

目次

1. デノスマブの構造と薬理学的特性.....	3
2. 効能・効果（案）.....	3
3. 用法・用量（案）.....	3

略語一覧

略語	略していない表現 (英)	略していない表現 (日)
CHO	chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巢
RANKL	RANK ligand	RANK リガンド
TNF	tumor necrosis factor	腫瘍壊死因子

1. デノスマブの構造と薬理学的特性

デノスマブは、RANK リガンド (RANK ligand: RANKL) を標的とするヒト型モノクローナル抗体であり、その軽鎖及び重鎖をコードする cDNA を導入した CHO 細胞により産生される。デノスマブの分子量は約 150 kD であり、たん白質部分は、448 個のアミノ酸残基からなる重鎖 2 本と 215 個のアミノ酸残基からなる軽鎖 2 本の計 4 つのサブユニットから構成され、重鎖サブユニットは N 結合型糖鎖を有する。1 分子当たり 36 個のシステイン残基を有し、6 個のサブユニット間ジスルフィド結合と 12 個のサブユニット内ジスルフィド結合を形成している。

RANK/RANKL システムは破骨細胞の形成、機能、及び生存の重要な調節因子であることが知られている。RANKL は破骨細胞前駆細胞上の RANK と結合して分化を促進し、さらに成熟破骨細胞を活性化して骨吸収を促進する。このため、RANKL は骨吸収の亢進に伴う局所的骨溶解 (がん骨転移、骨巨細胞腫、及び関節リウマチに関連する)、又は全身性骨粗鬆症 (エストロゲン欠乏及び加齢に起因する) などの骨疾患の治療ターゲットになり得る。

デノスマブは、RANKL に高い親和性で特異的に結合する ($K_d 3 \times 10^{-12} M$)。デノスマブが RANKL に結合すると、RANK の活性化が阻止され、破骨細胞の形成、活性化、及び生存が抑制される。その結果、骨吸収が抑制され、骨量が増加する。

デノスマブの結合特異性は高く、RANKL のみに結合し、他の腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor: TNF) ファミリーである TNF α 、TNF β 、TNF 関連アポトーシス誘導リガンド、又は CD40 リガンドなどの分子種には結合しない。

2. 効能・効果 (案)

骨巨細胞腫

3. 用法・用量 (案)

通常、デノスマブ (遺伝子組換え) として 120 mg を第 1 日、第 8 日、第 15 日、第 29 日、その後は 4 週間に 1 回、皮下投与する。

目次

1.	まとめ	3
2.	効力を裏付ける試験	3
2.1	GCTB における RANKL と RANK の発現	4
2.2	GCTB における RANK/RANKL 系の重要性	5
2.2.1	GCTB による骨破壊の RANKL 依存性	5
2.2.2	GCTB の病態生理におけるがん骨転移との類似性	5
2.3	骨溶解の抑制に伴う骨腫瘍組織量の減少	8
3.	副次的薬理試験	9
4.	安全性薬理試験	9
5.	薬力学的薬物相互作用	9
6.	考察及び結論	9
7.	図表	10
8.	参考文献	10

略語一覧

略語	略していない表現 (英)	略していない表現 (日)
ER	estrogen receptor	エストロゲン受容体
GCTB	giant cell tumor of bone	骨巨細胞腫
IGF	insulin-like growth factor	インスリン様増殖因子
IL-1	interleukin-1	インターロイキン 1
IL-6	interleukin-6	インターロイキン 6
M-CSF	macrophage colony-stimulating factor	マクロファージコロニー刺激因子
mRNA	messenger RNA	メッセンジャーRNA
NSCLC	non-small cell lung cancer	非小細胞肺癌
OPG	osteoprotegerin	オステオプロテゲリン
OPG-Fc	recombinant construct consisting of OPG attached to an immunoglobulin crystallizable fragment	免疫グロブリン結晶化フラグメントに付着させた OPG
PTHrP	parathyroid hormone-related protein	副甲状腺ホルモン関連タンパク
RANKL	RANK ligand	RANK リガンド
RT-PCR	reverse transcription polymerase chain reaction	逆転写ポリメラーゼ連鎖反応
SRE	skeletal related event	骨関連事象
TGF- β	transforming growth factor β	形質転換増殖因子 β
TNF	tumor necrosis factor	腫瘍壊死因子

