リクラスト点滴静注液 5mg
ゾレドロン酸水和物

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

旭化成ファーマ株式会社

目次

1. ゾレドロン酸水和物の構造および薬理的特性 3
2. 効能・効果 3
3. 用法・用量 3

1.ゾレドロン酸水和物の構造および薬理的特性

ゾレドロン酸水和物は Ciba-Geigy 社（現：Novartis Pharma AG 社）が創製した、側鎖にイミダゾール環を有する第三世代の窒素含有ビスホスホネートである（分子式：$C_5H_{10}N_2O_7P_2 \cdot H_2O$、分子量：290.10）（図 1）。

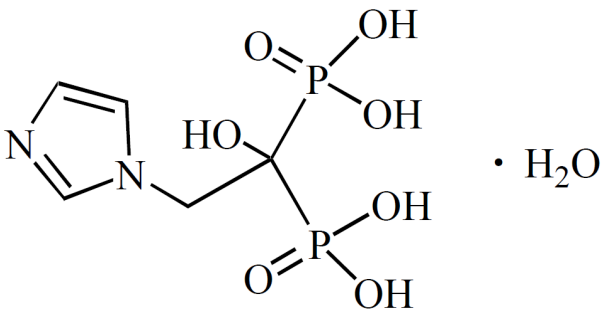


図 1 ゾレドロン酸水和物の化学構造

ゾレドロン酸は、静脈内投与後、長期間にわたり骨組織に特異的に分布することで、破骨細胞に持続的に作用し、破骨細胞内のファルネシル二リン酸合成酵素を阻害する。ファルネシル二リン酸合成酵素の阻害は、破骨細胞内のメバロン酸経路下流での蛋白プレニル化を抑制するため、破骨細胞の機能喪失を引き起こすと共にアポトーシスを誘導する。これにより、破骨細胞による骨吸収は抑えられるため、骨密度の減少が抑制される。また、ゾレドロン酸による骨吸収抑制作用は、骨微細構造の劣化を抑制すると共に骨代謝回転を抑制するため、骨質の劣化も抑制する。

骨粗鬆症は骨強度の低下を特徴とし、骨折リスクが増大しやすくなる骨格疾患であると定義されている。骨強度は骨密度および骨質により説明可能と考えられていることから、骨密度の減少および骨質の劣化を抑制するゾレドロン酸は、骨粗鬆症における骨強度の低下を抑制することが期待できる。

2. 効能・効果

骨粗鬆症

3. 用法・用量

通常、成人にはゾレドロン酸として 5 mg を 1 回 15 分以上かけて 1 年間隔で点滴静脈内投与する。

リクラスト点滴静注液 5mg

ゾレドロン酸水和物

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

旭化成ファーマ株式会社

略号一覧

略号	省略していない表現
BAP	bone alkaline phosphatase（骨型アルカリフォスファターゼ）
DMAPP	dimethylallyl diphosphate（ジメチルアリル二リン酸）
DPD	deoxypyridinoline（デオキシピリジノリン）
DXA	dual-energy X-ray absorptiometory（2 重エネルギーエックス線吸収測定法）
FPPS	farnesyl diphosphate synthase（ファルネシル二リン酸合成酵素）
IL-2	interleukin-2（インターロイキン-2）
IPP	isopentenyl diphosphate（イソペンテニル二リン酸）
n/a	not available（算出不可）
NTX	type I collagen cross-linked N-telopeptide（I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド）
OVX	ovariectomized（卵巣摘出）
PBMC	peripheral blood mononuclear cell（末梢血単核球）
pQCT	peripheral quantitative computed tomography（末梢骨定量的コンピューター断層撮影法）
TRACP-5b	tartrate-resistant acid phosphatase 5b（酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ 5b 型）
マイクロ CT	microfocus computed tomography（マイクロフォーカスコンピューター断層撮影法）

目次

1. まとめ 4
1.1 効力を裏付ける試験 4
1.1.1 骨吸収抑制作用 4
1.1.2 閉経後骨粗鬆症モデルの骨強度に対する作用 5
1.1.3 骨折治癒に及ぼす影響 6
1.2 副次的薬理試験 7
1.2.1 T 細胞の増殖促進作用 7
1.3 薬力学的薬物相互作用 8
1.3.1 骨形成促進薬との併用作用 8
1.4 結論 8
2. 効力を裏付ける試験 8
2.1 骨吸収抑制作用 8
2.2 閉経後骨粗鬆症モデルの骨強度に対する作用 9
2.2.1 ラット閉経後骨粗鬆症モデルにおける単回静脈内投与の作用 9
2.2.2 ラット閉経後骨粗鬆症モデルにおける長期反復皮下投与の作用 15
2.2.3 サル閉経後骨粗鬆症モデルにおける長期反復皮下投与の作用 21
2.3 骨折治癒に及ぼす影響 28
2.3.1 ラット閉鎖骨折治癒モデルにおける作用 28
2.3.2 ウサギ骨切延長術モデルにおける短期的作用 29
2.3.3 ウサギ骨切延長術モデルにおける長期的作用 31
3. 副次的薬理試験 33
3.1 T 細胞の増殖促進作用 33
4. 安全性薬理試験 34
5. 薬力学的薬物相互作用 34
5.1 骨形成促進薬との併用作用 34
6. 考察および結論 35
6.1 骨吸収抑制作用 35
6.2 閉経後骨粗鬆症モデルの骨強度に対する作用 35
6.3 骨折治癒に及ぼす影響 37
6.4 T 細胞の増殖促進作用 38
6.5 骨形成促進薬との併用作用 38
6.6 結論 39
7. 参考文献 39

1. まとめ

ゾレドロン酸は、側鎖にイミダゾール環を有する第三世代の窒素含有ビスホスホネートである。本邦では、平成 16 年 10 月 22 日付けでゾレドロン酸水和物を有効成分とした点滴静脈内投与製剤が「悪性腫瘍による高カルシウム血症」を効能・効果として承認（承認時販売名：ゾメタ®注射液 4mg）され、現在ではゾメタ®点滴静注 4mg/5mL およびゾメタ®点滴静注 4mg/100mL が、「悪性腫瘍による高カルシウム血症」ならびに「多発性骨髄腫による骨病変及び固形癌骨転移による骨病変」を効能・効果として、ノバルティスファーマ株式会社により販売されている。

ゾレドロン酸は、骨吸収抑制作用を持つ薬剤であり、骨に高い親和性を持つことで、1 年間隔の点滴静脈内投与により骨粗鬆症の治療が期待される薬剤である。ゾレドロン酸は、骨吸収抑制作用を持つ薬剤であることから、骨密度の減少、骨微細構造の劣化および骨代謝回転を抑制し、骨強度を増加させることが期待される。そこで、ゾレドロン酸の骨粗鬆症モデル動物における薬理作用を、以下の試験により評価した。

ゾレドロン酸の単回静脈内投与による長期的作用について、卵巣摘出（以下、OVX）ラットを用いて、投与 32 週後の骨強度改善作用を評価した。また、OVX ラットおよび OVX サルを用いてゾレドロン酸の長期反復皮下投与による骨強度改善作用および骨組織に与える影響を評価した。

ゾレドロン酸の骨吸収抑制作用を裏付ける試験および安全性薬理試験は、平成 16 年 10 月 22 日の「悪性腫瘍による高カルシウム血症」に対する効能・効果でのゾメタ®注射液 4mg 承認時に評価済みであることから、新たな試験は実施しなかった。ただし、ゾレドロン酸の骨吸収抑制作用を裏付ける試験については、骨粗鬆症モデル動物への作用機序を説明するうえで重要と考え、平成 16 年 10 月 22 日の「悪性腫瘍による高カルシウム血症」に対する効能・効果でのゾメタ注射液 4mg®承認時の申請資料中の試験を要約して記載した。

ゾレドロン酸の骨折治癒に及ぼす影響は公表論文をもとに検討した。副次的薬理作用として、投与後の急性期反応と関連する、T 細胞の増殖について、公表論文をもとに検討した。ゾレドロン酸は、骨吸収とカップリングした骨形成を抑制する作用があるため、骨形成促進薬の作用も減弱させる可能性がある。そこで、薬力学的薬物相互作用として、骨形成促進薬であるテリパラチド（副甲状腺ホルモン 1-34 断片）との併用作用を評価した。

なお、ゾレドロン酸の投与量および処理濃度は、ゾレドロン酸換算値として表示した。

1.1 効力を裏付ける試験

1.1.1 骨吸収抑制作用

ゾレドロン酸は、1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 により骨吸収が亢進したマウス頭蓋冠からのカルシウム遊離を濃度依存的に阻害し、その阻害活性は、エチドロン酸、クロドロン酸、パミドロン酸およびアレンドロン酸と比べて最も強力であった。また、甲状腺・副甲状腺摘出ラットへの 1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 投与により骨吸収が誘発されることで生じた高カルシウム血症に対して、ゾレドロン酸は、用量依存的な血清中カルシウム濃度低下作用を示し、その活性はエチドロン酸、クロドロン酸、パミドロン酸、アレンドロン酸およびリセドロン酸と比べて最も強力であった。

ゾレドロン酸は、J774 マクロファージホモジネート由来のファルネシル二リン酸合成酵素（以下、FPPS）および組換え型ヒト FPPS を阻害した。また、ゾレドロン酸は、骨芽細胞様細胞において、破骨細胞形成を抑制する因子であるオステオプロテゲリン（以下、OPG）の産生を増加させた。

ゾレドロン酸はマウス骨髄細胞からの破骨細胞形成を阻害した。さらに、ヒト骨髄由来破骨細胞様細胞およびヒト巨細胞腫由来破骨細胞にアポトーシスを示す形態学的変化を誘導し、ウサギ破骨細胞にカスパーゼ-3 様プロテアーゼの活性化を誘導した。また、ゾレドロン酸は、FPPS の下流に位置する蛋白プレニル化を阻害し、破骨細胞の機能を喪失させることが示唆された。

以上から、ゾレドロン酸は、破骨細胞の形成阻害、機能喪失およびアポトーシス誘導作用により、骨吸収抑制作用を示すと考えられた。

1.1.2 閉経後骨粗鬆症モデルの骨強度に対する作用

[1] ラット閉経後骨粗鬆症モデルにおける単回静脈内投与の作用

雌性ラットに対し、OVX の 4 日前にゾレドロン酸 0.8、4、20、100 または 500 μg/kg あるいはアレンドロン酸 200 μg/kg を単回静脈内投与し、32 週後の摘出骨の骨強度を評価した。

ゾレドロン酸は、100 および 500 μg/kg の投与により、大腿骨遠位骨幹端部の最大荷重および大腿骨骨幹部の剛性の減少を抑制し、大腿骨骨幹部および腰椎の最大荷重を増加させた。一方、アレンドロン酸は、200 μg/kg の投与により、大腿骨骨幹部の最大荷重を増加させ、大腿骨骨幹部の剛性の減少を抑制したが、大腿骨遠位骨幹端部の最大荷重および剛性ならびに腰椎の最大荷重および剛性に対する明確な作用は示さなかった。

ゾレドロン酸は、投与後 32 週間にわたり、脛骨近位部の骨密度および皮質骨厚の減少ならびに骨微細構造の劣化を抑制した。ゾレドロン酸は、投与後 32 週間にわたり、骨形成マーカーである血漿中オステオカルシン濃度および骨吸収マーカーである血漿中酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ 5b 型（以下 TRACP-5b）活性を抑制した。投与後 32 週時点の骨組織形態計測では、骨形成速度および骨石灰化速度を抑制したが、骨形成を完全に停止させた例は認められなかった。

以上の結果から、ゾレドロン酸は、単回静脈内投与により、32 週間にわたり OVX ラットの骨吸収および骨代謝回転を抑制して、骨密度および皮質骨厚の減少ならびに骨微細構造の劣化を抑制し、骨強度を増加させると考えられた。同時に、ゾレドロン酸は骨石灰化の過剰な抑制は引き起こさないことが示唆された。

[2] ラット閉経後骨粗鬆症モデルにおける長期反復皮下投与の作用

雌性ラットに OVX を施した当日より、ゾレドロン酸 0.3、1.5 および 7.5 μg/kg を 52 週間週 1 回反復皮下投与し、摘出骨の骨強度を評価した。

ゾレドロン酸は、1.5 および 7.5 μg/kg の投与により、大腿骨骨幹部の最大荷重および腰椎の最大応力の減少を抑制し、7.5 μg/kg の投与により、大腿骨頸部の最大荷重の減少を抑制した。また、ゾレドロン酸は、1.5 および 7.5 μg/kg の投与により、大腿骨骨幹部の剛性を増加させ、腰椎の弾性率の減少を抑制した。

ゾレドロン酸は、OVX による腰椎骨密度の減少を抑制し、脛骨近位骨幹端部の骨微細構造の劣化を抑制した。ゾレドロン酸は、投与開始後 16 週および 51 週において、骨吸収マー

カーである尿中デオキシピリジノリン（以下、DPD）排泄量を抑制し、投与開始後 52 週時点の脛骨近位骨幹端部では、骨形成速度および骨石灰化速度を抑制した。一方、ゾレドロン酸は、骨石灰化障害の指標である成長板の厚みを増加させなかった。

以上の結果から、ゾレドロン酸は、52 週間の週 1 回反復皮下投与により、OVX ラットの骨吸収および骨代謝回転を抑制して、骨密度の減少および骨微細構造の劣化を抑制し、骨強度を増加させると考えられた。また、ゾレドロン酸は、骨石灰化の過剰な抑制を引き起こさないことが示唆された。

[3] サル閉経後骨粗鬆症モデルにおける長期反復皮下投与の作用

雌性サルに OVX を施した当日より、ゾレドロン酸 0.5、2.5 および 12.5 μg/kg を 69 週間週 1 回反復皮下投与し、摘出骨の骨強度を評価した。

ゾレドロン酸は、12.5 μg/kg の投与により、大腿骨頸部の剛性を増加させた。一方、大腿骨頸部、脛骨骨幹部および腰椎の最大荷重ならびに脛骨骨幹部および腰椎の剛性については、ゾレドロン酸投与による明らかな作用は認められなかった。

ゾレドロン酸は、全身骨塩量、腰椎骨密度および橈骨骨幹部骨密度の減少を抑制した。ゾレドロン酸は、骨微細構造パラメータである皮質骨の多孔化率を抑制したが、海綿骨骨量、骨梁数、骨梁幅およびハバース骨の割合に明確な作用を及ぼさなかった。ゾレドロン酸は、69 週間の投与期間を通じて骨形成マーカーである血清中骨型アルカリフォスファターゼ（以下、BAP）活性および骨吸収マーカーである尿中 I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド（以下、NTX）排泄量を抑制し、海綿骨の骨単位活性化率および骨形成速度ならびに皮質骨の骨形成速度を抑制した。一方、海綿骨および皮質骨の組織像において、骨石灰化の障害は認められず、骨および骨髄の異常所見も認められなかった。

以上の結果から、ゾレドロン酸は、69 週間の週 1 回反復皮下投与により、OVX サルの骨吸収および骨代謝回転を抑制して、骨密度の減少および骨微細構造の劣化を抑制し、骨強度を増加させると考えられた。また、骨石灰化障害および骨組織の異常を起こす可能性は低いことが示唆された。

1.1.3 骨折治癒に及ぼす影響

[1] ラット閉鎖骨折モデルにおける作用

雄性ラットの大腿骨に閉鎖骨折処置を施した後、ゾレドロン酸 100 μg/kg を骨折時、骨折後 1 週あるいは骨折後 2 週に単回静脈内投与し、骨折後 6 週の骨折部位における骨塩量、骨量、強度に関わる構造的指標である極慣性モーメントおよびねじり強度を測定した。

ゾレドロン酸は、全投与群でねじり強度における最大トルクを増加させ、骨塩量、骨量および極慣性モーメントを増加させた。

以上の結果から、ゾレドロン酸は、ラット閉鎖骨折モデルの骨折治癒過程において、骨折部位の骨塩量、骨量および極慣性モーメントを増加させて、骨強度を増加させると考えられた。

[2] ウサギ骨切延長術モデルにおける短期的作用

雄性ウサギの脛骨骨幹部に骨切術を施した後、2 週間の骨延長を行い、ゾレドロン酸 100 μg/kg を骨切術時の単回あるいは骨切術時および骨延長終了時の 2 回静脈内投与した。

骨切術後 6 週において、ゾレドロン酸は、骨切術時および骨延長終了時の 2 回投与により、骨延長部位の骨量、骨塩量、海綿骨骨量および骨梁数を増加させ、最大荷重を増加させた。

以上の結果から、ゾレドロン酸は、ウサギ骨切延長術モデルの骨延長部位において、骨量、骨塩量、海綿骨骨量および骨梁数を増加させて、骨強度を増加させると考えられた。

[3] ウサギ骨切延長術モデルにおける長期的作用

雄性ウサギの脛骨骨幹部に骨切術を施した後、2 週間の骨延長を行い、ゾレドロン酸 100 μg/kg を骨切術時および骨延長終了時にそれぞれ静脈内投与した。

ゾレドロン酸投与群では、骨切術後 4～18 週において、骨密度および骨塩量が対照群に比べ増加していたあるいは増加傾向を示していたが、骨切術後 44 週では対照群との間に差は認められなくなった。また、X 線撮影像において、ゾレドロン酸投与群では、骨切術後 18 週には骨切術時の皮質骨端の残存が認められたが、骨切術後 44 週では対照群と同等の骨癒合像を示した。骨延長部位の組織像において、ゾレドロン酸投与群では、骨切術後 18 週までは仮骨中の軟骨基質の消失が対照群に比べ遅延していたものの、骨切術後 44 週では対照群と同等の骨組織像を示した。

以上の結果から、ゾレドロン酸は、ウサギ骨切延長術モデルにおいて、骨切術後早期には骨延長部位の骨密度および骨塩量を増加させることが示唆された。また、骨延長部位の皮質骨および仮骨の骨リモデリングの遅延は招き得るものの、骨癒合は阻害しないことが示唆された。

以上から、ゾレドロン酸は、骨折治癒過程の早期には、骨量および骨塩量を増加させることで骨強度を増加させると考えられた。また、骨リモデリングの遅延は招くものの、骨癒合を阻害せず、骨折治癒過程に悪影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

1.2 副次的薬理試験

1.2.1 T 細胞の増殖促進作用

健常人の血液から採取した末梢血単核球（以下、PBMC）を、1 μmol/L のゾレドロン酸、アレンドロン酸、イバンドロン酸、パミドロン酸あるいはクロドロン酸と、組換えヒトインターロイキン-2（以下、IL-2）の存在下で 7 日間培養し、γ,δ -T 細胞の増殖を測定した結果、ゾレドロン酸は、最も強く γ,δ -T 細胞の増殖を促進した。

また、メバロン酸経路で FPPS の上流に位置するイソペンテニル二リン酸（以下、IPP）およびジメチルアリル二リン酸（以下、DMAPP）を 1 μmol/L それぞれ加えて上記試験と同様に培養し、γ,δ -T 細胞の増殖を測定した結果、IPP および DMAPP は、γ,δ -T 細胞の増殖を促進した。

