ロモソズマブ（AMG 785）は、骨形成の抑制因子であるスクレロスチンに結合してその作用を阻害するヒト化免疫グロブリンモノクローナル抗体である。スクレロスチンは骨細胞が分泌する古典的 Wnt シグナル伝達経路の細胞外抑制因子である。ロモソズマブはスクレロスチンに特異的に結合し、スクレロスチンが LRP5 や LRP6 に結合するのを妨げることにより、骨芽細胞系細胞における古典的 Wnt シグナル伝達抑制を阻害する。結果として生じる古典的 Wnt シグナル伝達の活性化は骨形成を増加、骨吸収を低下させ、皮質骨及び海綿骨の骨量及び骨強度の増加をもたらす。

ロモソズマブは骨折リスクが高い骨粗鬆症治療薬として Amgen 社が開発した抗体医薬品である。臨床試験では、骨粗鬆症患者に 210 mg の用量を月 1 回 1 年間皮下投与してロモソズマブの作用を評価した。投与開始後最初の 12 カ月間に骨形成マーカーが増加して最も著しく骨密度が亢進するため、本剤の有効性ならびに安全性は、日本人の 1 年の投与経験に基づいて確認されている。

ロモソズマブは、ヒト、カニクイザル及びラットのスクレロスチンに同程度の親和性で結合し、これらの動物種において薬理活性を示す。そこで、臨床プログラムの根拠となる薬理試験、安全性薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験は、ラットとカニクイザルにおいて実施した。毒性試験として、14 日、1 カ月、6 週間（ラットのみ）及び 6 カ月間の反復投与試験、ラット生涯投与試験（がん原性試験）、ラット胚・胎児発生、受胎能及び初期胚発生に関する試験及び出生前・出生後発生試験、並びにラット局所刺激性試験を実施した。安全性薬理試験は、ラットとサルにおいて単回静脈内投与により実施した。さらに、卵巣摘出した老齢ラット及びカニクイザルを用いて骨質に対するロモソズマブの作用を検討するための 12 カ月間慢性投与試験を実施した。ロモソズマブ投与に関連した変化は、骨に対する直接又は間接的な薬理作用の結果であると考えられ、実施した非臨床試験において安全性の懸念は認められなかった。

目次

1. 要約 7
2. 効力を裏付ける試験 9
2.1 効力を裏付ける *in vitro* 試験 10
2.1.1 スクレロスチンに対するロモソズマブの結合親和性（R2006058 試験） 10
2.1.2 LRP4、LRP5 及び LRP6 の細胞外領域へのスクレロスチンの結合に対する AMG 785 の作用（R20130040 試験） 10
2.1.3 骨芽細胞系細胞石灰化試験における AMG 785 モノクローナル抗体のスクレロスチン中和活性の特性解析（R2006057 試験） 11
2.2 効力を裏付ける *in vivo* 試験 11
2.2.1 閉経後骨量減少モデル 11
2.2.1.1 卵巣摘出ラットモデルにおける抗スクレロスチン抗体及びその後の骨吸収抑制因子の投与（R20[redacted]0286 試験） 11
2.2.1.2 卵巣摘出 Sprague Dawley ラットに AMG 785 を 12 カ月間週 1 回皮下投与した際の骨質に及ぼす作用（107899 試験) 18
2.2.1.3 卵巣摘出老齢カニクイザルに AMG 785 を 52 週間週 1 回皮下投与した際の骨質に及ぼす作用（107903 試験） 25
2.2.1.4 AMG 785:卵巣摘出老齢カニクイザルにおける 6 カ月皮下投与時の薬力学試験（118025 試験） 37
2.2.1.5 アレンドロネートを前投与あり、あるいは前投与なし卵巣摘出（OVX）ラットにラット抗スクレロスチン抗体（r13C7）を単独又はアレンドロネートと併用で皮下投与した際の骨に及ぼす作用（R20[redacted]0773 試験） 43
2.2.1.6 卵巣摘出 Sprague Dawley ラットにマウス抗スクレロスチン抗体（m13C7）を皮下投与した際の骨形成及び骨量に及ぼす用量依存的作用（R20[redacted]054 試験） 47
2.2.2 抗スクレロスチン抗体の再投与 47
2.2.2.1 卵巣摘出ラットの骨に及ぼす抗スクレロスチン抗体再投与の作用（R20[redacted]0173 試験） 48
2.2.2.2 OVX ラットにおける Scl-Ab と OPG-Fc の併用による再投与（R20[redacted]0070 試験） 52
2.2.3 骨のモデリング及びリモデリングに及ぼす組織レベルでの作用 54
2.2.3.1 若齢雄性カニクイザルにおける腓骨切断術後 10 週間の骨治癒に及ぼす AMG 785 の作用（108288 試験） 54
2.2.3.2 カニクイザルにおける骨リモデリング動態指標に及ぼすロモソズマブの作用（R20[redacted]0071 試験） 55
3. 副次的薬理試験 57
3.1 その他の骨減少モデルにおける抗スクレロスチン抗体の作用 57
3.1.1 骨減少を伴う精巣摘出ラットの骨に対する抗スクレロスチン抗体の作用（R20[redacted]0227 試験） 57
3.1.2 炎症性骨減少状態におけるラット抗スクレロスチン抗体によるスクレロスチンの中和（R20[redacted]0147 試験）（参考資料） 58
3.1.3 成熟雌性マウスにおける機械的荷重の減少による骨の脆弱化に対する抗スクレロスチン抗体の抑制作用（R20[redacted]0239 試験）（参考資料） 58
3.2 雄性 Sprague Dawley ラットの大腿骨非開放性骨折モデルにおける抗スクレロスチン抗体の経時的作用（R20[redacted]0220 試験） 60
3.3 変形性関節症の動物モデルにおける薬理作用 60
3.3.1 3 週間のラット半月板損傷による変形性関節症モデルに対する抗スクレロスチン抗体（25 mg/kg を週 2 回皮下投与）の作用（ROA/AMG-14 試験） 60
3.3.2 3 週間のラット半月板損傷による変形性関節症に対する Scl-Ab の Fab フラグメント（385 µg を週 2 回関節内投与）の作用（ROA/AMG-15 試験） 61
3.4 副次的薬理試験：理論上の作用 61
3.4.1 ロモソズマブの理論的作用考察における古典的 Wnt シグナル伝達及びスクレロスチン発現の特性 61

3.4.1.1 スクレロスチンの発現 62
3.4.2 ロモソズマブの作用に関する理論上の懸念:がんのリスク 63
3.4.2.1 スクレロスチン欠乏の影響は基本的に骨に限定される 64
3.4.2.2 ロモソズマブは骨組織でテリパラチドとは異なる作用機序で骨形成を制御する 65
3.4.2.3 抗スクレロスチン抗体に応答した骨の転写特性：古典的状況に応じた古典的 Wnt シグナルの活性化及びそれにつづく細胞周期進行及び細胞分裂の抑制開始を伴う骨形成に対する自己制御 66
3.4.2.4 ラット及びサルを用いた慢性毒性試験においてロモソズマブは病理組織学的な腫瘍リスク因子を示すことなく骨特異的作用を示す 68
3.4.2.5 ラットを用いた生涯投与試験においてロモソズマブは腫瘍発生率の増加を示すことなく、スクレロスチン抑制による骨特異的作用を示した 69
3.4.2.6 ロモソズマブの白血病誘発及び急性骨髄性白血病を助長する可能性 72
3.4.2.7 ロモソズマブの既存の腫瘍の進行/生物学的挙動に影響を及ぼす可能性 73
3.4.3 ロモソズマブの作用に関する理論上の懸念：変形性関節症の発症又は進行 75
3.4.3.1 変形性関節症の発症機序 75
3.4.3.2 変形性関節症における古典的 Wnt シグナル伝達の役割 77
3.4.3.3 変形性関節症におけるスクレロスチンの役割及び関節の健康に対するスクレロスチンの欠失又は阻害の影響 79
3.4.3.4 強直性脊椎炎の骨棘におけるスクレロスチンの役割 81
3.4.3.5 非臨床慢性毒性試験における関節軟骨、自然発症変形性関節症及び骨棘に対するロモソズマブの作用 82
3.4.4 ロモソズマブによる血管石灰化の推進に関する理論上の懸念 83
3.4.4.1 血管石灰化の発症機序 83
3.4.4.2 血管石灰化における Wnt シグナル伝達の役割を裏付けるデータ 85
3.4.4.3 血管の石灰化におけるスクレロスチンの役割 86
3.4.4.4 血管系に対するスクレロスチン抑制の作用 88
3.4.5 ロモソズマブによる長軸方向の骨成長増加に関する理論上の懸念 90
3.4.5.1 軟骨骨化の調節におけるスクレロスチンの役割 91
3.4.5.2 スクレロスチンの薬理的抑制の影響 91
3.4.6 ロモソズマブ投与による過骨症（骨過剰成長）に関する理論上の懸念 93
3.4.6.1 スクレロスチンの欠損又は抑制に関連したヒトの過骨症 93
3.4.6.2 抗スクレロスチン抗体は有害な結果をもたらすことなしに骨量を増加させる 93
3.4.6.3 非臨床試験においてロモソズマブは巣状骨化過剰病変の発生率又は重症度を増加しない 95
3.4.7 ロモソズマブによるセメント質増殖症及び歯に及ぼす影響に関する理論上の懸念 96
3.4.7.1 発生中及び成人の歯における Wnt シグナル伝達の役割 96
3.4.7.2 歯の組織要素におけるスクレロスチンの発現及び生物学的機能 96
3.4.7.3 歯の構造に対するロモソズマブによるスクレロスチン抑制の作用 97
3.4.8 ロモソズマブが顎骨壊死のリスクを増大させる理論上の懸念 97
3.4.8.1 顎骨壊死とリスク因子 97
3.4.8.2 スクレロスチンの欠損又は阻害 99
3.4.8.3 軽度骨吸収抑制薬を投与した患者の顎骨壊死 100
3.4.9 造血に対するロモソズマブの作用に関する理論上の懸念 102
3.4.9.1 骨髄ニッチにおける骨微小環境と骨芽細胞の役割 102
3.4.9.2 骨髄ニッチにおける Wnt シグナル伝達の役割 103
3.4.9.3 造血に対するスクレロスチン欠損の作用 104
3.4.9.4 造血に対するスクレロスチン抑制の作用 105
3.4.10 ロモソズマブのサルコペニアに関する理論上の懸念 108
3.4.10.1 筋肉量に対するスクレロスチンの欠損及び阻害の影響 108
3.4.11 ロモソズマブのグルコースに対する作用に関する理論上の懸念 108
3.4.11.1 OCN を介した骨のグルコース制御 108

3.4.11.2 グルコース代謝に対するスクレロスチンの欠損及び抑制の作用 110
3.4.12 TNF-αが誘導する炎症性疾患を悪化させる理論上の懸念 112
3.4.12.1 炎症性及び免疫介在性疾患におけるスクレロスチンの役割とスクレロスチン阻害の影響 112
3.4.13 ロモソズマブによる非定型大腿骨骨折のリスクに関する理論上の懸念 114
3.4.13.1 非定型大腿骨骨折の特徴、疫学及び病因 114
3.4.13.2 カニクイザルの皮質骨に対するロモソズマブの作用 115
3.4.13.3 ヒト皮質骨に対するロモソズマブの作用 117
3.4.14 心血管系効果に関する理論的考察 117
4. 安全性薬理 119
4.1 AMG 785 のラットにおける単回静脈内投与による毒性及び中枢神経系安全性薬理試験 (106335 試験) 119
4.2 AMG 785 のテレメトリー装着カニクイザルにおける単回静脈内投与による心血管系及び呼吸系安全性薬理試験（105781 試験） 119
5. 薬力学的薬物相互作用 121
6. 考察及び結論 122
7. 引用文献 123

略語一覧

本文書では、以下の略語に加えて国際単位系（SI）で推奨されている用語を用いている。

用語／略語	定義／説明
2QM	twice every month（月 2 回）
2QW	twice every week（週 2 回）
3D	three-dimensional（三次元）
ADA	anti-drug antibody（抗薬物抗体）
ALN	alendronate（アレンドロネート）
AGE	advanced glycation end-products（終末糖化産物）
AFF	atypical femoral fracture（非定型大腿骨骨折）
AMG 785	romosozumab（ロモソズマブ）
ANOVA	Analysis of Variance（分散分析）
AS	ankylosing spondylitis（強直性脊椎炎）
AUC	area under the curve（濃度－時間曲線下面積）
BFR/BS	bone formation rate bone surface referent（骨形成速度/骨面基準）
BMC	bone mineral content（骨塩量）
BMD	bone mineral density（骨密度）
BMP	bone morphogenetic protein（骨形成タンパク質）
BMU	bone multicellular unit（骨多細胞単位）
bSEM	backscattered scanning electron microscopy（後方散乱走査電子顕微鏡）
$CaCl_2$	calcium chloride（塩化カルシウム）
cAMP	cyclic adenosine monophosphate（環状アデノシン一リン酸）
CaSR	calcium-sensing receptor（カルシウム感知受容体）
CBER	Center for Biologics Evaluation and Research（生物学的製剤評価センター）
cDNA	complementary deoxyribonucleic acid（相補的デオキシリボ核酸）
CHMP	Committee for Medicinal Products for Human Use（ヒト用医薬品委員会）
CKD	chronic kidney disease（慢性腎臓病）
CL	observed clearance（実測クリアランス）
C_{max}	maximum concentration（最高濃度）
CMV-Msx2	cytomegalovirus-muscle segment homeobox2（サイトメガロウイルス－筋セグメントホメオボックス 2）
CNS	central nervous system（中枢神経系）
cOCN	carboxylated osteocalcin（カルボキシル化オステオカルシン）
CRO	Contract Research Organizations（開発業務受託機関）
CTX	carboxy-terminal crosslinked telopeptide of type I collagen（I 型コラーゲン架橋 C-テロペプチド）
cyno	cynomolgus monkey（カニクイザル）
DNA	deoxyribonucleic acid（デオキシリボ核酸）
DKK1	Dickkopf WNT signaling pathway inhibitor 1（Dickkopf WNT シグナル伝達抑制因子 1）
DPD	deoxypyridinoline（デオキシピリジノリン）
DXA	dual-energy x-ray absorptiometry（二重エネルギーX 線吸収測定法）
Ec	endocortical（内骨面）
EC_{50}	half-maximal effective concentration（50%効果濃度）
ECD	extracellular domain（細胞外領域）
EGTA	ethylene glycol tetraacetic acid（エチレングリコール四酢酸）
Enpp1	ectophosphodiesterase/nucleotide phosphohydrolase 1（エクトフォスフォジエステラーゼ／ヌクレオチドフォスフォヒドラーゼ 1）
ES/BS	eroded surface per bone surface（浸食面/骨面）
Fab	fragment antigen binding（抗原結合フラグメント）
FACS	fluorescence-activated cell sorting（蛍光活性化細胞分類）
Fc	fragment crystallizable region of antibody（抗体の Fc フラグメント）

用語／略語	定義／説明
FDA	Food and Drug Administration（米国食品医薬品局）
FE	Finite-element (model)（有限要素モデル）
FGF-23	fibroblast growth factor 23（線維芽細胞成長因子 23）
FOB	functional observational battery（機能観察バッテリー）
FTIRM	Fourier-transform infrared microspectroscopy（フーリエ変換赤外顕微分光法）
HBM	high bone mass（高骨量）
HEK293T	human embryonic kidney cells expressing the large T antigen of simian virus 40（シミアンウイルス 40 ラージ T 抗原高発現ヒト胎児由来腎臓 293 細胞）
HRpQCT	high-resolution peripheral quantitative computed tomography（高分解能末梢骨定量的コンピュータ断層撮影法）
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)
hPTH	human parathyroid hormone（ヒト副甲状腺ホルモン）
hPTHrP	human parathyroid hormone-related protein（ヒト副甲状腺ホルモン関連タンパク質）
HSC	hematopoietic stem cell（造血幹細胞）
hTNFtg	human tumor necrosis factor transgenic (mice)（ヒト腫瘍壊死因子トランスジェニックマウス）
IA	intra-articular（関節内）
ICH	International Council for Harmonisation（医薬品規制調和国際会議）
IHC	immunohistochemistry（免疫組織化学）
IL-1	interleukin 1（インターロイキン 1）
IP	intraperitoneal(ly)（腹腔内）
ITS	individual trabecular segmentation（個々の骨梁セグメンテーション）
IV	intravenous(ly)（静脈内）
Kd	equilibrium dissociation constant（平衡解離定数）
KinExA	Kinetic Exclusion Assay technology（結合平衡除外法）
KLH	Keyhole limpet hemocyanin（キーホールリンペットヘモシアニン）
L1～L5	lumbar vertebra (levels 1 through 5)（腰椎、第 1～第 5）
LGR	longitudinal growth rate（長軸成長速度）
LRP	low-density lipoprotein receptor-related protein（低比重リポタンパク受容体関連タンパク）
mAb	monoclonal antibody（モノクローナル抗体）
MBF	modeling-based bone formation（モデリングによる骨形成）
MGP	matrix Gla protein（マトリックス Gla タンパク質）
micro-CT	micro-computed tomography（マイクロコンピュータ断層撮影法）
miRNA	micro ribonucleic acid（マイクロリボ核酸）
MMPs	matrix metalloproteinases（マトリックスメタロプロテアーゼ）
MS/OS	mineralizing surface / osteoid surface (fractional labeling of osteoid)（骨石灰化面／類骨面（類骨の断片標識））
MMT	medial meniscal tear（内側半月板断裂）
NA	Not applicable（適用外）
OA	osteoarthritis（変形性関節症）
OCN	osteocalcin（オステオカルシン）
ONJ	osteonecrosis of the jaw（顎骨壊死）
OPG-Fc	osteoprotegerin fused to Fc（Fc 結合オステオプロテゲリン）
ORX	orchiectomized（精巣摘出）
OVX	ovariectomized（卵巣摘出）
P1NP	procollagen type 1 N-terminal propeptide（I 型プロコラーゲン N 末端プロペプチド）
PMO	postmenopausal osteoporosis（閉経後骨粗鬆症）

用語／略語	定義／説明
pQCT	peripheral quantitative computed tomography（末梢骨定量的コンピュータ断層撮影法）
Ps	periosteal（骨膜）
PTH	parathyroid hormone（副甲状腺ホルモン）
QM	every month（月 1 回）
QW	every week（週 1 回）
RANKL	Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand（NFκB 活性化受容体リガンド）
RA	rheumatoid arthritis（関節リウマチ）
RAGE	receptor of advanced glycation endproducts（終末糖化産物受容体）
Rb	retinoblastoma（網膜芽細胞腫）
RBC	red blood cell（赤血球）
RBF	remodeling-based bone formation（リモデリングによる骨形成）
rm	repeated-measures (ANOVA)（繰り返し測定［分散分析］）
RNAase	ribonuclease（リボヌクレアーゼ）
RPA	ribonuclease protection assay（リボヌクレアーゼプロテクション測定法）
RT-PCR	reverse transcription-polymerase chain reaction amplification（逆転写ポリメラーゼ連鎖反応増幅）
SAPC	serum albumin peptide conjugate（血清アルブミンペプチド抱合体）
SC	Subcutaneous(ly)（皮下）
Scl-Ab	Anti-sclerostin antibody（抗スクレロスチン抗体）
SD	Standard Deviation（標準偏差）
SD	Sprague Dawley
SEM	Standard Error of Mean（平均の標準誤差）
SOST	sclerostin gene（スクレロスチン遺伝子）
Tb	Trabecular（骨梁）
TNF	tumor necrosis factor（腫瘍壊死因子）
TRACP 5b	tartrate acid phosphatase 5b (also TRAP5b)（酒石酸フォスファターゼ 5b［TRAP5b］とも表す）
ucOCN	undercarboxylated osteocalcin（低カルボキシル化オステオカルシン）
US	United States（米国）
VC	vascular calcification（血管石灰化）
Veh	Vehicle（溶媒）
VSMC	vascular smooth muscle cells（血管平滑筋細胞）
W.Th	wall thickness（骨単位壁幅）

1. 要約

骨粗鬆症は骨強度の低下を特徴とし、骨折の危険性が増大する疾患である（NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy, 2001）。本疾患では骨格全体に渡り、主に骨形成に比べて骨吸収が過剰になり、その結果骨量が低下する。この骨形成と骨吸収のアンバランスは閉経期のエストロゲンレベルの減少により加速する（Recker et al, 2004）。骨粗鬆症は骨量の減少と共に骨折につながる骨梁及び皮質骨部位に構造的な異常も生じさせる（Seeman, 2008; Recker et al, 2004）。

ロモソズマブ（AMG 785）はスクレロスチンに結合してその作用を阻害するヒト化免疫グロブリンモノクローナル抗体である。スクレロスチンはシスチンノットモチーフを含んでいると考えられている DAN/Cerberus タンパク質ファミリーの 1 つであり、190 個のアミノ酸残基から成る糖タンパク質である（Veverka et al, 2009）。ロモソズマブのスクレロスチンに対する特異性は、スクレロスチンファミリーに属する唯一の他の分子である SOSTDC1（別名 Wise、ectodin 及び USAG-1）（Itasaki et al, 2003）に対するスクレロスチンのホモロジーは極めて低く（アミノ酸の相同性はわずか 38%）、さらに DAN の他の分子とのホモロジーはさらに低い（Veverka et al, 2009）ことからも裏付けられる。スクレロスチンは骨細胞より分泌される糖タンパク質であり、低比重リポタンパク質受容体関連タンパク（LRP4、LRP5 及び LRP6）に結合して古典的 Wnt シグナル伝達を抑制することにより、骨形成の抑制を引き起こす（Poole et al, 2005, van Bezooijen et al, 2004）。骨細胞は機械的刺激変化に応じた骨量の調節に重要な役割を果たす。この調節作用は、スクレロスチンの発現に部分的に依存しており、発現量は機械的負荷の減少に伴って増加し、負荷の増加に応じて低下する（Robling et al, 2008）。多くの動物モデルにおいて Wnt シグナル伝達の活性化により骨形成、骨量及び骨強度が増加することが報告されている（Baron and Rawadi, 2007）。以上の知見と一致して、生涯を通してスクレロスチンの欠損若しくは低下を示す硬結性骨化症や Van Buchem 病などスクレロスチン遺伝子（SOST）の機能を喪失する変異を伴う患者は、骨量の著しい増加を示すと同時に骨折が生じるのは稀であることが報告されている（Hamersma et al, 2003; Beighton, 1988; Barnard et al, 1980）。

表 1 に *in vitro* 及び *in vivo* の効力を裏付ける試験を示し、その詳細を第 2.1 項及び第 2.2 項に記載する。要約すると、ロモソズマブはヒト、カニクイザル及びラットの組換えスクレロスチンに高い親和性（それぞれの Kd：11、23 及び 3 pM）で結合し、組換えヒト LRP5 及び LRP6 とヒトスクレロスチンとの結合を阻害し、*in vitro* でスクレロスチンが誘発する骨基質石灰化の抑制を阻害する。以上の結果に基づいて、骨におけるロモソズマブの効力を裏付ける薬理作用及び安全性の特性を明らかにするための一連の試験を Sprague Dawley（SD）ラット及びカニクイザルを用いて実施した。原発性骨粗鬆症の治療用医薬品の評価に関するヒト用医薬品委員会のガイドライン（*CHMP/EWP/552/95 Rev2*）に準じて長期試験を実施して、骨質に及ぼすロモソズマブの作用を評価した。これらの試験において、老齢卵巣摘出（OVX）ラット及び老齢 OVX カニクイザルで 1 年以上にわたるロモソズマブの投与は骨形成、骨量及び骨強度を増加させ骨質を維持することが示された。追加薬理試験（ロモソズマブ又は代替抗体）として骨基質組成や橈骨遠位端に及ぼす影響、さらに投与中断、骨吸収抑制因子への移行及び再投与の影響を評価した（表 18）。最近の文献、非臨床及び臨床データから理論的に考えられるロモソズマブの副次的な薬理作用として、がん、変形性

関節症（OA）、血管石灰化（VC）のリスク増加、骨の長軸方向の成長促進、過骨症、セメント質増殖症、顎骨壊死、造血異常、サルコペニア、糖代謝異常などへの影響が考えられが、これまで蓄積されたデータから、210 mg のロモソズマブを月 1 回（QM）1 年間投与した場合（本剤の安全性及び有効性は 1 年投与で確認されている）、対象とする患者で前述した理論上の懸念に対する危険性は高まっていないことが示されている。ICH ガイドライン（ICH S7A）に準じてラットやカニクイザルを用いて実施した安全性薬理試験において、ロモソズマブによる神経行動学的又は心血管系／呼吸系の副作用は認められなかった（第 4 項）。

表 1　効力を裏付ける試験

Study No.	Study Title	GLP
Primary pharmacodynamics in vitro		
R2006058	Equilibrium Binding Analysis of AMG785 to Human, Cynomolgus Monkey and Rat Sclerostin	No
R20130040	Effect of AMG 785 on the Binding of Sclerostin to the Extracellular Domains of LRP4, LRP5 and LRP6	No
R2006057	Characterization of Sclerostin-neutralizing Activity of AMG 785 Monoclonal Antibody in an Osteoblast-lineage Cell-based Mineralization Assay	No
Primary pharmacodynamics in vivo		
R20[redacted]0286	Treatment with Sclerostin Antibody Followed by an Anti-Resorptive Agent in Ovariectomized Rat Model	No
107899	A 12-Month Bone Quality Study to Determine the Effects of Weekly Subcutaneous Injection of AMG 785 in the Ovariectomized Sprague Dawley Rat	Yes
107903	A 52 week Bone Quality Study to Determine the Effects of Weekly Subcutaneous Injection of AMG 785 in the Aged Ovariectomized Cynomolgus Monkey	Yes
118025	AMG 785: 6 Month Subcutaneous Pharmacodynamic Study in the Aged Ovariectomized Cynomolgus Monkey	Yes
R20[redacted]0773	Effects of Subcutaneously Administered Ratized Sclerostin Antibody (r13C7) Alone or in Combination With Alendronate on Bone in Ovariectomized (OVX) Rats With or Without Alendronate Pretreatment	No
R20[redacted]054	Dose-dependent Effects of Subcutaneous Administration of Murine Sclerostin Antibody (m13C7 or Scl-AbII) on Bone Formation and Bone Mass in Ovariectomized Sprague Dawley Rats	No
R20[redacted]0173	Effects of Sclerostin Antibody Retreatment on Bone in Ovariectomized (OVX) Rats	No
R20[redacted]0070	Retreatment with Scl-Ab in Combination with OPG-Fc in OVX Rats	No
108288	The Effects of AMG 785 in a 10-Week Bone Healing Study Following Osteotomy of the Fibula in Young Male Cynomolgus Monkeys	No
R20[redacted]0071	Effect of Romosozumab on bone remodeling kinetics in the cynomolgus monkey	No

GLP = Good Laboratory Practices; LRP = low-density lipoprotein receptor-related protein; OPG-Fc = osteoprotegerin fused to Fc; OVX = Ovariectomized

2. 効力を裏付ける試験

In vitro 結合試験でロモソズマブはヒト、カニクイザル及びラットの組換えスクレロスチンに対して強力な結合親和性を示した（Kd はそれぞれ 11、23 及び 3 pM）（R2006058 試験）。ロモソズマブは *in vitro* で組換えヒト LRP5 及び LRP6 に対するヒトスクレロスチンの結合を阻害した（R20130040 試験）。骨芽細胞系細胞の石灰化試験において、ロモソズマブはスクレロスチンが誘導した骨基質の石灰化抑制作用を濃度依存的に阻害し、試験した 4 種（ヒト、ラット、カニクイザル及びマウス）特異的なスクレロスチンすべてに対して中和活性を示した（R2006057 試験）。

ロモソズマブの投与によりげっ歯類で抗薬物抗体（ADA）反応が生じたため、ロモソズマブと同一の CDR 配列を含み、それぞれのげっ歯類の Fc 配列に置き変えた代替げっ歯類抗スクレロスチン抗体（Scl-Ab）を作製した。これらの代替抗体は、ADA 反応を制限して十分な曝露を維持するために、ラット（r13C7、Scl-AbII 又は Scl-AbVI）及びマウス（m13C7 又は Scl-AbIII）を用いたげっ歯類薬理試験において使用された。骨折リスクの高い骨粗鬆症の治療を念頭においているため、薬理試験で抗スクレロスチン抗体投与前に骨量減少を誘導するためにラットやカニクイザルに OVX を施している。ほとんどの薬理試験で 1 から 30 mg/kg を、げっ歯類で週 1 回（QW）又は週 2 回（2QW）、カニクイザルで週 1 回（QW）又は月 2 回（2QM）の投与を実施した。また、ほとんどの薬理試験で臨床使用に合わせて皮下（SC）投与した。これらの用法用量は骨質に対する影響の評価のため、薬理作用が十分に評価でき、十分な曝露量が得られるように選択された。適用規制ガイドライン、特に原発性骨粗鬆症の医薬品評価に関する CHMP のガイドライン（CHMP/EWP/552/95 Rev2）に準じ、OVX を施したラット及びカニクイザルにロモソズマブを 12 カ月間投与してロモソズマブの骨質に及ぼす作用を評価した。ラットとカニクイザルで評価した結果、ロモソズマブ（又は Scl-Ab）による骨形成の亢進と骨吸収の低下は骨量増加と微細構造の改善を誘発し、その結果すべての骨格部位で皮質骨幅及び骨梁幅の増加が認められた。これらの骨形成作用は、用量依存的であり、試験に用いた最低用量である OVX ラットの 1 mg/kg 週 2 回投与（R20[redacted]054 試験）では OVX 溶媒群に比べ、腰椎の骨密度（BMD）減少が有意に抑制された。また、OVX カニクイザルの 3 mg/kg 週 1 回投与（118025 試験）において有意な腰椎の BMD の増加が認められた。これらのモデルにおいて、ロモソズマブ（又は Scl-Ab）によって急速に上昇した骨形成マーカーは骨梁面、内骨面及び骨膜面における組織学的骨形成指標の増加を反映するものである。

これらの骨形成指標は投与開始後最初の 3 カ月の間にピークに達し、概して 6 から 12 カ月までに溶媒群レベルに戻ったが、骨量は 12 カ月間にわたって増加し続けた。ラットとカニクイザルにおいて骨形成の増加は骨モデリングの増加に一致したが、これはリモデリング部位の骨単位壁幅（W.Th）の増加及びモデリング部位の骨形成期間の延長並びに静止骨面の活性化を反映したものである。骨梁面及び内骨面上の浸食面の減少が見られた試験では、骨吸収の骨形態計測は概して低下していた。また、Scl-Ab を投与したラットから採取した *ex vivo* 培養骨髄細胞において破骨細胞形成の低下も認められた。しかし、OVX カニクイザルで皮質骨における骨代謝回転及び血清骨吸収バイオマーカーの一過性の上昇が観察された。カニクイザルの椎骨骨梁においてロモソズマブの投与により骨吸収深度は低下し、W.Th の増加に伴ってリモデリング部位で正の骨バランスが認められた。骨量と骨強度の相関検討や物性計算に基づくと OVX ラットと OVX カニクイザルにおいて Scl-Ab に

よる骨量の増加は骨強度の改善と一致し、12 カ月間の投与期間中骨質が維持又は改善した。カニクイザルに 2 及び 12 カ月間投与して評価した結果では、骨量の急速な増加にもかかわらず、組織の組成と石灰化に変化は認められなかった。試験を通してロモソズマブの投与後に組織形態計測による石灰化動態には変化がないか、又は改善が認められたが、類骨幅や綿状骨の増加は認められなかった。OVX カニクイザルの橈骨において、投与開始から 6 カ月間の皮質骨形状の改善効果は皮質骨内代謝回転の増加による皮質骨 BMD の一過性の減少を上回り、結果として溶媒群に比べて推定骨強度が改善した。

OVX ラット及びカニクイザルにおいて、Scl-Ab の投与を中断すると骨量の増加作用がある程度消失したが、OVX ラットで Scl-Ab から骨吸収抑制因子（OPG-Fc）に移行すると骨量増加は維持された。異なる骨吸収抑制薬（アレンドロネート［ALN］）を OVX ラットに前投与又は併用投与しても Scl-Ab による骨形成と骨量の増加は影響を受けなかった。さらに 12 週間の休薬後あるいは OPG-Fc の投与に変更して 12 週間投与した後に、Scl-Ab を再投与した時の作用についても OVX ラットで検討した。12 週間の休薬後に Scl-Ab を再投与した場合は、骨形成及び骨量の増加作用が認められたが、OPG-Fc 投与後に Scl-Ab を再投与することにより両剤を併用投与しても、OPG-Fc 投与で維持したレベルをさらに増加させることはなかった。

2.1 効力を裏付ける *in vitro* 試験

2.1.1 スクレロスチンに対するロモソズマブの結合親和性（R2006058 試験）

動物のスクレロスチンに対するロモソズマブの親和性を明らかにするために結合平衡除外法を用いて結合試験を実施した。ロモソズマブは、ヒト、カニクイザル及びラットのスクレロスチンにそれぞれ 11、23 及び 3 pM の Kd 値で結合した。また、ロモソズマブのげっ歯類代替抗体である m13C7 及び r13C7 のスクレロスチンに対する結合親和性を評価した。m13C7 はマウスとラットのスクレロスチンにそれぞれ 1 及び 3 pM の実測 Kd 値で結合し、r13C7 はラットスクレロスチンに 6 pM の実測 Kd 値で結合した。

2.1.2 LRP4、LRP5 及び LRP6 の細胞外領域へのスクレロスチンの結合に対する AMG 785 の作用（R20130040 試験）

骨形成抑制因子としてのスクレロスチンの活性は、古典的 Wnt シグナル伝達に関与する LRPs（LRP4、LRP5 及び LRP6）の細胞外領域（ECDs）への結合に依存することが知られている。LRP4 は Wnt シグナル伝達に対するスクレロスチンの抑制作用を促進する役割を有すると考えられているが、LRP5 と LRP6 は Wnt リガンドや Frizzled 受容体とともに実際の Wnt シグナル伝達複合体に存在する共受容体であることが知られている（Baron and Rawadi, 2007）。

スクレロスチンの LRP4、LRP5 及び LRP6 への結合に対するロモソズマブの作用を評価するために *in vitro* 結合試験を実施した。最初にヒト LRP4、LRP5 及び LRP6 の組換え ECDs を作製した。各各 ECD をそれぞれ個別にヒトスクレロスチンとともにインキュベーションし、免疫沈降とウエスタンブロットを実施したところ、各 ECD とスクレロスチンとの結合が認められた。これらの結合反応に対するロモソズマブの作用を特異的に評価するためにロモソズマブをスクレロスチンとともにプ

レインキュベーションし、その後 3 種類の ECDs とそれぞれ個別にインキュベーションし、免疫沈降とウエスタンブロットを実施した。これらの試験の結果、ロモソズマブは LRP4 の ECD とスクレロスチンとの結合を阻害しなかった。対照的に、ロモソズマブは主要な Wnt シグナル伝達共役受容体 LRP5 と LRP6 の ECDs とスクレロスチンとの結合を阻害した。このように、LRP5 と LRP6 へのスクレロスチンの結合を阻害するロモソズマブの活性は Wnt シグナル伝達の活性化と一致しており、その結果として他の *in vivo* 試験で認められたように骨形成、骨量及び骨強度の増加が引き起こされる。

2.1.3 骨芽細胞系細胞石灰化試験における AMG 785 モノクローナル抗体のスクレロスチン中和活性の特性解析（R2006057 試験）

In vitro 骨形成モデルを用いて組換えスクレロスチンに対する抗スクレロスチンモノクローナル抗体の中和活性を検討した。12 日間の分化及び基質石灰化試験において組換えスクレロスチンは、マウスの頭蓋冠由来骨芽細胞系細胞株である MC3T3-E1-BF 細胞の細胞外基質の石灰化（リン酸カルシウム沈着量を測定）を濃度依存的に抑制した。スクレロスチンに対する中和活性を検討するためにロモソズマブ（0、10、20 及び 40 μg/mL）と 1 μg/mL のスクレロスチンをプレインキュベーションし、その後 12 日間の試験期間中定期的に培養 MC3T3-E1-BF 細胞に添加した。ロモソズマブは試験した 4 種の組換えスクレロスチン（ヒト、カニクイザル、ラット及びマウス）の石灰化抑制作用のすべてに対して阻害作用を示した。また、マウス代替抗スクレロスチン抗体の m13C7 もヒト及びマウスのスクレロスチンによる石灰化抑制作用を阻害した。このように、ロモソズマブと m13C7 はスクレロスチンの中和抗体であることが示された。

2.2 効力を裏付ける *in vivo* 試験

2.2.1 閉経後骨量減少モデル

2.2.1.1 卵巣摘出ラットモデルにおける抗スクレロスチン抗体及びその後の骨吸収抑制因子の投与（R20[redacted]0286 試験）

閉経後骨粗鬆症モデルである OVX ラットに、ロモソズマブの代替となるラット抗スクレロスチン抗体（r13C7）を週 1 回 26 週間投与した際の薬力学的作用を検討した。また、追加試験群として、r13C7 を週 1 回 6 週間投与した後に r13C7 の投与頻度を下げて（4 週に 1 回）投与した群、r13C7 の投与を中断した群あるいは RANKL 阻害因子である OPG-Fc に変えて投与した群を設定し、骨形成、骨吸収、骨量及び骨強度に対する作用を検討した。

OVX 後 2 カ月の時点で、6 カ月齢の骨減少 OVX、SD ラット（n=12/群）に溶媒又は 25 mg/kg の r13C7 を 6、12 あるいは 26 週間週 1 回皮下投与した。

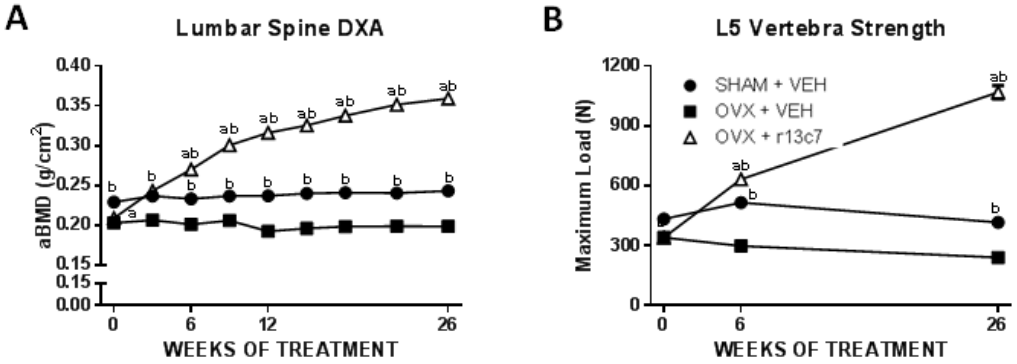
追加の OVX ラット群には 25 mg/kg の r13C7（週 1 回皮下投与）を 6 週間投与した群（n=12）及びその後継続して 20 週間溶媒（週 2 回皮下投与）を投与した群（n=12）、10 mg/kg のラット OPG-Fc（週 2 回皮下投与）を投与した群（n=16）あるいは投与頻度を下げて 25 mg/kg の r13C7（4 週に 1 回皮下投与）を投与した群（n=12）を設定した。シャムオペ対照群のラットはベースライン（n=10）並びに 6、12 及び 26 週後（n=12/群）に試験を終了した。

評価項目は DXA による長軸方向 BMD 及び骨吸収及び骨形成の血清バイオマーカーとし、*ex vivo* 評価はマイクロコンピュータ断層撮影法（micro-CT）、骨強度、骨形態計測の指標、骨髄の破骨細胞形成アッセイ及び骨の遺伝子発現とした。ラット OPG-Fc は、ラットにおいて骨吸収を持続的に抑制することが報告されている投与スケジュール（10 mg/kg の週 2 回投与）を選択して投与した（Aspenberg et al, 2011）。4 匹のラットが試験期間中に死亡し、1 匹はシャムオペ対照ベースライン群、2 匹が r13C7 から OPG-Fc に移行した群、1 匹が r13C7 の投与頻度を下げた群であり、評価時におけるこれらの群の最終動物数はそれぞれ 9、14 及び 11 匹となった。これらの死亡は投与群の偏りなく発生しており、それぞれの投与群の他の動物には有害な一般症状が認められていないことから、投与に関連した死亡ではないと考えられた。

r13C7 は DXA による解析で 26 週間にわたって腰椎と後肢の骨量を累積的に増加させ、その結果、腰椎（図 1）、大腿骨頸部及び大腿骨骨幹部の骨強度を有意に増加させた。r13C7 による骨形成の増加は投与早期にピークに達し、時間の経過とともに対照群のレベルに戻った。投与 6 週における組織学的骨形成速度（BFR/BS）は脛骨骨幹の骨膜面及び内骨面並びに脊椎と近位脛骨の骨梁面上で有意に増加した（図 2 A～C）。増加した BFR/BS は投与を継続すると時間の経過とともに減少したが、脛骨近位部の骨梁面と脛骨内骨面では上昇したままであった。しかし、脊椎骨梁面及び脛骨骨膜面上では 26 週までに対照群のレベルに近づいた。このパターンは、Scl-Ab による骨形成が自己制御を受け、表面特異的かつ一過性であることを示すものである。r13C7 は、血清バイオマーカーと骨形態計測に反映されたように骨吸収の指標を低下させた（図 2 D～E）。さらに、r13C7 を投与したラットの右大腿骨から採取した骨髄では、投与 6 及び 12 週の時点で *ex vivo* 破骨細胞形成が減少していた。r13C7 を投与したラットの脊椎では Wnt 抑制因子である SOST と DKK1 の遺伝子発現が 26 週間にわたって有意に増加した。Scl-Ab 投与の中止により、12 週及び 26 週までに BFR/BS は対照群レベルに近づいた。OPG-Fc への移行により、骨梁及び皮質骨部位の BFR/BS が有意に減少した。Scl-Ab の継続的投与群で観察されるように、投与頻度を下げた場合、26 週までに BFR/BS が減弱した（表 2）。このパターンは、Scl-Ab に反応した骨形成の表面固有の時間特性を明確に示している。BFR/BS におけるこの経時的な変化のパターンは血清骨形成マーカーであるオステオカルシン（OC）に反映され、OC は Scl-Ab の投与で早期に増加し、その後、対照群レベルに向かって減少した（図 3A）。投与 6 週で r13C7 から溶媒に移行した場合、血清バイオマーカー（図 3C）及び骨量と骨強度が経時的に減少したが、ラット OPG-Fc に移行した場合には減少は認められなかった（図 4）。6 週目の Scl-Ab の中止により、OVX-SAB/VEH 群では、血清骨形成マーカーである OC が 9～26 週目にかけて OVX 対照群のレベルに戻った。OPG-Fc（OVX-SAB/OPG）へ移行した場合には、血清 OC が非常に低いレベルに減少したが、これは既知の骨吸収抑制効果に起因していた（図 3 B 及び D）。低頻度の Scl-Ab 投与の（OVX-SAB/SABlo）への移行すると、一般に OVX 対照群と類似した血清バイオマーカープロフィールを示した（表 3 及び表 4）。血清 TRACP-5b は OVX 対照レベルより有意に増加したが、溶媒への移行により骨量が減少し、SOST と DKK1 遺伝子の発現も骨量減少に呼応して 26 週までに元に戻った。投与 6 週時点で r13C7 の投与頻度を下げた場合は、骨量と骨強度の上昇は維持されていたが、投与頻度を下げずに継続投与した場合のレベルと比較するとその上昇の程度は低かった（図 1）。すべての群において試験したすべての部位の骨量と骨強度は正の相関を示し、r13C7 は固有の強度パラメータの計算値に対して作用を示さないか又は正の作

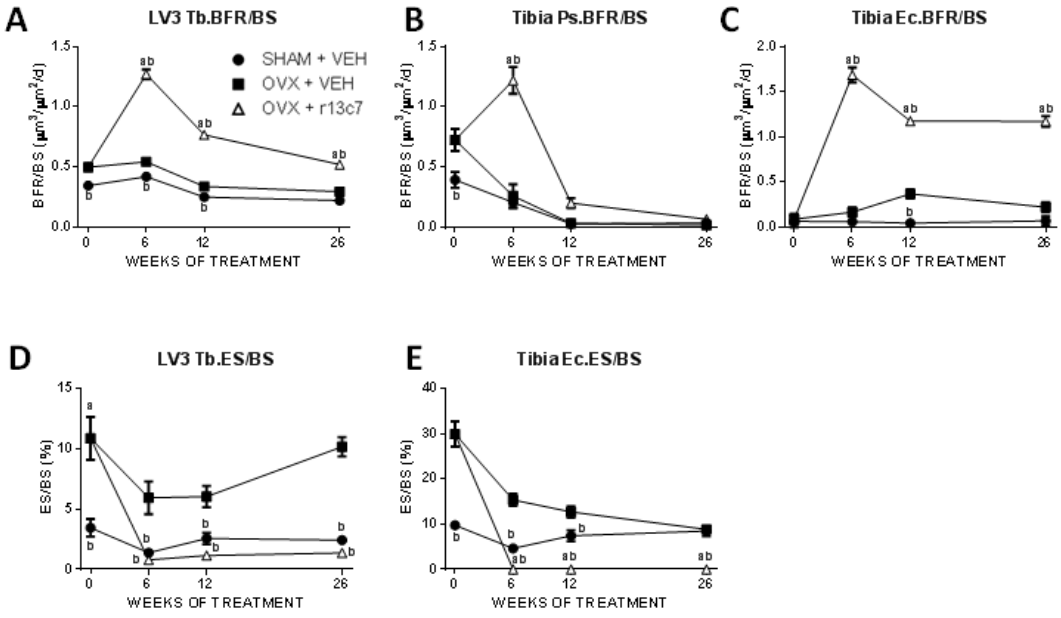
用を示した。以上の結果から、r13C7 の継続投与により骨形成が制御され、また骨質が維持されること、さらに RANKL 阻害因子に投与変更もしくは r13C7 の投与頻度を下げることによっても、r13C7 による骨量と骨強度の増加が維持されることが明らかになった。骨形成の制御には Wnt 抑制因子の発現増加が関与し、その発現増加は投与中断後に消失した。

図 1　OVX ラットの腰椎における DXA BMD 及び骨強度に対する r13C7 投与の作用



4-month-old female Sprague Dawley rats underwent OVX- or sham-operation and were left untreated to allow development of osteopenia for two months. Sham-operated rats were treated with vehicle (VEH) once weekly and were terminated at 26 weeks. OVX rats were treated sc once weekly with vehicle or 25 mg/kg r13c7 for 26 weeks. A) DXA BMD was measured longitudinally across the lumbar spine (L1-L5). B) Maximum load was recorded from L5 vertebral body specimens tested to failure in compression. Data are presented as Mean ± SEM, 2-way repeated-measures (rm; BMD) or non-rm (strength) ANOVA followed by Bonferroni post-test was performed with ap < 0.05 vs SHAM VEH, bp < 0.05 vs OVX V

図 2　OVX ラットにおける骨形成及び骨吸収指標に及ぼす r13C7 投与の一過性作用



4-month-old female Sprague Dawley rats underwent OVX- or sham-operation and were left untreated to allow development of osteopenia for two months. Sham-operated rats were treated with vehicle (VEH) once weekly and groups were terminated at 6, 12, and 26 weeks. OVX rats were treated sc once weekly with vehicle or 25 mg/kg r13c7 for 6, 12, or 26 weeks. Bone formation rate (BFR/BS) was quantified on A) trabecular (Tb) surfaces of L3 vertebral body and B) periosteal (Ps) and C) endocortical (Ec) surfaces of the tibia diaphysis. The bone resorption index eroded surface (ES/BS) was also quantified on D) L3 trabecular and E) tibia endocortical surfaces. Data are presented as Mean ± SEM, 2-way ANOVA with Bonferroni post-test was performed with $^{a}p < 0.05$ vs SHAM VEH, $^{b}p < 0.05$ vs OVX VEH. n = 9 to 12/group

Source: Study R20[redacted]0286, Adapted from Table 17. Table 18, Table 20, and Table 21

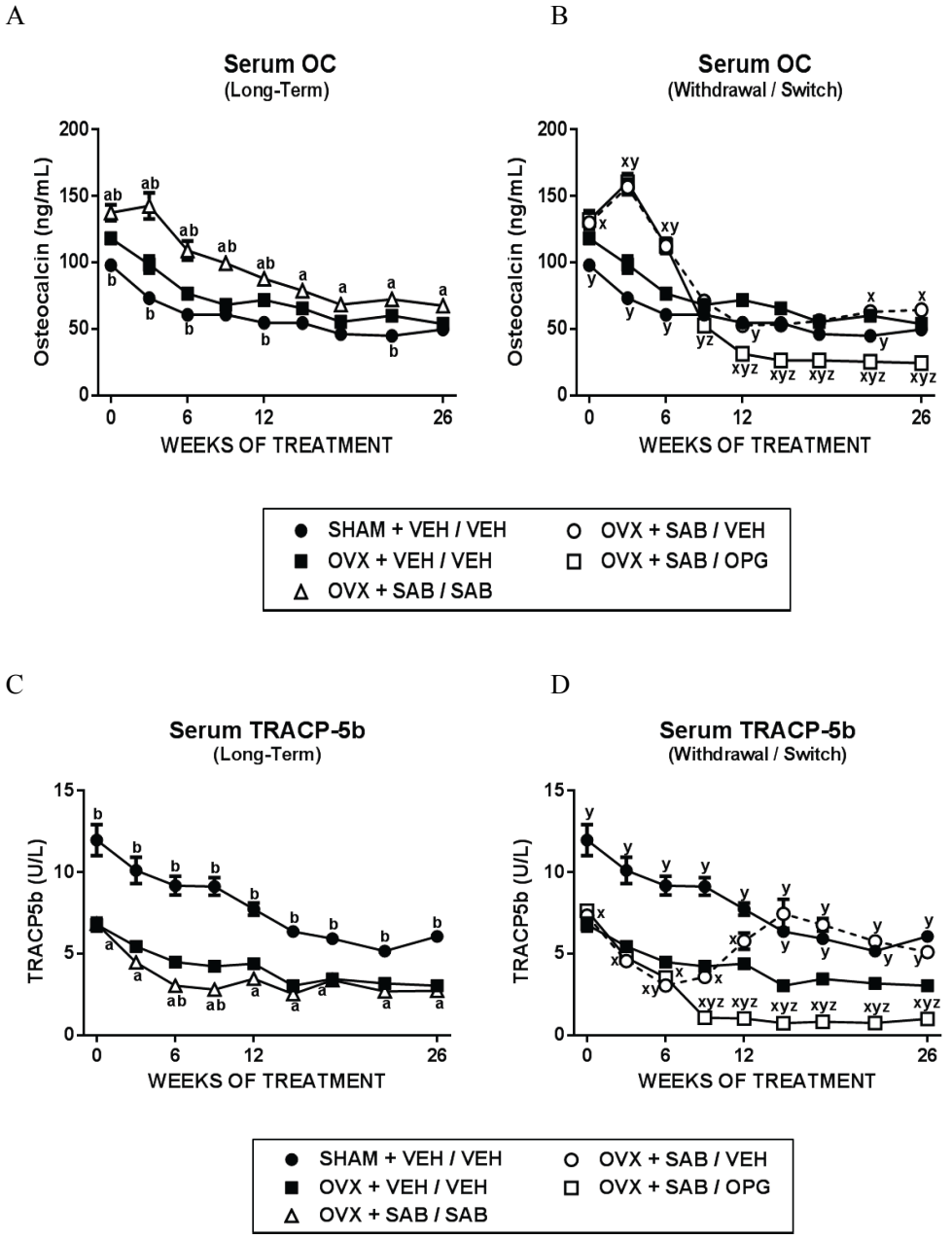
表 2　骨形態計測：皮質骨及び骨梁骨形成速度（BFR/BS）

Surgery / Treatment			SHAM VEH / VEH	OVX VEH / VEH	OVX SAB / SAB	OVX SAB / VEH	OVX SAB / OPG	OVX SAB / SABlo
Group	Analysis	(Unit)	(n=9-12)	(n=10-12)	(n=12)	(n=12)	(n=12-13)	(n=11)
WK0	Ps.BFR/BS	($\mu m^3/\mu m^2/d$)	0.39±0.07 (b)	0.73±0.09				
WK6	Ps.BFR/BS	($\mu m^3/\mu m^2/d$)	0.21±0.05	0.26±0.10	1.22±0.11 (a,b)			
WK12	Ps.BFR/BS	($\mu m^3/\mu m^2/d$)	0.03±0.02	0.03±0.02	0.20±0.04	0.010±0	0±0	
WK26	Ps.BFR/BS	($\mu m^3/\mu m^2/d$)	0.04±0.02	0.02±0.01	0.07±0.03	0±0	0.01±0.01	0±0
WK0	Ec.BFR/BS	($\mu m^3/\mu m^2/d$)	0.07±0.07	0.09±0.06				
WK6	Ec.BFR/BS	($\mu m^3/\mu m^2/d$)	0.07±0.04	0.17±0.05	1.69±0.08 (a,b)			
WK12	Ec.BFR/BS	($\mu m^3/\mu m^2/d$)	0.05±0.04 (b)	0.37±0.05	1.18±0.04 (a,b)	0±0 (y)	0±0 (y)	
WK26	Ec.BFR/BS	($\mu m^3/\mu m^2/d$)	0.07±0.05	0.22±0.05	1.17±0.06 (a,b)	0.06±0.02	0±0 (y)	0.55±0.13
WK0	Tb.BFR/BS	($\mu m^3/\mu m^2/d$)	0.35±0.01 (b)	0.50±0.02				
WK6	Tb.BFR/BS	($\mu m^3/\mu m^2/d$)	0.42±0.02 (b)	0.55±0.02	1.27±0.04 (a,b)			
WK12	Tb.BFR/BS	($\mu m^3/\mu m^2/d$)	0.25±0.02 (b)	0.34±0.03	0.77±0.02 (a,b)	0.22±0.03 (y)	0.01±0.01 (x,y,z)	
WK26	Tb.BFR/BS	($\mu m^3/\mu m^2/d$)	0.22±0.02	0.30±0.02	0.52±0.02 (a,b)	0.36±0.02 (x)	0.01±0 (x,y,z)	0.31±0.09

Effect of r13c7 Treatment on Bone Formation and Effects of Treatment Withdrawal and Transition to OPG-Fc.Four-month-old female Sprague-Dawley rats underwent ovariectomy- or sham-operation and left untreated to allow development of osteopenia for two months. OVX rats were treated sc once weekly with vehicle or 25 mg/kg SAB (r13c7; once weekly) for 6, 12, or 26 weeks. Additional groups of OVX rats were treated for 6 weeks of 25 mg/kg SAB (r13c7; once weekly) followed by 20 weeks of VEH (twice weekly), 10 mg/kg OPG-Fc (twice weekly), or 25 mg/kg SAB (r13c7; once every 4 weeks). Groups of sham-operated rats were treated with VEH (once weekly) and terminated at baseline (no treatment) and 6, 12, and 26 weeks. Bone formation rate (BFR/BS) was quantified on periosteal (Ps) and endocortical (Ec) surfaces of the tibia diaphysis and trabecular (Tb) surfaces of L3 vertebral body. Data are presented as MEAN ± SE. Six groups are separated into two analyses in order to assess 1) Long-Term: the effect of SAB over 26 weeks (SHAM VEH/VEH; OVX VEH/VEH; OVX SAB/SAB) and 2) Withdrawal/Switch: the effect of Scl-Ab discontinuation with and without transition to OPG-Fc or to less frequent Scl-Ab treatment (SHAM VEH/VEH; OVX VEH/VEH; OVX SAB/VEH; OVX SAB/OPG; OVX SAB/SABlo). 2-way (non-repeated-measure) ANOVA with Bonferroni post-test determined paired group-wise differences. Long-Term analysis - (a) $p < 0.05$ vs SHAM VEH/VEH, (b) $p < 0.05$ vs OVX VEH/VEH. Withdrawal/Switch analysis - (x) $p < 0.05$ vs SHAM VEH/VEH, (y) $p < 0.05$ vs OVX VEH/VEH, (z) $p < 0.05$ vs OVX SAB/VEH

Source: Study R20[redacted]0286, Adapted from Table 17, Table 18 and Table 20

図 3　OVX ラットにおける骨形成の血清バイオマーカーであるオステオカルシン(A)及び骨吸収の血清バイオマーカーである TRACP 5B(B)に対する r13c7 投与の経時的作用



Temporal Effect of r13c7 Treatment on Bone Turnover Markers and effects of treatment withdrawal and transition to OPG-Fc. Four-month-old female Sprague-Dawley rats underwent ovariectomy- or sham-operation and left untreated to allow development of osteopenia for two months. OVX rats were treated sc once weekly with vehicle or 25 mg/kg SAB (Scl-AbVI) for 26 weeks. Additional groups of OVX rats were treated for 6 weeks of 25 mg/kg SAB (Scl-AbVI; once weekly) followed by 6 or 20 weeks of VEH (twice weekly), 10 mg/kg OPG (twice weekly), or 25 mg/kg SAB (Scl-AbVI; once every 4 weeks). Sham-operated rats were treated with VEH (once weekly) and terminated at 26 weeks. Serum was collected at WK0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 22, and 26. Data are presented as MEAN ± SE.

Five groups are separated into two analyses in order to assess 1) Long-Term: the effect of SAB over 26 weeks (SHAM VEH/VEH; OVX VEH/VEH; OVX SAB/SAB) and 2) Withdrawal/Switch: the effect of Scl-Ab discontinuation with and without transition to OPG-Fc (SHAM VEH/VEH; OVX VEH/VEH; OVX SAB/VEH; OVX SAB/OPG). Group OVX SAB/SAB was not included in analyses. 2-way repeated-measures (rm) ANOVA with Bonferroni post-test determined paired group-wise differences. Long-Term analysis - (a) $p < 0.05$ vs SHAM VEH/VEH, (b) $p < 0.05$ vs OVX VEH/VEH. Withdrawal/Switch analysis - (x) $p < 0.05$ vs SHAM VEH/VEH, (y) $p < 0.05$ vs OVX VEH/VEH, (z) $p < 0.05$ vs OVX SAB/VEH.

Source: Study R20[redacted]0286, Adapted from Fig 9 and 10

表 3　縦断的血清分析 - 骨形成マーカー（WK26、ARM1）

Time	Biomarker	Group Surgery Treatment (Unit)	WK26 (ARM1) SHAM VEH / VEH (n=12)	WK26 (ARM1) OVX VEH / VEH (n=12)	WK26 (ARM1) OVX SAB / SAB (n=12)	WK26 (ARM1) OVX SAB / VEH (n=12)	WK26 (ARM1) OVX SAB / OPG (n=14)	WK26 (ARM1) OVX SAB / SABlo (n=11)
BL	P1NP	(ng/mL)	29.01±1.8 (b)	33.55±1.98	34.05±3.28 (a)	36.25±2.2	37.93±2.6 (x)	*33.83±2.04*
WK 3	P1NP	(ng/mL)	26.76±1.36	25.1±0.89	36.87±1.94 (a,b)	46.01±1.2 (x,y)	39.39±2.42 (x,y)	*35.96±1.38*
WK 6	P1NP	(ng/mL)	17.53±1.43	17.96±0.69	30.73±2.21 (a,b)	32.33±2.25 (x,y)	36.34±6.05 (x,y)	*25.77±1.02*
WK 9	P1NP	(ng/mL)	18.45±0.92	17.77±0.64	28.18±1.06 (a,b)	21.03±1.22	21.85±2.87	*24.4±1.24*
WK 12	P1NP	(ng/mL)	17.31±0.62	18.14±0.55	27.43±1.11 (a,b)	17.76±0.71	23.17±2.51	*24.64±0.87*
WK 15	P1NP	(ng/mL)	14.18±0.61	18.41±0.63	23.23±1 (a,b)	17.55±0.76	23.16±1.95 (x)	*20.6±0.71*
WK 18	P1NP	(ng/mL)	17.38±0.74	18.04±0.95	28.11±1.69 (a,b)	18.2±0.73	26.95±3.68 (x,y,z)	*25.27±2.24*
WK 22	P1NP	(ng/mL)	14.82±0.84	17.08±0.81	24.45±1.23 (a,b)	17.55±1.06	24.87±2.38 (x,y)	*20.36±1.07*
WK 26	P1NP	(ng/mL)	15.27±0.63	15.73±0.7	22.36±1.07 (a,b)	16.74±0.72	28.84±3.3 (x,y,z)	*16.66±0.94*
BL	OC	(ng/mL)	97.9±4.2 (b)	118±4.2	137.4±6 (a,b)	129.7±4.8 (x)	132±7 (x,y)	*114.8±7.2*
WK 3	OC	(ng/mL)	73±3.1 (b)	98.4±6.3	142.6±10 (a,b)	156.7±5.8 (x,y)	160.2±6.6 (x,y)	*121.5±6.2*
WK 6	OC	(ng/mL)	60.6±3.7 (b)	76.6±3.4	109±7.2 (a,b)	112.3±5.4 (x,y)	112.7±5.6 (x,y)	*91±5.3*
WK 9	OC	(ng/mL)	60.7±3.1	68.1±2.7	99.4±4.2 (a,b)	70.7±3.2	52.5±3.6 (y,z)	*61.7±4.1*
WK 12	OC	(ng/mL)	54.5±2.6 (b)	71.7±3.8	87.8±4.8 (a,b)	52.7±2.4 (y)	31.3±2.3 (x,y,z)	*63.3±2.9*
WK 15	OC	(ng/mL)	54.5±2.4	65.4±2.6	78.8±3 (a)	53.3±2.5	26.3±1.9 (x,y,z)	*43.8±1.7*
WK 18	OC	(ng/mL)	46.2±2.6	55.2±1.9	68.3±3.4 (a)	56±2.6	26.3±1.8 (x,y,z)	*51.1±3*
WK 22	OC	(ng/mL)	44.7±1.8 (b)	59.9±2.6	72.2±3.1 (a)	62.8±3.1 (x)	25.3±1.9 (x,y,z)	*44.4±3*
WK 26	OC	(ng/mL)	49.5±1.9	53.8±2.1	67.4±3.3 (a)	64.2±4 (x)	24.3±1.6 (x,y,z)	*39.5±3.3*

4-month-old female Sprague-Dawley rats underwent ovariectomy- or sham-operation and left untreated to allow development of osteopenia for two months. OVX rats were treated sc once weekly with vehicle or 25 mg/kg SAB (Scl-AbVI) for 26 weeks. Additional groups of OVX rats were treated for 6 weeks of 25 mg/kg SAB (Scl-AbVI; once weekly) followed by 6 or 20 weeks of VEH (twice weekly), 10 mg/kg OPG (twice weekly), or 25 mg/kg SAB (Scl-AbVI; once every 4 weeks). Sham-operated rats were treated with VEH (once weekly) and terminated at 26 weeks. Serum was collected at WK0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 22, and 26. Data are presented as MEAN ± SE. Five groups are separated into two analyses in order to assess 1) Long-Term: the effect of SAB over 26 weeks (SHAM VEH/VEH; OVX VEH/VEH; OVX SAB/SAB) and 2) Withdrawal/Switch: the effect of Scl-Ab discontinuation with and without transition to OPG-Fc (SHAM VEH/VEH; OVX VEH/VEH; OVX SAB/VEH; OVX SAB/OPG). Group OVX SAB/SABlo was not included in analyses. 2-way repeated-measures (rm) ANOVA with Bonferroni post-test determined paired group-wise differences. Long-Term analysis - (a) $p < 0.05$ vs SHAM VEH/VEH, (b) $p < 0.05$ vs OVX VEH/VEH. Withdrawal/Switch analysis - (x) $p < 0.05$ vs SHAM VEH/VEH, (y) $p < 0.05$ vs OVX VEH/VEH, (z) $p < 0.05$ vs OVX SAB/VEH.

Source: Study R20[redacted]0286, Table 6 p36

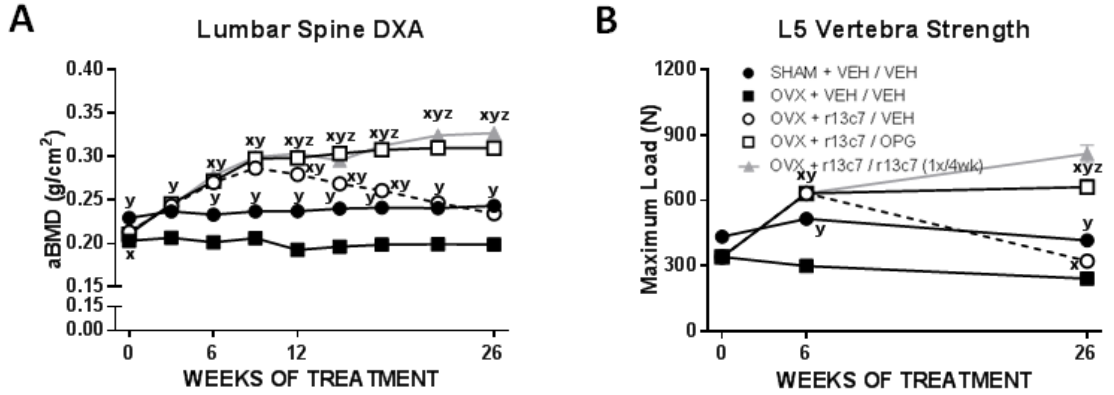
表 4　縦断的血清分析 - 骨吸収マーカー、TRACP 5b（WK26、ARM1）

		Group	WK26 (ARM1)	WK26 (ARM1)	WK26 (ARM1)	WK26 (ARM1)	WK26 (ARM1)	WK26 (ARM1)
		Surgery	SHAM	OVX	OVX	OVX	OVX	OVX
		Treatment	VEH / VEH	VEH / VEH	SAB / SAB	SAB / VEH	SAB / OPG	SAB / SABlo
Time	Biomarker	(Unit)	(n=12)	(n=12)	(n=12)	(n=12)	(n=14)	(n=11)
BL	TRACP 5b	(U/L)	11.97±0.95 (b)	6.78±0.4	6.83±0.35 (a)	7.33±0.31 (x)	7.63±0.38 (x)	*6.65±0.22*
WK 3	TRACP 5b	(U/L)	10.1±0.82 (b)	5.44±0.31	4.45±0.22 (a)	4.54±0.23 (x)	4.75±0.2 (x)	*4.26±0.17*
WK 6	TRACP 5b	(U/L)	9.16±0.58 (b)	4.48±0.31	3.03±0.19 (a,b)	3.04±0.19 (x)	3.53±0.22 (x,y)	*3.24±0.16*
WK 9	TRACP 5b	(U/L)	9.12±0.54 (b)	4.22±0.27	2.8±0.15 (a,b)	3.56±0.21 (x)	1.07±0.07 (x,y,z)	*3.32±0.17*
WK 12	TRACP 5b	(U/L)	7.73±0.38 (b)	4.39±0.21	3.45±0.14 (a)	5.76±0.51 (x)	1.02±0.08 (x,y,z)	*3.18±0.16*
WK 15	TRACP 5b	(U/L)	6.36±0.32 (b)	3.03±0.2	2.52±0.16 (a)	7.44±0.89 (y)	0.73±0.05 (x,y,z)	*4.91±0.23*
WK 18	TRACP 5b	(U/L)	5.92±0.35 (b)	3.45±0.23	3.36±0.22 (a)	6.77±0.39 (y)	0.82±0.07 (x,y,z)	*2.64±0.09*
WK 22	TRACP 5b	(U/L)	5.16±0.28 (b)	3.17±0.2	2.68±0.13 (a)	5.76±0.3 (y)	0.74±0.05 (x,y,z)	*3.05±0.11*
WK 26	TRACP 5b	(U/L)	6.06±0.29 (b)	3.04±0.22	2.72±0.13 (a)	5.09±0.24 (y)	1±0.08 (x,y,z)	*4.51±0.2*

4-month-old female Sprague-Dawley rats underwent ovariectomy- or sham-operation and left untreated to allow development of osteopenia for two months. OVX rats were treated sc once weekly with vehicle or 25 mg/kg SAB (Scl-AbVI) for 26 weeks. Additional groups of OVX rats were treated for 6 weeks of 25 mg/kg SAB (Scl-AbVI; once weekly) followed by 6 or 20 weeks of VEH (twice weekly), 10 mg/kg OPG (twice weekly), or 25 mg/kg SAB (Scl-AbVI; once every 4 weeks). Sham-operated rats were treated with VEH (once weekly) and terminated at 26 weeks. Serum was collected at WK0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 22, and 26. Data are presented as MEAN ± SE. Five groups are separated into two analyses in order to assess 1) Long-Term: the effect of SAB over 26 weeks (SHAM VEH/VEH; OVX VEH/VEH; OVX SAB/SAB) and 2) Withdrawal/Switch: the effect of Scl-Ab discontinuation with and without transition to OPG-Fc (SHAM VEH/VEH; OVX VEH/VEH; OVX SAB/VEH; OVX SAB/OPG). Group OVX SAB/SABlo was not included in analyses. 2-way repeated-measures (rm) ANOVA with Bonferroni post-test determined paired group-wise differences. Long-Term analysis - (a) $p < 0.05$ vs SHAM VEH/VEH, (b) $p < 0.05$ vs OVX VEH/VEH. Withdrawal/Switch analysis - (x) $p < 0.05$ vs SHAM VEH/VEH, (y) $p < 0.05$ vs OVX VEH/VEH, (z) $p < 0.05$ vs OVX SAB/VEH.

Source: Study R20[redacted]0286, Table 7 p37

図 4　OVX ラットの腰椎における DXA による BMD 及び骨強度に及ぼす r13C7 投与中断、OPG-Fc への移行あるいは低頻度の r13C7 投与への移行の影響



4-month-old female Sprague Dawley rats underwent OVX- or sham-operation and were left untreated to allow development of osteopenia for two months. Sham-operated rats were treated with vehicle (VEH) once weekly and were terminated at 26 weeks. OVX rats were treated with vehicle for 26 weeks or 6 weeks of 25 mg/kg r13c7 (once weekly) followed by either 20 weeks of VEH (twice weekly), 10 mg/kg OPG-Fc (twice weekly), or less frequent r13c7 (once every 4 weeks). A) DXA BMD was measured longitudinally across the lumbar spine (L1-L5). B) Maximum load was recorded from L5 vertebral body specimens tested to failure in compression. Data are presented as Mean ± SEM, 2-way repeated-measures (rm; BMD) or non-rm (strength) ANOVA followed by Bonferroni post-test was performed with $^{x}p < 0.05$ vs SHAM VEH / VEH, $^{y}p < 0.05$ vs OVX VEH / VEH, $^{z}p < 0.05$ vs OVX r13c7 / VEH. Group OVX r13c7/r13c7 (1x/4wk) was not included in statistical analyses. n = 9 to 14/group.
Source: Study R20[redacted]0286, Adapted from Table 5 and Table 31

2.2.1.2　卵巣摘出 Sprague Dawley ラットに AMG 785 を 12 カ月間週 1 回皮下投与した際の骨質に及ぼす作用（107899 試験)

本試験の目的は、骨格成熟後に OVX を処置し、骨量が減少した SD ラットを用いてロモソズマブの 12 カ月間投与による骨形成、骨吸収、骨量及び骨強度に及ぼす作用を明らかにすることである。6 カ月齢の雌性 SD ラットに外科手術（シャムオペ又は OVX）を実施した。2 カ月の骨量減少期間後、OVX ラットに溶媒（n=20）あるいは 3（n=50）、10（n=35）及び 50 mg/kg（n=35）のロモソズマブを週 1 回皮下投与した。シャムオペ群（n=20）には溶媒を投与した。少なくとも 12 週間投与後、血清を採取して ADAs を測定し、ADA 陽性の動物を試験から除外した。ただし、各群に十分な動物数を確保するために、最も高い薬理反応を示した ADA 陽性動物の何例かを試験に継続的に使用した。ADA のレベルや肉眼的な変化（全般的な健康状態に影響を与えるような変化［大きな皮下腫瘤］及び骨評価項目の評価を困難とする変化［エストロゲン枯渇状態でないことを示唆する子宮重量］の両方又はどちらか）に基づいて投与 52 週の時点でデータ精査後にさらなる動物を試験から除外した。本試験のデータ解析の対象とした最終的な動物数は、シャムオペ溶媒群（n=10）、OVX 溶媒群（n=15）、3 mg/kg 投与群（n=15）、10 mg/kg 投与群（n=10）及び 50 mg/kg 投与群（n=15）であった。骨質評価に適したラット（試験計画の変更に応じて除外した後の動物）における投与 9 週から 52 週の間の血清中平均ロモソズマブ濃度の最低値と最高値は、3、10 及び 50 mg/kg 投与群でそれぞれ 21.4 及び 44.3、169 及び 242、793 及び 1190 µg/mL であった。臨床用量である 210 mg を月 1 回投与した時の推定 $AUC_{(0\text{-}28d)}$は 12888 µg·hr/mL であることから、3、10 及び 50 mg/kg 投与時の推定曝露量（AUC）は臨床用量の約 0.6、3.9 及び 19.2 倍であった（モジュール 2.6.6 第 2.4.2 項参照）。10 匹のシャムオペ群及び 10 匹の OVX 群のラットは骨量減少期間の終了時点で安楽死させ、加齢と卵巣摘出の影響を評価するための対照として使用した。本試験では以下の薬理パラメータ及

び評価項目を検討した：骨形成と骨吸収の生化学マーカー、薬物濃度、ADAs、*in vivo* 及び *ex vivo* の骨密度（DXA、pQCT 及び micro-CT スキャン）、生体力学的パラメータ及び骨形態計測（各群あたり最初の 10 匹のみ）。本試験で収集した一般安全性評価項目に関する更なる情報はモジュール 2.6.6 第 2.7.7.2 項を参照のこと。

OVX により子宮の絶対重量及び相対重量が有意に減少し、試験から除外した 10 mg/kg 投与群の 1 匹を除いたすべての動物で外科手術は適切に行われた。OVX を実施したラットでは、2 カ月間の骨量減少期間及び 12 カ月間の投与期間を通して骨梁及び皮質骨の両方又はどちらかの部位で骨量が漸減した（図 5）。OVX の特徴は、骨形成や骨吸収の生化学マーカー（図 6 及び図 7）や骨形態計測指標の上昇（図 8 及び図 9）で示される骨代謝回転の亢進である。OVX により腰椎の海綿骨や皮質骨の骨量が減少し、その結果この部位の骨強度パラメータが低下する（図 10）。OVX による生体力学的変化は皮質骨（大腿骨骨幹 3 点曲げ）又は混合部位（大腿骨頸部）ではその程度が小さかった。OVX が誘発する変化は、すべてラットにおいてエステロゲンの枯渇に応じて予測される変化と同一であった。

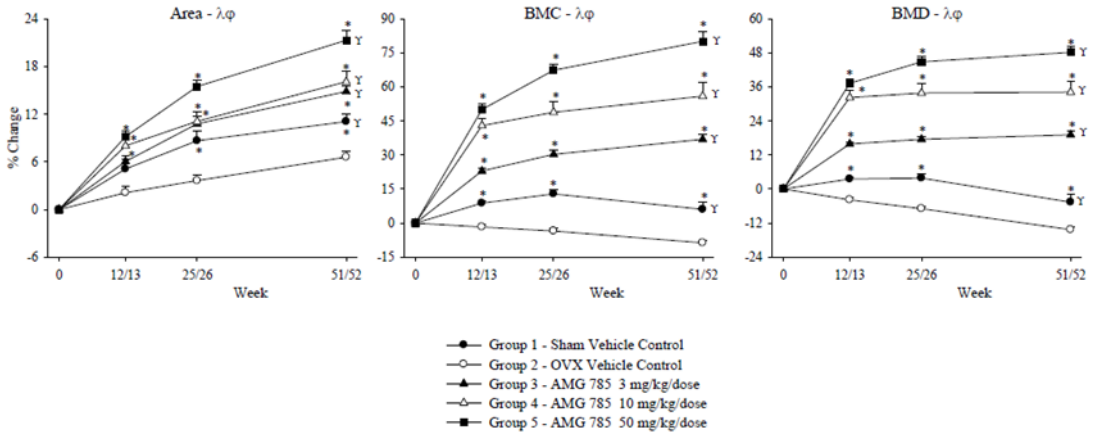
ロモソズマブは OVX の影響を上回る骨形成増加作用を示し、投与 11 週には骨形成マーカーであるオステオカルシン（OCN）の上昇がピークに達した（図 6）。海綿骨及び皮質骨部位で評価した骨形態計測の結果から、ロモソズマブは 3 mg/kg 以上で L3 及び脛骨骨幹部位の骨石灰化面及び骨面基準骨形成速度を有意かつ用量依存的に増加させ、総じて骨形成を亢進した（図 8）。投与 11 週で骨吸収マーカーである血清 C-テロペプチドは 50 mg/kg で有意に上昇したが、投与 52 週で骨吸収マーカーのデオキシピリジノリン（DPD）はロモソズマブの影響を受けず、骨形態計測の骨吸収指標にも変化は認められなかった（図 7 及び図 9）。骨形態計測の骨石灰化指標である類骨量や類骨幅はロモソズマブの影響を受けず、骨石灰化に障害が生じていないことが示唆された。椎骨 L3 で測定した骨単位壁幅は 3 mg/kg 以上で有意かつ用量依存的に増加した。3 mg/kg で内骨面の骨形成パラメータ（標識面、骨石灰化速度及び骨形成速度）が上昇したが、10 mg/kg 以上の投与ではこれらのパラメータの上昇度は有意ではなかった。ロモソズマブは評価したすべての部位で骨量を顕著かつ用量依存的に増加させた。骨量減少期間の終了時と比較して投与 51/52 週で腰椎の BMD はロモソズマブの 3、10 及び 50 mg/kg の投与群でそれぞれ 19、34 及び 48%増加した（図 5）。pQCT 測定で、脛骨近位部の骨幹端部位において全断面並びに骨梁の BMD が顕著に増加した。すべての測定時点及び用量でロモソズマブは脛骨近位部の骨幹部において皮質骨面及び皮質骨幅を有意に増加させた。これらの変化は骨膜周囲長の増加や骨内膜周囲長の著しい減少に起因しており、またこれらの面で骨形成が増加するという骨形態計測の結果と一致した。多くの骨密度パラメータでロモソズマブ投与群の値はシャムオペ溶媒群を上回った。DXA、pQCT 及び micro-CT を用いた *ex vivo* 試験でも骨量と骨形状に関して同様の変化が観察された。

ロモソズマブにより骨量が増加し、骨形状が改善した結果、試験したすべての用量で大腿骨骨幹部、大腿骨頸部及び腰椎における骨強度パラメータが有意かつ用量依存的に増加した。OVX 対照群と比較して、ロモソズマブ投与群では最大荷重が大腿骨骨幹部（最高 121%増加）、大腿骨頸部（最高 46%増加）及び腰椎（L4-L5：最高 270%増加）で有意に増加した（図 10）。さらに、生体力学的パラメータと BMC 及び BMD の両方又はどちらかを用いた回帰分析では、骨量の増加と骨強度との間に有意な正の相関が認められた（図 11）。OVX 溶媒群と比較して 50 mg/kg のロモソズマブ

投与群では、腰椎の回帰直線で正のシフトが認められ、これは腰椎における物性計算値の有意な増加と一致した。

これらの変化は投与による骨基質特性の改善によるものであると考えられる。あるいは、顕著な骨構造の変化が骨全体の強度に及ぼす作用は上述した方法では適切に評価することが難しいことから、これらの変化は骨量不足の改善に続発した変化である可能性もある。本試験において骨量減少ラットにロモソズマブを 12 カ月間投与することにより急速かつ顕著な骨量（BMC 及び BMD）の増加と臨床的に意味のある部位における生体力学的能力の改善が認められた。

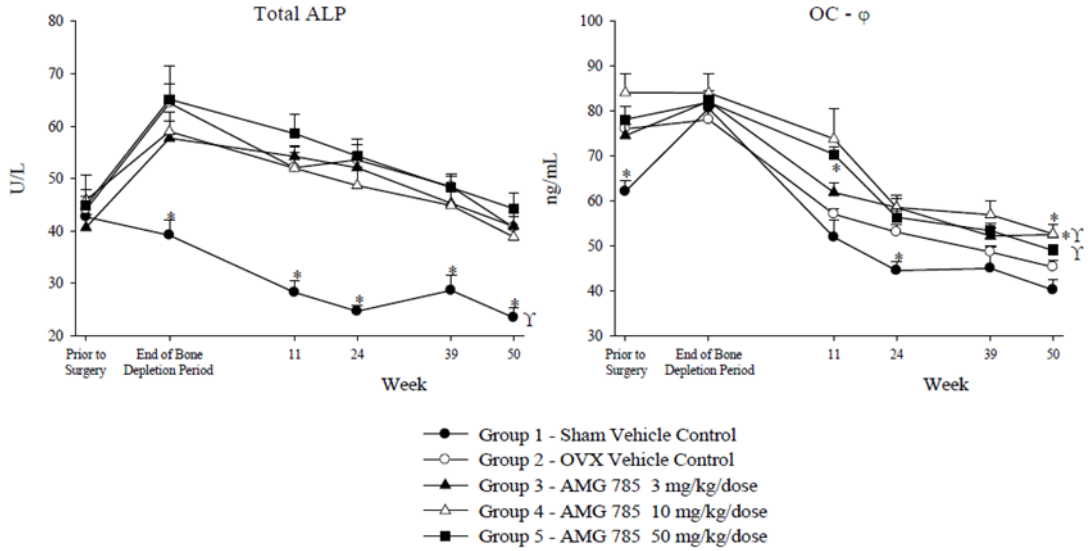
図 5　DXA による骨デンシトメトリー値の骨減少期間後からのパーセント変化－腰椎（L1-L4）－平均（SEM）



6-month-old female Sprague Dawley rats underwent ovariectomy- or sham-operation and were left untreated to allow development of osteopenia for two months. OVX rats were treated with vehicle or 3, 10, or 50 mg/kg romosozumab (AMG 785) SC QW for 52 weeks. An additional group of Sham rats were administered vehicle SC QW. Dual energy X-ray absorptiometry (DXA) was performed in vivo at the end of the bone depletion period and at weeks 12/13, 25/26, and 51/52. BMC, bone mineral content; BMD, bone mineral density

Source: Text Figure 6, Appendix 14, Study 107899

図 6　骨形成マーカー-平均（SEM）

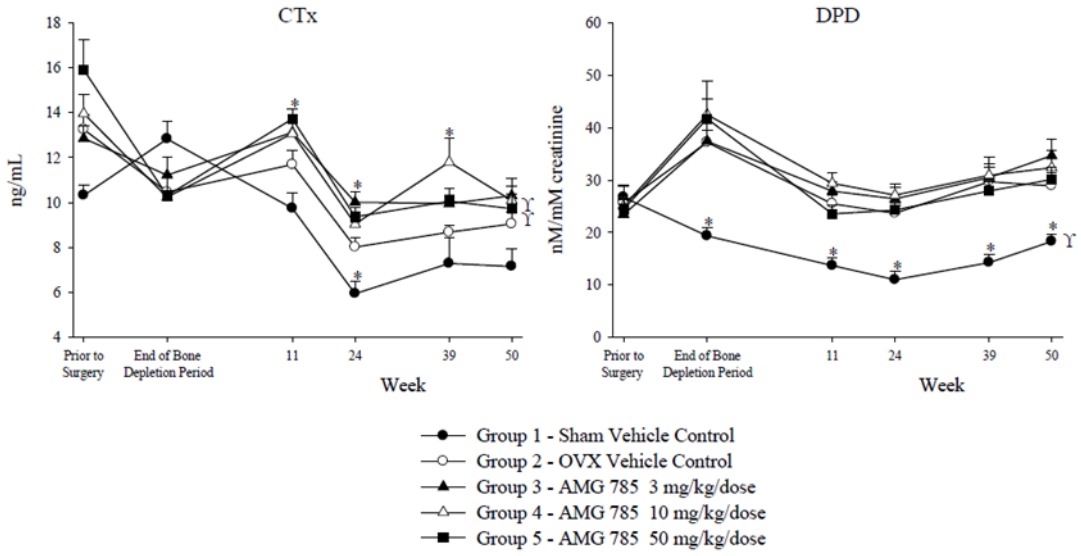


Significantly different from OVX vehicle control group (Group 2) value: *-p≤0.05
Significant linear dose effect: λ-p≤0.05
Significant quadratic dose effect: φ-p≤0.05
Significant across time: ϒ-p≤0.05

6-month-old female Sprague Dawley rats underwent ovariectomy- or sham-operation and were left untreated to allow development of osteopenia for two months. OVX rats were treated with vehicle or 3, 10, or 50 mg/kg romosozumab (AMG 785) SC QW for 52 weeks. An additional group of Sham rats were administered vehicle SC QW. Bone biomarker analyses were performed prior to ovariectomy, at the end of the bone depletion period and at weeks 11, 24, 39 ad 50. ALP, alkaline phosphatase; OC, osteocalcin.

Source: Text Figure 1, Appendix 14, Study 107899

図 7　骨吸収マーカー-平均（SEM）

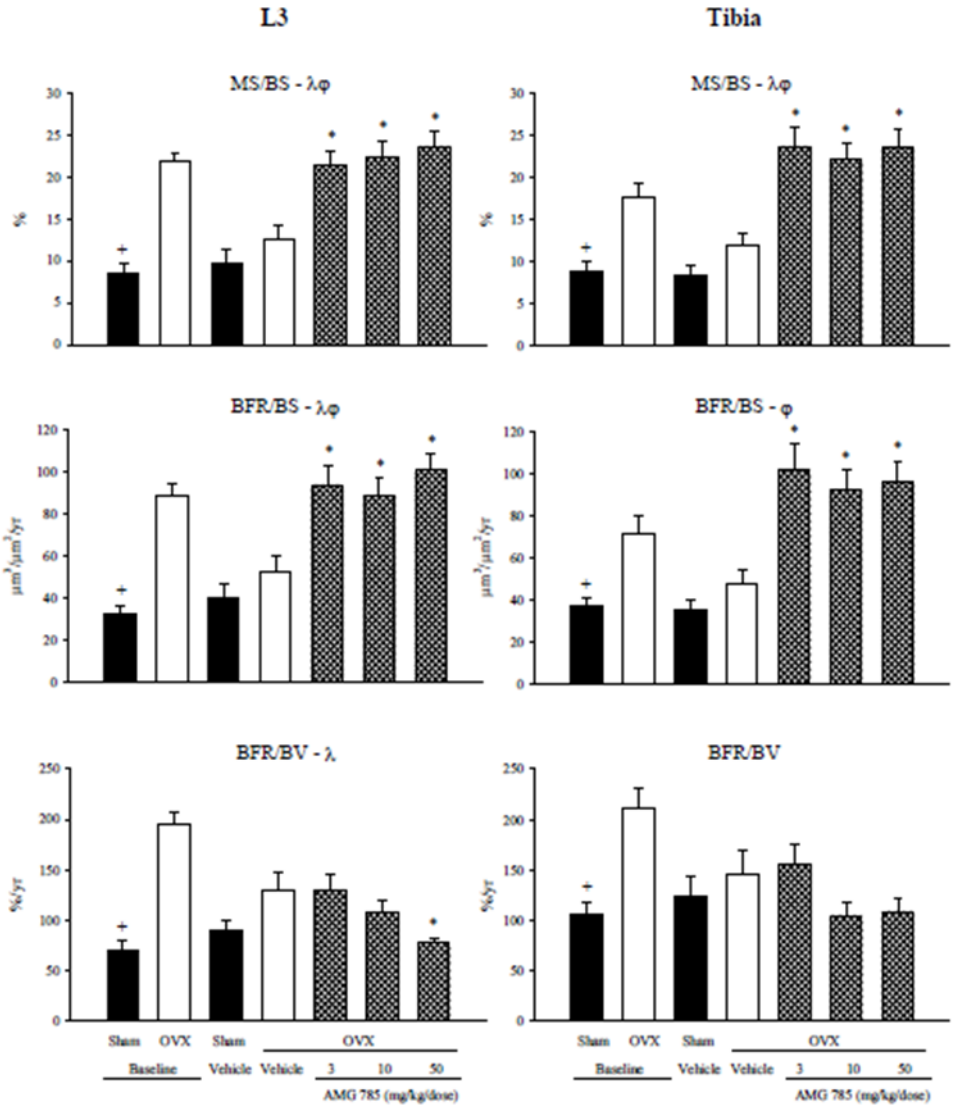


Significantly different from OVX vehicle control group (Group 2) value: *-p≤0.05
Significant linear dose effect: λ-p≤0.05
Significant quadratic dose effect: φ-p≤0.05
Significant across time: ϒ-p≤0.05

6-month-old female Sprague Dawley rats underwent ovariectomy- or sham-operation and were left untreated to allow development of osteopenia for two months. OVX rats were treated with vehicle or 3, 10, or 50 mg/kg romosozumab (AMG 785) SC QW for 52 weeks. An additional group of Sham rats were administered vehicle SC QW. Bone biomarker analyses were performed prior to ovariectomy, at the end of the bone depletion period and at weeks 11, 24, 39 ad 50. CTx, C-telopeptide; DPD, deoxypyridinoline (urinary).

Source: Text Figure 2, Appendix 14, Study 107899

図 8　海綿骨の骨形態計測-動的な骨形成の変動-平均（SEM）

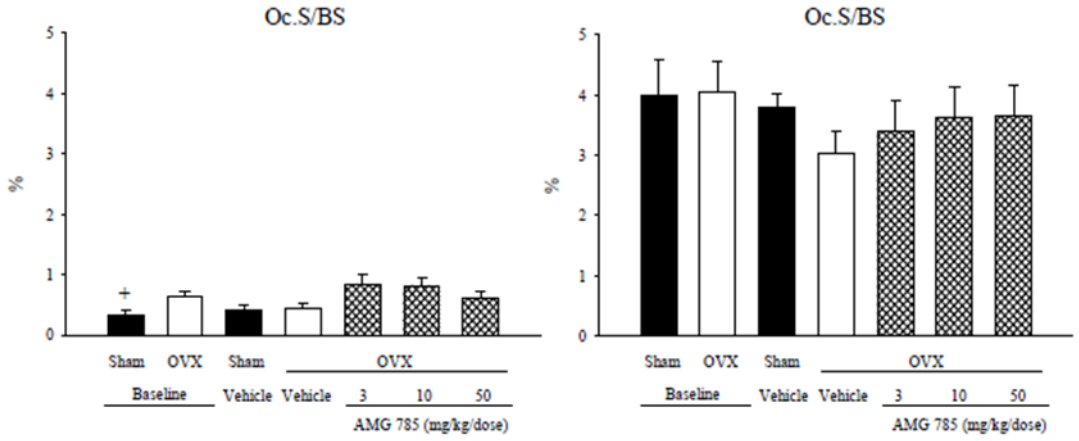


Significantly different from OVX baseline group value: +-p≤0.05
Significantly different from OVX vehicle control group value: *-p≤0.05
Significant linear dose effect: λ-p≤0.05
Significant quadratic dose effect: φ-p≤0.05

6-month-old female Sprague Dawley rats underwent ovariectomy- or sham-operation and were left untreated to allow development of osteopenia for two months. OVX rats were treated with vehicle or 3, 10, or 50 mg/kg romosozumab (AMG 785) SC QW for 52 weeks. An additional group of Sham rats were administered vehicle SC QW. Bone histomorphometric analyses were performed at the end of the 52 week dosing period . L3, Lumbar vertebrae 3.

Source: Text Figure 4, Appendix 17, Study 107899

図 9　海綿骨の骨形態計測-静的な骨吸収の変動-平均（SEM）

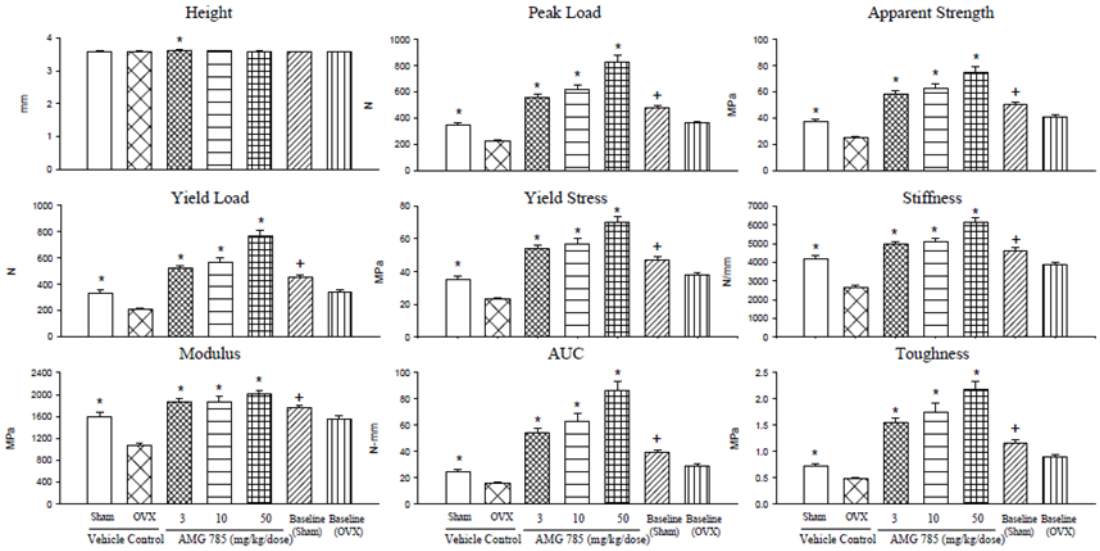


Significantly different from OVX baseline group value: +-p≤0.05
Significantly different from OVX vehicle control group value: *-p≤0.05
Statistical Analysis Using Heteroscedastic ANOVA Model: ε

6-month-old female Sprague Dawley rats underwent ovariectomy- or sham-operation and were left untreated to allow development of osteopenia for two months. OVX rats were treated with vehicle or 3, 10, or 50 mg/kg romosozumab (AMG 785) SC QW for 52 weeks. An additional group of Sham rats were administered vehicle SC QW. Bone histomorphometric analyses were performed at the end of the 52 week dosing period . L3, Lumbar vertebrae 3.

Source: Text Figure 2, Appendix 17, Study 107899

図 10　生体力学的パラメータ-腰椎 L4+L5－平均（SEM）

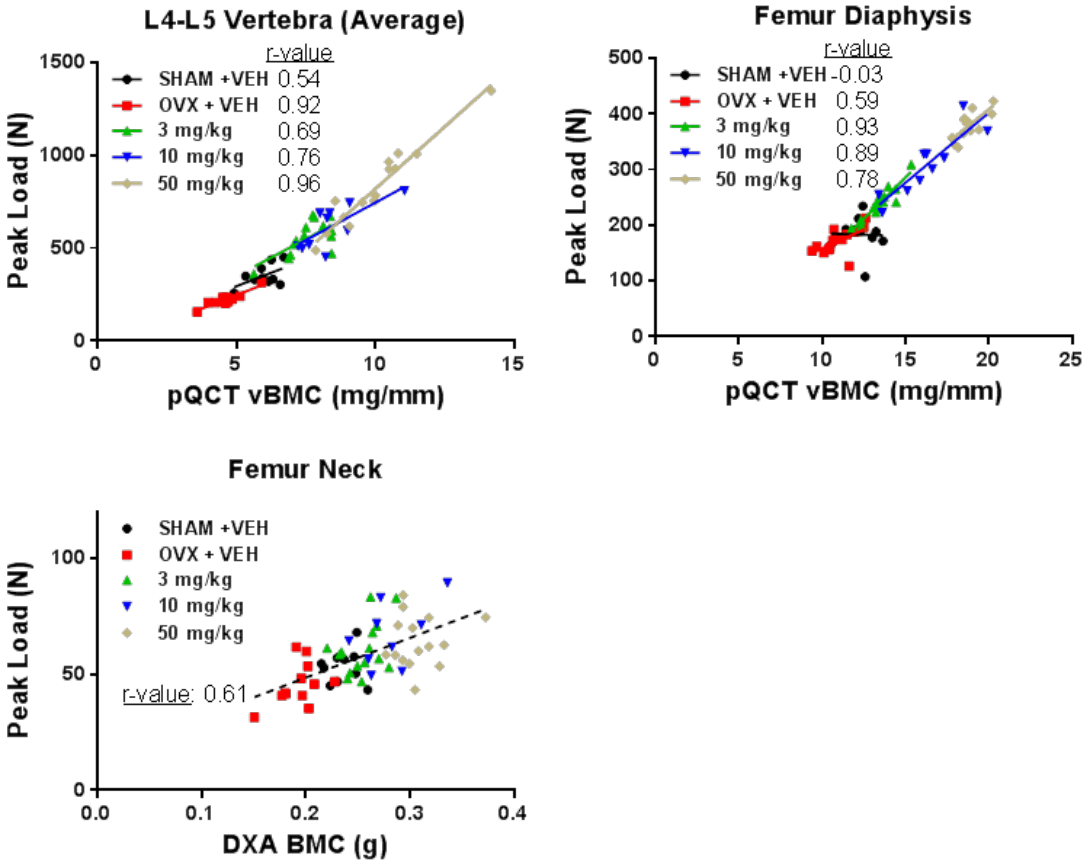


Significantly different from OVX control group value: *-p≤0.05
Significantly different from OVX baseline group value: +-p≤0.05

6-month-old female Sprague Dawley rats underwent ovariectomy- or sham-operation and were left untreated to allow development of osteopenia for two months. OVX rats were treated with vehicle or 3, 10, or 50 mg/kg romosozumab (AMG 785) SC QW for 52 weeks. An additional group of Sham rats were administered vehicle SC QW. Biomechanical testing was performed at the end of the 52 week dosing period .