1. まとめ

骨巨細胞腫 (giant cell tumor of bone: GCTB) は溶骨性骨病変を呈する疾患であり、RANK リガンド (RANK ligand: RANKL) を高発現する細胞及び巨大破骨細胞である巨細胞などから構成される (Athanasou et al, 1985、Goldring et al, 1987、Doussis et al, 1992)。RANKL が高発現している細胞は GCTB の間質細胞 (GCTB の真の腫瘍細胞) であり、RANKL は GCTB の主要なメディエータとして、破骨細胞様の巨細胞及びその前駆細胞に発現している RANK と結合し、巨細胞の活性化を引き起こすことが知られている (Atkins et al, 2000、Atkins et al, 2001、Huang et al, 2000、Roux et al, 2002、Branstetter et al, 2012)。例えば Atkins らは、in vitro の試験において、RANKL を阻害することによって、GCTB の破骨細胞様多核巨細胞の形成が抑制され、その骨吸収活性が減少することを示している (Atkins et al, 2001)。これらの知見は、GCTB において、間質細胞 (腫瘍細胞) に発現する RANKL が巨細胞の骨吸収活性を促進していることを裏付けるものである。

現時点で GCTB の動物モデルは存在しないため、これまで GCTB に対する RANKL 阻害効果を in vivo で検証したデータはない。しかし、病態生理学的には、GCTB で起こる限局性の骨破壊は破骨細胞様巨細胞の骨溶解活性によるものであり、骨転移した腫瘍による骨溶解と類似していると考えられている。例えば、がん骨転移では RANKL 依存的に破骨細胞が成熟・活性化され、骨病変を呈する。RANKL を阻害すると、破骨細胞による骨吸収が低下し、がん骨転移に伴う骨病変が抑制されることが知られている。実際に、非臨床がん骨転移モデルにおいて、内因性の RANKL 阻害剤であるオステオプロテゲリン (osteoprotegerin: OPG) を用いて RANKL を阻害すると、過度の骨溶解が減少して骨病変に伴う骨破壊が抑制されることが報告されている (Canon et al, 2008、Roodman and Dougall, 2008、Zhang et al, 2003、Zhang et al, 2001)。同様に、GCTB でも、RANKL 依存的に巨細胞が活性化され、骨病変を呈する。したがって、これらががん骨転移モデルでの結果は、デノスマブによる GCTB 治療を支持するものであり、GCTB の間質細胞で発現する RANKL をデノスマブが阻害することによって、腫瘍に伴う破骨細胞様の巨細胞が減少又は消失すると考えられる。その結果、骨溶解や骨巨細胞腫瘍が減少し、増殖性の間質細胞は、分化した非増殖性の高密度の線維性骨に置き換わり、臨床転帰の改善が期待される。実際にデノスマブの臨床試験において、これらの現象を支持する結果が報告されている (Thomas et al, 2010、Branstetter et al, 2012)。

以上より、デノスマブによる GCTB 治療の妥当性は十分に裏付けられると考える。また、GCTB の動物モデルは存在しないこと、GCTB 患者からの生検検体の入手は非常に限られており、さらなる in vitro 培養試験の実施は困難であること、さらに、これ以上 GCTB の in vitro 培養試験を実施しても新たな知見は得られないことなどから、非臨床試験は実施せず、公表文献をもとに、科学的な考察を加えることとした。

