

ボンビバ静注1mg シリンジ
(イバンドロン酸ナトリウム水和物)
[骨粗鬆症]

第2部 (モジュール 2)

CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言

中外製薬株式会社

略語一覧

略語	英名	和名
ALN	Alendronate sodium hydrate	アレンドロン酸ナトリウム水和物
BP	Bisphosphonate	ビスホスホネート
CLO	Sodium clodronate hydrate	クロドロン酸ナトリウム水和物
ETI	Etidronate disodium	エチドロン酸二ナトリウム
PAM	Pamidronate disodium hydrate	パミドロン酸二ナトリウム水和物

目次

	頁
2.6 非臨床試験の概要文及び概要表.....	4
2.6.1 緒言.....	4
2.6.1.1 骨粗鬆症と薬物による治療.....	4
2.6.1.2 骨粗鬆症治療薬としてのBP系薬剤.....	4
2.6.1.3 イバンドロン酸ナトリウム水和物の薬理学的特徴.....	4
2.6.1.4 承認申請の概要.....	5
2.6.1.5 図表.....	5
2.6.1.6 参考文献.....	5

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.1 緒言

2.6.1.1 骨粗鬆症と薬物による治療

骨粗鬆症は、骨密度の低下と骨質の劣化のために骨強度が低下し、この結果として骨折を起こしやすくなる病態であり、閉経後や高齢者にみられる原発性骨粗鬆症と内分泌や栄養の異常などによりもたらされる続発性骨粗鬆症とに分類される。どちらの場合も、骨形成と骨吸収とのバランスが崩れることで、正常な骨量や骨微細構造が維持できなくなったために起こるものである。骨粗鬆症に対する治療において、薬物治療は最も有効な手段のひとつであり、ビスホスホネート (BP) 系薬剤のほか、カルシウム製剤、女性ホルモン製剤、活性型ビタミン D₃製剤、選択的エストロゲン受容体モジュレーター製剤、ヒト副甲状腺ホルモン製剤など、それぞれ作用機序の異なる薬剤が臨床の現場で使用されている¹⁾。このうち、現在では BP 系薬剤が第一選択薬として広く用いられている。

2.6.1.2 骨粗鬆症治療薬としての BP 系薬剤

BP 系薬剤はピロリン酸のアナログとして開発された骨粗鬆症治療薬であり、骨吸収抑制作用を特徴とする。BP 系薬剤の効果については、種々の骨粗鬆症病態モデル動物を用いた非臨床薬効試験において病態に伴う骨密度や骨強度の低下を抑制することが明らかにされており、骨粗鬆症患者を対象とした臨床試験においても骨折発生の抑制が報告されている¹⁾。これらの効果は BP 系薬剤の主作用である骨吸収抑制作用に基づくものであるが、その作用メカニズムについては、BP 系薬剤の側鎖構造により異なることが知られている^{2),3)}。すなわち、エチドロン酸二ナトリウム (ETI) やクロドロン酸ナトリウム水和物 (CLO) のような単純構造の側鎖を持ったものでは、破骨細胞内に取り込まれた後に毒性を有する ATP アナログに代謝され、これが破骨細胞にアポトーシスを誘導することにより骨吸収抑制作用を発現する。一方、アレンドロン酸ナトリウム水和物 (ALN) やパミドロン酸二ナトリウム水和物 (PAM) のような側鎖に窒素原子を含むものでは、メバロン酸代謝経路を阻害して、破骨細胞を機能停止に陥らせることにより、あるいは破骨細胞にアポトーシスを誘導することにより、骨吸収抑制作用を発現することが報告されている。これらの作用はいずれも破骨細胞が骨を融解する際に分泌する酸の作用で骨に結合した BP 系薬剤が遊離し、これを破骨細胞が取り込むことにより起こるものと考えられている。

2.6.1.3 イバンドロン酸ナトリウム水和物の薬理学的特徴

イバンドロン酸ナトリウム水和物 (以下、本薬) は、図 2.6.1.5-1 に構造を示すように、側鎖に窒素原子を有する BP 系薬剤であり、以下に示す薬理学的特徴を有している。

- (1) 本薬は強力な骨吸収抑制作用を有し、*in vitro* における検討では破骨細胞による骨吸収窩の形成を ALN, PAM, CLO 及び ETI よりも低い濃度から抑制することが報告されている⁴⁾。また、甲状腺・副甲状腺摘除ラットを用いた *in vivo* 骨吸収抑制評価系においても、ALN, PAM 及び CLO よりも低用量から作用を発現する。
- (2) 骨粗鬆症モデル動物における病態惹起とその進行に伴う骨密度の低下や骨強度の低下を用量依存的に抑制する。この効果は連日投与でも間欠投与でも認められ、本薬の総投与量が同じであれば、投与スケジュールには依存しない。また、本薬を投与した動物において骨密度と骨強度が相関することから、本薬は骨質を劣化させないものと考えられる。
- (3) 成長期ラット、並びに骨髄除去及び骨欠損孔作製イヌ骨折モデルを用いた検討により、本薬は骨の石灰化や骨折の修復には影響を与えないことが示されている。
- (4) 本薬の骨吸収抑制作用は、他の窒素含有 BP 系薬剤と同様、破骨細胞におけるメバロン酸代謝経路の阻害に基づくものであることが報告されている⁵⁾⁻⁸⁾。

2.6.1.4 承認申請の概要

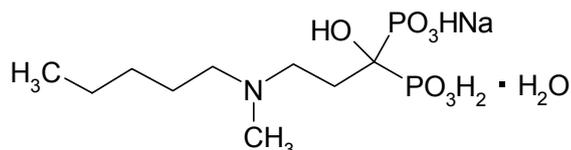
今回承認申請するイバンドロン酸ナトリウム水和物の効能・効果及び用法・用量は以下の通りである。

効能・効果：骨粗鬆症

用法・用量：通常，成人にはイバンドロン酸として1 mg を1カ月に1回，静脈内投与する。

2.6.1.5 図表

図 2.6.1.5-1 イバンドロン酸ナトリウム水和物の構造



(分子量：359.23)

2.6.1.6 参考文献

- 1) 萩野浩，太田博明，水沼英樹，山内美香，杉本利嗣，細井孝之，他．VI．治療薬の使い方とコツ．松本俊夫 編．骨粗鬆症のマネジメント 大阪 医薬ジャーナル社 2010；128-78.
- 2) Rogers MJ, Gordon S, Benford HL, Coxon FP, Luckman SP, Monkkonen J, et al. Cellular and molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Cancer* 2000;88(12 Suppl):2961-78.
- 3) Roelofs AJ, Thompson K, Ebetino FH, Rogers MJ, Coxon FP. Bisphosphonates: molecular mechanisms of action and effects on bone cells, monocytes and macrophages. *Curr Pharm Des* 2010;16:2950-60.
- 4) Sahni M, Guenther HL, Fleisch H, Collin P, Martin TJ. Bisphosphonates act on rat bone resorption through the mediation of osteoblasts. *J Clin Invest* 1993;91:2004-11.
- 5) Benford HL, Frith JC, Auriola S, Mönkkönen J, Rogers MJ. Farnesol and geranylgeraniol prevent activation of caspases by aminobisphosphonates: biochemical evidence for two distinct pharmacological classes of bisphosphonate drugs. *Mol Pharmacol* 1999;56:131-40.
- 6) van Beek E, Pieterman E, Cohen L, Löwik C, Papapoulos S. Farnesyl pyrophosphate synthase is the molecular target of nitrogen-containing bisphosphonates. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;264:108-11.
- 7) van Beek E, Löwik C, van der Pluijm G, Papapoulos S. The role of geranylgeranylation in bone resorption and its suppression by bisphosphonates in fetal bone explants *in vitro*: a clue to the mechanism of action of nitrogen-containing bisphosphonates. *J Bone Min Res* 1999;14:722-9.
- 8) Fisher JE, Rodan GA, Reszka AA. *In vivo* effects of bisphosphonates on the osteoclast mevalonate pathway. *Endocrinol* 2000;141:4793-6.

ボンビバ静注1mg シリンジ
(イバンドロン酸ナトリウム水和物)
[骨粗鬆症]

第2部 (モジュール 2)

CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.2 薬理試験の概要文

中外製薬株式会社

略語一覧

略語	英名	和名
ALN	Alendronate sodium hydrate	アレンドロン酸ナトリウム水和物
BAP	Bone specific alkaline phosphatase	骨型アルカリホスファターゼ
BP	Bisphosphonate	ビスホスホネート
CLO	Sodium clodronate hydrate	クロドロン酸ナトリウム水和物
CT	Computed tomography	コンピュータ断層撮影
DPD	Deoxyripyridinoline	デオキシピリジノリン
DXA	Dual energy X-ray absorptiometry	二重エックス線吸収法
ED ₅₀	50% effective dose	50%有効用量
hERG	Human ether-a-go-go related gene	ヒト遅延整流性カリウムイオンチャンネル遺伝子
IBN	Ibandronate sodium hydrate	イバンドロン酸ナトリウム水和物
IL-1	Interleukin-1	インターロイキン-1
IL-1 β	Interleukin-1 β	インターロイキン-1ベータ
IL-6	Interleukin-6	インターロイキン-6
LPS	Lipopolysaccharide	リポ多糖
NTx	N-telopeptide of type I collagen	I型コラーゲン架橋 N-テロペプチド
OC	Osteocalcin	オステオカルシン
OHX	Ovariohysterectomy	卵巣・子宮摘除
OVX	Ovariectomy	卵巣摘除
PAM	Pamidronate disodium hydrate	パミドロン酸二ナトリウム水和物
pQCT	Peripheral quantitative computed tomography	末梢型定量的コンピュータ断層像測定法
SMI	Structure model index	—
SXA	Single X-ray absorptiometry	一重エックス線吸収法
TBPf	Trabecular bone pattern factor	—
TNF α	Tumor necrosis factor α	腫瘍壊死因子アルファ
TPTX	Thyroparathyroidectomy	甲状腺・副甲状腺摘除

目次

	頁
2.6.2 薬理試験の概要文.....	4
2.6.2.1 まとめ.....	4
2.6.2.2 効力を裏付ける試験.....	7
2.6.2.2.1 イバンドロン酸ナトリウム水和物の骨吸収抑制作用.....	7
2.6.2.2.1.1 破骨細胞培養系における骨吸収抑制作用.....	7
2.6.2.2.1.2 ラット高カルシウム血症モデルにおける骨吸収抑制作用.....	8
2.6.2.2.2 骨粗鬆症モデルにおけるイバンドロン酸ナトリウム水和物の薬理効果.....	10
2.6.2.2.2.1 ラット骨粗鬆症モデルにおける効果.....	10
2.6.2.2.2.2 サル骨粗鬆症モデルにおける効果.....	23
2.6.2.2.2.3 イヌ骨粗鬆症モデルにおける骨吸収抑制効果.....	30
2.6.2.2.3 正常動物の骨に対するイバンドロン酸ナトリウム水和物の作用.....	33
2.6.2.2.3.1 老齢ラットにおける骨への作用.....	33
2.6.2.2.3.2 成熟ラットにおける骨への作用.....	35
2.6.2.2.3.3 成長期ラットにおける骨への作用.....	35
2.6.2.2.4 骨石灰化及び骨折修復に及ぼすイバンドロン酸ナトリウム水和物の影響.....	37
2.6.2.2.4.1 成長期ラットにおける骨への影響.....	37
2.6.2.2.4.2 骨折修復に与える本薬投与の影響.....	39
2.6.2.3 副次的薬理試験.....	41
2.6.2.4 安全性薬理試験.....	41
2.6.2.4.1 中枢神経系に及ぼす影響.....	41
2.6.2.4.2 自律神経系及び平滑筋に対する影響.....	42
2.6.2.4.3 呼吸・循環器系に及ぼす影響.....	42
2.6.2.4.4 消化器系に及ぼす影響.....	43
2.6.2.4.5 水及び電解質代謝に対する影響.....	43
2.6.2.4.6 その他の機能に対する影響.....	43
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験.....	44
2.6.2.6 考察及び結論.....	44
2.6.2.7 図表.....	47
2.6.2.8 参考文献.....	47

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

イバンドロン酸ナトリウム水和物（IBN：以下、本薬）は、1カ月に1回の間欠投与により効果が期待されるビスホスホネート（BP）系の骨粗鬆症治療薬である。今回、月1回静脈内投与製剤の承認申請に際し、本薬についての効力を裏付ける試験及び一般薬理試験を実施し、以下の成績を得た。なお、本文中に記載した本薬の重量はイバンドロン酸換算での重量表示を基本とし、塩を含む重量表示あるいはリン原子重量による表示の場合はその旨を記載した。

効力を裏付ける試験

(1) 骨吸収抑制作用

ウサギの骨より調製した破骨細胞を象牙切片上で培養する際に形成される吸収窩を指標として、本薬の骨吸収抑制作用を *in vitro* で検討した。本薬存在下に破骨細胞を象牙切片上で培養した結果、形成される吸収窩の面積が 10^{-11} ~ 10^{-7} mol/L の濃度範囲で濃度に応じて減少した。この作用は、破骨細胞を本薬で前処置した場合にもみられ、 10^{-9} ~ 10^{-6} mol/L の濃度範囲で濃度に応じて吸収窩の形成は低下した。

甲状腺・副甲状腺摘除（TPTX）術を施した雄ラットにレチノイドを投与すると骨吸収に基づく高カルシウム血症が誘導される。このラットにおける血中カルシウム濃度を指標として本薬の骨吸収抑制作用を検討した結果、本薬の単回投与により用量に応じた血中カルシウム濃度の抑制作用が認められた。この作用には、投与経路（静脈内・皮下）による違いはみられず、また、3日間連日投与した場合は、その3倍量を単回投与したときとほぼ同等の作用が得られた。更に、本薬の作用を他の BP 系薬剤〔アレンドロン酸ナトリウム水和物（ALN）、パミドロン酸二ナトリウム水和物（PAM）、クロドロロン酸ナトリウム水和物（CLO）〕と比較した結果、検討した BP 系薬剤のうちでは本薬が最も低用量から作用を発現することが明らかとなった。

(2) 骨粗鬆症モデルにおける薬理効果

骨粗鬆症に対する本薬の効果をラット、サル及びイヌの骨粗鬆症モデルを用いて評価した。

雌ラットに卵巣摘除（OVX）術を施し、その翌日から本薬0.1, 0.3, 1, 3, 10及び30 µg/kgを140日間連日皮下投与して、OVXに伴う骨量及び骨構造の変化に対する本薬の効果を検討した。その結果、OVXラットでは大腿骨骨幹端遠位部における骨密度及び脛骨骨幹端近位部における海綿骨骨量の有意な減少がみられたが、OVXに伴うこれらの変化は本薬投与により用量に応じて抑制され、どちらのパラメータも1 µg/kg以上の用量で偽手術群（Sham群）と同等あるいはそれ以上となった。OVXラットでは脛骨における骨梁数の減少や骨梁間隔の増大もみられ、OVXに伴うこれらの骨構造の脆弱化も本薬投与により用量に応じて抑制された。

OVXラットにOVX施術翌日より総投与量として15.4及び154 µg/kgの本薬を22週間にわたって連日あるいは間欠投与（1週間連日投与後、2, 4あるいは6週間の休薬を繰り返す）し、大腿骨骨密度及び脛骨骨幹端近位部の骨量を指標として、本薬の総投与量（体重当たり）を同じとした場合の投与スケジュールと効果との関係を検討した。その結果、本薬の効果は総投与量に依存し、総投与量が同じであればその効果は1回の投与量及び投与間隔には影響を受けないことが明らかとなった。

OVXラットにOVX施術後10週目から本薬0.2, 1, 5及び25 µg/kgを12カ月間連日皮下投与し、骨量、骨構造及び骨強度に対する本薬の効果を検討した結果、本薬投与によりOVXに伴う骨密度の低下及び骨構造の脆弱化が用量依存的に改善するとともに、低下した骨強度も回復しSham群と同等となった。大腿骨及び腰椎では骨密度と骨強度（最大負荷）は相関した。また、これと並行して、本薬25及び125 µg/kgを25日に1回皮下投与した結果、OVXラットに対する本薬の効果は、総投与量が同じであれば1回の投与量及び投与間隔には影響を受けないことが

明らかとなった。

雌カニクイザルに OVX を施し、その日から本薬10, 30及び150 µg/kg を30日に1回16カ月間静脈内投与し、経時的に骨代謝マーカー及び骨密度を測定した。更に、投与終了後に骨強度の測定や骨構造解析を行うことにより本薬の効果を検討するとともに、骨中の本薬濃度を測定した。その結果、OVX により骨代謝回転の亢進、骨密度及び骨強度の低下が認められ、腰椎においては骨梁数や骨梁幅等の海綿骨の骨構造を表すパラメータのほとんどが脆弱化を示す方向に変化した。これらの変化は本薬投与により抑制され、骨代謝回転の亢進は150 µg/kg の用量で、骨密度の低下は30 µg/kg 以上あるいは150 µg/kg の用量で、骨強度の低下は腰椎について30 µg/kg 以上の用量で、それぞれ Sham 群と有意な差のないレベルとなった。OVX による骨構造の脆弱化は本薬の投与により改善され、30 µg/kg 投与群ではほとんどの骨構造関連パラメータで Sham 群との間に有意な差が認められないことから、正常な骨構造を保持していると考えられた。また、骨強度と骨密度との間に有意な相関が認められ、本薬は骨質を劣化させることなく OVX に伴う骨密度の低下を抑制したものと考えられた。これらの結果から、この実験における本薬の有効用量は30 µg/kg 以上であると考えられた。また、骨中の本薬濃度は左脛骨と腰椎 (L6) について測定し、その結果どちらにおいても投与量に応じた本薬濃度の増加が認められた。

雌ビーグル犬に卵巣・子宮摘除 (OHX) 術を施した後、本薬0.1, 0.3, 1, 10及び100 µg/kg を1カ月間連日皮下投与し (初回投与のみ5倍量)、OHX に伴う骨量及び骨構造の変化に対する本薬の効果を検討した。その結果、OHX イヌでは腸骨における海綿骨骨量の減少、骨梁幅の減少及び骨梁間隔の増大が認められたが、これらは本薬投与により抑制され、それぞれ1 µg/kg 以上、0.1 µg/kg 以上及び0.3 µg/kg 以上の用量群で OHX 前と有意な差のないレベルに維持されていた。また、OHX に伴い増加した Erosion depth や骨芽細胞面等の骨代謝回転パラメータについても、本薬投与群では OHX 前と有意な差のないレベルに維持されていた。更に、類骨幅については100 µg/kg の用量まで増大がみられず、本薬は骨の石灰化には影響を与えないことが示唆された。

(3) 正常動物の骨に対する作用

老齢雌ラット (13~14カ月齢) に本薬1, 3, 10及び30 µg/kg を20週間連日皮下投与し、投与終了時及び投与終了後20週間の回復期間終了時に採取した大腿骨及び脛骨について骨密度測定や骨形態計測を行うことにより、本薬の骨量に対する作用を検討した。その結果、本薬投与により老齢ラットの大腿骨骨密度及び脛骨海綿骨骨量は投与終了後の回復期間において用量依存的に増加し、大腿骨、脛骨ともに3 µg/kg 以上の本薬で対照群に対して有意な骨量増加が認められた。このときの本薬の有効用量は大腿骨では1 µg/kg 以上、脛骨では3 µg/kg 以上であった。

成熟雌ラット (8カ月齢) に本薬30 µg/kg あるいは ALN 300 µg/kg を20週間連日皮下投与し、投与終了後採取した大腿骨及び脛骨について骨密度の測定や骨形態計測を行い、骨量及び骨構造に対する作用の比較を行った。その結果、本薬及び ALN の投与により大腿骨の骨密度及び脛骨の海綿骨骨量が対照群と比較して有意に増加した。これらの作用について、本薬と ALN とは同等の効果であった。

Calcein を皮下投与することにより骨をラベルした成長期ラットに、翌日から種々の用量の各種 BP 系薬剤を7日間連日皮下投与し、最終投与の翌日に脛骨骨幹端近位部の骨形態計測を実施した。その結果、BP 系薬剤の投与により骨量及び骨周囲長が用量に応じて増加したが、本薬が最も低用量から作用を発現した。

(4) 骨石灰化及び骨折修復に及ぼす影響

成長期ラットを用いた試験において、本薬を7日間連日皮下投与した後に行ったマイクロラジオグラフィーによる脛骨骨幹端の観察の結果、1000 µgP/kg までの本薬は骨の石灰化に影響を及ぼさないことが示された。

24カ月齢の雌雄ビーグル犬に本薬1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の36週間連日皮下投与、並びに1回の投与量を3及び6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ として総投与量が同じ (252 $\mu\text{g}/\text{kg}$) となるような間欠皮下投与を行い、36週間の本薬投与期間中の第27～28週目に大腿骨の骨髓除去を行うとともに脛骨骨幹端領域に骨欠損孔を作製し、その後の回復過程に対する本薬投与の影響を検討した。その結果、骨髓除去後に皮質骨横断面に観察される骨単位数の経時変化、及び投与終了時点で骨欠損孔に新たに形成された骨の形態及び量には、本薬の投与の有無及び投与スケジュールにかかわらず違いはみられなかった。

安全性薬理試験

本薬では安全性薬理試験ガイドラインの施行前に、中枢神経系、自律神経系及び平滑筋、呼吸・循環器系、消化器系、水及び電解質の代謝、体温・血糖値、サイトカイン産生に対する影響を、マウス、ラット、イヌ、モルモット、ウサギ及びヒト末梢血単核球を用いた一般薬理試験を実施して検討した。*In vivo* 試験の投与経路は静脈内投与、皮下投与あるいは腹腔内投与とした。

これらの試験結果からは、本薬の臨床推奨用量での使用において、臨床上問題となる副作用の発現の可能性は低いことが推察された。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1 イバンドロン酸ナトリウム水和物の骨吸収抑制作用

2.6.2.2.1.1 破骨細胞培養系における骨吸収抑制作用

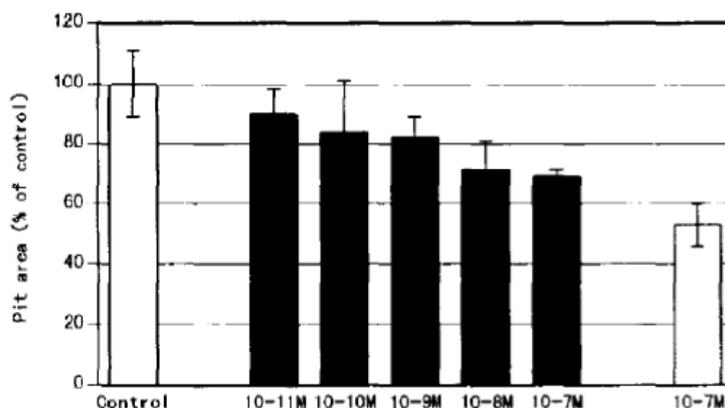
(資料番号4.2.1.1-1)