Source: Text Figure 26, Appendix 14, Study 107899

図 11　OVX ラットにおけるロモソズマブの 52 週間投与後の骨量と骨強度の関連性の維持又は改善



6-month-old female Sprague Dawley rats underwent ovariectomy- or sham-operation and were left untreated to allow development of osteopenia for two months. OVX rats were treated sc once weekly with vehicle or 3, 10, or 50 mg/kg romosozumab (AMG 785) for 52 weeks. An additional group of Sham rats were administered vehicle once weekly sc. Bone mineral content was measured ex vivo at the L4 and L5 vertebral body (pQCT), femur diaphysis (pQCT), and proximal femur (DXA) and mechanical testing was performed these sites to determine the peak load. Linear regressions were performed across BMC and peak load at A) L4+L5 (average), B) femur diaphysis, and C) femur neck. Regression lines and coefficients (r) are presented for individual groups (when group differences were observed as in A and B) or across all groups (when no group differences were observed as in C). n = 10 to 15/group

Source: Study 107899, Adapted from Appendix 14 (Sub-Appendices 5, 8, and 12) and Appendix 19 (Sub-Table 15)

2.2.1.3　卵巣摘出老齢カニクイザルに AMG 785 を 52 週間週 1 回皮下投与した際の骨質に及ぼす作用（107903 試験）

本試験の目的は、OVX カニクイザルを用いて 12 カ月間にわたってロモソズマブ投与及び投与中断の骨形成、骨吸収、骨量及び骨強度に及ぼす作用を検討することである。骨格成熟カニクイザル（8.5 歳以上）にシャムオペ又は OVX を実施した。4 カ月間の骨減少期間後、OVX カニクイザルに溶媒あるいは 3 又は 30 mg/kg のロモソズマブを 52 週間にわたって週 1 回皮下投与、又は 30 mg/kg のロモソズマブを 26 週間投与した後に溶媒を 26 週間投与した（30/0 mg/kg）（n=16/群）。3 及び 30 mg/kg のロモソズマブを週 1 回投与した場合、最終投与後の $AUC_{(0\text{-}168h)}$はそれぞれ 4128 及び 70800 µg·hr/mL であった。したがって、臨床で 210 mg を月 1 回投与したときの推定 $AUC_{(0\text{-}28d)}$が 12888 µg·hr/mL であることから、3 及び 30 mg/kg を週 1 回投与した時の曝露量は臨床用量によるヒト曝露量の 1.3 及び 22 倍に相当した（モジュール 2.6.6 表 6 参照）。骨形態計測のために投与 13 及び 27 週にすべての動物に肋骨と腸骨の生検を実施した。本試験では以下の薬理パラメータ及び評価

項目を検討した：骨形成及び骨吸収の血清バイオマーカー、血清ホルモン、血清中の DKK1 及び線維芽細胞成長因子 23（FGF-23）レベル、薬物動態パラメータ、抗ロモソズマブ抗体、*in vivo* 及び *ex vivo* の骨密度測定、生体力学的試験、骨灰及び骨形態計測。本試験で収集した一般安全性評価項目に関する更なる情報はモジュール 2.6.6 第 2.7.7.4 項参照のこと。

抗ロモソズマブ抗体（ADA）の結合活性や中和活性並びに血清ロモソズマブ濃度に基づいて動物を試験から除外したため解析の対象とした各群の動物数が減少し、3、30 及び 30/0 mg/kg 投与群でそれぞれ 6、15 及び 14 匹となった。この除外後に投与期間中 ADA が陽性となった動物は解析に含めなかった。

骨形成と骨吸収の生化学マーカーの上昇並びに骨形態計測による海綿骨、内骨面及び皮質骨内の骨代謝回転パラメータの上昇で示されるように老齢カニクイザルに対する OVX は骨代謝回転を亢進させた。OVX 後に骨代謝回転が亢進することにより 4 カ月の骨減少期間及び 52 週の投与期間を通して海綿骨と皮質骨の両方又はどちらかで骨量が漸減した。本試験終了時の OVX によるわずかな骨量減少がみられ、また、骨梁（脊椎）、皮質骨（大腿骨骨幹部）又は混合部位（大腿骨頸部及び椎体）の生体力学的パラメータがわずかに減少した。

ロモソズマブは、OVX の影響を上回って骨形成と骨吸収のバイオマーカーを上昇させ、骨形成が骨吸収を上回り、骨バランスが正の方向に進み、その結果評価したすべての部位で骨量を顕著かつ用量依存的に増加させた（図 12 及び図 13）。pQCT を用いた分析においてロモソズマブは脛骨及び橈骨骨幹部の皮質骨幅を増加させたが、これは骨膜周囲長の増加及び骨内膜周囲長の減少の両方に起因したものであった（図 14）。ロモソズマブ投与により骨幹端部位の骨膜性骨形成も顕著であった。試験中に骨梁部分の BMD が増加し（図 15）、これに伴って骨梁幅（micro-CT 及び骨形態計測）が顕著に増加した（表 5、表 6 及び表 7）。3 又は 30 mg/kg の用量においてこれらの変化は数種類の骨形成パラメータの骨形態計測による増加と一致したが、特に投与 13 と 27 週で顕著であった（表 5 及び表 6）。ロモソズマブ投与群における骨基質石灰化の骨形態計測指標はすべての時点で OVX 対照群と同等であった。ロモソズマブ投与によって骨量増加と微細構造の改善が認められ、これに伴って大腿骨骨幹部、大腿骨頸部及び腰椎の生体力学的骨強度パラメータが有意かつ用量依存的に増加した（図 16 及び図 17）。これらの部位で BMC と最大荷重の間に正の回帰直線が得られることからロモソズマブの投与によって骨量と骨強度の正常な関係が維持されていることが裏付けられる（図 18）。30 mg/kg のロモソズマブを投与した群で腰椎の回帰直線は正のシフトを示したことから、ロモソズマブは骨梁組織と骨基質強度の両方又はどちらかを改善することが示唆された。
3 mg/kg 投与群においては大腿骨頸部の骨量と骨強度の間に正の相関が認められなかったが、これは最も低い BMC を示した検体が想定以上に高い骨強度を示していたためである。一方、それ以外の検体では想定範囲内であった。以上の結果に加えて、大腿骨骨幹部と上腕骨皮質で計算上の物質特性が合致したことから、ロモソズマブの 52 週間投与によって骨質が維持又は改善されたことが示唆された。

橈骨及び脛骨の骨幹部において pQCT による皮質骨 BMC が漸増するのと対照的に、橈骨骨幹部では 3 及び 30 mg/kg の両用量で OVX 対照群と比較して皮質骨 BMD の一過性の低下が認められた。この低下は投与 24/25 週で最低値になり、投与 51/52 週には OVX 対照群レベルに戻った（図 19）。3 及び 30 mg/kg の投与群でそれぞれ投与 13 及び 27 週に採取した肋骨でハバース骨形成速度の有意

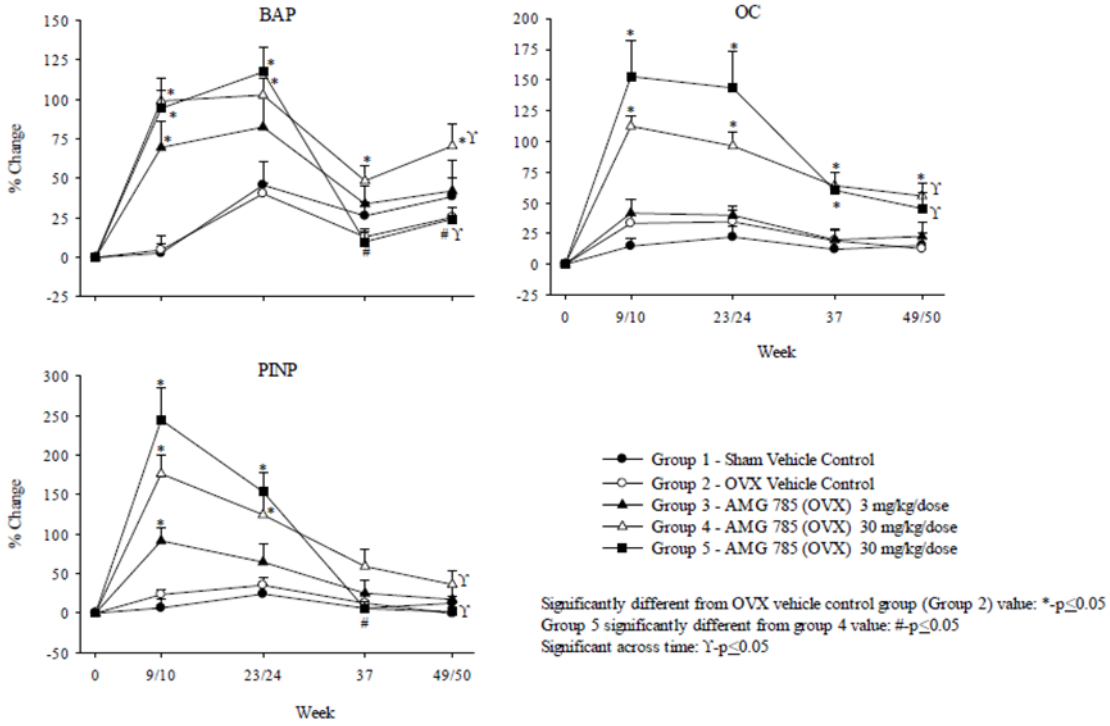
な増加が認められた。52 週の時点で、pQCT による橈骨、脛骨又は大腿骨の骨幹部位の皮質骨 BMD 又は上腕骨部位の皮質骨多孔率及び組織 BMD に対するロモソズマブの作用は認められなかった。OVX カニクイザルを用いてロモソズマブ 3 mg/kg における橈骨皮質骨 BMD の減少及びその減少が骨強度に及ぼす作用のメカニズムを組織レベルで 6 カ月の投与により検討した（118025 試験）。

ロモソズマブによる皮質骨内の骨代謝回転の増加は骨吸収マーカーである血清 I 型コラーゲン架橋 C-テロペプチド（CTX）の増加と一致したが、浸食面は肋骨や腸骨稜生検で減少し（表 5 及び表 6）、その効果は投与 52 週の大腿皮質骨内側で持続した。ロモソズマブの投与による皮質骨内代謝回転の増加は、ハバースリモデリングを促進することが知られている副甲状腺ホルモン（PTH）の増加に続発した現象であると考えられる。ロモソズマブによる血清 PTH 及び 1,25-ジヒドロキシビタミン D の一過性の増加と血清 FGF-23 の減少は骨形成マーカー増加のピークと一致し、カルシウムとリンの需要増加と一致した。血清カルシウムの一過性のわずかな減少が 30 mg/kg を投与した群で投与 9/10 及び 23/24 週に観察された。本試験では飼料にカルシウム又はビタミン D を補充していない（図 14、図 15 及び図 16）。

ロモソズマブによる骨量、骨形状及び生体力学的骨強度パラメータの変化は、30 mg/kg の 26 週間投与に続く 26 週間の休薬期後に部分的に減弱した。休薬期終了時に多くのパラメータは OVX 対照群以上のままで 3 mg/kg 投与群（骨量及び骨形状）又はシャムオペ群（生体力学的骨強度）のレベルと同等であり、骨量と骨強度の減少は海綿骨に比較して皮質骨で少なかった。骨形成及び骨吸収のバイオマーカーは OVX 対照群レベルに戻った（図 12 及び図 13）。骨形成及び骨吸収の骨形態計測指標は概して反転し、OVX 対照群と同等のレベルまで戻った。大腿骨頸部と肋骨の皮質骨内側の浸食面は増加したままであったが、大腿骨骨幹部では異なっており、内骨面の骨形成は OVX 対照群に比べて低下していた（表 7）。ロモソズマブの投与を中断しても肋骨又は大腿骨骨幹部での皮質多孔率又は皮質骨内代謝回転に対して影響は認められなかった。未成熟な新生骨の増加は肋骨の生検検体採取部位で認められなかったことから、ロモソズマブは骨組織の再生や治癒に影響しないことが示唆された。ロモソズマブを投与された動物における骨組織の検査では、不完全な類骨基質組織や骨髄線維症などの骨組織の病理組織学的変化は観察されなかった。

結論として、骨量減少を伴う老齢 OVX カニクイザルにロモソズマブを 3 又は 30 mg/kg の用量で 52 週間週 1 回皮下投与することにより、正常な骨基質の石灰化、海綿骨の微細構造の改善及び骨形状の強化を伴う急速で顕著かつ用量依存的な皮質骨量及び海綿骨量の増加が認められた。これらの作用は投与期間を通して持続した。骨量の増加は、海綿骨及び皮質骨における早期かつ顕著な骨形成増加の結果であると考えられ、この骨形成の増加は投与 3 から 6 カ月後にピークに達し、おおむね投与 52 週までに OVX 溶媒群と同程度に戻った。ロモソズマブの投与で増加した骨量はシャムオペ対照群と比べて同等又は上回っていた。橈骨遠位骨幹部皮質骨の骨密度のみが、投与に伴い一過性に低下した。ロモソズマブを投与したカニクイザルで骨量が用量依存的に増加し、これに伴って腰椎、大腿骨頸部及び大腿骨骨幹部の骨強度が骨量の増加に比例して、あるいはそれ以上に亢進したことから、ロモソズマブの投与後に骨質が維持又は改善されたことが示唆された。ロモソズマブ（30 mg/kg）の 26 週間投与に続く 26 週間の休薬期間後のロモソズマブによる骨量、骨形状及び生体力学的骨強度パラメータの変化は部分的に減弱していた。

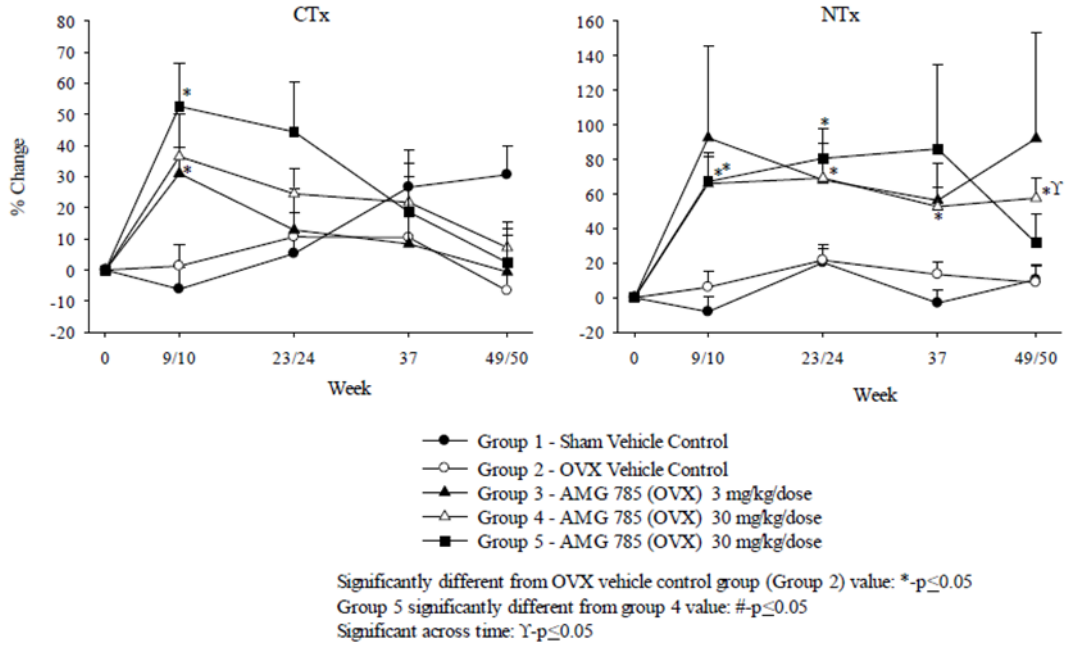
図 12　骨形成の血清バイオマーカーの骨減少期間後からのパーセンテージ変化－平均（SEM）



Skeletally mature (≥ 8.5 years old) cynomolgus monkeys underwent ovariectomy- or sham-surgery and were left untreated for 4-months to allow for bone loss. OVX cynomolgus monkeys were treated SC QW with vehicle (0 mg/kg) or 3 or 30 mg/kg romosozumab (AMG 785) for 52 weeks, or 30 mg/kg romosozumab (Romo) for 26 weeks followed by vehicle for 26 weeks. An additional group of Sham cynomolgus monkeys were administered vehicle SC QW for 52 weeks. Bone biomarker analyses were performed at the end of the bone depletion period, and at weeks 9/10, 23/24, 37 and 49/50. BAP, bone specific alkaline phosphatase; OC, osteocalcin; P1NP, procollagen type I N-terminal propeptide.

Source: Text Figure 3, Study 107903

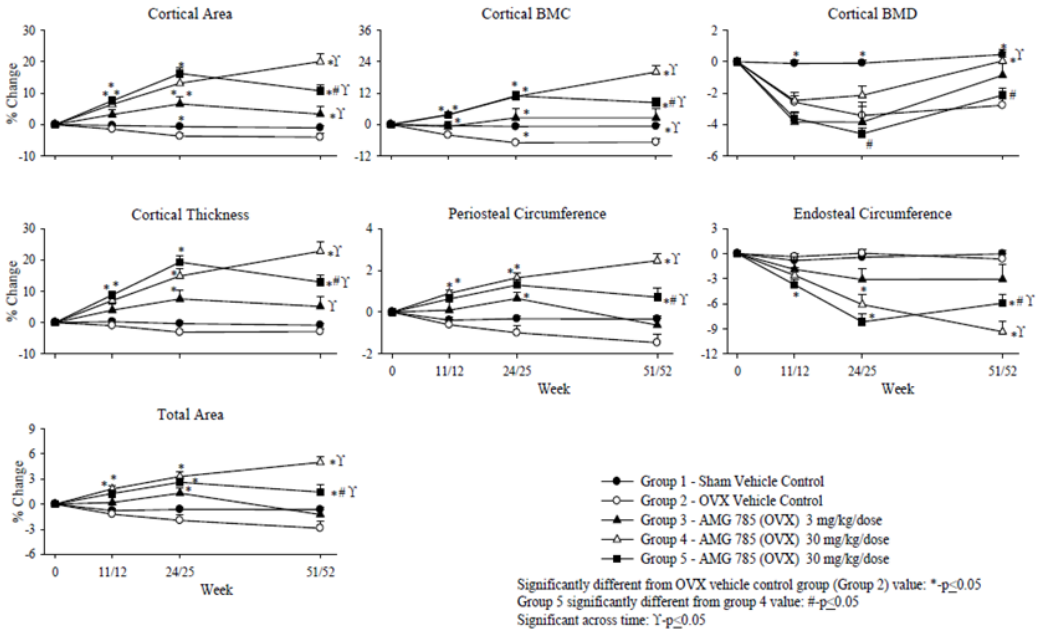
図 13　骨吸収の血清バイオマーカーの骨減少期間後からのパーセンテージ変化－平均（SEM）



Skeletally mature (≥ 8.5 years old) cynomolgus monkeys underwent ovariectomy- or sham-surgery and were left untreated for 4-months to allow for bone loss. OVX cynomolgus monkeys were treated SC QW with vehicle (0 mg/kg) or 3 or 30 mg/kg romosozumab (AMG 785) for 52 weeks, or 30 mg/kg romosozumab (Romo) for 26 weeks followed by vehicle for 26 weeks. An additional group of Sham cynomolgus monkeys were administered vehicle SC QW for 52 weeks. Bone biomarker analyses were performed at the end of the bone depletion period, and at weeks 9/10, 23/24, 37 and 49/50. CTx, C-telopeptide (serum); NTx, N-telopeptide (urine).

Source: Text Figure 4, Study 107903

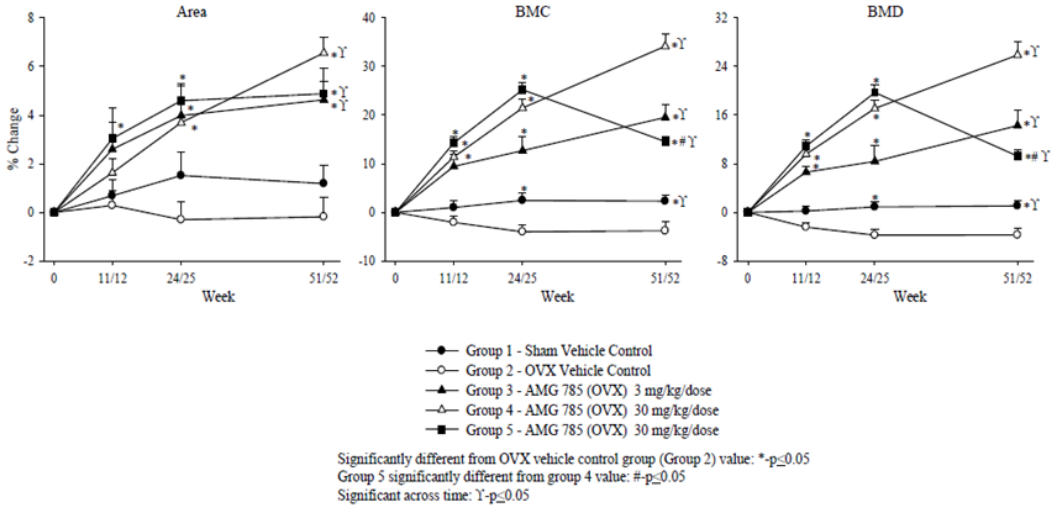
図 14　pQCT による骨デンシトメトリー値の骨減少期間後からのパーセント変化
－近位脛骨－骨幹部位－平均（SEM）



Skeletally mature (≥ 8.5 years old) cynomolgus monkeys underwent ovariectomy- or sham-surgery and were left untreated for 4-months to allow for bone loss. OVX cynomolgus monkeys were treated SC QW with vehicle (0 mg/kg) or 3 or 30 mg/kg romosozumab (AMG 785) for 52 weeks, or 30 mg/kg romosozumab (Romo) for 26 weeks followed by vehicle for 26 weeks. An additional group of Sham cynomolgus monkeys were administered vehicle SC QW for 52 weeks. Peripheral computed tomography (pQCT) was performed at the end of the bone depletion period, and at weeks 11/12, 24/25, and 51/52.

Source: Text Figure 27, Study 107903

図 15　DXA による骨デンシトメトリー値の骨減少期間後からのパーセント変化
－近位脛骨－腰椎（L1-L4）－平均（SEM）



Skeletally mature (≥ 8.5 years old) cynomolgus monkeys underwent ovariectomy- or sham-surgery and were left untreated for 4-months to allow for bone loss. OVX cynomolgus monkeys were treated SC QW with vehicle (0 mg/kg) or 3 or 30 mg/kg romosozumab (AMG 785) for 52 weeks, or 30 mg/kg romosozumab (Romo) for 26 weeks followed by vehicle for 26 weeks. An additional group of Sham cynomolgus monkeys were administered vehicle SC QW for 52 weeks. Dual energy X-ray absorptiometry (DXA) was performed at the end of the bone depletion period, and at weeks 11/12, 24/25, and 51/52. BMC, bone mineral content; BMD, bone mineral density.

Source: Text Figure 11, Study 107903

表 5　骨形態計測による変動の概要－13 週目での腸骨の海綿骨

		Phase	Week 13							
		Surgery	Sham	OVX		OVX		OVX		OVX	
	AMG 785 mg/kg/dose		0	0		3		30		30[a]	
	Units		Value	Value	% vs SC	Value	% vs VC	Value	% vs VC	Value	% vs VC
BV/TV	%	Mean	25.7	19.9	-23	**36.1**	82	**34.7**	74	**32.0**	61
		SD	7.4	8.2		7.2		9.0		10.4	
Md.V/TV	%	Mean	24.7	18.8	-24	**32.4**	72	**31.4**	67	**29.2**	55
		SD	7.1	7.8		7.2		8.4		9.8	
OV/BV	%	Mean	4.01	5.65	41	10.61	88	**9.51**	68	**9.09**	61
		SD	2.64	1.93		5.81		1.95		1.56	
Tb.Th	µm	Mean	126	106	-16	**152**	43	**162**	53	**162**	53
		SD	25	27		19		28		31	
Tb.Sp	µm	Mean	381	458	20	**274**	-40	**325**	-29	385	-16
		SD	105	115		56		114		165	
Tb.N	mm^{-1}	Mean	2.04	1.83	-10	2.37	29	2.15	18	1.96	7
		SD	0.37	0.36		0.25		0.48		0.52	
OS/BS	%	Mean	30.8	41.8	36	**67.4**	61	**75.2**	80	**76.0**	82
		SD	15.5	10.9		12.7		7.8		7.5	
Ob.S/BS	%	Mean	**11.2**	19.5	74	**30.5**	56	**32.9**	68	**33.5**	72
		SD	7.8	8.4		9.0		8.9		10.5	
Oc.S/BS	%	Mean	1.89	2.36	25	2.57	9	1.51	-36	1.82	-23
		SD	1.09	0.98		1.37		0.77		1.17	
ES/BS	%	Mean	18.7	19.8	6	15.8	-20	**10.4**	-47	**10.9**	-45
		SD	7.0	5.9		6.8		3.3		6.4	
W.Th	µm	Mean	31.8	30.3	-5	32.8	8	33.7	11	**38.3**	26
		SD	4.5	2.6		4.6		4.9		7.7	
MS/BS	%	Mean	23.9	35.5	48	**59.1**	66	**71.0**	100	**73.3**	107
		SD	16.9	11.9		6.0		9.9		8.0	
MAR	µm/d	Mean	0.69	0.73	5	0.74	2	0.77	5	***0.85***	17
		SD	0.13	0.11		0.15		0.09		0.11	
Aj.Ar	µm/d	Mean	0.52	0.59	15	0.65	9	0.72	21	**0.81**	36
		SD	0.24	0.13		0.15		0.13		0.12	
Mlt	d	Mean	29.8	19.9	-33	20.3	2	17.0	-14	14.9	-25
		SD	24.2	8.2		7.5		6.5		3.6	
BFR/BS	$µm^3/µm^2/yr$	Mean	61.6	93.6	52	**157.6**	68	**198.8**	112	**227.6**	143
		SD	48.4	31.0		22.5		35.9		38.8	
BFR/BV	%/yr	Mean	**95.6**	181.2	90	211.4	17	**248.7**	37	***285.5***	58
		SD	64.8	57.9		45.7		46.5		41.6	
Ac.f	yr^{-1}	Mean	**1.85**	3.01	63	**4.65**	54	**5.95**	98	**6.12**	103
		SD	1.39	0.98		0.74		1.22		1.26	
Fo.S/BS	%	Mean	31.6	44.4	40	**71.0**	60	**80.0**	80	**81.0**	82
		SD	19.2	13.8		6.3		8.9		8.0	
QS/BS	%	Mean	49.6	35.9	-28	**13.2**	-63	**9.6**	-73	**8.1**	-77
		SD	21.9	16.4		6.0		8.4		7.0	

SC = Sham Vehicle Control; VC = OVX Vehicle Control
Values in bold are significantly different from OVX Vehicle Control
Values in italic are significantly different from AMG 785 (OVX) 30 mg/kg/dose group (Group 4)
[a] Dosed for 26 weeks followed by 26 weeks recovery period

Skeletally mature (≥ 8.5 years old) cynomolgus monkeys underwent ovariectomy- or sham-surgery and were left untreated for 4-months to allow for bone loss. OVX cynomolgus monkeys were treated SC QW with vehicle (0 mg/kg) or 3 or 30 mg/kg romosozumab (AMG 785) for 52 weeks, or 30 mg/kg romosozumab (Romo) for 26 weeks followed by vehicle for 26 weeks. An additional group of Sham cynomolgus monkeys were administered vehicle SC QW for 52 weeks. Histomorphometry was performed in iliac biopsies surgically collected at week 13.

Source: Text Table 3, Appendix 49, Study 107903

表 6　骨形態計測による変動の概要－27 週目での腸骨の海綿骨

		Phase	Week 27							
		Surgery	Sham	OVX		OVX		OVX		OVX	
	AMG 785 mg/kg/dose		0	0		3		30		30[a]	
	Units		Value	Value	% vs SC	Value	% vs VC	Value	% vs VC	Value	% vs VC
BV/TV	%	Mean	22.4	18.1	-19	**38.7**	114	**43.0**	137	**38.6**	113
		SD	7.4	10.3		9.7		7.6		12.5	
Md.V/TV	%	Mean	21.8	17.2	-21	**36.7**	114	**40.9**	138	**37.0**	115
		SD	7.5	9.7		9.1		7.3		12.3	
OV/BV	%	Mean	**2.89**	4.88	69	4.97	2	4.75	-3	4.65	-5
		SD	2.21	2.05		2.32		1.78		1.67	
Tb.Th	µm	Mean	133	114	-14	**180**	57	**205**	79	**189**	65
		SD	28	34		21		35		39	
Tb.Sp	µm	Mean	496	662	34	**302**	-54	**282**	-57	**344**	-48
		SD	168	415		102		83		182	
Tb.N	mm^{-1}	Mean	1.68	1.49	-12	**2.14**	44	**2.13**	43	**2.01**	36
		SD	0.38	0.48		0.40		0.43		0.51	
OS/BS	%	Mean	**25.4**	38.0	49	49.8	31	**57.7**	52	**55.7**	47
		SD	15.9	11.5		11.0		15.6		9.2	
Ob.S/BS	%	Mean	11.8	16.6	41	22.5	35	19.7	19	20.8	26
		SD	8.3	5.4		4.1		8.6		7.9	
Oc.S/BS	%	Mean	1.13	1.33	18	1.78	33	1.74	30	1.83	37
		SD	0.90	0.91		0.91		0.83		1.04	
ES/BS	%	Mean	13.6	15.6	15	16.2	4	15.1	-3	14.0	-10
		SD	5.6	4.4		8.1		4.8		5.7	
W.Th	µm	Mean	29.5	31.4	7	36.9	18	35.6	13	34.2	9
		SD	2.8	5.3		3.9		5.0		5.4	
MS/BS	%	Mean	**28.5**	40.8	43	50.6	24	**62.4**	53	**58.6**	44
		SD	13.4	10.6		4.1		8.3		9.6	
MAR	µm/d	Mean	0.52	0.61	17	0.69	13	0.68	11	0.62	1
		SD	0.15	0.10		0.13		0.10		0.13	
Aj.Ar	µm/d	Mean	0.47	0.59	24	0.65	10	0.66	14	0.61	5
		SD	0.16	0.12		0.13		0.10		0.14	
Mlt	d	Mean	22.5	18.2	-19	16.1	-12	15.5	-15	15.6	-14
		SD	14.9	4.2		3.1		3.7		3.0	
BFR/BS	$µm^3/µm^2/yr$	Mean	**59.3**	91.7	55	127.1	39	**154.3**	68	**134.1**	46
		SD	39.9	30.2		22.0		31.0		38.9	
BFR/BV	%/yr	Mean	**90.8**	164.6	81	142.7	-13	153.9	-7	145.2	-12
		SD	54.3	52.4		30.6		38.1		50.7	
Ac.f	yr^{-1}	Mean	1.55	2.53	63	3.11	23	3.59	42	3.04	20
		SD	1.17	1.03		0.49		1.43		0.88	
Fo.S/BS	%	Mean	43.3	54.4	25	**67.7**	24	**76.5**	41	**72.8**	34
		SD	17.8	11.9		6.4		9.3		9.9	
QS/BS	%	Mean	43.0	30.0	-30	**16.1**	-46	**8.4**	-72	**13.2**	-56
		SD	19.9	13.1		6.6		7.6		10.2	

SC = Sham Vehicle Control; VC = OVX Vehicle Control
Values in bold are significantly different from OVX Vehicle Control
[a] Dosed for 26 weeks followed by 26 weeks recovery period

Skeletally mature (≥ 8.5 years old) cynomolgus monkeys underwent ovariectomy- or sham-surgery and were left untreated for 4-months to allow for bone loss. OVX cynomolgus monkeys were treated SC QW with vehicle (0 mg/kg) or 3 or 30 mg/kg romosozumab (AMG 785) for 52 weeks, or 30 mg/kg romosozumab (Romo) for 26 weeks followed by vehicle for 26 weeks. An additional group of Sham cynomolgus monkeys were administered vehicle SC QW for 52 weeks. Histomorphometry was performed in iliac biopsies surgically collected at week 27.

Source: Text Table 4, Appendix 49 , Study 107903

表 7　骨形態計測による変動の概要－L2 椎骨の海綿骨

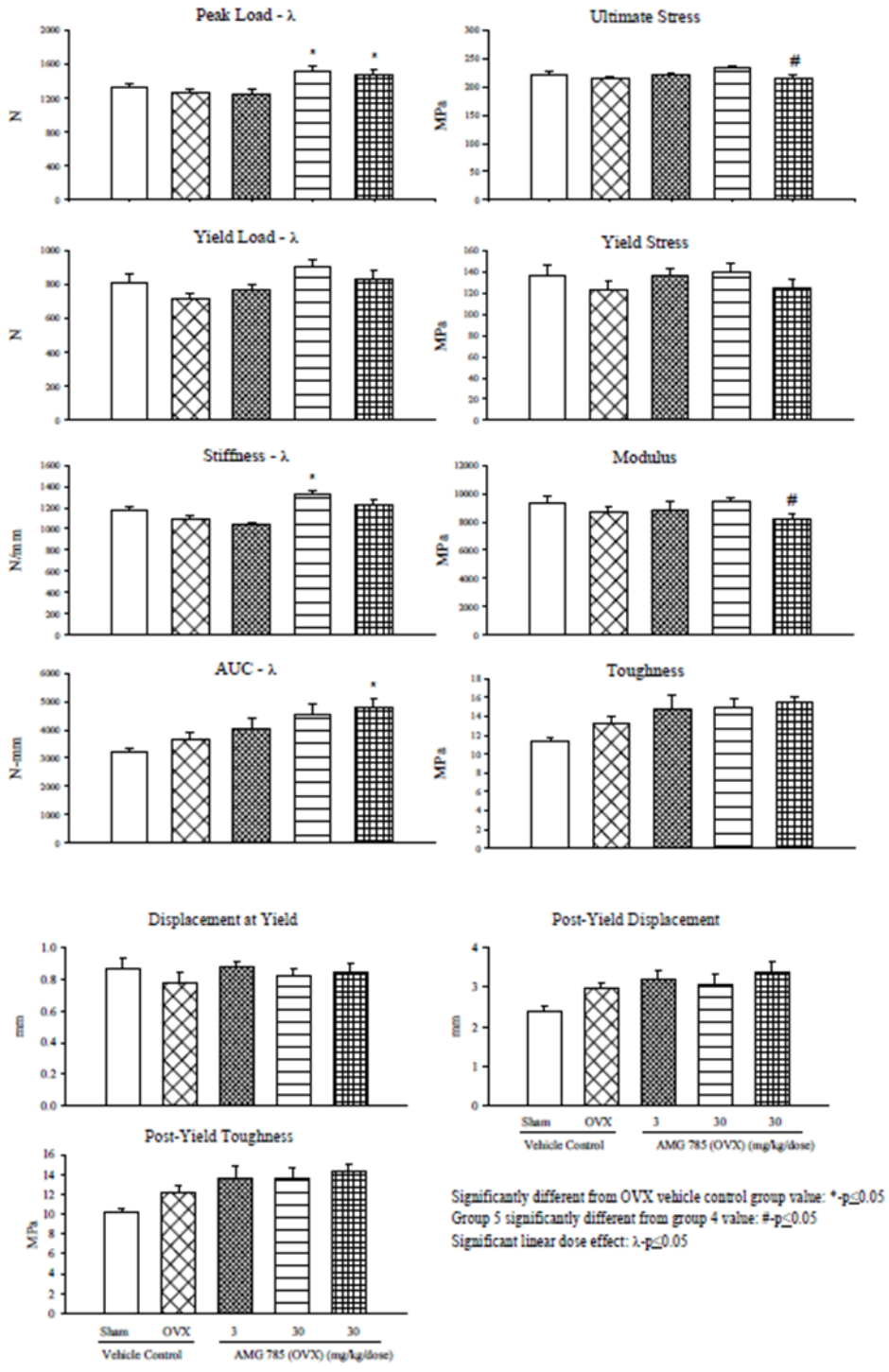
		Phase	End of Treatment								
		Surgery	Sham	OVX		OVX		OVX		OVX	
	AMG 785 mg/kg/dose		0	0		3		30		30[a]	
	Units		Value	Value	% vs SC	Value	% vs VC	Value	% vs VC	Value	% vs VC
BV/TV	%	Mean	30.0	26.3	-12	**39.6**	50	**52.7**	100	*28.3*	8
		SD	5.8	5.6		5.3		8.3		5.3	
Md.V/TV	%	Mean	29.4	25.6	-13	**38.7**	51	**51.6**	102	*27.5*	7
		SD	5.7	5.4		5.3		8.0		5.1	
OV/BV	%	Mean	2.23	2.89	30	2.46	-15	2.07	-28	*2.97*	3
		SD	1.10	1.31		2.05		0.74		1.04	
Tb.Th	µm	Mean	122	111	-9	**156**	41	**206**	86	*118*	7
		SD	22	31		28		29		22	
Tb.Sp	µm	Mean	289	309	7	237	-23	**190**	-39	*303*	-2
		SD	64	46		25		58		48	
O.Th	µm	Mean	12.7	12.0	-6	13.8	15	14.3	20	13.3	11
		SD	2.3	2.4		2.6		2.2		2.4	
OS/BS	%	Mean	20.1	26.0	30	24.1	-8	27.5	6	30.4	17
		SD	7.3	10.1		10.4		9.2		12.7	
Ob.S/BS	%	Mean	10.8	16.4	53	10.9	-34	12.5	-24	*21.1*	29
		SD	5.8	9.3		5.3		7.3		11.1	
Oc.S/BS	%	Mean	1.18	1.19	1	1.96	65	1.66	39	1.38	16
		SD	0.67	0.75		0.74		1.04		0.80	
ES/BS	%	Mean	9.4	7.9	-16	10.8	37	10.2	30	8.8	11
		SD	3.7	4.0		3.2		4.8		2.9	
W.Th	µm	Mean	31.1	32.3	4	36.4	13	**38.6**	19	**38.0**	18
		SD	4.0	4.6		5.2		7.7		5.1	
MS/BS	%	Mean	16.8	18.8	12	24.1	28	23.6	26	22.6	20
		SD	5.9	9.6		8.3		10.4		9.3	
MAR	µm/d	Mean	0.70	0.75	6	0.81	9	0.80	7	0.85	14
		SD	0.14	0.12		0.10		0.18		0.10	
Aj.Ar	µm/d	Mean	0.59	0.53	-10	**0.74**	41	0.67	28	0.63	20
		SD	0.24	0.20		0.07		0.26		0.18	
Mlt	d	Mean	28.2	27.4	-3	18.8	-32	25.3	-8	23.0	-16
		SD	19.8	13.9		3.4		12.3		8.6	
BFR/BS	$\mu m^3/\mu m^2/yr$	Mean	43.0	50.8	18	71.7	41	71.6	41	68.6	35
		SD	15.2	25.1		26.6		40.7		27.1	
BFR/BV	%/yr	Mean	73.8	91.5	24	93.5	2	69.2	-24	*115.8*	27
		SD	31.7	37.8		37.2		37.3		43.0	
Ac.f	yr^{-1}	Mean	1.27	1.47	16	1.80	22	1.85	25	1.79	21
		SD	0.45	0.66		0.76		1.09		0.75	

SC = Sham Vehicle Control; VC = OVX Vehicle Control
Values in bold are significantly different from OVX Vehicle Control
Values in italic are significantly different from AMG 785 (OVX) 30 mg/kg/dose group (Group 4)
[a] Dosed for 26 weeks followed by 26 weeks recovery period

Skeletally mature (≥ 8.5 years old) cynomolgus monkeys underwent ovariectomy- or sham-surgery and were left untreated for 4-months to allow for bone loss. OVX cynomolgus monkeys were treated SC QW with vehicle (0 mg/kg) or 3 or 30 mg/kg romosozumab (AMG 785) for 52 weeks, or 30 mg/kg romosozumab (Romo) for 26 weeks followed by vehicle for 26 weeks. An additional group of Sham cynomolgus monkeys were administered vehicle SC QW for 52 weeks. Histomorphometry was performed on lumbar vertebra collected at necropsy.

Source Text Table 6, Appendix 49, Study 107903

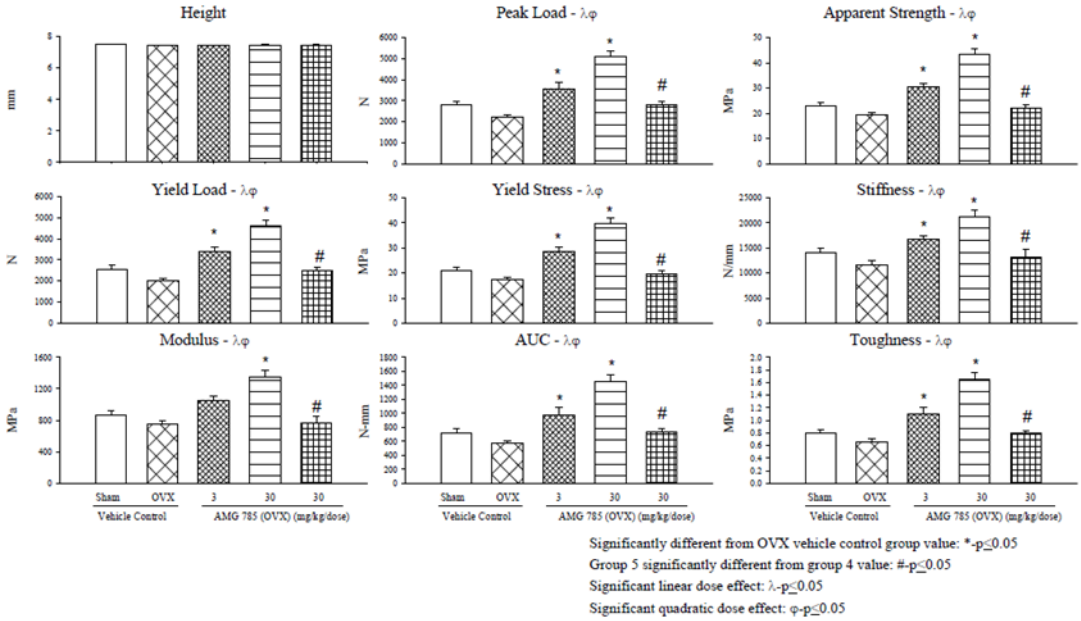
図 16　生体力学的パラメータ-大腿骨-三点曲げ試験-平均（SEM）



Skeletally mature (≥ 8.5 years old) cynomolgus monkeys underwent ovariectomy- or sham-surgery and were left untreated for 4-months to allow for bone loss. OVX cynomolgus monkeys were treated SC QW with vehicle (0 mg/kg) or 3 or 30 mg/kg romosozumab (AMG 785) for 52 weeks, or 30 mg/kg romosozumab (Romo) for 26 weeks followed by vehicle for 26 weeks. An additional group of Sham cynomolgus monkeys were administered vehicle SC QW for 52 weeks. Biomechanical testing was performed on femurs collected at necropsy.

Source: Text Figure 43, Study 107903

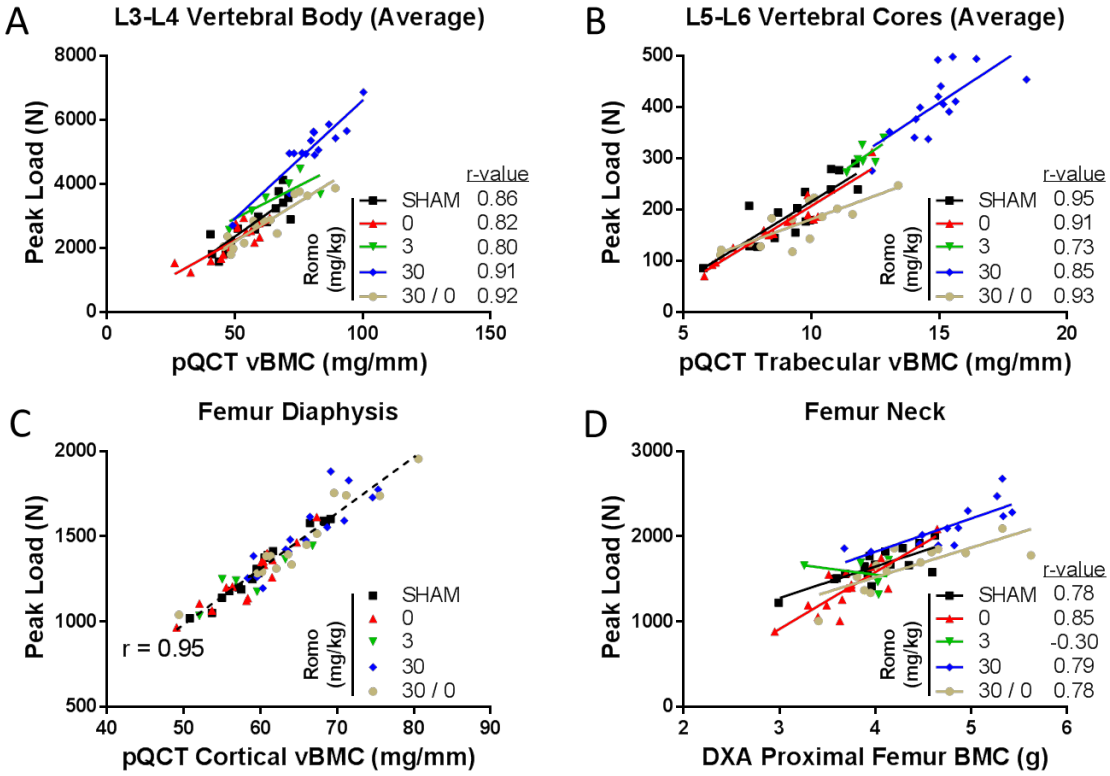
図 17　生体力学的パラメータ-腰椎体 L3+L4-平均（SEM）



Skeletally mature (≥ 8.5 years old) cynomolgus monkeys underwent ovariectomy- or sham-surgery and were left untreated for 4-months to allow for bone loss. OVX cynomolgus monkeys were treated SC QW with vehicle (0 mg/kg) or 3 or 30 mg/kg romosozumab (AMG 785) for 52 weeks, or 30 mg/kg romosozumab (Romo) for 26 weeks followed by vehicle for 26 weeks. An additional group of Sham cynomolgus monkeys were administered vehicle SC QW for 52 weeks. Biomechanical testing was performed on vertebrae collected at necropsy.

Source: Text Figure 50, Study 107903

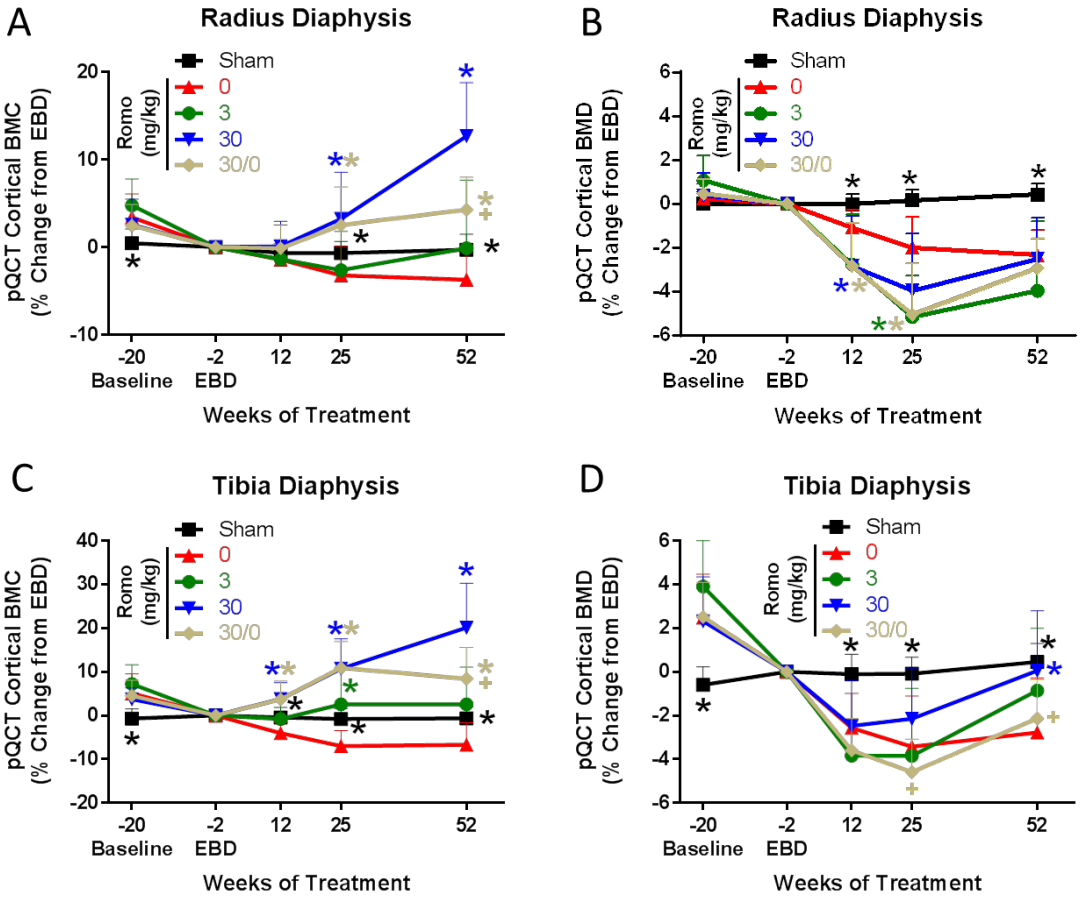
図 18　OVX カニクイザルにおけるロモソズマブの 52 週間投与後の骨量と骨強度の関連性の維持又は改善



Skeletally mature (≥ 8.5 years old) cynomolgus monkeys underwent ovariectomy- or sham-surgery and were left untreated for 4 months to allow for bone loss. OVX cynomolgus monkeys were treated sc once weekly with vehicle or 3 or 30 mg/kg romosozumab (AMG 785) for 52 weeks, or 30 mg/kg romosozumab for 26 weeks followed by vehicle for 26 weeks. An additional group of Sham cynomolgus monkeys were administered vehicle once weekly sc for 52 weeks. Bone mineral content was measured ex vivo at the L3 and L4 vertebral body (pQCT), cancellous cores from L5 and L6 (pQCT), femur diaphysis (pQCT), and proximal femur (DXA) and mechanical testing was performed these sites to determine the peak load. Linear regressions were performed across BMC and peak load at A) L3+L4 bodies (average), B) L5+L6 cores (average), C) femur diaphysis, and D) femoral neck. Regression lines and coefficients (r) are presented for individual groups (when group differences were observed as in A, B, and D) or across all groups (when no group differences were observed as in C). n = 6 to 16/group

Source: Study 107903, Adapted from Appendices 29, 32, and 38 and Table 138

図 19　OVX カニクイザルにおける橈骨骨幹部位のロモソズマブによる進行性の骨量増加並びに BMD の一過性低下



Skeletally mature (≥ 8.5 years old) cynomolgus monkeys underwent ovariectomy- or sham-surgery and were left untreated for 4-months to allow for bone loss. OVX cynomolgus monkeys were treated sc once weekly with vehicle (0 mg/kg) or 3 or 30 mg/kg romosozumab (AMG 785) for 52 weeks, or 30 mg/kg romosozumab (Romo) for 26 weeks followed by vehicle for 26 weeks. An additional group of Sham cynomolgus monkeys were administered vehicle once weekly sc for 52 weeks. Bone densitometry was performed by pQCT at baseline (-20 weeks), prior to the end of the bone depletion period (EBD; -2 weeks), and after 12, 25, and 52 weeks of treatment. Cortical bone mineral content (BMC) and bone mineral density (BMD) were collected at the diaphysis of the radius (A and B) and tibia (C and D), with data expressed as a percent change from EBD. Data shown are Mean ± SD, *$p < 0.05$ versus the OVX-Vehicle control group (0 mg/kg) by one-way analysis of variance (ANOVA) homoscedastic model as described in the report; $^{+}p < 0.05$ versus Romo 30 mg/kg group by t-test. n = 6 to 16/group

Source: Study 107903, Adapted from Table 124

2.2.1.4　AMG 785:卵巣摘出老齢カニクイザルにおける 6 カ月皮下投与時の薬力学試験（118025 試験）

本試験の目的は、老齢 OVX カニクイザルにロモソズマブ 3 mg/kg を週 1 回 26 週間皮下投与した際の橈骨における皮質骨と海綿骨の骨量及び骨強度に及ぼす作用を明らかにし、骨バイオマーカーと骨形態計測の相関性を評価することである。

骨格成熟カニクイザル（9 歳齢以上）に OVX を実施した。4 カ月の骨減少期間後、OVX カニクイザルに溶媒（n=12）又は 3 mg/kg のロモソズマブ（n=32）を 26 週間週 1 回皮下投与した。第 2.2.1.3 項に示したデータから計算した AUC に基づくと 3 mg/kg の週 1 回投与後の曝露量は臨床曝露量の約 1.3 倍に達することが推定された。本試験で以下の薬理評価項目を検討した：血清薬物濃度、抗ロモソズマブ抗体、骨形成及び骨吸収の血清生化学マーカー、血清ホルモン、*in vivo* 及び

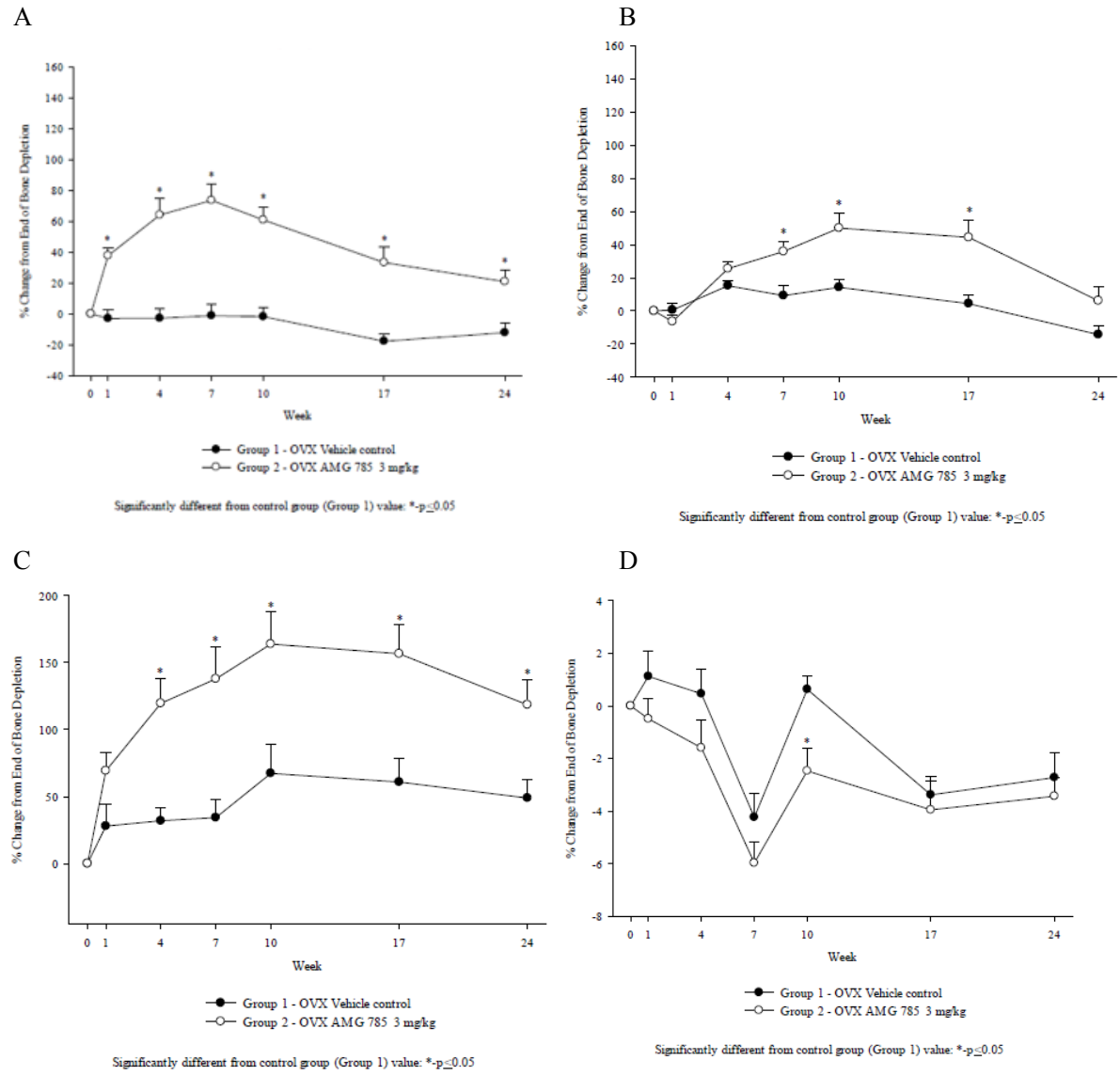
ex vivo 骨密度（橈骨の高解像度 pQCT［HRpQCT］を含む）、骨形態計測評価、生体力学的試験及び有限要素（FE）解析。本試験で収集した一般安全性評価に関する更なる情報はモジュール 2.6.6 第 2.7.7.3 項参照のこと。

ADA 陽性（n=11）、あるいは異所性卵巣組織（含疑い例、n=2）のために 3 mg/kg 投与群で 13 匹のカニクイザルを試験から除外した。最終解析用に確保された動物の中でも 42%（8/19）の動物が結合能を有する ADA 陽性（S/N 比 12.0 以下）であったが、曝露量は安定して確保できていた。最終解析では中和能を有する ADA 陽性の動物は認められなかった。

107903 試験で認められた効果と同様、ロモソズマブ 3 mg/kg の投与により骨形成及び骨吸収の血清バイオマーカーが上昇し（図 20A 及び B）、26 週後に DXA で測定した腰椎の BMD が有意に増加した（図 21）。ロモソズマブ投与群において血清 PTH は投与 4 週から 24 週まで、1,25-ジヒドロキシビタミン D は投与 1 週から 24 週まで増加し、血清カルシウムは投与 10 週でわずかに減少した（図 20C 及び D）。橈骨の骨幹部及び骨幹端部における皮質骨組織の BMD は投与 6 カ月で有意に減少し、橈骨骨幹部の皮質骨内リモデリングの一過性の活性化上昇と一致した。一方、脛骨骨幹部では皮質骨 BMD は減少せず、皮質骨内リモデリングの増加の程度は低かった（図 22 及び図 23）。

ロモソズマブは HRpQCT で測定した橈骨骨幹端部の全骨塩量（total BMC）を有意に増加させた（データは示していない）。橈骨骨幹端部の皮質骨 BMC については増加傾向を示したが、橈骨骨幹部の皮質骨 BMC では増加の程度は小さかった（図 22）。実験強度データ及び有限要素解析による推定骨強度の共変数分析（投与開始前のロモソズマブ群の BMC 値が低いために実施された）に基づくと骨強度は橈骨骨幹端で改善されていたが、橈骨骨幹では投与による影響は認められなかった（図 24 及び図 25）。

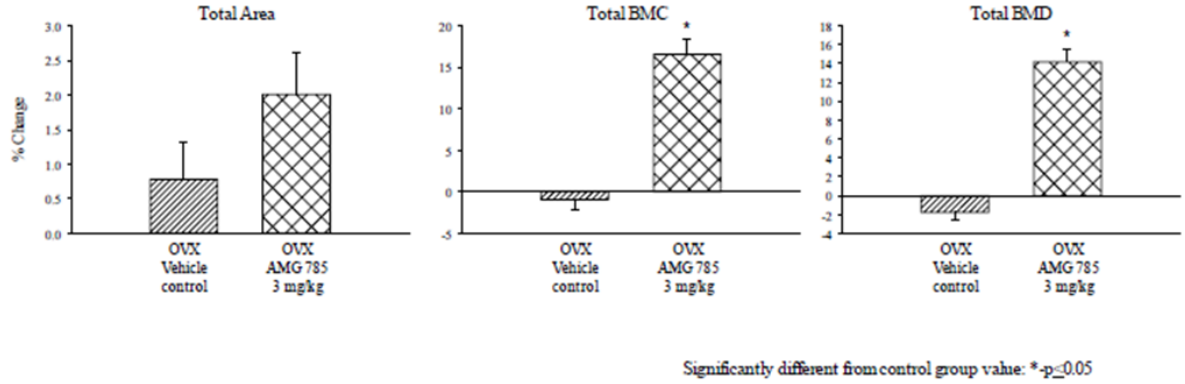
図 20　血清 P1NP(A)、CTx I(B)、PTH(C)及びカルシウム(D)の骨減少期間後からのパーセント変化



Skeletally mature (≥ 9 y.o.) cynomolgus monkeys underwent ovariectomy and were left untreated for 4 months to allow for bone loss. OVX cynomolgus monkeys were treated SC QW with vehicle or 3 mg/kg romosozumab (AMG 785) for 26 weeks. Biomarkers of bone metabolism were determined at the end of the bone depletion period and at weeks 1, 4, 7, 10, 17, and 24. Mean (SEM). P1NP, N-terminal propeptide of Type I procollagen; CTx I, C-telopeptides of Type I collagen; PTH, parathyroid hormone (PTH(1-84)).

Source: Text Figures 3, 4, 5 and 8, Appendix 17, Study 118025

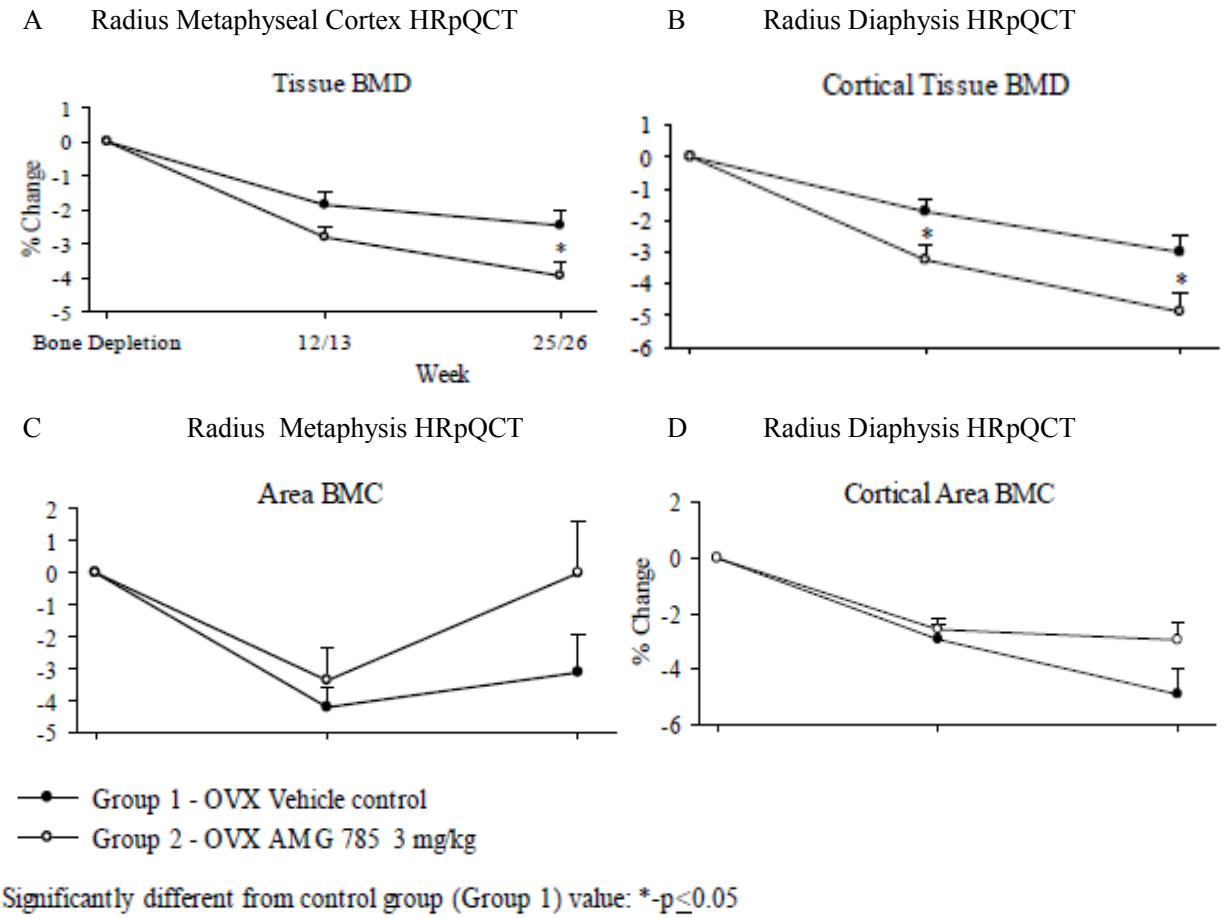
図 21　DXA による骨デンシトメトリー値の骨減少期間後からのパーセント変化



Lumbar Spine (L1-L4) – Total - Weeks 25/26. Skeletally mature (≥ 9 y.o.) cynomolgus monkeys underwent ovariectomy and were left untreated for 4 months to allow for bone loss. OVX cynomolgus monkeys were treated SC QW with vehicle or 3 mg/kg romosozumab (AMG 785) for 26 weeks. Mean (SEM). BMC, bone mineral content; BMD, bone mineral density.

Source: Text Figure 11, Appendix 17, Study 118025

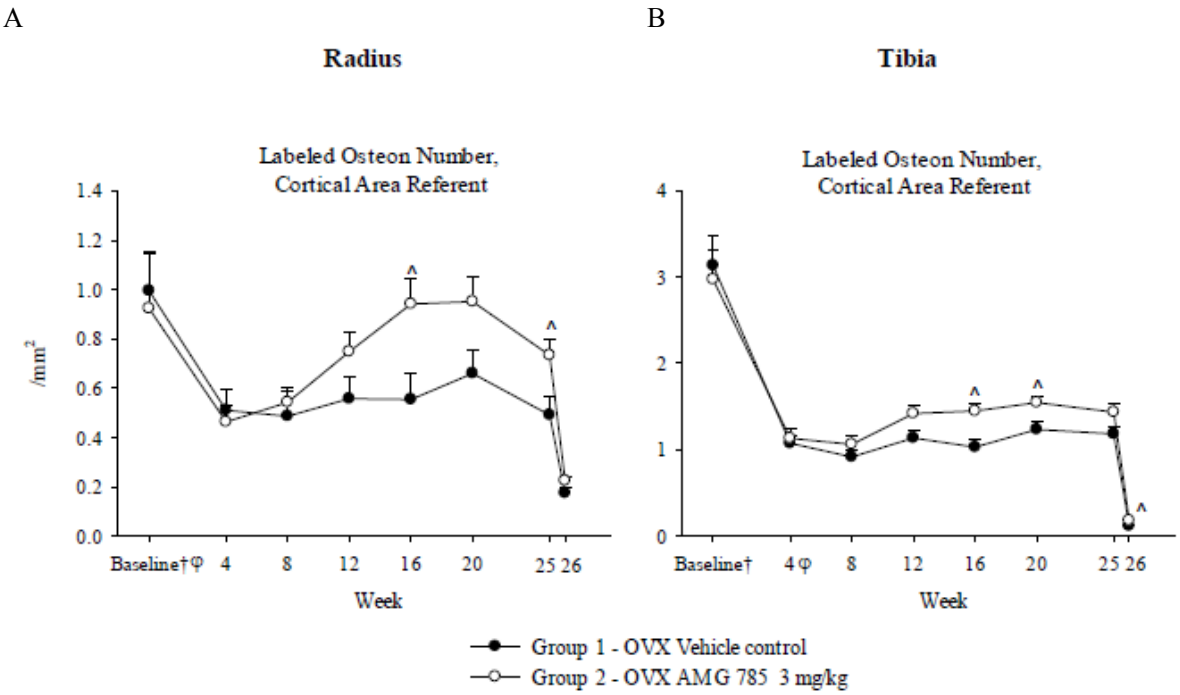
図 22　HRpQCT で測定した橈骨骨幹端部(A)及び橈骨骨幹部(B)の皮質骨密度並びに橈骨骨幹端部(C)及び橈骨骨幹部の皮質骨塩量の骨減少期間後からのパーセント変化



Skeletally mature (≥ 9 y.o.) cynomolgus monkeys underwent ovariectomy and were left untreated for 4 months to allow for bone loss. OVX cynomolgus monkeys were treated SC QW with vehicle or 3 mg/kg romosozumab (AMG 785) for 26 weeks. Scans were performed at the end of the bone depletion period and at weeks 12/13 and 25/26. Mean (SEM)

Source: Text Figures 28 and 29, Appendix 17, Study 118025

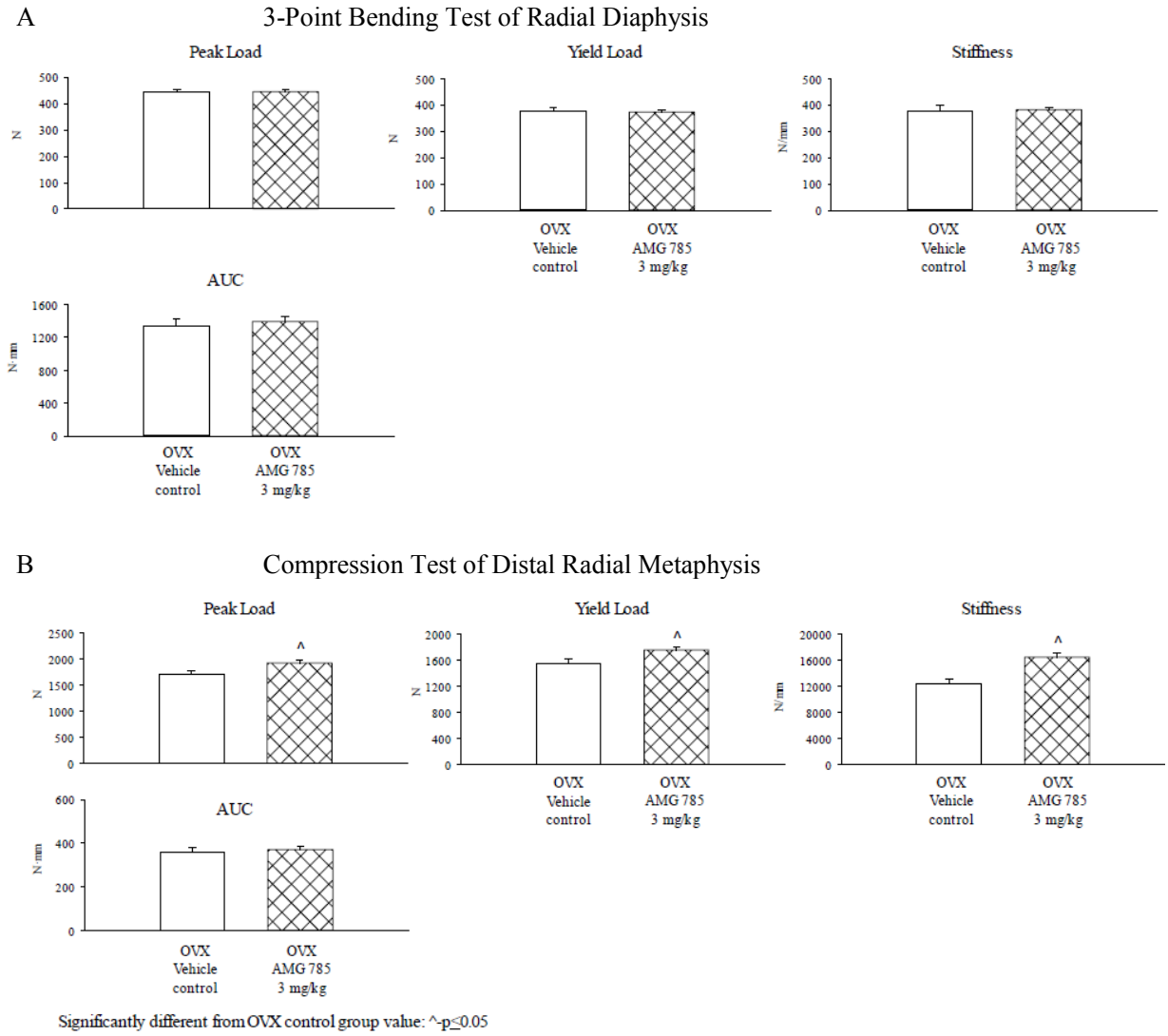
図 23　OVX カニクイザルにおけるロモソズマブによる皮質骨内リモデリングの一過性活性化亢進



Skeletally mature (≥ 9 y.o.) cynomolgus monkeys underwent ovariectomy and were left untreated for 4-months to allow for bone loss. OVX cynomolgus monkeys were treated sc once weekly with vehicle or 3 mg/kg romosozumab (AMG 785) for 26 weeks. Reconstruction of cortical activation frequency through the dosing period was performed at the diaphysis of the A) radius and B) tibia using labeled osteon numbers temporally defined by fluorochrome labeling pattern. The resulting labeled osteon number was normalized to the total cortical area and these data are shown at the diaphysis of the A) radius and B) tibia. †Baseline calcein green label was administered 7 days before the first dosing. Note that the higher and lower values at baseline and week 26, respectively, were due to the longer and shorter timeframes for evaluation of this endpoint. Data shown are Mean ± SE, ^p < 0.05 and ^^P<0.01 versus the Vehicle control group by t-test, with similar analyses performed on log2-transformed data for time points indicated byφ. n = 12 and 19 in the Vehicle and romosozumab groups, respectively.

Source: Study 118025, Appendix 22 (Text Figure 2)

図 24　26 週で橈骨骨幹(A)及び橈骨骨幹端(B)に対して投与前の橈骨骨塩量の差異を共分散分析により調整した生体力学的パラメータ

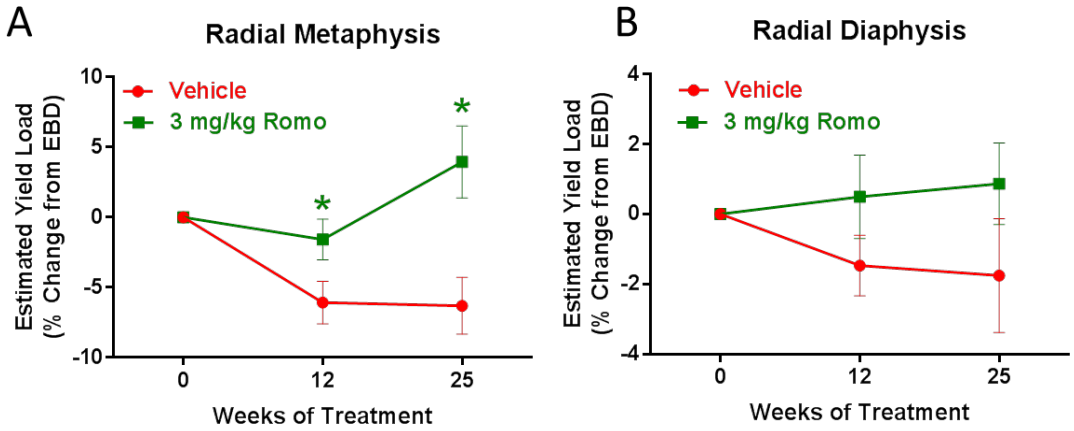


Significantly different from OVX control group value: ^-p≤0.05

Skeletally mature (≥ 9 y.o.) cynomolgus monkeys underwent ovariectomy and were left untreated for 4 months to allow for bone loss. OVX cynomolgus monkeys were treated SC QW with vehicle or 3 mg/kg romosozumab (AMG 785) for 26 weeks. Mean (SEM)

Source: Text Figures 35 and 38, Appendix 17, Study 118025

図 25　OVX カニクイザルにおけるロモソズマブによる橈骨の有限要素推定骨強度の改善



Skeletally mature (≥ 9 y.o.) cynomolgus monkeys underwent ovariectomy and were left untreated for 4-months to allow for bone loss. OVX cynomolgus monkeys were treated sc once weekly with vehicle or 3 mg/kg romosozumab for 26 weeks. Bone densitometry was performed by High Resolution pQCT (HRpQCT) at the radial metaphysis and diaphysis prior to the end of the bone depletion period (EBD, week 0) and after 12 and 25 weeks of treatment. The images were registered and used to create finite element models that were used to estimate strength, which was then expressed as a percent change from EBD. Longitudinal changes in estimated yield load for each group are shown at the A) radial metaphysis and B) radial diaphysis. Data shown are Mean ± SE, *p < 0.05 and **P<0.01 versus the Vehicle control group by t-test. n = 12 and 19 in the Vehicle and romosozumab groups, respectively.

Source: Study 118025, Adapted from Appendix 18 (Tables 4 and 5)

2.2.1.5　アレンドロネートを前投与あり、あるいは前投与なし卵巣摘出（OVX）ラットにラット抗スクレロスチン抗体（r13C7）を単独又はアレンドロネートと併用で皮下投与した際の骨に及ぼす作用（R20[redacted]0773 試験）

本試験の目的は、アレンドロネート（ALN）の前投与あり、あるいは前投与なし骨量減少 OVX ラットに抗スクレロスチン抗体（r13C7）を単独又は ALN と併用投与した際の骨量、骨形成及び骨強度に及ぼす作用を検討することである。6.5 カ月齢の SD ラットにシャムオペ又は OVX を実施し、3.5 カ月の無処置期間を設けた。この試験では、溶媒と ALN（28 µg/kg：アレンドロン酸ナトリウム水和物として）を皮下投与し、r13C7（25 mg/kg）は週 1 回皮下投与した。28 µg/kg の ALN を週 2 回投与することによりラットの骨吸収が抑制されることが既に報告されている（Toolan et al, 1992）。本試験では、第 1 部として、10 カ月齢の OVX ラットに溶媒、r13C7、ALN 又は r13C7＋ALN を投与し、シャムオペラットには溶媒を投与した。投与 6 週後にすべてのラットを剖検した（n=10/群）。本試験の第 2 部として、10 カ月齢の OVX ラットに溶媒（2 群）又は ALN（2 群）を 6 週間投与した（n=10/群）。溶媒を投与した OVX 群の 1 群には 6 から 12 週まで引き続き溶媒を投与し、もう 1 つの群には r13C7 を投与した。ALN を投与した OVX ラットには r13C7 を単独又は ALN と併用投与した。もう 1 つのシャムオペ対照群には溶媒を 12 週間投与した（n=10）。投与 12 週後にすべての群のラットを剖検した。第 2 部の実験のシャムオペ対照群で 1 匹のラットが投与 6 週で死亡したため、投与 6 週以降評価対象となった動物数は 9 匹であった。本試験では、*in vivo* DXA、骨形成及び骨吸収の血清バイオマーカー、骨形態計測、*ex vivo* micro-CT 及び骨強度を評価項目とした。

第 1 部では血清バイオマーカー（OCN 及び I 型プロコラーゲン N 末端プロペプチド［P1NP］）（表 8）及び骨形態計測（L3 骨梁面並びに脛骨骨幹内骨面及び骨膜面）（表 9）の測定結果及び骨

強度（表 10）に基づくと、OVX ラットに r13C7 を単独又は ALN との併用で 6 週間投与することにより、骨量（DXA［図 26］及び micro-CT）及び骨形成が同様に増加することが示唆された。

また第 2 部では、r13C7 は 6 週間 ALN 又は溶媒を前投与した OVX ラットの骨形成、骨量及び骨強度を同様に増加させた。さらに、ALN を前投与した OVX ラットにおいて r13C7 と ALN を併用投与しても、r13C7 単独で増加した骨形成、骨量及び骨強度に対して有意な作用を示さなかった（図 26B、表 11、表 12 及び表 13）。以上の結果から、骨減少症を発症した OVX ラットにおける r13C7 による骨形成、骨量及び骨強度の増加は ALN の前投与又は併用投与で影響を受けないことが判明した。

表 8　Scl-AbIII 単独あるいは ALN 併用における血清 OCN への影響

Part 1		Serum Osteocalcin (ng/mL)		
Group	N	Baseline	Week 3	Week 6
SHAM + Vehicle	10	45.80 ± 2.95	47.75 ± 2.56	52.77 ± 3.72
OVX + Vehicle	10	68.22 ± 4.44[a]	69.86 ± 4.63[a]	63.74 ± 2.82
OVX + ALN	10	57.21 ± 1.95	39.19 ± 2.50[b]	39.84 ± 2.41[a,b]
OVX + Scl-AbIII	10	61.00 ± 2.82[a]	96.80 ± 4.70[a,b,c]	79.11 ± 2.79[a,b,c]
OVX + ALN+Scl-AbIII	10	56.28 ± 2.55	88.28 ± 5.56[a,b,c]	76.18 ± 3.70[a,c]

Ten-month-old female Sprague-Dawley (SD) rats were used in this study. The rats were either sham-operated or ovariectomized (OVX) at the age of 6.5 months old and left untreated for 3.5 months. In part one, OVX rats were subcutaneously injected with vehicle, rat sclerostin antibody (SclAbIII) at 25 mg/kg (once/week), alendronate (ALN) at 0.028 mg/kg (twice/week), or Scl-AbIII (25 mg/kg, once/week) plus alendronate (0.028 mg/kg, twice/week) for 6 weeks. Sham-operated rats were SC injected with vehicle twice/week for 6 weeks. Results are expressed as the mean ± standard error of mean (SEM) for 10 rats per group. ap < 0.05 vs. Sham + Vehicle, bp < 0.05 vs. OVX + Vehicle, cp < 0.05 vs. ALN. One way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison test was used to determine the differences between groups

Source: Study R20[redacted]0773, Table 7

表 9　L3 腰椎椎体における骨梁の骨形態計測

Part 1 Parameters	SHAM + Vehicle (n = 10)	OVX + Vehicle (n = 10)	OVX + ALN (n = 10)	OVX + Scl-AbIII (n = 10)	OVX + ALN + Scl-AbIII (n = 10)
BV/TV (%)	40.22 ± 1.77	28.46 ± 1.11[a]	31.54 ± 1.15[a]	42.71 ± 1.01[b,c]	46.02 ± 1.55[a,b,c]
Tb.Th (μm)	87.68 ± 2.40	79.32 ± 2.96	87.55 ± 1.69	123.76 ± 4.49[a,b,c]	129.50 ± 3.75[a,b,c]
Tb.N (/mm)	4.59 ± 0.17	3.62 ± 0.16[a]	3.61 ± 0.15[a]	3.47 ± 0.10[a]	3.55 ± 0.04[a]
Tb.Sp (μm)	132.95 ± 8.42	202.06 ± 11.63[a]	193.42 ± 11.13[a]	166.49 ± 6.71	152.43 ± 5.55[b,c]
Ob.S/BS (%)	0.10 ± 0.02	0.15 ± 0.03	0.00 ± 0.00[b]	0.31 ± 0.05[a,b,c]	0.27 ± 0.02[a,b,c]
Oc.S/BS (%)	0.79 ± 0.12	1.05 ± 0.12	1.17 ± 0.10[a]	0.38 ± 0.06[a,b,c]	0.14 ± 0.02[a,b,c]
ES/BS (%)	9.24 ± 0.64	9.86 ± 0.59	6.07 ± 0.48[a,b]	5.51 ± 0.49[a,b]	5.16 ± 0.23[a,b]
MS/BS (%)	23.98 ± 2.27	37.15 ± 1.48[a]	16.26 ± 1.17[a,b]	54.24 ± 1.70[a,b,c]	47.78 ± 1.92[a,b,c]
MAR (μm/day)	0.72 ± 0.04	0.77 ± 0.02	0.61 ± 0.02 [a,b]	0.79 ± 0.02[c]	0.74 ± 0.01[c]
BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2$/d)	0.18 ± 0.02	0.29 ± 0.01[a]	0.10 ± 0.01[a,b]	0.43 ± 0.02[a,b,c]	0.35 ± 0.02[a,c,d]

Ten-month-old female Sprague-Dawley (SD) rats were used in this study. The rats were either sham-operated or ovariectomized (OVX) at the age of 6.5 months old and left untreated for 3.5 months. In part one, OVX rats were subcutaneously injected with vehicle, rat sclerostin antibody (SclAbIII) at 25 mg/kg (once/week), alendronate (ALN) at 0.028 mg/kg (twice/week), or Scl-AbIII (25 mg/kg, once/week) plus alendronate (0.028 mg/kg, twice/week) for 6 weeks. Sham-operated rats were SC injected with vehicle twice/week for 6 weeks. Results are expressed as the mean ± standard error of mean (SEM) for 10 rats per group. ap < 0.05 vs. Sham + Vehicle, bp < 0.05 vs. OVX + Vehicle, cp < 0.05 vs. ALN. One way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison test was used to determine the differences between groups.

Source: Study R20[redacted]0773, Table 10

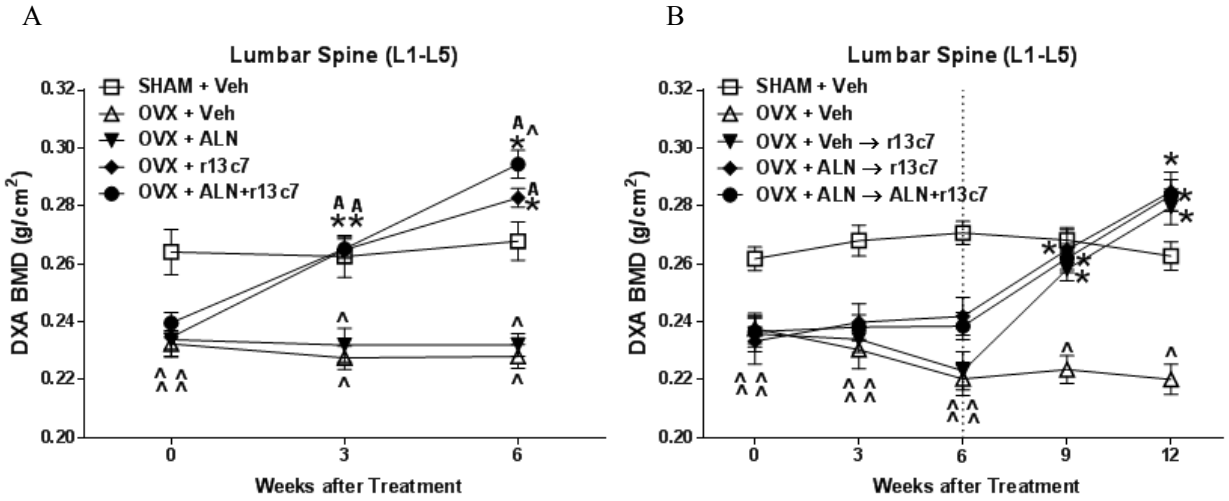
表 10　Scl-AbIII 単独あるいは ALN 併用投与による OVX ラットにおける L5 腰椎椎体の骨強度への影響

Part 1 Parameters	SHAM + Veh (n = 9)	OVX + Veh (n = 10)	OVX + ALN (n = 10)	OVX + Scl-AbIII (n = 10)	OVX + ALN + Scl-AbIII (n = 10)
Maximum Load (N)	473.0±36.4	358.3±18.2[a]	369.7±13.1[a]	628.0±21.3[a,b,c]	622.1±23.0 [a,b,c]
Stiffness (N/mm)	4345.9±441.6	3421.4±339.2	3174.8±118.9	5598.8±224.5[a,b,c]	5479.6±237.6 [b,c]
Energy Max Load (mJ)	41.69±4.67	32.21±1.90	37.05±3.07	58.64±5.63[b,c]	57.95±4.99[b,c]

Ten-month-old female Sprague-Dawley (SD) rats were used in this study. The rats were either sham-operated or ovariectomized (OVX) at the age of 6.5 months old and left untreated for 3.5 months. In part one, OVX rats were subcutaneously injected with vehicle, rat sclerostin antibody (Scl AbIII) at 25 mg/kg (once/week), alendronate (ALN) at 0.028 mg/kg (twice/week), or Scl-AbIII (25 mg/kg, once/week) plus alendronate (0.028 mg/kg, twice/week) for 6 weeks. Sham-operated rats were SC injected with vehicle twice/week for 6 weeks. Results are expressed as the mean ± standard error of mean (SEM) for 9-10 rats per group. ap < 0.05 vs. Sham + Vehicle, bp < 0.05 vs. OVX + Vehicle, cp < 0.05 vs. ALN. One way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison test was used to determine the differences between groups.

Source: Study R20[redacted]0773, Table 12

図 26　アレンドロネートの前投与又は併用投与は OVX ラットの r13C7 による腰椎 BMD 増加に影響を与えない



Sprague Dawley rats were either sham-operated or ovariectomized (OVX) at 6.5 month of age and left untreated for 3.5 months, DXA BMD was performed at the lumbar spine during the treatment phase. A) In the 6-week experiment, 10-month-old OVX rats were administered vehicle (Veh), r13c7, alendronate (ALN), or r13c7 plus ALN, while sham-operated rats received vehicle. B) In the 12-week experiment, 10-month-old OVX rats were administered either vehicle (2 groups) or ALN (2 groups) through week 6. From week 6 to 12, one vehicle-treated OVX group was continued on vehicle, while the other was switched to r13c7. ALN-treated OVX rats were given either r13c7 alone or r13c7 plus ALN. An additional group of Sham controls were treated with vehicle for 12 weeks. *p<0.05 vs. OVX+Veh; ^p<0.05 vs. Sham+Veh, [A]p < 0.05 vs. OVX + ALN. One way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison test was used to determine the differences between groups. n = 9 to 10 in each group.

Source: Study R20[redacted]0773, Adapted from Tables 3 and 15

表 11　ALN 前投与後の Scl-AbIII 単独あるいは ALN 併用投与による OVX ラットにおける血清 OCN への影響

Part 2		Serum Osteocalcin (ng/mL)				
Group	n	Baseline	Week 3	Week 6	Week 9	Week 12
Sham – Vehicle/Vehicle	9-10	46.45±3.74	47.13±3.62	46.53±3.51	40.25±3.24	40.71±6.16
OVX – Vehicle/Vehicle	10	57.49±3.63	61.01±4.72	60.15±3.41[a]	72.83±5.81[a]	43.95±4.12
OVX – Vehicle/Scl-AbIII	10	59.14±3.49	58.43±4.57	59.77±4.28[a]	116.25±9.03[a,b]	57.86±3.69
OVX – ALN/Scl-AbIII	10	56.61±3.63	31.93±1.74[a,b,c]	27.71±1.24[a,b,c]	83.72±6.72[a,c]	60.79±4.62[a]
OVX – ALN/ALN+Scl-AbIII	10	62.07±4.37[a]	31.94±2.80[a,b,c]	31.03±2.58[a,b,c]	82.96±3.58[a,c]	55.00 ±4.35

In part two, 10-month-old rats were subcutaneously injected with vehicle or alendronate (ALN) at 0.028 mg/kg (twice per week) for six weeks. After six weeks, vehicle-treated Sham rats were continued on vehicle, while vehicle-treated OVX rats were either continued on vehicle or switched to a sclerostin antibody specifically designed for rat studies (Scl-AbIII; 25 mg/kg, sc, once weekly). ALN-treated OVX rats were given either Scl-AbIII alone or Scl-AbIII plus ALN. Results are expressed as the mean ± standard error of mean (SEM) for 9-10 rats per group. ap < 0.05 vs. Sham + Vehicle, bp < 0.05 vs. OVX + Vehicle, cp < 0.05 vs. ALN. One way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison test was used to determine the differences between groups.

Source: Study R20[redacted]0773, Tables 19

表 12　第 3 腰椎椎体における骨梁の骨形態計測

Part 2 Parameters	Sham – Vehicle/Vehicle (n = 9)	OVX – Vehicle/Vehicle (n = 10)	OVX – Vehicle/Scl-AbIII (n = 10)	OVX – ALN/Scl-AbIII (n = 10)	OVX – ALN/ALN+Scl-AbIII (n = 10)
BV/TV (%)	41.47 ± 1.70	26.31 ± 1.30[a]	40.78 ± 1.91[b]	43.84 ±1.85[b]	44.52 ± 1.72[b]
Tb.Th (μm)	97.29 ± 3.08	82.21 ± 2.63	136.88 ± 5.63[a,b]	133.72 ± 4.51[a,b]	134.53 ± 4.91[a,b]
Tb. N (/mm)	4.26 ± 0.08	3.19 ± 0.07[a]	2.98 ± 0.06[a]	3.28 ± 0.09[a]	3.17 ± 0.20[a]
Tb. Sp (μm)	138.10 ± 5.55	232.99 ± 9.16[a]	200.18 ± 9.24[a]	173.40 ± 10.03[b]	168.78 ± 7.94[b]
Ob.S/BS (%)	0.09 ± 0.03	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.01	0.12 ± 0.02	0.14 ± 0.02
Oc.S/BS (%)	0.53 ± 0.09	0.42 ± 0.04	0.54 ± 0.07	0.61 ± 0.03	0.66 ± 0.05
ES/BS (%)	13.6 ± 1.0	9.8 ± 1.1[a]	3.1 ± 0.3[ab]	4.3 ± 0.3[ab]	6.6 ± 0.5[abc]
MS/BS (%)	25.82 ± 1.61	28.63 ± 1.87	42.89 ± 2.57[a,b]	41.48 ± 2.21[a,b]	41.32 ± 3.00[a,b]
MAR (μm/day)	0.72 ± 0.02	0.86 ± 0.02[a]	0.89 ± 0.01[a,b]	0.93 ± 0.01[a,b]	0.96 ± 0.02[a,b]
BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/d$)	0.19 ± 0.01	0.25 ± 0.02	0.41 ± 0.02[a,b]	0.37 ± 0.02[a,b]	0.39 ± 0.03[a,b]

In part two, 10-month-old rats were subcutaneously injected with vehicle or alendronate (ALN) at 0.028 mg/kg (twice per week) for six weeks. After six weeks, vehicle-treated Sham rats were continued on vehicle, while vehicle-treated OVX rats were either continued on vehicle or switched to a sclerostin antibody specifically designed for rat studies (Scl-AbIII; 25 mg/kg, sc, once weekly). ALN-treated OVX rats were given either Scl-AbIII alone or Scl-AbIII plus ALN. Results are expressed as the mean ± standard error of mean (SEM) for 9-10 rats per group. ap < 0.05 vs. Sham + Vehicle, bp < 0.05 vs. OVX + Vehicle, cp < 0.05 vs. ALN. One way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison test was used to determine the differences between groups.

Source: Study R20[redacted]0773, Table, 22

表 13　ALN 前投与後の Scl-AbIII 単独又は ALN 併用投与した OVX ラットにおける第 5 腰椎椎体への影響

Part 2 Parameters	Sham – Vehicle/Vehicle (n = 9)	OVX – Vehicle/Vehicle (n = 10)	OVX – Vehicle/Scl-AbIII (n = 10)	OVX – ALN/Scl-AbIII (n = 10)	OVX – ALN/ALN+Scl-AbIII (n = 10)
Maximum Load (N)	500.5 ± 29.5	356.7 ± 13.6[a]	626.1 ± 23.7[a,b]	629.3 ± 25.9[a,b]	625.5 ± 32.0[a,b]
Stiffness (N/mm)	4203.1 ± 347.3	3360.8 ± 154.3	5506.0 ± 300.8[a,b]	5768.0 ± 231.4[a,b]	5623.4 ± 312.0[a,b]
Energy to Maximum Load (mJ)	42.54 ± 3.16	26.43 ± 1.81[a]	54.65 ± 2.49[a,b]	49.84 ± 2.90[b]	50.72 ± 3.50[b]

In part two, 10-month-old rats were subcutaneously injected with vehicle or alendronate (ALN) at 0.028 mg/kg (twice per week) for six weeks. After six weeks, vehicle-treated Sham rats were continued on vehicle, while vehicle-treated OVX rats were either continued on vehicle or switched to a sclerostin antibody specifically designed for rat studies (Scl-AbIII; 25 mg/kg, sc, once weekly). ALN-treated OVX rats were given either Scl-AbIII alone or Scl-AbIII plus ALN. Results are expressed as the mean ± standard error of mean (SEM) for 9-10 rats per group. ap < 0.05 vs. Sham + Vehicle, bp < 0.05 vs. OVX + Vehicle, cp < 0.05 vs. ALN. One way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison test was used to determine the differences between groups.

Source: Study R20[redacted]0773, Table 24

2.2.1.6 卵巣摘出 Sprague Dawley ラットにマウス抗スクレロスチン抗体（m13C7）を皮下投与した際の骨形成及び骨量に及ぼす用量依存的作用（R20[redacted]054 試験）

本試験の目的は、OVX ラットの骨量及び骨形成に及ぼす抗スクレロスチン抗体（m13C7）の用量依存的な作用を検討することである。6 カ月齢の雌性 SD ラットにシャムオペ又は OVX を実施し、骨減少症を誘発させるために 5 カ月間の無処置期間を置いた。OVX ラットに溶媒又は m13C7 を 1、2.5、5、10 又は 25 mg/kg の用量を週 2 回 5 週間皮下投与した（n=10/群）。シャムオペラットには溶媒を週 2 回 5 週間皮下投与した。免疫反応により m13C7 の曝露が低下した動物を試験から除外したため、主要解析の対象とした動物数が減少し、2.5、5、10 及び 25 mg/kg を投与した群でそれぞれ 7、8、6 及び 9 匹となった。1 mg/kg 投与群は、試験終了までに被験物質の曝露が低下したため主要統計解析に含めなかったが、薬理作用を評価するための別の解析ではすべての動物を対象とした。BMD は DXA により *in vivo* で評価し、m13C7 濃度並びに骨形成及び骨吸収のバイオマーカー（OCN 及び CTX）、並びに組織は骨形態計測を実施した。

11 カ月齢の OVX ラットで m13C7 の投与により腰椎の骨面 BMD は概して用量依存的に増加した。また、血清 OCN が用量依存的に上昇し、そのピークは 2.5、5 及び 10 mg/kg では投与後 1 週、25 mg/kg では投与後 3 週であった。m13C7 は、腰椎、脛骨遠位及び脛骨骨幹部における骨梁面、骨膜面及び内骨面上の骨石灰化面、骨石灰化速度及び骨形成速度を用量依存的に増加させた。m13C7 の投与で骨梁及び皮質骨の骨形成が増加し、これに伴って腰椎や脛骨遠位骨端の骨梁幅及び海綿骨量並びに脛骨骨幹の皮質骨面が増加した。m13C7 投与は骨吸収の指標である血清 CTX 又は腰椎破骨細胞面に影響を及ぼさなかった。本試験の結果から、マウス抗スクレロスチン抗体である m13C7 の投与は、OVX ラットにおいて骨吸収を増加させることなく用量依存的に骨量及び骨形成を増加させることが明らかになった。

1 mg/kg の用量において被験物質の曝露が低下したにもかかわらず、OVX 対照群と比較して腰椎の BMD が有意に増加した（8.4%、P=0.032）。この 1 mg/kg の作用は、溶媒投与群と比較して血清 OCN が上昇し、血清中の酒石酸ホスファターゼ 5b（TRACP 5b）が低下する傾向と対応していた。このように、OVX ラットにおいて被験物質への曝露が低下したものの最低有効用量は 1 mg/kg であった。

2.2.2 抗スクレロスチン抗体の再投与

OVX ラットを用いて Scl-Ab の投与を中断後（R20[redacted]0173 試験）又は RANKL 阻害因子である OPG-Fc の投与に移行後（R20[redacted]0070 試験）しばらく期間を置いて Scl-Ab の再投与の影響を検討した。12 週間の休薬期間後の Scl-Ab の再投与は骨形成及び骨量を再度増加させたが、OPG-Fc を継続して投与した場合、Scl-Ab の再投与による BMD の更なる増加は認められなかった。

2.2.2.1 卵巣摘出ラットの骨に及ぼす抗スクレロスチン抗体再投与の作用（R20[redacted]0173 試験）

本試験の目的は、OVX ラットを用いて最初のラット抗スクレロスチン抗体（r13C7）投与に続く休薬期間経過後に r13C7 を再投与した時の骨形成、骨吸収及び骨量に及ぼす作用を明らかにすることである。本試験は 30 週間にわたって実施し、合計 8 群の 7 カ月齢 OVX ラット（OVX 実施 11 週間後）と同様の月齢のシャムオペラットの 1 群を設定した（n=8/群）。ベースラインから 12 週まで r13C7 を投与（初回の投与）し、続いて 13 週から 24 週まで投与を中断（休薬）、その後 25 週から 30 週まで投与（再投与）した。投与はすべて週 2 回の皮下投与とした。OVX 溶媒対照の 3 群は 6、12 及び 24 週に剖検し、24 週の群には 12 週以降溶媒は投与しなかった。また、シャムオペ溶媒群は 30 週で剖検した。初回投与期間に r13C7（5 mg/kg）を投与された群は 6、12、24 週で終了した。選択した 5 mg/kg の週 2 回投与は、他の試験で使用した 25 mg/kg と比べて被験物質が速やかに血中から消失することから、増加した骨量は 12 週間の休薬期間中に大幅に低下することになった。残る 2 つの r13C7 投与群には、再投与期間中に溶媒又は r13C7 を投与した。本試験では、骨形成（OCN と P1NP）及び骨吸収（TRACP 5b）の血清バイオマーカー、*in vivo* DXA 及び骨形態計測を評価項目とした。r13C7 を投与した群の 1 匹は被験物質投与とは関連のない後肢腫脹により投与 10 週で安楽死処置としたため、r13C7 再投与群の動物数は 7 匹となった。初回投与期間中に血清 P1NP は r13C7 投与群で有意に増加し、そのピークは投与 2 週で観察された。その後投与 10 週から 12 週にかけて OVX 対照群レベルまで戻り、休薬期間中は OVX 対照群レベルのままであった（図 27）。再投与期間中、r13C7 投与により投与 30 週まで P1NP が増加した。TRACP 5b は初回投与期間と再投与期間のいずれでも有意に減少し、休薬期間中に増加した（表 14）。腰椎及び大腿骨 - 脛骨の BMD は r13C7 の投与期間を通して継続的に増加し（図 27、表 15）、休薬 2 週間後の 14 週でピークに達し、OVX 対照群より高いレベルのままで推移し、腰椎では 24 週でシャムオペ対照群と同等のレベルであった（図 27）。大腿骨-脛骨 BMD もまた休薬期間中に減少したが、24 週では、シャムオペ対照群及び OVX 対照群より有意に高いままであった。6 週間の再投与後、両部位の BMD は有意に増加し、投与 14 週で見られた初回のピークと同レベルに達した。

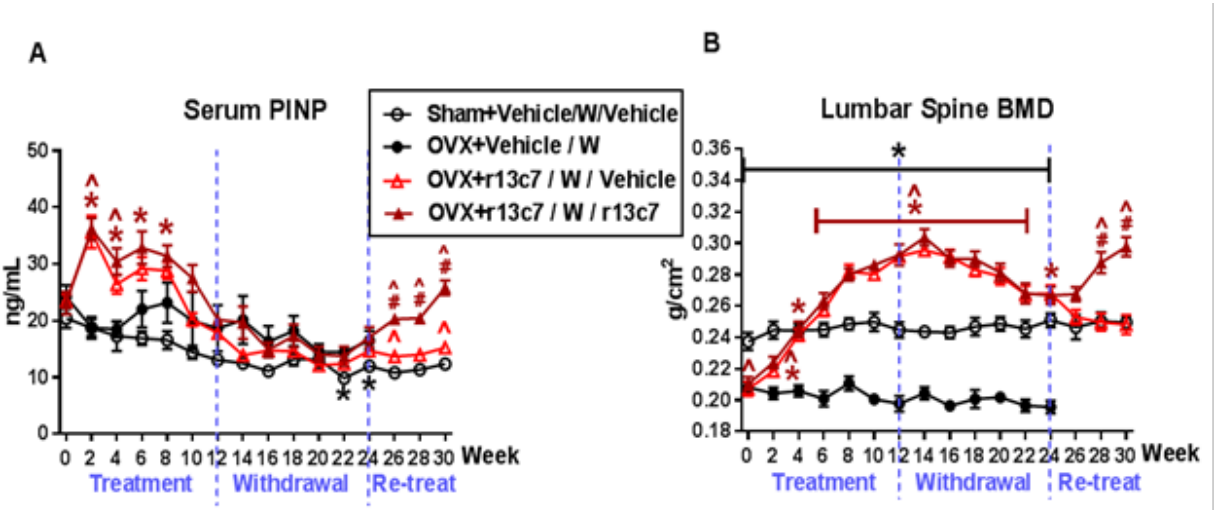
腰椎海綿骨では、Scl-Ab 投与による骨石灰化面（MS / BS）及び骨形成速度（BFR / BS）の増加は、6 週にピークに達し、12 週まで有意に上昇した（表 16）。12 週間の休薬期間後、MS/BS 及び BFR/BS は、溶媒投与 OVX ラットよりも Scl-Ab 投与 OVX ラットにおいて有意に低かった。骨石灰化速度（MAR）は、6 週目で Scl-Ab 投与 OVX ラットにおいて有意に大きく、12 週までに OVX 対照群レベルに戻り、12 週間の休薬後も OVX 対照群レベルにとどまった。再投与期間に、溶媒対照と比較して、Scl-Ab 投与群で MS/BS、MAR 及び BFR/BS の有意な増加が観察された。浸食面（ES/BS）は、Scl-Ab 投与によって 12 週目までに有意に減少し、その後 24 週目には休薬中の溶媒投与 OVX 対照群レベルよりも増加したが、30 週目の Scl-Ab 再投与によって有意に減少した。

脛骨骨幹部において、内骨面（Ec）の MS/BS 及び BFR/BS は 12 週間の投与期間にわたって Scl-Ab で有意に増加し、12 週間の休薬期間後に対照群レベル未満に低下した。Ec.MAR は、溶媒対照群よりも Scl-Ab 投与 OVX ラット群において 6 週で有意に大きく、12 及び 24 週で対照群レベルに戻った。再投与期間中、溶媒対照群と比較して、Scl-Ab 投与 OVX ラット群において、Ec 面上の MS/BS、MAR 及び BFR/BS の有意な増加が観察された。骨膜面（Ps）の MS/BS、MAR 及び BFR/BS

も Scl-Ab 投与群で有意に増加し、12 及び 24 週で対照群レベルに戻った。再投与期間中、溶媒対照群と比較して、Scl-Ab 投与 OVX ラット群において、Ps の MS/BS、MAR 及び BFR / BS の有意な増加が観察された。Scl-Ab 投与 OVX ラット群では、初回投与及び再投与期間の両方において Ec 面上の ES / BS はほとんど存在しなかったが、休薬後の 24 週目に OVX 対照群レベルまで上昇した（表 17）。

以上の結果から、OVX ラットにおいて初回投与と休薬後の Scl-Ab の再投与は安定的に骨形成と BMD を増加させ、骨吸収を低下させることが示された。

図 27　OVX ラットにおける骨形成マーカーP1NP と腰椎 BMD に及ぼす Scl-Ab 再投与の作用



Sprague Dawley rats were either sham-operated or ovariectomized (OVX) at 4.5 month of age and left untreated for 11 weeks. Groups of OVX rats were sc injected with vehicle or r13c7 at 5 mg/kg (twice/week) for 12 weeks (Treatment), followed by no treatment for 12 weeks (withdrawal, W). Thereafter, groups of previously r13c7-treated OVX rats received either Vehicle or 5 mg/kg r13c7 for 6 weeks (Re-treat). Sham-operated rats were sc injected with vehicle twice/week for 12 weeks, followed by no treatment for 12 weeks (withdrawal) then vehicle treatment for 6 weeks. (A) Serum P1NP and (B) DXA BMD of the lumbar spine were assessed every 2 weeks. Results are expressed as the mean ± standard error of mean (SEM). ^$p < 0.05$ vs. Sham+Vehicle/W/Vehicle, *$p < 0.05$ vs. OVX+Vehicle/W, $^{\#}p < 0.05$ vs. OVX+ r13c7/W/Vehicle. One way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison test was used to determine the differences between groups.