2. 効力を裏付ける試験

GCTB に対する新たな非臨床試験は実施していない。以下に、RANKL 阻害が GCTB に及

ばす薬理作用に関して、公表されている知見を示す。

- 1) GCTB では間質細胞で産生される RANKL が RANK を発現する破骨細胞様巨細胞を活性化し、骨溶解が起きると考えられており (Branstetter et al, 2012、Thomas et al, 2010)、病態生理学的には、がん骨転移における腫瘍による骨溶解と酷似していると考えられている。
- 2) 多くの非臨床薬理データから、がん骨転移モデルにおいて RANKL を阻害すると腫瘍による骨溶解が抑制されることが示されている (癌骨転移患者における骨関連事象 [skeletal related event: SRE] の抑制に関する承認申請 [ランマーク SRE 申請] 資料モジュール 2.6.2)。GCTB においても RANKL 阻害により、破骨細胞様巨細胞の形成及び機能が抑制されることが示されている (Atkins et al, 2001)。
- 3) 治療前の患者の生検切片を用いた検討から、GCTB の RANK 陽性巨細胞の溶骨性活性と生存は、間質細胞に高発現している RANKL によって促進されることが報告されている (Branstetter et al, 2012、Thomas et al, 2010)。また、RANKL 阻害によって破骨細胞の形成、機能、及び生存が抑制されると、腫瘍内及びその近傍の骨吸収と骨形成のバランスが変化し、骨破壊から骨形成へと傾き、腫瘍組織が新たに形成された骨組織に置換されることが報告されている (Thomas et al, 2010、Branstetter et al, 2012)。この GCTB の腫瘍増殖は、骨転移腫瘍において見られる「vicious cycle」を介した腫瘍増殖メカニズムと類似している。

これらの知見について、より詳細な要約を以下に記載する。

2.1 GCTB における RANKL と RANK の発現

GCTB での RANKL の発現は、これまでに多くの文献等で報告されている。そのほとんどは、患者から採取した生検検体を単核間質細胞 (腫瘍細胞) と巨細胞を分画しないまま用いた RT-PCR 法での結果ではあるが、いずれの報告でも、すべての GCTB 検体で RANKL mRNA の発現が確認されている (Atkins et al, 2000、Huang et al, 2000、Murata et al, 2005)。また、より詳細な検討として、単核間質細胞と巨細胞を区別して RANKL の発現を調べた報告もある。例えば、Atkins らは、単核間質細胞と巨細胞を分画し、RANKL の mRNA が、巨細胞ではなく単核間質細胞に高レベルで発現していることを明らかにした (Atkins et al, 2000)。同様に Huang らは、in situ ハイブリダイゼーション法を用いて、GCTB の紡錘形の間質細胞に RANKL が発現していることを示している (Huang et al, 2000)。また、蛍光免疫染色法 (Atkins et al, 2001) 及び免疫組織化学法 (Roux et al, 2002、Branstetter et al, 2012) の結果から、RANKL 蛋白が GCTB の間質細胞に選択的に発現していることが明らかとなっている。さらに、アムジェン社は、免疫組織化学法に使用可能な RANKL 特異的抗体を自社で作製し、この抗体を用いて GCTB 検体 (海外第 II 相試験で採取された検体を含む) での RANKL 発現を検討した。その結果、すべての検体で、単核間質細胞での強い染色性 (RANKL 蛋白の発現) を確認した (Roudier et al, 2006、Branstetter et al, 2012、試験 20040215 治験総括報告書 [最終解析] 付録 10)。これらの事実は、GCTB では間質細胞に RANKL が発現していることを示唆してい

る。

一方、GCTB の巨細胞は、巨大な破骨細胞であると考えられており、RANKL の受容体である RANK を発現していることが報告されている (Cowan and Singh, 2012)。例えば、GCTB 中の単核のマクロファージ様細胞及び破骨細胞様巨細胞で、RANK の mRNA が検出されており (Huang et al, 2000)、また、巨細胞における RANK 蛋白の発現が免疫組織化学法によって確認されている (Roux et al, 2002、Branstetter et al, 2012)。

以上の知見は、GCTB において、間質細胞 (腫瘍細胞) には RANKL が、破骨細胞様巨細胞には RANK が、いずれも高いレベルで発現していることを示している。

