目次

1. まとめ 5
2. 毒性試験概要....10
2.1 単回投与毒性....10
2.2 反復投与毒性（TK 評価を含む）....11
2.2.1 AMG 785 の SD ラットにおける 14 日間皮下及び静脈内反復投与毒性試験 （105909 試験）....11
2.2.2 AMG 785 の SD ラットにおける 10 週間休薬期間を含む 1 カ月間皮下反復投与毒性試験（105908 試験）....11
2.2.3 AMG 785 の SD ラットにおける週 1 回皮下投与による 6 週間反復投与毒性試験（121854 試験）....12
2.2.4 AMG 785 の SD ラットにおける 14 週間休薬期間を含む週 1 回皮下投与による 6 カ月間反復投与毒性試験（107425 試験）....13
2.2.5 AMG 785 の New Zealand White 雌ウサギにおける 29 日間皮下投与による探索 TK 及び薬力学試験（117870 試験）....14
2.2.6 AMG 785 のカニクイザルにおける 14 日間皮下又は静脈内反復投与毒性試験（105779 試験）....15
2.2.7 AMG 785 のカニクイザルにおける 10 週間休薬期間を含む 1 カ月間皮下及び静脈内反復投与毒性試験（105776 試験）....16
2.2.8 AMG 785 のカニクイザルにおける 14 週間休薬期間を含む週 1 回皮下投与による 6 カ月間反復投与毒性試験（107426 試験）....16
2.3 遺伝毒性 17
2.4 がん原性（TK 評価を含む）....17
2.4.1 投与経路／頻度....18
2.4.2 用量選択 18
2.4.3 群構成動物数....19
2.4.4 試験概要（用量及び動物数）....20
2.4.5 薬理効果と骨格の X 線撮影の評価....20
2.4.5.1 AMG 785 の SD ラットにおける 104 週間皮下投与による生涯投与試験（107895 試験）..20
2.4.5.2 AMG 601 及び AMG 589 の SD ラットにおける 2 週間の休薬期間を含む 28 日間皮下反復投与探索毒性試験（115823 試験）....22
2.4.5.3 IgG_2 対照抗体（AMG 589）の SD ラットにおける 104 週間皮下投与によるがん原性試験（115707 試験）....22
2.5 生殖発生毒性（用量設定試験及び TK 評価を含む）....23
2.5.1 AMG 785 のラットにおける皮下投与による生殖発生毒性用量設定試験（108057 試験） 24
2.5.2 AMG 785 のラットにおける皮下投与による胚・胎児発生毒性試験（108059 試験） 24
2.5.3 AMG 785 のラットにおける生殖能及び胚・胎児発生毒性試験（108061 試験） 25
2.5.4 AMG 785 の SD ラットにおける出生前及び出生後発生に関する試験（108062 試験） 26
2.6 局所刺激性 27
2.6.1 AMG 785 の雌 SD ラットにおける観察期間 7 日間を含む単回皮下及び静脈内投与による局所刺激性試験（106718 試験）....27
2.6.2 AMG 785 の SD ラットにおける単回皮下投与による局所刺激性試験（112795 試験） 28
2.6.3 AMG 785 の雄 SD ラットにおける単回皮下投与による局所刺激性試験（113234 試験） .28
2.7 その他の毒性試験....28
2.7.1 免疫原性 28
2.7.2 免疫毒性 29
2.7.2.1 Fc エフェクター機能....29
2.7.3 作用機序試験....30
2.7.3.1 Scl-Ab（r13C7）の OVX 老齢雌 SD ラットにおける単回皮下投与による探索毒性試験（115877 試験）....30

2.7.3.2 Scl-Ab（r13C7）の OVX 老齢雌 SD ラットにおける 18 週間の休薬期間を含む 26 週間皮下投与毒性試験（115777 試験）....35
2.7.3.3 AMG 785 及び hPTH (1-34)の SD ラットにおける 26 週間皮下投与探索毒性試験（115776 試験）....46
2.7.4 依存性....54
2.7.5 代謝物に関する試験....54
2.7.6 不純物に関する試験....54
2.7.7 その他の試験....54
2.7.7.1 Biotin 化 AMG 785 のヒト、カニクイザル、New Zealand White ウサギ及び SD ラットにおける組織交差反応性試験（105783 試験）....54
2.7.7.2 AMG 785 の OVX 雌 SD ラットにおける週 1 回皮下投与による 12 カ月間骨質試験（107899 試験）....55
2.7.7.3 AMG 785 の OVX 老齢カニクイザルにおける 6 カ月皮下投与による薬力学試験（118025 試験）....55
2.7.7.4 AMG 785 の OVX 老齢カニクイザルにおける週 1 回皮下投与による 52 週間骨質試験（107903 試験）....56
2.7.8 環境への配慮....57
3. 考察及び結論....57
4. 参考文献....60

略語一覧

略語又は用語	定義／説明
ADA	anti-drug antibodies（抗薬物抗体）
ALP	alkaline phosphatase（アルカリホスファターゼ）
ANOVA	analysis of variance（分散分析）
AUC	area under the concentration-time curve（濃度–時間曲線下面積）
BAP	bone-specific alkaline phosphatase（骨型アルカリホスファターゼ）
BFR/BS	bone formation rate/bone surface（骨形成速度／骨面）
BMC/vBMC	bone mineral content/volumetric bone mineral content（骨塩量／ボリュメトリック骨塩量）
BMD/vBMD	bone mineral density/volumetric bone mineral density（骨密度／ボリュメトリック骨密度）
BQL	below quantifiable limit（定量限界未満）
BS	bone surface（骨面）
BV/TV	bone volume/tissue volume（骨量／組織容量）
C_0	initial concentration（初期濃度）
CGRP	calcitonin gene-related peptide（カルシトニン遺伝子関連ペプチド）
C_{max}	maximum concentration（最高血中濃度）
CHMP	Committee for Medicinal Products for Human Use
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）
DEG	differentially expressed genes（発現量が異なる遺伝子）
DG	day of gestation（妊娠日）
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）
ECM	extracellular matrix（細胞外マトリックス）
EFD	embryo-fetal development（胚・胎児発生）
F	female（雌）
FDA	Food and Drug Administration（米国食品医薬品局）
GLP	Good Laboratory Practice（医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準）
GO	Gene Ontology（遺伝子オントロジー）
hPTH	human parathyroid hormone（ヒト副甲状腺ホルモン）
ICH	International Council for Harmonisation（医薬品規制調和国際会議）
IgG_2	Immunoglobulin G_2（免疫グロブリン G_2）
L	lumbar vertebrae (followed by vertebrae number)（腰椎、続いて椎体番号）
LC or L.Ce	lining cells（ライニング細胞）
L.Ce.Fp	lining cell footprint（ライニング細胞フットプリント）
L.Ce.N	lining cell number（ライニング細胞数）
LCM	laser capture microdissection（レーザーキャプチャーマイクロダイセクション）
LD	lactation day（授乳日）
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）
M	male（雄）
Ma.OP or Ma.Op.N	marrow osteoprogenitors; marrow osteoprogenitor number（骨髄骨前駆細胞；骨髄骨前駆細胞数）
MAR	mineral apposition rate（骨石灰化速度）
Ma.St.Ce.N	marrow stromal cell number（骨髄間質細胞数）
Ma.V	marrow volume（骨髄量）
micro-CT	micro-computed tomography（マイクロコンピュータ断層撮影法）
MS/BS	mineralizing surface/bone surface（骨石灰化面／骨面）
NOAEL	no observable adverse effect level（無毒性量）
OB or Ob	osteoblast(s)（骨芽細胞）
OCy	osteocytes（骨細胞）

略語又は用語	定義／説明
Ob.Fp	osteoblast footprint（骨芽細胞フットプリント）
Ob.N	osteoblast number（骨芽細胞数）
Ob.N/Ob.S	osteoblast density per unit of osteoblastic surface（骨芽細胞面単位当たりの骨芽細胞密度）
Ob.S*MAR/Ob.N	osteoblast vigor（骨芽細胞活性）
Ob.S/BS	osteoblastic surface/bone surface（骨芽細胞面／骨面）
Oc.S/BS	osteoclastic surface/bone surface（破骨細胞面／骨面）
OCN	osteocalcin（オステオカルシン）
OVX	ovariectomized（卵巣摘出）
P1NP	pro-collagen type 1 N- propeptide（I 型プロコラーゲン N 末端プロペプチド）
pQCT	peripheral quantitative computed tomography（末梢骨定量的コンピュータ断層撮影法）
Ptb.OP or PTb.Op.N	peritrabecular osteoprogenitor; peritrabecular osteoprogenitor number（海綿骨周辺骨前駆細胞／海綿骨周辺骨前駆細胞数）
PTH	parathyroid hormone（副甲状腺ホルモン）
PPN	pre -postnatal development（出生前及び出生後発生）
Q4W	every 4 weeks（4 週に 1 回）
QM	monthly（月 1 回）
QW	once a week（週 1 回）
RANKL	receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand（NFκB 活性化受容体リガンド）
SC	subcutaneous or subcutaneously（皮下）
Scl-Ab or Scl-ab	anti-sclerostin antibody (sclerostin neutralizing antibody)（抗スクレロスチン抗体）
SD	Sprague Dawley
S.E.	standard error of the mean（平均の標準誤差）
SOST	sclerostin（スクレロスチン）
Tb	trabecular（海綿骨）
TFP	treatment-free period（休薬期間）
TK	toxicokinetics（トキシコキネティクス）
veh	vehicle（媒体）

1. まとめ

ロモソズマブ（AMG 785）は、スクレロスチンに高い親和性（平衡解離定数［Kd］は、ヒトスクレロスチンが 11 pM、カニクイザルスクレロスチンが 23 pM、ラットスクレロスチンが 3 pM）を有するヒト化免疫グロブリン G_2（IgG_2）モノクローナル抗体で、スクレロスチンに結合しその作用を阻害する。スクレロスチンは骨細胞から分泌され、古典的 Wnt シグナルを細胞外から阻害することにより骨形成を抑制する（Poole et al, 2005; van Bezooijen et al, 2004）。ロモソズマブはスクレロスチンが低比重リポタンパク受容体関連タンパク 5 及び 6（LRP5 及び LRP6）に結合することを阻害し、Wnt リガンドからの古典的 Wnt シグナルを活性化させる。その結果、骨形成を促進させ、骨吸収を減少させる（Baron and Kneissel, 2013）。

ロモソズマブの非臨床安全性プロファイルを明らかにするための一連の毒性試験は、該当のガイドライン、特に医薬品規制調和国際会議（ICH）S5 (R2)、M3 (R2)及び S6 (R1)（International Conference on Harmonisation, 1996; International Conference on Harmonisation, 2010; International Conference on Harmonisation, 2012）、及び原発性骨粗鬆症の医薬品評価に関するガイドライン（European Medicines Agency (EMA), Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP), 2007）に準拠して実施された。

ロモソズマブはヒト、ラット及びカニクイザルのスクレロスチンと同様の親和性で結合し薬理効果を示すことから、臨床プログラムをサポートする一般毒性試験には Sprague Dawley（SD）ラット及びカニクイザルを用いた。ロモソズマブの臨床適応を考慮して、推奨されている閉経後骨粗鬆症動物モデル（CHMP, 2007）である卵巣摘出（OVX）老齢ラット及びカニクイザルを用いて、骨の安全性について評価した（モジュール 2.6.2 第 2.2.1 項）。ロモソズマブはウサギで高い免疫原性を示すため、ウサギは毒性試験には適さない。そこで、生殖発生毒性はラットにおいてのみ評価した。全ての反復投与毒性試験は、臨床投与経路である皮下（SC）投与で実施したが、一部の試験は高い全身曝露を得るために静脈内（IV）投与で実施した。毒性試験の投与頻度は週 1 回（QW）で、薬理作用のある範囲が含まれるように、またヒトのリスクを評価する上で曝露量に適切なマージンがあるように設定した。主要な毒性試験では、骨形成、骨吸収及び骨量の評価項目（骨形成及び骨吸収バイオマーカー、海綿骨及び皮質骨骨密度、海綿骨及び皮質骨の生体力学的強度，骨形態計測）を考慮した（モジュール 2.6.2 第 2.2.1 項）。製剤変更に対応して、ラットにおいて複数の局所刺激性試験を実施した。スクレロスチンの慢性的な抑制による発がんリスクを評価するために、ラットの生涯投与（がん原性）試験を実施した。他に、異種抗体の生涯曝露の影響を検討するために、薬理作用がない「null 抗体」（AMG 589、ヒトカルシトニン遺伝子関連ペプチド（CGRP）に対するヒト IgG_2 モノクローナル抗体）を用いて、ラットにおいて同様の生涯投与試験を行った。発がんリスク評価のサポートのため、ロモソズマブとヒト副甲状腺ホルモン（hPTH (1-34)）の骨芽細胞系への作用の違い及び抗スクレロスチン抗体（スクレロスチン中和抗体）の作用メカニズムを検討するための試験も実施した。ヒト、サル、ウサギ及びラットの正常組織について組織交差反応性を、ビオチン化したロモソズマブを用いて評価した。主要な毒性試験及びトキシコキネティクス（TK）試験は、米国食品医薬品局（FDA）、経済協力開発機構（OECD）及び日本の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）を遵守して実施した。毒性試験に使用したロモソズマブのロットは、モジュール 2.6.7 表 4 に示した。

ロモソズマブの非臨床毒性試験一覧を表 1 に示す。

表 1　非臨床毒性試験一覧

Study Title	Testing Facility	GLP	Amgen Study No.
Repeat-dose Studies			
A 14-Day Subcutaneous and Intravenous Injection Toxicity Study of AMG 785 in the Sprague Dawley Rat	[redacted] Canada	No	105909
1-Month Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMG 785 in the Sprague Dawley Rat With a 10-Week Recovery Period	[redacted] Canada	Yes	105908
AMG 785: A 6-Week (Once Weekly) Subcutaneous Injection Toxicology Study in the Sprague Dawley Rat	[redacted] Canada	Yes	121854
6-Month Subcutaneous Injection Toxicity Study of Weekly Administration of AMG 785 in the Sprague Dawley Rat With a 14-Week Treatment-free Period	[redacted] Canada	Yes	107425
AMG 785: 29-Day Subcutaneous Injection Exploratory Toxicokinetic and Pharmacodynamic Study in the Female New Zealand White Rabbit	[redacted] Canada	No	117870
14-Day Subcutaneous or Intravenous Injection Toxicity of AMG 785 in Cynomolgus Monkeys	[redacted]	No	105779
1-Month Subcutaneous and Intravenous Injection Toxicity Study of AMG 785 in the Cynomolgus Monkey Followed by a 10-Week Recovery Period	[redacted] Canada	Yes	105776
6-Month Subcutaneous Injection Toxicity Study of Weekly Administration of AMG 785 in the Cynomolgus Monkey With a 14-Week Treatment-free Period	[redacted] Canada	Yes	107426
Carcinogenicity			
AMG 785: 104 Week Subcutaneous Lifetime Pharmacology Study in the Sprague Dawley Rat	[redacted] Canada	Yes	107895

GLP = good laboratory practices.

表 1　非臨床毒性試験一覧（続き）

Study Title	Testing Facility	GLP	Amgen Study No.
Carcinogenicity			
AMG 601 and AMG 589: Exploratory 28-day Subcutaneous Toxicology Study in the Sprague Dawley Rat With a 2-Week Recovery	Amgen Inc Thousand Oaks, CA	No	115823
IgG_2 Control Antibody (AMG 589): 104 Week Subcutaneous Carcinogenicity Study in the Sprague Dawley Rat	[redacted], [redacted], [redacted] Canada	Yes	115707
Reproductive and Developmental Toxicity			
Subcutaneous Dose-range Finding Development Study of AMG 785 in Rats	[redacted]	Yes	108057
Subcutaneous Developmental Toxicity Study of AMG 785 in Rats	[redacted]	Yes	108059
AMG 785: Fertility and Embryo-fetal Development Study in the Rat	[redacted]	Yes	108061
AMG 785: Pre- and Postnatal Development Study in the Sprague-Dawley Rat	[redacted]	Yes	108062
Local Tolerance			
7-Day Subcutaneous and Intravenous Single Injection Site Reaction Study of AMG 785 in Female Sprague Dawley Rats	Amgen Inc. Thousand Oaks, CA	No	106718
Local Tolerance Test in Sprague Dawley Rats After Single Subcutaneous Administration of AMG 785	[redacted]	Yes	112795
Single Dose Subcutaneous Local Tolerability Study of AMG 785 in Male Sprague Dawley Rats	Amgen Inc. Seattle, WA	No	113234
Mechanistic Studies			
r13C7: Exploratory Single Dose Subcutaneous Toxicology Study in the Aged Ovariectomized Female Sprague Dawley Rat	Amgen Inc. Thousand Oaks, CA	No	115877

GLP = good laboratory practices.

表 1　非臨床毒性試験一覧（続き）

Study Title	Testing Facility	GLP	Amgen Study No.
Other Toxicity Studies			
Mechanistic Studies			
r13C7:Exploratory 26-Week Subcutaneous Toxicology Study in Aged Ovariectomized Female Sprague Dawley Rat With an 18-Week Recovery	Amgen Inc. Seattle, WA	No	115777
AMG 785 and hPTH (1-34): Exploratory 26-Week Subcutaneous Toxicology Study in the Sprague Dawley Rat	Amgen Inc. Seattle, WA	No	115776
Other Studies			
Cross-reactivity Study of Biotin-AMG 785 With Normal Human, Cynomolgus Monkey, New Zealand White Rabbit and Sprague Dawley Rat Tissues	[redacted]	Yes	105783
A 12-Month Bone Quality Study to Determine the Effects of Weekly Subcutaneous Injection of AMG 785 in the Ovariectomized Sprague-Dawley Rat	[redacted] Canada	Yes	107899
AMG 785: 6 Month Subcutaneous Pharmacodynamic Study in the Aged Ovariectomized Cynomolgus Monkey	[redacted] Canada	Yes	118025
A 52 week Bone Quality Study to Determine the Effects of Weekly Subcutaneous Injection of AMG 785 in the Aged Ovariectomized Cynomolgus Monkey	[redacted] Canada	Yes	107903

Page 3 of 3

GLP = good laboratory practices.

ロモソズマブの忍容性は良好で、反復投与毒性試験では毒性は認められなかった。反復投与毒性試験では、ラット及びカニクイザルに週 1 回投与でロモソズマブの 300 mg/kg までの用量を 14 日間又は 1 カ月間、100 mg/kg までの用量を 6 カ月間投与した。この結果、投与に関連した変化は骨への直接又は間接的な薬理作用によるものであった。ラット及びサルにおける 6 カ月間反復投与試験の 100 mg/kg（両動物種での最高用量）までの全用量における骨形態計測、骨密度、骨生体力学あるいは骨バイオマーカーについての総合的な評価の結果、ロモソズマブは投与 4 週間で骨形成バイオマーカーに最大の変化を起こし、海綿骨、内骨面及び骨膜面での骨形成を増加させたが、投与の継続により作用は徐々に減弱した。ラットにおいて頭蓋冠と長骨の肥厚及び硬固な骨髄が肉眼的に観察され、ラット及びサルにおいて皮質骨と海綿骨の骨量には用量に依存した増加が認められた。両動物種で休薬後に骨量への影響は一部もとに戻り、低用量でそれは顕著であった。サルで骨の生物力学及び灰分の分析により、正常な骨質及び石灰化がロモソズマブ投与により維持されることが明らかになった。ラットでは投与期間中は骨吸収パラメータに影響はなく、休薬期間にごくわずかに増加した。骨への薬理作用の二次的な影響と考えられることとして、ラットでは代償性の髄外造血を伴った軽度の再生性貧血、血小板容積の増加と軽度の血小板数減少及び血清リンの増加が認められ、サルでは血清カルシウム及びリンのわずかな低下がみられた。これらの変化はすべておおむね可逆的であり、休薬期間の終了時にはラットでは骨量への影響の減弱とともにわずかな骨髄の造血細胞増加がみられたのみであった。ラット及びサルの反復投与毒性試験の投与部位には、局所のわずかな炎症性細胞浸潤が認められたが、忍容性は良好であった。ロモソズマブの 50 mg/kg までの用量を

ラットに 6 週間反復投与して頭蓋骨への影響を評価した試験で認められた、用量に依存した組織学的な骨量増加は、薬理作用による添加的な膜内骨形成の結果であった。

骨への安全性及び骨質の評価に加え、他の安全性評価項目も OVX ラット及び OVX 老齢カニクイザルに 12 カ月間ロモソズマブを投与した骨質試験で行われた。サルにおける投与前及び投与後の X 線画像診断により、ロモソズマブ投与によって関節炎や脊椎症のような退行性の骨病変の悪化や大動脈の石灰化は起こさないことが示された。末梢血リンパ球のイムノフェノタイピングにおいて、B 細胞の相対又は絶対数にロモソズマブ投与は影響していなかった。

ICH S6（International Conference on Harmonisation, 2012）に沿って、ロモソズマブの遺伝毒性試験は行わなかった。ロモソズマブの発がん性を評価するためにデザインした生涯投与試験では、ロモソズマブの 50 mg/kg までの用量を週 1 回最長 98 週間投与したところ、腫瘍発生の増加はなかった。生涯にわたる異種抗体曝露の影響を検討するために、免疫原性を有し薬理学的には不活性なヒトモノクローナル抗体をラットに生涯投与したが、腫瘍発生及び非腫瘍性病変に投与による影響はみられなかった。

ロモソズマブのラット胚・胎児発生に関する影響は、300 mg/kg を投与した際の第 6 頸椎椎弓化骨不全の頻度増加に限られた。これはヒトでは見られない解剖学的構造における発育遅延を示す骨格変異であり、生後には消失していた。胚・胎児発生に関する試験において 300 mg/kg を投与した 1 匹の母体の同腹胎児 7 匹に、合指及び多指を含む外表及び骨格の奇形がみられたが、全ての生殖発生毒性試験を通じて、同用量が投与された 75 匹の母動物うちの 1 匹、1021 匹の胎児あるいは出生児のうちの 7 匹にみられたことになる。奇形が認められたのは同じ 1 匹の母体から生まれた胎児のみであったこと、さらに、より高い曝露量を示した生殖能及び胚・胎児発生併合試験では奇形が認められなったことから、これらの所見はロモソズマブ投与とは関連がないと判断された。ロモソズマブの 300 mg/kg までの用量では、ラットにおいて雌雄の生殖能あるいは生殖器官重量には影響を及ぼさず、生後発育への影響としては大腿骨骨量のわずかな変化に限られた。

生殖発生毒性試験の二番目の動物種として適合するかを評価するために実施したウサギの 4 週間反復投与試験において、ロモソズマブはウサギで高い免疫原性を示し、一部の動物では重篤な免疫複合体病が起こったため、ロモソズマブの胚・胎児発生への影響を評価するのにウサギは適切ではないと考えられた。

ラットにおける局所刺激性試験では、ロモソズマブの酢酸ナトリウム及び酢酸カルシウム両製剤について検討し、局所反応はロモソズマブの濃度に依存してみられたが、同一の濃度では製剤間で同等であった。反復投与毒性試験では酢酸ナトリウム及び酢酸カルシウムの両製剤を使用し、いずれの試験においてもロモソズマブの局所の忍容性は良好で、投与に関連してみられた変化は軽微な炎症性細胞の浸潤であった。

ロモソズマブはラット及びカニクイザルで免疫原性を示す。抗薬物抗体（ADA）はロモソズマブの曝露あるいは薬理効果を減弱させることがあるため、ADA の有無、免疫応答の強さの指標としてのシグナル/ノイズ（S/N）比、血清中ロモソズマブ濃度を用いて、動物の除外基準を設定した。この基準を、6 カ月間反復投与毒性試験、生殖能及び胚・胎児発生あるいは出生前及び出生後発生に関する試験、生涯投与試験、骨質試験及び hPTH (1-34)との作用機序比較試験に用いて、十分な評価を行うことができた。各試験は、ADA 陽性の動物を除外した後も十分な検出力を持っていた。

発がんリスク評価のサポートのため、ロモソズマブと hPTH (1-34)の骨芽細胞系への作用の差別化あるいは抗スクレロスチン抗体の分子メカニズムを検討するための試験を実施した。ロモソズマブを長期間投与すると、hPTH と同等に骨形成を維持したが、骨芽細胞の密度は低く骨前駆細胞数は少なかった。一方で、hPTH は骨芽細胞密度と骨前駆細胞数を増加させるため、結果として骨前駆細胞プールを刺激し、ラットにおいて骨の発がんリスクをもたらすことが考えられる。ラットにおける転写活性に関する実験では、ロモソズマブが限られた数の古典的 Wnt 標的遺伝子を速やかに活性化すること及び骨形成の自己調整が骨前駆細胞数の減少と関連することが明らかとなった。骨前駆細胞数の減少は、骨細胞のがん抑制シグナル伝達経路のアップレギュレーションと時間的に相関し、これが細胞分裂及び細胞周期の進行を抑制し、ラットにおける骨の発がんリスクを低下させると考えられる。

組織交差反応性試験では、ビオチン化したロモソズマブとヒト、サル、ウサギ及びラットの正常組織切片との結合について評価した。認められた組織反応性は、ヒト、サル及びウサギの骨細胞及びサル 1 匹の心臓切片での大動脈と肺動脈の間質線維に限られた。

総合すると、ロモソズマブ投与による影響は薬理効果の直接又は間接的な作用によるものに限られた。投与による影響は、全般に雌雄で同様にみられた。ラット又はカニクイザルにおけるロモソズマブの曝露量は、ヒト被験者に 210 mg を月 1 回投与した際の曝露量の 38～93 倍と十分に高かったが、毒性は認められなかった（表 6）。ヒト被験者の曝露量の 56 倍においても、ラットの生殖能及び胚・胎児又は出生後発生には影響しなかった。ラット生涯投与試験では、臨床曝露量の 19 倍においてロモソズマブ投与に関連した腫瘍発生はなかった（表 2）。結論として、これらの非臨床試験結果から、臨床上対象となる集団における安全上のリスクを示唆するものはないことが示された。

2. 毒性試験概要

2.1 単回投与毒性

ロモソズマブについては、ICH S6 (R1)及び ICH M3 (R2)に従い、単回投与毒性試験は実施しなかった。ラット抗スクレロスチン抗体である r13C7 を用いた単回投与探索毒性試験（115877 試験）の結果から、抗スクレロスチン抗体を単回投与した時の作用機序を検討した（第 2.7.3.1 項）。
100 mg/kg まで投与したが、死亡及び急性症状はみられず、概略の致死量は 100 mg/kg よりも高かった。一方で、安全性薬理試験でカニクイザル又はラットに単回静脈内投与（300 mg/kg）したとき（モジュール 2.6.2 第 4 項）、反復投与毒性試験でカニクイザル又はラットに 300 mg/kg までの用量で静脈内あるいは皮下に初回投与したとき（第 2.2 項）、急性毒性は認められなかった。概略の致死量は 300 mg/kg よりも高かった。

2.2 反復投与毒性（TK 評価を含む）

2.2.1 AMG 785 の SD ラットにおける 14 日間皮下及び静脈内反復投与毒性試験（105909 試験）

成熟した雌雄の SD ラット（本試験：5 匹／性／群、TK 評価：8 匹／性／群［対照群：4 匹／性］）に、ロモソズマブを 0、30、100 及び 300 mg/kg の用量で週 1 回、14 日間反復皮下投与、又は 300 mg/kg の用量を週 1 回、14 日間反復静脈内投与した。

投与による死亡はなく、臨床症状、体重、摂餌量、血液検査、尿検査又は臨床生化学検査（血清電気泳動を含む）、又は肉眼所見に、投与に関連した変化はなかった。ロモソズマブの薬理作用として、骨形成の亢進を示唆するマーカーである血清オステオカルシン（OCN）の増加（投与前から 30～50%）及び総アルカリホスファターゼ（ALP）の増加（投与前から 10～35%）が、概して全投与群で用量に依存せずに観察された。骨吸収マーカーである I 型コラーゲン架橋 C-テロペプチド（CTX）及びデオキシピリジノリン（DPD）は、変化しなかった。これらの結果は、正常な層板骨で構成された海綿骨幅の増加を特徴とする軽微な過骨症（骨量増加）と関連していた。脾臓での軽微な髄外造血の増加に関連して、300 mg/kg を静脈内投与した雌では脾臓重量のわずかな増加がみられた。

本試験の TK は、モジュール 2.6.4 第 3.2.1 項に記載した。毒性が認められなかったことから、本試験の無毒性量（NOAEL）は皮下投与及び静脈内投与ともに 300 mg/kg であった。この用量における雌雄平均の最高血中濃度（C_{max}）は 2.09 mg/mL（皮下投与）及び初期濃度（C_0）は 7.99 mg/mL（静脈内投与）であった。NOAEL での血中濃度−時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}168h}$）は、254 mg•hr/mL（皮下投与）及び 608 mg•hr/mL（静脈内投与）であった。

2.2.2 AMG 785 の SD ラットにおける 10 週間休薬期間を含む 1 カ月間皮下反復投与毒性試験（105908 試験）

成熟した雌雄の SD ラット（本試験：10 匹／性／群、回復試験：5 匹／性／群、TK 評価：12 匹／性／群）に、ロモソズマブを 0、10、100 及び 300 mg/kg の用量で週 1 回、4 週間反復皮下投与し、その後 10 週間の休薬期間を設けた。

投与による死亡はなく、臨床症状、体重、体重増加量、摂餌量、眼科学的検査（眼底及び生体顕微鏡検査）、尿検査又は肉眼所見に投与に関連した変化はなかった。

薬理作用として、骨形成マーカーの OCN 及び総 ALP が対照群と比較すると、全投与群において用量に依存しないもののそれぞれ最高で約 59 及び 42%増加した。骨吸収マーカーの尿 DPD には影響はなかった。末梢骨定量的コンピュータ断層撮影法（pQCT）による測定により、用量には依存しないものの、脛骨骨幹部のすべての領域（全骨、海綿骨及び皮質／皮質下）で骨量増加（面積、容積骨塩密度［vBMD］及び容積骨塩量［vBMC］）が明らかであった。海綿骨 vBMD は、対照群と比較して約 57%まで増加した。骨膜周囲長の増加及び内骨面周囲長の減少（雌のみ）と関連して、総皮質骨面積、皮質骨厚及び皮質骨 vBMC の増加が、脛骨骨幹で顕著に認められた。これらの薬理作用と一致して、ロモソズマブを投与した多く動物の胸骨及び脛骨で組織学的に過骨症（骨増殖）が用量に依存して認められ、雄に比べて雌で強かった。

休薬期間終了時、骨形成マーカーは概して対照群と同等又は低かったが、骨吸収マーカーの DPD は増加した。pQCT による評価では、骨量は維持又は増加した。病理組織所見では、骨化亢進が雌で増加したが、雄では変わらなかった。骨量のさらなる増加は、休薬期間の最初の 4 週間の骨形成に対する効果の持続の結果と考えられた。

骨に対する薬理作用の二次的な変化と考えられることとして、軽度の貧血に対する再生性貧血（網赤血球の増加を伴う赤血球パラメータの低下）が認められたが、休薬期間では減弱した。軽度の血小板数の減少及び血小板容積の増加が観察され、休薬期間終了時まで持続した。これらの血液学的検査における変化は、骨髄ニッチにある骨芽細胞への影響、及び骨量増加の結果起こった骨髄腔減少による二次的な変化と考えられた。代償性の髄外造血が雌雄で認められ、100 mg/kg 以上の雌では休薬期間中も持続した。10 mg/kg 以上の雄で、可逆的な脾臓重量の増加がみられた。血清リンと血清電解質（ナトリウム、カリウム、クロール）の軽微かつ一過性の上昇も認められた。

一過性で軽微な血中尿素の上昇は、骨形成の著しい増加に関連したタンパク代謝の亢進による二次的な変化と考えられた。雌でみられた血清タンパク電気泳動パターンのわずかで可逆性の変化は、高濃度のロモソズマブを投与したことによる IgG_2 濃度の上昇を反映するものであり、ロモソズマブの作用との関連はないと推測された。

ロモソズマブを投与したラットにおいて、投与 4 週までに約 18%、休薬期間終了時までに 44%の動物で ADA の産生が認められた。ADA 陽性ラットのうち、10 mg/kg の雄 1 匹と雌 2 匹、300 mg/kg の雄 4 匹と雌 1 匹では、週 1 回の投与を 4 回行った後に曝露量が減少した。本試験の TK については、モジュール 2.6.4 第 3.2.1 項に記載した。

本試験では毒性が認められなかったことから、NOAEL は 300 mg/kg で、NOAEL での雌雄平均 C_{max} は 1.54 mg/mL 及び $AUC_{0\text{-}168h}$ は 176 mg•hr/mL であった。

2.2.3 AMG 785 の SD ラットにおける週 1 回皮下投与による 6 週間反復投与毒性試験（121854 試験）

現在非臨床開発段階にある、スクレロスチンと Dkk1 活性の両方を阻害する二重特異性モノクローナル抗体をラットに 6 週間投与したところ、期待した薬理作用である全身性の骨量増加に加え、予期しない頭蓋顔面骨の線維芽細胞／骨芽細胞の増殖及び出血を伴う線維性骨の形成が認められた。この頭蓋骨の変化は、スクレロスチンと Dkk1 の双方の不活化により、Wnt シグナルの阻害が広範に解消されたことで生じた可能性が考えられる。

そのため、本試験はロモソズマブをラットに 6 週間反復投与した際の、頭蓋骨への影響を評価するため実施した。

雌雄の SD ラットにロモソズマブを 0（10 匹／性）、3（25 匹／性）、10（20 匹/性）及び 50（20 匹／性）mg/kg の用量を週 1 回で反復皮下投与した。投与 22 日及び 43 日に、ADA 陽性で血清ロモソズマブ濃度の低い動物を試験から除外した。除外後の動物数は、3 mg/kg で雄 21 匹及び雌 19 匹、10 mg/kg で雄 16 匹及び雌 16 匹及び 50 mg/kg で雄 16 匹及び雌 17 匹であった。

死亡はなく、臨床症状、体重及び肉眼所見に、ロモソズマブ投与に関連した変化は認められなかった。投与に関連した頭蓋骨の病理組織所見は、用量に依存した軽微から軽度の骨量増加で、薬理作用による添加的な膜内の骨形成増加の結果であった。ロモソズマブを投与した数例のラットでみ

られた骨膜下の膜内骨は、線維性骨と層板骨が混在しており、胚性の膜内骨形成でみられるような細胞性の間葉組織とは関連しなかった。本薬投与でみられた膜内骨は、線維性骨の小さな島状の断片が丈の低い単層立方状の骨芽細胞に覆われて架橋したようにみえたもので、引き続いて層板骨が沈着した。

これらの結果、ラットにロモソズマブを 6 週間反復皮下投与しても、スクレロスチンと Dkk1 活性の両方を阻害する二重特異性モノクローナル抗体でみられた頭蓋骨の変化は認められなかった。

2.2.4 AMG 785 の SD ラットにおける 14 週間休薬期間を含む週 1 回皮下投与による 6 カ月間反復投与毒性試験（107425 試験）

雌雄の SD ラットに、ロモソズマブを 0、3、10 及び 100 mg/kg の用量を週 1 回 26 週間反復皮下投与し、その後に 14 週間の休薬期間を設けた。本試験群に 10 匹／性／群を、可逆性評価用に全投与群で 5 匹／性／群を、TK に 10 匹／性／群を用いた。十分な毒性評価を行うために、統計解析は ADA による全身曝露への影響がない動物に限定した。すなわち、途中死亡例（投与終了前に死亡した 100 mg/kg の雄 2 匹を除く）、投与 26 週で ADA 陽性でロモソズマブ濃度が定量限界未満（BQL）あるいは投与 27 週で血清中ロモソズマブ濃度が各投与群の ADA 陰性動物の平均値の半分以下の本試験動物、及び投与 26 週で ADA 陽性で 28 週にロモソズマブ濃度が BQL であった可逆性評価用動物は、統計解析及び評価から除外した。除外後の本試験群は、媒体対照（雄 10 匹、雌 9 匹）、3 mg/kg（雌雄各 6 匹）、10 mg/kg（雄 6 匹、雌 9 匹）及び 100 mg/kg（雄 7 匹、雌 8 匹）で、可逆性評価用は、媒体対照（雌雄各 5 匹）、3 mg/kg（雌雄各 3 匹）、10 mg/kg（雄 4 匹、雌 5 匹）及び 100 mg/kg（雄は 4 匹、雌は 5 匹）であった。

ロモソズマブ投与による死亡はなく、臨床症状、体重、体重増加量、摂餌量、眼科学的検査（眼底及び生体顕微鏡検査）、尿検査又は pQCT による脛骨中央部の軟部組織（筋肉部分）（対照群と 3 mg/kg 群で投与開始前と投与 25/26 週に実施）にロモソズマブ投与に関連した変化はなかった。

骨に対するロモソズマブの薬理作用は、骨バイオマーカー、骨密度（腰椎及び大腿骨近位部の二重エネルギーX 線吸収測定法［DXA］と脛骨骨幹端及び脛骨骨幹の pQCT）及び骨形態計測により評価した。骨形成マーカー（OCN 及び総 ALP）の上昇は投与 4 週が最高で、投与 26 週まで対照群のレベルに徐々に減少し、休薬期間では対照群と同等であった。骨吸収マーカーは、投与期間中には変化がみられなかったが、休薬期間中にわずかな上昇が認められた。投与期間中の骨形成マーカーの変化を反映し、全般に骨密度は投与期間前半に用量に依存して最も増加した。大腿骨では、10 あるいは 100 mg/kg で骨塩量（BMC）及び骨面積の増加を伴い、骨密度（BMD）が用量に依存して増加した。腰椎では、椎体海綿骨面積、BMC 及び BMD が用量に依存して増加し、投与 26 週の BMC 及び BMD は対照群のそれぞれ約 1.7 及び 1.5 倍であった。脛骨骨幹端の pQCT では、海綿骨 vBMC 及び vBMD が用量に依存して増加し、投与 26 週では対照群のそれぞれ約 3.5 及び 2.5 倍であった。脛骨骨幹では、投与によって全般に骨膜周囲長が増加し内骨面周囲長が減少した結果、皮質骨幅が増加した。休薬期間終了時には、100 mg/kg では骨量に対する影響がおおむね持続した。3 及び 10 mg/kg では骨量は対照群より高く維持されたが、BMC 及び BMD の減少を反映した骨吸収マーカーの増加に関連し、骨量に対する影響はわずかに減弱した。

骨形成に対する最大の作用は投与期間の初期にみられたが、投与 26 週の椎体海綿骨及び脛骨骨幹の骨形態計測の指数の変化によって、骨形成に対する作用が持続したことが示された。椎体海綿骨において、骨形成指数の上昇は雄ではみられなかったが、雌では 10 mg/kg 以上で認められ、投与期間中の骨形成バイオマーカーの変化で示された骨形成の自己調節と一致した動きを示した。脛骨骨幹において、100 mg/kg では pQCT で観察された皮質骨形状の変化は骨膜面及び内骨面の形成指標の増加に対応したが、低中用量では明らかではなかった。休薬期間では、椎体海綿骨の骨形成指標は骨量の減少の一因となる骨代謝回転の増加をおそらく反映して、対照群と比較して 3 及び 10 mg/kg では全般に同等か高かったが、100 mg/kg では同等か低かった。3 及び 10 mg/kg の動的指数は、おおむね対照群と同等か高かった。100 mg/kg では、脛骨骨幹の骨膜周囲長の増加及び内骨面周囲長の低下が休薬期間中持続し、骨膜の形成指標は全般に抑えられ、対照群に比べて低いか同等であった。

ロモソズマブ投与に関連した肉眼所見は、10 mg/kg 以上の骨又は骨髄においてみられた。頭蓋冠と長骨の肥厚及び硬固な骨髄が 26 週あるいは休薬期間終了時に観察され、薬理作用が持続した。臨床症状、脳、脊髄、視神経及び坐骨神経の肉眼及び病理組織所見から、骨量増加による神経学的な影響はなかった。病理組織学的検査では、骨化亢進が 3 mg/kg 以上で認められた。骨髄腔の減少を伴って海綿骨幅が増加し、海綿骨を構成する層板骨は正常な非活性骨芽細胞に覆われていた。休薬期間終了後には、骨髄腔が拡張し、骨髄の造血細胞のわずかな増加がみられるとともに、骨化亢進は減弱した。

骨への作用の二次的な変化と考えられることとして、軽度の再生性貧血（網赤血球増加を伴う赤血球パラメータの減少）が 10 mg/kg 以上で、血小板数の減少と血小板容積の増加が 3 mg/kg 以上で観察されたこれらの変化は 3 mg/kg 以上で脾臓及び肝臓での代償性の髄外造血を、100 mg/kg では脾臓の重量増加を伴っていた。100 mg/kg の雄では、血清リンの増加が認められた。これらのすべての変化には可逆性がみられた。

100 mg/kg の雄で可逆性がある血中尿素の増加が、10 mg/kg 以上の雌で用量に依存したグルコースの一過性増加が認められた。100 mg/kg の雄で血清グロブリンが一過性に増加したが、血液中に被験物質、IgG_2 が高濃度に存在していたためと推測された。

ADA は 26 週で 28%のラットに、休薬期間終了時には 49%のラットに検出された。ADA により投与期間中の全身曝露に影響を及ぼした動物を除外したが、試験を評価する上で十分な動物数は確保できていた。

TK については、モジュール 2.6.4 第 3.2.1 項に記載した。

本試験では毒性が認められなかったことから、NOAEL は 100 mg/kg で、この用量での C_{max} は雄で 0.687 mg/mL、雌で 1.28 mg/mL 及び $AUC_{0\text{-}168h}$ は雄で 66.7 mg•hr/mL、雌で 112 mg•hr/mL であった。

2.2.5 AMG 785 の New Zealand White 雌ウサギにおける 29 日間皮下投与による探索 TK 及び薬力学試験（117870 試験）

生殖発生毒性試験の二種目の動物種としてウサギが適当であるかを評価するために、各群 4 匹の New Zealand white 雌ウサギに、ロモソズマブを 0、10、30、100 及び 300 mg/kg の用量で週 1 回、4 回反復皮下投与した。投与 15 日に、ADA が 10、30、100 及び 300 mg/kg で、それぞれ 50、75、0 及び 50%のウサギで検出され、ADA 陽性動物では血清中ロモソズマブ濃度が低かった。投与

22 日の ADA 陽性ウサギは、10、30、100 及び 300 mg/kg で、それぞれ 75、100、50 及び 100%に増加した。ADA 産生は曝露量の減少に関連し、10、30、100 及び 300 mg/kg の平均 $AUC_{0\text{-}168h}$ は、最初の投与後はそれぞれ 689、2140、5550 及び 16600 µg•day/mL であったが、投与 22 日はそれぞれ 244、184、7620 及び 1900 µg•day/mL に減少した。

ロモソズマブはウサギにおいて強い免疫応答を惹起し、300 mg/kg では ADA 陽性の 2 匹及び 100 mg/kg では ADA 陽性の 1 匹で、免疫複合体による状態悪化が認められた。これら 3 匹の状態悪化は、300 mg/kg では 2 回目又は 3 回目の投与後に、100 mg/kg では 4 回目の投与後にみられた。300 mg/kg では投与 3 週に、100 mg/kg では投与 4 週から体重減少がみられた。300 mg/kg の 2 匹は、状態悪化と体重減少（>10%）から、投与 21 日及び 28 日に安楽死させた。

肉眼及び病理組織学的な変化として、免疫複合体による疾患と関連した血管の損傷及び炎症が認められた。100 mg/kg の 1 匹では腎臓に、300 mg/kg の 2 匹では心臓、肺、腎臓、肝臓、脾臓、投与部位及び皮膚に変化が認められた。ロモソズマブに対する免疫応答に関連すると思われる変化として、10 mg/kg 以上の用量を投与した動物において投与部位又は皮下の暗色巣と痂皮が、300 mg/kg の 1 匹で結節がみられた。

ロモソズマブを投与したその他のウサギでは、予想された骨に対する薬理作用以外は正常動物又は対照群と同様であった。骨形成マーカーである OCN が全用量で上昇し、ロモソズマブがウサギで薬理活性があることが示された。骨に対する用量に依存した薬理効果は、8 日目以降 ADA 産生により減弱した。骨形成に対する初期の迅速な作用に関連して、腰椎及び大腿骨の骨量増加が全用量で認められたが、投与期間終了時には ADA 産生のため用量反応性がみられなかった。

強い免疫原性のため、ロモソズマブの胚・胎児発生に対する影響の評価にウサギを用いるのは適切ではないと考えられた。

2.2.6　AMG 785 のカニクイザルにおける 14 日間皮下又は静脈内反復投与毒性試験（105779 試験）

雌カニクイザル（3 匹／群）に、ロモソズマブを 0、10、30、100 及び 300 mg/kg の用量で週 1 回、2 週間皮下投与、又は 300 mg/kg の用量で週 1 回 2 週間反復静脈内投与した。

死亡はなく、体重、体重増加、尿検査、臨床生化学検査、臓器重量及び肉眼又は病理組織所見に、ロモソズマブ投与に関連した変化は認められなかった。摂餌量の減少がまれにみられた。

ロモソズマブの薬理効果として、全投与群で ALP 及び骨形成マーカーである I 型プロコラーゲン N 末端プロペプチド（P1NP）及び OCN が用量に依存して増加したが、骨吸収マーカーである CTX には影響はなかった。

TK については、モジュール 2.6.4 第 3.2.2 項に記載した。

本試験では毒性が認められなかったことから、NOAEL は皮下投与及び静脈内投与ともに 300 mg/kg で、この用量での C_{max} は 3.80 mg/mL（皮下投与）及び C_0 が 7.29 mg/mL（静脈内投与）で、$AUC_{0\text{-}168}$ は 487 mg•hr/mL（皮下投与）及び 597 mg•hr/mL（静脈内投与）であった。

2.2.7 AMG 785 のカニクイザルにおける 10 週間休薬期間を含む 1 カ月間皮下及び静脈内反復投与毒性試験（105776 試験）

雌雄のカニクイザルに、ロモソズマブを 0、10、30 及び 300 mg/kg の用量で週 1 回、4 週間反復皮下投与、あるいは 300 mg/kg の用量で週 1 回を 4 週間静脈内反復投与し、その後 10 週間の休薬期間を設けた。本試験群には 3 匹／性／群、回復群には 2 匹／性／群を用いた。

死亡はなく、臨床症状、体重、摂餌量、眼科学的検査（眼底及び生体顕微鏡検査）、心電図、血圧、尿検査及び剖検時の肉眼観察又は臓器重量に、ロモソズマブ投与に関連した変化はなかった。

週 1 回で 4 回投与後の全用量で、用量には依存していなかったが、ロモソズマブの薬理作用として骨形成マーカーが明らかに上昇した。総 ALP 及び骨型アルカリホスファターゼ（BAP）、P1NP 及び OCN は、雌の 300 mg/kg の皮下あるいは静脈内投与で上昇し、BAP は投与期間の初期に約 70%増加した。骨形成マーカーの上昇は休薬期間の早期まで持続したが、その後は対照群のレベルまで戻った。骨吸収マーカーである CTX 及び DPD への影響はなかった。これらの変化に対応した脛骨の pQCT 及び椎骨及び大腿骨近位部の DXA による骨密度及び骨形成の顕著な増加が投与終了時に観察され、休薬期間には持続するかさらに増加した。300 mg/kg の静脈内投与では、休薬期間終了時に皮質骨膜周囲長の増加及び皮質骨内膜周囲長の減少のため、腰椎の BMD は投与前より約 27%増加し、脛骨皮質面積は約 28%増加した。これらの薬理作用と一致して、病理組織学的には海綿骨幅の増加を特徴とする骨化亢進が、ロモソズマブを投与したすべての動物の胸骨及び脛骨で観察された。この作用は休薬期間終了時まで持続した。

投与期間中に、骨に対する薬理作用の二次的な変化と考えられることとして、用量に依存しない赤血球及びヘモグロビンの減少（12%まで）が雄で認められたが、正常範囲内の変化であった。その他に、血清カルシウムの軽微な減少（対照群と比較して 15%まで）がみられた。

ロモソズマブを投与したサルで、投与 4 週までに曝露の低下を伴う ADA が検出されたのは 30 mg/kg の雌 1 匹（3%）で、試験の評価には影響しなかった。ADA は、休薬期間終了時までには 40 匹中 6 匹（15%）で検出された。TK については、モジュール 2.6.4 第 3.2.2 項に記載した。

本試験では毒性が認められなかったことから、NOAEL は皮下及び静脈内投与ともに 300 mg/kg で、その用量での雌雄平均の C_{max} は 5.18 mg/mL（皮下投与）及び C_0 が 7.63 mg/mL（静脈内投与）で、$AUC_{0\text{-}168}$ は 645 mg•hr/mL（皮下投与）及び 588 mg•hr/mL（静脈内投与）であった。

2.2.8 AMG 785 のカニクイザルにおける 14 週間休薬期間を含む週 1 回皮下投与による 6 カ月間反復投与毒性試験（107426 試験）

雌雄のカニクイザル（3〜5 歳）にロモソズマブを 0、3、10 及び 100 mg/kg の用量で週 1 回 6 カ月間反復皮下投与し、その後 14 週間の休薬期間を設けた。本試験群には 4 匹／性／群、全投与群について可逆性評価用に 2 匹／性／群を使用した。ロモソズマブはサルで免疫原性があり、ADA が産生されると薬物曝露量は減少あるいは消失する。このため、投与期間中に曝露が確保された ADA 陰性動物に限定して統計解析を行った。ADA 陽性動物を除いたことは結果の解釈の基盤であり、これにより毒性評価は十分に行われた。ADA 陽性と関連して曝露が低下した動物を除いた各群の動物数は、本試験群は 3 と 10 mg/kg の雌（3 匹）を除いて 4 匹/群で、回復群は 10 mg/kg は 1 匹／性／群、その他は 2 匹／性／群であった。

投与又は休薬期間にロモソズマブ投与による死亡はなく、臨床症状、体重、摂餌量、眼科学的検査（眼底及び生体顕微鏡検査）、心電図、血圧、尿検査及び肉眼所見又は臓器重量に、ロモソズマブ投与に関連した変化はなかった。骨に対するロモソズマブの薬理作用は、骨バイオマーカー、骨密度（腰椎及び大腿骨近位部の DXA、脛骨近位部及び橈骨遠位部の pQCT）、骨形態計測（椎体及び脛骨皮質）、マイクロコンピュータ断層撮影（micro-CT）、生体力学検査及び海綿骨中心部を含む椎体の灰分分析について評価した。骨形成マーカー（総 ALP、BAP、OCN、P1NP）は、全般に用量に依存して増加し、投与期間の初期に最大の変化がみられ、26 週まで投与を継続しても徐々に減少し、休薬期間終了時は対照群と同程度であった。骨吸収マーカー（CTX 及び I 型コラーゲン架橋 N-テロペプチド［NTx］）に影響はなかった。骨密度及び骨形態計測では、ロモソズマブ投与によって皮質骨及び海綿骨の骨量がおおむね用量に依存して増加した。骨量増加は、海綿骨、内骨面及び骨膜面の骨形成が増加した結果で、海綿骨及び皮質骨幅が増加し、それに対応する病理組織学的な骨化亢進が見られた。バイオマーカー及び骨形態計測の結果は、骨形成の増加が投与期間の早期に起こり、長骨の内骨面を除いたすべての骨面において投与 26 週までに対照群レベルまで減少することを支持した。骨量増加は、骨強度の増加に関連した。骨量と骨強度の関係や正常な石灰化が保持され、骨質が維持された。病理組織学的な骨化亢進及び骨密度と骨強度の増加は、全般に 14 週間の休薬期間中持続した。臨床症状、脳、脊髄、視神経及び坐骨神経の肉眼及び病理組織所見から、骨量増加による神経学的な影響はなかった（モジュール 2.6.2 第 3.4.6.2 項表 5）。

骨への薬理作用の二次的な変化と考えられることとして、しばしば赤血球の軽微な減少を伴ったヘマトクリット値の軽微な減少（対照群に比べて 12%まで）が投与期間にみられたが、正常範囲内の変化であった。投与 4 週を最低値とした血清カルシウムの用量に依存した減少（約 15%まで）が認められ、リンも投与 4 週及び 12 週に減少した（100 mg/kg の雄で 16%まで）。血清カルシウムとリンの減少は骨形成マーカーの最大の増加と時間的に一致し、正常な骨石灰化を保持するためにカルシウム及びリンが必要とされた結果で、休薬期間終了時までには対照群の値と同程度に回復した。

結合 ADA を産生した動物は全体の 22.2%で、中和 ADA の産生が認められたのは 13.9%であった。TK については、モジュール 2.6.4 第 3.2.2 項に記載した。

本試験では毒性が認められなかったことから、NOAEL は 100 mg/kg で、その用量での雌雄平均の C_{max} は 2.28 mg/mL 及び $AUC_{0\text{-}168}$ は 301 mg•hr/mL であった。

2.3 遺伝毒性

ロモソズマブは完全に天然アミノ酸で構成される遺伝子組換えタンパクで、無機又は合成有機リンカーあるいはその他の非タンパク部分を含まないことから、DNA 又は染色体物質と直接反応する可能性はないと考えられる。ICH S6 (R1)に従い、遺伝毒性試験は計画あるいは実施しなかった。

2.4 がん原性（TK 評価を含む）

慢性的なスクレロスチンの阻害による発がんリスクを評価するために、ラットにおいてロモソズマブの生涯投与試験を実施した（107895 試験）。試験デザイン（第 2.4.1 項）については、FDA の

Special Protocl Assessment の一環として Executive Carcinogenicity Assessment Committee (ECAC）と協議し、合意された。

2.4.1 投与経路／頻度

臨床での月 1 回の投与頻度と投与経路に適合するように、ラットにおいてロモソズマブを週 1 回皮下投与した。投与経路及び頻度は OVX ラットにおける 12 カ月骨質試験に合わせた（モジュール 2.6.2 第 2.2.1.2 項 107899 試験）。間歇投与した全期間で薬理効果が維持された根拠は、以下の第 2.4.5 項に記載の評価法で確認した。

2.4.2 用量選択

選択した用量段階は、0、3、10 及び 50 mg/kg の週 1 回皮下投与で、OVX ラットにおける 12 カ月骨質試験と同じである。さらに低中間用量はラット 6 カ月反復投与毒性試験の低中間用量と同じである（第 2.2.4 項）。

ICH S6 (R1)では、ヒト曝露量の 10 倍以上高い曝露量が得られる用量又は最大の薬理効果が得られる用量を毒性試験の高用量とすることを推奨している。設定した高用量の 50 mg/kg の想定曝露量（AUC）は、210 mg を 4 週間隔で反復投与する臨床での曝露量の 19 倍で、用量（mg/kg）としては 16.7 倍であった（表 2）。50 mg/kg では、予想された最大の臨床反応を 10～12%上回る約 34%の、大幅な腰椎海綿骨の骨量の増加をもたらすことが想定された。一方で、ラットにおける投与期間が 6 カ月までの反復投与毒性試験では、100 mg/kg は忍容性が良好で、所見は骨に対する直接又は間接的な薬理作用によるものであったことから、本試験において 50 mg/kg の忍容性は良好であると考えられた。

6 カ月間反復投与毒性試験の低用量では 3 mg/kg を週 1 回投与した結果、腰椎 BMD が 6 カ月で対照群と比較して約 9～13%増加し、臨床に関連した明らかな骨量増加が起こった。3 mg/kg はヒトの体重 70 kg で換算すると、第 III 相試験の臨床用量 210 mg に相当する。中間用量の 10 mg/kg は、曝露及び薬理効果における用量反応性をみる用量として選択した。

表 2　ロモソズマブの 2 年間生涯投与試験の用量（3、10 及び 50 mg/kg 週 1 回）と臨床投与（210 mg 月 1 回）に対する用量及び曝露量比

Margin Expressed as Multiple of Human Dose			
Rat Dose (mg/kg)	Human Dose (mg)	Human Dose (mg/kg)	Rat/Human Dose Ratio [a]
3	210	3	1.0
10	210	3	3.3
50	210	3	16.7

Margin Expressed as Multiple of Human Exposure				
		Exposure Multiple (based on $AUC_{0\text{-}168}$ of rat doses) [c]		
Human Dose (mg/kg)	Human AUC_{τ} (μg· hr/mL) [b]	3 mg/kg	10 mg/kg	50 mg/kg
3.5	12888	0.6	4.0	19.2

$AUC_{0\text{-}168}$, $AUC_{0\text{-}24}$ = area under the concentration-time curve from time zero to 168 hours post dose or time zero to 24 hours post dose, F = female, M = male, Q4W = every 4 weeks, QM = once monthly, SC = subcutaneous.