Source: Study R20[redacted]0173, Adapted from Tables 1 and 4

表 14　OVX ラットにおける血清 TRACP5b（U / L）に対する Scl-Ab 再投与の影響

	Time Points (Weeks)	Sham + Vehicle/W/Vehicle(n=8)	OVX + Vehicle/W (n=8)	OVX + Scl-Ab/W/Vehicle (n=8)	OVX + Scl-Ab/W/Scl-Ab (n=7-8)
Initial Treatment	Pretreatment	6.43 ± 0.71	4.80 ± 0.31	4.26 ± 0.34[a]	3.71 ± 0.46[a]
	2	4.18 ± 0.49	2.74 ±0.19[a]	1.67 ± 0.15[a]	1.21 ± 0.13[ab]
	4	4.53 ± 0.37	3.33 ± 0.11[a]	1.96 ± 0.18[ab]	1.70 ± 0.16[ab]
	6	4.70 ± 0.32	3.08 ± 0.15[a]	1.81 ± 0.14[ab]	1.47 ± 0.24[ab]
	8	4.39 ± 0.26	2.30 ± 0.14[a]	1.74 ± 0.10[a]	1.53 ± 0.26[a]
	10	4.49 ± 0.25	2.55 ± 0.18[a]	1.97 ± 0.09[a]	1.72 ± 0.24[ab]
	12	4.35 ± 0.27	2.19 ± 0.11[a]	1.97 ± 0.11[a]	1.51 ± 0.18[a]
Withdrawal	14	4.34 ± 0.28	2.27 ± 0.13[a]	2.45 ± 0.19[a]	2.18 ± 0.28[a]
	16	4.69 ± 0.32	2.45 ± 0.11[a]	5.05 ± 0.43[b]	3.86 ± 0.47[b]
	18	4.54 ± 0.34	2.49 ± 0.19[a]	5.08 ± 0.48[b]	3.96 ± 0.33[b]
	20	4.99 ± 0.35	2.71 ± 0.25[a]	5.82 ± 0.47[b]	4.39 ± 0.43[b]
	22	4.94 ± 0.39	2.53 ± 0.14[a]	5.13 ± 0.43[b]	3.83 ± 0.41
	24	4.20 ± 0.29	2.53 ± 0.09[a]	4.36 ± 0.26[b]	3.63 ± 0.45
Retreatment	26	3.49 ± 0.28	NA	3.98 ± 0.32	1.53 ± 0.21[ac]
	28	3.24 ± 0.24	NA	3.68 ± 0.28	1.21 ± 0.19[ac]
	30	2.96 ± 0.16	NA	3.20 ± 0.20	1.22 ± 0.19[ac]

Seven-month-old female Sprague-Dawley rats were used in this study. The rats were either sham-operated or ovariectomized (OVX) at the age of 4.5 months old and left untreated for 11 weeks. The three reported groups of OVX rats were subcutaneously injected with vehicle or rat sclerostin antibody (Scl-AbVI) at 5 mg/kg (twice/week) for 12 weeks (initial treatment), followed by no treatment for 12 weeks (withdrawal). Thereafter, one group of previously Scl-Ab-treated OVX rats received Scl-Ab and another group received vehicle for 6 weeks (n=7-8/group, retreatment). Sham-operated rats were SC injected with vehicle twice/week for 12 weeks, followed by no treatment for 12 weeks (withdrawal) then vehicle treatment for 6 weeks. Serum osteocalcin and TRACP 5b were assessed every two weeks. Results are expressed as the mean ± standard error of mean (SEM) for 7-8 rats per group. [a]$p < 0.05$ vs. Sham + Vehicle/W/Vehicle, [b]$p < 0.05$ vs. OVX + Vehicle/W, [c]$p < 0.05$ vs. OVX + Scl-Ab/W/Vehicle. One way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison test was used to determine the differences between groups. Results are expressed as the mean ± SEM, ^$p < 0.05$ vs. Sham+Vehicle/W/Vehicle, *$p < 0.05$ vs. OVX+Vehicle/W, #$p < 0.05$ vs. OVX+ r13c7/W/Vehicle. One-way ANOVA followed by Tukey's multiple comparison test was used to determine the differences between groups.

Source: Study R20[redacted]0173, Table 5

表 15　OVX ラットの大腿骨 - 脛骨における BMD（g / cm ^{2}）に対する Scl-Ab 再投与の影響

	Time Points (Weeks)	Sham + Vehicle/W/Vehicle (n=8)	OVX + Vehicle/W (n=8)	OVX + Scl-Ab/W/Vehicle (n=8)	OVX + Scl-Ab/W/Scl-Ab (n=7-8)
Initial Treatment	Pretreatment	0.294 ± 0.006	0.272 ± 0.003[a]	0.273 ± 0.003[a]	0.274 ± 0.003[a]
	2	0.300 ± 0.006	0.269 ± 0.004[a]	0.281 ± 0.002[a]	0.279 ± 0.004[a]
	4	0.301 ± 0.007	0.268 ± 0.003[a]	0.298 ± 0.002[b]	0.294 ± 0.004[b]
	6	0.302 ± 0.007	0.269 ± 0.003[a]	0.311 ± 0.003[b]	0.310 ± 0.004[b]
	8	0.301 ± 0.006	0.270 ± 0.004[a]	0.320 ± 0.002[ab]	0.315 ± 0.005[b]
	10	0.303 ± 0.006	0.272 ± 0.003[a]	0.329 ± 0.003[ab]	0.327 ± 0.006[ab]
	12	0.304 ± 0.006	0.273 ± 0.004[a]	0.339 ± 0.004[ab]	0.337 ± 0.005[ab]
Withdrawal	14	0.304 ± 0.006	0.273 ± 0.003[a]	0.345 ± 0.003[ab]	0.346 ± 0.005 [ab]
	16	0.303 ± 0.006	0.272 ± 0.004[a]	0.340 ± 0.003[ab]	0.341 ± 0.004[ab]
	18	0.302 ± 0.006	0.272 ± 0.004[a]	0.334 ± 0.004[ab]	0.332 ± 0.005[ab]
	20	0.308 ± 0.006	0.273 ± 0.004[a]	0.332 ± 0.003[ab]	0.331 ± 0.006[ab]
	22	0.302 ± 0.005	0.268 ± 0.005[a]	0.326 ± 0.004[ab]	0.329 ± 0.003[ab]
	24	0.300 ± 0.006	0.268 ± 0.004[a]	0.327 ± 0.004[ab]	0.324 ± 0.004[ab]
Retreatment	26	0.307 ± 0.006	NA	0.323 ± 0.004	0.327 ± 0.004[a]
	28	0.307 ± 0.007	NA	0.320 ± 0.004	0.338 ± 0.004[a]
	30	0.307 ± 0.007	NA	0.320 ± 0.004	0.346 ± 0.005[ac]

Seven-month-old female Sprague-Dawley rats were used in this study. The rats were either sham-operated or ovariectomized (OVX) at the age of 4.5 months old and left untreated for 11 weeks. The three reported groups of OVX rats were subcutaneously injected with vehicle or rat sclerostin antibody (Scl-AbVI) at 5 mg/kg (twice/week) for 12 weeks (initial treatment), followed by no treatment for 12 weeks (withdrawal). Thereafter, one group of previously Scl-Ab-treated OVX rats received Scl-Ab and another group received vehicle for 6 weeks (n=7-8/group, retreatment). Sham-operated rats were SC injected with vehicle twice/week for 12 weeks, followed by no treatment for 12 weeks (withdrawal) then vehicle treatment for 6 weeks. BMD was measured using dual-energy X-ray absorptiometry (Hologic QDR 4500A, Hologic Inc., Bedford, MA) as described in Methods. Results are expressed as the mean ± standard error of mean (SEM) for 7-8 rats per group. [a]$p < 0.05$ vs. Sham + Vehicle/W/Vehicle, [b]$p < 0.05$ vs. OVX + Vehicle/W, [c]$p < 0.05$ vs. OVX + Scl-Ab/W/Vehicle. One way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison test was used to determine the differences between groups.

Source: Study R20[redacted]0173, Table 2

表 16　第 3 腰椎椎体における海綿骨の骨形態計測

	Week 6		Week 12		Week 24		Week 30		
Parameters	OVX-Vehicle (n = 8)	OVX-Scl-Ab (n = 8)	OVX-Vehicle (n = 8)	OVX-Scl-Ab (n = 8)	OVX-Vehicle/W (n = 8)	OVX-Scl-Ab/W (n = 8)	Sham-Vehicle/W/Vehicle (n = 8)	OVX-Scl-Ab/W/Vehicle (n = 8)	OVX-Scl-Ab/W/Scl-Ab (n = 7)
BV/TV (%)	22.89 ± 6.19	46.73 ± 10.06[b]	22.65 ± 5.05	59.04± 7.45[b]	20.40 ± 4.44	31.04± 10.68[b]	38.05 ± 6.53	28.14± 4.32	39.83 ± 14.75
Tb.Th (µm)	82.92 ± 8.92	172.48 ± 26.46[b]	90.63± 11.63	239.51± 44.19[b]	91.31 ± 15.37	137.71± 26.50[b]	116.44± 55.26	124.83± 20.99	221.06 ± 58.28[ac]
Tb.N (/mm)	2.73 ± 0.46	2.69 ± 0.26	2.48± 0.38	2.49± 0.26	2.23 ± 0.32	2.22± 0.48	3.54± 0.75	2.28± 0.33	1.77 ± 0.37[ac]
Tb.Sp (µm)	292.21 ± 66.35	202.01 ± 54.65[b]	321.74± 76.19	164.94 ± 29.29[b]	364.72 ± 68.66	326.84± 94.01	184.22± 50.77	322.00± 61.86	366.94 ± 163.24[ac]
ES/BS (%)	6.92 ± 2.14	1.39 ± 0.77[b]	3.47± 0.98	1.43± 0.96[b]	6.14 ± 2.00	11.64± 4.64[b]	3.07± 1.56	8.69± 2.21[a]	1.86 ± 0.97[c]
MS/BS (%)	46.10 ± 5.85	76.23 ± 4.55[b]	39.70± 3.58	54.32± 5.45[b]	40.13 ± 4.48	29.70± 10.58[b]	30.27± 14.68	37.50± 4.02	69.51 ± 8.22[ac]
MAR (µm/day)	1.13 ± 0.08	1.47 ± 0.11[b]	1.33± 0.13	1.41± 0.13	1.03 ± 0.12	0.98± 0.09	0.95± 0.11	1.00± 0.01	1.19 ± 0.09[ac]
BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2$/d)	0.52 ± 0.09	1.12 ± 0.10[b]	0.53± 0.10	0.77 ± 0.13[b]	0.41± 0.07	0.29 ± 0.09[b]	0.29 ± 0.15	0.37 ± 0.02	0.83 ± 0.15[ac]

BV/TV = bone volume/tissue volume; BFR/BS = bone formation rate/bone surface; ES/BS = eroded surface/bone surface; MAR = mineral apposition rate; MS/BS = mineralizing surface/bone surface; Tb = trabecular; Tb.N = trabecular number; Tb.Th = trabecular thickness; Tb.Sp = trabecular spacing

Seven-month-old female Sprague-Dawley rats were used in this study. The rats were either sham-operated or ovariectomized (OVX) at the age of 4.5 months old and left untreated for 11 weeks. OVX rats were subcutaneously injected with vehicle or rat sclerostin antibody (Scl-AbVI) at 5 mg/kg (twice/week) for 12 weeks (initial treatment), followed by no treatment for 12 weeks (withdrawal). Thereafter, one group of previously Scl-Ab-treated OVX rats received Scl-Ab and another group received vehicle for 6 weeks (n=7-8/group, retreatment). Sham-operated rats were SC injected with vehicle twice/week for 12 weeks, followed by no treatment for 12 weeks (withdrawal) then vehicle treatment for 6 weeks. Bone histomorphometric analysis was performed in the 3rd lumbar vertebrae as described in Methods. Results are expressed as the mean ± standard deviation (SD) for 7-8 rats per group. [a]$p < 0.05$ vs. Sham + Vehicle/W/Vehicle, [b]$p < 0.05$ vs. OVX-Vehicle or OVX-Vehicle/W, [c]$p < 0.05$ vs. OVX- Scl-Ab/W/Vehicle. Student t-test was used for analysis at weeks 6, 12 and 24. One way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison test was used to determine the differences between groups at week 30.

Source: Study R20[redacted]0173, Table 6

表 17　脛骨骨幹における皮質骨の骨形態計測

	Week 6		Week 12			Week 24		Week 30	
Parameters	OVX-Vehicle (n = 8)	OVX-Scl-Ab (n = 8)	OVX-Vehicle (n = 8)	OVX-Scl-Ab (n = 8)	OVX-Vehicle/W (n = 8)	OVX-Scl-Ab/W (n = 8)	Sham-Vehicle/W/Vehicle (n = 8)	OVX-Scl-Ab/W/Vehicle (n = 8)	OVX-Scl-Ab/W/Scl-Ab (n = 7)
Ct. BV/TV (%)	82.48± 1.53	88.22± 1.73[b]	83.25± 2.37	91.22± 1.81[b]	82.12 ± 1.74	89.46 ± 2.21[b]	87.11 ± 1.85	87.76 ± 2.26	90.75± 0.99[ac]
Ct.Th (μm)	647.36± 31.16	705.11± 35.03[b]	630.13± 51.77	788.30 ± 48.43[b]	628.45± 34.66	740.73± 49.02[b]	689.91 ± 43.33	716.19± 48.28	777.71± 25.87[ac]
Ec.Pm (mm)	3.62± 0.33	3.04 ± 0.32[b]	3.56 ± 0.17	2.85 ± 0.35[b]	3.79 ± 0.23	3.13 ± 0.53[b]	3.15 ± 0.23	3.32 ± 0.29	2.86 ± 0.14[c]
Ps. Pm (mm)	8.38 ± 0.58	8.55 ± 0.30	8.26 ± 0.36	8.92 ± 0.16[b]	8.50 ± 0.42	8.55 ± 0.46	8.30 ± 0.40	8.80 ± 0.31[a]	8.89 ± 0.26[a]
Ec. MS/BS (%)	28.61± 15.39	95.41± 5.52[b]	27.72 ± 6.35	89.90 ± 7.13[b]	29.90 ± 8.93	15.18 ± 9.71[b]	23.57 ± 7.12	15.34 ± 9.25	96.23± 3.55[ac]
Ec. MAR (μm/day)	0.73 ± 0.48	1.49 ± 0.09[b]	0.94 ± 0.70	1.12 ± 0.10	0.68 ± 0.31	0.43 ± 0.50	0.74 ± 0.26	0.47 ± 0.45	1.19± 0.14[ac]
Ec. BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2$/d)	0.24 ± 0.24	1.45 ± 0.14[b]	0.29 ± 0.22	1.01 ± 0.12[b]	0.22 ± 0.13	0.08 ± 0.08[b]	0.18 ± 0.11	0.09 ± 0.10	1.15 ± 0.17[ac]
Ec. ES/BS (%)	12.27 ± 6.09	0.31 ± 0.87[b]	9.09 ± 4.54	0 ± 0[b]	12.23 ± 3.32	14.50 ± 4.82	3.13 ± 1.33	16.45 ± 7.69[a]	0 ± 0[c]
Ps. MS/BS (%)	46.59± 14.07	95.10 ± 5.30[b]	28.78 ± 26.84	38.10 ± 21.72	9.04 ± 9.06	7.14 ± 6.91	10.67 ± 12.98	3.67 ± 5.48	34.72 ± 23.08[ac]
Ps. MAR (μm/day)	0.87± 0.20	1.51 ± 0.30[b]	0.71 ± 0.79	0.84 ± 0.82	0.07 ± 0.19	0.24 ± 0.34	0.30 ± 0.36	0.22 ± 0.30	0.82 ± 0.13[ac]
Ps. BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2$/d)	0.42 ± 0.18	1.45 ± 0.36[b]	0.32 ± 0.48	0.44 ± 0.51	0.02 ± 0.05	0.03 ± 0.06	0.07 ± 0.11	0.02 ± 0.03	0.29 ± 0.21[ac]

Ct. = cortical; CT.Th = cortical thickness; BV/TV = bone volume/tissue volume; BFR/BS = bone formation rate/bone surface; Ec. = endocortical; Ec.Pm = endocortical perimeter;

ES/BS = eroded surface/bone surface; MAR = mineral apposition rate; MS/BS = mineralizing surface/bone surface; Ps. = periosteal; Ps.Pm = periosteal perimeter

Seven-month-old female Sprague-Dawley rats were used in this study. The rats were either sham-operated or ovariectomized (OVX) at the age of 4.5 months old and left untreated for 11 weeks. OVX rats were subcutaneously injected with vehicle or rat sclerostin antibody (Scl-AbVI) at 5 mg/kg (twice/week) for 12 weeks (initial treatment), followed by no treatment for 12 weeks (withdrawal). Thereafter, one group of previously Scl-Ab-treated OVX rats received Scl-Ab and another group received vehicle for 6 weeks (n=7-8/group, retreatment). Sham-operated rats were SC injected with vehicle twice/week for 12 weeks, followed by no treatment for 12 weeks (withdrawal) then vehicle treatment for 6 weeks. Bone histomorphometric analysis was performed at tibia shaft as described in Methods. Results are expressed as the mean ± standard deviation (SD) for 7-8 rats per group. [a]$p < 0.05$ vs. Sham + Vehicle/W/Vehicle, [b]$p < 0.05$ vs. OVX-Vehicle or OVX-Vehicle/W, [c]$p < 0.05$ vs. OVX- Scl-Ab/W/Vehicle. Student t-test was used for analysis at weeks 6, 12 and 24. One way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's multiple comparison test was used to determine the differences between groups at week 30.

Source: Study R20[redacted]0173, Table 7

2.2.2.2　OVX ラットにおける Scl-Ab と OPG-Fc の併用による再投与（R20[redacted]0070 試験）

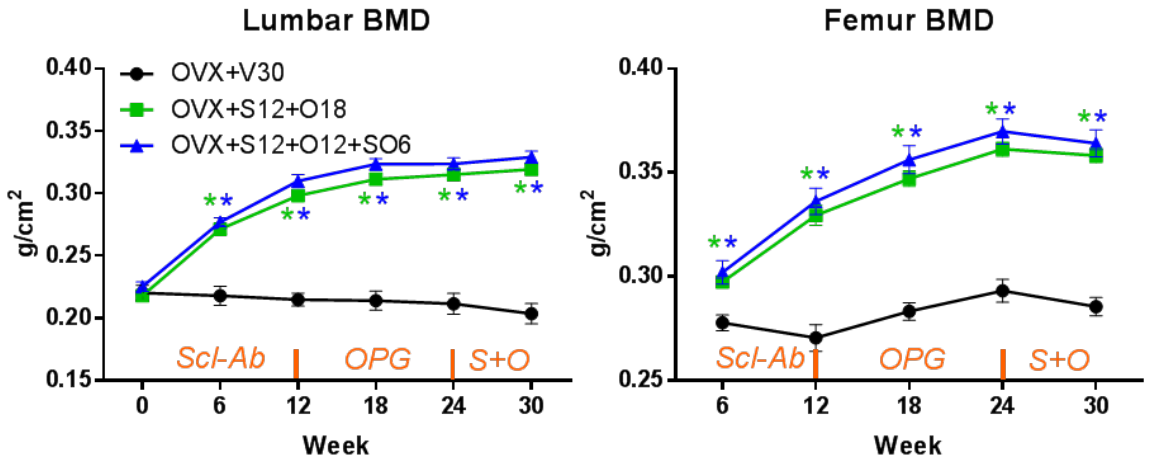
本試験の目的は、骨吸収抑制因子の維持投与期間後の r13C7 の再投与が効果的に骨形成及び骨量を増加させるかどうかを明らかにすることである。OVX ラットに r13C7 を初回投与期間中投与した後に RANKL 阻害因子である OPG-Fc を投与し、続いて r13C7 と OPG-Fc を併用で再投与した。7 カ月齢の OVX SD ラット（OVX 実施 11 週間後）に溶媒又は 5 mg/kg の r13C7 を週 2 回 12 週間皮下投与した。投与 12 週で r13C7 を投与した 3 群にラット OPG-Fc（10 mg/kg）を引き続き週 2 回 12 週間皮下投与した。24 週時点で 3 群中 1 群に r13C7 を（OPG-Fc に加えて）再び 6 週間投与し、もう 1 つの群には引き続き OPG-Fc のみを投与した。これら 2 つの群は 30 週で試験を終了した。剖検は、溶

媒群では投与 6、12、24 及び 30 週で、r13C7 投与群では投与 6 及び 12 週で、r13C7 と OPG-Fc の併用投与群では投与 24 週で実施した。溶媒又は r13C7 の単独投与群はすべて 1 群あたり 10 匹（n=10）で、試験期間中 OPG-Fc 投与群は 1 群あたり 12 匹（n=12）であった。本試験では、*in vivo* DXA による長軸方向 BMD 及び血清を採取して被験物質への曝露量を評価項目とした。

選択した 5 mg/kg の週 2 回投与は、他の試験で使用した 25 mg/kg と比べて被験物質が速やかに血中から消失することから、増加した骨量は 12 週間の休薬期間中に大幅に低下する。ラットに OPG-Fc 10 mg/kg を週 2 回投与によりラットの骨吸収が安定して抑制されることが報告されている（Aspenberg et al, 2011）。

r13C7 の初回の 12 週間投与により OVX 対照群に比較して腰椎と大腿骨の両方で DXA による BMD が漸増した（図 28）。腰椎の BMD 増加は投与期間終了に近づくにつれてその程度が低下し、投与 12 週までにこの投与スケジュールで骨形成の自己制御が観察された以前のデータと一致した。投与 12 から 24 週まで OPG-Fc に移行した時の BMD の増加程度は比較的小さかった。投与 24 から 30 週まで BMD は OPG-Fc で維持され、OPG-Fc に r13C7 を併用投与しても BMD の更なる増加は認められなかった。以上の結果から、r13C7 の初回投与の後に自己制御状態となり、続いて OPG-Fc で維持された後に Scl-Ab と OPG-Fc を併用で再投与しても BMD の更なる増加は誘発されないことが示された。

図 28　DXA BMD における投与の影響



Two groups of seven-month-old OVX Sprague Dawley rats (11 weeks post-OVX) were treated SC twice weekly with 5 mg/kg Scl-Ab (S, r13c7) followed by 10 mg/kg OPG-Fc (O) for 12 weeks, after which one group was administered 5 mg/kg Scl-Ab in addition to OPG-Fc for 6 weeks with the other group continuing on OPG-Fc for 6 weeks(n=12/group). An additional group of OVX rats were treated with Vehicle (V) for 30 weeks (n=10). DXA scans were taken prior to treatment (pre-dose, lumbar spine only) and after 6, 12, 18, 24, and 30 weeks. Data expressed as Mean ± SEM, *p<0.05 versus Vehicle control by one-way ANOVA + Tukey's test.

Source: Study R20[redacted]0070, Figure 1.

2.2.3 骨のモデリング及びリモデリングに及ぼす組織レベルでの作用

2.2.3.1 若齢雄性カニクイザルにおける腓骨切断術後 10 週間の骨治癒に及ぼす AMG 785 の作用（108288 試験）

本試験の主要目的は、カニクイザルにおける骨形成、骨吸収、骨量及び腓骨骨折治癒に及ぼすロモソズマブの投与による全身作用を検討することである。4 から 5 歳齢の若年雄性カニクイザルに内部固定を伴う両側腓骨切断術を施し、溶媒（n=21）又は 30 mg/kg のロモソズマブ（n=22）を外科手術翌日から 2 週間に 1 回、10 週間皮下投与した。投与 6 週までに血清中に被験物質を検出できないロモソズマブ投与群の 4 匹のカニクイザルをすべての解析から除外したため、この群の動物数は 18 匹となった。本試験では、*in vivo* DXA、骨形成及び骨吸収の血清バイオマーカー、骨形態計測、*ex vivo* DXA/pQCT 及び骨強度を評価項目とした。各投与群の最初の 10 匹のカニクイザルについて L2 腰椎、大腿骨骨幹、大腿骨頸部及び骨折腓骨で骨形態計測を実施した。以下の点を明らかにするために腓骨折骨に関する更なる解析を実施した：1）骨形成増加に対する骨モデリング及び骨リモデリングの寄与（Amgen 社）、2）後方散乱走査型電子顕微鏡法（bSEM）とフーリエ変換赤外顕微分光法（FTIRM、ラッシュ大学）を用いた組織レベルでの石灰化動態指標に及ぼすロモソズマブの作用、及び 3）三次元（3D）骨形態計測による微細構造に及ぼす新生骨の影響（コーネル大学）。髄内ピンの曲がりや破損、ピン除去中の腓骨損傷、不適切な（皮質骨を跨ぐ）ピン止めが認められた動物を試験から除外したため腓骨解析のための動物が減少し、生体力学的試験用の最終動物数が 1 群 12 匹に、骨形態計測用の動物数が溶媒群で 9 匹に、ロモソズマブ群で 10 匹になった。ロモソズマブは骨折部位で有意に骨量及び骨強度を増加させた。10 週間の治癒期間後、ロモソズマブ投与群の骨折部位では軟骨性仮骨が少なく、骨折のすき間が小さく、より多くの骨を含み、また線維血管性組織も少なかった。骨折部位におけるこれらの改善は、非骨折皮質骨部位（大腿骨骨幹）及び骨梁（腰椎）部位の骨形成、骨量及び骨強度でも同様に認められた。骨形成はリモデリング（RBF）又はモデリング（MBF）に基づくと思われ、前者は骨吸収と関連しており、後者は静止面上で直接生じる。骨折部位の接合線の特徴から L2 腰椎及び大腿皮質骨内側の蛍光色素標識面は MBF 又は RBF と見なされた。ロモソズマブは溶媒群と比較して骨梁面（0.6 から 34%）及び内骨面（7 から 77%）で MBF を著しく増加させた。カニクイザルにおいてロモソズマブは骨梁面と内骨面の両方で浸食面を減少させたにもかかわらず RBF には有意な作用を示さなかった。ロモソズマブの投与により投与 2 週から連続的標識を含む RBF と MBF の比が大きくなり、骨形成期間の延長が示唆された。この骨形成期間の延びに伴って、新たに形成された骨量の割合が安定的に増加した。以上の結果から、ロモソズマブは MBF を亢進させ、モデリング部位とリモデリング部位の両方で骨形成期間を延ばし、また骨吸収を低下させることにより骨量を増加させることが示された。Scl-Ab が、OVX ラットの脊椎の海綿骨においてモデリングに基づいた骨形成に対して同様の作用を示すことが報告されている（Ominsky et al, 2014）。

ロモソズマブ投与後に海綿骨量が最高 54%増加するにもかかわらず、bSEM により調べた結果、海綿骨及び皮質骨全体の平均石灰化は比較的影響を受けなかった。ロモソズマブ投与後に海綿骨の骨密度分布において 2 つのわずかな変化が認められた。すなわち新生骨の増加による低石灰化値を伴う画素数の増加と分布の標準偏差（SD）のわずかな減少である。測定値について組織の部位あるいは年齢を考慮すればロモソズマブ投与は皮質骨内側、皮質骨内又は骨梁のコンパートメントにお

ける骨石灰化：基質比、結晶化度又はコラーゲン架橋には影響を及ぼさないと考えられた。ロモソズマブ投与により、皮質骨内で有意差はないが石灰化促進傾向がみられ、また骨梁コンパートメント内の 2 週間以上経過した組織において 10%の有意な炭酸塩増加が認められた。文献に基づくとこれらの所見のいずれも組織強度に有意な影響を与えることは考えにくい。以上の結果から、ロモソズマブ投与は骨基質又は石灰化に問題となる影響を及ぼさないことが示唆される。

3D 骨形態計測の目的は、ロモソズマブによる骨形成がどの程度微細構造を変えるのかを定量し、新生骨梁が形成されるかどうかを明らかにすることである。包埋した L5 海綿円柱（n=6/群）の連続ミリング画像（体積要素サイズ：0.7×0.7×5.0 μm）から収集した落射蛍光像を 3D に再構築し、個々の骨梁セグメンテーション（ITS）を用いて解析した。骨梁微細構造の変化は、14 と 66 日にわたる蛍光標識で計測された新生骨量の有無で評価した。新生骨梁は観察されなかったが、ロモソズマブは溶媒群に比較して 3D 骨形成速度と新生骨の体積分率を有意に増加させた（9.0 対 5.4%、P=0.02）。ロモソズマブ投与により棒状骨梁から板状骨梁への変化が大きくなり、その結果骨梁微細構造が改善した。

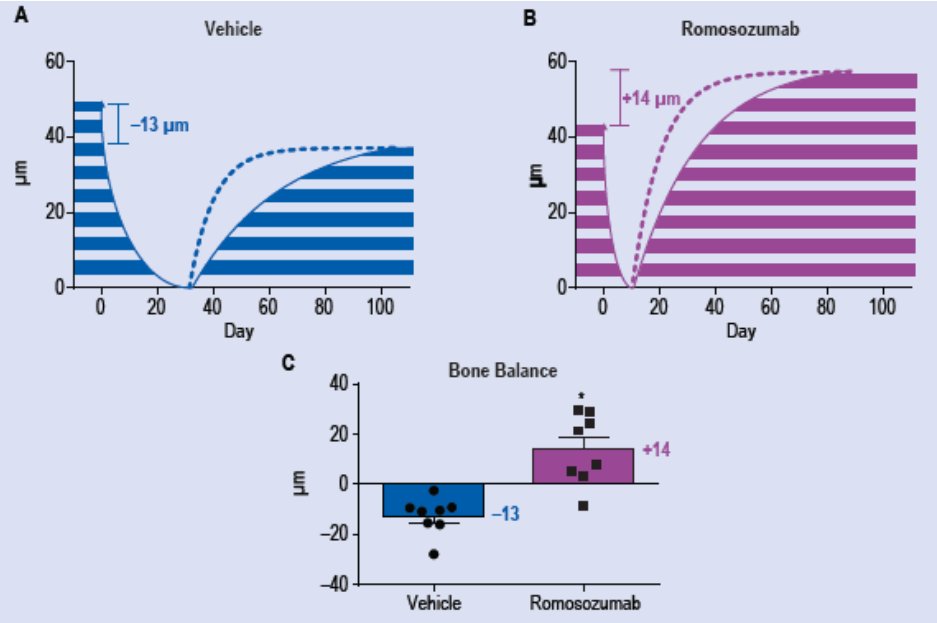
2.2.3.2 カニクイザルにおける骨リモデリング動態指標に及ぼすロモソズマブの作用（R20[redacted]0071 試験）

本試験の目的は、カニクイザルの腰椎における骨形成部位の速度論的再建分析法を用いて海綿骨リモデリングに及ぼすロモソズマブの作用を明らかにすることである。骨格成熟した雄性カニクイザル（10～12 歳齢）に溶媒（n=10）又は 30 mg/kg のロモソズマブ（n=12）を 2 週間に 1 回、28 週間皮下投与し、経時的、定期的に蛍光標識体を投与した。最初の各群の動物数は、重篤な尺骨骨幹部の間隙損傷モデルにおけるロモソズマブの骨折修復作用を評価するという本来の目的に基づいて決定した。

各群 9 匹のカニクイザルから得た L3 椎体を用いて、骨形成部位の再建動態指標分析及び骨吸収深度の評価並びに標準的な骨形態計測を実施した。Steiniche らが報告しているように、リモデリング形成部位は、その下にある貝状のセメントラインで規定したものを格子線で抽出し、骨単位壁幅（W.Th）と類骨幅を対で測定して再構築した（Steiniche et al, 1992）。最終的な W.Th は、投与期間中の平均的な骨形成作用を見るために、標識を含むリモデリングの完了したパケットで測定した。なお早期の投与効果を検討するために投与期間の早期に投与されたテトラサイクリン標識を含むパケットは別途評価した。28 週時点で継続している投与効果を反映させるために本試験の終了時にリモデリング完了間近のパケットでも最終 W.Th を推定した。骨吸収深度は、前骨芽細胞を伴う類骨のない逆転線のパケットにおいて、骨表面に沿って外側に向かって層板を休止面に達するまで計測することで測定した。ロモソズマブ投与群の 1 匹は試験期間中、ADA 産生に起因すると考えられる被験物質の曝露量の低下がみられた。この動物及び溶媒投与群の 1 匹（標識間違いによると思われる骨形態計測の異常値を示した）を除外した結果、最終解析動物数は各群 8 匹となった。ロモソズマブは試験期間中にリモデリングを完了した骨多細胞単位（BMU）の W.Th を 89%増加させたが、これは本試験の早期に認められる蛍光標識に基づく最も顕著な作用であった。28 週後に W.Th に対するロモソズマブ投与のプラス効果は活性化 BMUs で維持されたが、これに伴って類骨における分画標識（MS/OS）が増加し、さらに骨芽細胞効率の改善を反映する骨石灰化遅延時間の減少が観察

された。ロモソズマブは、骨吸収期間を短縮させ、また浸食面（68%）及び最終骨吸収深度（13%）を低下させた。総合的に考察すると、これらの変化は、溶媒投与群が負の骨バランス（-13 µm）を示したのとは対照的に、ロモソズマブ投与群では正の骨バランス（+14 µm）をもたらした（図 29）。BMU の骨バランスの改善は、モデリングの活性化による骨形成期間中並びにロモソズマブの継続投与による骨形成の自己制御後の骨量増加に寄与すると思われる。ロモソズマブはカニクイザルで W.Th を増加させ、最終的な骨吸収深度を低下させ、骨量の増加に寄与すると思われる正の骨バランスをもたらした。

図 29　カニクイザル脊椎のリモデリング部位におけるロモソズマブの 28 週間投与による正の骨バランス



The results of the resorption and formation period analysis are shown for cynomolgus monkeys receiving (A) Vehicle or (B) 30 mg/kg romosozumab every 2 weeks for 28 weeks. The curves represent the mean changes across 8 animals per group, and consecutive blue/purple and white lines represent lamellae with a thickness of 3.2 µm. Solid lines outline the resorption (left) and formation (right) phases of the bone remodeling cycle, with the dashed lines representing osteoid overlaying mineralized bone. (C) Bone balance, representing the difference between resorption depth and final W.Th, was negative in the Vehicle (blue) group and positive in the romosozumab (purple) group. Data are mean ± SEM. *P < 0.05 vs Vehicle by t-test. n = 9 / group.

Source: Study R20[redacted]0071

3. 副次的薬理試験

閉経後骨粗鬆症の動物モデルにおける作用に加えて、ロモソズマブの治療対象となる高齢の骨粗鬆症患者で生じる病態に関連した他の動物モデルでの抗スクレロスチン抗体の作用を検討した。Scl-Ab は、アンドロゲン除去、炎症及び骨への非荷重/後肢懸垂のモデルにおいて骨形成を増加し、疾患に関連した骨量及び骨強度の低下予防に有効であった。Scl-Ab はげっ歯類の骨折修復モデルにおいて骨折仮骨の骨量を増加させ、結果的に機能強度を改善した。スクレロスチンの軟骨細胞における発現が報告されていることから、OA モデルである内側半月板損傷ラットを用いて Scl-Ab 及び Scl-Ab の Fab フラグメントの作用を検討した。これら 2 つの試験の結果では、Scl-Ab は誘発した OA の進行に対して有意な影響を与えなかった。

表 18 副次的薬理試験

Study No.	Study Title	GLP
Other Bone Loss Models		
R20[redacted]0227	Effects of Sclerostin Antibody on Bone in Orchiectomized Rats With Established Osteopenia	No
R20[redacted]0147 （参考資料）	Neturalization of Sclerostin by Ratized Sclerostin Antibody in Inflammatory Bone Loss	No
R20[redacted]0239 （参考資料）	Use of Sclerostin Antibody to Inhibit Skeletal Deterioration Due to Reduced Mechanical Loading in Adult Female Mice	No
Fracture Healing		
R20[redacted]0220	Time Course Study of Sclerostin Antibody Effects in Male Sprague Dawley Rat Femoral Closed Fracture Model	No
Osteoarthritis		
ROA/AMG-14	Effects of Sclerostin Antibody (25 mg/kg, sc, 2X/Week) on 3 Week Duration Rat Meniscal Tear Induced Osteoarthritis	No
ROA/AMG-15	Effects of Scl-Ab Fab Antibody (385 µg, ia, 2X/Week) on 3 Week Duration Rat Meniscal Tear Induced Osteoarthritis	No

3.1 その他の骨減少モデルにおける抗スクレロスチン抗体の作用

3.1.1 骨減少を伴う精巣摘出ラットの骨に対する抗スクレロスチン抗体の作用（R20[redacted]0227 試験）

本試験の目的は、精巣摘出（ORX）ラットにおいてアンドロゲン除去で誘発される骨量及び骨強度の変化に対するラット抗スクレロスチン抗体（r13C7）の作用を検討することである。9 カ月齢の SD ラット（ORX 後 3 カ月）に 6 週間にわたって溶媒若しくは r13C7 の 5 又は 25 mg/kg を週 2 回皮下投与した（10 匹/群）。加えて、精巣未摘出及び r13C7 を未投与で試験を終了する群を設定した。シャムオペ対照群は、投与前及び溶媒を週 2 回 6 週間皮下投与した後で試験を終了した（10 匹/群）。ベースライン時点と投与 3 及び 6 週後に DXA を実施した。骨形態計測及び micro-CT を精巣摘出術前、ベースライン時点及び投与 6 週後に実施した。6 週後の検体を用いて骨強度を測定し、骨量との相関性で骨質を評価した。

r13C7 を 5 又は 25 mg/kg の用量で 6 週間投与することにより、精巣摘出後 3 カ月間で誘発された腰椎及び肢における BMD（DXA で測定）の著しい低下は完全に回復した。micro-CT で評価した場合、L5 椎体、大腿骨の中央骨幹及び大腿骨頚部の骨量は r13C7 の投与で用量依存的に回復した。ORX 対照群と比較してこれらの部位における骨強度は r13C7 の投与により有意に増加し、いずれの

用量でもシャムオペ対照群との間に有意な差は認められなかった。各群で一貫して BMC と骨強度パラメータとの相関性が認められ、r13C7 により骨質が維持されることが示された。脛骨骨幹及び L2 椎体の動的骨形態計測により、r13C7 が骨膜、内骨面及び骨梁面の BFR/BS を有意に増加させ、同時に内骨面及び骨梁面の浸食面を有意に減少させることが示された。以上の結果から、Scl-Ab はアンドロゲン欠乏成熟ラットにおいて骨形成を増加させるとともに骨吸収を抑制し、その結果として海綿骨及び皮質骨の骨量及び骨強度を回復させることが明らかになった。

3.1.2 炎症性骨減少状態におけるラット抗スクレロスチン抗体によるスクレロスチンの中和（R20[redacted]0147 試験）（参考資料）

本試験の目的は、マウス炎症性骨減少モデルにおいてラット抗スクレロスチン抗体（r13C7）の単独投与若しくはプレドニゾロン又は腫瘍壊死因子（TNF）抑制抗体との併用の影響を検討することである。ヒト腫瘍壊死因子トランスジェニック（hTNFtg）マウスは、軸骨格及び附属肢骨格における炎症及び炎症性骨減少を自然発症する。64 匹の雌性 8 週齢マウスを用いて 2 つの連続した独立の試験を実施した。8 匹は関節炎がない野生型同腹児（対照群）で、56 匹は hTNFtg マウス（C57BL6 由来、Tg197 系統）を使用した。56 匹の hTNFtg マウスのうちの 8 匹を 8 週齢（ベースライン）時点で解析し、残りの 48 匹を以下の 6 つの投与群（各群 8 匹に週 2 回 3 週間、腹腔内（IP）投与）に無作為に分けた。6 つの投与群の内訳は陰性対照群として IgG（10 mg/kg）を投与した群、2 つの陽性対照群として TNF 抑制抗体のインフリキシマブ（10 mg/kg）又はプレドニゾロン（2.1 mg/kg/d）を投与した群、r13C7（10 mg/kg）を単独投与した群及び r13C7 をインフリキシマブあるいはプレドニゾロンと併用投与した群である。ベースライン（8 週）時点及び投与 3 週後に臨床状態、micro-CT 及び組織学的所見により炎症、全身及び関節周囲の骨減少、骨浸食面及び軟骨損傷を評価した。

r13C7 は hTNFtg マウスの関節浮腫や滑膜炎に影響を及ぼさなかったが、体重減少及び疼痛を軽減した。r13C7 は hTNFtg マウスにおける骨浸食の進行を止め、インフリキシマブとの併用で皮質骨の浸食を有意に軽減した。関節軟骨に対する保護作用も r13C7 単独又はインフリキシマブとの併用で認められた。以上の結果から、Scl-Ab は炎症性関節炎のマウスモデルにおける骨減少を予防するが、炎症には影響を及ぼさないことが示された（Chen et al, 2013）。

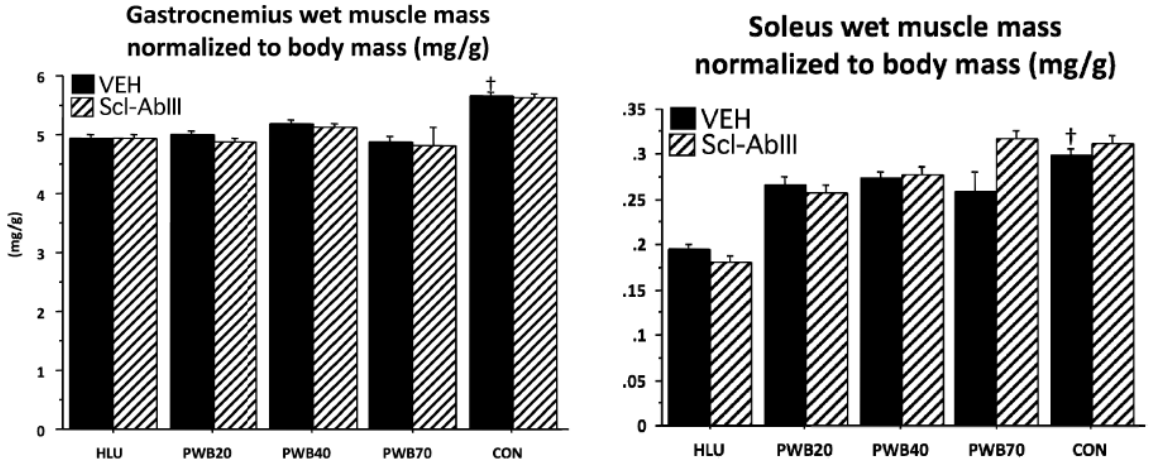
3.1.3 成熟雌性マウスにおける機械的荷重の減少による骨の脆弱化に対する抗スクレロスチン抗体の抑制作用（R20[redacted]0239 試験）（参考資料）

本試験の目的は、21 日間機械的荷重を減少させた成熟雌性マウスにおける骨量及び骨強度の減少に対するマウス抗スクレロスチン抗体（m13C7）の予防効果を検討することである。以下の 5 つの荷重条件下で 11 週齢の雌性 C57BL6J マウスに m13C7（25 mg/kg）又は溶媒を週 2 回 3 週間皮下投与した：対照群（通常の体重負荷条件、溶媒群 17 匹、m13C7 投与群 11 匹）、後肢懸垂（無荷重負荷）群（HLU、溶媒群 13 匹、m13C7 投与群 11 匹）、20%体重負荷群（PWB20、溶媒群 5 匹、m13C7 投与群 9 匹）、40%体重負荷群（PWB40、溶媒群 9 匹、m13C7 投与群 8 匹）及び 70%体重負荷群（PWB70、溶媒群 5 匹、m13C7 投与群 8 匹）。評価項目は、体重、DXA による骨密度及び骨

組成（ベースライン時点及び 3 週後）、筋重量（ヒラメ筋及び腓腹筋）、血清バイオマーカー、micro-CT、大腿骨遠位端（FE 解析）と大腿骨中央骨幹（3 点曲げ試験）の骨強度及び組織学的形態とした。

m13C7 は、無荷重負荷群の筋肉量減少や通常の体重負荷条件下の対照群マウスの筋肉量に影響を及ぼさなかった（図 30）。荷重を制限して溶媒を投与した群では、ベースライン時点と比較して肢の BMD は荷重の程度に依存して 5～11%減少した。m13C7 の投与は、骨格の不使用による骨の脆弱化を抑制し、骨質を通常の体重負荷条件下の溶媒投与群と同等以上に維持した。m13C7 はすべての後肢荷重条件下のマウス肢の BMD を増加させたが、ベースライン時点と比較した時の最大の改善は、通常の体重を負荷した群で認められた。同様に、後肢懸垂は大腿骨遠位端の海綿骨量を減少させたが、m13C7 投与はこれを増加させた。大腿骨中央骨幹の強度及び大腿骨遠位端の強度もすべての荷重条件下で溶媒対照群に比べて m13C7 投与群で有意に高かった。動的骨形態計測でも m13C7 の骨形成作用が認められた、すなわち体重負荷条件下でも懸垂条件下でも大腿骨遠位端の海綿骨における骨形成速度は、m13C7 投与群で溶媒投与群の 2 倍以上であった。血清オステオカルシンレベルは、対照群に比べて HLU、PWB20、PWB40 及び PWB70 の溶媒投与群で低下したが、すべての荷重条件下で m13C7 投与により血清オステオカルシンレベルが増加した。以上の結果から、Scl-Ab は骨格の不使用による骨量減少及び骨微細構造の脆弱化を予防するだけでなく、新たな骨形成を促し、結果として筋肉量に影響を及ぼさずに通常体重負荷条件下及び低荷重負荷条件下のいずれにおいても骨強度を改善することが明らかになった。

図 30　通常体重負荷条件下及び後肢懸垂条件下マウスの筋肉量に対する抗スクレロスチン抗体投与の作用



Female C57BL/6J mice at 11-weeks of age were assigned to one of five loading groups: control (normal weight bearing, CON), hindlimb unloaded (HLU) or partial weight bearing at 20% (PWB20), 40% (PWB40) or 70% (PWB70) of normal weight bearing. Beginning the day of unloading, groups of mice were administered m13c7 (Scl-AbIII at 25 mg/kg) or vehicle (VEH) SC 2QW (n = 5-17/group) for 3 weeks. Graphs show gastrocnemius (left) and soleus (right) wet mass normalized by body mass. Muscle weight was lower in all unloaded groups versus fully loaded controls, and there was no effect of m13c7 on muscle wet weight, either in the unloaded groups or in the normally loaded controls. Data presented as Mean ± SEM. $^{\dagger}p < 0.01$ for control-vehicle vs all other vehicle-treated groups.

Source: Study R20[redacted]239

3.2 雄性 Sprague Dawley ラットの大腿骨非開放性骨折モデルにおける抗スクレロスチン抗体の経時的作用（R20[redacted]0220 試験）

本試験の目的は、若齢ラットの非開放性骨折に対するラット抗スクレロスチン抗体（r13C7）の経時的作用を検討することである。12 週齢の雄性 SD ラットに標準的な非開放性の大腿骨中央骨幹部骨折を施して髄内ピンで固定した。1、2、3、5、7 及び 9 週間にわたってラットに溶媒又は 25 mg/kg の r13C7 を週 2 回皮下投与した（1～2 週間投与の場合各群 8 匹、3～9 週間投与の場合各群 26 匹）。投与は骨折翌日に開始した。評価項目は、組織学的形態（各群 8 匹）をすべての時点で、骨密度（DXA、pQCT 及び micro-CT）及び骨強度（各群 18 匹）評価を 3、5、7 及び 9 週間投与した群で実施した。r13C7 は 3 週間投与後から骨折部位である大腿骨の骨量を増加させ、これに対応して 5 及び 9 週間の時点で骨ねじり強度が増加した。立体解析学的な計測及び骨形態計測による仮骨の組成評価に基づくと、以上の改善は外仮骨における骨量の増加及び骨髄容積の減少と一致した。しかしながら r13C7 は仮骨の線維部分や軟骨部分には影響を及ぼさなかった。骨折と反対側の大腿骨において、骨形態計測の結果、r13C7 の投与により 2 から 9 週で骨幹端部及び皮質骨中央骨幹部の両方で骨形成が増加したが、これに対応して DXA で測定した BMD も同様に増加した。r13C7 の投与により大腿骨遠位端の長軸方向の成長速度（LGR）が一過性に増加（3～7 週まで）したが、9 週時点で対照群レベルに戻り、総体的には大腿骨の長さに影響を及ぼさなかった。以上の結果から、Scl-Ab は外仮骨の骨量を増加させて非開放性骨折モデルにおける骨折修復を改善することが示唆された。

3.3 変形性関節症の動物モデルにおける薬理作用

3.3.1 3 週間のラット半月板損傷による変形性関節症モデルに対する抗スクレロスチン抗体（25 mg/kg を週 2 回皮下投与）の作用（ROA/AMG-14 試験）

本試験の目的は、外科的に誘発した OA のげっ歯類モデルにおけるラット抗スクレロスチン抗体（r13C7）の作用を検討することである。雄性 Lewis ラット（260～286 g）に外科手術を施して右膝関節の内側半月板を損傷した。このラットに溶媒又は 25 mg/kg の r13C7 を週 2 回皮下投与した。投与は手術の日に開始して手術の 3 週後まで継続した（各群 20 匹）。評価項目は、20 日目の体重負荷度合及び歩行状態並びに膝関節の病理組織学的所見とした。さらに、軟骨下骨及び軟骨におけるスクレロスチンタンパク質の評価も実施した。すべての動物が外科手術後麻酔から覚めると直ちに体重負荷を再開した。20 日目の時点ではいずれの群の動物も右肢に比べて左肢に有意に多くの体重をかけたが、歩行状態や痛覚に関しては両群間に有意差は認められなかった。すべての動物で軟骨変性及び骨棘が認められ、また中等度の硬化が軟骨下骨の内側コンパートメントで認められた。軟骨変性幅や骨棘サイズを含むすべての病理組織学的パラメータに関して r13C7 投与群と対照群の結果は同様であった。r13C7 投与群の総関節スコア（2%減少）及び骨基質の面積比（96%から 94%に変化）において統計学的に有意差がない軽度の低下が観察された。軟骨損傷のリスクが最も高い軟骨下面の骨吸収スコアは対照群と比べて差がなかった。r13C7 投与群でより大きな軟骨下骨の硬化が認められたが、これは骨に対する既知の薬理作用と一致する。関節軟骨、軟骨変性部位及び軟骨細胞減少部位、又は隣接した反応性軟骨細胞（コンドロン）においてスクレロスチンの発現は認め

られなかった（S11WR-00625 試験）。本試験の結果から、r13C7 の投与は軟骨下骨の硬化を亢進したが、内側半月板損傷による OA の重症度を有意に高めるものではないことが示された。

3.3.2 3 週間のラット半月板損傷による変形性関節症に対する Scl-Ab の Fab フラグメント（385 µg を週 2 回関節内投与）の作用（ROA/AMG-15 試験）

本試験の目的は、げっ歯類モデルに誘発した OA に対する Scl-Ab の抗原結合フラグメント（Scl-Fab）の関節内（IA）投与の作用を検討することである。小分子の Scl-Fab が細胞アッセイで Wnt 活性を亢進することが確認されており（Roudier et al, 2013）、このフラグメントを関節内投与することにより関節軟骨内への浸透が増大し、軟骨におけるスクレロスチン阻害の効果をより明確に評価できると推定した。雄性 Lewis ラット（281～330 g）に外科手術を施し、右膝関節の内側半月板を損傷した。動物に溶媒あるいは 385 µ/50 µL の対照 Fab 又は Scl-Fab を週 2 回関節内投与した。投与は外科手術の 3 日前に開始し、外科手術の 3 週後まで継続した（各群 20 匹）。評価項目は、17 日目の体重負荷度合及び歩行状態並びに膝関節の病理組織学的所見とした。すべての動物が外科手術後麻酔から覚めると直ちに体重負荷を再開した。17 日目の時点でいずれの群の動物も右肢に比べて左肢に有意に多くの体重をかけたが、歩行状態や痛覚に関しては両群間に有意差は認められなかった。すべての動物で軟骨変性、骨棘及び滑膜炎が認められた。Scl-Fab 又は対照 Fab を投与した群は概して溶媒対照群と同等であり、有意差は認められなかった。溶媒対照群に比べて Fab を投与した群ではいずれも、コラーゲンの軽度変性の幅がわずかではあるが有意に増加した。しかし、2 つの Fab 投与群間に差異は認められなかった。以上の結果から、Scl-Ab の小分子フラグメントの局所投与はラットの内側半月板損傷モデルにおける OA の進行に影響を及ぼさないことが明らかになった。

3.4 副次的薬理試験：理論上の作用

ロモソズマブの理論上のリスクを検討するために、スクレロスチンの発現パターン並びに古典的 Wnt シグナル伝達及び骨形成の抑制因子としての役割に基づき、文献で公表されたデータを厳密に評価した。理論上のリスクが高くなると思われた病態領域は以下である：がん、OA の進行、VC、長軸方向の骨成長、過骨症、歯への影響、顎骨壊死、造血異常、サルコペニア、糖代謝異常、TNF-α介在性炎症の悪化及び非定型的な大腿骨骨折。ロモソズマブに関する最近の文献データやすべての非臨床及び臨床データを入念に評価した結果、ロモソズマブの臨床推奨用法用量である 210 mg を月 1 回 1 年間投与した時に、対象とする患者集団において上記の理論上の懸念は顕著なリスクとはならないことが示唆された。

3.4.1 ロモソズマブの理論的作用考察における古典的 Wnt シグナル伝達及びスクレロスチン発現の特性

古典的 Wnt シグナル伝達は、胚形成期に形態形成の鍵となるシグナル伝達経路として、空間的に厳密に制御されており、主にオートクリン/パラクリンによる接触型シグナル伝達経路であると考えられている（Cadigan and Peifer, 2009; Clevers and Nusse, 2012; Logan and Nusse, 2004; van Amerongen

and Nusse, 2009）。空間的な制御はいくつかの機序を介して行われている。分泌された Wnt リガンドは脂質修飾を受けているため細胞周囲や細胞外の基質に強固に結合しており、シグナル伝達範囲が制限されている（Clevers and Nusse, 2012; Reichsman et al, 1996; Willert et al, 2003）。スクレロスチンはヘパリン結合領域を含んでいることから、細胞周囲の基質などヘパラン硫酸が多く存在する部位に局在化している。このため、スクレロスチンの作用範囲も元々の分泌細胞の付近に空間的に限定される（Veverka et al, 2009）。このシグナル伝達経路の特異性は、リガンド、受容体、共受容体及び細胞外制御因子の特異的な組合せにより特定の細胞に対して発揮されている（Baarsma et al, 2013）。スクレロスチンが抑制する Wnt リガンドの範囲は基本的には Wnt 1 クラスに限定される（Wnt 2 活性も軽度抑制）ことが報告されており（Ettenberg et al, 2010）、この点は Wnt リガンドの Wnt 1、Wnt 2、Wnt 3 及び Wnt 3a クラスを抑制する DKK1 とは対照的である。したがって、組織特異的な発現を示すスクレロスチンを抑制することにより、Wnt シグナル伝達を組織特異的に活性化し、組織特異的な生物学的作用を発揮する。

3.4.1.1 スクレロスチンの発現

健常成人組織中のスクレロスチンの発現部位を逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）、ドットブロットハイブリダイゼーション法、*in situ* ハイブリダイゼーション及び免疫組織化学染色法（IHC）で評価した。文献情報によると、mRNA とタンパク質レベルでのスクレロスチンの主な発現部位は骨であり、特に骨細胞に特異的であったが、セメント細胞、成長板と関節軟骨の肥大軟骨細胞及び石灰化血管や弁病変の血管平滑筋細胞（VSMCs）など石灰化基質と関連している他の細胞でもわずかに発現が認められている（Brandenburg et al, 2013; Brunkow et al, 2001; Chan et al, 2011; Koos et al, 2013; Kramann et al, 2013; Lehnen et al, 2012; Roudier et al, 2013; van Bezooijen et al, 2009; van Bezooijen et al, 2004; Zhu et al, 2011）。いくつかの非石灰化組織でもわずかに発現が検出されている。非石灰化組織に限ったヒト遺伝子発現データでは、腎臓、心臓及び血管で mRNA の発現が認められている（Balemans et al, 2001）。XpressWay® Profile（119940 試験）におけるヒト組織の定量的 RT-PCR 解析の結果、肺動脈、左心房及び腎臓で細胞あたり 1 コピー以上（30 pg RNA/cell）の *SOST* が発現していた（大動脈と石灰化組織はこのパネルに含まれていなかった）。*SOST* の発現（RNA-Seq で測定）をマウス、ラット、カニクイザル及びヒトの広範囲の正常組織を用いて検討した結果、種を超えて一貫して骨と大動脈に発現が認められ（ただし、ラット大動脈には認められていない）、腎臓ではヒトにおいてのみ発現が認められた（119937 試験）。タンパク質レベルの発現については、プロテオーム解析によりヒト大動脈で確認されており（Didangelos et al, 2010）、また IHC によるヒト腎臓での発現が報告されている。しかしながら、後者の腎尿細管上皮での発現は *de novo* 発現部位における特異的発現というよりもスクレロスチンの尿細管での再吸収による結果であるかも知れない（Cejka et al, 2014）。軟骨細胞における発現（IHC で評価）は正常関節軟骨の非石灰化部位であることが報告されている（Roudier et al, 2013）。ウエスタンブロットを用いたタンパク質の発現については、ヒトの肝臓、心臓、腎臓及び肺での発現が報告されているが、ブロットのバンドパターンを見るとポリクローナル抗体の特異性が疑わしい（Hernandez et al, 2014）。著者らはこれら複数のバンドが二量体や三量体と解釈しているが、この解釈はスクレロスチンが単量体のタンパク質であることを示唆する多くの文献とは矛盾するものである（Kusu et al, 2003; van

Dinther et al, 2013）。IHC を用いた評価で、リウマチ患者の滑膜（Wehmeyer et al, 2016）や原発性胆汁性肝硬変患者の胆管でスクレロスチンの発現が報告されている（Guanabens et al, 2016）。マウスの胚や胎児の発生期間中、大血管で *SOST* の発現が観察されている（van Bezooijen et al, 2007）。マウスの胚の発生早期において *SOST* は肢芽先端部に局在しており、後に基本的に骨格（骨細胞）に限局するようになる（Collette et al, 2013）。

mRNA とタンパク質の両方若しくはどちらかにおいて、スクレロスチンの発現が前立腺がんや食道扁平上皮細胞がん（SCS）などいくつかのヒト腫瘍及び乳がん細胞株で認められている（Mendoza-Villanueva et al, 2011; Yuen et al, 2008; Yuen et al, 2012）。

スクレロスチンに対するロモソズマブの特異性は組織交差反応性試験で確認されている（105783 試験）。ヒト、サル、ラット及びウサギの正常組織パネルに対するロモソズマブの結合はヒト、サル及びウサギの骨細胞に限定されており、大動脈が心臓切片に存在していた 1 匹のカニクイザルの大動脈あるいは肺動脈で免疫反応性が観察された。試験系（サル、ウサギ及びラットの血液細胞を除いて）として使用した組織パネルは、欧州経済共同体の指令 75/318 のアネックス II 及び 1997 年の米国食品医薬品局（FDA）生物製剤評価センターの「ヒト用モノクローナル抗体医薬品の製造及び試験において考慮すべきポイント」に準じたものである。Scl-Ab による古典的 Wnt シグナル伝達の活性化は、スクレロスチンを発現している組織に空間的に局在しているためスクレロスチン抑制の結果生じる作用に関する理論上の懸念は主にスクレロスチンタンパク質を発現することが知られている組織に集中している。

3.4.2　ロモソズマブの作用に関する理論上の懸念:がんのリスク

ロモソズマブは骨形成促進薬で古典的 Wnt シグナル伝達の活性化剤であるため、発がんリスクに関する懸念が指摘されている（Baron and Hesse, 2012; Hoeppner et al, 2009; Lewiecki, 2014; Schett and Bozec, 2014）。これらの懸念は、古典的 Wnt 経路の変異とヒトがんとの関連から生じている。活性化変異あるいエピジェネティックな変化を介した古典的 Wnt シグナル伝達経路の過剰な活性化が、細胞内シグナル伝達系において典型的に認められている（Anastas and Moon, 2013; Kansara et al, 2009; Polakis, 2007）、又は乳腺で実験的に Wnt リガンドを過剰発現させると過形成に続く腫瘍が発生する（Bradbury et al, 1995; Lane and Leder, 1997; Nusse and Varmus, 1982; Roelink et al, 1990）。Wnt シグナル伝達を抑制すると考えられる遺伝子の不活化変異は一般的にがんと関連せず、むしろがん以外の疾患と関連していることも報告されている（Anastas and Moon, 2013）。骨腫瘍の所見は他の骨形成促進薬、特にヒト副甲状腺ホルモン（hPTH）（hPTH [1-84]及びその他の類似物質）で観察されている。hPTH 及びヒト副甲状腺ホルモン関連タンパク質（hPTHrP [1-34]）類似物質を用いた 2 年間のラット試験において、骨の前がん変化（骨芽細胞過形成及び間質細胞増殖）を伴う骨肉腫及び良性骨腫瘍が F344 ラット及び SD ラットで高い発生率で観察され、その発生率は用量依存的であった（Jolette et al, 2014; Jolette et al, 2006; Vahle et al, 2002; Watanabe et al, 2012）。

低分子薬剤のための ICH S1 専門家作業部会が示した証拠の重要性に基づくと、多くの要因がロモソズマブのヒト発がんリスクの総合的評価に関与する（International Conference on Harmonisation, 2015）。これらの要因には、慢性毒性試験における所見や曝露マージン並びに薬剤の標的分子や薬理学的経路に関する知見が含まれる。薬剤の標的分子としてのスクレロスチンが関与する要因とし

ては、スクレロスチン抑制によって生じる反応及び古典的 Wnt シグナル伝達とその制御の特性が含まれる。ラット及びカニクイザルを用いた慢性毒性試験の所見も重要なデータであり、特に 2 年間のラットを用いたがん原性試験で腫瘍発生の結果を予測すると報告されている変化は重要である（Reddy et al, 2010; Sistare et al, 2011）。さらに、ラットの生涯投与試験（がん原性試験）の所見及び hPTH や類似物質の所見との比較も考察すべき重要なデータとなる。これらの収集データ及び短期臨床投与期間中に得たデータに基づくと、ヒトに 210 mg のロモソズマブを月 1 回 1 年間投与しても対象とする患者集団における発がんリスクを増すことは考えにくい。

3.4.2.1 スクレロスチン欠乏の影響は基本的に骨に限定される

第 3.4.1 項で考察したように、古典的 Wnt シグナル伝達はオートクリン/パラクリンシグナル伝達経路で厳密な空間的制御を受けている。古典的 Wnt シグナル伝達の活性化部位はスクレロスチンの骨選択的な発現でさらに制限されており、特に主要な発現部位である骨細胞に制限されている。スクレロスチンの欠損や欠乏の影響が骨に限定されることは、ヒトやマウスの SOST 機能欠失型変異の表現型が骨に特異的であることから裏付けられる。希少な高骨量（HBM）遺伝病である硬結性骨化症を伴って生まれたヒトはスクレロスチンの機能を欠失した SOST ホモ接合体であり、生まれる前からスクレロスチンを欠損している。これらの患者は骨に対する作用に関連した臨床徴候を伴う HBM が特徴である（Balemans et al, 2001; Barnard et al, 1980; Beighton 1988; Brunkow et al, 2001; Hamersma et al, 2003）。スクレロスチンが欠損すると骨格全体の骨量が有意に増加して身長が高く骨折しにくい状態になる。誕生時に合指症（> 75%）や爪発育不全を伴う頻度も高い。硬結性骨化症の歯の異常には不正咬合、部分的無歯症、遅延歯牙萌出及び不揃いな歯形及び歯並びなどが含まれ、これらはスクレロスチンを発現していることが知られているセメント細胞におけるスクレロスチン結合の抑制による結果というよりも HBM に起因していると考えられている（Balemans et al, 2001; Beighton 1988; Stephen et al, 2001）。ヒトにおける硬結性骨化症の表現型は、もう一つの極めて希少な劣性遺伝性 HBM 疾患である Van Buchem 病と良く似ているが、Van Buchem 病では合指症、爪発育不全及び高身長はみられない（Beighton et al, 1984; Van Hul et al, 1998; Vanhoenacker et al, 2003）。SOST 遺伝子の調節エレメントの一部欠失が Van Buchem 病における生後のスクレロスチン発現欠如の原因になると考えられている（Balemans et al, 2002; Loots et al, 2005; Staehling-Hampton et al, 2002）。Van Buchem 病における歯の症状は硬結性骨化症に類似していると考えられる。Van Buchem 病患者を対象とした歯科領域の研究において、スクレロスチン欠損によりセメント質増殖症は認められないことが示唆されている（van Bezooijen et al, 2009）。硬結性骨化症や Van Buchem 病の患者では他の組織に異常が認められないことが報告されており、血管系疾患、OA 又はがんの発生率が増加するという報告もない（Barnard et al, 1980; Beighton, 1988; Hamersma et al, 2003）。さらに、文献では、硬結性骨化症や Van Buchem 病の少数の患者集団では、がんの発生率が増すという報告はない（約 80 例の硬結性骨化症患者と 20 例の Van Buchem 病患者での結果が報告されている）（Beighton et al, 2013）。

これらの SOST 変異には量的効果がみられる。SOST 又は調節エレメントにおける機能欠失変異のヘテロ接合体保有者は臨床的には正常であり、骨量は、性及び年齢が合致する健常人の BMD 基準値の正常範囲内の高値（男性保持者）又はそれより高い値（女性保持者）を示すことが報告されて

いる（Gardner et al, 2005; van Lierop et al, 2011; van Lierop et al, 2013）。男女のヘテロ接合体保有者は共に、BMD の値は、SOST 機能欠失変異のホモ接合体保持者よりも有意に低く、骨量は遺伝子の発現量に依存して決まる。*Sost*$^{-/-}$マウスの表現型は HBM 及び概して正常な骨形で特徴づけられる。HBM の表現型と関連した骨髄微小環境の変化の結果として、B 細胞の発達が低下することが報告されている（Cain et al, 2012）。ヒトとは異なり、*Sost*$^{-/-}$マウスではセメント細胞におけるスクレロスチン欠如による歯の異常としてセメント質増殖症が認められると報告されている（Kuchler et al, 2014）。近年、筋肉量が低下するという報告があるが（Krause et al, 2014）、血管系、成長板、関節を含む他の組織での異常は報告されていない（Kuchler et al, 2014; Li et al, 2008; Roudier et al, 2013）。*Sost*$^{-/-}$マウスの腫瘍発生に関する科学的な評価は実施されていないが、腫瘍に関連して早期死亡の頻度が高くなるという事例はない。

3.4.2.2 ロモソズマブは骨組織でテリパラチドとは異なる作用機序で骨形成を制御する

ロモソズマブは他の骨同化剤、特に FDA の承認を受けている唯一の骨形成促進薬であるテリパラチド（hPTH (1-34)）とは全く異なる骨形成作用機序を有する薬剤である。ラット及びサルにおいてロモソズマブは骨形成を増加させる一方、骨吸収には影響を及ぼさない、あるいは骨吸収を減少させる作用を示す（R20[redacted]0286、107426、107903 及び 118025 試験）（Ke et al, 2012; Li et al, 2014）。この骨形成促進作用は主として骨のモデリングに基づいており、骨形成の前段階として骨吸収が生じることのない静止面上の骨形成であると定義されている。対照的に、Scl-Ab を投与した動物を用いた短期試験において、リモデリングに基づく骨形成（骨吸収の後に起きる）の程度は相対的に変化しない（108288 試験）（Ominsky et al, 2014）。動物及びヒトで得たデータに基づくと、ロモソズマブとは対照的に hPTH の間欠投与は主にリモデリング速度を高めて海綿骨量を増加させる。この場合骨形成の促進は、basic multicellular unit レベルにおける骨吸収と正方向のネット骨バランスの増加も伴っている（Boyce et al, 1996; Hodsman et al, 2000）。モデリングに基づく骨形成はライニング細胞を活性化して hPTH に対する初期反応に寄与することも示されている（Dobnig and Turner, 1995; Kim et al, 2012a）。しかしヒトのモデリングに基づく骨形成の程度は、ラットやカニクイザルに Scl-Ab を投与した場合に認められる程度に比べるとかなり低いと思われる（Lindsay et al, 2006; Ma et al, 2006）。ロモソズマブとテリパラチドのいずれにおいても長期間投与した場合、骨形成促進作用の減弱が認められるが、時間的推移に違いがある。ロモソズマブとテリパラチドを比較した臨床試験において血清骨バイオマーカー変化の時間的推移を見ると、ロモソズマブの場合、骨形成作用は急速に減弱したが骨吸収の低下は維持されていた。これとは対照的に、テリパラチドの場合には 12 カ月間にわたって骨形成と骨吸収がいずれも上昇したままであった（McClung et al, 2014）。テリパラチドを長期間投与した場合、骨形成と骨吸収の骨形態計測の指標は 19 カ月間の投与後でも投与前と同様であり、ヒトにおいては骨形成と骨吸収の関係が結局は元に戻るようである（Jiang et al, 2003）。骨形成と骨吸収に対するロモソズマブと hPTH (1-34)の作用の違いを若齢ラットを用いた比較試験において組織レベルで検討した。ロモソズマブを 26 週間投与した場合、脊椎で顕著な骨形成の自己制御が観察され、これに連動して骨芽細胞密度と骨前駆細胞数の減少も認められた。対照的に、hPTH (1-34)を投与した場合、週齢が同じ対照群と比較して骨形成の自己制御は明白ではなく、

骨芽細胞の密度と数はより大きく、またロモソズマブと比べて骨前駆細胞数の減少は認められなかった（115776 試験）（Ominsky et al, 2015）。ロモソズマブの投与で観察された骨芽細胞系の細胞集団の時間依存的な減少は、脊椎で観察された骨形成作用の顕著な減弱や自己制御に不可欠な要素と思われる。ロモソズマブと比べて hPTH (1-34)は骨形成部位でより多くの骨芽細胞や骨前駆細胞を必要とすることは、hPTH (1-34)が骨前駆細胞の増殖をより強く促進する可能性を示唆している。hPTH (1-34)による骨前駆細胞の持続的な増殖刺激は、その抗アポトーシス作用（Jilka et al, 1999）と併せるとげっ歯類のがん原性試験で認められた骨肉腫の発生率の用量依存的な増加と関連している可能性がある（Vahle et al, 2004; Vahle et al, 2002）。寿命に対する投与期間の長さを鑑みると、骨形成と骨吸収の増加はヒトと比べてラットでより長期間持続するようにみえる。hPTH (1-84)を投与したラットにおいて骨形成及び骨吸収の用量依存的な増加は 12 カ月の時点でも依然として維持されている（Fox et al, 2006）。実際、hPTH (1-34)の骨に対する発がん作用が用量及び投与期間に依存して認められることが報告されていることから（Vahle et al, 2004）、増殖促進活性と骨形成増加期間を制限することで、発がんのリスクを低減できる可能性が示唆される。ヒトで骨肉腫の発生と hPTH (1-34)の臨床使用との関連の報告がないのは、hPTH の作用がヒトと比べてラットでより長く持続することによるかも知れない（Andrewes et al, 2012）。骨吸収や骨芽細胞系細胞に対するこれらの作用の違いは、Scl-Ab と hPTH (1-34)の分子レベルでの作用機序の違いを反映していると思われる。hPTH による持続的な骨吸収促進が、骨吸収時の破骨細胞シグナル伝達及び骨基質からの成長因子の遊離を介して直接的又は間接的に骨芽細胞系細胞を刺激していると思われる（Charles and Aliprantis, 2014）。

3.4.2.3 抗スクレロスチン抗体に応答した骨の転写特性：古典的状況に応じた古典的 Wnt シグナルの活性化及びそれにつづく細胞周期進行及び細胞分裂の抑制開始を伴う骨形成に対する自己制御

古典的 Wnt シグナル伝達は、出生後の組織の恒常性や胚発生中の多様な組織において鍵となる役割を担う。したがってこのシグナル伝達は、細胞、組織又は機能に関して特異的に転写される因子によって極めて厳密に制御され、状況に応じて特異的に誘導される。これらの特徴は、シグナル伝達の勾配概念及びこの経路の形態形成における役割と一致する（Cadigan and Peifer, 2009; Logan and Nusse, 2004; van Amerongen and Nusse, 2009）。この経路の時間的制御には、複数の機序が関与していると思われる。例えば Wnt 標的遺伝子 の抑制調節因子（例、*Axin2*、*Dkk1*、*sFRP*s）による自己制御、segment polarity protein disheveled homology（*Dvl-1*）が促進する LRP 複合体の内在化による固有の調節（Witte et al, 2010）、マイクロリボ核酸の抑制調節因子（miRNA; 例、miR-29a）の誘導（Song et al, 2015）及びこの経路を抑制的に調節する外部経路の誘導（例えば、TGFβ1 経路、非古典的 Wnt シグナル伝達）（Ishitani et al, 2003）などである。Scl-Ab の骨形成に対する作用は一過性であり自己制御的であるという観察結果は、他のシステムで確認された古典的 Wnt シグナル伝達の時間的調節と一致する。Scl-Ab に応答した骨芽細胞系細胞における急速な転写特性は、OVX ラット脊椎からマイクロダイセクションで収集した骨芽細胞系細胞集団から解析されており、そこにはいくつかの既知 Wnt 標的遺伝子の制御も含まれる。これらの標的遺伝子のいくつかは、骨芽細胞形成において既知の役割を担い、多くの細胞外基質遺伝子の制御に時間的に関連することにより骨形成

の増加に寄与し（115877 試験）（Nioi et al, 2015）、この経路の転写産物の状況特異的な性質を示している。長期投与後の主な転写の変化は、細胞周期の進行及び細胞分裂を制限する経路の制御に関係する変化であった。これらの細胞周期の進行及び細胞分裂の抑制は骨形成が減少する前に生じ骨前駆細胞数の減少と同時に起こった。Scl-Ab の長期投与に応答した最も顕著に制御された経路は p53 の活性化と c-Myc シグナル伝達の抑制であり、これらは網膜芽細胞腫（Rb）及び Cdkn2a を含むさらなる腫瘍抑制経路の活性化を伴った。さらに、古典的 Wnt シグナル伝達を制限すると考えられている非古典的 Wnt 遺伝子及び細胞外 Wnt 抑制因子は増加した（115777 試験）（Taylor et al, 2016）。これらの転写の変化は、主に古典的 Wnt シグナル伝達の活性化に応答した骨の同化反応の中心的な役割を担う骨細胞（Tu et al, 2015）、活性化した Wnt シグナル伝達を保持している成人の骨格由来の初代培養細胞（Hens et al, 2005）、及び骨細胞が関与する様々な過程において骨表面や骨髄と直接的な情報交換を行う細胞において発生した（Kamioka et al, 2001）。

p53 や Rb の機能欠失及び獲得実験を含む多くの研究において、p53 や Rb が骨芽細胞形成や骨肉腫発生の制御において中心的な役割を担っているという確かな証拠が報告されている。*p53*$^{-/-}$ マウスは HBM の性質を示し、骨前駆細胞の増殖と分化が亢進している。ホモ接合体やヘテロ接合体の条件付き p53 欠損は高頻度の骨肉腫の早期発生につながる（Lengner et al, 2006; Liu and Li, 2010）。p53 の抑制調節因子である *Mdm2* の条件付き欠損マウスの骨前駆細胞では p53 の発現レベルが上昇して増殖が低下し、*Runx2* と OCN の発現が低下している。腫瘍抑制因子の Rb は E2F 転写因子の抑制及び細胞周期離脱の促進により骨芽細胞分化を調節することが報告されている。Rb の役割は遺伝子改変マウスによっても他のポケットタンパク質があるため明確ではないが、これらのポケットタンパク質を欠失させることにより骨肉腫が発生した（Berman et al, 2008）。また、p53 変異が関連する骨肉腫の発生は骨芽細胞における Rb の欠失により増加し（Walkley et al, 2008）、生殖細胞系の Rb の機能喪失したヒトでは骨肉腫の発生率が 500 倍に増加する（Gurney et al, 1995）。以上の結果から、Rb が骨前駆細胞の増殖と分化の制御に寄与することが示唆された（Jones, 2011）。また、骨前駆細胞増殖と形質転換の調節における c-Myc シグナル伝達及び機能的 Cdkn2a による c-Myc シグナル伝達の制御の重要性は、c-Myc を過剰に発現している *Ink4a/Arf* $^{-/-}$間質細胞で骨肉腫が誘導されることから裏付けられる（Shimizu et al, 2010）。活性化した古典的 Wnt シグナル伝達の下流における Cdkn2a を介した抑制経路が、古典的 Wnt シグナル伝達による増殖作用を厳しくコントロールする機序の一つとして提唱されている。hPTH (1-34)の作用機序及びその最初のシグナル伝達は骨芽細胞系細胞上の PTH 受容体を介し、結果として環状アデノシン一リン酸（cAMP）-プロテインキナーゼ A とプロテインキナーゼ C の経路が活性化する（Datta and Abou-Samra, 2009）。cAMP のシグナル伝達の下流で古典的 Wnt シグナル伝達を含む他のシグナル伝達経路が誘導される（Jilka, 2007）。副甲状腺ホルモンも血清 PTH 濃度の推移に依存して、LRP6 又はスクレロスチン発現の調節を介して Wnt シグナル伝達経路に直接作用する可能性がある（Keller and Kneissel, 2005; Wan et al, 2008）。*Sost*$^{-/-}$マウスを含む様々なマウスの試験結果から、マウスにおける hPTH (1-34)の同化作用は少なくとも部分的にスクレロスチン遺伝子の発現低下を介していることが示唆される（Kramer et al, 2010）。近年、スクレロスチンに対する作用とは別に、T リンパ球が hPTH (1-34)の骨形成作用の重要な調節因子として提唱されており、その作用はパラクリンの Wnt10b シグナル伝達を介している（Li et al, 2014）。古典的 Wnt シグナル伝達は hPTH (1-34)と Scl-Ab の作用機序の中で共有の経路

であるかも知れないが、cAMP シグナル伝達は hPTH (1-34)に特異的な主要シグナル伝達経路である。

BMU に基づくリモデリングを介する骨量増加には骨吸収による骨組織の活性化が必要であるため、骨吸収は hPTH (1-34)による同化反応に不可欠である（Hodsman et al, 2005）。骨形成部位の需要を満たすための継続的な BMUs の活性化には継続的な骨芽細胞の供給を必要とする。PTH を投与したラットから採取した骨幹端のマイクロアレイ解析においていくつかの細胞周期遺伝子が制御されていることが示され、その作用は毎日の投与とともに発現したが、投与間隔の 24 時間を超えては持続しなかった。これは PTH の皮下投与後に血清 PTH 濃度がパルス状に一過性に増加することを反映していると思われる（Li et al, 2007; Qin et al, 2005）。長期的に PTH を投与したマウスから採取した頭蓋冠のマイクロアレイ解析では細胞周期遺伝子の顕著な変化は報告されなかった（Gesty-Palmer et al, 2013）。細胞周期遺伝子に関するこれらの結果は、Scl-Ab の作用とは対照的であり、Scl-Ab に比べて PTH で観察されたより持続的な骨形成の増加と骨芽細胞及び骨前駆細胞数の増加に寄与するのかも知れない（115776 試験）。

3.4.2.4 ラット及びサルを用いた慢性毒性試験においてロモソズマブは病理組織学的な腫瘍リスク因子を示すことなく骨特異的作用を示す

ロモソズマブを最高 300 mg/kg を 1 カ月以下の期間週 1 回皮下及び静脈内投与、最高 50 mg/kg を週 1 回 6 週間皮下投与及び最高 100 mg/kg を週 1 回 6 カ月皮下投与したラットとサルを用いた反復投与毒性試験で観察されたロモソズマブに関連した作用は骨に対する直接的又は間接的な薬理作用の結果と考えられた（105909、105908、121854、107425、105779、105776 及び 107426 試験）。皮質骨量及び海綿骨量の増加と共に認められた所見として、骨髄細胞ニッチへの作用及び骨髄容積の減少に続発する、再生を伴う赤血球数や血小板数の減少、及び石灰化に続発するカルシウムとリンの両方又はいずれかの軽度の変化が認められた。ロモソズマブ投与終了時又は回復期のいかなる器官においてもラット腫瘍（肥大、過形成又は変異細胞巣）（Reddy et al, 2010; Sistare et al, 2011）に関する病理組織学的リスクを示す証拠は観察されなかった。骨において異常な病理組織学的所見が認められなかったことは重要な知見であり、hPTH (1-34)では高用量で 26 週間投与した時に一過性の間質細胞の過形成と海綿骨で線維性骨巣が認められたこととは対照的であった（115776 試験）（Ominsky et al, 2015）。

毒性試験で認められたロモソズマブの骨特異的な所見は、β-カテニンの分解抑制により多くの組織中で古典的 Wnt シグナル伝達を幅広く活性化する GSK3β阻害剤の処置により観察された病理学的所見とも異なっていた。ラットとイヌの試験で GSK3βの阻害により多くの軟部組織で過形成変化が誘発されるが（Hall et al, 2015）、これは標的とした組織中で Wnt リガンドを過剰発現させた時に生じる過形成変化と一致した（Bradbury et al, 1995; Lane and Leder, 1997; Nusse and Varmus, 1982; Roelink et al, 1990）。

3.4.2.5 ラットを用いた生涯投与試験においてロモソズマブは腫瘍発生率の増加を示すことなく、スクレロスチン抑制による骨特異的作用を示した

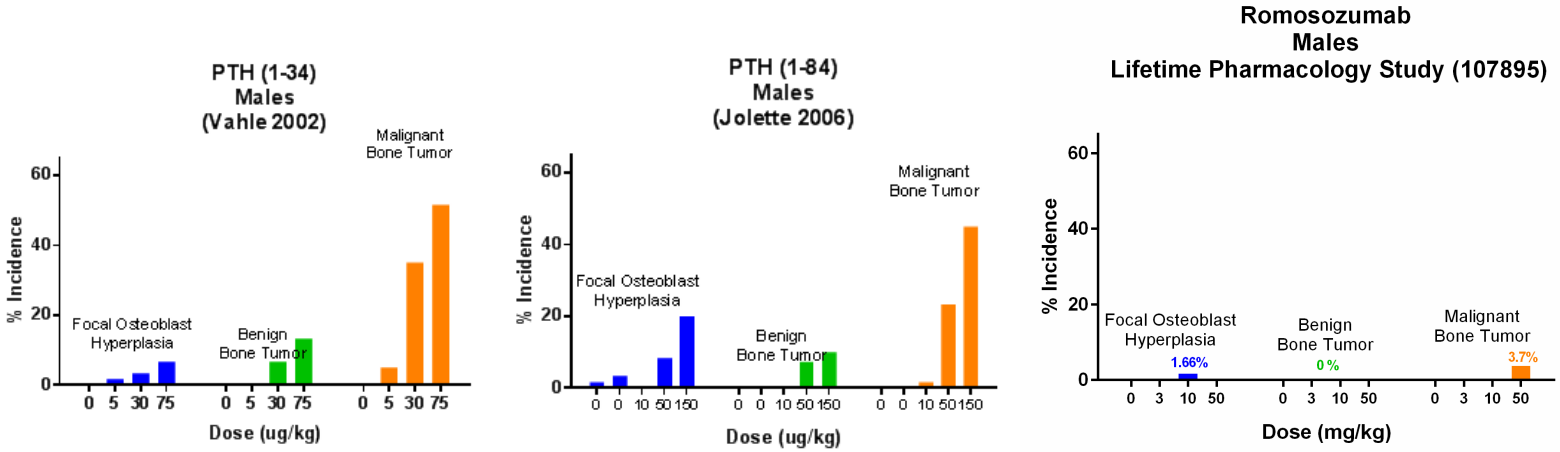
ラットの生涯投与試験においてロモソズマブの作用は骨量及び髄外造血の用量依存的な増加に限られており、後者の変化は骨髄に対する二次的な作用であった（107895 試験）。ロモソズマブを最高 50 mg/kg の用量を週 1 回投与した場合（210 mg を週 1 回投与した時の臨床曝露量の 19 倍の曝露量に相当）、生存、死亡率、死亡原因又は腫瘍発生率に影響を及ぼさなかった。50 mg/kg の用量を投与した雄性ラットの 2 匹で観察された骨肉腫は自然発生と考えられ、そのうちの 1 匹（死因は下垂体腺腫）は 572 日目に X 線検査により脛骨で検出された。もう 1 匹は 587 日目に X 線検査及び肉眼観察にて頭骨で検出され、腫瘍の局所肥大が死因となった。これら 2 匹の骨肉腫のいずれにも転移は認められなかった。SD ラットに骨腫瘍や骨肉腫が発生するのは稀であり、試験実施施設における 2 年間の試験で観察された骨肉腫の自然発生率は 0～3.33%であった。雄性ラットに 50 mg/kg の用量で投与した時の骨肉腫の発生率は 3.7%であり、過去の値と比べてわずかに高かった（この群の動物数が少ないため：54 対 60）。しかしながら、試験に使用した全動物における発生率は 0.42%（474 匹中 2 匹）であり、これまで同じ試験施設で実施した 12 試験の平均発生率の 0.38%と同等の発生の稀な腫瘍（<1.0%）であった。SD ラットに関する試験施設の過去のデータでは、動物全体の X 線撮影を実施しておらず、骨肉腫の検出は一般的に標準的骨標本の病理組織学的検査と肉眼観察に限られていた。SD ラットの潜在的骨腫瘍やその他の骨変化を検出するために動物全体の X 線撮影検査を実施した試験における過去のデータは現時点で入手出来ない。本試験ではその他の骨腫瘍は検出されず、F344 ラットを用いて実施した hPTH (1-34)、hPTH (1-84)及び PTHrP (1-34)の生涯試験で骨肉腫及び良性骨腫瘍（骨芽細胞腫と骨腫）の発生率が増加した結果とは対照的であった（図 31）（Jolette et al, 2014; Jolette et al, 2006; Vahle et al, 2002）。50 mg/kg を投与した雄性ラットで観察された 2 匹の骨肉腫は以下の理由で自然発生であると考察した。

- 観察された発生率は試験施設の過去のデータで報告された骨肉腫の発生率範囲内であった。
- この腫瘍は遅発性で単発であった。
- 骨芽細胞の過形成や巣状間質細胞増殖などの前兆的な増殖性骨芽細胞変化や良性腫瘍を含む病理組織学的な連続性は認められなかった（Jolette et al, 2014; Jolette et al, 2006; Vahle et al, 2004）。

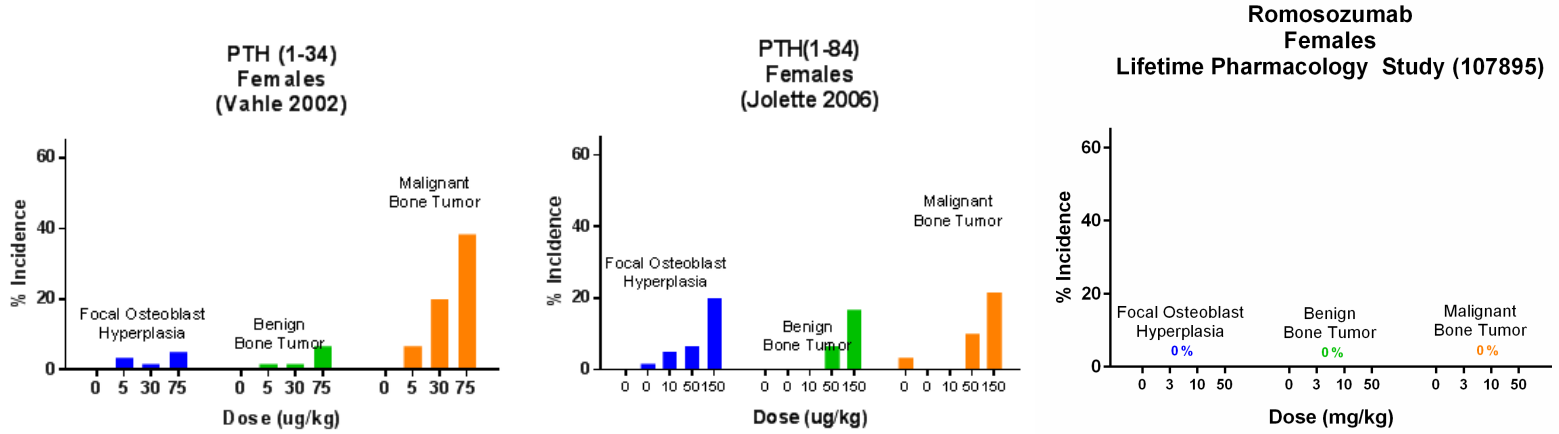
10 mg/kg の用量を投与した雄性ラットの 1 匹で 534 日目に巣状骨芽細胞過形成が観察された。巣状の骨芽細胞過形成は低発生率で自然発生することがあり、同時に実施した抗体を投与せず生理食塩水を投与した雄性ラットでも観察されている（115707 試験）。

図 31　PTH(1-34)又は PTH(1-84)を投与した F344 ラット及びロモソズマブを投与した Sprague Dawley ラットにおける増殖性骨変化と良性及び悪性骨腫瘍の発生率

Males

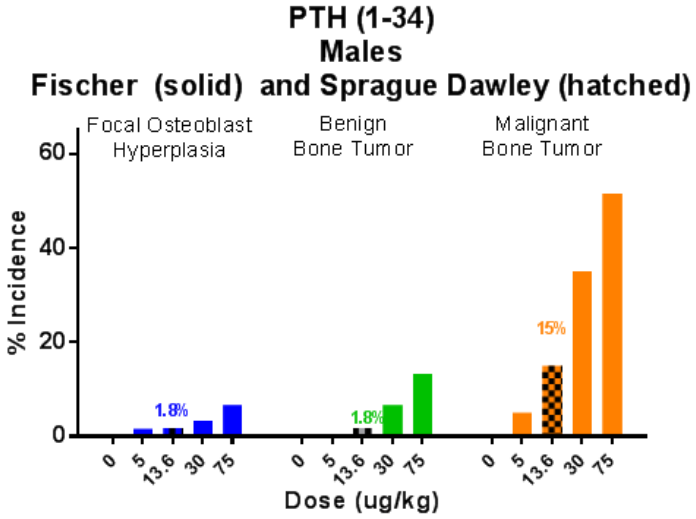


Females



hPTH のがん原性試験は F344 ラットを用いて実施したが、SD ラットを用いた試験でも hPTH を長期投与した場合に同様の骨腫瘍発生作用を示した（Watanabe et al, 2012）。したがって、hPTH とロモソズマブを投与した際に認められたラット骨格の反応性の違いは系統の違いによるものではない（図 32）。

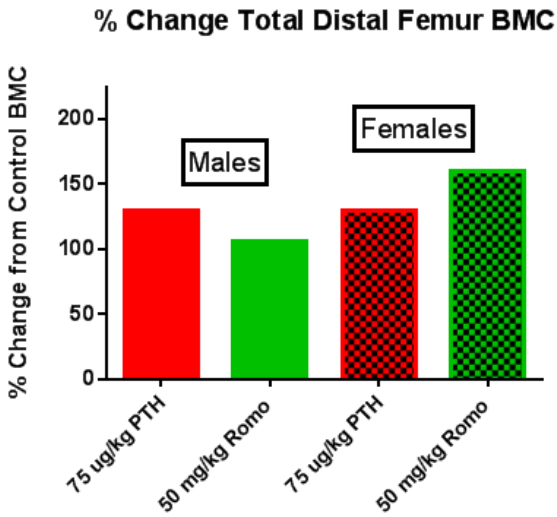
図 32　hPTH(1-34)を投与した雄性 F344 ラット及び Sprague Dawley ラットにおける増殖性変化と良性及び悪性骨腫瘍の発生率



[a] Incidence in Sprague Dawley rats is reported at the highest dose tested in the study (Watanabe et al, 2012) with incidence from F344 (Vahle et al, 2002)

hPTH (1-34)（Vahle et al, 2002）とロモソズマブをそれぞれ投与した試験において試験終了時の骨量に対する作用は使用した最高用量（それぞれ 75 µg/kg/day、50 mg/kg 週 1 回）で同等であり、骨に対する累積薬理作用は hPTH (1-34)とロモソズマブで同等であることが示唆される。このように、薬理作用の観点からこの 2 つの試験の腫瘍発生率の違いは説明できない（図 33）。

図 33　PTH (1-34)を投与した F344 ラット及びロモソズマブを投与した Sprague Dawley ラットのがん原性試験における *ex vivo* の平均 BMC 値からの変化率（%）



BMC = bone mineral content; PTH = parathyroid hormone; Romo = romosozumab. Data provided are for terminal animals at the highest doses tested in each study. Males-solid bars; females-hatched bars.
Source: F344 rat data – (Vahle et al, 2002); Sprague Dawley rat data – Study 107895.