以上から、ゾレドロン酸は、FPPS の阻害を介した IPP および DMAP の蓄積により、γ,δ -T 細胞の増殖を促進する可能性が示唆された。

1.3 薬力学的薬物相互作用

1.3.1 骨形成促進薬との併用作用

OVX 後 8 週間経過した雌性ラットに、テリパラチド 30 μg/kg またはゾレドロン酸 0.5 μg/kg を単独に、あるいはその両剤を同時に、週 5 回 4 週間反復皮下投与し、テリパラチドの骨密度増加作用に対するゾレドロン酸の併用作用を評価した。その結果、ゾレドロン酸は、テリパラチドとの併用により、腰椎の骨密度をテリパラチド単独群に比べ増加させることが明らかになった。また、ゾレドロン酸は、テリパラチドとの併用により、大腿骨遠位部の骨密度をテリパラチド単独群に比べ増加させる傾向を示した。

以上の結果から、ゾレドロン酸はテリパラチドの骨密度増加作用を阻害せず、相加的に作用すると考えられた。

1.4 結論

ゾレドロン酸は、強力な骨吸収抑制作用により、単回の静脈内投与で、長期間にわたり骨密度の減少、骨微細構造の劣化および骨代謝回転を抑制して、骨強度を増加させることが期待される。また、ゾレドロン酸は、骨組織への異常を来たすことなく、骨折治癒に悪影響を与えず、骨形成促進薬の骨密度増加作用を阻害しない骨粗鬆症治療薬として期待される。

2. 効力を裏付ける試験

2.1 骨吸収抑制作用

資料番号：［1.13.1］

In vitro において、ゾレドロン酸は 1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 によるマウス頭蓋冠からのカルシウム遊離を濃度依存的に阻害し、50%阻害濃度は 0.002 μmol/L であった。この阻害活性をエチドロン酸、クロドロン酸、パミドロン酸およびアレンドロン酸と比べると、ゾレドロン酸が最も強力であった。

In vivo において、ゾレドロン酸は甲状腺・副甲状腺摘出ラットにおける 1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 誘発高カルシウム血症に対して、1 日 1 回 4 日間皮下投与で、用量依存的な血中カルシウム濃度低下作用を示し、50%有効用量は 0.050 μg/kg であった。この活性をエチドロン酸、クロドロン酸、パミドロン酸、アレンドロン酸およびリセドロン酸と比べるとゾレドロン酸が最も強力であった。

ゾレドロン酸は、J774 マクロファージホモジネート由来 FPPS および組換え型ヒト FPPS を阻害し、50%阻害濃度はそれぞれ 0.02 および 0.003 μmol/L であった。ゾレドロン酸は、ヒト骨芽細胞様細胞からの OPG 産生を増加させ、最大効果が得られた濃度は、0.01 μmol/L であった。

破骨細胞への作用として、ゾレドロン酸は、マウス骨髄細胞からの破骨細胞形成を阻害し、ヒト骨髄由来破骨細胞様細胞およびヒト巨細胞腫由来破骨細胞に、アポトーシスを示す形態学的変化を誘導した。ウサギ破骨細胞には、カスパーゼ-3 様プロテアーゼ活性の上昇およびカスパーゼ-3 様プロテアーゼ活性陽性細胞の比率の上昇を引き起こした。

また、ゾレドロン酸は、ウサギ破骨細胞において、蛋白プレニル化を阻害し、プレニル化酵素であるゲラニルゲラニル基転移酵素の阻害剤は、ウサギおよびトリ破骨細胞の細胞骨格破綻および骨吸収活性抑制を示した。

2.2 閉経後骨粗鬆症モデルの骨強度に対する作用

2.2.1 ラット閉経後骨粗鬆症モデルにおける単回静脈内投与の作用

資料番号：［4.2.1.1.1-1］、［4.2.1.1.1-2］参

7ヵ月齢の雌性 Wistar 系ラットに OVX を施す 4 日前に、ゾレドロン酸 0.8、4、20、100 または 500 μg/kg あるいはアレンドロン酸 200 μg/kg を単回静脈内投与した。OVX 対照群および偽手術群のラットには生理食塩水を投与した。投与後 32 週に大腿骨および腰椎を摘出し、大腿骨遠位骨幹端部圧縮試験、大腿骨頸部破断試験、大腿骨骨幹部 3 点曲げ試験および腰椎圧縮試験により骨強度を測定した。また、麻酔下の末梢骨定量的コンピューター断層撮影法（以下、pQCT）により、投与後 4 週間隔で脛骨近位部の骨密度を測定した。さらに、マイクロフォーカスコンピューター断層撮影法（以下、マイクロ CT）により、投与後 32 週に摘出した脛骨の骨微細構造を評価した。試験終了 10 日前にアリザリンを、試験終了 3 日前にカルセインを投与して骨石灰化面の二重標識を行い、骨組織形態計測により骨代謝回転を評価した。また、投与後 4 週間隔で血液を採取し、骨形成マーカーである血漿中オステオカルシン濃度を測定した。

[1] 骨強度

大腿骨遠位骨幹端部圧縮試験において、ゾレドロン酸は、100 および 500 μg/kg の投与により、OVX による大腿骨遠位骨幹端部の最大荷重の減少を抑制した（図 2-1）。ゾレドロン酸は、100 μg/kg の投与により、OVX による大腿骨遠位骨幹端部の剛性の減少を抑制した。アレンドロン酸 200 μg/kg の投与は、大腿骨遠位骨幹端部の最大荷重および剛性には明確な作用を及ぼさなかった。

大腿骨骨幹部 3 点曲げ試験において、ゾレドロン酸は、20、100 および 500 μg/kg の投与により、大腿骨骨幹部の最大荷重を OVX 対照群に比べ増加させ、その作用は用量依存的であった（図 2-1）。ゾレドロン酸は、20、100 および 500 μg/kg の投与により、OVX による大腿骨骨幹部の剛性の減少を抑制し、その作用は用量依存的であった。アレンドロン酸 200 μg/kg の投与は、大腿骨骨幹部の最大荷重を OVX 対照群に比べ増加させ、OVX による大腿骨骨幹部の剛性の減少を抑制した。なお、OVX による大腿骨骨幹部の最大荷重への影響は認められなかった。

大腿骨頸部破断試験において、ゾレドロン酸およびアレンドロン酸は、大腿骨頸部の最大荷重および剛性に明確な作用を及ぼさなかった（図 2-1）。なお、OVX による大腿骨頸部の最大荷重および剛性への影響は認められなかった。

腰椎圧縮試験において、ゾレドロン酸は、100 および 500 μg/kg の単回静脈内投与により、腰椎の最大荷重を OVX 対照群に比べ増加させた（図 2-1）。ゾレドロン酸は、腰椎の剛性に明確な作用を及ぼさなかった。アレンドロン酸 200 μg/kg の投与は、腰椎の最大荷重および剛性に明確な作用を及ぼさなかった。なお、OVX による腰椎の最大荷重および剛性への影響は認められなかった。

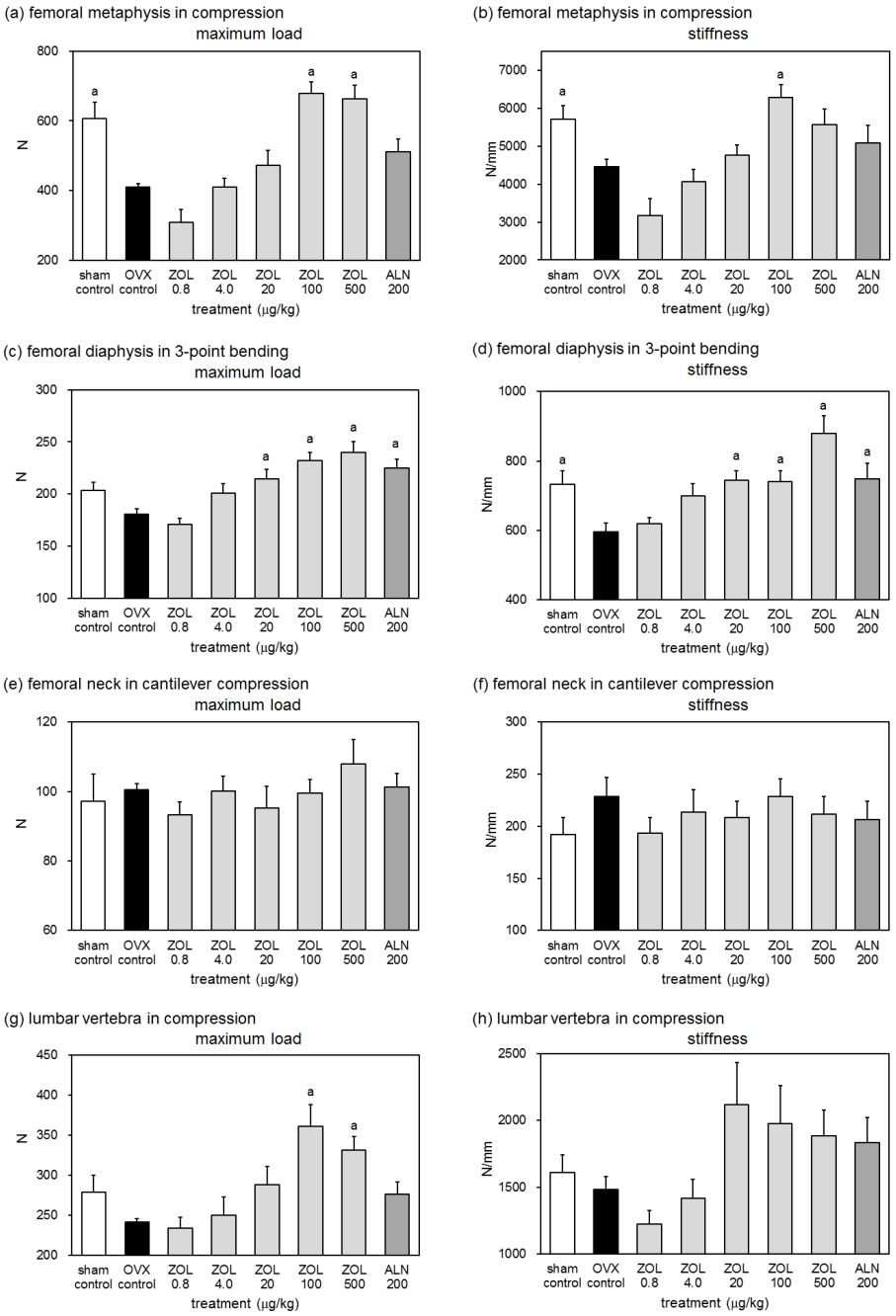


図 2-1 ゾレドロン酸単回静脈内投与 32 週後の OVX ラット大腿骨および腰椎椎体の骨強度への作用

(a), (b) femoral metaphysis in compression：大腿骨遠位骨幹端部圧縮試験、(c), (d) femoral diaphysis in 3-point bending：大腿骨骨幹部 3 点曲げ試験、(e), (f) femoral neck in cantilever compression：大腿骨頸部破断試験、(g), (h) lumber vertebra in compression：腰椎圧縮試験、maximum load：最大荷重、stiffness：剛性、treatment：投与、sham control：偽手術群、OVX control：OVX 対照群、ZOL 0.8：ゾレドロン酸 0.8 μg/kg 群、ZOL 4.0：ゾレドロン酸 4 μg/kg 群、ZOL 20：ゾレドロン酸 20 μg/kg 群、ZOL 100：ゾレドロン酸 100 μg/kg 群、ZOL 500：ゾレドロン酸 500 μg/kg 群、ALN 200：アレンドロン酸 200 μg/kg 群

図中の値は平均値±標準誤差を示す（例数 10）。

a: $p<0.05$; OVX 対照群との有意差（Dunnett 検定）

（[4.2.1.1.1-1] Table A9、Table A10、Table A11 および Table A12 を改変）

[2] 骨密度および皮質骨厚

ゾレドロン酸は、投与後 32 週間にわたり、OVX による脛骨近位部の横断面全骨密度の減少を用量依存的に抑制した（図 2-2）。100 および 500 μg/kg 投与群では、偽手術群よりも高い骨密度（手術前値からの変化率）を示す傾向が認められた。アレンドロン酸 200 μg/kg の投与は、投与後 32 週間にわたり、OVX による脛骨近位部横断面全骨密度の減少を抑制し、その作用はゾレドロン酸 20 μg/kg 投与群と同等であった。

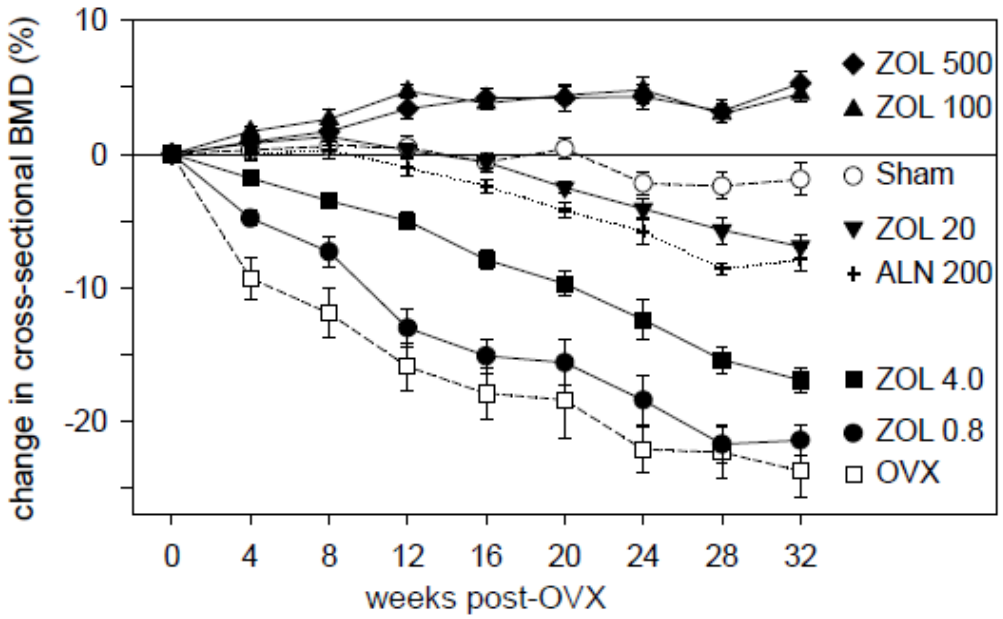


図 2-2 ゾレドロン酸単回静脈内投与による OVX ラットの脛骨近位部骨密度への作用

change in cross-sectional BMD : 横断面全骨密度変化率、weeks post-OVX : OVX 後の経過時間（週）、Sham：偽手術群、OVX：OVX 対照群、ZOL 0.8：ゾレドロン酸 0.8 μg/kg 群、ZOL 4.0：ゾレドロン酸 4 μg/kg 群、ZOL 20 : ゾレドロン酸 20 μg/kg 群、ZOL 100 : ゾレドロン酸 100 μg/kg 群、ZOL 500 : ゾレドロン酸 500 μg/kg 群、ALN 200：アレンドロン酸 200 μg/kg 群
図中の値は平均値±標準誤差を示す（例数 10）。
（[4.2.1.1.1-1] Figure 4 を改変）

ゾレドロン酸は、投与後 32 週間にわたり、OVX による脛骨近位部皮質骨厚の減少を用量依存的に抑制し、100 および 500 μg/kg では、偽手術群より高い皮質骨厚（手術前値からの変化率）を示す傾向が認められた（図 2-3）。アレンドロン酸 200 μg/kg は、投与後 32 週間にわたり、OVX による脛骨近位部皮質骨厚の減少を抑制し、その作用はゾレドロン酸 20 μg/kg と同等であった。また、ゾレドロン酸は、投与後 32 週間にわたり、OVX による脛骨近位部海綿骨骨密度の減少を用量依存的に抑制し、100 および 500 μg/kg では、偽手術群より高い海綿骨骨密度（手術前値からの変化率）を示す傾向が認められた（図 2-4）。アレンドロン酸 200 μg/kg は、投与後 32 週間にわたり、OVX による脛骨近位部海綿骨骨密度の減少を抑制し、その作用はゾレドロン酸 20 μg/kg と同等であった。

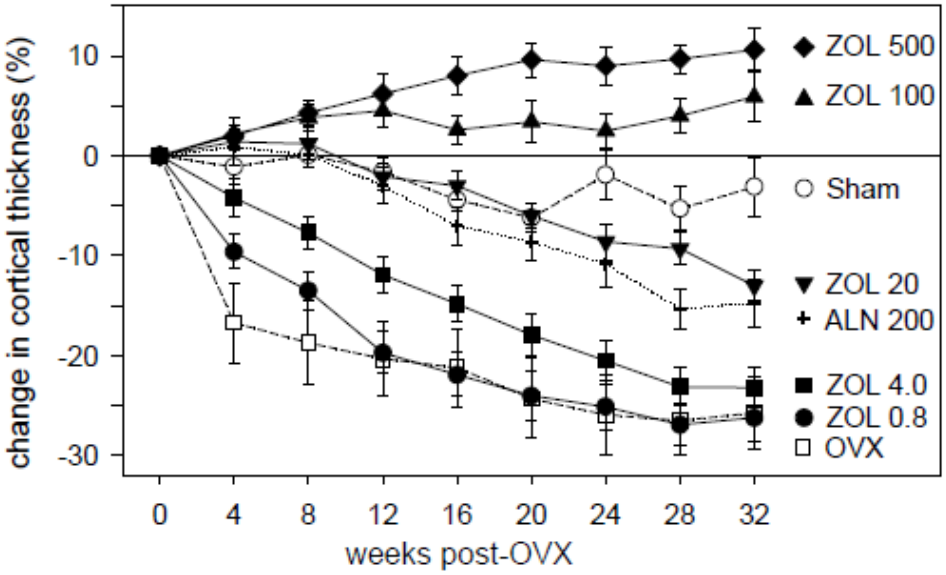


図 2-3 ゾレドロン酸単回静脈内投与による OVX ラットの脛骨近位部皮質骨厚への作用

change in cortical thickness：皮質骨厚の変化率、weeks post-OVX：OVX 後の経過時間（週）、Sham：偽手術群、OVX：OVX 対照群、ZOL 0.8：ゾレドロン酸 0.8 μg/kg 群、ZOL 4.0：ゾレドロン酸 4 μg/kg 群、ZOL 20：ゾレドロン酸 20 μg/kg 群、ZOL 100：ゾレドロン酸 100 μg/kg 群、ZOL 500：ゾレドロン酸 500 μg/kg 群、ALN 200：アレンドロン酸 200 μg/kg 群
図中の値は平均値±標準誤差を示す（例数 10）。
（[4.2.1.1.1-1] Figure 5 を改変）