象牙切片上で破骨細胞を培養した際に形成される吸収窩を指標として、本薬の骨吸収抑制作用を検討した。

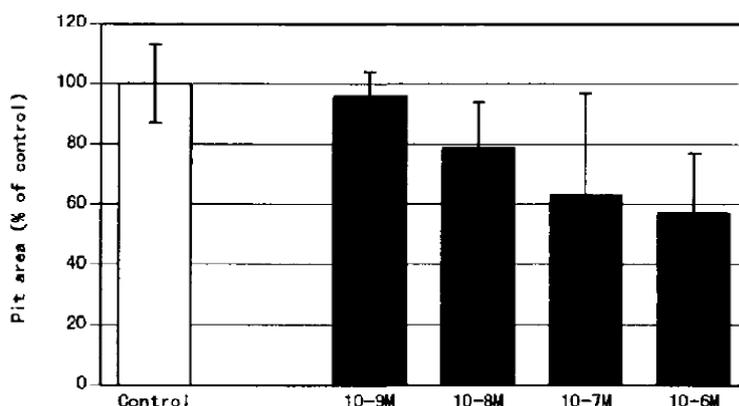
生後約10日目の日本白色種ウサギの長管骨及び肩甲骨から調製した破骨細胞粗画分を、各種濃度 (10^{-11} ~ 10^{-7} mol/L) の本薬存在下に象牙切片上で48時間培養した。その結果、吸収窩の総面積は本薬の存在下に濃度に応じて減少し、 10^{-7} mol/L においては本薬非存在下に培養した場合の約70%となった〔図 2.6.2.2.1.1-1 (A)〕。単離した破骨細胞を各種濃度 (10^{-9} ~ 10^{-6} mol/L) の本薬で15分間処理した後に象牙切片上で24時間培養した場合にも、吸収窩の総面積は本薬濃度の増加に伴い減少した〔図 2.6.2.2.1.1-1 (B)〕。

図 2.6.2.2.1.1-1 ウサギ破骨細胞に対するイバンドロン酸ナトリウム水和物の骨吸収抑制作用 (*in vitro*)

(A) 本薬存在下で破骨細胞粗画分を培養した場合



(B) 本薬で処理した後に破骨細胞を培養した場合



- (A) 各種濃度の本薬（黒塗りバー）及びウナギカルシトニン（右端白抜きバー）存在下に、破骨細胞粗画分を象牙切片上で48時間培養後、形成された吸収窩の面積を計測した。結果は本薬非存在下に形成される吸収窩の面積に対する相対比として表した。各バーとも4例（本薬 10^{-11} 及び 10^{-7} mol/L は3例）の平均値 ± 標準偏差を示す。
- (B) 各種濃度の本薬で15分間前処理した単離破骨細胞を象牙切片上で24時間培養後、形成された吸収窩の面積を計測した。結果の表示は (A) と同様であり、各バーは4例（ 10^{-7} mol/L のみ3例）の平均値 ± 標準偏差を示す。

[4.2.1.1-1 Figure 1 (B) , Figure 6を再掲]

2.6.2.2.1.2 ラット高カルシウム血症モデルにおける骨吸収抑制作用

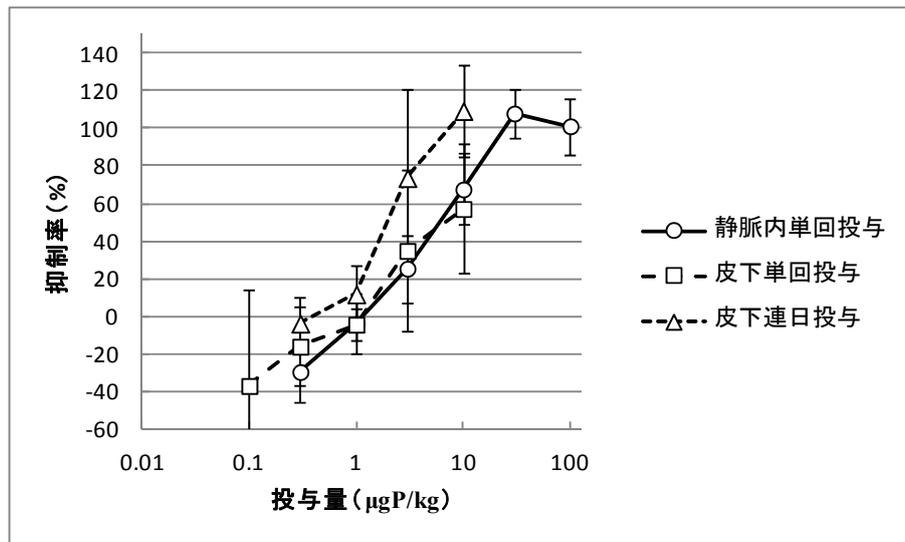
甲状腺・副甲状腺を摘除したラットでは血中カルシウム濃度は低下するが、これにレチノイドを投与することにより骨吸収が増大し、その結果として高カルシウム血症が誘導される¹⁾。このモデルを用いて、血中カルシウム濃度を指標として本薬の骨吸収抑制作用を評価した。

(1) 骨吸収抑制作用における投与スケジュール及び投与経路の検討

(資料番号4.2.1.1-2)

雄 Wistar ラット (150~180 g) に TPTX を施し、6~10日後に血清カルシウム濃度を測定して8 mg/dL 以下の個体を試験に供した。これらの被験動物にレチノイド (25 µg) を3日間連日皮下投与することにより高カルシウム血症モデルを作製した。このモデルに対し、本薬0.1~100 µgP/kg (1.61~1610 nmol/kg) あるいは対照として生理食塩液 (2 mL/kg) を、単回投与の場合は投与経路を静脈内及び皮下としてレチノイド投与の初日に、3日間連日投与の場合はレチノイドと並行して皮下に投与した。レチノイド最終投与の翌日に血清カルシウム濃度を測定し、高カルシウム血症に対する抑制作用により骨吸収抑制作用を評価した。その結果、本薬の用量の増大に伴い血清カルシウム濃度の抑制率の増加がみられた。単回投与においては、0.3~10 µgP/kg (4.84~161 nmol/kg) の範囲で静脈内投与と皮下投与の抑制率はほぼ同等となり、また、3日間連日皮下投与した場合は、3倍量の本薬を単回皮下投与したときとほぼ同等の作用が得られた (図 2.6.2.2.1.2-1)。検討した用法について50%有効用量 (ED₅₀) を算出したところ、単回投与における静脈内投与時と皮下投与時の値がほぼ同等であり、また、皮下投与においては連日投与時の値は単回投与時の値の約1/3であった (表 2.6.2.2.1.2-1)。

以上の結果から、本薬単回投与の場合、投与経路 (静脈内及び皮下) による作用に差はなく、また、皮下投与の場合、3日間の連日投与によりその3倍の用量の単回投与とほぼ同等の効果が得られることが示された。

図 2.6.2.2.1.2-1 イバンドロン酸ナトリウム水和物の高カルシウム血症抑制作用 (*in vivo*)

レチノイド (25 μg) を3日間連日皮下投与した TPTX ラットに対して、以下に示す用量の本薬を単回あるいは連日投与した。

静脈内単回投与 (レチノイド初回投与日) : 0.3, 1, 3, 10, 30, 100 μgP/kg (○ : n=6)

皮下単回投与 (レチノイド初回投与日) : 0.1, 0.3, 1, 3, 10 μgP/kg (□ : n=5)

皮下連日投与 (レチノイドと並行して3回) : 0.3, 1, 3, 10 μgP/kg (△ : n=4)

レチノイド最終投与の翌日に血清カルシウム濃度を測定した。これら3種類の投与法の試験は別々に行い、同一グラフ上に表示した。各ポイントは以下の式により算出される抑制率の平均値 ± 標準偏差を示す。本薬の重量は分子内に含まれるリン原子の重量をもとに表示しており、1 μgP はイバンドロン酸換算で4.78 μgに相当する。

抑制率 = $100 \times (\text{CaControl} - \text{CaIBN}) / \text{CaControl}$

CaControl : レチノイドを投与した TPTX ラットにおける血清カルシウム濃度の変化量

CaIBN : レチノイド及び本薬を投与した TPTX ラットにおける血清カルシウム濃度の変化量

[4.2.1.1-2 Figure 1, Figure 3を改変]

表 2.6.2.2.1.2-1 イバンドロン酸ナトリウム水和物の骨吸収抑制作用における投与法の比較

投与経路	投与方法	ED ₅₀ (μgP/kg)
静脈内	単回投与	6
皮下	単回投与	7
皮下	連日投与	2

[4.2.1.1-2 Table 4を改変]

(2) 骨吸収抑制作用における他剤との比較

(資料番号4.2.1.1-3)

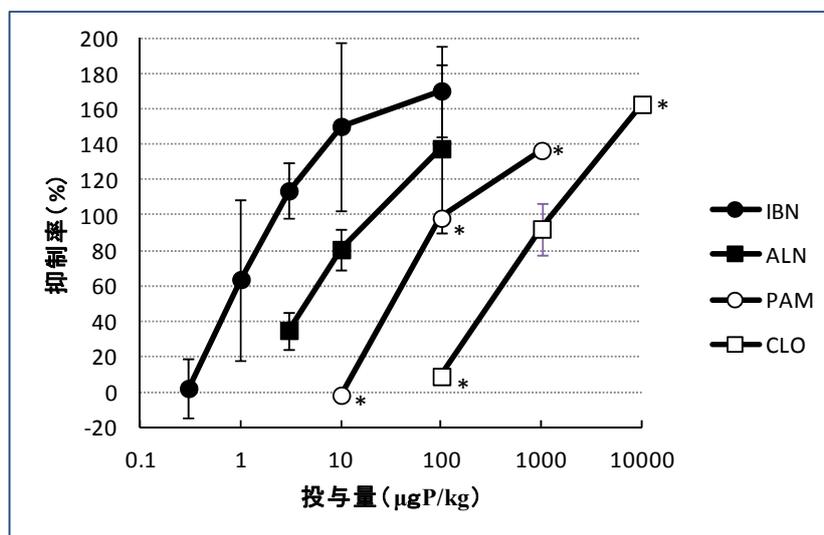
TPTX ラットに対し、以下に示す用量の各種 BP 系薬剤をいずれもレチノイドと並行して3日間連日皮下投与し、レチノイド最終投与の翌日に血漿カルシウム濃度を測定した。

- 本薬 : 0.3, 1, 3, 10, 100 μgP/kg (4.84, 16.1, 48.4, 161, 1610 nmol/kg)
- CLO : 100, 1000, 10000 μgP/kg (1610, 16100, 161000 nmol/kg)
- PAM : 10, 100, 1000 μgP/kg (161, 1610, 16100 nmol/kg)
- ALN : 3, 10, 100 μgP/kg (48.4, 161, 1610 nmol/kg)

試験に用いたいずれの BP 系薬剤も用量に応じて血漿カルシウム濃度を低下させ、このうち本薬が最も低用量から作用を発現した (図 2.6.2.2.1.2-2)。それぞれの ED₅₀値は本薬が0.7

μgP/kg (11.3 nmol/kg) , ALN が4.5 μgP/kg (72.6 nmol/kg) , PAM が30 μgP/kg (484 nmol/kg) , CLO が300 μgP/kg (4840 nmol/kg) であり、この結果より検討した BP 系薬剤のうちでは本薬が最も骨吸収抑制作用の比活性が高いことが明らかとなった。なお、ED₅₀値は、図 2.6.2.2.1.2-2において、抑制率50%のポイントから横軸に平行な直線を引いた場合の、各種 BP 系薬剤の用量作用直線との交点に相当する用量とした。

図 2.6.2.2.1.2-2 各種 BP 系薬剤の高カルシウム血症抑制作用の比較 (*in vivo*)



TPTX ラットに各種用量の BP 系薬剤をレチノイドと並行して3日間連日皮下投与し、レチノイド最終投与の翌日に血漿カルシウム濃度を測定した。

各ポイントは以下の式により算出される抑制率の平均値 ± 標準偏差 (n = 2~5) を示す。なお、例数が2のため標準偏差が算出できないポイントに関しては*をつけた。本薬の重量は分子内に含まれるリン原子の重量をもとに表示しており、1 μgP はイバンドロン酸換算で4.78 μg に相当する。

$$\text{抑制率} = 100 \times (\text{CaControl} - \text{CaBP}) / \text{CaControl}$$

CaControl : レチノイド及び生理食塩液を投与した TPTX ラットにおける血漿カルシウム濃度の変化量

CaBP : レチノイド及び各種 BP 系薬剤を投与した TPTX ラットにおける血漿カルシウム濃度の変化量

[4.2.1.1-3 Figure 1を改変]

2.6.2.2.2 骨粗鬆症モデルにおけるイバンドロン酸ナトリウム水和物の薬理効果

2.6.2.2.2.1 ラット骨粗鬆症モデルにおける効果

(1) 骨量及び骨構造を指標とした予防効果の検討

1) イバンドロン酸ナトリウム水和物の連日投与による予防効果

(資料番号4.2.1.1-4)

8 カ月齢の雌 Wistar ラットに OVX あるいは偽手術を施し、それぞれに対して翌日より以下の用量の本薬及び対照薬液として生理食塩液を連日皮下投与した。

- OVX 後 140 日目まで本薬 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30 μg/kg を連日投与するが、初回投与のみそれぞれの 5 倍量を投与
- OVX 後140日目まで本薬0.3, 1 μg/kg を連日投与
- OVX あるいは偽手術後140日目まで生理食塩液 2 mL/kg を連日投与

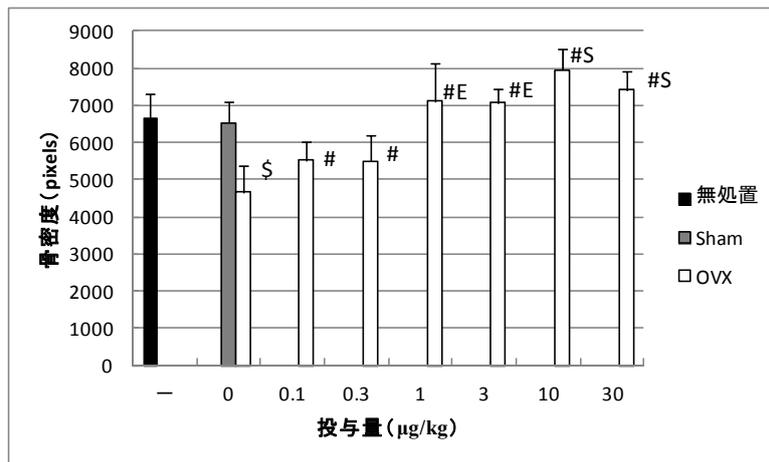
投与最終日に左右大腿骨及び右脛骨を摘出して、骨量及び骨構造に対する OVX の影響及び本薬投与の効果を検討した。

大腿骨については、一重エックス線吸収法 (SXA) により、右大腿骨骨幹端遠位部の骨密度を測定した。その結果、OVX 対照群では骨密度が Sham 群と比較して有意に減少した

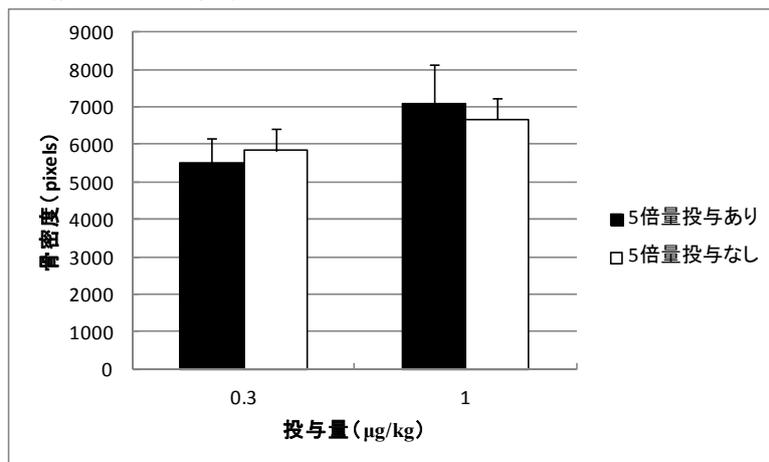
が、本薬を投与した OVX 群では検討したすべての用量 (0.1~30 $\mu\text{g}/\text{kg}$) で OVX 対照群と比較して骨密度が用量に応じて有意に増加し、このうち1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の本薬を投与した OVX 群では Sham 群と同等あるいはそれ以上のレベルとなった [図 2.6.2.2.1-1 (A)]。大腿骨骨密度に対する本薬の効果に関して、投与開始日に5倍量の本薬を投与した影響は認められなかった [図 2.6.2.2.1-1 (B)]。

図 2.6.2.2.1-1 OVX ラットにおける大腿骨骨密度の減少に対するイバンドロン酸ナトリウム水和物投与の効果 (1)

(A) 用量 (初回5倍量投与群) と効果との関係



(B) 初回 5 倍量投与の効果



OVX 及び Sham ラットに各種用量の本薬を連日皮下投与し、大腿骨骨密度を SXA により測定した。各バーは12~15例の平均値 \pm 標準偏差を示す。

(A)

\$: OVX 対照群の Sham 群に対する有意性 ($p < 0.05$: t 検定)

: 本薬を投与した OVX 群 (初回5倍量投与) の OVX 対照群に対する有意性 ($p < 0.05$: Dunnett 検定)

S, E : 本薬を投与した OVX 群 (初回5倍量投与) の Sham 群との比較 (S = 優位, E = 同等 : Hauschke 法)

(B)

本薬を投与した OVX 群 (0.3, 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) における初回5倍量投与の有無による差はなし (pairwise テスト)。

[4.2.1.1-4 Figure 11a, Figure 11b を改変]

脛骨については、骨形態計測により骨幹端近位部海綿骨における各種骨パラメータを測定した。その結果、OVX 対照群では Sham 群と比較して海綿骨骨量の値が約80%減少したが、本薬を投与した OVX 群では OVX 対照群と比較して海綿骨骨量の値は用量に応じて

増加し、0.3 µg/kg 以上の用量の本薬投与群での増加は有意であった。また、1 µg/kg 以上の本薬を投与した OVX 群では、海綿骨骨量は Sham 群と同等であった。なお、脛骨骨量に対する本薬の効果に関して、投与開始日に5倍量の本薬を投与した影響は認められなかった。この他、OVX による変化として認められた骨梁数及び骨梁幅の減少、並びに骨梁間隔の増大は、本薬投与により用量の増加に伴い抑制された（表 2.6.2.2.2.1-1）。

以上の結果から、本薬は OVX ラットにおいて OVX に伴う骨量の減少や骨構造の脆弱化を用量に応じて抑制することが明らかとなった。本薬の投与により、大腿骨では0.1 µg/kg 以上の用量で、脛骨では0.3 µg/kg 以上の用量で、OVX 対照群に対する有意な骨量の増加が認められた。また、1 µg/kg 以上の本薬投与群で大腿骨及び脛骨の骨量が Sham 群と同等あるいはそれ以上となったことから、OVX 後140日間の連日投与では1 µg/kg 以上が本薬の有効用量であると推定された。

表 2.6.2.2.1-1 OVX ラット脛骨骨幹端近位部海綿骨の形態計測結果

動物の処置	無処置	偽手術	OVX								
投与量 (μg/kg)	—	0	0	0.1	0.3	1	3	10	30	0.3	1
5倍量投与 ^a	—	—	—	+	+	+	+	+	+	—	—
測定項目											
海綿骨骨量 (Cn-BV/TV) %	22.8 ± 3.7	19.4 ± 4.5	3.7 ± 4.5 ^S	8.7 ± 4.5	14.1 ± 4.8 [#]	21.0 ± 8.1 ^{#,E}	22.8 ± 6.0 ^{#,E}	23.3 ± 4.5 ^{#,E}	23.9 ± 5.1 ^{#,E}	14.7 ± 4.6	20.8 ± 6.1
骨梁数 (Tb.N) n/mm	4.58 ± 0.51	3.98 ± 0.87	0.82 ± 0.77	2.29 ± 0.89	3.53 ± 0.86	4.40 ± 0.96	4.71 ± 0.77	5.15 ± 0.61	4.74 ± 0.79	3.52 ± 0.79	4.35 ± 0.87
骨梁幅 (Tb.Th.) μm	49.8 ± 4.7	48.9 ± 4.7	35.2 ± 16.2	35.9 ± 7.0	39.1 ± 5.1	46.4 ± 9.8	47.8 ± 6.7	45.3 ± 7.2	50.3 ± 6.1	41.2 ± 4.6	47.3 ± 7.1
骨梁間隔 (Tb.Sp.) μm	171.3 ± 25.8	215.9 ± 64.4	2144.0 ± 2269.7	490.2 ± 283.5	267.3 ± 110.3	193.4 ± 72.4	171.1 ± 49.1	151.7 ± 26.2	166.4 ± 39.1	257.2 ± 73.3	192.0 ± 54.6

a: 「5倍量投与」欄における「+」は初回の5倍量投与をしたことを、「—」はしなかったことを示す。

各値は11~15例の平均値 ± 標準偏差を示す。

統計解析は海綿骨骨量についてのみ行った。\$: OVX 対照群の Sham 群に対する有意性 (p<0.05 : t 検定) ; #: 本薬を投与した OVX 群 (5倍量投与群のみ) の OVX 対照群に対する有意性 (p<0.05 : Dunnett 検定) ; E: 本薬を投与した OVX 群 (5倍量投与群のみ) と Sham 群との同等性 (Hauschke 法) ; 本薬を投与した OVX 群 (0.3, 1 μg/kg) における初回5倍量投与の有無による差はなし (pairwise テスト)。

[4.2.1.1-4 Table 19, Table 23~Table 25を改変]

2) イバンドロン酸ナトリウム水和物の間欠投与による予防効果

(資料番号4.2.1.1-5)

8 カ月齢の雌 Wistar ラットに OVX あるいは偽手術を施し、それぞれに対して翌日より総投与量として 15.4 及び 154 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の本薬を以下のスケジュールで皮下投与した。

- 連日投与：本薬 0.1及び1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を22週間にわたって連日投与
- 間欠投与 A (2週間休薬)：本薬の用量を0.275及び2.75 $\mu\text{g}/\text{kg}$ とし、1週間連日投与後2週間休薬を1サイクルとして、これを7回繰り返し最後に1週間連日投与
- 間欠投与 B (4週間休薬)：本薬の用量を0.44及び4.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ とし、1週間連日投与後4週間休薬を1サイクルとして、これを4回繰り返し最後に1週間連日投与
- 間欠投与 C (6週間休薬)：本薬の用量を0.55及び5.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ とし、1週間連日投与後6週間休薬を1サイクルとして、これを3回繰り返し最後に1週間連日投与

なお、対照群及び休薬期間中の間欠投与群には生理食塩液 2 mL/kg を連日皮下投与した。これらの投与スケジュールを図 2.6.2.2.1-2 に示す。

図 2.6.2.2.1-2 間欠投与試験における投与スケジュール

投与方法	投与薬剤	投与量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	投与スケジュール(週)																					
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
連日投与	生理食塩液	2 mL/kg	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
連日投与	IBN	0.1, 1	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	
間欠投与A	IBN	0.275, 2.75	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
間欠投与B	IBN	0.44, 4.4	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
間欠投与C	IBN	0.55, 5.5	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	

●：各用量の本薬を連日皮下投与した。○：生理食塩液を連日皮下投与した。

連日投与、間欠投与ともに本薬の総投与量は15.4及び154 $\mu\text{g}/\text{kg}$ とした。

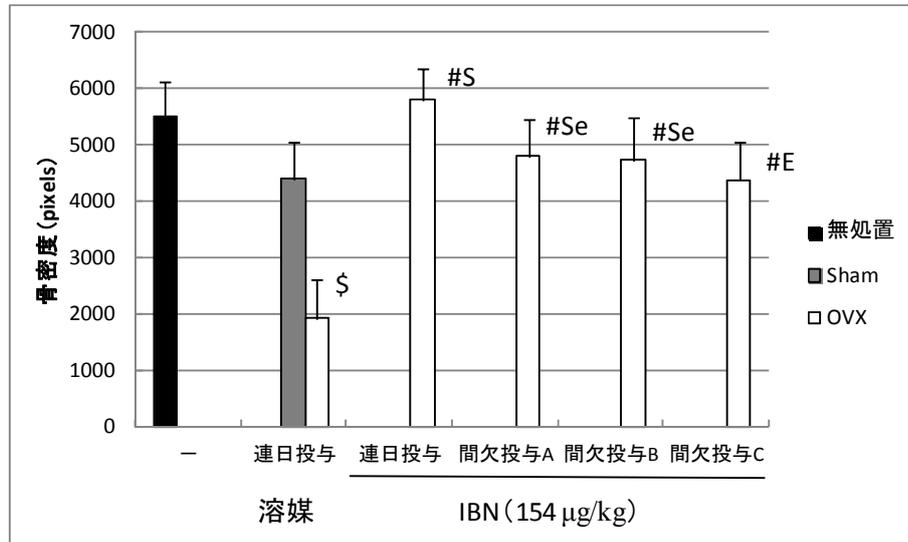
IBN：本薬

OVX あるいは偽手術後 154 日目に左右大腿骨及び右脛骨を摘出してそれぞれ骨密度測定及び骨形態計測を行い、骨量を指標として本薬の間欠投与による効果を連日投与と比較した。

