					bioavailability from 100% (at 1 mg/kg) to 59% (at 3 mg/kg)
					was observed, the actual bioavailability for the 3 mg/kg dose
					is likely higher due to an under-estimation of the exposure
					over a large majority of the timepoints. Overall study
					conclusions are not affected, since bioavailability still shows a
					trend of increasing with dose and, at the higher doses, still
					indicates favorable bioavailability of >50%.
					SC dosing of denosumab caused a rapid (within 24 hours)
					reduction in bone resorption based on N-telopeptide in serum
					(sNTX), at doses above 0.00532 mg/kg. The duration of sNTX
					reduction increased with dose up to 8 weeks over the dose
					range investigated. A serum denosumab concentration
					corresponding to half-maximal inhibition of bone resorption
					(EC <sub>50</sub> ) of 464 ng/mL was estimated based on PK/PD modeling
					using an indirect effect model.
					The development of antibodies to denosumab was not route
					dependent and was associated with more rapid elimination of
					denosumab for doses above 0.0848 mg/kg.