ロモソズマブで骨の腫瘍発生がない主因は、おそらくロモソズマブ投与による骨形成が顕著に自己制御され、その骨形成促進作用が一過性であるという特性を有するのに対し、hPTH の骨形成促進作用はより長期的に持続することである。骨形成促進作用の自己制御と連動して骨前駆細胞の一部集団が減少し、このことが骨前駆細胞プールとしての増殖力を制限していると思われる（115776 及び 115777 試験）（Ominsky et al, 2015; Taylor et al, 2016）。ラットへのロモソズマブの長期間投与により、骨前駆細胞数の減少と同時に細胞分裂と細胞周期進行の抑制に関与する転写変化が生じた。この転写変化には、骨芽細胞形成を調節することが知られている p53 と Rb などの主要な腫瘍抑制経路のシグナル伝達の活性化も含まれていた（115777 試験）（Jones, 2011; Lengner et al, 2006; Liu and Li, 2010; Taylor et al, 2016; Wang et al, 2006）。対照的に、既存の hPTH による転写データにおいては細胞周期進行及び増殖の制限に関与する遺伝子に対する持続的な作用は認められていない（Li et al, 2007; Qin et al, 2005）。

ロモソズマブは骨形成促進薬であるが、その作用様式や作用機序は独創的で hPTH とは異なっている。ロモソズマブは Wnt シグナル伝達と骨芽細胞形成を抑制的に調節する p53 及び他の腫瘍抑制経路とを連動させることにより、骨芽細胞形成及び骨形成を時間的に制限する。ラットを用いた慢性毒性試験と生涯投与試験の所見を含むデータからロモソズマブはヒトに対して発がんリスクを示さないことが示唆される。

3.4.2.6　ロモソズマブの白血病誘発及び急性骨髄性白血病を助長する可能性

Kode らは、マウス骨芽細胞で β-カテニンの恒常的活性化変異が白血病誘発や急性骨髄性白血病につながることを報告し（Kode et al, 2014）、これらの所見が Notch シグナル伝達の亢進と関連していることを示した。これらの所見はロモソズマブの臨床使用と関連しないと考えられる。このマウスでは、β-カテニン変異体の発現により古典的 Wnt シグナル伝達が恒常的に活性化しているため、制

御が不能となっている。対照的に、ロモソズマブによる古典的 Wnt シグナル伝達は制御され、調整を受けている。Scl-Ab によるこの経路の活性化は、一過性の薬力学的作用、一定数の Wnt 標的遺伝子セットの調節による Wnt シグナル特性の時間依存的変化及び Wnt シグナル伝達を抑制的に調節することが知られている多くの経路の亢進によって薬理的に仲介されている（115777 試験）（Taylor et al, 2016）。また、マウスにおいて β-カテニン変異体発現による主な作用は骨吸収の抑制（大理石骨病の表現型）であり、ロモソズマブの主な作用が骨形成であるのと対照的であった。注目すべきは、ラットに抗スクレロスチン抗体を長期間投与した際に、成熟骨芽細胞系細胞の Notch シグナル伝達が有意に促進されることを示す転写データが認められていないことである（115777 試験）（Taylor et al, 2016）。

3.4.2.6.1 慢性毒性試験における骨髄細胞に対するロモソズマブの作用

ロモソズマブ 210 mg の用量を月 1 回投与した時の臨床曝露量に比べてラットで 38 倍、サルで 93 倍高い曝露量に相当する用量で 6 カ月間反復投与した毒性試験において、白血病誘発や骨髄性白血病は認められなかった。ラットにおいて臨床曝露量に比べて少なくとも 4 倍高い曝露量で評価した試験の後半では白血球細胞とリンパ球は増加よりむしろ若干減少した（107425 試験）。これらの作用は、第 3.4.9 項で考察した骨髄ニッチに対する作用及び骨量増加に続発する骨髄腔減少の両方又はどちらかによる結果と思われる。サルにおいて白血球数の有意な変化は認められなかった（107426 試験）。ラットの生涯投与薬理試験において骨髄性白血病は観察されなかった（107895 試験）。

3.4.2.7 ロモソズマブの既存の腫瘍の進行/生物学的挙動に影響を及ぼす可能性

ラットの生涯投与試験の所見からロモソズマブが軟部組織や骨腫瘍の発生率を増加させないことが裏付けられている。しかしながら、スクレロスチンを発現するヒト腫瘍の生物学的挙動に対するロモソズマブの作用について理論上の懸念はある。スクレロスチンが軟部組織や骨腫瘍で発現していることは報告されているが、現時点でスクレロスチンの有無が転移能に関連するという証拠はない。

3.4.2.7.1 軟部組織腫瘍

古典的 Wnt シグナル伝達は異種移植時の前立腺腫瘍の増殖を促進することが示されている。マウスにおいて β-カテニンの分解を抑制する GSK3β阻害剤による古典的 Wnt シグナル伝達の活性化が、スクレロスチンを発現する前立腺腫瘍異種移植片の増殖を促進した（Jiang et al, 2013）。ヒト前立腺標本におけるスクレロスチン、骨形成タンパク質 6（BMP-6）及びノギンの発現を IHC で評価したところ遠隔転移の進行と相関した（Yuen et al, 2008）。結節性前立腺過形成の標本と比較して前立腺がん標本ではスクレロスチン発現は低く、BMP-6 の発現は高かった。スクレロスチン単独の低発現は遠隔転移進行の予測因子とはならなかった。原発性前立腺がんにおいて BMP-6 が高発現でありスクレロスチンとノギンの両方の発現が低い場合のみ、遠隔転移の進行に関して有意な予測因子となった（Yuen et al, 2008）。同様の結果は食道 SCC 標本でも得られている。すなわち、ノギ

ン及びスクレロスチンのタンパク質及び mRNA 発現量は患者の生存とは相関しなかったが、BMP6 の高発現と組み合わさった場合にのみ相関が認められた。公表されている前立腺、大腸及び膀胱腫瘍を含むデオキシリボ核酸（DNA）マイクロアレイデータセットをさらに調べた結果、前述したように BMP-6、ノギン及びスクレロスチンと前立腺がん患者の生存の間に同様の関連性が認められ（Yuen et al, 2008）、大腸及び膀胱腫瘍の患者における生存率の低下が BMP-6 の高発現と相関した（Yuen et al, 2012）。以上の所見から、前立腺がん及び食道 SCC 患者における転移と生存は、スクレロスチン単独の作用とは関係なく、主に BMP-6 により推進される特異的な遺伝子発現変化パターンを必要とすることが示唆される。

近年、Hudson らは、共培養浸潤アッセイにおいて骨芽細胞の古典的 Wnt シグナル伝達が骨指向性前立腺がん細胞株である PC3 の浸潤を増加させ、この増加がスクレロスチンの添加で阻止されることを報告した（Hudson et al, 2015）。スクレロスチンを過剰発現させた PC3 細胞を、マウスに *in vivo* で移植すると転移が減少した。これらの所見と臨床との関連性は不明である。しかし、*in vitro* でこの抑制作用の発現に必要なスクレロスチンの量は、骨髄から抽出したヒト骨血漿液で報告されているレベルの 2～20 倍であった（Drake et al, 2010）。SOST を過剰発現している PC3 細胞におけるスクレロスチンの発現レベルに関しては報告されていない。報告されている変化を誘起するには生理的条件を上回るスクレロスチンレベルが必要となることから臨床との関連性については疑問である。

スクレロスチンの発現は転移性乳がん細胞株である MDA-MB-231 細胞で報告されており、スクレロスチンは MDA-MB-231 細胞による骨芽細胞の分化抑制を仲介することが示された。著者らは、このスクレロスチンの増加が溶骨性乳がん転移における骨形成の抑制に寄与すると結論づけている（Mendoza-Villanueva et al, 2011）。

3.4.2.7.2 骨腫瘍

スクレロスチンは骨肉腫の進行に関与していないと思われる。通常高グレードの骨肉腫は複雑な核型を伴う遺伝子的に不安定な腫瘍である。骨肉腫になりやすいいくつかの遺伝性症候群では概して有糸分裂のチェックポイントやゲノム安定性の維持に重要な遺伝子に変異が生じている、若しくは制御不能になっていることが知られている。これらの疾患には、生殖細胞系の *p53*、*Rb1*、*Blm* 又は *Wrn* の不活性化からそれぞれ由来する家族性リ・フラウメニ症候群、遺伝性網膜芽細胞腫、ロートムンド–トムソン症候群又はブルーム又はウエルナー症候群が含まれる（Martin et al, 2012）。全ゲノム関連解析により、古典的 Wnt 経路に関連していない感受性遺伝子座として cAMP シグナル伝達における役割を担う代謝型グルタミン酸受容体 4 が同定されている（Savage et al, 2013）。骨肉腫における体細胞変異はゲノム安定性や有糸分裂チェックポイントに関与する遺伝子に影響を与える。最も頻繁に報告されている変異は、*Recql4*（ヘリカーゼ）及び *Runx2* とともに近年全ゲノム配列解析により p53 と Rb1 で観察された変異である。全ゲノム配列解析により原発性骨肉腫の 3 分の 1 で、1 つの染色体イベントが大規模ゲノム再編につながるクロモスリプシス現象が認められ、骨肉腫の特徴であるゲノムの無秩序状態に寄与している（Kansara et al, 2014）。

Wnt リガンドや Frizzled 及び LPR 受容体など多くの Wnt 関連分子が過剰に発現していることが報告されていることから、骨肉腫の発症と進行には異常な Wnt/β-カテニンシグナルの伝達が何らかの

役割を担っていると考えられる。LRP5 を発現する腫瘍には転移傾向があるため、この受容体の発現は骨肉腫の進行と最も密接に関係していると思われる（Cai et al, 2014）。しかしながら、高グレード骨肉腫の生検の 90%においてβ-カテニンの核染色が認められないことから、高グレードの骨肉腫での関連性については論議の対象になっている（Cai et al, 2010）。古典的 Wnt シグナル伝達関連因子の特異的変異と骨肉腫の関連性に関する報告は限られている。*Wif1* は骨肉腫ではエピジェネティックによるサイレント状態であることが報告されており、非臨床試験において組換え *Wif1* の投与が骨肉腫細胞の成長を抑制することが示されている（Kansara et al, 2009）。しかし、最近、骨肉腫で *Wif1* がエピジェネティックによるサイレント状態であることに対する反論が出ており、*Wif1* 発現は骨肉腫中の骨芽細胞の分化段階に関連するとされている（Baker et al, 2015）。ウエスタンブロット解析により、スクレロスチンの発現が正常骨に比べて骨肉腫で増加していることが 1 つの学会要旨で報告されている。しかしながら、スクレロスチンは成熟骨細胞のマーカーであり、どのように検体の骨含量の違いを標準化したのか不明である（Maran et al, 2012）。したがって、スクレロスチンが骨肉腫の生物学的挙動において主要な役割を担っていることを示唆するデータは限られている。

臨床試験データから、ロモソズマブは悪性腫瘍の発生率を増加させず、ロモソズマブ投与後に潜在的な腫瘍を進行させないことが裏付けられている（モジュール 2.7.4）。

結論として、薬物標的及び薬理学的代謝経路に関する多くの文献に基づいたロモソズマブの発がん作用に関するデータ、慢性毒性試験やラット生涯試験の結果、作用機序に関するデータや hPTH との差異及び臨床データから、ロモソズマブは対象とする患者集団において発がんリスクを示さないことが裏付けられている。

3.4.3 ロモソズマブの作用に関する理論上の懸念：変形性関節症の発症又は進行

最新の文献では、関節軟骨の維持における古典的 Wnt シグナル伝達の役割と Wnt シグナル伝達経路の異常が軟骨に悪影響を及ぼすことを示唆している。スクレロスチンは関節軟骨細胞で発現されているが、その機能は不明である。スクレロスチンは Wnt シグナル伝達を調節するためロモソズマブが OA の進行を推進するという理論上の懸念がある。最近の文献並びに非臨床及び臨床データによると、対象患者におけるロモソズマブの臨床推奨用法用量では OA の発症又は進行を促進する顕著なリスクはないことが示唆される。

3.4.3.1 変形性関節症の発症機序

OA は、関節軟骨の進行性破壊を特徴とする変性疾患である。関節軟骨変化には微小線維化、基質成分の喪失、軟骨細胞肥大及びアポトーシスが含まれる。これらの変化は軟骨下骨肥厚、骨棘形成及び滑膜炎と関連している。軟骨破壊で中心となる事象は関節軟骨細胞の表現型転換である。軟骨基質を維持するために機能する硝子軟骨を生成する軟骨細胞は、成長板の肥大軟骨細胞と似た肥大表現型に変わる。これらの表現型が変化した軟骨細胞は、マトリックスメタロプロテアーゼ（MMPs）やアグリカナーゼの増加、軟骨細胞アポトーシス及び血管浸潤など軟骨骨化と関連した生化学的イベントを繰り返す（Pitsillides and Beier, 2011）。この表現型転換に寄与するイベントには多くの因子が関わっており、ほとんど解明されていない。OA は単なる関節軟骨疾患ではなく、

その発症機序と進行には関節軟骨、軟骨下骨及び滑膜の間の複雑な相互作用及びシグナル伝達が関与している（Martel-Pelletier and Pelletie,r 2005; Samuels et al, 2008）。

この病態の後半では硬化性非脱灰軟骨下骨板、軟骨下骨海綿骨微細構造の変化及び石灰化軟骨の血管新生が関連する劇的な変化が起こり得る（Corr, 2008; Karsdal et al, 2014）。骨の微細構造変化は水平骨梁で厚くなり、垂直骨梁で薄くなる点で異なる（Kraus et al, 2009）。これらの変化は軟骨下板の質と堅さを変え、軟骨の劣化に寄与する可能性がある（Blom et al, 2010）。軟骨下骨の変化が起きるのは関節軟骨の変化の前か後かで論議になっている（Blom et al, 2010）。これらの変化は進行した OA で明らかであるが、臨床及び非臨床試験データから軟骨下骨変化が疾患の早期に発生し、関節軟骨の損傷も同時に起きることが示唆された。骨の構造変化は骨吸収と骨代謝回転の亢進で始まる。骨の代謝回転は正常骨に比べてヒト OA の軟骨下骨で 20 倍亢進していることが報告されている（Bailey et al, 2004）。ヒトのデータから、OA の長期研究において軟骨の欠損及び軟骨下骨の悪化は相互依存していることが示されている（Blumenkrantz et al, 2004; Raynauld et al, 2008）。OA の自然発症モデルの STR/ort マウスを用いた経時的試験の結果から、骨代謝回転の亢進と軟骨変性の間で複雑な時空間相互作用が起きていることが示唆される。荷重パターンの変化に応じて軟骨下骨が早期に反応し、その結果骨コンパートメントに依存して軟骨下骨量が増減する（Stok et al, 2009）。外科的処置によるラット OA モデルにおいて、軟骨下骨の骨吸収増加は軟骨病変の早期発生と関連しているが、この軟骨病変は軟骨の有意な薄化並びに軟骨下骨の硬化及び骨棘形成よりも先行して起きる（Hayami et al, 2006）。モルモット OA モデルにおいて、疾患の重症度と進行は骨代謝回転速度と相関していた（Huebner et al, 2002）。ヒトで骨粗鬆症と OA の間に逆相関性があることが示唆されているが（Dequeker et al, 2003）、軟骨下骨の質と代謝回転速度は絶対骨量よりも重要であると考えられる。進行性の OA の患者と BMD レベルを合わせた対照群において骨吸収マーカーを評価するとそのレベルは進行性 OA と相関する（Bettica et al, 2002）。軟骨下骨の質とリモデリングの変化は、弾性係数（剛性）の減少など生化学的性質の変化につながる荷重パターンの変化の結果であるかも知れない。軟骨下骨の質と生化学的性質が低下すると、軟骨下骨とそれに重なっている関節軟骨の間の生化学シグナル伝達及び連絡を容易にする石灰化軟骨の微小亀裂や血管新生の増加につながるかも知れない（Coats et al, 2003; Sharma et al, 2013）。石灰化線の立体解析学的評価によりヒト OA 標本の石灰化線に浸透する血管数が増加することが示されている（Bonde et al, 2005）。

軟骨下骨の骨質改善と骨代謝回転の低下が疾患の改善につながるという説は、複数の OA モデルでビスフォスフォネートが有効性を示すことで裏付けられる。ビスフォスフォネートの投与は効果的に軟骨変性と石灰化軟骨への血管浸潤を予防して骨棘形成を減少させた（Hayami et al, 2004; Hayami et al, 2006; Zhu et al, 2013）。OA による軟骨変性の進行を軽減させるビスフォスフォネートの有効性は、疾患の病期に依存していると思われる。すなわち軟骨下骨の代謝回転とリモデリングが亢進している早期に有用である（Yu et al, 2012）。このため、OA に対するビスフォスフォネートの臨床評価が有効又は無効で異なるのかもしれない。骨吸収抑制薬による治療は進行性 OA の特徴である高代謝回転の患者で効果的であると思われるため適切な患者選択が必要である（Bingham et al, 2006; Garnero et al, 2008; Spector et al, 2005）。要約すると、軟骨下骨のリモデリングにおける早

期適応反応は結果的に OA の進行につながる他の関節構造における不適応な反応になる可能性もある（Teichtahl et al, 2015）。

OA の特徴であるもう 1 つの骨変化は関節辺縁の異所性骨形成である骨棘の発生であり、この現象は関節を安定化させるための代償的反応であると考えられる（Pottenger et al, 1990）。これらの構造は軟骨骨化の過程を繰り返す。

滑膜は OA の発症において不可欠な役割を担っている。関節軟骨の分解産物は、サイトカインやケモカインなどの液性炎症メディエーターの転写活性化につながるトール様受容体及び補体カスケードの活性化を介して滑膜に炎症反応を誘発する。これらの液性メディエーターが関節液内に遊離して軟骨細胞における分解プロセスをさらに推進して軟骨損傷の悪循環を作り出す（Samuels et al, 2008; Scanzello and Goldring, 2012）。

要約すると、最新のデータに基づくと OA は単純な関節軟骨の疾患でなく、その発症機序に関節軟骨、軟骨下骨及び滑膜の間の相互作用及びシグナル伝達が関連する複雑な疾患である。

3.4.3.2 変形性関節症における古典的 Wnt シグナル伝達の役割

関節軟骨細胞の表現型転換を担う生化学的シグナル伝達に関する最近の仮説によると複数の経路の役割が提唱されている（Mariani et al, 2014）。これらの仮説には、軟骨や軟骨下骨における TGF-βシグナル伝達の異常調節、インディアンヘッジホッグのアップレギュレーション及び古典的 Wnt シグナル伝達の異常調節などが含まれる（Mariani et al, 2014; Wang et al, 2011）。TGF-βシグナル伝達は軟骨細胞の表現型変化及び分化の中心的な調節因子であり、これにインディアンヘッジホッグと古典的 Wnt シグナル伝達が寄与していることから、軟骨及び軟骨下骨の TGF-β/BMP シグナル伝達の異常調節が OA 発症の主要な推進作用を担っていると思われる（Blaney Davidson et al, 2009; Shen et al, 2014）。このことは、原発性の早期発症 OA と TGF-βシグナル伝達成分及び細胞外基質遺伝子の突然変異との間に強い遺伝的連鎖があることで裏付けられる（Aury-Landas et al, 2016）。古典的 Wnt シグナル伝達は関節形成に不可欠であり（Guo et al, 2004）、軟骨の発達に対して反対の作用を示すと思われる。Wnt シグナル伝達は、幹細胞が骨芽細胞系細胞へ分化するのを優先して軟骨細胞系細胞への分化を抑制し、逆に軟骨細胞の終末分化を推進する（Day et al, 2005）。以上の作用は成長板軟骨で詳細に解析されている。肥大前の軟骨細胞は、成長板の Wnt 反応性軟骨細胞である。Wnt シグナル伝達が MMPs、成長因子及びコラーゲンタイプ X など軟骨細胞肥大マーカーの発現促進を伴って *Sox9* 発現を抑制し、肥大を促進する。最終的に肥大軟骨細胞は血管浸潤及び骨置換を伴う細胞死につながる。これは正常な軟骨骨化の一連のステップである（Blom et al, 2010; Leucht et al, 2008）。しかし、血管がない関節軟骨の維持における Wnt シグナル伝達の役割はまだ良く解明されていない。Wnt シグナル伝達は関節軟骨が安定して表現型を維持するために必要であり、特異的な Wnt リガンドあるいは下流の標的因子（Wnt16、Wisp1）の上方制御によるこの経路の活性化は、ヒト軟骨の *in vitro* 損傷モデルや OA サンプルにおける発現で示唆されたように損傷に対する初期反応であるかもしれない（Chun et al, 2008; Dell'accio et al, 2008; Zhang et al, 2015）。関節軟骨において古典的 Wnt シグナル伝達が過剰あるいは欠失した遺伝子操作マウスモデルのデータにおいては、いずれのモデルも軟骨変性や OA 様変化を呈することから Wnt シグナル伝達の恒常性のバラン

スが軟骨を維持するのに必要であることが強調される（Lories et al, 2007; Zhu et al, 2008; Zhu et al, 2009）。

ヒトの遺伝子解析及び動物やヒトの軟骨標本を用いた試験の結果から、古典的 Wnt シグナル伝達と OA の関連性が示唆されている。全ゲノム相関解析研究の結果から、*Frzb*（細胞外の古典的及び非古典的 Wnt の拮抗因子）の機能を欠失する遺伝子多型を持つ女性では変形性股関節症のリスクが増大することが報告されている（Loughlin et al, 2004; Min et al, 2005）。*Frzb* の軟骨に対して保護的な役割を持つことが動物モデルで示されている（Lories et al, 2007; Takamatsu et al, 2014）。LRP5 など Wnt 経路のその他の因子の遺伝子多型が日本人女性の脊椎 OA と関連しているとされているが（Urano et al, 2007）、機能解析では、LRP5 の遺伝的変化が Wnt シグナル伝達を変えることは示されていない（Mao et al, 2011）。*Lrp5*$^{-/-}$マウスの実験 OA モデルで軟骨損傷が増加あるいは減少することが示されており、マウスにおいては LRP5 の役割に関するデータは定まっていない（Lodewyckx et al, 2012; Shin et al, 2014）。注目すべきは、*Frzb*$^{-/-}$マウスはより厚い皮質骨を示すが、剛性の増加を伴う海綿骨ではその現象は認められず、*Lrp5*$^{-/-}$マウスは有意な骨減少を示すことである。これらの骨変化は軟骨下骨の骨質に影響を及ぼし、軟骨損傷に寄与することが考えられる（Kato et al, 2002; Lories et al, 2007）。*Lrp6*$^{+/-}$マウスを用いた外科的 OA モデルの試験において、ヘテロ接合体マウスでは軟骨下骨の骨密度の減少を伴って関節軟骨でβ-カテニンが減少し、軟骨変性が増加することから LRP6 シグナル伝達は軟骨保護的に作用することが示唆される（Joiner et al, 2013）。以上のデータから、損傷に対する初期反応において機能的に完全な Wnt シグナル伝達が重要であることが示される。さらなる遺伝的解析において OA が古典的 Wnt シグナル伝達の抑制調節因子である *ANP32A* 遺伝子と関連している可能性が見出されている（Valdes et al, 2008）。この遺伝子の一塩基多型と股関節 OA のリスクの増減に関連している（Valdes et al, 2009）。Wnt シグナル伝達に関するこれらの遺伝子多形の最終的な表現型はまだ明確になっていない。ヒト遺伝子データでは、Wnt 経路と OA の間で遺伝子関連性に特に強力な証拠が示されていないが、他の実験的データでは Wnt シグナル伝達が確かに OA と関連していることが示されている。広範囲の Wnt リガンドの細胞外抑制因子である Dkk1 に関しては相反するデータがある（Ettenberg et al, 2010）。Dkk1 の循環レベルの増加は X 線検査による高齢女性の股関節 OA の進行抑制と関連している（Lane et al, 2007）。関節、特にマウス外科的 OA モデルの軟骨細胞で Dkk1 の過剰発現は軟骨破壊の抑制と関連し（Oh et al, 2012）、ヒト OA の軟骨標本で OA と Dkk1 遺伝子発現の間に逆相関性が示された（Leijten et al, 2013）。対照的に、Dkk1 の抑制は *in vitro* でインターロイキン 1（IL-1）が誘導する軟骨細胞のアポトーシスを改善し、ラット OA モデルにおいて Dkk1 のアンチセンスノックダウンは OA と関連した Dkk1 遺伝子発現、Mankin スコア、軟骨線維化及び血清軟骨分解マーカーの増加を軽減した（Weng et al, 2009; Weng et al, 2010）。後者のデータでは Dkk1 は IL-1 が仲介する軟骨損傷を悪化させることが示唆される。特定の Wnt 標的遺伝子も OA の病態生理学に関係している。*WISP1* mRNA 発現量はヒト OA 軟骨標本及びマウス OA 軟骨及び滑膜の標本で上昇している（Blom et al, 2009）。マウスにおいて、通常急性損傷に反応して軟骨で活性化する *Cnn*、*Cnn1* 及び *Wisp1* など Wnt の下流標的遺伝子が軟骨で過剰発現すると軟骨の進行性変性が生じる（Blom et al, 2009; Zhang et al, 2015）。後者のデータは、古典的 Wnt シグナル伝達の過剰発現は無傷の軟骨に対してネガティブな結果をもたらすという考えを裏付ける。しかし、Wsp1 は TGF-βを介して軟骨形成を調節し、*Wisp1*$^{-/-}$マウスにおいては

軟骨損傷の修復がうまく機能しないことから、Wnt シグナル伝達と下流標的のバランスは軟骨の健康と修復の維持に重要であることが示唆される（Yoshioka et al, 2015）。最近の報告では、マウス OA モデルやヒト OA 患者から採取した軟骨サンプルにおける軟骨変性の機序としてヘッジホッグシグナル伝達による軟骨内の古典的 Wnt シグナル伝達の抑制的な制御が関連することを示唆し、古典的 Wnt の活性化が軟骨を保護する可能性を裏付ける（Rockel et al, 2016）。

実験動物試験及びヒト標本の遺伝子発現データから OA で Wnt シグナル伝達が役割を担っていることが示唆されるが、ヒトの軟骨細胞における古典的 Wnt シグナル伝達の機能解析データは限られている。動物の軟骨細胞で同化促進活性が発揮されるのとは対照的に、健常者と OA 患者から採取したヒト軟骨細胞に Wnt リガンドコンストラクトをウイルスベクターに導入し、誘導させた古典的 Wnt シグナル伝達の *in vitro* での活性化は、抗同化作用を示し、IL-1βで誘導した MMPs の活性化を抑制した（Ma et al, 2013）。ヒト又は動物の軟骨において特定の Wnt 経路因子の発現又は機能に関して一定のデータが得られないのは、種の違い、ドナーの年齢や病期の違いが関係しているかもしれない。ヒト軟骨における古典的 Wnt シグナル伝達の正確な機能は明らかではない。

要約すると、最新のデータでは、古典的 Wnt シグナル伝達は関節軟骨の維持を担っていることを裏付けており、このシグナル伝達が損傷に対する初期反応の一部であることを示唆している。関節軟骨細胞における過剰又は過小な古典的 Wnt シグナル伝達経路の調節不全は、関節の健康に悪影響を及ぼす可能性がある。

3.4.3.3 変形性関節症におけるスクレロスチンの役割及び関節の健康に対するスクレロスチンの欠失又は阻害の影響

OA におけるスクレロスチンの機能解析データは限られている。スクレロスチンの発現は正常なヒト及び動物の関節軟骨で観察される。過去の試験では、石灰化軟骨細胞でタンパク質又は mRNA の発現が抑制されているか、あるいは中間層での最小限の染色を伴う、ほとんどの軟骨層での変動の大きな発現が報告されている（Brunkow et al, 2001; Chan et al, 2011; Roudier et al, 2013）。

実験動物 OA モデルやヒト OA 軟骨標本の軟骨におけるスクレロスチン発現については複数の研究者が検討している。中等度から重度の OA（Mankin スコア≥4）患者から採取した軟骨標本におけるスクレロスチンの mRNA 発現量は対照患者標本に比べて 14 倍高いことが報告された（Karlsson et al, 2010）。これらのデータは、ヒトの正常軟骨標本と OA 軟骨標本の間には *SOST* 発現に有意な違いがないという報告（Roudier et al, 2013） や、コラゲナーゼ誘導関節炎マウス、自然発症関節炎 STR/Ort マウスあるいは *Frzb*$^{-/-}$マウスでは軟骨 SOST 発現の有意な増加が認められないといった報告（Blom et al, 2009; Lodewyckx et al, 2012）とは対照的である。最近、STR/Ort マウスにおいて OA が発症した関節軟骨でスクレロスチンの発現が限局的に抑制されることが報告されている（Staines et al, 2016）。Chan らは、ヒツジの膝関節半月板切除術モデルにおいて、石灰化軟骨の肥大軟骨細胞でスクレロスチンの免疫反応性が増加し、軟骨変性部位の非石灰化軟骨にスクレロスチンの免疫反応陽性軟骨細胞が存在すること、さらに軟骨下骨で骨細胞の免疫反応性が減少することを示した（Chan et al, 2011）。

軟骨の健康に対するスクレロスチンの機能を評価する *in vitro* 試験で、スクレロスチンが OA の軟骨変性に対して保護作用が示すことが示唆されている。*In vitro* で単離したマウス軟骨細胞におい

て、スクレロスチンは Wnt 3a により誘導した同化マーカー（例、Col2a、Acan）の低下及び異化マーカー（例、MMPs）と肥大マーカー（例、Col10a1）の促進を阻害した（Bouaziz et al, 2015）。ヒツジ軟骨外植片において、スクレロスチンは軟骨の遺伝子発現に対して混合的な作用を示した。すなわち、基質成分（反同化の低下作用）（同化作用）、MMP 抑制因子（前異化の低下作用）（異化作用）及び MMPs（反異化の低下作用）（異化作用）である。培養外植片における IL-1 誘導軟骨変性に応答して、スクレロスチンは培養外植片における基質成分の発現には作用せず、MMPs のアップレギュレーションを遮断した（Chan et al, 2011）。これらの試験を通して観察された最も一貫した作用はスクレロスチンによる MMPs の抑制であった。

軟骨の健康に対するスクレロスチン欠乏による機能的な影響を *in vivo* で *Sost*$^{-/-}$マウスを用いて検討した。週齢に応じた軟骨の変性変化は野生型と *Sost*$^{-/-}$マウスで同様であったが（Roudier et al, 2013）、外科的に内側半月板を不安定化させたモデルでは、野生型の対照と比較して *Sost*$^{-/-}$マウスの方が処置による軟骨変性がより重症を引き起こし、これに伴って基質変性が増加し（MMPs のアップレギュレーション）、軟骨細胞の肥大とアポトーシスが亢進した（Bouaziz et al, 2015）。損傷に応じた軟骨反応に対して軟骨下骨は生物力学的な影響を及ぼすことが知られており、*Sost*$^{-/-}$マウスにおける軟骨下骨の高骨量が、関節運動学の変化による関節の不安定性に対する反応に影響を及ぼすかどうかは明らかでない。変性骨関節症は硬結性骨化症又は Van Buchem 病の特徴でないので、*Sost*$^{-/-}$マウスの結果をヒトに外挿することは疑問である（Beighton, 2011a; Beighton, 2011b; Hamersma et al, 2003）。

スクレロスチンの生涯欠乏で起こりえる代償機構及び軟骨下骨の作用とは関係なく、軟骨におけるスクレロスチンの役割をさらに調べるためには、スクレロスチンを関節軟骨で特異的に欠損させるようなモデルを用いた試験が必要である。軟骨の完全性に対する Scl-Ab 投与の作用を老齢げっ歯類とげっ歯類の外科的処置による OA モデルで検討した。臨床投与量（210 mg の用量を月 1 回投与）の 7 倍の用量で Scl-Ab を 12 週間投与した老齢雄性ラット及び老齢 OVX ラットにおいては、予想通り骨量が増加し、軟骨の厚さや面積には影響がなかった（Roudier et al, 2013）。ラットの内側半月板損傷モデルにおいて、臨床投与量（210 mg の用量を月 1 回投与）の 7 倍の用量で外科手術後 3 週間にわたって Scl-Ab を全身投与あるいは Scl-Ab の Fab フラグメントを関節内投与したが病変の重症度に有意な影響を及ぼさなかった（ROA/AMG-14 及び ROA/AMG-15 試験）（Roudier et al, 2013）。

現在得られているデータでは、スクレロスチンは関節軟骨に発現して損傷に応じてアップレギュレーションされることが示唆される。*Sost*$^{-/-}$マウスではスクレロスチンが欠損すると軟骨変性が悪化する。対照的に、関節軟骨損傷のげっ歯類モデルで Scl-Ab を全身投与又は関節内投与（Fab フラグメントのみ投与）してスクレロスチンを抑制した場合には変性変化は悪化しなかった。このことからスクレロスチンは主要な役割を担っていないか、あるいはこの抗体が軟骨に浸透していないことが示唆された。

可動関節における骨棘形成は後期の OA に共通の特徴であり、特に軟骨と骨の結合部の骨膜から発生する骨軟骨棘が代表的である。骨棘は最初軟骨分化を受ける未分化の間葉系幹細胞の限局性の増殖として始まる。時間とともに、中心部分が肥大し、続いて軟骨骨化が生じる。骨棘を誘導する最も強力な因子は TGF-βであると思われる（van der Kraan and van den Berg, 2007）。骨棘のスクレロ

スチン発現に関するデータは限られている。スクレロスチンは骨増殖性骨細胞で発現しているが、外科的に内側半月板を不安定化させたマウスの軟骨細胞では発現していない（Bouaziz et al, 2015）。OA 患者ではスクレロスチンの発現が関節軟骨に比べて骨棘で有意に亢進していると報告されている（Gelse et al, 2012）。石灰化基質における肥大軟骨細胞が骨棘発生・進行の一部として生じるのでこれらの部位におけるスクレロスチン発現は妥当である。ラットの内側半月板損傷モデルにおいて外科手術後 3 週間 Scl-Ab の全身投与あるいは Scl-Ab の Fab フラグメントの関節内投与しても、骨棘スコアを悪化させなかった（ROA/AMG-14 及び ROA/AMG-15 試験）（Roudier et al, 2013）。骨棘に対して Scl-Ab は作用を示さなかったことから、スクレロスチンがこの過程で役割を担っていないか、あるいはこの抗体が発現細胞まで到達していないことが示唆された。

3.4.3.4　強直性脊椎炎の骨棘におけるスクレロスチンの役割

基本的に変性疾患である OA とは異なり、強直性脊椎炎（AS）は炎症に続いて関節強直につながる新骨形成が起こる慢性炎症性疾患である。障害は、仙腸関節の脊椎固定（強直）、最終的に椎間腔に橋渡しをする靭帯骨棘形成及び末梢骨格における腱又は靭帯挿入部位から生じる靭帯付着部骨棘として現れる。関節周囲の骨減少につながる骨吸収と骨形成の抑制が優勢である関節リウマチ（RA）とは対照的に、AS の構造的変化では骨形成が優勢である。AS 患者の限られた過去データから、軟骨性及び膜内骨形成が強直に寄与することが示唆される。腫瘍壊死因子-α（TNF-α）は、鍵となるサイトカインの 1 つであり、DKK1 と SOST の誘導により骨形成を抑制し、主に全身炎症疾患に伴う全身の骨減少にかかわっていると考えられる（Schett and Rudwaleit, 2010）。AS における Wnt シグナル伝達と新骨形成の間の連携がヒト TNF-αのトランスジェニックマウス関節炎モデルで示唆されている。抗 Dkk1 抗体の投与により、疾患モデルの表現型が関節破壊から末梢関節の骨棘形成及び仙腸関節の強直を伴う関節リモデリング方向へシフトさせた（Diarra et al, 2007; Uderhardt et al, 2010）。靭帯骨棘形成がない AS 患者は著しく高い機能的 Dkk1 レベルを示すことから、Wnt シグナル伝達の低下は新骨形成を抑制し、結果的に靭帯骨棘形成の成長と脊椎強直を抑制することが示唆される（Heiland et al, 2012）。炎症と骨形成の関連性はほとんど解明されておらず、直接的又は連携しているかもしれないが、これらは独立したイベントである。この骨増殖反応において TNF 阻害剤よりもシクロオキシゲナーゼ阻害剤が臨床的に最も有用な治療法であるという事実から、プロスタグランジンが中心的メディエーターであることが示唆される（Lories and Schett, 2012）。

AS、RA 及び OA 患者の関節におけるスクレロスチン発現が検討されている。対照群と RA ではすべての標本で発現は同程度で骨細胞に限定していた。OA では若干発現が低く、AS では発現は認められなかった。血清スクレロスチンレベルは靭帯骨棘形成患者よりも靭帯骨棘形成がない患者で有意に高かった（Appel et al, 2009）。しかし、マウス AS モデルに組換えスクレロスチンを投与しても、末梢あるいは軸骨格での病態の発生、骨密度や疾患重症度に対して影響を及ぼさなかった（Haynes et al, 2015）。AS や非 AS の関節面の軟骨における発現を IHC で検討した試験において、OA 標本で発現していた Dkk1 及びスクレロスチン又は軟骨肥大マーカーの発現に違いは認められなかった。しかし、AS では軟骨の恒常性が失われていることを示唆するような軟骨マーカーの発現パターンが認められた（Bleil et al, 2015）。Wnt シグナル伝達の作用によることが知られている軟骨細胞肥大が AS では認められないことから、AS の軟骨における変性変化の発症機序は OA とは異なっ

ていることが示唆される。結論として、AS の発症機序におけるスクレロスチン抑制の役割に関しては相反するデータがあり、そのデータの大部分は、スクレロスチン抑制は AS の発症や進行に著しい効果を示さないことを示唆している。

3.4.3.5 非臨床慢性毒性試験における関節軟骨、自然発症変形性関節症及び骨棘に対するロモソズマブの作用

ロモソズマブの長期投与は関節軟骨の変化を誘発しなかった。ラット及びカニクイザルに最高 100 mg/kg/week の用量で 6 カ月間投与したが（210 mg を月 1 回投与した時の臨床曝露量のそれぞれ 38 から 93 倍の曝露量）、関節軟骨の変化は観察されなかった（107425 及び 107426 試験）。ラットを用いた生涯投与薬理試験において、組織学的及び X 線検査の両方で観察したが変性関節疾患（OA）と骨棘の発生率及び重症度の両方又はどちらかは 210 mg を月 1 回投与した時の臨床曝露量の 19 倍の曝露量と推測されるロモソズマブを投与しても影響を受けなかった。OA の典型的病態は、一般的には雄性ラットの大腿脛骨における関節軟骨の浸食・欠損であり、これに軟骨下骨変化及び関節周囲の線維症の両方又はどちらかが併発する場合もある。骨棘は一般的に潰瘍性足根皮膚炎を伴って観察され、通例足根骨・足根関節に認められる X 線検査上の骨増殖変化と関連した（107895 試験）。

老齢 OVX カニクイザルにおいて、30 mg/kg の用量でロモソズマブを投与しても（210 mg を月 1 回投与した時の臨床曝露量の 22 倍の曝露量）、既存の軽度から中等度の変性変化（例、脊椎症、変性関節疾患、靭帯付着部増殖体）の悪化を示す X 線データは観察されなかった（118025 及び 107903 試験）。これらの非臨床試験結果から、臨床曝露量よりも有意に高い曝露量となる用量でロモソズマブを長期投与しても軟骨の変性変化の誘発や老化に伴う変性変化を悪化させないことが示された。

正常な軟骨機能の維持には低レベルのシグナル伝達が求められ、異常調節は OA の発症や進行につながる可能性がある。特異的なリガンド、受容体又は下流標的の過剰発現及び発現抑制によるシグナル伝達経路の異常調節が関節に対する有害な作用になりうる。OA の発症と進行におけるスクレロスチンの関与は不明である。スクレロスチンは関節軟骨で発現しているが、大部分は石灰化軟骨の肥大軟骨細胞で発現し、その発現パターンは OA の病期や重症度で変わる可能性を示すデータもある。スクレロスチンは、*in vitro* で軟骨細胞に様々な作用を発揮するが、最も一定した作用は MMPs の低下作用である。*Sost*$^{-/-}$マウスを用いた試験の結果からスクレロスチンは無傷な軟骨には影響を及ぼさないが（Roudier et al, 2013）、損傷に応じた軟骨変性を悪化させることが示唆される（Bouaziz et al, 2015）。しかしながら、変性骨関節症は硬結性骨化症の特徴ではないのでヒトで SOST の欠失により軟骨変性が発生しやすくなるとは考えられない。ラットやサルにおいてロモソズマブを臨床曝露量の何倍も高い曝露量となる用量で全身投与してスクレロスチンを抑制した場合、軟骨下骨の骨量は増加したが、軟骨を変性させたり、自然に発生する関節の変性変化を悪化させたりすることはなかった（107895、107903 及び 118025 試験）。ラットの外科的 OA モデルに抗スクレロスチン抗体を全身投与や関節内投与した場合、病変スコアを悪化させたり、変化させたりすることはなかった（ROA/AMG-14 及び ROA/AMG-15 試験）。臨床安全性データからはロモソズマブの投与で OA の発生率増加や進行の促進は示されていない。

無傷の軟骨や軟骨損傷の進行に対して Scl-Ab の作用が認められないのは複数の因子によるものであると思われる。硝子軟骨は高分子に対する有効なバリアーであり、軟骨への拡散は分子量や電荷に依存する（Urech et al, 2010）。高陽イオンタンパク質はより容易に軟骨基質に浸透することができ、軟骨内に拡散することができるタンパク質の分子量カットオフ値は約 67 kDa であると報告されている（van Lent et al, 1987; van Lent et al, 1989）。したがって、免疫グロブリンあるいはその Fab フラグメント（分子量はそれぞれ 150 と 50 kDa で、等電点は 4.5 から 8.5 の範囲）は関節軟骨に浸透しないと思われる。高分子の浸透は損傷軟骨で限られたレベルで起きるが（Foy and Blake, 2001）、ラット内側半月板損傷モデルにおいて Scl-Ab の浸透を改善するために関節内投与しても病変の重症度に影響を及ぼさなかった（ROA/AMG-15 試験）。スクレロスチンを発現している軟骨細胞へ抗体が到達できるような重度の関節変化及び広範囲の軟骨下板の血管形成が評価に使用したモデルには存在していなかったために、Scl-Ab の作用が観察されなかった可能性もある。また、古典的 Wnt 経路の中に複数の経路があるために、他の補償機序が抗体を介して阻害されたスクレロスチンの機能を代替するのかもしれない。

結論として、非臨床及び臨床試験データから、現在の臨床推奨用法用量でロモソズマブを投与しても OA の発症や進行を著しく促進するリスクはないことが示唆される。

AS 患者を対象としたロモソズマブの影響の検討は，Amgen 社が治験依頼者として実施された臨床試験としては実施されてない。AS が関連している骨棘へのスクレロスチンの関与についてはデータが限られているが、最近のデータでは、AS の軟骨の変性変化は OA のそれとは異なることが示唆されている。

3.4.4 ロモソズマブによる血管石灰化の推進に関する理論上の懸念

スクレロスチンは、骨芽細胞分化に対する作用に関連して骨石灰化抑制因子として知られている。スクレロスチンは元々大動脈と血管の石灰化巣に発現しているのでロモソズマブによるスクレロスチンの抑制は血管の石灰化を誘発するか、悪化させるという理論上の懸念がある。最新の文献や非臨床及び臨床試験で得られたデータに基づくと、ロモソズマブは臨床推奨用法用量にしたがって対象とする患者集団に投与しても血管の石灰化に有意なリスクを示さないことが示唆される。

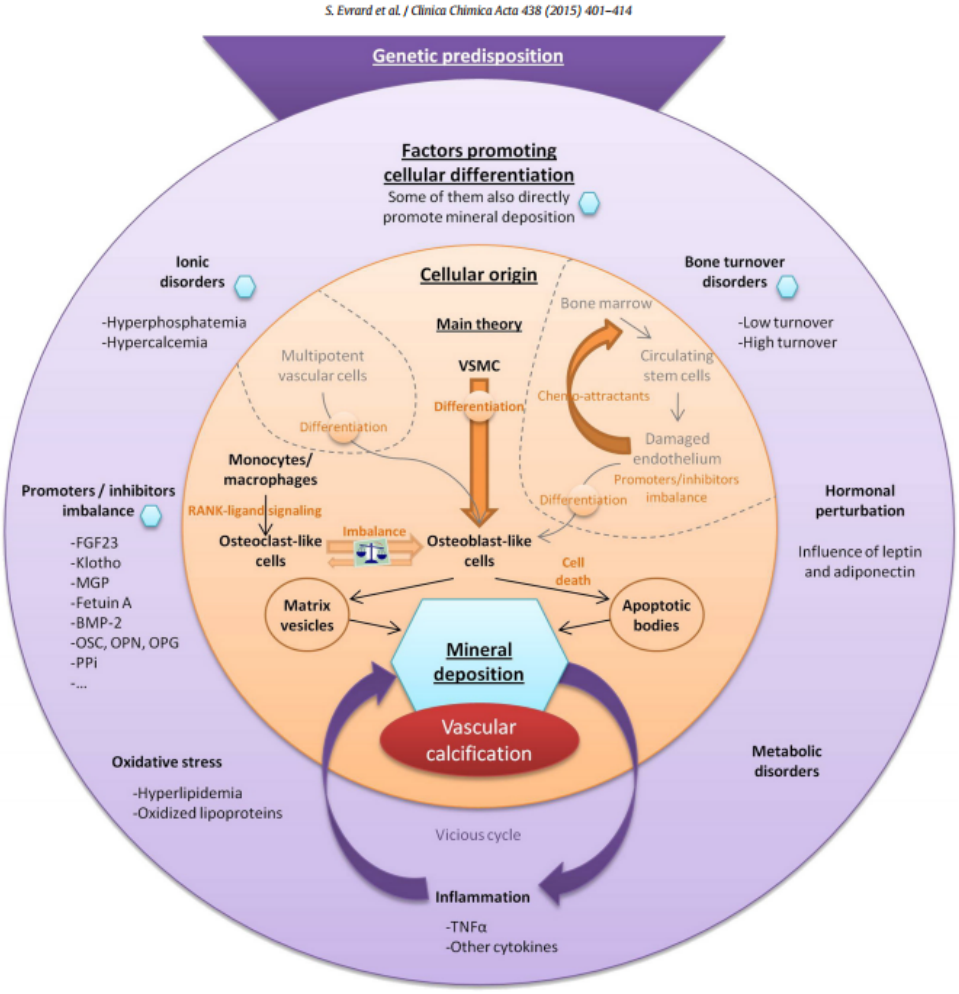
3.4.4.1 血管石灰化の発症機序

VC は血管系の病的石灰化であり、内膜、中膜及び心臓弁に起こり得る。異所性 VC に関して臨床的に最も重要な部位は動脈の石灰化である。異所性の動脈のカルシウム沈着は中膜や内膜に進み、心血管系の疾患や死亡の前兆となる（Shemesh et al, 2011）。石灰化の部位は様々であるが、VC の石灰化には病態生物学的に共通の特徴があるため、病態生理学的に異なるものでないかもしれない（Drueke, 2008）。以前は受動的なプロセスと考えられていたが、現在 VC は、多くの因子の複雑な相互作用で誘導される骨軟骨形成の表現型を示す細胞が血管系に出現する特徴的な事象を伴う制御された石灰化現象であると考えられている（図 34）。石灰化している血管細胞がどこに由来するかに関しては定まっていない（Thompson and Towler, 2012）。血管系固有の細胞における骨変化（*BMP*s、*Runx2* 及び *Msx2* a などの骨形成遺伝子の発現亢進と細胞外石灰化を惹起する基質小胞の産

生を特徴とする）が周皮細胞、中膜の筋細胞及び外膜の筋線維芽細胞に確認されている。血管系固有の細胞間のパラクリン骨形成シグナル、特に正常骨形成の過程で活性化している骨形成タンパク質－筋セグメントホメオボックス 2（BMP-Msx2）及び Wnt シグナル伝達は、血管及び弁の石灰化過程で動脈細胞を骨形成表現型に誘導する。アテローム性動脈硬化、糖尿病及び腎臓病で増加するストレス因子（炎症メディエーター、活性酸素種とオキシリピッドなど）、高血糖症及び高リン血症は石灰化の抑制因子と活性因子のバランスを変えて骨形成表現型変化を引き起こす（Bostrom et al, 2011）。血管部位に誘導される骨髄由来の循環骨前駆細胞も骨化変化を受けて VC に寄与する。これらの細胞は多くのタイプの細胞に分化可能であり、血管組織内で骨、軟骨、脂肪細胞、筋肉又は骨髄組織さえ形成する（Bostrom et al, 2011; Tintut et al, 2003）。血管系におけるこれらの骨形成細胞は軟骨内及び膜内の骨形成で生じる事象を再現可能である。

非常に多くのデータから、血管生理、骨リモデリング及びミネラル代謝が密接に相互依存していることが裏付けられ、これらは骨–血管連関と称されている。VC は加齢と骨粗鬆症に伴った典型的な骨–血管連関の異常調節の病的結果であり、慢性腎臓病（CKD）や糖尿病など加齢に関連した疾患でその発症や進行は加速する（Pikilidou et al, 2015; Thompson and Towler, 2012）。遺伝子解析でも骨と血管系の関連を示すデータが得られている。骨において主要な役割を担う 2 つの遺伝子、OPG 及びマトリックス Gla タンパク質（MGP）を欠失したマウスは VC と骨粗鬆症を発症する（Bucay et al, 1998; Luo et al, 1997）。*Mgp*$^{-/-}$マウスを用いた試験でも、血管系の Mgp 欠損の修正が骨欠陥を修復することから骨と血管系の間の情報交換は双方向的である（Marulanda et al, 2013）。骨において主要な Wnt リガンド共受容体をコードする *LPR6* のミスセンス変異を伴うヒトでは、古典的 Wnt シグナル伝達の障害、骨粗鬆症及び早期発症冠動脈疾患（心筋梗塞、狭心症又は心突然死）が生じる（Mani et al, 2007）。BMD と VC の間の臨床的関連性及び逆相関性がいくつかの試験で示されている。骨代謝回転の低下が VC のリスク因子であると長い間考えられてきたが、最近のデータでは、加齢や VC になりやすい疾患でミネラルの恒常性を維持するために骨吸収が高まって骨代謝回転がアンバランスになりリスク因子になることが示唆された（Cannata-Andia et al, 2011）。透析を受けている患者では、骨吸収に偏っている高又は低代謝回転状態のネットアンバランスを改善すると VC に対する保護効果が発揮されることが示されている（Barreto et al, 2008）。

図 34　細胞分化及び石灰化を推進する病理生理学的機序（Evrard et al, 2015）



BMP = bone morphogenetic protein; FGF23 = fibroblast growth factor 23; OPG = osteoprotegerin; RANK = receptor activator of nuclear factor kappa B; TNF = tumor necrosis factor; VSMC = vascular smooth muscle cell

3.4.4.2　血管石灰化における Wnt シグナル伝達の役割を裏付けるデータ

BMP シグナル伝達は血管系における骨前駆細胞のプログラミングで主要な初期シグナル伝達イベントであると考えられている。しかし、石灰化弁では対照弁や粘液腫性弁と比べてβ-カテニンが 4 倍増加することがタンパク質解析から示され、古典的 Wnt シグナル伝達が寄与する可能性が示唆された（Caira et al, 2006）。しかし、この解析で用いた抗体が β-カテニンの活性化体に特異的でないため、この増加が活性化 β-カテニンであるかは明らかではない。Wnt リガンドの共役受容体である LRP5 も *Runx2* などの骨形成マーカーと共に石灰化及び粘液腫性弁において mRNA やタンパク質レベルで増加している（Caira et al, 2006）。Menini らは、終末過酸化産物/終末糖化産物に応答した VSMCs の *in vitro* 骨形成分化調節における古典的 Wnt シグナル伝達の石灰化推進作用を示した（Menini et al, 2013）。これらの作用は、先天性免疫パターン認識受容体のガレクチン 3 及び終末糖化産物受容体（RAGE）の発現の変化により仲介されていた。ガレクチン 3 は古典的 Wnt シグナル伝達の活性化を介して骨形成分化を促進したが、抑制性 Wnt 調節因子の RAGE も相補的に上方制御された。

古典的 Wnt シグナル伝達は、BMP-Msx2 を起点とするシグナル伝達の下流であることを裏付けるデータが、サイトメガロウイルスー筋セグメントホメオボックス 2（CMV-Msx2）トランスジェニックマウスを用いた試験で得られている。CMV-Msx2 トランスジェニックマウスに高脂肪飼料を与えて、酸化脂質を生成させ、内皮における BMP2-Msx2 シグナル伝達を亢進させると、血管筋線維芽細胞と内皮細胞のサブセットで *Msx2* が発現し、Wnt3a 及び Wnt7a の上方制御並びに Dkk1 の下方制御を介した著しい VC を発症する。Msx2 を導入した TOPGAL LacZ レポーターマウスは非トランスジェニックマウスよりも血管で LacZ の高発現を示し、古典的 Wnt シグナル伝達の活性化と一致した。以上のデータから、高脂肪飼料で BMP2-Msx2 シグナル伝達を誘導すると、Wnt リガンドの局所産生の増加及び Wnt 抑制因子である Dkk1 の抑制により古典的 Wnt シグナル伝達が活性化することが示唆される（Shao et al, 2005）。CMV-Msx2 マウスモデルにおいて Dkk1 発現が血管系の骨形成シグナルによる古典的 Wnt シグナル伝達の誘導に伴い減少したが、細胞外 Wnt 抑制因子がこの状況において上方制御、特に補償反応として上方制御されるという反対のデータもある。ヒトにおいて、DKK1 発現はアテローム性プラークで増加し、血清 DKK1 レベルは冠動脈の石灰化及びプラークと相関している（Kim et al, 2011a; Ueland et al, 2009）。ラット CKD モデルにおいて重度の石灰化を伴う血管セグメントは sFRP ファミリーのいくつかのメンバーの上方制御を示した（Roman-Garcia et al, 2010）。以上のデータを考え合わせると，血管系における古典的 Wnt シグナル伝達の活性化が，いくつかの細胞外 Wnt シグナル抑制因子を補完的に増加させている。

3.4.4.3　血管の石灰化におけるスクレロスチンの役割

Zhu らは、石灰化しているマウスの VSMCs における *in vitro* 及びエクトホスホジエステラーゼ/ヌクレオチドホスホヒドラーゼ 1（Enpp1）ノックアウトマウスモデルの石灰化大動脈における *in vivo* のそれぞれの mRNA 及びタンパク質レベルでのスクレロスチンの発現亢進を観察して、スクレロスチンと VC の想定される関連性を示唆した（Zhu et al, 2011）。Enpp1 は石灰化抑制物質であるピロリン酸を生成する。その後 *ex vivo* 試験でヒト石灰化弁でも同様の作用が認められた。スクレロスチンの発現の増加が石灰化弁に隣接した部位で IHC により検出され、mRNA が石灰化弁で上方制御された（Brandenburg et al, 2013）。スクレロスチンの増加の生物学的機能は石灰化を制限することであると示唆されていた。しかし、最近の研究から、より感度が高いアッセイ法である定量的 PCR 法で測定したスクレロスチンの発現はヒトの正常及び石灰化血管系で低く、石灰化過程において制御されていない（Qureshi et al, 2015）。*In vivo* の石灰化過程におけるスクレロスチンの直接的な役割は、骨軟化症が低骨量及び低骨形成の表現型として観察されない *Sost* トランスジェニックマウスの表現型では裏付けとならない（Winkler et al, 2003; Yorgan et al, 2015）。スクレロスチンは大動脈で恒常的に発現しているが、通常 VSMCs で発現している唯一の骨細胞マーカーではない。DMP1、ポドプラニン、MGP、骨シアロタンパク質、OCN、OPG 及び RANKL の発現が正常 VSMCs で確認されている（Dhore et al, 2001; Didangelos et al, 2010; Kaden et al, 2004; Zhu et al, 2011）。正常血管におけるこの発現パターンから VSMCs は通常骨細胞と共通の表現型を持つことが示唆されるが、おそらく骨–血管連関におけるつながりであると思われる。下方制御される VC の抑制因子である OPG を除いて、これらのマーカーの多くが VC 中に上方制御される（Dhore et al, 2001; Kaden et al, 2004）。

胎児の発生においてスクレロスチンは大動脈の形態形成において役割を担うが、大動脈で恒常的に発現しているスクレロスチンの機能的役割は不明である（van Bezooijen et al, 2007）。VC 部位でのスクレロスチンの発現が単に石灰化過程のマーカーなのか、あるいは骨石灰化表現型の抑制的な調節因子であるかは明らかではない。スクレロスチンは *in vivo* 及び *in vitro* で骨形成を抑制し、骨培養細胞での石灰化を抑制する（Li et al, 2009）。スクレロスチンは血管系において同様の役割を担っている可能性があり（Evenepoel et al, 2015）、抗スクレロスチン抗体は VC を促進するかもしれない。しかし、スクレロスチン発現亢進は単により成熟した骨細胞様表現型への分化のマーカーであり、その抑制には機能的関連性がないのかもしれない。骨と歯に関しては、いくつかの研究でスクレロスチンは骨細胞やセメント細胞の後期分化マーカーであり、培養細胞が石灰化基質に包み込まれる時あるいは石灰化期及び石灰化期の後に発現されることが示唆されている（Irie et al, 2008; Jager et al, 2010; Poole et al, 2005; Prideaux et al, 2012; van Bezooijen et al, 2004）。*In vitro* における骨石灰化骨芽細胞の低速度画像撮影のデータから、少なくとも骨芽細胞において骨細胞分化と石灰化の過程が動的に統合され、骨石灰化を担っている細胞が既に骨細胞に移行しつつある細胞であることが示唆される（Dallas et al, 2009）。スクレロスチンの発現は、血管病変に寄与するスクレロスチン発現を増加（Baek et al, 2014）させることが知られている局所の炎症メディエーターの傍観者効果であるかもしれない。循環スクレロスチンは加齢とともに増加し（Modder et al, 2011）、腎臓疾患の重症度にしたがって漸増する（Pelletier et al, 2013）。この血清スクレロスチンレベルの増加は腎臓の排泄障害とは関連していない（Cejka et al, 2014）。循環スクレロスチンレベルは、スクレロスチンと加齢に関連している VC や有害な心血管系イベント、腎臓疾患及び糖尿病との関連性を検討するために多くの臨床試験で評価されている。これらの横断的な試験において循環スクレロスチンレベルと VC の間に関連性があるという結果（Brandenburg et al, 2013; Hampson et al, 2013; Koos et al, 2013; Kuipers et al, 2015; Morales-Santana et al, 2013; Morena et al, 2015）と関連性がないという結果（Claes et al, 2013; Evenepoel et al, 2015; Pelletier et al, 2015; Yang et al, 2015）の両方が報告されている。いくつかの試験で循環スクレロスチンの増加が心血管系イベント及び死亡率の増加（Gonçalves et al, 2014; Kanbay et al, 2014）あるいは低下（Drechsler et al, 2015; Viaene et al, 2013）に関連していると報告されている、一方関連性が見出されないという報告もある（Delanaye et al, 2014; Szulc et al, 2013）。このような相反するデータは、スクレロスチンアッセイ法の違い（Moyses et al, 2015）、患者集団や疾患状態及び骨の健康状態の違いなど横断的な試験条件の組合せの結果であると考えられる。Brandenburg らは最近、多くの関連試験、条件の制限及び交絡問題を最近レビューした（Brandenburg et al, 2016）。これらの試験における主な疑問は骨及び石灰化血管の両方又はどちらかが血清スクレロスチン増加の要因であるのかということである。VC を伴う CKD 患者の血清スクレロスチンレベル上昇は腎移植後に急速に低下し、また循環スクレロスチンの上昇を伴う末期 CKD 患者の石灰化血管系でスクロレチンの発現は増加していないことから、血管系は循環スクレロスチンの主要な産生源でないことが示唆される（Bonani et al, 2014; Qureshi et al, 2015）。骨格のスクレロスチン発現が加齢、糖尿病及び腎臓病とともに増加するので骨が血清スクレロスチン産生源であることがより一層推測される。マウスのデータで、CKD の最も早い症状は、心血管系合併症に先行して生じるスクレロスチンやその他の細胞外 Wnt 抑制因子の増加を伴う骨格の Wnt シグナル伝達減少

である（Sabbagh et al, 2012）。したがって、血管系上の Wnt シグナル伝達の結果は局所仲介にはあまり依存せず、むしろ骨に対する作用の二次的なものであるかも知れない。

要約すると、スクレロスチンはいくつかの種の血管系に低レベルで恒常的に発現しているがその機能は明らかではない。スクレロスチンが VC 部位で発現亢進されているか、またその発現は単に石灰化過程のマーカーなのか、あるいは分化に対する作用を介した補償的な石灰化抑制調節因子なのかに関しては相反するデータが混在している。循環スクレロスチンレベルと臨床現場における VC 及び心血管系イベントの関連性については、多くの因子が関与していることから明確になっていない。ヒトやマウスの標本を用いた最近の研究から、一定の疾患状態における循環スクレロスチンレベル増加の産生源は石灰化血管系よりもむしろ骨であることが示唆される。

3.4.4.4 血管系に対するスクレロスチン抑制の作用

非臨床及び臨床データから、石灰化がない大動脈に恒常的に発現しているスクレロスチンを抑制しても影響がないという結論が裏付けられている。硬結性骨化症や Van Buchem 病の患者又は *Sost*$^{-/-}$ マウスで、早期発症の VC 又は心血管系疾患が増加するという報告はない（Beighton, 2011c; Beighton, 2011d; Hamersma et al, 2003）。大動脈に恒常的にスクレロスチンを発現しているサルの組織交差反応性試験で、ロモソズマブが大動脈に結合することが観察された（105783 試験）。ロモソズマブ 210 mg の用量を月 1 回投与した時の臨床曝露量の 93 倍の曝露量に相当する用量でを 6 カ月間投与したサルにおいて、肉眼的あるいは病理組織学的に VC を示す所見は観察されなかった（107426 試験）。臨床曝露量の 22 倍高い曝露量に相当する 30 mg/kg の用量を 12 カ月間週 1 回投与した老齢 OVX カニクイザルにおいて、VC を示す X 線所見は認められなかった（107903 試験）。非臨床及び臨床データから、血管又は軟部組織に石灰化が存在している状態でスクレロスチンが欠如しても、あるいはスクレロスチンを抑制しても石灰化プロセスが悪化しないことが示唆される。スクレロスチンが生涯欠如している硬結性骨化症及び Van Buchem 病の患者において VC の悪化に関連する心血管系疾患発生率の増加は報告されていない（Beighton, 2011c; Beighton, 2011d; Hamersma et al, 2003）。

RNASeq データではラットは大動脈にスクレロスチンを発現していないことを示しているが（119937 試験）、ラット石灰化大動脈のスクレロスチン発現は mRNA 及びタンパク質レベルで観察されている（Kramann et al, 2013）。VC を伴う CKD ラットモデルにおいて、Scl-Ab は骨構造を改善したが、VC を悪化させなかった。一方、PTH が低い CKD ラットでは、Scl-Ab の投与により VC の減少傾向が認められた（Moe et al, 2015）。このことは、モノクローナル抗体でもう 1 つの細胞外 Wnt 抑制因子である DKK1 を抑制すると血清スクレロスチンレベルを低下させ、骨形成を促進し、骨形成異常症を改善し、さらに CKD が誘発する VC を予防することを示した他の早期 CKD マウスモデルのデータと合致する（Fang et al, 2014）。ロモソズマブを投与したサルで血清のカルシウム及びリンの減少が観察され、この作用は骨形成と時間的に関連していた（107426 試験）。骨基質の石灰化のためのカルシウムとリンの需要増加は腎臓機能障害や高リン血症における血清リンの調節を助ける可能性がある。臨床曝露量の 19 倍高い曝露量となる最高 50 mg/kg の用量で 98 週間ロモソズマブを週 1 回投与したラットにおいて、血管系などの軟部組織に自然発生する、加齢に関連した異所性石灰化の発生率及び重症度を検討した（107895 試験）。著しい腎臓機能障害及び広範囲にわた

る複数の器官の軟部組織や血管の石灰化が存在すると石灰化病巣の総発生率に偏って影響を及ぼすため、重篤な腎障害の病理組織学的変化を示す動物は評価から除外した。ロモソズマブは重篤な腎障害の発生率、軟部組織の石灰化、特に血管又は大動脈の石灰化の発生率及び重症度に影響を及ぼさなかった（表 19）。ロモソズマブが巣状石灰化につながる組織における骨形成の表現型変化を推進するかどうかを検討するために本試験で異所性骨化の発生率を検討した。 その結果、ロモソズマブは異所性骨化に影響を及ぼさなかった（表 20）。

表 19　ロモソズマブを 98 週間投与したラットにおける軟部組織及び血管の石灰化の発生率（107895 試験）

	Male				Female			
Dose (mg/kg/wk)	0	3	10	50	0	3	10	50
Organ/System								
Aorta	3	2	4	3	2	0	2	3
Cornea	1	0	1	2	0	0	0	2
Heart	2	2	0	2	0	1	1	2
Stomach	1	1	0	2	0	0	1	1
Vascular (total)	2	7	7	9	1	0	1	7
Lung	2	2	3	0	1	0	1	2
Heart	0	2	1	2	0	0	0	1
Tongue	0	1	0	1	0	0	0	2
Testis	0	0	3	1	-	-	-	-
Lymph node	0	1	0	0	0	0	0	0
Salivary gland	0	1	0	0	0	0	0	0
Kidney	0	0	0	1	0	0	0	1
Colon	0	0	0	1	0	0	0	0
Pancreas	0	0	0	2	0	0	0	0
Stomach	0	0	0	1	0	0	0	0
Eye	0	0	0	0	0	0	0	1
Kidney	0	0	0	1	1	1	1	1
Lung	0	1	0	1	0	0	0	1
Trachea/Larynx	0	1	0	0	0	0	0	1
Brain	0	0	1	0	0	0	0	0
Testes	0	0	1	0	-	-	-	-
Bladder	0	0	0	0	0	0	0	1
Adrenal	0	0	0	0	0	0	1	1
Total Incidence of Mineralization	9	14	14	20	4	2	7	20
Number of Animals With Mineralization	7	4	12	6	3	2	4	8
Number of Animals With Mineralization Without Renal Disease[a]	6	3	12	3	3	0	4	6
Total Incidence of Mineralization Excluding Animals With Renal Disease[a]	6	4	14	4	4	0	7	6
Incidence of Vascular Calcification Excluding Animals With Renal Disease[a]	2	3	8	0	1	0	1	2
Incidence of Aorta Calcification Excluding Animals With Renal Disease[a]	2	1	4	1	2	0	2	1

[a] Excludes animals with significant renal impairment (chronic progressive nephropathy or bilateral pyelonephritis ≥ +4 or presence of both diagnoses in an animal with severity of ≥ +3 for each diagnosis) Incidence based on primary morphological diagnoses and free text comments

表 20　ロモソズマブを 98 週間投与したラットにおける異所性骨化の発生率（107895 試験）

	Male				Female			
Dose (mg/kg/wk)	0	3	10	50	0	3	10	50
Ectopic Ossification								
Adrenal	0	1	0	0	0	0	0	0
Heart	1	4	2	1	0	0	0	0
Kidney	0	0	2	1	0	1	1	1
Lung	2	4	2	0	5	0	0	0
Meninges	1	0	0	0	0	0	0	0
Skeletal Muscle	0	0	0	1	0	0	0	0
Pituitary	0	0	0	1	0	0	1	0
Subcutaneous	0	0	1	0	0	0	0	0
Vertebrae (herniated disc)	0	0	1	2	0	0	1	0
Total Incidence of Ectopic Ossification	4	9	8	6	5	1	3	1
Total Number of Animals with Ectopic Ossification	4	7	8	6	5	1	3	1
Total Number of Animals with Ectopic Ossification Without Renal Disease	2	5	6	3	5	1	2	1
Total Incidence of Ectopic Ossification Excluding Animal With Renal Disease[a]	2	7	6	3	5	1	2	1

[a] Excludes animals with significant renal impairment (chronic progressive nephropathy or bilateral pyelonephritis ≥ +4 or presence of both diagnoses in an animal with severity of ≥+3 for each diagnosis) Incidence based on primary morphological diagnoses and free text comments

最新の利用可能な非臨床試験データから、スクレロスチンが元々発現しているか、あるいは異所性石灰化や骨化に応じて誘導されるかにかかわらず、ロモソズマブによるスクレロスチン抑制はこれらの過程を促進あるいは悪化もさせない。

臨床試験データからは、血管の石灰化の生じる重篤な心血管イベントに対してロモソズマブがそのリスクを増加する作用はみられない（モジュール 2.7.4）。結論として、文献や非臨床及び臨床試験から収集したデータから、ロモソズマブが VC を誘導又は促進するリスクは低いことが示された。VC になりやすい因子を考慮すると、骨量や骨形成を増加させ、同時に骨吸収を低下させるという骨に対するロモソズマブの作用は骨の健康を改善し、骨–血管連関に望ましくない影響を及ぼさないと思われる。

3.4.5　ロモソズマブによる長軸方向の骨成長増加に関する理論上の懸念

スクレロスチンは成長板の肥大した軟骨細胞で発現しており、おそらく軟骨細胞の成熟と長軸方向の骨成長を抑制的に調節する機能を有している。高身長は硬結性骨化症の特徴である。したがって、ロモソズマブが長軸方向の骨成長を促進するという理論上の懸念がある。骨格的に成熟している対象患者集団ではこの懸念はないが、小児患者においては懸念がある。

3.4.5.1 軟骨骨化の調節におけるスクレロスチンの役割

古典的 Wnt シグナル伝達経路は、軟骨細胞の増殖を促進し、成長板における軟骨細胞の肥大化の調節に寄与する軟骨骨化の複雑な調節に関連する多くの経路の 1 つである（Mackie et al, 2011）。スクレロスチンは、ヒト成長板における石灰化肥大軟骨細胞で発現しており、軟骨細胞の成熟、肥大及び最終的には軟骨骨化と長軸方向の骨成長の調和の助けとなる抑制的調節因子として作用する（Tamamura et al, 2005）と考えられる（van Bezooijen et al, 2009）。この機能は、スクレロスチンの機能を欠失する変異及びスクレロスチンの発現と循環スクレロスチンの存在を示さない硬結性骨化症患者が高身長になることから裏付けられる（Beighton, 1988; Hamersma et al, 2003; van Lierop et al, 2011）。健常対象者レベルの約 50%の血清スクレロスチンレベルを示すような、ある程度のスクレロスチンが発現している硬結性骨化症患者は高身長にはならない（van Lierop et al, 2011）。高身長は、SOST の調節エレメントの欠如により引き起こされる Van Buchem 病の特徴でもない。Van Buchem 突然変異がホモ接合体及びヘテロ整合体の患者では、骨におけるスクレロスチンの発現レベルが低下しており、血清スクレロスチンレベルは健常対象者のそれぞれ約 20 と 75%に減少していた（Balemans et al, 2002; van Bezooijen et al, 2009; van Lierop et al, 2013）。以上のデータから、ヒトにおいては、成長板機能の調節には低レベルのスクレロスチン発現が必要であり、軟骨骨化の亢進はスクレロスチンが完全に欠損している場合のみに起きることが裏付けられる。

3.4.5.2 スクレロスチンの薬理的抑制の影響

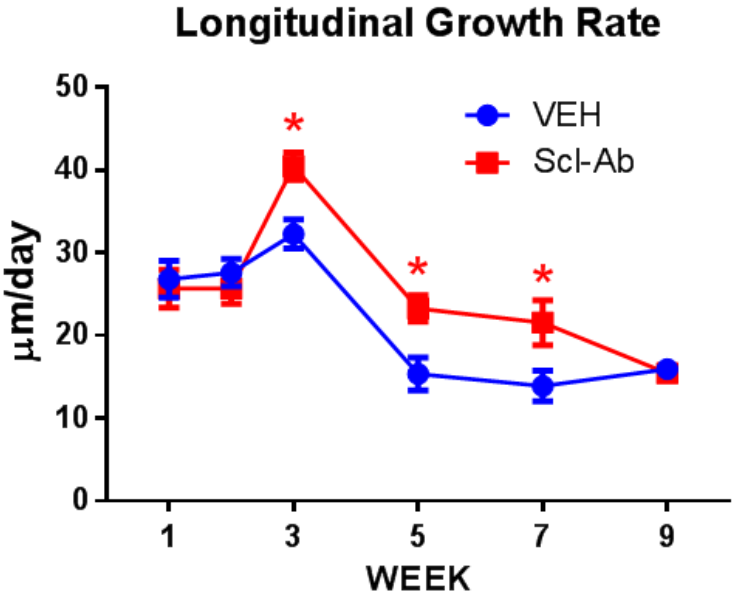
若齢ラットとカニクイザルにロモソズマブを臨床曝露量に比べてそれぞれ 38 と 93 倍高い曝露量に相当する用量で 6 カ月間投与しても成長板の組織学的変化は観察されなかったことから、軟骨骨化はロモソズマブによって定性的に影響を受けないことが示唆された（107426 及び 107425 試験）。これらの試験で長軸方向の骨成長速度に対する作用は評価しなかったが、ロモソズマブを 6 カ月間投与しても成長過程のラットの体重又は大きさに影響を及ぼさなかった（107425 試験）。抗スクレロスチン抗体の薬理作用を示す用量（25 mg/kg、週 2 回投与）で若齢マウス（7 週齢）又は幼若マウス（3 週齢）にそれぞれ 5 及び 6 週間投与しても大腿骨の長さには影響はなかった（Marenzana et al, 2013; Sinder et al, 2015）。

感度の高い骨形態計測を用いて LGR を検討した時、抗スクレロスチン抗体を投与したラットで相反する結果が観察された。ロモソズマブを 50 mg/kg の用量で週 1 回 6 カ月投与した 8 週齢の雄性及び雌性ラット（ヒトでは 10 歳に相当）においては、210 mg の用量を月 1 回投与した時の臨床曝露量に比べて 19 倍高い曝露量となったが、4 及び 26 週間で大腿骨遠位端の LGR 及び大腿骨の長さは影響を受けなかった。この結果は、幼若ラットにおいて PTH により LGR が増加するという報告と対照的である（Ogawa et al, 2002; Wronski et al, 1993）。しかし、hPTH (1-34)を投与したラットで大腿骨の長さが増加した（115776 試験）（Ominsky et al, 2015）。Scl-Ab を 25 mg/kg の用量を週 2 回 9 週間投与した若齢ラットにおいて、投与開始後 3～7 週まで大腿骨遠位端の成長板で LGR が一過性に 55%増加し、9 週時点で対照群値まで戻った（R20[redacted]0220 試験）。ラットにおけるこの一時的な作用の動態は概して最大骨形成作用を反映していて、骨の長さで 1%未満の増加と推測する（図 35）。この見積は、投与効果である 0.29 mm（2～9 週の成長スコアは対照群が 0.96 mm、ロモソズ

マブ投与群が 1.25 mm で平均 31%の増加）と総体的なラット大腿骨の長さの 41.5 mm から計算した（0.29/41.5 = +0.7%）（R20[redacted]0220 試験）。

この試験で用いた臨床用法用量はロモソズマブを 210 mg の用量で月 1 回投与した時の臨床曝露量に比べて約 31 倍高い曝露量と推測される。

図 35　若齢ラットの長軸方向の骨成長速度に対する抗スクレロスチン抗体の作用



Twelve week-old male Sprague Dawley rats were administered either vehicle or Scl-Ab at 25 mg/kg SC 2QW for 1, 2, 3, 5, 7 or 9 weeks. LGR was determined by dynamic histomorphometry at the growth plate of the distal femur on undecalcified plastic sections. Data expressed as Mean ± SEM; *p < 0.05 vs. vehicle at the same time point by two-way ANOVA and Bonferroni post-test. n = 7 to 8 per group.
Source: Study R20[redacted]0220

幼若及び若齢動物における長骨の成長及び成長板形態に対する Scl-Ab の前述の作用に基づくと、軟骨骨化及び長骨成長の速度の一過性の増加を伴う長骨成長に有意な影響を及ぼさないことが示唆される。一過性の増加を示したラット LGR データに基づいて、様々な年齢の子供の身長に対する抗スクレロスチン抗体投与の影響を検討した。前提として、Scl-Ab による LGR 増加は平均 31%（ラット大腿骨の成長率が対照群の 1.12 mm に対して 1.46 mm）、LGR の増加期間は閉経後女性において骨形成マーカーの最大増加期間に相当する 3 カ月、男子成長速度は 5 歳児で 7 cm/年、思春期の急成長期で 10 cm/年と仮定した。これらの仮定に基づくと、投与に関連した身長の増加は 5 歳時で 0.54 cm、若齢期で 0.78 cm であると予想される。このような仮定に基づくと脛骨の成長率は 5 歳時と思春期の急成長期でそれぞれ 1.5 と 2 cm/年であり、結果的に脛骨の長さの増加は 0.12 と 0.16 cm である。結論として、ヒトの遺伝的データから、完全にスクレロスチンが欠損して初めて長軸方向の骨形成の増加が生じることが示唆される。210 mg の用量を月 1 回投与した時の臨床曝露量よりも有意に高い曝露量となるように Scl-Ab を動物に投与しても長軸方向の成長又は骨長に影響を及ぼさないか、あるいは成長期のヒト骨格の骨長に対して意味があるとは思えない一過性のわずかな作用しか認められない。開放型成長板や活動的な軟骨骨化を伴う小児集団では理論上の懸念が考えられるが、成人の骨粗鬆症集団では想定されない。

3.4.6 ロモソズマブ投与による過骨症（骨過剰成長）に関する理論上の懸念

有害な神経学的影響を伴う過骨症は、硬結性骨化症及び Van Buchem 病の特徴である。それぞれの変異のヘテロ接合体保持者では過骨症がみられないので、スクレロスチンの欠乏や抑制による骨形成作用は遺伝子発現量依存的に決定しうる。最新の非臨床及び臨床データから、ロモソズマブを 210 mg の用量で月 1 回 1 年間投与しても有害な神経学的影響を伴う過骨症を誘導する有意なリスクは示唆されていない。

3.4.6.1 スクレロスチンの欠損又は抑制に関連したヒトの過骨症

骨の過形成又は骨化亢進（骨量増加は有害な結果につながる骨サイズ及び骨形状の変化の両方又はどちらかに帰結する）の理論上の考察は、HBM 遺伝病、硬結性骨化症及び Van Buchem 病を伴うヒトの症状に基づいている（第 3.4.3.1 項）。神経絞扼、特に頭蓋神経の絞扼は、骨膜及び皮質骨面上の過剰な骨沈着の結果として生じる。遺伝子量効果がこれら 2 つの疾患で観察され、ヘテロ接合体個人では、骨量と骨形成マーカーは対照群とホモ接合体個人の間の中間であり、血清スクレロスチンレベルも中間であり、BMD とは負の相関性を示している。硬結性骨化症と Van Buchem 病の変異に関してヘテロ接合体保持者は、過骨症と関連した有害な結果を示さず臨床的に正常である（van Lierop et al, 2011; van Lierop et al, 2013）。これは、骨量に対する遺伝子量効果を示さない *Sost* $^{-/-}$及び *Sost* $^{+/-}$マウスのデータと対照的である（Li et al, 2008）。スクレロスチンの骨に及ぼす作用は適切に調整可能であるという考えは、ロモソズマブの臨床用量の選択にも応用できる。0.1～10 mg/kg の範囲でロモソズマブを単回皮下投与した被験者における薬理反応（血清 P1NP）に基づくと、210 mg の用量を月 1 回投与（体重 70 kg のヒトの場合 3 mg/kg で投与）はロモソズマブは飽和用量ではない。P1NP の有意な増加が観察された最低用量は 3 mg/kg で、5 及び 10 mg/kg の用量で用量依存的にさらに増加した（モジュール 2.7.2 第 2.1.1 項 20060220 試験）。以上のデータから、3 mg/kg の投与では、スクレロスチンのかなりの部分が未結合のままで、この未結合のスクレロスチンがロモソズマブの骨形成作用を抑制及び調整する。

要約すると、ヒトにおける遺伝学及び臨床データから、スクレロスチン欠乏が骨に与える影響の程度は、有害な骨の過剰成長や臨床的悪影響なしに骨量増加の便益が得られるように調節可能であることが示されている。

3.4.6.2 抗スクレロスチン抗体は有害な結果をもたらすことなしに骨量を増加させる

ラットとサルにロモソズマブ 3、10 及び 100 mg/kg の用量を 6 カ月間反復投与し、その後 14 週間の回復期間を置く毒性試験（ラットとサルでそれぞれ 107425 及び 107426 試験）とラットに最高 50 mg/kg を投与する生涯投与試験によりロモソズマブによる骨形成や骨成長増加の副作用を検討した（107895 試験）。反復投与毒性試験における全身曝露量は、ロモソズマブ 210 mg の用量を月 1 回投与した時の臨床曝露量に比べて 38 倍（ラット）及び 93 倍（サル）高く、ラット生涯投与試験では 19 倍高い曝露量であった。10、100 及び 300 mg/kg の用量でロモソズマブを投与したラットの 1 カ月試験における骨密度及び骨バイオマーカーのデータに基づくと、100 mg/kg に対し 300 mg/kg の用量では骨に対する薬理反応はごくわずかに増加するだけであった。このことからラッ

トにおいてロモソズマブの薬理反応は 100 mg/kg の用量でほぼ飽和していることが示唆される（105908 試験）。海綿骨、皮質骨及び骨膜面で骨形成が増加し、ラット及びサルの両種で骨量の明確な用量依存的な増加が認められた。過骨症の肉眼所見は、臨床曝露量に比べて少なくとも 4 倍以上の曝露量になる 10 mg/kg 以上の用量を 6 カ月間投与した時に頭蓋冠や長骨の肥厚を示したラットにのみ観察された（107425 試験）。ラットにロモソズマブを 3 mg/kg 以上の用量で投与することにより臨床曝露量の 19 倍以上の曝露量で生涯曝露させると、頭蓋冠、脊椎及び長骨を含む骨の肥厚が全身で用量相関的に認められ、BMC（*ex vivo* pQCT で測定）の増加及び病理組織学的観察による骨化亢進（骨増加）と相関した。6 カ月及び生涯ラット試験において骨肥厚は肉眼的に明確であったが、臨床症状や脊髄、頭蓋神経又は脊髄圧迫の肉眼的又は病理組織学的な所見は観察されなかった。臨床曝露量の最高 93 倍以上の曝露量になる用量でロモソズマブを 6 カ月投与した若齢カニクイザルにおいて海綿骨や皮質骨の骨量が用量依存的かつ有意に増加したが、肉眼的には骨肥厚の所見は観察されなかった。詳細な臨床症状観察、摂餌量、眼科検査、心電図及び血圧測定（表 21）及び脳、脊髄、座骨神経及び視神経の肉眼的及び病理組織学的検査を毎週実施して神経圧迫による神経学的な機能障害を検討した。以上の検査でサルの頭蓋神経機能異常を呈するような神経圧迫は明確でなかった（107426 試験）。

非臨床試験データから、骨量が顕著に増加してラットで薬理作用が飽和状態に近づくような用量であってもラットやサルにおいてロモソズマブによる副作用的な神経学的影響は出ないことが示唆される。

表 21　サルの頭蓋神経機能を評価するために実施した臨床観察

Cranial nerve function in monkeys

Cranial Nerve	Function	Examples of Dysfunction	Detectable Signs in Cyno	Observation, Test, or Examination
I - Olfactory	Sense of smell	Disturbed sense of smell	Changes in feeding behavior	Food consumption
II – Optic	Vision	Disturbed vision	Changes in cage behavior Abnormal Ophthalmic exam	Daily observations Indirect ophthalmoscopic and slit lamp exam Histopathology of eye
III – Occulomotor IV – Trochlear VI - Abducens	Eye movement	Loss of or abnormal eye movement,	Pupils dilated nonreactive to light Ptosis	Weekly detailed clinical observations
V – Trigeminal	Facial sensation, mastication	Chewing disorders, muscle atrophy	Abnormal chewing, Notable jaw muscle atrophy, abnormal corneal reflex	Food consumption Weekly detailed clinical observations
VII – Facial	Facial muscles, sense of taste	Facial muscle weakness, abnormal taste	Droopiness of facial muscles, absence of blink reflex	Weekly detailed clinical observations
VIII – Vestibulochoclear	Hearing & balance	Loss of hearing, abnormal balance	Change in cage behavior, notable loss of balance	Daily observations
IX –Glossopharyngeal X – Vagus XI – Spinal Accessory	Numerous, but jointly control swallowing	Inability to swallow, CV autonomic impact	Swallowing disturbances	Food consumption Electrocardiogram Blood pressure measurement
XII – Hypoglossal	Muscles of tongue	Inability to move tongue or abnormal tongue movements	Abnormal feeding behavior	Food consumption Daily observations

3.4.6.3　非臨床試験においてロモソズマブは巣状骨化過剰病変の発生率又は重症度を増加しない

ロモソズマブにより骨棘などの巣状骨化過剰病変が悪化することが理論上考えられる。第 3.4.3.5 項で考察したようにロモソズマブは、臨床曝露量の 22 倍の曝露量に相当する最高 30 mg/kg の用量を 12 カ月間投与しても老齢 OVX サルで既に存在している骨棘を悪化させなかった（107903 及び 118025 試験）。臨床曝露量の 19 倍の曝露量になる用量のロモソズマブを最長 98 週間投与したラットにおいて自然発症性の潰瘍性足根皮膚炎と関連した骨棘及び骨膜の骨増殖の悪化は観察されなかった（107895 試験）。

以上の非臨床試験データから、ロモソズマブは自然発症の巣状骨化亢進病変を悪化させないと思われる。

臨床試験データはロモソズマブ投与が骨化亢進やそれに付随する副作用の発現は認められないことを裏付ける（モジュール 2.7.4）。結論として、非臨床及び臨床データから臨床推奨用量では特に低骨量の骨粗鬆症の患者においてロモソズマブの骨形成作用は適切に調整されており、骨過形成のリスクは低い。

3.4.7 ロモソズマブによるセメント質増殖症及び歯に及ぼす影響に関する理論上の懸念

スクレロスチンはセメント細胞で発現しているので、ロモソズマブが細胞セメント質及び無細胞セメント質の両方又はどちらかに影響を及ぼすことが考えられる。歯科組織及び歯の発生に対する作用は、乳歯及び永久歯の発生が起きる年齢の小児集団における懸念である。

3.4.7.1 発生中及び成人の歯における Wnt シグナル伝達の役割

古典的 Wnt シグナル伝達は歯の形態形成の複数の段階に関与し、その時間–空間的調節は歯の発生期間中の正常細胞分化及び基質形成に重要であることは良く知られている（Bae et al, 2015; Chen et al, 2009; Tamura et al, 2010）。近年、骨芽細胞や象牙芽細胞における古典的 Wnt シグナル伝達の過剰な活性化は、マウスの発生過程の歯において歯根のセメント質形成不全や歯冠における象牙質や細胞セメント質の過剰形成を伴う異常な歯槽複合体形成につながることが示されている（Bae et al, 2013; Kim et al, 2011c; Kim et al, 2012b）。上記の過剰な古典的 Wnt シグナル伝達により、象牙質厚が増加したが、それとは対照的に OCN プロモーター下で *Wls*（Wnt リガンド分泌に重要なシャペロン）の条件付き欠失により Wnt シグナル伝達が象牙芽細胞で無効になるマウスにおいて、Wnt シグナル伝達の減少で象牙質厚が増加する所見が認められている。これらのマウス門歯では Wnt 依存的な *Runx2*（象牙芽細胞の分化抑制調節因子）の上方制御が欠如する結果、幹細胞が象牙芽細胞系細胞へ補充されることにより象牙質厚が増加すると考えられる（Lim et al, 2014）。

完成した歯を持つ成人では形態形成が完了しているので Wnt シグナル伝達の役割はより制限されている。しかし、Wnt シグナル伝達は、歯の修復、歯の幹細胞の維持や活性化に役割を担っている可能性がある。このことは、歯周欠陥及び歯髄損傷モデルにおける Wnt シグナル伝達の局所活性化により象牙質及びセメント質再生が亢進することから示唆される（Han et al, 2015; Hunter et al, 2015）。成熟げっ歯類において、門歯は歯の成長を持続するために Wnt シグナル伝達への依存を維持しながら継続的に成長するので例外である（Lim et al, 2014）。

3.4.7.2 歯の組織要素におけるスクレロスチンの発現及び生物学的機能

成熟マウスとヒトの歯において、スクレロスチンの発現は象牙芽細胞ではなく細胞セメント質のセメント細胞において IHC で確認されている（Jager et al, 2010; van Bezooijen et al, 2009）。成人の歯の象牙芽細胞においてスクレロスチンの発現が認められないのとは対照的に、マウスでは歯の形態形成期間中の象牙質基質分泌段階の分泌象牙芽細胞で発現している（Naka and Yokose, 2011）。スクレロスチンの mRNA とタンパク質の発現が *in vitro* で、石灰化している歯根膜培養体で確認され、これは後期分化マーカーと一致する（Jager et al, 2010）。成人の歯におけるスクレロスチンの役割は不明である。セメント細胞によるスクレロスチン発現はセメント芽細胞の増殖や分化に対する負のフィードバックに関与しているかも知れない。したがって、セメント質厚の調節は成長板軟骨で提唱されている役割と似ているかも知れない。スクレロスチン欠乏は、セメント質増殖症につながり、歯周空間の狭小化や局所強直（空間骨橋）、さらには歯と歯槽骨の間のより強固な結合を引き起こす。これは硬結性骨化症患者で抜歯が困難であることの説明になるかも知れない（Stephen

et al, 2001）。しかし、硬結性骨化症患者のセメント質の変化に関する報告はない。Van Buchem 病患者の少数の標本においてセメント質増殖症は X 線検査や組織学的検査で検出されなかったが、無細胞セメント質及び細胞セメント質の臼歯セメント質増殖症が *Sost*$^{-/-}$マウスで報告されており、生涯にわたるスクレロスチン欠如がセメント質厚に影響を及ぼすことが示されている（Kuchler et al, 2014; van Bezooijen et al, 2009）。

3.4.7.3 歯の構造に対するロモソズマブによるスクレロスチン抑制の作用

歯の構造に対するロモソズマブの作用をラット生涯投与薬理試験で検討した（107895 試験）。異常象牙質、小歯、臼歯摩耗、エナメル芽細胞変性、奇形歯及び歯のくぼみなどの非腫瘍性所見の発生率に対してロモソズマブの作用は認められなかった。

ロモソズマブ 50 mg/kg の高用量を投与した 3 匹の雌性ラットで門歯の象牙質の肥厚が観察されたが、発生率が低く、この象牙質の肥厚はロモソズマブ投与との関連はないと考えられた。ロモソズマブは歯の腫瘍の発生を増加させなかった。すべての投与群の雌性ラットにおいて門歯由来の歯牙腫が同様の発生率で観察された。象牙質の肥厚に対する古典的 Wnt シグナル伝達の作用に関して試験により相反するデータが得られている。すなわち古典的 Wnt シグナル伝達の活性化と抑制の両方が象牙質の肥厚を増加させると報告されている（Kim et al, 2011b; Lim et al, 2014）。ラットの門歯は持続的に成長する歯であり、象牙質の肥厚は歯の間葉系細胞におけるβ–カテニンの持続的な活性化を伴うマウスで発生している歯で観察されることから、象牙質の変化は分泌象牙芽細胞でスクレロスチンが抑制された結果であるかも知れない。

結論として、臨床試験データを含む（20070337 試験第 11.1.2 項）利用できるデータから、完全な永久歯を持っているヒト成人ではロモソズマブによりスクレロスチンを抑制しても歯の構造に負の影響を及ぼさないことが示唆される。発生中の歯では複数の組織がスクレロスチンを発現しており、歯の形態形成は古典的 Wnt シグナル伝達の変化に敏感であるため、小児の発生過程の歯に対するロモソズマブの影響に関して考察するのは重要である。

3.4.8 ロモソズマブが顎骨壊死のリスクを増大させる理論上の懸念

ロモソズマブは骨に対してデュアルエフェクトを示すが、そのうちの 1 つである骨吸収抑制作用によりロモソズマブが顎骨壊死（ONJ）の発生リスクを増大させる理論上の懸念が考えられる。ONJ と関連する薬剤と対照的に、皮質骨や海綿骨の骨吸収に対するロモソズマブの作用は明らかに異なる点及び骨吸収を抑制する分子機序から、ロモソズマブが ONJ に対して意義のあるリスクを示さないことが裏付けられる。

3.4.8.1 顎骨壊死とリスク因子

ONJ は顎顔面部位において壊死骨の露出を特徴とする状態である。この状態はビスフォスフォネートを投与した患者で最初に報告され（ビスフォスフォネート関連 ONJ 又は BRONJ として知られる）、その後デノスマブを投与した患者でも報告された（Aghaloo et al, 2010; Diz et al, 2012; Papapoulos et al, 2012; Taylor et al, 2010）。ONJ の発生率は腫瘍患者で最大 1～15%であり、骨粗鬆症

患者では 0.001～0.01%であると見積もられていることから、一般の発生率（0.001%以下）よりもわずかに高い。米骨代謝学会の専門部会にしたがって確定 ONJ は（1）顎顔面部位の骨露出を医療従事者に診断されてから 8 週間以内に治癒しない、（2）骨吸収抑制薬の投与、（3）頭顔部位への放射線治療経験なし、と定義されている（Khan et al, 2015）。ONJ の鍵となるリスク因子としては骨吸収の抑制、炎症及び感染の両方又はどちらか、及び外傷が含まれる。

ONJ は骨代謝回転の抑制と密接な関連がある。骨代謝回転の薬理的抑制の程度及び期間は ONJ のリスクを有意に増大させると思われる。ONJ の発生率は高用量のビスフォスフォネートの投与を受けている患者で高くなり、そのリスクはビスフォスフォネートの効力、累積用量及び静脈内（IV）投与によって増加する（Barasch et al, 2011; Cartsos et al, 2008; Ruggiero et al, 2009）。これらの因子が揃うと顕著で持続的な骨代謝回転の抑制が誘発される。症例研究、比較試験及びコホート試験で報告されているビスフォスフォネートの静脈内投与を受けているがん患者における ONJ の累積発生率は 0.8～12%である（Ruggiero et al, 2009）。対照的に、骨粗鬆症の治療のために低用量のビスフォスフォネートの経口投与を受けている患者では 0.00038～0.06%の発生率である（Ruggiero et al, 2009）。顎の骨代謝回転の基本比率が高いと骨吸収抑制薬の作用に対する感受性が高くなるのかも知れない。シンチグラフィーデータから、ビスフォスフォネートは大腿骨の骨代謝回転に比べて顎の骨代謝回転に対してより強力な作用を発揮することが示されている（Van den Wyngaert et al, 2010）。ビスフォスフォネート投与に続発する歯槽骨密度の増加は、抜歯した患者や骨痛又は感染などの前駆徴候を伴う患者における ONJ の発生と関連している（Hutchinson et al, 2010; Takaishi et al, 2010）。

化膿及び潜在的な経口感染所見を有すると ONJ が発生しやすくする（Barasch et al, 2011）。炎症性の歯科疾患の病歴があり、ビスフォスフォネートの静脈内投与を受けているがん患者は ONJ 発症リスクが 7 倍になる（Hoff et al, 2006）。局所の骨髄炎は ONJ を促進させる鍵となる因子であると報告されている（Wimalawansa, 2008）。細菌感染が一次的か二次的イベントかは不明であるが、細菌の存在、特に放線菌の存在は ONJ の組織標本に共通した所見である（Hansen et al, 2007）。2009 年の CHMP 評価報告書では、骨吸収と代謝回転が低下している患者において感染又は顎骨露出のイベントのリスクは ONJ を促進すると述べている（European Medicines Agency (EMA), Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) 2009）。

臨床診断の数カ月前に ONJ 患者の顎に強い放射性核種の取込みが見られるということから、炎症が ONJ の鍵となる早期イベントであることが示唆されている（Lesclous et al, 2009）。骨吸収が低下した顔面における炎症の悪影響は大理石病患者で顎顔面骨髄炎が頻繁に合併することから明白である（Bakeman et al, 1998; Waguespack et al, 2007）。外傷は ONJ のリスク因子であると考えられている。ONJ 例の 70%が抜歯又はその他の歯槽手術の経験があり（King and Umland, 2008）、ビスフォスフォネートの静脈内投与を受けている患者は歯槽手術後に OJN を発症する確率が 7 倍以上になる（Badros et al, 2006）。ONJ に関連した病変は、粘膜と骨膜の距離が近い下顎骨や、薄い粘膜カバーで覆われている部位でより頻繁に観察される。ロモソズマブは軽度の骨吸収抑制作用を示すので理論上 ONJ のリスクがある。

3.4.8.2　スクレロスチンの欠損又は阻害

硬結性骨化症患者における ONJ の報告例がないため、生涯にわたるスクレロスチン欠乏と ONJ は関連がないと思われる（Hamersma et al, 2003）。生涯にわたってロモソズマブを投与したラットでの歯科疾患又は炎症は ONJ 様所見と関連していなかった（107895 試験）。剖検時の口腔の肉眼的検査により露出骨は認められなかった。すべての動物において鼻甲介レベル II 切片（顎門歯切片）を検査し、肉眼的に臼歯摩耗を伴う動物については追加で頭蓋骨切片を収集して検査した。ロモソズマブは臼歯摩耗の発生率に影響を及ぼさなかった。臼歯摩耗は ONJ のリスク因子である歯槽炎症と概して関連したが、この炎症に関連した骨壊死は観察されなかった。壊死は壊死性の歯牙破片に限られていた（表 22）。

表 22　生涯にわたってロモソズマブを投与したラットにおける歯科所見の発生率

	0 mg/kg N= 60 males n (%)	3 mg/kg N= 60 males n (%)	10 mg/kg N= 60 males n (%)	50 mg/kg N=54 males n (%)	0 mg/kg N-60 females n (%)	3 mg/kg N=60 females n (%)	10 mg/kg N=60 females n (%)	50 mg/kg N=60 females n (%)
Total molar attrition/dental injury/ inflammation	4 (6.7%)	4 (6.7)	8 (13.3)	6 (11.1)	8 (13.3)	3 (5.0)	3 (5.0)	2 (3.3)
Total with necrotic molar fragments surrounded by inflammatory cells	3 (5.0)	4(6.7)	7 (11.7)	3 (5.6)	3 (5.0)	2 (3.3)	1 (1.7%)	0
Total with bone necrosis	0	0	0	0	0	0	0	0

Source: Study 107895; Incidence based on primary morphological diagnoses and free text comments

以上のデータから、ラットにロモソズマブを生涯曝露しても門歯摩耗又は歯牙炎症に関連した歯槽骨壊死になりやすくなっていないことが示唆される。

OVX ラットを用いた結紮誘導歯周炎モデルにおいて、Scl-Ab 25 mg/kg を週 2 回投与（210 mg の用量を月 1 回投与した時の臨床曝露量に比べて約 31 倍高い曝露量に相当すると推測される用量）すると、歯槽骨頂高が改善し、歯槽骨骨量が増加した。Scl-Ab は溶媒投与結紮ラットで観察された血清骨吸収マーカー（TRAP 5b 及び CTX）の全身的な上昇を減少させたが、その減少はそれほど大きくなく、骨吸収活性は維持されていた。これは歯根部歯骨における TRAP 陽性破骨細胞数の測定に裏付けられた，歯周炎状態でも Scl-Ab が破骨細胞の数を対照群レベルにまで正常化できるという現象によって支持されている（Chen et al, 2015）。以上のデータから、このような高用量でも、炎症部位の下顎の破骨細胞活性は対照レベルに維持され、Scl-Ab による骨吸収減少はあまり大きくなかった。老齢 OVX ラットを用いて実験的に結紮誘導歯周炎を誘導させた別の試験を実施し、スクレロスチン阻害が ONJ の発生リスクを増大させる可能性について検討した。ゾレドロネート投与群では、X 線検査及び組織学的検査より ONJ を特徴づける所見が認められた。一方、対照群である媒体投与群では所見は認められなかった。Scl-Ab を、ロモソズマブの AUC に基づいた臨床用量での全身曝露量に相当すると推測される用量で投与した動物では、組織形態計測による骨吸収の全身的阻害がみられ、また、組織学的検査からは結紮部位において軽度の歯槽骨喪失が確認されたものの、X 線検査及び組織学的検査より ONJ の徴候は認められなかった（122002 試験）。破骨細胞活性が維持されることにより、炎症に続発する壊死骨を効果的に除去することができる。Scl-Ab を投与した時に破骨細胞の活性が維持されることを示す更なるデータは、損傷に対する反応の一部としてカニ

クイザル腓骨骨折治癒モデルで観察されている。骨形態計測によると対照群と比べてロモソズマブは皮質骨多孔率に対して影響を及ぼさず、想定したように損傷皮質のリモデリングは損なわれていなかった（108288 試験）。OVX カニクイザルに 30 mg/kg の用量でロモソズマブを投与して術後 9 カ月まで生検部位を収集したところ、治癒部位に持続的な骨切断術線又は骨破片が観察されなかったことから、リモデリングが活性化状態であり、骨破片を吸収する能力が維持されていることが示された（107903 試験）。以上の結果は、強力な骨吸収抑制薬であるデノスマブの作用とは対照的であり、デノスマブを投与したカニクイザルでは、術後 9 カ月まで生検部位において持続的な骨切断術線と骨破片が認められている（病理報告書 103981 試験）。

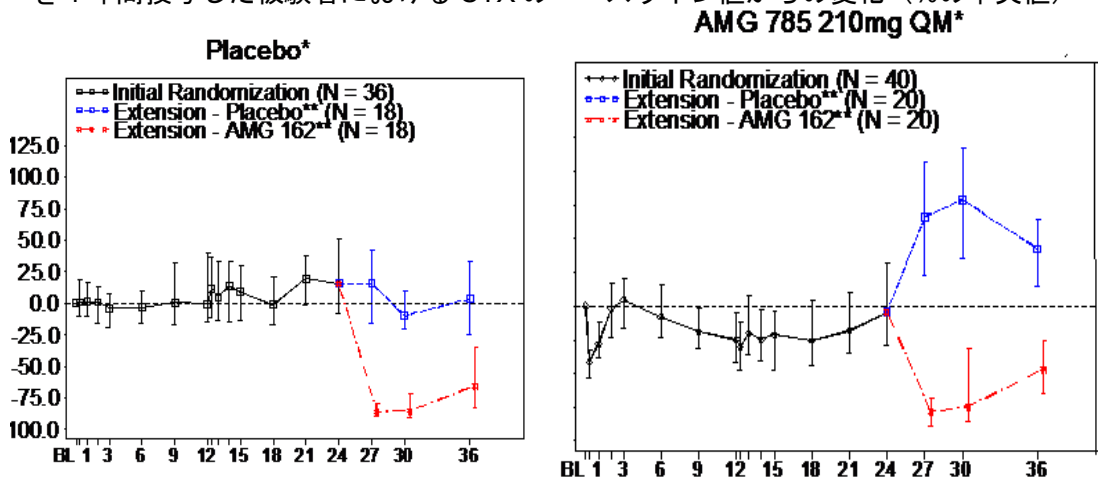
骨折修復モデルにおいて損傷に応じた局所の骨吸収に対する骨吸収抑制薬の作用をさらに比較検討した。骨折は炎症反応を促進し、破骨細胞活性は正常な骨修復及び仮骨リモデリングに必要である。開放性で安定化させたラット大腿骨骨切断術モデル（Suen et al, 2014）において、術後翌日から 3、6 又は 9 週間ラットに溶媒又は Scl-Ab（25 mg 週 2 回）を投与した。Scl-Ab を投与すると 6 週で組織学的に骨折仮骨軟骨が有意に減少し、9 週で骨容積が増加したが、これは破骨細胞による骨吸収に大きく依存する過程である軟骨骨化及び骨折仮骨のリモデリングの亢進と一致した。この現象は、同様のげっ歯類骨折モデルにおいて破骨細胞の機能及び生存率を抑制する薬剤（ビスフォスフォネート）、あるいは破骨細胞形成を阻害する薬剤（RANKL 阻害剤）を投与すると骨折仮骨リモデリングが遅延するという報告とは対照的である（Flick et al, 2003; Li et al, 1999; McDonald et al, 2008; Ulrich et al, 2005）。仮骨リモデリングに対するこれらの薬剤の作用の違いは破骨細胞系細胞に対する作用機序の違いによるものであると思われる。RANKL 抑制剤とビスフォスフォネートの骨吸収抑制の機序は、局所損傷シグナルに応じた破骨細胞形成の抑制、あるいは破骨細胞の長期機能障害とそれぞれ関連している。

3.4.8.3 軽度骨吸収抑制薬を投与した患者の顎骨壊死

骨吸収をより穏かに抑制する作用を持つ骨吸収抑制薬は、ONJ の発生率を高めることはないと思われる。カテプシン K 抑制剤であるオダナカティブの臨床試験において 5 年間の投与で骨吸収マーカーは約 55%減少したが、ONJ の発現は観察されなかった（Chapurlat, 2015; Langdahl et al, 2012）。選択的エストロゲン受容体調節剤であるラロキシフェンを投与した 1 例の患者で ONJ の発現が報告されているが、報告例はこの 1 例だけでこの患者における骨吸収マーカーは約 20%減少していた（Baur et al, 2015; Prestwood et al, 2000）。ラロキシフェンに比べて結合型ウマエストロゲンは骨吸収マーカーをより強力に減少（約 50%）させるが、ホルモン補充療法を受けた患者で ONJ の発症リスクが高まるという報告はない。

ロモソズマブは全身の骨吸収を軽度に抑制する薬剤であり、骨吸収バイオマーカーの減少も軽度である。ロモソズマブの 20060326 試験の 36 カ月にわたる解析（モジュール 2.7.3 第 2.2.1 項）において、210 mg の用量を月 1 回投与した時の CTX のベースライン値からの変化（%の中央値）は、1 週間と 1 日目で-41.1%、24 カ月目で-7.6%であった。ロモソズマブを前投与してもデノスマブの骨吸収マーカーに対する作用は変化しなかった。CTX は 27 カ月の時点で-86.4%、36 カ月の時点で-58.5%であり、ロモソズマブの投与経験がなく 60 mg のデノスマブを 6 カ月に 1 回投与した被験者と同等であった（Brown et al, 2009）（図 36)。

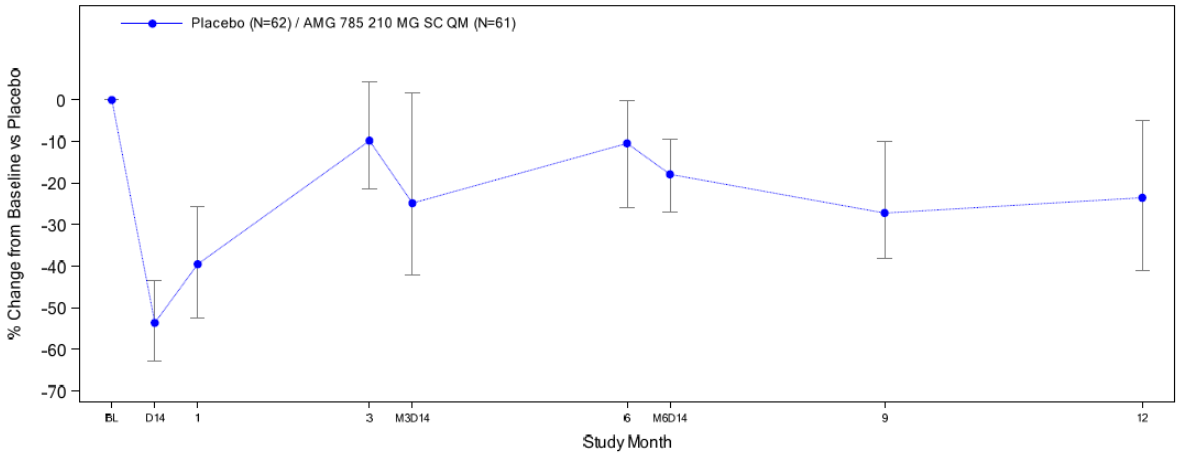
図 36　ロモソズマブ 210 mg を月 1 回 2 年間投与し、その後プラセボ又はデノスマブ（AMG 162）を 1 年間投与した被験者における CTX のベースライン値からの変化（%の中央値）



N=number of subjects randomized in to the extension phase
Medians and interquartile range
* Randomized treatment group up to Month 24
** Randomized treatment group for the extension phase

20070337 試験（モジュール 2.7.3 第 3.2.3.1 項）において、12 カ月二重盲検期間中、ロモソズマブの投与により、血清 CTX 及び TRAP5b が中等度減少した。すなわち、12 カ月時点でプラセボ投与群に比べて CTX が約 24%減少した（図 37）。この血清骨吸収バイオマーカーの減少レベルと関連して、海綿骨形成速度中央値（BFR/BS）に基づくとロモソズマブ投与群ではプラセボ投与群と比べて海綿骨リモデリング速度が約 80%減少した。対照的に、デノスマブを投与した第 2 期の 12 カ月期間中には血清骨吸収マーカーがベースライン値と比較して 80%以上減少し、海綿骨リモデリング速度が約 97%減少した（Reid et al, 2010）。ロモソズマブとデノスマブの間で全身の骨バイオマーカーと組織リモデリング速度の減少度合が違うことから、腸骨稜の海綿骨リモデリング速度が、他の骨格部位、とりわけ皮質骨のリモデリング速度を反映しない可能性があることが強く示唆される。デノスマブ投与により全身のバイオマーカーと腸骨稜における海綿骨リモデリングが比較的同様に変化するが、この現象は骨格を通してより全身的に骨吸収が抑制されることと一致する。第 3.4.13.1 項で考察したように非臨床及び臨床試験データから、ロモソズマブは皮質骨内リモデリングを抑制しないことが示される。硬板骨は構造的に明らかに皮質骨や海綿骨ではないので ONJ の病因において海綿骨対皮質骨の相対的なリモデリング抑制の重要性は不明である。しかし、第 3.4.8.2 項で考察した非臨床試験データから、ロモソズマブはラットの特に顎の損傷に応答した骨吸収を有意に抑制しないことが示唆される。

図 37　ロモソズマブを投与した被験者の来院時の血清 CTX レベルのベースラインからの変化（%）：プラセボ投与群の中央値と 95%信頼区間との比較
（20070337 試験アドホック解析）



N = Number of randomized subjects enrolled in the BTM and biomarker substudy with baseline and at least one post-baseline reported result for the parameter of interest
Median and 95% confidence intervals are based on 10,000 bootstrapped samples.