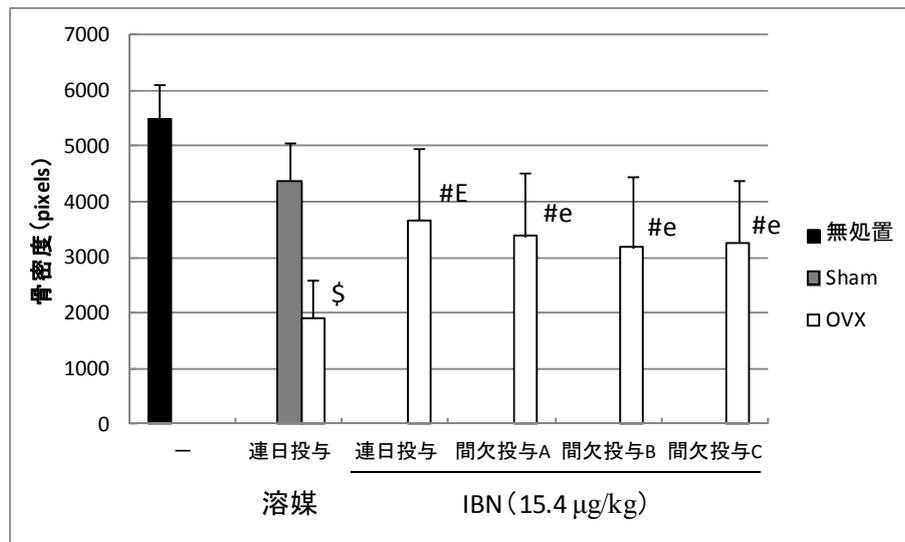
大腿骨については、SXA により右大腿骨骨幹端遠位部の骨密度を測定した。その結果、OVX 対照群の骨密度は Sham 群と比較して有意に減少したが、本薬を投与した OVX 群では骨密度が総投与量に応じて増加した。このうち総投与量として 154 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を投与した OVX 群では、いずれの投与スケジュールにおいても OVX 対照群と比較して骨密度が有意に増加し、Sham 群と同等あるいはそれ以上のレベルとなった。これに対し、総投与量として 15.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を投与した OVX 群では、骨密度は Sham 群ほどには増加しなかったものの OVX 対照群と比較して有意に増加した (図 2.6.2.2.1-3)。間欠投与と連日投与とを比較した場合、総投与量 154 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の間欠投与 C 群を除いて骨密度は連日投与群と同等であった。

図 2.6.2.2.1-3 OVX ラットにおける大腿骨骨密度の減少に対するイバンドロン酸ナトリウム水和物投与の効果 (2)

(A) 総投与量が154 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の場合



(B) 総投与量が15.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の場合



OVX 及び Sham ラットに、総投与量として154 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (A) 及び15.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (B) の本薬を22週間にわたって連日あるいは間欠皮下投与し、投与終了後に大腿骨骨密度を SXA により測定した。各バーは11~15例の平均値 \pm 標準偏差を示す。

\$: OVX 対照群の Sham 群に対する有意性 ($p < 0.05$: t 検定)

: 本薬を投与した OVX 群の OVX 対照群に対する有意性 ($p < 0.05$: Dunnett 検定)

S, E : 本薬を投与した OVX 群の Sham 群との比較 (S = 優位, E = 同等 : Fieller 検定)

e : 間欠投与群の連日投与群との比較 (e = 同等 : Fieller 検定)

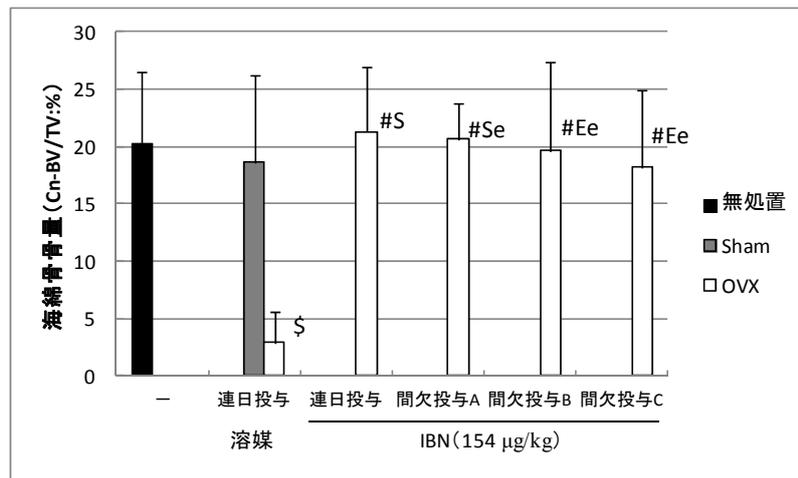
[4.2.1.1-5 Figure 8a, Figure 8b を改変]

脛骨については、骨幹端近位部海綿骨の骨形態計測を行った。海綿骨骨量に関する OVX による影響及び本薬投与の効果については、大腿骨骨密度と同様の傾向が認められた。また、間欠投与の効果は、連日投与群と同等かそれ以上であった (図 2.6.2.2.1-4)。

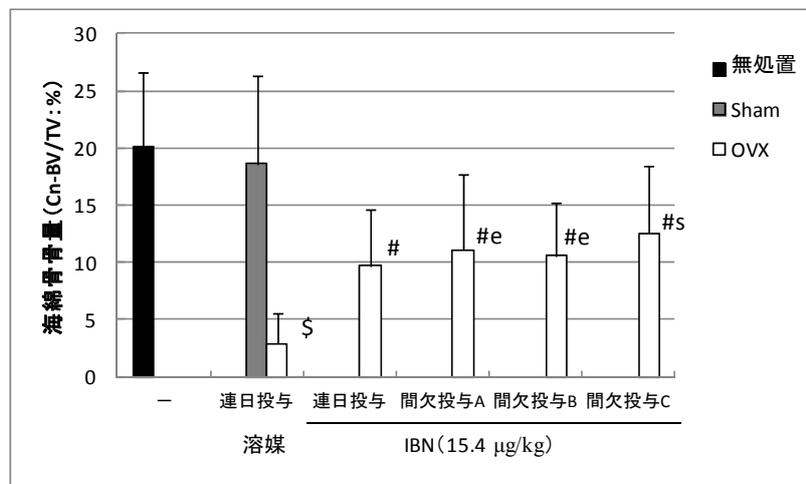
以上の結果から、OVX ラットに22週間にわたって本薬を投与することにより、OVX に伴う骨量の減少が抑制されることが明らかとなった。この効果については、投与期間中における体重当たりの総投与量が重要であり、これが同じであれば間欠投与によっても連日投与とほぼ同等の効果が得られることが示唆された。

図 2.6.2.2.1-4 OVX ラットにおける脛骨骨量の減少に対するイバンドロン酸ナトリウム水和物投与の効果

(A) 総投与量が154 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の場合



(B) 総投与量が15.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の場合



OVX 及び Sham ラットに、総投与量として154 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (A) 及び15.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (B) の本薬を22週間にわたって連日あるいは間欠皮下投与し、投与終了後に脛骨の骨形態計測を行った。図では海綿骨骨量 (Cn-BV/TV) の結果を示す。各バーは10~13例の平均値 \pm 標準偏差を示す。

\$: OVX 対照群の Sham 群に対する有意性 ($p < 0.05$: t 検定)

: 本薬を投与した OVX 群の OVX 対照群に対する有意性 ($p < 0.05$: Dunnett 検定)

S, E : 本薬を投与した OVX 群の Sham 群との比較 (S = 優位, E = 同等 : Fieller 検定)

s, e : 間欠投与群の連日投与群との比較 (s = 優位, e = 同等 : Fieller 検定)

[4.2.1.1-5 Figure 15a, Figure 15b を改変]

(2) 長期投与による治療効果の検討

(資料番号4.2.1.1-6, 4.2.1.1-7)

8カ月齢の雌 Wistar ラットに OVX あるいは偽手術を施し、その10週後から12カ月間にわたって本薬あるいは対照薬液として生理食塩液を以下に示すスケジュールで皮下投与した。

- OVX ラット；本薬（0.2, 1, 5, 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）を連日投与
- OVX ラット：本薬（25, 125 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）を25日ごとに投与
- OVX ラット：生理食塩液（2 mL/kg）を連日投与
- Sham ラット：生理食塩液（2 mL/kg）を連日投与

投与開始時及び投与終了後に、被験動物の長管骨（大腿骨，脛骨）及び腰椎についてそれぞれ骨密度測定及び骨形態計測を行うことにより，骨量及び骨構造に及ぼす OVX の影響，並びにこれに対する本薬投与の効果を検討した。

また，これらに加えて投与開始時及び投与終了後に骨強度を測定し，骨強度に及ぼす OVX の影響及び本薬投与の効果を検討した。

1) 骨量に対する効果

① 連日投与の効果

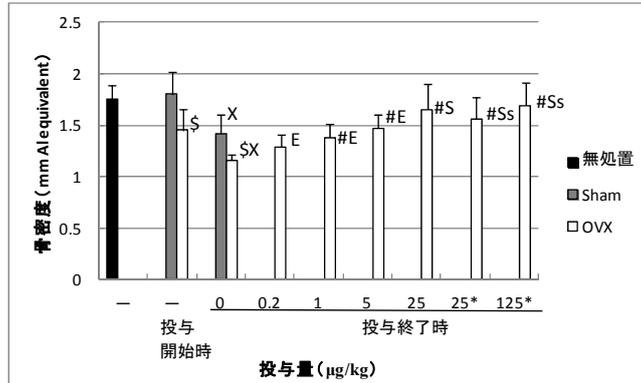
OVX 対照群では，投与終了時点で Sham 群と比較して，右大腿骨，右脛骨及び腰椎（L1～L4）の骨密度が有意に低下した。これに対し，本薬を投与した OVX 群ではいずれについても骨密度が用量依存的に増加した。大腿骨，脛骨及び腰椎においては，それぞれ1, 0.2及び0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の用量で OVX 対照群に対する有意な増加が認められ，また，それぞれ0.2, 25及び0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の用量で Sham 群と同等かそれ以上の骨密度となった（図 2.6.2.2.2.1-5）。なお，左脛骨及び腰椎（L3）を対象に行った骨形態計測によってもほぼ同様な結果が得られた（表 2.6.2.2.2.1-2）。

② 間欠投与の効果

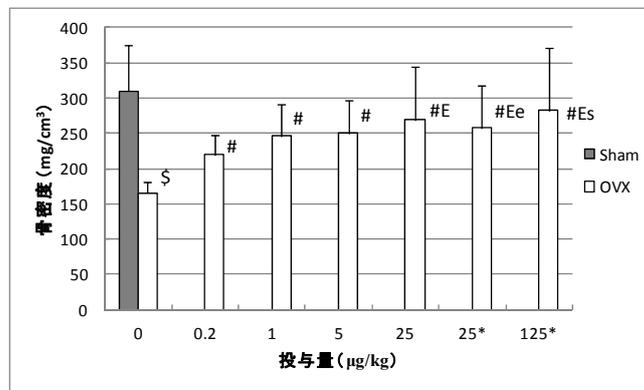
本薬25及び125 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を25日に1回投与した OVX ラットの骨密度は，それぞれ本薬1及び5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を連日投与したラットの骨密度と同等かより高い傾向にあった（図 2.6.2.2.2.1-5）。左脛骨及び腰椎（L3）を対象に行った骨形態計測によってもほぼ同様な結果が得られた（表 2.6.2.2.2.1-2）。

図 2.6.2.2.1-5 イバンドロン酸ナトリウム水和物の OVX ラットに対する治療効果：骨密度を指標とした評価

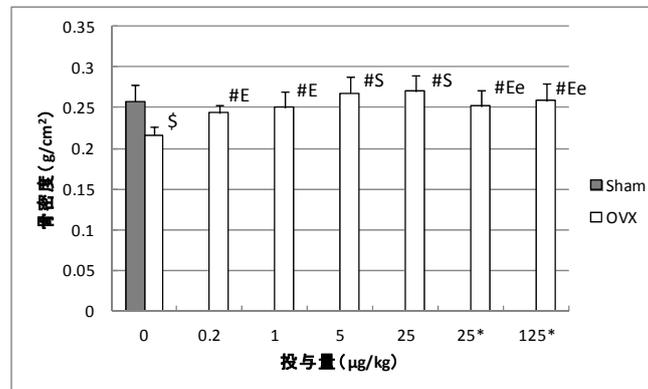
(A) 大腿骨 (骨幹端遠位部)



(B) 脛骨 (骨幹端近位部)



(C) 腰椎 (L1~L4)



ラットに OVX あるいは偽手術を施し、その10週後から各種用量の本薬を12カ月間にわたって連日あるいは間欠皮下投与した。これらの被験動物について、投与開始前 (A のみ) 及び投与終了後に大腿骨 (A : SXA) , 脛骨 (B : 末梢型定量的コンピュータ断層像測定法 ; pQCT) 及び腰椎 (C : 二重エックス線吸収法 ; DXA) の骨密度を測定した。各バーは9~15例 (A) 及び9~13例 (B, C) の平均値 ± 標準偏差を示す。*は25日に1回の間欠投与、それ以外は連日投与における投与量を示す。なお、(A) ~ (C) のすべてにおいて、本薬の作用に関して用量依存性が認められた (トレンドテスト)。

\$: OVX 対照群の Sham 群に対する有意性 ($p < 0.05$: t 検定)

X : 投与終了時における OVX, Sham 群の投与開始時に対する有意性 ($p < 0.05$: t 検定)

: 本薬を投与した OVX 群の OVX 対照群に対する有意性 ($p < 0.05$: Dunnett 検定)

S, E : 本薬を投与した OVX 群の Sham 群との比較 (S = 優位, E = 同等 : Fieller 検定)

s, e : 間欠投与群の、総投与量が同じ連日投与群との比較 (s = 優位, e = 同等 : Fieller 検定)

[4.2.1.1-6 Figure 4, Figure 12, Figure 40を改変]

2) 骨構造に対する効果

① 連日投与の効果

投与終了時点における OVX 対照群では、Sham 群と比較して左脛骨及び腰椎 (L3) の海綿骨における骨梁数の減少及び骨梁間隔の増大が認められ、骨構造の脆弱化が示唆された。これらの変化は、本薬投与により用量依存的に軽減し、各パラメータとも0.2~5 µg/kg の用量から Sham 群と同等あるいはそれ以上のレベルに回復した (表 2.6.2.2.2.1-2)。

② 間欠投与の効果

本薬25及び125 µg/kg を25日に1回投与した OVX ラットにおける骨構造関連パラメータの値は、125 µg/kg を25日に1回投与した群の脛骨骨梁間隔を除いて、それぞれ本薬1及び5 µg/kg を連日投与したラットにおける値と同等あるいはそれ以上であった (表 2.6.2.2.2.1-2)。したがって、OVX に伴う骨構造の脆弱化に対する効果の観点からは、間欠投与の効果は連日投与とほぼ同等であると考えられた。

表 2.6.2.2.1-2 イバンドロン酸ナトリウム水和物の OVX ラットに対する治療効果：脛骨及び腰椎の骨形態計測結果

測定時		OVX 時	投与開始時		投与終了時							
処置		無処置	偽手術	OVX	偽手術	OVX						
投与量 (μg/kg)		—	—	—	0	0	0.2	1	5	25	25*	125*
左脛骨骨幹端近位部	海綿骨骨量 ^D	30.80 ±	29.93 ±	16.10 ±	16.15 ±	2.61 ±	11.47 ±	13.48 ±	16.16 ±	20.84 ±	14.60 ±	20.66 ±
	Cn-BV/TV (%)	6.40	4.87	4.13 ^S	6.12 ^X	2.22 ^{SX}	3.70 [#]	2.81 [#]	9.11 ^{#E}	8.07 ^{#S}	6.92 ^{#Ee}	9.05 ^{#Ss}
	骨梁数 ^D	6.56 ±	6.28 ±	3.81 ±	3.71 ±	0.62 ±	2.82 ±	3.28 ±	3.51 ±	3.93 ±	3.32 ±	4.08 ±
	Tb.N (/mm)	0.70	0.65	0.85 ^S	1.05 ^X	0.44 ^{SX}	0.63 [#]	0.45 ^{#E}	1.41 ^{#E}	1.12 ^{#E}	1.21 ^{#Ee}	1.37 ^{#Es}
	骨梁幅 ^D	47.12 ±	47.63 ±	42.01 ±	43.30 ±	37.43 ±	40.22 ±	40.82 ±	43.42 ±	51.66 ±	42.13 ±	48.80 ±
	Tb.Th (μm)	9.47	5.93	3.81	7.23	13.10	8.51 ^E	4.87 ^E	9.49 ^E	10.07 ^{#S}	8.07 ^{Es}	9.87 ^{#Se}
腰椎 (L3)	海綿骨骨量 ^D	24.09 ±	23.88 ±	21.95 ±	22.53 ±	12.72 ±	18.38 ±	18.68 ±	22.97 ±	26.90 ±	21.52 ±	23.65 ±
	Cn-BV/TV (%)	3.73	3.56	3.76	6.35	4.62 ^{SX}	3.18	3.45 ^{#E}	5.56 ^{#E}	5.41 ^{#E}	7.99 ^{#Es}	6.87 ^{#Ee}
	骨梁数 ^D	4.55 ±	4.14 ±	4.02 ±	3.87 ±	2.56 ±	3.80 ±	3.79 ±	4.05 ±	4.09 ±	3.80 ±	3.78 ±
	Tb.N (/mm)	0.47	0.32	0.48	0.51	0.64 ^{SX}	0.42 ^{#E}	0.24 ^{#E}	0.35 ^{#E}	0.52 ^{#E}	0.57 ^{#Ee}	0.29 ^{#Ee}
	骨梁幅 ^D	53.49 ±	58.10 ±	54.44 ±	58.38 ±	48.66 ±	48.62 ±	49.22 ±	56.61 ±	66.40 ±	56.51 ±	62.37 ±
	Tb.Th (μm)	9.89	10.43	6.10	16.25	8.38	8.13 ^E	8.26 ^E	11.90 ^E	14.44 ^{#E}	19.33 ^{Es}	16.17 ^{Es}
腰椎 (L3)	骨梁間隔 ^D	168.8 ±	184.6 ±	197.5 ±	204.4 ±	370.8 ±	217.5 ±	215.6 ±	192.3 ±	182.0 ±	213.6 ±	204.0 ±
	Tb.Sp (μm)	21.4	14.1	33.9	38.6	139.6 ^{SX}	26.4 ^{#E}	19.4 ^{#E}	27.0 ^{#E}	30.6 ^{#E}	58.0 ^{#Ee}	30.2 ^{#Es}

各値は、8~15例の平均値 ± 標準偏差を示す。*は25日に1回の間欠投与、それ以外は連日投与における投与量を示す。

D：本薬の作用に関して用量依存性が認められた（トレンドテスト）；\$：OVX 対照群の Sham 群に対する有意性（p<0.05：t 検定）；X：投与終了時における OVX, Sham 群の投与開始時に対する有意性（p<0.05：t 検定）；#：本薬を投与した OVX 群の OVX 対照群に対する有意性（p<0.05：Dunnett 検定）；S, E：本薬を投与した OVX 群の Sham 群との比較（S = 優位, E = 同等：Fieller 検定）；s, e：間欠投与群の、総投与量が同じ連日投与群との比較（s = 優位, e = 同等：Fieller 検定）

3) 骨強度に対する効果

左大腿骨は三点曲げ試験，腰椎（L4）は圧縮試験により各部位の骨強度に及ぼす OVX の影響及びこれに対する本薬投与の効果を検討した。

① 連日投与の効果

OVX 対照群では，大腿骨及び腰椎とも投与期間中に骨強度（最大負荷）が有意に低下し，投与終了時点では Sham 群と比較しても骨強度は有意に低下していた。これに対し，本薬を投与した OVX 群では OVX 対照群と比較して大腿骨，腰椎のどちらにおいても骨強度が用量依存的に増大し，最低用量の0.2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群であっても Sham 群と同等の骨強度となった（図 2.6.2.2.1-6）。

② 間欠投与の効果

本薬25及び125 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を25日に1回投与した OVX ラットの骨強度は，それぞれ本薬1及び5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を連日投与したラットの骨強度と同等であった（図 2.6.2.2.1-6）。

③ 骨強度と骨密度との関係

骨強度試験に用いた被験材料について骨密度を測定し，骨強度との関係を検討したところ，骨強度（最大負荷）と骨密度との間には有意な相関関係が認められた（表 2.6.2.2.1-3）。

図 2.6.2.2.1-6 イバンドロン酸ナトリウム水和物の OVX ラットに対する治療効果：骨強度を指標とした評価

(A) 大腿骨

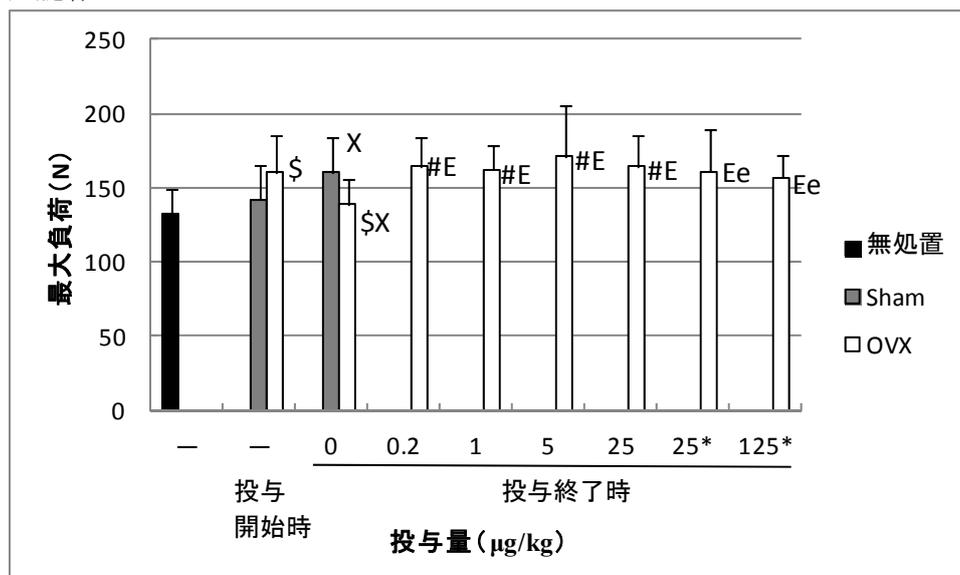
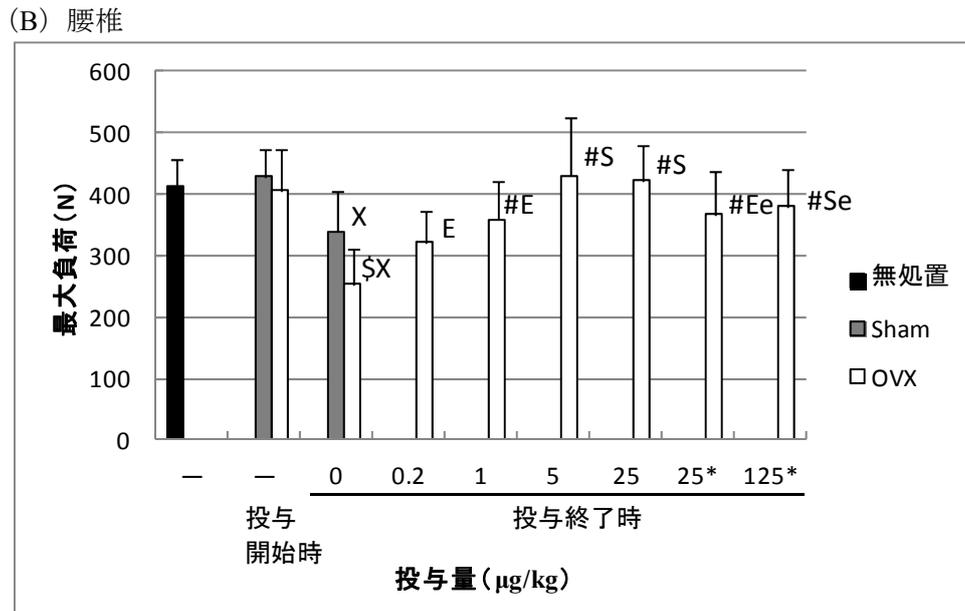


