目次

1. 非臨床試験計画概略 3
2. 薬理試験 6
2.1 効力を裏付ける試験 6
2.1.1 ラット CIA 及び AIA モデルの病態推移（参考資料） 6
2.1.2 ラット CIA モデルでの OPG-Fc の作用（評価資料） 6
2.1.3 ラット CIA 及び AIA モデルでの OPG-Fc の作用（参考資料） 6
2.1.4 ラット CIA 及び AIA モデルでの OPG-Fc と抗 TNF-α 剤あるいは抗 IL-1 剤との比較（参考資料） 6
2.2 安全性薬理試験 6
2.3 副次的薬理試験 6
2.4 薬力学的薬物相互作用試験 7
3. 薬物動態試験 8
4. 毒性試験 9
5. 総括及び結論 10
6. 参考文献一覧 11

略語一覧

略語	略していない表現（英）	略していない表現（日）
AIA	adjuvant-induced arthritis	アジュバント誘発関節炎
CIA	collagen-induced arthritis	コラーゲン誘発関節炎
IgG2	immunoglobulin G2	免疫グロブリン G2
IL	interleukin	インターロイキン
IL-1 Ra	interleukin-1 receptor antagonist	インターロイキン 1 受容体アンタゴニスト
NOAEL	no-observed-adverse-effect level	無毒性量
OPG	osteoprotegerin	オステオプロテグリン
OPG-Fc	osteoprotegerin Fc segment complex	OPG 免疫グロブリン結晶化フラグメント
RA	rheumatoid arthritis	関節リウマチ
RANK	receptor activator of nuclear factor kappa B	—
RANKL	RANK ligand	RANK リガンド
sTNFR1	soluble TNF receptor 1	可溶性 TNF 受容体 1
TNF	tumor necrosis factor	腫瘍壊死因子
TRACP-5b	tartrate-resistant acid phosphatase isotype 5b	—

－：該当する表記なし

1. 非臨床試験計画概略

デノスマブは、免疫グロブリン G2 型（IgG2）ヒトモノクローナル抗体であり、高い親和性及び特異性でヒト receptor activator of nuclear factor kappa B （RANK）リガンド（RANK ligand: RANKL）に結合して、内因性オステオプロテゲリン（osteoprotegerin、OPG）の作用と同様、ヒト RANKL の活性を中和する。デノスマブは RANKL のみに結合し、腫瘍壊死因子（tumor necrosis factor: TNF）α、TNFβ、TNF 関連アポトーシス誘導リガンド又は CD40 リガンドを含む他の TNF ファミリーの他の分子種には結合しない[1]。デノスマブは、RANKL の結合を阻害して破骨細胞の形成、機能、及び生存を抑制する。その結果、皮質骨、海綿骨ともに骨吸収が抑制されて骨量及び骨強度が増加する[2]。

デノスマブは、本邦でランマーク®皮下注 120 mg として多発性骨髄腫による骨病変及び固形癌転移による骨病変に対する効能・効果で 2012 年に承認され、骨巨細胞腫が 2014 年に追加された。また、プラリア®皮下注 60 mg シリンジとして骨粗鬆症に対する効能・効果で 2013 年に承認された。

関節リウマチ（rheumatoid arthritis: RA）は、原因不明の免疫異常を背景とした全身症状のほか、関節局所の炎症、炎症によって誘導される疼痛、腫脹、進行性の関節の構造的損傷（骨びらん及び軟骨破壊）、又は機能障害を特徴とする、慢性の自己免疫疾患である。RA の最も重要な症状は身体的機能障害であり、主に骨びらん及び軟骨破壊に起因する不可逆的な関節の構造的損傷（器質的障害）と、炎症性滑膜炎に起因する疼痛及び腫脹といった可逆的な炎症的障害によって構成される。関節滑膜では、T 細胞の浸潤と活性化を中心とする急性あるいは慢性の炎症が発症し、また血管新生、滑膜増殖により炎症性肉芽組織（パンヌス）が肥大し、疼痛を伴う炎症所見が見られる。さらに、パンヌスの進展に伴って骨組織の吸収が促進され、関節破壊に至る。現在、RA の根治療法はなく、標準治療は RA の病態を改善することにより、臨床症状を改善させ、関節破壊を防止する。RA 診療ガイドライン 2014[3] の治療アルゴリズムでは、RA の診断後メトトレキサートを含む従来型抗リウマチ薬での治療が開始される。関節の構造的損傷は RA 発症早期に急激に進行するため、生物学的製剤治療へ移行する前の患者では構造的損傷が進行している。また、生物学的製剤治療では特有の重篤な有害事象（結核・敗血症などを含む重篤な感染症）が比較的高率に発症することや、経済的理由などにより生物学的製剤による治療を受けることができない患者が存在し、このような患者に対する関節の構造的損傷の進展抑制治療は十分ではない。