[a] Dose margins are based on a 210-mg clinical dose to a 70-kg subject, calculated as (mg/kg species)/(mg/kg human).

[b] Human $AUC_{0\text{-}\tau ss}$ for romosozumab was determined following romosozumab SC 210 mg QM as monotherapy in population PK analysis (Study 119384). Exposure margin calculations were then adjusted for the difference in the dose intervals between the rats and monkey studies (week) and the human studies (4 weeks).

[c] The week 25 $AUC_{0\text{-}168hr}$ values from 6-month repeat-dose rat toxicology study 107425 have been multiplied by 4 to enable direct comparison with AUC_{τ} for the clinical 210 mg QM dosing regimen. The $AUC_{0\text{-}168hr}$ values (mg·hr/mL, gender averaged) are as follows: 3 mg/kg: 1.84; 10 mg/kg: 12.9; 100 mg/kg: 124. The $AUC_{0\text{-}168hr}$ values for 3 and 10 mg/kg reflect exposures in anti-drug antibody negative animals. The 6-month rat toxicology study did not include a 50 mg/kg dose, and thus the steady state $AUC_{0\text{-}168hr}$ value was calculated based on exposure at 100 mg/kg in study 107425.

2.4.3　群構成動物数

”Guidance for Industry Statistical Aspects of the Design, Analysis, and Interpretation of Chronic Rodent Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals”（United States Food and Drug Administration, 2001）や最近の実施例についての産業界や規制当局からの情報に基づき、試験終了時の解析に十分な生存動物数を確保するために、各群雌雄各 60 匹とした。ロモソズマブはラットで免疫原性が高く、ADA により全身曝露が明らかに低下し、その結果骨に対する薬理効果が弱まる。このことから、投与開始から 13 週間以内に血清中に抗体が産生され ADA 陽性となった動物を除外するために、各群の最初の動物数を増やした。試験開始時の動物数の設定には、ラットにおける 6 カ月間の毒性試験の ADA 出現頻度を考慮した（表 3）。投与 13 週以降に ADA 陽性となる動物はわずかと予想されたことから、13 週以降の ADA 産生に基づく追加除外動物は、最初の動物数に盛り込まなかった。すなわち、少なくとも投与 12 週で ADA 陽性となった動物を除外した。ADA により 60 匹／性／群未満となった場合は、結合 ADA が陽性でも中和 ADA が陰性の動物は、各群の動物数を確保するために試験に戻した。雄の 50 mg/kg では中和 ADA を有する動物が多く、結果として動物数は 54 匹となった。除外後に 60 匹以上になった場合、60 匹になるように動物番号の降順にさらに除外した。

表 3　ラットにおける結合 ADA（107425 試験）

AMG 785 Dose (mg/kg/week)	Anti-AMG 785 Antibodies: n/N (%)	
	Week 12	Week 26
0 (vehicle)	1/49 (2)	3/49 (6)
3	29/50 (58)	23/50 (46)
10	9/49 (18)	10/49 (20)
100	10/50 (20)	8/49 (16)

2.4.4　試験概要（用量及び動物数）

試験の用量及び動物数を、表 4 にまとめた。

表 4　用量並びに初回及び最終割り付け動物数

Romosozumab Dose (mg/kg/week)	Initial Allocation		Final Allocation	
	Male	Female	Male	Female
0 (vehicle)	60	60	60	60
3	150	150	60	60
10	80	80	60	60
50	80	80	54	60

2.4.5　薬理効果と骨格の X 線撮影の評価

試験期間を通じて薬理効果を確認するため、最終剖検時にすべての動物から大腿骨（骨幹端遠位部及び骨幹）を採取し、*ex vivo* pQCT を実施した。潜在性の骨変化や骨腫瘍を検出するため、また組織のトリミングや病理組織評価の参考とするために、最終割り付けされた動物について、剖検時に全身 X 線撮影を行った。

2.4.5.1　AMG 785 の SD ラットにおける 104 週間皮下投与による生涯投与試験（107895 試験）

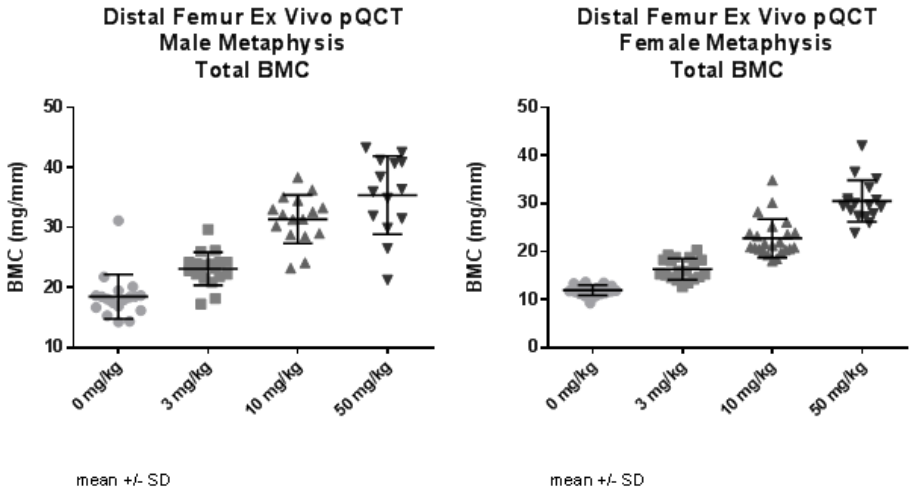
本試験の目的は、雌雄の SD ラットに週 1 回、生涯にわたって皮下投与して、ロモソズマブの発がん性の有無を評価することであった。

試験デザインの詳細は、第 2.4.2 項～第 2.4.5.1 項に示した。8 週齢の雌雄 SD ラット（ADA 陽性ラットを除外した最終割り付けで 60 匹／性／群、ただし 50 mg/kg の雄は 54 匹）に、媒体（対照群）又はロモソズマブを 3、10 又は 50 mg/kg の用量で、最終剖検まで週 1 回皮下に反復投与した（雄は 91 週及び雌は 98 週）。投与 90/91 週までに雄対照群の生存例数が終了基準（20 匹）に達した。雌については、終了基準に達した投与 98 週まで投与を継続した。

試験から ADA 陽性動物を除外した後、50 mg/kg の雌 1 匹、3 mg/kg の雄 18 匹、10 mg/kg の雄 3 匹及び 50 mg/kg の雄 10 匹は結合 ADA が陽性であったが、中和 ADA は陰性であった。投与 13 週の最終割り付け動物の血清中ロモソズマブ濃度（平均 ± 標準偏差）は、3、10 及び 50 mg/kg の雄でそれぞれ 9.66 ± 2.86、79.5 ± 18.7 及び 589 ± 234 µg/mL、雌でそれぞれ 4.91 ± 1.79、74.6 ± 23.8 及び 836 ± 215 µg/mL であった。ADA 陰性動物と比較すると、結合 ADA 陽性動物の平均血清中ロモソズマブ濃度は、3、10 及び 50 mg/kg において雌ではそれぞれ 41、69 及び 86%、結合 ADA 陽性の雄ではそれぞれ 10、43 及び 53%減少した。

ロモソズマブ投与に関連した変化は、直接又は間接的な骨に対する薬理効果の結果であった。全身 X 線撮影により、ロモソズマブを投与したほとんどすべての動物で、肉眼的な骨肥厚及び病理組織学的な骨化亢進に関連して、骨格の X 線不透過像の増加が示された。*ex vivo* pQCT の評価では、計画剖検時の大腿骨骨幹端及び骨幹に、用量に依存した著しい骨量増加及び形状変化が認められた。対照群と比較して、骨幹端総 vBMC の平均値が雄で約 2 倍、雌で 2.5 倍まで増加し（図 1）、vBMD については雄で 4 倍、雌で 6 倍まで増加した。ロモソズマブ 210 mg を月 1 回 12 カ月間投与した第 II 相臨床試験の腰椎 vBMC の増加は約 18%で、雄で 5 倍、雌で 8 倍以上の薬力学効果のマージンが示された。脾臓及び肝臓での髄外造血の増加が、骨量増加の二次的な変化としてみられた。これらの結果から、全てのロモソズマブ投与群において十分な薬力学的効果が、全試験期間で持続したことが示された。投与部位には軽微な単核細胞浸潤がみられた。

図 1　最終計画剖検時における雌雄ラットの大腿骨骨幹端遠位部 vBMC



vBMC = volumetric bone mineral content; SD = standard deviation; pQCT = peripheral quantitative tomography
Source: Study 107895 final report

死亡（生存）率、臨床症状、体重、摂餌量、腫瘍発生率及び非腫瘍性病変に、ロモソズマブ投与による影響はなかった。投与による腫瘍性変化は認められなかった。

50 mg/kg の雄 2 匹に骨肉腫がみられたが、統計学的に（生存率を調整した Peto 傾向検定及び対比較検定）有意な差ではないこと、発生率が低く試験施設の背景値の範囲内と考えられること、遅発性及び孤発性であること及び連続性の変化（骨芽細胞過形成、間質増殖巣や良性骨腫瘍）がないことから、自然発生と考えられた。唯一の増殖性変化としては、10 mg/kg の雄 1 匹に認められた骨芽細胞過形成のみであった。

ロモソズマブ投与によって腫瘍発生が認められなかったことは、ヒト及びマウスでのスクレロスチン機能喪失型突然変異において、がんの発生は増加しないという報告に一致する（Beighton et al, 2013; Lewiecki, 2014; Li et al, 2008; Schett and Bozec, 2014）。骨形成作用がある hPTH 及びそのアナログでは、F344 ラットにおいて良性及び悪性の骨腫瘍が報告されている（Jolette et al, 2006；Vahle et al, 2002）が、投与による骨の腫瘍性及び前腫瘍性病変あるいは関連した変化は、ロモソズマブの生涯投与において認められなかった。SD ラットにおいても、hPTH の慢性投与による骨の腫瘍発生

に関する報告があるため、これは系統差によるものではない（Watanabe et al, 2012）。ロモソズマブにがん原性がないことは、古典的 Wnt シグナルは性質として空間的及び時間的に厳密に制御されているオートクリン／パラクリンのシグナル伝達経路であることが関係すると考えられる（Cadigan and Peifer, 2009; Clevers and Nusse, 2012; Logan and Nusse, 2004; van Amerongen and Nusse, 2009）。この制御は、ロモソズマブの独特な作用様式あるいは機序から明らかであり、骨形成と骨芽細胞の発生が時間に依存する hPTH とは明確に異なる。hPTH では投与期間及び骨形成が実際にラットでの骨肉腫の発生に影響するため、骨形成の時間的な制限によって腫瘍発生は制御される（Vahle et al, 2004）。ロモソズマブによる骨形成の自己調節は、Wnt シグナルが p53 やその他のがん抑制経路にカップリングすることで起こり、骨芽細胞の発生や前駆細胞の増殖を負に制御することが、作用機序試験（第 2.7.3 項）により裏付けられた（115877、115777 及び 115776 試験）（Nioi et al, 2015; Ominsky et al, 2015; Taylor et al, 2016）。

結論として、発がん性の有無を評価するためにロモソズマブを 0、3、10 及び 50 mg/kg の用量で週 1 回、雌雄の SD ラットに最長 98 週間皮下投与した。投与終了時、すべてのロモソズマブ投与群で骨量が用量に依存して増加した。早期に ADA 陽性動物を除去したことにより、投与期間中は十分な薬理効果が維持された。ロモソズマブ投与に関連した所見は、骨に対する薬理効果の直接又は間接作用のいずれかによるものに限定され、死亡、死因あるいは腫瘍性変化には関与していなかった。

2.4.5.2 AMG 601 及び AMG 589 の SD ラットにおける 2 週間の休薬期間を含む 28 日間皮下反復投与探索毒性試験（115823 試験）

本試験は、ラット生涯投与試験（115707 試験）に用いる「null 抗体」を選択することを目的とし、二種類のモノクローナル IgG_2 抗体である、抗ヒトインターロイキン 18 受容体抗体（AMG 601）と抗ヒトカルシトニン遺伝子関連ペプチド（CGRP）抗体（AMG 589）について、毒性を評価した。これらの抗体は、ラットでは免疫原性を示すが、薬理学的には不活性である。ラット（5 匹／性／群に加えて回復群 10 匹／性／群）に、媒体、AMG 601 の 50 mg/kg 又は AMG 589 の 50 mg/kg を週 1 回で 4 週間反復皮下投与した。投与 29 日までに AMG 601 及び AMG 589 を投与した動物のそれぞれ 87 及び 90%で、ADA 産生がみられ曝露が低下した。AMG 601 又は AMG 589 の投与による臨床症状、体重又は臨床病理検査への影響はなかった。投与に関連した病理組織所見は、投与部位の軽微から軽度の単核細胞浸潤に限られた。これらの結果から、115707 試験での「null 抗体」に AMG 589 を選択した。

2.4.5.3 IgG_2 対照抗体（AMG 589）の SD ラットにおける 104 週間皮下投与によるがん原性試験（115707 試験）

本試験の目的は、雌雄の SD ラットにヒト IgG_2 抗体を生涯にわたって、週 1 回皮下投与した時の、投与による影響及び発がん性を評価することであった。本試験のために、アイソタイプがロモソズマブと同じで、ラットでは薬理学的には不活性で免疫原性があることから、ヒト CGRP に対するヒト IgG_2 の AMG 589 を選択した（115823 試験）。8 週齢の雌雄 SD ラットに生理食塩液、媒体又は

AMG 589 の 50 mg/kg を、ロモソズマブのラット生涯投与試験と同様に雄では 91 週間、雌では 98 週間、週 1 回皮下投与した。投与 13 週で、AMG 589 の 50 mg/kg では雌の 63%及び雄の 67%が AMG 589 に対する ADA 抗体陽性であった。ADA 陽性動物は生理食塩液あるいは媒体を投与した群でもみられた。この原因については調査したが不明であった。投与 13 週において、AMG 589 の平均血清中濃度（平均 ± 標準偏差）は、雌では 520 ± 244 µg/mL（ADA 陰性）、33.1 ± 72.9 µg/mL（ADA 陽性）、雄では 496 ± 267 µg/mL（ADA 陰性）、30.2 ± 79.0 µg/mL（ADA 陽性）であった。

AMG 589 の週 1 回投与による腫瘍性の変化はなかった。AMG 589 投与に関連した非腫瘍性の病理組織変化は、投与部位の軽微な単核細胞浸潤の頻度の増加であった。AMG 589 の投与は、死亡（生存）率、臨床症状、体重又は摂餌量に影響しなかった。最終剖検まで生存した雌雄を含むすべての動物で剖検時の全身 X 線撮影に、AMG 589 投与に関連した変化はなかった。本試験では骨の腫瘍性病変はまれで、媒体を投与した雌の 1 匹の大腿骨に線維肉腫（1 個）が肉眼及び X 線撮影で検出されたのみであった。生理食塩液を投与した 1 匹の雄の骨盤に肉眼では発見できない骨軟骨腫（1 個）が X 線撮影で検出された。このことから、X 線撮影で病変の検出感度が向上することが示された。増殖性変化として、骨芽細胞過形成が生理食塩液を投与した雄 1 匹で認められた。

結論として、AMG 589 の 50 mg/kg を 1 週間に 1 回、98 週間反復皮下投与した結果、腫瘍性変化は認められなかった。非腫瘍性変化としては、投与部位の単核細胞浸潤が認められた。

2.5 生殖発生毒性（用量設定試験及び TK 評価を含む）

ロモソズマブはウサギで高い免疫原性を示す（第 2.2.5 項）ことから、生殖発生毒性試験はラットにおいて実施した。300 mg/kg までの用量をラットに週 1 回皮下投与した胚・胎児発生（EFD）の予備及び本試験、生殖能及び EFD 併合試験並びに出生前及び出生後発生に関する（PPN）試験を実施し、ロモソズマブの生殖発生への影響を評価した。これらの試験を通して認められたロモソズマブ投与に関連した影響は、300 mg/kg を投与した際の第 6 頸椎椎弓化骨不全（短縮）の頻度増加に限られた。この変化は PPN 試験において出生後にはみられないことから、ラットの正常な発育における骨格の軽微な発育遅延である。また、ヒトにはない骨格の発育過程で発生したもので、臨床で 210 mg を月 1 回投与した際の曝露量の少なくとも 30 倍以上高い母動物への曝露でみられた。

EFD 本試験において、300 mg/kg 群の母動物 1 匹から生まれた同腹胎児 16 匹のうちの 7 匹で外表あるいは骨格の奇形がみられたが、4 試験を通して、300 mg/kg が投与された 75 匹の母動物のうちの 1 匹、1021 匹の胎児あるいは出生児のうちの 7 匹に限定された変化であった。すべて同腹児での発生であること、スクレロスチン完全欠損ヒト又はマウスでみられる奇形とは異なる変化であったこと、当該母動物では ADA の産生もありロモソズマブの曝露量は群平均よりも低かったこと、生殖能と EFD の併合試験及び PPN 試験では母動物及び胎児ともにより高曝露であっても異常は認められなかったことから、この変化は自然発生性のものであり、ロモソズマブ投与とは関連しないと結論された。

全体として、ラットの生殖及び発生に関するデータから、ロモソズマブは生殖能に影響せず、ヒトにおいて胎児の発生や成長及び生後発育に有害な影響を及ぼすリスクがロモソズマブの投与により増加することはないと考えられた。

2.5.1 AMG 785 のラットにおける皮下投与による生殖発生毒性用量設定試験（108057 試験）

1 群 8 匹の妊娠 SD ラットに、ロモソズマブを 0、30、100 及び 300 mg/kg の用量で、妊娠 6 日及び 13 日に皮下投与した。さらに TK 評価のために 32 匹のラットを 4 群に割り付け、同様に投与した。0、30、100 及び 300 mg/kg の各群のそれぞれ 5、8、8 及び 8 匹について、帝王切開を実施した。生存率、臨床症状、体重及び体重増加量、摂餌量、剖検、帝王切開及び同腹児情報（胎児体重及び性を含む）、胎児所見（外表、内臓及び骨格）、TK、胎盤通過性及び ADA について評価した。

妊娠ラットでのロモソズマブの忍容性は良好で、母動物、胚又は外表、内臓又は胎児の骨格奇形又は変異を含む胎児パラメータに、ロモソズマブ投与に関連した影響はなかった。無毒性量は 300 mg/kg であった。母動物と胎児の TK データから、妊娠 6 及び 13 日の投与によって、着床から妊娠 21 日の安楽死までロモソズマブが持続的に曝露されたことが示された。300 mg/kg を投与した母動物の妊娠 13 日の $AUC_{0\text{-}144}$ は 103 mg・hr/mL で、臨床曝露量の 32 倍であった。動物の曝露量は $AUC_{0\text{-}168}$ ではなく $AUC_{0\text{-}144}$ に基づいているので、マージンは控え目の数値と思われる。10 匹のロモソズマブ投与ラットで ADA が検出されたが、曝露への明らかな影響はなかった。300 mg/kg を投与した妊娠ラットの妊娠 19 日における平均胎児血清中ロモソズマブ濃度は 65.8 µg/mL で、ラットの最小薬効量での平均血清中濃度（2.72 µg/mL）（モジュール 2.6.4 第 9.3.1 項）の 24 倍であった。

2.5.2 AMG 785 のラットにおける皮下投与による胚・胎児発生毒性試験（108059 試験）

1 群 25 匹の妊娠 SD ラットに、ロモソズマブを 0、30、100 及び 300 mg/kg の用量で妊娠 6 と 13 日に皮下投与し、妊娠 21 日に安楽死させた。TK 及び ADA 測定のためのサンプルを採取し、帝王切開した。生存率、臨床症状観察、体重及び体重増加量、摂餌量、剖検、帝王切開及び同腹児情報（胎児体重及び性を含む）、胎児奇形及び変異（外表、内臓及び骨格）、TK 及び ADA について評価した。

妊娠 21 日で、28 匹のラット（0、30、100 及び 300 mg/kg でそれぞれ 1、6、5 及び 16 匹）が ADA 陽性であったが、血清中ロモソズマブ濃度は検出可能なレベルであった。妊娠 21 日の母動物の血清中ロモソズマブ濃度は用量に依存し、300 mg/kg では 121 µg/mL であった。

妊娠 21 日の帝王切開で 0、30、100 及び 300 mg/kg のそれぞれ 23、19、24 及び 22 匹の母動物の、それぞれ 336、289、344 及び 330 匹の生存胎児について胎児検査を実施した。母動物、帝王切開所見、胎児内臓の奇形又は変異に関して、ロモソズマブ投与に関連した影響はなかった。

300 mg/kg を投与した 4 匹の母動物の 5 匹の胎児（母体数あたり 18.2%、胎児数あたり 3%）において、骨格変異として第 6 頸椎椎弓化骨不全（第 7 頸椎椎弓の外観をもった第 6 頸椎椎弓と同義）が観察された。発生頻度は試験施設の背景値（母体数あたり 12.5%、胎児数あたり 1.7%）を超えたが、この骨格変異は発育遅延と考えられ、ヒトには存在しない解剖学的構造であった。すなわち、本所見は臨床との関連はないものと考えられた。

300 mg/kg を投与した母動物は 22 匹で、そのうちの 1 匹の母動物の胎児で外表奇形が観察された。外表奇形として、同腹の 16 匹の胎児中の 7 匹に前肢あるいは後肢の合指又は多指が認められた。外表奇形に加えて 3 匹には、骨格奇形（中手骨未骨化、過剰指、指節骨過剰、指節骨癒合、中足骨未

骨化、過剰趾、過剰趾節骨、脛骨弯曲）並びに骨格変異（肋骨肥大、指節骨不完全骨化、中手骨配列異常、尺骨大型化、不規則性中手骨、不規則性腸骨、中足骨配列異常、脛骨大型化）が認められた。胎児に異常が認められた母動物は、妊娠 21 日に ADA 陽性で、血清中のロモソズマブ濃度は 83.9 µg/mL で同群の平均（121 µg/mL）より低かった。これらの外表及び骨格の奇形／変異は稀で、試験施設の背景値にはないものがほとんどであった。試験施設の背景値にある多指についても、胎児数あたりの出現頻度（2.1%）は背景値（0.3%）より高かった。試験終了時には、これらの結果についてロモソズマブ投与によるものである可能性が否定できないと考えたことから、胎児の発達に対する NOAEL は 100 mg/kg としていた。しかし、これらの所見はスクレロスチン完全欠損ヒト又はマウスで認められる奇形とは異なる変化であり、他の生殖能及び胚・胎児発生毒性試験並びに出生前及び出生後発生に関する試験（108061 及び 108062 試験）においてより高い曝露量を示した母動物及び胎児でも指の奇形を含めて再現性がなかったことから、最終的に同腹胎児 7 匹の所見は自然発生性の変化であり、ロモソズマブの投与には関連しないと判断した。

したがって、母体毒性及び胎児の発達に関する毒性における NOAEL はいずれも 300 mg/kg と判断された。

2.5.3　AMG 785 のラットにおける生殖能及び胚・胎児発生毒性試験（108061 試験）

雌雄の SD ラットに、ロモソズマブを 0、10、60 及び 300 mg/kg の用量で、交配前（6 週間）から交配期間及び器官形成期を通じて（雄は交配後 6 週間）、週 1 回皮下投与した。4 回投与後及び交配前に血清中ロモソズマブ濃度及び ADA を測定し、適切な動物を選択した。ADA 陰性の動物あるいは陽性であっても S/N 比（ADA 応答の強さ）が最も低いか血清中ロモソズマブ濃度が最も高い動物を選択した。交配期間中の各群には 25 匹／性／群、TK 評価には 4 匹／性／群を用いた。

すべての動物について、死亡あるいは瀕死、臨床症状、体重、体重変化、摂餌量、交配、生殖能及び剖検時肉眼所見を評価した。主試験の各群雄 25 匹については、さらに精子運動能、精子濃度及び生殖器官重量についても評価した。雌の全例について、投与開始前の 14 日間と、交配開始前の試験 28 日から 14 日間、連続で性周期を観察した。交配が観察されるまでの交配期間中は、交配した雌全例についても性周期を観察した。母動物の子宮重量、卵巣及び子宮の所見、胎児の体重、性及び外表、内臓及び骨格を評価した。

いずれの用量においても、ロモソズマブ投与に関連した死亡、臨床症状又は肉眼所見はなく、体重、体重増加量又は摂餌量に対する影響はなかった。交配、生殖能又は雄の生殖器（精子パラメータ又は臓器重量）に、ロモソズマブ投与の影響はなかった。性周期、卵巣又は子宮関連パラメータあるいは胚・胎児生存及び胎児体重に対する影響も認められなかった。

妊娠 21 日に帝王切開を実施した母動物数は、0、10、60 及び 300 mg/kg でそれぞれ 20、18、24 及び 22 匹であった。ロモソズマブ投与による外表又は内臓の奇形又は変異、あるいは骨格の奇形は観察されなかった。300 mg/kg を投与した母動物 3 匹の胎児 3 匹に、第 6 頸椎椎弓化骨不全（短縮）（第 7 頸椎弓様の椎弓をもった第 6 頸椎弓と同義）が観察された。この変異を有する胎児の出現率及び胎児を持った母動物の出現率は、試験施設の背景値の範囲をわずかに超え、ロモソズマブ投与によるものと考えられた。ラットでは頸椎の腹側突起の発生は頭側から尾側に向かって進むが、胎

児検査時の妊娠 21 日には第 7 頸椎の腹側突起もまだ形成が始まっていなかったので発育遅延と考えられる（Walker, 2002）。

本試験での妊娠ラットの曝露量は投与期間の延長により、108057 及び 108059 試験より増加した。ロモソズマブの 300 mg/kg での曝露量（$AUC_{0\text{-}168h}$）は、妊娠 13 日で 7490 µg•d/mL（179.8 mg•h/mL）で、臨床曝露量の 56 倍であった。一方で、108057 及び 108059 試験は臨床曝露量の 32 倍であった。本試験の 300 mg/kg の妊娠 21 日の平均血清中濃度は 331 µg/mL で、108059 試験の 121 µg/mL より 2.7 倍高かった。また、300 mg/kg の妊娠 20 日の胎児血清中平均ロモソズマブ濃度は 114 µg/mL で、108057 試験より約 1.75 倍高く、ラットの最小薬効量での血清中濃度（2.72 µg/mL）（モジュール 2.6.4 第 9.3.1 項）の約 42 倍であった。すなわち、母動物及び胎児は高濃度で曝露されたが、催奇形性は認められなかった。親動物（雌雄）の一般状態及び生殖能並びに胎児の発達に関する毒性における NOAEL はいずれも 300 mg/kg と判断された。

2.5.4 AMG 785 の SD ラットにおける出生前及び出生後発生に関する試験（108062 試験）

雌 SD ラット（F0、対照群以外 50 匹／群で対照群は 25 匹）に、ロモソズマブを 0、10、60 及び 300 mg/kg の用量で週 1 回、交配前 6 週間、交配期間、妊娠期間及び授乳期間に皮下投与した。乳汁中の抗体は消化管内での FcRn により吸収される（Jones and Waldmann, 1972）ので、出生児への移行が高まる。投与 6 週に、血清中のロモソズマブ濃度及び ADA の評価を行った。これらのデータに基づいて、ADA によって曝露が低下して薬理効果が減弱したラットを、自然分娩予定日前に除外した。除外後の妊娠及び分娩した動物数は、0、10、60 及び 300 mg/kg の各群でそれぞれ 23、24、25 及び 23 匹であった。

F0 雌ラットについて、生存率、臨床症状、体重、体重変化及び摂餌量を評価した。自然分娩群に振り分けられた F0 ラットでは、追加評価項目として出産、授乳及び哺育行動の評価を行った。授乳 21 日に、TK 及び ADA 分析のために血液を採取し、安楽死させた。

母動物の生存率、体重、体重変化、性周期、生殖能、出産、授乳、哺育行動又は肉眼所見に、ロモソズマブ投与に関連した影響は認められなかった。300 mg/kg では、交配前、妊娠期間及び授乳期間に粗毛の動物が多くみられ、60 mg/kg 以上では交配期間に一過性の摂餌量減少が認められた。

離乳前にすべての F1 出生児について、生存率、臨床症状及び体重を評価した。分娩 21 日に離乳させ、F1 出生児を 3 つのサブグループに振り分けた。サブグループ 1（1 匹／性／腹）は、離乳後の成長、発育、行動及び生殖機能を評価した。生存率、体重、摂餌量、性成熟、行動変化（受動回避及び自発運動評価）及び肉眼所見を観察した。成熟後に、生殖機能評価のため交配を行い、雌については黄体の数と分布、着床数と生存及び死亡胎児数を観察した。サブグループ 2（1 匹／性／腹）は、安楽死させて血清中ロモソズマブ濃度分析のために採血し、大腿骨長、pQCT による骨密度及び骨の病理組織を評価した。サブグループ 3（残りの出生児）は、第 6 頸椎の骨格検査を行った。

F1 出生児の離乳前の臨床症状、肉眼所見、生存率又は体重に、ロモソズマブ投与に関連した影響はなかった。哺育 21 日の F1 出生児の大腿骨長に変化はなく、右大腿骨又は第 6 頸椎にロモソズマブ投与に関連した肉眼的な骨格異常の所見はなかった。大腿骨の骨量又は皮質骨形状に軽微な変化がみられた。哺育 21 日の、大腿骨骨幹端部の全骨及び皮質／皮質下 vBMC と vBMD（雌雄）、及

び海綿骨 vBMC と vBMD（雌）が、60 mg/kg 以上でわずかに減少した。海綿骨 vBMD は 10 mg/kg の雄で増加した。大腿骨遠位部骨幹の皮質骨形状の変化（例えば、皮質面、皮質骨骨膜周囲長及び皮質骨内骨面周囲長のわずかな減少）が、全群の雄でみられた。4〜8 週齢のスクレロスチンノックアウト（*Sost*$^{-/-}$）マウスに発症する高骨量発育遅延（Lin et al, 2009）や、硬結性骨化症（Beighton et al, 1976）に一致する高骨量フェノタイプは、観察されなかった。

哺育 21 日後も観察を継続した F1 出生児については、生存、成長、性成熟、行動評価項目（学習、記憶又は活動性）、交配及び生殖能、雄性生殖器重量又は卵巣及び子宮パラメータ、及び肉眼所見にロモソズマブ投与に関連した影響はなかった。

投与 36 日の F0 ラットの平均血清中ロモソズマブ濃度は 10、60 及び 300 mg/kg で、それぞれ 30.4、685 及び 1780 µg/mL であった。哺育 21 日の F0 ラットの平均血清中ロモソズマブ濃度は最終投与からの時間で異なり、300 mg/kg の平均血清中ロモソズマブ濃度は投与後 5〜7 日では 539 µg/mL で、投与後 1〜2 日では 1610 µg/mL であった。

分娩 21 日の F1 出生児の平均血清中ロモソズマブ濃度は、母動物の投与量の増加に伴い増加した。雌雄出生児間で平均血清中ロモソズマブ濃度に差はなかった。300 mg/kg の平均血清中ロモソズマブ濃度は、963 µg/mL（母動物の 12 回目の投与後 5〜7 日）及び 680 µg/mL（母動物の 13 回目の投与後 1〜2 日）であった。

結論として、ロモソズマブ投与は出生前及び出生後発生及び母体の機能に有害な影響を及ぼさなかった。母動物及び F1 出生児に対する無毒性量は、いずれも 300 mg/kg と判断された。

2.6 局所刺激性

異なる濃度のロモソズマブの局所刺激性評価あるいは酢酸ナトリウムと酢酸カルシウム製剤に対する反応性を比較するために、局所刺激性試験を実施した。さらに、反復投与毒性試験において投与部位の刺激性を評価した。これらの試験から、ロモソズマブに対する局所反応は濃度に依存すること、及び同一濃度の両製剤では同様の反応が起こることが示された。反復投与毒性試験におけるロモソズマブの投与部位の反応は、わずかな単核細胞浸潤を特徴とする軽微なものであった。

2.6.1 AMG 785 の雌 SD ラットにおける観察期間 7 日間を含む単回皮下及び静脈内投与による局所刺激性試験（106718 試験）

雌 SD ラット（4 匹／群／剖検時）にロモソズマブを 0、5 又は 35 mg/kg（10 mg/mL）あるいは 35 mg/kg（70 mg/mL）の用量で単回皮下投与し、また 35 mg/kg（70 mg/mL）の用量で単回静脈内投与した。媒体は 10 mM 酢酸塩（水酸化ナトリウムで pH5.2 に調整した氷酢酸）、9%精製白糖及び 0.004%ポリソルベート 20 であった。ラットは投与後 2、24、72 又は 168 時間で安楽死させ、剖検を行った。

死亡はなく、臨床症状、体重又は肉眼所見にロモソズマブ投与に関連した明らかな変化は、いずれの用量でもなかった。投与部位の病理組織学的検査では、変化はないかわずかであった。皮下投与部位の反応（炎症性細胞浸潤）及び投与部位のヒト IgG 染色強度は、投与 24 時間がピークで、高濃度の方が強かった。その後の時点では、炎症反応及びヒト IgG 染色強度は低下した。

2.6.2　AMG 785 の SD ラットにおける単回皮下投与による局所刺激性試験（112795 試験）

雄 SD ラット（5 匹／群）にロモソズマブ 84 mg（70 mg/mL 酢酸ナトリウム製剤）又は 144 mg（120 mg/mL 酢酸カルシウム製剤）を、1.2 mL の固定容量で、右側肩甲部に単回皮下投与し、各媒体を左側肩甲部に同様に投与した。

死亡はなく、臨床症状、皮膚局所刺激性スコア、体重及び各投与部位の肉眼所見に、投与の影響はみられなかった。病理組織学的検査では、タンパク性の異物に関連した肉芽腫性炎症反応が両製剤の投与部位に観察された。反応は、高濃度製剤（120 mg/mL）でより高頻度であったが、媒体間には実質的な差はなかった。

2.6.3　AMG 785 の雄 SD ラットにおける単回皮下投与による局所刺激性試験（113234 試験）

雄 SD ラット（5 匹／群）に、ロモソズマブの酢酸カルシウム製剤（64 mg/mL 及び 118 mg/mL）の 1.2 mL（77 mg 又は 142 mg）を、左側肩甲部に単回皮下投与した。右側肩甲部には媒体を同様に投与した。

死亡又は体重減少はなかった。118 mg/mL 製剤を投与した 1 匹の投与部位で痂皮と隆起がみられ変色を伴わない皮膚表面に限られた。各投与部位には炎症反応が観察された。本試験の 64 mg/mL 酢酸カルシウム製剤の反応は、112795 試験の 70 mg/mL 酢酸ナトリウム製剤による反応に量的質的に類似していた。すなわち、ロモソズマブの酢酸カルシウム製剤及び酢酸ナトリウム製剤のラットにおける局所刺激性は同等と考えられた。

2.7　その他の毒性試験

2.7.1　免疫原性

免疫原性評価のための試験は特に実施しなかったが、一般毒性試験において各動物種での免疫原性を評価した。

ロモソズマブは、ラット、ウサギ及びサルにおいて免疫原性を示した（表 5）。一般的に、高 S/N の結合 ADA は全身曝露の減少と関連した。中和 ADA が存在すると、多くの場合、全身曝露が非常に低いか曝露されなかった。抗体が安定的に産生されるまでに、一般的に 3〜4 週間を要するので、1 カ月以下の試験では ADA はあまり影響されなかった。長期試験において毒性を確実に評価するために、高 S/N の結合 ADA 陽性、血清中ロモソズマブ濃度の減少あるいは中和 ADA を有するラット及びサルを、試験及びデータ解析から除外した（107425、107426、107895、108061 及び 108062 試験）。その結果、ラット及びサルの試験では ADA は毒性評価に影響しなかった。ロモソズマブに強い免疫原性がみられたウサギでは、ロモソズマブに対する免疫応答による有害な結果（免疫複合体による疾患）が、少数例であったが認められた。閉経後女性における第 II 相及び第 III 相臨床試験では、結合 ADA 及び中和 ADA の出現率がそれぞれ 19.9%（852/4289）及び 1.1%（46/4289）であった。臨床試験全体では、210 mg を月 1 回投与した女性における結合 ADA 及び中

和 ADA の出現率が、それぞれ 19.1%（758/3959）及び 0.8%（31/3959）で、同様の結果であった（モジュール 2.7.3 及び 2.7.4）。

表 5　ロモソズマブの毒性試験における ADA 出現率 (%)

Study Type	Study Number	% of Romosozumab-treated Animals That Were ADA+ at the End of the Dosing Period
1-month rat	105908	18
6-month rat	107425	28
1-month rabbit	117870	80
1-month monkey	105776	3
6-month monkey	107426	13.9 (8.3 Nab+)
Lifetime rat	107895	40 (15.6 Nab+) [a]
EFD dose-range rat	108057	21
EFD rat	108059	36
Fertility/EFD rat	108061	45 [b]
PPN rat	108062	35 [c]

ADA+ = anti-drug antibody positive; EFD = embryo-fetal development; Nab+ = neutralizing antibody positive; PPN = pre-postnatal development.

[a] Week 13 timepoint. [b] Week 4 timepoint. [c] Week 6 timepoint

2.7.2　免疫毒性

Sost$^{-/-}$マウスでは骨髄 B 細胞の減少が報告されている（Cain et al, 2012）。そこで、免疫毒性評価項目、特に循環血液中の B 細胞のリンパ球をフローサイトメトリーでカニクイザルの 52 週間骨質試験において実施した（第 2.7.7.4 項）。その結果、循環血液中の B 細胞数にロモソズマブ投与は影響しなかった。リンパ球に対する潜在的な影響は、副次的薬理試験の項でさらに考察した（モジュール 2.6.2 第 3.4.9.3 項）。

2.7.2.1　Fc エフェクター機能

ロモソズマブは IgG_2 で、Fc エフェクター機能発現に関係するすべての Fcγ受容体に対して本質的に低親和性である（Jiang et al, 2011）。加えて、ヒト IgG_2 は *in vitro* ではヒトあるいはカニクイザルの末梢血単核細胞存在下での抗体依存性細胞傷害（ADCC）活性はないか非常にわずかである（Jacobsen et al, 2011; Warncke et al, 2012）。さらに、IgG_2 は補体 C1q と効果的に結合しないため、ヒト補体存在下で補体依存性細胞傷害（CDC）を惹起できない（Bindon et al, 1988; Dangl et al, 1988; Vidarsson et al, 2014）。IgG_2 による補体経路の活性化は、エピトープが高密度に存在する際にのみ起こる（Lucisano Valim and Lachmann, 1991）。補体活性化には最低 2 個の IgG 分子（Borsos and Rapp, 1965）と C1q との至適な結合が必要で、CDC には細胞表面に整列した IgG の 6 量体が必要である（Diebolder et al, 2014）。スクレロスチンは単量体で 1 個のエピトープを持ち、ロモソズマブの 1 分子のみと結合するため、補体経路の活性化は想定されない。LRP5 及び LRP6 との結合に重要なスクレロスチンのドメインにロモソズマブは結合するため、細胞表面の LRP5 あるい LRP6 と結合したスクレロスチンにロモソズマブは結合することができない。一方で、ロモソズマブは LRP4 とスクレロスチンの結合を阻害しないため、LRP4 に結合したスクレロスチンはロモソズマブと、あるいは LRP4 はスクレロスチンとロモソズマブの複合体と潜在的には結合できる（R20[redacted]0040 試験）。しかし、ロモソズマブは 300 mg/kg までの用量を投与したラット及びカニクイザルの反復投与毒性試験

において忍容性は良好で、スクレロスチンを発現している組織で ADCC、抗体依存性細胞貪食活性（ADCP）又は CDC を介した作用の兆候及び毒性変化はなかった。

2.7.3 作用機序試験

抗スクレロスチン抗体（Scl-Ab）に反応して骨芽細胞系で起こる急性及び慢性の転写変化について検討するために、老齢 OVX ラットにおいて作用機序に関する 2 試験を実施した。これらの試験では、骨の古典的 Wnt シグナルのコンテキストに依存した性質、及び慢性投与における Wnt シグナルを負に調節し骨形成の自己調節に寄与するシグナル伝達経路に関しての考察が示された。別の試験では、若齢ラットを用いて器官、組織あるいは細胞レベルでのロモソズマブと hPTH (1-34)の骨に対する作用を比較し、骨前駆細胞集団に対する作用の重要な相違点が明らかにされた。これらの試験の結果は、発がんリスクの評価に寄与した。

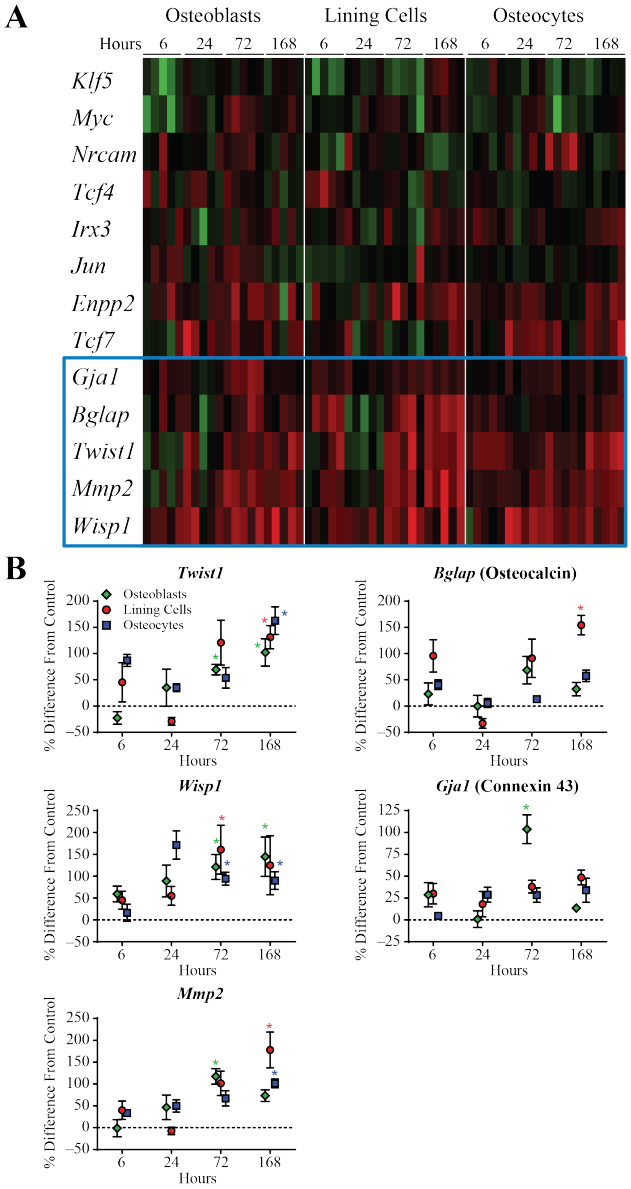
2.7.3.1 Scl-Ab（r13C7）の OVX 老齢雌 SD ラットにおける単回皮下投与による探索毒性試験（115877 試験）

Scl-Ab は古典的 Wnt シグナルの活性化に依存する機構を介して骨形成を増加させるが、*in vivo* での骨芽細胞系細胞の特異的なシグナルについてはほとんど分かっていない。Scl-Ab によって速やかに調節されるシグナル伝達経路について検討するために、Scl-Ab 投与 OVX ラットの投与 1 週以内の椎骨について、レーザーキャプチャーマイクロダイセクション（LCM）によりサンプル採取し、骨芽細胞系の亜集団の転写反応を [redacted] で測定し、マイクロアレイで mRNA を解析した。

6 カ月齢の SD ラットの卵巣を摘出し、2 カ月後に媒体又は Scl-Ab である r13C7 を 100 mg/kg の用量で、単回投与した（20 匹／群）。r13C7 はロモソズマブと同じスクレロスチン結合ドメインを有し、ラットでの免疫原性を無くして ADA 産生の影響を回避するために、ラット Fc ドメインに置き換える操作がなされた。投与後 6、24、72 及び 168 時間に腰椎を採取し、LCM のための凍結切片を作製した。骨細胞は骨マトリックスから、骨芽細胞及びライニング細胞は骨表面から蛍光色素標識に基づいて捕捉した。mRNA を抽出、増幅して、[redacted] 及びマイクロアレイによりプロファイルを明らかにした。

[redacted] 及び主成分分析により、3 つの細胞集団が確認された。発現解析により、Scl-Ab 投与による転写プロファイルは 3 つの細胞タイプは極めて類似することが示された。既知の古典的 Wnt 標的遺伝子はわずか 13 個で、その大部分は骨での機能が知られているが、マイクロアレイの結果では Scl-Ab との反応により明らかな変化がみられた。最も変化した遺伝子は、*Wisp1*、*Twist1*、*Bglap*、*Gja1* 及び *Mmp2* であった。Scl-Ab により、*Gja1* は時間経過に関係なく継続的に発現したが、その他の遺伝子は速やかに誘導され、全般に時間経過とともにアップレギュレートされ、3 つの細胞集団すべてで同様のパターンが観察された（図 2）。

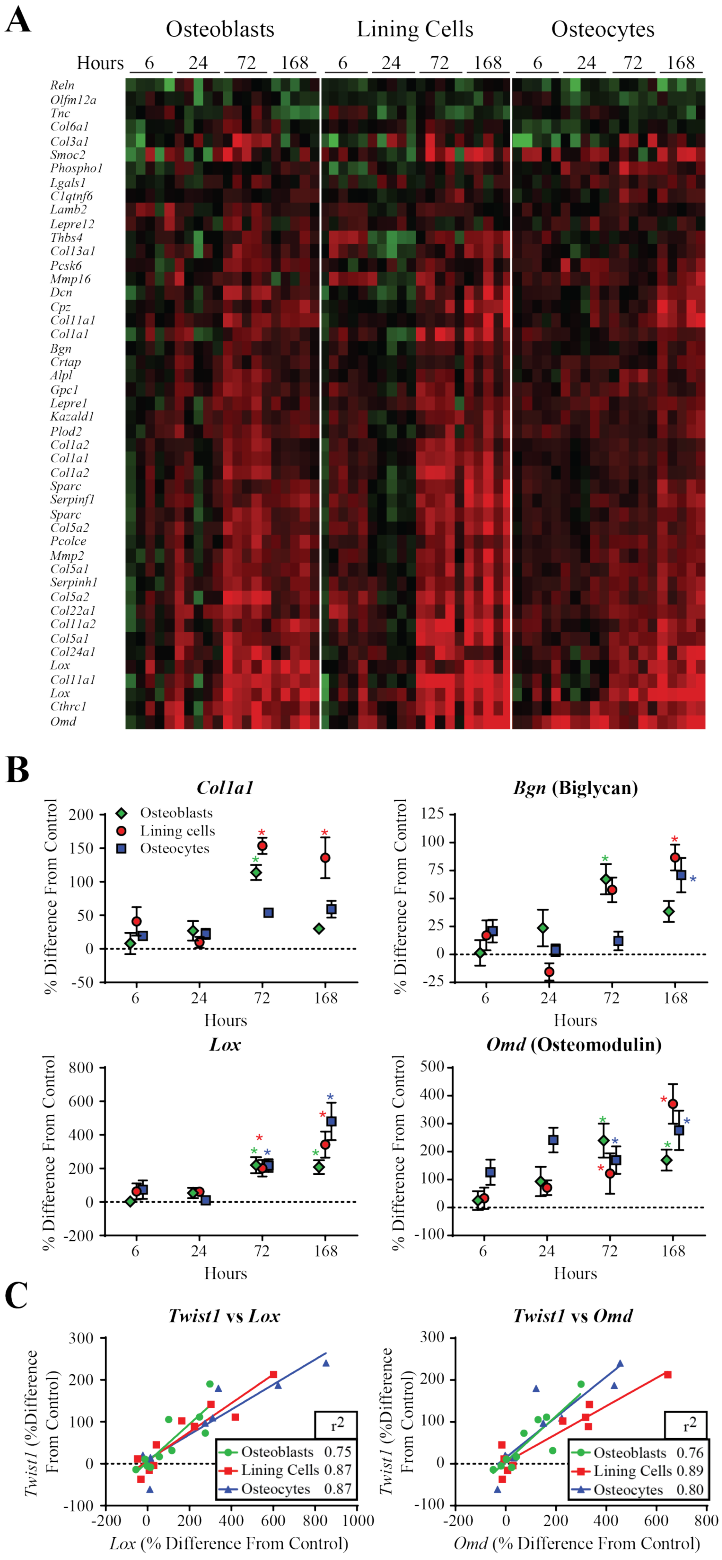
図 2　Scl-Ab（r13C7）によって活性化される骨における限られた数の古典的 Wnt 標的遺伝子



Scl-ab = sclerostin antibody; SEM = standard error of the mean. (A) Expression changes of select Wnt target genes in individual animals following exposure to Scl-Ab. Only Wnt target genes that showed a statistically significant (false discovery rate $q \leq 0.1$) change under at least one condition (any cell type/timepoint) are shown. Columns represent data from an individual animal (n = 5/group) and rows represent an individual Wnt target gene. Each cell contains color-coded log2 ratio values (treated animal/time-matched control group mean; red indicates upregulation, green indicates downregulation). Columns are ordered by cell type, timepoint, and animal number. Rows are clustered using hierarchical clustering (Euclidean distance measure).
(B) Scatter plot showing expression changes of select Scl-Ab-responsive Wnt target genes. Each gene is shown as percentage change with Scl-Ab relative to the control group for each timepoint. Data are mean ± SEM. *$q \leq 0.1$.
Source: Study 115877 final report.