図 2.6.2.2.1-6 イバンドロン酸ナトリウム水和物の OVX ラットに対する治療効果：骨強度を指標とした評価（続）



ラットに OVX あるいは偽手術を施し、その10週後から各種用量の本薬を12カ月間にわたって連日あるいは間欠皮下投与した。これらの被験動物について、投与開始時及び投与終了後に大腿骨（A：三点曲げ試験）及び腰椎（B：圧縮試験）の骨強度を測定した。各バーは9～15例の平均値 ± 標準偏差を示す。*は25日に1回の間欠投与、それ以外は連日投与における投与量を示す。なお、（A）（B）ともに、本薬の作用に関して用量依存性が認められた（トレンドテスト）。

\$：OVX 対照群の Sham 群に対する有意性 ($p < 0.05$: t 検定)

X：投与終了時における OVX, Sham 群の投与開始時に対する有意性 ($p < 0.05$: t 検定)

#：本薬を投与した OVX 群の OVX 対照群に対する有意性 ($p < 0.05$: Dunnett 検定)

S, E：本薬を投与した OVX 群の Sham 群との比較 (S = 優位, E = 同等 : Fieller 検定)

e：間欠投与群の、総投与量が同じ連日投与群との比較 (e = 同等 : Fieller 検定)

[4.2.1.1-7 Figure 1, Figure 14を改変]

表 2.6.2.2.1-3 イバンドロン酸ナトリウム水和物の OVX ラットに対する治療効果：骨密度と骨強度との相関

被験材料	骨強度パラメータ	骨密度測定法	相関性	相関係数	P 値
左大腿骨	最大負荷	pQCT	正	0.61	<0.0001
腰椎 (L4)	最大負荷	DXA	正	0.88	<0.0001
腰椎 (L4)	最大負荷	pQCT	正	0.88	<0.0001

すべての群の個体の値から相関関係を求めた。

以上、OVX ラットに対する本薬の効果を検討した結果、本薬は OVX に伴う骨量の減少、骨構造の脆弱化及び骨強度の低下を用量依存的に抑制することが明らかとなった。また、12カ月間の投与終了の時点において0.2 µg/kg の用量で、大腿骨及び腰椎骨密度、多くの骨構造パラメータ並びに骨強度が Sham 群と同等のレベルにまで回復した。したがって、この試験系における本薬の有効用量は0.2 µg/kg 以上であると考えられた。本薬を間欠投与した場合は、体重あたりの総投与量が同じであれば連日投与と同等の効果が得られた。また、骨密度と骨強度との相関関係から、本薬は、正常な骨質を維持しながら骨量を増加させることが示唆された。

2.6.2.2.2 サル骨粗鬆症モデルにおける効果

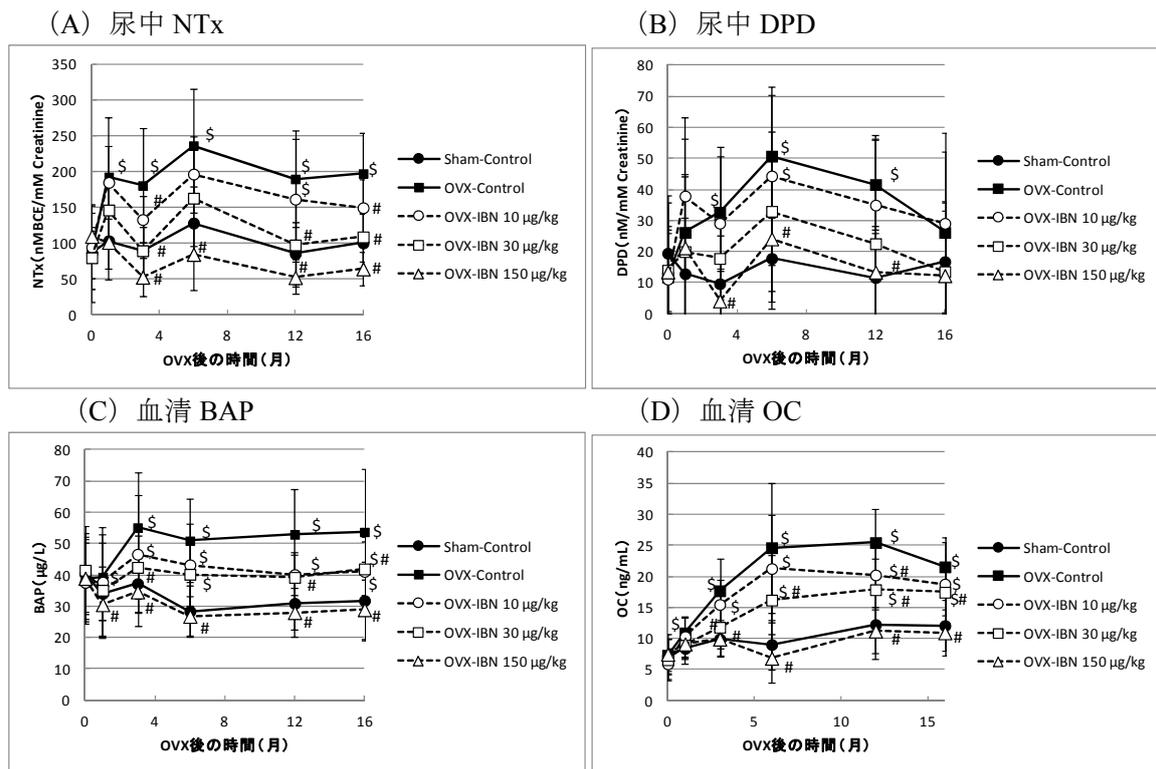
(資料番号4.2.1.1-8, 4.2.1.1-9)

9~24歳の雌カニクイザルに OVX を施し、その日から3用量 (10, 30及び150 $\mu\text{g}/\text{kg}$) の本薬あるいは対照薬液として生理食塩液 (0.5 mL/kg) を30日に1回16カ月間にわたって静脈内投与した。同様に、偽手術を施したカニクイザルにも生理食塩液を静脈内投与した。これらの被験動物から経時的に血液及び尿を採取し、骨代謝マーカーの測定を行うとともに、DXA あるいは pQCT により大腿骨、脛骨及び腰椎等の骨密度測定を行った。これらに加え、投与終了後に大腿骨、腰椎及び尺骨等を採取し、骨形態計測及び骨強度の測定を行うとともに残存本薬濃度の測定も行った。

(1) 骨代謝マーカーの経時的測定による効果の評価

OVX 対照群では、尿中 I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド (NTx) や尿中デオキシピリジノリン (DPD) 等の骨吸収マーカー、及び血清骨型アルカリホスファターゼ (BAP) や血清オステオカルシン (OC) 等の骨形成マーカーの値が OVX 後に上昇し、骨代謝回転が亢進したことが示唆された。本薬を投与した OVX 群では、これらのマーカー値の上昇が用量依存的に抑制され、このうち150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群ではいずれのマーカーの値も上昇することなく、Sham 群と同等かそれ以下のレベルで推移した (図 2.6.2.2.2-1)。

図 2.6.2.2.2-1 OVX サルの骨代謝マーカーに対するイバンドロン酸ナトリウム水和物投与の効果



各種用量の本薬を投与した OVX サル、及び偽手術を施したサルの骨代謝マーカーを経時的 (投与開始前及び投与開始後1, 3, 6, 12, 16カ月目) に測定した。各ポイントは9~15例の平均値 \pm 標準偏差を示す。なお、(A) ~ (D) のすべての測定項目において、投与後3, 6, 12, 16カ月目における本薬の作用に関して用量依存性が認められた (トレンドテスト)。

\$: OVX 群の Sham 群に対する有意性 ($p < 0.05$: t 検定)

: 本薬を投与した OVX 群の OVX 対照群に対する有意性 ($p < 0.05$: t 検定)

[4.2.1.1-8 Figure No. 2a, Figure No. 3a, Figure No. 4a, Figure No. 6a を改変]

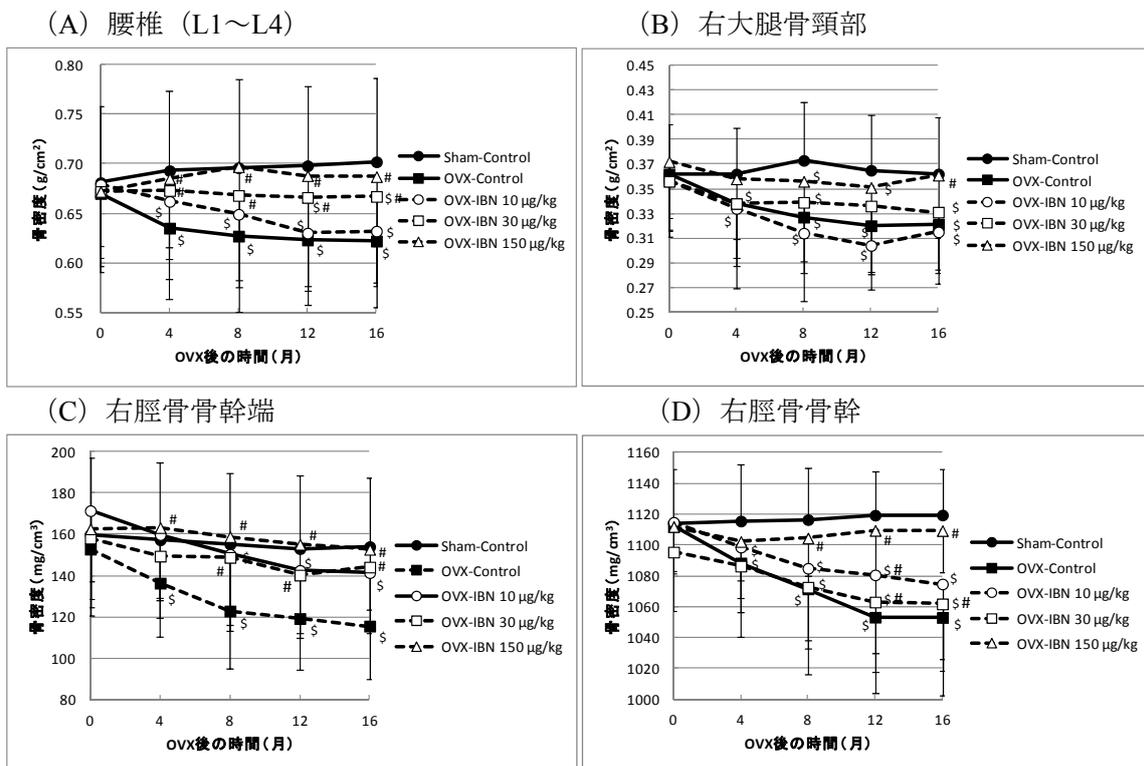
(2) 骨密度の経時的測定による効果の評価

右大腿骨及び腰椎 (L1~L4) は DXA により, 右脛骨は pQCT により経時的に骨密度測定を行った。

OVX 対照群では大腿骨, 腰椎ともに骨密度が経時的に低下し, OVX 後16カ月目の時点で Sham 群と比較して約10%の低下が認められた。本薬を投与した OVX 群では, OVX に伴う大腿骨及び腰椎における骨密度の低下が用量依存的に抑制され, このうち腰椎においては 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の投与群で OVX 対照群に対して有意な骨密度の増加がみられ, 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群では Sham 群と有意な差のないレベルで推移した。大腿骨については本薬の効果は腰椎ほど顕著ではなかったが, OVX 後16カ月目の時点における150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群では OVX 対照群に対して有意な骨密度の増加がみられた [図 2.6.2.2.2-2 (A), (B)]。

脛骨においては, OVX 対照群での骨幹端及び骨幹の骨密度は Sham 群と比較して有意に低下した。本薬を投与した OVX 群ではこれらの低下が用量依存的に抑制され, 150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群の骨密度は試験期間を通じて Sham 群と有意な差のないレベルで推移した [図 2.6.2.2.2-2 (C), (D)]。

図 2.6.2.2.2-2 イバンドロン酸ナトリウム水和物を投与した OVX サルにおける骨密度の経時変化



各種用量の本薬を投与した OVX サル, 及び偽手術を施したサルの骨密度を経時的に測定した。各グラフのうち, (A) 及び (B) は DXA による測定結果, (C) 及び (D) は pQCT による測定結果を示す。各ポイントは10~15例の平均値 \pm 標準偏差を示す。なお, (A) (C) における投与後4, 8, 12, 16カ月目, 及び (B) (D) における投与後8, 12, 16カ月目における本薬の作用に関して用量依存性が認められた (トレンドテスト)。

\$: OVX 群の Sham 群に対する有意性 ($p < 0.05$: t 検定)

: 本薬を投与した OVX 群の OVX 対照群に対する有意性 ($p < 0.05$: t 検定)

[4.2.1.1-8 Figure No. 13, Figure No. 17, Figure No. 30, Figure No. 32を改変]

(3) 骨形態計測による効果の評価

投与終了後に被験動物から右大腿骨及び腰椎（L4）を採取し、海綿骨の骨形態計測を行った結果を表 2.6.2.2.2-1に示す。

1) 骨量及び骨構造に関わるパラメータ

OVX 対照群では、Sham 群と比較して有意ではないものの大腿骨における骨量及び骨梁幅の減少傾向がみられたが、腰椎ではほとんど変化がみられなかった。本薬を投与した OVX 群では、大腿骨における骨量及び骨梁幅が用量に応じて増加する傾向がみられ、150 µg/kg 投与群では骨梁幅は OVX 対照群に対して有意に増加した。

2) 骨代謝回転に関わるパラメータ

OVX 対照群では、Sham 群と比較して骨代謝回転の指標である骨単位活性化率が上昇し、このうち腰椎では有意な変化であった。また、これに伴い骨形成の指標である骨石灰化面と骨形成率が有意に上昇するとともに、骨吸収の指標である破骨細胞面も上昇する傾向にあった。本薬を投与した OVX 群では、OVX 対照群と比較して骨石灰化面と骨形成率が減少し、この傾向は腰椎において特に顕著であった。腰椎における骨単位活性化率も同様に用量に応じて減少したが、10及び30 µg/kg 投与群では Sham 群と有意な差のないレベルであった。破骨細胞面については、腰椎では30 µg/kg 投与群で有意に上昇したものの大腿骨では顕著な変化は認められず、骨石灰化面や骨形成率と比較して本薬投与の影響は明瞭ではなかった。

表 2.6.2.2.2-1 OVX サルの骨形態計測結果

処置	偽手術	OVX			
		0	10	30	150
右大腿骨近位部					
骨量 (%)	26.03 ± 7.708	18.84 ± 6.175	21.05 ± 6.862	22.21 ± 5.917	24.72 ± 9.326
骨梁幅 ^D (µm)	196 ± 39.5	166 ± 30.1	172 ± 39.0	189 ± 47.7	238 ± 94.5 [#]
破骨細胞面 (%)	0.17 ± 0.225	0.48 ± 0.423	0.26 ± 0.337	0.28 ± 0.304	0.36 ± 0.553
骨石灰化面 ^D (%)	1.89 ± 2.677	6.13 ± 4.457 ^S	1.43 ± 1.550 [#]	3.00 ± 5.791	0.81 ± 2.516 [#]
骨形成率 ^D (mm ² /mm ² /yr)	0.10 ± 0.092	0.36 ± 0.253 ^S	0.13 ± 0.163 [#]	0.12 ± 0.200 [#]	0.04 ± 0.112 [#]
骨単位活性化率 (/yr)	0.237 ± 0.2173	0.874 ± 0.5790	0.229 ± 0.1672	0.655 ± 0.9167	1.369 ± 0.092
腰椎 (L4)					
骨量 (%)	27.01 ± 5.247	24.44 ± 4.344	23.86 ± 4.360	25.19 ± 3.785	26.51 ± 5.845
骨梁幅 (µm)	127 ± 24.0	129 ± 19.0	119 ± 18.1	111 ± 13.1	126 ± 21.3
破骨細胞面 ^D (%)	0.98 ± 0.419	1.29 ± 0.652	1.88 ± 0.674 ^S	1.92 ± 0.751 ^{S#}	0.99 ± 0.604
骨石灰化面 (%)	2.51 ± 2.552	6.77 ± 4.728 ^S	1.97 ± 1.199 [#]	0.95 ± 0.871 ^{S#}	0.05 ± 0.124 ^{S#}
骨形成率 (mm ² /mm ² /yr)	0.20 ± 0.167	0.41 ± 0.238 ^S	0.15 ± 0.095 [#]	0.08 ± 0.070 ^{S#}	0.00 ± 0.009 ^{S#}
骨単位活性化率 (/yr)	0.294 ± 0.2398	0.746 ± 0.4987 ^S	0.206 ± 0.1246 [#]	0.152 ± 0.0916 [#]	0.007 ± 0.038

各値は、2~15例の平均値 ± 標準偏差を示す。ただし、n = 2の場合は、個体ごとの値を記載した。

S : Sham 群に対して有意 (p<0.05 : t 検定)

: OVX 対照群に対して有意 (p<0.05 : t 検定)

D : 本薬の作用に関して用量依存性が認められた (トレンドテスト)

[4.2.1.1-8 Table 43を改変]

(4) マイクロ CT による効果の評価

投与終了後に被験動物から腰椎 (L1) を採取し、マイクロ CT により骨構造解析を行った。骨量及び骨構造関連パラメータについて解析した結果を表 2.6.2.2.2-2 に、解析結果を画像化した代表例を図 2.6.2.2.2-3 に示す。

1) 骨量に関わるパラメータ

OVX 対照群では、骨量の指標である BV/TV の値が Sham 群と比較して有意に減少した。これに対し、本薬を投与した OVX 群では、骨量の減少がほぼ用量に応じて抑制され、150 µg/kg 投与群では OVX 対照群と比較して有意な増加が認められ、30 µg/kg 以上の投与群では Sham 群との間に有意な差はみられなかった。

2) 骨構造に関わるパラメータ

OVX 対照群では、骨梁の連結性の指標である Trabecular bone pattern factor (TBPf) 及び骨梁構造のタイプ (プレート状あるいはロッド状構造) の指標である Structure model index (SMI) , 並びに骨梁間隔 (Tb.Sp) の値が Sham 群と比較して有意に上昇した。また、骨梁数 (Tb.N) 及び骨梁幅 (Tb.Th) の値が Sham 群と比較して有意に減少した。本薬を投与した OVX 群では、これらのパラメータは用量に応じて改善し、30 µg/kg 投与群では骨梁数及び骨梁間隔で、150 µg/kg 投与群ではすべてのパラメータについて OVX 対照群と比較して有意な改善が認められた。Sham 群と比較した場合でも 10 µg/kg 投与群における SMI 及び 30 µg/kg 投与群における骨梁幅を除いては、すべてのパラメータで有意な差は認められなかった。これらの結果から、本薬 30 µg/kg 以上の用量は、OVX に伴う海綿骨の骨構造の脆弱化を抑制する用量であることが示された。

3) 解析結果の画像化

OVX 対照群にみられる骨梁構造の粗雑さが本薬の投与により改善されており、骨構造パラメータで示された本薬の効果が確認された。

表 2.6.2.2.2-2 OVX サルの腰椎 (L1) における骨量及び骨構造に対するイバンドロン酸ナトリウム水和物投与の効果：マイクロ CT による解析

処置	偽手術	OVX			
		0	10	30	150
投与量 (µg/kg)	0	0	10	30	150
骨量 BV/TV (%)	32.020 ± 5.987	25.957 ± 4.885 ^{\$}	27.708 ± 3.483 ^{\$}	28.953 ± 3.781	32.118 ± 3.815 [#]
骨梁数 Tb.N (/mm)	2.625 ± 0.371	2.340 ± 0.294 ^{\$}	2.463 ± 0.310	2.658 ± 0.384 [#]	2.606 ± 0.258 [#]
骨梁幅 Tb.Th (mm)	0.122 ± 0.019	0.111 ± 0.015 ^{\$}	0.113 ± 0.009	0.109 ± 0.006 ^{\$}	0.124 ± 0.016 [#]
骨梁間隔 Tb.Sp (mm)	0.266 ± 0.054	0.323 ± 0.056 ^{\$}	0.301 ± 0.069	0.273 ± 0.047 [#]	0.263 ± 0.035 [#]
SMI	0.443 ± 0.462	0.874 ± 0.359 ^{\$}	0.813 ± 0.166 ^{\$}	0.651 ± 0.212	0.505 ± 0.346 [#]
TBPf (/mm)	1.440 ± 1.794	2.777 ± 1.290 ^{\$}	2.445 ± 0.716	2.005 ± 0.721	1.480 ± 1.188 [#]

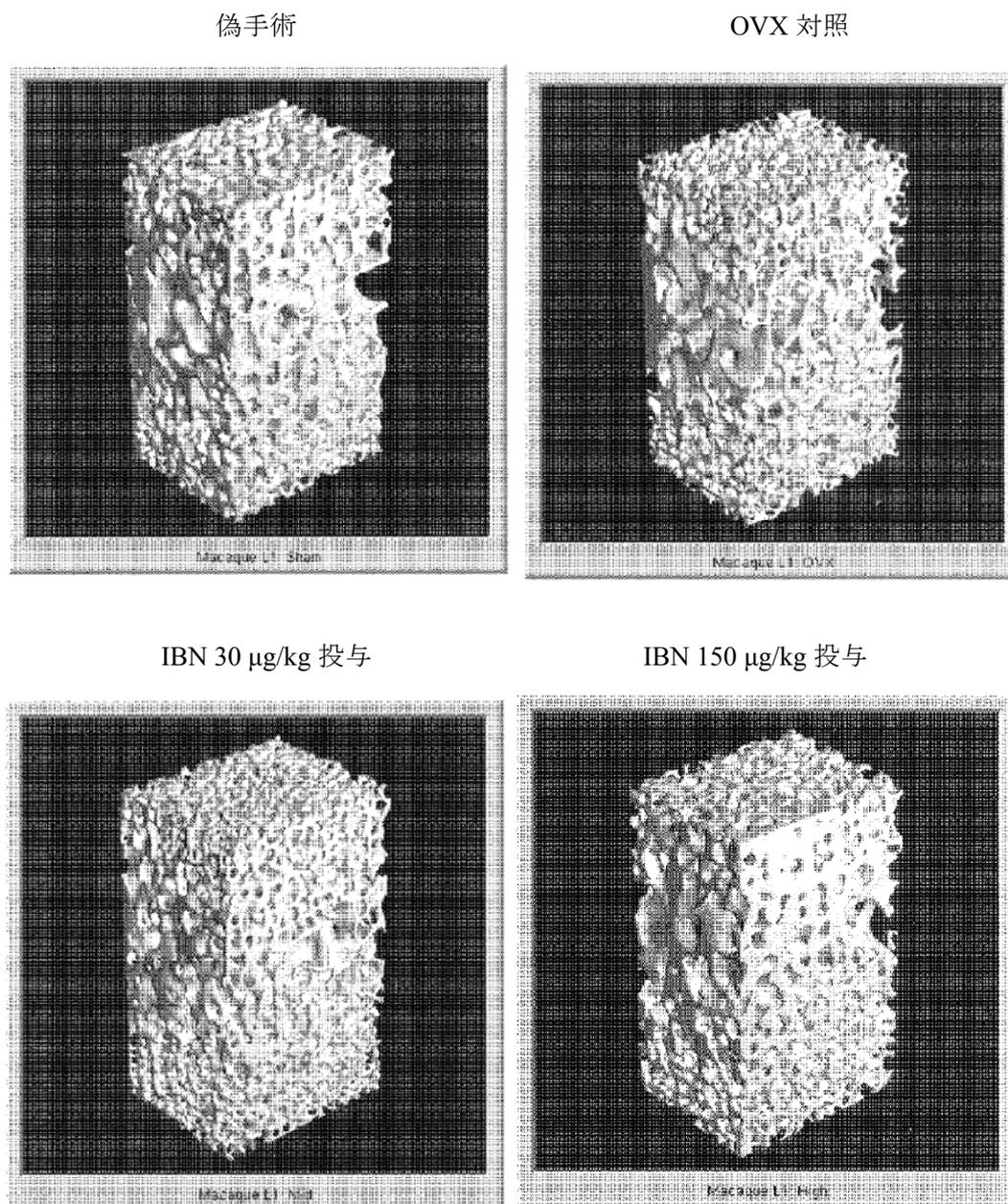
各値は、平均値 ± 標準偏差 (n = 10~15) を示す。

\$: Sham 群に対して有意 (p < 0.05 : Fisher 検定)