デノスマブは、その作用機序から RA の進展により生じる骨減少を阻害し、関節破壊を抑制することが期待された。そこで、デノスマブによる RA の骨破壊抑制の治療薬としての可能性を推測するために、RA の動物モデルでの RANKL 阻害剤の影響を検討した。

本申請は効能追加であることから、厚生労働省医薬食品局長通知（薬食発 1121 第 2 号、平成 26 年 11 月 21 日）に従い、効力を裏付ける薬理試験を実施し、薬物動態及び毒性に関する試験は実施しなかった。デノスマブは高分子の抗体製剤であることから、他の RA 治療薬との併用による薬物相互作用試験の必要はないと判断した。

本申請の非臨床薬理試験は、抗リウマチ薬の臨床評価方法に関するガイドライン[4]を参考

に選択した。このガイドラインでは薬効薬理試験として 1）作用機序解明のための in vitro 試験、2）薬効を裏付ける動物モデルを用いた試験、及び 3）代謝物の薬理作用を検索し、臨床用量を推定する試験を求めている。1）のデノスマブの作用機序を示す in vitro 試験は、既申請の申請資料に含まれる試験成績からデノスマブはヒト RANKL を阻害して、RA の関節破壊を抑制することが推測されているため、本申請では追加試験は実施しなかった。2）の薬効を裏付ける動物モデルを用いた試験として、ガイドラインに例示されている動物モデルの中で、免疫あるいは炎症反応に直接作用しない本薬の作用機序を考慮して、関節破壊を評価可能なラットコラーゲン誘発関節炎（collagen-induced arthritis: CIA）モデルを選択した。また、参考資料として、アジュバント誘発関節炎（adjuvant-induced arthritis: AIA）での関節破壊を評価した試験を含めた。3）の代謝物の薬効は、デノスマブが抗体製剤で代謝物の関与は小さいことから検討しなかった。

デノスマブはげっ歯類の RANKL に結合しないため[1]、ラットの CIA 及び AIA モデルでは効果を評価できない。そのため、既承認の各種骨疾患のげっ歯類モデルと同様に、本申請の薬理試験でもデノスマブのサロゲートである OPG の C 末端に免疫グロブリン Fc 領域を融合させた OPG 免疫グロブリン結晶化フラグメント（osteoprotegerin Fc segment complex: OPG-Fc）を使用した。OPG は内因性 RANKL 阻害物質である。OPG-Fc は非臨床モデルでの半減期を延長するために作製した。内因性 OPG は、分子量 110 kD、分泌型の糖蛋白質二量体である[5]。OPG を過剰発現しているトランスジェニックマウスは大理石骨病を呈する[5]。対照的に、OPG 欠損マウスは、表現型として重度の骨粗鬆症を示す[6]。また、組換え型 OPG を動物に投与すると、デノスマブと同様の作用機序で破骨細胞を阻害し、骨吸収を抑制する[5]。薬理試験での OPG-Fc の用量及び投与経路は、文献[7,8]を参考に、ラットで薬理作用が認められている 3 mg/kg を 1 日おきの皮下投与とした。そのため、非臨床試験結果からデノスマブのヒト薬効用量は推定しなかった。なお、OPG-Fc によるげっ歯類モデルでの評価は既承認の資料にも含まれている。

本申請での用法・用量は、既承認の骨疾患での用法・用量と異なり、ヒトでの曝露が異なることから、既に実施した毒性試験でのトキシコキネティクスとの曝露倍数を再計算した（2.4.5 項参照）。