Wnt 標的遺伝子の発現量の増加は、多くの細胞外マトリックス（ECM）遺伝子のアップレギュレーションと一致した（図 3A 及び B）。投与 168 時間において、Scl-Ab 処置により各細胞において *Twist1* と *Lox* 又は *Twist1* と *Omd* の発現量の増加は線形性を示した（図 3C；全 $r^2 = 0.75$〜0.89）ことから、古典的 Wnt シグナルの増加と ECM 生成との関連が示され、これらの生物学的な機能がリンクしていることが示唆された。

図 3　Scl-Ab（r13C7）による類骨形成及び石灰化に関係する遺伝子発現の活性化



ECM = extracellular matrix; LCM = laser-capture microdissection; Scl-ab = sclerostin antibody; SEM = standard error of the mean.

(A) Heatmap showing the expression changes of genes involved in osteoid synthesis/mineralization in individual animals following exposure to Scl-Ab.

(B) Scatter plot showing expression changes of select Scl-Ab-responsive genes. Each gene is shown as percentage change with Scl-Ab relative to the control group for each timepoint. Data are mean ± SEM. *$q \leq 0.1$.

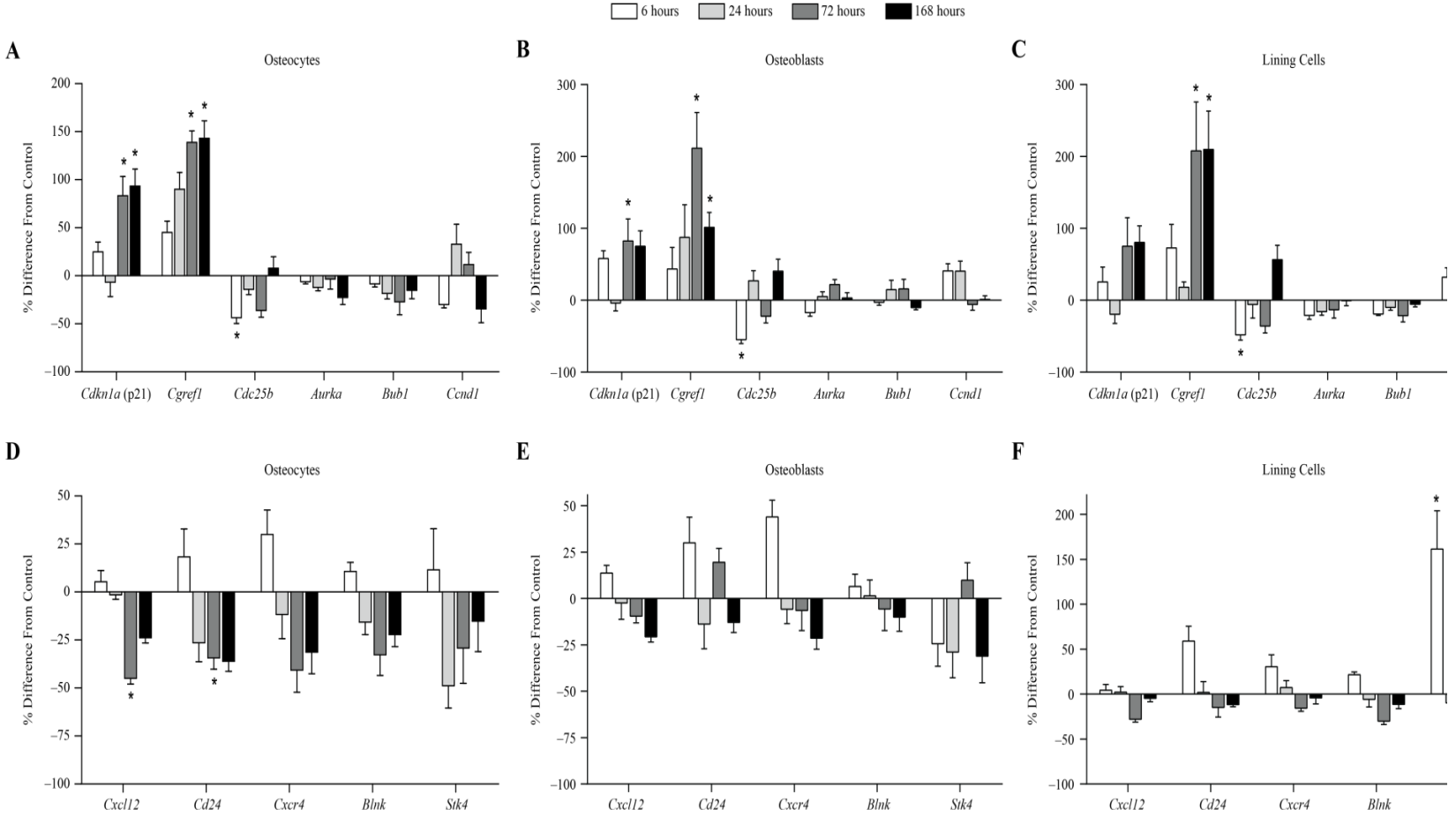
(C) Linear regression of expression of ECM genes, Lox and Omd, with the canonical Wnt target gene, Twist 1, in the three subpopulations across treatment groups. Regression coefficients (r^2) are provided for each LCM-enriched subpopulation.

Source: Study 115877 final report.

上流プロモーターの解析から、これら ECM 遺伝子のうちの 17 個は少なくとも 1 つの Wnt 反応性エレメント共通配列（CTTTGWW）を含むことから、古典的 Wnt シグナルとの直接的な関係が示唆された。

経路分析により Scl-Ab が限られた数の細胞周期の停止に関係する遺伝子、特に *Cdkn1a*（p21）と *Cgref1*、及び B 細胞分化に関連する遺伝子、特に *Cxcl12* を調節することが示唆された（図 4）。

図 4　Scl-Ab（r13C7）による細胞周期及び B 細胞分化に関係する遺伝子発現



SEM = standard error of the mean. Cell cycle (A–C) and B cell development (D–F) genes in osteocytes, osteoblasts, and lining cells, respectively, as percentage change to control. Data are mean ± SEM. *q ≤ 0.1
Source: Study 115877 final report.

要約すると、*in vivo* ではすべての成熟骨芽細胞集団において、Scl-Ab に速やかに反応する下流シグナルは、骨マトリックス形成関連遺伝子の発現上昇に関係する限られた数の古典的 Wnt 標的遺伝子の調節に影響する。これらのデータは、Scl-Ab が骨において古典的 Wnt シグナルの転写産物をコンテキストに依存して増やし、骨形成を増加させることを示した。細胞周期を調節する遺伝子変化は 168 時間まで観察され、おそらく古典的 Wnt シグナルの作用を抑え、骨芽細胞系の潜在的な増殖反応の発現を抑制しているものと考えられた。*Cdc25b* とともに最も高度に調節された遺伝子の *Cdkn1a*（p21）及び *Cgref1* は、p53 標的遺伝子として知られ（Dalvai et al, 2011; Madden et al, 1996; Waldman et al, 1995）、p53 は重要な骨芽細胞増殖の負の調節因子と考えられている（Lengner et al, 2006; Wang et al, 2006）。骨芽細胞系細胞は造血骨髄ニッチの主要構成成分で、細胞からの *Cxcl12* 産物が B 細胞の分化を主に調節することから（Manilay and Zouali, 2014）、B 細胞分化の遺伝子において *Cxcl12* が特に変化することは十分に想定された。*Cxcl12* は骨髄間質細胞で古典的 Wnt シグナルにより調節されることから（Tamura et al, 2011）、*Cxcl12* に対する作用は骨におけるスクレロスチン抑制と古典的 Wnt シグナルの生物学機能におそらく本来備わったものである。Wnt シグナルを介した *Cxcl12* 及びその受容体である *Cxcr4* の減少によっても、間葉系幹細胞の骨分化が促進される（Liu et al, 2013）。

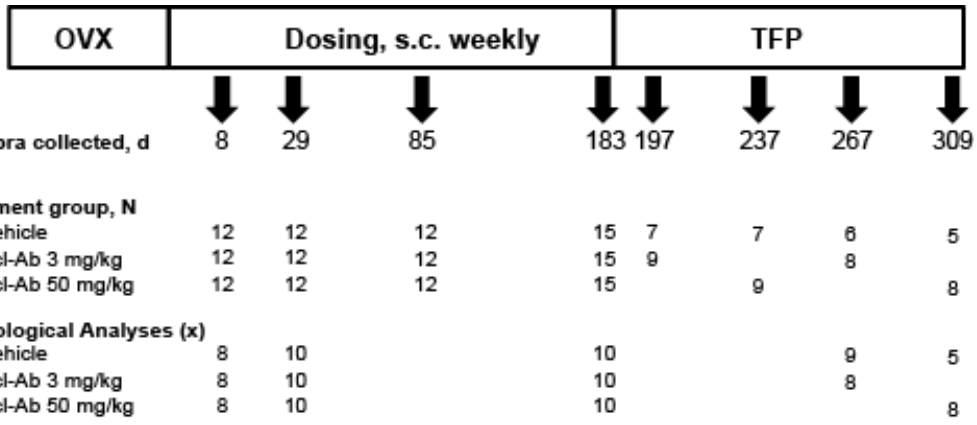
結論として、シグナル経路の構造的活性化変異を伴うがんのプロファイルが報告されているが（Polakis, 2007）、これらのデータは Scl-Ab が古典的 Wnt シグナルと関連する多くの遺伝子を急速に活性化せず、さらに骨の古典的 Wnt シグナル転写産物はコンテキストに依存することを示した。

2.7.3.2 Scl-Ab（r13C7）の OVX 老齢雌 SD ラットにおける 18 週間の休薬期間を含む 26 週間皮下投与毒性試験（115777 試験）

Scl-Ab の長期投与に関連した骨芽細胞系の時間的な変化と細胞における転写変化を検討するため、ラットに Scl-Ab 又は媒体を 26 週間（183 日）投与及び休薬し、腰椎について骨芽細胞系のステレオロジー及び転写解析を行った。

6 カ月齢の SD ラットの卵巣を摘出し、2 カ月間無処置後に、媒体あるいは Scl-Ab（r13C7）を 3 又は 50 mg/kg の用量で週 1 回、26 週間皮下投与した。投与 8、29、85 及び 183 日に、各群最大 15 匹のラットを安楽死させた。休薬後の影響を評価するため、さらに各群最大 9 匹のラットについて、媒体及び 3 mg/kg 群では 197 日又は 267 日に、媒体及び 50 mg/kg 群では 237 日又は 309 日に安楽死させた（図 5）。

図 5　試験デザイン及び動物数



Vertebra collected, d	8	29	85	183	197	237	267	309
Treatment group, N								
Vehicle	12	12	12	15	7	7	6	5
Scl-Ab 3 mg/kg	12	12	12	15	9		8	
Scl-Ab 50 mg/kg	12	12	12	15		9		8
Stereological Analyses (x)								
Vehicle	8	10		10			9	5
Scl-Ab 3 mg/kg	8	10		10			8	
Scl-Ab 50 mg/kg	8	10		10				8

Six-month-old Sprague Dawley female rats were ovariectomized and left untreated for 8 weeks. Rats were then administered either vehicle or 3 or 50 mg/kg of Scl-Ab (r13C7) once weekly by SC injection and vertebra were collected on day 8, 29, 85, 183, and at designated times during the treatment-free period. d = day; N or x = number of animals; OVX = ovariectomized; SC/s.c. = subcutaneous; Scl-Ab = sclerostin antibody; TFP = treatment-free (recovery) period

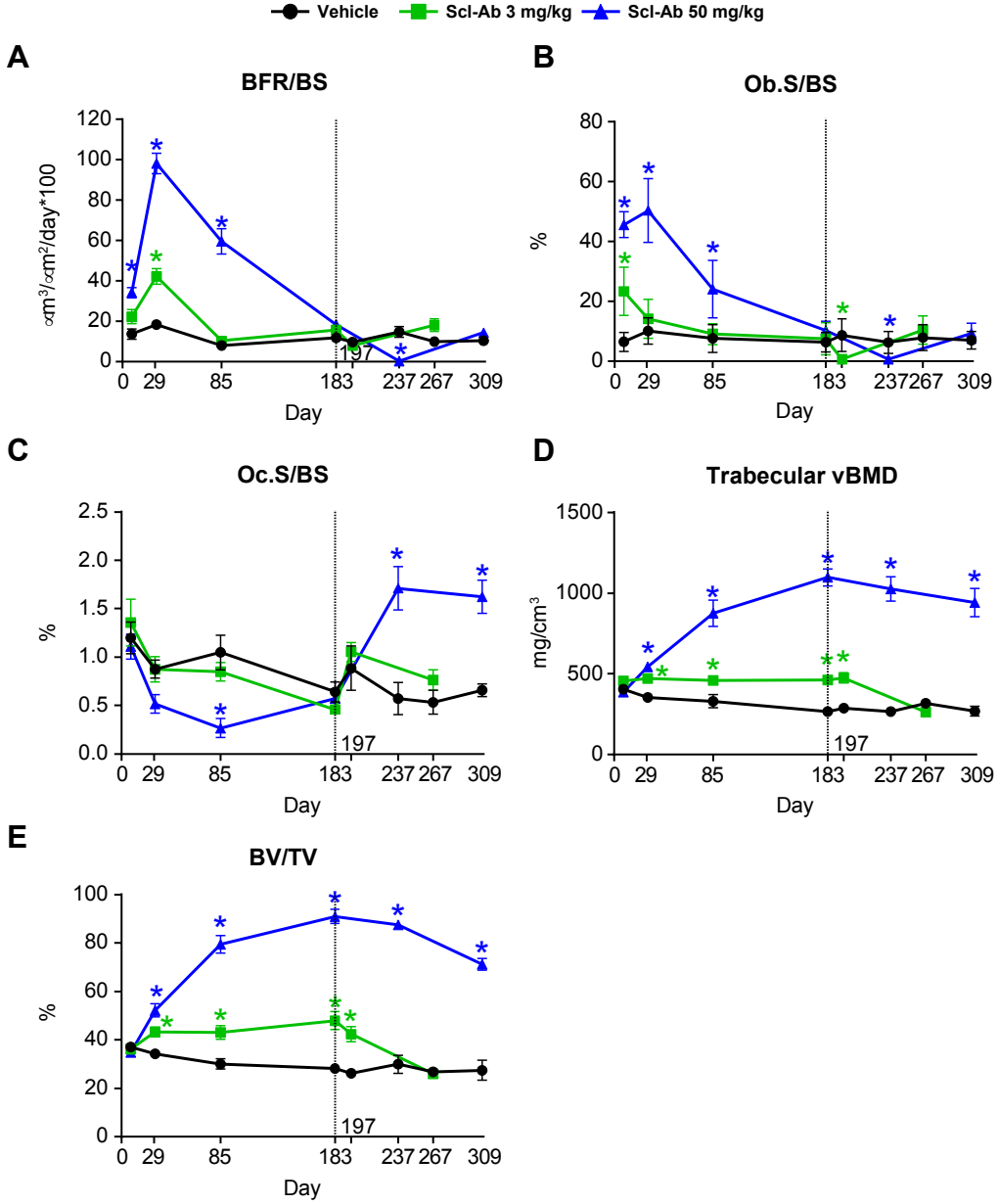
Scl-Ab 投与により、一過性に骨形成率／骨面（BFR/BS）が用量に依存して増加した。BFR/BS は、3 mg/kg では投与 29 日が最高で、投与 85 日までに媒体レベルに回復し、267 日まで媒体レベルが持続した（図 6A）。50 mg/kg では投与 8 日で上昇し、投与 29 日でピークに達して、投与 183 日までに媒体レベルに低下した。休薬期間中、BFR/BS は 237 日に一過性でほぼ完全な抑制がみられたが、309 日までに媒体レベルに回復した。

骨芽細胞面／骨面（Ob.S/BS）は、3 mg/kg では投与 8 日に有意に増加し、その後投与 29 日までに媒体レベルに低下した。50 mg/kg では、投与 8～85 日に有意に増加し、ピークは投与 29 日で、投与 183 日には媒体レベルに低下した。休薬期間中、Ob.S/BS は 3 及び 50 mg/kg で最初の測定ポイントで有意に減少した（図 6B）。

骨吸収を示す破骨細胞面／骨面（Oc.S/BS）は、投与 29～183 日に媒体と比べて全般に用量に依存して減少した（50 mg/kg では投与 85 日で有意に減少）。50 mg/kg で投与 29 日と 185 日の血清 PTH に、Scl-Ab 投与の影響はなかった。骨量増加の逆転に一致して、50 mg/kg で休薬期間の測定ポイントにおいて Oc.S/BS が有意に増加した（図 6C）。

Scl-Ab 群では、pQCT による椎骨海綿骨 vBMD 及び骨形態計測による海綿骨量／総量（BV/TV）が用量に依存して増加した（図 6D 及び E）。3 mg/kg では、vBMD 及び BV/TV は投与 29 日までに最高レベルに達し、投与 183 日まで持続し、休薬中は徐々に減少し 267 日には媒体レベルとなった。50 mg/kg では、vBMD 及び BV/TV は投与 183 日まで徐々に増加し、休薬期間中は減少したが、増加骨量の逆転が不完全であったため、媒体群と比較すると 309 日には有意な増加がみられた。

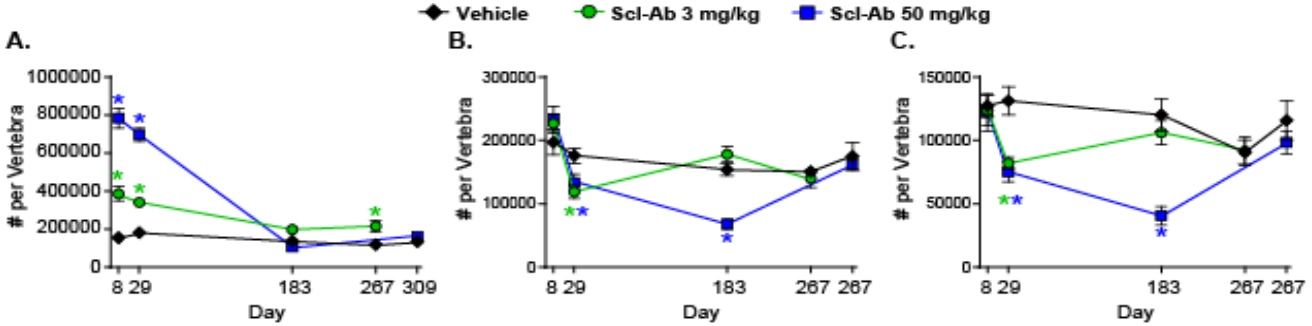
図 6　Scl-Ab（r13C7）投与による椎骨の骨形態計測パラメータの変化



BFR/BS = bone formation rate/bone surface; BMD = bone mineral density; BV/TV = bone volume/total volume; Ob.S/BS = osteoblastic surface/bone surface; Oc.S/BS = osteoclastic surface/bone surface; Scl-Ab = sclerostin antibody.
(A) BFR/BS, (B) Ob.S.S/BS, (C) Oc.S/BS, (D) trabecular volumetric BMD, and (E) BV/TV. Data are mean ± standard error of mean. *p ≤ 0.05 vs. Vehicle group (two-way ANOVA followed by Dunnett's test for treatment period data; two-tailed t-test for the treatment-free period data) Source: Study 115777 final report

Scl-Ab を投与したラットにおいて、椎骨当りの総骨芽細胞数（Ob.N）は投与 8 と 29 日で用量に依存し有意に増加したが、投与 183 日までには媒体レベルとなった。Ob.N は BFR/BS の軽微な上昇と骨量の正常化に対応して、3 mg/kg では休薬期間終了時には増加した（図 7A）。海綿骨周囲骨前駆細胞（Ptb.OP）数は投与 29 と 183 日で有意に減少し、投与 183 日では 3 mg/kg は媒体レベルに近かったが、50 mg/kg はさらに減少した（図 7B）。休薬終了時は、媒体レベルであった。骨髄中骨前駆細胞（Ma.OP）は、同様のパターンで変化した（図 7C）。

図 7　Scl-Ab（r13C7）投与による骨芽細胞系細胞数の変化



Ob.N= total obteoblast number, PTb.Op= Peritrabecular osteoprogenitors, MA.Op= Marrow osteoprogenitors

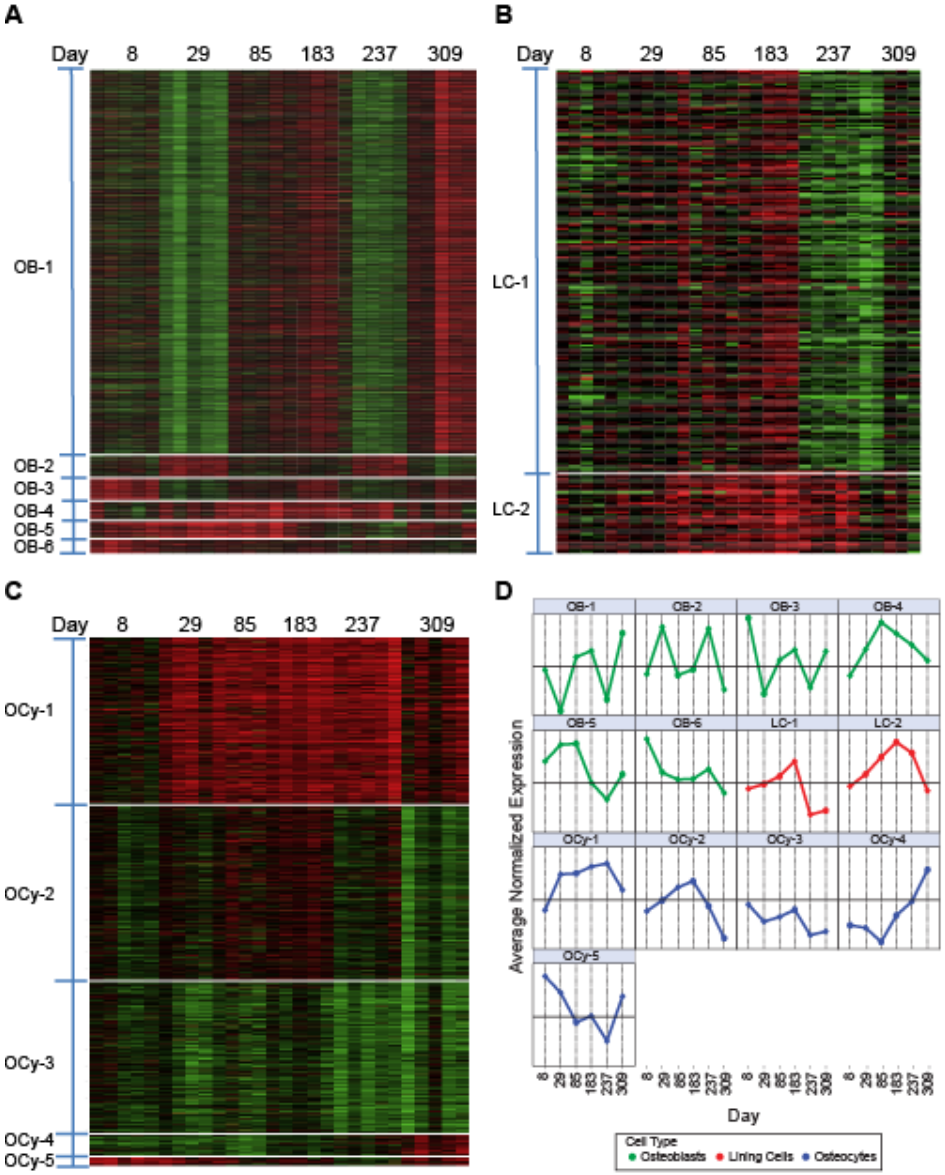
(A) Ob.N (B) PTb.OP number (C) Ma.OP number. Data are mean ± standard error of mean. *p ≤ 0.05 vs. Vehicle group (two-way ANOVA followed by Dunnett's test for treatment period data; two-tailed t-test for the treatment-free period data).

Source: Study 115777 final report

LCM で分離した骨芽細胞（OB）、ライニング細胞（LC）及び骨細胞（OCy）の各細胞の mRNA のマイクロアレイについて、発現量が異なる遺伝子（DEG）の共発現解析を行った結果、各細胞タイプ及び細胞タイプ間の時間的な発現パターンが明確にされた。OB では 1650 個の遺伝子が 7 クラスターに分類され（図 8A）、LC では 291 個の遺伝子が 3 クラスターに分類され（図 8B）、OCy では 1839 個の遺伝子が 6 クラスターに分類された（図 8C）。細胞タイプ毎の単一クラスター（クラスター0）は未定義で、さらなる解析は行わなかった。各クラスターは細胞タイプ別に、含まれる遺伝子の数によりランク付けした（例えば OB-1 は最も多い遺伝子を持つ OB のクラスター）（図 8D）。

マイクロアレイ解析による 13 の遺伝子クラスターのうち、OB-4、OB-5、LC-2、OCy-1、OCy-3 及び OCy-5 だけが、骨形態計測と有意に相関した。OB-5 と OCy-5 は ECM と関連した遺伝子クラスターで、Ob.S/BS 及び BFR/BS と明らかに相関した。OB-4、LC-2 及び OCy-1 は BV/TV と正に相関し、それぞれ ECM プロセッシング、細胞骨格及び TGF-β、IGF、BMP 及び Hippo シグナル調節に関する遺伝子が含まれた。OCy-3 は有糸分裂及び細胞周期の進行に関係する遺伝子を含み、BV/TV と負の相関があった。Oc.S/BS との明らかな相関はなかった。

図 8　骨芽細胞系における Scl-Ab（r13C7）50 mg/kg 投与による経時的な遺伝子発現パターン



LC = lining cells; OB = osteoblasts; OCy = osteocytes; Scl-Ab = sclerostin antibody.
(A) Heat map of genes altered in OB.
(B) Heat map of genes altered in LC.
(C) Heat map of genes altered in OCy. Columns represent individual animals and rows represent specific genes. Each cell contains color-coded $\log_2$ ratios (treated animal/time-matched vehicle group mean). Red = upregulated, green = downregulated.
(D) Average change in gene expression of treated animals over each of the gene co-expression modules identified in OB, LC, and OCy. The horizontal line denotes average expression in vehicle controls.
Source: Study 115777 final report

115877 試験と同様に、Wnt シグナル、ECM、細胞周期の停止及び B 細胞分化に関連する遺伝子の調節が観察された。Wnt シグナル遺伝子に関しては、OCy で投与 29 日以降にみられた非古典的 Wnt 経路の負の調節遺伝子である *Wnt5b* のアップレギュレーションに限られた。25 個の Wnt 標的遺伝子は、時間経過を通して少なくとも 2 つの発現で明らかに調節され、50 mg/kg の OCy で最も一貫した時間的パターンを示した。Wnt 標的遺伝子発現パターンは、投与 8 日では *Twist1* 及び *Wisp1* のアップレギュレーションを含めて、3 つの細胞タイプのすべてで類似した。投与 29 日に OCy で違いがみられ、*Twist1* が媒体レベルに回復し、そのほかの一連の Wnt 標的遺伝子（例えば *Cd44*、*Id2*、*Irx3*、

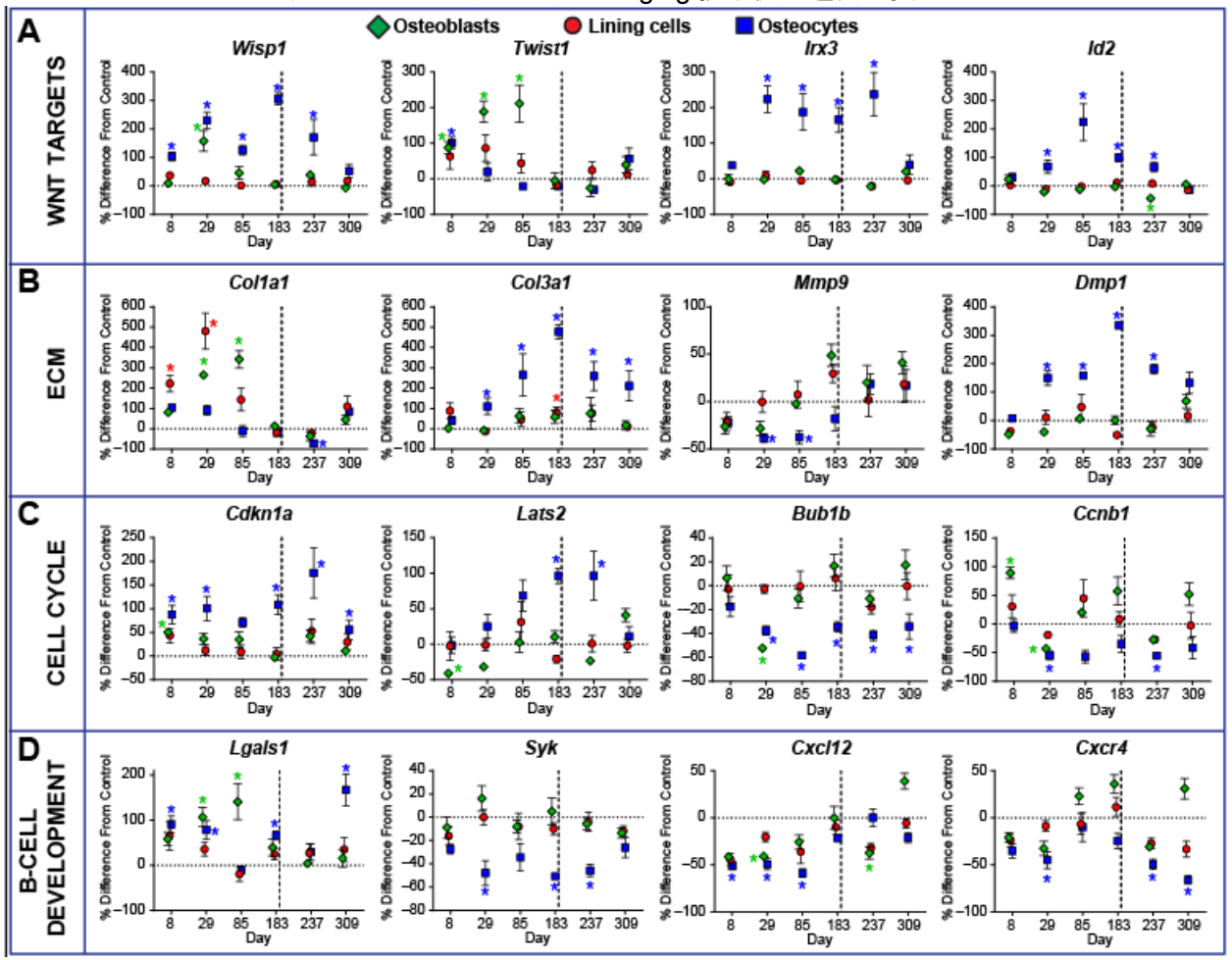
Vegfa）は投与期間中上昇した（OCy-1）。Wnt シグナルの負の調節遺伝子である *Tcf4*（*Tcf7l2*）も含まれた。*Wisp1* は特異的で、投与 8 日に有意に増加し、237 日まで増加が続いた（OCy-1）。50 mg/kg の OB 及び LC では、Wnt 標的遺伝子の調節はわずかであった（図 9A）。

Scl-Ab 投与によって調節された 55 の遺伝子は、遺伝子オントロジー（GO）アノテーション（GO:0030198、ECM 組織）で、ECM 形成及び石灰化に関連した。OB（OB-5）及び OCy（OCy-5）のいくつかのコラーゲン遺伝子の増加は、時間的に BFR/BS に対応し、50 mg/kg で早期に上昇し、OB より OCy で早期に媒体レベルに回復した。LC では、同じ発現パターンを示す ECM 遺伝子はほとんどなかったが、OB-5 と類似の遺伝子クラスターが 50 mg/kg で投与 8 と 29 日にアップレギュレートされた（図 9B）。

Scl-Ab 投与によって調節された（あるいは発現に変化のあった）183 の遺伝子は、GO アノテーション（GO:0000278、有糸分裂細胞周期）で、細胞周期に関連した。意外にも細胞周期関連 DEG の大部分は OCy で観察され、50 mg/kg での Wnt 標的遺伝子のように、多くの遺伝子発現変化が投与 29 日に始まった。投与 29 日に上昇し休薬期間中も増加が持続した遺伝子には、p53 標的遺伝子 *Cdkn1a*（p21）と *Mdm2* 及び腫瘍抑制遺伝子 *Lats2*（Hippo 経路）が含まれた。投与 29 日に減少が始まり休薬期間中も減少が続いた遺伝子には、有糸分裂及び細胞周期進行に関連する多くの p53 標的遺伝子（例えば数種のサイクリン及び細胞分裂周期タンパク、*Aurka*、*Bub1b*、*Chek1*、*Kif23*、*Kifc1*、*Knstrn*、*Plk1*）及びプロマイトテック転写因子の *Foxm1* が含まれた（図 9C）。

50 mg/kg では、大部分が OCy でみられた 116 個の DEG がリンパ球（GO:0046649、B 細胞分化）に関連し、特に B 細胞と関係した（図 9D）。B 細胞分化の正及び負の調節遺伝子（*Lgals1*、*Mef2c*、*Id2*）が投与 29 日に増加し（OCy-1）、*Cxcr4*（*Cxcl12* 受容体）と *Btk*（前駆 B 細胞分化調節）が投与 29 日に低下し（OCy-3）、B 細胞の分化（*Lyl1*、*Sash3*、*Stat5a*、*Syk*）と生存（*Spn*、*Cd24*、*Cd47*）に関連する DEG の発現が低下した。B 細胞分化と Wnt 標的遺伝子の主要調節遺伝子である *Cxcl12* は、投与期間中の発現が低下し（OCy-4）、休薬期間には媒体レベルに戻った（図 9D）。

図 9　Scl-Ab（r13C7）50 mg/kg 投与後の遺伝子変化



ECM, extracellular matrix; Scl-Ab, sclerostin antibody.

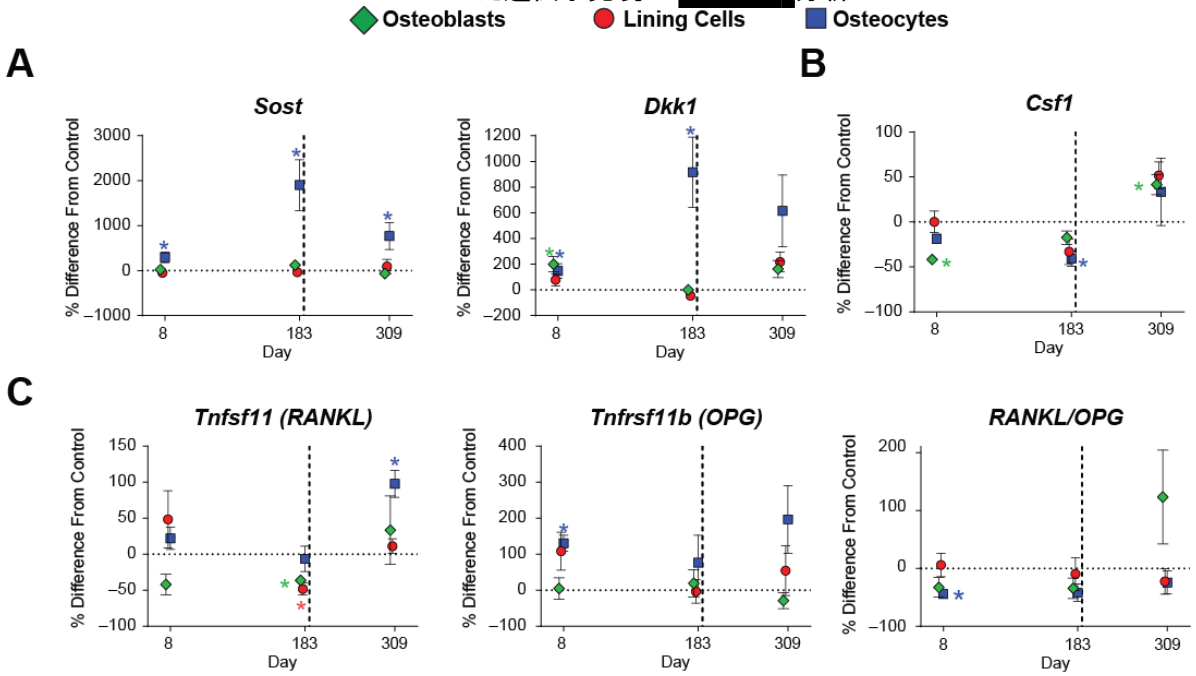
Scl-Ab activated the expression of genes involved in (A) Wnt target activation, (B) ECM formation and mineralization, (C) mitotic cell cycle, and (D) B-cell development. Each gene is shown as percentage change with Scl-Ab relative to the vehicle group mean for each time point. Data are mean ± standard error of mean. *q ≤ 0.1 false discovery rate.

Source: Study 115777 final report;

Scl-Ab の 3 mg/kg でみられた発現パターンは 50 mg/kg と類似したが、遺伝子発現変化のダイナミックレンジが狭いため、全般に統計学的な有意差はなかった。

投与 8、183 及び 309 日に Scl-Ab の 50 mg/kg で観察された変化を確認するために、限られた DEG について [redacted] 分析を行った。マイクロアレイと [redacted] の結果は、全般によく一致した。しかし、[redacted] では OCy で *Sost* は明らかにアップレギュレートされた（投与 183 日で 19 倍、図 10A）が、マイクロアレイではアップレギュレーションはみられなかった。さらに、マイクロアレイで発現増加がみられなかった Wnt 抑制遺伝子の *Dkk1* は、[redacted] では OCy で発現が増加した（投与 183 日で 9 倍、図 10A）。OCy で主に発現している他の遺伝子は投与 183 日に強くアップレギュレートされ、*Dmp1* 及び *Mepe* はそれぞれ 10 及び 7 倍であった。休薬期間中、これらの OCy での遺伝子発現は、BV/TV の低下とともに減弱した。*Csf1*、*Tnfrsf11*b（OPG）及び *Tnfsf11*（RANKL）は、マイクロアレイでは有意な転写調節が観察されなかったが、[redacted] では OCy で *Csf1* は投与期間中減少し（図 10B）、OPG は全般にアップレギュレートされ、RANKL は変化がなかった（図 10C）。OPG に対する RANKL の割合は、投与期間中 OCy で減少した（図 10C）。休薬期間中の多くの遺伝子変化は、Oc.S/BS の増加に一致した。

図 10　Scl-Ab（r13C7）投与 8 日、183 日及び 309 日の OCy の Wnt 抑制と破骨細胞形成に関連した遺伝子発現の [redacted] 分析



(A) Changes in expression represented as % vehicle group mean measured by [redacted] for Sost, Dkk1, and osteoclastogenesis genes related to (B) Csf and (C) RANKL/OPG. Data are mean ± standard error of mean. *p ≤ 0.05 two-tailed t-test

Source: Study 115777 final report

上流の調節因子について解析した結果、OB、LC 及び OCy の DEG の生物学的機能が示され、OCy では最も一貫したパターンがみられた。数種の転写因子及び分子については、OCy で 50 mg/kg の投与 29 日から活性化され、投与期間は活性化が持続し、休薬期間は低下すると予測された。フィルタリングに用いた統計基準に基づくと、OCy での有糸分裂誘発及び細胞周期進行に関するシグナ

ル伝達経路が最も有意（P 値と Z-score）で、これらを含めていくつかの生物学的なテーマが示された（図 11A）。

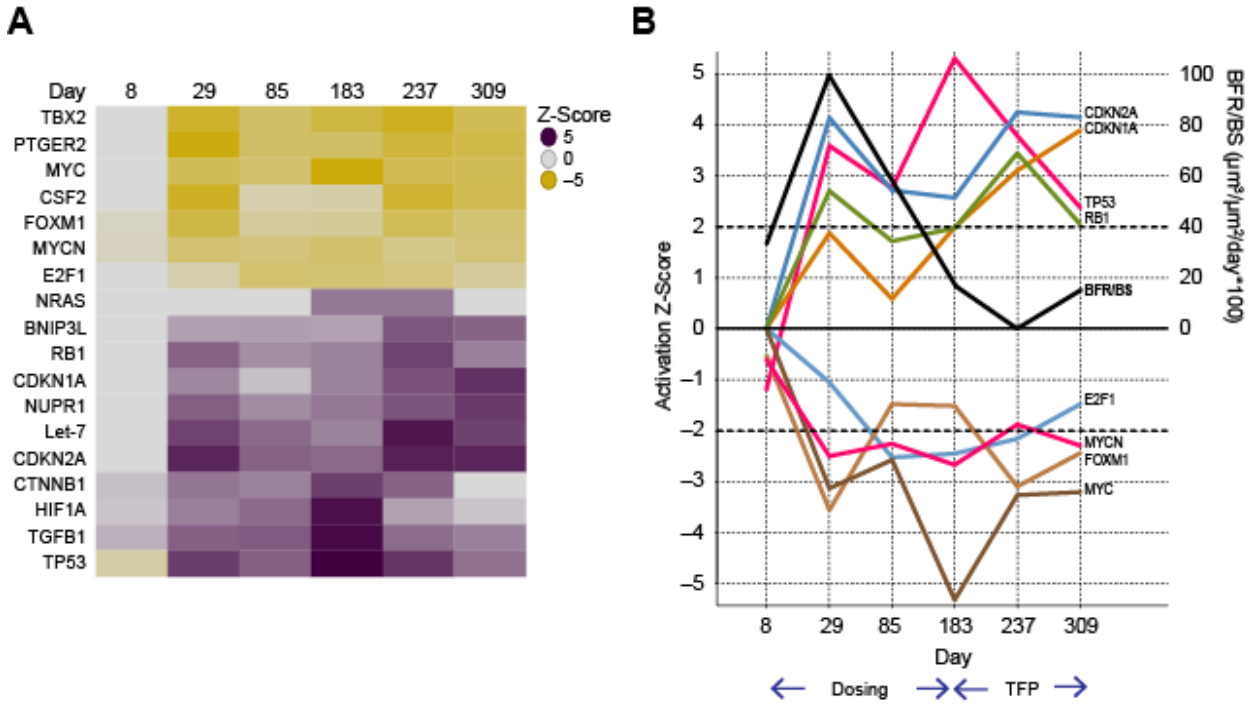
投与 8 日の BFR/BS の早期上昇に一致して、OB で Myc シグナル（c-Myc、Z-score = +4.6）及び Mycn（n-Myc、Z-score = +3.6）の、一過性の有意な活性化がみられた。投与 29 日では BFR/BS が最高で、Wnt 標的遺伝子発現パターンの変化に一致して、OCy で細胞周期進行を抑制するシグナル伝達経路の活性化がみられた。これらの内、TP53（p53）、CDKN1a（p21）、CDKN2a、RB1（Rb）及び Let-7 の調節が最も一貫してみられた。データセット全体では p53 シグナルの活性化が統計学的に最も有意で、OB 及び LC ではそれぞれ投与 85 及び 183 日の時点で活性化した。これらのパスウエイの活性化に関連して、c-Myc、E2F1 及び FOXM1 を含む OCy でのプロマイトジェニックなパスウエイは抑制された。BFR/BS が低下した投与期間を通じて、これらの変化は維持された（図 11B）。休薬期間中は BV/TV が低下するとともに、転写因子シグナルは対照群に近づくように減少した。p53 シグナル活性化を想定する DEG は、直接下流の p53 標的を認識するか p53 シグナルとリンクした。

一部の DEG は独自に各パスウエイと関連したが、これら p53 遺伝子の多くは他の調節パスウエイを活性化すると考えられた。CDKN2a に関しては、固有 DEG には INK ファミリー抑制因子の転写調節因子である *Cited2* のアップレギュレーション（OCy-1）が含まれた。また RB1 に関して、固有 DEG には *Blm*、*Chaf1* 及び *Lig1* のダウンレギュレーション（OCy-3）と *Mef2c* のアップレギュレーション（OCy-1）が含まれた（Black et al, 2003）。p21 に関しては、p21 自身の転写によりアップレギュレートされた。細胞周期及び分化を調節する miRNA である Let-7（Lui et al, 2014）に関しては、活性化スコアに寄与する固有 DEG には細胞分裂周期関連タンパク（例えば、*Cdca 2* 及び *8*）のダウンレギュレーション（OCy-3）が含まれた。

同時に抑制されたプロマイトジェニックパスウエイでは、c-Myc シグナルが最も影響を受けたパスウエイであった。多くの DEG は c-Myc 活性化状態に寄与したが、OCy の DEG には数個のサイクリン（例えば、*Ccnb*、*1Ccnb2*、*Ccne1*）（OCy-3）を含む c-Myc の直接又は下流標的が含まれることは、特記すべきである。c-Myc と共有しなかった DEG のうち、E2F1 シグナルの抑制は、既知の E2F1 標的遺伝子（*Dut*、*E2f4*、*Hmgb2* 及び *Rfc2*）（OCy-3）のダウンレギュレーションに関連した（Ren et al, 2002）。Foxm1 の抑制に寄与している固有 DEG には、Foxm1 自身のダウンレギュレーションが含まれた。

他にも、上流調節因子の解析で重要な生物学的テーマが示された。統計学的なカットオフ値に合致したのは、50 mg/kg の OCy での TBX2 シグナル（TGF-β1 の増殖メディエーター）の抑制に関連した TGF-β1 の活性化であった（Li et al, 2014）。さらに、破骨因子である顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（CSF2）によるシグナル抑制（Lee et al, 2009）、細胞生存（NUPR1）、血管新生（HIF1a）、抗アポトーシス（BNIP3L）及び NRAS 伝達経路の活性化、及び機械的シグナル伝達の主要な伝達経路であるプロスタグランジンシグナル（PTGER2）の抑制（Forwood, 1996）が明らかになった（図 11A）。

図 11　Scl-Ab（r13C7）50 mg/kg によって骨芽細胞系において活性化又は抑制される細胞周期進行及び有糸分裂誘発に関係するパスウエイの経時変化



BFR/BS = bone formation rate/bone surface; OCy = osteocyte; TFP = treatment-free period (recovery).
(A) Heat map of activation Z-scores for all molecules in OCy that are predicted to be activated (purple) or inhibited (yellow) at two or more time points.
(B) Line plots of Z-scores in OCy for specific signaling pathways that are promitogenic, known tumor suppressors, or cell cycle progression inhibitors. Line plot of temporal changes in vertebral BFR/BS in black. Source: Study 115777 final report

結論として、Scl-Ab を 26 週間投与した OVX 老齢ラットの椎骨において、BFR/BS 及び Ob.N の急速で著しい上昇がみられ、投与 29 日には BFR/BS は最高となり、投与 183 日まで BFR/BS 及び Ob.N は徐々に低下した。休薬により BFR/BS は最初抑制されたが、その後媒体レベルに戻った。海綿骨の骨量は投与 183 日まで徐々に増加し、休薬期間は減少した。OcS/BS は投与期間中低下し、休薬期間は破骨細胞発生の主要調節因子の発現変化に一致して上昇した。骨前駆細胞の減少は、骨芽細胞及び骨形成の減少に先行し、骨細胞での転写の明らかな変化に相関した。転写の変化としては、Wnt シグナルを調節するパスウェイと有糸分裂誘発及び細胞周期進行を抑制することが知られているパスウエイの誘導がみられた。これらの変化が時間的に一致することから、下流調整パスウエイの協調的対応は古典的 Wnt シグナルの転写産物を調節し、長期 Scl-Ab 投与での骨形成の自己調節に貢献することが示唆された。古典的 Wnt シグナルは多機能で、SOST 及び DKK1 のような細胞外抑制因子の誘導だけでなく、TGF-β1、Hippo 及び古典的 Wnt シグナル産物を調整する非古典的 Wnt（Attisano and Wrana, 2013; van Tienen et al, 2009）を誘導することが示唆された。しかし、最も重要なシグナル変化は、細胞周期進行を制限すると考えられるパスウエイで起こった。これらの転写変化と BFR/BS の変化の時間的な関係から、有糸分裂誘発及び細胞周期進行の抑制が長期間の Scl-Ab 投与でみられる骨形成の自己調節へ寄与することが示唆された。p53 及び他の腫瘍抑制シグナルの誘導は、有糸分裂を制限し骨での発がんリスクを低減すると考えられた。

2.7.3.3 AMG 785 及び hPTH (1-34)の SD ラットにおける 26 週間皮下投与探索毒性試験（115776 試験）

本試験では、Scl-Ab（ロモソズマブ）又は PTH（hPTH (1-34)）を投与した雌雄ラットの海綿骨及び皮質骨の骨バイオマーカー、骨量及び骨形成と骨吸収に関する骨形態計測の変化を経時的に検討した。

8 週齢の雌雄 SD ラットに、4 又は 26 週間、媒体あるいは Scl-Ab としてロモソズマブの 3 又は 50 mg/kg を週 1 回皮下投与、又は hPTH (1-34)の 75 µg/kg/日を毎日投与した。動物数は、対照群及び hPTH 群では 4 及び 26 週間投与が各々10 匹／性／群、Scl-Ab 3 mg/kg 群の 4 週間投与が 20 匹／性／群で 26 週間投与が 50 匹／性／群、そして Scl-Ab 50 mg/kg 群は 4 週間投与が 18 匹／性／群で 26 週間投与が 20 匹／性／群であった。投与量（Scl-Ab 50 mg/kg 及び hPTH 75 µg/kg/日）は、各々のラット生涯投与試験（107895 試験）（Vahle et al, 2002）と同じであった。剖検時（投与 4 週あるいは 26 週）及び投与 85 日に、ADA 産生状況と血清 Scl-Ab 濃度を評価するために、血清を採取した。ADA 陽性動物は試験から除外したが、1 群 12 匹に減らす必要がある場合には、さらに ADA 陰性動物を除外した。骨の分析は、血清中 Scl-Ab 濃度が最も高かった ADA 陰性動物 10 匹／群において実施した。

投与 29、85 及び 183 日における雌の Scl-Ab（ロモソズマブ）濃度（平均 ± 標準偏差）は、3 mg/kg でそれぞれ 1.50 ± 0.337、3.44 ± 0.878 及び 4.05 ± 1.34 µg/mL、50 mg/kg でそれぞれ 447 ± 50.7、695 ± 158 及び 359 ± 113 µg/mL であった。投与 29、85 及び 183 日における雌の Scl-Ab（ロモソズマブ）濃度（平均 ± 標準偏差）は、3 mg/kg でそれぞれ 4.07 ± 0.364、10.3 ± 1.27、12.6 ± 2.73 µg/mL、50 mg/kg でそれぞれ 410 ± 40.4、583 ± 69.5、379 ± 62.9 µg/mL であった。