: OVX 対照群に対して有意 (p < 0.05 : Fisher 検定)

[4.2.1.1-9 Table 1 を改変]

図 2.6.2.2.2-3 OVX サルの海綿骨三次元画像



各試験群における骨量の値が中央値を示す個体についての腰椎（L1）海綿骨の三次元構造を示す。

[4.2.1.1-9 Figure 14を改変]

(5) 骨強度を指標とした効果の評価

腰椎（L1）、左大腿骨、左尺骨、左上腕骨及び腰椎（L5）の海綿骨部位を直径3 mm の中空ドリルを用いて採取したサンプル（L5コア）について骨強度を測定し、同じ被験材料を用いて測定した骨密度との間の相関を検討した。

OVX 対照群における腰椎の骨強度（圧縮試験における最大負荷）は Sham 群と比較して、L1で25%、L5コアで19%低下し、このうち L1では有意な低下であった。これに対して、本薬を投与した OVX 群における L1の骨強度は用量依存的に増大し、150 µg/kg 投与群においては OVX 対照群に対して有意となり、Sham 群との比較でも30 µg/kg 以上の投与群では有意な差は認められなかった。L5コアについても有意ではないものの L1と同様な傾向が認められた。

OVX 対照群における大腿骨頸部の骨強度（Cantilever 法における最大負荷）は、Sham 群の76%と有意に低下した。本薬を投与した OVX 群では、OVX 対照群と比較して骨強度の顕著な増大はみられなかったが、30及び150 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群では OVX 対照群と比較して骨強度が11~12%増加し、Sham 群との間に有意な差は認められなかった。

尺骨（皮質骨）については、OVX 対照群における骨強度（三点曲げ試験における最大負荷）は Sham 群の76%と有意に低下したが、これに対する本薬の用量依存的な効果はみられなかった。上腕骨についても尺骨と同様の傾向がみられた。

表 2.6.2.2.2-3 OVX サルの骨強度に対するイバンドロン酸ナトリウム水和物投与の効果

処置	偽手術	OVX			
		0	10	30	150
投与量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	0	0	10	30	150
腰椎 (L1) 最大負荷 ^D (N)	2116 \pm 561	1586 \pm 286 ^{\$}	1614 \pm 163 ^{\$}	1745 \pm 299	2089 \pm 479 [#]
腰椎 (L5コア) 最大負荷 (N)	48 \pm 15.8	39 \pm 15.0	40 \pm 7.4	48 \pm 9.4	50 \pm 18.6
大腿骨頸部 最大負荷 (N)	1624 \pm 331	1229 \pm 203 ^{\$}	1246 \pm 278 ^{\$}	1372 \pm 285	1362 \pm 221
尺骨 最大負荷 (N)	211 \pm 69.5	160 \pm 28.0 ^{\$}	158 \pm 36.7 ^{\$}	172 \pm 39.0	172 \pm 42.5
上腕骨 最大負荷 (N)	198 \pm 107.0	152 \pm 38.1	142 \pm 48.0	145 \pm 28.6	197 \pm 73.4

各値は、平均値 \pm 標準偏差を示す (n = 9~15)。

\$: Sham 群に対して有意 (p < 0.05 : t 検定)

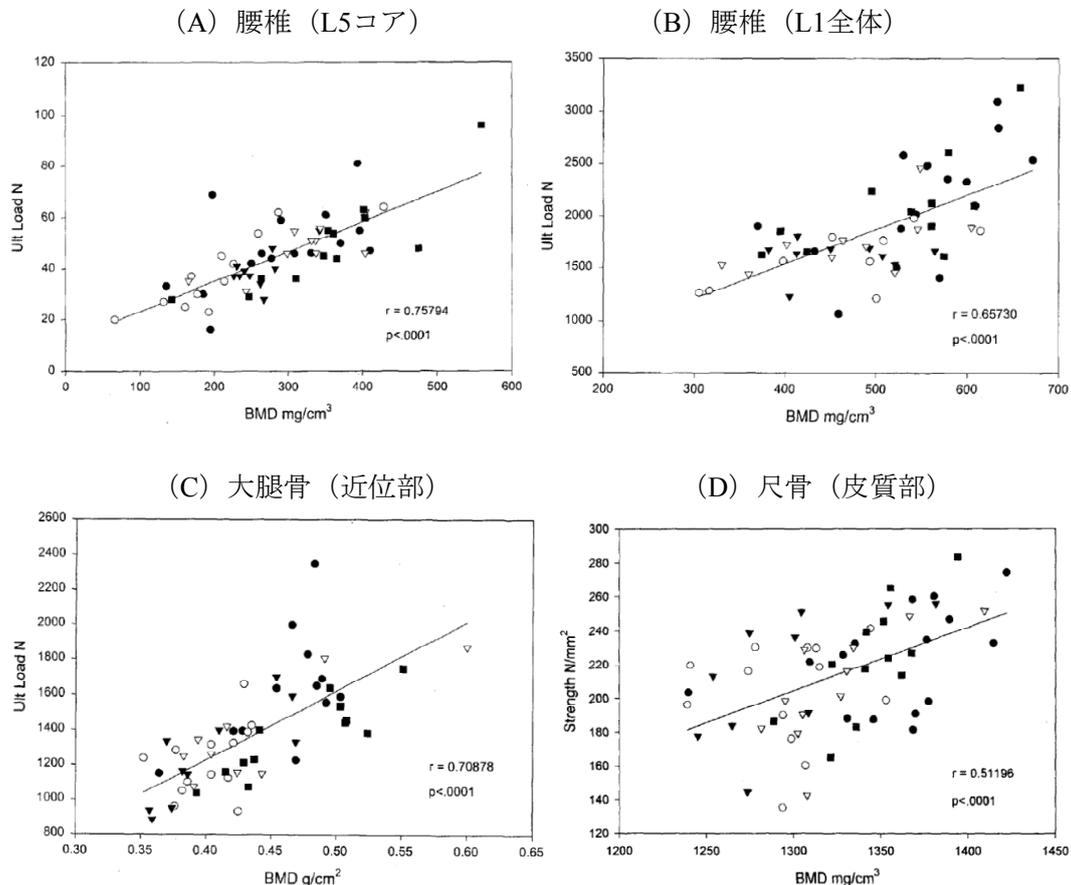
: OVX 対照群に対して有意 (p < 0.05 : t 検定)

D : 本薬の作用に関して用量依存性が認められた (トレンドテスト)

[4.2.1.1-8 Table 45を改変]

骨強度試験に用いた被験材料のうち、上腕骨以外について骨量を測定した。その結果、腰椎及び大腿骨頸部を含む大腿骨近位部では、OVX に伴う骨量減少が本薬の投与により用量依存的に抑制されるという結果が得られた。それぞれについて、骨強度（最大負荷）と骨密度の値をプロットしたところ、両者の間には有意な相関が認められた（図 2.6.2.2.2-4）。

図 2.6.2.2.2-4 OVX サルにおける骨強度と骨密度との相関



各種用量の本薬を16カ月間投与した OVX サル、及び偽手術を施したサルについて、骨強度と骨密度を測定した。グラフは、腰椎 (L5コア：A)、腰椎 (L1：B)、大腿骨 (C) 及び尺骨 (D) についての骨強度と骨密度を個体ごとにプロットした結果を示す。● = Sham 群、○ = OVX 対照群、▼ = OVX 10 µg/kg 投与群、▽ = OVX 30 µg/kg 投与群、■ = OVX 150 µg/kg 投与群

図中の直線は、相関直線を示す。

[4.2.1.1-8 Figure No. 39~Figure No. 42を再掲]

(6) 骨における本薬濃度

左脛骨及び腰椎 (L6) について本薬濃度を測定した結果、いずれの部位においても投与量に応じた本薬濃度（乾燥骨重量当たりの本薬重量）の増加が認められた。腰椎中の本薬濃度は脛骨中の濃度と比較して2.7~3.7倍高い値を示したが（2.6.4.4.3）、これは腰椎の方が皮質骨に対する海綿骨の割合が高いためと考えられた。

以上の結果から、本薬は OVX を施したカニクイザルに静脈内投与後骨に到達し、OVX に伴い亢進した骨代謝回転を抑制するとともに、腰椎・大腿骨・脛骨において骨密度の低下を抑制する作用のあることが明らかとなった。本薬の投与により、腰椎の骨構造も有意に改善しており、その結果として腰椎における骨強度の低下も抑制されたものと考えられた。また、腰椎、大腿骨及び尺骨において骨強度と骨密度とが相関したことから、本薬投

与に伴う骨質の劣化はないものと考えられた。本試験系においては、30 µg/kg 投与群で血清・尿中の骨代謝マーカー、骨密度、骨強度における OVX に伴う変化が抑制され、多くのパラメータで Sham 群との間に有意な差が認められておらず、海綿骨における骨量及び骨構造も維持されていた。これらの結果より、30日に1回本薬を投与した本試験系においては、30 µg/kg 以上が有効用量と考えられた。

2.6.2.2.2.3 イヌ骨粗鬆症モデルにおける骨吸収抑制効果

(資料番号4.2.1.1-10)

雌ビーグル犬に OHX を施した後、本薬 (0.1, 0.3, 1, 10, 100 µg/kg : 初回投与のみ5倍量) あるいは対照薬液として生理食塩液 (0.2 mL/kg : 初回投与のみ5倍量) を1カ月間にわたって連日 (週6回) 皮下投与した。また、これと並行して偽手術を施したビーグル犬に生理食塩液を1カ月間にわたって連日 (週6回) 皮下投与した。これらの被験動物に対して、OHX あるいは偽手術前、及び投与終了後に腸骨のバイオプシーを行い、得られた試料を用いて骨形態計測を実施することにより各種骨パラメータを測定し、OHX に伴う病態変化に対する本薬4週間投与の予防効果を検討した。

(1) 骨量及び骨構造に関するパラメータ (骨量, 骨梁幅, 骨梁間隔)

投与終了後の OHX 対照群では、OHX 前と比較して海綿骨骨量は有意に減少し、これとともに骨梁幅の減少と骨梁間隔の増大が認められた。これに対し、本薬を投与した OHX 群ではこれらの変化が抑制され、それぞれ1 µg/kg 以上、0.1 µg/kg 以上及び0.3 µg/kg 以上の用量群で OHX 前と有意な差のないレベルに維持されていた (表 2.6.2.2.2.3-1)。

(2) 骨代謝回転に関するパラメータ

1) 骨吸収パラメータ (Erosion depth, 破骨細胞面, 破骨細胞数)

投与終了後の OHX 対照群では、骨吸収に関するパラメータのうち、Erosion depth が OHX 前と比較して有意に増大した。これに対し、本薬を投与した OHX 群では、OHX 前と比較してこのパラメータに有意な差は認められなかった。一方、破骨細胞面及び破骨細胞数には OHX の影響も本薬投与による変化もみられなかった (表 2.6.2.2.2.3-1)。

2) 骨形成パラメータ (骨芽細胞面, 骨芽細胞数, 骨石灰化面, 骨石灰化速度)

投与終了後の OHX 対照群では、骨形成に関するパラメータのうち、骨芽細胞面及び骨芽細胞数が OHX 前と比較して有意に増大した。これに対し、本薬を投与した OHX 群では、OHX 前と比較してこれらのパラメータに有意な差は認められなかった。また、骨石灰化面については、本薬10及び100 µg/kg を投与した OHX 群で OHX 前と比較して有意な減少が認められたものの、石灰化速度については100 µg/kg の用量まで本薬投与の影響はみられなかった (表 2.6.2.2.2.3-1)。

(3) 骨石灰化に関するパラメータ (類骨幅)

投与終了後の OHX 対照群では、類骨幅には OHX 前と比較して有意な差は認められなかった。本薬を投与した OHX 群についても100 µg/kg の用量まで類骨幅の増大はみられず、骨石灰化障害作用を示す所見は得られなかった (表 2.6.2.2.2.3-1)。

以上、イヌ骨粗鬆症モデルにおいて、OHX に伴い腸骨における海綿骨骨量の減少が認められたが、この変化は1 µg/kg 以上の用量の本薬投与により抑制された。この用量では骨代謝回転や骨石灰化に関わるパラメータは OHX 前と同等であったことから、本モデル系においては1 µg/kg 以上が有効用量であると考えられた。なお、骨石灰化障害については、最低有効用量の100倍に相当する用量においても認められなかった。

表 2.6.2.2.2.3-1 イバンドロン酸ナトリウム水和物を投与した OHX イヌの腸骨における骨形態計測結果

処置		OHX						偽手術
投与量 (μg/kg)		0	0.1	0.3	1	10	100	0
海綿骨骨量 (%)	処置前	25.0 ± 1.0	29.8 ± 2.1	27.8 ± 1.4	24.9 ± 1.1	21.4 ± 2.1	25.8 ± 1.1	19.5 ± 1.5
	投与後	14.8 ± 0.8 ^X	22.3 ± 3.3 ^X	19.1 ± 1.0 ^X	23.1 ± 1.2	21.6 ± 2.4	25.1 ± 1.1	22.0 ± 1.8
骨梁幅 (μm)	処置前	90.7 ± 3.6	100.5 ± 3.1	115.0 ± 8.4	102.6 ± 3.5	88.5 ± 10.0	90.6 ± 4.0	85.6 ± 4.5
	投与後	71.5 ± 7.1 ^X	88.6 ± 5.2	81.0 ± 2.6	99.9 ± 5.2	85.3 ± 3.8	94.6 ± 4.2	89.8 ± 3.7
骨梁間隔 (μm)	処置前	275 ± 18.95	245 ± 15.86	297 ± 15.46	311 ± 14.51	338 ± 42.38	262 ± 12.41	370 ± 28.06
	投与後	411 ± 26.12 ^X	353 ± 18.07 ^X	348 ± 18.05	334 ± 15.81	329 ± 40.44	283 ± 12.24	331 ± 34.05 ^X
Erosion depth (μm)	処置前	7.3 ± 0.5	6.0 ± 0.5	5.6 ± 0.7	6.6 ± 0.8	5.7 ± 0.4	7.2 ± 0.4	8.9 ± 0.8
	投与後	9.1 ± 1.2 ^X	6.0 ± 0.3	5.2 ± 0.5	6.8 ± 0.8	5.9 ± 0.8	5.8 ± 0.3	6.5 ± 0.9
破骨細胞面 (%)	処置前	2.1 ± 0.7	1.3 ± 0.2	1.5 ± 0.3	1.6 ± 0.2	1.1 ± 0.3	1.0 ± 0.1	2.5 ± 0.3
	投与後	2.0 ± 0.8	1.6 ± 0.4	0.9 ± 0.2	1.3 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.9 ± 0.3
破骨細胞数 (/100 mm)	処置前	62.5 ± 18.8	34.4 ± 6.0	38.7 ± 7.3	51.8 ± 5.7	37.6 ± 9.5	36.1 ± 6.1	62.2 ± 9.7
	投与後	55.0 ± 20.1	40.7 ± 7.1	24.4 ± 6.1	42.7 ± 7.8	29.6 ± 5.9	20.7 ± 4.6	37.8 ± 9.7

各値は、平均値 ± 標準誤差を示す (n=6)。

X: 処置前の値に対する有意性 (p<0.05: 対応のある t 検定)

[4.2.1.1-10 Table 8~Table 10, Table 19~Table 21を改変]

表 2.6.2.2.2.3-1 イバンドロン酸ナトリウム水和物を投与した OHX イヌの腸骨における骨形態計測結果 (続)

処置		OHX						偽手術
投与量 (μg/kg)		0	0.1	0.3	1	10	100	0
骨芽細胞面 (%)	処置前	5.1 ± 0.8	5.9 ± 0.7	5.7 ± 1.4	7.3 ± 1.2	5.7 ± 1.9	6.9 ± 0.6	8.7 ± 0.8
	投与後	13.3 ± 2.4 ^X	7.4 ± 1.6	8.2 ± 1.9	8.4 ± 2.1	3.9 ± 1.7	3.7 ± 0.7	14.5 ± 3.3
骨芽細胞数 (/100 mm)	処置前	288.0 ± 37.1	383.7 ± 38.4	365.6 ± 94.0	441.4 ± 53.2	319.4 ± 89.8	394.6 ± 50.1	517.3 ± 40.6
	投与後	737.3 ± 99.5 ^X	466.6 ± 104.6	513.6 ± 129.2	535.4 ± 163.5	207.6 ± 89.3	187.5 ± 41.9	779.4 ± 171.3
骨石灰化面 (%)	処置前	16.2 ± 4.1	8.6 ± 2.5	13.7 ± 2.1	18.4 ± 3.6	13.9 ± 3.8	17.4 ± 3.2	15.4 ± 1.9
	投与後	11.8 ± 4.0	6.9 ± 1.8	15.2 ± 2.1	11.8 ± 3.8	2.0 ± 0.5 ^X	3.0 ± 0.9 ^X	17.5 ± 3.7
骨石灰化速度 (μm/day)	処置前	1.0 ± 0.1	0.8 ± 0.1	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.1 ± 0.1	0.7 ± 0.1
	投与後	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.0	0.9 ± 0.2	0.6 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.9 ± 0.1
類骨幅 (μm)	処置前	5.0 ± 0.3	6.5 ± 0.5	6.4 ± 0.6	5.8 ± 0.2	6.2 ± 0.4	6.8 ± 0.5	6.6 ± 0.4
	投与後	6.6 ± 0.5	6.3 ± 0.2	6.2 ± 0.6	6.4 ± 0.4	4.9 ± 0.4	6.0 ± 0.1	6.3 ± 0.2

各値は、平均値 ± 標準誤差を示す (n=6)。

X : 処置前の値に対する有意性 (p<0.05 : 対応のある t 検定)

[4.2.1.1-10 Table 13~Table 15, Table 22, Table 23を改変]

2.6.2.2.3 正常動物の骨に対するイバンドロン酸ナトリウム水和物の作用

2.6.2.2.3.1 老齢ラットにおける骨への作用

(資料番号4.2.1.1-11)

13～14カ月齢の雌 Wistar ラットに本薬 (1, 3, 10, 30 $\mu\text{g}/\text{kg}$) あるいは対照薬液として生理食塩液 (2 mL/kg) を20週間連日皮下投与した。投与終了時及び投与終了後20週間の回復期間終了時に右大腿骨及び左脛骨を採取し、それぞれ骨密度の測定 (SXA) 及び骨形態計測を行うことにより、老齢ラットにおける骨量に対する本薬の作用について検討した。

(1) 大腿骨に対する作用

対照群における大腿骨骨密度は40週の試験期間の間にほとんど変化がなかった。これに対し、本薬投与群では投与終了時においては大腿骨骨密度に顕著な変化はみられなかったものの、回復期間終了時においては本薬の用量に依存した骨密度の増加が認められ、このうち、3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の本薬投与群では対照群に対して有意な増加であった。また、3及び30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群ではそれぞれの投与終了時の値に対しても有意な増加が認められた。回復期間終了時における本薬の有効用量は1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上であった (表 2.6.2.2.3.1-1)。

(2) 脛骨に対する作用

対照群における脛骨骨量は回復期の20週間の間に有意に減少した。これに対し、本薬投与群では投与終了時においては脛骨骨量に顕著な変化はみられなかったものの、回復期間終了時においては対照群に対して用量依存的な増加が認められ、このうち、3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の本薬投与群では対照群に対して有意な増加であった。また、3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群では投与終了時の値に対しても有意な増加が認められた。回復期終了時における本薬の有効用量は3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上であった (表 2.6.2.2.3.1-1)。

以上の結果から、本薬は老齢ラットにおいて用量依存的に骨量を増加させることが明らかとなった。

表 2.6.2.2.3.1-1 老齢ラットの骨量に対するイバンドロン酸ナトリウム水和物の作用

測定時期	投与 開始時	投与終了時					回復期終了時				
		0	1	3	10	30	0	1	3	10	30
投与量 (µg/kg)	—	0	1	3	10	30	0	1	3	10	30
大腿骨骨密度 (mm Al eq)	1.60 ± 0.19	1.55 ± 0.14	1.64 ± 0.18	1.59 ± 0.15	1.64 ± 0.19	1.63 ± 0.18	1.50 ± 0.15	<u>1.69 ±</u> <u>0.15</u>	1.72 ± 0.26 ^{ab}	1.72 ± 0.20 ^b	1.82 ± 0.27 ^{ab}
脛骨海綿骨骨量 Cn-BV/TV (%)	15.76 ± 8.26	19.31 ± 11.19	20.43 ± 6.71	13.86 ± 7.42	21.60 ± 9.09	20.34 ± 7.96	11.97 ± 6.32 ^a	13.34 ± 4.11 ^a	<u>21.56 ±</u> <u>12.44^{ab}</u>	21.83 ± 10.46 ^b	24.51 ± 13.41 ^b

各値は12~15例の平均値 ± 標準偏差を示す。トレンドテストを行い用量依存性の認められた項目については、最低有効用量における測定値に下線を引いた。

a : 投与終了時の値に対して有意 (p<0.05 : t 検定)。 b : 回復期において対照群に対して有意 (p<0.05 : Dunnett 検定)。

[4.2.1.1-11 Table 3, Table 12を改変]

2.6.2.2.3.2 成熟ラットにおける骨への作用

(資料番号4.2.1.1-12)

8カ月齢の雌 Wistar ラットに本薬30 µg/kg, ALN 300 µg/kg あるいは対照薬液として生理食塩液2 mL/kg を20週間連日皮下投与した。投与終了後右大腿骨及び左脛骨を採取し、それぞれ骨密度の測定 (SXA) 及び骨形態計測を行うことにより、これらの薬剤の骨量及び骨構造に対する作用について比較した。