非臨床試験の一覧を表 2.4.1-1 に示す。

表 2.4.1-1　非臨床試験一覧

試験の種類	試験系	投与方法	被験物質	資料番号
薬理試験				
効力を裏付ける試験				
ラットCIA及びAIAモデルの病態推移[a,b]	ラット	該当なし	該当なし	4.2.1.1-1
ラットCIAモデルでのOPG-Fcの作用[a]	ラット	皮下投与	OPG-Fc	4.2.1.1-2
ラットCIA及びAIAモデルでのOPG-Fcの作用[a,b]	ラット	皮下投与	OPG-Fc	4.2.1.1-3
ラットCIA及びAIAモデルでのOPG-Fcと抗TNF-α剤あるいは抗IL-1剤との比較[a,b]	ラット	皮下投与	OPG-Fc sTNFR1 IL-1 Ra	4.2.1.1-4
副次的薬理試験	該当なし	—	—	—
安全性薬理試験	該当なし	—	—	—
薬力学的薬物相互作用試験	該当なし	—	—	—
薬物動態試験	該当なし	—	—	—
毒性試験	該当なし	—	—	—

CIA＝コラーゲン誘発関節炎、AIA＝アジュバント誘発関節炎、OPG-Fc＝OPG免疫グロブリン結晶化フラグメント、sTNFR1＝可溶性TNF受容体1、IL-1 Ra＝インターロイキン1受容体アンタゴニスト
a: 非GLP、b: 参考資料

2. 薬理試験

2.1 効力を裏付ける試験

2.1.1 ラット CIA 及び AIA モデルの病態推移（参考資料）

ラット関節炎モデルで RANKL 阻害物質の OPG-Fc の治療効果を確認する予備検討として、CIA 及び AIA モデルでの関節炎、RANKL 濃度、及び骨びらんを経時的に検討した。その結果、CIA 及び AIA の発症に伴って後肢の *Rankl* mRNA 量及び RANKL 蛋白質が増加し、RANKL が骨びらんを引き起こしていることが示唆された。

2.1.2 ラット CIA モデルでの OPG-Fc の作用（評価資料）

ラット CIA モデルでのラット OPG-Fc の関節及び全身性の骨減少に対する影響を評価した。Day 1 及び 7 にコラーゲンを感作して関節炎を発症させた動物に、後肢の腫脹が最大値になる Day 16（発症 2 日後）から Day 24 に 1 日おきに 3 mg/kg のラット OPG-Fc を投与した。その結果、OPG-Fc は CIA の後肢の炎症及び病理組織学的関節炎スコアに対しては無効であったが、骨密度低下抑制作用や破骨細胞及び tartrate-resistant acid phosphatase isoform 5b（TRACP-5b）活性減少を伴う骨吸収抑制作用を示した。

2.1.3 ラット CIA 及び AIA モデルでの OPG-Fc の作用（参考資料）

ラット CIA 及び AIA モデルでの OPG-Fc の関節炎局所及び全身性の骨減少に対する影響を検討した。関節炎モデル動物には発症 4 日後から 13 日後まで 1 日おきに、3 mg/kg の OPG-Fc を皮下投与した。その結果、OPG-Fc は CIA モデルだけでなく、AIA モデルでも同様に関節炎局所の骨吸収抑制作用を示した。

2.1.4 ラット CIA 及び AIA モデルでの OPG-Fc と抗 TNF-α 剤あるいは抗 IL-1 剤との比較（参考資料）

ラット CIA 及び AIA モデルでの関節炎局所及び全身性の骨密度並びに骨吸収及び炎症の血清マーカーに対する RANKL、TNFα、及び IL-1 の阻害の影響を、それぞれの阻害薬 OPG-Fc、soluble TNF receptor 1（sTNFR1: pegsunercept）、及び interleukin-1 receptor antagonist（IL-1 Ra: anakinra）を用いて検討した。その結果、sTNFR1 及び IL-1 Ra は関節炎局所及び血清の炎症パラメータを低下させ、関節局所の骨減少を部分的に抑制した。一方、OPG-Fc は炎症パラメータには影響しなかったが、関節炎局所の骨減少が抑制された。

2.2 安全性薬理試験

安全性薬理試験は初回承認申請資料中で検討されている。本申請で追加の安全性薬理試験は実施していない。

2.3 副次的薬理試験

本申請では副次的薬理試験は実施していない。

2.4　薬力学的薬物相互作用試験

本申請では薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。

3. 薬物動態試験

本申請で、薬物動態試験は実施しなかった。

4. 毒性試験

本申請で、毒性試験は実施しなかった。

5. 総括及び結論

デノスマブ（開発コード AMG 162）はヒト RANKL と結合し、RANK と RANKL の相互作用を阻害するヒトモノクローナル抗体である。デノスマブは高い親和性及び特異性で RANKL と結合し、破骨細胞を介する骨吸収を抑制する。デノスマブの関節リウマチでの有効性を確認する目的で、RANKL の内因性阻害物質の OPG 誘導体 OPG-Fc のラット関節炎モデルでの作用、特に骨組織への作用を検討した。