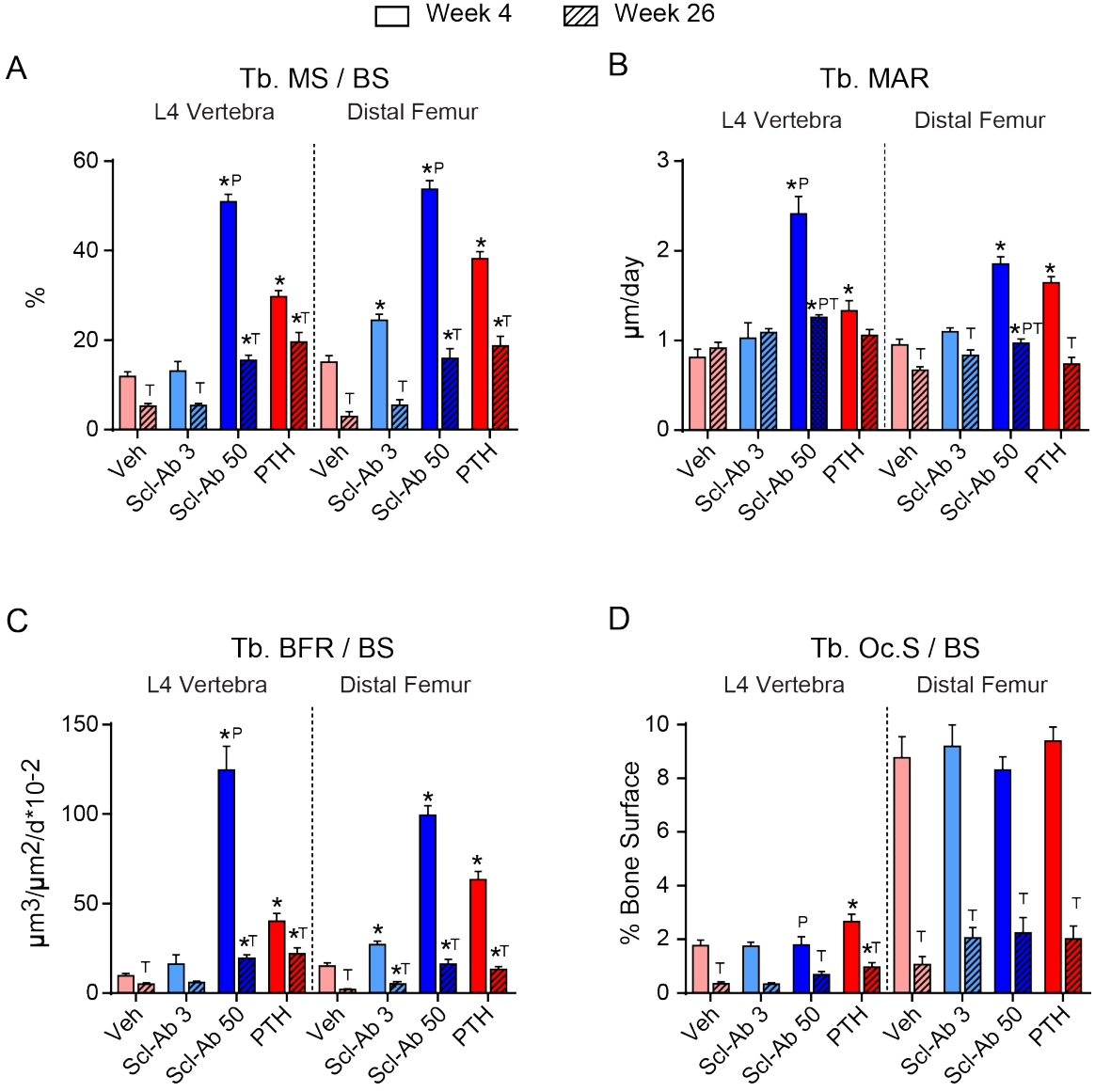
ステレオロジーの手法を用いて、雌ラットの椎骨の骨芽細胞系における薬剤の作用を比較した。骨前駆細胞、骨芽細胞及びライニング細胞の総数を、免疫染色（RUNX2 又はネスチン）、分布及び形態計測により、fractionator estimator 又は proportionator estimator を用いて推定し、密度推計値を総骨面、総骨芽細胞面又は総骨髄量から算出した。

投与 4 及び 26 週に、雌雄の脛骨、大腿骨及び椎骨の脱灰切片について病理組織学的検査を行い、骨髄又は骨芽細胞の形態変化を評価した。hPTH 投与ラットにおいて、投与 4 週に海綿骨周囲の間質細胞のわずかな増加が、脛骨骨幹端近位（雄 10 匹中 7 匹）及び上腕骨（雌雄ともに 10 匹中 3 匹）で観察されたが、投与 26 週では認められなかった。これらの細胞は、おそらく骨前駆細胞に相当する（Lotinun et al, 2005）。hPTH 投与の雄では、投与 4 週で骨幹端の海綿骨が速やかに増加し、周囲の間質細胞の増加に関係すると思われた。hPTH を投与した雌の長骨、主として骨端海綿骨又は遠位骨幹端に、まれに線維骨の foci が投与 4 及び 26 週に低頻度で観察された。骨芽細胞の過形成は、hPTH 及び Scl-Ab ともに観察されなかった。

Scl-Ab 投与による骨吸収マーカーへの影響は顕著なものではなく、骨形成マーカーは早期に増加したが、投与 26 週までに媒体レベルに低下した。hPTH 投与では、骨吸収マーカーの持続的増加を伴い、骨形成マーカーも持続して増加した。

Scl-Ab 投与は概して hPTH 投与よりも海綿骨量及び皮質骨量を増加させ、投与 4 週で脊椎及び大腿骨中央部におけるより高い BFR と相関したが、それに対応した骨吸収指標の上昇はなかった。投与 4 週の椎骨の BFR/BS の増加は、hPTH 投与より Scl-Ab 投与で大きく、反復投与により減弱した。椎骨では、hPTH の 4 及び 26 週間投与で骨吸収の Oc.S/BS が上昇した（図 12）。

図 12　Scl-Ab AMG 785（3 又は 50 mg/kg/週）又は hPTH (1-34)（75 µg/kg/日）を 4 週間あるいは 26 週間投与した雌ラットにおける椎骨海綿骨の骨形態計測

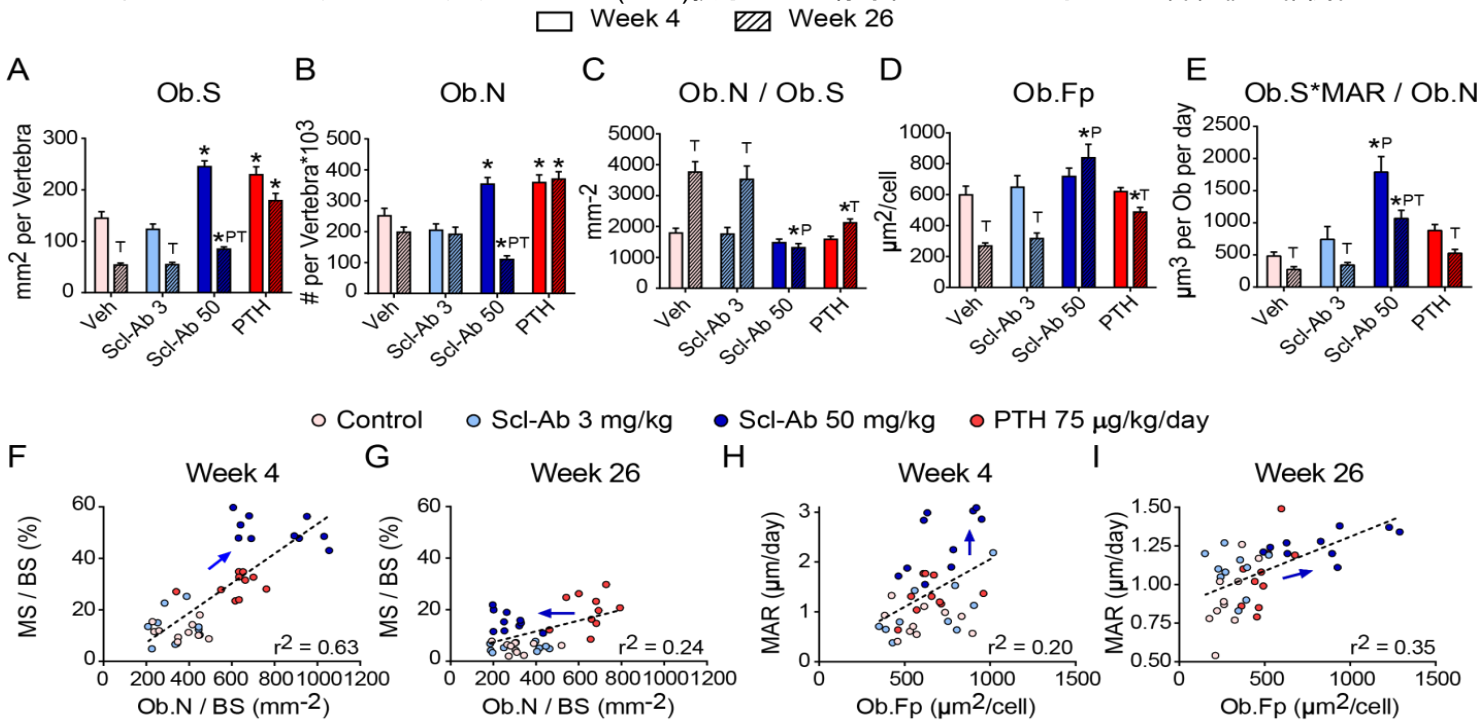


BS = bone surface; L4 = forth lumbar vertebrae; MAR = mineral apposition rate; MS = mineralizing surface; Oc = osteoclast; PTH = human parathyroid hormone (1-34); Scl-Ab = sclerostin antibody (romosozumab); S.E. = standard error; Tb. = trabecular; veh = vehicle.
*p < 0.05 vs veh, Pp < 0.05 vs PTH, Tp < 0.05 week 4 vs week 26. Data are shown as mean ± S.E.
(A) Mineralizing surface (MS/BS), (B) mineral apposition rate (MAR), (C) bone formation rate (BFR/BS), and (D) osteoclastic surface (Oc.S/BS) were measured in the L4 trabecular vertebral body and distal femur.
Source: Study 115776 final report.

Scl-Ab を慢性投与した際の骨形成の著しい減弱は、hPTH と比較すると骨芽細胞系細胞の量的な違いが関与することが、ステレオロジー解析で示された。Scl-Ab 50 mg/kg と hPTH では、投与 4 週で Ob.N が増加したが、骨芽細胞面の単位当たりの骨芽細胞密度（Ob.N/Ob.S）は媒体群と同等であった。投与 26 週では hPTH 及び Scl-Ab ともに媒体群に比べて Ob.N/Ob.S が減少し、若齢ラットに近い値を維持した。これらの作用は Scl-Ab でより明らかで、Ob.N が著しく低下し、Ob.N/Ob.S が低下する一方で、骨芽細胞フットプリント（Ob.Fp）が増加した。骨石灰化面／骨面（MS/BS）は hPTH と同じでも、骨芽細胞で覆われる造骨面の面積の違いに反映された（図 13）。hPTH と Scl-Ab でみ

られた Ob.N/Ob.S の違いは、各薬剤の作用として骨芽細胞の寿命あるいは形成サイトに補充される骨前駆細胞の数が異なるためかもしれない。

図 13　Scl-Ab（AMG 785）及び hPTH (1-34)投与による骨芽細胞のステレオロジー評価値と相関性

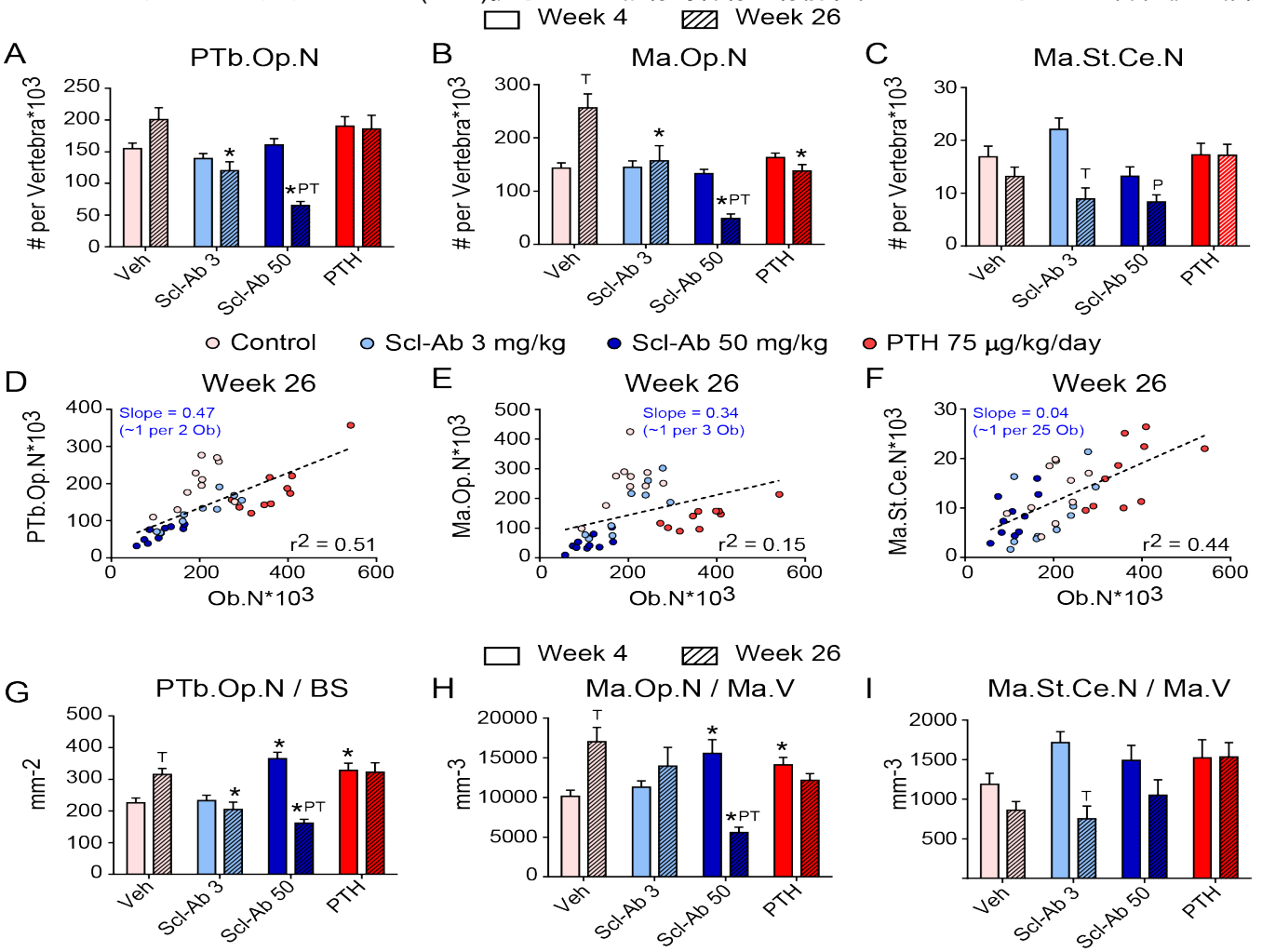


ANOVA = analysis of variance; MAR = mineral apposition rate; MS/BS = mineralizing surface; Ob = osteoblast; Ob.Fp = osteoblast footprint; Ob.N = osteoblast number; Ob.N/BS = osteoblast number/bone surface; Ob.N/Ob.S = osteoblast density; Ob.S = osteoblast surface; Ob.S*MAR/Ob.N = osteoblast vigor; PTH = human parathyroid hormone (1-34); S.E. = standard error; Scl-Ab = sclerostin antibody (romosozumab); veh = vehicle.

*p < 0.05 vs veh, P < 0.05 vs PTH, T < 0.05 week 4 vs week 26. All analyses were performed per methods, with the exception of Ob.S*MAR/Ob.N which was performed as 2-way ANOVA + Tukey's post hoc test within Prism. All regressions (F–I) were p < 0.01. Data are shown as mean ± S.E.(A–E) Osteoblast stereological estimates and correlations with (F–G) mineralizing surface and (H–I) mineral apposition rate obtained from L6 vertebrae from female rats treated with Scl-Ab (3 or 50 mg/kg/week) or PTH (75 µg/kg/day) for 4 and 26 weeks. Source: Study 115776 final report.

Scl-Ab の投与 26 週で認められた Ob.N 及び Ob.N/Ob.S の低値は、媒体及び hPTH 投与と比べて減少した骨前駆細胞数に関連したが、投与 4 週では影響はなかった（図 14A～C）。骨前駆細胞数は、群及び測定時点に関わらず全般に Ob.N と正に相関し、骨前駆細胞と骨芽細胞の 2 集団の動的な協調が示唆された（図 14D～F）。骨面面積と骨髄量の変化を正規化すると、hPTH 及び Scl-Ab 50 mg/kg で PTb.OP と Ma.OP は初めの 4 週に上昇し、投与 26 週では Scl-Ab のみで有意な減少が認められた（図 14G～I）。

図 14　Scl-Ab（AMG 785）及び hPTH (1-34)投与による椎骨海綿骨の骨前駆細胞のステレオロジー評価値と相関性

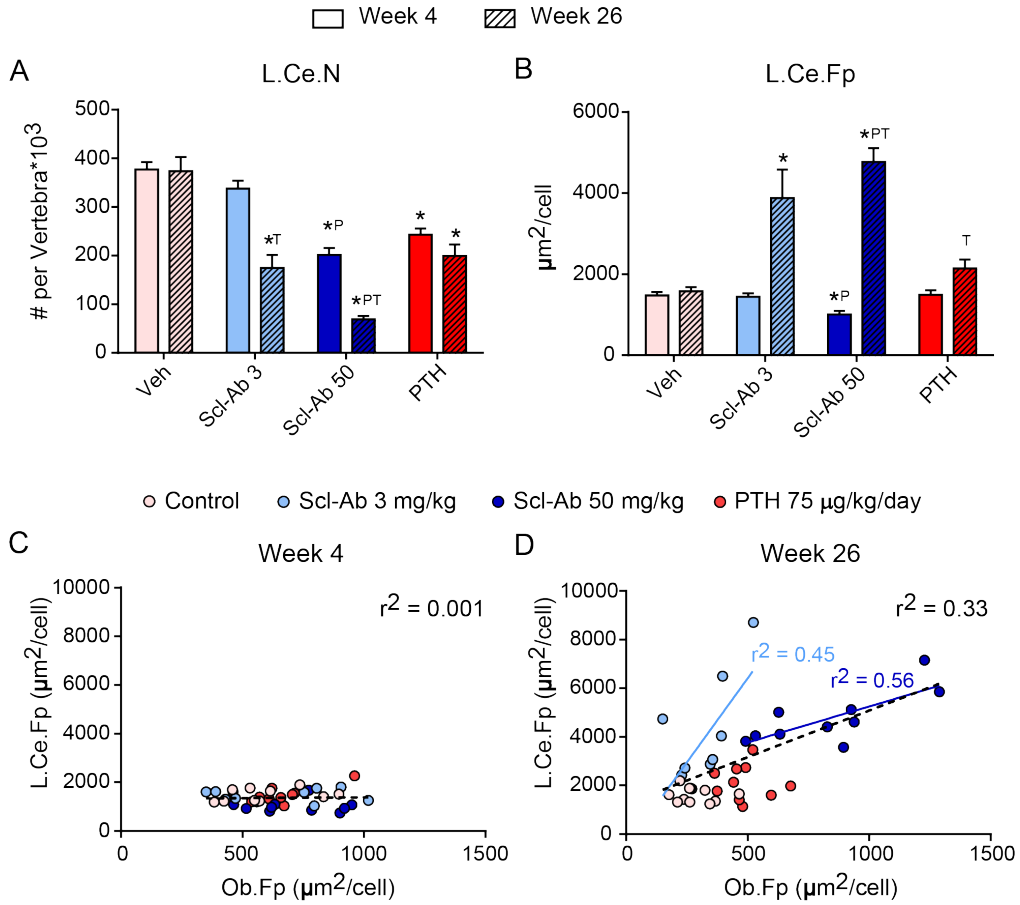


BS = bone surface; Ma.Op.n = marrow osteoprogenitor; Ma.St.Ce.N = marrow stromal cells; Ma.V = marrow volume; Ob.N = osteoblast number; PTb.Op.N = peritrabecular osteoprogenitor; PTH = human parathyroid hormone (1-34); Scl-ab = sclerostin antibody (romosozumab); S.E. = standard error; veh = vehicle.
* $p < 0.05$ vs Veh, P $p < 0.05$ vs PTH, T $p < 0.05$ week 4 vs week 26. Data are shown as mean ± S.E.
Stereological estimates of total number of (A) PTb.Op.N, (B) Ma.Op.N, and (C) Ma.St.Ce.N, and (D–F) respective correlations with total Ob.N obtained from L6 vertebrae from female rats treated with Scl-Ab (3 or 50 mg/kg/week) or PTH (75 µg/kg/day) for 4 and 26 weeks. (G–I) Normalization of osteoprogenitor numbers for BS and Ma.V.
Source: Study 115776 final report.

Scl-Ab 又は hPTH の長期投与での Ob.N/Ob.S の違いに加えて、個々の骨芽細胞レベルでの機能への特異な作用が両時点で観察された。投与 4 週では、Ob.Fp は同程度であったが、骨石灰化率（MAR）が Scl-Ab では hPTH や媒体に比較して上昇した。Scl-Ab の投与 26 週では、Ob.Fp は著しく高値であったにも関わらず、MAR は hPTH と同等か高値を維持した（図 13H 及び I）。これらのパラメータから得られた骨芽細胞活性（Ob.S*MAR/Ob.N）の個々の数値は、両時点で hPTH に比べて Scl-Ab で明らかに増加した（図 13E）。まとめると、投与期間の初期には hPTH 又は Scl-Ab は骨形成部位の Ob.N/Ob.S に影響しないが、Scl-Ab は骨芽細胞の個々の活性に対して大きな影響を及ぼすことが示された。長期投与では、Scl-Ab は Ob.N/Ob.S は低くても骨芽細胞の活動性や活力を持続的に上昇させることにより、骨形成が維持される。

ライニング細胞は、Scl-Ab 投与によって投与 26 週では密度が有意に減少し、フットプリントが増加した（図 15）。この密度の減少は、おそらく投与期間を通じて骨面の大部分に及んだ Ob.N/Ob.S の変化を反映しているのであろうと考えられる。初期には、Scl-Ab 投与では Ob.S の劇的な増加に反応してライニング細胞は縮小することから、ライニング細胞に覆われた休止状態の骨面を反映するライニング細胞フットプリント（L.Ce.Fp）が減少したのかもしれない。

図 15　Scl-Ab（AMG 785）及び hPTH (1-34)投与による椎骨海綿骨のライニング細胞のステレオロジー評価値、骨芽細胞フットプリント及び相関性



L.Ce.N = lining cell number, L.Ce.Fp = lining cell footprint; Ob.Fp = osteoblast footprint; PTH = human parathyroid hormone(1-34); Scl-Ab = sclerostin antibody (romosozumab); S.E. = standard error; veh = vehicle.
*p < 0.05 vs veh, Pp < 0.05 vs PTH, Tp < 0.05 week 4 vs week 26. Data are shown as mean ± S.E.
(A–B) Lining cell stereological estimates and (C–D) correlations with Ob.Fp obtained from L6 vertebrae from female rats treated with Scl-Ab (3 or 50 mg/kg/week) or PTH (75 µg/kg/day) for 4 and 26 weeks.
Source: Study 115776 final report.

hPTH 投与により成長過程のラットでは大腿骨長が増加したが、Scl-Ab 又は hPTH のいずれの投与によっても長軸方向の骨成長率の増加は雌雄で認められなかった。

結論として、Scl-Ab は Ob.Fp を増加し骨芽細胞の活動性又は活力を上昇させ、hPTH と比較して同等か少数の骨芽細胞で海綿骨量を増加させる。骨形成部位における骨芽細胞密度の減少は、骨前駆細胞の協調的な減少と関連し、hPTH と比較して明らかであった。

これらの骨芽細胞系集団の経時的な減少は、Scl-Ab 投与により椎骨で観察された骨形成のより強度の減弱又は自己調節に必要なのかもしれない。hPTH は Scl-Ab と比較して、骨形成部位で多くの骨芽細胞とそれに伴う骨前駆細胞数の相関した増加を必要としたことは、hPTH は骨前駆細胞プールの増殖と分化をより強く刺激する可能性があり、ラットにおいて骨の発がんリスクを高める。

2.7.4 依存性

ロモソズマブについて薬物乱用又は誤用の可能性を示唆する証拠はなく、いずれも観察されていない。他の抗体と同様に（Frank et al, 2011; Jones, 2009; Poduslo et al, 1994; Triguero et al, 1989; Yu and Watts, 2013）、ロモソズマブは血液脳関門を通過するとは考えられない。PPN 試験（108062 試験）の幼若ラット及び安全性薬理試験（モジュール 2.6.2 第 4.1 項 106335 試験）の成熟ラットにおいて、神経行動学的な影響は観察されなかった。安全性薬理試験ではロモソズマブの 300 mg/kg までを静脈内投与した結果、臨床で 210 mg を月 1 回投与した際の曝露量と比較して、AUC で 34 倍、C_{max} で 240 倍の曝露が達成された。ロモソズマブはスクレロスチンという単一リガンドに結合し、作用機序はスクレロスチン阻害と明確で、薬理効果は骨に特異的であることから、薬物依存性についての理論上の警告はない。

2.7.5 代謝物に関する試験

ロモソズマブはすべて天然に存在するアミノ酸で構成される遺伝子組換えタンパク質で、無機又は合成有機アンカー又は他の非タンパク部分は含まない。代謝はペプチド及びアミノ酸への通常の異化分解で、タンパク質で予想される結果であることから、代謝物の試験は必要とは考えなかった（モジュール 2.6.4）。

2.7.6 不純物に関する試験

ロモソズマブはバイオテクノロジー応用医薬品であるため、ICH Q3A/B ガイドラインの記載のとおり不純物についての試験は適用されない。

2.7.7 その他の試験

2.7.7.1 Biotin 化 AMG 785 のヒト、カニクイザル、New Zealand White ウサギ及び SD ラットにおける組織交差反応性試験（105783 試験）

ヒト、カニクイザル、New Zealand white ウサギ及び SD ラットの凍結組織切片を用いて、ロモソズマブの *in vitro* での組織反応性について検討した。その結果、ヒト、カニクイザル及びウサギの骨

細胞ではロモソズマブの結合が認められたが、ラットの骨については特異的な結合は観察されなかった。1 匹のサルの心臓切片の大動脈と肺動脈の間質線維にも、ロモソズマブの結合が観察された。

薬理学的な感受性があるラットの骨細胞が染色されないことに関しては、本アッセイに多くの技術的限界があることを示唆している。治療用モノクローナル抗体について、このアッセイフォーマットは十分に条件検討がなされているわけではないので、結果の解釈には困難を伴う（Leach et al, 2010）。Bussiere らは、113 のモノクローナル抗体について広範囲に調査し、これらの限界について明らかにした（Bussiere et al, 2011）。それによると、治療標的を発現していることが知られている組織において 95%以上の染色陽性を示したのは、ヒト以外の霊長類及びヒト組織について調べた分子のそれぞれ 22 及び 10%に過ぎなかった。

2.7.7.2 AMG 785 の OVX 雌 SD ラットにおける週 1 回皮下投与による 12 カ月間骨質試験（107899 試験）

本試験の目的は、ロモソズマブの骨質に対する影響を評価することで、OVX ラットにロモソズマブを投与した際の皮質骨及び海綿骨の骨量、骨長、骨バイオマーカー及び骨形態計測を評価した。

試験デザイン及び骨評価に関連したデータの詳細については、モジュール 2.6.2 第 2.2.1.2 項に記載した。OVX ラットに、媒体（20 匹）又はロモソズマブの 3（50 匹）、10（35 匹）及び 50 mg/kg（35 匹）のいずれかの用量を、週 1 回皮下投与した。シャムオペ群（20 匹）には媒体を投与した。少なくとも 12 週間投与した後の血清について ADA の評価を行い、ADA 陽性動物を試験から除外した。52 週に、動物の状態あるいは ADA 産生状況も考慮し、動物をさらに除外した。評価に用いた最終の動物数は、シャムオペ群 10 匹、媒体群 15 匹、3 mg/kg 群 15 匹、10 mg/kg 群 10 匹及び 50 mg/kg 群 15 匹であった。骨質評価に適当と判断されたラットの血清中ロモソズマブ濃度（最低～最高）は、9 週から 52 週の 3、10 及び 50 mg/kg で、それぞれで 21.4～44.3、169～242 及び 793～1190 µg/mL であった。

ロモソズマブ投与に関連した死亡、途中死亡又は臨床症状、及び体重、体重変化又は摂餌量に対する影響はなかった。

2.7.7.3 AMG 785 の OVX 老齢カニクイザルにおける 6 カ月皮下投与による薬力学試験（118025 試験）

本試験の目的は、ロモソズマブの 3 mg/kg の用量を週 1 回、26 週間皮下投与した OVX 老齢カニクイザルにおいて、皮質骨及び海綿骨の骨量、橈骨長、骨バイオマーカー及び骨形態計測について評価することであった。

試験デザイン及び骨評価に関連したデータの詳細については、モジュール 2.6.2 第 2.2.1.4 項に記載した。

死亡、切迫安楽死、臨床症状、体重及び体重変化、摂餌量、子宮重量又は肉眼所見に、ロモソズマブ投与に関連した影響はなかった。脛骨と橈骨の非脱灰切片について、蛍光顕微鏡を用いて観察した結果、これらの骨の骨膜及び皮質骨内での広範な多色素標識（複数の蛍光色素標識の沈着）が認められた。この変化は、骨面に沿って複数の蛍光色素によって重なるように標識している像を特

徴とし、投与期間の大半で起こった薬理作用による骨増加に一致した。投与前と投与期間終了時の腰椎と胸椎、両側の橈骨及び大腿骨について、X 線撮影により骨格を評価した。認められた変化は脊椎症、enthesiophyte 及び変形性関節症などの軽微から中等度の退行性変化で、高齢のサルに共通して観察される（Chateauvert et al, 1990; Hernández-Godínez et al, 2010）。これらの所見は投与後のすべての群に認められ、投与前にもみられた所見で、ロモソズマブ投与による影響ではなかった。したがって、ロモソズマブ投与によって関節や骨の退行性病変を悪化させることはないと考えられた。

2.7.7.4 AMG 785 の OVX 老齢カニクイザルにおける週 1 回皮下投与による 52 週間骨質試験（107903 試験）

本試験の目的はロモソズマブの骨質への影響を検討することで、OVX 老齢カニクイザルにおいて皮質骨と海綿骨の骨量、骨強度、骨バイオマーカー及び骨形態計測について評価した。

ロモソズマブの 0（シャムオペ又は OVX）、3 及び 30 mg/kg の用量を週 1 回、52 週間皮下投与した。曝露量は、臨床での月 1 回 210 mg 投与した際の曝露量より、22 倍高かった。30 mg/kg を 26 週間投与し 26 週間の休薬する群も設けた。試験デザイン及び骨評価項目についてのデータの詳細については、モジュール 2.6.2 第 2.2.1.3 項に記載した。

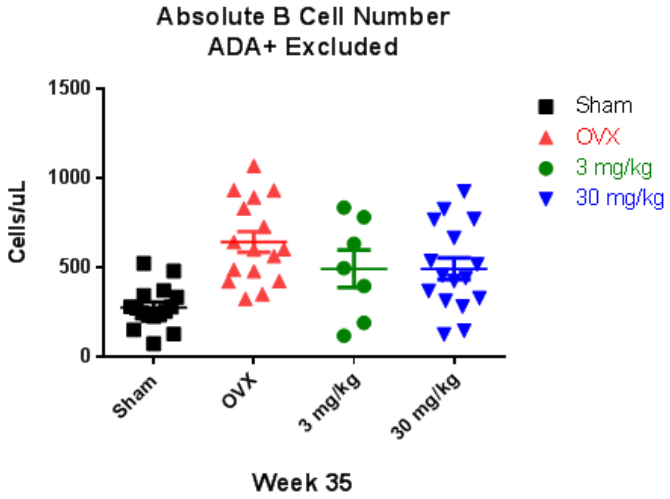
途中死亡又は切迫安楽死はなく、臨床症状、体重又は体重変化、摂餌量又は血液凝固系及び尿検査に、ロモソズマブ投与に関連した影響はなかった。OVX 対照群と比較して、30 mg/kg を 52 週間投与又は 26 週間投与後に 26 週間休薬した群では、投与 33 週でヘモグロビン及びヘマトクリット値の一過性でわずかな減少（6～7%）が認められた。30 mg/kg を 26 週間投与後 26 週間休薬した群では、33 週に白血球数の軽度増加が一過性にみられた。総 ALP の増加が、骨形成マーカーの変化と一致して、49 週にロモソズマブの両用量で認められた。一過性で軽微な血清カルシウムの減少が、30 mg/kg の両投与群で投与 9/10 及び 23/24 週に観察された。血清カルシウムは、30 mg/kg を 26 週間投与後 26 週間休薬した群で、49 週にわずかに増加した。

本試験には安全性評価項目として、骨格と大動脈の X 線検査と末梢血リンパ球の免疫表現型検査が含まれた。

投与前と投与及び休薬終了時に、腰椎、胸椎、両側の橈骨及び大腿骨（膝関節と股関節を含む）について X 線撮影を行い、骨格の異常を評価した。軽微から中等度の退行性変化が全ての群で観察され、全般に投与前にみられた変化であった。これはロモソズマブが既存の退行性の関節・骨の変化を増悪させないことを支持した。投与及び休薬終了時の胸部と腰部の X 線写真について大動脈の石灰化を評価したが、その証拠は得られなかった。

骨髄 B 細胞の減少が *Sost*$^{-/-}$マウスで報告されている（Cain et al, 2012）ことから、投与継続中の 52 週間投与の対照群（シャムオペ、OVX）と 3 及び 30 mg/kg 群について、投与 35 週に免疫表現型検査を行った。総リンパ球数、B 細胞絶対数（図 16）及び B 細胞相対比に、ロモソズマブ投与による影響はなかった。サルにおいてリンパ球に対するエストロゲンの作用が報告されている（Attisano and Wrana, 2002）とおり、すべての OVX 群では総リンパ球数、B 細胞絶対数及び相対比が全般に高値であった。

図 16　OVX 老齢サルにロモソズマブ（3、30 mg/kg）を投与した際の投与 35 週の B 細胞数



ADA+ = anti=drug antibody positive (monkeys); OVX = ovariectomized; Sham = sham-operated. Line and bars within each cluster is the arithmetic mean and standard deviation of the group.
Source: Study 107903 report

2.7.8　環境への配慮

モジュール 2.6.4 第 6 項に記載のとおり、ロモソズマブのようなモノクローナル抗体は、内因性のプロテアーゼにより小さなペプチドあるいは個々のアミノ酸に異化分解されることから、活性薬物としての排泄は予想されない。これらの理由から、環境中にロモソズマブが検出されても懸念はないものと考えられる。

3.　考察及び結論

臨床使用及び承認申請を担保するために総合的な毒性試験のパッケージを、ICH S6 (R1)を含む各種ガイドラインに従い実施した。ロモソズマブの種特異性を考慮して、臨床試験プログラムを担保するための毒性試験は、ラット及びカニクイザルを用いて実施した。強い免疫反応及び免疫複合体による疾患のため、ウサギは EFD 試験に適さないと判断された。ラット及びカニクイザルにおける反復投与毒性試験は 6 カ月までの投与期間で、骨評価の項目を含み、カニクイザルでは心血管機能も評価した。発がん性の有無を評価するために、ラット生涯投与試験を実施した。ラットにおいて、生殖能、胚・胎児及び出生後発生に関する評価を行った。ラットにおいて局所刺激性試験及び作用機序試験を、OVX 老齢カニクイザルにおいて薬理効果に関連して骨質試験を実施した。さらに、ラット、ウサギ、カニクイザル及びヒトの組織について交差反応性を検討した。

これらの試験で認められたロモソズマブ投与に関連した影響は、想定される適応症での薬理効果の直接又は間接的な作用の結果と考えられた。毒性試験において、月 1 回の 210 mg 投与による臨床曝露量よりもかなり高い曝露量（AUC では 93 倍まで）でも、ロモソズマブ投与による毒性はみられなかった（表 6 及び表 7）が、ロモソズマブ投与による毒性はいずれの試験においても認められなかった。

結論として、これらの非臨床試験結果から、対象とする患者集団において安全性上のリスクが懸念される兆候はないことが示された。

表 6　ロモソズマブの SD ラット及びカニクイザルにおける主要な毒性試験の AUC に基づいた曝露マージン

Human Dose (mg)	Human $AUC_{0\text{-}tau}$ (µg·hr/mL)	Exposure Multiple (Based on $AUC_{0\text{-}tau}$ at NOAEL)			
		Rat 6 month	Monkey 6 month	Rat F/EFD	Rat Carcinogenicity
210 QM	12888	38	93	56	19

$AUC_{0\text{-}tau}$ = area under the romosozumab serum concentration-time curve with the dosing period of tau; F/EFD = combined fertility and embryo-fetal development; NOAEL = no adverse effect level; QM = every month.

The exposure margins were calculated by comparing toxicokinetic data at the NOAEL at week 26 from the 6-month GLP rat (Study 107425; 124000 µg·hr/mL after QW dosing) and monkey (Study 107426; 301000 µg·hr/mL after QW dosing) toxicology studies, on day 13 after gestation from the GLP rat F/EFD study (Study 108061; 179760 µg·hr/mL after QW dosing), and predicted systemic exposure at 50 mg/kg for the lifetime rat study (Study 107895; 62000 µg·hr/mL after QW dosing). Human $AUC_{0\text{-}tau}$ for romosozumab was determined following romosozumab SC 210 mg QM as monotherapy in population PK analysis (Study 119384). Exposure margin calculations were then adjusted for the difference in the dose intervals between the rat and monkey studies (week) and the human studies (4 weeks).

The exposure margins were calculated by the following equation:

$$\text{Human Exposure Margin} = \frac{\text{Animal AUC}_{0\text{ - }1\text{wk}}}{\text{Human AUC}_{0\text{ - }4\text{wk}}} \times \frac{\text{Human Dose Interval (4 weeks)}}{\text{Animal Dose Interval (1 week)}}$$

表 7　ロモソズマブの SD ラット及びカニクイザルにおける主要な毒性試験の C_{max} に基づいた曝露マージン

Human Dose (mg)	Human C_{max} (µg/mL)	Exposure Multiple (Based on C_{max} at NOAEL)			
		Rat 6 month	Monkey 6 month	Rat F/EFD	Rat Carcinogenicity
210 QM	28.1	37	81	56	14

C_{max} = maximum observed serum concentration; F/EFD = combined fertility and embryo-fetal development; NOAEL = no adverse effect level; QM = monthly.

The exposure margins were calculated by comparing toxicokinetic data at the NOAEL at week 26 from the 6-month GLP rat (Study 107425; 1030 µg/mL after QW dosing) and monkey (Study 107426; 2280 µg/mL after QW dosing) toxicology studies, on day 13 after gestation from the GLP rat F/EFD study (Study 108061; 1570 µg/mL after QW dosing), and predicted systemic exposure at 50 mg/kg for the lifetime hamster study (Study 107895; 388 µg/mL after QW dosing). Human C_{max} value for romosozumab was determined following romosozumab SC 210 mg QM as monotherapy in population PK analysis (Study 119384).

The exposure margins were calculated by the following equation:

$$\text{Human Exposure Margin} = \frac{\text{Animal } C_{max}}{\text{Human } C_{max}}$$

4. 参考文献

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

Attisano L, Wrana JL. Signal integration in TGF-β, WNT, and Hippo pathways. *F1000Prime Reports*. 2013;5:17.

Baron R, Kneissel M. WNT signaling in bone homeostasis and disease: from human mutations to treatments. *Nat Med*. 2013;19:179-192.

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, Durr L, Hamersma H. The clinical features of sclerosteosis. A review of the manifestations in twenty-five affected individuals. *Ann Intern Med*. 1976;84:393-397..

Bindon CI, Hale G, Bruggemann M, Waldmann H. Human monoclonal IgG isotypes differ in complement activating function at the level of C4 as well as C1q. *J Exp Med*. 1988;168:127-142.

Black EP, Huang E, Dressman H, et al. Distinct Gene Expression Phenotypes of Cells Lacking Rb and Rb Family Members. *Cancer Res*. 2003;63:3716-3723.

Borsos T, Rapp HJ. Complement fixation on cell surfaces by 19S and 7S antibodies. *Science*. 1965;150:505-506.

Bussiere JL, Leach MW, Price KD, Mounho BJ, Lightfoot-Dunn R. Survey results on the use of the tissue cross-reactivity immunohistochemistry assay. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2011;59:493-502.

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

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

Chateauvert JM, Grynpas MD, Kessler MJ, Pritzker KP. Spontaneous osteoarthritis in rhesus macaques. II. Characterization of disease and morphometric studies. *J Rheumatol*. 1990;17:73-83.

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

Dalvai M, Mondesert O, Bourdon JC, Ducommun B, Dozier C. Cdc25B is negatively regulated by p53 through Sp1 and NF-Y transcription factors. *Oncogene*. 2011;30:2282-2288.

Dangl JL, Wensel TG, Morrison SL, et al. Segmental flexibility and complement fixation of genetically engineered chimeric human, rabbit and mouse antibodies. *EMBO J*. 1988;7:1989-1994.

Diebolder CA, Beurskens FJ, de Jong RN, et al. Complement is activated by IgG hexamers assembled at the cell surface. *Science*. 2014;343:1260-1263.

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.

Forwood MR. Inducible cyclo-oxygenase (COX-2) mediates the induction of bone formation by mechanical loading in vivo. *J Bone Miner Res*. 1996;11:1688-1693.

Frank RT, Aboody KS, Najbauer J. Strategies for enhancing antibody delivery to the brain. *Biochim Biophys Acta*. 2011;1816:191-198.

Hernández-Godínez B, Ibáñez-Contreras A, Perdigón-Castañeda G, et al. Radiographic Incidence of Spinal Osteopathologies in Captive Rhesus Monkeys (Macaca mulatta). *Comp Med*. 2010;60:396-399.

International Conference on Harmonisation. Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products: Addendum on Toxicity to Male Fertility S5(R2), 1996.

International Conference on Harmonisation. Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals M3(R2), 2010.

International Conference on Harmonisation. Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals S6(R1), 2012.

Jacobsen FW, Padaki R, Morris AE, et al. Molecular and functional characterization of cynomolgus monkey IgG subclasses. *J Immunol*. 2011;186:341-349.

Jiang X-R, Song A, Bergelson S, et al. Advances in the assessment and control of the effector functions of therapeutic antibodies. *Nat Rev Drug Discov*. 2011;10:101-111.

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 AR, Shusta EV. Antibodies and the blood-brain barrier. In: An Z, ed. Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc.; 2009;483-502.

Jones EA, Waldmann TA. The mechanism of intestinal uptake and transcellular transport of IgG in the neonatal rat. *J Clin Invest*. 1972;51:2916-2927.

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.

Leach MW, Halpern WG, Johnson CW, et al. Use of tissue cross-reactivity studies in the development of antibody-based biopharmaceuticals: history, experience, methodology, and future directions. *Toxicol Pathol*. 2010;38:1138-1166.

Lee MS, Kim HS, Yeon JT, et al. GM-CSF regulates fusion of mononuclear osteoclasts into bone-resorbing osteoclasts by activating the Ras/ERK pathway. *J Immunol*. 2009;183:3390-3399.

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.

Leupin O, Piters E, Halleux C, et al. Bone overgrowth-associated mutations in the LRP4 gene impair sclerostin facilitator function. *J Biol Chem*. 2011;286:19489-19500.

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 J, Ballim D, Rodriguez M, et al. The anti-proliferative function of the TGF-β1 signaling pathway involves the repression of the oncogenic TBX2 by its homologue TBX3. *J Biol Chem*. 2014;289:35633-35643（Li 2014a）.

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.

Lin C, Jiang X, Dai Z, et al. Sclerostin mediates bone response to mechanical unloading through antagonizing Wnt/beta-catenin signaling. *J Bone Miner Res*. 2009;24:1651-1661.

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.

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

Lotinun S, Sibonga JD, Turner RT. Evidence that the cells responsible for marrow fibrosis in a rat model for hyperparathyroidism are preosteoblasts. *Endocrinology*. 2005;146:4074-4081.

Lucisano Valim YM, Lachmann PJ. The effect of antibody isotype and antigenic epitope density on the complement-fixing activity of immune complexes: a systematic study using chimaeric anti-NIP antibodies with human Fc regions. *Clin Exp Immunol*. 1991;84:1-8.

Lui JC, Nilsson O, Baron J. Recent Insights into the Regulation of the Growth Plate. *J Mol Endocrinol*. 2014;53:T1 T9.

Madden SL, Galella EA, Riley D, Bertelsen AH, Beaudry GA. Induction of cell growth regulatory genes by p53. *Cancer Res*. 1996;56:5384-5390.

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

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.

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.

Poduslo JF, Curran GL, Berg CT. Macromolecular permeability across the blood-nerve and blood-brain barriers. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91:5705-5709.

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.

Ren B, Cam H, Takahashi Y, et al. E2F integrates cell cycle progression with DNA repair, replication, and G(2)/M checkpoints. *Genes Dev*. 2002;16:245-256.

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

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 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.

Triguero D, Buciak JB, Yang J, Pardridge WM. Blood-brain barrier transport of cationized immunoglobulin G: enhanced delivery compared to native protein. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989;86:4761-4765.

US Food and Drug Administration. Draft Guidance for Industry: Statistical Aspects of the Design, Analysis and Interpretation of Chronic Rodent Carcinogenicity Studies of Pharmaceuticals. http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm079272.pdf. Accessed 17 March 2016.

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.

van Amerongen R, Nusse R. Towards an integrated view of Wnt signaling in development. *Development*. 2009;136:3205-3214.

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 Tienen FH, Laeremans H, van der Kallen CJ, Smeets HJ. Wnt5b stimulates adipogenesis by activating PPARgamma, and inhibiting the beta-catenin dependent Wnt signaling pathway together with Wnt5a. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;387:207-211.

Vidarsson G, Dekkers G, Rispens T. IgG subclasses and allotypes: from structure to effector functions. *Front Immunol*. 2014;5:520.

Waldman T, Kinzler KW, Vogelstein B. p21 is necessary for the p53-mediated G1 arrest in human cancer cells. *Cancer Res*. 1995;55:5187-5190.

Walker RA, Bedford ME, Lovejoy CO, Yee WD. Bones of the Postcranial Skeleton: The Vertebral Column. In: Walker RA, Yee WD, Lovejoy CO, eds. Skeletal and Developmental Anatomy for Students of Chiropractic. Philadelphia, PA: F.A. Davis Company; 2002; 90-91.

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.

Warncke M, Calzascia T, Coulot M, et al. Different adaptations of IgG effector function in human and nonhuman primates and implications for therapeutic antibody treatment. *J Immunol*. 2012;188:4405-4411.

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.

Yu YJ, Watts RJ. Developing therapeutic antibodies for neurodegenerative disease. *Neurotherapeutics*. 2013;10:459-472.

略語一覧

以下の略語は、骨組織形態計測表及び／又は報告書に使用した。

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 surfac
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
Md.V/TV	mineralized volume
Me.Ar	medullary area
Mlt	mineralization lag time

Abbreviation or Term	Definition/Explanation
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　毒性試験一覧表
被験物質：ロモソズマブ及び代替抗体

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Amgen Study No. (CRO Study No.)
Single-dose Toxicity	No single-dose toxicity studies were conducted						
Repeat-dose Toxicity	Rat/Sprague Dawley	SC, IV	QW, 14 days	SC: 0, 30, 100, 300 IV: 300	No	[redacted], Canada	105909 (670170)
Repeat-dose Toxicity	Rat/Sprague Dawley	SC	QW 1 month	0, 10, 100, 300	Yes	[redacted], Canada	105908 (670177)
Repeat-dose Toxicity	Rat/Sprague Dawley	SC	QW 6 weeks	0, 3, 10, 50	Yes	[redacted], Canada	121854 (3700344)
Repeat-dose Toxicity	Rat/Sprague Dawley	SC	QW, 6 months	0, 3, 10, 100	Yes	[redacted], Canada	107425 (670262)
Repeat-dose Toxicity	Rabbit/New Zealand White	SC	QW, 29 days	0, 10, 30, 100, 300	No	[redacted], Canada	117870 (6700099)
Repeat-dose Toxicity	Monkey/Cynomolgus	SC, IV	QW, 14 days	SC: 0, 30, 100, 300 IV: 300	No	[redacted]	105779 (7555-374)

Footnotes defined on the last page of this table.

表 1　毒性試験一覧表
被験物質：ロモソズマブ及び代替抗体（続き）

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Amgen Study No. (CRO Study No.)
Repeat-dose Toxicity	Monkey/ Cynomolgus	SC, IV	QW, 1 month	SC: 0, 10, 30, 300 IV: 300	Yes	[redacted], Canada	105776 (670178)
Repeat-dose Toxicity	Monkey/ Cynomolgus	SC	QW, 6 months	0, 3, 10, 100	Yes	[redacted], Canada	107426 (670263)
Carcinogenicity	Rat/Sprague Dawley	SC	QW M: 91 weeks F: 98 weeks	0, 3, 10, 50	Yes	[redacted], Canada	107895 (670713)
Carcinogenicity (null antibody selection)	Rat/Sprague Dawley	SC	QW, 1 month	0, AMG 589: 50, AMG 601: 50	No	Amgen Inc., Thousand Oaks, CA	115823
Carcinogenicity (null antibody)	Rat/Sprague Dawley	SC	QW M: 91 weeks F: 98 weeks	0 (saline), 0 (vehicle), AMG 589: 50	Yes	[redacted], Canada	115707 (670767)
Embryo-fetal development	Rat/Sprague Dawley	SC	QW, DGs 6 and 13	0, 30, 100, 300	Yes	[redacted]	108057 (FIA00518)
Embryo-fetal development	Rat/Sprague Dawley	SC	QW, DGs 6 and 13	0, 30, 100, 300	Yes	[redacted]	108059 (FIA00554)

Footnotes defined on the last page of this table.

表 1　毒性試験一覧表
被験物質：ロモソズマブ及び代替抗体（続き）

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Amgen Study No. (CRO Study No.)
Fertility and Embryo-fetal development	Rat/Sprague Dawley	SC	All animals QW Precohabitation weeks 1 – 6. Then M: QW up to DS 78 F: QW up to GD 20 TK F: GD 6 and 13	0, 10, 60, 300	Yes	[redacted]	108061 (20005072)
Pre- and post-natal development	Rat/Sprague Dawley	SC	QW Precohabitation weeks 1 – 6. then QW up to LD 20	0, 10, 60, 300	Yes	[redacted]	108062 (20058615)
Local Tolerance	Rat/Sprague Dawley	SC, IV	Single Dose	SC: 0, 5, 35 IV:35	No	Amgen Inc., Thousand Oaks, CA	106718
Local Tolerance	Rat/Sprague Dawley	SC	Single dose	Placebo B, 70 mg/mL [b], Placebo A, 120 mg/mL [b] 1.2mL dose	Yes	[redacted]	112795 (8215671)
Local Tolerance	Rat/Sprague Dawley	SC	Single dose	0, 64, 118 mg/mL 1.2 mL dose	No	Amgen Inc., Seattle, WA	113234

Footnotes defined on the last page of this table.