対照群では、投与終了時における大腿骨骨密度や脛骨海綿骨骨量などの骨量関連パラメータの値が投与開始時よりも減少する傾向がみられた。これに対して、BP 投与群ではこれらの値は対照群と比較して有意に増加しており、投与開始時と同様の値に維持されていた。骨構造関連パラメータについては、対照群では投与開始時と比較して骨梁数の減少や骨梁間隔の増大など、骨の脆弱化を示す傾向がみられた。これに対して、BP 投与群ではこれらの値は対照群よりも増加 (骨梁数) あるいは減少 (骨梁間隔) しており、投与開始時と同様の値に維持されていた。これらの作用について、本薬と ALN とは同等の効果であった (表 2.6.2.2.3.2-1)。

以上の結果より、成熟ラットにおいて時間経過に伴ってみられる骨量の減少や骨の脆弱化が本薬の投与により防止され、投与開始時と同様の状態に維持されることが明らかとなった。

表 2.6.2.2.3.2-1 成熟ラットの骨に対するイバンドロン酸ナトリウム水和物及びアレンドロン酸ナトリウム水和物の作用

測定時期	投与開始時		投与終了時	
	—	生理食塩液	IBN	ALN
骨量関連パラメータ				
大腿骨骨密度 (mm Al eq)	1.94 ± 0.2	1.64 ± 0.2	1.98 ± 0.3 ^a	1.96 ± 0.2 ^a
脛骨海綿骨骨量 Cn-BV/TV (%)	29.35 ± 5.18	23.63 ± 4.78	31.73 ± 7.21 ^a	31.46 ± 5.49 ^a
骨構造関連パラメータ (脛骨)				
骨梁数 Tb.N (/mm)	6.53 ± 0.68	5.58 ± 1.04	6.80 ± 1.36	6.78 ± 0.91
骨梁間隔 Tb.Sp (µm)	109.70 ± 17.40	143.03 ± 38.50	106.63 ± 35.38	103.42 ± 20.59
骨梁幅 Tb.Th (µm)	45.04 ± 7.21	42.65 ± 6.66	46.68 ± 6.22	46.50 ± 6.15

各値は、13~15例の平均値 ± 標準偏差を示す。

a: 対照群に対して有意 (p<0.05; Dunnett 検定)。統計評価は骨量関連パラメータのみについて行った。

[4.2.1.1-12 Table 3, Table 12~Table 15を改変]

2.6.2.2.3.3 成長期ラットにおける骨への作用

(資料番号4.2.1.1-13)

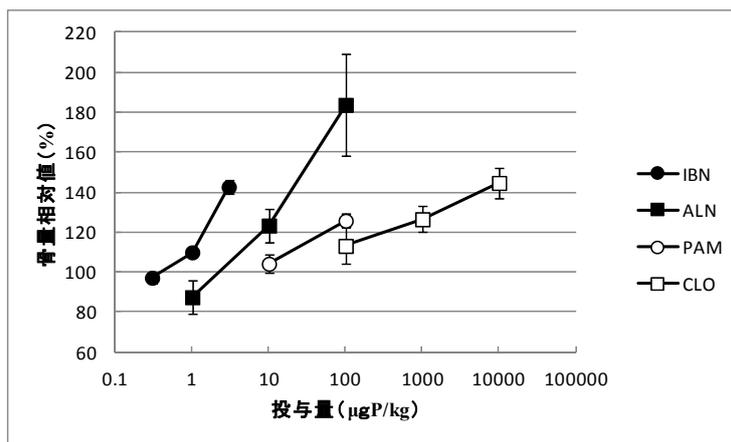
雄 Wistar ラット (体重145 ± 10 g) に蛍光マーカーである Calcein 10 mg/kg を皮下投与し、翌日から種々の用量の各種 BP 系薬剤あるいは対照薬液として生理食塩液2 mL/kg を7日間連日皮下投与した。これらの被験動物について、最終投与の翌日に脛骨骨幹端近位部の骨形態計測を行い、各種 BP 系薬剤の骨量及び骨形態に対する作用を比較した。投与した BP 系薬剤の用量は以下の通りとした。

- 本薬 : 0.3, 1, 3 µgP/kg
- ALN : 1, 10, 100 µgP/kg

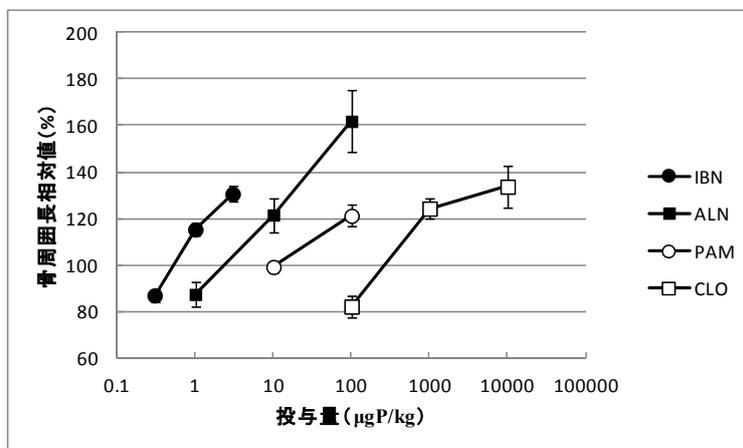
- PAM : 10, 100 $\mu\text{gP/kg}$
- CLO : 100, 1000, 10000 $\mu\text{gP/kg}$

BP 系薬剤の投与により骨量及び骨周囲長が用量に応じて増加した。このうち、本薬は最も低用量から作用を発現し、3 $\mu\text{gP/kg}$ の用量で骨量及び骨周囲長がそれぞれ対照の1.4及び1.3倍となった。骨量が120%となる用量で比較すると、本薬の比活性は ALN, PAM 及び CLO よりも、それぞれ約10, 100及び600倍高かった (図 2.6.2.2.3.3-1)。

図 2.6.2.2.3.3-1 各種用量の BP 系薬剤を投与した成長期ラットにおける脛骨骨形態計測結果
(A) 骨量 (BV/TV : %)



(B) 骨周囲長 (B.Pm/T.Ar : mm/mm^2)



骨形態計測は、骨幹端近位部の Calcein マーカーから1.5 mm の領域で行った。各ポイントは、対照 (生理食塩液投与) の値を100としたときの相対値の平均値 \pm 標準誤差を示す。1 $\mu\text{gP/kg}$ の本薬はイバンドロン酸ナトリウム換算で4.78 $\mu\text{g/kg}$ に相当する。

本薬の成長期ラットにおける作用については、別の試験 (体重 170 ± 10 g) において10~10000 $\mu\text{gP/kg}$ の用量で検討した。その結果、10 $\mu\text{gP/kg}$ を超える用量では骨幹端近位部における骨量の増加の程度は小さくなる傾向がみられたが、骨幹端全体では用量に応じて増加した。骨周囲長は計測部位にかかわらず用量に応じて増加した (表 2.6.2.2.3.3-1)。10~1000 $\mu\text{gP/kg}$ の用量の本薬投与による脛骨骨幹端における骨量増加作用は、マイクロラジオグラフィーによる観察によっても確認された (2.6.2.2.4.1)。

以上の結果から、成長期ラットの脛骨骨幹端で評価した場合、本薬は検討した BP 系薬剤の中では最も強力な骨量増加作用があることが示された。

表 2.6.2.2.3.3-1 イバンドロン酸ナトリウム水和物を投与した成長期ラットにおける
脛骨骨形態計測結果

IBN の投与量 ($\mu\text{gP/kg}$)	骨量 (BV/TV ; %)		骨周囲長 (B.Pm/T.Ar ; mm/mm^2)	
	A	B	A	B
0	27.9 ± 1.12	$25.4 \pm 2.09^{\text{N}}$	18.4 ± 1.29	$16.6 \pm 0.73^{\text{N}}$
10	35.3 ± 1.79	41.6 ± 2.06	25.9 ± 0.55	27.0 ± 0.64
100	34.0 ± 1.06	44.1 ± 0.94	29.3 ± 1.16	30.6 ± 0.49
1000	31.6 ± 1.87	$46.0 \pm 1.86^{\text{N}}$	34.7 ± 0.9	$38.1 \pm 0.90^{\text{N}}$

各値は、6例 (N のみ5例) の平均値 \pm 標準誤差を示す。10000 $\mu\text{gP/kg}$ 投与群では、測定日までに全例が死亡したため、データはない。

A : 骨幹端近位部の Calcein マーカーから1.5 mm までの領域 ; B : 骨幹端全体

[4.2.1.1-13 Table 4を改変]

2.6.2.2.4 骨石灰化及び骨折修復に及ぼすイバンドロン酸ナトリウム水和物の影響

2.6.2.2.4.1 成長期ラットにおける骨への影響

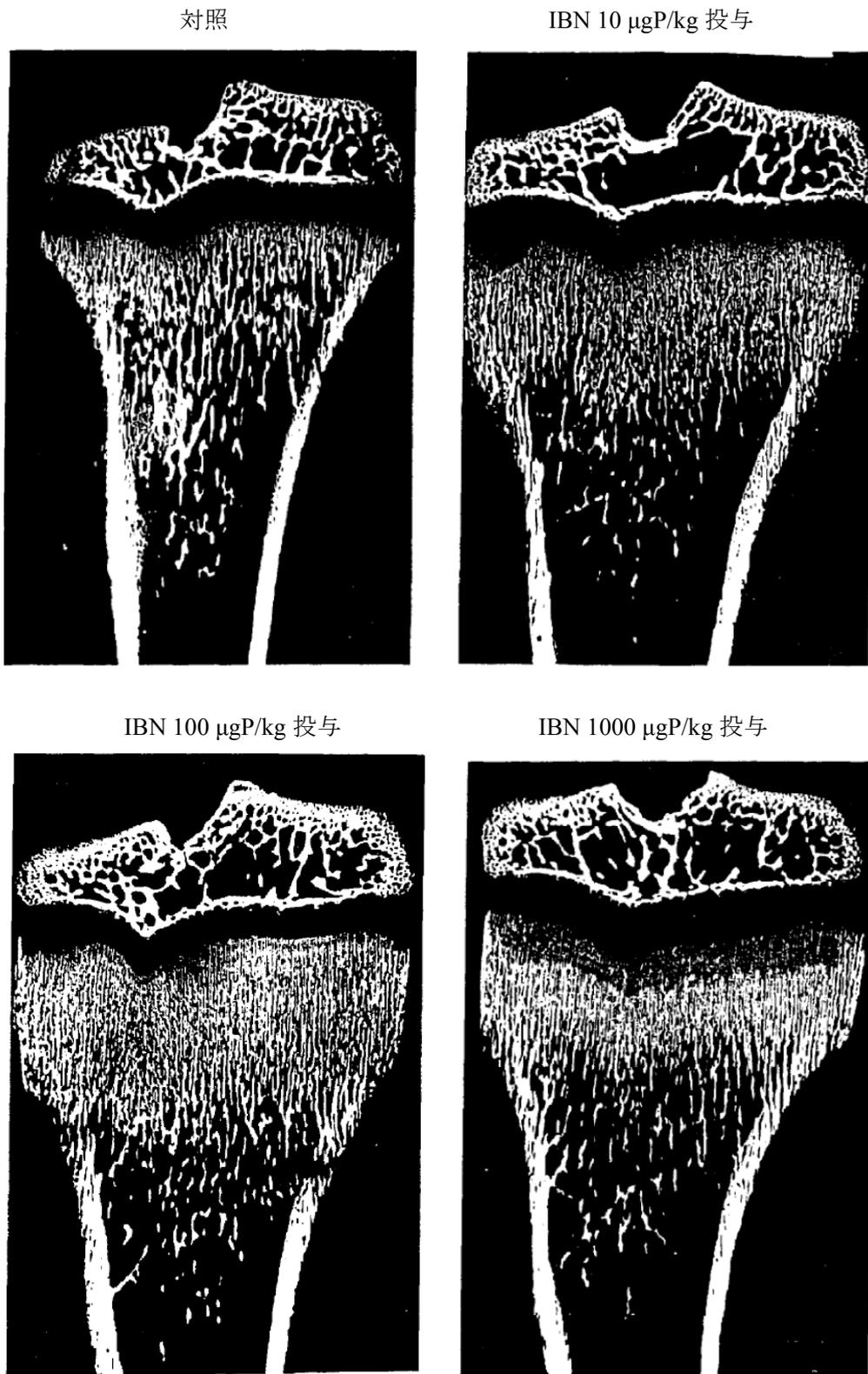
(資料番号4.2.1.1-13)

雄 Wistar ラット (体重 170 ± 10 g) に Calcein 10 mg/kg を皮下投与し、翌日から本薬10~10000 $\mu\text{gP/kg}$ (161~161000 nmol/kg) あるいは対照薬液として生理食塩液 (2 mL/kg) を7日間連日皮下投与した。これらの被験動物の脛骨骨幹端について、マイクロラジオグラフィによる観察を実施した。

その結果、本薬を投与した個体では骨幹端部の骨密度の増加が確かめられた。このうち、1000 $\mu\text{gP/kg}$ (16100 nmol/kg) を投与した個体においては成長板直下にバンド状の低石灰化組織がみられたが (図 2.6.2.2.4.1-1) , この部位の形態学的評価の結果、この変化は骨基質添加の障害に起因するものであり、石灰化の阻害によるものではないことが判明した。したがって、この結果から本試験系において1000 $\mu\text{gP/kg}$ (16100 nmol/kg) まで本薬は骨の石灰化に影響を及ぼさないことが示された。

なお、10000 $\mu\text{gP/kg}$ (161000 nmol/kg) を投与した個体は試験期間中にすべて死亡したが、これは急性毒性用量に相当する本薬の投与により、血中カルシウム濃度の低下をきたしたためであると推察された。

図 2.6.2.2.4.1-1 成長期ラットにおける脛骨骨幹端のマイクロラジオグラフィー



本薬7日間連日投与後の脛骨骨幹端のマイクロラジオグラフィーを示す。左上から時計回りに、対照群、本薬10 $\mu\text{gP/kg}$ 投与群、本薬1000 $\mu\text{gP/kg}$ 投与群及び本薬100 $\mu\text{gP/kg}$ 投与群の個体の画像を示す。10000 $\mu\text{gP/kg}$ 投与群では、測定日までに全例が死亡したため、データはない。

[4.2.1.1-13 Figure 1を改変]

2.6.2.2.4.2 骨折修復に与える本薬投与の影響

(資料番号4.2.1.1-14)

24カ月齢のビーグル犬雌雄各20匹を4群に分け、以下のスケジュールで薬剤を皮下投与した。なお、本薬投与群における総投与量は、いずれも252 $\mu\text{g}/\text{kg}$ とした。

- 生理食塩液を36週間連日投与（対照群）
- 本薬1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ を36週間連日投与（連日投与群）
- 本薬3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 1週間連日投与後に2週間の生理食塩液連日投与を1サイクルとして、これを11サイクル繰り返した後に最後に本薬3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ をもう1週間連日投与（間欠投与 A 群）
- 本薬6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 1週間連日投与後に6週間の生理食塩液連日投与を1サイクルとして、これを5サイクル繰り返した後に最後に本薬6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ をもう1週間連日投与（間欠投与 B 群）

以上の投与スケジュールを図 2.6.2.2.4.2-1に示す。

図 2.6.2.2.4.2-1 骨髄除去及び骨欠損孔作製イヌ骨折モデルにおける投与スケジュール

群	投与薬剤	投与量 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	投与スケジュール(週)																																							
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36				
対照	生理食塩液	2 (mL/kg)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○			
連日投与	IBN	1	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●		
間欠投与A	IBN	3	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
間欠投与B	IBN	6	●	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

●：各用量の本薬を連日皮下投与；○：生理食塩液を連日皮下投与
連日投与、間欠投与ともに本薬の総投与量は252 $\mu\text{g}/\text{kg}$ とした。

被験動物のうち間欠投与 A 群は27週目に、その他の群は28週目に左大腿骨の骨髄除去を行うとともに同側脛骨の骨幹端領域に直径2 mm の骨欠損孔10個を作製した。さらに経時的に骨動態を評価するために、波長の異なる各種蛍光色素を手術当日から1週間ごとに投与した。これにより、骨組織学的評価において、1週間ごとに取り込まれた異なる蛍光色素標識を指標に、1週間ごとの骨動態を評価することが可能となる。このような評価系により、骨折修復に対する本薬投与の影響を検討した。

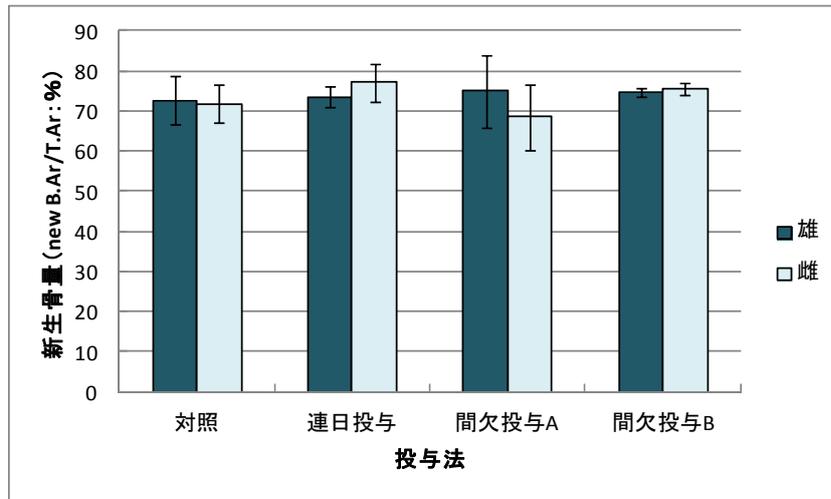
投与終了時点の骨組織学的評価において、骨欠損孔に新たに形成された骨組織像は、いずれも骨折修復時に認められる一次皮質骨の組織像に類似しており、本骨欠損モデルの骨欠損部の骨修復過程が、標準的骨折モデルの骨折治癒過程と類似していることが推察された。

骨欠損部に形成された新生骨については、組織学的形態に対照群と本薬投与群との間で違いは認められなかった。また、その新生骨量 (new B.Ar/T.Ar) も、対照群と本薬投与群との間で違いは認められなかった (図 2.6.2.2.4.2-2)。

皮質骨では破骨細胞が骨吸収を行った部位に、骨芽細胞が骨形成を行い、古い骨を新しい骨に置き換えるリモデリングが、骨単位で起きることが知られている。皮質骨組織像を観察した結果、骨髄除去を行っていない右大腿骨では、皮質骨リモデリングの指標である単位面積当たりの骨単位数に実験期間を通じて変化は認められなかった。これに対して、骨髄除去を行った左大腿骨では、骨単位数は骨髄除去後4週目から7週目まで顕著に増加し、8週目においても骨髄除去後3週間目と比較してより多くの骨単位の形成が観察された。左大腿骨に認められた骨単位形成には、対照群と本薬投与群との間で違いは認められず、骨折修復時に認められる骨単位形成に対して本薬が影響を及ぼさないことが明らかとなった (図 2.6.2.2.4.2-3)。

以上の結果から、総投与量として252 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の本薬を36週間にわたって投与した場合、本薬は投与スケジュールにかかわらず骨折修復過程には影響を与えないことが示された。

図 2.6.2.2.4.2-2 骨欠損孔における新規骨形成に及ぼすイバンドロン酸ナトリウム水和物投与の影響



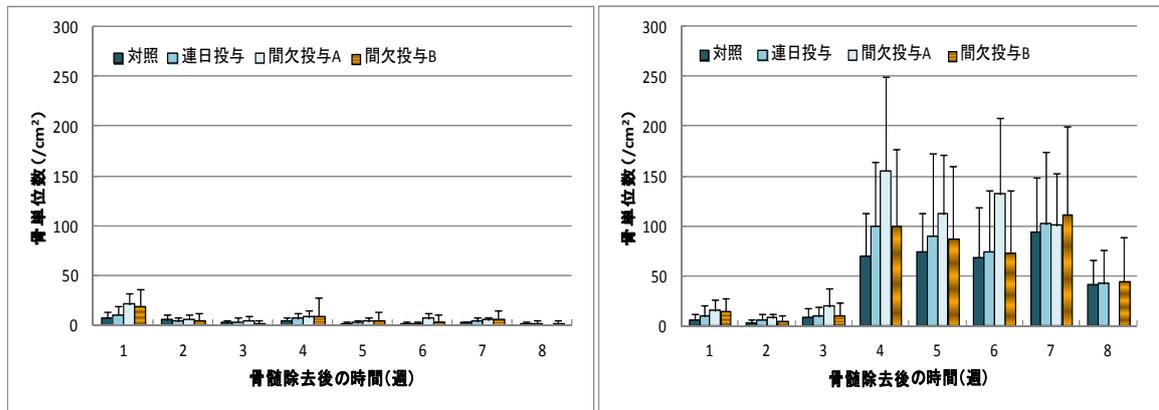
ビーグル犬に36週間（間歇投与 A 群のみ34週）にわたって総投与量として252 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の本薬を連日あるいは間欠皮下投与した。投与開始後27あるいは28週目に作製した骨欠損孔における骨形成を投与終了後に観察した。各バーは、5例（1例当たり10個の骨欠損孔を作製）の平均値 \pm 標準偏差を示す。

[4.2.1.1-14 Figure 7を改変]

図 2.6.2.2.4.2-3 骨髓除去後の新規骨形成に及ぼすイバンドロン酸ナトリウム水和物投与の影響

右大腿骨（無処置）

左大腿骨（骨髓除去）



ビーグル犬に 36 週間（間歇投与 A 群のみ 34 週）にわたって総投与量として 252 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の本薬を連日あるいは間欠皮下投与した。投与開始後 27 あるいは 28 週目に左大腿骨の骨髓除去を行い、その後に形成される骨単位の数を経時的に計測した。各バーは、10 例の平均値 \pm 標準偏差を示す。

図中には示さないが、左大腿骨における4週目以降の各群の値は、それぞれの群における第3週目の値に対して有意 ($p < 0.05$; Mann-Whitney 検定) であった。

[4.2.1.1-14 Figure 8を改変]

2.6.2.3 副次的薬理試験

該当なし

2.6.2.4 安全性薬理試験

本薬では安全性薬理試験ガイドラインの施行前に、中枢神経系、自律神経系及び平滑筋、呼吸・循環器系、消化器系、水及び電解質の代謝、体温・血糖値、サイトカイン産生に対する影響を一般薬理試験として検討した。

なお、一般薬理試験では、特に断りが無い限り本薬の重量はイバンドロン酸ナトリウム水和物換算での重量表示とした。

2.6.2.4.1 中枢神経系に及ぼす影響

(1) マウスの一般症状及び行動に対する影響 (Irwin 法)

(資料番号4.2.1.3-1)

1群6例の雌 NMRI マウスに本薬を0 (溶媒: 0.5%メチルセルロース溶液), 1, 3 mg/kg (イバンドロン酸として0, 0.89, 2.67 mg/kg) の用量で単回腹腔内投与し, Irwin の方法に準じて一般症状観察を行った。

投与1及び3時間の測定において一般症状及び行動に薬物投与の影響は認められなかった。

(2) マウスの自発運動に対する影響

(資料番号4.2.1.3-2)

1群6例の雌 NMRI マウスに本薬を0 (溶媒: 0.9%食塩液), 1, 3 mg/kg (イバンドロン酸として0, 0.89, 2.67 mg/kg) の用量で単回腹腔内投与し, 投与後4時間までの自発運動量を motility modular system にて測定した。

1 mg/kg では自発運動量に薬物投与の影響は認められなかったが, 3 mg/kg では自発運動量の減少が認められた。陽性対照であるジアゼパム及びペルピチンでは, それぞれ, 自発運動量の減少及び増加が観察された。

(3) マウスのペンテトラゾール誘発痙攣に対する影響

(資料番号4.2.1.3-3)

1群10例の雌 NMRI マウスに本薬を0 (溶媒: 0.5%メチルセルロース溶液), 1, 3 mg/kg (イバンドロン酸として0, 0.89, 2.67 mg/kg) の用量で単回腹腔内投与し, 投与後30分にペンテトラゾール (70及び84 mg/kg) を単回皮下投与して, ペンテトラゾール誘発痙攣に及ぼす影響を検討した。