その結果、関節炎対照動物では関節組織中の破骨細胞マーカーの TRACP-5b 活性が上昇し、骨密度が減少し、病理組織学的検査でも骨組織損傷及び破骨細胞増加が認められた。これに対し、ラット CIA モデルに OPG-Fc を投与すると、TRACP-5b 活性上昇が抑えられ、骨密度が回復し、組織学的に骨吸収及び破骨細胞数増加も抑えられた。後肢の関節腫脹などの炎症には無効で、抗炎症作用は示さなかった。同様の結果はラット AIA モデルでも確認された。

以上の結果から、OPG-Fc はラット関節炎モデルで炎症反応に対する作用は示さず、関節炎発症に伴う破骨細胞活性化による骨組織の損傷を抑制することが明らかになった。デノスマブは、RA 病変が進展する時に観察される骨吸収促進による構造破壊を抑制するものと考えられた。

なお、RA での申請の用法・用量の最高用量（60 mg を 3 ヵ月に 1 回）と毒性試験から得られた無毒性量（no-observed-adverse-effect level: NOAEL）での曝露での曝露のマージンは、既承認のトキシコキネティクスのデータを用いて算出した（表 2.4.5-1）。その結果、適切な曝露の開きがあり、十分な安全性マージンが確保されているものと考えられた。

表 2.4.5-1　主要な毒性を評価した試験における NOAEL とデノスマブ申請用量[a]での曝露倍数算定値

試験の種類	NOAEL (mg/kg)	Cmax[b] (μg/mL) 平均(SD)	AUCtau[b] (μg·h/mL) 平均(SD)	AUC に基づく曝露倍数[c,d]
カニクイザルの 12 ヵ月反復投与毒性試験（試験報告書 102090）[e]	50	666 (156)	268000 (90300)	121
	10	115 (37.1)	48200 (21100)	22
カニクイザルの 16 ヵ月反復投与試験（試験報告書 103981）	50	413 (160)	171000 (72400)	77
カニクイザルの胚・胎児毒性試験（試験報告書 102842）	12.5	282 (89.6)	41000 (10600)	80

a: 60 mg、皮下注射、3 ヵ月に 1 回、b: 投与終了時
c: ヒトの AUCtau 値（276000 ng·day/mL）は試験 AMG162-D-J201 の Q3M 群の 6 ヵ月時薬物動態パラメータから引用した。
d: NOAEL での曝露は、週 1 回投与の AUC0-tau 値を 13 倍（試験報告書 102842）、月 1 回投与の AUC0-tau 値を 3 倍（試験報告書 102090 及び 103981）して、3 ヵ月間の AUC（近似値）とした。
e: NOAEL は 50 mg/kg であるが、投与に関連しない死亡あるいは瀕死期屠殺が各 1 例みられた。死亡のなかった 10 mg/kg 群の値も併記した。
AUC＝ 血清中薬物濃度―時間曲線下面積；AUC0-tau＝0 時間から投与間隔時間までの AUC
Cmax＝ 最高血清中薬物濃度；NOAEL＝ 無毒性量

6. 参考文献一覧

1 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.

2 Kostenuik PJ, Smith SY, Jolette J, et al. Decreased bone remodeling and porosity are associated with improved bone strength in ovariectomized cynomolgus monkeys treated with denosumab, a fully human RANKL antibody. Bone. 2011;49:151-61.

3 一般社団法人日本リウマチ学会編. 関節リウマチ診療ガイドライン 2014. メディカルレビュー社; 2014.

4 「抗リウマチ薬の臨床評価方法に関するガイドライン」について, 薬食審査発第 0217001 号（平成 18 年 2 月 17 日）.

5 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.

6 Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, et al. *osteoprotegerin*-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. Genes Dev. 1998;12(9):1260-8.

7 Stolina M, Adamu S, Ominsky M, et al. RANKL is a marker and mediator of local and systemic bone loss in two rat models of inflammatory arthritis. J Bone Miner Res. 2005;20(10):1756-65.

8 Stolina M, Schett G, Dwyer D, et al. RANKL inhibition by osteoprotegerin prevents bone loss without affecting local or systemic inflammation parameters in two rat arthritis models: comparison with anti-TNFalpha or anti-IL-1 therapies. Arthritis Res Ther. 2009;11(6):R187.