表 1　毒性試験一覧表
被験物質：ロモソズマブ及び代替抗体（続き）

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Amgen Study No. (CRO Study No.)
Other – Mechanistic	Rat/Sprague Dawley aged OVX	SC	Single Dose	r13C7[c]: 0, 100	No	Amgen Inc., Thousand Oaks, CA	115877
Other - Mechanistic	Rat/Sprague Dawley aged OVX	SC	QW 26 weeks	r13C7[c]: 0, 3, 50	No	Amgen Inc., Seattle, WA	115777
Other - Mechanistic	Rat/Sprague Dawley	SC	AMG 785 QW 4 or 26 weeks hPTH (1 – 34): daily 4 or 26 weeks	0, AMG 785: 3, 50 hPTH (1 – 34)[d]: 0.075	No	Amgen Inc., Seattle, WA	115776
Other Studies – Other -Tissue Cross-reactivity	Panels of Rat, Rabbit, Monkey and Human tissues	Single applications to tissues	N/A	Biotin AMG 785: 2, 20 μg/mL	Yes	[redacted]	105783 (IM1334)

Footnotes defined on the last page of this table.

表 1　毒性試験一覧表
被験物質：ロモソズマブ及び代替抗体（続き）

Type of Study	Species and Strain	Method of Administration	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	GLP Compliance	Testing Facility	Amgen Study No. (CRO Study No.)
Other Studies – Other – Bone Quality	Rat/Sprague Dawley OVX	SC	QW 12 months	0, 3, 10, 50	Yes	[redacted], Canada	107899 (670720)
Other Studies – Other – PD (safety endpoints)	Monkey/ Cynomolgus aged OVX	SC	QW 6 months	0, 3	Yes	[redacted], Canada	118025 (6700112)
Other Studies – Other – Bone Quality	Monkey/ Cynomolgus aged OVX	SC	QW, 52 weeks, plus one group at 30 mg/kg for 26 weeks	0, 3, 30	Yes	[redacted], Canada	107903 (670701)

CRO = contract research organization; [redacted] = [redacted]; DG = day of presumed gestation; DS = study day; F = female; GD = gestation day; GLP = Good Laboratory Practices; IV = intravenous; LD = lactation day; M = male; N/A = not applicable; OVX = ovariectomized; PD = pharmacodynamic; QW = once weekly; SC = subcutaneous; TK = toxicokinetic

[a] Unless otherwise specified.

[b] 70 mg/mL sodium acetate formulation , lot number [redacted], placebo B. 120 mg/mL calcium acetate formulation, lot [redacted], placebo A.

[c] r13C7 is a rat surrogate antibody for AMG 785.

[d] hPTH (1-34) is human parathyroid hormone 1-34.

表２　トキシコキネティクス試験の一覧表
被験物質：ロモソズマブ及び代替抗体

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Amgen Study No. (CRO Study No.)
Single-dose Toxicity		No single-dose toxicity studies were conducted			
Repeat-dose Toxicity					
14-day toxicity study	Rat/Sprague Dawley	SC, IV	SC: 0, 30, 100, 300 IV: 300	No	105909 (670170)
1-month toxicity study/10-week recovery	Rat/Sprague Dawley	SC	0, 10, 100, 300	Yes	105908 (670177)
6-month toxicity study/14-week recovery	Rat/Sprague Dawley	SC	0, 3, 10, 100	Yes	107425 (670262)
29-day toxicity study	Rabbit/New Zealand White	SC	0, 10, 30, 100, 300	No	117870 (6700099)
14-day toxicity study	Monkey/Cynomolgus	SC, IV	SC: 0, 30, 100, 300 IV: 300	No	105779 (7555-374)
1-month toxicity study/10-week recovery	Monkey/Cynomolgus	SC, IV	SC: 0, 10, 30, 300 IV: 300	Yes	105776 (670178)
6-month toxicity study/14-week recovery	Monkey/Cynomolgus	SC	0, 3, 10, 100	Yes	107426 (670263)
Reproductive Toxicity					
Embryo-fetal Development	Rat/Sprague Dawley	SC	0, 30, 100, 300	Yes	108057 (FIA00518)
Fertility and Embryo-fetal Development	Rat/Sprague Dawley	SC	0, 10, 60, 300	Yes	108061 (20005072)

Footnotes defined on the last page of this table.

表 2　トキシコキネティクス試験の一覧表
被験物質：ロモソズマブ及び代替抗体（続き）

Type of Study	Test System	Method of Administration	Doses (mg/kg)	GLP Compliance	Amgen Study No. (CRO Study No.)
Local Tolerance	Rat/Sprague Dawley	SC, IV	SC: 0, 5, 35 IV: 35	No	106718
Other - 52-week bone quality	Monkey/Cynomolgus	SC	0, 3, 30	Yes	107903 (670701)

CRO = contract research organization; GLP = Good Laboratory Practices; IV = intravenous; SC = subcutaneous

表 3　トキシコキネティクス成績の一覧
被験物質：ロモソズマブ及び代替抗体

	Steady State AUC_{0-t} and C_{max}, Mean TK Parameters					
	AUC_{0-t} (µg·hr/mL)		C_{max} (µg/mL)		AUC_{0-t} (µg hr/mL)	C_{max} (µg/mL)
Dose (mg/kg) Regimen	Rat	Monkey	Rat	Monkey	Human	Human
3 QW	1840[a]	3490[b]	16.5[a]	30.6[b]		
3 QM	N/A	N/A	N/A	N/A	12888[c]	28.1[c]
5 once	2070[d]	N/A	24.0[d]	N/A		
10 QW	12900[a]	17100[b]	89.8[a]	139[b]		
30 QW	41700[e]	77200[f]	315.0[e]	569.0[f]		
35 (10 mg/mL) once	25800[d]	N/A	193.0[d]	N/A		
35 (70 mg/mL) once	22700[d]	N/A	184.0[d]	N/A		
50 QW	62000[g]	N/A	388.0[g]	N/A		
60 QW	2520[h]	N/A	616.0[h]	N/A		
100 QW	124000[a]	301000[b]	1030[a]	2280[b]		
300 QW	176000[i]	645000[f]	1540[i]	5180[f]		

ADA = anti-drug antibody; AUC_{0-t} = area under the concentration-time curve during the dosing interval; C_{max} = Maximum observed concentration; GD = gestation day; N/A = not applicable; OVX = ovariectomized; QM = once monthly; QW = once weekly; TK = toxicokinetics.

It was determined that the rabbit was not a suitable animal model because of strong immunogenic response; therefore, toxicokinetic values were excluded from this table. For other species, toxicokinetic values for the SC route of administration are provided as this is the route of administration in humans.

[a] Study 107425, 6-month toxicity study/14-week recovery in rats (ADA+ animals excluded).

[b] Study 107426, 6-month toxicity study/14-week recovery in monkeys.

[c] Clinical Study 119384 population PK analysis.

[d] Study 106718, 7-day local tolerance study in rats.

[e] Study 105909, 14-day toxicity study in rats.

[f] Study 105776, 1-month toxicity study/10-week recovery in monkeys.

[g] For the lifetime rat study (Study 107895) based on simulated population PK modeling from the 6-month rat study 107425.

[h] Study 108061;Embryo-fetal development in rats, pregnant females on GD 13.

[i] Study 105908; 1-month toxicity study/10-week recovery in rats.

表 4　毒性試験：被験物質一覧
被験物質：ロモソズマブ及び代替抗体

Lot or Batch Number	Purity (%)[a]	Placebo Lot Number	Study Number	Type of Study
[redacted]	99.5	None[b]	118025	6-month PD in OVX monkeys
			108062	Pre- and post-natal development in rats
			121854	6-week mechanistic study in rats
[redacted]	99.4	None[b]	107903	52-week bone quality in OVX monkeys
			107899	12-month bone quality in OVX rats
			107895	104-week carcinogenicity in rats
[redacted]	98.8	A0506150009	105908	1-month repeat-dose in rats
			107425	6-month repeat-dose in rats
			105776	1-month repeat-dose in monkeys
			107426	6-month repeat-dose in monkeys
[redacted]	98.8	Not applicable	105783	Tissue cross-reactivity
[redacted]	98.7	A0506150009	107425	6-month repeat-dose in rats
			107426	6-month repeat-dose in monkeys
[redacted]	98.7	00120092	108057	Dose-range finding developmental toxicity in rats
			108059	Developmental toxicity in rats
[redacted]	98.7	00120092	112795	Local tolerance in rats
[redacted]	98.8	A0502230000	105909	14-day repeat-dose in rats
			105779	14-day repeat-dose in monkeys
[redacted]	99.4	None[b]	117870	1-month repeat-dose in rabbits
			107895	104-week carcinogenicity in rats
			108061	Fertility and embryo-fetal development in rats
			115776	26-week repeat dose in rats
[redacted]	99.4	0010042004	112795	Local tolerance in rats
			113234	Local tolerance in rats
[redacted]	Not provided	66635-9	106718	Local tolerance in rats

OVX = ovariectomized; PD = pharmacodynamics.

[a] Purity measured by size exclusion high performance liquid chromatography.

[b] A lot number for the formulated placebo was not provided.

表５　単回投与毒性
被験物質：ロモソズマブ

単回投与毒性試験は、実施しなかった。

表 6　反復投与毒性：主要な試験以外の試験
被験物質：ロモソズマブ及び代替抗体

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Rat/Sprague Dawley	SC, IV (AMG 785 Placebo; FDF Non-product specific placebo)	Weekly for 14 days (2 doses)	SC: 0, 30, 100, 300 IV: 300	Main Study: 5M, 5F TK: 0 mg/kg: 4M, 4F AMG 785: 8M, 8F	300 IV and SC	≥ 30 mg/kg: ↑ total alkaline phosphatase, females only (10% to 35% above pretreatment values); ↑ osteocalcin (30% to 50% above pretreatment values). No effect on bone resorption markers CTx and DPD. Non-dose dependent minimal trabecular hyperostosis in sternum and tibia. 300 mg/kg IV: spleen (females only): extramedullary hematopoiesis.	105909 Non-GLP
Rabbit/New Zealand White	SC (AMG 785 Placebo: 55mM acetate, 13mM calcium, 6% sucrose, 0.006% polysorbate 20, pH 5.2)	Weekly for 29 days (4 doses)	0, 10, 30, 100, 300	4F	none	≥ 10 mg/kg: presence of ADA (80% of total population), ↑osteocalcin, ↑bone mineral content and bone mineral density at the lumbar spine and femur, ↑ dark foci and scab at injection sites. ≥ 100 mg/kg: immune complex disease; ↓ activity, food consumption, body weight. Kidneys: Diffuse glomerulopathy, marked diffuse tubulointerstitial inflammation, tubular dilation, casts, hemorrhage. 300 mg/kg: morbidity (2 animals euthanized on day 21 and 28). Heart: myocardial necrosis, vascular/perivascular inflammation, Lungs: thromboembolism. Liver: centrilobular vacuolation, ↑ hematopoiesis.	117870 Non-GLP

Footnotes defined on the last page of this table.

表 6　反復投与毒性：主要な試験以外の試験
被験物質：ロモソズマブ及び代替抗体（続き）

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	NOAEL (mg/kg)	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Rabbit/New Zealand White	SC (AMG 785 Placebo: 55mM acetate, 13mM calcium, 6% sucrose, 0.006% polysorbate 20, pH 5.2)	Weekly for 29 days (4 doses)	0, 10, 30, 100, 300	4F	none	300 mg/kg: Injection site and/or skin: ulceration, hemorrhage/edema, vascular/ perivascular fibrinoid necrosis, mixed cell infiltration. ↑ urea, phosphorous, creatinine, globulin; ↓ albumin. ↑ fibrinogen. ↑ neutrophils, reticulocyte count, red cell distribution width, mean cell volume, platelets; ↓ red cell mass (red blood cell count, hemoglobin, hematocrit).	117870 Non-GLP
Monkey/ Cynomolgus	SC, IV (AMG 785 Placebo; FDF Non-product specific placebo)	Weekly for 14 days (2 doses)	SC: 0, 30, 100, 300 IV: 300	3F	300 IV and SC	≥ 30 mg/kg: nonformed feces (30 mg/kg and 300 mg/kg IV only); infrequent low food consumption all AMG 785 groups. Dose-related mild to moderate ↑ alkaline phosphatase (13% to 146% above pretreatment); ↑ P1NP (69% to 453% above pretreatment values). ↑ intact osteocalcin (10% to 166% compared pretreatment values); day 4 osteocalcin values were slightly lower than pretreatment. No effect on CTx.	105779 Non-GLP

ADA = anti-drug antibody; CTx = c-telopeptide; DPD = deoxypyridinoline; F = female; FDF = final dosage form; GLP = Good Laboratory Practices; IV = intravenous; NOAEL = no observable adverse effect level; M = male;; P1NP = N-terminal propetide of type 1 procollagen; SC = subcutaneous; TK = toxicokinetics.

表 7A. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ

Repeat-dose Toxicity	Report Title: 1-Month Subcutaneous Injection Toxicity Study of AMG 785 in the Sprague Dawley Rat With 10-Week Recovery Period				Test Article: romosozumab			
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	Duration of Dosing: QW, 4 weeks				Amgen Study No. 105908			
Age at arrival: Approximately 10 weeks	Duration of Postdose: 10 weeks				[redacted] Study No. 670177			
Date of First Dose: [redacted], 20[redacted]	Method of Administration: Subcutaneous							
	Vehicle/Formulation: AMG 785 placebo: 10mM sodium acetate, 9% sucrose, 0.004% polysorbate 20, pH 5.2				GLP Compliance: Yes			
Special Features: Biochemical markers of bone turnover, bone densitometry, clinical immunology								
No Observed Adverse Effect Level: 300 mg/kg								
Weekly Dose (mg/kg)	0		10		100		300	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Toxicokinetics – end of dosing								
$AUC_{0\text{-}168}$ (mg·hr/mL)	BLQ	BLQ	4.84	6.95	134	159	114	235
$AUC_{0\text{-}inf}$ (mg·hr/mL)	BLQ	BLQ	6.83	8.93	366	352	216	502
$T_{1/2,z}$ (hour)	BLQ	BLQ	80.9	65.8	78.8	74.0	113	83.1
Anti-drug Antibody - Positive/Total (%)								
pre-dose	1/54 (1.9)		3/54 (5.6)		5/54 (9.3)		5/54 (9.3)	
End of dosing period	2/54 (3.7)		15/54 (27.8)		2/54 (3.7)		12/54 (22.2)	
End of recovery	4/54 (7.4)		23/54 (42.6)		15/54 (27.8)		34/54 (63.0)	

Footnotes are on the last page of the table.

表 7A. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity									Amgen Study No. 105908
Weekly Dose (mg/kg)		0		10		100		300	
Number of Animals [a]		M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Noteworthy Findings									
Died or Euthanized Moribund		0	0	0	0	0	0	0	0
Ophthalmoscopy		-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight		-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption		-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology [b]									
Red Blood Cells (10^6/μL)	Day 15	8.498	8.383	8.597	8.197	8.551	8.226	8.738	8.263
	Day 30	7.802	6.985	7.440 B	6.941	7.268 C	6.637	7.529	6.647
Hemoglobin (g/dL)	Day 15	16.06	15.86	16.07	15.73	16.27	15.67	16.34	15.73
	Day 30	14.02	12.83	13.50 A	12.79	13.60	12.40	13.49 A	12.47
Hematocirt (%)	Day 15	46.94	45.93	46.90	45.30	47.70	45.75	47.66	45.66
	Day 30	41.77	36.88	39.96 B	37.39	40.02 B	36.02	40.74	36.27
Platelet Count (10^3/μL)	Day 15	1322.2	1279.6	1131.1 B	1142.7	1118.5 C	1129.1	1207.3	1219.8
	Day 30	1143.8	996.9	1026.3	943.9	960.6 A	860.2	1100.5	913.5
Mean Platelet Volume (fL)	Day 15	7.37	6.84	7.64 A	7.62 C	7.89 C	7.35 B	7.86 C	7.85 C
	Day 30	7.62	6.33	7.70	6.34	8.07 B	6.35	8.02 B	6.66 B
Absolute Reticulocyte (10^9/L)	Day 15	268.35	181.71	199.61	164.28	203.35	171.48	217.64	151.11
	Day 30	175.52	129.51	197.95	169.27 B	210.15 D	168.28 B	246.85 G	174.05 C
Clinical Biochemistry [b]									
Alkaline Phosphatase (U/L)	Day 15	133.4	81.6	181.7 B	111.4 A	181.7 B	129.2 C	176.8 B	117.9 B
Urea Nitrogen (mg/dL)	Day 15	17.07	20.18	17.61	23.21 B	18.68	22.62 A	20.71 C	22.83 A
	Day 30	14.35	17.08	14.06	17.56	14.68	16.67	15.77	18.80
Potassium (mmol/L)	Day 15	5.493	5.353	5.495	5.329	5.699	5.113	5.953 B	5.319
	Day 30	5.002	4.395	4.931	4.327	4.967	4.269	4.976	4.530
Chloride (mmol/L)	Day 15	101.7	99.9	101.7	100.8	101.1	101.0	102.8 D	101.2
	Day 30	104.0	101.8	103.5	102.9	102.9	102.7	103.5	101.6
Phosphorus (mg/dL)	Day 15	8.368	6.949	8.805	7.231	9.437 C	7.418	9.304 B	7.553
	Day 30	7.479	7.090	8.304	7.400	8.892 E	7.176	9.285 E	7.937
Sodium (mmol/L)	Day 15	147.0	143.9	146.9	144.9	147.6	145.5 B	149.5 C	145.3 A
	Day 30	140.8	141.3	139.5 A	142.1	139.7	142.5 A	140.7	141.1

Footnotes are on the last page of the table.

表 7A. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 105908
Weekly Dose (mg/kg)	0		10		100		300	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Bone Markers [b]								
Osteocalcin (ng/mL)								
Main animals	36.31	28.85	53.71 G	43.84 C	43.03 D	40.61 C	45.38 E	45.89 C
% change from control	N/A	N/A	47.9	52.0	18.5	40.8	25.0	59.1
% change from pretreatment	-17.83	-32.40	20.55 G	2.94 C	-5.40	-7.31 C	15.29 G	6.19 C
Toxicokinetic animals	35.05	32.93	51.27	37.38	46.83	43.40	49.70	40.30
% change from control	N/A	N/A	46.3	13.5	33.6	31.8	41.8	22.4
% change from pretreatment	-18.01	-17.10	16.15 E	-6.93	6.74	16.40 A	34.03 G	-0.33
Total Alkaline Phosphatase (U/L)								
Main animals	99.9	58.9	132.1 E	75.8	122.9	83.9 A	127.9 D	83.3 A
% change from control	N/A	N/A	32.2	28.7	23.0	42.4	28.0	41.4
% change from pretreatment	-40.6	-47.6	-29.3 E	-34.2 B	-29.8 E	-27.0 C	-26.8 E	-27.3 C
Toxicokinetic animals	94.7	54.7	139.0	71.3	120.7	98.2 B	147.5 A	91.2 A
% change from control	N/A	N/A	46.8	30.3	27.5	79.5	55.8	66.7
% change from pretreatment	-33.4	-46.7	-21.2	-40.0	-25.7	-19.9 B	-15.5 A	-29.4 A
Deoxypyridinoline	-	-	-	-	-	-	-	-

Footnotes are on the last page of the table.

表 7A. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 105908
Weekly Dose (mg/kg)	0		10		100		300	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Bone Densitometry – pQCT, (n)	5	5	5	5	5	5	5	5
Tibia, Metaphysis								
Total area (mm^2)	22.136	11.244	24.278	11.684	24.464	12.888	25.908 B	12.322
% change from control	N/A	N/A	9.7	3.9	10.5	14.6	17.0	9.6
% change from pretreatment	5.487	-1.139	17.449 A	7.011 A	14.731 A	17.174 C	19.746 B	15.943 C
Total BMC (mg/mm)	11.310	8.662	14.504 C	9.736	14.872 C	11.414 B	15.642 C	10.990 B
% change from control	N/A	N/A	28.2	12.4	31.5	31.8	38.3	26.9
% change from pretreatment	25.641	17.681	63.755 C	42.634 B	62.730 C	65.290 C	68.177 C	61.989 C
Total BMD (mg/cm^3)	511.56	770.34	596.70 C	841.60	608.90 C	884.80 B	602.94 C	891.44 B
% change from control	N/A	N/A	16.6	9.3	19.0	14.9	17.9	15.7
% change from pretreatment	19.11	19.04	39.20 B	33.29 C	41.83 C	40.94 C	40.83 B	39.67 C
Trabecular BMC (mg/mm)	1.482	1.632	2.564 B	2.048	2.496 B	2.596 A	2.570 B	2.570 A
% change from control	N/A	N/A	73.0	25.5	68.4	59.1	73.4	57.5
% change from pretreatment	10.211	23.056	97.832 B	100.791 C	82.564 A	144.566 C	90.326 A	128.917 C
Trabecular BMD (mg/cm^3)	191.16	414.60	299.98 B	511.14	291.58 B	569.66	281.38 B	592.42 A
% change from control	N/A	N/A	56.9	23.3	52.5	37.4	47.2	42.9
% change from pretreatment	5.29	24.22	67.51 B	87.98 C	58.37 A	107.22 C	59.26 A	96.15 C
Tibia, Diaphysis								
Cortical BMC (mg/mm)	7.486	5.418	7.774	5.468	8.618 B	5.948 B	7.914	5.988 B
% change from control	N/A	N/A	3.8	0.9	15.1	9.8	5.7	10.5
% change from pretreatment	28.618	20.360	36.072	22.107	45.444 B	35.213 B	41.204 A	34.065 B

Footnotes are on the last page of the table.

表 7A. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 105908
Weekly Dose (mg/kg)	0		10		100		300	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Bone Densitometry – pQCT, (n)	5	5	5	: 5	5	5	5	5
Tibia, Diaphysis								
Cortical Thickness (mm)	0.8288	0.7054	0.8788	0.7362	0.9380 C	0.7790 B	0.8592	0.7662 B
% change from control	N/A	N/A	6.0	4.4	13.2	10.4	3.7	8.6
% change from pretreatment	14.3441	9.5487	17.5029	13.9296	24.1830	23.8596E	19.1728	19.4628
Cortical Periosteal Circumference (mm)	9.9870	8.5068	9.9238	8.3724	10.3272	8.6540	10.1210	8.7170
% change from control	N/A	N/A	-0.6	-1.6	3.4	1.7	1.3	2.4
% change from pretreatment	11.9254	8.1594	14.8034	7.3169	16.8177 A	9.6337	15.3504	10.5764
Cortical Endosteal Circumference (mm)	4.7810	4.0750	4.4006	3.7458	4.4338	3.7594	4.7210	3.9034
% change from control	N/A	N/A	-8.0	-8.1	-7.3	-7.7	-1.3	-4.2
% change from pretreatment	9.5826	6.7360	13.6587	0.2184	8.8043	-4.4217 B	11.3434	1.9094
Terminal Procedures (No evaluated)	10	10	10	10	10	10	10	10
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weights								
Spleen (g, %[c])	0.731	0.492	10.3	-4.2	11.6	-3.4	16.0	2.8
Relative to body weight (%)	0.16394	0.19564	0.17274	0.19055	0.17954	0.18796	0.18336	0.19797
Relative to brain weight (%)	33.52979	24.87321	37.15749	22.99063	37.79195	24.33936	38.79324	25.52322

Footnotes are on the last page of the table.

表 7A. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 105908
Weekly Dose (mg/kg)	0		10		100		300	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Terminal Procedures (No evaluated)	10	10	10	10	10	10	10	10
Histopathology [d]								
Spleen - Increased extramedullary hematopoiesis								
Minimal	0	0	6	3	7	6	3	4
Slight	0	0	1	0	0	1	7	5
Sternum - Hyperostosis								
Minimal	0	0	8	7	8	3	6	0
Slight	0	0	0	1	2	7	3	8
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	2
Tibia - Hyperostosis								
Minimal	0	0	9	5	0	0	4	0
Slight	0	0	1	3	8	1	5	0
Moderate	0	0	0	2	2	8	1	10
Postdose Evaluation (No. evaluated)	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Clinical Biochemistry								
Alpha 2 globulin (%) [e]	6.52	6.42	7.60	6.64	7.56	6.58	7.30	7.12 A
Gamma globulin (%) [e]	4.10	3.98	2.98 A	3.58	3.30	3.86	2.92 A	4.04
Gamma globulin (g/dL)	0.252	0.264	0.174 A	0.234	0.192	0.248	0.174 A	0.264

Footnotes are on the last page of the table.

表 7A. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 105908
Weekly Dose (mg/kg)	0		10		100		300	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Postdose Evaluation (No. evaluated)	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Hematology								
Red Blood Cells (10^6/μL)	8.056	6.966	7.966	6.684	7.874	6.108 B	7.868	6.316 B
Platelet Count (10^3/μL)	1128.2	1029.6	970.4 A	866.6	953.2 A	875.5	988.4	943.6
Mean Platelet Volume (fL)	6.68	6.78	7.62 C	6.96	7.52 C	6.98	7.78 C	6.80
Absolute Reticulocyte (10^9/L)	180.68	138.34	171.22	144.52	155.36	151.00	180.10	163.20
Bone Markers								
Osteocalcin (ng/mL)								
	31.03	29.65	26.57	20.26 C	22.14 B	18.80 C	22.79 B	19.23 C
% change from control	N/A	N/A	-14.4	-31.7	-28.6	-36.6	-26.6	-35.1
% change from pretreatment	-17.83	-32.40	20.55 G	2.94 C	-5.40	-7.31 C	15.29 G	6.19 C
Toxicokinetic recovery animals	27.37	24.51	19.19 G	24.86	22.93	22.46	22.26	20.67
% change from control	N/A	N/A	-29.9	1.4	-16.2	-8.4	-18.7	-15.7
% change from pretreatment	-18.01	-17.10	16.15 E	-6.93	6.74	16.40 A	34.03 G	-0.33
Alkaline Phosphatase (U/L)								
Main recovery animals	66.2	36.8	77.0	42.4	62.8	37.0	71.4	33.2
% change from control	N/A	N/A	16.3	15.2	-5.1	0.5	7.9	-9.8
% change from pretreatment	-40.6	-47.6	-29.3 E	-34.2 B	-29.8 E	-27.0 C	-26.8 E	-27.3 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7A. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 105908
Weekly Dose (mg/kg)	0		10		100		300	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Postdose Evaluation (No. evaluated)	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Bone Markers [b]								
Alkaline Phosphatase (U/L)								
Toxicokinetic recovery animals	69.9	34.3	76.7	38.3	71.9	43.0	74.8	36.6
% change from control	N/A	N/A	9.7	11.7	2.9	25.4	7.0	6.7
% change from pretreatment	-33.4	-46.7	-21.2	-40.0	-25.7	-19.9 B	-15.5 A	-29.4 A
Deoxypyridinoline (nM/mM creatinine)								
Main recovery animals	35.320	20.247	35.995	21.273	49.640	33.813	48.368	50.100 B
% change from control	N/A	N/A	1.9	5.1	40.5	67.0	36.9	147.4
Toxicokinetic recovery animals	32.457	15.493	34.063	23.02	52.150 C	36.110 C	42.831 A	30.303 C
% change from control	N/A	N/A	5.0	48.6	60.7	133.1	32.0	95.6
Bone Densitometry pQCT – Week 14								
Tibia, Metaphysis								
Total area (mm^2)	22.824	11.324	24.466	10.774	25.028	13.130	26.020 A	12.434
% change from control	N/A	N/A	7.2	-4.9	9.7	15.9	14.0	9.8
% change from pretreatment	9.016	-0.505	18.462	-1.340	17.388	19.524 C	20.247	17.148 C
Total BMC (mg/mm)	13.658	9.858	14.086	9.872	16.418 D	14.496 C	16.914 D	14.184 C
% change from control	N/A	N/A	3.1	0.1	20.2	47.0	23.8	43.9
% change from pretreatment	51.871	34.015	58.833	44.855	79.043 A	110.180 C	81.549 A	109.164 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7A. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 105908
Weekly Dose (mg/kg)	0		10		100		300	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Postdose Evaluation (No. evaluated)	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Bone Densitometry pQCT – Week 14								
Tibia, Metaphysis								
Total BMD (mm)	598.76	871.42	575.72	928.24	659.12	1101.98 C	647.18	1139.72 C
% change from control	N/A	N/A	-3.8	6.5	10.1	26.5	8.1	30.8
% change from pretreatment	39.69	34.69	34.24	46.87	52.79	75.63 E	51.45	78.61 E
Trabecular BMC (mg/mm)	1.698	1.916	2.190	2.320	2.862	4.436 E	2.898	4.532 E
% change from control	N/A	N/A	29.0	21.1	68.6	131.5	70.7	136.5
% change from pretreatment	26.804	44.645	68.223	126.643 A	100.533	319.131 C	111.879 A	310.597 C
Trabecular BMD (mg/cm^3)	210.54	485.12	255.72	636.06	332.00	960.58 C	312.70	1033.88 C
% change from control	N/A	N/A	21.5	31.1	57.7	98.0	48.5	113.1
% change from pretreatment	17.15	45.90	42.43	131.67 C	71.88	249.46 C	77.06	247.44 C
Tibia, Diaphysis								
Cortical BMC (mg/mm)	9.316	6.220	10.110	6.040	11.256 B	7.662 C	10.444	7.908 C
% change from control	N/A	N/A	8.5	-2.9	20.8	23.2	12.1	27.1
% change from pretreatment	60.195	38.204	77.006 A	34.920	89.783 C	74.445 C	86.286 B	77.103 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7A. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 105908
Weekly Dose (mg/kg)	0		10		100		300	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Postdose Evaluation (No. evaluated)	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Bone Densitometry pQCT – Week 14								
Tibia, Diaphysis								
Cortical Thickness (mm)	0.8536	0.7664	0.9720 A	0.7794	1.0350 B	0.9118 C	0.9700 A	0.9314 C
% change from control	N/A	N/A	13.9	1.7	21.3	19.0	13.6	21.5
% change from pretreatment	17.6285	19.0117	30.0693	20.7182	36.9909 A	45.2236 D	34.3451 A	45.2654 D
Cortical Periosteal Circumference (mm)	11.3102	8.9056	11.2540	8.5736	11.6678	9.3912 B	11.3946	9.4208 B
% change from control	N/A	N/A	-0.5	-3.7	3.2	5.5	0.7	5.8
% change from pretreatment	26.8254	13.2336	30.2320	9.9017	31.9893	18.9845 B	29.8568	19.5013 C
Cortical Endosteal Circumference (mm)	5.9464	4.0918	5.1482	3.6770	5.1638	3.6622	5.2998	3.5694
% change from control	N/A	N/A	-13.4	-10.1	-13.2	-10.5	-10.9	-12.8
% change from pretreatment	36.4077	7.1257	33.7658	-1.5160	26.9145	-6.9458 A	24.7393	-6.7889 A
Histopathology d								
Spleen - Increased extramedullary hematopoiesis								
Minimal	0	0	0	0	0	3	0	4
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1

Footnotes are on the last page of the table.

表 7A. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 105908
Weekly Dose (mg/kg)	0		10		100		300	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15	M: 15	F: 15
Postdose Evaluation (No. evaluated)	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Histopathology [d]								
Tibia - Hyperostosis								
Minimal	0	0	4	1	0	0	1	0
Slight	0	0	0	4	1	0	3	0
Moderate	0	0	0	0	3	3	1	3
Marked	0	0	0	0	0	2	0	2
Sternum - Hyperostosis								
Minimal	0	0	0	0	0	2	0	2
Slight	0	0	0	0	0	0	0	2

$AUC_{0\text{-}168}$ = area under the plasma drug concentration-time curve from time zero to 168 hours post dose; $AUC_{0\text{-}inf}$ = area under the plasma drug concentration-time curve from time zero to infinity; BMD = bone mineral density BQL=Below quantitative level; F = female; GLP = good laboratory practices; M = male; N/A = not applicable; pQCT = Peripheral Quantitative Computed Tomography; QW = weekly; $T_{1/2,z}$ = terminal phase half life. - 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) and D - $P \leq 0.05$ E - $P \leq 0.01$ G - $P \leq 0.001$ (Dunn)

[a] Main study animals (10/sex/group) were euthanized on day 30 and the remaining animals were euthanized after a 69-day recovery period. An additional 12 animals/sex/group were administrated test or control article in the same manner and used for toxicokinetic, biochemical markers of bone turnover and immunology evaluations, and were euthanized after a 69-day recovery period.

[b] At the end of the dosing or recovery period unless otherwise noted.

[c] For controls, absolute values are provided. For treated groups, percent change from control values are provided.

[d] Incidence is provided.

[e] Relative to total protein.

表 7B.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ

Repeat-dose Toxicity	Report Title: AMG 785: A 6-Week (Once Weekly) Subcutaneous Injection Toxicology Study in the Sprague Dawley Rat	Test Article: romosozumab
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	Duration of Dosing: 6 weeks	Amgen Study No. 121854
Initial Age: 10 to 11 weeks old	Duration of Postdose: N/A	[redacted] Study No. 6700344
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: Study design was initially 10, 25, 20, and 20 animals/sex at 0, 3, 10, and 50 mg/kg, respectively. Some animals were excluded based on ADA response: 10 at 3 mg/kg, 8 at 10 mg/kg, and 7 at 50 mg/kg.
No Observed Adverse Effect Level: 50 mg/kg/dose.

Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 10	F: 10	M: 21	F: 19	M: 16	F: 16	M: 16	F: 17
Toxicokinetics:								
Concentration (µg/mL) Mean								
Day 22	BLQ	BLQ	6.15	2.03	55.92	30.86	390.94	588.65
Day 43	BLQ	BLQ	7.90	2.47	64.50	35.88	461.06	605.91
Anti-drug Antibody – Positive/Total (%)								
Day 22	N/A	N/A	7/21 (33%)	2/19 (11%)	0/16 (0%)	0/16 (0%)	5/16 (31%)	1/17 (6%)
Day 43	N/A	N/A	9/21 (43%)	3/19 (16%)	1/16 (6%)	0/16 (0%)	3/16 (19%)	0/17 (0%)
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-

Footnotes are on the last page of the table.

表 7B.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No.121854
Daily Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 10	F: 10	M: 21	F: 19	M: 16	F: 16	M: 16	F: 17
Noteworthy Findings								
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology [a]								
Bone, calvarium								
Increased bone								
Minimal	0	0	0	3	5	9	10	9
Mild	0	0	0	0	0	0	3	7
Nasal cavity								
Increased bone								
Minimal	0	0	0	0	6	7	10	10
Mild	0	0	0	0	0	0	3	4

- = No noteworthy findings; ADA = anti-drug anitbodies; BQL = below the quantification limit; F = female; GLP = Good Laboratory Practices; M = male; N/A = not applicable.

[a] Incidence is presented.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ

Repeat-dose Toxicity	Report Title: 6-Month Subcutaneous Injection Toxicity Study of Weekly Administration of AMG 785 in the Sprague Dawley Rat With a 14-Week Treatment-free Period	Test Article: romosozumab
Species/Strain: Rat/Sprague Dawley	Duration of Dosing: QW, 6 months	Amgen Study No. 107425
Initial Age: Approximately 10 weeks	Duration of Postdose: 14 weeks	CRO Study No. 670262
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: Subcutaneous injection	
	Vehicle/Formulation: AMG 785 placebo: 10mM sodium acetate, 9% sucrose, 0.004% polysorbate 20, pH 5.2	GLP Compliance: Yes

Special Features: Bone markers, bone densitometry, histomorphometry. Study design was 15/sex/group. Some animals were excluded based on the ADA response (except for gross pathology and histopathology): 6 males and 6 females at 3 mg/kg, 5 males and 1 female at 10 mg/kg, and 2 males and 2 females at 100 mg/kg. Bone marker analysis was done using animals from the toxicokinetic arm of the study and the results of these are in Appendix 42 of the report.
No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg

Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
C_{max} (µg/mL)								
Week 1	NC		15.8		64.9		684	
Week 26 (antibody negative animals)	NC		16.5		89.8		1030	
$AUC_{0\text{-}168}$ (mg·hr/mL)								
Week 1	NC		1.42		6.93		80.5	
Week 26 (antibody negative animals)	NC		1.84		12.9		124	
AUC_{rec} (mg·hr/mL)	NC		0.138		3.69		107	

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Anti-Drug Antibody Positive/Total (%) [b]								
Week 12	1/49 (2.0)		29/50 (58.0)		9/49 (18.4)		10/50 (20.0)	
Week 26	3/49 (6.1)		23/50 (46.0)		10/49 (20.4)		8/49(16.3)	
Week 33	2/30 (6.7)		20/30 (66.7)		11/29 (37.9)		17/29 (58.6)	
Week 40	2/30 (6.7)		17/30 (56.7)		11/28 (39.3)		15/29 (51.7)	
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	1	0	0	0	0	2	0
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology								
Red Blood Cells (10^6/μL)								
Week 4	9.078	8.533	9.051	8.536	8.726	8.469	8.721	7.888 C
Week 12	9.252	8.581	9.408	8.367	9.326	7.976 B	8.976	7.229 C
Week 26	8.841	7.449	8.728	7.343	8.435	7.001	7.636 A	6.426 C
Hemoglobin (g/dL)								
Week 4	16.57	15.95	16.13	15.96	15.89	15.62	15.90	14.88 C
Week 12	16.09	15.46	16.08	15.37	16.22	14.70 A	15.79	14.05 C
Week 26	15.95	14.41	15.74	14.61	15.47	14.09	14.31	13.75

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Hematology								
Hematocrit (%)								
Week 4	49.17	46.84	48.02	46.56	46.90	45.91	47.34	43.08 C
Week 12	47.42	44.91	46.64	43.82	46.96	42.37 A	46.08	40.45 C
Week 26	45.02	40.26	44.36	40.07	43.35	39.24	39.91	38.2
Mean corpuscular volume (fL)								
Week 4	54.16	54.90	53.07	54.42	53.74	54.26	54.34	54.63
Week 12	51.29	52.33	49.61	52.44	50.35	53.13	51.39	56.04 C
Week 26	51.03	54.12	50.86	54.64	51.43	56.04 A	52.53	59.44 C
Red cell distribution width (%)								
Week 4	12.39	11.88	12.83	11.66	13.16 B	12.15	13.20 B	12.63 B
Week 12	12.87	12.31	13.32	12.20	13.57 A	12.84 B	14.02 C	13.98 C
Week 26	13.01	12.26	13.52	12.14	14.39	12.82	15.62 B	13.87 C
Platelet count (10^3/μL)								
Week 4	1155	1175	1182	1082	1032 A	1093	1087	1014
Week 12	1060	1087	1093	1031	1023	1006	1004	908 C
Week 26	1081	1078	1083	959 A	985	937 B	962 A	876 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Hematology								
Mean platelet volume (fL)								
Week 4	6.35	6.53	6.51	6.90	7.22 C	7.20 C	7.30 C	7.21 C
Week 12	6.32	6.76	6.60	6.86	7.00 A	6.94	7.35 C	7.25
Week 26	6.93	7.29	7.13	7.43	7.48 A	7.55	7.33	7.95 D
Absolute Reticulocyte (10^9/L)								
Week 4	204.0	176.4	213.1	163.0	197.8	160.5	225.4	174.7
Week 12	191.6	177.4	197.2	170.9	198.1	188.9	213.6	218.5 A
Week 26	157.6	170.4	170.1	160.9	195.4 A	187.2	217.6 C	239.9 B
Clinical Chemistry								
Urea (mg/dL)								
Week 12	15.31	19.21	15.04	19.67	16.15	20.84	17.36 A	21.12
Week 26	12.83	14.69	12.51	14.66	12.62	14.39	37.51 D	14.75
Phosphorus (mg/dL)								
Week 4	7.591	6.215	7.912	6.308	7.865	6.143	8.400 B	6.355
Week 12	6.835	5.760	6.619	5.533	6.732	5.446	7.314	5.267
Week 26	6.066	6.069	6.569	5.438	6.254	5.534	8.933 D	5.550
Glucose (g/dL)								
Week 12	100.5	91.3	98.7	95.4	98.3	103.3 B	104.4	108.3 C
Globulin (g/dL)								
Week 12	2.69	2.65	2.80	2.58	2.78	2.69	2.98 B	2.67

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Bone Formation Markers (from TK animals)								
Total Alkaline Phosphatase (U/L)								
Week 4	127.1	89.1	134.8	77.9	140.8	91.2	161.7	107.1
% change from control	N/A	N/A	6.1	-12.6	10.8	2.4	27.2	20.2
% change from pretreatment	-30.49	-40.55	-29.21	-46.12	-19.17 D	-31.26	-18.46	-32.04
Osteocalcin (ng/mL)								
Week 4	30.93	24.31	34.18	27.54	40.31 C	31.70 D	39.65 C	38.15 E
% change from control	N/A	N/A	10.5	13.3	30.3	30.4	28.2	56.9
% change from pretreatment	-30.45	-39.05	-35.23	-35.13	10.54 C	-23.59	3.06 C	-6.05 G
Week 12	22.92	19.96	21.60	18.48	25.97	22.96	28.57 C	25.68 D
% change from control	N/A	N/A	-5.8	-7.4	13.3	15.0	24.7	28.7
% change from pretreatment	-47.45	-50.51	-58.52	-56.15	-28.05 B	-45.05	-25.81 B	-28.62 C
Week 26	19.13	16.45	20.69	17.99	19.53	18.83	18.15	18.41
% change from control	N/A	N/A	8.2	9.4	2.1	14.5	-5.1	11.9
% change from pretreatment	-56.72	-59.37	-60.78	-58.28	-45.72 A	-56.71	-53.85	-49.10 A
Bone Resorption Markers (from TK animals)	-	-	-	-	-	-	-	-

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Bone Densitometry - DXA								
Lumbar Spine (L1-L4) Area (cm^2)								
Week 12/13	2.794	2.105	2.774	2.055	2.905	2.144	3.097 C	2.315 C
% change from control	N/A	N/A	-0.7	-2.4	4.0	1.9	10.8	10.0
% change from pretreatment	40.06	26.25	38.80	25.69	42.13	28.90	55.36 C	36.34 C
Week 25/26	2.986	2.210	2.985	2.202	3.120	2.267	3.385 C	2.480 C
% change from control	N/A	N/A	0.0	-0.4	4.5	2.6	13.4	12.2
% change from pretreatment	49.75	32.59	49.42	34.76	52.69	36.33	69.85 C	46.04 C
Lumbar Spine (L1-L4) BMC (g)								
Week 12/13	0.797	0.542	0.856	0.558	1.000 D	0.673 C	1.255 G	0.861 C
% change from control	N/A	N/A	7.5	2.9	25.5	24.1	57.5	58.6
% change from pretreatment	86.13	61.36	103.82	75.27	130.60 C	97.29 C	205.34 C	149.91 C
Week 25/26	0.897	0.588	1.013	0.637	1.158 E	0.765 C	1.542 G	1.017 C
% change from control	N/A	N/A	12.9	8.4	29.1	30.1	72.0	73.0
% change from pretreatment	110.15	74.72	140.97	100.13 A	167.05 B	124.37 C	275.15 C	195.28 C
Lumbar Spine (L1-L4) BMD (g/cm^2)								
Week 12/13	0.2850	0.2576	0.3086	0.2713 A	0.3427 E	0.3137 C	0.4042 G	0.3718 C
% change from control	N/A	N/A	8.3	5.3	20.2	21.8	41.8	44.3
% change from pretreatment	32.748	27.667	46.599 A	39.228 B	61.624 C	52.893 C	96.087 C	83.199 C
Week 25/26	0.3001	0.2657	0.3388	0.2891	0.3703 G	0.3370 G	0.4533 G	0.4099 G
% change from control	N/A	N/A	12.9	8.8	23.4	26.8	51.1	54.3
% change from pretreatment	39.98	31.62	60.96	48.35 C	74.68 G	64.30 C	119.94 G	102.01 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Bone Densitometry - DXA								
Femur – Global Area (cm^2)								
Week 12/13	2.147	1.584	2.149	1.595	2.187	1.629	2.294 C	1.724 C
% change from control	N/A	N/A	0.1	0.7	1.9	2.8	6.8	8.8
% change from pretreatment	32.26	21.55	34.31	23.36	35.53	23.64	41.53 C	30.92 C
Week 25/26	2.304	1.643	2.277	1.644	2.326	1.702	2.498 C	1.830 C
% change from control	N/A	N/A	-1.2	0.1	1.0	3.6	8.4	11.4
% change from pretreatment	41.92	26.15	42.33	27.06	44.16	29.11	54.10 C	38.98 C
Femur – Global BMC (g)								
Week 12/13	0.765	0.500	0.814	0.530	0.877 B	0.614 C	1.051 C	0.719 C
% change from control	N/A	N/A	6.3	6.2	14.6	23.0	37.4	43.8
% change from pretreatment	82.00	54.07	97.22	70.39 A	115.32 E	87.63 C	154.08 C	121.063 C
Week 25/26	0.881	0.537	0.953	0.579	1.038 C	0.695 C	1.286 C	0.839 C
% change from control	N/A	N/A	8.2	7.9	17.9	29.5	46.0	56.3
% change from pretreatment	109.53	65.80	130.96	85.85 A	154.70 E	112.15 C	210.53 G	158.28 C
Femur – Global – BMD (g/cm^2)								
Week 12/13	0.3562	0.3153	0.3783 A	0.3323	0.4006 C	0.3767 G	0.4575 C	0.4167 G
% change from control	N/A	N/A	6.2	5.4	12.5	19.5	28.5	32.2
% change from pretreatment	37.52	26.73	46.82	37.80 C	58.71 E	51.57 C	79.30 G	68.73 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Bone Densitometry - DXA								
Femur – Global – BMD (g/cm^2)								
Week 25/26	0.3818	0.3265	0.4179 B	0.3523	0.4457 C	0.4077 G	0.5137 C	0.4584 G
% change from control	N/A	N/A	9.4	7.9	16.7	24.9	34.5	40.4
% change from pretreatment	47.47	31.35	62.16	46.08 C	76.63 G	64.06 C	101.26 G	85.69 C
Bone Densitometry - pQCT								
Proximal Tibia – Metaphysis – Total Area (mm^2)								
Week 12/13	23.236	10.603	23.366	10.798	24.562	12.227 C	26.770 C	14.262 C
% change from control	N/A	N/A	0.6	1.8	5.7	15.3	15.2	34.5
% change from pretreatment	6.83	-6.48	10.78	-5.27	14.12	5.35 C	26.33 G	19.11 C
Week 25/26	22.699	10.779	23.370	11.088	24.426	12.804 C	27.823 C	15.535 C
% change from control	N/A	N/A	3.0	2.9	7.6	18.8	22.6	44.1
% change from pretreatment	4.30	-4.90	10.88	-2.72	13.41 A	10.40 C	31.19 C	29.84 C
Proximal Tibia – Metaphysis – Total BMC (mg/mm)								
Week 12/13	13.707	9.326	16.037	10.270	17.672 E	13.341 C	21.422 G	16.720 C
% change from control	N/A	N/A	17.0	10.1	28.9	43.1	56.3	79.3
% change from pretreatment	45.45	30.17	78.31 D	54.66 C	99.94 G	83.10 C	132.14 G	137.06 C
Week 25/26	14.420	9.524	17.183	10.774	20.412 G	14.506 G	25.718 G	19.173 G
% change from control	N/A	N/A	19.2	13.1	41.6	52.3	78.4	101.3
% change from pretreatment	53.11	33.02	91.07	62.20	132.11 G	99.51 G	178.91 G	172.40 G

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Bone Densitometry - pQCT								
Proximal Tibia – Metaphysis – Total BMD (mg/cm^3)								
Week 12/13	591.28	879.37	689.00 C	953.12 C	717.61 C	1089.63 C	798.45 C	1172.96 C
% change from control	N/A	N/A	16.5	8.4	21.4	23.9	35.0	33.4
% change from pretreatment	36.3	39.3	61.1 C	63.4 C	75.1 C	73.7 C	83.6 C	99.00 C
Week 25/26	636.73	883.35	738.26 C	973.58 C	836.08 C	1130.77 C	920.00 C	1234.71 C
% change from control	N/A	N/A	15.9	10.2	31.3	28.0	44.5	39.8
% change from pretreatment	46.8	40.00	72.7	67.00	105.00 G	80.4 G	111.6 G	109.6 G
Proximal Tibia – Metaphysis – Trabecular area (mm^2)								
Week 12/13	9.289	4.248	9.352	4.317	9.842	4.905 C	10.724 C	5.694 C
% change from control	N/A	N/A	0.7	1.6	6.0	15.5	15.4	34.0
% change from pretreatment	6.79	-6.36	10.67	-5.78	13.96	5.23 C	26.40 G	18.55 C
Week 25/26	9.087	4.309	9.348	4.446	9.774	5.131 C	11.132 C	6.210 C
% change from control	N/A	N/A	2.9	3.2	7.6	19.1	22.5	44.1
% change from pretreatment	4.40	-5.00	10.70	-2.96	13.12 A	10.12 C	31.11 C	29.43 C
Proximal Tibia – Metaphysis – Trabecular BMC (mg/mm)								
Week 12/13	2.441	2.235	3.730 D	2.927	4.244 E	4.771 G	5.908 G	6.420 G
% change from control	N/A	N/A	52.8	31.0	73.8	113.5	142.0	187.3
% change from pretreatment	29.51	41.80	105.00 D	131.44	135.80 G	207.83 G	212.36 G	362.04 G

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Bone Densitometry - pQCT								
Proximal Tibia – Metaphysis – Trabecular BMC (mg/mm)								
Week 25/26	2.494	2.158	4.066	3.212	5.297 G	5.371 G	7.850 G	7.618 G
% change from control	N/A	N/A	63.0	48.9	112.4	148.9	214.8	253.1
% change from pretreatment	32.71	37.36	123.86	153.32	203.05 G	248.96 G	317.24 G	451.22 G
Proximal Tibia – Metaphysis – Trabecular BMD (mg/cm^3)								
Week 12/13	263.27	525.41	401.14 D	682.50 C	425.55 E	969.66 C	547.44 G	1129.12 C
% change from control	N/A	N/A	52.4	29.9	61.6	84.6	107.9	114.9
% change from pretreatment	21.3	51.2	85.0 C	145.6	104.4 C	191.9 G	145.9 C	287.0 G
Week 25/26	275.48	500.92	436.06 D	727.23 C	540.85 G	1042.89 C	697.68 G	1228.45 C
% change from control	N/A	N/A	58.3	45.2	96.3	108.2	153.3	145.2
% change from pretreatment	27.3	44.3	101.3	161.5	167.6 G	215.3 G	214.9 G	323.3 G
Proximal Tibia – Metaphysis - Cortical/Subcortical area (mm^2)								
Week 12/13	13.945	6.354	14.011	6.481	14.722	7.322 C	16.045 C	8.569 C
% change from control	N/A	N/A	0.5	2.0	5.6	15.2	15.1	34.9
% change from pretreatment	6.87	-6.54	10.87	-4.95	14.26	5.48 C	26.25 G	19.53 C
Week 25/26	13.613	6.471	14.022	6.646	14.652	7.674 C	16.691 C	9.327 C
% change from control	N/A	N/A	3.0	2.7	7.6	18.6	22.6	44.1
% change from pretreatment	4.27	-4.80	11.03	-2.55	13.62 A	10.63 C	31.24 C	30.16 C