2.2 GCTB における RANK/RANKL 系の重要性

2.2.1 GCTB による骨破壊の RANKL 依存性

GCTB による骨破壊の RANKL 依存性を非臨床モデルを用いて検証するためには、GCTB の骨微小環境を反映したモデルで RANKL 阻害の効果を検討することが必要となる。しかし、現在までに GCTB の動物モデルは確立されていないため、これまで GCTB における RANKL 阻害効果は *in vivo* で検証されていない。一方、*in vitro* では、GCTB 由来細胞の RANKL 依存性を示唆するデータが報告されている。例えば、GCTB 患者の組織から採取した初代培養細胞をヒトの皮質骨スライス上で培養したピットフォーメーションアッセイ (骨吸収窩の形成を指標に骨吸収能を評価する測定法) では、内因性の RANKL 阻害剤である OPG は用量依存的に GCTB 巨細胞によるピットフォーメーションを阻害し、前駆細胞から破骨細胞様巨細胞への形成も阻害した (Atkins et al, 2001)。また、この OPG による阻害作用は RANKL を加えることによって完全に消失したことから、OPG の阻害作用は RANKL 特異的であることが示された (Atkins et al, 2001)。さらに、GCTB の間質細胞は、RANKL 以外にも破骨細胞形成を促進する種々のサイトカイン (M-CSF、PTHrP、TGF- β 、IL-1、IL-6 など) を分泌しているが (Atkins et al, 2000、Nishimura et al, 2005)、これらサイトカインの存在下でも、RANKL を阻害すると、破骨細胞様巨細胞の形成はほぼ完全に抑制されることが明らかとなっている (Nishimura et al, 2005)。

以上の *in vitro* のデータは、RANKL が破骨細胞様巨細胞の形成及び活性化 (骨吸収活性) の両方のプロセスで重要な役割を果たしていること、並びに GCTB が RANK/RANKL 依存的であり、この機能を代償する他の因子は存在しないことを示唆している。また、GCTB の臨床試験結果 (Thomas et al, 2010、Branstetter et al, 2012) からも、GCTB の RANKL 依存性が示唆される。一方、他の骨腫瘍でも、RANK/RANKL の発現が報告されているものの (Taylor et al, 2011、Lee et al, 2011)、GCTB のように RANK/RANKL によって直接的に制御されていることを示す明白な根拠は得られていない。

2.2.2 GCTB の病態生理におけるがん骨転移との類似性

GCTB における骨破壊は、RANKL 依存的な破骨細胞様巨細胞の分化、生存、及び活性化によるものであり、これらのプロセスは病態生理学的にがん骨転移における腫瘍による骨破

壊と類似していると考えられている。骨転移腫瘍によって誘導される破骨細胞形成過程では、腫瘍細胞あるいは腫瘍細胞に反応する骨間質細胞に RANKL が、単球由来の破骨細胞及びその前駆細胞に RANK が発現し (Dougall, 2012)、RANKL の RANK への結合は、破骨細胞の形成、機能、及び生存の主要なメディエータとして働く (Burgess et al, 1999, Lacey et al, 1998, Yasuda et al, 1998)。実際に、RANKL 阻害によってがん骨転移腫瘍に伴う骨溶解が抑制されることが多くの非臨床薬理試験にて示されている(ランマーク SRE 申請資料モジュール 2.4、2.6.2、及び 2.6.3)。一方、GCTB でも、in vitro の検討において、RANKL を阻害することにより破骨細胞様巨細胞の形成及び骨吸収活性が抑制されることが示されており(第 2.2.1 項)、RANK/RANKL 系が GCTB において重要な役割を担っていることが示唆される。以上を踏まえると、RANKL 阻害によって GCTB においても、がん骨転移腫瘍における効果と同様の骨破壊抑制効果が期待できると考えられる。

デノスマブによる GCTB に対する薬理作用を裏付けるものとして、ランマーク SRE 申請資料に含めた非臨床試験の主な結論及び公表されている知見の要約を以下に示す。

- TNF スーパーファミリーのメンバーの一つである RANK/RANKL 系は、破骨細胞の形成、機能、及び生存における必須のメディエータである。
- デノスマブは、ヒト型 IgG2 モノクローナル抗体であり、ヒトの RANKL 及び非ヒト霊長類の RANKL と結合しその活性を中和する(ただし、デノスマブはげっ歯類の RANKL とは結合しない)。
- 乳癌、肺癌、及び前立腺癌を含む各種がん骨転移モデルマウスに、OPG の薬理活性を向上させた OPG-Fc を投与したところ、腫瘍の種類に関わらず溶骨性病変が抑制された。
- GCTB でも、in vitro では、RANKL を阻害することにより、GCTB における多核の破骨細胞様巨細胞の形成及び骨吸収活性が抑制された(第 2.2.1 項)
- GCTB による骨溶解は破骨細胞様巨細胞によるものであり、病態生理学的には、がん骨転移における腫瘍による骨溶解と同様である。