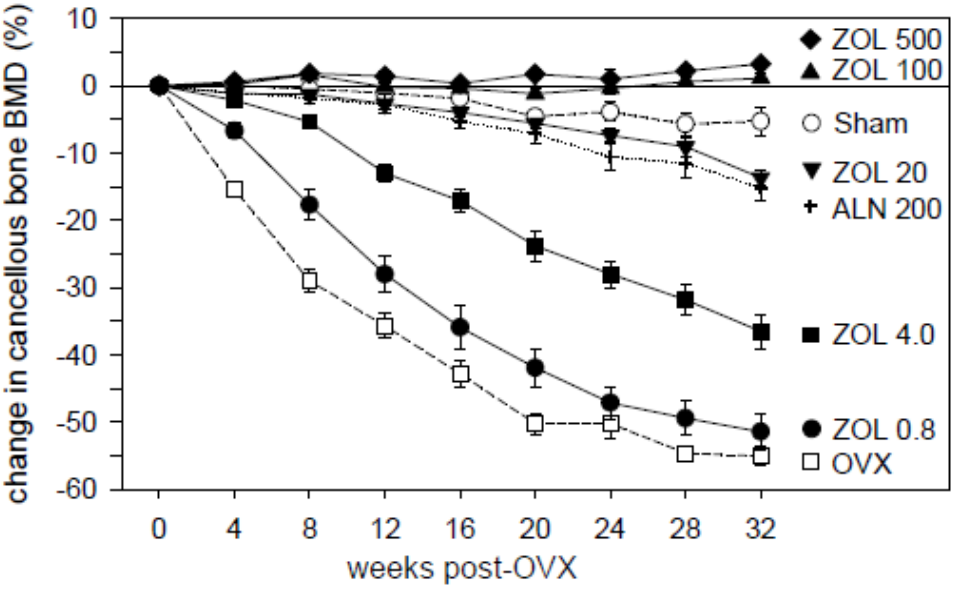


図 2-4 ゾレドロン酸単回静脈内投与による OVX ラットの脛骨近位部海綿骨骨密度への作用

change in cancellous bone BMD：海綿骨の骨密度変化率、weeks post-OVX：OVX 後の経過時間（週）、Sham：偽手術群、OVX：OVX 対照群、ZOL 0.8：ゾレドロン酸 0.8 μg/kg 群、ZOL 4.0：ゾレドロン酸 4 μg/kg 群、ZOL 20：ゾレドロン酸 20 μg/kg 群、ZOL 100：ゾレドロン酸 100 μg/kg 群、ZOL 500：ゾレドロン酸 500 μg/kg 群、ALN 200：アレンドロン酸 200 μg/kg 群
図中の値は平均値±標準誤差を示す（例数 10）。
（[4.2.1.1.1-1] Figure 6 を改変）

[3] 骨微細構造パラメータ

ゾレドロン酸は、OVX による脛骨近位骨幹端部の海綿骨骨量、骨梁幅、骨梁数および連結性密度の減少を用量依存的に抑制し、100 および 500 μg/kg 投与群では、偽手術群と同等以上の値を示す傾向が認められた（図 2-5）。また、ゾレドロン酸は、OVX による骨梁間隙および Structure model index の増加を用量依存的に抑制し、100 および 500 μg/kg 投与群では、偽手術群と同等以下の値を示す傾向が認められた。アレンドロン酸 200 μg/kg は、OVX による脛骨近位骨幹端部の海綿骨骨量、骨梁幅、骨梁数および連結性密度の減少を抑制し、OVX による骨梁間隙および Structure model index の増加を抑制した。

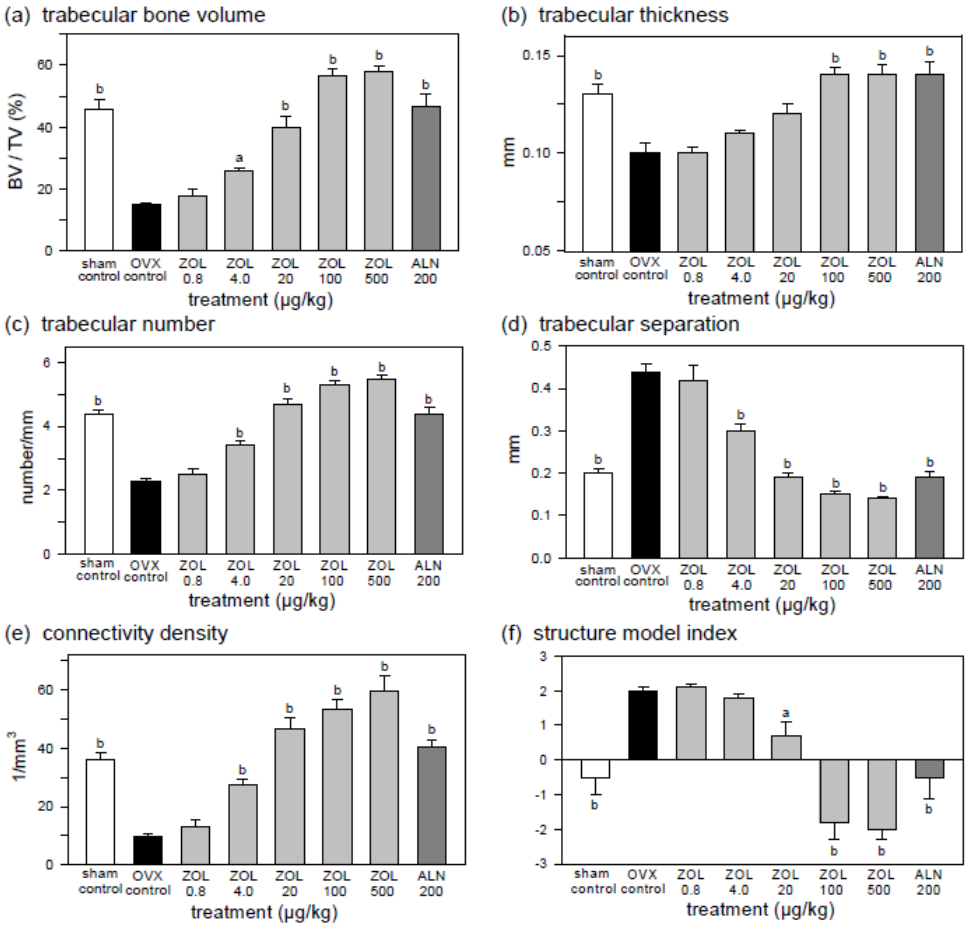


図 2-5 ゾレドロン酸単回静脈内投与 32 週後の OVX ラットの脛骨近位部海綿骨の骨微細構造パラメータへの作用

(a) trabecular bone volume（BV/TV）: 海綿骨骨量、(b) trabecular thickness：骨梁幅、(c) trabecular number : 骨梁数、(d) trabecular separation : 骨梁間隙、(e) connectivity density : 連結性密度、(f) structure model index、treatment：投与、sham control：偽手術群、OVX control：OVX 対照群、ZOL 0.8：ゾレドロン酸 0.8 μg/kg 群、ZOL 4.0：ゾレドロン酸 4 μg/kg 群、ZOL 20：ゾレドロン酸 20 μg/kg 群、ZOL 100：ゾレドロン酸 100 μg/kg 群、ZOL 500：ゾレドロン酸 500 μg/kg 群、ALN 200：アレンドロン酸 200 μg/kg 群
図中の値は平均値±標準誤差を示す（例数 10）。
a: $p<0.05$; b: $p<0.01$; OVX 対照群との有意差（Dunnett 検定）
（[4.2.1.1.1-1] Table A7 より作成）

[4] 骨組織形態計測パラメータ

ゾレドロン酸は、OVX 対照群に比べ、脛骨近位骨幹端部の骨石灰化速度および骨形成速度を用量依存的に抑制した（図 2-6）。しかしながら、ゾレドロン酸を投与したすべての個体で、骨形成が完全に停止した個体は認められなかった。アレンドロン酸 200 µg/kg は、OVX 対照群に比べ、骨石灰化速度および骨形成速度を抑制した。なお、OVX による骨石灰化速度および骨形成速度の亢進は認められなかった。

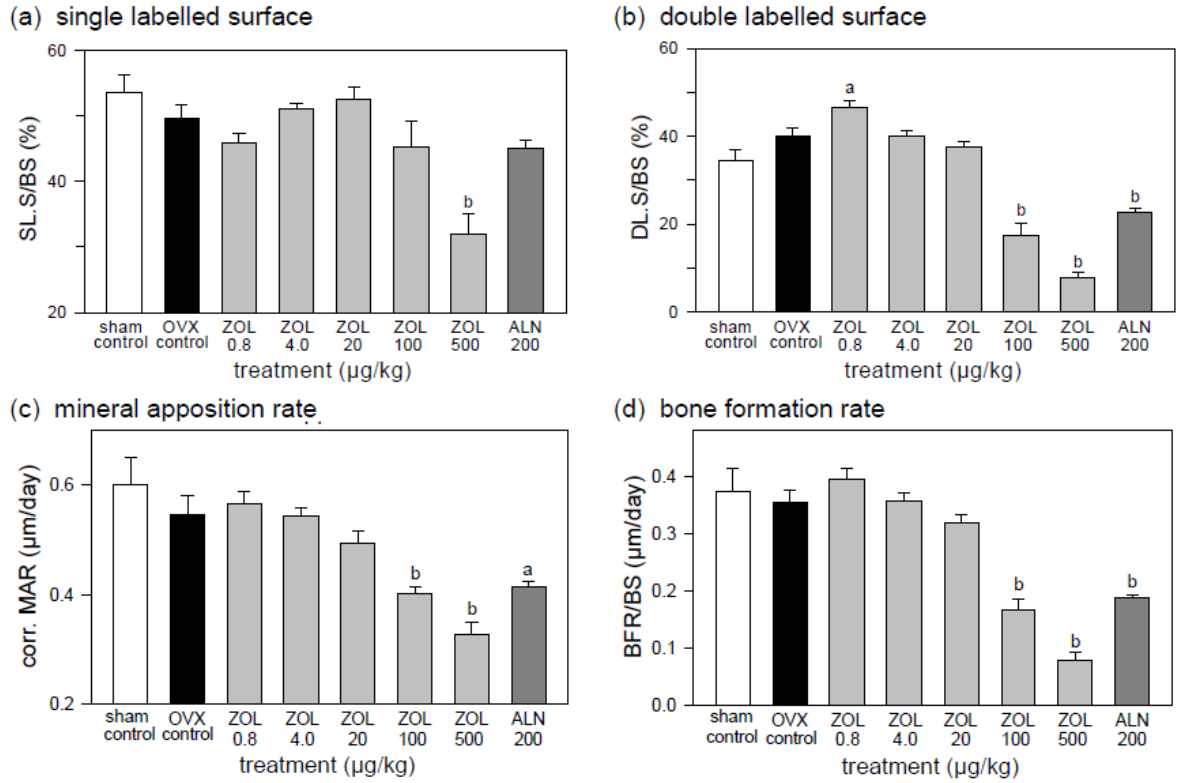


図 2-6 ゾレドロン酸単回静脈内投与 32 週後の OVX ラット脛骨近位骨幹端部海綿骨の骨組織形態計測パラメータへの作用

(a) single labelled surface（SL.S/BS）：一重標識面、(b) double labelled surface（DL.S/BS）：二重標識面、(c) mineral apposition rate（corr.MAR）：骨石灰化速度、(d) bone formation rate（BFR/BS）：骨形成速度、treatment：投与、sham control：偽手術群、OVX control：OVX 対照群、ZOL 0.8：ゾレドロン酸 0.8 µg/kg 群、ZOL 4.0：ゾレドロン酸 4 µg/kg 群、ZOL 20：ゾレドロン酸 20 µg/kg 群、ZOL 100：ゾレドロン酸 100 µg/kg 群、ZOL 500：ゾレドロン酸 500 µg/kg 群、ALN 200：アレンドロン酸 200 µg/kg 群

図中の値は平均値±標準誤差を示す（例数 10）。

a: $p<0.05$; b: $p<0.01$; OVX 対照群との有意差（Dunnett 検定）

（[4.2.1.1.1-1] Table A8 より作成）

[5] 骨代謝マーカー

ゾレドロン酸は、100 および 500 µg/kg の単回静脈内投与により、OVX による血漿中オステオカルシン濃度の増加を、投与後 32 週間にわたり抑制した。アレンドロン酸 200 µg/kg の投与は、OVX による血漿中オステオカルシン濃度の増加を、投与後 20 週まで抑制した。図 2-7 に投与後 4、16 および 32 週後の結果を示した。また、ゾレドロン酸は投与後 32 週間にわたり、骨吸収マーカーである血漿中 TRACP-5b 活性を用量依存的に抑制した。

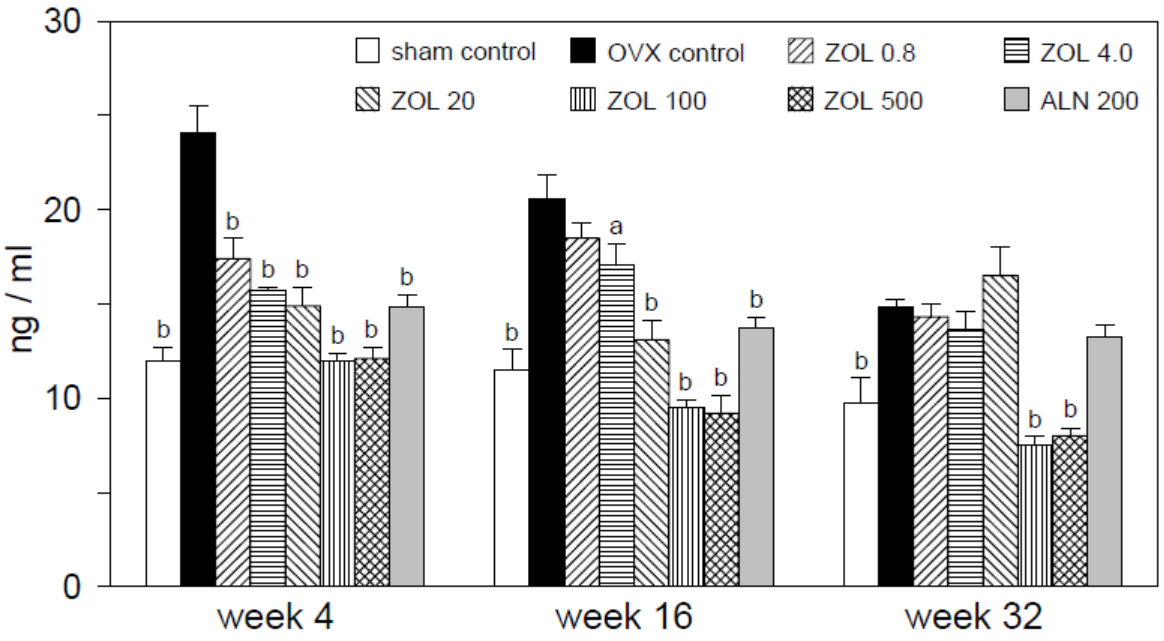


図 2-7 ゾレドロン酸単回静脈内投与による OVX ラットの血漿中オステオカルシン濃度への作用

Sham control : 偽手術群、OVX control : OVX 対照群、ZOL 0.8 : ゾレドロン酸 0.8 μg/kg 群、ZOL 4.0 : ゾレドロン酸 4 μg/kg 群、ZOL 20 : ゾレドロン酸 20 μg/kg 群、ZOL 100 : ゾレドロン酸 100 μg/kg 群、ZOL 500 : ゾレドロン酸 500 μg/kg 群、ALN 200 : アレンドロン酸 200 μg/kg 群
図中の値は平均値±標準誤差を示す（例数 10）。
a: $p<0.05$; b: $p<0.01$; OVX 対照群との有意差（Dunnett 検定）
（[4.2.1.1.1-1] Table A2 より作成）

2.2.2 ラット閉経後骨粗鬆症モデルにおける長期反復皮下投与の作用

資料番号：［4.2.1.1.2-1］、［4.2.1.1.2-2］、［4.2.1.1.2-3］

4 ヵ月齢の雌性 Sprague Dawley 系ラットに OVX を施し、手術日からゾレドロン酸 0.3、1.5 および 7.5 μg/kg を週 1 回 52 週間反復皮下投与した。OVX 対照群および偽手術群のラットには、生理食塩水を投与した。投与開始 52 週後に、大腿骨および第 1、第 3 および第 5 腰椎を摘出し、大腿骨頸部破断試験、大腿骨骨幹部 3 点曲げ試験および腰椎圧縮試験により骨強度を測定した。また、投与開始前および投与開始 4、17、32 ならびに 52 週後に、2 重エネルギーエックス線吸収測定法（以下、DXA）により、麻酔下における全身骨塩量、腰椎骨密度および大腿骨骨密度を測定した。投与開始 1 日前および投与終了 17 日前にカルセイン、投与終了 14 日前および 4 日前にデメクロサイクリンを投与し、骨石灰化面の標識を行い、摘出脛骨および第 2 あるいは第 4 腰椎の骨組織形態計測を実施した。投与開始 16 週後および 51 週後に血液および尿を採取し、骨形成マーカーである血清中オステオカルシン濃度および骨吸収マーカーである尿中 DPD 排泄量を測定した。

[1] 骨強度

大腿骨頸部破断試験において、ゾレドロン酸は、7.5 μg/kg 投与により、OVX による大腿骨頸部の最大荷重の減少を抑制した（図 2-8）。また、ゾレドロン酸は、大腿骨頸部の剛性には明確な作用を及ぼさなかった。

大腿骨骨幹部 3 点曲げ試験において、ゾレドロン酸は、全用量で、OVX による大腿骨骨幹部の最大荷重の減少を抑制し、大腿骨骨幹部の剛性を OVX 対照群に比べ増加させた（図 2-8）。

腰椎圧縮試験において、ゾレドロン酸は、1.5 および 7.5 μg/kg の投与により、OVX による第 5 腰椎の最大応力の減少を抑制し、その作用は用量依存的であった（図 2-8）。また、ゾレドロン酸は、1.5 および 7.5 μg/kg の投与により、OVX による第 5 腰椎の弾性率の減少を抑制し、その作用は用量依存的であった。第 1 腰椎、第 3 腰椎についても、ゾレドロン酸は、最大応力および弾性率の減少を抑制する傾向を示した。図 2-8 には第 5 腰椎の結果を示した。