Footnotes are on the last page of the table.Page 10 of 27

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Bone Densitometry - pQCT								
Proximal Tibia – Metaphysis - Cortical/Subcortical BMC (mg/mm)								
Week 12/13	11.267	7.091	12.308	7.341	13.429 E	8.571 C	15.512 G	10.300 C
% change from control	N/A	N/A	9.2	3.5	19.2	20.9	37.7	45.3
% change from pretreatment	49.66	27.13	72.19	36.74	90.74 G	50.10 E	112.00 G	83.17 G
Week 25/26	11.927	7.368	13.118	7.562	15.116 G	9.135 C	17.871 G	11.56 C
% change from control	N/A	N/A	10.0	2.6	26.7	24.0	49.8	56.8
% change from pretreatment	58.54	32.06	83.55	40.86	115.28 G	60.20 C	144.23 G	105.67 C
Proximal Tibia – Metaphysis - Cortical/Subcortical BMD (mg/cm^3)								
Week 12/13	809.77	1115.86	881.07 B	1133.50	912.92 C	1170.09 C	966.28 C	1202.18 C
% change from control	N/A	N/A	8.8	1.6	12.7	4.9	19.3	7.8
% change from pretreatment	40.2	36.2	55.4 B	44.1 A	67.5 C	42.3	68.0 C	53.4 C
Week 25/26	877.86	1137.86	939.73 B	1138.14	1032.99 C	1189.51 C	1068.35 C	1238.81 C
% change from control	N/A	N/A	7.1	0.0	17.7	4.5	21.7	8.9
% change from pretreatment	52.0	38.9	66.0 A	44.7	90.0 C	44.7	85.7 C	58.0 C
Proximal Tibia – Diaphysis – Total area (mm^2)								
Week 12/13	9.750	6.030	10.209	6.289	9.832	6.619 B	11.298 C	7.492 C
% change from control	N/A	N/A	4.7	-4.3	0.8	9.8	15.9	24.3
% change from pretreatment	54.08	20.45	49.45	25.27	56.07	30.21 E	79.91 C	46.53 G

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Bone Densitometry - pQCT								
Proximal Tibia – Diaphysis – Total area (mm^2)								
Week 25/26	10.739	6.376	11.383	6.560	10.997	7.003 A	13.132 C	8.739 C
% change from control	N/A	N/A	6.0	2.9	2.4	9.8	22.3	37.1
% change from pretreatment	69.60	27.35	66.88	30.73	74.43	37.79 A	108.95 G	70.95 C
Proximal Tibia – Diaphysis - Cortical area (mm^2)								
Week 12/13	7.382	4.845	7.872	5.001	7.723	5.609 C	9.418 C	6.612 C
% change from control	N/A	N/A	6.6	3.2	4.6	15.8	27.6	36.5
% change from pretreatment	54.67	30.44	65.59	34.22	65.48	48.10 C	100.82 C	71.73 C
Week 25/26	8.048	5.102	8.871	5.201	8.705	6.129 E	11.116 G	8.004 G
% change from control	N/A	N/A	10.2	1.9	8.2	20.1	38.1	56.9
% change from pretreatment	68.66	37.34	86.70	39.62	86.70	61.81 E	136.93 G	108.04 G
Proximal Tibia – Diaphysis - Cortical BMC (mg/mm)								
Week 12/13	9.323	6.106	9.886	6.273	9.852	7.195 C	12.256 C	8.645 C
% change from control	N/A	N/A	6.0	2.7	5.7	17.8	31.5	41.6
% change from pretreatment	65.80	40.67	83.53	45.37	80.77	62.56 C	122.55 G	94.84 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Bone Densitometry - pQCT								
Proximal Tibia – Diaphysis - Cortical BMC (mg/mm)								
Week 25/26	10.340	6.506	11.320	6.664	11.385	7.928 E	14.788 G	10.768 G
% change from control	N/A	N/A	9.5	2.4	10.1	21.9	43.0	65.5
% change from pretreatment	83.88	49.89	110.16	54.46	109.19	79.12 E	168.46 G	142.90 G
Proximal Tibia – Diaphysis- Cortical BMD (mg/cm3)								
Week 12/13	1263.01	1259.69	1256.68	1254.54	1275.32	1282.31 B	1300.72 C	1306.90 C
% change from control	N/A	N/A	-0.5	-0.4	1.0	1.8	3.0	3.8
% change from pretreatment	7.2	7.9	10.8	8.3	9.2	9.8 A	10.8 G	13.5 C
Week 25/26	1284.45	1274.26	1277.20	1281.36	1307.32 A	1293.23 A	1328.99 C	1344.96 C
% change from control	N/A	N/A	-0.6	0.6	1.8	1.5	3.5	5.6
% change from pretreatment	9.0	9.1	12.6	10.6	11.9 D	10.7	13.2 G	16.8 C
Proximal Tibia – Diaphysis - Cortical thickness (mm)								
Week 12/13	0.8945	0.7728	0.9408	0.7753	0.9506 A	0.8884 C	1.1238 C	1.0171 C
% change from control	N/A	N/A	5.2	-0.3	6.3	15.0	25.6	31.6
% change from pretreatment	24.924	24.374	43.497	24.418	36.669	40.892 C	59.962 G	58.412 C
Week 25/26	0.9269	0.7899	1.0080	0.7884	1.0174 D	0.9763 E	1.2460 G	1.1890 G
% change from control	N/A	N/A	8.8	-0.2	9.8	23.6	34.4	50.5
% change from pretreatment	29.576	27.219	54.108 D	26.591	46.531	54.663 E	77.477 G	85.154 G

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Bone Densitometry - pQCT								
Proximal Tibia – Diaphysis - Periosteal circumference (mm)								
Week 12/13	11.0610	8.7003	11.3146	8.8850	11.1122	9.1136 B	11.9082 C	9.6964 C
% change from control	N/A	N/A	2.3	-2.1	0.5	4.8	7.7	11.5
% change from pretreatment	24.071	9.724	21.800	11.898	24.859	14.086 E	34.069 C	20.993 G
Week 25/26	11.6035	8.9436	11.9387	9.0713	11.7528	9.3731 A	12.8362 C	10.4670 C
% change from control	N/A	N/A	2.9	1.4	1.3	4.8	10.6	17.0
% change from pretreatment	30.135	12.790	28.564	14.259	32.033	17.343 A	44.486 G	30.618 C
Proximal Tibia – Diaphysis - Endosteal circumference (mm)								
Week 12/13	5.4406	3.8450	5.4044	4.0130	5.1390	3.5310	4.8469 C	3.3055 B
% change from control	N/A	N/A	-0.7	-4.4	-5.5	-8.2	-10.9	-14.0
% change from pretreatment	23.893	-4.296	9.339 A	0.077	14.545	-12.428 A	9.121 A	-16.687 C
Week 25/26	5.7796	3.9810	5.6050	4.1171	5.3611	3.2386 B	5.0065 B	2.9965 C
% change from control	N/A	N/A	-3.0	3.4	-7.2	-18.7	-13.4	-24.7
% change from pretreatment	31.689	-0.756	13.944	2.865	19.534	-20.035 C	12.876 A	-24.895 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Terminal Procedures (no. evaluated)	10	10	10	10	10	10	11[c]	10
Radiography	-	-	-	-	-	-	-	-
Organ Weight								
Spleen (g, %) [d]	0.884	0.585	-5.2	-2.2	-5.4	-9.2	6.8	20.2 A
Relative to body weight (%)	0.149	0.173	0.141	0.181	0.141	0.171	0.149	0.215 B
Relative to brain weight (%)	38.79	28.40	36.75	27.50	36.43	26.38	41.75	34.46 B
Gross Pathology [e]								
Bone Marrow - Firm	0	0	0	0	2	3	6	1
Calvarium - Thickening	0	0	0	0	1	1	8	6
Tibia - Thickening	0	0	0	0	0	0	1	0
Femur left - Thickening	0	0	0	0	0	0	1	0
Femur right - Thickening	0	0	0	0	0	0	1	0
Histopathology [e]								
Tibia - Hyperostosis								
Minimal	0	0	6	4	1	0	1	0
Slight	0	0	2	3	7	0	1	0
Moderate	0	0	0	1	1	6	3	0
Marked	0	0	0	0	0	4	5	7
Severe	0	0	0	0	0	0	0	1

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Terminal Procedures (no. evaluated)	10	10	10	10	10	10	11[e]	10
Histopathology [e]								
Sternum - Hyperostosis								
Minimal	0	0	7	5	1	2	0	0
Slight	0	0	0	2	5	5	4	3
Moderate	0	0	0	0	1	2	5	5
Lumbar vertebrae - Hyperostosis								
Minimal	0	0	3	6	1	0	1	0
Slight	0	0	1	1	6	1	3	0
Moderate	0	0	0	0	2	8	4	0
Marked	0	0	0	0	0	1	2	8
Calvarium - Hyperostosis [f]								
Minimal	0	0	0	0	0	1	4	2
Slight	0	0	0	0	1	0	4	4
Injection Site Thoracic - Infiltration Mononuclear Cells								
Minimal	0	1	0	0	0	1	2	6
Slight	0	0	0	1	0	0	0	0
Liver - Extramedullary Hematopoiesis								
Minimal	0	2	1	4	5	7	6	7
Slight	0	0	0	0	0	0	0	1

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Terminal Procedures (no. evaluated)	10	10	10	10	10	10	11[e]	10
Histopathology [e]								
Spleen - Increased Extramedullary Hematopoiesis								
Minimal	0	2	5	5	2	3	4	1
Slight	0	0	0	1	4	7	5	7
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0
Histomorphometry								
L2 cancellous bone								
dLS/BS (%)	6.9	2.7	6.4	3.8	4.3	9.0 E	8.6	11.4 E
% change from control	N/A	N/A	-7	43	-38	240	25	331
MS/BS (%)	16.1	10.9	14.1	10.7	9.9 A	17.3	17.5	25.5 E
% change from control	N/A	N/A	-13	-2	-39	59	8	135
MAR (µm/day)	1.02	0.88	1.02	1.01	0.95	1.26 C	1.22 A	1.14 A
% change from control	N/A	N/A	0	15	-7	44	20	30
BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)	59.7	35.0	54.6	40.0	34.1	79.4 D	77.9	109.4 E
% change from control	N/A	N/A	-9	14	-43	127	31	213
Tibial cortical bone								
Ps.Pm (mm)	12.14	9.44	12.42	9.78	12.44	10.04	13.44 B	10.83 C
% change from control	N/A	N/A	2	4	2	6	11	15
Ec.Pm (mm)	6.39	4.97	6.40	5.40	5.94	4.47	5.13 C	3.56 C
% change from control	N/A	N/A	0	9	-7	-10	-20	-28

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Histomorphometry								
Tibial cortical bone								
Ps.sL.Pm/Ps.Pm (%)	16.6	7.2	27.5	9.1	27.1	12.2	7.1	5.0
% change from control	N/A	N/A	65	26	63	70	-57	-31
Ps.dL.Pm/Ps.Pm (%)	26.5	5.1	46.3	6.4	50.5 A	9.2	78.8 C	58.1 E
% change from control	N/A	N/A	75	25	90	80	197	1035
Ps.L.Pm/Ps.Pm (%)	34.8	8.7	60.0 B	10.9	64.0 B	15.3	82.3 C	60.6 D
% change from control	N/A	N/A	72	26	84	76	136	595
Ps.MAR (µm/day)	0.73	0.62	0.99 A	0.53	0.97 A	0.60	1.20 C	1.02
% change from control	N/A	N/A	34	-14	32	-3	64	65
Ps.BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)	97.4	24.2	218.1	33.2	238.0	45.2	363.6 F	269.2 D
% change from control	N/A	N/A	124	37	144	87	273	1014
Ec.sL.Pm/Ec.Pm (%)	12.6	4.4	11.8	5.0	11.2	8.4	15.6	12.8 C
% change from control	N/A	N/A	-7	12	-11	89	23	189
Ec.dL.Pm/Ec.Pm (%)	1.9	0.5	7.6	1.4	14.2 D	4.9	8.5 D	25.2 E
% change from control	N/A	N/A	297	179	642	887	343	4982
Ec.L.Pm/Ec.Pm (%)	8.2	2.7	13.5	3.9	19.8	9.1	16.3	31.6 E
% change from control	N/A	N/A	64	42	141	235	98	1064
Ec.MAR (µm/day)	0.59	0.46	0.99	0.48	0.91	0.88	1.09 A	1.02 B
% change from control	N/A	N/A	69	4	54	91	84	121
Ec.BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)	18.4	5.1	55.8	11.5	79.7	32.9	65.5	129.9 E
% change from control	N/A	N/A	203	126	332	546	255	2449

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Postdose Evaluation (No. evaluated)	M: 5	F: 5	M: 3	F: 3	M: 4	F: 5	M: 4	F: 5
Hematology [g]								
Mean corpuscular volume (fL)	48.94	51.54	49.13	52.03	48.20	55.32	50.60	57.12 B
Absolute Reticulocyte (10^9/L)	364.36	164.12	269.73	165.67	222.00	282.48	316.00	268.36
Bone Resorption Markers (from TK animals)								
C-telopeptide (ng/mL)								
Week 32	14.51	7.20	17.24	9.63	16.20	10.95 B	16.88	8.21
% change from control	N/A	N/A	19	34	12	52	16	14
Week 40	11.86	6.98	12.97	8.22	13.53	9.67	14.97	8.78
% change from control	N/A	N/A	9	18	14	39	26	26
Deoxypyridinoline (nM/mM creatinine)								
Week 40	29.86	12.36	33.87	15.88	50.99 E	27.47 D	54.08 D	44.88 G
% change from control	N/A	N/A	13	28	71	122	81	263
Bone Densitometry - DXA [g]								
Lumbar Spine (L1-L4) Area (cm^2)	3.122	2.241	3.002	2.204	3.127	2.292	3.420 B	2.50 B
% change from control	N/A	N/A	-3.9	-1.7	0.2	2.3	9.6	11.6
% change from pretreatment	57.55	34.86	50.89	37.06	51.22	35.51	74.69 B	46.84 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Postdose Evaluation (No evaluated)	M: 5	F: 5	M: 3	F: 3	M: 4	F: 5	M: 4	F: 5
Bone Densitometry - DXA [g]								
Lumbar Spine (L1-L4) BMC (g)	0.909	0.615	0.934	0.566	0.941	0.689 A	1.470 D	0.891 C
% change from control	N/A	N/A	2.7	-8.0	3.6	12.1	61.7	44.9
% change from pretreatment	118.98	80.96	127.12	81.68	117.77	95.09	270.11 C	159.42 C
Lumbar Spine (L1-L4) BMD (g/cm^2)	0.2909	0.2744	0.3115	0.2567	0.3000	0.3008 A	0.4290 D	0.3573 C
% change from control	N/A	N/A	7.1	-6.5	3.1	9.6	47.5	30.2
% change from pretreatment	38.788	34.221	50.416	32.499	43.818	43.974	111.654 C	76.350 C
Femur – Global Area (cm^2)	2.356	1.663	2.448	1.715	2.345	1.759 B	2.588 A	1.838 C
% change from control	N/A	N/A	3.9	3.1	-0.5	5.8	9.9	10.5
% change from pretreatment	45.53	28.88	46.79	31.60	44.03	29.91	60.95	41.55 C
Femur – Global BMC (g)	0.949	0.567	1.003	0.596	0.964	0.681 C	1.350 D	0.827 C
% change from control	N/A	N/A	5.7	5.1	1.6	20.2	442.2	46.0
% change from pretreatment	126.85	75.55	133.35	88.36	146.51	100.94	237.76 C	155.21 C
Femur – Global BMD (g/cm^2)	0.4026	0.3407	0.4097	0.3472	0.4114	0.3873	0.5208 D	0.4502 E
% change from control	N/A	N/A	1.8	1.9	2.2	13.7	29.4	32.1
% change from pretreatment	55.782	36.193	58.933	42.828	71.237 A	54.506 A	110.017 C	80.065 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Postdose Evaluation (No evaluated)	M: 5	F: 5	M: 3	F: 3	M: 4	F: 5	M: 4	F: 5
Bone Densitometry - pQCT [g]								
Proximal Tibia – Metaphysis – Total Area (mm^2)	22.114	10.682	23.303	11.870	22.680	13.114 B	27.203 B	15.414 C
% change from control	N/A	N/A	5.4	11.1	2.6	22.8	23.0	44.3
% change from pretreatment	1.53	-6.95	4.27	3.09	5.43	8.66 B	25.34 C	29.24 C
Proximal Tibia – Metaphysis – Total BMC (mg/mm)	13.970	9.518	14.637	10.843	16.438	13.884 C	23.740 E	18.200 C
% change from control	N/A	N/A	4.8	13.9	17.7	45.9	69.9	91.2
% change from pretreatment	48.67	30.41	52.51	60.41	90.11 B	83.22 B	168.03 C	168.17 C
Proximal Tibia – Metaphysis – Total BMD (mg/cm^3)	632.78	891.16	630.20	917.23	726.95	1055.56	870.20 C	1182.62 E
% change from control	N/A	N/A	-0.4	2.9	14.9	18.5	37.5	32.7
% change from pretreatment	46.37	40.16	46.35	55.30	80.50 C	68.30	113.56 C	107.29 G
Proximal Tibia – Metaphysis – Trabecular Area (mm^2)	8.868	4.264	9.330	4.770	9.090	5.256 B	10.898 B	6.186 C
% change from control	N/A	N/A	5.2	11.9	2.5	23.3	22.9	45.1
% change from pretreatment	1.80	-7.02	4.06	2.93	5.36	8.57 B	25.25 C	29.30 C
Proximal Tibia – Metaphysis – Trabecular BMC (mg/mm)	2.146	2.116	2.653	2.763	3.308	4.568	6.775 C	6.694 G
% change from control	N/A	N/A	23.6	30.6	54.1	115.9	215.7	216.4
% change from pretreatment	10.67	24.98	23.32	114.70	92.47	171.01	261.12 E	449.48 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Postdose Evaluation (No evaluated)	M: 5	F: 5	M: 3	F: 3	M: 4	F: 5	M: 4	F: 5
Bone Densitometry -pQCT [g]								
Proximal Tibia – Metaphysis – Trabecular BMD (mg/cm^3)	242.48	495.68	285.53	587.47	366.20	861.64 C	617.13 C	1086.66 C
% change from control	N/A	N/A	17.8	18.5	51.0	73.8	154.5	119.2
% change from pretreatment	8.42	33.89	18.48	108.48	82.67	148.10	187.47 E	321.78 G
Proximal Tibia – Metaphysis – Cortical/Subcortical Area (mm^2)	13.246	6.418	13.973	7.103	13.590	7.856 B	16.308 B	9.230 C
% change from control	N/A	N/A	5.5	10.7	2.6	22.4	23.1	43.8
% change from pretreatment	1.38	-6.88	4.45	3.19	5.48	8.73 B	25.45 C	29.20 C
Proximal Tibia – Metaphysis – Cortical/Subcortical BMC (mg/mm)	11.826	7.402	11.980	8.080	13.130	9.318 B	16.963 E	11.504 C
% change from control	N/A	N/A	1.3	9.2	11.0	25.9	43.4	55.4
% change from pretreatment	59.48	32.31	60.96	47.53	89.74 A	58.51	143.62 C	108.71 C
Proximal tibia - Metaphysis Cortical/Subcortical BMD (mg/cm^3)	893.96	1154.12	860.33	1138.70	968.20	1185.20	1039.35 A	1246.90 C
% change from control	N/A	N/A	-3.8	-1.3	8.3	2.7	16.3	8.0
% change from pretreatment	57.31	42.22	54.34	42.60	80.12 A	45.75	94.21 A	61.49 B
Proximal Tibia – Diaphysis - Total area (mm^2)	11.230	6.422	12.277	7.137	11.165	7.380	13.483 A	9.166 C
% change from control	N/A	N/A	9.3	11.1	-0.6	14.9	20.1	42.7
% change from pretreatment	78.24	30.87	90.43	40.67	77.35	43.73	113.31	78.95 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Postdose Evaluation (No evaluated)	M: 5	F: 5	M: 3	F: 3	M: 4	F: 5	M: 4	F: 5
Bone Densitometry - pQCT [g]								
Proximal Tibia – Diaphysis - Cortical area (mm^2)	8.404	5.152	9.240	5.597	8.718	6.224	11.498 B	8.534 C
% change from control	N/A	N/A	10.0	8.6	3.7	20.8	36.8	65.6
% change from pretreatment	76.60	39.45	91.44	46.32	91.16	61.24	144.28 C	114.73 C
Proximal Tibia – Diaphysis - Cortical BMC (mg/mm)	10.924	6.752	11.863	7.263	11.405	8.230	15.375 C	11.480 C
% change from control	N/A	N/A	8.6	7.6	4.4	21.9	40.8	70.0
% change from pretreatment	95.99	56.18	108.72	63.91	115.79	82.94	182.51 C	151.77 E
Proximal Tibia – Diaphysis - Cortical BMD (mg/cm^3)	1300.04	1309.70	1283.40	1297.57	1307.55	1321.76	1336.83	1346.42 A
% change from control	N/A	N/A	-1.3	-0.9	0.6	0.9	2.8	2.8
% change from pretreatment	10.99	11.91	8.95	11.94	12.79	13.43	15.67 B	17.40 B
Proximal Tibia – Diaphysis - Cortical thickness (mm)	0.9418	0.7936	0.9947	0.8097	1.0058	0.9292	1.2788 E	1.2640 E
% change from control	N/A	N/A	5.6	2.0	6.8	17.1	35.8	59.3
% change from pretreatment	31.663	26.275	39.514	25.923	49.336	44.689	82.607 C	88.119 E
Proximal Tibia – Diaphysis - Periosteal circumference (mm)	11.8668	8.9756	12.4097	9.4653	11.8420	9.6286	13.0023	10.7174 C
% change from control	N/A	N/A	4.6	5.5	-0.2	7.3	9.6	19.4
% change from pretreatment	33.428	14.346	37.700	18.501	33.125	19.871	46.020 A	33.697 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Postdose Evaluation (No evaluated)	M: 5	F: 5	M: 3	F: 3	M: 4	F: 5	M: 4	F: 5
Proximal Tibia – Diaphysis - Endosteal circumference (mm)	5.9500	3.9904	6.1583	4.3773	5.5228	3.7912	4.9660	2.7750 B
% change from control	N/A	N/A	3.5	9.7	-7.2	-5.0	-16.5	-30.5
% change from pretreatment	36.108	2.729	36.351	11.203	18.217	-5.189	10.493 A	-27.137
Terminal Procedures, (No evaluated)	5	5	5	5	5	5	4	5
Gross Pathology [e]								
Bone Marrow - Firm	0	0	0	0	0	1	1	2
Calvarium - Thickening	0	0	0	0	1	0	3	3
Histopathology (no. evaluated) [e]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 4	F: 5
Tibia - Hyperostosis								
Minimal	0	0	0	0	2	2	0	0
Slight	0	0	0	0	0	2	1	0
Moderate	0	0	0	0	0	1	3	4
Marked	0	0	0	0	0	0	0	1
Sternum - Hyperostosis								
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	1
Slight	0	0	0	0	0	1	3	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	1

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Postdose Evaluation (No evaluated)	M: 5	F: 5	M: 3	F: 3	M: 4	F: 5	M: 4	F: 5
Histopathology (no. evaluated) [e]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 4	F: 5
Lumbar vertebrae - Hyperostosis								
Minimal	0	0	0	0	2	3	0	0
Slight	0	0	0	0	0	1	2	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	2	4
Bone marrow - Hypercellularity: hematopoietic, Minimal	0	0	0	0	3	2	3	4
Calvarium - Hyperostosis [f]								
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1
Slight	0	0	0	0	0	0	2	2
Moderate	0	0	0	0	1	0	1	0
Histomorphometry								
L2 cancellous bone								
dLS/BS (%)	5.2	3.3	6.8	2.2	11.2 B	3.7	1.2 A	2.1
% change from control	-	-	31	-34	114	10	-78	-38
MS/BS (%)	14.5	8.1	16.2	8.2	21.2 A	10.5	7.6 A	7.4
% change from control	-	-	12	2	46	30	-48	-8
MAR (µm/day)	1.05	0.86	1.02	0.88	1.07	0.90	0.87	1.04 A
% change from control	-	-	-3	2	2	4	-16	20
BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)	56.3	25.6	60.5	26.5	83.0	34.5	25.9	28.5
% change from control	-	-	7	4	47	35	-54	12

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Postdose Evaluation (No evaluated)	M: 5	F: 5	M: 3	F: 3	M: 4	F: 5	M: 4	F: 5
Histomorphometry								
Tibial cortical bone								
Ps.Pm (mm)	12.53	9.90	13.31	10.40	12.49	10.30	13.51	11.47 C
% change from control	-	-	6	5	0	4	8	16
Ec.Pm (mm)	6.88	4.91	7.27	5.42	6.31	4.65	5.28 C	3.82 D
% change from control	-	-	6	10	-8	-5	-23	-22
Ps.sL.Pm/Ps.Pm (%)	23.6	11.2	22.9	8.8	7.0	6.3	1.1 A	0.9
% change from control	-	-	-3	-22	-70	-44	-95	-92
Ps.dL.Pm/Ps.Pm (%)	20.8	12.0	26.6	2.0	2.5	4.8	0.0 D	0.0
% change from control	-	-	28	-84	-88	-60	-100	-100
Ps.L.Pm/Ps.Pm (%)	32.6	17.6	38.1	6.3	6.0 B	7.9	0.6 B	0.4
% change from control	-	-	17	-64	-82	-55	-98	-98
Ps.MAR (µm/day)	0.72	0.76	0.92	0.49	0.51	0.45	0.23	0.20
% change from control	-	-	29	-35	-28	-41	-68	-74
Ps.BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)	88.7	69.4	127.3	23.0	19.1 A	26.7	0.6 B	0.3
% change from control	-	-	43	-67	-78	-61	-99	-100
Ec.sL.Pm/Ec.Pm (%)	9.7	7.7	8.2	10.5	4.7	10.7	4.2	6.9
% change from control	-	-	-15	37	-52	38	-57	-10

Footnotes are on the last page of the table.

表 7C. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107425
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M: 15	F: 15	M: 9	F: 9	M: 10	F: 14	M: 13	F: 13
Postdose Evaluation (No evaluated)	M: 5	F: 5	M: 3	F: 3	M: 4	F: 5	M: 4	F: 5
Histomorphometry								
Tibial cortical bone								
Ec.dL.Pm/Ec.Pm (%)	1.1	0.3	1.4	0.0	0.0	1.5	0.0	0.0
% change from control	-	-	21	-100	-100	451	-100	-100
Ec.L.Pm/Ec.Pm (%)	6.0	4.1	5.5	5.3	2.4 A	6.9	2.1 A	3.5
% change from control	-	-	-9	28	-61	6	-65	-16
Ec.MAR (µm/day)	0.58	0.37	0.57	0.20	0.20	0.32	0.20	0.20
% change from control	-	-	-1	-46	-65	-15	-65	-46
Ec.BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2$/yr)	14.1	8.7	12.1	3.8	1.7	11.9	1.5	2.5
% change from control	-	-	-14	-56	-88	37	-89	-71

$AUC_{0\text{-}168}$ = area under the plasma drug concentration-time curve from time zero to 168 hours post dose; AUC_{rec} = area under the plasma drug concentration-time curve from the beginning of week 27 to infinity; BMC = Bone Mineral Content; BMD = Bone Mineral Density; C_{max} = maximum observed concentration; DXA = Dual Energy X-Ray Absorptiometry; N/A = not applicable; NC = not calculated; pQCT = Peripheral Quantitative Computed Tomography; QW = weekly. - No noteworthy findings.

Significantly different from control group (group 1) value: A - $P \leq 0.05$ B - $P \leq 0.01$ C - $P \leq 0.001$ (Dunnett) and D - $P \leq 0.05$ E - $P \leq 0.01$ G - $P \leq 0.001$ (Dunn)

[a] Main study animals (10/sex/group) were euthanized on week 26 and the remaining animals were euthanized after a 14-week recovery period.
An additional 10 animals/sex/group were administrated test or control article in the same manner and used for toxicokinetic, biochemical markers of bone turnover, and antibody evaluations; these were euthanized at the end of the recovery period.

[b] Antibody analysis was conducted on main study and TK animals.

[c] One treatment-free male (Animal No. 4014) died prior to completion of main study and was included in the main study population.

[d] For controls, group means are presented. For treated groups, percent differences from controls are shown. Statisitcal significance is based on the actual data, not the percent differences.

[e] Incidence is presented

[f] Only evaluated when macroscopic abnormalities were detected

表 7D. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ

Repeat-dose Toxicity			Report Title: 1-Month Subcutaneous and Intravenous Injection Toxicity Study of AMG 785 in the Cynomolgus Monkey Followed by a 10-Week Recovery Period					Test Article: romosozumab		
Species/Strain: Cynomolgus Monkey Initial Age: 3 to 5 years Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]			Duration of Dosing: QW, 4 weeks Duration of Postdose: 10 weeks Method of Administration: Subcutaneous and intravenous Vehicle/Formulation: AMG 785 placebo: 10 mM sodium acetate, 9% sucrose, 0.004 polysorbate 20, pH 5.2					Amgen Study No. 105776 [redacted] Study No. 670178 GLP Compliance: Yes		
Special Features: Biochemical Markers of Bone Turnover No Observed Adverse Effect Level: 300 mg/kg										
Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		10 (SC)		30 (SC)		300 (SC)		300 (IV)	
Number of Animals [a]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Toxicokinetics:										
$AUC_{0\text{-}168}$ (mg·hr/mL)										
Day 1	BLQ	BLQ	8.78	7.75	38.7	36.9	293	314	447	367
Day 22	BLQ	BLQ	20.3	27.3	91.1	63.4	646	644	700	476
C_{max} (SC)/C_0 (IV) (mg/mL)										
Day 1	BLQ	BLQ	0.0716	0.0633	0.300	0.278	2.36	2.63	6.82	5.00
Day 22	BLQ	BLQ	0.182	0.228	0.638	0.500	5.32	5.04	8.34	6.91
$AUC_{0\text{-}inf}$ (mg·hr/mL)	BLQ		38.6		171		1170		1180	
$T_{1/2,z}$ (hour)	BLQ		100		114		144		149	

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity										Amgen Study No. 105776
Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		10 (SC)		30 (SC)		300 (SC)		300 (IV)	
Number of Animals [a]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Anti-drug Antibody – Positive/Total (%)										
Pre-dose	0/10 (0)		0/10 (0)		0/10 (0)		0/10 (0)		0/10 (0)	
End of dosing period	0/10 (0)		0/10 (0)		1/10 (10)		0/10 (0)		0/10 (0)	
End of recovery period	0/4 (0)		0/4 (0)		2/4 (50)		2/4 (50)		2/4 (50)	
End of study	0/10 (0)		0/10 (0)		2/10 (20)		2/10 (20)		2/10 (20)	
Noteworthy Findings										
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ophthalmoscopy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Appetence	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiography	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology [b]										
Red Blood Cells ($10^6/\mu L$)	5.56	4.90	5.21	4.67	4.96	4.81	5.12	5.01	5.29	4.98
Hemoglobin (g/dL)	13.50	12.37	12.87	11.10	11.93 A	11.73	12.20 A	12.00	12.20 A	11.73
Clinical Biochemistry [b]										
Total Alkaline Phosphatase (U/L)	393.3	416.7	735.3	697.3	498.7	464.0	624.0	740.0	734.3	929.0
Calcium (mg/dL)	10.53	10.53	10.07	10.13	10.13	10.53	9.23	10.20	9.90	9.70
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity										Amgen Study No. 105776
Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		10 (SC)		30 (SC)		300 (SC)		300 (IV)	
Number of Animals [a]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Bone Markers [b]										
Bone Alkaline Phosphatase (U/L)	230.7	294.1	330.3	425.2	284.4	338.8	315.2	404.4	331.1	512.7
% change from control	N/A	N/A	43.2	44.6	23.3	15.2	36.6	37.5	43.5	74.3
(% change from first predose	-32.30	6.98	17.58 A	39.79	15.74 A	25.87	28.11 A	64.58 A	48.80 C	67.45 A
P1NP (µg/L)	3304.7	1686.0	4678.4	3552.5	5530.0	3324.5	3918.5	3282.5	5137.8	3810.4
% change from control	N/A	N/A	41.6	110.7	67.3	97.2	18.6	94.7	55.5	126.0
(% change from first predose	-9.73	-19.30	36.11	103.51 B	65.22	42.57	60.05	91.14 A	76.20	122.31 B
Osteocalcin (ng/mL)	58.12	66.77	93.56	97.28	83.77	96.19	71.48	96.73	85.20	98.84
% change from control	N/A	N/A	61.0	45.7	44.1	44.1	23.0	44.9	46.6	48.0
(% change from first predose	12.91	23.76	51.25	86.69	38.83	26.76	49.87	74.46	62.42	127.91
Bone Densitometry - DXA [b]										
Lumbar Spine BMD (g/cm^2)	0.573	0.537	0.624	0.514	0.647	0.549	0.636	0.539	0.662	0.600
% change from control	N/A	N/A	9.0	-4.3	12.8	2.3	10.9	0.4	15.5	11.7
% change from pretreatment period	1.208	0.548	4.066	3.521	7.615 B	6.942 C	4.423	5.972 B	6.069 A	7.568 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity										Amgen Study No. 105776
Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		10 (SC)		30 (SC)		300 (SC)		300 (IV)	
Number of Animals [a]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Bone Densitometry - DXA [b]										
Right Femur, Global Area (cm^2)	8.936	6.370	9.925	6.342	9.312	6.179	9.027	6.462	10.582 A	6.565
% change from control	N/A	N/A	11.07	-0.44	4.21	-3.00	1.02	1.44	18.42	3.06
% change from pretreatment period	1.951	2.170	8.273	9.322	3.835	6.280	6.457	14.651	4.131	2.668
Right Femur, Global BMC (g)	5.481	3.352	6.218	3.212	6.032	3.320	6.120	3.567	7.254	3.700
% change from control	N/A	N/A	13.45	-4.18	10.05	-0.95	11.66	6.41	32.35	10.38
% change from pretreatment period	6.428	3.398	21.884	14.912	11.148	13.706	16.921	26.274	12.363	17.910
Right Femur, Global BMD (g/cm^2)	0.6110	0.5260	0.6246	0.5041	0.6452	0.5308	0.6678	0.5493	0.6850	0.5623
% change from control	N/A	N/A	2.22	-4.16	5.60	0.91	9.30	4.43	12.11	6.90
% change from pretreatment period	4.5145	1.2794	12.2844	4.9398	6.9593	7.0184	9.3915	9.8726	7.8381	18.0521
Right Femur, Neck Area (cm^2)	0.426	0.330	0.415	0.360	0.433	0.358	0.473	0.332	0.471	0.362
% change from control	N/A	N/A	-2.58	9.09	1.64	8.48	11.03	0.61	10.56	9.70
% change from pretreatment period	0.808	-0.448	7.625	11.011	-0.165	12.987	6.716	10.667	6.010	12.853

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity										Amgen Study No. 105776
Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		10 (SC)		30 (SC)		300 (SC)		300 (IV)	
Number of Animals [a]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Bone Densitometry - DXA [b]										
Right Femur, Neck BMC (g)	0.162	0.110	0.164	0.121	0.183	0.123	0.197	0.115	0.196	0.129
% change from control	N/A	N/A	1.2	10.0	13.0	11.8	21.6	4.5	21.0	17.3
% change from pretreatment period	8.905	1.646	15.463	19.035	12.379	21.419	19.884A	21.608 A	9.041	27.197 B
Right Femur, Neck BMD (g/cm^2)	0.3807	0.3350	0.3919	0.3362	0.4244	0.3426	0.4193	0.3475	0.4163	0.3563
% change from control	N/A	N/A	2.94	0.36	11.48	2.27	10.14	3.73	9.35	6.36
% change from pretreatment period	8.0214	2.1275	7.3178	7.4434	12.5922	8.1339	12.8226	10.0944	3.0606	12.3485
Right Femur, Trochanter Area (cm^2)	0.748	0.747	0.750	0.750	0.750	0.750	0.748	0.750	0.750	0.747
% change from control	N/A	N/A	0.27	0.40	0.27	0.40	0.00	0.40	0.27	0.00
% change from pretreatment period	0.000	-0.500	0.000	0.759D	0.000	0.759 D	0.000	0.000	0.000	0.253
Right Femur, Trochanter BMC (g)	0.412	0.379	0.419	0.378	0.469	0.388	0.461	0.413	0.461	0.406
% change from control	N/A	N/A	1.70	-0.26	13.83	2.37	11.89	8.97	11.89	7.12
% change from pretreatment period	5.871	-0.106	13.505	9.418	9.572	14.953	11.871	13.564	8.622	19.717

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity										Amgen Study No. 105776
Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		10 (SC)		30 (SC)		300 (SC)		300 (IV)	
Number of Animals [a]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Bone Densitometry - DXA [b]										
Right Femur, Trochanter BMD (g/cm^2)	0.5507	0.5077	0.5578	0.5038	0.6250	0.5176	0.6159	0.5510	0.6144	0.5429
% change from control	N/A	N/A	1.29	-0.77	13.49	1.95	11.84	8.53	11.57	6.93
% change from pretreatment period	5.8712	0.3941	13.5049	8.5841	9.5720	14.0805	11.8713	13.5637	8.6223	19.4519
Bone Densitometry pQCT [b]										
Tibia, Metaphysis										
Total area (mm^2)	106.256	79.428	127.916	77.004	116.866	79.920	111.156	78.352	121.936	89.914
% change from control	N/A	N/A	20.38	-3.05	9.99	0.62	4.61	-1.35	14.76	13.20
% change from pretreatment period	4.495	4.612	2.498	7.252	8.321	3.624	4.718	9.220	4.499	10.891
Total BMC (mg/mm)	51.032	39.804	61.120	41.024	65.476	39.652	58.824	43.194	60.246	45.276
% change from control	N/A	N/A	19.77	3.07	28.30	-0.38	15.27	8.52	18.06	13.75
% change from pretreatment period	6.498	6.588	9.872	12.891	16.097	13.873	11.410	18.296 A	12.169	20.602 B

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity										Amgen Study No. 105776
Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		10 (SC)		30 (SC)		300 (SC)		300 (IV)	
Number of Animals [a]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Bone Densitometry pQCT [b]										
Tibia, Metaphysis										
Total BMD (mg/cm^3)	481.38	504.68	483.78	533.74	564.16	499.54	534.38	553.66	494.24	504.86
% change from control	N/A	N/A	0.5	5.7	17.2	-1.0	11.0	9.7	2.7	0.0
% change from pretreatment period	1.94	1.90	7.11	5.30	7.17	10.00 D	6.42	8.35 D	7.36	8.67 D
Trabecular Area (mm^2)	42.678	31.850	51.328	30.772	46.746	32.046	44.490	31.262	48.854	36.040
% change from control	N/A	N/A	20.27	-3.38	9.53	62	4.25	-1.85	14.47	13.16
% change from pretreatment period	4.289	4.978	2.676	7.138	7.855	4.010	4.641	8.214	4.652	10.801
Trabecular BMC (mg/mm)	9.142	8.624	12.100	9.210	14.076	8.028	10.446	9.292	11.178	10.532
% change from control	N/A	N/A	32.36	6.79	53.97	-6.91	14.26	7.75	22.27	22.12
% change from pretreatment period	14.955	16.834	16.918	23.993	23.310	25.072	19.961	30.136	14.960	34.028

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity										Amgen Study No. 105776
Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		10 (SC)		30 (SC)		300 (SC)		300 (IV)	
Number of Animals [a]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Bone Densitometry pQCT [b]										
Tibia, Metaphysis										
Trabecular BMD (mg/cm^3)	214.86	271.74	233.78	299.90	302.04	254.28	235.30	298.12	228.24	294.22
% change from control	N/A	N/A	8.81	10.36	40.58	-6.43	9.51	9.71	6.23	8.27
% change from pretreatment period	10.19	11.27	13.68	15.81	13.92	19.95	14.51	20.02	9.94	20.36
Cortical/Subcortical Area (mm^2)	63.576	47.578	76.590	46.230	70.118	47.872	66.666	47.088	73.084	53.874
% change from control	N/A	N/A	20.47	-2.83	10.29	0.62	4.86	-1.12	14.96	13.23
% change from pretreatment period	4.636	4.373	2.377	7.332	8.633	3.369	4.769	9.902	4.404	10.950
Cortical/Subcortical BMC (mg/mm)	41.888	31.180	49.020	31.812	51.400	31.624	48.376	33.906	49.070	34.744
% change from control	N/A	N/A	17.03	2.03	22.71	1.42	15.49	8.74	17.15	11.43
% change from pretreatment period	4.784	4.229	8.380	10.054	14.265	11.978 A	9.660	15.566 B	11.530	17.421 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity										Amgen Study No. 105776
Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		10 (SC)		30 (SC)		300 (SC)		300 (IV)	
Number of Animals [a]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Bone Densitometry - pQCT[b]										
Tibia, Metaphysis										
Cortical/Subcortical, BMD (mg/cm^3)	660.32	660.72	651.42	689.36	738.98	663.64	733.90	723.50	672.04	645.76
% change from control	N/A	N/A	-1.3	4.3	11.9	0.4	11.1	9.5	1.8	-2.3
% change from pretreatment period	0.19	-0.14	5.79	2.58	5.29	8.47 B	4.73	5.27	6.83	5.84 A
Tibia, Diaphysis										
Total Area (mm^2)	68.232	46.820	75.168	46.280	70.412	45.568	68.136	47.580	77.128	51.032
% change from control	N/A	N/A	10.2	1.2	3.2	2.7	-0.1	1.6	13.0	9.0
% change from pretreatment period	1.655	0.651	2.702	3.347	2.608	2.522	1.268	3.541	2.482	3.671
Cortical Area (mm^2)	43.928	32.146	44.464	30.918	45.814	30.892	44.740	31.238	46.402	34.248
% change from control	N/A	N/A	1.2	-3.8	4.3	-3.9	1.8	-2.8	5.6	6.5
% change from pretreatment period	2.905	0.662	4.710	3.133	3.863	6.655 A	3.233	5.424	6.455	5.128

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity										Amgen Study No. 105776
Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		10 (SC)		30 (SC)		300 (SC)		300 (IV)	
Number of Animals [a]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Bone Densitometry - pQCT[b]										
Tibia, Diaphysis										
Cortical BMC (mg/mm)	43.566	32.832	43.468	31.046	47.170	31.040	46.262	31.456	46.250	34.616
% change from control	N/A	N/A	0	-5.4	8.3	-5.5	6.2	-4.2	6.2	5.5
% change from pretreatment period	3.265	1.312	4.628	3.841	4.389	7.386 B	3.831	6.278 A	7.217	6.688 A
Cortical BMD (mg/cm^3)	993.08	1021.42	978.74	1003.12	1029.78	1005.42	1034.80	1005.78	995.60	1010.26
% change from control	N/A	N/A	-1.44	-1.79	3.70	-1.57	4.20	-1.53	0.25	-1.09
% change from pretreatment period	0.39	0.67	-0.11	0.70	0.53	0.69	0.62	0.83	0.72	1.50
Cortical Thickness (mm)	1.8822	1.7114	1.7716	1.6376	1.9712	1.6548	1.9416	1.6232	1.8518	1.7320
% change from control	N/A	N/A	-5.88	-4.31	4.73	-3.31	3.16	-5.15	-1.62	1.20
% change from pretreatment period	2.4910	0.4394	4.0597	1.3319	2.9209	6.9343	3.1928	4.2800	6.2480	3.8270
Cortical Periosteal Circumference (mm)	29.2568	24.2442	30.6982	24.1100	29.7092	23.9076	29.2230	24.4342	31.0914	25.2890
% change from control	N/A	N/A	4.93	-0.55	1.55	-1.39	-0.12	0.78	6.27	4.31
% change from pretreatment period	0.8203	0.3236	1.3340	1.6537	1.2971	1.2556	0.6289	1.7506	1.2319	1.8163

Footnotes are on the last page of the table

表 7D. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity										Amgen Study No. 105776
Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		10 (SC)		30 (SC)		300 (SC)		300 (IV)	
Number of Animals [a]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Bone Densitometry - pQCT[b]										
Tibia, Diaphysis										
Cortical Endosteal Circumference (mm)	17.4306	13.4930	19.5666	13.8200	17.3238	13.5100	17.0246	14.2346	19.4564	14.4086
% change from control	N/A	N/A	12.25	2.42	-0.61	0.13	-2.33	5.50	11.62	6.79
% change from pretreatment period	-0.2540	0.2085	-0.3962	2.0640	0.3927	-2.6216	-0.8260	.0533	-1.3424	0.3924
Terminal Proceedures (no. evaluated)	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology [c]										
Sternum-Hyperostosis										
Minimal	0	0	1	1	1	2	0	0	0	1
Slight	0	0	2	1	2	1	1	3	3	2
Tibia-Hyperostosis										
Minimal	0	0	0	0	1	1	2	0	2	1
Slight	0	0	2	0	1	0	0	0	1	2
Moderate	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity										Amgen Study No. 105776
Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		10 (SC)		30 (SC)		300 (SC)		300 (IV)	
Number of Animals [a]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Bone Densitometry - DXA [b]										
Lumbar Spine BMC (g)	7.257	4.431	7.680	4.206	8.746	5.820	10.306	5.897	10.711	5.511
% change from control	N/A	N/A	5.8	-5.1	20.5	31.3	42.0	33.1	47.8	24.4
% change from pretreatment period	11.600	6.344	12.522	16.801	26.975	24.728	22.708	32.085	35.323	54.215
Lumbar Spine – BMD (g/cm^2)	0.6146	0.5451	0.6647	0.5217	0.7109	0.6260	0.8086	0.6170	0.8082	0.6165
% change from control	N/A	N/A	8.2	-4.3	15.7	14.8	31.6	13.2	31.5	13.1
% change from pretreatment period	6.1223	1.5435	8.3967	6.3567	18.1708	12.4341	16.3764	16.8226	26.8872	25.2395
Right Femur, Global Area (cm^2)	9.417	6.626	10.350	6.875	9.571	7.372	10.378	7.292	11.429	7.672
% change from control	N/A	N/A	9.9	3.8	1.6	11.3	10.2	10.1	21.4	15.8
% change from pretreatment period	-0.479	7.096	7.892	16.031	9.554	15.103	12.517	32.831	6.929	16.110
Right Femur, Global BMC (g)	6.585	3.770	7.008	3.924	6.795	4.699	8.713	4.937	9.996	4.982
% change from control	N/A	N/A	6.4	4.1	3.2	24.6	32.3	31.0	51.8	32.1
% change from pretreatment period	14.883	20.572	24.163	33.173	38.397	41.349	39.883	66.074	38.000	91.886

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity										Amgen Study No. 105776
Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		10 (SC)		30 (SC)		300 (SC)		300 (IV)	
Number of Animals [a]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Bone Densitometry - DXA [b]										
Right Femur, Global – BMD (g/cm^2)	0.6992	0.5690	0.6789	0.5704	0.7098	0.6372	0.8333	0.6734	0.8754	0.6493
% change from control	N/A	N/A	-2.9	0.2	1.5	12.0	19.2	18.3	25.2	14.1
% change from pretreatment period	15.4215	12.591	14.9419	14.756	26.3335	23.017	24.1774	25.014	29.0552	67.294
Right Femur, Neck Area (cm^2)	0.436	0.388	0.399	0.352	0.460	0.394	0.464	0.370	0.483	0.361
% change from control	N/A	N/A	-8.5	-9.3	5.5	1.5	6.4	-4.6	10.8	-7.0
% change from pretreatment period	2.439	-5.263	3.409	13.636	7.664	6.274	1.020	20.037	5.989	23.611
Right Femur, Neck BMC (g)	0.181	0.116	0.171	0.122	0.225	0.149	0.246	0.149	0.266	0.149
% change from control	N/A	N/A	-5.5	5.2	24.3	28.4	35.9	28.4	47.0	28.4
% change from pretreatment period	19.309	0.510	12.666	26.635	44.360	22.070	34.098	40.784	40.902	69.389
Right Femur, Neck – BMD (g/cm^2)	0.4154	0.3438	0.4323	0.3470	0.4894	0.3752	0.5298	0.4018	0.5506	0.4118
% change from control	N/A	- N/A	4.1	0.9	17.8	9.1	27.5	16.9	32.5	19.8
% change from pretreatment period	16.6673	6.0764	9.2967	11.5934	34.1455	14.8187	32.6786	17.4340	33.0736	36.6199

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity										Amgen Study No. 105776
Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		10 (SC)		30 (SC)		300 (SC)		300 (IV)	
Number of Animals [a]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Bone Densitometry - DXA [b]										
Right Femur, Trochanter Area (cm^2)	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750	0.750	0.746
% change from control	N/A	N/A	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-0.5
% change from pretreatment period	0.000	0.000	0.000	0.633	0.000	0.633	0.000	0.000	0.000	0.641
Right Femur, Trochanter BMC (g)	0.468	0.383	0.418	0.409	0.494	0.399	0.547	0.448	0.569	0.403
% change from control	N/A	N/A	-10.7	6.8	5.6	4.2	16.9	17.0	21.6	5.2
% change from pretreatment period	12.859	10.613	8.440	15.428	23.292	18.089	21.381	16.207	31.663	59.974
Right Femur, Trochanter – BMD (g/cm^2)	0.6236	0.5105	0.5575	0.5453	0.6578	0.5315	0.7294	0.5973	0.7577	0.5406
% change from control	N/A	N/A	-10.6	6.8	5.5	4.1	17.0	17.0	21.5	5.9
% change from pretreatment period	12.8588	10.6128	8.4397	14.7278	23.2918	17.3284	21.3815	16.2066	31.6629	58.6911

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity										Amgen Study No. 105776
Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		10 (SC)		30 (SC)		300 (SC)		300 (IV)	
Number of Animals [a]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Bone Densitometry - pQCT[b]										
Tibia, Metaphysis										
Total area (mm^2)	117.720	90.835	114.170	78.585	128.625	80.420	126.540	83.425	144.490	88.935
% change from control	N/A	N/A	-3.0	-13.5	9.3	-11.5	7.5	-8.2	22.7	-2.1
% change from pretreatment period	11.881	12.315	7.339	12.085	18.170	12.776	10.502	25.737	10.367	17.154
Total BMC (mg/mm)	56.625	42.905	63.895	44.750	74.610	43.610	74.095	49.105	90.010	47.710
% change from control	N/A	N/A	12.8	4.3	31.8	1.6	30.9	14.5	59.0	11.2
% change from pretreatment period	15.614	17.074	15.294	18.041	41.794	19.365	25.288	44.032	38.322	45.928
Total BMD (mg/cm^3)	483.50	476.65	562.50	568.85	583.30	541.75	586.80	587.40	623.35	537.10
% change from control	N/A	N/A	16.3	19.3	20.6	13.7	21.4	23.2	28.9	12.7
% change from pretreatment period	3.34	4.26	7.28	5.22	19.55	5.96	13.49	14.75	25.26	24.24

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity										Amgen Study No. 105776
Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		10 (SC)		30 (SC)		300 (SC)		300 (IV)	
Number of Animals [a]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Bone Densitometry - pQCT[b]										
Tibia, Metaphysis										
Trabecular BMC (mg/mm)	11.475	8.920	10.470	10.815	16.785	10.910	16.445	12.385	22.210	13.120
% change from control	N/A	N/A	-8.8	21.2	46.3	22.3	43.3	38.8	93.6	47.1
% change from pretreatment period	35.057	27.344	20.865	33.577	87.978	34.154	45.057	90.785	71.153	113.293
Trabecular BMD (mg/cm^3)	248.80	249.40	228.10	342.75	329.00	341.05	322.80	364.65	384.05	364.95
% change from control	N/A	N/A	-8.3	37.4	32.2	36.7	29.7	46.2	54.4	46.3
% change from pretreatment period	21.21	13.02	11.91	18.38	57.27	19.02	30.98	53.14	55.00	74.83
Cortical/Subcortical BMC (mg/mm)	45.150	33.985	53.425	33.935	57.825	32.695	57.645	36.720	67.805	34.590
% change from control	N/A	N/A	18.3	-0.1	28.1	-3.8	27.7	8.0	50.2	1.8
% change from pretreatment period	11.741	14.813	14.341	13.808	32.841	15.106	19.937	33.230	30.069	31.000

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity										Amgen Study No. 105776
Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		10 (SC)		30 (SC)		300 (SC)		300 (IV)	
Number of Animals [a]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Bone Densitometry - pQCT[b]										
Tibia, Metaphysis										
Cortical/Subcortical, BMD (mg/cm^3)	640.95	628.45	787.00	720.00	752.65	674.25	762.30	736.85	783.60	652.55
% change from control	N/A	N/A	22.8	14.6	17.4	7.3	18.9	17.2	22.3	3.8
% change from pretreatment period	-0.43	2.40	6.82	1.81	12.15	2.26	8.71	5.55	17.82	12.94
Tibia, Diaphysis										
Total Area (mm^2)	75.460	47.775	70.380	50.225	77.725	52.065	74.115	49.675	81.220	53.290
% change from control	N/A	N/A	-6.7	5.1	3.0	9.0	-1.8	4.0	7.6	11.5
% change from pretreatment period	7.249	4.385	4.871	9.241	8.631	7.307	6.104	11.472	8.636	18.644
Cortical Area (mm^2)	48.020	33.260	44.955	36.200	50.410	35.770	53.530	35.950	56.045	38.955
% change from control	N/A	N/A	-6.4	8.8	5.0	7.5	11.5	8.1	16.7	17.1
% change from pretreatment period	11.936	4.159	8.577	12.330	18.039	14.935	9.636	21.422	18.521	27.950

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity										Amgen Study No. 105776
Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		10 (SC)		30 (SC)		300 (SC)		300 (IV)	
Number of Animals [a]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Bone Densitometry - pQCT[b]										
Tibia, Diaphysis										
Cortical BMC (mg/mm)	46.405	34.120	46.030	36.215	51.995	35.995	54.880	36.205	57.150	38.495
% change from control	N/A	N/A	-0.8	6.1	12.0	5.5	18.3	6.1	23.2	12.8
% change from pretreatment period	11.879	4.952	10.057	12.731	17.601	16.050	10.115	23.356	19.052	25.786
Cortical BMD (mg/cm^3)	969.20	1025.70	1024.80	999.85	1030.40	1005.70	1029.90	1006.95	1019.60	987.55
% change from control	N/A	N/A	5.7	-2.5	6.3	-1.9	6.3	-1.8	5.2	-3.7
% change from pretreatment period	0.08	0.75	1.34	0.37	-0.29	1.02	0.44	1.60	0.46	-1.46
Cortical Thickness (mm)	1.9450	1.7600	1.8855	1.8895	2.0320	1.8090	2.2965	1.8825	2.2755	1.9825
% change from control	N/A	N/A	-3.1	7.4	4.5	2.8	18.1	7.0	17.0	12.6
% change from pretreatment period	9.4885	1.6881	7.1874	8.7340	16.0337	13.6516	8.0201	19.0705	17.4551	21.0028

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity										Amgen Study No. 105776
Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		10 (SC)		30 (SC)		300 (SC)		300 (IV)	
Number of Animals [a]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Bone Densitometry - pQCT[b]										
Tibia, Diaphysis										
Cortical Periosteal Circumference (mm)	30.7870	24.4955	29.7115	25.1220	31.2510	25.5760	30.5080	24.9375	31.9460	25.8750
% change from control	N/A	N/A	-3.5	2.6	1.5	4.4	-0.9	1.8	3.8	5.6
% change from pretreatment period	3.5331	2.1701	2.4024	4.5005	4.2256	3.5861	3.0040	5.5766	4.2211	8.8743
Cortical Endosteal Circumference (mm)	18.5685	13.4390	17.8655	13.2495	18.4830	14.2100	16.0790	13.1085	17.6490	13.4185
% change from control	N/A	N/A	-3.8	-1.4	-0.5	5.7	-13.4	-2.5	-5.0	-0.2
% change from pretreatment period	-0.0027	3.0875	-0.5015	1.2884	-2.1747	-3.1748	-1.1874	-4.1919	-4.7888	-0.0204
Terminal Procedures, (No evaluated)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Footnotes are on the last page of the table.