要約すると、骨バイオマーカー、骨生検及び臨床骨密度データから、ロモソズマブの骨吸収に対する作用は、部位及び骨コンパートメントに特異的であることが示唆される。

しかし、歯槽骨における骨吸収及びリモデリングに対するロモソズマブの作用は不明である。ビスフォスフォネート及び RANKL 抑制因子と対照的に、抗スクレロスチン抗体を投与した動物では破骨細胞が損傷や炎症に応答できることを示す非臨床試験データを考慮すると、臨床推奨用法用量でロモソズマブを投与した時に治療対象とする患者集団において ONJ の発生率を増加させるようなリスクはないと思われる。

3.4.9　造血に対するロモソズマブの作用に関する理論上の懸念

骨芽細胞及びその前駆細胞系細胞は、造血維持に必要な骨髄ニッチ細胞の一員である。骨形成に対するロモソズマブの作用は骨芽細胞系細胞の制御を介して生じるため、造血に対する作用は理論上懸念になる。ロモソズマブを長期間投与したラットにおいて軽度で可逆的な血液学的変化が観察されるが、カニクイザルを用いた長期試験及び臨床試験データから、現在の臨床推奨用法用量でロモソズマブを投与しても血液学的作用を示すリスクは低いことが裏付けられる。

3.4.9.1　骨髄ニッチにおける骨微小環境と骨芽細胞の役割

異なる造血細胞系細胞やステージに必要となる様々なニッチを有する骨髄の造血及び非造血コンパートメントの間には複雑な相互作用が存在する（Boulais and Frenette, 2015）。最近のデータから骨髄には血管/類洞周囲と骨内膜性骨芽細胞の 2 つのタイプの造血ニッチが存在することが示されている。血管周囲ニッチは、Cxcl-12 が多い網状細胞及び静脈洞と関連している間葉系及び造血幹細胞（HSC）を含んでいる（Mendelson and Frenette, 2014）。骨内膜性の骨芽細胞ニッチは骨表面に近い部分に存在し、長期の HSC 及び B 細胞や赤血球系細胞など特異的造血細胞系細胞を支える（Lawal and Calvi, 2011; Manilay and Zouali, 2014; Morrison and Scadden, 2014）。骨芽細胞系細胞は骨髄間質の

形成や維持に寄与する（Liu et al, 2013）。造血が骨芽細胞系細胞へ依存していることは、分化後期の骨前駆細胞及び成熟骨芽細胞を除去した Col2.3 デルタチミジンキナーゼマウスにガンシクロビルを投与することにより明らかにされている。上記細胞の除去により骨髄のリンパ球、赤血球及び骨髄前駆細胞の枯渇が起き、続いて HSCs の数が減少するが、B 細胞（プレ–プロ–B 及びプロ–B 細胞）及び赤血球系細胞の減少が最初に生じる（Zhu et al, 2007）。対照的に、同様のモデルで OCN 陽性骨芽細胞を除去しても造血系の変化は起きなかった（Corral et al, 1998）。OCN は骨芽細胞系細胞のより分化したステージで発現するので、これらの違いは骨前駆細胞が造血の鍵となる調節因子であることを示している可能性がある。造血機能を支える能力は、骨芽細胞成熟マーカーである CD166 発現の減少とともに漸次消失する（Chitteti et al, 2013）。

マウスを用いた *in vivo* 試験で、骨芽細胞系細胞のサブセットが枯渇すると、オステリックスを発現している骨前駆細胞が枯渇し、B 細胞前駆細胞の減少につながることが示されている（Greenbaum et al, 2013; Yu et al, 2015）。骨芽細胞系細胞の分泌因子のいくつかは、造血を調節することが示されており、HSC の休止状態を促進するアンジオポエチン-1 及びトロンボポエチンや、ニッチ刺激下の過剰な幹細胞増加を制限する抑制性調節因子であるオステオポンチン（Stier et al, 2005）などを含む（Arai et al, 2004; Qian et al, 2007; Yoshihara et al, 2007）。多くのデータからケモカインの Cxcl12 が造血を制御する骨髄間質細胞及び骨芽細胞系細胞の鍵となる分泌産物であることが示されている。Cxcl12 は骨髄における HSC の維持と保持に必要である。Cxcl12 は IL-7 とともに B 細胞系の前駆細胞の増殖と維持の制御において重要な役割を担っている（Panaroni and Wu, 2013）。これらの重要な因子はいずれも骨芽細胞系細胞で産生される可能性があり分化の初期においてより高い発現を示す（Jung et al, 2006; Zhu et al, 2007）。プレ–プロ–B 細胞は *in vivo* で Cxcl12 を発現する間質細胞に密接に接触して局在している（Tokoyoda et al, 2004）。骨芽細胞及び血管周囲の間質細胞の両方で Cxcl12 を条件付きに欠失させると、リンパ球系共通前駆細胞が減少したが、骨前駆細胞で欠失させると B リンパ球前駆細胞が減少した（Ding and Morrison, 2013; Greenbaum et al, 2013）。Cxcl12 発現骨髄細胞を短期的に欠損させると循環リンパ球前駆細胞の著しい減少につながる（Omatsu et al, 2010）。骨髄の B 細胞発生と比べると赤血球生成の制御における骨芽細胞系細胞の役割は良く解明されていない。リンパ球前駆細胞に対する影響に加えて、赤血球生成が間質細胞の Cxcl12 発現に依存していることが短期の欠損試験で示されている（Omatsu et al, 2010）。エリスロポエチンにより赤血球生成を誘導すると、間接的機序により骨形成が低下することから、赤血球生成と骨芽細胞形成の間に相互に逆相関性が存在するかも知れない（Hiram-Bab et al, 2015）。あるいは、低酸素誘導因子により赤血球生成を直接的に促進するため、骨芽細胞がエリスロポエチンの源であるかも知れない。骨前駆細胞における低酸素誘導因子シグナル伝達の亢進は、赤血球系細胞の選択的増加と関連している HSC ニッチの増加につながると報告されている（Rankin et al, 2012）。要約すると、以上のデータから、骨内膜性ニッチ及び早期骨前駆細胞系細胞は、B 細胞リンパ球生成及び赤血球生成において重要な役割を担っている Cxcl12 の重要な産生源である。

3.4.9.2 骨髄ニッチにおける Wnt シグナル伝達の役割

Wnt シグナル伝達は骨髄微小環境において区分けされていると思われる。Wnt 受容体の恒常的な発現が間質細胞に集中している一方で、リガンドの発現は造血細胞に集中している。活性型β–カテ

ニンは長期 HSCs に関連する骨内膜性ニッチの骨芽細胞系細胞に集中している。ノッチシグナル伝達は骨内膜性ニッチにおいて Wnt シグナル伝達により制御される（Oh and Humphries, 2012）。血管周囲の間質細胞も Wnt 応答性である（Kim et al, 2009）。間質細胞の古典的 Wnt シグナル伝達が造血前駆細胞の維持に必要であることが示されている。β–カテニンが欠乏している骨髄間質細胞を未処置の造血細胞とともに培養すると、短期間で高レベルのアポトーシスが、造血細胞に観察された（Nemeth et al, 2009）。骨芽細胞の分化段階が異なると Wnt シグナル伝達は造血に対して異なる結果を導く。成熟骨芽細胞において古典的 Wnt シグナル伝達を恒常的に活性化するとマウスにおいて大理石骨病やノッチシグナル伝達の過剰活性化、骨髄異形性及び急性骨髄性白血病につながるが（Kode et al, 2014）、この件については第 3.4.3.5 項でより詳細に考察する。対照的に、骨細胞において古典的 Wnt シグナル伝達が恒常的に活性化すると骨形成と骨吸収が増加し、有意な血液学的作用はない（Tu et al, 2015）。以上のデータから、骨内膜性のニッチは Wnt シグナル伝達に応答し、造血を制御するためにパラクリンの内在性 HSC と連携することが示唆される。造血を制御する多くの重要な遺伝子の中で、Cxcl12 は間質細胞や骨芽細胞系細胞で産生される Wnt 標的遺伝子である（Manilay and Zouali, 2014; Tamura et al, 2011）。

3.4.9.3　造血に対するスクレロスチン欠損の作用

スクレロスチンが生涯欠如しているヒトやマウスで末梢血液が変化するという報告はない（Hamersma et al, 2003; Li et al, 2008）。しかし、Cain らは、*Sost*$^{-/-}$マウスで骨髄 B 細胞の割合と総数の有意な減少を特徴とする特異的な骨髄変化を報告している（Cain et al, 2012）。B 細胞の減少は、B 細胞発生の各段階、すなわち前駆細胞、未成熟細胞及び再循環におけるアポトーシスレベルの増加と相関する。B 細胞発生過程の阻止がプロ–B/プレ–B-1 ステージで示され、後期プレ–B ステージまで維持された。*Sost* はいかなる造血系細胞にも発現されておらず、*Sost*$^{-/-}$マウスでの B 細胞の欠陥は細胞非自律的であり、このことは移植実験で確認された。以上の試験結果から、*Sost*$^{-/-}$マウスの骨環境は正常 B 細胞の発生を十分に支えることはできず、*Sost*$^{-/-}$マウスの骨髄間質細胞で観察された Cxcl12 発現の減少の結果であると考えられた。*Sost*$^{-/-}$マウスの骨髄における B 細胞の減少は脾臓には及ばず、B 細胞に対する作用は末梢リンパ器官における生存と抗原提示に影響を及ぼさないことが示唆される。骨髄細胞と造血細胞の総数も *Sost*$^{-/-}$マウスで減少したが、野生型のマウスと比較してその他の様々な細胞系統又は前駆細胞の割合に違いはなかった。これら後者の作用は HBM 表現型及び骨髄容積減少の結果と考えられる。

B 細胞の発達障害は、軟骨骨化が起きている間の骨吸収の減少に起因する HBM 表現型及び大理石骨病を伴う他のマウスモデルで報告されている（Blin-Wakkach et al, 2004; Franzoso et al, 1997; Kong et al, 1999; Scimeca et al, 2000）。B 細胞の発達障害は、破骨細胞の活性を抑制して大理石骨病表現型を誘導するゾレドロン酸（強力なビスフォスフォネート）を投与した成長中の幼若マウスでも誘導できる。ゾレドロン酸投与に応じて、B 細胞数は骨髄で 50%減少し、プレ–プロ–B 細胞ステージからのすべてのサブセットに影響がある。この減少は、B リンパ球又は骨芽細胞や間質細胞に対するゾレドロン酸の直接的作用によるものでなく、骨髄における Cxcl12 及び IL-7 の発現減少と関連した。骨吸収が抑制されたので骨形成が連動して抑制され、骨前駆細胞数が減少した（コロニ

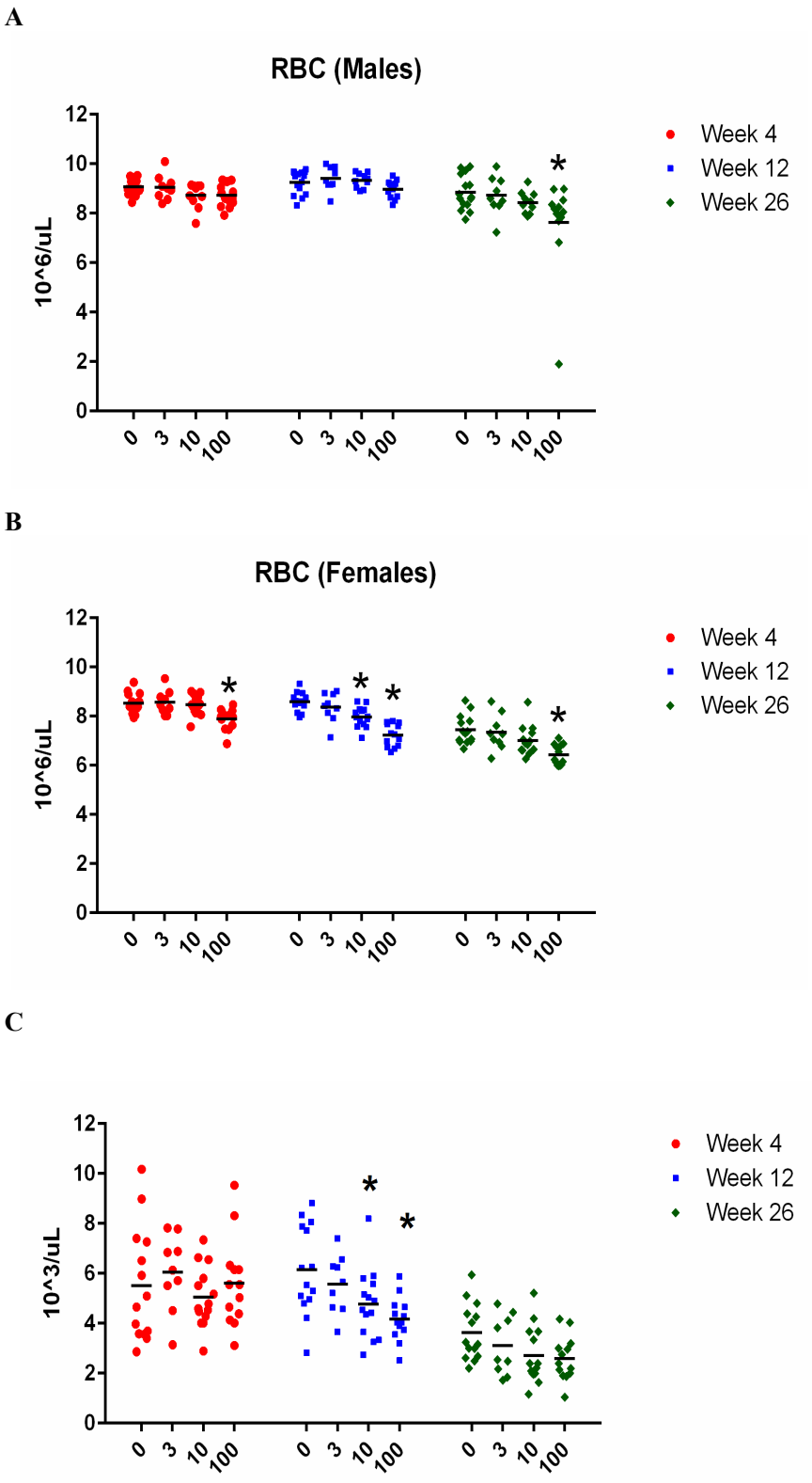
一形成単位–線維芽細胞）。骨代謝回転を回復させることで B 細胞の発達も回復した（Mansour et al, 2011）。

以上の収集データから、骨髄間質細胞又は骨芽細胞系細胞における Cxcl12 発現の減少は骨髄 B 細胞の発生に欠陥を引き起こすことが裏付けられる。CxCl12 の骨髄 B 細胞の発生に対する作用は、Cxcl12 の減少が古典的 Wnt シグナル伝達の活性化（*Sost*$^{-/-}$マウスの場合）の結果であろうと、骨形成減少と関連した骨前駆細胞集団の減少の結果であろうと同様である。

3.4.9.4 造血に対するスクレロスチン抑制の作用

ラットにロモソズマブを 100 mg/kg の用量で 26 週間投与（210 mg の用量を月 1 回投与した時の臨床曝露量に比べて 4 倍高い曝露量）すると、血液パラメータが軽度に変化した（107425 試験）。 雌雄ラットにおいて平均赤血球数（RBC）（図 38A 及び B）、ヘモグロビン及びヘマトクリットが若干減少し（最大 16%）、4、12 及び 26 週時点で赤血球分布幅の若干の増加傾向が観察された。これらの赤血球細胞パラメータの減少は概して血小板数の減少（最大 19%）と一致した。付随変化として、再生赤血球細胞と血小板反応（例えば、網状赤血球及び血小板容積の増加）が観察された。雌性ラットに 10 及び 100 mg/kg の用量を投与すると 12 及び 26 週で白血球細胞数（好酸球及び単球を含む）が若干減少したが、これに付随して 12 週でリンパ球が一過性に若干減少した（最大 33%）（図 38C）。一般的に、血液に対するこれらの作用は反転するか、又は回復期間中に可逆性を示した。回復期の終わりに細胞が増加した以外は骨髄に関する組織学的所見は認められなかった。

図 38　ロモソズマブを 0、3、10 又は 100 mg/kg の用量で 26 週間毎週投与したラットの赤血球及びリンパ球数



Source: Study 107425.

Anti-drug antibody positive animals are excluded. Horizontal bar indicates group mean; * $p < 0.05$

ロモソズマブを投与したカニクイザルでわずかな血液学的変化が観察された。ロモソズマブを最高 100 mg/kg の用量で 26 週間投与したサルでの変化は、平均 RBC 数の若干の減少に限られ、その程度は 100 mgkg の用量で約 12%であり、雄性サルでは 4 週で雌性サルでは 26 週で観察された。これらの軽度な作用は 210 mg の用量を月 1 回投与した時の臨床曝露量の 93 倍の曝露量で生じ、数値はサルの正常範囲内であった。骨髄にリンパ球数や顕微鏡的所見の変化は認められなかった（107426 試験）。ロモソズマブを 30 mg/kg の用量で 52 週間投与した老齢 OVX サルにおいてヘモグロビンとヘマトクリットが若干一過性に減少（最大 5%）したが、この減少はロモソズマブ 30 mg/kg（210 mg の用量を月 1 回投与した時の臨床曝露量の 22 倍の曝露量に相当する）の投与期間の中間で観察された。投与 35 週で実施した免疫表現型検査では末梢 B 細胞に対するロモソズマブの作用は認められなかった（107903 試験）。ロモソズマブを投与したラットにおける血液学的変化の発症機序には多くの因子がかかわっていると思われる。骨髄ニッチの間質細胞群は Wnt シグナル伝達に応答性があると考えられている。Cxcl12 が Wnt の標的遺伝子であることから、ロモソズマブを投与すると骨髄で Cxcl12 の発現が減少することは予測された結果である。Cxcl12 が Scl-Ab を投与したラットの骨細胞で顕著に減少することが示されている（115777 試験）。さらに、Scl-Ab 又はロモソズマブの長期投与により、Cxcl12 の重要な産生源である骨前駆細胞の総数は骨形成の自己制御の一部として減少する（115776 及び 115777 試験）。リンパ球生成及び赤血球生成に対する作用は Cxcl12 の発現減少の結果であると考えられる。また、骨髄容積の減少は血液学的変化に寄与すると考えられる。ほとんどの作用は、骨量が有意に増加し、骨髄容積が減少する投与期間の後半に認められた。したがって、骨髄空間の減少は、HBM を呈する *Sost*$^{-/-}$マウスの骨髄で観察される総骨髄及び赤血球細胞数の減少と一致した血液学的変化に寄与すると思われた（Cain et al, 2012）。回復期間中に、増加した骨量の吸収、骨髄容積の増加、骨代謝回転の亢進及び骨前駆細胞数減少の反転が起こることから、これらの血液学的作用が可逆的であると考えられた （115777 試験）。ラットの生涯投与薬理試験で白血球数の有意な減少や B 細胞機能障害の結果として生じると思われる細菌感染に対する感受性増加を示唆するような所見がないことから、これらの血液学的変化の長期的な副作用はなかった（107895 試験）。骨芽細胞系細胞の調節因子としての役割と、血液学的パラメータにより骨量増加が特徴付けられるもう一つの骨形成促進薬である hPTH (1-34)に関して、ラットにおける赤血球細胞パラメータ並びに白血球細胞数及びリンパ球数に対する同様の作用が報告されている（FDA, 2002）。以上のデータから、ロモソズマブの投与は軽度の可逆的血液学的変化を誘発することが示される。血液学的変化は、カニクイザルではごくわずかであり、ラットで最も顕著である。これらの変化は、間質細胞や骨芽細胞系細胞において古典的 Wnt シグナル伝達を亢進させるというロモソズマブの目的とした薬理活性に由来し、その結果として、主に赤血球細胞やリンパ球系細胞に作用すると考えられる。ロモソズマブが誘発する骨量増加とそれに続く骨髄空間の減少も血液学的変化に寄与する因子であると思われるが、この血液学的変化は治療対象とする低骨量を伴う骨粗鬆症患者集団では起こり得ないことであると思われる。

臨床試験データは、ロモソズマブが対照患者において造血系への意味ある影響はないことを示す（モジュール 2.7.4）。結論として、得られた非臨床及び臨床データから、ロモソズマブの臨床推奨用法用量では対象とする患者集団において有害な血液学的作用のリスクがないことが裏付けられる。

3.4.10 ロモソズマブのサルコペニアに関する理論上の懸念

Sost$^{-/-}$マウスで筋重量が減少することが最近報告されている。サルコペニアは硬結性骨化症や Van Buchem 病の特徴ではなく、文献、非臨床及び臨床データから、ロモソズマブがサルコペニアのリスクを有することは示されない。

3.4.10.1 筋肉量に対するスクレロスチンの欠損及び阻害の影響

近年、Krause らは、*Sost*$^{-/-}$マウスでは週齢が同じ野生型マウスと比べて除脂肪体重と腓腹筋重量が減少していることを学会要旨で報告した（Krause et al, 2014）。スクレロスチンは骨格筋で発現していないので、この所見が何を意味しているかは明らかでない（119937 試験）。この所見は、野生型と *Sost*$^{-/-}$マウスの間で除脂肪体重と筋肉量に違いがないことを報告した最近の文献（Sato et al, 2016）とは対照的である。サルコペニアは硬結性骨化症患者では報告されていない（Hamersma et al, 2003）。

対照的に、Scl-Ab でスクレロスチンを抑制しても骨格筋肉量に影響を及ぼさないと思われる。抗スクレロスチン抗体を 25 mg/kg の用量で 3 週間週 2 回投与したマウスでは腓腹筋及びヒラメ筋湿重量（体重で標準化）は影響を受けず、後肢懸垂に対する筋肉量反応は変化しなかった（Spatz et al, 2013）（R20[redacted]0239 試験）。この時の用法用量はロモソズマブ 210 mg の用量を月 1 回投与した時の臨床曝露量の 31 倍の曝露量に相当すると思われる用量のロモソズマブを投与したと推測される（R20[redacted]0220 試験）。臨床投与量に相当する 3 mg/kg の用量でロモソズマブを 26 週間投与した雌雄ラットにおいて、pQCT で測定した標準化除脂肪及び脂肪横断面に対する影響は認められなかった（107425 試験）。50 mg/kg の用量で生涯投与したラット（107895 試験）及び 100 mg/kg の用量で 6 カ月間投与したサル（107426 試験）において筋肉量の測定は実施しなかった。なお、これらラットとサルの投与量はロモソズマブ 210 mg の用量を月 1 回投与した時の臨床曝露量のそれぞれ 19 及び 93 倍の曝露量に相当した。結論として、非臨床及び臨床データ（モジュール 2.7.4）から、ロモソズマブの投与が筋肉量・除脂肪組織量に対して抑制的な作用を示すリスクは低いことが裏付けられる。

3.4.11 ロモソズマブのグルコースに対する作用に関する理論上の懸念

げっ歯類を用いたいくつかの試験の結果から、血清 OCN を介したグルコース代謝の制御における骨の役割を示唆されている。最新のデータでは、この作用がヒトにおいて臨床的に意味があるかどうか疑問視されている。カニクイザルを用いた非臨床試験データ及び臨床データからロモソズマブにはグルコース代謝に対して意味のある作用を示すリスクがないことが示唆される。

3.4.11.1 OCN を介した骨のグルコース制御

近年、骨はいくつかの代謝経路、特にインスリンシグナル伝達やグルコース代謝を制御する内分泌器官であると考えられている。主に動物モデルで、骨特異的タンパク質である OCN がグルコース代謝の制御に関してフィードフォワードループの一員として機能することが知られている。OCN は成熟骨芽細胞で分泌される骨基質タンパク質である。OCN はカルボキシル化の程度により 2 つの

グループ、低カルボシキシル化 OCN（ucOCN）とカルボシキシル化 OCN（cOCN）に分けられる。ucOCN は、骨にほとんど親和性がなく、循環 OCN の大部分を構成しており、OCN のホルモン性活性体であると認識されている。ほとんどの cOCN はカルシウム結合性が強いため骨基質内に存在している（Faienza et al, 2015）。エネルギー代謝制御における骨の役割は、Lee らが実施したマウス遺伝子研究で最初に示された（Lee et al, 2007）。OCN ノックアウトマウスはグルコース不耐性で肥満体質を示した。遺伝子解析及び細胞アッセイにおいて、OCN が膵臓β細胞の増殖を推進し、β細胞及び脂肪細胞におけるインスリン分泌及びアジポネクチン発現を促進することが示された。これらの研究ではまた、インスリン分泌を増加し、β細胞の増殖を推進することによりグルコースの恒常性を制御するのは ucOCN であることが示された。骨–膵臓連関の概念及び OCN の役割はマウスを用いて実施した試験でさらに裏付けられた。Ferron らは、骨芽細胞のインスリンシグナル伝達が破骨細胞による骨吸収を促進して骨基質から ucOCN の遊離させ、最終的にβ細胞の機能に影響を及ぼすことによりグルコースの恒常性を仲介することを示した（Ferron et al, 2010）。この骨吸収の促進は骨芽細胞におけるインスリン依存的な OPG の下方制御により生じる。その後、Pi らは、β細胞上の OCN 感受性受容体として GPRC6A 受容体を同定した（Pi et al, 2011）。さらに、Fulzele らは、骨芽細胞にインスリン受容体の条件付き欠失を伴うマウスに ucOCN を注入するとインスリン感受性が改善することを示し、ucOCN がインスリン感受性の仲介因子としての役割を持つことを裏付けた（Fulzele et al, 2010）。マウスモデルのデータはグルコースの恒常性における ucOCN の役割に関して十分な証拠を示しているが、この骨–膵臓ループをヒトに外挿することは未だに疑問視されており、相反するデータも報告されている（Andrews, 2013）。破骨細胞による骨吸収小窩における酸分泌に必要な遺伝子である ClCN7 のミスセンス変異を伴う少数のヒト被験者では食事後に測定した循環 ucOCN レベルと血清インスリンレベルは有意に減少し、ucOCN の役割と一致した（Ferron et al, 2010）。OCN とグルコースの恒常性や代謝表現型との逆相関関係が小規模な横断研究で報告されている（Hwang et al, 2009; Pittas et al, 2009）。

骨吸収及び ucOCN 遊離の重要な役割を検討するために、Schwartz らは RANKL 抑制薬のデノスマブを含む骨吸収抑制薬の無作為プラセボ対照臨床試験のポストホック解析を実施した（Schwartz et al, 2013）。試験開始時と終了時に絶食下グルコースレベル、体重及び糖尿病発生率を評価した。試験した一連の骨吸収抑制薬はこれらの評価項目に対して臨床的に有意な作用を示さなかった。この結果は、OCN の低下がグルコース代謝の変化を誘発しないことを示すビスフォスフォネートに関する最近の小規模なプロスペクティブ（前向き研究）試験の結果と一致する（Hong et al, 2013）。閉経後非糖尿病女性のインスリン抵抗性に対するデノスマブの作用を検討するための 26 週のプロスペクティブ試験において、デノスマブはインスリン抵抗性に関して臨床的に意味のある変化を示さず、4 週時点でインスリンとインスリン抵抗性パラメータのわずかな一過性の減少が生じただけであった（Lasco et al, 2016）。これらの軽度な作用とは対照的に、最近のレトロスペクティブな集団ベース研究の結果からビスフォスフォネートの投与により 2 型糖尿病のリスクが有意に 50%減少することが示唆された（Toulis et al, 2015）。この状況は、多くの 2 型糖尿病の遺伝的マウスモデル及び栄養関連マウスモデルにおいて骨吸収と循環 ucOCN を有意に抑制する RANKL シグナル伝達の遮断が肝臓のインスリン感受性を改善し、糖尿病を予防したという報告によりさらに複雑化している（Kiechl et al, 2013）。これらの作用が解明されていないのは、例えばマウスの肝臓のグルコース新

生はヒトと比べて 5～10 倍高いなどグルコース代謝が種特異的でそれぞれ異なることが原因であるかも知れない（Andrews, 2013）。

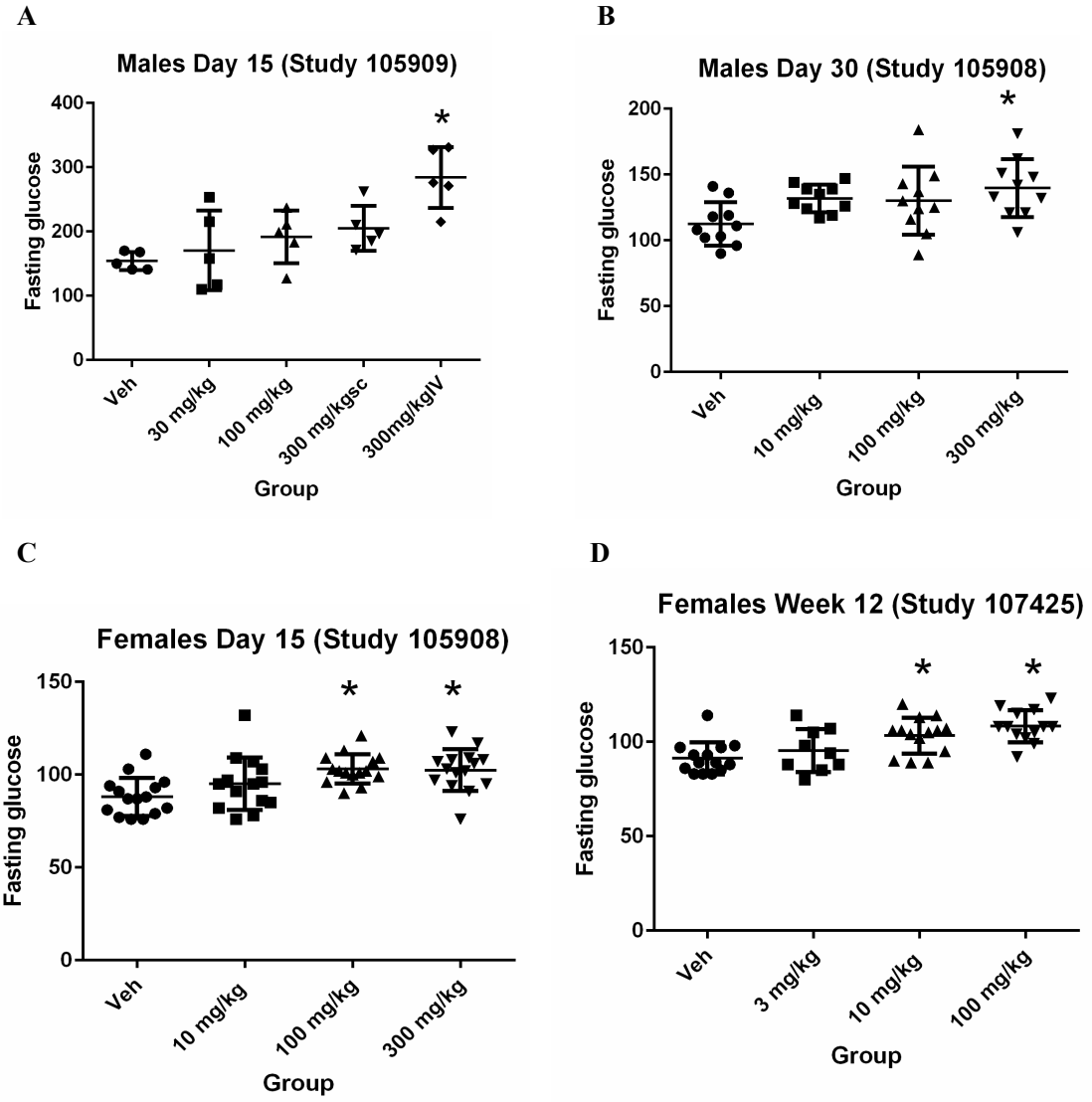
グルコース代謝に対する骨吸収抑制薬の作用の評価に加えて、いくつかの研究で hPTG (1-34)や hPTH (1-84)などの骨形成促進薬を検討している。hPTH (1-34)が、インスリン抵抗性によると思われる上昇したグルコースレベルに対して急性の無症候性副作用を示すことが報告されたが、非糖尿病患者に限定したその後の試験ではグルコースの恒常性に対する作用は認められなかった（Anastasilakis et al, 2007; Anastasilakis et al, 2008）。hPTH (1-84)とアレンドロネートに応答する代謝指数を比較した最近の長期試験から、ucOCN と cOCN の比がグルコースの恒常性を制御することが示唆される。総 OCN に対する ucOCN の比が hPTH (1-84)療法で増加したが、これは OCN 分泌の劇的な上昇にカルボシキシル化反応が追い付かない結果であることが考えられる。この比はアレンドロネート療法では変化しなかった。投与に応じた ucOCN の変化は体重と逆相関性を示した。同様の総 OCN 及び ucOCN に対する作用が hPTH (1-84)を使った小規模長期比較試験でも認められ、これに伴って血糖値の減少も観察された（D'Amelio et al, 2015）。

要約すると、マウスのデータでは OCN がグルコースの恒常性において役割を担っていることが示唆されている。しかし、ヒトのデータでは相反する結果が得られている。骨代謝回転の変化がヒトの糖代謝で重要な役割を担っているかどうかを明らかにするためにプラセボ対照長期試験でさらなる証拠が求められる。

3.4.11.2 グルコース代謝に対するスクレロスチンの欠損及び抑制の作用

生涯にわたってスクレロスチンを欠如しているヒトやマウスにおいて血清グルコースレベルに影響がないことが報告されている（Hamersma et al, 2003; Li et al, 2008）。健常被験者や糖の制御に障害がある被験者を対象とした横断研究で血清スクレロスチンと臨床症状の間に関連性があることが報告された。スクレロスチンレベルは前糖尿病状態のヒトで増加したが（Daniele et al, 2015）、このことからグルコースの制御に障害が起こりやすい骨形成低下状態になっていることが示唆される。ラットにロモソズマブを最高 300 mg/kg の用量で反復投与（210 mg の用量を月 1 回投与した時の臨床曝露量の少なくとも 4 倍の曝露量に相当する用量）すると、絶食下の血糖値が用量依存的かつ一過性に増加した。このような結果は、すべての試験を通して、あるいは 1 つの試験内でも安定的には観察されなかった。しかし骨形成が増加している期間（例えば投与 2、4 及び 12 週の時点）では概して以上の結果が観察された。最大の作用は 300 mg/kg を静脈内投与した時に観察され、この時の曝露量は臨床曝露量の約 188 倍に相当した。雄性ラットにおいて絶食下のグルコースレベルが有意に増加した。具体的には 300 mg/kg の用量を静脈内投与した 14 日間毒性試験（105909 試験）の最終日（15 日目）に約 84%増加し（図 39A）、300 mg/kg の用量を皮下投与した 1 カ月毒性試験（105908 試験）の 30 日目に約 24%増加した（図 39B）。雌性ラットでは、1 カ月毒性試験（105908 試験）（図 39C）の 15 日目に 100 及び 300 mg/kg の用量で、また 6 カ月毒性試験（107425 試験）（図 39D）の 12 週目に 10 及び 100 mg/kg の用量でそれぞれグルコースレベルが有意（最大 19%）に増加した。

図 39　ラット反復投与毒性試験における絶食下血糖値



IV = intravenous; SC = subcutaneous; Veh = vehicle
Mean ± SD is shown. *p < 0.05

ラットにおいて絶食下のグルコースレベルに対して作用が一定していない原因となっている病態生理学は明らかではないが、テリパラチドを投与した臨床被験者を対象とした 1 つの試験で示された一過性のインスリン抵抗性が関係しているかも知れない（Anastasilakis et al, 2007）。スクレロスチンは肝臓や膵臓では発現しておらず（119937 試験）、それゆえ Wnt シグナル伝達はロモソズマブの影響を受けないはずなので、この一過性の変化が、ロモソズマブが肝臓又は膵臓のどちらかに直接作用することを反映しているとは考えにくい。ラットの生涯投与薬理試験で膵臓ランゲルハンス島に何の所見も認められないことから、ロモソズマブを長期投与しても膵臓ランゲルハンス島に対して作用がないことを裏付けられる（107895 試験）。

これらの一過性のグルコースの変化が、骨形成の顕著な増加と同時に認められる総 OCN と ucOCN の比の変化によるものであるかどうかは不明である。ラットと対照的に、最高 300 mg/kg の用量を静脈内及び皮下投与したカニクイザルの反復投与試験で絶食下のグルコースレベルの有意な

変化は観察されなかった。ロモソズマブ 210 mg の用量を月 1 回投与した時の臨床曝露量に比べて、1 カ月試験（105776 試験）では最高 200 倍、6 カ月試験（107426 試験）では最高 93 倍及び 12 カ月試験（107903 試験）では最高 22 倍まで曝露量が上がった。

非臨床試験データから、ラットにおいてロモソズマブでスクレロスチンを阻害すると軽度で一過性の絶食下グルコースレベルの増加が生じる。これらの一過性の変化は臨床曝露量に相当する用量では認められず、210 mg の用量を月 1 回投与した時の臨床曝露量の 4 倍以上の曝露量に相当する用量で観察された。以上の所見は、210 mg の用量を月 1 回投与した時の臨床曝露量の 200 倍以上の曝露量に相当する用量を投与したカニクイザルでは観察されなかった。ラットはマウスと似て、グルコースの恒常性に対する OCN の作用に高い感受性を示すと思われる。

臨床試験データは、ロモソズマブの投与は絶食下のグルコースレベルに対して意味のある作用を示さなかった（モジュール 2.7.4）。結論として、収集した非臨床及び臨床データから、設定投与期間である 1 年間にわたってロモソズマブを投与してもグルコースの恒常性に意味のある変化を誘発するリスクはないことが裏付けられる。

3.4.12 TNF-αが誘導する炎症性疾患を悪化させる理論上の懸念

最近の文献において、RA 患者や hTNFtg マウスから採取した滑膜細胞でスクレロスチンが発現し、スクレロスチンが滑膜における TNF-α産生の抑制調節因子の役割を担うことが提唱されている。hTNFtg マウスに Scl-Ab（ロモソズマブの代替抗体ではない）を投与すると関節破壊が悪化した（Wehmeyer et al, 2016）。このことから、Scl-Ab を投与した場合、TNF-α が関与する疾患を悪化させることが懸念される（Rauch and Adachi, 2016）。ロモソズマブの代替抗体を用いた多くの非臨床試験データでは、TNF-αが引き起こす疾患モデルにおいてロモソズマブは炎症評価項目又は循環サイトカインに影響を及ぼさず、また関節炎モデルで骨浸食に対して作用がないか、若しくは浸食抑制作用を示すことが観察されており（Chen et al, 2013; Eddleston et al, 2009; Marenzana et al, 2013）、Wehmeyer らが報告した所見とは対照的である。この所見の違いの理由は不明であるが、使用した抗体の違いに関連しているかも知れない（Sims, 2016）。免疫介在性大腸炎モデルにおける循環 TNF-αなどの炎症性評価項目に対してロモソズマブのマウス代替抗体が作用を示さないことから（Eddleston et al, 2009）、もしスクレロスチンが TNF-αの抑制において何らかの役割を担っているのであれば、その機序は滑膜細胞に特有であり、TNF-αが関与するすべての併存症に当てはまる機序ではない。TNF-αが主な役割を担っていると考えられている強直性脊椎炎（AS）についてスクレロスチンの関与を示唆するデータはほとんどない（第 3.4.3.4 項）。ロモソズマブの疾患の悪化に対する影響を検討するために、TNF-αが関与すると思われる疾患を伴う被験者を対象として現在進行中の臨床試験で安全性データをモニターする。

3.4.12.1 炎症性及び免疫介在性疾患におけるスクレロスチンの役割とスクレロスチン阻害の影響

TNF-α及びその作用は弱いが TNF に関連したアポトーシス誘導因子は、NFκ-B-依存性の機序を介して骨細胞及び骨芽細胞にスクレロスチンの発現を誘導する（Baek et al, 2014; Vincent et al,

2009）。TNF-αは、OVX マウスにおけるスクレロスチンの上方制御に寄与することが示されている（Kim et al, 2012b）。したがって、TNF-αは、スクレロスチンを上方制御することにより全身性の炎症状態に伴う全身性の骨減少の発症に寄与すると考えられている（Schett and Rudwaleit, 2010）。全身性の骨減少を伴うリウマチ性疾患には、歯周炎だけでなく関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、軸性脊椎関節炎、強直性脊椎炎、乾癬性関節炎及び炎症性腸疾患などが含まれる（Redlich and Smolen, 2012）。

炎症介在性骨減少の発症にスクレロスチンの増加が関与している可能性があるため、局所及び全身性炎症が介在する数種類の骨減少モデルで Scl-Ab の作用を評価した。マウスコラーゲン誘導関節炎において、スクレロスチンの阻害は全身性の骨減少を予防又は回復させたが、全身性炎症に影響を及ぼすことはなく、局所の巣状浸食を予防又は修復させることはできなかった （Marenzana et al, 2013）。マウスの免疫介在性大腸炎モデルにおいて、Scl-Ab は全身性の骨減少を効果的に予防又は回復させたが、大腸炎に関連した体重減少や組織学的変化を軽減せず、また循環 IL-6 又は TNF レベルに影響を及ぼさなかった（Eddleston et al, 2009）。hTNFtg マウスにおいて、Scl-Ab は関節浮腫や滑膜炎に影響を及ぼさなかったが、全身性の骨減少を完全に抑制し、関節周囲の骨減少を部分的に回復又は停止させた。Scl-Ab を抗 TNF 抗体と併用すると、関節病理はより顕著に改善した（Chen et al, 2013）。上述の試験では、げっ歯類やマウスのロモソズマブ代替抗体が用いられた。TNFtg マウスにおいて中和抗体で細胞外 Wnt 抑制因子である Dkk1 を阻害すると骨浸食が完全に抑制され、また破骨細胞形成も抑制された（Diarra et al, 2007）。これは、炎症評価項目に影響を及ぼすことなしに疾患の異化パターンを同化パターンに変化させたものである。第 3.4.3.1 項に示すように、関節疾患は、その病因が関節軟骨、軟骨下骨及び滑膜の間の相互作用並びにシグナル伝達に関連する複合疾患である。したがって、軟骨、骨及び滑膜の間で相互の Wnt シグナル伝達の存在が想定される。

同じ hTNFtg マウスを用いた試験において、Wehmeyer ら（Wehmeyer et al, 2016）は、関節病変が Scl-Ab（ロモソズマブの代替抗体ではない）の投与により悪化するという明らかに異なる所見を報告している。関節病変は *Sost*$^{-/-}$/hTNFtg マウスでも悪化した。TNF-αは、RA 患者や hTNFtg マウスから採取した滑膜細胞の *in vitro* におけるスクレロスチンの発現を亢進し、スクレロスチンが TNF-α発現を抑制した。さらに、著者らは、TNF-α 発現に対するスクレロスチンの作用は Wnt シグナル伝達に対する作用とは無関係で LRP6 に依存していることを示している。TNFtg マウスにおいて Scl-Ab の作用に関して異なる様々な所見がある理由は不明であるが、これらの試験で使用された抗体の違いが関係していることが考えられる（Sims, 2016）。

スクレロスチンの発現が炎症性疾患の 1 つである原発性胆汁性肝硬変でも報告されている（Guanabens et al, 2016）。IHC 及び RT-PCR を用いて検討した結果、原発性胆汁性肝硬変患者から採取した検体において炎症病変で囲まれている胆管上皮でスクレロスチンが検出されたが、この発現は胆道炎の重症度及び肉芽腫の存在の両方に関連して発現した。著者らは、肝臓のスクレロスチン発現がこの患者で観察される低骨量に寄与していると推測している。この状況下でスクレロスチンが何らかの機能的役割を担っているかどうかは明らかでないが、ロモソズマブがラットで生じる自然発症性の一連の炎症病態を悪化させるデータはない。ラット生涯投与試験（107895 試験）において、最高 50 mg/kg の用量で 98 週間ロモソズマブを投与（210 mg を月 1 回投与した時の臨床曝露

量の 19 倍の曝露量に相当する）しても自然発症性の炎症病変の発生率と重症度に影響を及ぼさなかった。

結論として、TNFtg マウスにおける Scl-Ab の作用に関して相反する非臨床試験データが報告されているが、いずれの非臨床試験データでも、Scl-Ab が炎症性又は TNF 介在性疾患を悪化させることは示唆されていない。最近の臨床試験データ（モジュール 2.7.4）でも、ロモソズマブが TNF 介在性炎症過程に影響を与えることは示唆されていない。疾患の悪化に対するロモソズマブの作用に関するデータを得るために進行中の試験において TNF-αが介在する疾患を併発する被験者の安全性データをモニターする。

3.4.13 ロモソズマブによる非定型大腿骨骨折のリスクに関する理論上の懸念

ロモソズマブは骨に対して 2 つの作用を示すが、その 1 つとして骨吸収抑制作用を示すため、非定型大腿骨骨折（AFFs）のリスクを高める懸念がある。ロモソズマブの作用機序、動物における皮質骨量、骨石灰化、骨構造及び骨強度に対する作用及びヒトの皮質骨構造に対する作用に基づくと、ロモソズマブが AFFs を促進させるリスクは低いと思われる。

3.4.13.1 非定型大腿骨骨折の特徴、疫学及び病因

非定型大腿骨骨折（AFFs）は転子下及び大腿骨骨幹部骨折の中では発生頻度が低い。

AFFs は、独特の X 線画像（横断骨折線、骨折部位の骨膜仮骨形成、粉砕はほとんどないか、全くない）及び疲労骨折やストレス反応に似ている臨床症状（前駆症状としての疼痛、両側性）を特徴とする。AFFs の症例定義は米国骨代謝学会の専門部会で定められた（Shane et al, 2014）。AFFs の病因はまだ良く解明されていないが、ビスフォスフォネートなどの骨吸収抑制薬の使用を含む多くのリスク因子が同定されている。ビスフォスフォネートを投与した患者でも AFFs の絶対的リスクは低いが、骨折の相対的リスクはビスフォスフォネートの投与が長くなるにつれて増加すると思われる（Saita et al, 2015）。骨吸収抑制薬との関連性については、ビスフォスフォネートの投与中止後に AFFs のリスクが急速に減少することからも示唆されている（Schilcher et al, 2014）。AFFs はビスフォスフォネートを投与した結果と考えられるが、割合は少ないものの AFFs 患者でビスフォスフォネートの使用経験がない患者もいる（Shane et al, 2014; Shane et al, 2010）。

最近の文献を調査して、治療対象とする集団のうち、閉経後女性における自然発症あるいは骨吸収抑制薬（例えば、ビスフォスフォネート）の使用で発症した AFFs の割合を評価した。遺伝的にスクレロスチンを欠損している女性を対象として X 線解析により AFFs の発生率を報告している文献は見いだせなかった。作用が穏やかな骨吸収抑制薬（エビスタ/ラロキシフェン）や骨形成促進薬の 1 つであるテリパラチドを使用している女性を対象として X 線解析により AFFs の発生率を報告している文献も見いだせなかった。治療対象としている患者集団に最も類似している集団で AFFs の発生率を報告している文献も見いだせなかった。ビスフォスフォネートの有無にかかわらず治療を受けた一般的な集団における女性に関する研究によると、AAFs の割合は 100,000 人年あたり 9.8～11.6 人（Mahjoub et al, 2016; Meling et al, 2014）で、ビスフォスフォネートを使用していない患者に限ると 100,000 人年あたり 0.67～0.8 人であった（Schilcher et al, 2015; Tamminen et al, 2013）。

ビスフォスフォネートを使用した女性における AFFs の割合は 100,000 人年あたり 50～79 人であった（Meling et al, 2014; Schilcher et al, 2015; Tamminen et al, 2013）。

アレンドロネートを投与した女性における AFFs の割合は、100,000 人年あたり 59 人であった（Schilcher et al, 2015）。このデータは、臨床試験と観察研究の両方から得られた。1 つの観察研究では、スウェーデンの国内登録及び全国処方薬データベースから AFFs の症例を同定し、大きな母集団（ビスフォスフォネートを使用している 85,300 人の女性）における発生率を計算した（Schilcher et al, 2015）。それによると、何らかのビスフォスフォネート及びアレンドロネートを使用している患者 100,000 人年あたりそれぞれ 50 及び 59 人であった（Schilcher et al, 2015）。デノスマブやリセドロネートの投与を受けた患者でも同様の割合が観察された（Papapoulos et al, 2015; Schilcher et al, 2015）。これらのデータから、骨吸収抑制薬の投与に関連して AFFs が増加するが、強力な骨吸収抑制薬を投与した被験者でも AFFs の絶対的リスクは低いことが示唆される。AFFs の X 線画像解析から、AFFs は疲労骨折や脆弱性骨折を表し、大腿骨皮質内の疲労蓄積により引き起こされることが示唆される。このような状況下で骨に対する機械的ストレスの繰り返しが疲労損傷や皮質強度の減少につながる。骨吸収抑制薬の使用により骨リモデリングが持続的に低下し、その結果組織修復過程が抑制されて、時間が経つにつれて徐々に損傷が蓄積する。脆弱化した骨を安定化するための骨膜反応にもかかわらず、損傷が合体して皮質全体に広がり骨折につながる。また、骨石灰化や終末糖化産物（AGE）の増加など長期の骨吸収抑制薬治療による骨基質組成の変化が AFFs の病因に寄与すると推測されている。骨基質石灰化の増加、石灰化度不均一性の減少及び AGEs の増加は、組織の強靭さを低下させると推測されており、強靭さの低下によって骨がもろくなることで AFFs で観察される横骨折パターンが発現してくるのかもしれない。しかしながら、骨石灰化、石灰化度不均一性及び AGEs における薬理学的変化と靭性低下の関連性は現時点でまだ明確になっていない。

AFFs は骨吸収抑制薬治療の経験がない患者でも起こるので、その病因が骨吸収抑制だけに関連しているとは考えられない。大腿骨幾何学的特性及び下肢アライメントは、特定の患者を AFFs になりやすくする外側大腿骨皮質骨へ引張強度を集中させる役割を担っていると考えられている（Saita et al, 2015）。アジア人女性特有の大腿骨幾何学的特性は、白人女性に比較してアジア人の AFFs のリスクが 6 倍高いことに関連する重要な因子の可能性が示唆された（Attisano and Wrana, 2002）。

3.4.13.2 カニクイザルの皮質骨に対するロモソズマブの作用

ロモソズマブ 210 mg の用量を月 1 回投与した時の臨床曝露量の 1.3 及び 22 倍の曝露量に相当する用量を 12 カ月間投与した老齢 OVX カニクイザルにおいて、皮質骨幾何学的特性が改善し、皮質骨の骨量及び強度が増加した（107903 及び 118025 試験）。pQCT、micro-CT 及び組織形態学的計測法で解析した結果、概して骨膜及び内骨面の骨形成の増加により複数の部位で皮質骨面及び皮質骨厚が用量依存的に増加した。皮質骨の組織形態学的計測及び灰分分析に基づくとロモソズマブの投与で正常な基質骨石灰化が維持された。骨量及び骨幾何学的特性が増加した結果、骨量と骨強度の間に有意で正の相関が維持されて大腿骨骨幹強度が有意かつ用量依存的に増加した。この効果は腰椎や大腿骨頚部にも同様に認められた。強度試験（大腿骨骨幹及びサイズを合わせた上腕骨皮質骨骨梁の結果を含む）で計算した骨特性の維持に関するデータを併せて考察すると、皮質骨の骨質は

ロモソズマブ投与後に維持されることが示された。カニクイザルを用いたこれらの試験において、骨形態計測で皮質骨部位における骨代謝回転を評価した。ロモソズマブ投与群の肋骨（13 と 27 週時点）、大腿骨骨幹（52 週時点）、及び脛骨骨幹（26 週時点）で内骨面の浸食は有意に減少したが、橈骨（26 週時点）で観察された減少は統計学的に有意でなかった。これらの作用に伴って骨梁部位で浸食面が同様に減少した。対照的に、程度はやや低いが、ロモソズマブ投与群において橈骨及び脛骨の骨幹部位で皮質骨内リモデリングが増加した。この皮質骨内リモデリングの増加は、骨形成促進のピーク並びに血清 PTH 及び CTX レベルの一過性の増加と時間的に合致し、後者は新生骨の骨石灰化を支えるためのカルシウム要求の増加に続発したと考えられた。ロモソズマブによる皮質骨内リモデリングの増加は、26 週後の脛骨や橈骨部位、又は 52 週時点の脛骨あるいは上腕骨骨幹部位における皮質骨多孔率の増加とは関連しなかった。しかしながら、26 週時点の橈骨で皮質骨 vBMD の有意な減少が観察され、この効果は 52 週までに消失した。橈骨 BMD が減少するにもかかわらず、投与期間中の FE モデリング及び 26 週以降の生体力学的試験から、ロモソズマブが介在する骨量及び骨幾何学的特性に対する作用により橈骨で骨強度が維持又は亢進することが示された。

ロモソズマブを 10 週間投与した若齢サルから採取した大腿骨皮質の骨基質組成を bSEM 及び FTIRM を用いてさらに評価した（108288 試験）。bSEM 分析の結果、ロモソズマブ投与で平均骨石灰化又は石灰化度不均一性に変化はなかった。この効果は Scl-Ab を投与したラットの大腿皮質骨でも観察された（Ross et al, 2014）。FTIRM による解析結果では、ロモソズマブを投与した場合、投与開始後最初の 2 週間以内に皮質骨内で形成された骨における石灰化部位と基質の比が若干増加した以外は、皮質骨面及び内骨面で形成された骨の基質組成に影響を及ぼさなかった。組織の石灰化に対してロモソズマブが作用を示さないことは、遺伝的にスクレロスチンが欠損しているマウスやヒトで基質石灰化が若干減少するのと多少異なっている（Hassler et al, 2014）。サンプル数が少なく、公表された参照範囲を使用することからヒトのデータを完全に解釈するのは困難である。それにもかかわらず、スクレロスチンの抑制が基質石灰化あるいは皮質骨の脆弱性を亢進することを示唆する証拠はない。非定型骨折は、損傷骨の治癒不全の結果であると考えられ、骨折治癒に対するロモソズマブの作用は幅広く研究されている（Ke et al, 2012）。カニクイザルを用いて皮質骨に骨切断術を施した非臨床試験データから、ロモソズマブは損傷に応じた皮質骨のリモデリングを抑制しないことが示唆される。腓骨骨切断術後の骨折治癒モデルにおいて、ロモソズマブ（30 mg/kg を月 2 回）は 10 週後の骨切断術部位の近くの腓骨皮質内の皮質骨多孔率に影響を及ぼさなかった（108288 試験）。ロモソズマブとデノスマブを投与した OVX カニクイザルの骨質評価の一部として、生検手術後 9 カ月まで肋骨と腸骨の生検部位を含む部分を収集し、病理組織学的検査を行った。その結果、強力な骨吸収抑制薬であるデノスマブの投与により、手術後 9 カ月時点でも肋骨や腸骨の治癒部位に持続的な骨切断術線及び骨破片が認められた（病理報告書、103981 試験）。対照的に、ロモソズマブ（30 mg/kg を週 1 回：107903 試験）を投与した動物の同部位でそのような観察は報告されなかった。これらのデータを併せると、皮質骨の損傷に反応して生じるリモデリング反応はロモソズマブを投与した動物で障害を受けなかったことが示唆される。老齢 OVX 及び若齢カニクイザルで得たデータから、ロモソズマブは、皮質骨幾何学的特性を亢進し、骨量を増加、骨強度を増強し、骨質を維持することにより皮質骨に対して望ましい作用を発揮することが示される。

皮質骨内リモデリングが一時的に増加し、同時に皮質骨 BMD は減少しないか、若しくは一時的に若干減少したが、骨強度に対して影響を及ぼさなかった。このように、もし AFFs の病因が損傷の蓄積や骨質の低下につながる皮質骨内リモデリング減少の結果であるならば、非臨床試験のデータからロモソズマブが非定型大腿骨骨折のリスクを増加させないことが裏付けられる。

3.4.13.3 ヒト皮質骨に対するロモソズマブの作用

20070337 試験において、ロモソズマブ 210 mg の用量を月 1 回 1 年間投与した場合、骨吸収の血清バイオマーカーである CTX 及び TRAP 5b が中等度に減少した（モジュール 2.7.3 第 3.2.3.1 項）。プラセボ群と比較して CTX のベースラインからの最大減少の中央値（%）は 14 日目に観察された 49%であり、その後この中等度の骨吸収抑制作用は 1 年間持続し、1 年後の相対的な減少は 24%であった（第 3.4.8.3 項図 37）。この骨吸収抑制作用は、ロモソズマブ投与の 2 及び 12 カ月後の両方又はどちらかで採取した生検における海綿骨面及び内骨面の浸食面減少と関連したが、この浸食面減少は骨面上のリモデリング減少を反映するものである。対照的に、2 カ月の時点で皮質骨内コンパートメントの骨石灰化面が有意に増加し、また 2 又は 12 カ月の時点で骨形態計測又はマイクロ–CT で評価した皮質骨多孔率に対して作用が認められないことから、ロモソズマブは皮質骨内リモデリングを抑制しなかった（モジュール 2.7.3 第 3.2.4.2 項）。海綿骨/内骨面と皮質骨面の骨吸収に対して作用が異なるのは、サルで得たデータと一致する（107903 及び 118025 試験）。ロモソズマブは皮質骨内リモデリングに対して作用を示さないが、このことは、6 又は 12 カ月の時点で HR-pQCT で評価した時に橈骨遠位端及び脛骨遠位端の皮質骨多孔率が維持されていることにも反映されている。橈骨遠位端におけるこの作用は、FEA で評価した骨強度や皮質骨 BMD に対して投与の影響が認められないことと一致した。組織密度は概してロモソズマブの影響を受けなかったが、6 及び 12 カ月の時点で脛骨遠位端の皮質骨厚（HR-pQCT で測定）が増加し、また臨床試験を通して皮質骨骨量が一貫して増加した（第 10.3 項 20070337 試験）。2 又は 12 カ月の生検を micro-CT で測定した場合でも、皮質組織の骨密度はロモソズマブの影響を受けなかった（モジュール 2.7.3 第 3.2.4.2 項）。

要約すると、皮質骨及び皮質骨内リモデリングに対するロモソズマブの作用を含む非臨床及び臨床試験データ（モジュール 2.7.4）に基づき、AFF とロモソズマブの間の因果関係を示唆する明確な証拠はない。

3.4.14 心血管系効果に関する理論的考察

20110142 試験でヒトで観察された心血管系安全性に対する所見を考慮し、急性心血管イベントに対するスクレロスチン阻害による潜在的なリスク調べるために、さらなる非臨床試験を実施した。

- 公開されているデータベースである UK バイオバンクからのゲノムワイド関連解析（GWAS）を用いて、single nucleotide polymorphism (SNP) と脳卒中又は心筋梗塞との関連について検討した。本解析では、SOST 遺伝子座において最も有意に BMD に関連している SNP である SNP rs2741856 の主要アレル C を用いた。本試験より、大動脈及び脛骨動脈における SNP rs2741856 によるスクレロスチンの発現減少をもたらす遺伝子修飾は、骨生理学的に有意な正の

効果を及ぼすものの、心筋梗塞又は脳卒中のリスクに対する影響は認められないことが示された（150655 試験）。

- *In vitro* のヒト血小板活性化の測定系において、ロモソズマブ 210 mg を月 1 回投与したときの臨床最高血中濃度の 10 倍以上の濃度を用いても、血小板活性化はみられなかった（125269 試験）。
- 摘出ヒト冠状動脈サンプルにおいて、ロモソズマブ又はスクレロスチンは血管収縮に影響しなかった（150483 試験）。
- 頸動脈及び大腿動脈の動脈内膜切除検体における、ヒト粥状硬化病変（プラーク）でのスクレロスチンの発現を評価した。免疫組織化学染色法により、ほとんどのプラークでスクレロスチンの発現は認められなかった。スクレロスチンの発現が認められた検体の場合、その発現はプラーク発現部位の中膜で認められたが正常大動脈の中膜と比較して弱く、平滑筋アクチン発現とともに中膜及び中膜直下の内膜に限局して認められた。内膜ならびに外膜（プラークの破裂あるいはびらん病変と関連している部位）ではスクレロスチンの発現は認められなかった。スクレロスチン発現と内膜切除術を実施した時の年齢、動脈疾患の病歴、炎症誘発性サイトカインプロファイル、プラーク内出血、マクロファージ浸潤、コラーゲン含量、平滑筋細胞含量および脂質コアサイズとの相関はみられなかった（150498 試験）。
- *ApoE*$^{-/-}$マウス（粥状硬化症マウスモデル）を用いた試験において、抗スクレロスチン抗体を 210 mg の用量を月 1 回投与した時の AUC と比較して 4 倍の曝露量に相当すると考えられる用量を投与しても、プラーク容積及び石灰化プラーク容積の増加、並びに壊死及び線維軟骨化生の発現は認められず、また、大動脈アテローム性硬化プラーク関連の遺伝子の転写及び組織学的変化又は循環血中の炎症性サイトカインにも影響はみられなかった（124609 試験）。

要約すると、非臨床試験から得られた全データから、ロモソズマブによる治療と心筋梗塞及び脳卒中との因果関係についての生物学的な妥当性を裏付けるメカニズムは確認されなかった。ロモソズマブが心血管系機能又は心血管イベントに意義のある影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

4. 安全性薬理

安全性薬理試験として 2 試験を実施し、ラットにおいて中枢神経系に及ぼす影響（106335 試験）及びカニクイザルにおいて心血管系及び呼吸系に及ぼす影響（105781 試験）を評価した。ロモソズマブはモノクローナル抗体で、ヒト *ether-a-go-go* 関連遺伝子（hERG）チャネルへの反応は想定されないため（Vargas et al, 2008）、*in vitro* hERG 試験は行わなかった。

4.1 AMG 785 のラットにおける単回静脈内投与による毒性及び中枢神経系安全性薬理試験 (106335 試験)

ロモソズマブをラットに単回静脈内投与し、中枢神経系に及ぼす影響を検討した。雌雄の SD ラット（5 匹/性/群）に、ロモソズマブを 0、30、100 又は 300 mg/kg の用量で単回静脈内投与し、14 日間観察した。各動物について、機能観察総合評価（FOB）を投与 1、2 及び 8 日に実施し、臨床症状を FOB 実施日を除く毎日観察した。体温は投与 1、2、8 及び 14 日に、体重は投与 1、4、8 及び 14 日に、摂餌量は投与 1、4、8 及び 14 日に測定した。臨床病理検査を、投与 4 日と剖検時に実施した。投与 15 日に剖検を実施し、臓器重量を測定した。

投与に関連した死亡はなく、FOB、臨床症状、体温、体重及び体重増加、摂餌量、臓器重量又は肉眼所見に、ロモソズマブ投与による影響は観察されなかった。ロモソズマブの 100 又は 300 mg/kg の用量では、投与 4 日に総タンパク及びグロブリン（主にβ-グロブリンによる）が軽度に増加し、アルブミン/グロブリン比が低下した。これらの変化は、血中のロモソズマブが免疫グロブリン分画に寄与するためと考えられた。投与 4 日と 15 日に血清アルカリホスファターゼが軽度から中等度に上昇し、骨に対する薬理効果の二次的な作用と考えられた。

結論として、ラットにロモソズマブを 300 mg/kg までの用量で単回静脈内投与し、14 日間観察した結果、投与による中枢神経系への影響は認められず、無毒性量は 300 mg/kg であった。105909 試験の結果から、300 mg/kg を単回静脈内投与したときの雌雄平均 AUC 及び C_{max} はそれぞれ 437 mg・hr/mL 及び 6.76 mg/mL で、ヒトに 210 mg を投与したときの曝露量（119384 試験）と比較するとそれぞれ約 34 倍及び 241 倍であった。

4.2 AMG 785 のテレメトリー装着カニクイザルにおける単回静脈内投与による心血管系及び呼吸系安全性薬理試験（105781 試験）

テレメトリー装置を埋め込んだ無麻酔のカニクイザルを用いて、ロモソズマブの心血管系及び呼吸系に対する影響を検討した。16 匹の雌カニクイザル（4 匹／群）にロモソズマブを 0、30、100 又は 300 mg/kg の用量で単回静脈内投与し、14 日間観察した。投与日は、投与前から少なくとも投与 24 時間まで、心電図、腹腔内体温、血圧及び呼吸数を継続して記録した。その後はこれらのパラメーターを、投与 48 時間までは 30 分間隔で 10 分間、投与 15 日まで 60 分間隔で 15 分間、同様にを記録した。さらに、臨床症状、毎日の摂餌量、体重（投与 6、13 及び 15 日）及び血液ガス（投与 1、2、8 及び 15 日）について評価した。

臨床症状、心電図、血圧、体温、体重、呼吸数及び血液ガスにロモソズマブ投与による影響は認められなかった。300 mg/kg でみられた心拍数及び血圧（収縮期圧、拡張期圧及び平均血圧）のわず

かで統計学的に有意な上昇は、継続的には観察されず（投与後の明期に限定）、上昇時の値は対照群の変動の範囲内であったことから、有害な影響とは判断されなかった。300 mg/kg では呼吸数の増加傾向が同時期に観察され、昼間は心拍数及び血圧が高くなる一般的な現象に合致した。本薬物の消失には時間を要すため、クロスオーバーデザインによる動物毎の変動への考慮はなされなかった。なお、サルにおいて 300 mg/kg を 1 カ月間及び 6 カ月間反復投与した毒性試験では、ロモソズマブ投与による心電図や血圧への影響は認められなかった（105776 及び 107426 試験）。

結論として、カニクイザルにロモソズマブを 300 mg/kg の用量で単回静脈内投与して、14 日間観察した結果、投与による心血管系及び呼吸系への有害な影響は認められず、無毒性量は 300 mg/kg であった。105776 試験の結果から、カニクイザルに 300 mg/kg を単回静脈内したときの雌雄平均 AUC 及び C_{max} はそれぞれ 407 mg・hr/mL 及び 5.91 mg/mL で、ヒトに 210 mg を投与したときの曝露量と比較するとそれぞれ約 32 倍及び 210 倍であった。

以上の結果は、反復投与による非臨床毒性試験で報告された結果と一致した（モジュール 2.6.6）。

5. 薬力学的薬物相互作用

今まで薬力学的薬物相互作用に関する試験は実施されていない。

6. 考察及び結論

In vitro 薬力学的試験の細胞アッセイにおいてロモソズマブがスクレロスチンに高い親和性で結合することにより、LRP5 及び LRP6 の細胞外領域へのスクレロスチンの結合を抑制し、基質の石灰化に対するスクレロスチンの抑制作用を妨げることが示された。ラット及びカニクイザルの閉経後骨減少モデルにおいて、ロモソズマブ（又はげっ歯類特異的抗体）は概して用量依存的に骨形成を促進し、評価したすべての骨格部位の骨量及び骨強度を回復させた。この骨形成の増加は試験の前期でピークに達し、静止面における骨形成（すなわちモデリングに基づく骨形成）の直接的な活性化と一致した。投与を継続すると、種と部位により速度は異なるがいずれにおいても骨形成は対照群レベルに戻ったが、正の骨バランスはリモデリング部位で維持された。OVX カニクイザルにおいて、ロモソズマブの投与は概して骨表面の伸展及び骨吸収深度を減少させたが、骨形成がピークの期間中、皮質内のリモデリングは一過性に増加し、橈骨皮質の BMD は減少した。橈骨の皮質構造の改善が皮質 BMD の一過性の減少を上回り、結果として橈骨の予測強度に対してロモソズマブは作用を示さないか、あるいは正の影響を与える。ロモソズマブ（又は代替抗体）は骨基質組成や類骨の石灰化動態に有意な影響を示さなかった。骨質は予測物質強度及び骨量–強度回帰に反映されるが、1 年間のロモソズマブ投与により維持又は改善した。薬力学的試験で観察された作用はヒトにおける血清バイオマーカーや BMD の全体的な経時的パターンと一致した。投与を中止すると骨量増加が徐々に減少したが、この現象は骨梁部位でより急速に起こり、骨吸収抑制因子（OPG-Fc）の投与により予防された。骨吸収抑制薬のアレンドロネートを前投与又は併用投与してもロモソズマブの代替抗体の骨形成作用に影響を及ぼさなかった。投与中止後に再投与した場合、初期投与と同様に効果的であったが OPG-Fc の維持投与と併用しても更なる骨密度の増加は認められなかった。ロモソズマブ（又は代替抗体）は骨形成増加に有効であり、アンドロゲン除去、炎症及び骨格不使用/後肢懸垂のモデルにおいてこれらの疾患や条件が誘導する骨量及び骨強度の減少を予防し、さらにラット及びカニクイザルモデルの骨折仮骨における骨量や骨強度を改善した。OA の進行に対して Scl-Ab の投与は顕著な影響を及ぼさなかった。文献で公表された最近のデータや非臨床及び臨床データから、210 mg の用量で 1 年間 QM 投与する臨床推奨用法用量にしたがってロモソズマブを投与しても、対象とする患者集団において、がん、OA、VC、長軸方向の骨成長増加、過骨症、セメント質増殖症、顎骨壊死、造血異常、サルコペニア、グルコース代謝異常、TNF-αが仲介する炎症の悪化及び非定型大腿骨骨折のリスクを有意に増大しないことが示唆される。ラットやカニクイザルにロモソズマブを投与した試験において有害な神経行動学的作用あるいは心血管系／呼吸系に対する有害な作用は観察されなかった。

7. 引用文献

Aghaloo TL, Felsenfeld AL, Tetradis S. Osteonecrosis of the jaw in a patient on Denosumab. J Oral Maxillofac Surg. 2010;68:959-963.

Anastas JN, Moon RT. WNT signalling pathways as therapeutic targets in cancer. Nat Rev Cancer. 2013;13:11-26.

Anastasilakis A, Goulis DG, Koukoulis G, et al. Acute and chronic effect of teriparatide on glucose metabolism in women with established osteoporosis. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2007;115:108-111.

Anastasilakis AD, Efstathiadou Z, Plevraki E, et al. Effect of exogenous intermittent recombinant human PTH 1-34 administration and chronic endogenous parathyroid hormone excess on glucose homeostasis and insulin sensitivity. Horm Metab Res. 2008;40:702-707.

Andrews NA. Skeletal regulation of glucose metabolism: challenges in translation from mouse to man. IBMS Bonekey. 2013;10.

Appel H, Ruiz-Heiland G, Listing J, et al. Altered skeletal expression of sclerostin and its link to radiographic progression in ankylosing spondylitis. Arthritis Rheum. 2009;60:3257-3262.

Arai F, Hirao A, Ohmura M, et al. Tie2/Angiopoietin-1 Signaling Regulates Hematopoietic Stem Cell Quiescence in the Bone Marrow Niche. Cell. 2004;118:149-161.

Aspenberg P, Agholme F, Magnusson P, Fahlgren A. Targeting RANKL for reduction of bone loss around unstable implants: OPG-Fc compared to alendronate in a model for mechanically induced loosening. Bone. 2011;48:225-230.

Attisano L, Wrana JL. Signal transduction by the TGF-beta superfamily. Science. 2002;296:1646-1647.

Aury-Landas J, Marcelli C, Leclercq S, Boumédiene K, Baugé C. Genetic Determinism of Primary Early-Onset Osteoarthritis. Trends Mol Med. 2016;22:38-52.

Baarsma HA, Konigshoff M, Gosens R. The WNT signaling pathway from ligand secretion to gene transcription: molecular mechanisms and pharmacological targets. Pharmacol Ther. 2013;138:66-83.

Badros A, Weikel D, Salama A, et al. Osteonecrosis of the jaw in multiple myeloma patients: clinical features and risk factors. J Clin Oncol. 2006;24:945-952.

Bae CH, Kim TH, Ko SO, et al. Wntless regulates dentin apposition and root elongation in the mandibular molar. J Dent Res. 2015;94:439-445.

Bae CH, Lee JY, Kim TH, et al. Excessive Wnt/beta-catenin signaling disturbs tooth-root formation. J Periodontal Res. 2013;48:405-410.

Baek K, Hwang HR, Park HJ, et al. TNF-alpha upregulates sclerostin expression in obese mice fed a high-fat diet. J Cell Physiol. 2014;229:640-650.

Bailey AJ, Mansell JP, Sims TJ, Banse X. Biochemical and mechanical properties of subchondral bone in osteoarthritis. Biorheology. 2004;41:349-358.

Bakeman RJ, Abdelsayed RA, Sutley SH, Newhouse RF. Osteopetrosis: a review of the literature and report of a case complicated by osteomyelitis of the mandible. J Oral Maxillofac Surg. 1998;56:1209-1213.

Baker EK, Taylor S, Gupte A, et al. Wnt inhibitory factor 1 (WIF1) is a marker of osteoblastic differentiation stage and is not silenced by DNA methylation in osteosarcoma. Bone. 2015;73:223-232.

Balemans W, Ebeling M, Patel N, et al. Increased bone density in sclerosteosis is due to the deficiency of a novel secreted protein (SOST). Hum Mol Genet. 2001;10:537-543.

Balemans W, Patel N, Ebeling M, et al. Identification of a 52 kb deletion downstream of the SOST gene in patients with van Buchem disease. J Med Genet. 2002;39:91-97.

Barasch A, Cunha-Cruz J, Curro FA, et al. Risk factors for osteonecrosis of the jaws: a case-control study from the CONDOR dental PBRN. J Dent Res. 2011;90:439-444.

Barnard AH, Hamersma H, Kretzmar JH, Beighton P. Sclerosteosis in old age. S Afr Med J. 1980;58:401-403.

Baron R, Hesse E. Update on Bone Anabolics in Osteoporosis Treatment: Rationale, Current Status, and Perspectives. J Clin Endocrinol Metab. 2012;97:311-325.

Baron R, Rawadi G. Targeting the Wnt/beta-catenin pathway to regulate bone formation in the adult skeleton. Endocrinology. 2007;148:2635-2643.

Barreto DV, Barreto Fde C, Carvalho AB, et al. Association of changes in bone remodeling and coronary calcification in hemodialysis patients: a prospective study. Am J Kidney Dis. 2008;52:1139-1150.

Baur DA, Altay MA, Teich S, Schmitt Oswald M, Quereshy FA. Osteonecrosis of the jaw in a patient on raloxifene: a case report. Quintessence Int. 2015;46:423-428.

Beighton PH, Hamersma H, Brunkow ME. SOST-Related Sclerosing Bone Dysplasias. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiva A, Bean LJK, Bird TD, Fong CT, Mefford HC, Smith RJK, Stephens K, eds. GeneReviews® [Internet]. Seattle, WA: University of Washington, Seattle; 2013. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1228/

Beighton P. Sclerosteosis. J Med Genet. 1988;25:200-203.

Beighton P, Osteoarthritis in sclerosteosis, written communication, 31 Aug 2011a.

Beighton P, Osteoarthritis in van Buchem disease, written communication, 31 Aug 2011b.

Beighton P, Vascular calcification in van Buchem disease, written communication, 7 Oct 2011c.

Beighton P, Vascular calcification in sclerosteosis, written communication, 7 Oct 2011d.

Beighton P, Barnard A, Hamersma H, van der Wouden A. The syndromic status of sclerosteosis and van Buchem disease. Clin Genet. 1984;25:175-181.

Berman SD, Yuan TL, Miller ES, et al. The retinoblastoma protein tumor suppressor is important for appropriate osteoblast differentiation and bone development. Mol Cancer Res. 2008;6:1440-1451.

Bettica P, Cline G, Hart DJ, Meyer J, Spector TD. Evidence for increased bone resorption in patients with progressive knee osteoarthritis: longitudinal results from the Chingford study. Arthritis Rheum. 2002;46:3178-3184.

Bingham CO, 3rd, Buckland-Wright JC, Garnero P, et al. Risedronate decreases biochemical markers of cartilage degradation but does not decrease symptoms or slow radiographic progression in patients with medial compartment osteoarthritis of the knee: results of the two-year multinational knee osteoarthritis structural arthritis study. Arthritis Rheum. 2006;54:3494-3507.

Blaney Davidson EN, Remst DF, Vitters EL, et al. Increase in ALK1/ALK5 ratio as a cause for elevated MMP-13 expression in osteoarthritis in humans and mice. J Immunol. 2009;182:7937-7945.

Bleil J, Sieper J, Maier R, et al. Cartilage in facet joints of patients with ankylosing spondylitis (AS) shows signs of cartilage degeneration rather than chondrocyte hypertrophy: implications for joint remodeling in AS. Arthritis Res Ther. 2015;17:170.

Blin-Wakkach C, Wakkach A, Sexton PM, Rochet N, Carle GF. Hematological defects in the oc/oc mouse, a model of infantile malignant osteopetrosis. Leukemia. 2004;18:1505-1511.

Blom AB, Brockbank SM, van Lent PL, et al. Involvement of the Wnt signaling pathway in experimental and human osteoarthritis: prominent role of Wnt-induced signaling protein 1. Arthritis Rheum. 2009;60:501-512.

Blom AB, van Lent PL, van der Kraan PM, van den Berg WB. To seek shelter from the WNT in osteoarthritis? WNT-signaling as a target for osteoarthritis therapy. Curr Drug Targets. 2010;11:620-629.

Blumenkrantz G, Lindsey CT, Dunn TC, et al. A pilot, two-year longitudinal study of the interrelationship between trabecular bone and articular cartilage in the osteoarthritic knee. Osteoarthritis Cartilage. 2004;12:997-1005.

Bonani M, Rodriguez D, Fehr T, et al. Sclerostin blood levels before and after kidney transplantation. Kidney Blood Press Res. 2014;39:230-239.

Bonde HV, Talman ML, Kofoed H. The area of the tidemark in osteoarthritis--a three-dimensional stereological study in 21 patients. Apmis. 2005;113:349-352.

Bostrom KI, Rajamannan NM, Towler DA. The regulation of valvular and vascular sclerosis by osteogenic morphogens. Circ Res. 2011;109:564-577.

Bouaziz W, Funck-Brentano T, Lin H, et al. Loss of sclerostin promotes osteoarthritis in mice via beta-catenin-dependent and -independent Wnt pathways. Arthritis Res Ther. 2015;17:24.

Boulais PE, Frenette PS. Making sense of hematopoietic stem cell niches. Blood. 2015;125:2621-2629.

Boyce RW, Paddock CL, Franks AF, Jankowsky ML, Eriksen EF. Effects of intermittent hPTH(1-34) alone and in combination with 1,25(OH)(2)D(3) or risedronate on endosteal bone remodeling in canine cancellous and cortical bone. J Bone Miner Res. 1996;11:600-613.

Bradbury JM, Edwards PA, Niemeyer CC, Dale TC. Wnt-4 expression induces a pregnancy-like growth pattern in reconstituted mammary glands in virgin mice. Dev Biol. 1995;170:553-563.

Brandenburg V, Kramann R, Koos R, et al. Relationship between sclerostin and cardiovascular calcification in hemodialysis patients: a cross-sectional study. BMC Nephrology. 2013;14:219.

Brandenburg VM, D'Haese P, Deck A, et al. From skeletal to cardiovascular disease in 12 steps-the evolution of sclerostin as a major player in CKD-MBD. Pediatr Nephrol. 2016;31:195-206.

Brown JP, Prince RL, Deal C, et al. Comparison of the effect of denosumab and alendronate on BMD and biochemical markers of bone turnover in postmenopausal women with low bone mass: a randomized, blinded, phase 3 trial. J Bone Miner Res. 2009;24:153-161.

Brunkow ME, Gardner JC, Van Ness J, et al. Bone dysplasia sclerosteosis results from loss of the SOST gene product, a novel cystine knot-containing protein. Am J Hum Genet. 2001;68:577-589.

Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, et al. osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. Genes Dev. 1998;12:1260-1268.

Cadigan KM, Peifer M. Wnt signaling from development to disease: insights from model systems. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2009;1:a002881.

Cai Y, Cai T, Chen Y. Wnt pathway in osteosarcoma, from oncogenic to therapeutic. J Cell Biochem. 2014;115:625-631.

Cai Y, Mohseny AB, Karperien M, et al. Inactive Wnt/beta-catenin pathway in conventional high-grade osteosarcoma. J Pathol. 2010;220:24-33.

Cain CJ, Rueda R, McLelland B, et al. Absence of sclerostin adversely affects B-cell survival. J Bone Miner Res. 2012;27:1451-1461.

Caira FC, Stock SR, Gleason TG, et al. Human degenerative valve disease is associated with up-regulation of low-density lipoprotein receptor-related protein 5 receptor-mediated bone formation. J Am Coll Cardiol. 2006;47:1707-1712.

Cannata-Andia JB, Roman-Garcia P, Hruska K. The connections between vascular calcification and bone health. Nephrol Dial Transplant. 2011;26:3429-3436.

Cartsos VM, Zhu S, Zavras AI. Bisphosphonate use and the risk of adverse jaw outcomes: a medical claims study of 714,217 people. J Am Dent Assoc. 2008;139:23-30.

Cejka D, Marculescu R, Kozakowski N, et al. Renal elimination of sclerostin increases with declining kidney function. J Clin Endocrinol Metab. 2014;99:248-255.

Chan BY, Fuller ES, Russell AK, et al. Increased chondrocyte sclerostin may protect against cartilage degradation in osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage. 2011;19:874-885.

Chapurlat RD. Odanacatib: a review of its potential in the management of osteoporosis in postmenopausal women. Ther Adv Musculoskelet Dis. 2015;7:103-109.

Charles JF, Aliprantis AO. Osteoclasts: more than 'bone eaters'. Trends Mol Med. 2014;20:449-459.

Chen H, Xu X, Liu M, et al. Sclerostin antibody treatment causes greater alveolar crest height and bone mass in an ovariectomized rat model of localized periodontitis. Bone. 2015;76:141-148.

Chen J, Lan Y, Baek JA, Gao Y, Jiang R. Wnt/beta-catenin signaling plays an essential role in activation of odontogenic mesenchyme during early tooth development. Dev Biol. 2009;334:174-185.

Chen XX, Baum W, Dwyer D, et al. Sclerostin inhibition reverses systemic, periarticular and local bone loss in arthritis. Ann Rheum Dis. 2013;72:1732-1736.

Chitteti BR, Cheng Y-H, Kacena MA, Srour EF. Hierarchical organization of osteoblasts reveals the significant role of CD166 in hematopoietic stem cell maintenance and function. Bone. 2013;54:58-67.

Chun JS, Oh H, Yang S, Park M. Wnt signaling in cartilage development and degeneration. BMB Rep. 2008;41:485-494.

Claes KJ, Viaene L, Heye S, et al. Sclerostin: Another vascular calcification inhibitor? J Clin Endocrinol Metab. 2013;98:3221-3228.

Clevers H, Nusse R. Wnt/beta-catenin signaling and disease. Cell. 2012;149:1192-1205.

Coats AM, Zioupos P, Aspden RM. Material properties of subchondral bone from patients with osteoporosis or osteoarthritis by microindentation testing and electron probe microanalysis. Calcif Tissue Int. 2003;73:66-71.

Collette NM, Yee CS, Murugesh D, et al. Sost and its paralog Sostdc1 coordinate digit number in a Gli3-dependent manner. Dev Biol. 2013;383:90-105.

Corr M. Wnt-beta-catenin signaling in the pathogenesis of osteoarthritis. Nat Clin Pract Rheumatol. 2008;4:550-556.

Corral DA, Amling M, Priemel M, et al. Dissociation between bone resorption and bone formation in osteopenic transgenic mice. Proc Natl Acad Sci U S A. 1998;95:13835-13840.

D'Amelio P, Sassi F, Buondonno I, et al. Effect of intermittent PTH treatment on plasma glucose in osteoporosis: A randomized trial. Bone. 2015;76:177-184.

Daniele G, Winnier D, Mari A, et al. Sclerostin and Insulin Resistance in Prediabetes: Evidence of a Cross Talk Between Bone and Glucose Metabolism. Diabetes Care. 2015;38:1509-1517.

Datta NS, Abou-Samra AB. PTH and PTHrP signaling in osteoblasts. Cell Signal. 2009;21:1245-1254.

Day TF, Guo X, Garrett-Beal L, Yang Y. Wnt/beta-catenin signaling in mesenchymal progenitors controls osteoblast and chondrocyte differentiation during vertebrate skeletogenesis. Dev Cell. 2005;8:739-750.

Delanaye P, Krzesinski JM, Warling X, et al. Clinical and biological determinants of sclerostin plasma concentration in hemodialysis patients. Nephron Clin Pract. 2014;128:127-134.

Dell'accio F, De Bari C, Eltawil NM, Vanhummelen P, Pitzalis C. Identification of the molecular response of articular cartilage to injury, by microarray screening: Wnt-16 expression and signaling after injury and in osteoarthritis. Arthritis Rheum. 2008;58:1410-1421.

Dequeker J, Aerssens J, Luyten FP. Osteoarthritis and osteoporosis: clinical and research evidence of inverse relationship. Aging Clin Exp Res. 2003;15:426-439.

Dhore CR, Cleutjens JP, Lutgens E, et al. Differential expression of bone matrix regulatory proteins in human atherosclerotic plaques. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2001;21:1998-2003.

Diarra D, Stolina M, Polzer K, et al. Dickkopf-1 is a master regulator of joint remodeling. Nat Med. 2007;13:156-163.

Didangelos A, Yin X, Mandal K, et al. Proteomics characterization of extracellular space components in the human aorta. Mol Cell Proteomics. 2010;9:2048-2062.

Ding L, Morrison SJ. Haematopoietic stem cells and early lymphoid progenitors occupy distinct bone marrow niches. Nature. 2013;495:231-235.

Diz P, Lopez-Cedrun JL, Arenaz J, Scully C. Denosumab-related osteonecrosis of the jaw. J Am Dent Assoc. 2012;143:981-984.

Dobnig H, Turner RT. Evidence that intermittent treatment with parathyroid hormone increases bone formation in adult rats by activation of bone lining cells. Endocrinology. 1995;136:3632-3638.

Drake MT, Srinivasan B, Mödder UI, et al. Effects of Parathyroid Hormone Treatment on Circulating Sclerostin Levels in Postmenopausal Women. J Clin Endocrinol Metab. 2010;95:5056-5062.

Drechsler C, Evenepoel P, Vervloet MG, et al. High levels of circulating sclerostin are associated with better cardiovascular survival in incident dialysis patients: results from the NECOSAD study. Nephrol Dial Transplant. 2015;30:288-293.

Drueke TB. Arterial intima and media calcification: distinct entities with different pathogenesis or all the same? Clin J Am Soc Nephrol. 2008;3:1583-1584.

Eddleston A, Marenzana M, Moore AR, et al. A short treatment with an antibody to sclerostin can inhibit bone loss in an ongoing model of colitis. J Bone Miner Res. 2009;24:1662-1671.

Ettenberg SA, Charlat O, Daley MP, et al. Inhibition of tumorigenesis driven by different Wnt proteins requires blockade of distinct ligand-binding regions by LRP6 antibodies. Proc Natl Acad Sci U S A. 2010;107:15473-15478.

European Medicines Agency (EMA), Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Guideline on the evaluation of medicinal products in the treatment of primary osteoporosis. Effective 31 May 2007. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003405.pdf. Accessed 17 March 2016.

European. European Medicines Agency (EMA), Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaw. Effective 24 September 2009. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Report/2010/01/WC500051428.pdf. Accessed 22 April 2016. European Medicines Agency (EMA), Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP) 2009.

Evenepoel P, Goffin E, Meijers B, et al. Sclerostin Serum Levels and Vascular Calcification Progression in Prevalent Renal Transplant Recipients. J Clin Endocrinol Metab. 2015;100:4669-4676.

Evrard S, Delanaye P, Kamel S, et al. Vascular calcification: from pathophysiology to biomarkers. Clinica Chimica Acta. 2015;438:401-414.

Faienza MF, Luce V, Ventura A, et al. Skeleton and glucose metabolism: a bone-pancreas loop. Int J Endocrinol. 2015;2015:758148.

Fang Y, Ginsberg C, Seifert M, et al. CKD-induced wingless/integration1 inhibitors and phosphorus cause the CKD-mineral and bone disorder. J Am Soc Nephrol. 2014;25:1760-1773.

Ferron M, Wei J, Yoshizawa T, et al. Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism. Cell. 2010;142:296-308.

Fox J, Miller MA, Newman MK, et al. Daily treatment of aged ovariectomized rats with human parathyroid hormone (1-84) for 12 months reverses bone loss and enhances trabecular and cortical bone strength. Calcif Tissue Int. 2006;79:262-272.

Foy BD, Blake J. Diffusion of paramagnetically labeled proteins in cartilage: enhancement of the 1-D NMR imaging technique. J Magn Reson. 2001;148:126-134.

Franzoso G, Carlson L, Xing L, et al. Requirement for NF-kappaB in osteoclast and B-cell development. Genes Dev. 1997;11:3482-3496.

Fulzele K, Riddle RC, DiGirolamo DJ, et al. Insulin receptor signaling in osteoblasts regulates postnatal bone acquisition and body composition. Cell. 2010;142:309-319.

Gardner JC, van Bezooijen RL, Mervis B, et al. Bone mineral density in sclerosteosis; affected individuals and gene carriers. J Clin Endocrinol Metab. 2005;90:6392-6395.

Garnero P, Aronstein WS, Cohen SB, et al. Relationships between biochemical markers of bone and cartilage degradation with radiological progression in patients with knee osteoarthritis receiving risedronate: the Knee Osteoarthritis Structural Arthritis randomized clinical trial. Osteoarthritis Cartilage. 2008;16:660-666.

Gelse K, Ekici AB, Cipa F, et al. Molecular differentiation between osteophytic and articular cartilage--clues for a transient and permanent chondrocyte phenotype. Osteoarthritis Cartilage. 2012;20:162-171.

Gesty-Palmer D, Yuan L, Martin B, et al. beta-arrestin-selective G protein-coupled receptor agonists engender unique biological efficacy in vivo. Mol Endocrinol. 2013;27:296-314.

Gonçalves F, Elias R, dos Reis L, et al. Serum sclerostin is an independent predictor of mortality in hemodialysis patients. BMC Nephrology. 2014;15:1-7.

Greenbaum A, Hsu Y-MS, Day RB, et al. CXCL12 in early mesenchymal progenitors is required for haematopoietic stem-cell maintenance. Nature. 2013;495:227-230.

Guanabens N, Ruiz-Gaspa S, Gifre L, et al. Sclerostin Expression in Bile Ducts of Patients with Chronic Cholestasis May Influence the Bone Disease in Primary Biliary Cirrhosis. J Bone Miner Res. 2016.

Guo X, Day TF, Jiang X, et al. Wnt/beta-catenin signaling is sufficient and necessary for synovial joint formation. Genes Dev. 2004;18:2404-2417.

Gurney JG, Severson RK, Davis S, Robison LL. Incidence of cancer in children in the United States. Sex-, race-, and 1-year age-specific rates by histologic type. Cancer. 1995;75:2186-2195.

Hall AP, Escott KJ, Sanganee H, Hickling KC. Preclinical toxicity of AZD7969: Effects of GSK3beta inhibition in adult stem cells. Toxicol Pathol. 2015;43:384-399.

Hamersma H, Gardner J, Beighton P. The natural history of sclerosteosis. Clin Genet. 2003;63:192-197.

Hampson G, Edwards S, Conroy S, et al. The relationship between inhibitors of the Wnt signalling pathway (Dickkopf-1(DKK1) and sclerostin), bone mineral density, vascular calcification and arterial stiffness in post-menopausal women. Bone. 2013;56:42-47.

Han P, Ivanovski S, Crawford R, Xiao Y. Activation of the Canonical Wnt Signaling Pathway Induces Cementum Regeneration. J Bone Miner Res. 2015;30:1160-1174.

Hansen T, Kunkel M, Springer E, et al. Actinomycosis of the jaws—histopathological study of 45 patients shows significant involvement in bisphosphonate-associated osteonecrosis and infected osteoradionecrosis. Virchows Archiv. 2007;451:1009-1017.

Hassler N, Roschger A, Gamsjaeger S, et al. Sclerostin deficiency is linked to altered bone composition. J Bone Miner Res. 2014;29:2144-2151.

Hayami T, Pickarski M, Wesolowski GA, et al. The role of subchondral bone remodeling in osteoarthritis: reduction of cartilage degeneration and prevention of osteophyte formation by alendronate in the rat anterior cruciate ligament transection model. Arthritis Rheum. 2004;50:1193-1206.

Hayami T, Pickarski M, Zhuo Y, et al. Characterization of articular cartilage and subchondral bone changes in the rat anterior cruciate ligament transection and meniscectomized models of osteoarthritis. Bone. 2006;38:234-243.

Haynes K, Tseng H-W, Kneissel M, et al. Treatment of a mouse model of ankylosing spondylitis with exogenous sclerostin has no effect on disease progression. BMC Musculoskelet Disord. 2015;16:1-8.

Heiland GR, Appel H, Poddubnyy D, et al. High level of functional dickkopf-1 predicts protection from syndesmophyte formation in patients with ankylosing spondylitis. Ann Rheum Dis. 2012;71:572-574.

Hens JR, Wilson KM, Dann P, et al. TOPGAL mice show that the canonical Wnt signaling pathway is active during bone development and growth and is activated by mechanical loading in vitro. J Bone Miner Res. 2005;20:1103-1113.

Hernandez P, Whitty C, John Wardale R, Henson FM. New insights into the location and form of sclerostin. Biochem Biophys Res Commun. 2014;446:1108-1113.

Hiram-Bab S, Liron T, Deshet-Unger N, et al. Erythropoietin directly stimulates osteoclast precursors and induces bone loss. FASEB J. 2015;29:1890-1900.

Hodsman AB, Bauer DC, Dempster DW, et al. Parathyroid hormone and teriparatide for the treatment of osteoporosis: a review of the evidence and suggested guidelines for its use. Endocr Rev. 2005;26:688-703.

Hodsman AB, Kisiel M, Adachi JD, Fraher LJ, Watson PH. Histomorphometric evidence for increased bone turnover without change in cortical thickness or porosity after 2 years of cyclical hPTH(1-34) therapy in women with severe osteoporosis. Bone. 2000;27:311-318.

Hoeppner LH, Secreto FJ, Westendorf JJ. Wnt Signaling as a Therapeutic Target for Bone Diseases. Expert Opin Ther Targets. 2009;13:485-496.

Hoff AO, Toth BB, Altundag K, et al. Osteonecrosis of the jaw in patients receiving intravenous bisphosphonate therapy. J Clin Oncol, ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edition). 2006;24(18S):8528.

Hong S-h, Koo J-w, Hwang JK, et al. Changes in Serum Osteocalcin are Not Associated with Changes in Glucose or Insulin for Osteoporotic Patients Treated with Bisphosphonate. J Bone Metab. 2013;20:37-41.

Hudson BD, Hum NR, Thomas CB, et al. SOST Inhibits Prostate Cancer Invasion. PLoS One. 2015;10:e0142058.

Huebner JL, Hanes MA, Beekman B, TeKoppele JM, Kraus VB. A comparative analysis of bone and cartilage metabolism in two strains of guinea-pig with varying degrees of naturally occurring osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage. 2002;10:758-767.

Hunter DJ, Bardet C, Mouraret S, et al. Wnt Acts as a Prosurvival Signal to Enhance Dentin Regeneration. J Bone Miner Res. 2015;30:1150-1159.

Hutchinson M, O'Ryan F, Chavez V, et al. Radiographic findings in bisphosphonate-treated patients with stage 0 disease in the absence of bone exposure. J Oral Maxillofac Surg. 2010;68:2232-2240.

Hwang Y-C, Jeong I-K, Ahn KJ, Chung HY. The uncarboxylated form of osteocalcin is associated with improved glucose tolerance and enhanced β-cell function in middle-aged male subjects. Diabetes Metab Res Rev. 2009;25:768-772.

International Conference on Harmonisation. Proposed Change to Rodent Carcinogenicity Testing of Pharmaceuticals - Regulatory Notice Document. S1, 2015.

Irie K, Ejiri S, Sakakura Y, Shibui T, Yajima T. Matrix mineralization as a trigger for osteocyte maturation. J Histochem Cytochem. 2008;56:561-567.

Ishitani T, Kishida S, Hyodo-Miura J, et al. The TAK1-NLK mitogen-activated protein kinase cascade functions in the Wnt-5a/Ca(2+) pathway to antagonize Wnt/beta-catenin signaling. Mol Cell Biol. 2003;23:131-139.

Itasaki N, Jones CM, Mercurio S, et al. Wise, a context-dependent activator and inhibitor of Wnt signalling. Development. 2003;130:4295-4305.

Jager A, Gotz W, Lossdorfer S, Rath-Deschner B. Localization of SOST/sclerostin in cementocytes in vivo and in mineralizing periodontal ligament cells in vitro. J Periodontal Res. 2010;45:246-254.

Jiang Y, Dai J, Zhang H, et al. Activation of the Wnt pathway through AR79, a GSK3beta inhibitor, promotes prostate cancer growth in soft tissue and bone. Mol Cancer Res. 2013;11:1597-1610.

Jiang Y, Zhao JJ, Mitlak BH, et al. Recombinant human parathyroid hormone (1-34) [teriparatide] improves both cortical and cancellous bone structure. J Bone Miner Res. 2003;18:1932-1941.

Jilka RL. Molecular and cellular mechanisms of the anabolic effect of intermittent PTH. Bone. 2007;40:1434-1446.

Jilka RL, Weinstein RS, Bellido T, et al. Increased bone formation by prevention of osteoblast apoptosis with parathyroid hormone. J Clin Invest. 1999;104:439-446.

Joiner DM, Less KD, Van Wieren EM, Hess D, Williams BO. Heterozygosity for an inactivating mutation in low-density lipoprotein-related receptor 6 (Lrp6) increases osteoarthritis severity in mice after ligament and meniscus injury. Osteoarthritis Cartilage. 2013;21:1576-1585.

Jolette J, Varela A, Attalla B, Smith SY, Hattersley G. Comparing the Incidence of Bone Tumors in Rats Chronically Exposed to Abaloparatide (BA058) or PTH. Poster presented at: Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research; 15 September 2014; Houston, TX. 2014.

Jolette J, Wilker CE, Smith SY, et al. Defining a noncarcinogenic dose of recombinant human parathyroid hormone 1-84 in a 2-year study in Fischer 344 rats. Toxicol Pathol. 2006;34:929-940.

Jones KB. Osteosarcomagenesis: modeling cancer initiation in the mouse. Sarcoma. 2011;2011:694136.

Jung Y, Wang J, Schneider A, et al. Regulation of SDF-1 (CXCL12) production by osteoblasts; a possible mechanism for stem cell homing. Bone. 2006;38:497-508.

Kaden JJ, Bickelhaupt S, Grobholz R, et al. Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulate aortic valve calcification. J Mol Cell Cardiol. 2004;36:57-66.

Kamioka H, Honjo T, Takano-Yamamoto T. A three-dimensional distribution of osteocyte processes revealed by the combination of confocal laser scanning microscopy and differential interference contrast microscopy. Bone. 2001;28:145-149.

Kanbay M, Siriopol D, Saglam M, et al. Serum sclerostin and adverse outcomes in nondialyzed chronic kidney disease patients. J Clin Endocrinol Metab. 2014;99:E1854-1861.

Kansara M, Teng MW, Smyth MJ, Thomas DM. Translational biology of osteosarcoma. Nat Rev Cancer. 2014;14:722-735.

Kansara M, Tsang M, Kodjabachian L, et al. Wnt inhibitory factor 1 is epigenetically silenced in human osteosarcoma, and targeted disruption accelerates osteosarcomagenesis in mice. J Clin Invest. 2009;119:837-851.

Karlsson C, Dehne T, Lindahl A, et al. Genome-wide expression profiling reveals new candidate genes associated with osteoarthritis. Osteoarthritis Cartilage. 2010;18:581-592.

Karsdal MA, Bay-Jensen AC, Lories RJ, et al. The coupling of bone and cartilage turnover in osteoarthritis: opportunities for bone antiresorptives and anabolics as potential treatments? Ann Rheum Dis. 2014;73:336-348.

Kato M, Patel MS, Levasseur R, et al. Cbfa1-independent decrease in osteoblast proliferation, osteopenia, and persistent embryonic eye vascularization in mice deficient in Lrp5, a Wnt coreceptor. J Cell Biol. 2002;157:303-314.

Ke HZ, Richards WG, Li X, Ominsky MS. Sclerostin and Dickkopf-1 as therapeutic targets in bone diseases. Endocr Rev. 2012;33:747-783.

Keller H, Kneissel M. SOST is a target gene for PTH in bone. Bone. 2005;37:148-158.

Khan AA, Morrison A, Hanley DA, et al. Diagnosis and management of osteonecrosis of the jaw: a systematic review and international consensus. J Bone Miner Res. 2015;30:3-23.

Kiechl S, Wittmann J, Giaccari A, et al. Blockade of receptor activator of nuclear factor-kappaB (RANKL) signaling improves hepatic insulin resistance and prevents development of diabetes mellitus. Nat Med. 2013;19:358-363.