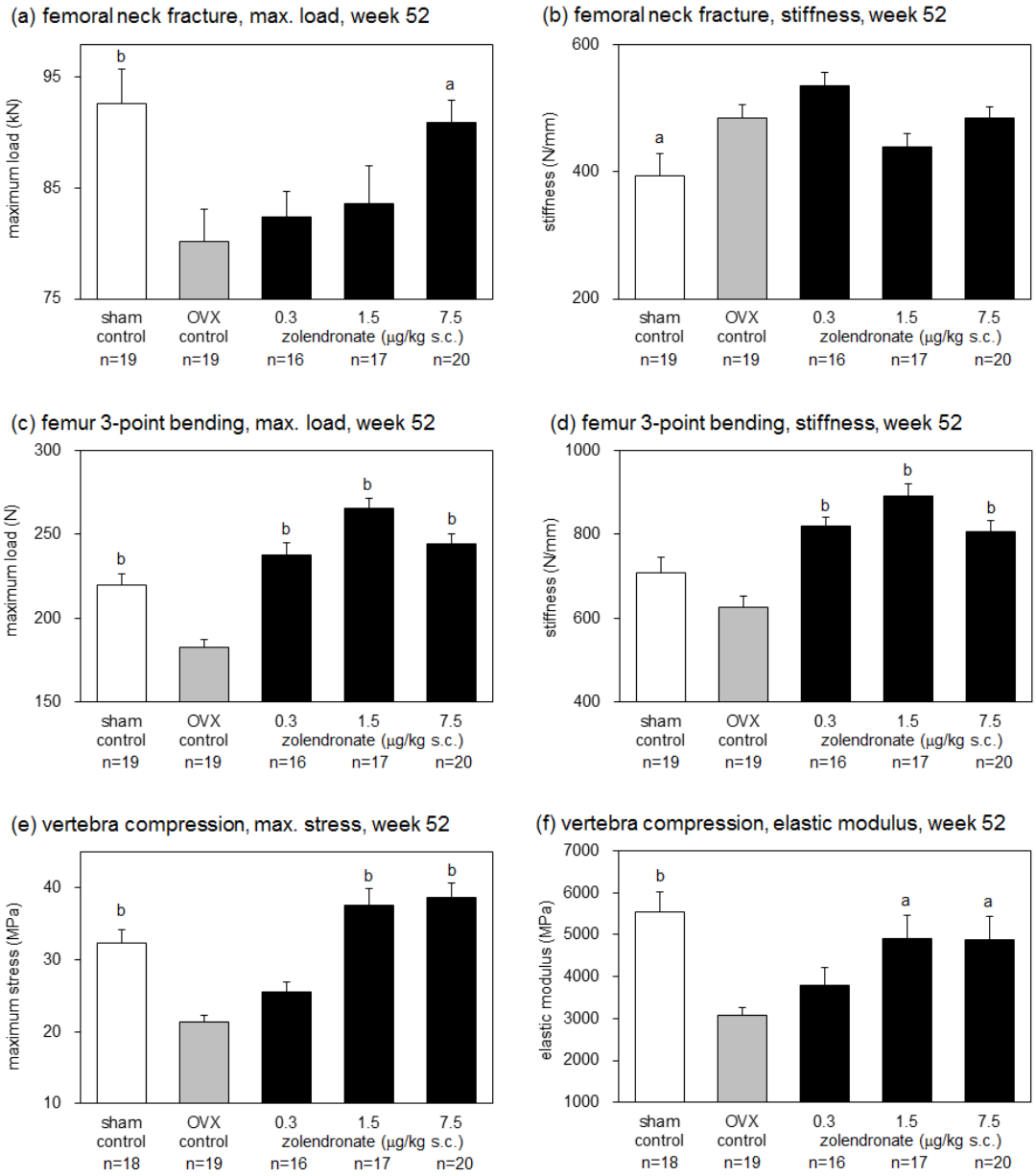


図 2-8　ゾレドロン酸反復皮下投与 52 週後の OVX ラットの骨強度への作用

(a), (b) femoral neck fracture：大腿骨頸部破断試験、(c), (d) femur 3-point bending：大腿骨骨幹部 3 点曲げ試験、(e), (f) vertebra compression：第 5 腰椎圧縮試験、maximum load：最大荷重、stiffness：剛性、maximum stress：最大応力、elastic modulus：弾性率、sham control：偽手術群、OVX control：OVX 対照群、zoledronate：ゾレドロン酸投与群
図中の値は平均値±標準誤差を示す（n：例数）。
a: $p<0.05$, b: $p<0.01$; OVX 対照群との有意差（Dunnett 検定）
（[4.2.1.1.2-1] Table 24、Table 25 および Table 26 より作成）

[2] 骨塩量および骨密度

ゾレドロン酸は、投与開始後 52 週において、全用量で、OVX 対照群に比べ全身骨塩量（手術前値からの変動量）を増加させた。ゾレドロン酸は、投与開始後 52 週において、1.5 および 7.5 μg/kg の投与で、OVX による腰椎骨密度の減少を抑制し、大腿骨骨密度（手術前値からの変動量）を OVX 対照群に比べ増加させた。なお、OVX 対照群でも OVX 前に

比べ全身骨塩量および大腿骨骨密度の増加が認められた。図 2-9 には投与開始後 52 週時点の結果のみを示したが、投与開始後 17 および 32 週においても同様の傾向を示した。

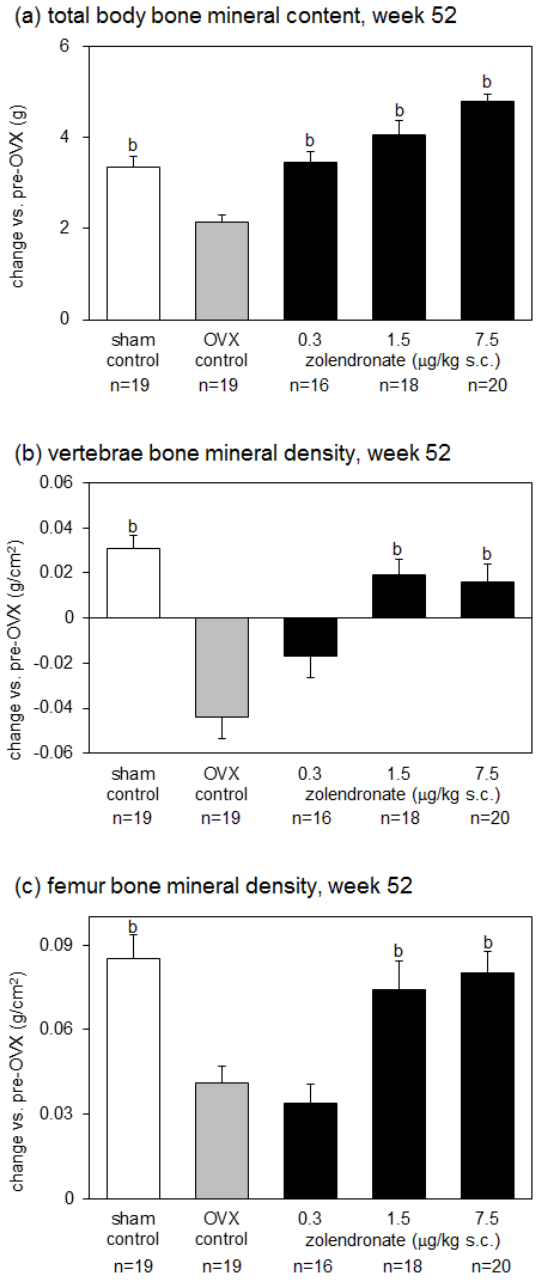


図 2-9　ゾレドロン酸反復皮下投与 52 週後の OVX ラットの骨塩量および骨密度への作用

(a) total body bone mineral content：全身骨塩量、(b) vertebrae bone mineral density：腰椎骨密度、(c) femur bone mineral density：大腿骨骨密度、change vs. pre-OVX：OVX 手術前値に対する変動量、sham control：偽手術群、OVX control：OVX 対照群、zoledronate：ゾレドロン酸投与群
図中の値は平均値±標準誤差を示す（n：例数）。
a: $p<0.05$, b: $p<0.01$; OVX 対照群との有意差（Dunnett 検定）
（[4.2.1.1.2-1] Table 9 より作成）

[3] 骨組織形態計測パラメータ

ゾレドロン酸は、OVX による脛骨近位骨幹端部の海綿骨骨量、骨梁数および骨梁連結点数の減少を用量依存的に抑制し、OVX による骨梁間隙の増加を用量依存的に抑制した（図2-10）。また、ゾレドロン酸は、骨形成速度および骨石灰化速度を OVX 対照群に比べ抑制した。ゾレドロン酸は、骨吸収面には明らかな作用を示さなかった。ゾレドロン酸は、偽手術群および OVX 対照群に比べ脛骨近位骨幹端部の成長板を肥厚させなかった。

ゾレドロン酸は、第 2 あるいは第 4 腰椎の骨組織形態計測においても、脛骨近位骨幹端部とほぼ同様の作用を示した。

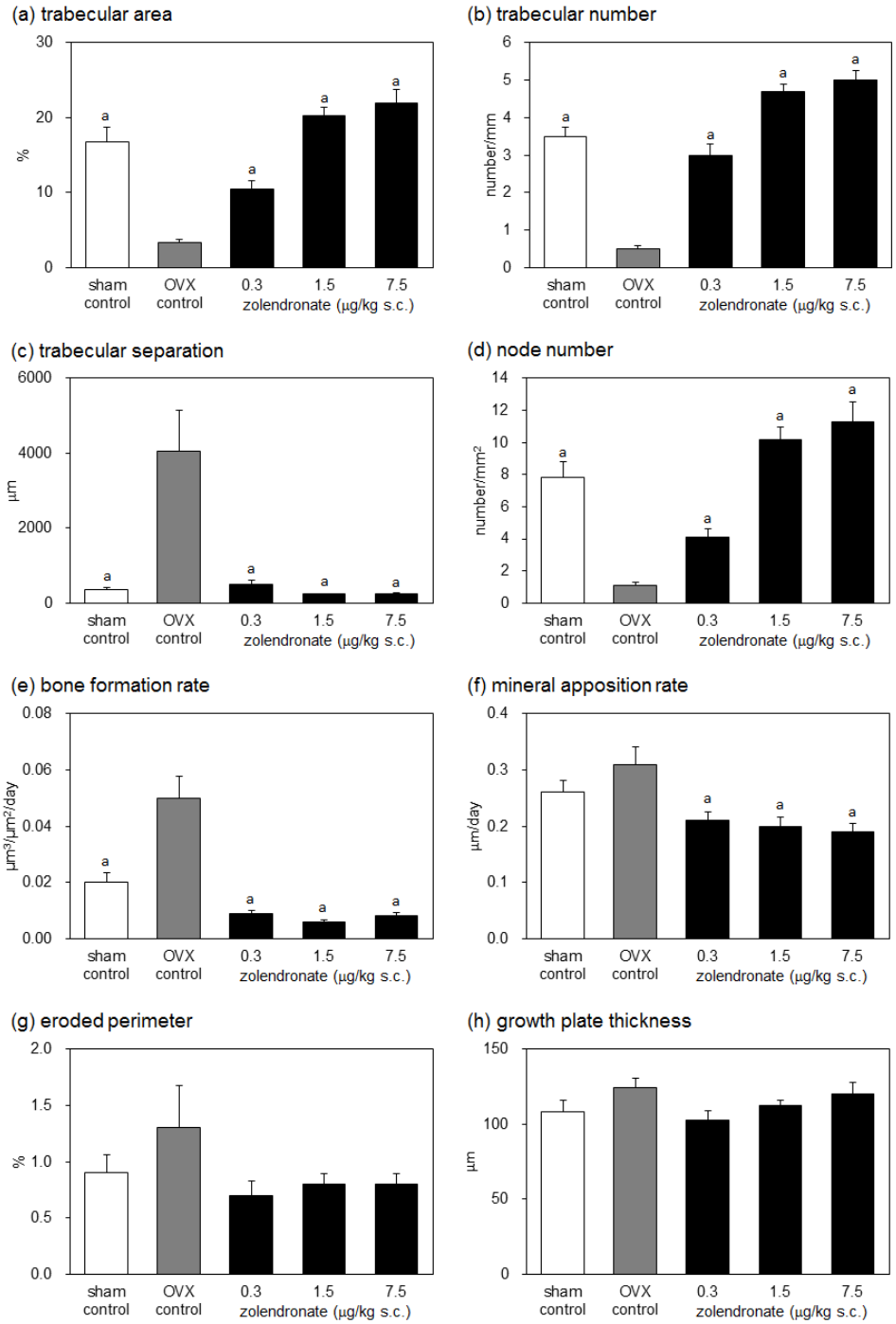


図 2-10　ゾレドロン酸反復皮下投与 52 週後の OVX ラットの脛骨近位骨幹端部骨組織形態計測パラメータへの作用

(a) trabecular area：海綿骨骨量、(b) trabecular number：骨梁数、(c) trabecular separation：骨梁間隙、(d) node number：骨梁連結点数、(e) bone formation rate：骨形成速度、(f) mineral apposition rate：骨石灰化速度、(g) eroded perimeter：骨吸収面、(h) growth plate thickness：成長板厚、sham control：偽手術群、OVX control：OVX 対照群、zoledronate：ゾレドロン酸投与群
図中の値は平均値±標準誤差を示す（例数 10）。
a: $p<0.05$; OVX 対照群との有意差（Bonferroni 補正による Mann-Whitney 検定）
（[4.2.1.1.2-2] Table1、Table2、Table4 および Table5 より作成）

[4] 骨代謝マーカー

ゾレドロン酸は、投与開始後 16 週において、全用量で、OVX による血清中オステオカルシン濃度の増加を抑制した（図 2-11）。投与開始後 51 週においては、ゾレドロン酸は、血清中オステオカルシン濃度に明確な作用を及ぼさず、OVX による血清中オステオカルシン濃度の増加も認められなかった。ゾレドロン酸は、投与開始後 16 週および 51 週において、OVX による尿中 DPD/クレアチニン比の増加を用量依存的に抑制した。

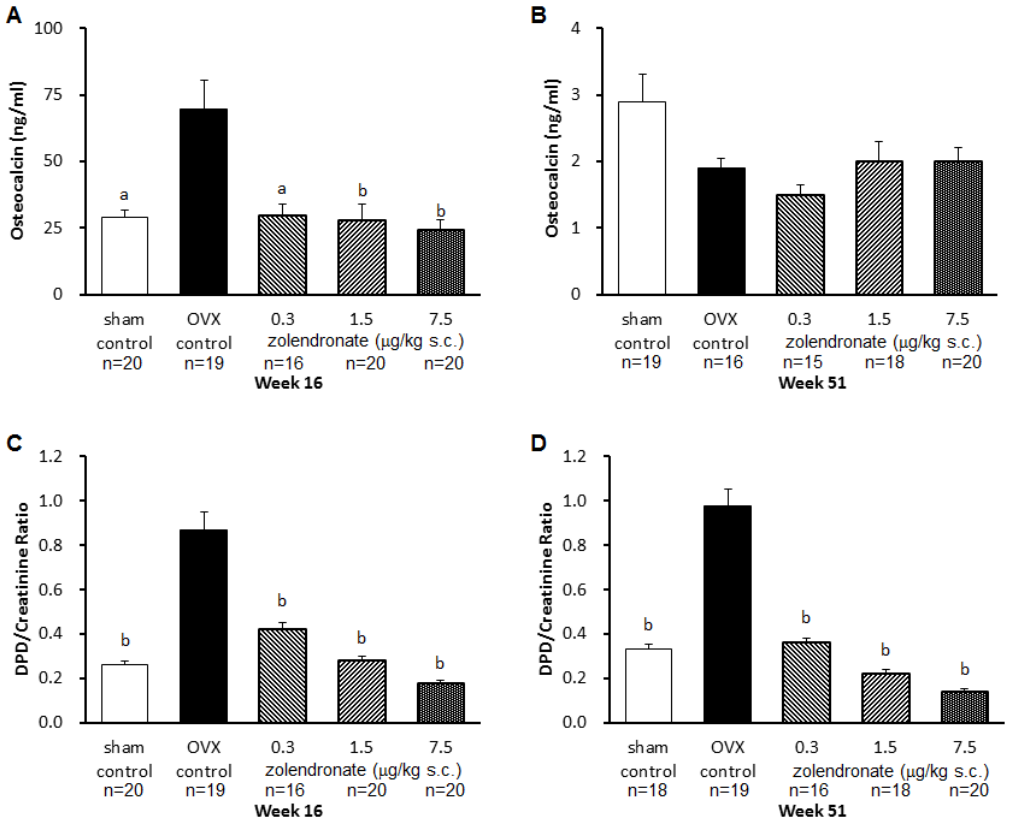


図 2-11　ゾレドロン酸反復皮下投与 16 週および 51 週後の OVX ラットの骨代謝マーカーへの作用

Osteocalcin：オステオカルシン濃度、DPD/creatinine ratio：DPD/クレアチニン比、sham control：偽手術群、OVX control：OVX 対照群、zoledronate：ゾレドロン酸投与群
図中の値は平均値±標準誤差を示す（n：例数）。
a: $p<0.05$, b: $p<0.01$; OVX 対照群との有意差（Dunnett 検定）
（[4.2.1.1.2-1] Table 16、Table 17、Table 19 および Table 20 より作成）

2.2.3 サル閉経後骨粗鬆症モデルにおける長期反復皮下投与の作用

資料番号：［4.2.1.1.3-1］参、［4.2.1.1.3-2］参、［4.2.1.1.3-3］参、［4.2.1.1.3-4］参

10.1～19.9 歳の雌性アカゲザルに OVX を施し、ゾレドロン酸 0.5、2.5 および 12.5 μg/kg を手術日から週 1 回 69 週間反復皮下投与した。OVX 対照群および無処置群には、生理食塩水を投与した。投与開始 69 週後に、大腿骨、脛骨および腰椎を摘出し、大腿骨頸部破断試験、脛骨骨幹部 3 点曲げ試験および腰椎圧縮試験により骨強度を測定した。また、投与開始 13、26、39、

52 および 69 週後の生体における全身骨塩量ならびに第 2～第 4 腰椎、橈骨骨幹部、橈骨遠位部、大腿骨近位部、大腿骨頸部および大腿骨転子部の骨密度を DXA により測定した。

投与開始当日および 26 週後には、骨生検により腸骨および肋骨を一部採取し、試験終了時には、第 10 胸椎、大腿骨、橈骨および肋骨を摘出し、骨組織形態計測により骨微細構造および骨代謝回転をそれぞれ評価した。第 10 胸椎、腸骨、橈骨および大腿骨近位部については海綿骨を、大腿骨骨幹部、大腿骨頸部、橈骨および肋骨については皮質骨を評価した。骨組織採取の 5 日前および 15 日前に、標識物質を投与して、骨石灰化面の標識を行った。なお、標識物質は、投与開始日の骨生検にはカルセインを、投与開始後 26 週の骨生検にはオキシテトラサイクリンを、試験終了時の骨摘出にはキシレノールオレンジを用いた。

投与開始 13、26、39、52 および 69 週後に血液および尿を採取し、骨形成マーカーである血清中 BAP 活性および骨吸収マーカーである尿中 NTX 排泄量を測定した。

[1] 骨強度試験

大腿骨頸部破断試験では、ゾレドロン酸は、12.5 μg/kg の投与により、大腿骨頸部の剛性を増加させた（図 2-12）。

一方、大腿骨頸部、脛骨骨幹部および腰椎の最大荷重ならびに脛骨骨幹部および腰椎の剛性については、ゾレドロン酸 2.5 あるいは 12.5 μg/kg の投与により概ね高値を示したが、ゾレドロン酸投与による明らかな作用は認められなかった（図 2-12）。

なお、OVX 対照群では、大腿骨頸部、脛骨骨幹部および腰椎について、最大荷重および剛性が概ね低値を示したが、OVX による明らかな作用は認められなかった（図 2-12）。