表 7D. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity										Amgen Study No. 105776
Weekly Dose (mg/kg)	0 (Control) (SC)		10 (SC)		30 (SC)		300 (SC)		300 (IV)	
Number of Animals [a]	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5	M: 5	F: 5
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Terminal Procedures, (No evaluated)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Histopathology [c]										
Sternum - Hyperostosis	0	0								
Minimal	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0
Slight	0	0	2	1	2	1	1	1	1	1
Moderate	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1
Tibia - Hyperostosis										
Minimal	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Slight	0	0	2	2	0	1	0	0	0	1
Moderate	0	0	0	0	2	1	2	1	2	1

Ab = Antibody; $AUC_{0\text{-}168}$ = area under the plasma drug concentration-time curve from time zero to 168 hours post dose; $AUC_{0\text{-}inf}$ = area under the plasma drug concentration-time curve from time zero to infinity; BMC = bone mineral content; BMD = bone mineral density; BQL=Below quantitative level; DXA = dual energy x-ray absorptiometry; F = female; IV = intravenous; M = male; P1NP = individual N-terminal propeptide of type 1 procollagen; pQCT = peripheral quantitative computed tomography; QW = weekly; SC = subcutaneous; $T_{1/2,z}$ = terminal phase half life. - No noteworthy findings.

Statistics: Significantly different from control group (group 1) value: A - $P \leq 0.05$ B - $P \leq 0.01$ C - $P \leq 0.001$ (Dunnett) and D - $P \leq 0.05$ E - $P \leq 0.01$ G - $P \leq 0.001$ (Dunn)

[a] Main study animals (3/sex/group) were euthanized on day 30 and the remaining animals (2/sex/group) were euthanized after a 69-day recovery period. [b] At the end of the dosing or recovery period. [c] Incidence is presented.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ

Repeat-dose Toxicity	Report Title: 6-month Subcutaneous Injection Toxicity Study of Weekly Administration of AMG 785 in the Cynomolgus Monkey with a 14-Week Treatment Free Period	Test Article: AMG 785
Species/Strain: Monkey/Cynomolgus	Duration of Dosing: QW, 6 months	Amgen Study No. 107426
Initial Age: 3 to 5 years	Duration of Postdose: 14 weeks	CRO Study No. 670263
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Method of Administration: Subcutaneous Injection	
	Vehicle/Formulation: AMG 785 Placebo: 10mM sodium acetate, 9% sucrose, 0.004% polysorbate 20, pH 5.2	GLP Compliance: Yes

Special Features: Bone markers, bone densitometry, histomorphometry, micro-CT (non-GLP), bone biomechanics, ash testing. Study design was 6/sex/group. Some animals were excluded based on the ADA response (except for gross pathology and histopathology): 1 male and 1 female at 3 mg/kg and one male and 2 females at 10 mg/kg.

No Observed Adverse Effect Level: 100 mg/kg/dose

Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Toxicokinetics:								
C_{max}(µg/mL)								
Day 1	BLQ		29.5		107		1590	
Day 176	BLQ		30.6		139		2280	
$AUC_{0\text{-}168}$ (mg·hr/mL)								
Day 1	BLQ		3.06		13.1		178	
Day 176	BLQ		3.49		17.1		301	
$AUC_{0\text{-}inf}$ (mg·hr/mL)								
Day 176	BLQ		4.70		32.2		511	
$T_{1/2,z}$ hour (SD)								
Day 176	BLQ		90.7 (28.3)		73.7 (45.7)		116 (56.0)	

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Anti-drug Antibody Positive/Total (%)								
Week 26								
Binding Antibodies	0/12 (0)		2/12 (16.7)		3/12 (25)		0/12 (0)	
Neutralizing Antibodies	0/12 (0)		1/12(8.3)		2/12 (16.7)		0/12 (0)	
Week 40								
Binding Antibodies	0/4 (0)		1/4 (25)		2/4 (50)		2/4 (50)	
Neutralizing Antibodies	0/4 (0)		0/4 (0)		2/4 (50)		1/4 (25)	
Overall (Week 12 to 40)								
Binding Antibodies	0/12 (0)		3/12 (25)		3/12 (25)		2/12 (16.7)	
Neutralizing Antibodies	0/12 (0)		1/12(8.3)		3/12 (25)		1/12(8.3)	
Noteworthy Findings								
Died or Euthanized Moribund	0	0	0	1	0	0	0	0
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Body Weight (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Food Consumption (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Ophthalmology	-	-	-	-	-	-	-	-
Electrocardiology	-	-	-	-	-	-	-	-
Blood Pressure	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematology								
Red Blood Cells ($10^6/\mu L$)								
Week 26	6.563	6.375	6.286	6.064	6.170	6.055	5.665 B	5.462 B
% change from control	N/A	N/A	-4.2	-4.9	-6.0	-5.0	-13.7	-14.3
Hematocrit (%)								
Week 26	43.08	40.62	41.82	38.90	41.46	38.83	37.97 C	36.23
% change from control	N/A	N/A	-2.9	-4.2	-3.8	-4.4	-11.9	-10.8

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Serum Chemistry								
Calcium (mg/dL)								
Week 4	10.00	9.80	10.04	9.92	9.60	9.35	9.20	8.70 A
% change from control	N/A	N/A	0.4	1.2	-4.0	-4.6	-8.0	-11.2
Week 12	10.07	9.88	9.82	9.58	9.98	9.38	9.87	9.40
% change from control	N/A	N/A	-2.5	-3.0	-0.9	-5.1	-2.0	-4.9
Phosphorus (mg/dL)								
Week 4	8.10	6.32	8.03	5.93	7.61	6.62	6.77 E	5.61
% change from control	N/A	N/A	-0.9	-6.2	-6.0	4.7	-16.4	-11.2
Week 12	7.91	6.42	7.56	5.62	7.58	6.36	6.63 A	5.49
% change from control	N/A	N/A	-4.5	-12.4	-4.2	-0.9	-16.2	-14.5
Urinalysis	-	-	-	-	-	-	-	-
Bone Formation Markers								
Bone Alkaline Phosphatase (U/L)								
Week 4	552.95	299.65	697.12	341.58	916.48 A	368.40	652.62	397.08
% change from control	N/A	N/A	26.1	14.0	65.7	22.9	18.0	32.5
% change from 2nd pretreatment	35.33	5.08	59.06	41.39	96.67 B	65.02 A	82.16 B	86.44 C
Week 12	571.15	349.38	780.32	335.16	902.10	415.20	704.28	399.25
% change from control	N/A	N/A	36.6	-4.1	57.9	18.8	23.3	14.3
% change from 2nd pretreatment	39.90	21.44	83.64	34.80	91.85	80.57 B	99.16	80.40 B

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Formation Markers								
Bone Alkaline Phosphatase (U/L)								
Week 26	532.97	271.52	658.90	270.86	955.02 B	296.93	631.88	291.32
% change from control	N/A	N/A	23.6	-0.2	79.2	9.4	18.6	7.3
% change from 2nd pretreatment	30.34	-4.90	53.81	8.15	103.70 B	27.49 A	77.65	37.55 C
P1NP (µg/L)								
Week 4	6361.8	1419.1	5397.8	1585.6	6213.3	1977.9	4534.5	2049.3
% change from control	N/A	N/A	-15.2	11.7	-2.3	39.4	-28.7	44.4
% change from 2nd pretreatment	127.66	38.90	121.95	47.95	164.52	82.60	141.74	143.67 A
Week 12	5044.9	1453.2	4683.2	1320.2	6642.6	1498.7	4359.4	1377.8
% change from control	N/A	N/A	-7.2	-9.2	31.7	3.2	-13.6	-5.2
% change from 2nd pretreatment	81.17	39.13	104.35	22.30	190.92	48.00	136.46	65.35
Week 26	3575.4	944.7	3702.5	1061.8	5556.3 A	1137.3	3549.8	1199.3
% change from control	N/A	N/A	3.6	12.4	55.4	20.4	0.7	26.9
% change from 2nd pretreatment	26.54	-9.33	61.38	1.27	152.31 A	3.66	104.14	45.07
Osteocalcin (ng/mL)								
Week 4	68.658	44.911	70.401	51.061	78.504	56.867	75.362	72.630 B
% change from control	N/A	N/A	2.5	13.7	14.3	26.6	9.8	61.7
% change from 2nd pretreatment	-8.63	-14.68	1.71	9.66 A	24.47 C	37.13 C	26.42 E	73.35 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Formation Markers								
Osteocalcin (ng/mL)								
Week 12	65.546	56.333	64.121	45.772	79.733	56.379	74.560	65.179
% change from control	N/A	N/A	-2.2	-18.7	21.6	0.1	13.8	15.7
% change from 2nd pretreatment	-11.40	7.13	-8.25	-3.01	27.97 B	35.30	24.81 B	59.21 C
Week 26	50.204	37.637	57.224	33.822	67.951	38.910	58.542	30.726
% change from control	N/A	N/A	14.0	-10.1	35.3	3.4	16.6	-18.4
% change from 2nd pretreatment	-32.12	-28.11	-19.80	-28.12	8.50 C	-5.35	-2.19 B	-22.18
Bone Resorption Markers	-	-	-	-	-	-	-	-
Bone Densitometry - DXA								
Lumbar Spine (L1-L4) Area (cm^2)								
Week 13	10.85	10.99	10.81	11.03	10.25	11.90	10.84	11.31
% change from control	N/A	N/A	-0.3	0.4	-5.5	8.3	-0.1	2.9
% change from pretreatment	14.45	3.72	12.16	5.04	18.71	8.01	12.82	6.00
Week 25/26	11.75	11.08	11.66	11.69	11.49	12.36	11.82	11.93
% change from control	N/A	N/A	-0.7	5.5	-2.2	11.5	0.7	7.7
% change from pretreatment	24.46	4.55	21.04	11.41	33.11	12.12 A	23.07	11.84 A

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - DXA								
Lumbar Spine (L1-L4) BMC (g)								
Week 13	6.229	7.101	7.098	7.698	6.641	8.520	7.594 A	8.416
% change from control	N/A	N/A	13.9	8.4	6.6	20.0	21.9	18.5
% change from pretreatment	24.24	8.37	35.58	24.02 A	47.68 B	28.87 B	49.14 C	25.84 B
Week 25/26	7.269	7.293	8.426	8.482	8.676	9.538 A	9.445 B	9.613 B
% change from control	N/A	N/A	15.9	16.3	19.4	30.8	29.9	31.8
% change from pretreatment	46.26	11.62	60.80	36.83 B	93.01 C	44.28 B	85.72 B	43.86 C
Lumbar Spine (L1-L4) BMD (g/cm^2)								
Week 13	0.570	0.642	0.656 A	0.698	0.647 A	0.716	0.700 C	0.743 B
% change from control	N/A	N/A	15.1	8.8	13.6	11.6	22.9	15.7
% change from pretreatment	8.63	4.49	20.86 B	18.05 B	24.39 C	19.23 B	32.21 C	18.54 B
Week 25/26	0.616	0.654	0.721 B	0.725 A	0.753 B	0.771 B	0.799 C	0.803 C
% change from control	N/A	N/A	17.1	10.9	22.3	17.8	29.6	22.8
% change from pretreatment	17.53	6.77	32.80 A	22.79 B	44.82 C	28.53 C	50.81 C	28.30 C
Femur – Global Area (cm^2)								
Week 13	7.306	7.205	7.781	8.014	8.377	8.284	8.041	8.480 A
% change from control	N/A	N/A	6.5	11.2	14.7	15.0	10.1	17.70
% change from pretreatment	25.70	12.58	29.24	17.94	40.10	22.78	33.18	28.04

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - DXA								
Femur – Global Area (cm^2)								
Week 25/26	7.878	7.500	8.500	8.226	9.470 B	8.761 A	8.936	8.831 A
% change from control	N/A	N/A	7.9	9.7	20.2	16.8	13.4	17.8
% change from pretreatment	36.42	18.03	41.40	21.01	59.39	29.73	48.11	33.44
Femur – Global BMC (g)								
Week 13	3.935	4.210	4.608	5.093	5.319 A	5.509	5.512 B	5.895 A
% change from control	N/A	N/A	17.1	21.0	35.2	30.9	40.1	40.0
% change from pretreatment	37.04	24.62	58.48	38.87	85.50 B	49.98	82.03 B	61.36 B
Week 25/26	4.702	4.562	5.583	5.636	6.967 B	6.282 A	6.833 B	6.769 B
% change from control	N/A	N/A	18.7	23.5	48.2	37.7	45.3	48.4
% change from pretreatment	65.23	35.06	92.94	54.08	144.64 B	71.56 A	126.06 A	85.19 C
Femur – Global – BMD (g/cm^2)								
Week 13	0.537	0.581	0.589	0.634	0.632 A	0.661	0.686 C	0.693
% change from control	N/A	N/A	9.7	9.1	17.8	13.8	27.8	19.4
% change from pretreatment	9.00	10.60	22.58 A	17.72	32.22 C	22.33	36.62 C	25.54 A
Week 25/26	0.595	0.606	0.653	0.682	0.734 B	0.715	0.763 C	0.766 B
% change from control	N/A	N/A	9.9	12.6	23.4	18.0	28.3	26.4
% change from pretreatment	20.76	14.92	36.31 A	26.95	53.26 C	32.31 A	51.83 C	38.48 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - DXA								
Femur – Neck – Area (cm^2)								
Week 13	0.363	0.392	0.420 A	0.390	0.430 B	0.422	0.422 A	0.431
% change from control	N/A	N/A	15.9	-0.6	18.5	7.6	16.4	10.0
% change from pretreatment	10.16	8.25	32.80 B	17.53	31.83 B	16.16	30.44 A	25.37
Week 25/26	0.396	0.403	0.444 A	0.380	0.478 C	0.45	0.453 A	0.44
% change from control	N/A	N/A	12.0	-5.6	20.5	10.5	14.2	8.5
% change from pretreatment	20.33	11.09	40.33 A	14.55	46.37 B	22.44	40.39 A	26.86
Femur – Neck – BMC (g)								
Week 13	0.126	0.138	0.171 B	0.152	0.186 C	0.181	0.196 C	0.194 E
% change from control	N/A	N/A	35.8	10.4	47.7	31.7	55.4	40.9
% change from pretreatment	22.66	11.97	68.14 C	40.84 B	84.58 C	50.89 C	79.26 C	66.16 C
Week 25/26	0.149	0.149	0.194 A	0.164	0.245 C	0.216 B	0.234 C	0.223 C
% change from control	N/A	N/A	30.6	10.2	65.0	45.4	57.1	49.8
% change from pretreatment	45.28	20.51	90.58 A	52.64	143.26 C	80.01 B	114.96 C	91.85 C
Femur – Neck – BMD (g/cm^2)								
Week 13	0.347	0.350	0.408 A	0.390	0.433 C	0.430 B	0.462 C	0.452 C
% change from control	N/A	N/A	17.6	11.6	24.8	22.9	33.2	29.3
% change from pretreatment	11.83	3.63	26.30	20.53 A	40.13 C	30.03 B	37.60 C	33.14 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - DXA								
Femur – Neck – BMD (g/cm^2)								
Week 25/26	0.375	0.368	0.437 A	0.431	0.513 C	0.486	0.514 C	0.510 G
% change from control	N/A	N/A	16.7	17.3	36.9	32.2	37.3	38.8
% change from pretreatment	20.71	8.82	35.83	33.24 B	66.09 E	46.99 C	53.07 D	50.79 C
Femur – Trochanter – BMC (g)								
Week 13	0.375	0.408	0.403	0.455	0.425	0.445	0.501 C	0.477
% change from control	N/A	N/A	7.6	11.5	13.5	9.0	33.8	16.8
% change from pretreatment	3.82	7.02	16.37	18.76	29.47 C	16.34	31.66 C	19.72
Week 25/26	0.418	0.416	0.446	0.487	0.501 B	0.499 A	0.540 C	0.524 B
% change from control	N/A	N/A	6.6	17.0	19.9	19.9	29.1	25.9
% change from pretreatment	16.15	9.10	29.11	27.18	52.75 C	30.37 A	42.02 B	31.54 A
Femur – Trochanter – BMD (g/cm^2)								
Week 13	0.499	0.544	0.538	0.607	0.567	0.593	0.668 C	0.637
% change from control	N/A	N/A	7.6	11.5	13.5	9.0	33.8	17.0
% change from pretreatment	3.82	7.02	16.37	18.76	29.47 C	16.34	31.66 C	19.95
Week 25/26	0.558	0.555	0.595	0.650	0.669 B	0.666 A	0.720 C	0.699 B
% change from control	N/A	N/A	6.6	17.0	19.9	19.9	29.1	25.9
% change from pretreatment	16.33	9.27	29.30	27.37	52.98 C	30.57 A	42.23 B	31.74 A

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - pQCT								
Proximal Tibia – Metaphysis – Total Area (mm^2)								
Week 13	92.20	69.64	101.84	83.55	94.72	92.74 B	92.49	93.55 B
% change from control	N/A	N/A	10.5	20.0	2.7	33.2	0.3	34.3
% change from pretreatment	19.93	1.50	27.56	6.06	27.38	5.16	25.87	16.43 C
Week 25/26	97.43	67.64	103.88	82.49	109.20	96.04 B	97.55	96.41 C
% change from control	N/A	N/A	6.6	22.0	12.1	42.0	0.1	42.5
% change from pretreatment	26.90	-1.44	29.68	4.73	47.35	8.95	32.62	19.98 C
Proximal Tibia – Metaphysis – Total BMC (mg/mm)								
Week 13	46.36	44.35	57.66	51.24	55.85	55.39	61.52 A	62.58 E
% change from control	N/A	N/A	24.37	15.54	20.5	24.9	32.7	41.1
% change from pretreatment	27.34	8.74	53.05	24.87	66.05 D	28.43	69.76 E	43.48 G
Week 25/26	51.46	44.22	63.87	55.33	71.53 B	61.17	70.01 B	69.45 G
% change from control	N/A	N/A	24.1	25.1	39.0	38.3	36.0	57.1
% change from pretreatment	41.80	8.60	69.58	35.43 B	112.66 C	42.04 B	93.59 B	58.75 C

Footnotes ar on the last page of the table.

表 7E.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - pQCT								
Proximal Tibia – Metaphysis – Total BMD (mg/cm^3)								
Week 13	503.0	642.2	562.0	616.4	589.5 B	596.0	663.7 C	671.5
% change from control	N/A	N/A	11.7	-4.0	17.2	-7.2	32.0	4.6
% change from pretreatment	6.42	7.28	20.46	17.83 A	30.16 B	22.12 B	34.89 C	23.12 C
Week 25/26	529.6	660.8	611.1 B	673.3	653.8 C	636.2	718.6 C	720.3
% change from control	N/A	N/A	15.4	1.9	23.5	-3.7	35.7	9.0
% change from pretreatment	12.12	10.38	31.05 A	29.36 B	44.61 C	30.39 B	46.17 C	32.16 B
Proximal Tibia – Metaphysis – Trabecular BMC (mg/mm)								
Week 13	20.44	20.34	28.70	23.71	27.47	24.40	30.71 A	29.90 D
% change from control	N/A	N/A	40.4	16.6	34.4	20.0	50.2	47.0
% change from pretreatment	47.42	11.64	98.97	48.18 B	128.79 B	55.43 B	123.27 B	73.18 C
Week 25/26	23.23	20.12	33.63 A	27.13	38.72 C	28.96	37.61 B	34.95 E
% change from control	N/A	N/A	44.8	34.9	66.7	43.9	61.9	73.7
% change from pretreatment	68.86	10.88	134.48	71.35 B	222.43 C	85.88 C	176.20 B	101.20 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - pQCT								
Proximal Tibia – Metaphysis - Trabecular BMD (mg/cm^3)								
Week 13	369.4	497.3	462.8	476.1	482.1 A	434.3	549.9 C	534.7
% change from control	N/A	N/A	25.3	-4.3	30.5	-12.7	48.9	7.5
% change from pretreatment	22.81	10.61	57.19	39.95 B	78.17 B	47.63 C	77.69 B	48.68 C
Week 25/26	398.8	506.1	531.4 B	552.5	588.8 C	499.1	642.4 C	603.4
% change from control	N/A	N/A	33.2	9.2	47.6	-1.4	61.1	19.2
% change from pretreatment	33.18	12.43	81.00 A	64.14 D	118.41 C	70.06 D	108.67 C	68.05 D
Proximal Tibia – Metaphysis - Cortical/Subcortical BMC (mg/mm)								
Week 13	25.92	24.01	28.96	27.53	28.38	31.00 B	30.82	32.67 C
% change from control	N/A	N/A	11.8	14.6	9.5	29.1	18.9	36.1
% change from pretreatment	15.28	6.40	25.12	10.27	31.66	13.34	37.55 E	24.88 E
Week 25/26	28.25	24.10	30.24	28.19	32.81	32.22 B	32.39	34.50 C
% change from control	N/A	N/A	7.0	17.0	16.1	33.7	14.7	43.2
% change from pretreatment	25.77	6.81	30.50	13.12	52.35 B	17.83	44.48 A	31.79 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - pQCT								
Proximal Tibia – Metaphysis - Cortical/Subcortical BMD (mg/cm^3)								
Week 13	703.8	857.9	710.8	827.9	751.8 A	838.8	833.7 C	877.4
% change from control	N/A	N/A	1.0	-3.5	6.8	-2.2	18.5	2.3
% change from pretreatment	-3.36	4.26	-1.55	3.86	3.84	7.99	9.07 B	6.93
Week 25/26	725.7	893.7	731.6	854.3	751.3	842.8	832.6 C	895.7
% change from control	N/A	N/A	0.8	-4.4	3.5	-5.7	14.7	0.2
% change from pretreatment	-0.40	8.82	1.34	7.44	3.86	8.56	8.95	9.23
Proximal Tibia – Diaphysis – Total area (mm^2)								
Week 13	54.33	47.31	54.90	53.83	54.86	52.70	55.63	55.98
% change from control	N/A	N/A	1.1	13.8	1.0	11.4	2.4	18.4
% change from pretreatment	18.49	4.35	16.81	3.67	23.63	7.04	18.92	5.94
Week 25/26	60.07	48.04	61.20	55.00	64.75	56.01	63.78	58.82
% change from control	N/A	N/A	1.9	14.5	7.8	16.6	6.2	22.4
% change from pretreatment	31.22	6.18	30.17	6.01	46.15	13.90 A	36.29	11.30

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - pQCT								
Proximal Tibia – Diaphysis - Cortical area (mm^2)								
Week 13	36.93	35.30	40.91	40.38	40.79	39.29	42.47	42.28
% change from control	N/A	N/A	10.8	14.4	10.5	11.3	15.0	19.8
% change from pretreatment	25.30	6.38	31.01	11.83	43.16 D	15.30	42.35 D	18.01 A
Week 25/26	41.51	36.32	46.55	41.70	51.47 A	42.88	51.74 A	45.96 B
% change from control	N/A	N/A	12.2	14.8	24.0	18.0	24.6	26.5
% change from pretreatment	41.22	9.60	49.15	15.67	80.75 E	25.71 A	73.81 D	28.30 B
Proximal Tibia – Diaphysis - Cortical BMC (mg/mm)								
Week 13	35.09	35.84	39.75	40.46	38.83	39.66	42.54 A	43.39
% change from control	N/A	N/A	13.3	12.9	10.7	10.7	21.2	21.1
% change from pretreatment	24.00	8.68	32.29	15.85	40.69 A	17.93	45.82 C	23.30 B
Week 25/26	40.30	37.39	45.23	42.50	49.43 A	43.79	51.85 B	47.91 B
% change from control	N/A	N/A	12.2	13.7	22.7	17.1	28.7	28.1
% change from pretreatment	42.70	13.54	50.56	22.00	79.16 D	30.21 A	78.01 D	36.18 B

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - pQCT								
Proximal Tibia – Diaphysis- Cortical								
BMD (mg/cm^3)								
Week 13	949.3	1015.3	970.9	1001.1	951.7	1010.7	1002.4 C	1027.1
% change from control	N/A	N/A	2.3	-1.4	0.3	-0.5	5.6	1.2
% change from pretreatment	-1.00	2.23	0.93	3.62	-1.68	2.25	2.57 A	4.49
Week 25/26	969.4	1030.0	971.0	1018.7	959.6	1023.3	1003.0	1043.2
% change from control	N/A	N/A	0.2	-1.1	-1.0	-0.7	3.5	1.3
% change from pretreatment	1.09	3.71	0.94	5.45	-0.87	3.54	2.63	6.15
Proximal Tibia – Diaphysis - Cortical								
thickness (mm)								
Week 13	1.815	1.941	2.080	2.074	2.065	2.025	2.163 A	2.157
% change from control	N/A	N/A	14.6	6.9	13.8	4.4	19.2	11.2
% change from pretreatment	17.46	5.19	27.41	13.35	36.64 E	15.09	40.66 E	20.31 B
Week 25/26	1.943	1.993	2.262	2.132	2.485 B	2.175	2.557 C	2.319
% change from control	N/A	N/A	16.4	7.0	27.9	9.1	31.6	16.4
% change from pretreatment	26.43	8.09	38.77	16.63	64.39 E	23.34 A	66.55 E	29.72 B

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - pQCT								
Proximal Tibia – Diaphysis - Periosteal circumference (mm)								
Week 13	26.09	24.32	26.25	26.00	26.25	25.69	26.43	26.48
% change from control	N/A	N/A	0.6	6.9	0.6	5.6	1.3	8.8
% change from pretreatment	8.83	2.15	8.07	1.80	11.14	3.46	9.04	2.92
Week 25/26	27.44	24.52	27.71	26.29	28.51	26.49	28.28	27.14
% change from control	N/A	N/A	1.0	7.2	3.9	8.0	3.1	10.7
% change from pretreatment	14.49	3.03	14.08	2.93	20.74	6.71 A	16.69	5.49
Proximal Tibia – Diaphysis - Endosteal circumference (mm)								
Week 13	14.69	12.13	13.18	12.97	13.3	12.97	12.83	12.92
% change from control	N/A	N/A	-10.3	6.9	-9.6	6.9	-12.6	6.5
% change from pretreatment	2.96	-0.91	-6.31 B	-7.12	-6.12 B	-5.46	-11.34 C	-10.54 B
Week 25/26	15.23	12.00	13.50	12.89	12.90	12.83	12.22	12.56
% change from control	N/A	N/A	-11.3	7.4	-15.3	6.9	-19.8	4.7
% change from pretreatment	7.26	-1.82	-3.97 A	-7.67	-8.81 B	-6.41	-15.72 C	-12.65 B

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - pQCT								
Distal Radius – Metaphysis – Total area (mm^2)								
Week 13	47.16	39.47	51.50	45.14	51.55	46.85	52.52	48.68 A
% change from control	N/A	N/A	9.2	14.4	9.3	18.7	11.4	23.3
% change from pretreatment	13.49	4.59	25.01	7.38	24.01	9.95	27.98 D	12.41
Week 25/26	48.98	39.55	54.06	46.05	59.09	49.07 A	57.21	51.39 B
% change from control	N/A	N/A	10.4	16.4	20.6	24.1	16.8	29.9
% change from pretreatment	18.29	4.80	31.05	9.41	42.39 B	15.07 A	39.35 A	18.86 C
Distal Radius – Metaphysis – Total BMC (mg/mm)								
Week 13	24.19	24.36	29.44 A	25.82	28.95	27.38	32.39 C	29.14 A
% change from control	N/A	N/A	21.7	6.0	19.7	12.4	33.9	19.6
% change from pretreatment	22.31	10.88	37.02	22.32 A	50.73 C	22.05	56.82 C	28.01 B
Week 25/26	26.54	24.97	33.69 A	27.82	36.09 B	30.94 A	36.23 B	32.59 B
% change from control	N/A	N/A	27.0	11.4	36.0	23.9	36.5	30.5
% change from pretreatment	34.52	13.79	56.79	31.88 A	88.05 E	37.78 A	75.55 D	43.13 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - pQCT								
Distal Radius – Metaphysis - Total BMD (mg/cm^3)								
Week 13	517.1	621.1	573.3	574.8	561.1	587.8	617.0 B	605.0
% change from control	N/A	N/A	10.9	-7.5	8.5	-5.4	19.3	-2.6
% change from pretreatment	7.84	6.06	9.58	13.94 D	21.51 C	10.98	22.49 C	13.89 D
Week 25/26	546.0	635.9	625.7	605.4	611.4	632.6	631.4 A	637.6
% change from control	N/A	N/A	14.6	-4.8	12.0	-0.5	15.7	0.3
% change from pretreatment	13.82	8.58	19.63	20.35	32.47 E	19.70 D	25.50	20.37 D
Distal Radius – Metaphysis - Trabecular BMC (mg/mm)								
Week 13	9.837	10.125	13.172 A	10.156	12.918	10.650	14.737 B	11.415
% change from control	N/A	N/A	33.9	0.3	31.3	5.2	49.8	12.7
% change from pretreatment	40.95	16.77	63.47	44.03 A	103.09 C	44.50 A	101.81 C	47.64 B
Week 25/26	10.965	10.533	16.360 A	11.386	17.682 B	13.145	17.237 B	13.543
% change from control	N/A	N/A	49.2	8.1	61.3	24.8	57.2	28.6
% change from pretreatment	57.92	21.59	104.35	62.28 A	177.87 G	79.20 B	136.80 D	74.58 B

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - pQCT								
Distal Radius – Metaphysis - Trabecular BMD (mg/cm^3)								
Week 13	352.0	433.0	428.4	377.5	415.4	381.8	467.4 A	397.3
% change from control	N/A	N/A	21.7	-12.8	18.0	-11.8	32.8	-8.3
% change from pretreatment	24.15	11.56	30.76	34.10 D	63.04 E	31.14	57.67 E	31.52 D
Week 25/26	378.7	449.6	506.5 A	412.7	499.6 A	447.2	499.0 A	441.9
% change from control	N/A	N/A	33.8	-8.2	31.9	-0.5	31.8	-1.7
% change from pretreatment	33.31	15.59	55.70	47.91 D	96.19 G	55.35 E	68.85	46.76 D
Distal Radius – Metaphysis - Cortical/Subcortical BMC (mg/mm)								
Week 13	14.35	14.24	16.26	15.67	16.03	16.74 A	17.66 B	17.72 C
% change from control	N/A	N/A	13.3	10.0	11.7	17.5	23.0	24.4
% change from pretreatment	12.12	7.26	20.98	11.76	25.16 A	11.21	32.87 C	18.48 C
Week 25/26	15.57	14.44	17.33	16.43	18.41	17.80 B	18.99 A	19.05 C
% change from control	N/A	N/A	11.3	13.8	18.2	23.3	22.0	32.0
% change from pretreatment	21.69	8.77	28.85	17.24	43.85 A	18.13	42.92 A	27.43 C

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - pQCT								
Distal Radius – Metaphysis - Cortical/Subcortical BMD (mg/cm^3)								
Week 13	765.6	902.4	791.1	871.5	779.9	896.9	841.2 B	916.4
% change from control	N/A	N/A	3.3	-3.4	1.9	-0.6	9.9	1.5
% change from pretreatment	-1.01	2.62	-3.22	4.02	1.19	1.29	3.60	5.29
Week 25/26	797.8	916.2	805.1	895.4	779.0	911.6	829.8	931.7
% change from control	N/A	N/A	0.9	-2.3	-2.4	-0.5	4.0	1.7
% change from pretreatment	3.18	4.24	-1.55	7.03	1.07	2.99	2.23	7.24
Distal Radius – Diaphysis - Total area (mm^2)								
Week 13	27.17	25.02	28.81	26.31	28.96	28.24	30.02	29.77
% change from control	N/A	N/A	6.0	5.2	6.6	12.9	10.5	19.0
% change from pretreatment	23.05	6.03	23.83	6.96	26.92	9.87	25.23	11.20
Week 25/26	30.41	25.97	32.92	27.62	36.03	30.48	36.09	32.24 B
% change from control	N/A	N/A	8.2	6.4	18.5	17.4	18.7	24.2
% change from pretreatment	37.96	10.25	41.45	12.34	57.84	18.52	50.41	20.50

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - pQCT								
Distal Radius – Diaphysis - Cortical area (mm^2)								
Week 13	20.92	20.07	22.54	19.77	22.31	21.81	23.61	22.73
% change from control	N/A	N/A	7.7	-1.5	6.7	8.7	12.8	13.3
% change from pretreatment	26.23	9.29	26.83	8.91	33.78	14.29	33.79	16.71 A
Week 25/26	23.19	21.19	26.54	20.93	28.41	24.16	29.42	25.11 D
% change from control	N/A	N/A	14.5	-1.2	22.5	14.0	26.9	18.5
% change from pretreatment	40.08	15.56	49.41	15.38	69.88 B	26.48	66.55 A	28.96 B
Distal Radius – Diaphysis Cortical BMC (mg/mm)								
Week 13	20.83	21.53	23.28	20.98	22.16	23.35	24.69	24.33
% change from control	N/A	N/A	11.8	-2.5	6.4	8.5	18.6	13.0
% change from pretreatment	21.48	11.25	25.33	11.19	28.40	16.21	35.02 B	19.49 B
Week 25/26	23.22	22.78	27.17	22.37	28.10	25.84	30.42	27.10 D
% change from control	N/A	N/A	17.0	-1.8	21.0	13.4	31.0	18.9
% change from pretreatment	35.58	17.92	46.31	18.70	62.23 A	28.43	66.03 B	33.11 B

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - pQCT								
Distal Radius – Diaphysis Cortical BMD (mg/cm^3)								
Week 13	995.5	1073.0	1033.7 A	1060.7	994.5	1070.1	1046.0 B	1072.3
% change from control	N/A	N/A	3.8	-1.1	-0.1	-0.3	5.1	-0.1
% change from pretreatment	-3.80	1.82	-1.20	2.10	-3.93	1.70	0.98 C	2.39
Week 25/26	1000.6	1075.7	1024.0	1068.4	988.7	1068.9	1033.9	1081.0
% change from control	N/A	N/A	2.3	-0.7	-1.2	-0.6	3.3	0.5
% change from pretreatment	-3.31	2.08	-2.12	2.85	-4.48	1.58	-0.19 A	3.22
Distal Radius – Diaphysis - Cortical thickness (mm)								
Week 13	1.535	1.575	1.619	1.455	1.581	1.567	1.667	1.588
% change from control	N/A	N/A	5.5	7.6	3.1	-0.5	8.6	0.9
% change from pretreatment	15.37	8.03	15.39	6.37	22.00	11.29	23.72 A	13.37
Week 25/26	1.601	1.655	1.817	1.515	1.831	1.698	1.931	1.706
% change from control	N/A	N/A	13.6	8.5	14.3	2.6	20.6	3.1
% change from pretreatment	20.50	13.47	29.62	10.69	40.98 A	20.53	43.49 B	21.68

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - pQCT								
Distal Radius – Diaphysis - Periosteal circumference (mm)								
Week 13	18.44	17.71	19.01	18.18	19.03	18.83	19.40	19.30
% change from control	N/A	N/A	3.1	2.7	3.2	6.3	5.2	9.0
% change from pretreatment	10.89	2.95	11.23	3.40	12.58	4.81	11.87	5.45
Week 25/26	19.51	18.04	20.32	18.63	21.21	19.55	21.25	20.09 B
% change from control	N/A	N/A	4.2	3.2	8.7	8.4	8.9	11.3
% change from pretreatment	17.37	4.95	18.88	5.95	25.44	8.84	22.54	9.75 A
Distal Radius – Diaphysis - Endosteal circumference (mm)								
Week 13	8.798	7.814	8.838	9.040	9.095	8.983	8.924	9.324
% change from control	N/A	N/A	0.5	15.7	3.4	15.0	1.4	19.3
% change from pretreatment	6.83	-2.60	7.01	0.67	4.70	-1.26	0.72	-1.47
Week 25/26	9.447	7.645	8.893	9.108	9.707	8.887	9.121	9.373
% change from control	N/A	N/A	-5.9	19.1	2.8	16.2	-3.5	22.6
% change from pretreatment	15.12	-4.84	7.48	1.30	11.93	-2.25	3.33	-1.01

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Terminal Procedures (no. evaluated)	4	4	4	4	4	4	4	4
Organ weight	-	-	-	-	-	-	-	-
Gross Pathology	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology [b]								
Bone L1 - Hyperostosis								
Minimal	0	0	1	2	0	1	0	0
Slight	0	0	3	1	4	3	1	2
Moderate	0	0	0	0	0	0	3	2
Bone Sternum - Hyperostosis								
Minimal	0	0	2	2	3	2	0	0
Slight	0	0	1	1	1	1	1	3
Moderate	0	0	0	0	0	1	3	1
Bone Tibia Right - Hyperostosis								
Minimal	0	0	2	2	0	3	0	1
Slight	0	0	0	1	2	0	1	1
Moderate	0	0	0	0	1	0	3	1
Injection site (dorsal thorasic left) – Inflammation								
Minimal	0	1	0	1	0	2	1	0

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Histopathology [b]								
Injection site (dorsal thorasic right) - Inflammation								
Minimal	0	0	0	0	0	1	0	0
Slight	0	0	0	1	0	0	0	0
Injection site (scapular left) - Inflammation								
Inflammation								
Minimal	0	0	0	0	0	0	1	1
Slight	0	0	0	1	0	0	0	0
Injection site (scapular right) - Inflammation								
Inflammation								
Minimal	0	1	0	1	2	1	2	1
Slight	0	0	0	0	0	0	1	0
Histomorphometry								
L2 cancellous bone								
BV/TV (%)	24.6	26.2	39.0 A	34.6	40.2 B	44.7 B	49.7 C	52.9 C
% change from control	N/A	N/A	58	32	63	70	102	102
OV/BV (%)	3.31	1.39	2.23	1.07	2.02	0.84	1.51	0.74
% change from control	N/A	N/A	-32	-23	-39	-40	-54	-47

Footnotes are on the last page of the table.Page 25 of 54

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Histomorphometry								
L2 cancellous bone								
OS/BS (%)	27.4	12.6	29.5	13.5	31.4	13.2	28.2	10.4
% change from control	N/A	N/A	8	7	15	5	3	-18
Oc.S/BS (%)	1.08	0.43	1.44	0.46	0.92	0.65	1.06	0.45
% change from control	N/A	N/A	33	6	-15	49	-2	5
ES/BS (%)	10.5	3.6	8.9	2.9	6.9	3.4	7.2	3.2
% change from control	N/A	N/A	-15	-20	-34	-5	-31	-12
W.Th (µm)	30.3	29.6	32.2	30.8	34.2	36.3	36.7	39.2 A
% change from control	N/A	N/A	6	4	13	22	21	32
MS/BS (%)	22.6	12.9	30.0	16.9	31.2	15.0	29.7	15.1
% change from control	N/A	N/A	33	30	38	16	31	17
MAR (µm/d)	1.20	0.91	0.94	0.84	1.10	1.06	0.92	0.87
% change from control	N/A	N/A	-21	-7	-8	16	-23	-4
BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)	99.8	43.6	104.6	53.7	128.2	58.8	102.4	48.7
% change from control	N/A	N/A	5	23	28	35	3	12
Md.S/dLS (%)	45.0	34.9	45.8	61.0	51.3	47.6	50.0	47.4
% change from control	N/A	N/A	2	75	14	36	11	36
Rm.S/dLS (%)	53.0	63.0	52.4	37.9	47.3	50.0	48.3	50.5
% change from control	N/A	N/A	-1	-40	-11	-21	-9	-20

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Histomorphometry								
Tibial cortical bone								
Tt.T.Ar (mm^2)	41.09	35.16	43.96	36.56	45.36	40.61	46.48	40.16
% change from control	N/A	N/A	7	4	10	16	13	14
Ct.Ar (mm^2)	33.25	28.98	37.36	30.61	40.00	34.44	39.24	33.74
% change from control	N/A	N/A	12	6	20	19	18	16
Me.Ar (mm^2)	7.84	6.18	6.60	5.96	5.35	6.17	7.25	6.42
% change from control	N/A	N/A	-16	-4	-32	0	-8	4
Ct.Wi (mm)	2.03	1.90	2.27	2.00	2.44	2.15	2.30	2.11
% change from control	N/A	N/A	12	5	20	13	13	11
%Po.Ar (%)	4.58	1.83	4.93	2.47	5.84	2.47	3.63	1.45
% change from control	N/A	N/A	8	35	28	35	-21	-21
Ec.E.Pm/Ec.Pm (%)	23.7	0.0	1.7	0.0	5.2	0.0	0.0	0.0
% change from control	N/A	N/A	-93	∞	-78	∞	-100	∞
Ps.BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)	402.2	151.3	358.5	244.1	529.7	146.6	388.9	252.1
% change from control	N/A	N/A	-11	61	32	-3	-3	67
Ec.L.Pm/Ec.Pm (%)	27.9	30.9	67.2 A	42.3	55.2	87.6 D	89.1 B	86.2
% change from control	N/A	N/A	141	37	98	184	219	179
Ec.MAR	1.16	0.64	0.84	0.68	0.95	0.79	1.03	0.74
% change from control	N/A	N/A	28	7	-18	24	-11	15

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Histomorphometry								
Tibial cortical bone								
Ec.BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)	103.6	76.3	209.7	101.7	189.7	252.3 B	339.5 A	232.0 B
% change from control	N/A	N/A	102	33	83	231	228	204
H.BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)	56.9	18.5	54.2	32.0	58.8	27.8	82.6	21.3
% change from control	N/A	N/A	-5	73	3	50	45	15
Ec.Rm.S/dLS (%)	49.1	2.7	5.0 A	1.8	11.3	0.0	4.7 A	3.8
% change from control	N/A	N/A	-90	-33	-77	-100	-90	41
Ec.Md.S/dLS (%)	47.1	94.8	94.2 A	96.7	87.3	99.1	94.0 A	94.2
% change from control	N/A	N/A	100	2	85	4	100	-1
Bone Densitometry - DXA – ex vivo								
Lumbar vertebral body (L3)								
BMC (g)	0.361	0.392	0.539	0.472	0.563 A	0.571 A	0.658 B	0.613 B
% change from control	N/A	N/A	49.1	20.6	55.7	45.7	82.1	56.5
BMD (g/cm^2)	0.256	0.341	0.379 B	0.398	0.390 B	0.461 B	0.473 C	0.513 C
% change from control	N/A	N/A	48.3	16.6	52.7	35.2	84.9	50.5

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - DXA – ex vivo								
Caudal vertebral core (L6)								
BMC (g)	0.022	0.034	0.045 C	0.039	0.044 C	0.045	0.055 C	0.055 C
% change from control	N/A	N/A	101.8	15.8	96.8	33.4	147.1	63.0
BMD (g/cm^2)	0.118	0.168	0.210 C	0.190	0.207 C	0.214	0.252 C	0.254 C
% change from control	N/A	N/A	77.7	12.8	74.8	27.4	112.9	51.0
Bone Densitometry - pQCT – ex vivo								
Lumbar vertebral body (L3)								
Total BMC (mg/mm)	37.55	43.74	55.14	57.67	58.47	65.56 A	79.63 B	74.17 B
% change from control	N/A	N/A	46.8	31.8	55.7	49.9	112.1	69.6
Total BMD (mg/cm^3)	305.1	466.0	455.5 A	576.5	488.2 A	637.7 B	677.6 C	747.9 C
% change from control	N/A	N/A	49.3	23.7	60.0	36.8	122.1	60.5
Trabecular BMC (mg/mm)	4.73	12.28	13.95	20.39	17.12	23.60 A	31.16 B	30.91 B
% change from control	N/A	N/A	194.9	66.0	261.9	92.2	558.8	151.7
Trabecular BMD (mg/cm^3)	70.1	237.0	207.8	307.2	258.4	416.4 A	476.7 C	566.7 C
% change from control	N/A	N/A	196.4	29.6	268.6	75.7	580.0	139.1

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - pQCT – ex vivo								
Caudal vertebral core (L6)								
Trabecular BMC (mg/mm)	7.21	9.53	11.69 B	11.01	11.25 B	12.68	13.66 C	14.13 B
% change from control	N/A	N/A	62.1	15.5	56.0	33.1	89.5	48.3
Trabecular BMD (mg/cm^3)	340.2	436.3	535.8 B	515.1	518.8 B	598.3	628.2 C	666.3 B
% change from control	N/A	N/A	57.5	18.1	52.5	37.1	84.7	52.7
Bone Densitometry - Micro-CT - ex vivo								
Lumbar vertebral body (L3)								
Total Region vBMD (mg HA/cm^3)	316.17	440.07	442.67 B	488.55	470.75 C	565.81 B	597.75 C	634.37 C
% change from control	N/A	N/A	40.0	11.0	48.9	28.6	89.1	44.2
Total Region vBMC (mg HA)	259.55	301.23	376.14	350.10	411.51 B	414.27	483.65 C	444.09 A
% change from control	N/A	N/A	44.9	16.2	58.6	37.5	86.3	47.4
Total Region BMC (mg HA/mm)	39.368	43.233	54.715	49.489	59.106 A	59.620 A	71.879 C	64.038 B
% change from control	N/A	N/A	39.0	14.5	50.1	37.9	82.6	48.1
Total Bone Area (mm^2)	41.340	44.784	62.438	53.869	67.039 A	67.500 A	82.970 C	72.644 B
% change from control	N/A	N/A	51.0	20.3	62.2	50.7	100.7	62.2
Trabecular Region vBMD (mg HA/cm^3)	247.09	364.65	379.88 B	415.30	418.75 C	475.27 A	516.10 C	543.59 B
% change from control	N/A	N/A	53.7	13.9	69.5	30.3	108.9	49.1
Trabecular Region vBMC (mg HA)	172.66	208.18	269.08 A	241.39	302.92 B	250.37	291.67 B	257.00
% change from control	N/A	N/A	55.8	15.9	75.4	20.3	68.9	23.4

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - Micro-CT - ex vivo								
Lumbar vertebral body (L3)								
Trabecular Region BMC (mg HA/mm)	26.292	29.820	39.133	34.080	43.477 D	36.022	43.234 D	37.046
% change from control	N/A	N/A	48.8	14.3	65.4	20.8	64.4	24.2
Trabecular Region Area (mm^2)	106.46	80.189	102.82	81.907	104.40	75.841	83.375 A	68.043
% change from control	N/A	N/A	-3.4	2.1	-1.9	-5.4	-21.7	-15.1
Trabecular Bone Area (mm^2)	24.876	28.886	43.095	35.671	47.254	39.215	48.396 D	40.897
% change from control	N/A	N/A	73.2	23.5	90.0	35.8	94.5	41.6
Trabecular BV/TV (%)	23.37	34.97	41.84 B	43.47	45.36 C	51.81 A	57.62 C	59.93 C
% change from control	N/A	N/A	79.0	24.3	94.1	48.1	146.5	71.4
Trabecular Number (1/mm)	1.3370	1.6624	1.4690	1.7683	1.6077	1.6097	1.6801	1.7041
% change from control	N/A	N/A	9.9	6.4	20.2	-3.2	25.7	2.5
Trabecular Thickness (mm)	0.1878	0.2192	0.2768	0.2528	0.2996	0.3228 B	0.3640 E	0.3595 C
% difference from control	N/A	N/A	47.4	15.3	59.5	47.3	93.8	64.0
Trabecular Separation (mm)	0.7109	0.5459	0.5946	0.4749	0.5496	0.4970	0.4781 A	0.4266
% difference from control	N/A	N/A	-16.4	-13.0	-22.7	-9.0	-32.7	-21.9
SMI	0.6552	-0.1020	-1.0107	-0.8637	-1.1575 A	-1.7558 A	-3.1186 C	-3.1987 C
% difference from control	N/A	N/A	-254.3	747.0	-276.7	1621.8	-576.0	3036.7

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - Micro-CT - ex vivo								
Lumbar vertebral body (L3)								
Cortical Region vBMD (mg HA/cm^3)	719.28	775.68	754.70	794.37	720.88	800.02	788.55 A	822.89
% difference from control	N/A	N/A	4.9	2.4	0.2	3.1	9.6	6.1
Cortical Region vBMC (mg HA)	86.886	93.047	107.06	108.72	108.59	163.90 B	191.98 C	187.09 C
% difference from control	N/A	N/A	23.2	16.8	25.0	76.1	121.0	101.1
Cortical Region BMC (mg HA/mm)	13.076	13.413	15.582	15.409	15.629	23.599 B	28.645 D	26.992 C
% difference from control	N/A	N/A	19.2	14.9	19.5	75.9	119.1	101.2
Cortical Region Area (mm^2)	18.051	17.266	20.632	19.380	21.556	29.485 B	36.315 D	32.817 C
% difference from control	N/A	N/A	14.3	12.2	19.4	70.8	101.2	90.1
Cortical Bone Area (mm^2)	16.465	15.899	19.343	18.198	19.785	28.285 B	34.574 D	31.747 C
% difference from control	N/A	N/A	17.5	14.5	20.2	77.9	110.0	99.7
Cortical Thickness (mm)	0.330	0.354	0.378	0.386	0.374	0.562 B	0.608 C	0.667 C
% difference from control	N/A	N/A	14.4	9.2	13.2	59.0	84.2	88.6
Caudal vertebral core (L6)								
Trabecular Region vBMD (mg HA/cm^3)	255.15	377.87	444.84 C	441.21	444.37 C	540.70	552.48 C	570.75 B
% difference from control	N/A	N/A	74.3	16.8	74.2	43.1	116.5	51.0
Trabecular Region vBMC (mg HA)	21.623	28.458	36.890 C	32.6363	36.747 C	34.591	45.569 C	45.678 C
% difference from control	N/A	N/A	70.6	14.7	69.9	21.6	110.7	60.5