いずれの用量においてもペンテトラゾール誘発痙攣に対する影響は認められなかった。陽性対照であるジアゼパム及びドプラムは, それぞれ, ペンテトラゾール誘発痙攣を抑制及び増強した。

(4) マウスのウレタン誘発麻酔作用 (睡眠) に対する影響

(資料番号4.2.1.3-4)

1群10例の雌 NMRI マウスに本薬を0 (溶媒: 0.5%メチルセルロース溶液), 3, 10 mg/kg (イバンドロン酸として0, 2.67, 8.9 mg/kg) の用量で単回腹腔内投与し, 15分後にウレタン (1.1 g/kg) を腹腔内投与して, ウレタン誘発麻酔作用 (睡眠) に及ぼす影響を検討した。

いずれの用量においてもウレタン睡眠に対する影響は認められなかった。陽性対照であるジアゼパムはウレタンの麻酔作用を増強した。

(5) マウスの痛覚に対する影響 (Writhing 法)

(資料番号4.2.1.3-5)

1群10例の雄 Swiss マウスに本薬を0 (溶媒: 0.9%食塩液), 0.01, 0.1, 1 mg/kg (イバンドロン酸として0, 0.0089, 0.089, 0.89 mg/kg) の用量で単回皮下投与し、投与後30分に0.025%のフェニル-p-ベンゾキノンを腹腔内投与して、フェニル-p-ベンゾキノンを誘発疼痛に対する影響を検討した。

いずれの用量においてもフェニル-p-ベンゾキノンを誘発疼痛に対する影響は認められなかった。陽性対照であるインドメタシンでは鎮痛効果が認められた。

2.6.2.4.2 自律神経系及び平滑筋に対する影響

(1) モルモット摘出回腸及びウサギ摘出大動脈に対する影響

(資料番号4.2.1.3-6)

モルモット摘出回腸標本に本薬を0 (溶媒: 0.9%食塩液), 10^{-6} , 10^{-5} 及び 10^{-4} mol/L の濃度で適用後、アセチルコリン (3×10^{-7} mol/L), ヒスタミン (10^{-6} mol/L) 及びセロトニン (3×10^{-6} mol/L) を添加して、平滑筋収縮に対する本薬の影響を検討した。また、ウサギ摘出大動脈に同じ濃度で本薬を適用後、ノルアドレナリン (10^{-6} mol/L) を添加して同様に検討した。非特異的な平滑筋収縮に対する影響の検討では、モルモット摘出回腸に BaCl_2 (10^{-3} mol/L) を、ウサギ摘出大動脈に KCl (3×10^{-2} mol/L) を添加した。

いずれの濃度においても、アセチルコリン、ヒスタミン、セロトニン及び BaCl_2 によって誘導されたモルモット摘出回腸の収縮並びにノルアドレナリン及び KCl によって誘導されたウサギ大動脈の収縮に薬物の影響は認められなかった。陽性対照であるアトロピン、シプロヘプタジン、ピリラミン、パパベリン、フェントラミン、ジルチアゼムは、それぞれ、アセチルコリン、セロトニン、ヒスタミン、 BaCl_2 、ノルアドレナリン及び KCl によって誘導された平滑筋の収縮を阻害した。なお、ノルアドレナリン誘導のウサギ大動脈収縮では、時間をおきながら用量を漸増した本薬群において、収縮が増強する傾向が認められた。しかし、ノルアドレナリン誘導の大動脈収縮は時間経過とともに増加する傾向にあることが、試験実施施設背景データから示されており、収縮の増加は本薬に起因したものではないと判断した。

2.6.2.4.3 呼吸・循環器系に及ぼす影響

(1) hERG 試験

(資料番号4.2.1.3-7)

hERG 遺伝子導入チャイニーズハムスター卵巣由来細胞に30 $\mu\text{mol/L}$ (イバンドロン酸として9.5 $\mu\text{g/mL}$) を添加し、hERG チャネルを通過するカリウムイオン電流を測定した。

30 $\mu\text{mol/L}$ は臨床推奨用量 (1 mg/月) 投与時の非蛋白質結合型薬物 $C_{5\text{min}}$ 値 (約30 ng/mL) のおよそ300倍に相当するが、hERG チャネルの阻害は認められなかった。陽性対照である E-4031 は hERG チャネルを阻害した。

(2) 覚醒ラットの血圧及び心拍数に対する影響

(資料番号4.2.1.3-8)

6例の雄 Wistar ラットに、0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1及び3 mg/kg (イバンドロン酸として0.0089, 0.0267, 0.089, 0.267, 0.89及び2.67 mg/kg) を15分間隔で静脈内投与し、次の用量の投与前に血圧及び心拍数を測定した。対照群 (3例) には溶媒 (0.9%食塩液) を静脈内投与して、同様に測定した。また、1群4~5例及び9例にそれぞれ0 (溶媒) 及び3 mg/kg/日で3日間皮下投与し、1日目及び3日目の投与後30, 60, 90及び120分に血圧及び心拍数を測定した。

本薬の3日間皮下投与では、3日目の投与後90分のみで心拍数の軽度の増加が認められたが、他の測定時間には増加が認められないことから、薬物関連性はないと判断した。

3 mg/kg までの漸増静脈内投与及び3 mg/kg/日の3日間皮下投与において、血圧及び心拍数に対する薬物の影響は認められなかった。

(3) 覚醒ビーグル犬の呼吸・循環器系に対する影響

(資料番号4.2.1.3-9)

雌雄ビーグル犬6例に覚醒下で0.1, 0.2及び0.7 mg/kg (イバンドロン酸として0.089, 0.18, 0.62 mg/kg) を15分間隔で静脈内投与し(累積投与量は1.0 mg/kg), 投与3時間後までの循環器系(心拍数, 血圧, 心電図)及び呼吸器系パラメータ(pH, 二酸化炭素分圧, 酸素分圧, HCO₃, 塩基過剰)に対する影響を評価した。これらのパラメータの解析には、各用量の投与後15分(次の投与前), 投与終了後30分, 1時間, 1.5時間, 2時間, 2.5時間及び3時間後に得られた値を用いた。

累積投与量1.0 mg/kg まで、心電図を含む循環器系及び呼吸器系パラメータに薬物投与の影響は認められなかった。

2.6.2.4.4 消化器系に及ぼす影響

(1) マウスの胃腸管内輸送に対する影響

(資料番号4.2.1.3-10)

1群10例(対照群は17例)の絶食雌 NMRI マウスに0(溶媒: 0.5%メチルセルロース溶液), 1, 3 mg/kg (イバンドロン酸として0, 0.89, 2.67 mg/kg) で単回腹腔内投与し, 15分後に10%炭末含有懸濁液を経口投与して, 炭末の胃腸管内移行を測定した。

いずれの用量においても、炭末の胃腸管内移行に薬物投与の影響は認められなかった。陽性対照であるアトロピンでは炭末の胃腸管内移行が抑制された。

(2) ラットの胃液分泌に対する影響

(資料番号4.2.1.3-11)

胃内にカテーテルを挿入して結紮固定した1群6~7例の雄 SD ラットに0(溶媒: 0.9%食塩液), 1 mg/kg (イバンドロン酸として0, 0.89 mg/kg) の用量で15分間持続静脈内投与し, 投与後60分間の胃内 pH を測定した。

1 mg/kg 投与後, 胃内 pH の上昇が認められたが軽度の変化であり, 胃液分泌に対する影響はないと判断された。陽性対照のシメチジン及びカルバコールは胃液分泌をそれぞれ, 抑制及び促進した。

2.6.2.4.5 水及び電解質代謝に対する影響

(資料番号4.2.1.3-12)

1群7~8例の雌ビーグル犬に0(溶媒: 5.25%グルコース溶液), 0.1, 1 mg/kg (イバンドロン酸として0, 0.089, 0.89 mg/kg) で単回静脈内投与し, 膀胱に挿入したカテーテルを通じて尿を採取し, 投与後0~2時間及び2~6時間の尿量及び尿中電解質量(Na⁺, K⁺及び Cl⁻)を測定した。

いずれの用量においても、尿量及び尿中電解質量に薬物投与の影響は認められなかった。

2.6.2.4.6 その他の機能に対する影響

(1) ウサギ体温及び血糖値に対する影響

(資料番号4.2.1.3-13)

1群6例のウサギ(対照群: 雄5例雌1例, 本薬群: 雄4例雌2例)に0(溶媒: 注射用水), 1 mg/kg (イバンドロン酸として0, 0.89 mg/kg) で持続静脈内投与し, 投与後4時間30分までの体温及び投与後4時間までの血糖値を測定した。

体温及び血糖値に薬物投与の影響は認められなかった。

(2) ヒト末梢血単核球のサイトカイン産生に対する影響

(資料番号4.2.1.3-14)

LPS 刺激した末梢血単核球を用いた試験系で、本薬のサイトカイン産生に対する影響（増強又は抑制）を検討した。

ヒト末梢血から分離した単核球を0.1～3 µg/mL（イバンドロン酸として0.089～2.67 µg/mL）の本薬存在下にて LPS で刺激し、上清中の TNFα, IL-1β, IL-1-receptor antagonist 及び IL-6 濃度を測定した。

3 µg/mL まで LPS 誘導 TNFα, IL-1β, IL-1-receptor antagonist 及び IL-6産生に影響はみられなかった。最高用量においても影響が認められなかったことから、追加実験として用量を 10 µg/mL（イバンドロン酸として8.89 µg/mL）に上げて TNFα 産生に対する影響を検討したが、TNFα 産生量に薬物の影響は認められなかった。

このように、LPS 刺激により誘導されるサイトカイン産生に対し、本薬は増強及び抑制などの作用を示さなかったが、増強作用については、LPS の刺激作用が強すぎたことによりマスクされた可能性も推察される。

陽性対照であるデキサメタゾン（2.5～600 ng/mL）では TNFα, IL-1β, IL-1-receptor antagonist 及び IL-6産生が抑制された。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当なし

2.6.2.6 考察及び結論

骨粗鬆症治療薬のうち、BP 系に属する薬剤の薬理作用は骨吸収抑制作用に基づくものであることが知られている²⁾。今回、BP 系化合物であるイバンドロン酸ナトリウム水和物の薬理学的特性を明らかにするために、効力を裏付ける試験として骨吸収抑制作用を中心とした検討を行い、併せて一般薬理試験を実施した。

本薬の骨吸収抑制作用

本薬の骨吸収抑制作用は、破骨細胞の *in vitro* 培養系及びラット高カルシウム血症モデルを用いた *in vivo* 評価系にて検討した。本薬はウサギの破骨細胞による象牙切片の吸収窩形成を検討した範囲（ 10^{-11} ～ 10^{-6} mol/L）で用量に応じて抑制した。また、レチノイド投与により TPTX ラットに誘導される高カルシウム血症を静脈内投与では0.3～30 µgP/kg の範囲で、皮下投与では0.1～10 µgP/kg の範囲で用量に応じて抑制した。これらの結果から、本薬に骨吸収抑制作用のあることが確認された。また、TPTX ラットを用いた *in vivo* 評価系においては、作用の用量依存性に加えて、静脈内投与と皮下投与では同等の作用が得られることが明らかになった。

骨粗鬆症モデル動物における効果

本薬の骨粗鬆症に対する効果は、OVX を施したラット及びサル、並びに OHX を施したイヌを用いて検討した。これらのモデル動物では OVX あるいは OHX に伴い、以下の特徴が認められた。

- ① 尿中あるいは血清骨代謝マーカーの上昇や大腿骨及び腰椎における骨単位活性化率の上昇（サル）にみられるように骨代謝回転が亢進した。
- ② 骨量の減少及び骨構造の脆弱化が認められた（ラット、サル及びイヌ）。
- ③ 骨強度が低下した（ラット及びサル）。

これらは、ヒトにおける閉経後骨粗鬆症に典型的に認められる特徴と同様である。このような特徴を有するモデル動物を用いて本薬の効果を検討した結果、本薬を投与した OVX 及び OHX 動物では、OVX あるいは OHX に伴って認められたこれらの変化が抑制された。この効果はいずれも用量に依存し、今回検討したラット、サル及びイヌの骨粗鬆症モデルを用いた予防試験においては、ラット及びイヌでは連日投与（イヌの場合は週6回投与）で1 µg/kg 以上が、サルでは30日に1回の投与で30 µg/kg 以上が有効用量であると考えられた。また、ラットの骨粗鬆症モデルを用いた治療試験においても、本薬は OVX に伴う骨量の減少、骨構造の脆弱化及び骨強度の低下を用量依存的に抑制し、この試験系における有効用量は0.2 µg/kg 以上であると考えられた。これらの試験のうち、OVX サルにおいては尿中 NTx 及び DPD の値が、また、OHX イヌにおいては腸骨の Erosion depth が上昇したが、有効用量の本薬を投与した群ではこれらの骨吸収パラメータの上昇が抑制され、骨粗鬆症モデル動物においても本薬の骨吸収抑制作用が確認された。以上の成績から、本薬が骨吸収抑制作用によりヒトの骨粗鬆症に対しても効果を発揮することが推察された。

なお、今回実施した非臨床薬効試験のうち、サルを用いた試験及び一部のラット高カルシウム血症モデルを用いた試験以外では、本薬は皮下投与で薬効を検討しており臨床における本薬の投与経路である静脈内投与とは異なるが、以下の試験成績より静脈内投与した場合であっても、皮下投与の場合と同様の成績が得られるものと考えられる。

- ① 投与経路と効果の関係については、ラット高カルシウム血症モデルにおいて検討しており、静脈内投与と皮下投与では同等の作用が得られている〔2.6.2.2.1.2 (1)〕。
- ② 薬物動態試験において、皮下投与の生物学的利用率が106%という結果が得られている(2.6.4.3.2.1)。

間欠投与の効果

本薬の骨粗鬆症モデル動物を用いた薬効試験のうち、OVX ラットにおける予防試験及び治療試験、並びに OVX サルにおける予防試験では、本薬は間欠投与によっても効果のあることが示された。このうち OVX ラットを用いた試験では、投与量及び投与間隔と効果に関して、総投与量が同じであれば1回の投与量及び投与間隔に関係なく同様の効果が得られるという成績が得られた。この総投与量が重要であるという本薬の作用特性は、本薬の骨吸収抑制作用を検討したラット高カルシウム血症モデルを用いた *in vivo* 評価の結果からも示唆された。これらの結果は、効果を得るためには本薬は必ずしも連日投与する必要がないことを示しており、本薬の臨床使用において月1回の投与によっても骨粗鬆症に対する効果が得られることを支持するものである。

骨質に及ぼす影響

ミニブタにフッ化ナトリウムを投与した試験において、骨量は増加するものの骨強度が増大しなかったことが報告されており³⁾、現在では骨強度を規定する要素として、骨密度に加えて骨質の概念が導入されている。このうち骨質については、骨構造や骨の材質が主要な要素であると考えられているが、骨強度を測定することのできる動物実験では骨密度と骨強度の相関をみることで薬物の骨質に与える影響を推定できる。今回実施した試験のうちでは、ラット治療試験〔2.6.2.2.2.1 (2)〕及びサル予防試験(2.6.2.2.2.2)において骨密度と骨強度を測定している。これらの試験では本薬の投与により骨密度及び骨強度の用量依存的な増大が認められており、更に骨密度と骨強度の間には正の相関関係が認められた。これらの結果より、本薬は骨質を劣化させることなく骨量を増加させることが示唆された。本薬投与に伴い、3種類の骨粗鬆症モデル動物において、骨量の増加とともに骨構造の脆弱性を示す指標（海綿骨における骨梁数及び骨梁幅の減少、並びに骨梁間隔、SMI 及び TBPf の増大など）が改善することが確認されており、これら骨質に関わる指標の改善が骨密度の増加とともに骨強度の増大に寄与しているものと考えられる。

正常動物に対する作用

正常動物を用いた試験では、老齢、成熟及び成長期のラットに対する本薬投与の作用を検討した。成長期ラットを用いた試験よりも試験期間が長期にわたった老齢及び成熟ラットにおける試験では、対照群の骨量は試験期間中に減少したが、これらの動物に本薬を投与した結果、骨量の増加が認められた。また、成長期ラットにおける試験においても、本薬の投与により用量に応じた骨量の増加が認められた。これらの結果は、OVXにより骨代謝回転が亢進した場合でなくとも、本薬の骨吸収抑制作用により骨量が増加することを示している。老齢ラットにおいては本薬の骨量増加作用は20週間の投与期間終了時点ではみられず、その後の20週間の回復期間終了時において、3 µg/kg以上の用量で有意な骨量増加が認められた。このときの有効用量は大腿骨で1 µg/kg以上、脛骨では3 µg/kg以上であった。一方、投与期間がほぼ同じであるOVXラットを用いた予防試験では、本薬の効果は投与終了時点で認められており、この場合の有効用量は大腿骨、脛骨ともに1 µg/kg以上であった。すなわち、老齢ラットにおいては本薬の効果が発現するためにはより高い用量あるいはより長い時間がかかる傾向にある。これは、老齢の正常動物では骨代謝回転は高くない状態であることを反映したものと推察される。

骨の石灰化及び骨折修復に及ぼす影響

現在臨床で使用されているBP系薬剤の中には骨石灰化抑制作用の大きなものもあり、そのような薬剤では臨床における投与期間が制限されている⁴⁾。このような薬剤では、非臨床においては成長期ラットの骨の伸長を抑制することが報告されている⁵⁾。本薬の骨石灰化に対する作用は成長期ラットを用いた試験で検討し、1000 µgP/kg (4780 µg/kg)の用量でも骨の石灰化には影響を与えないという結果が得られた(2.6.2.2.4.1)。OHXイヌにおいても有効用量の100倍までの用量(100 µg/kg)では骨の石灰化を抑制する所見は得られなかった〔2.6.2.2.2.3(3)〕。

また、骨石灰化の抑制は骨折の修復過程にも影響を及ぼすことが考えられることから、正常ビーグル犬における骨欠損孔及び骨髄除去の評価系により検討した。その結果、イヌ骨粗鬆症モデルにおける本薬の有効用量(1 µg/kg)では、骨折修復過程に影響を与えないことも確認された(2.6.2.2.4.2)。

以上の成績から、本薬の臨床使用に際して石灰化阻害作用に基づく副作用が出現する可能性は低いものと推察される。

安全性薬理試験

本薬の中樞神経系、自律神経系及び平滑筋、呼吸・循環器系、消化器系、水及び電解質代謝、体温・血糖値、末梢血単核球のサイトカイン産生に対する影響を、一般薬理試験を実施して評価した。3 mg/kgをマウスに単回腹腔内投与したときに自発運動量の減少が認められた以外、これらの試験では薬物投与に関連する影響はみられなかった。中樞神経系への影響は、Irwin法、ペンテトラゾール誘発痙攣モデル、ウレタン誘発麻酔モデル及びフェニル-p-ベンゾキノ誘発痛覚モデルにおいて、3 mg/kg又は10 mg/kgまでの用量を単回腹腔内投与あるいは1 mg/kgを単回皮下投与して検討されているが、薬物投与の影響は認められなかった。また、マウス単回静脈内投与毒性試験(2.6.6.2.1)においても20 mg/kgまで一般症状に影響は認められなかった。これらの結果からは、本薬が中樞神経系に対する影響を有する可能性は低いと考えられた。

一般薬理試験では血中濃度測定は実施していないが、毒性試験の成績及び毒性試験で得られた曝露量を外挿して、中樞神経系、呼吸・循環器系、消化器系並びに水及び電解質代謝に及ぼす影響の安全域を算出したところ、以下に示すように少なくとも15倍以上あった。なお、安全域の算出にあたっては動物における曝露量($C_{0.05h}/C_{0.0167h}$, AUC_{0-24h})と日本人に臨床推奨用量投与したときの曝露量(C_{5min} (186.2 ng/mL), AUC_{inf} (239.9 ng·h/mL)) (MF9853 試験)

を比較した。

- ① 中枢神経系に対する影響：反復静脈内投与毒性試験ではラット及びイヌとも2.7 mg/kg まで一般症状に中枢神経系に対する作用を示唆する変化は認められておらず、ラット及びイヌの6 カ月間静脈内投与試験（高用量試験）における安全域は、ラットで15倍以上、イヌで約80倍であった。
- ② 呼吸・循環器系に対する影響：ラット及びイヌの6カ月間静脈内投与試験（高用量試験）の曝露量を外挿すると、一般薬理試験においてラットで作用の認められなかった3 mg/kg の安全域は15倍以上、イヌで作用が認められなかった累積投与量1 mg/kg の安全域は20倍以上と推察された。
- ③ 消化器系に対する影響：反復静脈内投与毒性試験ではラット及びイヌとも2.7 mg/kg まで消化管に対する作用は認められておらず、ラット及びイヌの6カ月間静脈内投与試験（高用量試験）における安全域はラットで15倍以上、イヌで約80倍であった。
- ④ 水及び電解質代謝に及ぼす影響：イヌ6カ月間静脈内投与試験（高用量試験）の0.9 mg/kg 投与時の曝露量を外挿すると、一般薬理試験で作用の認められなかった1 mg/kg の安全域はおよそ20倍以上と推察された。

以上、実施した一般薬理試験及び毒性試験の成績を総合的に評価すると、本薬の臨床推奨用量（1 mg/月1回）での使用において、臨床上一問題となる副作用の発現の可能性は低いと推察された。

今回実施した効力を裏付ける試験の結果から、本薬は強力な骨吸収抑制作用を有し、その作用は既存の BP 系薬剤と比較して同等かより強いこと、また、間欠投与によっても効果を発揮できることが明らかとなった。本薬には、骨の石灰化抑制等の BP 系薬剤に危惧される副作用はなく、また、一般薬理試験では生理機能に対する影響は認められなかったことから、間欠投与が可能な骨粗鬆症治療薬としての有用性が期待される。

2.6.2.7 図表

図表は本文中に挿入した。

2.6.2.8 参考文献

- 1) Trechsel U, Stutzer A, Fleisch H. Hypercalcemia induced with an arotinoid in thyroparathyroidectomized rats new model to study bone resorption *in vivo*. J Clin Invest 1987;80:1679-86.
- 2) Roelofs AJ, Thompson K, Ebetino FH, Rogers MJ, Coxon FP. Bisphosphonates: molecular mechanisms of action and effects on bone cells, monocytes and macrophages. Curr Pharm Des 2010;16:2950-60.
- 3) Lafage M-H, Balena R, Battle MA, Shea M, Seedor JG, Klein H, et al. Comparison of alendronate and sodium fluoride effects on cancellous and cortical bone in minipigs a one-year study. J Clin Invest 1995;95:2127-33.
- 4) ダイドロネル錠200：大日本住友製薬株式会社．添付文書．2011年11月改訂（第16版）．
- 5) Miller SC, Jee WSS. The comparative effects of dichloromethylene diphosphonate (Cl₂MDP) and ethane-1-hydroxy-1,1- diphosphonate (EHDP) on growth and modeling of the rat tibia. Calcif Tiss Res 1977;23:207-14.