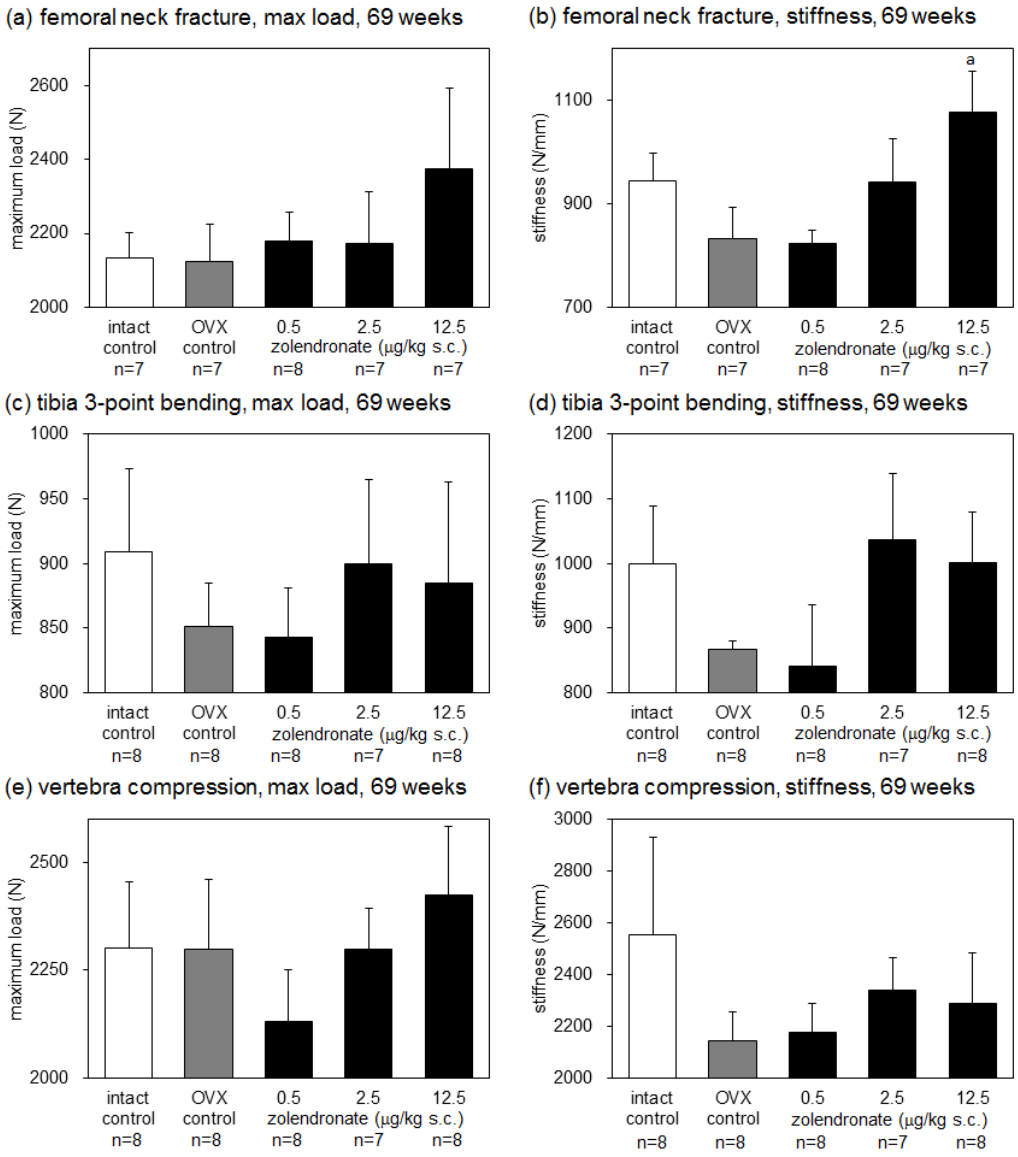


図 2-12　ゾレドロン酸反復皮下投与 69 週後の OVX サルの骨強度への作用

(a), (b) femoral neck fracture：大腿骨頸部破断試験、(c), (d) tibia 3-point bending：脛骨骨幹部 3 点曲げ試験、(e), (f) vertebra compression：腰椎圧縮試験、maximum load：最大荷重、stiffness：剛性、intact control：無処置群、OVX control：OVX 対照群、zoledronate：ゾレドロン酸投与群
図中の値は平均値±標準誤差（n：例数）を示す。a: $p<0.05$; OVX 対照群との有意差（トレンド検定）
（[4.2.1.1.3-2] Appendix H の Table 11、Table 12 および Table 13 より作成）

[2] 骨塩量および骨密度

ゾレドロン酸は、投与開始後 69 週において、OVX による全身骨塩量および腰椎骨密度の減少を用量依存的に抑制し、OVX 前から比べた橈骨骨幹部の骨密度の減少を抑制した（図 2-13）。12.5 μg/kg 投与群では、全身骨塩量、腰椎骨密度および橈骨骨幹部骨密度のいずれにおいても OVX 対照群に比べ高値（手術前値からの変化率）を示した。なお、OVX による橈骨骨幹部の骨密度への影響は認められなかった。ゾレドロン酸は、投与開始後 13、26、39 および 52 週においても同様の傾向を示した。また、橈骨遠位部の骨密度についても同様の傾向を示した。

一方、大腿骨近位部、大腿骨頸部および大腿骨転子部の骨密度は、投与開始後 26 週までは OVX による骨密度の減少が認められたが、投与開始後 39 週以降、OVX 対照群で骨密度が増加し、ゾレドロン酸による作用が明確にならなかった。しかし、12.5 µg/kg 投与群では、69 週間にわたり OVX 対照群に比べ高い骨密度を示す傾向が認められた。

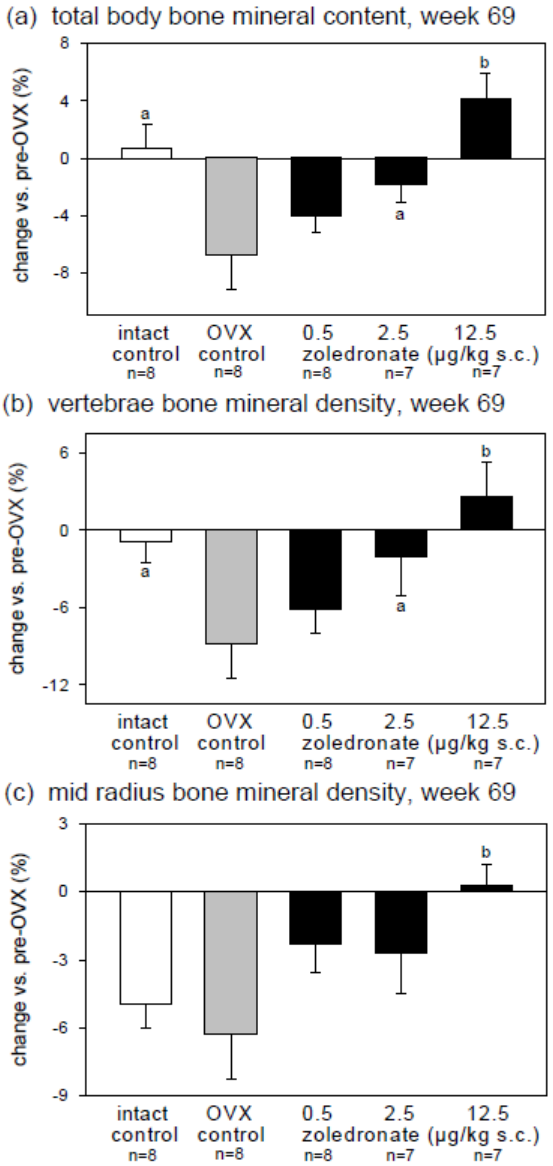


図 2-13　ゾレドロン酸反復皮下投与 69 週後の OVX サルの骨塩量および骨密度への作用

(a) total body bone mineral content : 全身骨塩量、(b) vertebrae bone mineral density : 腰椎骨密度、(c) mid radius bone mineral density : 橈骨骨幹部骨密度、change vs. pre-OVX : OVX 前に対する変化率、intact control：無処置群、OVX control：OVX 対照群、zoledronate：ゾレドロン酸投与群
図中の値は平均値±標準誤差を示す（n：例数）。
a: $p<0.05$, b: $p<0.01$; OVX 対照群との有意差（トレンド検定）
（[4.2.1.1.3-1] Figure and Table 19、Figure and Table 20 および Figure and Table 22 より作成）

[3] 骨組織形態計測パラメータ

投与開始 69 週後の第 10 胸椎において、ゾレドロン酸は、海綿骨骨量、骨梁数、骨梁幅および骨石灰化速度に明らかな作用を示さなかったが、骨単位活性化率および骨形成速度を全用量で抑制した（図 2-14）。大腿骨頸部、橈骨および投与開始 26 週後の腸骨の海綿骨においても、ゾレドロン酸はほぼ同様の作用を示した。なお、図 2-14 には第 10 胸椎の結果を示した。

投与開始 69 週後の大腿骨骨幹部皮質骨において、ゾレドロン酸は、OVX による多孔化率および骨形成速度の亢進を用量依存的に抑制し、ハバース骨の割合に明確な作用を示さなかった（図 2-15）。ゾレドロン酸は、大腿骨頸部、橈骨および肋骨の皮質骨においてもほぼ同様の作用を示した。ゾレドロン酸は、大腿骨骨幹部、橈骨および投与開始 26 週後の肋骨の皮質骨において、骨石灰化速度に明らかな作用を示さなかったが、大腿骨頸部および投与開始 69 週後の肋骨の皮質骨において骨石灰化速度を抑制した。なお、図 2-15 には大腿骨骨幹部の結果を示した。

組織像の観察結果から、海綿骨および皮質骨のどの部位でも、ゾレドロン酸投与による骨石灰化の障害は認められず、骨および骨髄組織への異常所見も認められなかった。

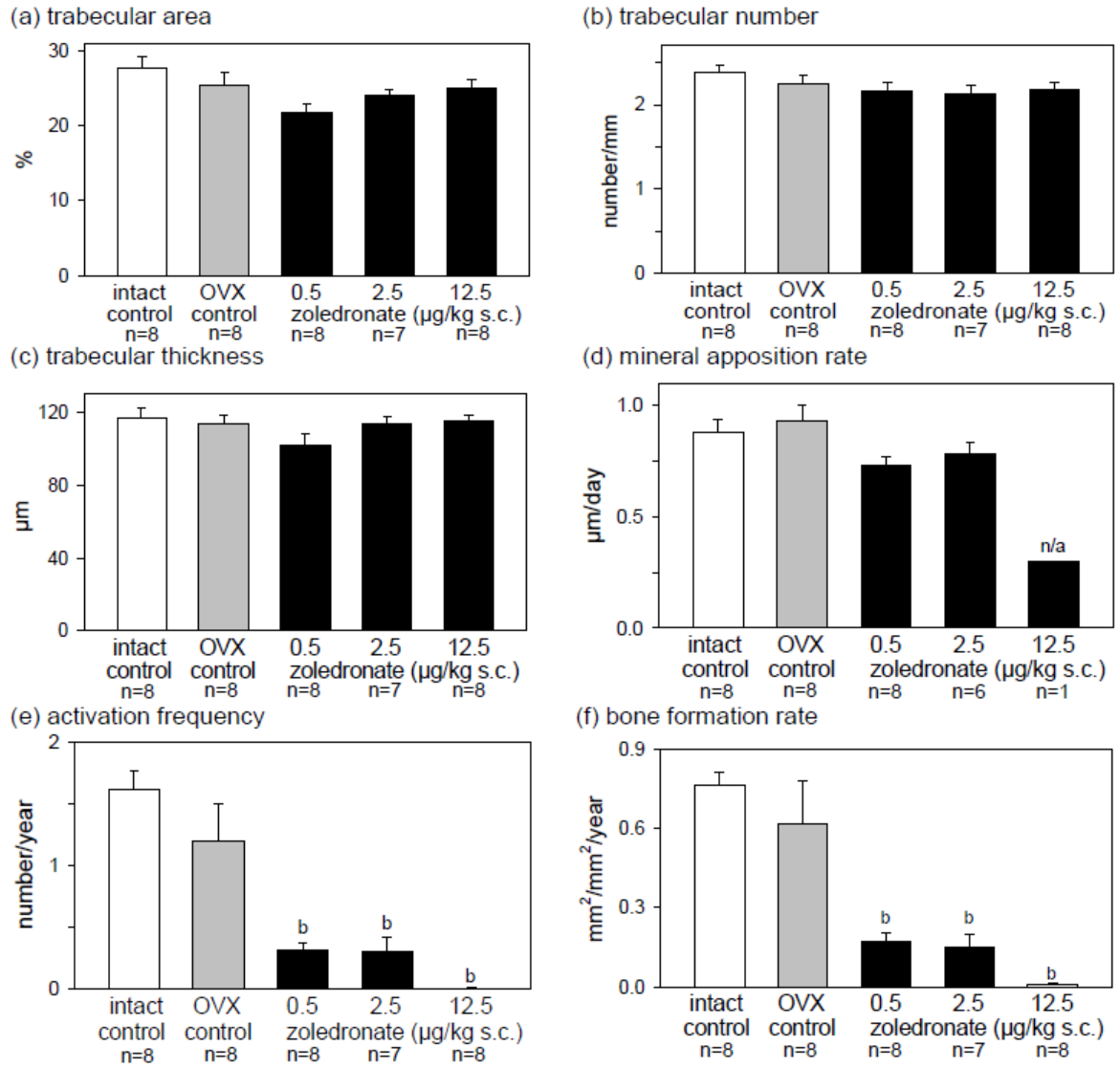


図 2-14　ゾレドロン酸反復皮下投与 69 週後の OVX サルの第 10 胸椎海綿骨の骨組織形態計測パラメータへの作用

(a) trabecular area：海綿骨骨量、(b) trabecular number：骨梁数、(c) trabecular thickness：骨梁幅、(d) mineral apposition rate：骨石灰化速度、(e) activation frequency：骨単位活性化率、(f) bone formation rate：骨形成速度、intact control：無処置群、OVX control：OVX 対照群、zoledronate：ゾレドロン酸投与群
図中の値は平均値±標準誤差（n：例数）を示す。
a: $p<0.05$, b: $p<0.01$, n/a.: 算出不可; OVX 対照群との有意差（Dunnett 検定）
（[4.2.1.1.3-4] 別紙 3 より作成）

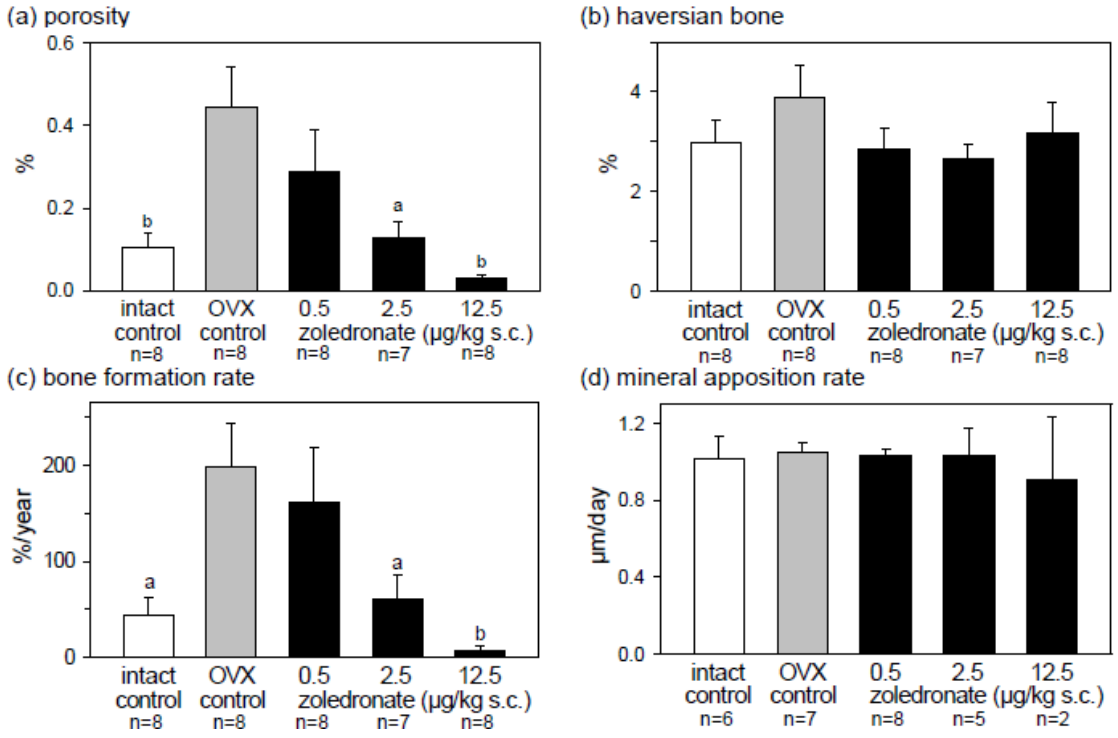


図 2-15　ゾレドロン酸反復皮下投与 69 週後の OVX サルの大腿骨骨幹部皮質骨の骨組織形態計測パラメータへの作用

(a) porosity：多孔化率、(b) haversian bone：ハバース骨率、(c) bone formation rate：骨形成速度、(d) mineral apposition rate：骨石灰化速度、intact control：無処置群、OVX control：OVX 対照群、zoledronate：ゾレドロン酸投与群
図中の値は平均値±標準誤差（n：例数）を示す。
a: $p<0.05$, b: $p<0.01$; OVX 対照群との有意差（Dunnett 検定）
（[4.2.1.1.3-4] 別紙 4 より作成）

[4] 骨代謝マーカー

ゾレドロン酸は、投与開始 13、26、39、52 および 69 週後において、血清中 BAP 活性および尿中 NTX/クレアチニン比を OVX 対照群に比べ用量依存的に抑制した（図 2-16）。