Kim BJ, Bae SJ, Lee SY, et al. TNF-alpha mediates the stimulation of sclerostin expression in an estrogen-deficient condition. Biochem Biophys Res Commun. 2012;424:170-175.

Kim JA, Kang YJ, Park G, et al. Identification of a stroma-mediated Wnt/beta-catenin signal promoting self-renewal of hematopoietic stem cells in the stem cell niche. Stem Cells. 2009;27:1318-1329.

Kim K-I, Park KU, Chun EJ, et al. A Novel Biomarker of Coronary Atherosclerosis: Serum DKK1 Concentration Correlates with Coronary Artery Calcification and Atherosclerotic Plaques. J Korean Med Sci. 2011;26:1178-1184.

Kim NH, Kim HS, Kim NG, et al. p53 and microRNA-34 are suppressors of canonical Wnt signaling. Sci Signal. 2011;4:ra71.

Kim SW, Pajevic PD, Selig M, et al. Intermittent parathyroid hormone administration converts quiescent lining cells to active osteoblasts. J Bone Miner Res. 2012;27:2075-2084.

Kim TH, Lee JY, Baek JA, et al. Constitutive stabilization of ss-catenin in the dental mesenchyme leads to excessive dentin and cementum formation. Biochem Biophys Res Commun. 2011;412:549-555.

King AE, Umland EM. Osteonecrosis of the jaw in patients receiving intravenous or oral bisphosphonates. Pharmacotherapy. 2008;28:667-677.

Kode A, Manavalan JS, Mosialou I, et al. Leukaemogenesis induced by an activating beta-catenin mutation in osteoblasts. Nature. 2014;506:240-244.

Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, et al. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. Nature. 1999;397:315-323.

Koos R, Brandenburg V, Mahnken AH, et al. Sclerostin as a potential novel biomarker for aortic valve calcification: an in-vivo and ex-vivo study. J Heart Valve Dis. 2013;22:317-325.

Kramann R, Kunter U, Brandenburg VM, et al. Osteogenesis of heterotopically transplanted mesenchymal stromal cells in rat models of chronic kidney disease. J Bone Miner Res. 2013;28:2523-2534.

Kramer I, Loots GG, Studer A, Keller H, Kneissel M. Parathyroid hormone (PTH)-induced bone gain is blunted in SOST overexpressing and deficient mice. J Bone Miner Res. 2010;25:178-189.

Kraus VB, Feng S, Wang S, et al. Trabecular morphometry by fractal signature analysis is a novel marker of osteoarthritis progression. Arthritis Rheum. 2009;60:3711-3722.

Krause A, Speacht T, Govey P, et al. Sarcopenia and Increased Body Fat in Sclerostin Deficient Mice [ASBMR abstract]. J Bone Miner Res. 2014;29 (Suppl 1):S8.

Kuchler U, Schwarze UY, Dobsak T, et al. Dental and periodontal phenotype in sclerostin knockout mice. Int J Oral Sci. 2014;6:70-76.

Kuipers AL, Miljkovic I, Carr JJ, et al. Association of circulating sclerostin with vascular calcification in Afro-Caribbean men. Atherosclerosis. 2015;239:218-223.

Kusu N, Laurikkala J, Imanishi M, et al. Sclerostin is a novel secreted osteoclast-derived bone morphogenetic protein antagonist with unique ligand specificity. J Biol Chem. 2003;278:24113-24117.

Lane NE, Nevitt MC, Lui LY, de Leon P, Corr M. Wnt signaling antagonists are potential prognostic biomarkers for the progression of radiographic hip osteoarthritis in elderly Caucasian women. Arthritis Rheum. 2007;56:3319-3325.

Lane TF, Leder P. Wnt-10b directs hypermorphic development and transformation in mammary glands of male and female mice. Oncogene. 1997;15:2133-2144.

Langdahl B, Binkley N, Bone H, et al. Odanacatib in the treatment of postmenopausal women with low bone mineral density: five years of continued therapy in a phase 2 study. J Bone Miner Res. 2012;27:2251-2258.

Lasco A, Morabito N, Basile G, et al. Denosumab Inhibition of RANKL and Insulin Resistance in Postmenopausal Women with Osteoporosis. Calcif Tissue Int. 2016;98:123-128.

Lawal RA, Calvi LM. The niche as a target for hematopoietic manipulation and regeneration. Tissue Eng Part B Rev. 2011;17:415-422.

Lee NK, Sowa H, Hinoi E, et al. Endocrine Regulation of Energy Metabolism by the Skeleton. Cell. 2007;130:456-469.

Lehnen SD, Gotz W, Baxmann M, Jager A. Immunohistochemical evidence for sclerostin during cementogenesis in mice. Ann Anat. 2012;194:415-421.

Leijten JC, Bos SD, Landman EB, et al. GREM1, FRZB and DKK1 mRNA levels correlate with osteoarthritis and are regulated by osteoarthritis-associated factors. Arthritis Res Ther. 2013;15:R126.

Lengner CJ, Steinman HA, Gagnon J, et al. Osteoblast differentiation and skeletal development are regulated by Mdm2-p53 signaling. J Cell Biol. 2006;172:909-921.

Lesclous P, Abi Najm S, Carrel JP, et al. Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: a key role of inflammation? Bone. 2009;45:843-852.

Leucht P, Minear S, Ten Berge D, Nusse R, Helms JA. Translating insights from development into regenerative medicine: the function of Wnts in bone biology. Semin Cell Dev Biol. 2008;19:434-443.

Lewiecki EM. Role of sclerostin in bone and cartilage and its potential as a therapeutic target in bone diseases. Ther Adv Musculoskelet Dis. 2014;6:48-57.

Li JY, Walker LD, Tyagi AM, et al. The sclerostin-independent bone anabolic activity of intermittent PTH treatment is mediated by T-cell-produced Wnt10b. J Bone Miner Res. 2014;29:43-54.

Li X, Liu H, Qin L, et al. Determination of dual effects of parathyroid hormone on skeletal gene expression in vivo by microarray and network analysis. J Biol Chem. 2007;282:33086-33097.

Li X, Ominsky MS, Niu QT, et al. Targeted deletion of the sclerostin gene in mice results in increased bone formation and bone strength. J Bone Miner Res. 2008;23:860-869.

Li X, Ominsky MS, Warmington KS, et al. Sclerostin antibody treatment increases bone formation, bone mass, and bone strength in a rat model of postmenopausal osteoporosis. J Bone Miner Res. 2009;24:578-588.

Lim WH, Liu B, Cheng D, et al. Wnt signaling regulates pulp volume and dentin thickness. J Bone Miner Res. 2014;29:892-901.

Lindsay R, Cosman F, Zhou H, et al. A novel tetracycline labeling schedule for longitudinal evaluation of the short-term effects of anabolic therapy with a single iliac crest bone biopsy: early actions of teriparatide. J Bone Miner Res. 2006;21:366-373.

Liu C, Weng Y, Yuan T, et al. CXCL12/CXCR4 signal axis plays an important role in mediating bone morphogenetic protein 9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. Int J Med Sci. 2013;10:1181-1192.

Liu H, Li B. p53 control of bone remodeling. J Cell Biochem. 2010;111:529-534.

Lodewyckx L, Luyten FP, Lories RJ. Genetic deletion of low-density lipoprotein receptor-related protein 5 increases cartilage degradation in instability-induced osteoarthritis. Rheumatology (Oxford). 2012;51:1973-1978.

Logan CY, Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease. Annu Rev Cell Dev Biol. 2004;20:781-810.

Loots GG, Kneissel M, Keller H, et al. Genomic deletion of a long-range bone enhancer misregulates sclerostin in Van Buchem disease. Genome Res. 2005;15:928-935.

Lories RJ, Peeters J, Bakker A, et al. Articular cartilage and biomechanical properties of the long bones in Frzb-knockout mice. Arthritis Rheum. 2007;56:4095-4103.

Lories RJ, Schett G. Pathophysiology of new bone formation and ankylosis in spondyloarthritis. Rheum Dis Clin North Am. 2012;38:555-567.

Loughlin J, Dowling B, Chapman K, et al. Functional variants within the secreted frizzled-related protein 3 gene are associated with hip osteoarthritis in females. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004;101:9757-9762.

Luo G, Ducy P, McKee MD, et al. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. Nature. 1997;386:78-81.

Ma B, Landman EB, Miclea RL, et al. WNT signaling and cartilage: of mice and men. Calcif Tissue Int. 2013;92:399-411.

Ma YL, Zeng Q, Donley DW, et al. Teriparatide increases bone formation in modeling and remodeling osteons and enhances IGF-II immunoreactivity in postmenopausal women with osteoporosis. J Bone Miner Res. 2006;21:855-864.

Mackie EJ, Tatarczuch L, Mirams M. The skeleton: a multi-functional complex organ: the growth plate chondrocyte and endochondral ossification. J Endocrinol. 2011;211:109-121.

Mahjoub Z, Jean S, Leclerc JT, et al. Incidence and Characteristics of Atypical Femoral Fractures: Clinical and Geometrical Data. J Bone Miner Res. 2016;31:767-776.

Mani A, Radhakrishnan J, Wang H, et al. LRP6 mutation in a family with early coronary disease and metabolic risk factors. Science. 2007;315:1278-1282.

Manilay JO, Zouali M. Tight relationships between B lymphocytes and the skeletal system. Trends Mol Med. 2014;20:405-412.

Mansour A, Anginot A, Mancini SJ, et al. Osteoclast activity modulates B-cell development in the bone marrow. Cell Res. 2011;21:1102-1115.

Mao W, Wordinger RJ, Clark AF. Functional analysis of disease-associated polymorphism LRP5.Q89R. Mol Vis. 2011;17:894-902.

Maran A, Riester S, Shogren K, Evans G, Yaszemski M. Increased Sclerostin Levels in Osteosarcoma. Poster presented at: Annual Meeting of the American Society for Bone and Mineral Research; 15 October 2012; Minneapolis, MN. 2012.

Marenzana M, Vugler A, Moore A, Robinson M. Effect of sclerostin-neutralising antibody on periarticular and systemic bone in a murine model of rheumatoid arthritis: a microCT study. Arthritis Res Ther. 2013;15:R125.

Mariani E, Pulsatelli L, Facchini A. Signaling pathways in cartilage repair. Int J Mol Sci. 2014;15:8667-8698.

Martel-Pelletier J, Pelletier JP. New insights into the major pathophysiological processes responsible for the development of osteoarthritis. Semin Arthritis Rheum. 2005;34:6-8.

Martin JW, Squire JA, Zielenska M. The Genetics of Osteosarcoma. Sarcoma. 2012;2012:11.

Marulanda J, Gao C, Roman H, Henderson JE, Murshed M. Prevention of arterial calcification corrects the low bone mass phenotype in MGP-deficient mice. Bone. 2013;57:499-508.

McClung MR, Grauer A, Boonen S, et al. Romosozumab in postmenopausal women with low bone mineral density. N Engl J Med. 2014;370:412-420.

Meling T, Nawab A, Harboe K, Fosse L. Atypical femoral fractures in elderly women: a fracture registry-based cohort study. Bone Joint J. 2014;96-B:1035-1040.

Mendelson A, Frenette PS. Hematopoietic stem cell niche maintenance during homeostasis and regeneration. Nat Med. 2014;20:833-846.

Mendoza-Villanueva D, Zeef L, Shore P. Metastatic breast cancer cells inhibit osteoblast differentiation through the Runx2/CBFbeta-dependent expression of the Wnt antagonist, sclerostin. Breast Cancer Res. 2011;13:R106.

Menini S, Iacobini C, Ricci C, et al. The galectin-3/RAGE dyad modulates vascular osteogenesis in atherosclerosis. Cardiovasc Res. 2013;100:472-480.

Min JL, Meulenbelt I, Riyazi N, et al. Association of the Frizzled-related protein gene with symptomatic osteoarthritis at multiple sites. Arthritis Rheum. 2005;52:1077-1080.

Modder UI, Hoey KA, Amin S, et al. Relation of age, gender, and bone mass to circulating sclerostin levels in women and men. J Bone Miner Res. 2011;26:373-379.

Moe SM, Chen NX, Newman CL, et al. Anti-sclerostin antibody treatment in a rat model of progressive renal osteodystrophy. J Bone Miner Res. 2015;30:499-509.

Morales-Santana S, García-Fontana B, García-Martín A, et al. Atherosclerotic Disease in Type 2 Diabetes Is Associated With an Increase in Sclerostin Levels. Diabetes Care. 2013;36:1667-1674.

Morena M, Jaussent I, Dupuy AM, et al. Osteoprotegerin and sclerostin in chronic kidney disease prior to dialysis: potential partners in vascular calcifications. Nephrol Dial Transplant. 2015;30:1345-1356.

Morrison SJ, Scadden DT. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells. Nature. 2014;505:327-334.

Moyses RM, Jamal SA, Graciolli FG, dos Reis LM, Elias RM. Can we compare serum sclerostin results obtained with different assays in hemodialysis patients? Int Urol Nephrol. 2015;47:847-850.

Naka T, Yokose S. Spatiotemporal expression of sclerostin in odontoblasts during embryonic mouse tooth morphogenesis. J Endod. 2011;37:340-345.

Nemeth MJ, Mak KK, Yang Y, Bodine DM. beta-Catenin expression in the bone marrow microenvironment is required for long-term maintenance of primitive hematopoietic cells. Stem Cells. 2009;27:1109-1119.

NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. JAMA. 2001;285;6:785-795.

Nioi P, Taylor S, Hu R, et al. Transcriptional Profiling of Laser Capture Microdissected Subpopulations of the Osteoblast Lineage Provides Insight Into the Early Response to Sclerostin Antibody in Rats. J Bone Miner Res. 2015.

Nusse R, Varmus HE. Many tumors induced by the mouse mammary tumor virus contain a provirus integrated in the same region of the host genome. Cell. 1982;31:99-109.

Oh H, Chun CH, Chun JS. Dkk-1 expression in chondrocytes inhibits experimental osteoarthritic cartilage destruction in mice. Arthritis Rheum. 2012;64:2568-2578.

Oh IH, Humphries RK. Concise review: Multidimensional regulation of the hematopoietic stem cell state. Stem Cells. 2012;30:82-88.

Omatsu Y, Sugiyama T, Kohara H, et al. The essential functions of adipo-osteogenic progenitors as the hematopoietic stem and progenitor cell niche. Immunity. 2010;33:387-399.

Ominsky MS, Brown DL, Van G, et al. Differential temporal effects of sclerostin antibody and parathyroid hormone on cancellous and cortical bone and quantitative differences in effects on the osteoblast lineage in young intact rats. Bone. 2015;81:380-391.

Ominsky MS, Niu QT, Li C, Li X, Ke HZ. Tissue-level mechanisms responsible for the increase in bone formation and bone volume by sclerostin antibody. J Bone Miner Res. 2014;29:1424-1430.

Panaroni C, Wu JY. Interactions Between B Lymphocytes and the Osteoblast Lineage in Bone Marrow. Calcif Tissue Int. 2013;93:261-268.

Papapoulos S, Chapurlat R, Libanati C, et al. Five years of denosumab exposure in women with postmenopausal osteoporosis: results from the first two years of the FREEDOM extension. J Bone Miner Res. 2012;27:694-701.

Papapoulos S, Lippuner K, Roux C, et al. The effect of 8 or 5 years of denosumab treatment in postmenopausal women with osteoporosis: results from the FREEDOM Extension study. Osteoporos Int. 2015;26:2773-2783.

Pelletier S, Confavreux CB, Haesebaert J, et al. Serum sclerostin: the missing link in the bone-vessel cross-talk in hemodialysis patients? Osteoporos Int. 2015;26:2165-2174.

Pelletier S, Dubourg L, Carlier M-C, Hadj-Aissa A, Fouque D. The Relation between Renal Function and Serum Sclerostin in Adult Patients with CKD. Clin J Am Soc Nephrol. 2013;8:819-823.

Pi M, Wu Y, Quarles LD. GPRC6A mediates responses to osteocalcin in beta-cells in vitro and pancreas in vivo. J Bone Miner Res. 2011;26:1680-1683.

Pikilidou M, Yavropoulou M, Antoniou M, Yovos J. The Contribution of Osteoprogenitor Cells to Arterial Stiffness and Hypertension. J Vasc Res. 2015;52:32-40.

Pitsillides AA, Beier F. Cartilage biology in osteoarthritis--lessons from developmental biology. Nat Rev Rheumatol. 2011;7:654-663.

Pittas AG, Harris SS, Eliades M, Stark P, Dawson-Hughes B. Association between serum osteocalcin and markers of metabolic phenotype. J Clin Endocrinol Metab. 2009;94:827-832.

Polakis P. The many ways of Wnt in cancer. Curr Opin Genet Dev. 2007;17:45-51.

Poole KE, van Bezooijen RL, Loveridge N, et al. Sclerostin is a delayed secreted product of osteocytes that inhibits bone formation. FASEB J. 2005;19:1842-1844.

Pottenger LA, Phillips FM, Draganich LF. The effect of marginal osteophytes on reduction of varus-valgus instability in osteoarthritic knees. Arthritis Rheum. 1990;33:853-858.

Prestwood KM, Gunness M, Muchmore DB, et al. A comparison of the effects of raloxifene and estrogen on bone in postmenopausal women. J Clin Endocrinol Metab. 2000;85:2197-2202.

Prideaux M, Loveridge N, Pitsillides AA, Farquharson C. Extracellular matrix mineralization promotes E11/gp38 glycoprotein expression and drives osteocytic differentiation. PLoS One. 2012;7:e36786.

Qian H, Buza-Vidas N, Hyland CD, et al. Critical role of thrombopoietin in maintaining adult quiescent hematopoietic stem cells. Cell Stem Cell. 2007;1:671-684.

Qin L, Li X, Ko JK, Partridge NC. Parathyroid hormone uses multiple mechanisms to arrest the cell cycle progression of osteoblastic cells from G1 to S phase. J Biol Chem. 2005;280:3104-3111.

Qureshi AR, Olauson H, Witasp A, et al. Increased circulating sclerostin levels in end-stage renal disease predict biopsy-verified vascular medial calcification and coronary artery calcification. Kidney Int. 2015.

Rankin EB, Wu C, Khatri R, et al. The HIF signaling pathway in osteoblasts directly modulates erythropoiesis through the production of EPO. Cell. 2012;149:63-74.

Rauch F, Adachi R. Sclerostin: More than a bone formation brake. Sci Transl Med. 2016;8:330fs337.

Raynauld JP, Martel-Pelletier J, Berthiaume MJ, et al. Correlation between bone lesion changes and cartilage volume loss in patients with osteoarthritis of the knee as assessed by quantitative magnetic resonance imaging over a 24-month period. Ann Rheum Dis. 2008;67:683-688.

Recker R, Lappe J, Davies KM, Heaney R. Bone remodeling increases substantially in the years after menopause and remains increased in older osteoporosis patients. J Bone Miner Res. 2004;19:1628-1633.

Reddy MV, Sistare FD, Christensen JS, et al. An evaluation of chronic 6- and 12-month rat toxicology studies as predictors of 2-year tumor outcome. Vet Pathol. 2010;47:614-629.

Redlich K, Smolen JS. Inflammatory bone loss: pathogenesis and therapeutic intervention. Nat Rev Drug Discov. 2012;11:234-250.

Reichsman F, Smith L, Cumberledge S. Glycosaminoglycans can modulate extracellular localization of the wingless protein and promote signal transduction. J Cell Biol. 1996;135:819-827.

Reid IR, Miller PD, Brown JP, et al. Effects of denosumab on bone histomorphometry: the FREEDOM and STAND studies. J Bone Miner Res. 2010;25:2256-2265.

Robling AG, Niziolek PJ, Baldridge LA, et al. Mechanical stimulation of bone in vivo reduces osteocyte expression of Sost/sclerostin. J Biol Chem. 2008;283:5866-5875.

Roelink H, Wagenaar E, Lopes da Silva S, Nusse R. Wnt-3, a gene activated by proviral insertion in mouse mammary tumors, is homologous to int-1/Wnt-1 and is normally expressed in mouse embryos and adult brain. Proc Natl Acad Sci U S A. 1990;87:4519-4523.

Roman-Garcia P, Carrillo-Lopez N, Fernandez-Martin JL, et al. High phosphorus diet induces vascular calcification, a related decrease in bone mass and changes in the aortic gene expression. Bone. 2010;46:121-128.

Ross RD, Edwards LH, Acerbo AS, et al. Bone matrix quality after sclerostin antibody treatment. J Bone Miner Res. 2014;29:1597-1607.

Roudier M, Li X, Niu QT, et al. Sclerostin is expressed in articular cartilage but loss or inhibition does not affect cartilage remodeling during aging or following mechanical injury. Arthritis Rheum. 2013;65:721-731.

Ruggiero SL, Dodson TB, Assael LA, et al. American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons position paper on bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws--2009 update. J Oral Maxillofac Surg. 2009;67:2-12.

Sabbagh Y, Graciolli FG, O'Brien S, et al. Repression of osteocyte Wnt/beta-catenin signaling is an early event in the progression of renal osteodystrophy. J Bone Miner Res. 2012;27:1757-1772.

Saita Y, Ishijima M, Kaneko K. Atypical femoral fractures and bisphosphonate use: current evidence and clinical implications. Ther Adv Chronic Dis. 2015;6:185-193.

Samuels J, Krasnokutsky S, Abramson SB. Osteoarthritis: a tale of three tissues. Bull NYU Hosp Jt Dis. 2008;66:244-250.

Savage SA, Mirabello L, Wang Z, et al. Genome-wide association study identifies two susceptibility loci for osteosarcoma. Nat Genet. 2013;45:799-803.

Scanzello CR, Goldring SR. The role of synovitis in osteoarthritis pathogenesis. Bone. 2012;51:249-257.

Schett G, Bozec A. Removing the bone brake. Cell Metab. 2014;20:394-395.

Schett G, Rudwaleit M. Can we stop progression of ankylosing spondylitis? Best Pract Res Clin Rheumatol. 2010;24:363-371.

Schilcher J, Koeppen V, Aspenberg P, Michaelsson K. Risk of atypical femoral fracture during and after bisphosphonate use. N Engl J Med. 2014;371:974-976.

Schilcher J, Koeppen V, Aspenberg P, Michaelsson K. Risk of atypical femoral fracture during and after bisphosphonate use. Acta Orthop. 2015;86:100-107.

Schwartz AV, Schafer AL, Grey A, et al. Effects of antiresorptive therapies on glucose metabolism: results from the FIT, HORIZON-PFT, and FREEDOM trials. J Bone Miner Res. 2013;28:1348-1354.

Scimeca JC, Franchi A, Trojani C, et al. The gene encoding the mouse homologue of the human osteoclast-specific 116-kDa V-ATPase subunit bears a deletion in osteosclerotic (oc/oc) mutants. Bone. 2000;26:207-213.

Seeman E. Structural basis of growth-related gain and age-related loss of bone strength. Rheumatology (Oxford). 2008;47 Suppl 4:iv2-8.

Shane E, Burr D, Abrahamsen B, et al. Atypical subtrochanteric and diaphyseal femoral fractures: second report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. J Bone Miner Res. 2014;29:1-23.

Shane E, Burr D, Ebeling PR, et al. Atypical subtrochanteric and diaphyseal femoral fractures: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research. J Bone Miner Res. 2010;25:2267-2294.

Shao JS, Cheng SL, Pingsterhaus JM, et al. Msx2 promotes cardiovascular calcification by activating paracrine Wnt signals. J Clin Invest. 2005;115:1210-1220.

Sharma AR, Jagga S, Lee S-S, Nam J-S. Interplay between Cartilage and Subchondral Bone Contributing to Pathogenesis of Osteoarthritis. Int J Mol Sci. 2013;14:19805-19830.

Shemesh J, Motro M, Morag-Koren N, et al. Coronary artery calcification predicts long-term mortality in hypertensive adults. Am J Hypertens. 2011;24:681-686.

Shen J, Li S, Chen D. TGF-β signaling and the development of osteoarthritis. Bone Research. 2014;2:14002.

Shimizu T, Ishikawa T, Sugihara E, et al. c-MYC overexpression with loss of Ink4a/Arf transforms bone marrow stromal cells into osteosarcoma accompanied by loss of adipogenesis. Oncogene. 2010;29:5687-5699.

Shin Y, Huh YH, Kim K, et al. Low-density lipoprotein receptor-related protein 5 governs Wnt-mediated osteoarthritic cartilage destruction. Arthritis Res Ther. 2014;16:R37.

Sinder BP, Salemi JD, Ominsky MS, et al. Rapidly growing Brtl/+ mouse model of osteogenesis imperfecta improves bone mass and strength with sclerostin antibody treatment. Bone. 2015;71:115-123.

Sistare FD, Morton D, Alden C, et al. An analysis of pharmaceutical experience with decades of rat carcinogenicity testing: support for a proposal to modify current regulatory guidelines. Toxicol Pathol. 2011;39:716-744.

Song JL, Nigam P, Tektas SS, Selva E. microRNA regulation of Wnt signaling pathways in development and disease. Cell Signal. 2015;27:1380-1391.

Spatz JM, Ellman R, Cloutier AM, et al. Sclerostin antibody inhibits skeletal deterioration due to reduced mechanical loading. J Bone Miner Res. 2013;28:865-874.

Spector TD, Conaghan PG, Buckland-Wright JC, et al. Effect of risedronate on joint structure and symptoms of knee osteoarthritis: results of the BRISK randomized, controlled trial [ISRCTN01928173]. Arthritis Res Ther. 2005;7:R625-633.

Staehling-Hampton K, Proll S, Paeper BW, et al. A 52-kb deletion in the SOST-MEOX1 intergenic region on 17q12-q21 is associated with van Buchem disease in the Dutch population. Am J Med Genet. 2002;110:144-152.

Staines KA, Madi K, Mirczuk SM, et al. Endochondral Growth Defect and Deployment of Transient Chondrocyte Behaviors Underlie Osteoarthritis Onset in a Natural Murine Model. Arthritis Rheumatol. 2016;68:880-891.

Steiniche T, Eriksen EF, Kudsk H, Mosekilde L, Melsen F. Reconstruction of the formative site in trabecular bone by a new, quick, and easy method. Bone. 1992;13:147-152.

Stephen LX, Hamersma H, Gardner J, Beighton P. Dental and oral manifestations of sclerosteosis. Int Dent J. 2001;51:287-290.

Stier S, Ko Y, Forkert R, et al. Osteopontin is a hematopoietic stem cell niche component that negatively regulates stem cell pool size. J Exp Med. 2005;201:1781-1791.

Stok KS, Pelled G, Zilberman Y, et al. Revealing the interplay of bone and cartilage in osteoarthritis through multimodal imaging of murine joints. Bone. 2009;45:414-422.

Szulc P, Bertholon C, Borel O, Marchand F, Chapurlat R. Lower fracture risk in older men with higher sclerostin concentration: A prospective analysis from the MINOS study. Journal of Bone and Mineral Research. 2013;28:855-864.

Takaishi Y, Ikeo T, Nakajima M, Miki T, Fujita T. A pilot case-control study on the alveolar bone density measurement in risk assessment for bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. Osteoporos Int. 2010;21:815-825.

Takamatsu A, Ohkawara B, Ito M, et al. Verapamil protects against cartilage degradation in osteoarthritis by inhibiting Wnt/beta-catenin signaling. PLoS One. 2014;9:e92699.

Tamamura Y, Otani T, Kanatani N, et al. Developmental regulation of Wnt/beta-catenin signals is required for growth plate assembly, cartilage integrity, and endochondral ossification. J Biol Chem. 2005;280:19185-19195.

Tamminen IS, Yli-Kyyny T, Isaksson H, et al. Incidence and bone biopsy findings of atypical femoral fractures. J Bone Miner Metab. 2013;31:585-594.

Tamura M, Nemoto E, Sato MM, Nakashima A, Shimauchi H. Role of the Wnt signaling pathway in bone and tooth. Front Biosci (Elite Ed). 2010;2:1405-1413.

Tamura M, Sato MM, Nashimoto M. Regulation of CXCL12 expression by canonical Wnt signaling in bone marrow stromal cells. Int J Biochem Cell Biol. 2011;43:760-767.

Taylor KH, Middlefell LS, Mizen KD. Osteonecrosis of the jaws induced by anti-RANK ligand therapy. Br J Oral Maxillofac Surg. 2010;48:221-223.

Taylor S, Ominsky MS, Hu R, et al. Time-dependent cellular and transcriptional changes in the osteoblast lineage associated with sclerostin antibody treatment in ovariectomized rats. Bone. 2016;84:148-159.

Teichtahl AJ, Wluka AE, Wijethilake P, et al. Wolff's law in action: a mechanism for early knee osteoarthritis. Arthritis Res Ther. 2015;17:207.

Thompson B, Towler DA. Arterial calcification and bone physiology: role of the bone-vascular axis. Nat Rev Endocrinol. 2012;8:529-543.

Tintut Y, Alfonso Z, Saini T, et al. Multilineage potential of cells from the artery wall. Circulation. 2003;108:2505-2510.

Tokoyoda K, Egawa T, Sugiyama T, Choi BI, Nagasawa T. Cellular niches controlling B lymphocyte behavior within bone marrow during development. Immunity. 2004;20:707-718.

Toolan BC, Shea M, Myers ER, et al. Effects of 4-amino-1-hydroxybutylidene bisphosphonate on bone biomechanics in rats. J Bone Miner Res. 1992;7:1399-1406.

Toulis KA, Nirantharakumar K, Ryan R, Marshall T, Hemming K. Bisphosphonates and glucose homeostasis: a population-based, retrospective cohort study. J Clin Endocrinol Metab. 2015;100:1933-1940.

Tu X, Delgado-Calle J, Condon KW, et al. Osteocytes mediate the anabolic actions of canonical Wnt/β-catenin signaling in bone. Proc Natl Acad Sci U S A. 2015;112:E478-E486.

Uderhardt S, Diarra D, Katzenbeisser J, et al. Blockade of Dickkopf (DKK)-1 induces fusion of sacroiliac joints. Ann Rheum Dis. 2010;69:592-597.

Ueland T, Otterdal K, Lekva T, et al. Dickkopf-1 Enhances Inflammatory Interaction Between Platelets and Endothelial Cells and Shows Increased Expression in Atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2009;29:1228-1234.

Urano T, Shiraki M, Narusawa K, et al. Q89R polymorphism in the LDL receptor-related protein 5 gene is associated with spinal osteoarthritis in postmenopausal Japanese women. Spine (Phila Pa 1976). 2007;32:25-29.

Urech DM, Feige U, Ewert S, et al. Anti-inflammatory and cartilage-protecting effects of an intra-articularly injected anti-TNF{alpha} single-chain Fv antibody (ESBA105) designed for local therapeutic use. Ann Rheum Dis. 2010;69:443-449.

Vahle JL, Long GG, Sandusky G, et al. Bone neoplasms in F344 rats given teriparatide [rhPTH(1-34)] are dependent on duration of treatment and dose. Toxicol Pathol. 2004;32:426-438.

Vahle JL, Sato M, Long GG, et al. Skeletal changes in rats given daily subcutaneous injections of recombinant human parathyroid hormone (1-34) for 2 years and relevance to human safety. Toxicol Pathol. 2002;30:312-321.

Valdes AM, Lories RJ, van Meurs JB, et al. Variation at the ANP32A gene is associated with risk of hip osteoarthritis in women. Arthritis Rheum. 2009;60:2046-2054.

Valdes AM, Loughlin J, Timms KM, et al. Genome-wide association scan identifies a prostaglandin-endoperoxide synthase 2 variant involved in risk of knee osteoarthritis. Am J Hum Genet. 2008;82:1231-1240.

van Amerongen R, Nusse R. Towards an integrated view of Wnt signaling in development. Development. 2009;136:3205-3214.

van Bezooijen RL, Bronckers AL, Gortzak RA, et al. Sclerostin in mineralized matrices and van Buchem disease. J Dent Res. 2009;88:569-574.

van Bezooijen RL, Deruiter MC, Vilain N, et al. SOST expression is restricted to the great arteries during embryonic and neonatal cardiovascular development. Dev Dyn. 2007;236:606-612.

van Bezooijen RL, Roelen BA, Visser A, et al. Sclerostin is an osteocyte-expressed negative regulator of bone formation, but not a classical BMP antagonist. J Exp Med. 2004;199:805-814.

Van den Wyngaert T, Huizing MT, Fossion E, Vermorken JB. Scintigraphic evaluation of mandibular bone turnover in patients with solid tumors receiving zoledronic acid. Oral Oncol. 2010;46:214-218.

van der Kraan PM, van den Berg WB. Osteophytes: relevance and biology. Osteoarthritis Cartilage. 2007;15:237-244.

van Dinther M, Zhang J, Weidauer SE, et al. Anti-Sclerostin antibody inhibits internalization of Sclerostin and Sclerostin-mediated antagonism of Wnt/LRP6 signaling. PLoS One. 2013;8:e62295.

Van Hul W, Balemans W, Van Hul E, et al. Van Buchem disease (hyperostosis corticalis generalisata) maps to chromosome 17q12-q21. Am J Hum Genet. 1998;62:391-399.

van Lent PL, van den Berg WB, Schalkwijk J, van de Putte LB, van den Bersselaar L. The impact of protein size and charge on its retention in articular cartilage. J Rheumatol. 1987;14:798-805.

van Lent PL, van den Bersselaar L, Grutters GJ, van den Berg WB. Fate of antigen after intravenous and intraarticular injection into mice. Role of molecular weight and charge. J Rheumatol. 1989;16:1295-1303.

van Lierop AH, Hamdy NA, Hamersma H, et al. Patients with sclerosteosis and disease carriers: human models of the effect of sclerostin on bone turnover. J Bone Miner Res. 2011;26:2804-2811.

van Lierop AH, Hamdy NA, van Egmond ME, et al. Van Buchem disease: clinical, biochemical, and densitometric features of patients and disease carriers. J Bone Miner Res. 2013;28:848-854.

Vanhoenacker FM, Balemans W, Tan GJ, et al. Van Buchem disease: lifetime evolution of radioclinical features. Skeletal Radiol. 2003;32:708-718.

Vargas HM, Bass AS, Breidenbach A, et al. Scientific review and recommendations on preclinical cardiovascular safety evaluation of biologics. J Pharmacol Toxicol Methods. 2008;58:72-76.

Veverka V, Henry AJ, Slocombe PM, et al. Characterization of the structural features and interactions of sclerostin: molecular insight into a key regulator of Wnt-mediated bone formation. J Biol Chem. 2009;284:10890-10900.

Viaene L, Behets GJ, Claes K, et al. Sclerostin: another bone-related protein related to all-cause mortality in haemodialysis? Nephrol Dial Transplant. 2013;28:3024-3030.

Vincent C, Findlay DM, Welldon KJ, et al. Pro-inflammatory cytokines TNF-related weak inducer of apoptosis (TWEAK) and TNFalpha induce the mitogen-activated protein kinase (MAPK)-dependent expression of sclerostin in human osteoblasts. J Bone Miner Res. 2009;24:1434-1449.

Waguespack SG, Hui SL, Dimeglio LA, Econs MJ. Autosomal dominant osteopetrosis: clinical severity and natural history of 94 subjects with a chloride channel 7 gene mutation. J Clin Endocrinol Metab. 2007;92:771-778.

Walkley CR, Qudsi R, Sankaran VG, et al. Conditional mouse osteosarcoma, dependent on p53 loss and potentiated by loss of Rb, mimics the human disease. Genes Dev. 2008;22:1662-1676.

Wan M, Yang C, Li J, et al. Parathyroid hormone signaling through low-density lipoprotein-related protein 6. Genes Dev. 2008;22:2968-2979.

Wang M, Shen J, Jin H, et al. Recent progress in understanding molecular mechanisms of cartilage degeneration during osteoarthritis. Ann N Y Acad Sci. 2011;1240:61-69.

Wang X, Kua HY, Hu Y, et al. p53 functions as a negative regulator of osteoblastogenesis, osteoblast-dependent osteoclastogenesis, and bone remodeling. J Cell Biol. 2006;172:115-125.

Watanabe A, Yoneyama S, Nakajima M, et al. Osteosarcoma in Sprague-Dawley rats after long-term treatment with teriparatide (human parathyroid hormone (1-34)). J Toxicol Sci. 2012;37:617-629.

Wehmeyer C, Frank S, Beckmann D, et al. Sclerostin inhibition promotes TNF-dependent inflammatory joint destruction. Sci Transl Med. 2016;8:330ra335.

Weng LH, Wang CJ, Ko JY, et al. Inflammation induction of Dickkopf-1 mediates chondrocyte apoptosis in osteoarthritic joint. Osteoarthritis Cartilage. 2009;17:933-943.

Weng LH, Wang CJ, Ko JY, Sun YC, Wang FS. Control of Dkk-1 ameliorates chondrocyte apoptosis, cartilage destruction, and subchondral bone deterioration in osteoarthritic knees. Arthritis Rheum. 2010;62:1393-1402.

Willert K, Brown JD, Danenberg E, et al. Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors. Nature. 2003;423:448-452.

Wimalawansa SJ. Insight into bisphosphonate-associated osteomyelitis of the jaw: pathophysiology, mechanisms and clinical management. Expert Opin Drug Saf. 2008;7:491-512.

Witte F, Bernatik O, Kirchner K, et al. Negative regulation of Wnt signaling mediated by CK1-phosphorylated Dishevelled via Ror2. FASEB J. 2010;24:2417-2426.

Yang CY, Chang ZF, Chau YP, et al. Circulating Wnt/beta-catenin signalling inhibitors and uraemic vascular calcifications. Nephrol Dial Transplant. 2015;30:1356-1363.

Yoshihara H, Arai F, Hosokawa K, et al. Thrombopoietin/MPL signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence and interaction with the osteoblastic niche. Cell Stem Cell. 2007;1:685-697.

Yoshioka Y, Ono M, Maeda A, et al. CCN4/WISP-1 positively regulates chondrogenesis by controlling TGF-beta3 function. Bone. 2015;83:162-170.

Yu DG, Yu B, Mao YQ, et al. Efficacy of zoledronic acid in treatment of teoarthritis is dependent on the disease progression stage in rat medial meniscal tear model. Acta Pharmacol Sin. 2012;33:924-934.

Yu VW, Lymperi S, Ferraro F, Scadden DT. Transcriptome comparison of distinct osteolineage subsets in the hematopoietic stem cell niche using a triple fluorescent transgenic mouse model. Genom Data. 2015;5:318-319.

Yuen HF, Chan YP, Cheung WL, et al. The prognostic significance of BMP-6 signaling in prostate cancer. Mod Pathol. 2008;21:1436-1443.

Yuen HF, McCrudden CM, Grills C, et al. Combinatorial use of bone morphogenetic protein 6, noggin and SOST significantly predicts cancer progression. Cancer Sci. 2012;103:1145-1154.

Zhang Y, Sheu TJ, Hoak D, et al. CCN1 Regulates Chondrocyte Maturation and Cartilage Development. J Bone Miner Res. 2015.

Zhu D, Mackenzie NC, Millan JL, Farquharson C, MacRae VE. The appearance and modulation of osteocyte marker expression during calcification of vascular smooth muscle cells. PLoS One. 2011;6:e19595.

Zhu J, Garrett R, Jung Y, et al. Osteoblasts support B-lymphocyte commitment and differentiation from hematopoietic stem cells. Blood. 2007;109:3706-3712.

Zhu M, Chen M, Zuscik M, et al. Inhibition of beta-catenin signaling in articular chondrocytes results in articular cartilage destruction. Arthritis Rheum. 2008;58:2053-2064.

Zhu M, Tang D, Wu Q, et al. Activation of beta-catenin signaling in articular chondrocytes leads to osteoarthritis-like phenotype in adult beta-catenin conditional activation mice. J Bone Miner Res. 2009;24:12-21.

Zhu S, Chen K, Lan Y, et al. Alendronate protects against articular cartilage erosion by inhibiting subchondral bone loss in ovariectomized rats. Bone. 2013;53:340-349.

略語一覧

以下の略語を骨の組織学的形態計測結果の概要表並びに各試験報告書において使用した。

Abbreviation or Term	Definition/Explanation
Ac.f	activation frequency
Aj.AR	adjusted apposition rate
B.Ar	bone area
BFR/BS	bone formation rate, surface referent
BFR/BV	bone formation rate, volume referent
B.Pm	bone perimeter
BS/BV	bone surface
BV/TV	bone volume
Cn-B.Pm	cancellous bone perimeter
Cn-dL.Pm	double label perimeter
Cn-Ir.L.Wi	interlabel width
Cn-sL.Pm	single label perimeter
Cn-T.Ar	tissue area
Ct.Ar	cortical area
Ct.Wi	cortical width
Ct.WiUS	cortical width
dLS/BS	double label surface
Ec.BFR/BS	endocortical bone formation rate, surface referent
Ec.dL.Pm	endocortical double label perimeter
Ec.dL.Pm/Ec.Pm	endocortical double label surface
Ec.E.Pm	endocortical eroded perimeter
Ec.E.Pm/Ec.Pm	endocortical eroded surface
Ec.Fo.Pm/Ec.Pm	endocortical formative surface
Ec.Ir.L.Wi	endocortical interlabel width
Ec.L.Pm/Ec.Pm	endocortical labelled surface
Ec.MAR	endocortical mineral apposition rate
Ec.Pm	endocortical perimeter
Ec.PmUS	endocortical perimeter
Ec.Q.Pm/Ec.Pm	endocortical quiescent surface
Ec.sL.Pm	endocortical single label perimeter
Ec.sL.Pm/Ec.Pm	endocortical single label surface
Ec.Und.Pm	endocortical undefined perimeter
E.Pm	eroded perimeter
ES/BS	eroded surface
Fo.S/BS	formative surface
FP	formation period
H.ArUS	haversian area
H.Ac.F	haversian activation frequency
H.BFR/BS	haversian bone formation rate surface referent
H.BFR/BV	haversian bone formation rate volume referent
H.dL.Pm	haversian double label perimeter
H.dL.Pm/H.Pm	haversian double label surface
H.Ir.L.Wi	haversian interlabel width
H.L	haversian label
H.L.Pm/H.Pm	haversian labelled surface
H.MAR	haversian mineral apposition rate
H.Pm	haversian surface
H.sL.Pm	haversian single label perimeter
H.sL.Pm/H.Pm	haversian single label surface
H.W.Th	haversian wall thickness
H.W.Wi	haversian wall width
Ma.Ar	marrow area
MAR	mineral apposition rate

Abbreviation or Term	Definition/Explanation
Md.V/TV	mineralized volume
Me.Ar	medullary area
Mlt	mineralization lag time
MS/BS	mineralizing surface
N.L.On/Ct.Ar	labeled osteon number/cortical area referent
N.L.On/H.Ar	labeled osteon number/haversian area referent
N.Oc/BS	osteoclast number
non H.Pm	non-haversian perimeter
O.Ar	osteoid area
Ob.Pm	osteoblast perimeter
Ob + O.Pm	osteoblast + osteoid perimeter
Ob.S/BS	osteoblast surface
Oc.Pm	osteoclast perimeter
Oc.S/BS	osteoclast surface
Omt	osteoid maturation time
O.Pm	osteoid perimeter
OS/BS	osteoid surface
O.Th	osteoid thickness
OV/BV	osteoid volume (relative)
O.Wi	osteoid width
Pm	porosity perimeter
Po.Ar	porosity area
Ps.BFR/BS	periosteal bone formation rate, surface referent
Ps.dL.Pm	periosteal double label perimeter
Ps.dL.Pm/Ps.Pm	periosteal double label surface
Ps.Ir.L.Wi	periosteal interlabel width
Ps.L.Pm/Ps.Pm	periosteal labelled surface
Ps.MAR	periosteal mineral apposition rate
Ps.NewB.Ar	periosteal new bone area
Ps.Pm	periosteal perimeter
Ps.PmUS	periosteal perimeter
Ps.sL.Pm	periosteal single label perimeter
Ps.sL.Pm/Ps.Pm	periosteal single label surface
Ps.Und.Pm	periosteal undefined perimeter
Q.Pm	quiescent perimeter
QS/BS	quiescent surface
Rs.P	resorption period
sLS/BS	single label surface
T.Ar	tissue area
Tb.N	trabecular number
Tb.Sp	trabecular separation
Tb.Th	trabecular thickness
Tt.T.Ar	tissue area (total)
U.Pm	undefined perimeter
W.Th	wall thickness
W.Wi	wall width
% Ct.Ar	cortical area (relative)
% Me.Ar	medullary area (relative)
% Po.Ar	percent porosity area

表 1　薬理試験の概要表

Test article: romosozumab				
Type of study	Test System	Method of administration	Testing facility	Report Number
Primary pharmacodynamics in vitro ・ Mechanism of action				
Binding affinity of Romosozumab to Sclerostin	KinExA solution equilibrium binding assay	*in vitro*	Amgen, Inc.	R2006058
Effects of Romosozumab on Sclerostin Binding to LRP4, LRP5, and LRP6	KinExA solution equilibrium binding assay	*in vitro*	Amgen, Inc.	R20130040
Effects of Romosozumab in an Osteoblast-lineage Cell-based Mineralization Bioassay	MC3T3-E1-BF osteoblast-lineage cell-based mineralization assay	*in vitro*	Amgen, Inc.	R2006057

Abbreviations: Fab = fragment antigen binding; hTNFtg = human tumor necrosis factor transgenic mice; IA = intra-articular; IV = intravenous; KinExA = Kinetic Exclusion Assay; LRP4= Low-density lipoprotein receptor-related protein 4; LRP5= Low-density lipoprotein receptor-related protein 5; LRP6 = Low-density lipoprotein receptor-related protein 6; m13c7 = mouse 13c7, a mouse version of romosozumab; MMT = medial meniscal tear; OPG-Fc = osteoprotegerin Fc fusion; ORX = orchiectomized; OVX = ovariectomized; r13c7 = rat 13c7, a rat version of romosozumab; SC = subcutaneous; SD = Sprague-Dawley

表 1　薬理試験の概要表（続き）

Test article: romosozumab				
Type of Study	Test System	Method of administration	Testing facility	Report Number
Primary pharmacodynamics *in vivo*				
・ Models of Postmenopausal Bone Loss				
Temporal effects of r13c7 on bone; effects of withdrawal or transition to OPG-Fc	OVX SD Rat	SC	Amgen, Inc.	R20[redacted]0286
Effects of romosozumab on bone quality after 52 weeks	OVX SD Rat	SC	[redacted]	107899
Effects of romosozumab on bone quality after 52 weeks	OVX Cynomolgus Monkey	SC		107903
Effects of romosozumab on bone quality in the radius after 26 weeks	OVX Cynomolgus Monkey	SC		118025
Effects of pre- or co-treatment with alendronate on r13c7 efficacy in bone	OVX SD Rat	SC	Amgen, Inc.	R20[redacted]0773
Dose-response study for m13c7	OVX SD Rat	SC	Amgen, Inc.	R20[redacted]054

Abbreviations: Fab = fragment antigen binding; hTNFtg = human tumor necrosis factor transgenic mice; IA = intra-articular; IV = intravenous; KinExA = Kinetic Exclusion Assay; LRP4= Low-density lipoprotein receptor-related protein 4; LRP5= Low-density lipoprotein receptor-related protein 5; LRP6 = Low-density lipoprotein receptor-related protein 6; m13c7 = mouse 13c7, a mouse version of romosozumab; MMT = medial meniscal tear; OPG-Fc = osteoprotegerin Fc fusion; ORX = orchiectomized; OVX = ovariectomized; r13c7 = rat 13c7, a rat version of romosozumab; SC = subcutaneous; SD = Sprague-Dawley

表 1　薬理試験の概要表（続き）

Test article: romosozumab				
Type of Study	Test System	Method of administration	Testing facility	Report Number
Primary pharmacodynamics *in vivo*				
· Effect of Retreatment				
Retreatment with r13c7 after treatment-free period	OVX SD Rats	SC	Amgen, Inc.	R20[redacted]0173
Retreatment with r13c7 after maintenance with OPG-Fc	OVX SD Rats	SC	[redacted], [redacted], China	R20[redacted]0070
· Effects on Bone Modeling and Remodeling				
Effects of romosozumab on bone modeling/remodeling, tissue composition/mineralization, microarchitecture	Adolescent (4-5 year old) male cynomolgus monkeys	SC	[redacted] and Amgen, Inc.	108288
Effects of romosozumab on bone remodeling kinetics	Adult (10-12 year old) male cynomolgus monkeys	SC	[redacted], [redacted], China and Amgen, Inc.	R20[redacted]0071

Abbreviations: Fab = fragment antigen binding; hTNFtg = human tumor necrosis factor transgenic mice; IA = intra-articular; IV = intravenous; KinExA = Kinetic Exclusion Assay; LRP4= Low-density lipoprotein receptor-related protein 4; LRP5= Low-density lipoprotein receptor-related protein 5; LRP6 = Low-density lipoprotein receptor-related protein 6; m13c7 = mouse 13c7, a mouse version of romosozumab; MMT = medial meniscal tear; OPG-Fc = osteoprotegerin Fc fusion; ORX = orchiectomized; OVX = ovariectomized; r13c7 = rat 13c7, a rat version of romosozumab; SC = subcutaneous; SD = Sprague-Dawley

表 1　薬理試験の概要表（続き）

Test article: romosozumab				
Type of Study	Test System	Method of administration	Testing facility	Report Number
Secondary pharmacodynamics *in vitro* ・ Expression studies				
Expression profile for SOST	Human tissue panel	Not applicable	[redacted], [redacted], UK	119940
mRNA expression for SOST	Mouse, rat, cynomolgus monkey, human tissue panels	Not applicable	Amgen Inc. Thousand Oaks, CA	119937
Immunohistochemistry	Rat femoral-tibial joints from study ROA AMG 14	Not applicable	Amgen Inc. Thousand Oaks, CA	S11WR-00625

Abbreviations: Fab = fragment antigen binding; hTNFtg = human tumor necrosis factor transgenic mice; IA = intra-articular; IV = intravenous; KinExA = Kinetic Exclusion Assay; LRP4= Low-density lipoprotein receptor-related protein 4; LRP5= Low-density lipoprotein receptor-related protein 5; LRP6 = Low-density lipoprotein receptor-related protein 6; m13c7 = mouse 13c7, a mouse version of romosozumab; MMT = medial meniscal tear; OPG-Fc = osteoprotegerin Fc fusion; ORX = orchiectomized; OVX = ovariectomized; r13c7 = rat 13c7, a rat version of romosozumab; SC = subcutaneous; SD = Sprague-Dawley; SOST = gene encoding sclerostin

表 1　薬理試験の概要表（続き）

Test article: romosozumab				
Type of Study	Test System	Method of administration	Testing facility	Report Number
Secondary pharmacodynamics *in vivo*				
· Other Bone Loss Models				
Effects of r13c7 in a model of androgen ablation	ORX SD Rats	SC	Amgen, Inc.	R20[redacted]0227
Effects of r13c7 in a model of inflammatory bone loss	hTNFtg mice	SC	[redacted], Germany	R20[redacted]0147 (参考資料)
Effects of m13c7 in a model of bone loss due to skeletal unloading	C57BL/6J mice hindlimb unloading	SC	[redacted]	R20[redacted]0239 (参考資料)
· Effects on Fracture Healing				
Temporal effects of r13c7 on closed fracture healing	SD Rat closed femur fracture model	SC	[redacted], China and Amgen, Inc.	R20[redacted]0220
· Effects on Osteoarthritis				
Effects of r13c7 on induced osteoarthritis	Lewis rat MMT model	SC	[redacted]	ROA/AMG-14
Effects of sclerostin Fab on induced osteoarthritis	Lewis rat MMT model	IA	[redacted]	ROA/AMG-15

Abbreviations: Fab = fragment antigen binding; hTNFtg = human tumor necrosis factor transgenic mice; IA = intra-articular; IV = intravenous; KinExA = Kinetic Exclusion Assay; LRP4= Low-density lipoprotein receptor-related protein 4; LRP5= Low-density lipoprotein receptor-related protein 5; LRP6 = Low-density lipoprotein receptor-related protein 6; m13c7 = mouse 13c7, a mouse version of romosozumab; MMT = medial meniscal tear; OPG-Fc = osteoprotegerin Fc fusion; ORX = orchiectomized; OVX = ovariectomized; r13c7 = rat 13c7, a rat version of romosozumab; SC = subcutaneous; SD = Sprague-Dawley; SOST = gene encoding sclerostin

表 1　薬理試験の概要表（続き）

Test article: romosozumab				
Type of Study	Test System	Method of administration	Testing facility	Report Number
Safety pharmacology				
Neurobehavioral	SD rat	IV	[redacted]	106335
Cardiovascular/respiratory	Cynomolgus monkey	IV	[redacted]	105781

Abbreviations: Fab = fragment antigen binding; hTNFtg = human tumor necrosis factor transgenic mice; IA = intra-articular; IV = intravenous; KinExA = Kinetic Exclusion Assay; LRP4= Low-density lipoprotein receptor-related protein 4; LRP5= Low-density lipoprotein receptor-related protein 5; LRP6 = Low-density lipoprotein receptor-related protein 6; m13c7 = mouse 13c7, a mouse version of romosozumab; MMT = medial meniscal tear; OPG-Fc = osteoprotegerin Fc fusion; ORX = orchiectomized; OVX = ovariectomized; r13c7 = rat 13c7, a rat version of romosozumab; SC = subcutaneous; SD = Sprague-Dawley; SOST = gene encoding sclerostin

表 2　効力を裏付ける試験 - *In vitro* 試験
被験物質：ロモソズマブ及び代替抗体

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
Binding affinity of romosozumab to Sclerostin	KinExA solution equilibrium binding assay	Solution equilibrium binding analysis was performed to determine the binding affinity of romosozumab, r13C7, and m13C7 binding to human, cynomolgus monkey, mouse and/or rat sclerostin by Kinetic Exclusion Assay.	Romosozumab binds human, cynomolgus monkey, and rat sclerostin with measured K_D of 11 , 23 and 3 pM, respectively. Antibody r13C7 binds to rat sclerostin with measured K_D of 6 pM. Antibody m13C7 binds to human, mouse, and rat sclerostin with measured K_D of 9 pM, 1 pM, and 3 pM, respectively.	R2006058
Effects of romosozumab on Sclerostin Binding to LRP4, LRP5, and LRP6	Immunoprecipitation and Western Blotting	Human sclerostin was incubated with or without romosozumab prior to incubation and immunoprecipitation with recombinant ECDs of human LRP4, LRP5 and LRP6. Western blotting was used to evaluate the effect of romosozumab on LRP-sclerostin binding.	Although romosozumab did not block the binding of sclerostin to the ECD of the facilitator protein LRP4, it blocked the binding of sclerostin to the ECDs of the key Wnt signaling co-receptors, LRP5 and LRP6.	R20130040
Effects of romosozumab in an Osteoblast-lineage Cell-based Mineralization Bioassay	MC3T3-E1-BF osteoblast-lineage cell-based mineralization assay	A cell-based differentiation and matrix mineralization assay in MC3T3-E1-BF cells, a mouse calvaria-derived osteoblast-lineage cell line, was used to assess the sclerostin-neutralizing activity of romosozumab. Romosozumab (0, 10, 20 and 40 μg/mL) was pre-incubated with 1 μg/mL of sclerostin and this mixture was added to the MC3T3-E1-BF cell culture periodically during the 12-day assay period. Extent of mineralization (various types of insoluble calcium phosphate) was measured by solubilizing the calcium phosphate on day 12 and measuring total calcium.	Recombinant sclerostin from 4 species (human, cynomolgus, rat, and mouse) was able to dose-dependently inhibit matrix mineralization of MC3T3-E1-BF osteoblast-lineage cells. Romosozumab was able to block the inhibitory effect of sclerostin on mineralization and was shown to neutralize all 4 types of sclerostin tested (human, rat, cynomolgus monkey and mouse).	R2006057

Abbreviations: ECD = extracellular domain; LRP4 = Low-density lipoprotein receptor-related protein 4; LRP5 = Low-density lipoprotein receptor-related protein 5; LRP6 = Low-density lipoprotein receptor-related protein 6; KinExA = Kinetic Exclusion Assay technology; Kd = equilibrium dissociation constant; m13c7 = mouse 13c7, a mouse version of romosozumab; r13c7 = rat 13c7, a rat version of romosozumab

表 3A　効力を裏付ける試験 – *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ代替抗体

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
Temporal effects of r13c7 on bone; effects of withdrawal or transition to OPG-Fc	OVX SD Rat	Two months after surgery, six-month-old osteopenic OVX SD rats were treated SC QW with vehicle or 25 mg/kg r13c7 for 6, 12, or 26 weeks (n=12/group). Additional groups of OVX rats were treated for 6 weeks of 25 mg/kg r13c7 (SC QW, n=12) followed by 20 weeks of VEH (SC 2QW, n=12), 10 mg/kg OPG-Fc (SC 2QW, n=16), or reduced frequency of 25 mg/kg r13c7 (QM, n=12). Groups of sham-operated rats were terminated at baseline (n=10) and after 6, 12, and 26 (n=12/group). Endpoints included longitudinal assessment of DXA BMD and serum biomarkers; ex vivo assessments included microCT, bone strength, histomorphometry, osteoclastogenesis assay (bone marrow from femur), and gene expression from bone.	r13c7 progressively increased bone mass over 26 weeks by DXA at the lumbar spine and hind limb, resulting in significant increases in bone strength at the lumbar vertebra, femur neck, and femur diaphysis. Increases in bone formation with r13c7 peaked early and returned toward control levels over time. At week 6, histologic bone formation rate (BFR/BS) was significantly increased on trabecular surfaces in the vertebra and proximal tibia as well as on the periosteal and endocortical surfaces of the tibia diaphysis. The increase in BFR/BS attenuated over time with continued treatment, remaining elevated on proximal tibia trabecular and tibia endocortical surfaces, but approaching control levels by week 26 on the vertebral trabecular and tibia periosteal surfaces. r13c7 decreased indices of bone resorption as reflected in serum biomarkers and histomorphometric parameters. In addition, bone marrow collected from the right femur of r13c7-treated rats exhibited reduced ex vivo osteoclastogenesis at week 6 and 12. Significant increases in gene expression of the wnt inhibitors SOST and DKK1 were observed with r13c7 treatment at the vertebra through week 26. Discontinuation of Scl-Ab at week 6 resulted in loss of bone mass and strength over time, effects that were prevented by transition to rat OPG-Fc. Transition to less-frequent Scl-Ab dosing at week 6 also preserved the bone mass and strength gains, but did not achieve the increases achieved with continued dosing. Bone mass and bone strength remained positively correlated across all groups for all sites tested and r13c7 had a neutral-to-positive effect on calculated intrinsic strength parameters.	R20[redacted]0286

Footnotes are on the last page of the table.

表 3A　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ代替抗体（続き）

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
			Together these results demonstrate the self-regulation of bone formation and maintenance of bone quality with extended r13c7 treatment, and the ability of a RANKL inhibitor and reduced dosing frequency of r13c7 to preserve the r13c7-mediated gains in bone mass and strength after the transition.	R20[redacted]0286

Abbreviations: 2QW = once every two weeks; 3D = three-dimensional; ADA = anti drug antibody; ALN = alendronate; BFR/BS = Bone formation rate bone surface referent; BMD = bone mineral density; BMU = bone multicellular unit; bSEM = backscattered scanning electron microscopy; CTx= C-terminal telopeptide of collagen crosslink; DKK1= Dickkopf WNT signaling pathway inhibitor; DXA = dual-energy x-ray absorptiometry; ES/BS = eroded surface; Ec = endocortical; FE = finite element; FTIRM = Fourier-transform infrared microspectroscopy; HRpQCT = high-resolution peripheral quantitative computed tomography; L2 = second lumbar vertebra; L3 = third lumbar vertebra; m13c7 = Murine sclerostin-neutralizing monoclonal antibody; microCT = micro-computed tomography; OPG-Fc = osteoprotegerin Fc fusion; OVX = ovariectomized; pQCT = peripheral quantitative computed tomography; P1NP = pro-collagen n-telopeptide; Ps = periosteal; PTH = parathyroid hormone; QW: dosed once weekly; r13c7 = rat 13c7, a rat version of romosozumab; RANKL = Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand; RBF = remodeling bone formation; SC = subcutaneous; SD = Sprague-Dawley; Scl-Ab= Sclerostin monoclonal antibody; SOST = gene encoding sclerostin; Tb = trabecular; vBMC= volumetric bone mineral content; TRACP 5b = tartrate acid phosphatase 5b; Veh= Vehicle; W.Th = wall thickness

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ

	Report Title: A 12-Month Bone Quality Study to Determine the Effects of Weekly Subcutaneous Injection of AMG 785 in the Ovariectomized Sprague Dawley	
Primary Pharmacodynamics	Female Rat	Test Item: romosozumab
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	Duration of Dosing: weekly for 12 Months	Amgen Study No. 107899
Initial Age: 26 to 28 weeks	Duration of Postdose: N/A	[redacted] Study No. 670720
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: Subcutaneous injection	
	Vehicle/Formulation: AMG 785 Placebo: 55 mM acetate, 13 mM calcium, 6% sucrose, 0.006% polysorbate 20, pH 5.2 (20 mL/vial)	GLP Compliance: Yes

Special Features: Densitometry, Biomechanics, Histomorphometry. Study design was initially 20, 20, 50, 35 and 35 females/group respectively. Some animals were excluded based on the ADA response: 32 at 3 mg/kg (group 3), 17 at 10 mg/kg (group 4) and 15 at 50 mg/kg (group 5). Following terminal euthanasia, additional animals were excluded that were also ADA positive or had macroscopic and microscopic findings that would confound the OVX animal model: 5 in OVX control group (group 2), 3 at at 3 mg/kg (group 3), 8 at 10 mg/kg (group 4) and 5 at 50 mg/kg (group 5). Data from baseline groups (group 6 and 7) not shown. Number of Animals is the number assigned for interpretation of the results.
No Observed Adverse Effect Level: N/A

Daily Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Toxicokinetics:					
Serum Concentration (ng/mL)					
Week 1	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
Week 9	BQL	BQL	21400	175000	793000
Week 17	BQL	BQL	28500	181000	1010000
Week 25	BQL	BQL	40100	215000	1030000
Week 33	BQL	BQL	43100	242000	1190000
Week 41	BQL	BQL	43700	187000	978000
Week 49	BQL	BQL	39700	188000	877000
Week 52	BQL	BQL	44300	169000	837000

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Anti-Drug Antibody Positive/Total (%)					
Week 12	2/10 (20%)	1/15 (7%)	12/15 (80%)	0/10 (0%)	0/15 (0%)
Week 26	1/10 (10%)	2/15 (13%)	6/15 (40%)	0/10 (0%)	1/15 (7%)
Week 52	0/10 (0%)	0/15 (0%)	3/15 (20%)	0/10 (0%)	1/15 (7%)
Noteworthy Findings					
Died or Euthanized Moribund [a]	8	1	1	5	1
Body Weight	-	-	-	-	-
Food Consumption (%)	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-
Biochemical Markers					
Alkaline Phosphatase (U/L)					
End of Bone Depletion	39.2 B	64.4	57.7	59.0	65.1
% change from control [b]	-39.1	N/A	-10.4	-8.4	1.1
Week 11	28.3 C	52.1	54.2	52.0	58.6
% change from control [b]	-45.7	N/A	4.0	-0.2	12.5
% change from end of bone depletion	-23.7	-18.3	-2.9	-11.7	-6.0
Week 24	24.7 C	53.6	52.1	48.7	54.3
% change from control [b]	-53.9	N/A	-2.8	-9.1	1.3
% change from end of bone depletion	-35.0	-14.3	-7.8	-17.3	-13.0

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Biochemical Markers					
Alkaline Phosphatase (U/L)					
Week 39	28.7 C	48.5	45.3	44.9	48.3
% change from control [b]	-40.8	N/A	-6.6	-7.4	-0.4
% change from end of bone depletion	-22.3	-21.6	-18.7	-25.1	-21.2
Week 50	23.5 C	40.7	40.9	38.9	44.3
% change from control [b]	-42.3	N/A	0.5	-4.4	8.8
% change from end of bone depletion	-38.2	-34.9	-26.4	-34.1	-28.6
CTx (ng/mL)					
End of Bone Depletion	12.831	10.467	11.217	10.244	10.312
% change from control [b]	22.6	N/A	7.2	-2.1	-1.5
Week 11	9.744	11.689	13.127	13.072	13.730 A
% change from control [b]	-16.6	N/A	12.3	11.8	17.5
% change from end of bone depletion	-22.1	19.2	-24.5	36.0	45.5
Week 24	5.950 A	8.020	10.019 A	9.043	9.368
% change from control [b]	-25.8	N/A	24.9	12.8	16.8
% change from end of bone depletion	-51.9	-19.8	-6.0	-7.2	-0.9
Week 39	7.294	8.676	9.951	11.803 A	10.060
% change from control [b]	-15.9	N/A	14.7	36.0	16.0
% change from end of bone depletion	-39.7	-10.3	-5.3	23.0	3.7

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Biochemical Markers					
CTx (ng/mL)					
Week 50	7.159	9.048	10.306	10.093	9.731
% change from control [b]	-20.9	N/A	13.9	11.5	7.5
% change from end of bone depletion	-40.3	-11.3	-4.4	2.5	-2.8
DPD (nM/mM creatinine)					
End of Bone Depletion	19.365 C	37.176	37.394	42.466	41.702
% change from control [b]	-47.9	N/A	0.6	14.2	12.2
Week 11	13.692 C	25.477	27.871	29.381	23.557
% change from control [b]	-46.3	N/A	9.4	15.3	-7.5
% change from end of bone depletion	-25.5	-29.5	-20.5	-27.2	-34.2
Week 24	11.007 C	23.695	26.425	27.121	24.291
% change from control [b]	-53.5	N/A	11.5	14.5	2.5
% change from end of bone depletion	-34.8	-34.9	-26.5	-33.6	-30.9
Week 39	14.259 C	29.681	30.450	30.903	27.902
% change from control [b]	-52.0	N/A	2.6	4.1	-6.0
% change from end of bone depletion	-22.7	-17.8	-13.5	-25.8	-19.5
Week 50	18.308 B	28.906	34.670	32.370	30.128
% change from control [b]	-36.7	N/A	19.9	12.0	4.2
% change from end of bone depletion	3.0	-20.3	-3.9	-18.0	-12.4

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Biochemical Markers					
Osteocalcin (ng/mL)					
End of Bone Depletion	80.62	78.10	82.16	84.05	81.95
% change from control [b]	3.2	N/A	5.2	7.6	4.9
Week 11	51.98	57.12	61.91	73.82	70.41 C
% change from control [b]	-9.0	N/A	8.4	29.2	23.3
% change from end of bone depletion	-35.1	-25.8	-24.0	-11.6	-13.9
Week 24	44.55 A	53.13	58.56	58.58	56.41
% change from control [b]	-16.1	N/A	10.2	10.3	6.2
% change from end of bone depletion	-43.9	-31.5	-27.8	-29.6	-31.1
Week 39	45.02	48.67	52.24	56.98	53.42
% change from control [b]	-7.5	N/A	7.3	17.1	9.8
% change from end of bone depletion	-43.5	-36.8	-35.7	-31.2	-34.6
Week 50	40.25	45.35	52.51 A	52.68 A	49.05
% change from control [b]	-11.2	N/A	15.8	16.2	8.2
% change from end of bone depletion	-49.2	-41.3	-35.2	-35.7	-39.8

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - DXA					
Whole Body – Area (cm^2)					
End of bone depletion	84.229	91.039	92.619	88.908	90.578
% change from control [b]	-7.5	N/A	1.7	-2.3	-0.5
Week 12/13	91.056	99.350	101.385	97.674	99.067
% change from control [b]	-8.3	N/A	2.0	-1.7	-0.3
% change from end of bone depletion	8.0	9.1	9.4	9.9	9.4
Week 25/26	95.888	107.600	108.775	103.170	104.817
% change from control [b]	-10.9	N/A	1.1	-4.1	-2.6
% change from end of bone depletion	13.8 A	18.0	17.3	15.9	15.7
Week 51/52	104.44	121.10	122.01	113.58	114.60
% change from control [b]	-13.8	N/A	0.8	-6.2	-5.4
% change from end of bone depletion	24.1	32.7	31.5	27.3	26.0
Whole Body – BMC (g)					
End of bone depletion	15.076	15.841	16.217	15.388	15.966
% change from control [b]	-4.8	N/A	2.4	-2.9	0.8
Week 12/13	16.775	17.380	19.068	19.831	21.046
% change from control [b]	-3.5	N/A	9.7	14.1	21.1
% change from end of bone depletion	11.2	9.6	17.7 C	28.9 C	31.9 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - DXA					
Whole Body – BMC (g)					
Week 25/26	17.915	18.814	21.101	21.936	23.454
% change from control [b]	-4.8	N/A	12.2	16.6	24.7
% change from end of bone depletion	18.8	18.6	30.2 C	42.5 C	47.0 C
Week 51/52	19.175	20.844	23.939	24.298	26.887
% change from control [b]	-8.0	N/A	14.8	16.6	29.0
% change from end of bone depletion	27.5	31.3	47.6 C	57.7 C	68.0 C
Whole Body – BMD (g/cm^2)					
End of bone depletion	0.1788	0.1739	0.1750	0.1730	0.1763
% change from control [b]	2.8	N/A	0.6	-0.5	1.4
Week 12/13	0.1840	0.1749	0.1883	0.2031	0.2126
% change from control [b]	5.2	N/A	7.7	16.1	21.6
% change from end of bone depletion	2.9 A	0.6	7.6 C	17.4 C	20.6 C
Week 25/26	0.1866	0.1749	0.1944	0.2127	0.2240
% change from control [b]	6.7	N/A	11.1	21.6	28.1
% change from end of bone depletion	4.4 A	0.6	11.1 C	23.0 C	27.1 C
Week 51/52	0.1835	0.1724	0.1970	0.2146	0.2351
% change from control [b]	6.4	N/A	14.3	24.5	36.4
% change from end of bone depletion	2.7	-0.8	12.6 C	24.1 C	33.6 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - DXA					
Lumbar Spine (L1-L4) – Area (cm^2)					
End of bone depletion	2.447	2.369	2.394	2.409	2.446
% change from control [b]	3.3	N/A	1.1	1.7	3.3
Week 12/13	2.571	2.418	2.538	2.601	2.671
% change from control [b]	6.3	N/A	5.0	7.6	10.5
% change from end of bone depletion	5.1	2.1	6.1 B	8.0 C	9.2 C
Week 25/26	2.656	2.454	2.651	2.673	2.823
% change from control [b]	8.2	N/A	8.0	8.9	15.0
% change from end of bone depletion	8.7 B	3.6	10.8 C	11.1 C	15.5 C
Week 51/52	2.716	2.523	2.749	2.794	2.977
% change from control [b]	7.6	N/A	9.0	10.7	18.0
% change from end of bone depletion	11.1 A	6.6	14.9 C	16.1 C	21.3 C
Lumbar Spine (L1-L4) – BMC (g)					
End of bone depletion	0.681	0.608	0.622	0.618	0.641
% change from control [b]	12.0	N/A	2.3	1.6	5.4
Week 12/13	0.740	0.597	0.764	0.880	0.960
% change from control [b]	24.0	N/A	28.0	47.4	60.8
% change from end of bone depletion	8.8 C	-1.8	22.9 C	42.9 C	50.0 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - DXA					
Lumbar Spine (L1-L4) – BMC (g)					
Week 25/26	0.766	0.586	0.809	0.915	1.069
% change from control [b]	30.7	N/A	38.1	56.1	82.4
% change from end of bone depletion	12.9 C	-3.5	30.3 C	48.8 C	67.3 C
Week 51/52	0.718	0.554	0.851	0.958	1.154
% change from control [b]	29.6	N/A	53.6	72.9	108.3
% change from end of bone depletion	6.0 B	-8.7	36.9 C	56.0 C	80.1 C
Lumbar Spine (L1-L4) – BMD (g/cm^2)					
End of bone depletion	0.2776	0.2565	0.2594	0.2559	0.2619
% change from control [b]	8.2	N/A	1.1	-0.2	2.1
Week 12/13	0.2875	0.2466	0.3006	0.3376	0.3594
% change from control [b]	16.6	N/A	21.9	36.9	45.7
% change from end of bone depletion	3.5 C	-3.8	15.9 C	32.3 C	37.3 C
Week 25/26	0.2882	0.2386	0.3047	0.3415	0.3786
% change from control [b]	20.8	N/A	27.7	43.1	58.7
% change from end of bone depletion	3.9 C	-6.9	17.5 C	33.8 C	44.8 C
Week 51/52	0.2644	0.2197	0.3090	0.3421	0.3870
% change from control [b]	20.3	N/A	40.6	55.7	76.1
% change from end of bone depletion	-4.6 A	-14.3	19.1 C	34.1 C	48.2 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - DXA					
Femur Right (Global) – Area (cm^2)					
End of bone depletion	1.870	1.829	1.849	1.869	1.867
% change from control [b]	2.2	N/A	1.1	2.2	2.1
Week 12/13	1.932	1.861	1.907	1.944	1.984
% change from control [b]	3.8	N/A	2.5	4.5	6.6
% change from end of bone depletion	3.3	1.7	3.2	4.0	6.3 C
Week 25/26	1.974	1.890	1.953	2.007	2.067
% change from control [b]	4.4	N/A	3.3	6.2	9.4
% change from end of bone depletion	5.6	3.3	5.7	7.4 A	10.8 C
Week 51/52	2.007	1.904	2.020	2.093	2.142
% change from control [b]	5.4	N/A	6.1	9.9	12.5
% change from end of bone depletion	7.4	4.2	9.4 C	12.0 C	15.0 C
Femur Right (Global) – BMC (g)					
End of bone depletion	0.653	0.600	0.606	0.613	0.611
% change from control [b]	8.8	N/A	1.0	2.2	1.8
Week 12/13	0.703	0.611	0.700	0.789	0.835
% change from control [b]	15.1	N/A	14.6	29.1	36.7
% change from end of bone depletion	7.5 A	1.9	15.7 C	28.9 C	36.9 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - DXA					
Femur Right (Global) – BMC (g)					
Week 25/26	0.736	0.617	0.750	0.861	0.933
% change from control [b]	19.3	N/A	21.6	39.5	51.2
% change from end of bone depletion	12.8 C	3.0	24.0 C	40.6 C	52.9 C
Week 51/52	0.733	0.605	0.808	0.929	1.030
% change from control [b]	21.2	N/A	33.6	53.6	70.2
% change from end of bone depletion	12.6 C	1.0	33.7 C	51.7 C	69.4 C
Femur Right (Global) – BMD (g/cm^2)					
End of bone depletion	0.3490	0.3272	0.3274	0.3274	0.3268
% change from control [b]	6.7	N/A	0.1	0.1	-0.1
Week 12/13	0.3632	0.3276	0.3672	0.4054	0.4206
% change from control [b]	10.9	N/A	12.1	23.7	28.4
% change from end of bone depletion	4.1 B	0.1	12.2 C	23.9 C	28.7 C
Week 25/26	0.3725	0.3259	0.3839	0.4284	0.4510
% change from control [b]	14.3	N/A	17.8	31.5	38.4
% change from end of bone depletion	6.8 C	-0.4	17.3 C	30.9 C	38.0 C
Week 51/52	0.3654	0.3172	0.3997	0.4428	0.4801
% change from control [b]	15.2	N/A	26.0	39.6	51.4
% change from end of bone depletion	4.8 C	-3.1	22.2 C	35.3 C	47.2 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - DXA					
Femur Right (Proximal) – Area (cm^2)					
End of bone depletion	0.557	0.544	0.545	0.560	0.550
% change from control [b]	2.4	N/A	0.2	2.9	1.1
Week 12/13	0.567	0.553	0.558	0.581	0.579
% change from control [b]	2.5	N/A	0.9	5.1	4.7
% change from end of bone depletion	1.7	1.8	2.4	3.9	5.6
Week 25/26	0.582	0.558	0.572	0.589	0.605
% change from control [b]	4.3	N/A	2.5	5.6	8.4
% change from end of bone depletion	4.4	2.7	5.1	5.2	10.3 C
Week 51/52	0.572	0.560	0.592	0.604	0.612
% change from control [b]	2.1	N/A	5.7	7.9	9.3
% change from end of bone depletion	2.8	3.0	8.7 A	7.9	12.0 C
Femur Right (Proximal) – BMC (g)					
End of bone depletion	0.223	0.203	0.204	0.210	0.207
% change from control [b]	9.9	N/A	0.5	3.4	2.0
Week 12/13	0.234	0.202	0.231	0.261	0.269
% change from control [b]	15.8	N/A	14.4	29.2	33.2
% change from end of bone depletion	5.2	-0.3	13.8 C	24.4 C	30.0 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - DXA					
Femur Right (Proximal) – BMC (g)					
Week 25/26	0.245	0.202	0.244	0.274	0.295
% change from control [b]	21.3	N/A	20.8	35.6	46.0
% change from end of bone depletion	10.3 C	-0.6	20.2 C	30.7 C	42.3 C
Week 51/52	0.240	0.199	0.261	0.291	0.314
% change from control [b]	20.6	N/A	31.2	46.2	57.8
% change from end of bone depletion	7.9 A	-2.2	28.5 C	38.2 C	52.3 C
Femur Right (Proximal) – BMD (g/cm^2)					
End of bone depletion	0.3996	0.3729	0.3732	0.3746	0.3773
% change from control [b]	7.2	N/A	0.1	0.5	1.2
Week 12/13	0.4131	0.3651	0.4145	0.4483	0.4647
% change from control [b]	13.1	N/A	13.5	22.8	27.3
% change from end of bone depletion	3.4 B	-2.1	11.1 C	19.8 C	23.2 C
Week 25/26	0.4217	0.3609	0.4263	0.4655	0.4863
% change from control [b]	16.8	N/A	18.1	29.0	34.7
% change from end of bone depletion	5.6 C	-3.2	14.3 C	24.4 C	28.9 C
Week 51/52	0.4192	0.3542	0.4409	0.4803	0.5119
% change from control [b]	18.4	N/A	24.5	35.6	44.5
% change from end of bone depletion	5.0 C	-5.0	18.2 C	28.3 C	35.9 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - DXA					
Femur Right (Mid) – BMC (g)					
End of bone depletion	0.129	0.124	0.125	0.127	0.126
% change from control [b]	4.0	N/A	0.8	2.4	1.6
Week 12/13	0.142	0.126	0.140	0.159	0.165
% change from control [b]	12.7	N/A	11.1	26.2	31.0
% change from end of bone depletion	10.4 A	2.1	12.3 C	25.5 C	31.3 C
Week 25/26	0.154	0.132	0.155	0.184	0.194
% change from control [b]	16.7	N/A	17.4	39.4	47.0
% change from end of bone depletion	19.8 B	6.6	23.9 C	44.7 C	54.8 C
Week 51/52	0.162	0.132	0.171	0.204	0.228
% change from control [b]	22.7	N/A	29.5	54.5	72.7
% change from end of bone depletion	25.9 B	6.8	37.0 C	60.7 C	82.8 C
Femur Right (Mid) – BMD (g/cm^2)					
End of bone depletion	0.3052	0.2988	0.3011	0.3038	0.2988
% change from control [b]	2.1	N/A	0.8	1.7	0.0
Week 12/13	0.3277	0.3021	0.3260	0.3614	0.3654
% change from control [b]	8.5	N/A	7.9	19.6	21.0
% change from end of bone depletion	7.3 B	1.1	8.3 C	19.0 C	22.3 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - DXA					
Femur Right (Mid) – BMD (g/cm^2)					
Week 25/26	0.3442	0.3066	0.3487	0.3950	0.4101
% change from control [b]	12.3	N/A	13.7	28.8	33.8
% change from end of bone depletion	12.8 C	2.7	15.9 C	30.1 C	37.3 C
Week 51/52	0.3492	0.3001	0.3706	0.4145	0.4550
% change from control [b]	16.4	N/A	23.5	38.1	51.6
% change from end of bone depletion	14.4 C	0.5	23.2 C	36.6 C	52.6 C
Femur Right (Distal) – BMC (g)					
End of bone depletion	0.204	0.185	0.186	0.181	0.183
% change from control [b]	10.3	N/A	0.5	-2.2	-1.1
Week 12/13	0.217	0.190	0.223	0.248	0.270
% change from control [b]	14.2	N/A	17.4	30.5	42.1
% change from end of bone depletion	6.7	2.7	19.9 C	37.3 C	47.6 C
Week 25/26	0.221	0.187	0.235	0.256	0.282
% change from control [b]	18.2	N/A	25.7	36.9	50.8
% change from end of bone depletion	9.0	1.1	26.2 C	41.8 C	54.5 C
Week 51/52	0.211	0.176	0.243	0.264	0.290
% change from control [b]	19.9	N/A	38.1	50.0	64.8
% change from end of bone depletion	4.5	-4.5	30.5 C	46.3 C	59.7 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - DXA					
Femur Right (Distal) – BMD (g/cm^2)					
End of bone depletion	0.3844	0.3509	0.3540	0.3492	0.3509
% change from control [b]	9.5	N/A	0.9	-0.5	0.0
Week 12/13	0.4007	0.3536	0.4172	0.4674	0.4980
% change from control [b]	13.3	N/A	18.0	32.2	40.8
% change from end of bone depletion	4.2 B	0.8	18.0 C	33.9 C	42.2 C
Week 25/26	0.4063	0.3518	0.4335	0.4866	0.5241
% change from control [b]	15.5	N/A	23.2	38.3	49.0
% change from end of bone depletion	5.8	0.4	22.7 C	39.4 C	49.6 C
Week 51/52	0.3863	0.3346	0.4410	0.4874	0.5300
% change from control [b]	15.5	N/A	31.8	45.7	58.4
% change from end of bone depletion	0.6	-4.6	24.8 C	39.7 C	51.7 C
Bone Densitometry - pQCT					
Proximal Tibia – Metaphysis – Total Area (mm^2)					
End of bone depletion	11.910	11.353	11.704	11.959	12.427
% change from control [b]	4.9	N/A	3.1	5.3	9.5
Week 12/13	12.312	10.955	11.707	12.594	13.385
% change from control [b]	12.4	N/A	6.9	15.0	22.2
% change from end of bone depletion	3.6 B	-3.3	0.1	5.5 C	8.1 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - pQCT					
Proximal Tibia – Metaphysis – Total Area (mm^2)					
Week 51/52	12.552	11.195	12.781	13.618	15.259
% change from control [b]	12.1	N/A	14.2	21.6	36.3
% change from end of bone depletion	5.7	-1.0	9.5 B	14.2 C	24.2 C
Proximal Tibia – Metaphysis – Total BMC (mg/mm)					
End of bone depletion	10.551	9.482	9.789	9.645	9.977
% change from control [b]	11.3	N/A	3.2	1.7	5.2
Week 12/13	10.811	9.271	10.682	12.013	12.914
% change from control [b]	16.6	N/A	15.2	29.6	39.3
% change from end of bone depletion	2.6 A	-2.1	9.2 C	24.6 C	29.6 C
Week 51/52	10.532	9.639	12.749	14.550	17.160
% change from control [b]	9.3	N/A	32.3	50.9	78.0
% change from end of bone depletion	0.2	1.8	30.3 C	50.9 C	72.9 C
Proximal Tibia – Metaphysis – Total BMD (mg/cm^3)					
End of bone depletion	889.15	839.89	839.61	810.20	806.47
% change from control [b]	5.9	N/A	0.0	-3.5	-4.0

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - pQCT					
Proximal Tibia – Metaphysis – Total BMD (mg/cm^3)					
Week 12/13	880.13	849.97	915.07	956.43	967.35
% change from control [b]	3.5	N/A	7.7	12.5	13.8
% change from end of bone depletion	-1.0	1.3	9.1 C	18.2 C	20.0 C
Week 51/52	841.85	864.55	998.69	1069.64	1125.69
% change from control [b]	-2.6	N/A	15.5	23.7	30.2
% change from end of bone depletion	-5.3 B	3.1	19.2 C	32.1 C	39.6 C
Proximal Tibia – Metaphysis – Trabecular BMC (mg/mm)					
End of bone depletion	0.749	0.334	0.401	0.370	0.409
% change from control [b]	124.3	N/A	20.1	10.8	22.5
Week 12/13	0.739	0.238	0.393	0.453	0.514
% change from control [b]	210.5	N/A	65.1	90.3	116.0
% change from end of bone depletion	0.2 C	-26.4	1.8 C	27.4 C	29.4 C
Week 51/52	0.492	0.236	0.659	0.896	1.405
% change from control [b]	108.5	N/A	179.2	279.7	495.3
% change from end of bone depletion	-33.1	-26.1	77.1 C	168.0 C	269.4 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - pQCT					
Proximal Tibia – Metaphysis – Trabecular BMD (mg/cm^3)					
End of bone depletion	319.74	148.02	172.23	153.76	164.62
% change from control [b]	116.0	N/A	16.4	3.9	11.2
Week 12/13	303.59	108.12	169.18	183.22	196.82
% change from control [b]	180.8	N/A	56.5	69.5	82.0
% change from end of bone depletion	-3.5 C	-24.4	2.1 C	20.9 B	20.0 C
Week 51/52	199.51	105.26	259.03	334.48	463.22
% change from control [b]	89.5	N/A	146.1	217.8	340.1
% change from end of bone depletion	-37.7	-25.8	63.5 C	132.1 C	201.0 C
Proximal Tibia – Metaphysis – Cortical/Subcortical BMC (mg/mm)					
End of bone depletion	9.802	9.147	9.389	9.275	9.570
% change from control [b]	7.2	N/A	2.6	1.4	4.6
Week 12/13	10.073	9.032	10.290	11.560	12.401
% change from control [b]	11.5	N/A	13.9	28.0	37.3
% change from end of bone depletion	2.9 A	-1.2	9.6 C	24.7 C	29.7 C
Week 51/52	10.038	9.405	12.091	13.654	15.754
% change from control [b]	6.7	N/A	28.6	45.2	67.5
% change from end of bone depletion	2.7	2.9	28.8 C	47.2 C	65.3 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - pQCT					
Proximal Tibia – Metaphysis – Cortical/Subcortical BMD (mg/cm^3)					
End of bone depletion	1031.62	1014.18	1008.31	977.05	968.71
% change from control [b]	1.7	N/A	-0.6	-3.7	-4.5
Week 12/13	1024.74	1038.30	1101.99	1150.10	1160.03
% change from control [b]	-1.3	N/A	6.1	10.8	11.7
% change from end of bone depletion	-0.6	2.5	9.4 C	17.9 C	19.9 C
Week 51/52	1003.74	1055.93	1183.92	1252.99	1291.49
% change from control [b]	-4.9	N/A	12.1	18.7	22.3
% change from end of bone depletion	-2.7 A	4.2	17.6 C	28.5 C	33.2 C
Proximal Tibia – Diaphysis – Total Area (mm^2)					
Week 12/13	7.393	7.273	7.629	8.254	8.504
% change from control [b]	1.6	N/A	4.9	13.5	16.9
% change from end of bone depletion	3.4	3.2	5.4	11.4 C	18.0 C
Week 51/52	7.906	7.705	8.439	9.068	10.401
% change from control [b]	2.6	N/A	9.5	17.7	35.0
% change from end of bone depletion	10.6	9.4	16.6	22.4 B	43.7 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - pQCT					
Proximal Tibia – Diaphysis – Cortical Area (mm^2)					
Week 12/13	6.120	5.969	6.493	7.154	7.533
% change from control [b]	2.5	N/A	8.8	19.9	26.2
% change from end of bone depletion	4.8	3.1	8.9 B	19.1 C	27.8 C
Week 51/52	6.529	6.003	7.384	8.144	9.529
% change from control [b]	8.8	N/A	23.0	35.7	58.7
% change from end of bone depletion	11.9	3.8	23.8 C	35.5 C	61.6 C
Proximal Tibia – Diaphysis – Cortical BMC (mg/mm)					
Week 12/13	8.037	7.772	8.535	9.560	10.135
% change from control [b]	3.4	N/A	9.8	23.0	30.4
% change from end of bone depletion	5.9	3.7	10.1 C	23.0 C	32.0 C
Week 51/52	8.676	7.859	9.944	11.090	13.148
% change from control [b]	10.4	N/A	26.5	41.1	67.3
% change from end of bone depletion	14.4 B	4.9	28.1 C	42.5 C	71.2 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - pQCT					
Proximal Tibia – Diaphysis – Cortical BMD (mg/cm^3)					
Week 12/13	1313.1	1302.9	1315.2	1336.2	1345.1
% change from control [b]	0.8	N/A	0.9	2.6	3.2
% change from end of bone depletion	1.1	0.6	1.1	3.2 C	3.3 C
Week 51/52	1328.9	1308.9	1347.0	1361.3	1379.5
% change from control [b]	1.5	N/A	2.9	4.0	5.4
% change from end of bone depletion	2.3	1.1	3.5 C	5.2 C	5.9 C
Proximal Tibia – Diaphysis – Cortical Thickness (mm)					
Week 12/13	0.9012	0.8832	0.9599	1.0312	1.0921
% change from control [b]	2.0	N/A	8.7	16.8	23.7
% change from end of bone depletion	4.4	1.5	9.0 B	18.8 C	25.8 C
Week 51/52	0.9265	0.8330	1.0613	1.1627	1.3027
% change from control [b]	11.2	N/A	27.4	39.6	56.4
% change from end of bone depletion	7.4 A	-4.1	20.5 C	33.8 C	50.6 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - pQCT					
Proximal Tibia – Diaphysis – Periosteal circumference (mm)					
Week 12/13	9.6302	9.5500	9.7855	10.1766	10.3321
% change from control [b]	0.8	N/A	2.5	6.6	8.2
% change from end of bone depletion	1.6	1.5	2.6	5.5 C	8.6 C
Week 51/52	9.9571	9.8301	10.2893	10.6626	11.4243
% change from control [b]	1.3	N/A	4.7	8.5	16.2
% change from end of bone depletion	5.1	4.6	7.9	10.6 C	19.8 C
Proximal Tibia – Diaphysis – Endosteal circumference (mm)					
Week 12/13	3.9678	4.0011	3.7543	3.6982	3.4696
% change from control [b]	-0.8	N/A	-6.2	-7.6	-13.3
% change from end of bone depletion	-2.3	3.9	-5.9	-11.5 B	-14.1 C
Week 51/52	4.1354	4.5961	3.6210	3.3567	3.2392
% change from control [b]	-10.0	N/A	-21.2	-27.0	-29.5
% change from end of bone depletion	2.2 A	20.7	-9.1 C	-19.8 C	-20.8 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Organ Weight					
Uterus (g. %) [c]	290.2 F	0.1989	4.1	6.7	8.1
Uterus (relative to body weight) (%)	388.6 F	0.0256	-2.2	16.0	13.5
Brain (relative to body weight) (%)	27.0 B	0.2774	-4.3	10.9	4.0
Gross Pathology [d]	20	20	18	19	22
Number of animals examined					
Bone Miscellaneous					
Thickening	0	0	8	10	19
Pituitary Gland					
Mass	9	0	3	3	1
Subcutaneous Tissue					
Mass	9	1	3	4	2
Bone Densitometry - DXA – ex vivo					
Femur					
Global Area (cm^2)	2.3480	2.2591	2.3946 A	2.4663 B	2.5120 C
% change from control [b]	3.9	N/A	6.0	9.2	11.2
Global BMC (g)	0.7208 B	0.6004	0.8023 C	0.9235 C	1.0245 C
% change from control [b]	20.1	N/A	33.6	53.8	70.6
Global BMD (g/cm^2)	0.3069 C	0.2655	0.3348 C	0.3735 C	0.4074 C
% change from control [b]	15.6	N/A	26.1	40.7	53.4

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - DXA – ex vivo					
Femur					
Proximal Area (cm^2)	0.7467	0.7161	0.7669 B	0.7725 B	0.7876 C
% change from control [b]	4.3	N/A	7.1	7.9	10.0
Proximal BMC (g)	0.2356 C	0.1907	0.2548 C	0.2834 C	0.3077 C
% change from control [b]	23.5	N/A	33.6	48.6	61.4
Proximal BMD (g/cm^2)	0.3156 C	0.2659	0.3320 C	0.3664 C	0.3904 C
% change from control [b]	18.7	N/A	24.9	37.8	46.8
Mid Area (cm^2)	0.5452	0.5411	0.5592	0.5890 C	0.6004 C
% change from control [b]	0.8	N/A	3.3	8.9	11.0
Mid BMC (g)	0.1793 C	0.1502	0.1920 C	0.2278 C	0.2544 C
% change from control [b]	19.4	N/A	27.8	51.7	69.4
Mid BMD (g/cm^2)	0.3284 C	0.2776	0.3435 C	0.3860 C	0.4239 C
% change from control [b]	18.3	N/A	23.7	39.0	52.7
Distal Area (cm^2)	0.4766	0.4695	0.4831	0.4773	0.4888
% change from control [b]	1.5	N/A	2.9	1.7	4.1
Distal BMC (g)	0.1635 B	0.1397	0.1922 C	0.2094 C	0.2344 C
% change from control [b]	17.0	N/A	37.6	49.9	67.8
Distal BMD (g/cm^2)	0.3434 C	0.2972	0.3977 C	0.4391 C	0.4793 C
% change from control [b]	15.5	N/A	33.8	47.7	61.3

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - pQCT – ex vivo					
Femur diaphysis					
Total Area (mm^2)	12.44	11.83	12.70	14.12 C	15.41 C
% change from control [b]	5.2	N/A	7.4	19.4	30.3
Cortical Area (mm^2)	8.69 B	7.80	9.48 C	11.32 C	12.89 C
% change from control [b]	11.4	N/A	21.5	45.1	65.3
Cortical BMC (mg/mm)	12.33 B	10.93	13.45 C	16.26 C	18.75 C
% change from control [b]	12.8	N/A	23.1	48.8	71.5
Cortical BMD (mg/cm^3)	1418.0	1401.2	1418.8 A	1437.3 C	1455.2 C
% change from control [b]	1.2	N/A	1.3	2.6	3.9
Cortical Thickness (mm)	0.899 C	0.810	1.002 C	1.180 C	1.322 C
% change from control [b]	11.0	N/A	23.7	45.7	63.2
Periosteal circumference (mm)	12.496	12.177	12.625	13.304 C	13.911 C
% change from control [b]	2.6	N/A	3.7	9.3	14.2
Endosteal circumference (mm)	6.851	7.090	6.332 B	5.893 C	5.604 C
% change from control [b]	-3.4	N/A	-10.7	-16.9	-21.0
Cross Sectional Moment of Inertia (mm^4)	7.991	6.940	8.391 A	10.461 C	13.251 C
% change from control [b]	15.1	N/A	20.9	50.7	90.9

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Bone Densitometry - pQCT – ex vivo					
L4+L5 Vertebral Bodies					
Total Area (mm^2)	9.54	8.98	9.64	10.00 B	10.93 C
% change from control [b]	6.2	N/A	7.3	11.4	21.7
Total BMC (mg/mm)	5.98 C	4.61	7.62 C	8.42 C	10.02 C
% change from control [b]	29.7	N/A	65.3	82.6	117.4
Total BMD (mg/cm^3)	629.2 C	514.1	790.9 C	843.8 C	915.9 C
% change from control [b]	22.4	N/A	53.8	64.1	78.2
Trabecular BMC (mg/mm)	1.09 C	0.62	1.51 C	1.65 C	2.04 C
% change from control [b]	75.8	N/A	143.5	166.1	229.0
Trabecular BMD (mg/cm^3)	329.6 C	198.6	445.9 C	473.6 C	531.2 C
% change from control [b]	66.0	N/A	124.5	138.5	167.5
Micro-CT					
Femoral Neck – Total Region					
vBMD (mg HA/cm^3)	1124.6	1062.1	1197.4 C	1234.4 C	1260.2 C
% change from control [b]	5.9	N/A	12.7	16.2	18.7
BMC (mg HA)	6.0536	4.9012	6.0698	6.4700 A	5.9398
% change from control [b]	23.5	N/A	23.8	32.0	21.2

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Micro-CT					
Femoral Neck – Total Region					
Area (mm^2)	4.9887	4.4620	5.0481 A	5.0215	4.9955
% change from control [b]	11.8	N/A	13.1	12.5	12.0
Area BMC (mg HA/mm)	5.5821 B	4.7016	6.0378 C	6.1776 C	6.2930 C
% change from control [b]	18.7	N/A	28.4	31.4	33.8
Tissue BMD (mg HA/cm^3)	1299.1	1305.2	1286.5 A	1300.9	1313.5
% change from control [b]	-0.5	N/A	-1.4	-0.3	0.6
Bone Area (mm^2)	4.4586 B	3.7172	4.8269 C	4.8640 C	4.8952 C
% change from control [b]	19.9	N/A	29.9	30.9	31.7
BV/TV (%)	89.73 A	84.01	95.67 C	97.07 C	98.02 C
% change from control [b]	6.8	N/A	13.9	15.5	16.7
L4 Lumbar Vertebral Body - Total region					
vBMD (mg HA/cm^3)	515.10 B	409.23	622.01 C	687.33 C	741.11 C
% change from control [b]	25.9	N/A	52.0	68.0	81.1
BMC (mg HA)	10.703 C	7.706	13.169 C	14.890 C	17.872 C
% change from control [b]	38.9	N/A	70.9	93.2	131.9
Area (mm^2)	8.3509 A	7.5471	8.4975 B	8.6844 B	9.6580 C
% change from control [b]	10.7	N/A	12.6	15.1	28.0
Area BMC (mg HA/mm)	4.2814 C	3.0823	5.2678 C	5.9560 C	7.1489 C
% change from control [b]	38.9	N/A	70.9	93.2	131.9

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Micro-CT					
L4 Lumbar Vertebral Body - Total region					
Tissue BMD (mg HA/cm^3)	1163.7	1162.2	1141.5 C	1146.1 B	1138.6 C
% change from control [b]	0.1	N/A	-1.8	-1.4	-2.0
Bone Area (mm^2)	3.9022 C	2.8946	4.8151 C	5.3547 C	6.4265 C
% change from control [b]	34.8	N/A	66.3	85.0	122.0
BV/TV (%)	46.96 B	38.43	56.81 C	61.79 C	66.58 C
% change from control [b]	22.2	N/A	47.8	60.8	73.3
L4 Lumbar Vertebral Body - Trabecular region					
vBMD (mg HA/cm^3)	266.48 C	141.76	268.09 C	236.05 B	205.13 A
% change from control [b]	88.0	N/A	89.1	66.5	44.7
BMC (mg HA)	3.5640 C	1.7496	2.8109 C	2.0833	1.7138
% change from control [b]	103.7	N/A	60.7	19.1	-2.0
Area (mm^2)	5.3890	4.8929	4.2888	3.6191 B	3.3363 C
% change from control [b]	10.1	N/A	-12.3	-26.0	-31.8
Area BMC (mg HA/mm)	1.4256 C	0.6998	1.1244 C	0.8333	0.6855
% change from control [b]	103.7	N/A	60.7	19.1	-2.0
Tissue BMD (mg HA/cm^3)	1130.1	1117.7	1110.2	1107.3	1098.0 C
% change from control [b]	1.1	N/A	-0.7	-0.9	-1.8

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Micro-CT					
L4 Lumbar Vertebral Body - Trabecular region					
Bone Area (mm^2)	1.3442 C	0.7359	1.0716 B	0.7692	0.6249
% change from control [b]	82.7	N/A	45.6	4.5	-15.1
BV/TV (%)	25.13 C	14.94	25.39 C	21.61 B	18.22
% change from control [b]	68.2	N/A	69.9	44.6	22.0
Trabecular Number (1/mm)	3.1379 C	2.3522	2.5933	2.4285	2.2602
% change from control [b]	33.4	N/A	10.2	3.2	-3.9
Trabecular Thickness (mm)	0.0836	0.0771	0.1187 C	0.1240 C	0.1299 C
% change from control [b]	8.4	N/A	54.0	60.8	68.5
Trabecular Separation (mm)	0.2914 C	0.4064	0.3648	0.4014	0.4450
% change from control [b]	-28.3	N/A	-10.2	-1.2	9.5
Structure Model Index	0.3223 C	1.2455	0.4824 C	0.7850	1.2397
% change from control [b]	-74.1	N/A	-61.3	-37.0	-0.5
Degree of Anisotropy	1.6753	1.6871	1.5760	1.4154 B	1.3591 C
% change from control [b]	-0.7	N/A	-6.6	-16.1	-19.4
L4 Lumbar Vertebral Body - Cortical region					
vBMD (mg HA/cm^3)	0.9636 C	0.9145	0.9847 C	1.0098 C	1.0229 C
% change from control [b]	5.4	N/A	7.7	10.4	11.9

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Micro-CT					
L4 Lumbar Vertebral Body - Cortical region					
BMC (mg HA)	7.1394 B	6.0930	10.3585 C	12.8066 C	16.1584 C
% change from control [b]	17.2	N/A	70.0	110.2	165.2
Area (mm^2)	2.9619	2.6695	4.2087 C	5.0653 C	6.3216 C
% change from control [b]	11.0	N/A	57.7	89.7	136.8
Area BMC (mg HA/mm)	2.8558 B	2.4372	4.1434 C	5.1227 C	6.4634 C
% change from control [b]	17.2	N/A	70.0	110.2	165.2
Tissue BMD (mg HA/cm^3)	1192.2	1188.5	1163.7 C	1165.4 C	1156.4 C
% change from control [b]	0.3	N/A	-2.1	-1.9	-2.7
Bone Area (mm^2)	2.5579 B	2.2115	3.7435 C	4.5855 C	5.8015 C
% change from control [b]	15.7	N/A	69.3	107.3	162.3
Cortical Thickness (mm)	0.210 A	0.186	0.238 C	0.304 C	0.359 C
% change from control [b]	12.9	N/A	28.0	63.4	93.0
Histomorphometry - Number of animals evaluated	10	10	10	10	10
L3 Lumbar Vertebra Cancellous bone					
BV/TV (%)	34.8 B	22.0	41.6 C	43.9 C	62.0 C
% change from control [b]	58.2	N/A	89.1	99.5	181.8
Md.V/TV (%)	34.8 B	22.0	41.6 C	43.9 C	62.0 C
% change from control [b]	58.2	N/A	89.1	99.5	181.8

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Histomorphometry - Number of animals evaluated	10	10	10	10	10
L3 Lumbar Vertebra Cancellous bone					
Tb.Th (µm)	88	81	148 C	175 C	264 C
% change from control [b]	8.6	N/A	82.7	116.0	225.9
Tb.Sp (µm)	164 C	296	219 A	229 A	165 C
% change from control [b]	-44.6	N/A	-26.0	-22.6	-44.3
W.Th (µm)	19	18	21 A	23 B	27 C
% change from control [b]	5.6	N/A	16.7	27.8	50.0
MS/BS (%)	9.7	12.4	21.3 B	22.2 B	23.5 C
% change from control [b]	-21.8	N/A	71.8	79.0	89.5
BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)	40.4	52.7	93.8 B	88.9 B	100.9 C
% change from control [b]	-23.3	N/A	78.0	68.7	91.5
Proximal Tibia – Metaphysis - Cancellous bone					
BV/TV (%)	14.9 C	4.2	16.4 C	20.1 C	22.6 B
% change from control [b]	254.8	N/A	290.5	378.6	438.1
Md.V/TV (%)	14.9 C	4.2	16.3 C	20.1 C	22.6 B
% change from control [b]	254.8	N/A	288.1	378.6	438.1
Tb.Th (µm)	57	67	137 C	184 C	191 C
% change from control [b]	-14.9	N/A	104.5	174.6	185.1

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Histomorphometry - Number of animals evaluated	10	10	10	10	10
Proximal Tibia – Metaphysis - Cancellous bone					
W.Th (µm)	372 C	2339	920 A	793 B	1484
% change from control [b]	-84.1	N/A	-60.7	-66.1	-36.6
MS/BS (%)	8.3	11.8	23.6 C	22.0 B	23.5 C
% change from control [b]	-29.7	N/A	100.0	86.4	99.2
BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)	34.7	47.4	101.8 C	92.3 B	95.8 B
% change from control [b]	-26.8	N/A	114.8	94.7	102.1
Proximal Tibio-fibular Junction – Diaphysis - Cortical bone					
Tt.T.Ar (mm^2)	6.69	6.56	7.12	7.61 B	8.74 C
% change from control [b]	2.0	N/A	8.5	16.0	33.2
Ct.Ar (mm^2)	5.44	4.86	6.18 C	6.75 C	8.09 C
% change from control [b]	11.9	N/A	27.2	38.9	66.5
Me.Ar (mm^2)	1.25 C	1.70	0.95 C	0.86 C	0.64 C
% change from control [b]	-26.5	N/A	-44.1	-49.4	-62.4
% Ct.Ar (%)	81.3 C	74.3	86.8 C	88.6 C	92.7 C
% change from control [b]	9.4	N/A	16.8	19.2	24.8

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Histomorphometry - Number of animals evaluated	10	10	10	10	10
Proximal Tibio-fibular Junction					
Diaphysis - Cortical bone					
% Me.Ar (%)	18.7 C	25.7	13.2 C	11.4 C	7.3 C
% change from control [b]	-27.2	N/A	-48.6	-55.6	-71.6
Ct.Wi (µm)	828 C	705	958 C	1026 C	1208 C
% change from control [b]	17.4	N/A	35.9	45.5	71.3
Ps.Pm (mm)	10.06	9.96	10.40	10.64 B	11.36 C
% change from control [b]	1.0	N/A	4.4	6.8	14.1
Es.Pm (mm)	4.89 B	5.66	4.25 C	4.13 C	3.75 C
% change from control [b]	-13.6	N/A	-24.9	-27.0	-33.7
Ps.L.Pm/Ps.Pm (%)	11.9	5.2	9.4	16.2	23.3 A
% change from control [b]	128.8	N/A	80.8	211.5	348.1
Biomechanical Testing					
Femur Right - 3-Point Bending					
Peak Load (N)	183.0	170.8	240.0 C	308.3 C	378.0 C
% change from control [b]	7.1	N/A	40.5	80.5	121.3
Ultimate Stress (MPa)	169.96	177.96	212.87 C	233.14 C	230.61 C
% change from control [b]	-4.5	N/A	19.6	31.0	29.6

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Biomechanical Testing					
Femur Right - 3-Point Bending					
Stiffness (N/mm)	644.64 A	524.88	718.32 C	885.18 C	1064.84 C
% change from control [b]	22.8	N/A	36.9	68.6	102.9
AUC (N·mm)	56.25	72.95	109.47 B	119.59 B	146.33 C
% change from control [b]	-22.9	N/A	50.1	63.9	100.6
Toughness (MPa)	5.47	7.71	10.22 A	10.03	10.21 A
% change from control [b]	-29.1	N/A	32.6	30.1	32.4
Femur. Right - Femoral Neck Shear					
Peak Load (N)	53.2	45.6	60.6 B	66.5 C	64.1 C
% change from control [b]	16.7	N/A	32.9	45.8	40.6
Stiffness (N/mm)	269.07	224.29	273.99 A	319.23 C	318.22 C
% change from control [b]	20.0	N/A	22.2	42.3	41.9
L4+L5 Vertebral Bodies - Compression					
Peak Load (N)	350.6 C	223.3	558.5 C	616.5 C	822.2 C
% change from control [b]	57.0	N/A	150.1	176.1	268.2
Apparent Strength (MPa)	37.06 C	24.84	57.97 C	62.20 C	74.98 C
% change from control [b]	49.2	N/A	133.4	150.4	201.9
Yield Load (N)	334.5 C	211.8	519.3 C	563.3 C	763.7 C
% change from control [b]	57.9	N/A	145.2	166.0	260.6

Footnotes are on the last page of the table.