これら非臨床知見の詳細について、以下に記載する。

RANK/RANKL 系は破骨細胞の形成、機能、及び生存に必須のメディエータである (Teitelbaum and Ross, 2003)。RANKL は、成熟破骨細胞及びその前駆細胞に発現する RANK と結合することで、前駆細胞の破骨細胞への分化を促進し、また、成熟破骨細胞を刺激して骨吸収を活性化する。OPG は RANKL と結合する内因性の可溶性デコイ受容体であり、RANKL の作用を遮断することにより骨量を増加させる (Simonet et al, 1997, Lacey et al, 1998)。したがって、GCTB を含む骨吸収の亢進を伴う疾患に対する治療的介入として、RANKL を阻害することは生物学的に妥当であると考えられる。

がんの増殖及び転移の非臨床モデルは、ほぼすべてがげっ歯類を用いたものであり(主に

ヒトがん細胞株の移植が可能な免疫不全動物の系統が限られていることによる)、多くの文献データはげっ歯類モデルでの検討結果である。このことから、SRE 軽減効果を裏付ける非臨床試験は、げっ歯類モデルを用いて実施した。デノスマブはヒト及び霊長類の RANKL しか認識せず、げっ歯類では薬理活性を示さないため、これら非臨床試験では組換え型 OPG をデノスマブの代替として用いた。組換え型 OPG は、霊長類、ラット、及びマウスを含む広範な種で RANKL 阻害作用を示す。

マウスを用いたがん骨転移モデルにおける検討では、OPG を用いて RANKL を阻害することで、腫瘍による骨溶解が抑制され破骨細胞が減少した。この骨溶解抑制効果は、腫瘍の種類に関係なく、OPG を投与したすべての骨転移動物モデルで認められた (ランマーク SRE 申請資料モジュール 2.4、2.6.2、及び 2.6.3)。これは、破骨細胞形成における RANKL の重要な役割 (Teitelbaum and Ross, 2003) を支持する結果であると同時に、RANKL 依存的である GCTB でも、RANKL 阻害によって骨溶解が抑制されうること示唆するものである。骨転移動物モデルでの詳細な検討結果の一部を以下に示す。

エストロゲン受容体 (estrogen receptor: ER) 陰性ヒト乳癌細胞株 MDA-MB-231 及び ER 陽性ヒト乳癌細胞株 MCF-7 を含む種々の乳癌骨転移モデルを用いて、OPG による RANKL 阻害の効果を検討した。MDA-MB-231 骨転移モデルでは、OPG-Fc は溶骨性病変部を用量依存的に有意に減少させ (X 線画像測定、ランマーク SRE 申請資料モジュール 2.6.2 試験報告書 R2006160 及び R2006161)、また、それに伴い破骨細胞数も減少させた (Canon et al, 2008)。MCF-7 骨転移モデルでは、OPG-Fc の単独投与により、X 線検査で検出可能な溶骨性病変部が有意に減少し、溶骨性病変の進行が抑制された (ランマーク SRE 申請資料モジュール 2.6.2 試験報告書 R20080161 及び R20080162)。

また、ヒト前立腺癌細胞株 PC3 の骨転移モデルでは、溶骨性を示す限局性骨病変の形成が顕著であることが知られている。このモデルに OPG-Fc を投与すると、X 線検査で検出可能な溶骨性病変部が有意に減少した (ランマーク SRE 申請資料モジュール 2.6.2 試験報告書 R20080083)。