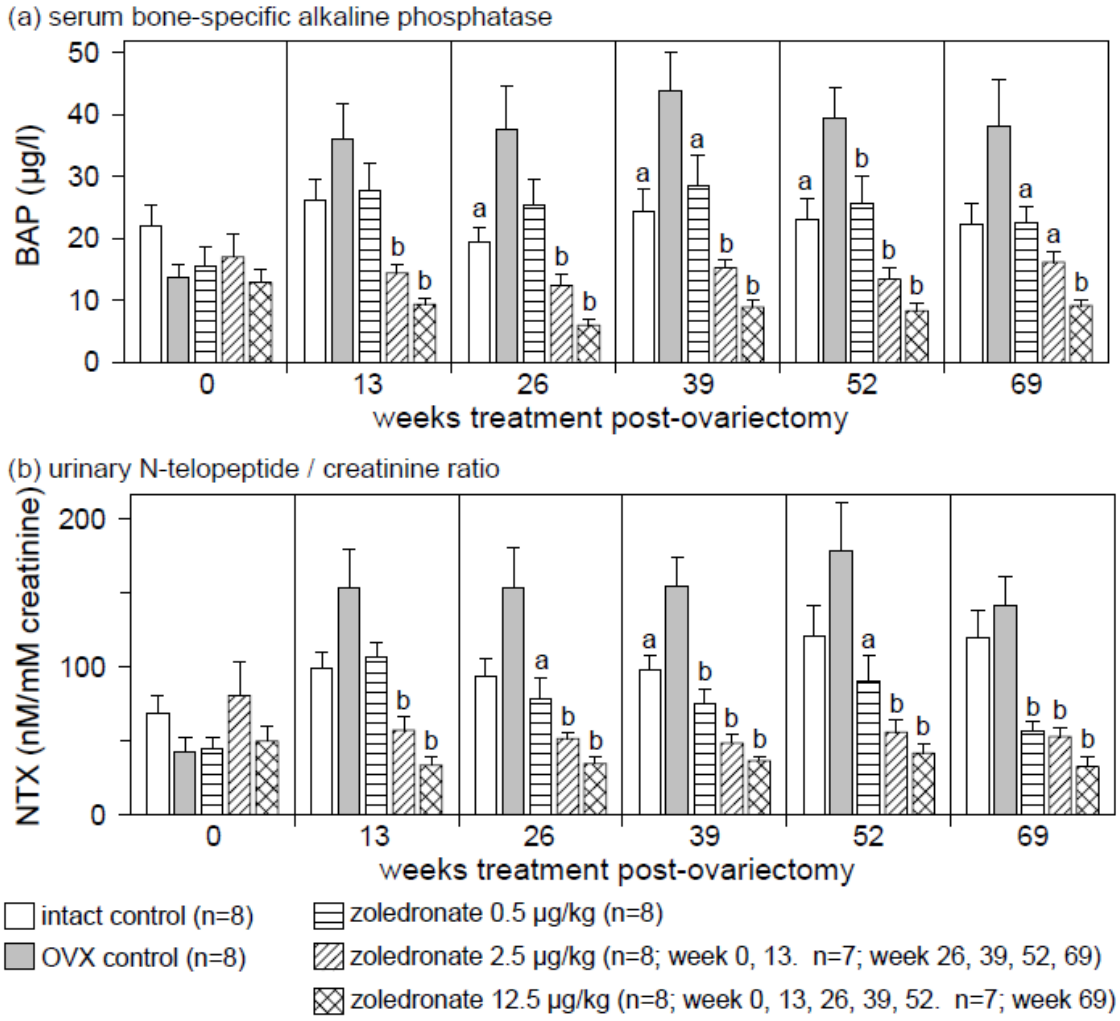


図 2-16　ゾレドロン酸反復皮下投与による OVX サルの骨代謝マーカーへの作用

(a) serum bone-specific alkaline phosphatase：血清中 BAP、(b) urinary N-telopeptide / creatinine ratio：尿中 NTX /クレアチニン比、weeks treatment post-ovariectomy：OVX 後の投与経過時間（週）
intact control：無処置群、OVX control：OVX 対照群、zoledronate：ゾレドロン酸投与群
図中の値は平均値±標準誤差を示す（n：例数）。a: $p<0.05$, b: $p<0.01$; OVX 対照群との有意差（トレンド検定）
（[4.2.1.1.3-1] Figure & Table 10 および Figure & Table 15 より作成）

2.3 骨折治癒に及ぼす影響

2.3.1 ラット閉鎖骨折治癒モデルにおける作用

資料番号：［4.2.1.1.4］参

8～9 週齢の雄性 Wistar 系ラットの右大腿骨に閉鎖骨折処置を施した後、ゾレドロン酸 100 µg/kg を骨折時、骨折後 1 週あるいは骨折後 2 週に単回静脈内投与した。また、対照群には、骨折時に生理食塩水を単回静脈内投与し、骨折時局所投与群には、骨折時にゾレドロン酸 10 µg/kg を骨折部位へ局所投与した。骨折後 6 週に右大腿骨を摘出し、骨折部位のねじり強度、骨塩量、骨量、骨密度および極慣性モーメントを測定した。

ゾレドロン酸は、静脈内投与全群で、ねじり強度における最大トルクを対照群に比べ増加させた（表 2-1）。ゾレドロン酸は、骨折後 1 週および骨折後 2 週の静脈内投与により、対照群

に比べ剛性を増加させた。また、ゾレドロン酸は吸収エネルギーには作用を及ぼさなかった。ゾレドロン酸は、すべての投与群で骨塩量、骨量および慣性極モーメントを増加させたが、骨密度には作用を及ぼさなかった。（表 2-2）。

表 2-1 ゾレドロン酸単回投与によるラット閉鎖骨折モデル骨折部位の骨強度への作用

試験群	例数	最大トルク（N·m）	剛性（N·m/deg）	吸収エネルギー（N·m·deg）
対照群	12	0.48 ± 0.11	0.029 ± 0.009	4.8 ± 1.7
骨折時 10 µg/kg 局所投与群	12	0.60 ± 0.15	0.033 ± 0.011	6.1 ± 2.0
骨折時 100 µg/kg 静脈内投与群	13	0.62 ± 0.16 [a]	0.038 ± 0.010	6.1 ± 2.5
骨折後 1 週 100 µg/kg 静脈内投与群	13	0.69 ± 0.17 [a]	0.044 ± 0.016 [a]	6.5 ± 2.6
骨折後 2 週 100 µg/kg 静脈内投与群	12[*]	0.73 ± 0.15 [a]	0.039 ± 0.013 [a]	7.5 ± 2.5

[*]測定前の 1 検体に損傷が認められたため除外
表中の値は平均値±標準偏差を示す。
a：$p < 0.05$；対照群に対する有意差（one-way ANOVA 後の t 検定）
［4.2.1.1.4］Table 2 を改変。

表 2-2 ゾレドロン酸単回投与によるラット閉鎖骨折モデル骨折部位の骨塩量、骨量、骨密度および慣性極モーメントへの作用

試験群	例数	骨塩量（mg）	骨量（mm^3）	骨密度（mg/cm^3）	慣性極モーメント（mm^4）
対照群	12	134 ± 17	147 ± 16	908 ± 48	81 ± 18
骨折時10 µg/kg局所投与群	12	189 ± 18 [a]	203 ± 30 [a]	936 ± 54	110 ± 33 [a]
骨折時 100 µg/kg 静脈内投与群	13	200 ± 23 [a]	222 ± 36 [a]	904 ± 49	125 ± 33 [a]
骨折後 1 週 100 µg/kg 静脈内投与群	13	245 ± 31 [a]	262 ± 47 [a]	945 ± 55	159 ± 61 [a]
骨折後 2 週 100 µg/kg 静脈内投与群	13	259 ± 50 [a]	283 ± 55 [a]	914 ± 30	199 ± 69 [a]

表中の値は平均値±標準偏差を示す。
a：$p < 0.05$；対照群に対する有意差（one-way ANOVA 後の t 検定）
［4.2.1.1.4］Table 2 を改変。

2.3.2 ウサギ骨切延長術モデルにおける短期的作用

資料番号：［4.2.1.1.5］参

8 週齢の雄性 NZW 系ウサギに右脛骨骨幹部の骨切術を施した後、2 週間で 10.5 mm の骨延長を行った。ゾレドロン酸 100 µg/kg を骨切術時に単回静脈内投与した群ならびにゾレドロン酸 100 µg/kg を骨切術時および骨延長終了時の 2 回静脈内投与した群を設け、対照群には生理食塩水を骨切術時に単回静脈内投与した。骨切術後 2、4 および 6 週に、DXA により生体で骨延長部位の骨塩量を測定した。骨切術後 6 週に右脛骨を摘出し、pQCT により骨延長部位の骨量を測定し、4 点曲げ試験により骨延長部位の骨強度を測定した。また、骨延長部位の骨組織形態計測を実施した。

骨切術後 6 週において、ゾレドロン酸は単回投与および 2 回投与により、骨延長部位の骨量を対照群に比べ増加させた（図 2-17）。骨切術後 4 週および 6 週において、ゾレドロン酸は単回投与および 2 回投与により、骨延長部位の骨塩量を対照群に比べ増加させた（図 2-17 には骨切術後 6 週の結果のみ示した）。また、ゾレドロン酸は、骨延長部位の最大荷重を、単回投与により対照群に比べ増加させる傾向を示し、2 回投与により対照群に比べ増加させた。骨延長部位の骨組織形態計測では、ゾレドロン酸は単回投与および 2 回投与により海綿骨骨量および骨梁数を増加させた（表 2-3）。

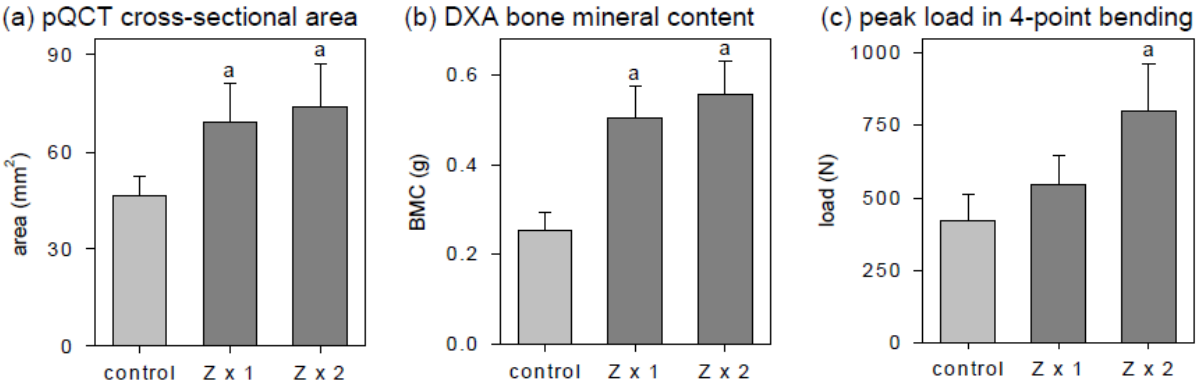


図 2-17 骨切術後 6 週におけるゾレドロン酸静脈内投与によるウサギ骨切延長術モデル骨延長部位の骨量、骨塩量および骨強度への作用

(a) pQCT cross-sectional area：pQCT 横断面の骨量、(b) DXA bone mineral content：DXA 骨塩量、(c) peak load in 4-point bending：4 点曲げによる最大荷重、area：面積、BMC：骨塩量、load：荷重、control：対照群、Z ×1：ゾレドロン酸 100 μg/kg 1 回投与群、Z × 2：ゾレドロン酸 100 μg/kg 2 回投与群
図中の値は平均値±95%信頼区間を示す｛(a), (c)：例数 9（技術的問題により各群 1 検体ずつを除外した）、(b)：例数 14｝。
a: $p < 0.01$；対照群に対する有意差（one-way ANOVA 後の t 検定）
［4.2.1.1.5］Figure 2 および Figure3 を改変。

表 2-3 骨切術後 6 週におけるゾレドロン酸静脈内投与によるウサギ骨切延長術モデル骨延長部位の骨組織形態計測パラメータへの作用

Treatment group	trabecular bone volume (%)	trabecular number (number/mm)	trabecular thickness (μm)
Saline control	37.5 ± 2.8	4.5 ± 0.2	83.6 ± 7.8
Zoledronate, 1 x 100 μg/kg i.v.	49.3 ± 2.8 (a)	5.8 ± 0.2 (a)	85.8 ± 5.0
Zoledronate, 2 x 100 μg/kg i.v.	55.3 ± 3.0 (a)	7.2 ± 0.2 (a)	77.4 ± 4.4

Treatment group：投与群、trabecular bone volume：海綿骨骨量、trabecular number：骨梁数、trabecular thickness：骨梁幅、Saline control：対照群、Zoledronate, 1 x 100 μg/kg i.v.：ゾレドロン酸 1 回投与群、Zoledronate, 2 x 100 μg/kg i.v.：ゾレドロン酸 2 回投与群
表中の値は平均値±標準誤差を示す｛例数 4（pQCT および強度試験に用いなかった 4 検体）｝。
(a): $p < 0.01$；対照群に対する有意差（one-way ANOVA 後の t 検定）
［4.2.1.1.5］Table 2 を改変。

2.3.3 ウサギ骨切延長術モデルにおける長期的作用

資料番号：［4.2.1.1.6］参

8 週齢の雄性 NZW 系ウサギに右側脛骨骨幹部の骨切術を施した後、2 週間で計 10 mm の骨延長を行った。ゾレドロン酸 100 µg/kg あるいは生理食塩水を骨切術時および骨延長終了時の 2 回静脈内投与した。骨切術後 2、4、6、12、18、25、32 および 44 週に、DXA により生体で骨延長部位の骨密度および骨塩量を測定した。骨切術後 2、4、6、18 および 44 週に右側脛骨を摘出し、X 線撮影および骨組織像による解析を実施した。

ゾレドロン酸は、骨延長部位の骨密度を、骨切術後 4 週および 6 週において対照群に比べ増加させ、骨切術後 12 週および 18 週において対照群に比べ増加させる傾向を示したが、骨切術後 18 週から 44 週にかけて、対照群との差が縮まり、骨切術後 44 週では対照群との間に差は認められなくなった（図 2-18）。ゾレドロン酸は、骨延長部位の骨塩量を、骨切術後 4、6 および 18 週において対照群に比べ増加させ、骨切術後 12 週において対照群に比べ増加させる傾向を示したが、骨切術後 18 週から 44 週にかけて、対照群との差が縮まり、骨切術後 44 週では対照群との間に差は認められなくなった。

骨切術後 6 週の X 線撮影像において、ゾレドロン酸投与群の骨延長部位に、対照群より大きな仮骨形成および X 線吸収強度の増加が認められた（図 2-19）。骨切術後 18 週の対照群では、骨切術時の皮質骨端はほぼ消失していたが、ゾレドロン酸投与群では、皮質骨端の残存が認められた。しかし、骨切術後 44 週のゾレドロン酸投与群では、対照群と差がない骨癒合像が認められた。

骨切術後 4、6 および 18 週におけるゾレドロン酸投与群の骨組織像では、仮骨中の軟骨基質の消失が対照群に比べ遅延していた。しかし、骨切術後 44 週では、ゾレドロン酸投与群で軟骨基質が一部残存していたものの、両群共に層板骨の形成が認められ、両群で同等の骨組織像を示した。

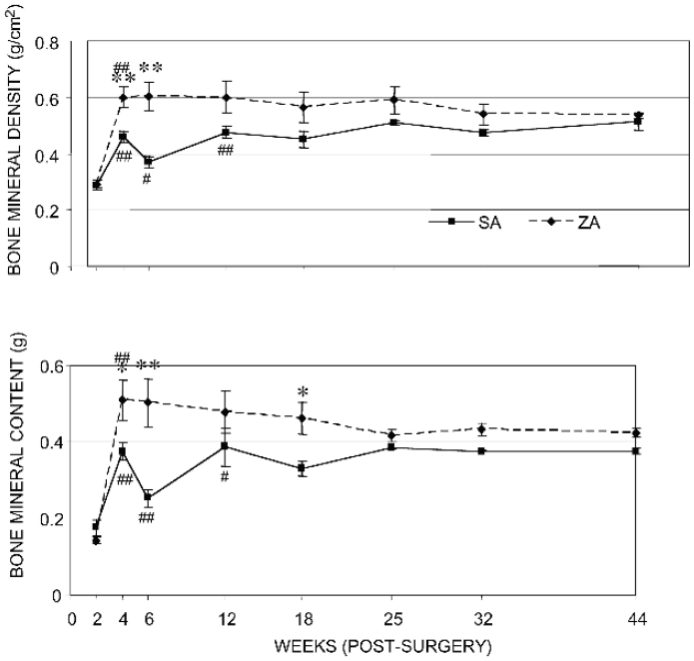


図 2-18 ゾレドロン酸静脈内投与によるウサギ骨切延長術モデル骨延長部位の骨密度および骨塩量への作用

BONE MINERAL DENSITY : 骨密度、BONE MINERAL CONTENT : 骨塩量、実線 ; SA : 対照群（生理食塩水投与群）、点線 ; ZA : ゾレドロン酸 100 µg/kg 投与群、WEEKS(POST-SURGERY) : 骨切術後の経過時間（週）
図中の値は平均値±標準偏差を示す（例数 18 : 2 週、例数 14 : 4 週、例数 10 : 6 週、例数 6 : 12 および 18 週、例数 2 : 25、32 および 44 週）。
**: $p < 0.01$, *: $p < 0.05$；対照群に対する有意差、（two-way ANOVA）、##: $p < 0.01$, #: $p < 0.05$；一時点前の測定値に対する有意差、（one-way ANOVA）
［4.2.1.1.6］Fig.2 を改変。

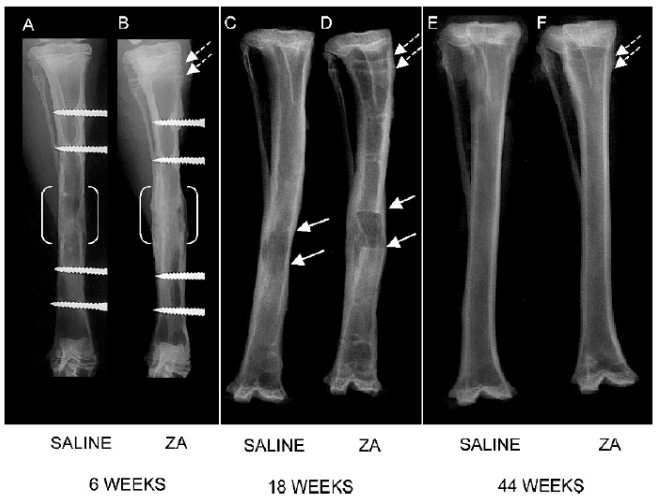


図 2-19 ゾレドロン酸静脈内投与によるウサギ骨切延長術モデルの骨癒合への作用

SALINE：対照群（生理食塩水投与群）、ZA：ゾレドロン酸 100 µg/kg 投与群、〔 〕：骨延長部位、矢印：骨切術による皮質骨端、点線矢印：骨硬化線（一次海綿骨の骨吸収抑制を示す痕跡）
［4.2.1.1.6］Fig.1 を改変。

3. 副次的薬理試験

3.1 T 細胞の増殖促進作用

資料番号：［4.2.1.2.1］参

4 名の健常人の血液から採取した PBMC を 1 μmol/L のゾレドロン酸、アレンドロン酸、イバンドロン酸、パミドロン酸あるいはクロドロン酸と、組換えヒト IL-2 の存在下で 7 日間培養し、γ,δ -T 細胞の増殖を細胞自動解析分離装置（FACS）により測定した。ゾレドロン酸は、最も強く γ,δ -T 細胞の増殖を促進した（図 3-1）。

また、ゾレドロン酸は、FPPS を阻害し（2.1 項）、メバロン酸経路で FPPS の上流に位置する IPP および DMAPP の細胞内濃度を上昇させると考えられるため、γ,δ -T 細胞の増殖促進作用に対する IPP および DMAPP の作用を検討した。PBMC を 1 μmol/L の IPP あるいは DMAPP と、組換えヒト IL-2 の存在下で 7 日間培養し、γ,δ -T 細胞の増殖を細胞自動解析分離装置により測定した。IPP および DMAPP は、γ,δ -T 細胞の増殖を促進した（図 3-2）。