表 3B　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107899
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	10 (OVX)	50 (OVX)
Number of Animals	10	15	15	10	15
Biomechanical Testing					
L4+L5 Vertebral Bodies - Compression					
Yield Stress (MPa)	35.35 C	23.55	53.92 C	56.70 C	69.72 C
% change from control [b]	50.1	N/A	129.0	140.8	196.1
Stiffness (N/mm)	4178.8 C	2676.1	4954.5 C	5114.9 C	6130.2 C
% change from control [b]	56.2	N/A	85.1	91.1	129.1
Modulus (MPa)	1587.9 C	1069.3	1871.3 C	1868.4 C	2017.5 C
% change from control [b]	48.5	N/A	75.0	74.7	88.7
AUC (N·mm)	24.27 B	15.83	54.51 C	62.59 C	85.94 C
% change from control [b]	53.3	N/A	244.3	295.4	442.9
Toughness (MPa)	0.72 B	0.49	1.55 C	1.74 C	2.18 C
% change from control [b]	46.9	N/A	216.3	255.1	344.9

ADA = anti-drug antibodiy; BMC = bone mineral content; BMD = bone mineral density; BQL=below quantitative level; BV/TV = relative bone volume;; C_{max} = maximum observed concentration; CTx = c-telopeptides of type I collagen; DPD = free deoxypyridinoline; DXA = dual energy X-ray absorptiometry; L1 to L5 = 1st to 5th lumbar vertebrae; N/A = not applicable; OVX = ovariectomy(ized); pQCT = peripheral quantitative computed tomography; vBMD = volumetric bone mineral density. - = No noteworthy findings.

Statistics: Significantly different from control group (group 2) value: A - $P \leq 0.05$ B - $P \leq 0.01$ C - $P \leq 0.001$ (Dunnett).
D - $P \leq 0.05$ E - $P \leq 0.01$ F - $P \leq 0.001$ (Dunn)

[a] On total of study animals.

[b] Group 2 was the control group.

[c] For controls (group 2), group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[d] Incidence is presented.

表 3C　効力を裏付ける試験：重要な試験
被験物質:ロモソズマブ

	Report Title: A 52 Week Bone Quality Study to Determine the Effects of Weekly Subcutaneous Injection of AMG 785 in the Aged Ovariectomized Cynomolgus Monkey	
Primary Pharmacodynamics		Test Article: romosozumab
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus	Duration of Dosing: weekly for 52 weeks (26 weeks for group 5)	Amgen Study No. 107903
Initial Age: 8.5 to 17.5 years	Duration of Postdose: 26 weeks for group 5 only	[redacted] Study No. 670701
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: Subcutaneous Injection	
	Vehicle/Formulation: AMG 785 Placebo: 55mM acetate. 13mM calcium. 6% sucrose. 0.006% polysorbate 20. pH 5.2	GLP Compliance: Yes

Special Features: Bone markers, bone densitometry, histomorphometry. Study design was 16 females/group. Some animals were excluded based on the ADA response (except for gross pathology and histopathology): 10 at 3 mg/kg and 3 at 30 mg/kg (1 in group 4 and 2 in group 5).
No Observed Adverse Effect Level: N/A

Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Toxicokinetics:					
$AUC_{0\text{-}t}$ (μg◎day/mL)					
Week 1	N/A	N/A	122	1620	1580
Week 10	N/A	N/A	168	2940	2850
Week 26	N/A	N/A	153	2540	2600
Week 52	N/A	N/A	172	2950	N/A
C_{max} (μg/mL)					
Week 1	BQL	BQL	23.0	295	295
Week 10	BQL	BQL	29.2	520	502
Week 26	BQL	BQL	29.8	449	494
Week 52	BQL	BQL	32.3	538	N/A

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Anti-Drug Antibody Positive/Total (%)					
Week 13	1/16 (6.3%)	1/16 (6.3%)	10/16 (63%)	8/16 (50%)	6/16 (38%)
Week 26	1/16 (6.3%)	1/16 (6.3%)	12/16 (75%)	8/16 (50%)	10/16 (63%)
Week 52	4/16 (25%)	1/16 (6.3%)	12/16 (75%)	5/16 (31%)	11/16 (69%)
Noteworthy Findings					
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-
Appetence	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-
Radiological Evidence of Aorta Mineralization	-	-	-	-	-
Hematology					
Red Blood Cell Count ($10^6/\mu L$)					
Week 33	6.503	6.676	6.390	6.390	6.281
% change from control [b]	-2.6	N/A	-4.3	-4.3	-5.9
Week 35	6.450	6.614	6.510	6.434	N/A
% change from control [b]	-2.5	N/A	-1.6	-2.7	N/A

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Hematology					
Hemoglobin (g/dL)					
Week 33	12.71	13.08	12.78	12.29 A	12.31 A
% change from control [b]	-2.8	N/A	-2.3	-6.0	-5.9
Week 35	12.63	12.96	13.05	12.45	N/A
% change from control [b]	-2.5	N/A	0.7	-3.9	N/A
Hematocrit (%)					
Week 33	43.41	44.73	43.82	41.62 A	41.80 A
% change from control [b]	-3.0	N/A	-2.0	-7.0	-6.6
Week 35	42.99	44.13	43.83	42.10	N/A
% change from control [b]	-2.6	N/A	-0.7	-4.6	N/A
Neutrophils ($10^3/\mu L$)					
Week 33	2.617	2.014	3.178	2.914	3.681 A
% change from control [b]	29.9	N/A	57.8	44.7	82.8
Clinical Chemistry					
Alkaline Phosphatase (U/L)					
End of bone depletion	143.5 C	232.1	301.8 A	246.9	259.1
% change from control [b]	-38.2	N/A	30.0	6.4	11.6
Week 49	160.2 C	251.6	361.8 C	348.8 C	267.5 M
% change from control [b]	-36.3	N/A	43.8	38.6	6.3

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Clinical Chemistry					
Calcium (mg/dL)					
Week 9/10	9.42 B	9.84	9.82	9.36 C	9.34 C
% change from control [b]	-4.3	N/A	-0.2	-4.9	-5.1
Week 23/24	9.56 B	9.94	10.00	9.48 C	9.52 B
% change from control [b]	-3.8	N/A	0.6	-4.6	-4.2
Week 37	9.44 B	9.95	9.98	9.68	9.92
% change from control [b]	-5.1	N/A	0.3	-2.7	-0.3
Phosphorus (mg/dL)					
Week 9/10	4.74 C	5.89	5.87	5.74	5.89
% change from control [b]	-19.5	N/A	-0.3	-2.5	0.0
Week 23/24	4.79 C	5.89	5.57	5.72	5.79
% change from control [b]	-18.7	N/A	-5.4	-2.9	-1.7
Week 37	4.78 C	6.14	5.92	5.60	5.78
% change from control [b]	-22.1	N/A	-3.6	-8.8	-5.9
Week 49	4.92 C	5.79	5.82	5.57	5.51
% change from control [b]	-15.0	N/A	0.5	-3.8	-4.8

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Formation Markers					
Bone Alkaline Phosphatase (U/L)					
End of bone depletion	90.87 C	160.76	205.21	160.86	171.85
% change from control [b]	-43.5	N/A	27.6	0.1	6.9
Week 9/10	87.34	166.52	332.41 B	321.19 C	329.33 C
% change from control [b]	-47.5	N/A	99.6	92.9	97.8
% change from end of bone depletion	2.8	4.8	69.6 B	99.0 C	94.4 C
Week 23/24	123.18 C	219.29	354.68 C	312.80 C	357.73 C
% change from control [b]	-43.8	N/A	61.7	42.6	63.1
% change from end of bone depletion	45.9	40.4	82.6	102.8 B	117.4 C
Week 37	107.50 C	176.94	259.11 C	222.52 B	181.06 M
% change from control [b]	-39.2	N/A	46.4	25.8	2.3
% change from end of bone depletion	26.3	13.0	33.9	48.5 B	9.9 M
Week 49/50	116.88 C	196.41	269.13 B	254.49 A	205.36 K
% change from control [b]	-40.5	N/A	37.0	29.6	4.6
% change from end of bone depletion	38.5	25.5	42.1	70.7 A	24.4 M
PINP (µg/L)					
End of bone depletion	232.73 C	598.18	759.23	605.68	555.19
% change from control [b]	-61.1	N/A	26.9	1.3	-7.2

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Formation Markers					
PINP (µg/L)					
Week 9/10	237.00 C	711.19	1384.51 B	1613.12 C	1778.11 C
% change from control [b]	-66.7	N/A	94.7	126.8	150.0
% change from end of bone depletion	6.4	23.4	91.5 B	176.3 C	244.5 C
Week 23/24	277.96 C	745.13	1127.50 C	1230.12 B	1308.49 C
% change from control [b]	-62.7	N/A	51.3	65.1	75.6
% change from end of bone depletion	24.2	35.2	64.5	124.5 B	153.5 C
Week 37	232.48 C	617.31	877.16 A	852.87 B	533.09 m
% change from control [b]	-62.3	N/A	42.1	38.2	-13.6
% change from end of bone depletion	6.1	12.6	25.0	59.1	5.7 K
Week 49/50	248.30 C	546.47	826.37 A	728.17	507.81 M
% change from control [b]	-54.6	N/A	51.2	33.2	-7.1
% change from end of bone depletion	12.5	-0.8	17.3	36.2	1.7
Osteocalcin (ng/mL)					
End of bone depletion	19.738 C	36.856	51.538 A	35.342	31.977
% change from control [b]	-46.4	N/A	39.8	-4.1	-13.2
Week 9/10	21.964 C	47.652	73.657 A	73.358 B	72.212 B
% change from control [b]	-53.9	N/A	54.6	53.9	51.5
% change from end of bone depletion	14.9	33.4	41.7	112.4 C	152.8 B

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Formation Markers					
Osteocalcin (ng/mL)					
Week 23/24	22.538 C	46.979	72.624 B	66.588 A	69.718 B
% change from control [b]	-52.0	N/A	54.6	41.7	48.4
% change from end of bone depletion	22.2	34.7	40.0	96.5 B	143.6 B
Week 37	21.444 C	41.027	62.441 B	55.122 A	46.516
% change from control [b]	-47.7	N/A	52.2	34.4	13.4
% change from end of bone depletion	12.2	19.2	20.0	64.0 B	60.2 A
Week 49/50	22.089 C	40.317	63.002 C	51.920 A	42.298
% change from control [b]	-45.2	N/A	56.3	28.8	4.9
% change from end of bone depletion	15.4	12.7	22.7	55.7 A	45.5
Bone Resorption Markers					
CTx (ng/mL)					
End of bone depletion	1.3191 C	2.9348	3.2428	2.6357	3.1444
% change from control [b]	-55.1	N/A	10.5	-10.2	7.1
Week 9/10	1.1945 C	2.8595	4.2722 A	3.5940	4.6441 B
% change from control [b]	-58.2	N/A	49.4	25.7	62.4
% change from end of bone depletion	-6.1	1.3	31.0 A	36.5	52.6 A
Week 23/24	1.3294 C	3.0536	3.6363	3.1457	4.2747 A m
% change from control [b]	-56.5	N/A	19.1	3.0	40.0
% change from end of bone depletion	5.3	10.7	12.9	24.5	44.4

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Resorption Markers					
CTx (ng/mL)					
Week 37	1.5106 C	3.0225	3.4786	3.0903	3.3449
% change from control [b]	-50.0	N/A	15.1	2.2	10.7
% change from end of bone depletion	26.6	10.5	8.4	21.8	18.7
Week 49/50	1.6536 B	2.5383	3.1757	2.6598	2.9907
% change from control [b]	-34.9	N/A	25.1	4.85	17.8
% change from end of bone depletion	30.6	-6.6	-0.6	7.3	2.5
NTx (nM BCE/mM creatinine)					
End of bone depletion	121.25 C	212.42	202.59	189.11	218.09
% change from control [b]	-42.9	N/A	-4.6	-11.0	2.7
Week 9/10	107.62 C	211.74	330.77 A	307.72	351.61 B
% change from control [b]	-49.2	N/A	56.2	45.3	66.1
% change from end of bone depletion	-8.2	6.1	92.4	66.0 A	67.1 A
Week 23/24	131.75 C	250.96	319.11	308.42	377.92 B
% change from control [b]	-47.5	N/A	27.2	22.9	50.6
% change from end of bone depletion	20.4	21.7	68.2	69.2 A	80.6 B
Week 37	110.36 C	226.18	293.30	281.57	395.77
% change from control [b]	-51.2	N/A	29.7	24.5	75.0
% change from end of bone depletion	-3.1	13.5	56.4	52.7 A	86.1

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Resorption Markers					
NTx (nM BCE/mM creatinine)					
Week 49/50	124.82 B	215.33	319.27 A	284.09 A	266.38
% change from control [b]	-42.0	N/A	48.3	31.9	23.7
% change from end of bone depletion	10.4	8.8	92.1	57.6 A	31.7
Hormones					
1.25-Dihydroxyvitamin D (pmol/L)					
End of bone depletion	702.14 B	414.35	445.37	447.03	411.28
% change from control [b]	69.5	N/A	7.5	7.9	-0.7
Week 9/10	772.78 C	446.61	733.00 B	1059.33 C	1024.97 C
% change from control [b]	73.0	N/A	64.1	137.2	129.5
% change from end of bone depletion	13.5	15.7	108.5	161.5 B	153.8 C
Week 23/24	752.28	582.81	780.72	954.55 C	849.06 B
% change from control [b]	29.1	N/A	34.0	63.8	45.7
% change from end of bone depletion	14.7	53.7	146.7	135.0	124.5 A
Week 37	623.16 C	420.06	612.52 A	622.61 B	345.41 N
% change from control [b]	48.4	N/A	45.8	48.2	-17.8
% change from end of bone depletion	-5.6	7.6	83.0	50.0 A	-14.3 n
Week 49/50	636.32	526.16	826.17 B	735.13 A	395.21 n
% change from control [b]	20.9	N/A	57.0	39.7	-24.9
% change from end of bone depletion	-3.2	40.3	190.8	81.5	-1.6 m

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Hormones					
PTH (pg/L)					
End of bone depletion	90.39	65.94	47.71	60.03	65.26
% change from control [b]	37.1	N/A	-27.6	-9.0	-1.0
Week 9/10	98.8	85.2	102.0	155.0 C	194.8 C
% change from control [b]	15.9	N/A	19.7	81.9	128.6
% change from end of bone depletion	21.7	42.8	133.8	173.1 C	231.8 C
Week 23/24	100.60	93.29	94.68	148.59 B	157.36 B
% change from control [b]	7.8	N/A	1.5	59.3	68.7
% change from end of bone depletion	19.9	55.9	123.1	156.0 B	163.4 B
Week 37	119.39	96.14	115.97	122.52	73.92 N
% change from control [b]	24.2	N/A	20.6	27.4	-23.1
% change from end of bone depletion	40.8	52.4	156.9 C	111.3 B	25.7 N
Week 49/50	87.21	96.66	111.83	122.73	78.25 K
% change from control [b]	-9.8	N/A	15.7	27.0	-19.0
% change from end of bone depletion	-1.3 A	61.4	154.5	109.2	25.7 m
FGF23 (pg/mL)					
End of bone depletion	80.7	104.9	97.2	93.8	102.7
% change from control [b]	-23.1	N/A	-7.3	-10.6	-2.1

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Hormones					
FGF23 (pg/mL)					
Week 9/10	72.5 B	108.0	78.5	65.8 C	60.1 C
% change from control [b]	-32.9	N/A	-27.3	-39.1	-44.4
% change from end of bone depletion	-8.0	4.4	-18.3	-24.9 B	-38.7 C
Week 23/24	68.6	88.8	72.4	65.7	70.5
% change from control [b]	-22.7	N/A	-18.5	-26.0	-20.6
% change from end of bone depletion	-12.1	-16.7	-24.3	-27.0	-28.5
Week 37	67.1	93.3	70.8	76.6	85.5
% change from control [b]	-28.1	N/A	-24.1	-17.9	-8.4
% change from end of bone depletion	-15.0	-10.5	-26.0	-13.2	-13.1
Week 49/50	71.6	92.3	79.5	83.5	96.2
% change from control [b]	-22.4	N/A	-13.9	-9.5	4.2
% change from end of bone depletion	-9.4	-12.2	-16.3	-3.1	-0.1
Estradiol (pg/mL)					
End of bone depletion	113.24 F	31.37	28.45	27.49	28.75
% change from control [b]	261.0	N/A	-9.3	-12.4	-8.4
Week 9/10	111.01 E	41.46	38.23	35.34	36.26
% change from control [b]	167.8	N/A	-7.8	-14.8	-12.5
% change from end of bone depletion	52.3	26.2	34.9	28.7	20.9

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Hormones					
Estradiol (pg/mL)					
Week 23/24	145.67 F	48.33	46.40	48.58	48.06
% change from control [b]	201.4	N/A	-4.0	0.5	-0.6
% change from end of bone depletion	46.1	56.9	63.1	79.2	65.7
Week 37	89.13 D	41.30	37.15	41.25	32.34
% change from control [b]	115.8	N/A	-10.0	-0.1	-21.7
% change from end of bone depletion	1.2	35.4	45.1	54.5	26.9
Week 49/50	137.49 E	33.55	30.38	33.65	28.86
% change from control [b]	309.8	N/A	-9.4	0.3	-14.0
% change from end of bone depletion	53.8	8.5	7.9	24.9	4.9
DKK1	-	-	-	-	-
Immunophenotyping	-	-	-	-	-
Bone Densitometry - DXA					
Whole Body – BMC (g)					
End of bone depletion	182.63	180.00	171.09	179.56	182.58
% change from control [b]	1.5	N/A	-5.0	-0.2	1.4
Week 11/12	186.28	182.16	178.92	193.22	198.62
% change from control [b]	2.3	N/A	-1.8	6.1	9.0
% change from end of bone depletion	2.3	1.2	4.6	7.5 C	8.7 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - DXA					
Whole Body – BMC (g)					
Week 24/25	188.90	180.96	185.22	204.45	210.84
% change from control [b]	4.4	N/A	2.4	13.0	16.5
% change from end of bone depletion	3.5	0.5	7.8 C	13.8 C	15.5 C
Week 51/52	195.24	184.49	192.39	218.24	205.86
% change from control [b]	5.8	N/A	4.3	18.3	11.6
% change from end of bone depletion	7.0 A	2.3	12.0 C	21.6 C	12.7 CN
Whole Body – BMD (g/cm^2)					
End of bone depletion	0.3486	0.3450	0.3378	0.3483	0.3427
% change from control [b]	1.0	N/A	-2.1	1.0	-0.7
Week 11/12	0.3520	0.3460	0.3469	0.3663	0.3615
% change from control [b]	1.7	N/A	0.3	5.9	4.5
% change from end of bone depletion	1.0	0.3	2.7	5.2 C	5.5 C
Week 24/25	0.3562	0.3417	0.3556	0.3881	0.3865
% change from control [b]	4.2	N/A	4.1	13.6	13.1
% change from end of bone depletion	2.2 A	-1.0	5.1 C	11.5 C	12.8 C
Week 51/52	0.3601	0.3441	0.3668	0.4111	0.3749
% change from control [b]	4.6	N/A	6.6	19.5	9.0
% change from end of bone depletion	3.4 B	-0.3	8.6 C	18.1 C	9.4 CN

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - DXA					
Lumbar Spine (L1-L4) – BMC (g)					
End of bone depletion	9.172	9.366	8.750	8.823	9.297
% change from control [b]	-2.1	N/A	-6.6	-5.8	-0.7
Week 11/12	9.219	9.176	9.564	9.789	10.578
% change from control [b]	0.5	N/A	4.2	6.7	15.3
% change from end of bone depletion	0.95	-2.10	9.41 C	11.34 C	14.25 C
Week 24/25	9.366	9.009	9.880	10.654	11.589
% change from control [b]	4.0	N/A	9.7	18.3	28.6
% change from end of bone depletion	2.44 A	-4.02	12.67 C	21.41 C	25.16 C
Week 51/52	9.391	9.029	10.475	11.760	10.657
% change from control [b]	4.0	N/A	16.0	30.2	18.0
% change from end of bone depletion	2.29 A	-3.81	19.48 C	34.12 C	14.53 Cn
Lumbar Spine (L1-L4) – BMD (g/cm^2)					
End of bone depletion	0.7002	0.7020	0.6707	0.6935	0.6894
% change from control [b]	-0.3	N/A	-4.5	-1.2	-1.8
Week 11/12	0.7008	0.6856	0.7154	0.7587	0.7629
% change from control [b]	2.2	N/A	4.3	10.7	11.3
% change from end of bone depletion	0.2	-2.4	6.6 C	9.6 C	10.9 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - DXA					
Lumbar Spine (L1-L4) – BMD (g/cm^2)					
Week 24/25	0.7062	0.6766	0.7285	0.8101	0.8235
% change from control [b]	4.4	N/A	7.7	19.7	21.7
% change from end of bone depletion	0.9 A	-3.8	8.4 C	17.0 C	19.7 C
Week 51/52	0.7084	0.6770	0.7679	0.8698	0.7532
% change from control [b]	4.6	N/A	13.4	28.5	11.3
% change from end of bone depletion	1.1 A	-3.7	14.2 C	25.9 C	9.2 Cn
Thoracic Spine (T9-T12) – BMC (g)					
End of bone depletion	4.849	4.774	4.519	4.603	4.894
% change from control [b]	1.6	N/A	-5.3	-3.6	2.5
Week 11/12	4.991	4.769	4.995	5.238	5.687
% change from control [b]	4.7	N/A	4.7	9.8	19.2
% change from end of bone depletion	3.6	0.0	10.9 A	14.5 C	17.2 C
Week 24/25	4.987	4.632	5.268	5.847	6.361
% change from control [b]	7.7	N/A	13.7	26.2	37.3
% change from end of bone depletion	3.7	-3.1	17.2 B	28.4 C	31.3 C
Week 51/52	5.032	4.700	5.644	6.421	5.754
% change from control [b]	7.1	N/A	20.1	36.6	22.4
% change from end of bone depletion	3.9	-1.8	24.8 C	41.5 C	18.1 CN

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - DXA					
Thoracic Spine (T9-T12) – BMD (g/cm^2)					
End of bone depletion	0.5982	0.6048	0.5800	0.6001	0.6006
% change from control [b]	-1.1	N/A	-4.1	-0.8	-0.7
Week 11/12	0.6070	0.5948	0.6152	0.6701	0.6605
% change from control [b]	2.1	N/A	3.4	12.7	11.0
% change from end of bone depletion	1.7	-1.7	6.0 C	12.0 C	10.2 C
Week 24/25	0.6049	0.5821	0.6447	0.7153	0.7178
% change from control [b]	3.9	N/A	10.8	22.9	23.3
% change from end of bone depletion	1.2 A	-3.8	11.0 C	19.6 C	19.7 C
Week 51/52	0.6130	0.5856	0.6701	0.7676	0.6624
% change from control [b]	4.7	N/A	14.4	31.1	13.1
% change from end of bone depletion	2.5 A	-3.3	15.2 C	28.6 C	10.4 CN
Tibia Proximal diaphysis (1/3) – BMC (g)					
End of bone depletion	0.880	0.916	0.821	0.865	0.863
% change from control [b]	-3.9	N/A	-10.4	-5.6	-5.8
Week 11/12	0.869	0.877	0.796	0.888	0.874
% change from control [b]	-0.9	N/A	-9.2	1.3	-0.3
% change from end of bone depletion	-1.3 A	-4.2	-3.1	2.8 C	1.4 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - DXA					
Tibia Proximal diaphysis (1/3) – BMC (g)					
Week 24/25	0.876	0.854	0.804	0.929	0.917
% change from control [b]	2.6	N/A	-5.9	8.8	7.4
% change from end of bone depletion	-0.4 C	-6.9	-2.3 A	7.6 C	6.5 C
Week 51/52	0.873	0.845	0.821	0.996	0.924
% change from control [b]	3.3	N/A	-2.8	17.9	9.3
% change from end of bone depletion	-0.8 C	-7.9	-0.2 A	15.4 C	7.2 CN
Tibia Proximal diaphysis (1/3) – BMD (g/cm^2)					
End of bone depletion	0.4330	0.4460	0.4287	0.4364	0.4167
% change from control [b]	-2.9	N/A	-3.9	-2.2	-6.6
Week 11/12	0.4291	0.4369	0.4115	0.4373	0.4209
% change from control [b]	-1.8	N/A	-5.8	0.1	-3.7
% change from end of bone depletion	-0.9	-2.1	-4.0	0.3	1.0 A
Week 24/25	0.4265	0.4202	0.4151	0.4590	0.4384
% change from control [b]	1.5	N/A	-1.2	9.2	4.3
% change from end of bone depletion	-1.6 B	-5.9	-3.0	5.3 C	5.3 C
Week 51/52	0.4301	0.4099	0.4167	0.4809	0.4407
% change from control [b]	4.9	N/A	1.7	17.3	7.5
% change from end of bone depletion	-0.7 C	-8.2	-2.6	10.3 C	5.7 Cm

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - DXA					
Femur Distal (R1) – BMC (g)					
End of bone depletion	0.591	0.579	0.516	0.566	0.576
% change from control [b]	2.1	N/A	-10.9	-2.2	-0.5
Week 11/12	0.587	0.547	0.516	0.595	0.584
% change from control [b]	7.3	N/A	-5.7	8.8	6.8
% change from end of bone depletion	-0.5	-5.9	0.1	6.0 C	1.5 A
Week 24/25	0.594	0.541	0.551	0.629	0.640
% change from control [b]	9.8	N/A	1.8	16.3	18.3
% change from end of bone depletion	0.6 B	-6.6	6.9 A	12.0 C	11.4 C
Week 51/52	0.590	0.542	0.556	0.682	0.630
% change from control [b]	8.9	N/A	2.6	25.8	16..2
% change from end of bone depletion	0.0	-6.5	8.0 B	21.7 C	9.5 CM
Femur Distal (R1) – BMD (g/cm^2)					
End of bone depletion	0.6441	0.6329	0.6147	0.6237	0.6125
% change from control [b]	1.8	N/A	-2.9	-1.5	-3.2
Week 11/12	0.6526	0.6179	0.6231	0.6550	0.6287
% change from control [b]	5.6	N/A	0.8	6.0	1.7
% change from end of bone depletion	1.3	-2.3	1.7	5.9 C	2.8

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - DXA					
Femur Distal (R1) – BMD (g/cm^2)					
Week 24/25	0.6566	0.6109	0.6349	0.6774	0.6623
% change from control [b]	7.5	N/A	3.9	10.9	8.4
% change from end of bone depletion	1.9 B	-3.4	3.9	9.6 C	8.2 C
Week 51/52	0.6605	0.6120	0.6459	0.7284	0.6635
% change from control [b]	7.9	N/A	5.5	19.0	8.4
% change from end of bone depletion	2.5 B	-3.0	5.6	17.9 C	8.4 Ck
Femur Proximal (Global) – BMC (g)					
End of bone depletion	5.951	5.110	4.818	5.390	5.689
% change from control [b]	16.5	N/A	-5.7	5.5	11.3
Week 11/12	5.743	4.944	5.591	5.779	6.425
% change from control [b]	16.2	N/A	13.1	16.9	30.0
% change from end of bone depletion	-3.6	-3.1	16.0 B	8.3 A	14.1 C
Week 24/25	5.917	5.069	6.010	6.502	7.050
% change from control [b]	16.7	N/A	18.6	28.3	39.1
% change from end of bone depletion	-0.3	-0.6	25.2 B	23.3 C	25.0 C
Week 51/52	5.792	5.069	6.177	6.875	6.458
% change from control [b]	14.3	N/A	21.9	35.6	27.4
% change from end of bone depletion	-2.1	-0.7	28.2 C	31.1 C	14.5 AK

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - DXA					
Femur Proximal (Global) – BMD (g/cm^2)					
End of bone depletion	0.6761	0.6295	0.6059	0.6496	0.6457
% change from control [b]	7.4	N/A	-3.7	3.2	2.6
Week 11/12	0.6567	0.6117	0.6539	0.6766	0.6962
% change from control [b]	7.4	N/A	6.9	10.6	13.8
% change from end of bone depletion	-2.9	-2.8	8.3 B	4.6 B	8.1 C
Week 24/25	0.6791	0.6259	0.6964	0.7495	0.7628
% change from control [b]	8.5	N/A	11.3	19.7	21.9
% change from end of bone depletion	0.5	-0.4	15.2 C	17.0 C	18.4 C
Week 51/52	0.6649	0.6135	0.7185	0.7917	0.7129
% change from control [b]	8.4	N/A	17.1	29.0	16.2
% change from end of bone depletion	-1.5	-2.5	18.8 C	23.8 C	10.7 CM
Femur Proximal (Neck) – BMC (g)					
End of bone depletion	0.169	0.143	0.143	0.156	0.145
% change from control [b]	18.2	N/A	0.0	9.1	1.4
Week 11/12	0.168	0.146	0.167	0.185	0.188
% change from control [b]	15.1	N/A	14.4	26.7	28.8
% change from end of bone depletion	0.2	2.9	17.2 B	19.6 C	30.7 CM

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - DXA					
Femur Proximal (Neck) – BMC (g)					
Week 24/25	0.171	0.143	0.183	0.200	0.205
% change from control [b]	19.6	N/A	28.0	39.9	43.4
% change from end of bone depletion	1.6	0.7	28.0 C	30.9 C	42.6 C
Week 51/52	0.170	0.148	0.196	0.228	0.180
% change from control [b]	14.9	N/A	32.4	54.1	21.6
% change from end of bone depletion	1.3	4.5	36.8 C	49.3 C	25.3 CM
Femur Proximal (Neck) – BMD (g/cm^2)					
End of bone depletion	0.3744	0.3390	0.3444	0.3562	0.3415
% change from control [b]	10.4	N/A	1.6	5.1	0.7
Week 11/12	0.3692	0.3426	0.3772	0.4079	0.4016
% change from control [b]	7.8	N/A	10.1	19.1	17.2
% change from end of bone depletion	-1.0	1.2	9.8 A	15.7 C	18.6 C
Week 24/25	0.3753	0.3487	0.4165	0.4386	0.4314
% change from control [b]	7.6	N/A	19.4	25.8	23.7
% change from end of bone depletion	0.6	2.9	21.6 C	24.4 C	27.3 C
Week 51/52	0.3662	0.3461	0.4427	0.4735	0.3952
% change from control [b]	5.8	N/A	27.9	36.8	14.2
% change from end of bone depletion	-1.9	2.4	28.8 C	35.0 C	16.6 BM

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - DXA					
Femur Proximal (Trochanter) – BMC (g)					
End of bone depletion	0.435	0.411	0.395	0.416	0.411
% change from control [b]	5.8	N/A	-3.9	1.2	0.0
Week 11/12	0.424	0.398	0.433	0.446	0.451
% change from control [b]	6.5	N/A	8.8	12.1	13.3
% change from end of bone depletion	-2.6	-2.9	9.7 A	8.0 B	10.2 C
Week 24/25	0.438	0.404	0.452	0.491	0.501
% change from control [b]	8.4	N/A	11.9	21.5	24.0
% change from end of bone depletion	0.5	-1.3	14.1 C	18.9 C	21.9 C
Week 51/52	0.438	0.401	0.455	0.511	0.453
% change from control [b]	9.2	N/A	13.5	27.4	13.0
% change from end of bone depletion	0.7	-2.2	14.9 C	23.9 C	10.0 BM
Femur Proximal (Trochanter) – BMD (g/cm^2)					
End of bone depletion	0.5794	0.5467	0.5258	0.5537	0.5468
% change from control [b]	6.0	N/A	-3.8	1.3	0.0
Week 11/12	0.5640	0.5296	0.5762	0.5937	0.5999
% change from control [b]	6.5	N/A	8.8	12.1	13.3
% change from end of bone depletion	-2.6	-3.0	9.6 A	8.0 B	10.1 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - DXA					
Femur Proximal (Trochanter) – BMD (g/cm^2)					
Week 24/25	0.5821	0.5377	0.6014	0.6533	0.6663
% change from control [b]	8.3	N/A	11.8	21.5	23.9
% change from end of bone depletion	0.4	-1.3	14.1 C	18.9 C	21.9 C
Week 51/52	0.5822	0.5331	0.6048	0.6801	0.6020
% change from control [b]	9.2	N/A	13.4	27.6	12.9
% change from end of bone depletion	0.6	-2.2	14.9 C	23.9 C	9.9 BM
Radius Distal (Total) – BMC (g)					
Week 24/25	1.340	1.353	1.164	1.397	1.416
% change from control [b]	-1.0	N/A	-14.0	3.3	4.7
% change from end of bone depletion	0.2	-3.3	-3.2	4.8 C	4.5 C
Week 51/52	1.361	1.348	1.221	1.539	1.444
% change from control [b]	1.0	N/A	-9.4	14.2	7.1
% change from end of bone depletion	1.8 A	-3.9	1.3	15.6 C	6.5 CN
Radius Distal (Total) – BMD (g/cm^2)					
Week 24/25	0.3527	0.3538	0.3349	0.3592	0.3566
% change from control [b]	-0.3	N/A	-5.3	1.5	0.8
% change from end of bone depletion	-0.3	-3.2	-2.4	1.9 B	2.1 B

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - DXA					
Radius Distal (Total) – BMD (g/cm^2)					
Week 51/52	0.3550	0.3551	0.3409	0.3834	0.3624
% change from control [b]	0.0	N/A	-4.0	8.0	2.1
% change from end of bone depletion	0.4	-2.9	-0.7	8.9 C	3.7 CM
Radius Distal (1/3) – BMC (g)					
Week 24/25	0.617	0.623	0.543	0.653	0.658
% change from control [b]	-1.0	N/A	-12.8	4.8	5.6
% change from end of bone depletion	0.1	-2.8	-3.0	4.8 C	5.4 C
Week 51/52	0.626	0.616	0.558	0.711	0.664
% change from control [b]	1.6	N/A	-9.4	15.4	7.8
% change from end of bone depletion	1.6 A	-4.0	-0.4	14.2 C	6.3 CM
Radius Distal (1/3) – BMD (g/cm^2)					
Week 24/25	0.3780	0.3829	0.3632	0.3843	0.3819
% change from control [b]	-1.3	N/A	-5.1	0.4	-0.3
% change from end of bone depletion	0.4	-2.8	-1.6	1.4 A	2.2 B
Week 51/52	0.3787	0.3808	0.3678	0.4088	0.3874
% change from control [b]	-0.6	N/A	-3.4	7.4	1.7
% change from end of bone depletion	0.6	-3.4	-0.4	7.9 C	3.6 CK

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - DXA					
Radius Distal (UD) – BMC (g)					
End of bone depletion	0.466	0.481	0.417	0.465	0.467
% change from control [b]	-3.1	N/A	-13.3	-3.3	-2.9
Week 24/25	0.467	0.462	0.403	0.487	0.485
% change from control [b]	1.1	N/A	-12.8	5.4	5.0
% change from end of bone depletion	0.1	-4.0	-3.5	5.1 C	3.9 C
Week 51/52	0.474	0.464	0.436	0.542	0.497
% change from control [b]	2.2	N/A	-6.0	16.8	7.1
% change from end of bone depletion	1.9 A	-3.7	4.1 A	17.2 C	6.5 CN
Radius Distal (UD) – BMD (g/cm^2)					
Week 24/25	0.3255	0.3212	0.3083	0.3336	0.3301
% change from control [b]	1.3	N/A	-4.0	3.9	2.8
% change from end of bone depletion	-1.3	-4.2	-2.5	2.4 C	1.9 C
Week 51/52	0.3299	0.3281	0.3169	0.3601	0.3362
% change from control [b]	0.5	N/A	-3.4	9.8	2.5
% change from end of bone depletion	0.1	-2.2	0.2	10.6 C	3.8 CN

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - pQCT					
Proximal Tibia – Metaphysis – Total Area (mm^2)					
Week 11/12	137.26	136.47	134.46	135.59	142.68
% change from control [b]	0.6	N/A	-1.5	-0.6	4.6
% change from end of bone depletion	1.4	-0.8	1.2	2.1	1.7
Week 24/25	135.90	137.15	137.38	138.18	144.99
% change from control [b]	-0.9	N/A	0.2	0.7	5.7
% change from end of bone depletion	0.2	-0.3	3.4	4.0 A	3.3
Week 51/52	135.37	135.59	135.81	138.03	144.51
% change from control [b]	-0.2	N/A	0.2	1.8	6.6
% change from end of bone depletion	0.0	-1.5	2.4	3.9 B	2.9 A
Proximal Tibia – Metaphysis – Total BMC (mg/mm)					
End of bone depletion	69.051	65.222	61.630	64.634	63.833
% change from control [b]	5.9	N/A	-5.5	-0.9	-2.1
Week 11/12	68.787	62.890	63.364	70.195	70.304
% change from control [b]	9.4	N/A	0.8	11.6	11.8
% change from end of bone depletion	-0.2	-3.6	2.9	9.7 C	10.2 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - pQCT					
Proximal Tibia – Metaphysis – Total BMC (mg/mm)					
Week 24/25	68.789	62.533	66.729	77.833	77.424
% change from control [b]	10.0	N/A	6.7	24.5	23.8
% change from end of bone depletion	-0.4 B	-4.2	8.3 A	20.1 C	21.3 C
Week 51/52	67.889	62.998	66.059	82.181	69.682
% change from control [b]	7.8	N/A	4.9	30.5	10.6
% change from end of bone depletion	-1.7	-3.4	7.3	26.9 C	9.3 CN
Proximal Tibia – Metaphysis – Total BMD (mg/cm^3)					
End of bone depletion	513.44	477.40	479.01	491.52	456.25
% change from control [b]	7.5	N/A	0.3	3.0	-4.4
Week 11/12	505.60	463.73	482.86	527.21	493.31
% change from control [b]	9.0	N/A	4.1	13.7	6.4
% change from end of bone depletion	-1.5	-2.8	1.7	7.4 C	8.3 C
Week 24/25	511.24	459.24	496.73	566.27	534.77
% change from control [b]	11.3	N/A	8.2	23.3	16.4
% change from end of bone depletion	-0.5 A	-3.8	4.8	15.5 C	17.3 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - pQCT					
Proximal Tibia – Metaphysis – Total BMD (mg/cm^3)					
Week 51/52	505.69	467.61	495.46	598.04	483.39
% change from control [b]	8.1	N/A	6.0	27.9	3.4
% change from end of bone depletion	-1.5	-1.9	4.8	22.2 C	6.2 BN
Proximal Tibia – Metaphysis – Trabecular BMC (mg/mm)					
End of bone depletion	11.139	9.263	11.340	9.755	8.841
% change from control [b]	20.3	N/A	22.4	5.3	-4.6
Week 11/12	10.941	8.553	12.038	12.704	11.580
% change from control [b]	27.9	N/A	40.7	48.5	35.4
% change from end of bone depletion	-1.7	-8.5	10.5	29.6 C	30.9 C
Week 24/25	10.921	7.804	12.474	15.281	14.008
% change from control [b]	39.9	N/A	59.8	95.8	79.5
% change from end of bone depletion	-2.8 B	-17.8	14.5 B	54.3 C	57.4 C
Week 51/52	10.598	6.993	11.012	16.120	8.917
% change from control [b]	51.6	N/A	57.5	130.5	27.5
% change from end of bone depletion	-6.6 C	-26.9	-0.1 A	63.3 C	0.2 Cn

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - pQCT					
Proximal Tibia – Metaphysis – Trabecular BMD (mg/cm^3)					
End of bone depletion	184.55	148.72	206.96	166.11	138.69
% change from control [b]	24.1	N/A	39.2	11.7	-6.7
Week 11/12	178.94	138.34	212.61	210.53	178.82
% change from control [b]	29.3	N/A	53.7	52.2	29.3
% change from end of bone depletion	-3.3	-7.7	9.4	26.9 C	28.9 C
Week 24/25	180.09	125.48	215.48	247.10	213.68
% change from control [b]	43.5	N/A	71.7	96.9	70.3
% change from end of bone depletion	-3.1 C	-17.6	11.1 A	48.3 C	52.5 C
Week 51/52	174.94	113.36	191.09	260.64	136.13
% change from control [b]	54.3	N/A	68.6	129.9	20.1
% change from end of bone depletion	-6.6 C	-26.0	-2.3 A	57.3 C	-2.5 Cn
Proximal Tibia – Metaphysis – Cortical/Subcortical BMC (mg/mm)					
End of bone depletion	57.913	55.958	50.289	54.877	54.991
% change from control [b]	3.5	N/A	-10.1	-1.9	-1.7
Week 11/12	57.847	54.337	51.328	58.211	58.724
% change from control [b]	6.5	N/A	-5.5	7.1	8.1
% change from end of bone depletion	0.0	-2.8	1.9	6.1 C	6.9 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry – pQCT					
Proximal Tibia – Metaphysis – Cortical/Subcortical BMC (mg/mm)					
Week 24/25	57.868	54.729	54.256	62.552	63.415
% change from control [b]	5,7	N/A	-0,9	14,3	15,9
% change from end of bone depletion	0.0	-2.2	7.7 A	13.9 C	15.4 C
Week 51/52	57.293	56.005	55.048	66.059	60.763
% change from control [b]	2.3	N/A	-1.7	18.0	8.5
% change from end of bone depletion	-1.0	0.1	9.3 B	20.4 C	10.6 CN
Proximal Tibia – Metaphysis – Cortical/Subcortical BMD (mg/cm^3)					
End of bone depletion	783.21	746.88	702.47	758.42	716.98
% change from control [b]	4.9	N/A	-5.9	1.5	-4.0
Week 11/12	773.33	730.44	704.59	786.96	751.15
% change from control [b]	5.9	N/A	-3.5	7.7	2.8
% change from end of bone depletion	-1.2	-2.1	0.7	4.0 B	5.0 C
Week 24/25	783.00	732.96	727.12	827.76	798.23
% change from control [b]	6.8	N/A	-0.8	12.9	8.9
% change from end of bone depletion	-0.1	-1.9	4.0 A	9.6 C	11.6 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry – pQCT					
Proximal Tibia – Metaphysis – Cortical/Subcortical BMD (mg/cm^3)					
Week 51/52	776.42	758.12	745.02	874.45	768.12
% change from control [b]	2.4	N/A	-1.7	15.3	1.3
% change from end of bone depletion	-0.9	1.7	6.7	15.9 C	7.4 AM
Proximal Tibia – Diaphysis – Total Area (mm^2)					
Week 11/12	70.883	70.674	65.355	71.051	73.641
% change from control [b]	0.3	N/A	-7.5	0.5	4.2
% change from end of bone depletion	-0.8	-1.2	0.2	1.8 C	1.3 C
Week 24/25	70.958	70.208	66.048	72.081	74.586
% change from control [b]	1.1	N/A	-5.9	2.7	6.2
% change from end of bone depletion	-0.6	-2.0	1.3 B	3.3 C	2.6 C
Week 51/52	70.966	69.549	64.415	73.230	73.764
% change from control [b]	2.0	N/A	-7.4	5.3	6.1
% change from end of bone depletion	-0.7	-2.9	-1.2	5.0 C	1.5 BM

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry – pQCT					
Proximal Tibia – Diaphysis – Cortical Area (mm^2)					
Week 11/12	41.658	42.018	40.792	44.607	44.424
% change from control [b]	-0.9	N/A	-2.9	6.2	5.7
% change from end of bone depletion	-0.3	-1.5	3.2 A	6.4 C	7.6 C
Week 24/25	41.513	41.128	42.142	47.351	47.985
% change from control [b]	0.9	N/A	2.5	15.1	16.7
% change from end of bone depletion	-0.7 A	-3.7	6.6 B	13.2 C	16.3 C
Week 51/52	41.358	40.976	40.875	50.216	45.781
% change from control [b]	0.9	N/A	-0.2	22.5	11.7
% change from end of bone depletion	-1.1	-4.0	3.3 A	20.1 C	10.8 CM
Proximal Tibia – Diaphysis – Cortical BMC (mg/mm)					
End of bone depletion	43.979	44.223	39.692	42.781	42.101
% change from control [b]	-0.6	N/A	-10.2	-3.3	-4.8
Week 11/12	43.788	42.474	39.348	44.385	43.668
% change from control [b]	3.1	N/A	-7.4	4.5	2.8
% change from end of bone depletion	-0.4 A	-4.0	-0.8	3.8 C	3.7 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry – pQCT					
Proximal Tibia – Diaphysis – Cortical BMC (mg/mm)					
Week 24/25	43.648	41.221	40.645	47.255	46.686
% change from control [b]	5.9	N/A	-1.4	14.6	13.3
% change from end of bone depletion	-0.8 C	-7.0	2.6 A	10.7 C	10.9 C
Week 51/52	43.710	41.334	40.638	51.243	45.688
% change from control [b]	5.7	N/A	-1.7	24.0	10.5
% change from end of bone depletion	-0.7 B	-6.7	2.6	20.1 C	8.4 CM
Proximal Tibia – Diaphysis – Cortical BMD (mg/cm^3)					
End of bone depletion	1052.6	1038.5	1003.5	1021.1	1020.8
% change from control [b]	1.4	N/A	-3.4	-1.7	-1.7
Week 11/12	1051.4	1012.2	965.0	996.1	984.2
% change from control [b]	3.9	N/A	-4.7	-1.6	-2.8
% change from end of bone depletion	-0.1 C	-2.6	-3.8	-2.5	-3.6
Week 24/25	1015.7	1003.1	964.3	999.0	973.9
% change from control [b]	1.3	N/A	-3.9	-0.4	-2.9
% change from end of bone depletion	-0.1 C	-3.4	-3.9	-2.1	-4.6 M

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry – pQCT					
Proximal Tibia – Diaphysis – Cortical BMD (mg/cm^3)					
Week 51/52	1057.3	1009.3	994.3	1021.4	998.9
% change from control [b]	4.8	N/A	-1.5	1.2	-1.0
% change from end of bone depletion	0.5 C	-2.8	-0.9	0.1 B	-2.1 K
Proximal Tibia – Diaphysis – Cortical Thickness (mm)					
Week 11/12	1.7229	1.7382	1.8060	1.8701	1.8036
% change from control [b]	-0.9	N/A	3.9	7.6	3.8
% change from end of bone depletion	0.3	-1.0	3.9	7.0 C	8.8 C
Week 24/25	1.7139	1.7046	1.8657	2.0036	1.9747
% change from control [b]	0.5	N/A	9.5	17.5	15.8
% change from end of bone depletion	-0.3	-3.1	7.5 B	14.8 C	19.2 C
Week 51/52	1.7036	1.7057	1.8205	2.1395	1.8748
% change from control [b]	-0.1	N/A	6.7	25.4	9.9
% change from end of bone depletion	-0.9	-2.9	5.2	22.8 C	13.0 CK

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry – pQCT					
Proximal Tibia – Diaphysis – Periosteal circumference (mm)					
Week 11/12	29.787	29.740	28.559	29.834	30.373
% change from control [b]	0.2	N/A	-4.0	0.3	2.1
% change from end of bone depletion	-0.4	-0.6	0.1	0.9 C	0.6 C
Week 24/25	29.806	29.633	28.715	30.050	30.571
% change from control [b]	0.6	N/A	-3.1	1.4	3.2
% change from end of bone depletion	-0.3	-1.0	0.6 B	1.6 C	1.3 C
Week 51/52	29.805	29.491	28.356	30.291	30.398
% change from control [b]	1.1	N/A	-3.9	2.7	3.1
% change from end of bone depletion	-0.3	-1.5	-0.6	2.5 C	0.7 BM
Proximal Tibia – Diaphysis – Endosteal circumference (mm)					
Week 11/12	18.962	18.818	17.212	18.085	19.040
% change from control [b]	0.8	N/A	-8.5	-3.9	1.2
% change from end of bone depletion	-0.8	-0.4	-1.9	-2.6	-3.7 B
Week 24/25	19.037	18.923	16.992	17.460	18.163
% change from control [b]	0.6	N/A	-10.2	-7.7	-4.0
% change from end of bone depletion	-0.5	0.0	-3.1	-6.1 C	-8.2 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry – pQCT					
Proximal Tibia – Diaphysis – Endosteal circumference (mm)					
Week 51/52	19.101	18.774	16.918	16.847	18.619
% change from control [b]	1.7	N/A	-9.9	-10.3	-0.8
% change from end of bone depletion	0.0	-0.7	-3.1	-9.4 C	-5.9 BK
Distal Radius – Metaphysis – Total Area (mm^2)					
Week 11/12	66.044	67.801	65.167	64.541	69.132
% change from control [b]	-2.6	N/A	-3.9	-4.8	2.0
% change from end of bone depletion	0.4	0.0	4.2	1.3	0.7
Week 24/25	65.612	66.175	65.522	64.480	68.643
% change from control [b]	-0.9	N/A	-1.0	-2.6	3.7
% change from end of bone depletion	-0.3	-2.5	4.1 B	1.1 A	-0.1
Week 51/52	66.972	67.005	65.911	67.219	67.813
% change from control [b]	0.0	N/A	-1.6	0.3	1.2
% change from end of bone depletion	1.8	-1.4	4.6 A	5.6 C	-1.4 N

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry – pQCT					
Distal Radius – Metaphysis – Total BMC (mg/mm)					
End of bone depletion	36.279	35.774	31.825	34.741	35.415
% change from control [b]	1.4	N/A	-11.0	-2.9	-1.0
Week 11/12	35.948	34.840	32.209	34.850	35.678
% change from control [b]	3.2	N/A	-7.6	0.0	2.4
% change from end of bone depletion	-0.9	-2.7	1.3 A	0.3 A	0.8 A
Week 24/25	35.952	33.725	32.847	37.112	37.757
% change from control [b]	6.6	N/A	-2.6	10.0	12.0
% change from end of bone depletion	-0.9 B	-5.9	2.8	6.8 C	6.8 C
Week 51/52	36.467	34.792	35.157	41.542	36.856
% change from control [b]	4.8	N/A	1.0	19.4	5.9
% change from end of bone depletion	0.6	-2.9	9.7	19.8 C	4.0 AN
Distal Radius – Metaphysis – Total BMD (mg/cm^3)					
End of bone depletion	553.65	533.15	517.96	555.52	521.53
% change from control [b]	3.8	N/A	-2.8	4.2	-2.2
Week 11/12	547.15	519.00	501.98	548.33	522.02
% change from control [b]	5.4	N/A	-3.3	5.7	0.6
% change from end of bone depletion	-1.2	-2.6	-2.8	-1.0	0.2

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry – pQCT					
Distal Radius – Metaphysis – Total BMD (mg/cm^3)					
Week 24/25	551.30	514.84	509.21	583.52	556.45
% change from control [b]	7.1	N/A	-1.1	13.3	8.1
% change from end of bone depletion	-0.5	-3.5	-1.4	5.6 C	6.7 C
Week 51/52	547.83	524.74	538.93	625.46	549.84
% change from control [b]	4.4	N/A	2.7	19.2	4.8
% change from end of bone depletion	-1.1	-1.5	4.6	13.4 C	5.5 Am
Distal Radius – Metaphysis – Trabecular BMC (mg/mm)					
End of bone depletion	3.695	3.551	3.547	3.451	3.534
% change from control [b]	4.1	N/A	-0.1	-2.8	-0.5
Week 11/12	3.620	3.291	3.586	3.531	3.756
% change from control [b]	10.0	N/A	9.0	7.3	14.1
% change from end of bone depletion	-2.1	-7.4	2.2 A	4.0 A	5.7 A
Week 24/25	3.615	2.876	3.611	4.088	4.237
% change from control [b]	25.7	N/A	25.6	42.1	47.3
% change from end of bone depletion	-2.2 C	-19.4	4.0 B	20.1 C	18.5 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry – pQCT					
Distal Radius – Metaphysis – Trabecular BMC (mg/mm)					
Week 51/52	3.702	2.820	3.584	4.724	3.365
% change from control [b]	31.3	N/A	27.1	67.5	19.3
% change from end of bone depletion	-0.3 C	-21.0	3.2 A	41.9 C	-6.3 An
Distal Radius – Metaphysis – Trabecular BMD (mg/cm^3)					
End of bone depletion [b]	160.86	151.35	167.46	159.71	149.55
% change from control	6.3	N/A	10.6	5.5	-1.2
Week 11/12	157.15	140.58	162.14	159.12	158.02
% change from control [b]	11.8	N/A	15.3	13.2	12.4
% change from end of bone depletion	-2.6 A	-7.3	-2.3	2.4 A	4.8 A
Week 24/25	158.37	126.11	162.11	183.94	179.98
% change from control [b]	25.6	N/A	28.5	45.9	42.7
% change from end of bone depletion	-1.9 C	-17.5	-0.6 A	18.4 C	18.4 C
Week 51/52	158.39	122.31	160.25	204.52	145.81
% change from control [b]	29.5	N/A	31.0	67.2	19.2
% change from end of bone depletion	-2.1 C	-19.9	-2.0 A	34.0 C	-5.0 An

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry – pQCT					
Distal Radius – Metaphysis – Cortical/Subcortical BMC (mg/mm)					
End of bone depletion	32.585	32.223	28.278	31.290	31.880
% change from control [b]	1.1	N/A	-12.2	-2.9	-1.1
Week 11/12	32.328	31.549	28.624	31.319	31.923
% change from control [b]	2.5	N/A	-9.3	-0.7	1.2
% change from end of bone depletion	-0.8	-2.2	1.2	0.1	0.2
Week 24/25	32.338	30.849	29.236	33.024	33.520
% change from control [b]	4.8	N/A	-5.2	7.1	8.7
% change from end of bone depletion	-0.7 A	-4.4	2.9	5.6 C	5.3 C
Week 51/52	32.765	31.971	31.573	36.819	33.492
% change from control [b]	2.5	N/A	-1.2	15.2	4.8
% change from end of bone depletion	0.6	-0.9	10.7	17.9 C	5.0 N
Distal Radius – Metaphysis – Cortical/Subcortical BMD (mg/cm^3)					
End of bone depletion	765.45	739.39	706.62	768.84	721.94
% change from control [b]	3.5	N/A	-4.4	4.0	-2.4
Week 11/12	757.57	722.95	685.53	758.09	718.14
% change from control [b]	4.8	N/A	-5.2	4.9	-0.7
% change from end of bone depletion	-1.1	-2.2	-2.7	-1.1	-0.4

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - pQCT					
Distal Radius – Metaphysis – Cortical/Subcortical BMD (mg/cm^3)					
Week 24/25	763.25	724.63	696.37	798.80	759.47
% change from control [b]	5.3	N/A	-3.9	10.2	4.8
% change from end of bone depletion	-0.3	-2.0	-1.2	4.4 C	5.3 C
Week 51/52	757.57	741.68	743.10	852.32	767.64
% change from control [b]	2.1	N/A	0.2	14.9	3.5
% change from end of bone depletion	-1.1	0.4	5.7	11.6 C	6.5 AK
Distal Radius – Diaphysis – Total Area (mm^2)					
Week 11/12	31.400	32.250	29.087	31.808	32.889
% change from control [b]	-2.6	N/A	-9.8	-1.4	2.0
% change from end of bone depletion	-0.1	-1.0	1.3 A	2.0 C	1..2 B
Week 24/25	31.353	31.820	29.207	32.997	33.866
% change from control [b]	-1.5	N/A	-8.2	3.7	6.4
% change from end of bone depletion	-0.2 A	-2.3	1.7 B	5.9 C	4.3 C
Week 51/52	31.443	31.735	29.340	35.005	34.203
% change from control [b]	-0.9	N/A	-7.5	10.3	7.8
% change from end of bone depletion	0.2 B	-2.6	1.9 B	12.5 C	5.3 CN

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry – pQCT					
Distal Radius – Diaphysis – Cortical Area (mm^2)					
Week 11/12	22.938	23.808	21.807	24.040	23.980
% change from control [b]	-3.7	N/A	-8.4	1.0	0.7
% change from end of bone depletion	-0.6	-0.3	1.5	2.8 B	2.8 B
Week 24/25	22.890	23.598	22.087	24.963	25.183
% change from control [b]	-3.0	N/A	-6.4	5.8	6.7
% change from end of bone depletion	-0.8	-1.2	2.7	6.8 C	8.0 C
Week 51/52	22.908	23.558	22.373	26.992	25.063
% change from control [b]	-2.8	N/A	-5.0	14.6	6.4
% change from end of bone depletion	-0.7	-1.4	3.9	15.5 C	7.5 CN
Distal Radius – Diaphysis – Cortical BMC (mg/mm)					
End of bone depletion	26.440	27.438	24.280	26.565	26.421
% change from control [b]	-3.6	N/A	-11.5	-3.2	-3.7
Week 11/12	26.279	27.069	23.935	26.482	26.401
% change from control [b]	-2.9	N/A	-11.6	-2.2	-2.5
% change from end of bone depletion	-0.7	-1.4	-1.4	-0.2	-0.1

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry – pQCT					
Distal Radius – Diaphysis – Cortical BMC (mg/mm)					
Week 24/25	26.273	26.587	23.647	27.192	27.080
% change from control [b]	-1.2	N/A	-11.1	2.3	1.9
% change from end of bone depletion	-0.7 A	-3.2	-2.6	2.5 B	2.5 B
Week 51/52	26.365	26.449	24.285	29.828	27.560
% change from control [b]	-0.3	N/A	-8.2	12.8	4.2
% change from end of bone depletion	-0.3 A	-3.7	-0.1	12.6 C	4.3 CN
Distal Radius – Diaphysis – Cortical BMD (mg/cm^3)					
End of bone depletion	1146.1	1150.6	1130.7	1134.2	1134.0
% change from control [b]	-0.4	N/A	-1.7	-1.4	-1.4
Week 11/12	1145.8	1138.2	1099.6	1102.3	1101.9
% change from control [b]	0.7	N/A	-3.4	-3.2	-3.2
% change from end of bone depletion	0.0 C	-1.1	-2.8	-2.8 A	-2.8 A
Week 24/25	1147.9	1127.6	1072.2	1089.6	1076.6
% change from control [b]	1.8	N/A	-4.9	-3.4	-4.5
% change from end of bone depletion	0.2 C	-2.0	-5.2 B	-4.0	-5.1 B

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry – pQCT					
Distal Radius – Diaphysis – Cortical BMD (mg/cm^3)					
Week 51/52	1150.9	1123.7	1085.2	1105.7	1100.7
% change from control [b]	2.4	N/A	-3.4	-1.6	-2.0
% change from end of bone depletion	0.4 C	-2.3	-4.0	-2.5	-2.9
Distal Radius – Diaphysis – Cortical Thickness (mm)					
Week 11/12	1.5353	1.5814	1.5490	1.6254	1.5609
% change from control [b]	-2.9	N/A	-2.0	2.8	-1.3
% change from end of bone depletion	-0.8	0.5	0.7	2.2	2.9
Week 24/25	1.5313	1.5816	1.5665	1.6567	1.6306
% change from control [b]	-3.2	N/A	-1.0	4.7	3.1
% change from end of bone depletion	-1.0	0.6	2.0	4.2 A	7.5 C
Week 51/52	1.5289	1.5848	1.5878	1.7553	1.6019
% change from control [b]	-3.5	N/A	0.2	10.8	1.1
% change from end of bone depletion	-1.2	0.7	3.6	10.5 C	5.7 AK

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - pQCT					
Distal Radius – Diaphysis – Periosteal circumference (mm)					
Week 11/12	19.827	20.056	19.037	19.950	20.294
% change from control [b]	-1.1	N/A	-5.1	-0.5	1.2
% change from end of bone depletion	0.0	-0.5	0.6 A	1.0 C	0.6 B
Week 24/25	19.814	19.920	19.075	20.323	20.595
% change from control [b]	-0.5	N/A	-4.2	2.0	3.4
% change from end of bone depletion	-0.1 A	-1.2	0.8 B	2.9 C	2.1 C
Week 51/52	19.846	19.890	19.108	20.935	20.693
% change from control [b]	-0.2	N/A	-3.9	5.3	4.0
% change from end of bone depletion	0.1 B	-1.3	0.9 B	6.0 C	2.6 CN
Distal Radius – Diaphysis – Endosteal circumference (mm)					
Week 11/12	10.180	10.119	9.304	9.738	10.488
% change from control [b]	0.6	N/A	-8.1	-3.8	3.6
% change from end of bone depletion	0.6	-1.6	1.3	-0.3	-1.3
Week 24/25	10.192	9.982	9.232	9.913	10.349
% change from control	2.1	N/A	-7.5	-0.7	3.7
% change from end of bone depletion	0.8 B	-3.0	1.2	1.7 A	-2.5 K

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - pQCT					
Distal Radius – Diaphysis – Endosteal circumference (mm)					
Week 51/52	10.240	9.932	9.131	9.906	10.627
% change from control [b]	3.1	N/A	-8.1	-0.3	7.0
% change from end of bone depletion	1.4	-3.6	0.1	1.7	0.2
Terminal Procedures (no. evaluated)	16	16	16	16	16
Organ weight					
Uterus (g. %) [c]	205.0 F	4.1605	-2.9	6.8	0.4
Gross Pathology					
Ovary (found)	16	0	0	0	0
Histopathology [d]					
Injection Site (interscapular) – Infiltration: mononuclear cell					
Minimal	4	1	9	3	1
Slight	0	1	3	0	0
Injection Site (scapular left) – Infiltration: mononuclear cell					
Minimal	2	1	6	4	0
Slight	0	0	2	0	0

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histopathology [d]					
Injection Site (scapular right) – Infiltration mononuclear cell					
Minimal	3	1	8	4	0
Slight	0	0	2	0	0
Bone Rib Left - Woven bone at defect margin and/or gap (no. evaluated)	14	16	16	16	16
Minimal	6	9	9	6	5
Slight	3	3	4	1	6
Moderate	3	1	3	5	3
Marked	1	3	0	4	0
Bone Rib Right - Woven bone at defect margin and/or gap (no. evaluated)	14	16	16	16	16
Minimal	6	3	5	4	9
Slight	6	8	4	5	6
Moderate	2	2	2	2	0
Marked	0	2	0	5	0
Bone Densitometry - DXA – ex vivo					
Femur					
Global BMC (g)	9.711	9.101	9.471	10.978 C	10.471 B
% change from control [b]	6.7	N/A	4.1	20.6	15.0

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - DXA – ex vivo					
Femur					
Global BMD (g/cm^2)	0.5065	0.4698	0.5097	0.5750 C	0.5231 BM
% change from control [b]	7.8	N/A	8.5	22.4	11.3
Proximal BMC (g)	4.0074	3.6834	4.0262	4.7006 C	4.3658 B
% change from control [b]	8.8	N/A	9.3	27.6	18.5
Proximal BMD (g/cm^2)	0.5236	0.4813	0.5473 A	0.6147 C	0.5444 BM
% change from control [b]	8.8	N/A	13.7	27.7	13.1
Mid BMC (g)	2.4558	2.3685	2.3834	2.6659 B	2.6125 A
% change from control [b]	3.7	N/A	0.6	12.6	10.3
Mid BMD (g/cm^2)	0.5453	0.5269	0.5392	0.5841 B	0.5638
% change from control [b]	3.5	N/A	2.3	10.9	7.0
Distal BMC (g)	1.8417	1.6190	1.7521	2.1705 C	1.9310 A
% change from control [b]	13.8	N/A	8.2	34.1	19.3
Distal BMD (g/cm^2)	0.4674 A	0.4160	0.4592	0.5484 C	0.4812 BM
% change from control [b]	12.4	N/A	10.4	31.8	15.7
L3+L4 Vertebral Bodies					
Global BMC (g)	0.4248	0.3496	0.5137 B	0.6327 C	0.4588 BN
% change from control [b]	21.5	N/A	46.9	81.0	31.2
Global BMD (g/cm^2)	0.3037	0.2629	0.3717 C	0.4590 C	0.3202 AN
% change from control [b]	15.5	N/A	41.4	74.6	21.8

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - pQCT – ex vivo					
Femur. diaphysis					
Total BMC (mg/mm)	61.69	60.17	60.39	67.65 B	66.68 A
% change from control [b]	2.5	N/A	0.4	12.4	10.8
Cortical Area (mm^2)	45.91	45.95	46.89	52.16 B	52.43 B
% change from control [b]	-0.1	N/A	2.0	13.5	14.1
Cortical BMC (mg/mm)	60.24	58.78	58.92	66.05 B	65.10 A
% change from control [b]	2.5	N/A	0.2	12.4	10.8
Cortical BMD (mg/cm^3)	1312.5 A	1279.5	1256.0	1268.2	1244.1 B
% change from control [b]	2.6	N/A	-1.8	-0.9	-2.8
Cortical Thickness (mm)	1.925	1.897	2.038	2.230 C	2.145 A
% change from control [b]	1.5	N/A	7.4	17.6	13.1
L3+L4 Vertebral Bodies					
Total BMC (mg/mm)	57.71	49.58	66.10 A	79.63 C	61.94 AN
% change from control [b]	16.4	N/A	33.3	60.6	24.9
Total BMD (mg/cm^3)	471.4	425.6	556.0 B	678.6 C	492.0 N
% change from control [b]	10.8	N/A	30.6	59.4	15.6
Trabecular BMC (mg/mm)	24.16	19.75	29.61 A	39.26 C	24.63 N
% change from control[b]	22.3	N/A	49.9	98.8	24.7

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Bone Densitometry - pQCT – ex vivo					
L3+L4 Vertebral Bodies					
Trabecular BMD (mg/cm^3)	327.2	280.7	412.5 A	559.1 C	325.2 N
% change from control [b]	16.6	N/A	47.0	99.2	15.9
L5+L6 Vertebral Cores					
Trabecular BMC (mg/mm)	9.24	8.10	12.03 C	14.60 C	9.03 N
% change from control [b]	14.1	N/A	48.5	80.2	11.5
Trabecular BMD (mg/cm^3)	410.7	361.3	532.9 C	650.1 C	402.1 N
% change from control [b]	13.7	N/A	47.5	79.9	11.3
Micro CT					
L3 Vertebral Body – Total region					
vBMD (mg HA/cm^3)	388.00	350.67	473.86 C	589.11 C	422.37 AN
% change from control [b]	10.6	N/A	35.1	68.0	20.4
BMC (mg HA)	223.42	189.37	266.72 B	328.06 C	248.73 BN
% change from control [b]	18.0	N/A	40.8	73.2	31.3
Area BMC (mg HA/mm)	43.30	36.70	51.69 B	63.58 C	48.20 BN
% change from control [b]	18.0	N/A	40.8	73.2	31.3
Tissue BMD (mg HA/cm^3)	925.12	914.40	877.23 B	878.63 C	895.86 K
% change from control [b]	1.2	N/A	-4.1	-3.9	-2.0
Bone Area (mm^2)	46.86	39.75	58.32 B	71.82 C	53.13 BN
% change from control [b]	17.9	N/A	46.7	80.7	33.7

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Micro CT					
L3 Vertebral Body – Trabecular region					
vBMD (mg HA/cm^3)	281.49	239.49	354.02 B	447.57 C	286.55 N
% change from control [b]	17.5	N/A	47.8	86.9	19.7
BMC (mg HA)	128.20	101.17	146.26 A	152.41 C	122.57 K
% change from control [b]	26.7	N/A	44.6	50.6	21.2
Area (mm^2)	86.99	81.78	79.04	66.96 A	82.97 K
% change from control [b]	6.4	N/A	-3.4	-18.1	1.5
Area BMC (mg HA/mm)	24.84	19.61	28.35 A	29.54 C	23.75 K
% change from control [b]	26.7	N/A	44.6	50.6	21.1
Tissue BMD (mg HA/cm^3)	909.59	898.88	863.80 B	860.32 C	877.72 AK
% change from control [b]	1.2	N/A	-3.9	-4.3	-2.4
Bone Area (mm^2)	26.61	20.71	31.58 A	33.13 C	25.65 K
% change from control [b]	28.5	N/A	52.5	60.0	23.9
BV/TV (%)	30.25	25.37	39.50 C	50.29 C	31.02 N
% change from control [b]	19.2	N/A	55.7	98.2	22.3
Tb.Th (mm)	0.195	0.173	0.268 C	0.338 C	0.231 CN
% change from control [b]	12.7	N/A	54.9	95.4	33.5
Tb.Sp (mm)	0.642	0.682	0.609	0.537 B	0.644 M
% change from control [b]	-5.9	N/A	-10.7	-21.3	-5.6

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Micro CT					
L3 Vertebral Body – Trabecular region					
SMI	-0.267	0.157	-0.989 C	-2.318 C	-0.060 N
% change from control [b]	-270.1	N/A	-729.9	-1576.4	-138.2
L3 Vertebral Body – Cortical region					
vBMD (mg HA/cm ^{3})	0.777	0.739	0.788 B	0.816 C	0.787 BM
% change from control [b]	5.1	N/A	6.6	10.4	6.5
BMC (mg HA)	95.22	88.20	120.46 A	175.65 C	126.16 CN
% change from control [b]	8.0	N/A	36.6	99.1	43.0
Area (mm^2)	23.66	23.07	29.67	41.67 C	30.95 BN
% change from control [b]	2.6	N/A	28.6	80.6	34.2
Area BMC (mg HA/mm)	18.45	17.09	23.35 A	34.04 C	24.45 CN
% change from control [b]	8.0	N/A	36.6	99.2	43.1
Tissue BMD (mg HA/cm^3)	945.37	928.60	897.60 A	902.76 A	913.81
% change from control [b]	1.8	N/A	-3.3	-2.8	-1.6
Bone Area (mm^2)	20.26	19.04	26.74 A	38.68 C	27.48 CN
% change from control [b]	6.4	N/A	40.4	103.2	44.3
Ct.Th (mm)	0.390	0.387	0.453	0.620 C	0.558 C
% change from control [b]	0.8	N/A	17.1	60.2	44.2

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Micro CT					
L6 Vertebral Core - Trabecular region					
vBMD (mg HA/cm^3)	261.70	226.86	366.26 C	464.81 C	254.87 N
% change from control [b]	15.4	N/A	61.4	104.9	12.3
BMC (mg HA)	17.33	14.87	23.31 C	31.02 C	16.51 N
% change from control [b]	16.5	N/A	56.8	108.6	11.0
Area BMC (mg HA/mm)	5.825	5.077	8.046 C	10.272 C	5.678 N
% change from control [b]	14.7	N/A	58.5	102.3	11.8
Tissue BMD (mg HA/cm^3)	925.10	920.19	871.57 C	863.62 C	903.49 m
% change from control [b]	0.5	N/A	-5.3	-6.1	-1.8
Bone Area (mm^2)	5.749	4.980	8.467 C	11.208 C	5.596 N
% change from control [b]	15.4	N/A	70.0	125.1	12.4
BV/TV (%)	25.84	22.25	38.54 C	50.74 C	25.11 N
% change from control [b]	16.1	N/A	73.2	128.0	12.9
Tb.N (1/mm)	2.514	2.446	2.708	2.925 B	2.463 M
% change from control [b]	2.8	N/A	10.7	19.6	0.7
Tb.Th (mm)	0.127	0.117	0.168 C	0.210 C	0.135 N
% change from control [b]	8.5	N/A	43.6	79.5	15.4
Tb.Sp (mm)	0.358	0.369	0.306	0.271 C	0.364 N
% change from control [b]	-3.0	N/A	-17.1	-26.6	-1.4

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Micro CT					
L6 Vertebral Core - Trabecular region					
SMI	1.458	1.737	0.524 C	-1.311 C	1.693 n
% change from control [b]	-16.1	N/A	-69.8	-175.5	-2.5
DA	1.327	1.361	1.258 B	1.310	1.330
% change from control [b]	-2.5	N/A	-7.6	-3.7	-2.3
Femoral Neck – Total Region					
vBMD (mg HA/cm^3)	580.85	562.49	669.51 A	724.24 C	613.96 N
% change from control [b]	3.3	N/A	19.0	28.8	9.2
Area BMC (mg HA/mm)	47.44	44.04	51.71	57.54 C	51.78 BK
% change from control [b]	7.7	N/A	17.4	30.7	17.6
Tissue BMD (mg HA/cm^3)	999.50 A	976.97	949.71 A	955.51 A	963.82
% change from control [b]	2.3	N/A	-2.8	-2.2	-1.3
Bone Area (mm^2)	46.96	44.22	54.22 A	60.50 C	52.85 AK
% change from control [b]	6.2	N/A	22.6	36.8	19.5
Femoral Neck – Trabecular Region					
vBMD (mg HA/cm^3)	272.82	224.09	392.69 B	420.76 C	286.12 M
% change from control [b]	21.7	N/A	75.2	87.8	27.7
Area (mm^2)	42.65	38.42	33.99	31.03	39.46 K
% change from control [b]	11.0	N/A	-11.5	-19.2	2.7

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Micro CT					
Femoral Neck – Trabecular Region					
Area BMC (mg HA/mm)	11.46	8.31	12.75	13.05 A	11.08
% change from control [b]	37.9	N/A	53.4	57.0	33.3
Bone Area (mm^2)	9.959	6.712	12.690	13.639 B	9.811
% change from control [b]	48.4	N/A	89.1	103.2	46.2
BV/TV (%)	23.77	18.49	39.47 B	43.76 C	25.33 M
% change from control [b]	28.6	N/A	113.5	136.7	37.0
Tb.Th (mm)	0.261	0.268	0.354	0.419 C	0.296 n
% change from control [b]	-2.6	N/A	32.1	56.3	10.4
SMI	1.106	1.724	0.243	-0.985 A	1.441 n
% change from control [b]	-35.8	N/A	-85.9	-157.1	-16.4
Femoral Neck – Cortical Region					
Area (mm^2)	39.84	40.35	43.78	48.91 C	45.50
% change from control [b]	-1.3	N/A	8.5	21.2	12.8
Area BMC (mg HA/mm)	35.97	35.73	38.96	44.48 C	40.71
% change from control [b]	0.7	N/A	9.0	24.5	13.9
Tissue BMD (mg HA/cm^3)	1020.7 C	987.4	964.7	975.1	976.6
% change from control [b]	3.4	N/A	-2.3	-1.2	-1.1

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Micro CT					
Femoral Neck – Cortical Region					
Bone Area (mm^2)	37.00	37.50	41.53	46.86 C	43.04
% change from control [b]	-1.3	N/A	10.7	25.0	14.8
Ct.Th (mm)	1.090	1.141	1.302	1.443 C	1.220 k
% change from control [b]	-4.5	N/A	14.1	26.5	6.9
Ash Testing					
L3 Vertebral Body					
Dry Weight (g)	0.567	0.479	0.698 B	0.845 C	0.603 AN
% change from control [b]	18.4	N/A	45.7	76.4	25.9
Ash weight (g)	0.349	0.292	0.424 B	0.523 C	0.372 AN
% change from control [b]	19.5	N/A	45.2	79.1	27.4
Tissue Mineralization (%)	61.5	60.9	60.8	61.8 B	61.6 A
% change from control [b]	1.0	N/A	-0.2	1.5	1.1
L6 Vertebral Core					
Dry Weight (g)	0.031	0.026	0.042 C	0.057 C	0.030 N
% change from control [b]	19.2	N/A	61.5	119.2	15.4
Ash weight (g)	0.019	0.017	0.027 C	0.035 C	0.019 N
% change from control [b]	11.8	N/A	58.8	105.9	11.8

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Biomechanical Testing					
Femur, Right - 3-Point Bending					
Peak Load (N)	1321.8	1264.7	1251.1	1523.9 B	1469.7 A
% change from control [b]	4.5	N/A	-1.1	20.5	16.2
Ultimate Stress (MPa)	221.09	213.51	220.21	232.65	213.76 K
% change from control [b]	3.6	N/A	3.1	9.0	0.1
Stiffness (N/mm)	1176	1096	1039	1325 C	1227
% change from control [b]	7.3	N/A	-5.2	20.9	12.0
Modulus (MPa)	9356	8704	8852	9421	8160 K
% change from control [b]	7.5	N/A	1.7	8.2	-6.3
AUC (N-mm)	3205	3679	4009	4544	4798 A
% change from control [b]	-12.9	N/A	9.0	23.5	30.4
Femur, Right - Femoral Neck Shear					
Peak Load (N)	1647.4 A	1385.0	1569.7	2118.9 C	1646.3 AN
% change from control [b]	18.9	N/A	13.3	53.0	18.9
Stiffness (N/mm)	1604	1473	1624	1984 C	1639 M
% change from control [b]	8.9	N/A	10.3	34.7	11.3
AUC (N-mm)	2486	2114	3118	3660 B	2548 K
% change from control [b]	17.6	N/A	47.5	73.1	20.5

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Biomechanical Testing					
L3+L4 Vertebral Bodies - Compression					
Peak Load (N)	2787.8	2210.2	3571.0 B	5101.1 C	2784.5 N
% change from control [b]	26.1	N/A	61.6	130.8	26.0
Apparent Strength (MPa)	22.82	19.14	30.29 C	43.55 C	22.18 N
% change from control [b]	19.2	N/A	58.3	127.5	15.9
Yield Load (N)	2564.6	1990.4	3367.2 C	4651.3 C	2466.4 N
% change from control [b]	28.8	N/A	69.2	133.7	23.9
Yield Stress (MPa)	21.01	17.21	28.55 C	39.72 C	19.62 N
% change from control [b]	22.1	N/A	65.9	130.8	14.0
Stiffness (N/mm)	13969	11669	16659 C	21238 C	13137 N
% change from control [b]	19.7	N/A	42.8	82.0	12.6
Modulus (MPa)	860	745	1055	1349 C	765 N
% change from control [b]	15.4	N/A	41.6	81.1	2.7
AUC (N-mm)	723	565	966 B	1448 C	732 n
% change from control [b]	28.0	N/A	71.0	156.3	29.6
Toughness (MPa)	0.79	0.66	1.10 B	1.65 C	0.79 n
% change from control [b]	19.7	N/A	66.7	150.0	19.7

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Biomechanical Testing					
L5+L6 Vertebral Cores - Compression					
Peak Load (N)	197.12	158.67	303.43 C	405.54 C	170.22 N
% change from control [b]	24.2	N/A	91.2	155.6	7.3
Apparent Strength (MPa)	8.75	7.07	13.41 C	18.08 C	7.56 N
% change from control [b]	23.8	N/A	89.7	155.7	6.9
Yield Load (N)	169.99	140.54	267.34 C	343.16 C	149.34 N
% change from control [b]	21.0	N/A	90.2	144.2	6.3
Yield Stress (MPa)	7.55	6.26	11.81 C	15.30 C	6.63 N
% change from control [b]	20.6	N/A	88.7	144.4	5.9
Stiffness (N/mm)	1054	962	1714 C	1865 C	1076 N
% change from control [b]	9.6	N/A	78.2	93.9	11.9
Modulus (MPa)	169	154	270 C	321 C	171 N
% change from control [b]	9.7	N/A	75.3	108.4	11.0
AUC (N-mm)	36	27	54 C	81 C	28 N
% change from control [b]	33.3	N/A	100.0	200.0	3.7
Toughness (MPa)	0.44	0.33	0.67 C	0.93 C	0.34 N
% change from control [b]	33.3	N/A	103.0	181.8	3.0

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histomorphometry					
Ilium – Cancellous Bone - BV/TV (%)					
Week 13	25.7	19.9	36.1 C	34.7 C	32.0 B
% change from control [b]	29.1	N/A	81.4	74.4	60.8
Week 27	22.4	18.1	38.7 C	43.0 C	38.6 C
% change from control [b]	23.8	N/A	113.8	137.6	113.3
Ilium – Cancellous Bone - Md.V/TV (%)					
Week 13	24.7	18.8	32.4 B	31.4 C	29.2 B
% change from control [b]	31.4	N/A	72.3	67.0	55.3
Week 27	21.8	17.2	36.7 C	40.9 C	37.0 C
% change from control [b]	26.7	N/A	113.4	137.8	115.1
Ilium – Cancellous Bone - OV/BV (%)					
Week 13	4.01	5.65	10.61	9.51 C	9.09 C
% change from control [b]	-29.0	N/A	87.8	68.3	60.9
Week 27	2.89 A	4.88	4.97	4.75	4.65
% change from control [b]	-40.8	N/A	1.8	-2.7	-4.7
Ilium – Cancellous Bone - Tb.Th (µm)					
Week 13	126	106	152 B	162 C	162 C
% change from control [b]	18.9	N/A	43.4	52.8	52.8
Week 27	133	114	180 C	205 C	189 C
% change from control [b]	16.7	N/A	57.9	79.8	65.8

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histomorphometry					
Ilium – Cancellous Bone - Tb.Sp (µm)					
Week 13	381	458	274 B	325 A	385
% change from control [b]	-16.8	N/A	-40.2	-29.0	-15.9
Week 27	496	662	302 A	282 B	344 A
% change from control [b]	-25.1	N/A	-54.4	-57.4	-48.0
Ilium – Cancellous Bone - Tb.N (mm^{-1})					
Week 27	1.68	1.49	2.14 A	2.13 C	2.01 B
% change from control [b]	12.8	N/A	43.6	43.0	34.9
Ilium – Cancellous Bone - OS/BS (%)					
Week 13	30.8	41.8	67.4 B	75.2 C	76.0 C
% change from control [b]	-26.3	N/A	61.2	79.9	81.8
Week 27	25.4 A	38.0	49.8	57.7 C	55.7 B
% change from control [b]	-33.2	N/A	31.1	51.8	46.6
Ilium – Cancellous Bone – Ob.S/BS (%)					
Week 13	11.2 A	19.5	30.5 A	32.9 C	33.5 C
% change from control [b]	-42.6	N/A	56.4	68.7	71.8
Ilium – Cancellous Bone – ES/BS (%)					
Week 13	18.7	19.8	15.8	10.4 C	10.9 C
% change from control [b]	-5.6	N/A	-20.2	-47.5	-44.9

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histomorphometry					
Ilium – Cancellous Bone – W.Th (µm)					
Week 13	31.8	30.3	32.8	33.7	38.3 C
% change from control [b]	5.0	N/A	8.3	11.2	26.4
Ilium – Cancellous Bone – MS/BS (%)					
Week 13	23.9	35.5	59.1 C	71.0 C	73.3 C
% change from control [b]	-32.7	N/A	66.5	100.0	106.5
Ilium – Cancellous Bone - dLS/BS (%)					
Week 13	16.2 A	26.6	47.2 B	61.9 C	65.7 C
% change from control [b]	-39.1	N/A	77.4	132.7	147.0
Week 27	13.7 B	27.1	33.5	48.4 C	44.4 C
% change from control [b]	-49.4	N/A	23.6	78.6	63.8
Ilium – Cancellous Bone – MAR (µm/d)					
Week 13	0.69	0.73	0.74	0.77	0.85 AK
% change from control [b]	-5.5	N/A	1.4	5.5	16.4
Ilium – Cancellous Bone – Aj.AR (µm/d)					
Week 13	0.52	0.59	0.65	0.72	0.81 C
% change from control [b]	-11.9	N/A	10.2	22.0	37.3

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histomorphometry					
Ilium – Cancellous Bone - BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)					
Week 13	61.6	93.6	157.6 B	198.8 C	227.6 C
% change from control [b]	-34.2	N/A	68.4	112.4	143.2
Week 27	59.3 A	91.7	127.1	154.3 C	134.1 B
% change from control [b]	-35.3	N/A	38.6	68.3	46.2
Ilium – Cancellous Bone - BFR/BV (%/yr)					
Week 13	95.6 C	181.2	211.4	248.7 B	285.5 CK
% change from control [b]	-47.2	N/A	16.7	37.3	57.6
Week 27	90.8 C	164.6	142.7	153.9	145.2
% change from control [b]	-44.8	N/A	-13.3	-6.5	-11.8
Ilium – Cancellous Bone – Ac.f (yr^{-1})					
Week 13	1.85 A	3.01	4.65 A	5.95 C	6.12 C
% change from control [b]	-38.5	N/A	54.5	97.7	103.3
Ilium – Cancellous Bone - Fo.S/BS (%)					
Week 13	31.6	44.4	71.0 C	80.0 C	81.0 C
% change from control [b]	-28.8	N/A	59.9	80.2	82.4
Week 27	43.3	54.4	67.7 A	76.5 C	72.8 C
% change from control [b]	-20.4	N/A	24.4	40.6	33.8

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histomorphometry					
Ilium – Cancellous Bone - QS/BS (%)					
Week 13	49.6	35.9	13.2 C	9.6 C	8.1 C
% change from control [b]	38.2	N/A	-63.2	-73.3	-77.4
Week 27	43.0	30.0	16.1 A	8.4 C	13.2 B
% change from control [b]	43.3	N/A	-46.3	-72.0	-56.0
Ilium – Cortical Bone - Ps.sL.Pm/Ps.Pm (%)					
Week 13	11.5	11.7	26.9 A	27.7 B	22.6 A
% change from control [b]	-1.7	N/A	129.9	136.8	93.2
Week 27	10.5 A	19.4	23.2	28.7	33.2 B
% change from control [b]	-45.9	N/A	19.6	47.9	71.1
Ilium – Cortical Bone - Ps.dL.Pm/Ps.Pm (%)					
Week 13	2.1	4.1	12.2	37.8 C	42.3 C
% change from control [b]	-48.8	N/A	197.6	822.0	931.7
Week 27	1.4 A	7.4	14.0	22.9 A	27.1 B
% change from control [b]	-81.1	N/A	89.2	209.5	266.2
Ilium – Cortical Bone - Ps.L.Pm/Ps.Pm (%)					
Week 13	7.9	9.9	25.7	51.6 C	53.6 C
% change from control [b]	-20.2	N/A	159.6	421.2	441.4

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histomorphometry					
Ilium – Cortical Bone - Ps.L.Pm/Ps.Pm (%)					
Week 27	6.7 B	17.1	25.6	37.2 B	43.7 C
% change from control [b]	-60.8	N/A	49.7	117.5	155.6
Ilium – Cortical Bone – Ec.sL.Pm/Ec.Pm (%)					
Week 13	13.9	17.9	16.5	12.5 B	10.0 C
% change from control [b]	-22.3	N/A	-7.8	-30.2	-44.1
Ilium – Cortical Bone - Ec.dL.Pm/Ec.Pm (%)					
Week 13	16.4 C	38.3	61.9 C	66.7 C	70.0 C
% change from control [b]	-57.2	N/A	61.6	74.2	82.8
Week 27	17.1 C	35.4	39.4	55.8 C	58.7 C
% change from control [b]	-51.7	N/A	11.3	57.6	65.8
Ilium – Cortical Bone - Ec.L.Pm/Ec.Pm (%)					
Week 13	23.3 C	47.2	70.2 C	73.0 C	75.0 C
% change from control [b]	-50.6	N/A	48.7	54.7	58.9
Week 27	33.2 C	48.3	56.2	67.7 C	68.4 C
% change from control [b]	-31.3	N/A	16.4	40.2	41.6

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histomorphometry					
Rib - Cortical Bone – Tt.T.Ar (mm^2)					
Week 27	7.45	6.92	6.54	7.36	8.27 A
% change from control [b]	7.7	N/A	-5.5	6.4	19.5
Rib - Cortical Bone – Ct.Ar (mm^2)					
Week 13	4.58	4.61	4.93	5.46 A	5.51 B
% change from control [b]	-0.7	N/A	6.9	18.4	19.5
Week 27	4.53	4.42	4.99	5.82 C	6.23 C
% change from control [b]	2.5	N/A	12.9	31.7	41.0
Rib - Cortical Bone – Me.Ar (mm^2)					
Week 27	2.92	2.51	1.55	1.54 A	2.04
% change from control [b]	16.3	N/A	-38.2	-38.6	-18.7
Rib - Cortical Bone – % Ct.Ar (%)					
Week 27	61.9	65.2	77.2 A	79.4 C	75.9 A
% change from control [b]	-5.1	N/A	18.4	21.8	16.4
Rib - Cortical Bone – % Me.Ar (%)					
Week 27	38.1	34.8	22.8 A	20.6 C	24.1 A
% change from control [b]	9.5	N/A	-34.5	-40.8	-30.7
Rib - Cortical Bone – Ct.Wi (mm)					
Week 13	0.52	0.54	0.61	0.64 A	0.65 B
% change from control [b]	-3.7	N/A	13.0	18.5	20.4

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histomorphometry					
Rib - Cortical Bone – Ct.Wi (mm)					
Week 27	0.50	0.52	0.65	0.71 B	0.70 C
% change from control [b]	-3.8	N/A	25.0	36.5	34.6
Rib - Cortical Bone – Ec.E.Pm/Ec.Pm (%)					
Week 13	4.0	7.9	0.9 B	1.9 B	1.2 B
% change from control [b]	-49.4	N/A	-88.6	-75.9	-84.8
Week 27	4.0	4.8	3.9	1.8 A	1.3 B
% change from control [b]	-16.7	N/A	-18.8	-62.5	-72.9
Rib - Cortical Bone – % Po.Ar (%)					
Week 27	2.48 C	4.36	6.11	4.57	5.90 AK
% change from control [b]	-43.1	N/A	40.1	4.8	35.3
Rib - Cortical Bone – Ps.sL.Pm/Ps.Pm (%)					
Week 13	3.8	3.0	22.4	22.0 C	38.4 CM
% change from control [b]	26.7	N/A	646.7	633.3	1180.0
Week 27	11.4	10.7	19.2 A	25.3 A	28.9 B
% change from control [b]	6.5	N/A	79.4	136.4	170.1
Rib - Cortical Bone – Ps.dL.Pm/Ps.Pm (%)					
Week 13	0.1	0.9	6.6	7.2 A	8.8 B
% change from control [b]	-88.9	N/A	633.3	700.0	877.8

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histomorphometry					
Rib - Cortical Bone – Ps.dL.Pm/Ps.Pm (%)					
Week 27	3.3	1.6	3.9	12.7 A	12.2 B
% change from control [b]	106.3	N/A	143.8	693.8	662.5
Rib - Cortical Bone – Ps.L.Pm/Ps.Pm (%)					
Week 13	2.0	2.3	17.9	18.2 C	28.0 CK
% change from control [b]	-13.0	N/A	678.3	691.3	1117.4
Week 27	9.0	6.9	13.5	25.4 B	26.6 C
% change from control [b]	30.4	N/A	95.7	268.1	285.5
Rib - Cortical Bone – Ps.MAR (µm/day)					
Week 13	0.23	0.41	0.46	0.55	0.72 A
% change from control [b]	-43.9	N/A	12.2	34.1	75.6
Week 27	0.39	0.46	0.35	0.71 A	0.61
% change from control [b]	-15.2	N/A	-23.9	54.3	32.6
Rib - Cortical Bone – Ps.BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)					
Week 13	2.3	6.9	39.5	46.4 B	77.8 CK
% change from control [b]	-66.7	N/A	472.5	572.5	1027.5
Week 27	21.4	16.4	21.0	69.8 B	65.6 B
% change from control [b]	30.5	N/A	28.0	325.6	300.0

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histomorphometry					
Rib - Cortical Bone – Ec.dL.Pm/Ec.Pm (%)					
Week 13	9.4	16.9	33.5	47.8 C	58.6 C
% change from control [b]	-44.4	N/A	98.2	182.8	246.7
Rib - Cortical Bone – Ec.L.Pm/Ec.Pm (%)					
Week 13	13.8	22.6	42.0	53.9 C	65.1 C
% change from control [b]	-38.9	N/A	85.8	138.5	188.1
Rib - Cortical Bone – Ec.MAR (μm/day)					
Week 13	0.68 C	0.96	0.82	0.94	0.99
% change from control [b]	-29.2	N/A	-14.6	-2.1	3.1
Rib - Cortical Bone – Ec.BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)					
Week 13	43.2	78.0	132.2	192.6 C	238.1 C
% change from control [b]	-44.6	N/A	69.5	146.9	205.3
Rib - Cortical Bone – Ec.Q.Pm/Ec.Pm (%)					
Week 13	77.9	63.9	48.6	38.1 C	27.2 C
% change from control [b]	21.9	N/A	-23.9	-40.4	-57.4
Rib - Cortical Bone – Ec.Fo.Pm/Ec.Pm (%)					
Week 13	18.2	28.2	50.5 A	60.0 C	71.6 C
% change from control [b]	-35.5	N/A	79.1	112.8	153.9

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histomorphometry					
Rib - Cortical Bone – H.sL.Pm/H.Pm (%)					
Week 27	13.9 C	23.6	24.3	25.3	24.8
% change from control [b]	-41.1	N/A	3.0	7.2	5.1
Rib - Cortical Bone – H.dL.Pm/H.Pm (%)					
Week 13	7.7 C	22.3	30.0	21.7	19.1
% change from control [b]	-65.5	N/A	34.5	-2.7	-14.3
Week 27	9.9 C	28.3	28.0	35.3	38.8 A
% change from control [b]	-65.0	N/A	-1.1	24.7	37.1
Rib - Cortical Bone – H.L.Pm/H.Pm (%)					
Week 13	12.2 C	29.1	40.2	29.7	26.7
% change from control [b]	-58.1	N/A	38.1	2.1	-8.2
Week 27	16.9 C	40.2	40.2	47.9	51.2 A
% change from control [b]	-58.0	N/A	0.0	19.2	27.4
Rib - Cortical Bone – H.MAR (µm/day)					
Week 13	0.82 C	1.12	1.18	1.20	1.27
% change from control [b]	-26.8	N/A	5.4	7.1	13.4
Week 27	0.89 B	1.07	1.09	1.16	1.14
% change from control [b]	-16.8	N/A	1.9	8.4	6.5

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histomorphometry					
Rib - Cortical Bone – H.BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)					
Week 13	42.9 C	119.0	176.4 A	134.3	125.3
% change from control [b]	-63.9	N/A	48.2	12.9	5.3
Week 27	56.8 C	158.9	161.1	203.7	213.4 A
% change from control [b]	-64.3	N/A	1.4	28.2	34.3
Rib - Cortical Bone – H.BFR/BV (%/yr)					
Week 13	9.7 C	30.5	48.6 A	29.9	31.4
% change from control [b]	-68.2	N/A	59.3	-2.0	3.0
Week 27	11.3 C	37.9	45.4	45.7	54.4 A
% change from control [b]	-70.2	N/A	19.8	20.6	43.5
L2 – Cancellous Bone – Week 52					
BV/TV (%)	30.0	26.3	39.6 C	52.7 C	28.3 N
% change from control [b]	14.1	N/A	50.6	100.4	7.6
Md.V/TV (%)	29.4	25.6	38.7 C	51.6 C	27.5 N
% change from control [b]	14.8	N/A	51.2	101.6	7.4
OV/BV (%)	2.23	2.89	2.46	2.07	2.97 K
% change from control [b]	-22.8	N/A	-14.9	-28.4	2.8
Tb.Th (μm)	122	111	156 B	206 C	118 N
% change from control [b]	9.9	N/A	40.5	85.6	6.3

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histomorphometry					
L2 – Cancellous Bone – Week 52					
Tb.Sp (µm)	289	309	237 A	190 C	303 N
% change from control [b]	-6.5	N/A	-23.3	-38.5	-1.9
Ob.S/BS (%)	10.8	16.4	10.9	12.5	21.1 K
% change from control [b]	-34.1	N/A	-33.5	-23.8	28.7
W.Th (µm)	31.1	32.3	36.4	38.6 B	38.0 A
% change from control [b]	-3.7	N/A	12.7	19.5	17.6
Aj.AR (µm/d)	0.59	0.53	0.74 B	0.67	0.63
% change from control [b]	11.3	N/A	39.6	26.4	18.9
BFR/BV (%/yr)	73.8	91.5	93.5	69.2	115.8 M
% change from control [b]	-19.3	N/A	2.2	-24.4	26.6
L2 – Cortical Bone – Week 52					
Ps.sL.Pm/Ps.Pm (%)	5.4 A	14.3	14.8	21.4	7.5 N
% change from control [b]	-62.2	N/A	3.5	49.7	-47.6
Ps.L.Pm/Ps.Pm (%)	5.7 A	13.5	16.8	26.1	11.4 M
% change from control [b]	-57.8	N/A	24.4	93.3	-15.6
Femoral Neck – Cancellous Bone – Week 52					
BV/TV (%)	16.5	14.2	21.1	27.0 B	21.3 A
% change from control [b]	16.2	N/A	48.6	90.1	50.0

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histomorphometry					
Femoral Neck – Cancellous Bone – Week 52					
Md.V/TV (%)	16.2	13.8	20.4	26.4 B	20.9 A
% change from control [b]	17.4	N/A	47.8	91.3	51.4
Tb.Th (µm)	152	143	170	238 C	163 m
% change from control [b]	6.3	N/A	18.9	66.4	14.0
O.Th (µm)	6.8	7.4	8.4	6.8	8.2 K
% change from control [b]	-8.1	N/A	13.5	-8.1	10.8
OS/BS (%)	16.8	27.7	32.0	33.7	20.7 m
% change from control [b]	-39.4	N/A	15.5	21.7	-25.3
Oc.S/BS (%)	0.69	0.69	0.70	0.73	1.36 Ak
% change from control [b]	0.0	N/A	1.4	5.8	97.1
ES/BS (%)	4.1	5.0	5.3	4.0	8.9 Am
% change from control [b]	-18.0	N/A	6.0	-20.0	78.0
W.Th (µm)	23.0 B	30.7	35.5	51.7 B	57.0 B
% change from control [b]	-25.1	N/A	15.6	68.4	85.7
MS/BS (%)	13.3	19.7	28.0	28.0	15.9 k
% change from control [b]	-32.5	N/A	42.1	42.1	-19.3
sLS/BS (%)	13.6	18.8	21.5	21.7	13.0 M
% change from control [b]	-27.7	N/A	14.4	15.4	-30.9

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histomorphometry					
Femoral Neck – Cancellous Bone – Week 52					
BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)	28.5	48.5	74.3	73.7	43.8 k
% change from control [b]	-41.2	N/A	53.2	52.0	-9.7
Ac.f (yr^{-1})	1.22	1.53	1.91	1.69	0.81 k
% change from control [b]	-20.3	N/A	24.8	10.5	-47.1
Fo.S/BS (%)	20.1	29.1	38.8	38.9	22.4 k
% change from control [b]	-30.9	N/A	33.3	33.7	-23.0
Femur, Left – Diaphysis - Cortical Bone – Week 52					
Ct.Ar (mm^2)	45.41	45.40	47.41	50.93 B	50.04 A
% change from control [b]	0.0	N/A	4.4	12.2	10.2
Me.Ar (mm^2)	23.37	22.60	18.49	18.05	21.93 K
% change from control [b]	3.4	N/A	-18.2	-20.1	-3.0
% Ct.Ar (%)	66.5	67.1	72.7	74.0 B	69.7 K
% change from control [b]	-0.9	N/A	8.3	10.3	3.9
% Me.Ar (%)	33.5	32.9	27.3	26.0 B	30.3 K
% change from control [b]	1.8	N/A	-17.0	-21.0	-7.9
Ct.Wi (mm)	1.95	1.97	2.17	2.29 C	2.14
% change from control [b]	-1.0	N/A	10.2	16.2	8.6

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histomorphometry					
Femur, Left – Diaphysis - Cortical Bone - Week 52					
Ec.E.Pm/Ec.Pm (%)	0.4 B	9.1	0.3 B	0.2 B	0.8 B
% change from control [b]	-95.6	N/A	-96.7	-97.8	-91.2
% Po.Ar (%)	1.76 B	2.73	3.00	2.56	2.96
% change from control [b]	-35.5	N/A	9.9	-6.2	8.4
Ps.sL.Pm/Ps.Pm (%)	2.9	4.3	8.9	20.2 A	2.9
% change from control [b]	-32.6	N/A	107.0	369.8	-32.6
Ps.dL.Pm/Ps.Pm (%)	0.9	0.8	5.4	14.2 B	0.8 k
% change from control [b]	12.5	N/A	575.0	1675.0	0.0
Ps.L.Pm/Ps.Pm (%)	2.4	2.9	9.9	24.3 B	2.3
% change from control [b]	-17.2	N/A	241.4	737.9	-20.7
Ps.BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)	5.7	6.3	30.8	70.6 B	5.3
% change from control [b]	-9.5	N/A	388.9	1020.6	-15.9
Ec.sL.Pm/Ec.Pm (%)	4.6 C	19.4	17.4	16.6	0.9 Cn
% change from control [b]	-76.3	N/A	-10.3	-14.4	-95.4
Ec.dL.Pm/Ec.Pm (%)	1.7 C	11.9	13.7	13.6	0.3 Cm
% change from control [b]	-85.7	N/A	15.1	14.3	-97.5
Ec.L.Pm/Ec.Pm (%)	4.0 C	21.6	22.4	21.9	0.8 Cn
% change from control [b]	-81.5	N/A	3.7	1.4	-96.3

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histomorphometry					
Femur, Left – Diaphysis - Cortical Bone - Week 52					
Ec.MAR (µm/day)	0.51 B	0.89	0.81	0.53 C	0.39 C
% change from control [b]	-42.7	N/A	-9.0	-40.4	-56.2
Ec.BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)	9.7 C	68.9	65.2	54.5	1.8 Cn
% change from control [b]	-85.9	N/A	-5.4	-20.9	-97.4
Ec.Q.Pm/Ec.Pm (%)	93.3 C	59.6	68.6	69.6	98.0 Cn
% change from control [b]	56.5	N/A	15.1	16.8	64.4
Ec.Fo.Pm/Ec.Pm (%)	6.3 C	31.3	31.1	30.2	1.2 Cn
% change from control [b]	-79.9	N/A	-0.6	-3.5	-96.2
H.sL.Pm/H.Pm (%)	4.5 C	12.0	14.0	13.1	11.7
% change from control [b]	-62.5	N/A	16.7	9.2	-2.5
H.dL.Pm/H.Pm (%)	1.5 C	10.2	10.6	7.4	8.4
% change from control [b]	-85.3	N/A	3.9	-27.5	-17.6
H.L.Pm/H.Pm (%)	3.8 C	16.2	17.6	14.0	14.2
% change from control [b]	-76.5	N/A	8.6	-13.6	-12.3
H.MAR (µm/day)	0.79 C	1.25	1.17	1.20	1.22
% change from control [b]	-36.8	N/A	-6.4	-4.0	-2.4
H.BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)	12.8 C	74.5	76.4	61.9	64.6
% change from control [b]	-82.8	N/A	2.6	-16.9	-13.3

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histomorphometry					
Femur, Left – Diaphysis - Cortical Bone - Week 52					
H.BFR/BV (%/yr)	2.4 C	16.3	17.7	14.0	15.0
% change from control [b]	-85.3	N/A	8.6	-14.1	-8.0
9th Rib –Cortical Bone - Week 52					
Ct.Ar (mm^2)	4.18	4.02	5.32 A	6.42 C	5.16 BM
% change from control [b]	4.0	N/A	32.3	59.7	28.4
Me.Ar (mm^2)	2.55	2.76	1.75	1.73 B	2.31
% change from control [b]	-7.6	N/A	-36.6	-37.3	-16.3
% Ct.Ar (%)	63.0	60.2	75.7 B	79.3 C	69.3 AM
% change from control [b]	4.7	N/A	25.7	31.7	15.1
% Me.Ar (%)	37.0	39.8	24.3 B	20.7 C	30.7 AM
% change from control [b]	-7.0	N/A	-38.9	-48.0	-22.9
Ct.Wi (mm)	0.45	0.42	0.54 B	0.67 C	0.54 BM
% change from control [b]	7.1	N/A	28.6	59.5	28.6
Ps.Pm (mm)	11.75	12.08	13.19	13.37 A	12.43
% change from control [b]	-2.7	N/A	9.2	10.7	2.9
Ec.E.Pm/Ec.Pm (%)	2.8	2.5	2.1	1.6	8.2 An
% change from control [b]	12.0	N/A	-16.0	-36.0	228.0

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験 : 重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histomorphometry					
9th Rib –Cortical Bone - Week 52					
Ps.sL.Pm/Ps.Pm (%)	7.1	4.6	7.8	17.8 B	1.7 n
% change from control [b]	54.3	N/A	69.6	287.0	-63.0
Ps.dL.Pm/Ps.Pm (%)	1.0	0.6	1.3	1.6	0.1 m
% change from control [b]	66.7	N/A	116.7	166.7	-83.3
Ps.L.Pm/Ps.Pm (%)	4.5	2.9	5.2	10.5 B	0.9 n
% change from control [b]	55.2	N/A	79.3	262.1	-69.0
Ps.MAR (µm/day)	0.36	0.32	0.30	0.41	0.24 m
% change from control [b]	12.5	N/A	-6.3	28.1	-25.0
Ps.BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)	7.7	4.7	7.5	17.7 A	1.0 n
% change from control [b]	63.8	N/A	59.6	276.6	-78.7
Ec.sL.Pm/Ec.Pm (%)	8.4	12.1	14.9	13.9	7.7 k
% change from control [b]	-30.6	N/A	23.1	14.9	-36.4
Ec.dL.Pm/Ec.Pm (%)	4.0 A	7.9	12.7	9.0	11.7
% change from control [b]	-49.4	N/A	60.8	13.9	48.1
Ec.L.Pm/Ec.Pm (%)	8.2 A	14.0	20.1	16.0	15.6
% change from control [b]	-41.4	N/A	43.6	14.3	11.4
Ec.MAR (µm/day)	0.58	0.67	0.73	0.62	0.78 k
% change from control [b]	-13.4	N/A	9.0	-7.5	16.4

Footnotes are on the last page of the table.