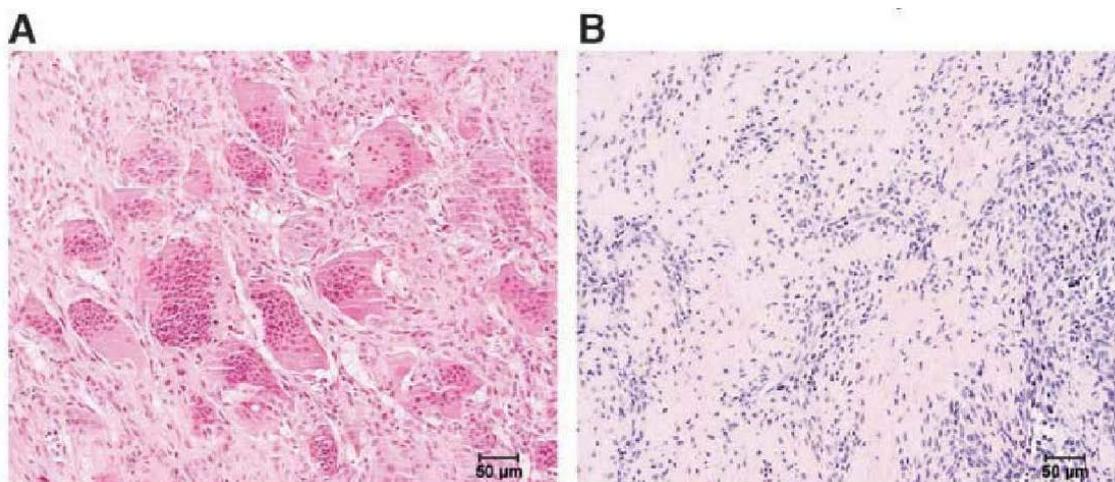
同様に、2つの異なる非小細胞肺癌 (non-small cell lung cancer: NSCLC) 骨転移モデルを用いて、OPG による RANKL 阻害の効果を検討した。マウスにヒト NSCLC 細胞株 H1299 又は H1975 を移植すると、限局性の溶骨性病変を呈する。このモデルに OPG-Fc を投与したところ、腫瘍による溶骨性病変部が有意に減少し、X 線像では骨転移病変の進行が抑制された (ランマーク SRE 申請資料モジュール 2.6.2 試験報告書 R20070963、R20080310、R20080331、及び R20080332)。

骨転移腫瘍による骨溶解は、各モデルで一貫して RANKL 依存的であった。GCTB による骨溶解は骨転移腫瘍と病態生理学的に酷似しており、また、GCTB による骨吸収活性は RANKL 依存的であることから、GCTB でも RANKL 阻害による骨溶解抑制効果が期待される。

2.3 骨溶解の抑制に伴う骨腫瘍組織量の減少

腫瘍によって誘導される破骨細胞は、溶骨性骨破壊による骨量減少及びそれに関連した臨床症状を引き起こすだけでなく、腫瘍の定着、増殖、及び生存にも寄与している。破骨細胞による骨吸収によって生じる、骨基質由来の増殖因子（例: TGF- β 、IGF1）などの産物やカルシウム濃度の上昇は、腫瘍細胞の増殖と生存を促進する。その結果、溶骨性及び造骨性因子のさらなる分泌を誘導し、「vicious cycle」と呼ばれるポジティブフィードバックループを形成する（Mundy, 2002）。この骨と腫瘍との間で起こる相互フィードバック（vicious cycle）を考慮すると、骨吸収を抑制することによって、腫瘍による骨破壊だけでなく骨腫瘍の進展も抑制可能であることが予想される。実際に、種々の固形癌骨転移及び多発性骨髄腫の非臨床モデルでは、RANKL 阻害により破骨細胞が強力に阻害されることで、骨における腫瘍の増殖も抑制されることが明らかとなっている（Dougall, 2012、及びランマーク SRE 申請資料モジュール 2.4、2.6.2、2.6.3）。また、文献でも報告されているように、RANKL 阻害による骨腫瘍組織量の増加抑制は骨微小環境に依存しており、腫瘍細胞の増殖抑制及び担癌マウスの生存延長にも関係している（Canon et al, 2008、Miller et al, 2008、Vanderkerken et al, 2003、Zheng et al, 2007）。このように、RANKL 阻害による骨腫瘍組織量の増殖抑制効果が複数の文献で報告されていることから、骨微小環境内に発生する腫瘍である GCTB でも類似した効果が期待される。GCTB の動物モデルは存在しないため、これを直接 GCTB で検証することはできないが、実際にヒトでの検討では、RANKL 阻害により骨溶解及び GCTB の進展が抑制され、増殖性の間質細胞が分化した非増殖性の高密度の線維性骨に置き換わり、臨床転帰が改善することが報告されている（図 2.6.2.2-1、Thomas et al, 2010、Branstetter et al, 2012）。したがって、これらの知見を併せると、GCTB でも、RANKL 阻害により、骨微小環境に依存した同様のメカニズムを介して腫瘍組織量減少がもたらされると考えられる。

図 2.6.2.2-1 デノスマブ投与後の巨細胞の消失例



Pretreatment (A) and post-treatment biopsy (B). Cells stained with haematoxylin and eosin. (Branstetter et al, 2012)