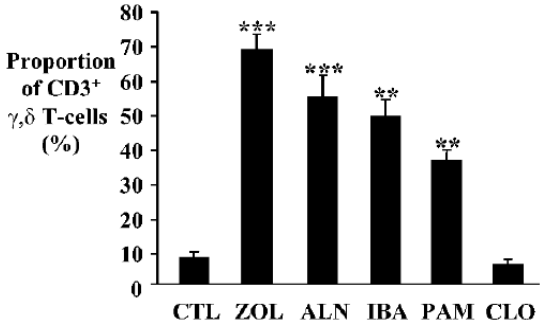


図 3-1 ビスホスホネートによる γ,δ-T 細胞の増殖促進作用

proportion of $CD3^+$γ,δ T-cells：CD3 陽性 γ,δ -T 細胞の割合、CTL：対照群、ZOL：ゾレドロン酸 1 μmol/L 群、ALN：アレンドロン酸 1 μmol/L 群、IBA：イバンドロン酸 1 μmol/L 群、PAM：パミドロン酸 1 μmol/L 群、CLO：クロドロン酸 1 μmol/L 群
図中の値は平均値±標準誤差を示す（例数 4）。
***：p<0.001、**：p<0.01；対照群に対する有意差（One-way ANOVA 後の Bonferroni 補正による post hoc 検定）。
［4.2.1.2.1］Fig.2 を改変。

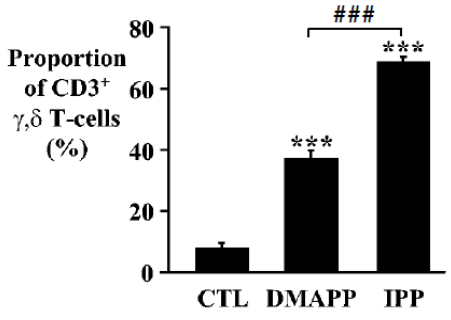


図 3-2 IPP あるいは DMAPP による γ,δ-T 細胞の増殖促進作用

proportion of $CD3^+$γ,δ T-cells：CD3 陽性 γ,δ -T 細胞の割合、CTL：対照群、DMAPP：DMAPP 1 μmol/L 群、IPP：IPP 1 μmol/L 群
図中の値は平均値±標準誤差を示す（例数 4）。
***：p<0.001；対照群に対する有意差、###：p<0.001；DMAPP、IPP 間の有意差（One-way ANOVA 後の Bonferroni 補正による post hoc 検定）。
［4.2.1.2.1］Fig.6 を改変。

4. 安全性薬理試験

新たな試験は実施していない。

5. 薬力学的薬物相互作用

5.1 骨形成促進薬との併用作用

資料番号：［4.2.1.4.1］参

8 週齢の雌性 Tif:RAIf ラットに OVX を施した 8 週後から、テリパラチド 30 μg/kg またはゾレドロン酸 0.5 μg/kg を単独に、あるいはその両剤を同時に、週 5 回 4 週間反復皮下投与した。無処置群および OVX 対照群には生理食塩水を投与した。投与期間終了の 2 日前に大腿骨遠位部骨密度および第 1～第 4 腰椎骨密度を DXA により生体で測定した。投与期間終了後、大腿骨を摘出し、大腿骨遠位 1/2 部分から分離した海綿骨中のカルシウムおよびハイドロキシプロリン含量を測定した。

ゾレドロン酸は、テリパラチドとの併用により、腰椎骨密度をテリパラチド単独群に比べ増加させ、大腿骨遠位部骨密度をテリパラチド単独群に比べ増加させる傾向を示した（図 5-1）。ゾレドロン酸は、大腿骨遠位海綿骨のカルシウム含量をテリパラチド単独群に比べ増加させ、大腿骨遠位海綿骨のハイドロキシプロリン含量をテリパラチド単独群に比べ増加させる傾向を示した。

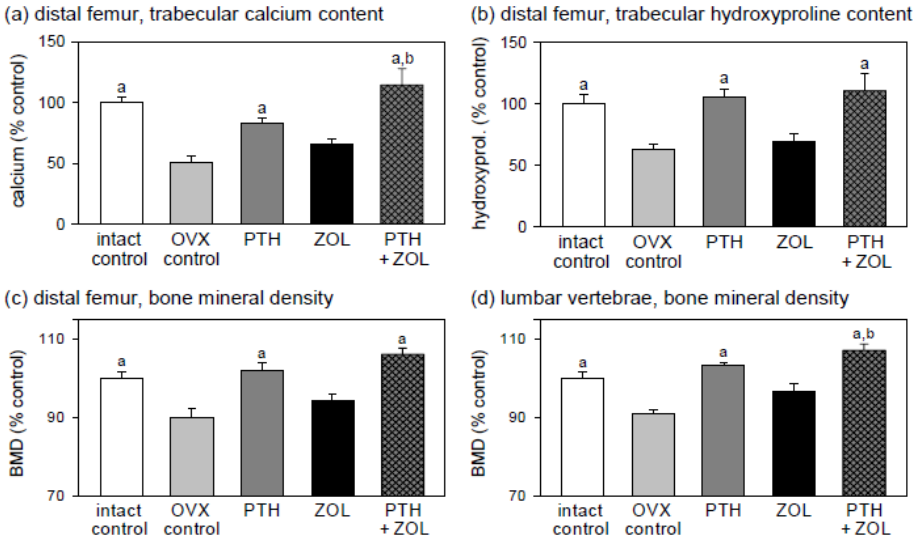


図 5-1 テリパラチドの骨形成促進作用に対するゾレドロン酸の作用

(a) distal femur, trabecular calcium content：大腿骨遠位部海綿骨カルシウム含量、(b) distal femur, trabecular hydroxyproline content：大腿骨遠位部海綿骨ハイドロキシプロリン含量、(c) distal femur, bone mineral density：大腿骨遠位部骨密度、(d) lumber vertebrae, bone mineral density：腰椎骨密度、intact control：無処置群、OVX control：OVX 対照群、PTH：テリパラチド 30 μg/kg 群、ZOL：ゾレドロン酸 0.5 μg/kg 群、PTH+ZOL：テリパラチド 30 μg/kg およびゾレドロン酸 0.5 μg/kg 併用群
図中の値は平均値±標準誤差を示す（例数 8）。
a: $p < 0.05$; OVX 対照群に対する有意差（Dunnett 検定）、b: $p < 0.05$; PTH 群に対する有意差（Dunnett 検定）
（［4.2.1.4.1.］Figure 1 および Figure 2 を改変）

6. 考察および結論

6.1 骨吸収抑制作用

ゾレドロン酸は、1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 により骨吸収が亢進したマウス頭蓋冠からのカルシウム遊離を濃度依存的に阻害し、その阻害活性はエチドロン酸、クロドロン酸、パミドロン酸およびアレンドロン酸に比べて最も強力であった。また、甲状腺・副甲状腺摘出ラットへの 1,25-ジヒドロキシビタミン D_3 投与により骨吸収が誘発されることで生じた高カルシウム血症に対して、ゾレドロン酸は、用量依存的なカルシウム濃度低下作用を示し、その活性はエチドロン酸、クロドロン酸、パミドロン酸、アレンドロン酸およびリセドロン酸と比べて最も強力であった。

ゾレドロン酸は、J774 マクロファージホモジネート由来 FPPS および組換え型ヒト FPPS を阻害した。また、ヒト骨芽細胞様細胞において、破骨細胞形成を抑制する因子である OPG の産生を増加させた。

ゾレドロン酸は、マウス骨髄細胞からの破骨細胞形成を阻害した。さらに、ヒト骨髄由来破骨細胞様細胞、ヒト巨細胞腫由来破骨細胞にアポトーシスを示す形態学的変化を誘導し、ウサギ破骨細胞にカスパーゼ-3 様プロテアーゼの活性化を誘導した。

また、ゾレドロン酸は、ウサギ破骨細胞において、蛋白プレニル化を阻害し、ゲラニルゲラニル基転移酵素の阻害剤は、ウサギおよびトリ破骨細胞の細胞骨格破綻および骨吸収活性抑制を示した。FPPS が介在する反応の下流ではゲラニルゲラニル基が生成され、ゲラニルゲラニル基転移酵素により、蛋白プレニル化が起こる。したがって、ゾレドロン酸は、FPPS の阻害を介した蛋白プレニル化の阻害により破骨細胞の機能を喪失させることが示唆された。

以上から、ゾレドロン酸は、破骨細胞の形成阻害、機能喪失およびアポトーシス誘導により、骨吸収抑制作用を示すと考えられた。

6.2 閉経後骨粗鬆症モデルの骨強度に対する作用

[1] ラット閉経後骨粗鬆症モデルにおける単回静脈内投与の作用

ゾレドロン酸は、100 および 500 μg/kg の単回静脈内投与により、投与後 32 週の OVX ラットの大腿骨遠位骨幹端部の最大荷重および大腿骨骨幹部の剛性の減少を抑制し、大腿骨骨幹部および腰椎の最大荷重を増加させた。一方、アレンドロン酸 200 μg/kg の単回静脈内投与は、OVX ラットの大腿骨骨幹部の最大荷重を増加させ、大腿骨骨幹部の剛性の減少を抑制したが、大腿骨遠位骨幹端部および腰椎の最大荷重および剛性には明確な作用を示さなかった。

ゾレドロン酸は、投与後 32 週間にわたり、OVX による脛骨近位部の横断面全骨密度、皮質骨厚および海綿骨骨密度の減少を用量依存的に抑制した。

投与後 32 週の OVX ラット脛骨近位骨幹端部において、ゾレドロン酸は、海綿骨骨量、骨梁幅、骨梁数、骨梁間隙、連結性密度および Structure model index の劣化を用量依存的に抑制した。

ゾレドロン酸は、投与後 32 週間にわたり、骨形成マーカーである血漿中オステオカルシン濃度および骨吸収マーカーである血漿中 TRACP-5b 活性を用量依存的に抑制し、投与後 32 週時点の脛骨近位骨幹端部において、骨形成速度および骨石灰化速度を OVX 対照群に比べ用量依存的に抑制した。したがって、骨吸収および骨代謝回転の抑制作用が単回投与後も持続していると考えられた。しかしながら、ゾレドロン酸を投与されたすべての個体

で、骨形成が完全に停止した個体は認められなかったことから、骨石灰化の過剰な抑制は生じていないと考えられた。

以上から、ゾレドロン酸は、単回静脈内投与により、32 週間にわたり骨吸収および骨代謝回転を抑制して、骨密度、皮質骨厚の減少および骨微細構造の劣化を抑制し、骨強度を増加させると考えられた。同時に、ゾレドロン酸は骨石灰化の過剰な抑制は引き起こさないことが示唆された。

[2] ラット骨粗鬆症モデルにおける長期反復皮下投与の作用

ゾレドロン酸は、1.5 および 7.5 μg/kg の 52 週間週 1 回反復皮下投与により、OVX ラット大腿骨骨幹部の最大荷重および腰椎の最大応力の減少を抑制し、7.5 μg/kg の投与により、大腿骨頸部の最大荷重の減少を抑制した。また、ゾレドロン酸は、1.5 および 7.5 μg/kg の投与により、OVX ラット大腿骨骨幹部の剛性を増加させ、腰椎の弾性率の減少を抑制した。

ゾレドロン酸は、OVX による腰椎骨密度の減少を抑制した。ゾレドロン酸は、脛骨近位骨幹端部の海綿骨骨量、骨梁数、骨梁間隙および骨梁連結点数の劣化を用量依存的に抑制した。ゾレドロン酸は、投与開始後 16 週および 51 週において、骨吸収マーカーである尿中 DPD 排泄量を用量依存的に抑制し、投与開始後 52 週時点の脛骨近位骨幹端部において、骨形成速度および骨石灰化速度を抑制した。一方、ゾレドロン酸は、骨石灰化障害の指標として測定した成長板の厚みを増加させなかった。

以上から、ゾレドロン酸は、52 週間の週 1 回反復皮下投与により、OVX ラットの骨吸収および骨代謝回転を抑制して骨密度の減少および骨微細構造の劣化を抑制し、骨強度を増加させると考えられた。また、ゾレドロン酸は骨石灰化の過剰な抑制を引き起こさないことが示唆された。

ゾレドロン酸をラットに反復静脈内投与した時には、投与回数にほぼ比例して骨中に蓄積することが示されており、ゾレドロン酸をラットに皮下投与した場合の生物学的利用率は 98.7%と高く、尿中排泄率も静脈内投与と同様であることが示されている［1.13.1：既承認医薬品に関わる資料］。このことから、ゾレドロン酸は、反復皮下投与においても、投与回数にほぼ比例して骨中に蓄積すると考えられる。ゾレドロン酸は、[2]の試験において 1.5 および 7.5 μg/kg の週 1 回反復皮下投与により骨強度改善作用を示した。その累積投与量は、それぞれ 78 μg/kg および 390 μg/kg であり、[1]の試験で骨強度の増加が認められた単回静脈内投与の投与量とほぼ同等であった。したがって、ゾレドロン酸は、累積投与量が同等の場合、静脈内投与および皮下投与で同様の効果が期待できると考えられた。

[3] サル骨粗鬆症モデルにおける長期反復皮下投与の作用

ゾレドロン酸は、12.5 μg/kg の 69 週間週 1 回反復皮下投与により、OVX サル大腿骨頸部の剛性を増加させた。一方、大腿骨頸部、脛骨骨幹部および腰椎の最大荷重ならびに脛骨骨幹部および腰椎の剛性については、ゾレドロン酸投与による明らかな作用は認められなかった。

ゾレドロン酸は、全身骨塩量、腰椎骨密度および橈骨骨幹部骨密度の減少を抑制した。ゾレドロン酸は、海綿骨骨量、骨梁数、骨梁幅に明らかな作用を及ぼさなかったが、皮質骨多孔化を抑制した。

ゾレドロン酸は、投与期間を通じて骨形成マーカーである血清中 BAP 活性および骨吸収マーカーである尿中 NTX 排泄量を用量依存的に抑制し、海綿骨の骨単位活性化率および骨形成速度を減少させ、皮質骨の骨形成速度を減少させた。一方、海綿骨および皮質骨の組織像において、骨石灰化の障害は認められず、骨および骨髄の異常所見も認められなかった。

以上から、ゾレドロン酸は、69 週間の週 1 回反復皮下投与により、OVX サルの骨吸収および骨代謝回転を抑制して、骨密度の減少および骨微細構造の劣化を抑制し、骨強度を増加させると考えられた。同時に、骨組織の異常を起こす可能性は低いと考えられた。したがって、ゾレドロン酸は、リモデリング動物においても、ラットと同様に骨強度を増加させると考えられた。

6.3 骨折治癒に及ぼす影響

ビスホスホネート系薬剤は非臨床の骨折モデルにおいて骨の癒合を抑制することが報告されている（Lenehan TM et al, 1985）。ビスホスホネート剤であるゾレドロン酸について、骨折治癒に及ぼす影響を、以下の 3 試験により検討した。

[1] ラット閉鎖骨折治癒モデルにおける作用

雄性ラットの大腿骨に閉鎖骨折処置を施した後、ゾレドロン酸 100 μg/kg を骨折時、骨折後 1 週あるいは骨折後 2 週に単回静脈内投与し、骨折後 6 週の骨折部位における骨塩量、骨量、極慣性モーメントおよびねじり強度を測定した。

ゾレドロン酸は、全投与群で骨塩量、骨量および極慣性モーメントを対照群に比べ増加させ、ねじり強度における最大トルクを対照群に比べ増加させた。

以上から、ゾレドロン酸は、ラット閉鎖骨折モデルの骨折治癒過程において、骨折部位の骨塩量、骨量および極慣性モーメントを増加させて、骨強度を増加させると考えられた。

[2] ウサギ骨切延長術モデルにおける短期的作用

雄性ウサギの脛骨骨幹部に骨切術を施した後、2 週間の骨延長を行い、ゾレドロン酸 100 μg/kg を骨切術時の単回あるいは骨切術時および骨延長終了時の 2 回静脈内投与した。

ゾレドロン酸は、骨切術時および骨延長終了時の 2 回投与により、骨切術後 6 週において、骨延長部位での骨量、骨塩量、海綿骨量および骨梁数を対照群に比べ増加させ、最大荷重を増加させた。

以上から、ゾレドロン酸は、ウサギ骨切延長術モデルの骨延長部位において、骨量、骨塩量、海綿骨骨量および骨梁数を増加させて、骨強度を増加させると考えられた。

[3] ウサギ骨切延長術モデルにおける長期的作用

雄性ウサギの脛骨骨幹部に骨切術を施した後、2 週間の骨延長を行い、ゾレドロン酸 100 μg/kg を骨切術時および骨延長終了時にそれぞれ静脈内投与した。

ゾレドロン酸投与群では、骨切術後 4～18 週において、骨密度および骨塩量が対照群に比べ増加していたあるいは増加傾向を示していたが、骨切術後 44 週では対照群との間に差は認められなくなった。また、X 線撮影像において、ゾレドロン酸投与群では、骨切術後 18 週には骨切術時の皮質骨端の残存が認められたが、骨切術後 44 週では、対照群と同等

の骨癒合像を示した。また、骨延長部位の組織像において、ゾレドロン酸投与群では、骨切術後 18 週までは、仮骨中の軟骨基質の消失が対照群に比べ遅延していたものの、骨切術後 44 週では対照群と同等の骨組織像を示した。骨切術後 18 週までの、皮質骨端および仮骨中の軟骨基質の残存は、ゾレドロン酸投与群で、対照群に比べ皮質骨および仮骨の骨リモデリングが遅延していたことによると考えられた。

以上から、ゾレドロン酸は、ウサギ骨切延長術モデルにおいて、骨切術後早期には骨延長部位の骨密度および骨塩量を増加させることが示唆された。また、骨延長部位の皮質骨および仮骨の骨リモデリングの遅延は招くものの、骨癒合は阻害しないことが示唆された。

以上から、ゾレドロン酸は、骨折治癒過程の早期には、骨量および骨塩量を増加させることで骨強度を増加させると考えられた。また、骨リモデリングの遅延は招くものの、骨癒合を阻害せず、骨折治癒過程に悪影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

6.4 T 細胞の増殖促進作用

健常人の血液から採取した PBMC を 1 μmol/L のゾレドロン酸、アレンドロン酸、イバンドロン酸、パミドロン酸あるいはクロドロン酸と、組換えヒト IL-2 の存在下で 7 日間培養した結果、ゾレドロン酸は、最も強く γ,δ -T 細胞の増殖を促進した。

また、メバロン酸経路で FPPS の上流に位置する IPP および DMAPP を 1 μmol/L それぞれ加えて上記試験と同様に培養した結果、IPP および DMAPP は、γ,δ -T 細胞の増殖を促進した。