表 3C　効力を裏付ける試験：重要な試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Primary Pharmacodynamics					Amgen Study No. 107903
Dose (mg/kg)	0 (Sham)	0 (OVX)	3 (OVX)	30 (OVX)	30 (OVX)
Number of Animals [a]	16	16	6	15	14
Histomorphometry					
9th Rib –Cortical Bone - Week 52					
Ec.BFR/BS (µm3/µm2/yr)	18.4 A	33.3	51.8	40.0	46.8
% change from control [b]	-44.7	N/A	55.6	20.1	40.5
H.sL.Pm/H.Pm (%)	13.6 B	22.4	16.9	20.6	23.8
% change from control [b]	-39.3	N/A	-24.6	-8.0	6.3
H.dL.Pm/H.Pm (%)	11.7 B	24.0	20.2	27.0	29.4
% change from control [b]	-51.3	N/A	-15.8	12.5	22.5
H.L.Pm/H.Pm (%)	18.5 B	35.3	28.6	37.3	41.3
% change from control [b]	-47.6	N/A	-19.0	5.7	17.0
H.MAR (µm/day)	0.78 A	0.88	0.89	0.92	0.86
% change from control [b]	-11.4	N/A	1.1	4.5	-2.3
H.BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2$/yr)	54.7 C	113.7	94.3	128.2	130.6
% change from control [b]	-51.9	N/A	-17.1	12.8	14.9
H.BFR/BV (%/yr)	11.7 A	22.9	20.5	23.7	28.0
% change from control [b]	-48.9	N/A	-10.5	3.5	22.3

AUC_{0-t} = area under the serum drug concentration-time curve from time zero to the time after dosing at which the last quantifiable concentration of the drug was observed estimated by the linear or linear/log trapezoidal method; BMC = bone mineral content; BMD = bone mineral density; BQL=below quantitative level; BV/TV = relative bone volume; C_{max} = maximum observed concentration; Ct.Th = cortical thickness; CTx = C-telopeptides of type I collagen; DA = degree of anisotropy; DKK1 = Dickkopf·related protein 1; DXA = dual energy X-ray absorptiometry; ES/BS = eroded surface; FGF23 = fibroblast growth factor 23; HA = hydroxyapatite; L1 to L6 = 1st to 6th lumbar vertebrae; N/A = not applicable; NTx = N-telopeptides of type I collagen; OVX = ovariectomized; PTH = parathyroid hormone; PINP = N-terminal propetide of type 1 procollagen; pQCT = peripheral quantitative computed tomography; SMI = structure model index; ; T9 = 9th thoracic vertebrae; T12 = 12th thoracic vertebrae; Tb.N = trabecular number; Tb.Th = trabecular thickness; Tb.Sp = trabecular separation; vBMD = volumetric bone mineral density. - No noteworthy findings.

Statistics: Significantly different from control group (group 2) value: A - $P \leq 0.05$ B - $P \leq 0.01$ C - $P \leq 0.001$ (Dunnett).
D - $P \leq 0.05$ E - $P \leq 0.01$ F - $P \leq 0.001$ (Dunn)

Group 5 significantly different from group 4 value: K - $P \leq 0.05$ M - $P \leq 0.01$ N - $P \leq 0.001$ (adjusted *t*-test)
k - $P \leq 0.05$ m - $P \leq 0.01$ n - $P \leq 0.001$ (Wilcoxon)

[a] Group 5 animals were dosed for 26 weeks followed by a 26-week recovery period.

[b] Group 2 was the control group.

[c] For controls (group 2), group means are shown. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences)

[d] Incidence is presented.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ

	Report Title: A 6 Month Subcutaneous Pharmacodynamic Study in the	
Repeated-dose Toxicity	Aged Ovariectomized Cynomolgus Monkey	Test Item: AMG 785
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus	Duration of Dosing: weekly for 26 weeks	Amgen Study No. 118025
Initial Age: 9 to 16 years old	Duration of Postdose: N/A	[redacted] Study No. 6700112
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: Subcutaneous injection	
	Vehicle/Formulation: AMG 785 Placebo: 55mM acetate, 13mM calcium, 6% sucrose, 0.006% polysorbate 20, pH 5.2	GLP Compliance: Yes

Special Features: Densitometry, Biomechanics, Histomorphometry, Finite Element Analysis. Study design was 12 and 32 females/group, respectively. A total of 13 animals were excluded from the study for Group 2, including 11 animals which developed ADA (9 at week 12, 2 at week 26) and 2 OVX animals with suspected or confirmed ectopic ovarian tissue.
No Observed Adverse Effect Level: N/A

Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Toxicokinetics:		
Serum Concentration (ng/mL)		
Week 12	BQL	14500
Week 26	BQL	13400
Anti-Drug Antibody Positive/Total (%)		
Anti-AMG 785 Binding Antibody Positive	N/A	8/19 (42%)
Anti-AMG 785 Neutralizing Antibody Positive	N/A	0/19 (0%)
Noteworthy Findings		
Died or Euthanized Moribund	0	0
Body Weight	-	-

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Appetence	-	-
Clinical Observations	-	-
Hematology	-	-
Coagulation	-	-
Urine	-	-
Bone Formation Markers		
Bone Alkaline Phosphatase (U/L)		
End of bone depletion	106.59	117.12
% change from control	N/A	9.9
Week 1	113.15	178.12 K
% change from control	N/A	57.4
% change from end of bone depletion	6.2	56.1 L
Week 4	140.71	249.33 L
% change from control	N/A	77.2
% change from end of bone depletion	33.6	123.1 I
Week 7	142.09	233.02 H
% change from control	N/A	64.0
% change from end of bone depletion	37.5	106.0 I
Week 10	137.81	218.36 G
% change from control	N/A	58.5
% change from end of bone depletion	30.9	92.3 I

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Formation Markers		
Bone Alkaline Phosphatase (U/L)		
Week 17	152.75	240.83 H
% change from control	N/A	57.7
% change from end of bone depletion	46.8	115.9 L
Week 24	148.61	212.52 G
% change from control	N/A	43.0
% change from end of bone depletion	43.4	88.5 I
PINP (µg/L)		
End of bone depletion	834.22	830.83
% change from control	N/A	-0.4
Week 1	791.07	1109.7 G
% change from control	N/A	40.3
% change from end of bone depletion	-3.1	37.8 I
Week 4	807.08	1300.0 H
% change from control	N/A	61.1
% change from end of bone depletion	-3.0	64.2 I
Week 7	805.41	1371.4 I
% change from control	N/A	70.3
% change from end of bone depletion	-1.2	73.6 L

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Formation Markers		
PINP (µg/L)		
Week 10	791.65	1266.9 I
% change from control	N/A	60.0
% change from end of bone depletion	-1.9	60.9 I
Week 17	669.0	1038.0 H
% change from control	N/A	55.2
% change from end of bone depletion	-17.8	33.3 L
Week 24	709.10	947.01 G
% change from control	N/A	33.6
% change from end of bone depletion	-12.3	20.9 H
Osteocalcin (ng/mL)		
End of bone depletion	36.411	35.769
% change from control	N/A	-1.8
Week 1	43.933	44.379
% change from control	N/A	1.0
% change from end of bone depletion	20.7	24.8
Week 4	43.470	54.890 G
% change from control	N/A	26.3
% change from end of bone depletion	19.5	55.4 I
Week 7	44.577	57.678 H
% change from control	N/A	29.4
% change from end of bone depletion	22.8	63.7 I

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Formation Markers		
Osteocalcin (ng/mL)		
Week 10	41.406	56.098 K
% change from control	N/A	35.5
% change from end of bone depletion	16.0	60.4 I
Week 17	37.229	46.921 H
% change from control	N/A	26.0
% change from end of bone depletion	2.6	34.5 I
Week 24	38.043	47.425 G
% change from control	N/A	24.7
% change from end of bone depletion	5.6	34.4 H
Bone Resorption Markers		
CTx (ng/mL)		
End of bone depletion	3.6593	3.0075
% change from control	N/A	-17.8
Week 1	3.6968	2.8279 G
% change from control	N/A	-23.5
% change from end of bone depletion	0.5	-6.4
Week 4	4.2464	3.7137
% change from control	N/A	-12.5
% change from end of bone depletion	15.3	25.5

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Resorption Markers		
CTx (ng/mL)		
Week 7	3.8977	3.9832
% change from control	N/A	2.2
% change from end of bone depletion	9.3	35.9 H
Week 10	4.0908	4.4057
% change from control	N/A	7.7
% change from end of bone depletion	14.3	50.0 K
Week 17	3.7658	4.1437
% change from control	N/A	10.0
% change from end of bone depletion	4.4	44.4 K
Week 24	3.0613	3.0231
% change from control	N/A	-1.2
% change from end of bone depletion	-14.3	6.1
Clinical Chemistry		
Calcium (mg/dL)		
End of bone depletion	10.32	10.46
% change from control	N/A	1.4
Week 1	10.43	10.40
% change from control	N/A	-0.3
% change from end of bone depletion	1.1	-0.5

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Clinical Chemistry		
Calcium (mg/dL)		
Week 4	10.37	10.28
% change from control	N/A	-0.9
% change from end of bone depletion	0.5	-1.6
Week 7	9.88	9.83
% change from control	N/A	-0.5
% change from end of bone depletion	-4.2	-6.0
Week 10	10.38	10.19
% change from control	N/A	-1.8
% change from end of bone depletion	0.6	-2.5 J
Week 17	9.97	10.04
% change from control	N/A	0.7
% change from end of bone depletion	-3.4	-4.0
Week 24	10.03	10.09
% change from control	N/A	0.6
% change from end of bone depletion	-2.7	-3.4
Phosphorus (mg/dL)		
End of bone depletion	4.77	4.99
% change from control	N/A	4.6
Week 1	4.81	4.97
% change from control	N/A	3.3
% change from end of bone depletion	1.4	0.2

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Clinical Chemistry		
Phosphorus (mg/dL)		
Week 4	5.44	5.32
% change from control	N/A	-2.2
% change from end of bone depletion	14.7	6.8
Week 7	5.27	5.16
% change from control	N/A	-2.1
% change from end of bone depletion	11.1	3.7
Week 10	5.08	5.10
% change from control	N/A	0.4
% change from end of bone depletion	7.1	2.5
Week 17	5.13	4.98
% change from control	N/A	-2.9
% change from end of bone depletion	8.1	1.0
Week 24	5.04	5.19
% change from control	N/A	3.0
% change from end of bone depletion	6.0	4.4
Hormones		
1,25-Dihydroxy Vitamin D (pmol/L)		
End of bone depletion	469.00	458.76
% change from control	N/A	-2.2

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Hormones		
1,25-Dihydroxy Vitamin D (pmol/L)		
Week 1	535.73	610.87
% change from control	N/A	14.0
% change from end of bone depletion	14.5	34.8 H
Week 4	465.18	681.06 H
% change from control	N/A	46.4
% change from end of bone depletion	-0.3	52.9 I
Week 7	458.12	692.42 I
% change from control	N/A	51.1
% change from end of bone depletion	-0.8	54.4 I
Week 10	523.42	601.66
% change from control	N/A	14.9
% change from end of bone depletion	12.4	34.5 H
Week 17	473.33	619.46
% change from control	N/A	30.9
% change from end of bone depletion	2.3	37.2 K
Week 24	578.60	708.76
% change from control	N/A	22.5
% change from end of bone depletion	25.6	58.8 G
PTH (pg/mL)		
End of bone depletion	101.01	99.88
% change from control	N/A	-1.1

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Hormones		
PTH (pg/mL)		
Week 1	122.52	154.55
% change from control	N/A	26.1
% change from end of bone depletion	28.0	69.3
Week 4	126.31	199.51 H
% change from control	N/A	58.0
% change from end of bone depletion	32.0	119.6 K
Week 7	128.68	215.06 H
% change from control	N/A	67.1
% change from end of bone depletion	34.3	137.8 K
Week 10	160.53	240.86 G
% change from control	N/A	50.0
% change from end of bone depletion	67.4	163.8 H
Week 17	153.09	233.48 G
% change from control	N/A	52.5
% change from end of bone depletion	60.8	156.6 H
Week 24	152.91	202.21
% change from control	N/A	32.2
% change from end of bone depletion	49.0	118.5 K
Radiography	-	-

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - DXA		
Lumbar Spine (L1-L4) – BMC (g)		
End of bone depletion	8.947	8.528
% change from control	N/A	-4.7
% change from end of baseline	-5.7	-3.8
Week 25/26	8.869	9.877 G
% change from control	N/A	11.4
% change from end of bone depletion	-0.9	16.6 L
Lumbar Spine (L1-L4) – BMD (g/cm^2)		
End of bone depletion	0.6909	0.6698
% change from control	N/A	-3.1
% change from end of baseline	-4.6	-3.8
Week 25/26	0.6795	0.7629 I
% change from control	N/A	12.3
% change from end of bone depletion	-1.7	14.2 L
Radius Distal (Total) – BMC (g)		
End of bone depletion	1.441	1.222 H
% change from control	N/A	-15.2
% change from end of baseline	-3.7	-3.3
Week 25/26	1.377	1.200 G
% change from control	N/A	-12.9
% change from end of bone depletion	-4.4	-1.6

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - DXA		
Radius Distal (Total) – BMD (g/cm^2)		
End of bone depletion	0.3617	0.3331 H
% change from control	N/A	-8.5
% change from end of baseline	-2.1	-1.8
Week 25/26	0.3472	0.3253 G
% change from control	N/A	-6.3
% change from end of bone depletion	-4.0	-2.3
Radius Distal (1/3) – BMC (g)		
End of bone depletion	0.663	0.565 H
% change from control	N/A	-14.8
% change from end of baseline	-3.0	-2.4
Week 25/26	0.637	0.551 H
% change from control	N/A	-13.5
% change from end of bone depletion	-3.9	-2.5
Radius Distal (1/3) – BMD (g/cm^2)		
End of bone depletion	0.3874	0.3557 G
% change from control	N/A	-8.2
% change from end of baseline	-1.7	-1.0
Week 25/26	0.3729	0.3453 G
% change from control	N/A	-7.4
% change from end of bone depletion	-3.7	-2.8

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - DXA		
Radius Distal (UD) – BMC (g)		
End of bone depletion	0.511	0.431 H
% change from control	N/A	-15.7
% change from end of baseline	-4.9	-4.7
Week 25/26	0.482	0.426 G
% change from control	N/A	-11.6
% change from end of bone depletion	-5.4	-0.6 G
Radius Distal (UD) – BMD (g/cm^2)		
End of bone depletion	0.3367	0.3105 H
% change from control	N/A	-7.8
% change from end of baseline	-2.8	-2.5
Week 25/26	0.3205	0.3041
% change from control	N/A	-5.1
% change from end of bone depletion	-4.7	-2.1
Bone Densitometry - pQCT		
Proximal Tibia – Metaphysis – Total BMC (mg/mm)		
End of bone depletion	66.333	63.571
% change from control	N/A	-4.2
% change from end of baseline	-9.1	-6.3

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - pQCT		
Proximal Tibia – Metaphysis – Total BMC (mg/mm)		
Week 12/13	64.281	64.325
% change from control	N/A	0.1
% change from end of bone depletion	-3.0	1.2 H
Week 25/26	63.674	66.996
% change from control	N/A	5.2
% change from end of bone depletion	-4.0	5.5 L
Proximal Tibia – Metaphysis – Total BMD (mg/cm^3)		
End of bone depletion	499.46	485.82
% change from control	N/A	-2.7
% change from end of baseline	-6.8	-5.7
Week 12/13	479.03	488.19
% change from control	N/A	1.9
% change from end of bone depletion	-4.0	0.5 K
Week 25/26	475.35	505.45
% change from control	N/A	6.3
% change from end of bone depletion	-4.7	4.1 L
Proximal Tibia – Metaphysis – Trabecular BMC (mg/mm)		
End of bone depletion	11.232	10.738
% change from control	N/A	-4.4
% change from end of baseline	-15.2	-8.1 G

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - pQCT		
Proximal Tibia – Metaphysis – Trabecular BMC (mg/mm)		
Week 12/13	10.281	11.223
% change from control	N/A	9.2
% change from end of bone depletion	-8.3	4.9 H
Week 25/26	9.629	11.854 G
% change from control	N/A	23.1
% change from end of bone depletion	-15.7	11.4 L
Proximal Tibia – Metaphysis – Trabecular BMD (mg/cm^3)		
End of bone depletion	187.44	183.15
% change from control	N/A	-2.3
% change from end of baseline	-13.0	-7.5 G
Week 12/13	169.58	189.85
% change from control	N/A	12.0
% change from end of bone depletion	-9.3	4.1 K
Week 25/26	158.79	199.59 G
% change from control	N/A	25.7
% change from end of bone depletion	-16.5	9.7 L

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - pQCT		
Proximal Tibia – Metaphysis – Cortical/Subcortical BMC (mg/mm)		
End of bone depletion	55.102	52.834
% change from control	N/A	-4.1
% change from end of baseline	-7.8	-5.9
Week 12/13	53.996	53.102
% change from control	N/A	-1.7
% change from end of bone depletion	-1.9	0.6
Week 25/26	54.048	55.141
% change from control	N/A	2.0
% change from end of bone depletion	-1.9	4.5 K
Proximal Tibia – Metaphysis – Cortical/Subcortical BMD (mg/cm^3)		
End of bone depletion	755.14	733.98
% change from control	N/A	-2.8
% change from end of baseline	-5.6	-5.2
Week 12/13	732.67	732.88
% change from control	N/A	0.0
% change from end of bone depletion	-2.9	-0.1 G
Week 25/26	735.13	756.26
% change from control	N/A	2.9
% change from end of bone depletion	-2.5	3.1 K

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - pQCT		
Tibia – Diaphysis – Total Area (mm^2)		
Week 12/13	71.173	69.439
% change from control	N/A	-2.4
% change from end of bone depletion	-0.2	0.5
Week 25/26	70.611	70.025
% change from control	N/A	-0.8
% change from end of bone depletion	-1.0	1.3 H
Tibia – Diaphysis – Cortical Area (mm^2)		
End of bone depletion	43.130	41.341
% change from control	N/A	-4.1
% change from end of baseline	-2.9	-0.6
Week 12/13	42.548	42.262
% change from control	N/A	-0.7
% change from end of bone depletion	-1.2	2.3 G
Week 25/26	42.101	43.687
% change from control	N/A	3.8
% change from end of bone depletion	-2.2	5.8 I
Tibia – Diaphysis – Cortical BMC (mg/mm)		
End of bone depletion	44.398	42.072
% change from control	N/A	-5.2
% change from end of baseline	-5.5	-3.5

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - pQCT		
Tibia – Diaphysis – Cortical BMC (mg/mm)		
Week 12/13	42.379	41.034
% change from control	N/A	-3.2
% change from end of bone depletion	-4.5	-2.3
Week 25/26	41.804	42.561
% change from control	N/A	1.8
% change from end of bone depletion	-5.7	1.5 I
Tibia – Diaphysis – Cortical BMD (mg/cm^3)		
End of bone depletion	1029.75	1017.49
% change from control	N/A	-1.2
% change from end of baseline	-2.8	-2.9
Week 12/13	995.50	971.83
% change from control	N/A	-2.4
% change from end of bone depletion	-3.3	-4.5
Week 25/26	992.89	975.52
% change from control	N/A	-1.7
% change from end of bone depletion	-3.6	-4.1
Tibia – Diaphysis – Cortical Thickness (mm)		
End of bone depletion	1.7764	1.7261
% change from control	N/A	-2.8
% change from end of baseline	-2.7	0.1 G

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - pQCT		
Tibia – Diaphysis – Cortical Thickness (mm)		
Week 12/13	1.7504	1.7757
% change from control	N/A	1.4
% change from end of bone depletion	-1.4	2.8 G
Week 25/26	1.7405	1.8435
% change from control	N/A	5.9
% change from end of bone depletion	-1.9	6.7 I
Tibia – Diaphysis – Periosteal circumference (mm)		
Week 12/13	29.852	29.470
% change from control	N/A	-1.3
% change from end of bone depletion	-0.1	0.2
Week 25/26	29.7297	29.5921
% change from control	N/A	0.5
% change from end of bone depletion	-0.5	0.6 H
Tibia – Diaphysis – Endosteal circumference (mm)		
Week 12/13	18.855	18.313
% change from control	N/A	-2.9
% change from end of bone depletion	0.7	-1.4
Week 25/26	18.794	18.008
% change from control	N/A	-4.2
% change from end of bone depletion	0.3	-3.2 G

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - pQCT		
Distal Radius – Metaphysis – Total Area (mm^2)		
End of bone depletion	66.543	62.821
% change from control	N/A	-5.6
% change from end of baseline	-0.1	-1.8
Week 12/13	64.466	62.730
% change from control	N/A	-2.7
% change from end of bone depletion	-2.9	-0.0 G
Week 25/26	66.093	64.137
% change from control	N/A	-3.0
% change from end of bone depletion	-0.4	2.3
Distal Radius – Metaphysis – Total BMC (mg/mm)		
End of bone depletion	37.644	33.699 G
% change from control	N/A	-10.5
% change from end of baseline	-6.5	-6.0
Week 12/13	35.500	32.552
% change from control	N/A	-8.3
% change from end of bone depletion	-5.7	-3.5
Week 25/26	36.043	33.826
% change from control	N/A	-6.2
% change from end of bone depletion	-4.1	0.5 G

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - pQCT		
Distal Radius – Metaphysis – Total BMD (mg/cm^3)		
End of bone depletion	573.15	543.14
% change from control	N/A	-5.2
% change from end of baseline	-6.4	-4.2
Week 12/13	556.21	524.03
% change from control	N/A	-5.8
% change from end of bone depletion	-2.7	-3.5
Week 25/26	550.18	533.56
% change from control	N/A	-3.0
% change from end of bone depletion	-3.7	-1.9
Distal Radius – Metaphysis – Trabecular BMC (mg/mm)		
End of bone depletion	4.173	3.649
% change from control	N/A	-12.6
% change from end of baseline	-13.0	-9.9
Week 12/13	3.528	3.444
% change from control	N/A	-2.4
% change from end of bone depletion	-16.4	-5.7 G
Week 25/26	3.485	3.605
% change from control	N/A	3.4
% change from end of bone depletion	-17.2	-1.7 H

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - pQCT		
Distal Radius – Metaphysis – Trabecular BMD (mg/cm^3)		
End of bone depletion	179.57	170.44
% change from control	N/A	-5.1
% change from end of baseline	-13.0	-8.2
Week 12/13	156.27	159.86
% change from control	N/A	2.3
% change from end of bone depletion	-14.0	-6.0 G
Week 25/26	150.10	164.51
% change from control	N/A	9.6
% change from end of bone depletion	-17.0	-4.2 H
Distal Radius – Metaphysis – Cortical/Subcortical BMC (mg/mm)		
End of bone depletion	33.472	30.047 G
% change from control	N/A	-10.2
% change from end of baseline	-5.7	-5.4
Week 12/13	31.969	29.109
% change from control	N/A	-8.9
% change from end of bone depletion	-4.5	-3.2
Week 25/26	32.557	30.221
% change from control	N/A	7.2
% change from end of bone depletion	-2.6	0.8

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - pQCT		
Distal Radius – Metaphysis – Cortical/Subcortical BMD (mg/cm^3)		
End of bone depletion	785.34	744.07
% change from control	N/A	-5.3
% change from end of baseline	-5.6	-3.6
Week 12/13	771.98	720.65 G
% change from control	N/A	-6.6
% change from end of bone depletion	-1.5	-3.1
Week 25/26	765.98	732.71
% change from control	N/A	-4.3
% change from end of bone depletion	-2.1	-1.6
Radius – Diaphysis – Total Area (mm^2)		
Week 12/13	34.437	30.339 G
% change from control	N/A	-11.9
% change from end of bone depletion	-1.6	-0.1 H
Week 25/26	34.453	30.594 G
% change from control	N/A	-11.2
% change from end of bone depletion	-1.5	0.7 H
Radius – Diaphysis – Cortical Area (mm^2)		
End of bone depletion	25.370	22.156 H
% change from control	N/A	-12.7
% change from end of baseline	-2.7	-1.8

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - pQCT		
Radius – Diaphysis – Cortical Area (mm^2)		
Week 12/13	24.780	22.107 G
% change from control	N/A	-10.8
% change from end of bone depletion	-2.3	-0.2 I
Week 25/26	24.547	22.286 G
% change from control	N/A	-9.2
% change from end of bone depletion	-3.2	0.7 I
Radius – Diaphysis – Cortical BMC (mg/mm)		
End of bone depletion	28.535	25.032 H
% change from control	N/A	-12.3
% change from end of baseline	-3.3	-2.1
Week 12/13	27.464	24.425 G
% change from control	N/A	-11.1
% change from end of bone depletion	-3.7	-2.4
Week 25/26	27.008	24.368 G
% change from control	N/A	-9.8
% change from end of bone depletion	-5.3	-2.6
Radius – Diaphysis – Cortical BMD (mg/cm^3)		
Week 12/13	1110.6	1104.9
% change from control	N/A	-0.5
% change from end of bone depletion	-1.4	-2.2

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - pQCT		
Radius – Diaphysis – Cortical BMD (mg/cm^3)		
Week 25/26	1101.47	1093.76
% change from control	N/A	-0.7
% change from end of bone depletion	-2.2	-3.2
Radius – Diaphysis – Cortical Thickness (mm)		
Week 12/13	1.5616	1.4974
% change from control	N/A	-4.1
% change from end of bone depletion	-1.9	-0.1 G
Week 25/26	1.5419	1.5034
% change from control	N/A	-2.5
% change from end of bone depletion	-3.1	0.3 G
Radius – Diaphysis – Periosteal circumference (mm)		
Week 12/13	20.744	19.482 G
% change from control	N/A	-6.1
% change from end of bone depletion	-0.8	-0.1 H
Week 25/26	20.7474	19.5645 G
% change from control	N/A	-5.7
% change from end of bone depletion	-0.8	0.4 H

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - pQCT		
Radius – Diaphysis – Endosteal circumference (mm)		
Week 12/13	10.932	10.073
% change from control	N/A	-7.9
% change from end of bone depletion	0.2	-0.1
Week 25/26	11.0596	10.1178
% change from control	N/A	-8.5
% change from end of bone depletion	1.3	0.4
Bone Densitometry - XtremeCT		
Distal Radius – Metaphysis – Total Region – Area (mm^2)		
Week 12/13	65.034	58.623
% change from control	N/A	-9.9
% change from end of bone depletion	-1.1	-0.2
Week 25/26	64.421	58.515
% change from control	N/A	-9.2
% change from end of bone depletion	-1.9	-0.2 G
Distal Radius – Metaphysis – Total Region – Area BMC (mg HA/mm)		
End of bone depletion	32.447	28.018 H
% change from control	N/A	-13.6
Week 12/13	30.552	27.097 G
% change from control	N/A	-11.3
% change from end of bone depletion	-5.7	-3.3

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - XtremeCT		
Distal Radius – Metaphysis – Total Region – Area BMC (mg HA/mm)		
Week 25/26	30.190	27.724
% change from control	N/A	-8.2
% change from end of bone depletion	-6.7	-1.0 H
Distal Radius – Metaphysis – Total Region – Bone Area (mm^2)		
End of bone depletion	33.649	29.364 H
% change from control	N/A	-12.7
Week 12/13	32.174	29.016 G
% change from control	N/A	-9.8
% change from end of bone depletion	-4.3	-1.2 G
Week 25/26	31.891	29.888
% change from control	N/A	-6.3
% change from end of bone depletion	-5.0	1.9 K
Distal Radius – Metaphysis – Trabecular Region – BV/TV (%)		
End of bone depletion	25.169	23.816
% change from control	N/A	-5.4
Week 12/13	22.925	22.583
% change from control	N/A	-1.5
% change from end of bone depletion	-9.0	-4.8

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - XtremeCT		
Distal Radius – Metaphysis – Trabecular Region – BV/TV (%)		
Week 25/26	21.777	22.625
% change from control	N/A	-3.9
% change from end of bone depletion	-13.5	-4.8
Distal Radius – Metaphysis – Cortical Region – vBMD (mg HA/cm^3)		
End of bone depletion	1043.0	1033.8
% change from control	N/A	-0.9
Week 12/13	1021.9	994.74
% change from control	N/A	-2.7
% change from end of bone depletion	-2.0	-3.8 G
Week 25/26	1020.6	990.21 G
% change from control	N/A	-3.0
% change from end of bone depletion	-2.2	-4.2 G
Distal Radius – Metaphysis – Cortical Region – Area (mm^2)		
End of bone depletion	28.545	25.663 G
% change from control	N/A	-10.1
Week 12/13	27.877	25.767
% change from control	N/A	-7.6
% change from end of bone depletion	-2.2	0.4 J

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - XtremeCT		
Distal Radius – Metaphysis – Cortical Region – Area (mm^2)		
Week 25/26	28.186	26.748
% change from control	N/A	-5.1
% change from end of bone depletion	-0.9	4.3 G
Distal Radius – Metaphysis – Cortical Region – Area BMC (mg HA/mm)		
End of bone depletion	29.824	26.518 G
% change from control	N/A	-11.1
Week 12/13	28.528	25.632 G
% change from control	N/A	-10.2
% change from end of bone depletion	-4.2	-3.4
Week 25/26	28.789	26.481
% change from control	N/A	-8.0
% change from end of bone depletion	-3.1	0.0
Distal Radius – Metaphysis – Cortical Region – Tissue BMD (mg HA/cm^3)		
End of bone depletion	1078.1	1066.9
% change from control	N/A	-1.0
Week 12/13	1058.3	1036.8
% change from control	N/A	-2.0
% change from end of bone depletion	-1.9	-2.8

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - XtremeCT		
Distal Radius – Metaphysis – Cortical Region – Tissue BMD (mg HA/cm^3)		
Week 25/26	1051.6	1024.6 G
% change from control	N/A	-2.6
% change from end of bone depletion	-2.5	-3.9 G
Distal Radius – Metaphysis – Cortical Region – Bone Area (mm^2)		
End of bone depletion	24.331	21.653 G
% change from control	N/A	-11.0
Week 12/13	23.651	21.720
% change from control	N/A	-8.2
% change from end of bone depletion	-2.5	0.3
Week 25/26	24.007	22.864
% change from control	N/A	-4.8
% change from end of bone depletion	-0.9	5.7 G
Distal Radius – Diaphysis –Total Area (mm^2)		
End of bone depletion	33.332	29.708
% change from control	N/A	-10.9
Week 12/13	33.086	29.762
% change from control	N/A	-10.0
% change from end of bone depletion	-0.8	0.2 H

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - XtremeCT		
Distal Radius – Diaphysis –Total Area (mm^2)		
Week 25/26	32.988	29.887
% change from control	N/A	-9.4
% change from end of bone depletion	-1.1	0.7 H
Distal Radius – Diaphysis – Cortical Tissue BMD (mg HA/cm^3)		
End of bone depletion	1210.4	1209.6
% change from control	N/A	-0.0
Week 12/13	1189.5	1170.4
% change from control	N/A	-1.6
% change from end of bone depletion	-1.7	-3.2 J
Week 25/26	1174.1	1150.5
% change from control	N/A	-2.0
% change from end of bone depletion	-3.0	-4.9 G
Distal Radius – Diaphysis – Cortical Area BMC (mg HA/mm)		
End of bone depletion	29.008	25.062 H
% change from control	N/A	-13.6
Week 12/13	28.165	24.401 H
% change from control	N/A	-13.4
% change from end of bone depletion	-2.9	-2.6

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry - XtremeCT		
Distal Radius – Diaphysis – Cortical Area BMC (mg HA/mm)		
Week 25/26	27.615	24.282 H
% change from control	N/A	-12.1
% change from end of bone depletion	-4.9	-2.9
Distal Radius – Diaphysis – Cortical Bone Area (mm^2)		
End of bone depletion	24.372	21.152 H
% change from control	N/A	-13.2
Week 12/13	24.052	21.214 G
% change from control	N/A	-11.8
% change from end of bone depletion	-1.3	0.4 K
Week 25/26	23.854	21.439 G
% change from control	N/A	-10.1
% change from end of bone depletion	-2.2	1.5 H
Finite Element		
Distal Radius – Metaphysis – Reaction Force (N)		
End of baseline period	848.08	777.73
% change from control	N/A	-8.3
Week 12/13	793.94	767.31
% change from control	N/A	-3.4
% change from end of baseline	-6.1	-1.2 G

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Finite Element		
Distal Radius – Metaphysis – Reaction Force (N)		
Week 25/26	788.23	808.63
% change from control	N/A	2.6
% change from end of baseline	-6.8	4.3 H
Distal Radius – Metaphysis – Stiffness (N/mm)		
End of baseline period	19980	17765
% change from control	N/A	-11.1
Week 12/13	18579	17501
% change from control	N/A	-5.8
% change from end of baseline	-6.6	-1.4 G
Week 25/26	18653	18462
% change from control	N/A	-1.0
% change from end of baseline	-6.4	4.1 H
Distal Radius – Metaphysis – Yield Load (N)		
End of baseline period	406.49	377.79
% change from control	N/A	-7.1
Week 12/13	380.96	370.94
% change from control	N/A	-2.6
% change from end of baseline	-6.1	-1.6 G
Week 25/26	379.72	391.22
% change from control	N/A	3.0
% change from end of baseline	-6.3	4.0 H

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Morphological Analysis		
Distal Radius – Metaphysis – Total Region – BA.TtAr (mm^2)		
End of baseline period	31.750	27.687 G
% change from control	N/A	-12.8
Week 12/13	30.469	27.866
% change from control	N/A	-8.5
% change from end of baseline	-3.9	1.0
Week 25/26	30.269	28.827
% change from control	N/A	-4.8
% change from end of baseline	-4.5	4.8 H
Distal Radius – Metaphysis – Total Region – TtAr (mm^2)		
End of baseline period	62.167	55.450
% change from control	N/A	-10.8
Week 12/13	61.808	56.280
% change from control	N/A	-8.9
% change from end of baseline	-0.5	2.0
Week 25/26	61.447	56.562
% change from control	N/A	-8.0
% change from end of baseline	-1.1	2.7

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Morphological Analysis		
Distal Radius – Metaphysis – Total Region – TMD (mg HA/cm^3)		
End of baseline period	1008.2	1006.2
% change from control	N/A	-0.2
Week 12/13	993.85	980.02
% change from control	N/A	-1.4
% change from end of baseline	-1.5	-2.6
Week 25/26	990.84	969.93
% change from control	N/A	-2.1
% change from end of baseline	-1.7	-3.6 J
Distal Radius – Metaphysis – Total Region – TA.BMC (mg HA/mm)		
End of baseline period	30.255	26.216 G
% change from control	N/A	-13.4
Week 12/13	28.538	25.732
% change from control	N/A	-9.8
% change from end of baseline	-5.6	-1.7
Week 25/26	28.235	26.412
% change from control	N/A	-6.5
% change from end of baseline	-6.4	1.1 K

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Morphological Analysis		
Distal Radius – Metaphysis – Cortical Region – Ct.BMD (mg HA/cm^3)		
End of baseline period	1041.0	1034.2
% change from control	N/A	-0.7
Week 12/13	1019.3	994.73
% change from control	N/A	-2.4
% change from end of baseline	-2.1	-3.8 G
Week 25/26	1018.0	989.09
% change from control	N/A	-2.8
% change from end of baseline	-2.2	-4.3 G
Distal Radius – Metaphysis – Cortical Region – Ct.Po (%)		
End of baseline period	1.54	1.37
% change from control	N/A	-10.8
Week 12/13	1.74	2.33
% change from control	N/A	33.9
% change from end of baseline	16.2	85.4 H
Week 25/26	1.33	1.87
% change from control	N/A	40.0
% change from end of baseline	-10.1	53.6 J

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Morphological Analysis		
Distal Radius – Metaphysis – Cortical Region – BA.CtAr (mm^2)		
End of baseline period	19.584	17.639
% change from control	N/A	-9.9
Week 12/13	18.986	17.888
% change from control	N/A	-5.8
% change from end of baseline	-2.7	1.7
Week 25/26	19.435	19.019
% change from control	N/A	-2.1
% change from end of baseline	0.0	8.3
Distal Radius – Metaphysis – Cortical Region – CtAr (mm^2)		
End of baseline period	19.989	17.988
% change from control	N/A	-10.0
Week 12/13	19.408	18.394
% change from control	N/A	-5.2
% change from end of baseline	-2.6	2.5
Week 25/26	19.782	19.443
% change from control	N/A	-1.7
% change from end of baseline	-0.4	8.6

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Morphological Analysis		
Distal Radius – Metaphysis – Cortical Region – Ct.TMD (mg HA/cm^3)		
End of baseline period	1076.4	1067.2
% change from control	N/A	-0.9
Week 12/13	1055.9	1036.7
% change from control	N/A	-1.8
% change from end of baseline	-1.9	-2.9
Week 25/26	1049.3	1023.6
% change from control	N/A	-2.4
% change from end of baseline	-2.5	-4.1 G
Distal Radius – Metaphysis – Cortical Region – CtA.BMC (mg HA/mm)		
End of baseline period	20.865	18.611
% change from control	N/A	-10.8
Week 12/13	19.837	18.313
% change from control	N/A	-7.7
% change from end of baseline	-4.7	-1.4
Week 25/26	20.166	19.239
% change from control	N/A	-4.6
% change from end of baseline	-2.6	3.9

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Morphological Analysis		
Distal Radius – Metaphysis – Trabecular Region – Tb.BMD (mg HA/cm^3)		
End of baseline period	240.58	224.67
% change from control	N/A	-6.6
Week 12/13	222.17	217.44
% change from control	N/A	-2.1
% change from end of baseline	-7.7	-3.1
Week 25/26	210.44	216.23
% change from control	N/A	2.8
% change from end of baseline	-12.6	3.8 J
Distal Radius – Metaphysis – Trabecular Region – BV/TV (%)		
End of baseline period	28.945	27.161
% change from control	N/A	-6.2
Week 12/13	27.101	26.823
% change from control	N/A	-1.0
% change from end of baseline	-6.4	-1.0 J
Week 25/26	25.998	27.144
% change from control	N/A	4.4
% change from end of baseline	-10.2	0.1 J

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Morphological Analysis		
Distal Radius – Metaphysis – Trabecular Region – Tb.Th (mm)		
End of baseline period	0.2213	0.2177
% change from control	N/A	-1.6
Week 12/13	0.2190	0.2240
% change from control	N/A	2.3
% change from end of baseline	-0.9	3.0
Week 25/26	0.2197	0.2338
% change from control	N/A	6.4
% change from end of baseline	-0.6	7.6 H
Distal Radius – Metaphysis – Trabecular Region – BA.TbAr (mm^2)		
End of baseline period	12.933	10.727 G
% change from control	N/A	-17.1
Week 12/13	12.256	10.723
% change from control	N/A	-12.5
% change from end of baseline	-5.4	1.4
Week 25/26	11.616	10.577
% change from control	N/A	-8.9
% change from end of baseline	-10.4	0.4 J

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Morphological Analysis		
Distal Radius – Metaphysis – Trabecular Region – TbAr (mm^2)		
End of baseline period	42.946	38.145
% change from control	N/A	-11.2
Week 12/13	43.188	38.647
% change from control	N/A	-10.5
% change from end of baseline	0.7	2.1
Week 25/26	42.466	37.885
% change from control	N/A	-10.8
% change from end of baseline	-0.9	0.0
Distal Radius – Metaphysis – Trabecular Region – TbA.BMC (mg HA/mm)		
End of baseline period	10.289	8.3647 G
% change from control	N/A	-18.7
Week 12/13	9.5754	8.2098
% change from control	N/A	-14.3
% change from end of baseline	-7.2	-1.0
Week 25/26	8.9358	7.9645
% change from control	N/A	-10.9
% change from end of baseline	-13.5	-3.8 J

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Morphological Analysis		
Distal Radius – Diaphysis – BMD (mg HA/cm^3)		
End of baseline period	893.53	867.42
% change from control	N/A	-2.9
Week 12/13	874.14	842.64
% change from control	N/A	-3.6
% change from end of baseline	-2.2	-2.9
Week 25/26	858.82	835.56
% change from control	N/A	-2.7
% change from end of baseline	-3.9	-3.7
Distal Radius – Diaphysis – CtBMD (mg HA/cm^3)		
End of baseline period	1178.5	1175.2
% change from control	N/A	-0.3
Week 12/13	1157.9	1137.6
% change from control	N/A	-1.8
% change from end of baseline	-1.8	-3.2 G
Week 25/26	1143.2	1118.5
% change from control	N/A	-2.2
% change from end of baseline	-3.0	-4.8 G

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Morphological Analysis		
Distal Radius – Diaphysis – CtTh (mm)		
End of baseline period	1.5580	1.4566
% change from control	N/A	-6.5
Week 12/13	1.5280	1.4159
% change from control	N/A	-7.3
% change from end of baseline	-1.9	-2.6
Week 25/26	1.5122	1.4316
% change from control	N/A	-5.3
% change from end of baseline	-2.9	-1.5
Distal Radius – Diaphysis – TtAr (mm^2)		
End of baseline period	33.333	29.708
% change from control	N/A	-10.9
Week 12/13	33.086	29.762
% change from control	N/A	-10.0
% change from end of baseline	-0.8	0.3 H
Week 25/26	32.988	29.888
% change from control	N/A	-9.4
% change from end of baseline	-1.1	0.7 H

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Morphological Analysis		
Distal Radius – Diaphysis – CtAr (mm^2)		
End of baseline period	25.015	21.845 H
% change from control	N/A	-12.7
Week 12/13	24.734	21.937
% change from control	N/A	-11.3
% change from end of baseline	-1.2	0.5 H
Week 25/26	24.549	22.176
% change from control	N/A	-9.7
% change from end of baseline	-2.0	1.7 H
Distal Radius – Diaphysis – TbAr (mm^2)		
End of baseline period	6.9799	6.7119
% change from control	N/A	-3.8
Week 12/13	7.0232	6.6522
% change from control	N/A	-5.3
% change from end of baseline	0.5	-1.3
Week 25/26	7.1408	6.5397
% change from control	N/A	-8.4
% change from end of baseline	2.2	-3.3

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Morphological Analysis		
Distal Radius – Diaphysis – Ct.TMD (mg HA/cm^3)		
End of baseline period	1210.6	1209.8
% change from control	N/A	-0.1
Week 12/13	1189.8	1170.6
% change from control	N/A	-1.6
% change from end of baseline	-1.7	-3.3 J
Week 25/26	1174.3	1150.6
% change from control	N/A	-2.0
% change from end of baseline	-3.0	-4.9 G
Distal Radius – Diaphysis – CtA.BMC (mg HA/mm)		
End of baseline period	22.308	18.980 H
% change from control	N/A	-14.9
Week 12/13	21.580	18.516
% change from control	N/A	-14.2
% change from end of baseline	-3.0	-2.6
Week 25/26	21.060	18.558
% change from control	N/A	-11.9
% change from end of baseline	-5.0	-3.0
Terminal Procedures		
Organ weight	-	-
Gross Pathology	-	-

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Bone Densitometry – XtremeCT – ex vivo		
Distal Radius – Metaphysis – Cortical Region		
vBMD (mg HA/cm^3)	1005.1	974.7 G
% change from control	N/A	-3.0
Tissue BMD (mg HA/mm^3)	1037.4	1010.5 G
% change from control	N/A	-2.6
Distal Radius – Diaphysis		
Cortical Tissue BMD (mg HA/cm^3)	1173.6	1146.5 G
% change from control	N/A	-2.3
Cortical Area BMC (mg HA/mm)	27.132	23.854 G
% change from control	N/A	-12.1
Cortical Bone Area (mm^2)	23.377	21.057 G
% change from control	N/A	-9.9
Biomechanical Testing		
Biomechanical Values		
Radius – 3-point Bending		
Peak Load (N)	494.60	414.42 G
% change from control	N/A	-16.2
Ultimate Stress (MPa)	319.547	297.309
% change from control	N/A	-7.0

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Biomechanical Values		
Radius – 3-point Bending		
Yield Load (N)	419.31	347.07 G
% change from control	N/A	-17.2
Yield Stress (MPa)	270.690	248.935 G
% change from control	N/A	-8.0
Stiffness (N/mm)	416.488	358.342
% change from control	N/A	-14.0
Modulus (MPa)	13627.234	13590.123
% change from control	N/A	-0.3
Work to Failure AUC (N-mm)	1465.398	1308.494
% change from control	N/A	-10.7
Toughness (MPa)	18.577	18.042
% change from control	N/A	-2.9
Post-yield Toughness (MPa)	15.265	15.261
% change from control	N/A	0.0
Radius – Distal Metaphysis – Disc Compression		
Peak Load (N)	1862.63	1821.73
% change from control	N/A	-2.2
Apparent Strength (MPa)	27.010	30.491
% change from control	N/A	12.9

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Biomechanical Values		
Radius – Distal Metaphysis – Disc Compression		
Yield Load (N)	1704.50	1659.04
% change from control	N/A	-2.7
Yield Stress (MPa)	24.678	27.685
% change from control	N/A	12.2
Stiffness (N/mm)	13290.841	15849.578 G
% change from control	N/A	19.3
Modulus (MPa)	1088.787	1492.007 G
% change from control	N/A	37.0
Work to Failure AUC (N-mm)	385.431	352.102
% change from control	N/A	-8.6
Toughness (MPa)	0.997	1.048
% change from control	N/A	5.1
Post-yield Toughness (MPa)	0.577	0.657
% change from control	N/A	13.9
Analysis of Covariance of Biomechanical Parameters (variable vs. XtremeCT cortical area BMC covariate - end of bone depletion period), LS Mean		
Radius – 3-point Bending		
Peak Load	441.9141	444.9234
% change from control	N/A	0.7

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Analysis of Covariance of Biomechanical Parameters (variable vs. XtremeCT cortical area BMC covariate - end of bone depletion period), LS Mean		
Radius – 3-point Bending		
Yield Load	375.9903	372.1477
% change from control	N/A	-1.0
Stiffness	376.0378	381.7607
% change from control	N/A	1.5
Work to Failure AUC	1328.1993	1387.9251
% change from control	N/A	4.5
Radius – Distal Metaphysis – Disc Compression		
Peak Load	1708.2208	1919.2553 M
% change from control	N/A	12.4
Yield Load	1552.8995	1754.7898 M
% change from control	N/A	13.0
Stiffness	12334.9250	16453.3150 O
% change from control	N/A	33.4
Work to Failure AUC	355.4727	371.0225
% change from control	N/A	4.4

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Histopathology (Incidence presented)		
Bone, Radius – Wide polychrome labeling, endocortex		
Mild	3	6
Moderate	0	2
Bone, Radius – Wide polychrome labeling, periosteum		
Mild	0	2
Bone, Tibia – Wide polychrome labeling, endocortex		
Mild	3	5
Moderate	0	4
Bone, Tibia – Wide polychrome labeling, periosteum		
Minimal	0	4
Mild	0	2
Moderate	0	2
Bone Densitometry – XtremeCT – ex vivo		
Distal Radius – Metaphysis – Cortical Region		
Histomorphometry		
Tibia, Cortical bone		
Ec.E.Pm/Ec.Pm (%)	2.094	0.716 G
% change from control	N/A	-65.8
Ps.MAR (μm/day)	0.622	0.535 G
% change from control	N/A	-13.9

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Histomorphometry		
Tibia, Cortical bone		
Ec.sL.Pm/Ec.Pm (%)	12.31	19.26 G
% change from control	N/A	56.4
Ec.MAR (µm/day)	0.766	0.676 H
% change from control	N/A	-11.7
H.dL.Pm/H.Pm (%)	17.45	21.40 G
% change from control	N/A	22.6
H.L.Pm/H.Pm (%)	20.88	25.60 G
% change from control	N/A	22.6
Tibia, Cortical bone – Complementary values		
Ps.MAR (µm/day)		
Weeks 4 to 8	0.417	0.531 G
% change from control	N/A	27.3
Weeks 12 to 16	0.413	0.488 G
% change from control	N/A	18.2
Weeks 16 to 20	0.370	0.469 G
% change from control	N/A	26.8
Ec.MAR (µm/day)		
Weeks 12 to 16	0.796	0.975 G
% change from control	N/A	22.5

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Histomorphometry		
Tibia, Cortical bone – Complementary values		
N.L.On/Ct.Ar (1/mm^2)		
Week 16	1.031	1.448 R
% change from control	N/A	40.4
Week 20	1.234	1.547 Q
% change from control	N/A	25.4
Week 26	0.117	0.180 Q
% change from control	N/A	53.8
N.L.On/H.Ar (1/mm^2)		
Week 16	1.293	1.828 R
% change from control	N/A	41.4
Week 20	1.548	1.959 Q
% change from control	N/A	26.6
Week 26	0.148	0.229 Q
% change from control	N/A	54.7
Radius, Cortical bone		
H.dL.Pm/H.Pm (%)	15.57	25.43 G
% change from control	N/A	63.3
H.L.Pm/H.Pm (%)	18.49	29.81 G
% change from control	N/A	61.2

Footnotes are on the last page of the table.

表 3D　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity		Amgen Study No. 118025
Dose (mg/kg)	0 (OVX)	3 (OVX)
Number of Animals	12	19
Histomorphometry		
Radius, Cortical bone – Complementary values		
H.BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2$/year)	79.11	122.26 G
% change from control	N/A	54.5
H.BFR/BV (%/year)	18.79	32.88 J
% change from control	N/A	75.0
Radius, Cortical bone – Complementary values		
N.L.On/Ct.Ar ($1/mm^2$)		
Week 16	0.554	0.941 Q
% change from control	N/A	69.9
N.L.On/Ct.Ar ($1/mm^2$)		
Week 25	0.491	0.733 Q
% change from control	N/A	49.3
N.L.On/H.Ar ($1/mm^2$)		
Week 16	0.803	1.354 Q
% change from control	N/A	68.6
Week 25	0.713	1.064 Q
% change from control	N/A	49.2

C_{max} = maximum observed concentration of AMG 785 measured after dosing; CTx = C-Telopeptides of Type I Collagen; DPD = Free Deoxypyridinoline; OVX = Ovariectomized; PINP = Procollagen type I N-terminal propeptide; BMC = Bone Mineral Content; BMD = Bone Mineral Density; BQL=Below quantitative level; DXA = Dual Energy X-Ray Absorptiometry; L1 = 1st lumbar vertebrae; L4 = 4th lumbar vertebrae; LSMean = least squares mean; N/A = not applicable; pQCT = Peripheral Quantitative Computed Tomography; vBMD = Volumetric Bone Mineral Density; BV/TV = Relative Bone Volume; - No noteworthy findings.

Statistics: Significantly different from control group value: A - $P \leq 0.05$, B - $P \leq 0.01$, C - $P \leq 0.001$ (Dunnett).
D - $P \leq 0.05$, E - $P \leq 0.01$, F - $P \leq 0.001$ (Dunn)
G - $P \leq 0.05$, H - $P \leq 0.01$, I - $P \leq 0.001$ (adjusted *t*-test)
J - $P \leq 0.05$, K - $P \leq 0.01$, L - $P \leq 0.001$ (Wilcoxon).
M - $P \leq 0.05$, N - $P \leq 0.01$, O - $P \leq 0.001$ (ANCOVA)
Q - $P \leq 0.05$, R - $P \leq 0.01$, S - $P \leq 0.001$ (ANOVA; log_2-transformed data used)

表 3E　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ代替抗体

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
Effects of pre- or co-treatment with alendronate on Scl-Ab efficacy in bone	OVX SD Rat	SD rats were either sham-operated or ovariectomized (OVX) at 6.5 month of age and left untreated for 3.5 months. In this 2-part study, vehicle (saline) and ALN (28 µg/kg) were SC injected 2QW, rat sclerostin antibody (r13c7; Scl-AbIII at 25 mg/kg) was sc injected QW. In part 1, 10-month-old rats were administered VEH, r13c7, ALN, or r13c7 plus ALN, while sham-operated rats were administered VEH; all rats were necropsied after 6 weeks of treatment (n = 10/group). In part 2, 10-month-old OVX rats were administered either VEH (2 groups) or ALN (2 groups) for 6 weeks (n = 10/group). From week 6 to 12, one VEH-treated OVX group was continued on VEH, while the other was switched to r13c7. ALN-treated OVX rats were given r13c7 alone or r13c7 plus ALN. An additional group of Sham controls were treated with VEH for 12-weeks (n = 10); all groups were necropsied after 12-weeks of treatment. One rat in the Sham control group died after week 6, resulting in an n=9 for endpoints collected after week 6. Endpoints included *in vivo* DXA, serum biomarkers of bone formation and resorption, histomorphometry, ex vivo micro-CT, and bone strength testing.	Six weeks of r13c7 alone or r13c7 + ALN similarly increased bone mass (DXA and micro-CT) and bone formation evidenced by both serum biomarkers (osteocalcin and P1NP) and histomorphometry (on L3 trabecular and tibia diaphyseal endocortical and periosteal surfaces) in OVX rats (Part 1). r13c7 treatment increased bone formation, bone mass, and bone strength similarly in OVX rats pretreated for 6 weeks with either ALN or VEH (Part 2). Furthermore, co-treatment with ALN did not have significant effects on the increased bone formation, bone mass, and bone strength induced by r13c7 in the OVX rats that were pretreated with ALN. These results demonstrate that the increases in bone formation, bone mass, and bone strength with r13c7 treatment were not affected by pre- or co-treatment with ALN in OVX rats with established osteopenia.	R20[redacted]0773

Abbreviations: 2QW = once every two weeks; 3D = three-dimensional; ADA = anti drug antibody; ALN = alendronate; BFR/BS = Bone formation rate bone surface referent; BMD = bone mineral density; BMU = bone multicellular unit; bSEM = backscattered scanning electron microscopy; CTx= C-terminal telopeptide of collagen crosslink; DKK1= Dickkopf WNT signaling pathway inhibitor; DXA = dual-energy x-ray absorptiometry; ES/BS = eroded surface; Ec = endocortical; FE = finite element; FTIRM = Fourier-transform infrared microspectroscopy; HRpQCT = high-resolution peripheral quantitative computed tomography; L2 = second lumbar vertebra; L3 = third lumbar vertebra; m13c7 = Murine sclerostin-neutralizing monoclonal antibody; microCT = micro-computed tomography; OPG-Fc = osteoprotegerin Fc fusion; OVX = ovariectomized; pQCT = peripheral quantitative computed tomography; P1NP = pro-collagen n-telopeptide; Ps = periosteal; PTH = parathyroid hormone; QW: dosed once weekly; r13c7 = rat 13c7, a rat version of romosozumab; RANKL = Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand; RBF = remodeling bone formation; SC = subcutaneous; SD = Sprague-Dawley; Scl-Ab= Sclerostin monoclonal antibody; SOST = gene encoding sclerostin; Tb = trabecular; vBMC= volumetric bone mineral content; TRACP 5b = tartrate acid phosphatase 5b; Veh= Vehicle; W.Th = wall thickness

表 3F　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ代替抗体

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
Dose-response study for m13c7	OVX SD Rat	SD rats were sham-operated or OVX and left untreated for 5-months to allow for the development of osteopenia. OVX rats were then SC injected 2QW with vehicle or murine sclerostin antibody m13c7 at 1, 2.5, 5, 10, or 25 mg/kg for 5-weeks (10/group). Sham-operated rats were SC injected with vehicle 2QW for 5 weeks. Exclusions due to clearance of m13c7 likely secondary to immune-related clearance reduced the size of the treated groups to 1, 7, 8, 6, and 9 in the 1, 2.5, 5, 10, and 25 mg/kg groups. DXA BMD was evaluated *in vivo*, sera samples were collected for m13c7 concentration and biomarkers of bone formation and resorption (including osteocalcin and CTx), and tissues were collected for histomorphometry.	Treatment with m13c7 generally increased areal BMD at lumbar spine dose-dependently. There were dose-dependent increases in serum osteocalcin with significant increases in serum osteocalcin concentrations at 10 and 25 mg/kg at weeks 1 and 3 compared to the vehicle-treated OVX group. m13c7 dose-dependently increased mineralizing surface, mineral apposition rate, and bone formation rate on trabecular, periosteal, and endocortical surfaces at the lumbar vertebra, distal tibia, and tibia shaft. The increased trabecular and cortical bone formation with m13c7 treatment was associated with increases in trabecular thickness and trabecular bone volume at the lumbar vertebra/distal tibia and increases in cortical area at the tibia shaft. There were no effects of m13c7 treatment on the bone resorption indices serum CTx-1 or lumbar vertebral osteoclast surface.	R20[redacted]054

Footnotes are on the last page of the table.

表 3　F　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ代替抗体（続き）

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
			Results from this study demonstrated that administration of m13c7, a murine sclerostin antibody, dose-dependently increased bone mass and bone formation without increasing bone resorption in OVX rats. Although the 1mg/kg group (n = 1) could not be included in the main statistical analysis, after inclusion of all 1mg/kg treated animals, there was a significant increase in lumbar BMD relative to OVX controls (+8%, p = 0.03). This effect at 1 mg/kg corresponded to trends toward increases in serum osteocalcin and decreases in serum TRACP-5b relative to vehicle controls. Thus, despite reduced drug exposure, 1 mg/kg was the minimum effective dose measured in OVX rats.	R20[redacted]054

Abbreviations: 2QW = once every two weeks; 3D = three-dimensional; ADA = anti drug antibody; ALN = alendronate; BFR/BS = Bone formation rate bone surface referent; BMD = bone mineral density; BMU = bone multicellular unit; bSEM = backscattered scanning electron microscopy; CTx= C-terminal telopeptide of collagen crosslink; DKK1= Dickkopf WNT signaling pathway inhibitor; DXA = dual-energy x-ray absorptiometry; ES/BS = eroded surface; Ec = endocortical; FE = finite element; FTIRM = Fourier-transform infrared microspectroscopy; HRpQCT = high-resolution peripheral quantitative computed tomography; L2 = second lumbar vertebra; L3 = third lumbar vertebra; m13c7 = Murine sclerostin-neutralizing monoclonal antibody; microCT = micro-computed tomography; OPG-Fc = osteoprotegerin Fc fusion; OVX = ovariectomized; pQCT = peripheral quantitative computed tomography; P1NP = pro-collagen n-telopeptide; Ps = periosteal; PTH = parathyroid hormone; QW: dosed once weekly; r13c7 = rat 13c7, a rat version of romosozumab; RANKL = Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand; RBF = remodeling bone formation; SC = subcutaneous; SD = Sprague-Dawley; Scl-Ab= Sclerostin monoclonal antibody; SOST = gene encoding sclerostin; Tb = trabecular; vBMC= volumetric bone mineral content; TRACP 5b = tartrate acid phosphatase 5b; Veh= Vehicle; W.Th = wall thickness

表 3G　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ代替抗体

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
Retreatment with r13c7 after treatment-free period	OVX SD Rats	The study spanned 30 weeks and included a total of 8 groups of 7 month-old OVX rats (11 weeks post-OVX), with an additional group of similarly aged sham-operated rats (n=8/group). Dosing occurred from baseline to week 12 (initial treatment), followed by no treatment from week 13 to 24 (withdrawal), and another dosing period from week 25 to 30 (retreatment); all doses were administered sc 2QW. Three groups of vehicle-treated OVX controls were necropsied at week 6, 12, and 24; the vehicle-treated Sham group was necropsied at week 30. Groups receiving r13c7 (5 mg/kg) during the initial treatment period were terminated at week 6, 12, and 24. The 5 mg/kg 2QW dose was selected to allow for more rapid drug clearance than the 25 mg/kg dose used in other studies, would allow for greater resolution of bone mass gains during the 12 week withdrawal period. Two additional r13c7 groups received either vehicle or r13c7 during the retreatment period. Endpoints included serum biomarkers of bone formation (osteocalcin, P1NP) and bone resorption (TRACP-5b), *in vivo* DXA, and histomorphometry. One rat receiving r13c7 was euthanized at week 10 due to a swollen hindlimb, an effect not considered drug-related, reducing the group size to 7 in the r13c7 retreatment group.	During the initial treatment phase, serum P1NP increased significantly in the r13c7 groups, peaking at week 2, gradually returning to OVX control levels from week 10 to 12 and remained at OVX control levels during the withdrawal phase. During the retreatment phase, r13c7 treatment resulted in increases in P1NP through week 30. TRACP-5b was significantly decreased by r13c7 during both the initial and retreatment phases, and was increased during the withdrawal phase. Lumbar spine BMD increased continuously throughout r13c7 treatment and peaked at week 14, 2 weeks after withdrawal, remaining above control OVX levels and approximating sham control levels at week 24. After 6 weeks of retreatment, BMD significantly increased again to the peak level initially observed at week 14. Trabecular (Tb), endocortical (Ec), and periosteal (Ps) bone formation rate (BFR/BS) peaked at week 6 with r13c7 treatment, returning to OVX control levels at week 24, with Tb and Ec.BFR/BS remaining significantly elevated through the 12 week treatment period.	R20[redacted]0173

Footnotes are on the last page of the table

表 3G　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ代替抗体（続き）

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
			During the retreatment phase, significant increases in BFR/BS were observed at all sites. The bone resorption parameter eroded surface (ES/BS) was significantly decreased by r13c7 on Tb and Ec surfaces during both the initial and retreatment phases, and was increased during the withdrawal phase. These results demonstrated that Scl-Ab retreatment robustly increased bone formation and BMD and decreased bone resorption in OVX rats after prior periods of treatment and withdrawal.	R20[redacted]0173

Abbreviations: 2QW = once every two weeks; 3D = three-dimensional; ADA = anti drug antibody; ALN = alendronate; BFR/BS = Bone formation rate bone surface referent; BMD = bone mineral density; BMU = bone multicellular unit; bSEM = backscattered scanning electron microscopy; CTx= C-terminal telopeptide of collagen crosslink; DKK1= Dickkopf WNT signaling pathway inhibitor; DXA = dual-energy x-ray absorptiometry; ES/BS = eroded surface; Ec = endocortical; FE = finite element; FTIRM = Fourier-transform infrared microspectroscopy; HRpQCT = high-resolution peripheral quantitative computed tomography; L2 = second lumbar vertebra; L3 = third lumbar vertebra; m13c7 = Murine sclerostin-neutralizing monoclonal antibody; microCT = micro-computed tomography; OPG-Fc = osteoprotegerin Fc fusion; OVX = ovariectomized; pQCT = peripheral quantitative computed tomography; P1NP = pro-collagen n-telopeptide; Ps = periosteal; PTH = parathyroid hormone; QW: dosed once weekly; r13c7 = rat 13c7, a rat version of romosozumab; RANKL = Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand; RBF = remodeling bone formation; SC = subcutaneous; SD = Sprague-Dawley; SOST = gene encoding sclerostin; Scl-Ab= Sclerostin monoclonal antibody; Tb = trabecular; vBMC= volumetric bone mineral content; TRACP 5b = tartrate acid phosphatase 5b; Veh= Vehicle; W.Th = wall thickness

表 3H　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ代替抗体

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
Retreatment with r13c7 after maintenance with OPG-Fc	OVX SD Rats	OVX rats were treated with the RANKL inhibitor OPG-Fc after an initial period of r13c7, followed by initiation of r13c7 retreatment with OPG Fc. Seven-month-old OVX Sprague-Dawley rats (11-weeks post-OVX) were treated SC 2QW with vehicle or r13c7 at 5 mg/kg for 12 weeks. At week 12, three r13c7 groups were switched to rat OPG-Fc (10 mg/kg) for an additional 12 weeks. At week 24, r13c7 was again administered (in addition to OPG Fc) to one of these groups for 6 weeks, while another continued on OPG-Fc alone; both groups were terminated at week 30. Necropsies were performed for Vehicle groups at week 6, 12, 24, and 30; r13c7 treated groups at week 6 and 12; and a r13c7+ OPG Fc group at week 24. All groups receiving vehicle or r13c7 alone had n=10 per group, each group that was administered OPG-Fc during the study had n=12. Endpoints included *in vivo* DXA for longitudinal BMD assessment and serum collections for confirmation of drug exposure.	r13c7 treatment during the first 12 weeks resulted in progressive increases in DXA BMD at both the lumbar spine and femur relative to OVX controls. BMD increments at the lumbar spine slowed toward the end of the dosing period, consistent with previous data indicating self-regulation of bone formation with this regimen by week 12. Lesser increases in BMD were observed upon transition to OPG-Fc from week 12 to 24. From week 24 to 30, BMD was maintained by OPG-Fc, and the addition of r13c7 to OPG-Fc did not further increase BMD. These results demonstrated that Scl-Ab retreatment with OPG Fc did not further increase BMD after an initial treatment period resulted in self-regulation followed by maintenance of BMD with OPG-Fc.	R20[redacted]0070

Abbreviations: 2QW = once every two weeks; 3D = three-dimensional; ADA = anti drug antibody; ALN = alendronate; BFR/BS = Bone formation rate bone surface referent; BMD = bone mineral density; BMU = bone multicellular unit; bSEM = backscattered scanning electron microscopy; CTx= C-terminal telopeptide of collagen crosslink; DKK1= Dickkopf WNT signaling pathway inhibitor; DXA = dual-energy x-ray absorptiometry; ES/BS = eroded surface; Ec = endocortical; FE = finite element; FTIRM = Fourier-transform infrared microspectroscopy; HRpQCT = high-resolution peripheral quantitative computed tomography; L2 = second lumbar vertebra; L3 = third lumbar vertebra; m13c7 = Murine sclerostin-neutralizing monoclonal antibody; microCT = micro-computed tomography; OPG-Fc = osteoprotegerin Fc fusion; OVX = ovariectomized; pQCT = peripheral quantitative computed tomography; P1NP = pro-collagen n-telopeptide; Ps = periosteal; PTH = parathyroid hormone; QW: dosed once weekly; r13c7 = rat 13c7, a rat version of romosozumab; RANKL = Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand; RBF = remodeling bone formation; SC = subcutaneous; SD = Sprague-Dawley; Scl-Ab= Sclerostin monoclonal antibody; SOST = gene encoding sclerostin; Tb = trabecular; vBMC= volumetric bone mineral content; TRACP 5b = tartrate acid phosphatase 5b; Veh= Vehicle; W.Th = wall thickness

表 3I　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
Effects of romosozumab on bone modeling/ remodeling, tissue composition/ mineralization, microarchitecture	Adolescent (4-5 year old) male cynomolgus monkeys	Adolescent 4 to 5-year-old male cynomolgus monkeys underwent bilateral fibular osteotomy with internal stabilization, and were assigned to receive either vehicle (n = 21) or 30 mg/kg romosozumab (n = 22) SC once every 2 weeks for 10 weeks beginning the day after surgery. Four cynos in the romosozumab group were excluded from all analyses due to undetectable drug levels in their serum by week 6, reducing the n to 18. Endpoints included *in vivo* DXA, serum biomarkers of bone formation and resorption, histomorphometry, ex vivo DXA/pQCT, and bone strength testing. Histomorphometry was performed at the L2 vertebra, femur diaphysis, femoral neck, and fractured fibula for the first 10 eligible cynos in each treatment group. Additional analyses were performed to 1) determine the contribution of bone modeling formation (MBF) and remodeling bone formation (RBF) to the increase in bone formation, 2) determine the effects of romosozumab on mineralization kinetics at the tissue level by backscattered scanning electron microscopy (bSEM) and Fourier-transform infrared microspectroscopy (FTIRM), and 3) determine the effects of newly formed bone on microarchitecture by 3D histomorphometry.	Romosozumab significantly increased bone mass and bone strength at the site of fracture. After 10 weeks of healing in nonhuman primates, the fractures in the romosozumab group had less callus cartilage and smaller fracture gaps containing more bone and less fibrovascular tissue. Improvements in bone formation, bone mass, and bone strength were also observed at nonfractured cortical (femur diaphysis) and trabecular (lumbar vertebra) sites. Romosozumab markedly increased MBF on trabecular and endocortical surfaces relative to vehicle. Romosozumab did not significantly affect RBF despite decreased eroded surface on both trabecular and endocortical surfaces. Romosozumab resulted in a greater proportion of RBF and MBF containing sequential labels from week 2, indicating an increase in the lifespan of the formative site. This extended formation period was associated with robust increases in the percent of new bone volume formed.	108288

Footnotes are on the last page of the table.

表 3I　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
Effects of romosozumab on bone modeling/ remodeling, tissue composition/ mineralization, microarchitecture	Adolescent (4-5 year old) male cynomolgus monkeys	Further exclusions were made for fibular analyses due to bending or breaking of the intramedullary pin, fibular damage during pin removal, improper (transcortical) pinning, reducing the final n for biomechanical testing to 12 per group, and for histomorphometry to 9 (VEH) and 10 (romosozumab).	The mean global mineralization of trabecular and cortical bone was relatively unaffected by bSEM. There were two subtle changes in the bone mineral density distribution after romosozumab treatment in the primate trabecular bone: an increase in the number of pixels with a low mineralization value and a modest decrease in the standard deviation of the distribution. Tissue age–specific measurements in the primate model showed that romosozumab treatment did not affect the mineral-to-matrix ratio, crystallinity, or collagen cross-linking in the endocortical, intracortical, or trabecular compartments. Romosozumab treatment was associated with a nonsignificant trend toward accelerated mineralization intracortically and a significant 10% increase in carbonate substitution for tissue older than 2-weeks in the trabecular compartment. These findings suggest that romosozumab treatment did not negatively impact bone matrix quality.	108288

Footnotes are on the last page of the table.

表 3I　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
			Although newly formed trabeculae were not observed by 3D histomorphometry, romosozumab resulted in significant increases in 3D bone formation rate and newly formed volume fraction relative to vehicle controls (9.0 versus 5.4%, p=0.02). Romosozumab treatment resulted in a greater conversion of rod-like trabeculae to plate-like trabeculae, thus improving trabecular microarchitecture.	108288

Abbreviations: 2QW = once every two weeks; 3D = three-dimensional; ADA = anti drug antibody; ALN = alendronate; BFR/BS = Bone formation rate bone surface referent; BMD = bone mineral density; BMU = bone multicellular unit; bSEM = backscattered scanning electron microscopy; CTx= C-terminal telopeptide of collagen crosslink; DKK1= Dickkopf WNT signaling pathway inhibitor; DXA = dual-energy x-ray absorptiometry; ES/BS = eroded surface; Ec = endocortical; FE = finite element; FTIRM = Fourier-transform infrared microspectroscopy; HRpQCT = high-resolution peripheral quantitative computed tomography; L2 = second lumbar vertebra; L3 = third lumbar vertebra; m13c7 = Murine sclerostin-neutralizing monoclonal antibody; microCT = micro-computed tomography; OPG-Fc = osteoprotegerin Fc fusion; OVX = ovariectomized; pQCT = peripheral quantitative computed tomography; P1NP = pro-collagen n-telopeptide; Ps = periosteal; PTH = parathyroid hormone; QW: dosed once weekly; r13c7 = rat 13c7, a rat version of romosozumab; RANKL = Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand; RBF = remodeling bone formation; SOST = gene encoding sclerostin; SC = subcutaneous; SD = Sprague-Dawley; Scl-Ab= Sclerostin monoclonal antibody; Tb = trabecular; vBMC= volumetric bone mineral content; TRACP 5b = tartrate acid phosphatase 5b; Veh= Vehicle; W.Th = wall thickness

表 3J　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
Effects of romosozumab on bone remodeling kinetics	Adult (10 to 12-year-old) male cynomolgus monkeys	Skeletally mature male cynomolgus monkeys (10 to 12 years old) were treated with either subcutaneous Vehicle (n=10) or 30 mg/kg romosozumab (n = 12) every 2 weeks for 28 weeks, with fluorochrome labels administered periodically over the time course. L3 vertebral bodies from 9 per group were subject to standard histomorphometry as well as kinetic reconstruction of the formative site and evaluation of resorption depth. Remodeling formative sites defined by an underlying scalloped cement line were sampled with a line grid and paired measurements of wall thickness (W.Th) and osteoid thickness were made and reconstructed. Final W.Th was measured in completed packets that contained any label to provide an average effect across the treatment duration; those that contained tetracycline labels, administered early in the treatment period, were separately evaluated to capture the early treatment effect. Final W.Th was also projected for packets near completion at the end of the study to reflect the treatment effect after 28 weeks. Resorption depth was measured in packets at the reversal line without osteoid with pre-osteoblasts by counting lamellae from the deepest point outward along the surface until a quiescent surface was reached.	Romosozumab increased W.Th in bone multicellular units (BMU) completed during the study by 89%, an effect that was most pronounced early in the study based on fluorochrome labeling. After 28 weeks, a positive effect of treatment on W.Th was maintained in active BMUs; this effect was associated with an increase in fractional labeling of osteoid (MS/OS) reflecting improved osteoblast efficiency. Romosozumab reduced eroded surface (by 68%) and final resorption depth (by 13%), as well as a reduced resorption period. Together, these changes resulted in a positive bone balance (+14 µm) with romosozumab, in contrast to the negative bone balance in controls (–13 µm). Improved BMU bone balance would contribute to the increases in bone mass during the period of active modeling-based formation as well as following self-regulation of bone formation with continued romosozumab administration. Romosozumab increased wall thickness and decreased final resorption depth, yielding a positive bone balance that would contribute to increased bone volume in cynomolgus monkeys.	R20[redacted]0071

Footnotes are on the last page of the table.

表 3J　効力を裏付ける試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ（続き）

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
		One romosozumab treated sample was from an animal that did not have adequate drug exposure during the study, presumably due to ADA. After exclusion of this animal and one from the vehicle group (an outlier based on histomorphometry that was presumed to have been mislabeled), the final n analyzed was 8 per group.		R20[redacted]0071

Abbreviations: 2QW = once every two weeks; 3D = three-dimensional; ADA = anti drug antibody; ALN = alendronate; BFR/BS = Bone formation rate bone surface referent; BMD = bone mineral density; BMU = bone multicellular unit; bSEM = backscattered scanning electron microscopy; CTx= C-terminal telopeptide of collagen crosslink; DKK1= Dickkopf WNT signaling pathway inhibitor; DXA = dual-energy x-ray absorptiometry; ES/BS = eroded surface; Ec = endocortical; FE = finite element; FTIRM = Fourier-transform infrared microspectroscopy; HRpQCT = high-resolution peripheral quantitative computed tomography; L2 = second lumbar vertebra; L3 = third lumbar vertebra; m13c7 = Murine sclerostin-neutralizing monoclonal antibody; microCT = micro-computed tomography; OPG-Fc = osteoprotegerin Fc fusion; OVX = ovariectomized; pQCT = peripheral quantitative computed tomography; P1NP = pro-collagen n-telopeptide; Ps = periosteal; PTH = parathyroid hormone; QW: dosed once weekly; r13c7 = rat 13c7, a rat version of romosozumab; RANKL = Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand; RBF = remodeling bone formation; SC = subcutaneous; SD = Sprague-Dawley; Scl-Ab= Sclerostin monoclonal antibody; SOST = gene encoding sclerostin; Tb = trabecular; vBMC= volumetric bone mineral content; TRACP 5b = tartrate acid phosphatase 5b; Veh= Vehicle; W.Th = wall thickness

表 4　副次的薬理試験 - *In vitro* 試験
被験物質:なし

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
Expression profile for SOST	Human tissue panel	Methods were not provided with the report. Xpressway® Profile qRT-PCR was used.	Human tissue expression of SOST at ≥ 1 copy/cell (based on 30 pg RNA/cell) in pulmonary artery, left atria, and kidney (aorta and mineralized tissues not included in panel).	119940
mRNA expression for SOST	Mouse, rat, cynomolgus monkey, human tissue panels	This study evaluated the mRNA expression of the SOST gene, encoding for sclerostin in a broad range of tissues from normal mouse, rat, cynomolgus monkey, and human using RNA sequencing.	SOST mRNA is most consistently expressed across species in bone (not evaluated in human) and aorta (aorta absent in the rat) with expression in kidney limited to human. Levels in other tissues were considered not detectable or were found in only one species or data in other species were not available to confirm the significance of the findings.	119937

Abbreviations: DKK1 = dickkopf-related protein 1; IHC = immunohistochemistry; MMP 13= matrix metalloproteinase 13; MMT = medial meniscal tear; mRNA = messenger RNA; qRT-PCR = quantitative real time polymerase chain reaction; SOST = gene encoding sclerostin

表 4　副次的薬理試験 - *In vitro* 試験
被験物質:ロモソズマブ代替抗体（続き）

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
IHC	Rat femoral-tibial joints from study ROA AMG-14	Blocks from control animals containing the right femoral-tibial joints (surgical MMT) from study ROA AMG-14 were selected. Blocks of rats were selected with total joint scores spanning a wide range of severity. Blocks of left femoral-tibial joints contralateral, nonsurgical controls were selected to characterize basal expression patterns. Sections were prepared, DKK1, SOST and MMP13 were detected immunohistochemically, and evaluated microscopically.	No expression of DKK1, SOST, or MMP13 was observed in the articular cartilage in the nonsurgical femoral-tibial joints. There was weak DKK1 expression in some mature osteoblasts and robust expression of DKK1 in clusters of cells within the bone marrow. The identity of these cells is unclear but location and morphology suggest they may be myeloid. Staining in megakaryocytes was considered equivocal due to high background associated with this antibody. SOST was expressed in osteocytes. MMP13 was noted in the immediate subphyseal region of the growth plate at the zone of vascular invasion and on surface of cartilage cores of primary spongiosa. In the surgical MMT joints, no expression was observed in articular cartilage, areas of cartilage degeneration, and/or in adjacent reactive chondrocytes.	S11WR-00625

Abbreviations: DKK1 = dickkopf-related protein 1; IHC = immunohistochemistry; MMP 13= matrix metalloproteinase 13; MMT = medial meniscal tear; mRNA = messenger RNA; qRT-PCR = quantitative real time polymerase chain reaction; SOST = gene encoding sclerostin

表 5　副次的薬理試験 – *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ代替抗体

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
Effects of r13c7 in a model of androgen ablation	ORX SD Rats	Nine-month-old Sprague-Dawley rats (3-months post-ORX) were treated sc 2QW with vehicle or r13c7 at 5 or 25 mg/kg for 6 weeks (n = 10/group). Additional groups of rats were terminated prior to surgery and prior to the treatment period; Sham-operated groups were terminated prior to the treatment period and after administration of vehicle 2QW for 6 weeks (n = 10/group). DXA scans were performed at baseline and after 3 and 6 weeks of treatment. Dynamic histomorphometry and microCT were performed on groups collected pre-surgery, at baseline, and after 6 weeks of treatment. Bone strength was performed on week 6 samples, and correlations to bone mass were used to assess bone quality.	Six weeks of r13c7 at 5 or 25 mg/kg fully reversed the significant deficit in DXA BMD in the lumbar spine and leg caused by 3 months of orchiectomy. By microCT, bone mass in the L5 vertebral body, midshaft femur, and femoral neck were dose-dependently restored by r13c7 treatment. Bone strength was significantly increased by r13c7 at these sites relative to ORX controls, and was not significantly different from Sham controls. Correlations between BMC and strength parameters demonstrated consistent relationships across groups, reflecting maintenance of bone quality with r13c7. Dynamic histomorphometry of the tibial diaphysis and L2 vertebral body demonstrated that r13c7 significantly increased BFR/BS on periosteal, endocortical, and trabecular surfaces while significantly decreasing eroded surface on endocortical and trabecular surfaces. These results demonstrated that Scl-Ab increased bone formation and decreased bone resorption resulting in restoration of bone mass and bone strength in ORX rats.	R20[redacted]0227

Abbreviations: 2QW = once every two weeks; 3QW = once in three weeks; BFR/BS = Bone formation rate bone surface referent; BMD = bone mineral density; DXA = dual-energy x-ray absorptiometry; Ec = endocortical; Fab = fragment antigen binding; FEA = finite element analysis; hTNFtg: human tumor necrosis factor transgenic mice; HLU = hindlimb unloaded; L2 = second lumbar vertebra; L5 = fifth lumbar vertebra; m13c7 = Murine sclerostin-neutralizing monoclonal antibody; microCT = micro-computed tomography; MMT = medial meniscal tear; ORX = orchiectomized; pQCT = peripheral quantitative computed tomography; Ps = periosteal; PWB= partial weight bearing; r13c7 = rat 13c7, a rat version of romosozumab; SC = subcutaneous; SD = Sprague-Dawley; Scl-Ab= Sclerostin monoclonal antibody; Tb = trabecular

表 5　副次的薬理試験 – *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ代替抗体（続き）

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
Effects of r13c7 in a model of inflammatory bone loss	hTNFtg mice	Sixty-four female 8-week-old mice were analyzed in two consecutive independent experiments. Eight mice were non-arthritic wild-type littermates (controls). Fifty-six were hTNFtg mice (C57BL/6 background, Tg197 strain): 8 were analyzed at the age of 8-weeks (baseline); the other 48 mice were randomized into 6 treatment groups (n=8/group) dosed intraperitoneally (IP) 3QW: IgG (10 mg/kg) as negative control, TNF-inhibiting antibody infliximab (10 mg/kg) and prednisolone (2.1 mg/kg/d) as two positive control groups, r13c7 alone (10 mg/kg), or in combination with infliximab or prednisolone for 3 weeks. Joint swelling, body weight, and grip strength were monitored over the 3 week treatment period.	r13c7 did not affect joint swelling or grip strength, but mitigated weight loss and pain in hTNFtg mice. Scl-Ab did not impact inflammation in a mouse model of inflammatory arthritis.	R20[redacted]0147 （参考資料）

Abbreviations: 2QW = once every two weeks; 3QW = once in three weeks; BFR/BS = Bone formation rate bone surface referent; BMD = bone mineral density; DXA = dual-energy x-ray absorptiometry; Ec = endocortical; Fab = fragment antigen binding; FEA = finite element analysis; hTNFtg: human tumor necrosis factor transgenic mice; HLU = hindlimb unloaded; L2 = second lumbar vertebra; L5 = fifth lumbar vertebra; m13c7 = Murine sclerostin-neutralizing monoclonal antibody; microCT = micro-computed tomography; MMT = medial meniscal tear; ORX = orchiectomized; pQCT = peripheral quantitative computed tomography; Ps = periosteal; PWB= partial weight bearing; r13c7 = rat 13c7, a rat version of romosozumab; SC = subcutaneous; SD = Sprague-Dawley; Scl-Ab= Sclerostin monoclonal antibody; Tb = trabecular

表 5　副次的薬理試験 - *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ代替抗体（続き）

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
Effects of m13c7 in a model of bone loss due to skeletal unloading	C57BL/6J mice hindlimb unloading	Female C57BL/6J mice at 11-weeks of age were injected with either m13c7 (at 25 mg/kg) or vehicle SC 2QW (n = 5-17/group) for 3 weeks under one of five loading conditions: control (normal weight bearing; Vehicle: n = 17, m13c7: n = 11), hindlimb unloaded (HLU; Vehicle: n = 13, m13c7: n = 11) or partial weight bearing at 20% (PWB20; Vehicle: n = 5, m13c7: n = 9), 40% (PWB40; Vehicle: n = 9, m13c7: n = 8) or 70% (PWB70; Vehicle: n = 5, m13c7: n = 8) of normal weight bearing. Endpoints included body weight, DXA for bone density and body composition (baseline and week 3), muscle (soleus and gastrocnemius) weights, serum biomarkers, microCT, bone strength at distal femur (by FE analysis) and femur midshaft (by 3-point bending), and histomorphometry.	m13c7 did not influence the muscle loss seen with unloading or muscle mass in normally-loaded control mice. Unloading resulted in load-dependent decreases in leg BMD from baseline in vehicle-treated groups. Scl-Ab treatment increased leg BMD under all hindlimb loading conditions, though the greatest improvements from baseline were observed in the normal weight bearing group. Midshaft femoral strength and distal femur strength were also significantly higher in Scl-Ab vs Vehicle-groups in all loading conditions. BFR/BS in distal femur trabecular bone was ≥ 2-fold higher with m13c7 compared to vehicle-treated mice across both loaded and unloaded conditions. Serum osteocalcin was decreased by unloading (HLU, PWB20, PWB40 and PWB70) and increased by Scl-Ab in all loading conditions. These results demonstrated the ability of Scl-Ab to improve bone formation, mass, and strength in both normally-loaded and underloaded bones without affecting muscle.	R20[redacted]0239 （参考資料）

Abbreviations: 2QW = once every two weeks; 3QW = once in three weeks; BFR/BS = Bone formation rate bone surface referent; BMD = bone mineral density; DXA = dual-energy x-ray absorptiometry; Ec = endocortical; Fab = fragment antigen binding; FEA = finite element analysis; hTNFtg: human tumor necrosis factor transgenic mice; HLU = hindlimb unloaded; L2 = second lumbar vertebra; L5 = fifth lumbar vertebra; m13c7 = Murine sclerostin-neutralizing monoclonal antibody; microCT = micro-computed tomography; MMT = medial meniscal tear; ORX = orchiectomized; pQCT = peripheral quantitative computed tomography; Ps = periosteal; PWB= partial weight bearing; r13c7 = rat 13c7, a rat version of romosozumab; SC = subcutaneous; SD = Sprague-Dawley; Scl-Ab= Sclerostin monoclonal antibody; Tb = trabecular

表 5　副次的薬理試験 – *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ代替抗体（続き）

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
Temporal effects of r13c7 on closed fracture healing	SD Rat closed femur fracture model	Male Sprague-Dawley rats underwent a standard closed femoral mid-diaphyseal fracture stabilized with an intramedullary pin at 12-weeks of age. Animals were injected SC 2QW with vehicle or r13c7 at 25 mg/kg for 1, 2, 3, 5, 7 and 9 weeks (n = 8/group for weeks 1-2; n = 26/group for weeks 3-9). The treatment was initiated at one day post fracture. Endpoints included histomorphometry for all timepoints (n = 8/group) and densitometry (DXA, pQCT and micro-CT) and bone strength testing for the 3, 5, 7, and 9 week groups (n = 18/group).	r13c7 increased bone mass in the fractured femur as early as week 3, with corresponding increases in torsional strength evident at weeks 5 and 9. These improvements were consistent with increases in bone volume and decreases in marrow volume in the external callus, based on the callus compositional evaluation by stereological and histomorphometric measurements. However, r13c7 did not affect the fibrous or cartilaginous portion of the callus. In the intact femur, r13c7 increased bone formation in both the distal metaphysis and cortical midshaft by histomorphometry from weeks 2 to 9, corresponding to similar increases in DXA BMD. There was a transient increase (week 3 to 7) in longitudinal growth rate of the intact distal femur with r13c7 treatment that returned to control levels at week 9 and did not impact the overall length of the femur. These results indicated that Scl-Ab improved fracture repair in the closed femur fracture model primarily by increasing bone volume in the external callus.	R20[redacted]0220

Abbreviations: 2QW = once every two weeks; 3QW = once in three weeks; BFR/BS = Bone formation rate bone surface referent; BMD = bone mineral density; DXA = dual-energy x-ray absorptiometry; Ec = endocortical; Fab = fragment antigen binding; FEA = finite element analysis; hTNFtg: human tumor necrosis factor transgenic mice; HLU = hindlimb unloaded; L2 = second lumbar vertebra; L5 = fifth lumbar vertebra; m13c7 = Murine sclerostin-neutralizing monoclonal antibody; microCT = micro-computed tomography; MMT = medial meniscal tear; ORX = orchiectomized; pQCT = peripheral quantitative computed tomography; Ps = periosteal; PWB= partial weight bearing; r13c7 = rat 13c7, a rat version of romosozumab; SC = subcutaneous; SD = Sprague-Dawley; Scl-Ab= Sclerostin monoclonal antibody; Tb = trabecular

表 5　副次的薬理試験 – *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ代替抗体（続き）

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
Effects of r13c7 on induced osteoarthritis	Lewis rat MMT model	Male Lewis rats (260 to 286 grams) underwent surgery to induce a medial meniscal tear in the right knee joint. Animals were dosed SC, 2QW, with vehicle or 25 mg/kg r13c7 beginning the day of surgery and continuing until three weeks post-surgery (n = 20/group). Endpoints included weight bearing and gait assessment at day 20 and histopathology of the knee joint. An additional assessment of sclerostin protein in the subchondral bone and cartilage was performed.	On day 20, animals in both groups carried significantly more weight on their left legs than their right, but there were no significant differences between the groups for gait analysis or incapacitance. Cartilage degeneration and osteophytes were present in all animals, and moderate sclerosis of the subchondral bone was evident in the medial compartment. Treatment with r13c7 resulted in effects that were similar to the controls for all histopathology parameters including cartilage degeneration width and osteophyte size. Slight though non-significant reductions in total joint score (-2%) and the percent area of any matrix (from 96% to 94%) were present in the r13c7 group. Bone scores for resorption in the subchondral area at greatest risk for cartilage damage were not different from the controls. Greater subchondral bone sclerosis was evident with r13c7 treatment, consistent with its known pharmacological effects on bone. The results of this study indicated that r13c7 treatment enhanced subchondral sclerosis but did not significantly increase the severity of medial meniscal tear induced osteoarthritis.	ROA/AMG-14

Abbreviations: 2QW = once every two weeks; 3QW = once in three weeks; BFR/BS = Bone formation rate bone surface referent; BMD = bone mineral density; DXA = dual-energy x-ray absorptiometry; Ec = endocortical; Fab = fragment antigen binding; FEA = finite element analysis; hTNFtg: human tumor necrosis factor transgenic mice; HLU = hindlimb unloaded; L2 = second lumbar vertebra; L5 = fifth lumbar vertebra; m13c7 = Murine sclerostin-neutralizing monoclonal antibody; microCT = micro-computed tomography; MMT = medial meniscal tear; ORX = orchiectomized; pQCT = peripheral quantitative computed tomography; Ps = periosteal; PWB= partial weight bearing; r13c7 = rat 13c7, a rat version of romosozumab; SC= subcutaneous; SD = Sprague-Dawley; Scl-Ab= Sclerostin monoclonal antibody; Tb = trabecular

表 5　副次的薬理試験 – *In vivo* 試験
被験物質:ロモソズマブ代替抗体（続き）

Type of Study	Test System	Methods	Summary of Results	Report Number
Effects of sclerostin Fab on induced osteoarthritis	Lewis rat MMT model	The smaller size of a Fab of Scl-Ab (Scl-Fab) and its IA administration were hypothesized to facilitate its penetration into the articular cartilage to better determine the effect of sclerostin inhibition in cartilage. Male Lewis rats (281 to 330 grams) underwent surgery to induce a medial meniscal tear in the right knee joint. Animals were dosed IA 2QW with vehicle or 385 µg/50 µL of a Fab control or Scl-Fab beginning 3 days prior to surgery and continuing until three weeks post-surgery (n = 20/group). Endpoints included weight bearing and gait assessment at day 17 and histopathology of the knee joint.	On day 17, animals in both groups carried significantly more weight on their left legs than their right, but there were no significant differences between the groups for gait analysis or incapacitance. Cartilage degeneration, osteophytes, and synovitis were present in all animals. The animals treated with 385 µg of Scl-Fab or Fab control were generally similar to the vehicle controls, with no significant differences by ANOVA analysis. There were modest but significant increases in the width of mild collagen degeneration with both Fabs relative to vehicle controls, but no differences were observed between the Fab groups. These results demonstrated that a locally-delivered smaller fragment of Scl-Ab had no impact on progression of osteoarthritis in a rat medial meniscal tear model.	ROA/AMG-15

Abbreviations: 2QW = once every two weeks; 3QW = once in three weeks; BFR/BS = Bone formation rate bone surface referent; BMD = bone mineral density; DXA = dual-energy x-ray absorptiometry; Ec = endocortical; Fab = fragment antigen binding; FEA = finite element analysis; hTNFtg: human tumor necrosis factor transgenic mice; HLU = hindlimb unloaded; L2 = second lumbar vertebra; L5 = fifth lumbar vertebra; m13c7 = Murine sclerostin-neutralizing monoclonal antibody; microCT = micro-computed tomography; MMT = medial meniscal tear; ORX = orchiectomized; pQCT = peripheral quantitative computed tomography; Ps = periosteal; PWB= partial weight bearing; r13c7 = rat 13c7, a rat version of romosozumab; SC = subcutaneous; SD = Sprague-Dawley; Scl-Ab= Sclerostin monoclonal antibody; Tb = trabecular

表 6　安全性薬理試験
被験物質:ロモソズマブ

Type of Study	Species/ Strain	Method of Admini-stration	Doses (mg/kg)	Sex and No. per Group	Organ System Evaluated	Noteworthy Findings	GLP Compli-ance	Study Number
Neurobehavioral	Rat/Crl:CD(SD)	Intravenous slow bolus injection	0, 30, 100, 300	5M, 5F	CNS	No noteworthy findings NOAEL = 300 mg/kg	Yes	106335
Cardiovascular Respiratory	Monkey/ Cynomolgus	Intravenous injection	0, 30, 100, 300	4F	Cardiovascular	300 mg/kg: Non-adverse increased heart rate; increased systolic, diastolic, and mean arterial pressures at 300 mg/kg in light phase. Changes were not continuous and were not significantly different from control values.	Yes	105781
					Respiratory	No noteworthy findings NOAEL = 300 mg/kg		

GLP = Good Laboratory Practice; M = male; F = female; CNS = central nervous system; NOAEL = no observed adverse effect level

表 7　薬理学的薬物相互作用試験

薬理学的薬物相互作用を評価する試験は実施しなかった。