以上をまとめると、破骨細胞の骨吸収活性によって放出される増殖因子により、vicious cycle のメカニズムを介して、腫瘍の骨内への定着及び増殖が促進されると考えられる。上述した非臨床データ（文献情報及びランマーク SRE 申請資料に含めた試験報告書より抜粋）は、破骨細胞の分化、生存、及び活性化を介した過剰な骨吸収における RANKL の重要性、並びに GCTB の腫瘍増殖における RANKL の重要性を裏付けるものである。

3. 副次的薬理試験

該当する試験は実施していない。

4. 安全性薬理試験

該当する試験は実施していない。

5. 薬力学的薬物相互作用

該当する試験は実施していない。

6. 考察及び結論

デノスマブによる GCTB 治療の非臨床面での妥当性は、文献情報及びランマーク SRE 申請資料に含めた非臨床試験結果（ランマーク SRE 申請資料モジュール 2.6.2 及び 2.6.3）により裏付けられると考える。GCTB 患者から採取した検体を用いた検討では、間質細胞（腫瘍細胞）部分における RANKL の発現及び破骨細胞様巨細胞における RANK の発現が明確に示されている。また、GCTB 患者から採取した検体を用いた *in vitro* 実験では、RANKL を阻害することで、破骨細胞様巨細胞の形成及び活性化（骨吸収活性）が阻害されたことから（Atkins et al, 2001）、GCTB が RANKL 依存的であることが示唆される。

破骨細胞の形成、機能、及び生存に RANK/RANKL 系が必須であることは数多くの報告で示されている。GCTB で起こる限局性の骨溶解は破骨細胞様巨細胞によるものであり、病態生理学的には、がん骨転移における腫瘍による骨溶解と共通のメカニズムを介している。したがって、多くの非臨床薬理試験データから、RANKL を阻害することで骨転移腫瘍による骨溶解が抑制されることが示されていることを併せると、GCTB でも RANKL 阻害により同様の骨破壊抑制効果が期待できると考えられる。さらに、骨微小環境において、腫瘍に誘導された破骨細胞による骨吸収を抑制すると、骨における腫瘍組織量の増加が抑制されることが報告されている。このことから、骨微小環境内に発生する GCTB でも類似した効果が期待され、実際にヒトでの検討では、RANKL 阻害により骨溶解及び GCTB の進展が抑制され、増殖性の間質細胞が分化した非増殖性の高密度の線維性骨に置き換わり、臨床転帰が改善することが報告されている（Thomas et al, 2010、Branstetter et al, 2012）。

以上の文献情報及びランマーク SRE 申請資料に含めた非臨床試験の結果などを総合的に判断し、デノスマブによる RANKL 阻害は、RANKL 依存的である GCTB に対して治療効果を示すものと考えられる。

7. 図表

本文中の該当箇所に挿入した。

8. 参考文献

Athanasou NA, Bliss E, Gatter KC, et al. An immunohistological study of giant-cell tumour of bone: evidence for an osteoclast origin of the giant cells. *J Pathol.* 1985;147(3):153-8.

Atkins GJ, Bouralexis S, Haynes DR, et al. Osteoprotegerin inhibits osteoclast formation and bone resorbing activity in giant cell tumors of bone. *Bone.* 2001;28(4):370-7.

Atkins GJ, Haynes DR, Graves SE, et al. Expression of osteoclast differentiation signals by stromal elements of giant cell tumors. *J Bone Miner Res.* 2000;15(4):640-9.

Branstetter DG, Nelson SD, Manivel JC, et al. Denosumab induces tumor reduction and bone formation in patients with giant-cell tumor of bone. *Clin Cancer Res.* 2012;18(16):4415-24.

Burgess TL, Qian Y, Kaufman S, et al. The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts. *J Cell Biol.* 1999;145:527-38.

Canon JR, Roudier M, Bryant R, et al. Inhibition of RANKL blocks skeletal tumor progression and improves survival in a mouse model of breast cancer bone metastasis. *Clin Exp Metastasis.* 2008;25(2):119-29.

Cowan RW, Singh G. Giant cell tumor of bone: a basic science perspective. *Bone.* 2013;52(1):238-46.