以上の結果から、ゾレドロン酸は、FPPS の阻害を介した IPP および DMAPP の蓄積により γ,δ -T 細胞の増殖を促進させる可能性が示唆された。

パミドロン酸等の窒素含有ビスホスホネートは、初回の静脈内投与後におよそ 30%の患者で発熱等の急性期反応を引き起こすことが報告されている（Adami S et al, 1987）。さらに、窒素含有ビスホスホネートにより急性期反応を呈した患者では、循環血中で、γ,δ -T 細胞が増加していること（Kunzmann V et al, 1999）、内因性発熱物質である腫瘍壊死因子-α が一過的に上昇すること（Sauty A et al, 1996）が報告されている。また、窒素含有ビスホスホネートは γ,δ -T 細胞からのインターフェロン γ の産生を促進すること（Carbone LD et al, 2006）、インターフェロン γ は腫瘍壊死因子-α の産生を促進すること（Takagi K et al, 2005）が報告されている。したがって、窒素含有ビスホスホネートによる急性期反応は、循環血中で γ,δ -T 細胞が増殖し、腫瘍壊死因子-α の産生量が一過的に上昇することで生じると考えられた。

以上から、ゾレドロン酸は、FPPS の阻害を介した IPP および DMAP の蓄積により、循環血中で γ,δ -T 細胞の増殖を促進することで、発熱等の急性期反応を引き起こす可能性が示唆された。

6.5 骨形成促進薬との併用作用

テリパラチドは、骨形成促進作用を持つ骨粗鬆症治療薬である。ゾレドロン酸は、他のビスホスホネート系薬剤と同様に、骨吸収とカップリングした骨形成を抑制する作用があることから、ゾレドロン酸がテリパラチドの作用に及ぼす影響を評価した。

OVX 後、8 週間経過した雌性ラットに、テリパラチド 30 μg/kg またはゾレドロン酸 0.5 μg/kg を単独に、あるいはその両剤を同時に、週 5 回 4 週間反復皮下投与した。その結果、ゾレドロン酸は、テリパラチドとの併用により、腰椎の骨密度をテリパラチド単独群に比べ増加させた。

また、ゾレドロン酸は、テリパラチドとの併用により、大腿骨遠位部の骨密度をテリパラチド単独群に比べ、増加させる傾向を示した。

以上の結果から、ゾレドロン酸は、テリパラチドの骨密度増加作用を阻害せず、相加的に作用すると考えられた。

6.6 結論

ゾレドロン酸は、強力な骨吸収抑制作用により、単回の静脈内投与で、長期間にわたり骨密度の減少、骨微細構造の劣化および骨代謝回転を抑制して、骨強度を増加させることが期待される。また、ゾレドロン酸は、骨組織への異常を来たすことなく、骨折治癒に悪影響を与えず、骨形成促進薬の骨密度増加作用を阻害しない骨粗鬆症治療薬として期待される。

7. 参考文献

Adami S, Bhalla AK, Dorizzi R, Montesanti F, Rosini S, Salvagno G, et al. The acute-phase response after bisphosphonate administration. Calcif Tissue Int 1987; 41 (6) : 326-31.

Carbone LD, Warrington KJ, Barrow KD, Pugazhenthi M, Watsky MA, Somes G, et al. Pamidronate infusion in patients with systemic sclerosis results in changes in blood mononuclear cell cytokine profiles. Clin Exp Immunol. 2006; 146 (3) : 371-80.

Kunzmann V, Bauer E, Wilhelm M. γ/δ T-cell stimulation by pamidronate. N Engl J Med. 1999;340 (9) : 737-8.

Lenehan TM, Balligand M, Nunamaker DM, Wood FE Jr. Effect of EHDP on fracture healing in dogs. J Orthop Res 1985; 3 (4) : 499-507.

Sauty A, Pecherstorfer M, Zimmer-Roth I, Fioroni P, Juillerat L, Markert M, et al. Interleukin-6 and tumor necrosis factor α levels after bisphosphonates treatment in vitro and in patients with malignancy. Bone. 1996; 18 (2) : 133-9.

Takagi K, Takagi M, Kanangat S, Warrington KJ, Shigemitsu H, Postlethwaite AE. Modulation of TNF-α gene expression by IFN-γ and pamidronate in murine macrophages: regulation by STAT1-dependent pathways. J Immunol. 2005;174 (4) : 1801-10.

リクラスト点滴静注液 5mg
ゾレドロン酸水和物

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

旭化成ファーマ株式会社

略号一覧

略号	省略していない表現
BAP	bone alkaline phosphatase（骨型アルカリフォスファターゼ）
DMAPP	dimethylallyl diphosphate（ジメチルアリル二リン酸）
DPD	deoxypyridinoline（デオキシピリジノリン）
IPP	isopentenyl diphosphate（イソペンテニル二リン酸）
NTX	type I collagen cross-linked N-telopeptid（I 型コラーゲン N-テロペプチド）
OVX	ovariectomized（卵巣摘出）
TRACP-5b	tartrate-resistant acid phosphatase 5b（酒石酸抵抗性酸ホスファターゼ 5b 型）

目次

1. 薬理試験一覧表 4
1.1 効力を裏付ける試験 4
1.2 副次的薬理試験 6
1.3 安全性薬理試験 6
1.4 薬力学的薬物相互作用 7
2. 薬理試験成績一覧表 8
2.1 効力を裏付ける試験 8
2.2 副次的薬理試験 14
2.3 安全性薬理試験 14
2.4 薬理力学的薬物相互作用試験 15

1. 薬理試験一覧表

1.1 効力を裏付ける試験

被験物質：ゾレドロン酸

試験の種類	試験系	投与物質	投与経路	試験実施施設	試験番号	記載箇所
ラット閉経後骨粗鬆症モデルにおける単回静脈内投与の作用	OVX ラット	ゾレドロン酸	静脈内投与	Novartis Pharma AG	RD-2002-04006 Gasser et al, 2008	4.2.1.1.1-1 4.2.1.1.1-2（参考）
		アレンドロン酸				
ラット閉経後骨粗鬆症モデルにおける長期反復皮下投与の作用	OVX ラット	ゾレドロン酸	皮下投与	[redacted]	AEAT-0591	4.2.1.1.2-1
				・Ciba-Geigy Ltd., ・Novartis Pharma AG	CBG/l, Supplement No. 1	4.2.1.1.2-2
					CBG/l, Supplement No. 2	4.2.1.1.2-3

1.1 効力を裏付ける試験（続き）

被験物質：ゾレドロン酸

試験の種類	試験系	投与物質	投与経路	試験実施施設	試験番号	記載箇所
サル閉経後骨粗鬆症モデルにおける長期反復皮下投与の作用	OVX サル	ゾレドロン酸	皮下投与	・[redacted] ・[redacted] ・Novartis Pharmaceuticals Preclinical Laboratory ・[redacted] ・[redacted] ・旭化成ファーマ（株）	MIN 955041	4.2.1.1.3-1（参考） 4.2.1.1.3-2（参考） 4.2.1.1.3-3（参考） 4.2.1.1.3-4（参考）
ラット閉鎖骨折治癒モデルにおける作用	大腿骨閉鎖骨折ラット	ゾレドロン酸	骨折部位局所投与 静脈内投与	・The Children’s Hospital at Westmead ・University of Sydney ・University of New South Wales	Amanat et al, 2007	4.2.1.1.4（参考）
ウサギ骨切延長術モデルにおける短期的作用	脛骨骨切延長ウサギ	ゾレドロン酸	静脈内投与	・The Children’s Hospital at Westmead ・University of Sydney ・Garvan Institute of Medical Research	Little et al, 2003	4.2.1.1.5（参考）

1.1 効力を裏付ける試験（続き）

被験物質：ゾレドロン酸

試験の種類	試験系	投与物質	投与経路	試験実施施設	試験番号	記載箇所
ウサギ骨切延長術モデルにおける長期的作用	脛骨骨切延長ウサギ	ゾレドロン酸	静脈内投与	・The Children's Hospital at Westmead ・Garvan Institute of Medical Research	Smith et al, 2004	4.2.1.1.6 （参考）

1.2 副次的薬理試験

被験物質：ゾレドロン酸

試験の種類	試験系	投与物質	投与経路	試験実施施設	試験番号	記載箇所
T 細胞の増殖促進作用	健常ヒト末梢血単核球	ゾレドロン酸	*in vitro*	University of Aberdeen	Thompson and Rogers, 2004	4.2.1.2.1 （参考）
		アレンドロン酸				
		イバンドロン酸				
		パミドロン酸				
		クロドロン酸				
		IPP				
		DMAP				

1.3 安全性薬理試験

該当なし

1.4 薬力学的薬物相互作用

被験物質：ゾレドロン酸

試験の種類	試験系	投与物質	投与経路	試験実施施設	試験番号	記載箇所
骨形成促進薬との併用作用	OVX ラット	ゾレドロン酸 テリパラチド	皮下投与	Ciba-Geigy Ltd.,	BS 59/1996	4.2.1.4.1 （参考）

2. 薬理試験成績一覧表

2.1 効力を裏付ける試験

被験物質：ゾレドロン酸

試験の種類	試験系（各群例数）	投与物質	投与方法（投与期間）	用量 a)	試験成績	記載箇所
ラット閉経後骨粗鬆症モデルにおける単回静脈内投与の作用	OVX ラット（10）	ゾレドロン酸	静脈内投与（OVX の 4 日前に単回投与）	0.8、4、20、100 または 500 μg/kg	時期の記載がない場合は、投与後 32 週での成績を示す。 ＜0.8 μg/kg 以上＞ ・投与後 32 週にわたる脛骨近位部の横断面全骨密度、皮質骨厚および海綿骨骨密度の減少の用量依存的な抑制 ・脛骨近位骨幹端部の海綿骨骨量、骨梁幅、骨梁数および連結性密度の減少の用量依存的な抑制 ・脛骨近位骨幹端部の骨梁間隙および Structure model index の増加の用量依存的な抑制 ・投与後 32 週にわたる血清中 TRACP-5b 濃度の用量依存的な抑制 ＜20 μg/kg 以上＞ ・大腿骨骨幹部の最大荷重の増加および剛性の減少の抑制 ＜100 μg/kg 以上＞ ・大腿骨遠位骨幹端部の最大荷重の減少の抑制および腰椎の最大荷重の増加 ・脛骨近位骨幹端部の骨石灰化速度および骨形成速度の抑制 ・投与後 32 週にわたる血清中オステカルシン濃度の抑制 ＜100 μg/kg＞ ・大腿骨遠位骨幹端部の剛性の減少の抑制	4.2.1.1.1-1 4.2.1.1.1-2（参考）

a) ゾレドロン酸換算値として記載した

2.1 効力を裏付ける試験（続き）

被験物質：ゾレドロン酸

試験の種類	試験系（各群例数）	投与物質	投与方法（投与期間）	用量 a)	試験成績	記載箇所
ラット閉経後骨粗鬆症モデルにおける単回静脈内投与の作用 <続き>	OVX ラット（10） <続き>	アレンドロン酸	静脈内投与（OVX の 4 日前に単回投与） <続き>	200 μg/kg	時期の記載がない場合は、投与後 32 週での成績を示す。 ・大腿骨骨幹部の最大荷重の増加および剛性の減少の抑制 ・投与後 32 週にわたる、ゾレドロン酸 20 μg/kg と同程度の、脛骨近位部の横断面全骨密度、皮質骨厚および海綿骨骨密度の減少の抑制 ・脛骨近位骨幹端部の海綿骨骨量、骨梁幅、骨梁数および連結性密度の減少の抑制 ・脛骨近位骨幹端部の骨梁間隙および Structure model index の増加の抑制 ・脛骨近位骨幹端部の骨石灰化速度および骨形成速度の抑制 ・投与後 16 週にわたる血清中オステカルシン濃度の抑制 ・投与後 24 週にわたる血清中 TRACP-5b 濃度の抑制。	4.2.1.1.1-1 4.2.1.1.1-2（参考） <続き>

a) アレンドロン酸換算値として記載した

2.1 効力を裏付ける試験（続き）

被験物質：ゾレドロン酸

試験の種類	試験系（各群例数）	投与物質	投与方法（投与期間）	用量 a)	試験成績	記載箇所
ラット閉経後骨粗鬆症モデルにおける長期反復皮下投与の作用	OVX ラット（16～20）	ゾレドロン酸	皮下投与（OVX 当日から週 1 回 52 週間）	0.3、1.5 および 7.5 μg/kg	時期の記載がない場合は、投与開始後 52 週での成績を示す。 ＜0.3 μg/kg 以上＞ ・大腿骨骨幹部の最大荷重の減少の抑制および剛性の増加 ・全身骨塩量の増加 ・脛骨近位骨幹端部の海綿骨骨量、骨梁数、骨梁連結点数の減少の用量依存的な抑制 ・脛骨近位骨幹端部の骨梁間隙の増加の用量依存的な抑制 ・脛骨近位骨幹端部の骨形成速度、骨石灰化速度の抑制 ・投与開始後 16 週における血清中オステオカルシン濃度の増加の抑制 ・投与開始後 16 週および 51 週における尿中 DPD 排泄量の増加の抑制 ＜1.5 μg/kg 以上＞ ・第 5 腰椎の最大応力および弾性率の減少の抑制 ・腰椎骨密度の減少の抑制、大腿骨骨密度の増加 ＜7.5 μg/kg＞ ・大腿骨頸部の最大荷重の減少の抑制	4.2.1.1.2-1 4.2.1.1.2-2 4.2.1.1.2-3

a) ゾレドロン酸換算値として記載した

2.1 効力を裏付ける試験（続き）

被験物質：ゾレドロン酸

試験の種類	試験系（各群例数）	投与物質	投与方法（投与期間）	用量 a)	試験成績	記載箇所
サル閉経後骨粗鬆症モデルにおける長期反復皮下投与の作用	OVX サル（7～8）	ゾレドロン酸	皮下投与（OVX 当日から週 1 回 69 週間）	0.5、2.5 および 12.5 μg/kg	時期の記載がない場合は、投与開始後 69 週での成績を示す。 ＜0.5 μg/kg 以上＞ ・胸椎海綿骨の骨単位活性化率および骨形成速度の抑制 ・投与開始後 39、52 および 69 週の血清中 BAP 活性の抑制 ・投与開始後 26、39、52 および 69 週の尿中 NTX 排泄量の抑制 ＜2.5 μg/kg 以上＞ ・全身骨塩量および腰椎骨密度の減少の抑制 ・大腿骨骨幹部皮質骨の多孔化率および骨形成速度の亢進の抑制 ・投与開始後 13 および 26 週の血清中 BAP 活性の抑制 ・投与開始後 13 週の尿中 NTX 排泄量の抑制 ＜12.5 μg/kg＞ ・大腿骨頸部の剛性の増加 ・OVX 前から比べた橈骨骨幹部の骨密度の減少の抑制	4.2.1.1.3-1（参考） 4.2.1.1.3-2（参考） 4.2.1.1.3-3（参考） 4.2.1.1.3-4（参考）

a) ゾレドロン酸換算値として記載した

2.1 効力を裏付ける試験（続き）

被験物質：ゾレドロン酸

試験の種類	試験系（各群例数）	投与物質	投与方法（投与期間）	用量 a)	試験成績	記載箇所
ラット閉鎖骨折治癒モデルにおける作用	大腿骨閉鎖骨折ラット（12～13）	ゾレドロン酸	骨折部位局所投与（骨折直後に単回投与）	10 μg/kg	・骨折後 6 週における骨折部位の骨塩量、骨量および慣性極モーメントの増加	4.2.1.1.4（参考）
			静脈内投与（骨折直後、骨折後 1 週あるいは骨折後 2 週に単回投与）	100 μg/kg	・全投与群で、骨折後 6 週における骨折部位の最大トルク、骨塩量、骨量および慣性極モーメントの増加 ・骨折後 1 週あるいは骨折後 2 週の投与により、骨折後 6 週における骨折部位のねじり剛性の増加	
ウサギ骨切延長術モデルにおける短期的作用	脛骨骨切延長ウサギ（14：骨塩量、9：骨量および最大荷重、4：海綿骨骨量）	ゾレドロン酸	静脈内投与（骨切術時に単回投与あるいは骨切術時および骨延長終了時の 2 回投与）	100 μg/kg	・全投与群で、骨切術後 6 週における骨延長部位の骨量、骨塩量、海綿骨骨量、骨梁数の増加。 ・単回投与で、骨切術後 6 週における骨延長部位の最大荷重の増加傾向 ・2 回投与で、骨切術後 6 週における骨延長部位の最大荷重の増加	4.2.1.1.5（参考）

a) ゾレドロン酸換算値として記載した

2.1 効力を裏付ける試験（続き）

被験物質：ゾレドロン酸

試験の種類	試験系（各群例数）	投与物質	投与方法（投与期間）	用量 a)	試験成績	記載箇所
ウサギ骨切延長術モデルにおける長期的作用	脛骨骨切延長ウサギ（2～18：骨塩量および骨密度、2あるいは4：X線撮影像および骨組織像）	ゾレドロン酸	静脈内投与（骨切術時および骨延長終了時の2回投与）	100 μg/kg	・骨延長術後6週におけるX線撮影像での化骨形成の増大およびX線吸収強度の増加。 ・骨延長術後18週までの骨延長部位の骨塩量および骨密度の増加あるいは増加傾向、骨組織像での軟骨基質の残存およびX線撮影像での皮質骨端の残存 ・骨延長術後44週における対照群と同等の骨組織像およびX線撮影像での骨癒合像。	4.2.1.1.6（参考）

a) ゾレドロン酸換算値として記載した

2.2 副次的薬理試験

被験物質：ゾレドロン酸

試験の種類	試験系（各群例数）	投与物質	投与方法（投与期間）	濃度	試験成績	記載箇所
T 細胞の増殖促進作用	健常ヒト末梢血単核球（4）	ゾレドロン酸	*in vitro*	1 μmol/L	・ゾレドロン酸が γ,δ-T 細胞の増殖を最も強く促進	4.2.1.2.1（参考）
		アレンドロン酸				
		イバンドロン酸				
		パミドロン酸				
		クロドロン酸				
		IPP			・IPP あるいは DMAP による γ,δ-T 細胞の増殖促進	
		DMAP				

2.3 安全性薬理試験

該当なし

2.4 薬理力学的薬物相互作用試験

被験物質：ゾレドロン酸

試験の種類	試験系（各群例数）	投与物質	投与方法（投与期間）	用量 a)	試験成績	記載箇所
骨形成促進薬との併用作用	OVX ラット（8）	ゾレドロン酸	皮下投与（OVX の 8 週後から週 5 回 4 週間）	0.5 μg/kg	・ゾレドロン酸およびテリパラチド併用により、テリパラチド単独投与に比べ、投与開始後 4 週における腰椎骨密度の増加、大腿骨遠位部骨密度の増加傾向、大腿骨遠位海綿骨のカルシウム含量の増加、大腿骨遠位海綿骨のハイドロキシプロリン含量の増加傾向。	4.2.1.4.1（参考）
		テリパラチド		30 μg/kg		
		ゾレドロン酸およびテリパラチド併用		0.5 μg/kg および 30 μg/kg		

a) ゾレドロン酸換算値として記載した