ボンビバ静注1mg シリンジ
(イバンドロン酸ナトリウム水和物)
[骨粗鬆症]

第2部 (モジュール 2)

CTD の概要 (サマリー)

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.3 薬理試験概要表

中外製薬株式会社

略語一覧

略語	英名	和名
BE	Base excess	塩基過剰
BMD	Bone mineral density	骨密度
CHO cells	Chinese hamster ovary cells	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞
ED ₅₀	50% effective dose	50%有効用量
ED ₁₀₀	100% effective dose	100%有効用量
GLP	Good laboratory practice	医薬品の安全性試験の実施に関する基準
HCO ₃	Bicarbonate concentration	重炭酸濃度
hERG	Human ether-a-go-go related gene	-
IL-1ra	Interleukin-1 receptor antagonist	インターロイキン-1受容体アンタゴニスト
IL-1 β	Interleukin-1 β	インターロイキン-1ベータ
IL-6	Interleukin-6	インターロイキン-6
i.p.	Intraperitoneal	腹腔内
i.v.	Intravenous	静脈内
LPS	Lipopolysaccharide	リポ多糖
NR	Not required	必要なし
NS	Not specified	特定されていない
OC	Osteoclast	破骨細胞
OHX	Ovariohysterectomy	卵巣・子宮摘除
OVX	Ovariectomy	卵巣摘除
pCO ₂	Carbon dioxide partial pressure	二酸化炭素分圧
pO ₂	Oxygen partial pressure	酸素分圧
s.c.	Subcutaneous	皮下
TNF- α	Tumor necrosis factor- α	腫瘍壊死因子アルファ
TPTX	Thyroparathyroidectomy	甲状腺・副甲状腺摘除

目次

	頁
2.6.3 薬理試験の概要表.....	4
2.6.3.1 薬理試験一覧表.....	4
2.6.3.2 効力を裏付ける試験.....	7
2.6.3.3 副次的薬理試験.....	12
2.6.3.4 安全性薬理試験.....	13
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験.....	17

2.6.3 薬理試験の概要表

2.6.3.1 薬理試験一覧表

表 2.6.3.1-1 薬理試験一覧表

				Test Article:	Ibandronate
Test System / Type of Study	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD	
Primary Pharmacodynamics					
OC from rabbits <i>In vitro</i> studies	<i>in vitro</i>	██████████, Japan	D24	4.2.1.1-1	
Rat, TPTX male Wistar Bone resorption in retinoid-induced hypercalcemia	i.v., s.c.	Boehringer Mannheim GmbH, Germany	D3	4.2.1.1-2	
Rat, TPTX male Wistar Bone resorption in retinoid-induced hypercalcemia	s.c.	Boehringer Mannheim GmbH, Germany	D1	4.2.1.1-3	
Rat, OVX female Wistar Estrogen-deficiency bone loss	s.c.	Boehringer Mannheim GmbH, Germany	D14	4.2.1.1-4	
Rat, OVX female Wistar Estrogen-deficiency bone loss	s.c.	Boehringer Mannheim GmbH, Germany	D15	4.2.1.1-5	
Rat, OVX female Wistar Estrogen-deficiency bone loss	s.c.	Boehringer Mannheim GmbH, Germany	D25	4.2.1.1-6	
Rat, OVX female Wistar Estrogen-deficiency bone loss	s.c.	Boehringer Mannheim GmbH, Germany	D27	4.2.1.1-7	

表 2.6.3.1-1 薬理試験一覧表 (続)

				Test Article:	Ibandronate
Test System / Type of Study	Method of Administration	Testing Facility	Study Number	Location in CTD	
Primary Pharmacodynamics					
Monkey, OVX female Cynomolgus Estrogen-deficiency bone loss	i.v.	[REDACTED] Canada	D30	4.2.1.1-8	
Monkey, OVX female Cynomolgus Estrogen-deficiency bone loss	i.v.	[REDACTED] USA	D31	4.2.1.1-9	
Dog, OHX female beagle Estrogen-deficiency bone loss	s.c.	[REDACTED] USA	D9	4.2.1.1-10	
Rat, female Wistar, retired breeder Non-stimulated bone turnover	s.c.	Boehringer Mannheim GmbH, Germany	D28	4.2.1.1-11	
Rat, female Wistar Non-stimulated bone turnover	s.c.	Boehringer Mannheim GmbH, Germany	D29	4.2.1.1-12	
Rat, male Wistar Non-stimulated bone turnover	s.c.	[REDACTED] Switzerland	D8	4.2.1.1-13	
Dog, male and female beagle Non-stimulated bone turnover	s.c.	Boehringer Mannheim GmbH, Germany	D12	4.2.1.1-14	

表 2.6.3.1-1 藥理試驗一覽表 (續)

							Test Article:	Ibandronate
Organ Systems Evaluated	Species/Strain	Method of Admin.	Testing Facility	GLP Compliance	Study Number	Location in CTD		
General Pharmacology								
Central Nervous System	Mouse, NMRI	i.p.	BM	NR	E2	4.2.1.3-1		
	Mouse, NMRI	i.p.	BM	NR	E6	4.2.1.3-2		
	Mouse, conscious NMRI	i.p.	BM	NR	E7	4.2.1.3-3		
	Mouse, anesthetized (urethane) NMRI	i.p.	BM	NR	E10	4.2.1.3-4		
	Mouse, Swiss	s.c.	████	YES	E16	4.2.1.3-5		
Autonomic Nervous System and Smooth Muscle	Guinea-pig, isolated ileum	<i>In vitro</i>	████	YES	E17	4.2.1.3-6		
	Rabbit, isolated aorta							
Cardiovascular System	hERG K ⁺ channel, expressed in CHO cells	<i>In vitro</i>	R	NR	1006141	4.2.1.3-7		
	Rat, conscious, normotensive Wistar	i.v., s.c.	BM	NR	E12	4.2.1.3-8		
	Dog, conscious beagle	i.v.	BM	NR	E5	4.2.1.3-9		
Gastrointestinal System	Mouse, NMRI	i.p.	BM	NR	E1	4.2.1.3-10		
	Rat, anesthetized Sprague-Dawley	i.v.	BM	NR	E4	4.2.1.3-11		
Renal Function	Dog, conscious, episiotomized beagle	i.v.	BM	NR	E8	4.2.1.3-12		
Other Investigations	Rabbit	i.v.	BM	NR	E9	4.2.1.3-13		
	Peripheral human leukocyte	<i>In vitro</i>	BM	NR	E15	4.2.1.3-14		

BM:Boehringer Mannheim GmbH, Germany; █████: █████, France; R: F. Hoffmann-La Roche Ltd., Switzerland.

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

表 2.6.3.2-1 効力を裏付ける試験

Species/Sex/Model	Test Article (Batch No.)	Route	Dose/Administration/Duration	Results	Test Article:	Ibandronate
					GLP Status	Location in CTD
<i>In vitro</i> studies						
OC from rabbits	ibandronate (██████)	<i>in vitro</i>	10 ⁻¹¹ to 10 ⁻⁶ mol/L	Pit formation on ivory slices by osteoclasts isolated from rabbit bone was inhibited in the presence of Ibandronate. Ibandronate also inhibited osteoclastic pit formation on ivory slices concentration-dependently in pre-treated cells.	NR	4.2.1.1-1
Bone resorption in retinoid-induced hypercalcemia						
Rat, TPTX male Wistar	ibandronate (██████)	i.v.	0.3 to 100 µg P/kg (1.5 to 500 µg/kg) ^a ; single dose	Ibandronate inhibited retinoid-induced hypercalcemia in a dose-dependent manner after a single i.v. or single and triple s.c. doses. At ED ₅₀ , the cumulative s.c. dose given over 3 consecutive days produced inhibition of hypercalcemia that was comparable to that produced by a three-fold higher single s.c. dose. In the overlapping dose range, s.c. and i.v. administration yielded comparable results.	NR	4.2.1.1-2
		s.c.	0.1 to 10 µg P/kg (0.5 to 50 µg/kg) ^a ; single dose 0.3 to 10 µg P/kg (1.5 to 50 µg/kg) ^a ; 3 consecutive days			
Rat, TPTX male Wistar	ibandronate (NS)	s.c.	ibandronate: 0.3 to 100 µg P/kg (1.5 to 500 µg/kg) ^a clodronate: 100 to 10000 µg P/kg pamidronate: 10 to 1000 µg P/kg alendronate: 3 to 100 µg P/kg; all doses given daily for 3 consecutive days	Ibandronate inhibited retinoid-induced hypercalcemia in a dose-dependent manner. At ED ₁₀₀ , ibandronate was approximately 500 times more potent than clodronate, 50 times more potent than pamidronate, and 10 times more potent than alendronate. ED ₅₀ data gave similar potency results. ED ₁₀₀ and ED ₅₀ levels for ibandronate were 2 and 0.7 µg P/kg, respectively.	NR	4.2.1.1-3

a: Doses expressed as the free acid equivalent

表 2.6.3.2-1 効力を裏付ける試験 (続)

Species/Sex/Model	Test Article (Batch No.)	Route	Dose/Administration/Duration	Results	Test Article: Ibandronate	
					GLP Status	Location in CTD
Estrogen-deficiency bone loss						
Rat, OVX female Wistar	ibandronate (██████)	s.c.	0.1 to 30 µg/kg ^a daily for 20 wk (140 days) with a 5-times higher loading dose on the first day; plus 2 additional groups (0.3 and 1 µg/kg ^a) without initial loading dose	Ibandronate dose-dependently prevented bone loss and changes in bone architecture following cessation of ovarian function; the optimal dose was 1 µg/kg/day. Results are equivalent regardless of whether a loading dose was applied or not.	NR	4.2.1.1-4
Rat, OVX female Wistar	ibandronate (██████)	s.c.	1 µg/kg ^a daily for 22 wk or 2.75 µg/kg/day ^a for 1 wk followed by 2 wk saline cycle for 22 wk or 4.4 µg/kg/day ^a for 1 wk followed by 4 wk saline cycle for 22 wk or 5.5 µg/kg/day ^a for 1 wk followed by 6 wk saline cycle for 22 wk. Identical regimens also with 1/10 of all doses mentioned	The optimal dose of ibandronate (1 µg/kg/day) prevented the OVX-induced bone loss and changes in bone architecture optimally irrespective of the administration schedule, at least up to the 1-4 cycles. The sub-optimal dose revealed sub-optimal results, which were equivalent within all treatment schedules. Within 2-3 sigma cycles, the total dose seems to be important for efficacy rather than the treatment schedule.	NR	4.2.1.1-5

a: Doses expressed as the free acid equivalent

表 2.6.3.2-1 効力を裏付ける試験 (続)

Species/Sex/Model	Test Article (Batch No.)	Route	Dose/Administration/Duration	Results	Test Article:	Ibandronate
					GLP Status	Location in CTD
Estrogen-deficiency bone loss (Cont.)						
Rat, OVX female Wistar	ibandronate (██████)	s.c.	0.2, 1, 5, 25 µg/kg/day ^a ; 25 and 125 µg/kg ^a every 25 days for 12 mo, starting 10 wk after OVX.	Significant cancellous bone loss ($p \leq 0.0001$) was present prior to treatment initiation. Ibandronate dose-dependently prevented further bone loss and architectural changes. The optimal dose ranges between 0.2 and 1 µg/kg/day in femurs, tibias and lumbar vertebrae. Same total dose produced equivalent results irrespective of treatment schedule.	NR	4.2.1.1-6
Rat, OVX female Wistar	ibandronate (██████)	s.c.	0.2, 1, 5, 25 µg/kg/day ^a ; 25 and 125 µg/kg ^a every 25 days for 12 mo, starting 10 wk after OVX.	Reductions in 3-point bending strength (femur) and compression strength (lumbar vertebrae) regarding ultimate load to failure, stress, and yield load were observed in the OVX control. Ibandronate prevented reduction in bone strength dose-dependently. Same total dose gave equivalent results, irrespective of treatment schedule. Correlation between bone strength and BMD was observed for femur and lumbar vertebrae with a correlation coefficient being 0.61 and 0.88, respectively.	NR	4.2.1.1-7

a: Doses expressed as the free acid equivalent

表 2.6.3.2-1 効力を裏付ける試験 (続)

Species/Sex/Model	Test Article (Batch No.)	Route	Dose/Administration/Duration	Results	Test Article:	Ibandronate
					GLP Status	Location in CTD
Estrogen-deficiency bone loss (Cont.)						
Monkey, OVX female cynomolgus	ibandronate (██████████)	i.v.	10, 30, 150 µg/kg ^a every 30 days for 16 mo	Ibandronate inhibited bone loss dose-dependently with the optimal dose being 30 µg/kg. OVX-dependent increased bone turnover, and increased bone resorption and formation markers, were prevented. Bone quality was normal regarding coupling, turnover, bone structure and bio- mechanical properties of cancellous bone, with a somewhat lesser effect for cortical bone. Higher dose (150 µg/kg) had no adverse effects but increased bone mass and strength. Lower dose (10 µg/kg) revealed sub-optimal effects with only partial prevention of bone loss. Correlation between bone strength and BMD was observed for femur, lumbar vertebrae and ulna.	NR	4.2.1.1-8
Monkey, OVX female cynomolgus	ibandronate (██████████)	i.v.	10, 30, 150 µg/kg ^a every 30 days for 16 mo	Ibandronate inhibited OVX-dependent deteriorations in trabecular bone structure of lumbar vertebra L1 dose-dependently with the optimal dose being 30 µg/kg. Micro-tomographical analyses for bone structural properties revealed OVX-induced increased trabecular bone pattern factor, a measure of trabecular connectivity, and in the structural model index, which is a quantitative index of the underlying bone structure type (plate- or rod-like model). These parameters of 30 and 150 µg/kg dose groups were not different from the Sham group.	NR	4.2.1.1-9
Dog, OHX female beagle	ibandronate (██████████)	s.c.	0.1 to 100 µg/kg ^a given on 6 of 7 days per wk for 4 wk with a 5- times higher loading dose on the first day	Ibandronate at doses ≥ 1 µg/kg/day prevented bone turnover following cessation of ovarian function in OHX females and had a beneficial effect on bone volume without depressing bone turnover and mineralization.	NR	4.2.1.1-10

a: Doses expressed as the free acid equivalent

表 2.6.3.2-1 効力を裏付ける試験 (続)

Species/Sex/Model	Test Article (Batch No.)	Route	Dose/Administration/Duration	Results	Test Article: Ibandronate	
					GLP Status	Location in CTD
Non-stimulated bone turnover						
Rat, female Wistar, retired breeder	ibandronate (██████)	s.c.	1 to 30 µg/kg/day ^a for 20 wk with or without a 20 wk recovery period	Ibandronate caused a dose-dependent increase in femoral BMD and cancellous bone volume in tibia during the recovery period of 20 wk.	NR	4.2.1.1-11
Rat, female Wistar	ibandronate (██████) alendronate (██████)	s.c.	30 µg/kg/day ^a of ibandronate; 300 µg/kg/day ^a of alendronate for 20 wk	Ibandronate and alendronate significantly increased total and trabecular bone mass when compared to age-matched controls. Age-dependent bone loss was prevented when compared to baseline controls. Results from both bisphosphonates were equivalent.	NR	4.2.1.1-12
Rat, male Wistar	ibandronate (██████)	s.c.	ibandronate: 0.3 to 10000 µg P/kg ^b alendronate: 1 to 100 µg P/kg pamidronate: 10 to 100 µg P/kg clodronate: 100 to 10000 µg P/kg; all doses given daily for 7 days	Ibandronate was the most potent of the bisphosphonates in terms of inhibition of bone resorption. At the 120% level of bone volume, ibandronate was 10, 100, and 600 times more potent than alendronate, pamidronate, and clodronate, respectively. No inhibition of mineralization was observed.	NR	4.2.1.1-13
Dog, male and female beagle	ibandronate (██████)	s.c.	1 µg/kg/day ^a for 36 wk or 3 µg/kg/day ^a for 1 wk followed by 2 wk saline cycle for 34 wk or 6 µg/kg/day ^a for 1 wk followed by 6 wk saline cycle for 36 wk	Healing of the drill hole defects which simulates the first stage of fracture healing as well as the subsequent occurring internal remodeling of bone simulating the later stage of fracture healing was neither qualitatively nor quantitatively influenced by the different treatment schedules of ibandronate.	NR	4.2.1.1-14

a: Doses expressed as the free acid equivalent

b: Animals of 10000 µg P/kg dose group died before completion of administration and the data of this group were not available.

2.6.3.3 副次的薬理試験

該当なし

2. 6. 3. 4 安全性薬理試験

表 2. 6. 3. 4-1 一般薬理試験

Species/Sex/Model	Test Article (Batch No.)	Route	Dose/Administration/Duration	Results	Test Article:	Ibandronate
					GLP Status	Location in CTD
Central Nervous System						
Mouse, female NMRI	ibandronate (████████)	i.p.	1 and 3 ^a (0.89 and 2.67 ^b) mg/kg; single dose	Ibandronate was negative in the Irwin behavioral test.	NR	4.2.1.3-1
Mouse, female NMRI	ibandronate (████████)	i.p.	ibandronate: 1 and 3 ^a (0.89 and 2.67 ^b) mg/kg diazepam: 2 mg/kg (p.o.) pervitin: 2 mg/kg (p.o.); single dose	Ibandronate had no effect on spontaneous locomotor activity at 1 mg/kg. At 3 mg/kg, ibandronate caused decreased motility comparable to that caused by 2 mg/kg of diazepam. Motility was potentiated by pervitin.	NR	4.2.1.3-2
Mouse, conscious female NMRI	ibandronate (████████)	i.p.	ibandronate: 1 and 3 ^a (0.89 and 2.67 ^b) mg/kg diazepam: 2 mg/kg Dopram [®] : 100 mg/kg; single dose	Ibandronate had no effect on pentetrazole-induced cramps. In comparison, diazepam almost completely inhibited cramps and Dopram [®] almost doubled the intensity of cramps.	NR	4.2.1.3-3
Mouse, anesthetized (urethane) female NMRI	ibandronate (████████)	i.p.	ibandronate: 3 and 10 ^a (2.67 and 8.9 ^b) mg/kg diazepam: 2 mg/kg; single dose	Ibandronate did not potentiate the anesthetic effect of urethane, whereas diazepam resulted in 80% potentiation of the anesthetic effect.	NR	4.2.1.3-4
Mouse, male Swiss	ibandronate (████████)	s.c.	ibandronate: 0.01, 0.1, and 1 ^a (0.0089, 0.089, and 0.89 ^b) single dose indomethacin: 3 mg/kg single dose	Ibandronate had no effect in the phenyl-p-benzoquinone writhing test in the mouse while indomethacin had a marked analgesic effect characterized by a decrease in the number of writhing responses.	YES	4.2.1.3-5

a: Doses expressed as the weighed drug substance

b: Doses expressed as the free acid equivalent

表 2.6.3.4-1 一般薬理試験 (続)

Species/Sex/Model	Test Article (Batch No.)	Route	Dose/Administration/Duration	Results	Test Article:	Ibandronate
					GLP Status	Location in CTD
Autonomic Nervous System and Smooth Muscle						
Isolated ileum, male guinea-pig, Hartley; isolated aorta rings, male rabbit, New Zealand White	ibandronate (████████)	<i>In vitro</i>	10 ⁻⁶ to 10 ⁻⁴ mol/L ibandronate 3x10 ⁻⁷ mol/L acetylcholine 3x10 ⁻⁶ mol/L serotonin 10 ⁻⁶ mol/L histamine 10 ⁻³ mol/L barium chloride 10 ⁻⁶ mol/L noradrenaline 3x10 ⁻² mol/L KCl 10 ⁻⁷ mol/L atropine 10 ⁻⁵ mol/L cyproheptadine 10 ⁻⁷ mol/L pyrilamine 10 ⁻⁴ mol/L papaverine 10 ⁻⁶ mol/L phentolamine 10 ⁻⁴ mol/L diltiazem	Ibandronate caused no effects on contractions induced by acetylcholine, serotonin, histamine, or barium chloride on isolated ileum or by noradrenaline on the isolated aorta and on KCl-pre-contracted aorta rings. Under the same experimental conditions, the method-control substances atropine, cyproheptadine, pyrilamine, papaverine, phentolamine, diltiazem inhibited, as expected, the contractions induced by the above mentioned substances, or induced a relaxant effect on KCl-pre-contracted aorta.	YES	4.2.1.3-6
Cardiovascular System						
hERG K ⁺ channel, expressed in CHO cells	ibandronate (████████)	<i>In vitro</i>	30 μmol/L ibandronate, and 10 μmol/L of E-4031 (hERG K ⁺ channel blocker, used as a positive control)	Ibandronate, tested for its pro-arrhythmic potential in the hERG K ⁺ channel assay at a concentration of 30 μmol/L had no influence on inward and outward K ⁺ currents.	NR	4.2.1.3-7
Rat, conscious, normotensive male Wistar	ibandronate (████████)	i.v.	0.01 to 3 ^a (0.0089 to 2.67 ^b) mg/kg in increasing doses at 15-min intervals	Ibandronate had no effect on blood pressure or heart rate when administered by i.v. or s.c. routes.	NR	4.2.1.3-8
		s.c.	3 ^a (2.67 ^b) mg/kg; single dose daily for 3 consecutive days			

a: Doses expressed as the weighed drug substance

b: Doses expressed as the free acid equivalent

表 2.6.3.4-1 一般薬理試験 (続)

Species/Sex/Model	Test Article (Batch No.)	Route	Dose/Administration/Duration	Results	Test Article:	Ibandronate
					GLP Status	Location in CTD
Cardiovascular System (Cont.)						
Dog, conscious beagle	ibandronate (████████)	i.v.	Cumulative dose of 1 ^a (0.89 ^b) mg/kg (0.1, 0.2, and 0.7 mg/kg ^a , 0.089, 0.18 and 0.62 mg/kg ^b) given at 15-min intervals)	Protracted administration of ibandronate had no effect on hemodynamic parameters (blood pressure, heart rate, and ECG) or blood chemistry parameters indicative of respiratory function (pH, pCO ₂ , pO ₂ , HCO ₃ , and BE).	NR	4.2.1.3-9
Gastrointestinal System						
Mouse, female NMRI	ibandronate (████████)	i.p.	ibandronate: 1 and 3 ^a (0.89 and 2.67 ^b) mg/kg atropine: 2 mg/kg; single dose	Ibandronate had no effect on intestinal motility, whereas atropine decreased.	NR	4.2.1.3-10
Rat, anesthetized male Sprague-Dawley	ibandronate (████████)	i.v.	ibandronate: 1 ^a (0.89 ^b) mg/kg cimetidine: 8 mg/kg carbachol: 9 µg/kg; single 15-min infusion	Ibandronate had no effect on gastric acid secretion. The production of gastric acid was promoted by carbachol and reduced by cimetidine.	NR	4.2.1.3-11
Renal Function						
Dog, conscious, episiotomized female beagle	ibandronate (████████)	i.v.	0.1 and 1 ^a (0.089 and 0.89 ^b) mg/kg; single dose	Ibandronate had no effect on urine volume, electrolyte excretion, or Na ⁺ /K ⁺ ratio.	NR	4.2.1.3-12

a: Doses expressed as the weighed drug substance

b: Doses expressed as the free acid equivalent

表 2.6.3.4-1 一般薬理試験 (続)

Species/Sex/Model	Test Article (Batch No.)	Route	Dose/Administration/Duration	Results	Test Article:	Ibandronate
					GLP Status	Location in CTD
Other Investigations						
Rabbit, conscious	ibandronate (██████)	i.v.	1 ^a (0.89 ^b) mg/kg via infusion pump (1 ^a (0.89 ^b) mg/mL; 0.5 mL/min)	Ibandronate had no effect on body temperature or blood glucose concentration.	NR	4.2.1.3-13
Peripheral human leukocytes, enzyme immunoassay	ibandronate (██████) clodronate alendronate pamidronate	<i>In vitro</i>	0.0001 to 0.01 (0.000089 to 0.0089 ^b) mg/mL	None of the bisphosphonates at concentration from 0.0001 to 0.003 mg/mL had no effect on the synthesis of TNF α , IL-1 β , IL-1ra or IL-6 by LPS-stimulated human peripheral mononuclear cells. Effects on TNF α synthesis could not be shown even at concentrations of 0.01 mg/mL.	NR	4.2.1.3-14

a: Doses expressed as the weighed drug substance

b: Doses expressed as the free acid equivalent

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用試験

該当なし