Dougall WC. Molecular pathways: osteoclast-dependent and osteoclast-independent roles of the RANKL/RANK/OPG pathway in tumorigenesis and metastasis. *Clin Cancer Res.* 2012;18(2):326-35.

Doussis IA, Puddle B, Athanasou NA. Immunophenotype of multinucleated and mononuclear cells in giant cell lesions of bone and soft tissue. *J Clin Pathol.* 1992;45(5):398-404.

Goldring SR, Roelke MS, Petrisson KK, et al. Human giant cell tumors of bone identification and characterization of cell types. *J Clin Invest.* 1987;79(2):483-91.

Huang L, Xu J, Wood DJ, Zheng MH. Gene expression of osteoprotegerin ligand, osteoprotegerin, and receptor activator of NF-kappaB in giant cell tumor of bone: possible involvement in tumor cell-induced osteoclast-like cell formation. *Am J Pathol.* 2000;156(3):761-7.

Kostenuik PJ, Nguyen HQ, McCabe J, et al. Denosumab, a fully human monoclonal antibody to RANKL, inhibits bone resorption and increases BMD in knock-in mice that express chimeric (murine/human) RANKL. *J Bone Miner Res.* 2009;24(2):182-95.

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

Lee JA, Jung JS, Kim DH, et al. RANKL expression is related to treatment outcome of patients with localized, high-grade osteosarcoma. *Pediatr Blood Cancer*. 2011;56(5):738-43.

Miller RE, Roudier M, Jones J, et al. RANK ligand inhibition plus docetaxel improves survival and reduces tumor burden in a murine model of prostate cancer bone metastasis. *Mol Cancer Ther* 2008;7:2160-9.

Mundy GR. Metastasis to bone: causes, consequences and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer* 2002;2:584-93.

Murata A, Fujita T, Kawahara N, et al. Osteoblast lineage properties in giant cell tumors of bone. *J Orthop Sci*. 2005;10(6):581-8.

Nishimura M, Yuasa K, Mori K, et al. Cytological properties of stromal cells derived from giant cell tumor of bone (GCTSC) which can induce osteoclast formation of human blood monocytes without cell to cell contact. *J Orthop Res*. 2005;23(5):979-87.

Roodman GD, Dougall WC. RANK ligand as a therapeutic target for bone metastases and multiple myeloma. *Cancer Treat Rev*. 2008;34(1):92-101.

Roudier M, Kellar-Graney KL, Huang LY, et al. RANKL and RANK expression in giant cell tumors of the bone: an immunohistochemical study. *Connective Tissue Oncology Society; 11th Annual CTOS Meeting*. 2006; poster.

Roux S, Amazit L, Meduri G, et al. RANK (receptor activator of nuclear factor kappa B) and RANK ligand are expressed in giant cell tumors of bone. *Am J Clin Pathol*. 2002;117(2):210-6.

Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*. 1997;89(2):309-19.

Taylor R, Knowles HJ, Athanasou NA. Ewing sarcoma cells express RANKL and support osteoclastogenesis. *J Pathol*. 2011;225(2):195-202.

Teitelbaum SL, Ross FP. Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nat Rev Genet*. 2003;4(8):638-49.

Thomas D, Henshaw R, Skubitz K, et al. Denosumab in patients with giant-cell tumour of bone: an open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2010;11(3):275-80.

Vanderkerken K, De Leenheer E, Shipman C, et al. Recombinant osteoprotegerin decreases tumor burden and increases survival in a murine model of multiple myeloma. *Cancer Res* 2003;63:287-9.

Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95:3597-602.

Zhang J, Dai J, Qi Y, et al. Osteoprotegerin inhibits prostate cancer-induced osteoclastogenesis and prevents prostate tumor growth in the bone. *J Clin Invest*. 2001;107(10):1235-44.

Zhang J, Dai J, Yao Z, et al. Soluble receptor activator of nuclear factor kappaB Fc diminishes

prostate cancer progression in bone. *Cancer Res.* 2003;63(22):7883-90.

Zheng Y, Zhou H, Brennan K, et al. Inhibition of bone resorption, rather than direct cytotoxicity, mediates the anti-tumour actions of ibandronate and osteoprotegerin in a murine model of breast cancer bone metastasis. *Bone* 2007;40:471-8.