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Bone Densitometry - Micro-CT - ex vivo								
Caudal vertebral core (L6)								
Trabecular Region BMC (mg HA/mm)	5.0568	7.5482	8.8842 C	8.7188	8.8138 C	10.417	10.891 C	11.087 B
% difference from control	N/A	N/A	75.7	15.5	74.3	38.0	115.4	46.9
Trabecular Bone Area (mm^2)	4.1902	6.8169	8.8535	8.5574	8.9527	11.116	11.777 E	11.678 B
% difference from control	N/A	N/A	111.3	25.5	113.7	63.1	181.1	71.3
Trabecular BV/TV (%)	21.15	34.11	44.33 C	43.33	45.14 C	57.71	59.75 C	60.11 B
% difference from control	N/A	N/A	109.6	27.1	113.5	69.2	182.6	76.2
Trabecular Number (1/mm)	1.9461	3.1007	2.7128	3.0736	2.6565	3.3472	2.9655	3.2012
% difference from control	N/A	N/A	39.4	-0.9	36.5	7.9	52.4	3.2
Trabecular Thickness (mm)	0.1302	0.1292	0.1951 C	0.1613	0.2003 C	0.2035	0.2284 C	0.2241 B
% difference from control	N/A	N/A	49.9	24.8	53.9	57.5	75.5	73.4
Trabecular Separation (mm)	0.5174	0.2892	0.3379	0.2790	0.3485	0.2422	0.2614 A	0.2346
% difference from control	N/A	N/A	-34.7	-3.5	-32.6	-16.3	-49.5	-18.9
SMI	1.5507	0.8523	0.0335	-0.0530	0.0190	-2.5118	-2.8148 E	-2.4351 B
% difference from control	N/A	N/A	-97.8	-106.2	-98.8	-394.7	-281.5	-385.7
Biomechanical testing								
Lumbar vertebral body (L3)								
Yield Load (N)	2201	2495	2914	2798	3476	4567 B	4221 B	4865 B
% change from control	N/A	N/A	32.4	12.2	57.9	83.1	91.8	95.0

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Biomechanical testing								
Lumbar vertebral body (L3)								
Yield Stress (MPa)	17.90	26.81	24.20	28.03	29.16 A	44.54 B	36.17 C	49.00 C
% change from control	N/A	N/A	35.2	4.5	62.9	66.1	102.1	82.8
Stiffness (N/mm)	9000	13805	13370	17639	13851	12125	20805 E	19010
% change from control	N/A	N/A	48.6	27.8	53.9	-12.2	131.2	37.7
Modulus (MPa)	527	1094	833	1323	890	876	1327 E	1455
% change from control	N/A	N/A	58.0	21.0	68.9	-19.9	151.7	33.1
AUC (N•mm)	446	419	496	496	750	1258 D	737	1151
% change from control	N/A	N/A	11.3	18.5	68.1	200.6	65.3	175.0
Toughness (MPa)	0.50	0.61	0.55	0.67	0.82	1.66 A	0.85 A	1.50 A
% change from control	N/A	N/A	9.9	9.3	64.6	172.6	70.8	146.8
Caudal vertebral core (L6)								
Yield Load (N)	123.5	163.6	235.3	204.8	253.3	198.9	288.4 D	332.7 A
% change from control	N/A	N/A	90.5	25.2	105.0	21.6	133.4	103.4
Yield Stress (MPa)	5.82	7.47	10.76	9.53	11.66	9.38	13.24 D	15.63 A
% change from control	N/A	N/A	84.9	27.6	100.3	25.5	127.5	109.2
Stiffness (N/mm)	1497	1461	2991	2154	2311	2114	3212	2972
% change from control	N/A	N/A	99.8	47.4	54.4	44.6	114.5	103.4
Modulus (MPa)	325	303	631	430	488	400	672	612
% change from control	N/A	N/A	94.6	42.1	50.2	32.1	107.0	102.1

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Biomechanical testing								
Caudal vertebral core (L6)								
AUC (N-mm)	7	13	12	14	20	12	17	23
% change from control	N/A	N/A	76.2	3.14	185.7	-9.4	138.1	73.6
Toughness (MPa)	0.07	0.14	0.12	0.15	0.20	0.14	0.17	0.25
% change from control	N/A	N/A	70.1	8.7	178.6	1.0	134.0	76.6
Ash Testing								
Lumbar vertebral body (L3)								
Dry Weight (g)	0.54	0.57	0.77	0.67	0.81 A	0.79	0.94 B	0.85 A
% difference from control	N/A	N/A	42.6	17.5	50.0	38.6	74.1	49.1
Ash Weight (g)	0.32	0.34	0.46	0.40	0.48 A	0.49 A	0.56 B	0.52 B
% difference from control	N/A	N/A	43.8	17.6	50.0	44.1	75.0	52.9
Tissue Mineralization (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Caudal vertebral core (L6)								
Dry Weight (g)	0.031	0.046	0.061	0.052	0.064	0.058	0.096 E	0.073 C
% difference from control	N/A	N/A	96.8	13.0	106.5	26.1	209.7	58.7
Ash Weight (g)	0.016	0.027	0.037	0.033	0.037	0.038 A	0.059 E	0.047 C
% difference from control	N/A	N/A	131.3	22.2	131.3	40.7	268.8	74.1
Tissue Mineralization (%)	-	-	-	-	-	-	-	-

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	1	1	2	2
Bone Formation Markers								
Bone Alkaline Phosphatase (U/L)								
Week 33	564.55	284.65	560.10	159.10	566.80	245.50	420.65	226.70
% change from control	N/A	N/A	-0.8	-44.1	0.4	-13.8	-25.5	-20.4
% change from 2nd pretreatment	33.10	-8.09	54.84	-22.33	18.55	-24.76	12.61	0.27
Week 40	515.60	254.20	433.90	157.00	483.20	222.50	391.20	202.45
% change from control	N/A	N/A	-15.8	-38.2	-6.3	-12.5	-24.1	-20.4
% change from 2nd pretreatment	20.27	-17.91	19.34	-22.94	1.07	-31.81	4.55	-5.44
P1NP (µg/L)								
Week 33	4327.6	922.0	3367.1	440.2	4090.4	718.8	3423.4	898.7
% change from control	N/A	N/A	-22.2	-52.3	-5.5	-22.0	-20.9	-2.5
% change from 2nd pretreatment	41.64	-8.01	98.89	-52.41	26.57	-62.33	53.07	-18.92
Week 40	2233.8	658.5	2079.4	501.9	1232.9	540.8	1863.0	731.0
% change from control	N/A	N/A	-6.9	-23.8	-44.8	-17.9	-16.6	11.0
% change from 2nd pretreatment	-28.13	-35.71	17.78	-40.94	-61.85	-71.66	-13.69	-29.22
Osteocalcin (ng/mL)								
Week 33	45.61	41.13	48.17	23.12	56.86	26.52	62.43	29.83
% change from control	N/A	N/A	5.6	-43.8	24.7	-35.5	36.9	-27.5
% change from 2nd pretreatment	-25.46	-13.47	-15.71	-45.77	-25.39	-30.68	-0.02	-13.09

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	1	1	2	2
Bone Formation Markers								
Osteocalcin (ng/mL)								
Week 40	46.11	35.63	47.51	22.17	47.13	23.38	45.80	27.18
% change from control	N/A	N/A	3.0	-37.8	2.2	-34.4	-0.7	-23.7
% change from 2nd pretreatment	-24.15	-26.65	-17.04	-48.35	-38.16	-38.90	-25.06	-22.25
Bone Densitometry - DXA								
Lumbar Spine (L1-L4)								
Area (cm^2)	13.31	11.42	11.98	11.68	13.29	12.00	12.90	12.49
% change from control	N/A	N/A	-10.0	2.3	-0.1	5.1	-3.1	9.4
% change from pretreatment	32.65	7.79	25.09	6.46	40.95	11.34	34.10	18.09
BMC (g)	8.797	7.641	8.266	8.068	10.464	8.042	9.773	9.533
% change from control	N/A	N/A	-6.0	5.6	19.0	5.3	11.1	24.8
% change from pretreatment	64.87	13.88	57.14	22.32	109.12	37.86	97.21	48.79
BMD (g/cm^2)	0.661	0.669	0.687	0.691	0.787	0.671	0.758	0.762
% change from control	N/A	N/A	3.9	3.3	19.1	0.3	14.6	13.9
% change from pretreatment	24.00	5.60	25.60	14.89	48.36	23.82	46.44	25.87
Femur – Global								
Area (cm^2)	9.136	7.857	8.789	8.148	11.069	7.061	9.299	8.705
% change from control	N/A	N/A	-3.8	3.7	21.2	-10.1	1.8	10.8
% change from pretreatment	34.50	24.76	45.02	15.20	68.84	18.75	57.05	31.74

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	1	1	2	2
Bone Densitometry - DXA								
Femur – Global								
BMC (g)	6.125	4.293	5.996	5.355	8.628	4.479	6.972	6.558
% change from control	N/A	N/A	-2.1	24.7	40.9	4.3	13.8	52.7
% change from pretreatment	83.02	35.16	96.77	27.84	172.31	49.18	145.64	80.37
BMD (g/cm^2)	0.663	0.547	0.675	0.651	0.780	0.634	0.750	0.751
% change from control	N/A	N/A	1.8	19.1	17.6	16.0	13.1	37.2
% change from pretreatment	35.04	8.54	35.67	11.13	61.28	25.63	54.94	36.81
Femur – Neck								
Area (cm^2)	0.445	0.375	0.435	0.361	0.506	0.412	0.417	0.421
% change from control	N/A	N/A	-2.1	-3.8	13.7	10.0	-6.3	12.5
% change from pretreatment	25.37	2.45	41.15	11.25	58.59	12.65	41.30	25.22
BMC (g)	0.179	0.127	0.178	0.146	0.242	0.166	0.189	0.192
% change from control	N/A	N/A	-0.8	14.9	35.4	30.9	5.4	51.6
% change from pretreatment	57.48	8.42	68.44	34.97	157.30	47.02	94.17	58.90
Femur – Neck								
BMD (g/cm^2)	0.403	0.339	0.409	0.405	0.480	0.403	0.453	0.456
% change from control	N/A	N/A	1.6	19.4	19.0	19.0	12.5	34.5
% change from pretreatment	25.91	5.82	18.81	21.43	62.25	30.51	36.92	26.98

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	1	1	2	2
Bone Densitometry - DXA								
Femur – Trochanter								
BMC (g)	0.464	0.390	0.440	0.459	0.474	0.397	0.507	0.465
% change from control	N/A	N/A	-5.2	17.8	2.3	1.7	9.4	19.2
% change from pretreatment	27.92	5.77	28.10	6.98	49.17	17.02	37.24	18.26
BMD (g/cm^2)	0.619	0.521	0.587	0.613	0.633	0.529	0.677	0.621
% change from control	N/A	N/A	-5.2	17.8	2.3	1.7	9.4	19.2
% change from pretreatment	28.11	5.93	28.29	7.14	49.40	17.20	37.44	18.44
Bone Densitometry - pQCT								
Proximal Tibia - Metaphysis								
Total area (mm^2)	111.42	71.67	98.25	79.87	113.9	80.97	93.41	99.16
% change from control	N/A	N/A	-11.8	11.4	2.3	13.0	-16.2	38.4
% change from pretreatment	31.22	-4.11	23.93	1.61	49.53	1.23	27.81	16.81
Total BMC (mg/mm)	59.76	46.24	55.04	54.01	75.60	43.87	63.51	67.62
% change from control	N/A	N/A	-7.9	16.8	26.5	-5.1	6.3	46.2
% change from pretreatment	55.23	7.71	47.53	16.96	126.69	23.37	71.91	54.07
Total BMD (mg/cm^3)	536.9	647.5	554.2	682.4	663.6	541.8	680.0	685.4
% change from control	N/A	N/A	3.2	5.4	23.6	-16.3	26.6	5.9
% change from pretreatment	19.00	12.61	18.95	15.54	51.61	21.86	34.87	31.86

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	1	1	2	2
Bone Densitometry - pQCT								
Proximal Tibia - Metaphysis								
Trabecular BMC (mg/mm)	26.79	21.21	26.18	24.77	37.78	16.52	32.83	32.53
% change from control	N/A	N/A	-2.3	16.8	41.0	-22.1	22.6	53.4
% change from pretreatment	82.71	11.44	86.45	28.29	246.92	56.74	132.31	86.34
Trabecular BMD (mg/cm^3)	403.0	498.0	431.6	525.1	550.7	339.6	584.7	550.0
% change from control	N/A	N/A	7.1	5.4	36.7	-31.8	45.1	10.4
% change from pretreatment	41.21	16.69	49.70	27.25	131.10	53.94	82.80	59.88
Cortical/Subcortical BMC (mg/mm)	32.96	25.03	28.86	29.24	37.82	27.35	30.68	35.08
% change from control	N/A	N/A	-12.4	16.8	14.8	9.3	-6.9	40.2
% change from pretreatment	38.29	4.68	24.25	8.10	68.31	9.31	36.75	32.75
Cortical/Subcortical BMD (mg/cm^3)	736.7	872.2	739.6	920.3	834.5	845.8	823.2	888.7
% change from control	N/A	N/A	0.4	5.5	13.3	-3.0	11.7	1.9
% change from pretreatment	5.04	9.20	0.79	6.33	13.31	8.90	7.12	13.27
Proximal Tibia - Diaphysis								
Total area (mm^2)	70.81	52.31	66.58	53.53	73.25	50.96	67.87	66.28
% change from control	N/A	N/A	-6.0	2.3	3.5	-2.6	-4.2	26.7
% change from pretreatment	38.36	3.19	33.87	-1.00	50.63	14.59	49.02	15.13

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	1	1	2	2
Bone Densitometry - pQCT								
Proximal Tibia - Diaphysis								
Cortical area (mm^2)	46.80	36.88	46.55	42.63	56.47	36.99	56.97	50.53
% change from control	N/A	N/A	-0.5	15.6	20.7	0.3	21.7	37.0
% change from pretreatment	56.23	3.11	49.18	4.78	87.36	27.42	85.05	34.27
Cortical BMC (mg/mm)	45.64	38.13	46.33	44.56	58.65	38.77	57.49	52.39
% change from control	N/A	N/A	1.5	16.9	28.5	1.7	26.0	37.4
% change from pretreatment	57.57	10.26	51.77	11.67	96.94	33.05	91.04	44.42
Cortical BMD (mg/cm^3)	974.9	1035.9	994.4	1045.6	1038.6	1047.9	1009.9	1038.7
% change from control	N/A	N/A	2.0	0.9	6.5	1.2	3.6	0.3
% change from pretreatment	0.94	6.88	1.72	6.59	5.10	4.39	3.19	7.46
Cortical thickness (mm)	1.981	1.862	2.076	2.272	2.518	1.919	2.786	2.368
% change from control	N/A	N/A	4.8	22.0	27.1	3.1	34.2	4.2
% change from pretreatment	37.89	1.57	34.08	8.83	66.98	24.13	69.86	33.19
Periosteal circumference (mm)	29.81	25.62	28.90	25.93	30.34	25.31	29.20	28.80
% change from control	N/A	N/A	-3.1	1.2	1.8	-1.2	1.0	11.1
% change from pretreatment	17.56	1.58	15.71	-0.50	22.73	7.05	22.07	7.29
Endosteal circumference (mm)	17.37	13.92	15.86	11.66	14.52	13.25	11.69	13.93
% change from control	N/A	N/A	-8.7	-16.2	-16.4	-4.9	-26.3	0.0
% change from pretreatment	6.26	1.37	4.03	-10.26	-4.75	-4.88	-14.02	-10.15

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	1	1	2	2
Bone Densitometry - pQCT								
Distal Radius - Metaphysis								
Total area (mm^2)	57.38	36.34	53.02	41.96	60.76	45.72	52.54	48.62
% change from control	N/A	N/A	-7.6	15.5	5.9	25.8	-8.4	33.8
% change from pretreatment	18.75	-3.45	23.86	-0.24	43.57	8.14	30.83	12.20
Total BMC (mg/mm)	31.25	24.83	29.00	27.54	44.5	25.22	34.54	30.00
% change from control	N/A	N/A	-7.2	10.9	42.4	1.6	10.5	20.7
% change from pretreatment	42.78	8.68	41.02	13.32	103.94	20.27	70.57	40.27
Total BMD (mg/cm^3)	549.9	683.6	547.9	656.4	732.4	551.6	657.0	624.1
% change from control	N/A	N/A	-0.4	-4.0	33.2	-19.3	19.5	-8.7
% change from pretreatment	20.36	12.55	13.84	13.47	42.05	11.21	30.89	25.20
Trabecular BMC (mg/mm)	12.49	11.09	11.93	11.47	22.14	8.59	17.22	12.11
% change from control	N/A	N/A	-4.5	3.5	77.3	-22.5	37.8	9.3
% change from pretreatment	69.01	16.36	71.11	26.82	215.39	38.10	126.04	71.31
Trabecular BMD (mg/cm^3)	370.2	509.8	376.9	456.0	606.2	313.1	544.1	421.5
% change from control	N/A	N/A	1.8	-10.6	63.8	-38.6	47.0	-17.3
% change from pretreatment	42.72	20.39	38.01	27.10	119.64	27.64	74.42	52.66
Cortical/Subcortical BMC (mg/mm)	18.76	13.74	17.07	16.06	22.36	16.63	17.31	17.84
% change from control	N/A	N/A	-9.0	16.9	19.2	21.0	-7.7	29.8
% change from pretreatment	29.04	3.18	25.79	5.10	51.08	12.75	38.17	24.93

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	1	1	2	2
Bone Densitometry - pQCT								
Distal Radius - Metaphysis								
Cortical/Subcortical BMD (mg/cm^3)	819.9	943.8	803.7	957.1	922.4	909.6	826.6	929.7
% change from control	N/A	N/A	-2.0	1.4	12.5	-3.6	0.8	-1.5
% change from pretreatment	8.66	7.01	1.51	5.23	5.22	4.35	5.62	11.94
Distal Radius - Diaphysis								
Total area (mm^2)	35.06	27.28	33.28	27.62	46.96	30.32	35.48	34.76
% change from control	N/A	N/A	-5.1	1.3	33.9	11.1	1.2	27.4
% change from pretreatment	38.50	7.66	42.47	8.77	66.53	23.25	62.23	25.35
Cortical area (mm^2)	25.98	21.88	24.88	21.02	38.28	22.28	29.12	26.62
% change from control	N/A	N/A	-4.2	-3.9	47.3	1.8	12.1	21.7
% change from pretreatment	43.26	16.79	47.36	9.47	94.51	19.79	71.50	34.70
Cortical BMC (mg/mm)	26.07	23.83	25.59	23.32	40.75	23.73	29.78	28.73
% change from control	N/A	N/A	-1.8	-2.1	56.3	-0.4	14.2	20.6
% change from pretreatment	39.74	21.70	43.97	12.85	92.85	23.21	70.83	40.62
Cortical BMD (mg/cm^3)	1004.1	1089.4	1028.8	1109.3	1064.6	1064.9	1022.8	1084.1
% change from control	N/A	N/A	2.5	1.8	6.0	-2.2	1.9	-0.5
% change from pretreatment	-2.44	4.20	-2.39	3.08	-0.87	2.85	-0.36	4.42

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	1	1	2	2
Bone Densitometry - pQCT								
Distal Radius - Diaphysis								
Cortical thickness (mm)	1.640	1.638	1.621	1.522	2.204	1.507	1.938	1.732
% change from control	N/A	N/A	-1.2	-7.1	34.4	-8.0	19.6	13.8
% change from pretreatment	23.48	17.54	25.30	5.34	63.38	6.43	39.40	24.96
Periosteal circumference (mm)	20.93	18.51	20.42	18.63	24.29	19.52	21.11	20.82
% change from control	N/A	N/A	-2.4	0.6	16.0	5.5	3.4	11.8
% change from pretreatment	17.62	3.76	19.33	4.26	29.04	11.02	27.33	11.96
Endosteal circumference (mm)	10.63	8.22	10.24	9.07	10.44	10.05	8.94	9.94
% change from control	N/A	N/A	-3.7	10.3	-1.8	22.3	-12.8	9.6
% change from pretreatment	12.50	-9.11	14.29	3.03	0.94	15.77	13.93	-0.08
Terminal Procedures (no. evaluated)	2	2	2	2	2	2	2	2
Histopathology [b]								
Bone L1, Hyperostosis								
Minimal	0	0	0	1	0	1	0	1
Slight	0	0	0	0	0	0	2	1
Bone Sternum, Hyperostosis								
Minimal	0	0	0	1	1	1	1	1
Slight	0	0	0	0	0	0	1	1
Bone Tibia Right, Hyperostosis								
Minimal	0	0	1	0	1	1	2	1

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	1	1	2	2
Histomorphometry								
L2 cancellous bone								
BV/TV (%)	25.1	26.0	26.0	33.8	28.6	23.7	39.5	49.9
% change from control	N/A	N/A	3.2	30.0	13.8	-8.6	57.0	92.3
OV/BV (%)	2.56	1.03	1.83	1.51	1.14	1.97	0.55	0.33
% change from control	N/A	N/A	-28.5	47.2	-55.4	92.2	-78.5	-67.9
OS/BS (%)	29.8	10.2	19.9	16.2	24.6	20.8	8.1	6.1
% change from control	N/A	N/A	-33.1	59.1	-17.5	105.3	-72.7	-40.4
Oc.S/BS (%)	1.00	1.82	1.09	0.88	1.13	0.83	1.86	1.12
% change from control	N/A	N/A	8.9	-51.7	13.3	-54.5	86.1	-38.3
ES/BS (%)	6.6	8.4	8.1	7.0	10.2	4.5	8.4	7.0
% change from control	N/A	N/A	24.0	-16.0	56.0	-46.0	28.5	-16.6
W.Th (µm)	33.1	28.2	31.4	26.1	28.9	27.0	34.4	25.7
% change from control	N/A	N/A	-5.3	-7.8	-12.8	-4.3	3.8	-9.2
MS/BS (%)	24.0	12.8	24.5	20.4	27.0	19.0	4.2	5.5
% change from control	N/A	N/A	2.0	58.8	12.4	48.4	-82.5	-57.4
MAR (µm/d)	0.95	0.90	0.98	0.87	0.79	0.74	0.96	0.95
% change from control	N/A	N/A	3.9	-2.9	-16.1	-17.5	2.0	5.9
BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)	84.4	39.4	88.6	63.9	78.2	51.4	16.1	18.8
% change from control	N/A	N/A	4.9	62.0	-7.4	30.4	-80.9	-52.3

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	1	1	2	2
Histomorphometry								
L2 cancellous bone								
Md.S/dLS (%)	37.64	24.56	37.78	31.49	22.12	27.85	33.18	20.16
% change from control	N/A	N/A	0.4	28.2	-41.2	13.4	-11.9	-17.9
Rm.S/dLS (%)	60.52	79.12	60.23	66.38	76.30	70.16	64.56	77.08
% change from control	N/A	N/A	-0.5	-16.1	26.1	-11.3	6.7	-2.6
Tibial cortical bone								
Tt.T.Ar (mm^2)	53.69	37.56	43.78	36.09	51.43	36.87	49.09	46.55
% change from control	N/A	N/A	-18.5	-3.9	-4.2	-1.8	-8.6	23.9
Ct.Ar (mm^2)	41.35	28.98	38.57	30.09	45.25	30.29	45.33	39.24
% change from control	N/A	N/A	-6.7	3.8	9.4	4.5	9.6	35.4
Me.Ar (mm^2)	12.34	8.58	5.20	6.00	6.18	6.58	3.76	7.31
% change from control	N/A	N/A	-57.8	-30.1	-49.9	-23.3	-69.5	-14.8
Ct.Wi (mm)	2.16	1.73	2.44	1.98	2.68	1.92	2.76	2.24
% change from control	N/A	N/A	13.2	14.6	24.1	11.4	27.7	29.7
%Po.Ar (%)	4.03	1.97	4.12	2.19	1.81	2.11	3.75	1.94
% change from control	N/A	N/A	2.4	11.0	-55.1	7.0	-6.8	-1.4
Ec.E.Pm/Ec.Pm (%)	12.0	0.0	3.6	0.0	0.0	0.0	5.0	0.0
% change from control	N/A	N/A	-70.1	N/A	-100.0	N/A	-58.0	N/A
Ps.BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)	414.3	77.4	299.5	49.1	341.3	8.5	200.0	0.1
% change from control	N/A	N/A	-27.7	-36.5	-17.6	-89.0	-51.7	-99.8

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	1	1	2	2
Histomorphometry								
Tibial cortical bone								
Ec.L.Pm/Ec.Pm (%)	31.6	4.1	22.0	19.5	0.4	0.0	0.7	2.2
% change from control	N/A	N/A	-30.4	375.0	-98.6	-100.0	-97.9	-46.8
Ec.MAR	1.02	0.51	0.54	0.46	0.20	0.20	0.20	0.20
% change from control	N/A	N/A	-47.0	-10.1	-80.4	-60.8	-80.4	-60.8
Ec.BFR/BS ($\mu m^3/\mu m^2/yr$)	132.6	11.3	69.8	50.9	0.3	0.0	0.5	1.6
% change from control	N/A	N/A	-47.3	352.4	-99.8	-100.0	-99.6	-85.9
Bone Densitometry - DXA – ex vivo								
Lumbar vertebral body (L3)								
BMC (g)	0.4205	0.3253	0.4497	0.4275	0.5954	0.4125	0.6469	0.5753
% change from control	N/A	N/A	6.9	31.4	41.6	26.8	53.8	76.9
BMD (g/cm^2)	0.2476	0.2942	0.3203	0.3730	0.3448	0.3346	0.4121	0.4838
% change from control	N/A	N/A	29.4	26.8	39.3	13.7	66.4	64.4
Caudal vertebral core (L6)								
BMC (g)	0.0201	0.0279	0.0275	0.0400	0.0370	0.0285	0.0429	0.0483
% change from control	N/A	N/A	36.8	43.4	84.1	2.2	113.4	73.1
BMD (g/cm^2)	0.1104	0.1479	0.1449	0.1876	0.1806	0.1457	0.1998	0.2306
% change from control	N/A	N/A	31.3	26.8	63.6	-1.5	81.0	55.9

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	1	1	2	2
Bone Densitometry – pQCT – ex vivo								
Lumbar vertebral body (L3)								
Total BMC (mg/mm)	51.21	32.58	50.66	46.28	62.47	45.46	82.78	69.49
% change from control	N/A	N/A	-1.1	42.1	22.0	39.5	61.6	113.3
Total BMD (mg/cm^3)	333.3	357.7	404.9	487.1	417.5	441.6	589.8	692.7
% change from control	N/A	N/A	21.5	36.2	25.3	23.5	77.0	93.7
Trabecular BMC (mg/mm)	9.57	6.37	12.31	12.13	11.54	9.01	29.17	26.94
% change from control	N/A	N/A	28.6	90.4	20.6	41.4	204.8	322.9
Trabecular BMD (mg/cm^3)	114.8	127.0	180.3	225.4	140.2	159.2	375.6	483.9
% change from control	N/A	N/A	57.1	77.5	22.1	25.4	227.2	281.0
Caudal vertebral core (L6)								
Trabecular BMC (mg/mm)	6.81	8.15	8.76	10.59	8.99	7.14	12.02	11.60
% change from control	N/A	N/A	28.6	29.9	32.0	-12.4	76.5	42.3
Trabecular BMD (mg/cm^3)	317.4	374.9	413.6	485.1	407.2	329.8	550.7	551.6
% change from control	N/A	N/A	30.3	29.4	28.3	-12.0	73.5	47.1
Bone Densitometry - Micro-CT - ex vivo								
Lumbar vertebral body (L3)								
Total Region vBMD (mg HA/cm^3)	323.01	368.29	389.01	456.19	384.73	435.09	480.43	566.82
% change from control	N/A	N/A	20.4	23.9	19.1	18.1	48.7	53.9

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	1	1	2	2
Bone Densitometry - Micro-CT - ex vivo								
Lumbar vertebral body (L3)								
Total Region vBMC (mg HA)	350.29	248.13	332.66	318.07	389.51	321.89	461.00	375.55
% change from control	N/A	N/A	-5.0	28.2	11.2	29.7	31.6	51.4
Total Region BMC (mg HA/mm)	50.258	35.237	48.929	44.839	58.485	46.651	66.959	53.270
% change from control	N/A	N/A	-2.6	27.2	16.4	32.4	33.2	51.2
Total Bone Area (mm^2)	49.405	36.593	52.818	48.605	68.399	47.025	75.185	59.379
% change from control	N/A	N/A	6.9	32.8	38.4	28.5	52.2	62.3
Trabecular Region vBMD ($mg\ HA/cm^3$)	272.27	300.18	319.44	375.57	311.92	351.85	414.24	512.23
% change from control	N/A	N/A	17.3	25.1	14.6	17.2	52.1	70.6
Trabecular Region vBMC (mg HA)	260.09	171.87	226.20	215.30	263.74	211.67	326.17	273.56
% change from control	N/A	N/A	-13.0	25.3	1.4	23.2	25.4	59.2
Trabecular Region BMC (mg HA/mm)	37.330	24.393	33.266	30.374	39.601	30.677	47.329	39.009
% change from control	N/A	N/A	-10.9	24.5	6.1	25.8	26.8	59.9
Trabecular Region Area (mm^2)	137.02	81.158	105.40	80.212	126.96	87.189	114.33	75.004
% change from control	N/A	N/A	-23.1	-1.2	-7.3	7.4	-16.6	-7.6
Trabecular Bone Area (mm^2)	33.142	23.735	33.527	31.925	44.885	28.388	51.237	42.900
% change from control	N/A	N/A	1.2	34.5	35.4	19.6	54.6	80.7

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	1	1	2	2
Bone Densitometry - Micro-CT - ex vivo								
Lumbar vertebral body (L3)								
Trabecular BV/TV (%)	24.13	29.29	32.21	39.58	35.35	32.56	45.09	56.25
% change from control	N/A	N/A	33.5	35.1	46.5	11.2	86.9	92.0
Trabecular Number (1/mm)	1.2753	1.5269	1.6462	1.5443	1.5097	1.6345	1.7044	1.8238
% change from control	N/A	N/A	29.1	1.1	18.4	7.0	33.6	19.4
Trabecular Thickness (mm)	0.2016	0.2028	0.2192	0.2663	0.2763	0.2482	0.3439	0.3364
% difference from control	N/A	N/A	8.7	31.3	37.1	22.4	70.6	65.9
Trabecular Separation (mm)	0.7314	0.6199	0.5776	0.5767	0.6241	0.5663	0.5121	0.4121
% difference from control	N/A	N/A	-21.0	-7.0	-14.7	-8.6	-30.0	-33.5
SMI	0.5468	0.3898	0.1379	-0.3214	-0.1780	0.7211	-0.6485	-2.3436
% difference from control	N/A	N/A	-74.8	-182.5	-132.6	85.0	-218.6	-701.2
Cortical Region vBMD (mg HA/cm^3)	701.75	749.88	755.50	819.23	753.71	797.42	747.14	819.98
% difference from control	N/A	N/A	7.7	9.2	7.4	6.3	6.5	9.3
Cortical Region vBMC (mg HA)	90.195	76.261	106.46	102.77	125.76	110.22	134.83	157.64
% difference from control	N/A	N/A	18.0	34.8	39.4	44.5	49.5	106.7
Cortical Region BMC (mg HA/mm)	12.928	10.844	15.663	14.464	18.884	15.973	19.631	22.451
% difference from control	N/A	N/A	21.2	33.4	46.1	47.3	51.8	107.0
Cortical Region Area (mm^2)	18.344	14.463	20.661	17.655	25.054	20.031	25.716	27.359
% difference from control	N/A	N/A	12.6	22.1	36.6	38.5	40.2	89.2

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	1	1	2	2
Bone Densitometry - Micro-CT - ex vivo								
Lumbar vertebral body (L3)								
Cortical Bone Area (mm^2)	16.263	12.858	19.292	16.679	23.514	18.637	23.948	26.176
% difference from control	N/A	N/A	18.6	29.7	44.6	44.9	47.3	103.6
Cortical Thickness (mm)	0.298	0.280	0.378	0.376	0.417	0.388	0.458	0.546
% difference from control	N/A	N/A	26.8	34.3	39.9	38.6	53.7	95.0
Caudal vertebral core (L6)								
Trabecular Region vBMD ($mg\ HA/cm^3$)	249.29	299.39	330.27	401.58	385.89	269.28	456.04	508.17
% difference from control	N/A	N/A	32.5	34.1	54.8	-10.1	82.9	69.7
Trabecular Region vBMC (mg HA)	19.622	22.182	25.482	34.082	32.438	22.410	36.347	41.646
% difference from control	N/A	N/A	29.9	53.6	65.3	1.0	85.2	87.7
Trabecular Region BMC (mg HA/mm)	4.9385	5.9720	6.4480	8.0366	7.7234	5.3510	9.0268	9.6920
% difference from control	N/A	N/A	30.6	34.6	56.4	-10.4	82.8	62.3
Trabecular Bone Area (mm^2)	4.1067	5.6814	5.4132	7.7604	7.2018	5.3333	9.0242	9.7799
% difference from control	N/A	N/A	31.8	36.6	75.4	-6.1	119.7	72.1
Trabecular BV/TV (%)	20.73	28.47	27.73	38.78	35.98	26.84	45.59	51.33
% difference from control	N/A	N/A	33.8	36.2	73.6	-5.7	119.9	80.3

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	1	1	2	2
Bone Densitometry - Micro-CT - ex vivo								
Caudal vertebral core (L6)								
Trabecular Number (1/mm)	2.0791	2.7692	2.5513	3.1014	2.6605	2.5767	3.0663	3.7744
% difference from control	N/A	N/A	22.7	12.0	28.0	-7.0	47.5	36.3
Trabecular Thickness (mm)	0.1197	0.1181	0.1331	0.1514	0.1522	0.1237	0.2024	0.1750
% difference from control	N/A	N/A	11.2	28.2	27.2	9.0	69.1	48.2
Trabecular Separation (mm)	0.4481	0.3315	0.3904	0.2918	0.3528	0.3658	0.3035	0.2268
% difference from control	N/A	N/A	-12.9	-12.0	-21.3	10.3	-32.3	-31.6
SMI	1.6042	1.0163	1.2769	0.5655	0.2273	1.3105	0.2844	-1.1679
% difference from control	N/A	N/A	-20.4	-44.4	-85.8	28.9	-82.3	-214.9
Biomechanical testing								
Lumbar vertebral body (L3)								
Yield Load (N)	2714	2091	2322	2832	3295	2475	3231	3890
% change from control	N/A	N/A	-14.4	35.4	21.4	18.4	19.1	86.0
Yield Stress (MPa)	17.56	23.00	18.49	30.20	22.02	24.04	23.63	38.32
% change from control	N/A	N/A	5.3	31.3	25.4	4.5	34.6	66.6
Stiffness (N/mm)	15802	15023	8930	15045	10229	17343	12713	17544
% change from control	N/A	N/A	-43.5	0.1	-35.3	15.4	-19.6	16.8
Modulus (MPa)	761	1217	523	1185	511	1247	684	1303
% change from control	N/A	N/A	-31.2	-2.7	-32.8	2.5	-10.1	7.1

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E. 反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	1	1	2	2
Biomechanical testing								
Lumbar vertebral body (L3)								
AUC (N•mm)	474	308	509	479	755	361	657	668
% change from control	N/A	N/A	7.3	55.6	59.3	17.4	38.6	117.2
Toughness (MPa)	0.41	0.46	0.55	0.68	0.68	0.47	0.65	0.88
% change from control	N/A	N/A	33.4	49.1	64.3	3.4	57.6	91.6
Caudal vertebral core (L6)								
Yield Load (N)	114.1	139.1	158.0	195.3	150.1	141.4	187.7	203.4
% change from control	N/A	N/A	38.6	40.4	31.6	1.7	64.6	46.3
Yield Stress (MPa)	5.32	6.29	7.45	8.95	6.79	6.52	8.60	9.64
% change from control	N/A	N/A	40.2	42.2	27.8	3.7	61.7	53.3
Stiffness (N/mm)	1121	1427	1012	2824	1342	669	1512	2006
% change from control	N/A	N/A	-9.7	97.9	19.8	-53.1	34.9	40.6
Modulus (MPa)	223	279	200	595	281	139	303	436
% change from control	N/A	N/A	-10.3	113.6	26.3	-50.1	36.0	56.6
AUC (N•mm)	8	9	18	10	10	18	16	14
% change from control	N/A	N/A	133.3	11.8	33.3	111.8	106.7	58.8
Toughness (MPa)	0.08	0.09	0.20	0.09	0.10	0.18	0.16	0.14
% change from control	N/A	N/A	135.8	3.7	16.8	101.5	86.1	51.5

Footnotes are on the last page of the table.

表 7E.　反復投与毒性：主要な試験
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Repeat-dose Toxicity								Amgen Study No. 107426
Dose (mg/kg)	0		3		10		100	
Number of Animals [a]	M:6	F:6	M:5	F:5	M:5	F:4	M:6	F:6
Postdose Evaluation (No evaluated)	2	2	2	2	1	1	2	2
Ash Testing								
Lumbar vertebral body (L3)								
Dry Weight (g)	0.67	0.48	0.65	0.60	0.87	0.59	0.90	0.80
% difference from control	N/A	N/A	3.0	25.0	29.9	22.9	34.3	66.7
Ash Weight (g)	0.38	0.28	0.39	0.37	0.51	0.36	0.54	0.49
% difference from control	N/A	N/A	2.6	32.1	34.2	28.6	42.1	42.9
Tissue Mineralization (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Caudal vertebral core (L6)								
Dry Weight (g)	0.03	0.04	0.04	0.05	0.04	0.04	0.06	0.07
% difference from control	N/A	N/A	33.3	25.0	33.3	0.0	100.0	75.0
Ash Weight (g)	0.02	0.02	0.02	0.03	0.03	0.03	0.03	0.04
% difference from control	N/A	N/A	0.0	50.0	50.0	50.0	50.0	100.0
Tissue Mineralization (%)	-	-	-	-	-	-	-	-

$AUC_{0\text{-}168}$ = area under the plasma drug concentration-time curve from time zero to 168 hours post dose; $AUC_{0\text{-}inf}$ = area under the plasma drug concentration-time curve from time zero to infinity; BMC = Bone Mineral Content; BMD = Bone Mineral Density; BQL=Below quantitative level; DXA = Dual Energy X-Ray Absorptiometry; L1 = 1st lumbar vertebrae; L2 = 2nd lumbar vertebrae; L3 = 3rd lumbar vertebrae; L4 = 4th lumbar vertebrae; L6 = 6th lumbar vertebrae; N/A = not applicable; P1NP = N-terminal propetide of type 1 procollagen; pQCT = Peripheral Quantitative Computed Tomography; SD = standard deviation; $T_{1/2},z$ = terminal phase half life. - No noteworthy findings; ∞ Cannot be calculated due to 0 denominator and 0 numerator.

Statistics: Significantly different from control group (group 1) value: A - $P \leq 0.05$ B - $P \leq 0.01$ C - $P \leq 0.001$ (Dunnett) and D - $P \leq 0.05$ E - $P \leq 0.01$ G - $P \leq 0.001$ (Dunn)

[a] Main study animals (4/sex/group) were euthanized on week 26 and the remaining animals were euthanized after a 14-week recovery period.

[b] Incidence is presented

表 8　遺伝毒性：　*In Vitro*
被験物質：ロモソズマブ

In vitro 遺伝毒性試験は、実施しなかった。

表 9　遺伝毒性：　*In Vivo*
被験物質：ロモソズマブ

In vivo 遺伝毒性試験は、実施しなかった。

表 10A. がん原性
被験物質：ロモソズマブ

Carcinogenicity	Report Title: AMG 785: 104 Week Subcutaneous Lifetime Pharmacology Study in the Sprague Dawley Rat					Test Article: AMG 785		
Species/Strain: Rat/Crl:CD®(SD)Sprague Dawley	Duration of Dosing: Once weekly; 90 to 91 weeks for males and 98 weeks for females					Amgen Study No.: 107895		
Initial Age: 8 weeks old	Method of Administration: Subcutaneous injection					[redacted] Study No.: 670713		
Date of First Dose: [redacted] 20[redacted]	Vehicle/Formulation: AMG 785 Placebo: 55mM acetate, 13mM calcium, 6% sucrose, 0.006% polysorbate 20, pH 5.2							
	Treatment of Controls: Once weekly; 90 to 91 weeks for males and 98 weeks for females					GLP Compliance: Yes		
Basis for High-dose Selection: Exposure predicted to be 19-fold higher than human exposure at clinical dose of 210 mg every 4 weeks. Special Features: Bone Densitometry; exclusion of animals based on antibody status at week 12 to achieve target of 60/sex/group (see footnote a)								
Weekly Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 54	F: 60
Bioanalyitcal, concentration (ng/mL), Week 13	BLQ	BLQ	9.66	4.91	79.5	74.6	589	836
Anti-AMG 785 Antibodies								
No positive after cull (%)								
Binding Antibodies	N/A	N/A	18 (30)	0	3 (5)	0	10 (19)	1 (2)
Neutralizing Antibodies	N/A	N/A	0	N/A [a]	0	N/A [a]	0	0
Died or Euthanized	41	40	41	40	42	36	40	43
Terminal Kill	19	20	19	20	18	24	14	17
Survival (%)	31.7	33.3	31.7	33.3	30.0	40.0	25.9	28.3
Body Weight (%)	-	-	-	-	-	-	-	-

Footnotes are on the last page of the table.

表 10A. がん原性
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Carcinogenicity							Amgen Study No.: 107895	
Weekly Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 54	F: 60
Food Consumption (%)	-	-	-	-	-	-	-	-
Clinical Observations	-	-	-	-	-	-	-	-
Postmortem Analyses – Number Evaluated	60	60	60	60	60	60	54	60
AMG 785-related neoplastic lesions [b]	0	0	0	0	0	0	0	0
Other with Neoplastic Lesions [b]								
Abdomen								
Malignant Mesothelioma	0	0	0	0	0	0	0	1
Sarcoma: Metastasis	0	0	0	0	0	1	0	0
Adrenal								
Adenoma: Cortical	0	6	2	3	6	1	2	7
Carcinoma: Cortical	0	1	0	0	0	0	0	0
Benign Pheochromocytoma	4	2	3	8	6	2	3	0
Malignant Pheochromocytoma	1	0	2	2	1	0	0	0
Sarcoma: Metastasis	0	0	0	1	0	0	0	1
Bone Lumbar Segment L5-L6								
Metastasis	1	0	0	0	0	0	0	0
Bone Miscellaneous								
Metastasis	1	0	0	0	0	0	0	0
Osteosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0

Footnotes are on the last page of the table.Page 2 of 19

表 10A. がん原性
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Carcinogenicity							Amgen Study No.: 107895	
Weekly Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 54	F: 60
Postmortem Analyses – Number Evaluated	60	60	60	60	60	60	54	60
Other with Neoplastic Lesions [b]								
Bone Sternum								
Sarcoma: Metastasis	0	0	0	1	0	0	0	0
Bone Tibia								
Osteosarcoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Sarcoma: Metastasis	0	0	1	1	0	0	0	0
Brain								
Benign Granular Cell Tumor	0	1	0	0	0	0	0	0
Malignant Astrocytoma	1	1	0	0	1	0	0	0
Malignant Granular Cell Tumor	1	0	0	0	0	0	0	0
Malignant Oligodendroglioma	0	0	1	0	0	1	0	0
Malignant Reticulosis	1	0	0	0	0	0	0	0
Metastasis	0	1	0	4	0	0	2	1
Cavity Nasal / Sinuses								
Carcinoma: Metastasis	0	0	0	1	1	1	0	0
Cavity Oral								
Carcinoma: Squamous Cell	1	0	0	0	1	1	1	0

Footnotes are on the last page of the table.

表 10A. がん原性
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Carcinogenicity							Amgen Study No.: 107895	
Weekly Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 54	F: 60
Postmortem Analyses – Number Evaluated	60	60	60	60	60	60	54	60
Other with Neoplastic Lesions [b]								
Cecum								
Leiomyoma	0	1	0	0	0	0	0	0
Sarcoma: Metastasis	0	0	0	0	0	0	0	1
Cervix								
Benign Schwannoma	N/A	0	N/A	1	N/A	0	N/A	0
Hemangioma	N/A	1	N/A	0	N/A	0	N/A	0
Leiomyoma	N/A	1	N/A	1	N/A	0	N/A	0
Malignant Schwannoma	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	1
Colon								
Sarcoma: Metastasis	0	0	0	1	0	1	0	1
Diaphragm								
Sarcoma: Metastasis	0	0	0	0	0	1	0	0
Duodenum								
Sarcoma: Metastasis	0	0	0	0	0	1	0	1
Epididymis								
Sarcoma: Metastasis	0	N/A	1	N/A	0	N/A	0	N/A

Footnotes are on the last page of the table.

表 10A. がん原性
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Carcinogenicity							Amgen Study No.: 107895	
Weekly Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 54	F: 60
Postmortem Analyses – Number Evaluated	60	60	60	60	60	60	54	60
Other with Neoplastic Lesions [b]								
Fat								
Malignant Mesothelioma	0	0	0	0	0	1	0	0
Sarcoma: Metastasis	0	1	0	0	0	0	0	1
Harderian Gland								
Carcinoma: Metastasis	0	0	0	1	0	0	0	0
Head								
Carcinoma: Squamous Cell	0	0	0	1	0	0	0	0
Heart								
Malignant Schwannoma	0	0	0	1	0	0	0	0
Hemolymphoreticular Tissue								
Histiocytic Sarcoma	0	1	1	1	0	2	0	1
Malignant Lymphoma	3	2	1	0	5	0	0	0
Ileum								
Sarcoma: Metastasis	0	0	0	0	0	1	0	1
Injection Site Interscapular								
Fibroma	0	1	0	0	1	1	0	0

Footnotes are on the last page of the table.Page 5 of 19

表 10A. がん原性
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Carcinogenicity							Amgen Study No.: 107895	
Weekly Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 54	F: 60
Postmortem Analyses – Number Evaluated	60	60	60	60	60	60	54	60
Other with Neoplastic Lesions [b]								
Injection Site, Scapular Left								
Fibroma	1	0	0	0	1	0	0	0
Fibrosarcoma	1	0	0	0	0	0	0	0
Lipoma	0	0	0	0	1	0	0	0
Trichoepithelioma	0	0	0	0	1	0	0	0
Jejunum								
Sarcoma: Metastasis	0	0	0	0	0	1	0	0
Kidney								
Adenoma: Tubular Cell	0	0	1	0	0	0	0	0
Carcinoma: Transitional Cell	0	0	1	0	0	0	0	0
Carcinoma: Tubular Cell	1	0	0	0	0	0	0	0
Lipoma	0	1	0	0	0	0	1	3
Sarcoma: Metastasis	0	0	0	1	0	0	0	0

Footnotes are on the last page of the table.Page 6 of 19

表 10A.　がん原性
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Carcinogenicity							Amgen Study No.: 107895	
Weekly Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 54	F: 60
Postmortem Analyses – Number Evaluated	60	60	60	60	60	60	54	60
Other with Neoplastic Lesions [b]								
Liver								
Adenoma: Hepatocellular	0	1	3	1	1	0	0	1
Carcinoma: Hepatocellular	2	1	2	0	1	0	0	0
Carcinoma: Metastasis	0	0	0	1	0	0	0	0
Sarcoma: Metastasis	0	0	0	0	0	1	0	1
Lung								
Carcinoma: Metastasis	0	2	1	2	0	0	0	1
Carcinoma: Squamous Cell	0	0	0	1	0	0	0	0
Metastasis	0	1	0	0	1	0	0	0
Sarcoma: Metastasis	1	0	0	1	0	1	0	0
Lymph Node								
Metastasis	0	1	0	1	0	0	0	0
Sarcoma (No Otherwise Specified)	0	0	0	0	0	1	0	0
Sarcoma: Metastasis	0	0	0	1	0	1	0	0
Lymph Node Mandibular								
Carcinoma: Metastasis	0	1	0	0	0	0	0	0
Hemangioma	0	0	0	0	0	0	1	0

Footnotes are on the last page of the table.

表 10A.　がん原性
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Carcinogenicity							Amgen Study No.: 107895	
Weekly Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 54	F: 60
Postmortem Analyses – Number Evaluated	60	60	60	60	60	60	54	60
Other with Neoplastic Lesions [b]								
Lymph Node Mesenteric								
Hemangioma	0	0	2	0	0	0	1	0
Hemangiosarcoma	0	0	2	0	1	0	0	0
Lipoma	0	0	1	0	0	0	0	0
Sarcoma: Metastasis	0	0	0	0	0	0	0	1
Mammary Gland								
Adenoma	0	2	0	1	0	1	0	0
Adenocarcinoma	1	15	0	15	0	16	0	18
Carcinoma: Squamous Cell	0	0	0	0	0	1	0	0
Fibroadenoma	1	41	0	44	0	36	2	35
Fibrosarcoma	0	0	0	0	0	1	0	0
Ovary								
Adenoma: Sertoliform Tubular	N/A	0	N/A	0	N/A	1	N/A	0
Carcinoma: Tubulostromal	N/A	1	N/A	0	N/A	0	N/A	0
Sarcoma: Metastasis	N/A	0	N/A	0	N/A	1	N/A	1
Nerve Optic								
Metastasis	0	0	0	0	0	0	1	0

Footnotes are on the last page of the table.

表 10A. がん原性
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Carcinogenicity							Amgen Study No.: 107895	
Weekly Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 54	F: 60
Postmortem Analyses – Number Evaluated	60	60	60	60	60	60	54	60
Other with Neoplastic Lesions [b]								
Pancreas								
Adenoma: Acinar Cell	0	0	0	0	3	1	2	0
Adenoma: Islet Cell	1	0	1	0	3	3	4	3
Carcinoma: Islet Cell	0	1	0	0	3	1	2	0
Sarcoma: Metastasis	0	0	0	1	0	1	0	1
Parathyroid Gland								
Adenoma	0	0	0	0	0	1	0	1
Pituitary								
Adenoma: Pars Distalis	27	36	16	32	25	40	23	39
Adenoma: Pars Intermedia	2	0	0	0	0	0	0	0
Carcinoma: Pars Distalis	0	1	0	3	0	0	1	1
Carcinoma: Metastasis	0	0	0	1	0	0	0	0
Sarcoma (No Otherwise Specified)	0	0	0	1	0	0	0	0

Footnotes are on the last page of the table.Page 9 of 19

表 10A. がん原性
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Carcinogenicity							Amgen Study No.: 107895	
Weekly Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 54	F: 60
Postmortem Analyses – Number Evaluated	60	60	60	60	60	60	54	60
Other with Neoplastic Lesions [b]								
Skin Miscellaneous								
Adenoma: Basal Cell	1	0	0	0	0	0	0	0
Adenoma: Sebaceous	0	0	1	0	1	0	0	0
Carcinoma: Squamous Cell	2	2	2	2	3	1	0	1
Keratoacanthoma	2	0	1	1	7	0	0	1
Papilloma: Squamous Cell	0	0	2	0	1	0	1	0
Spinal Cord Cervical								
Metastasis	1	0	0	0	0	0	0	0
Spinal Cord Lumbar								
Metastasis	1	0	0	0	0	0	0	0
Spinal Cord Thoracic								
Metastasis	1	0	0	0	0	0	0	0
Spleen								
Hemangioma	0	0	0	0	0	1	0	0
Hemangiosarcoma	1	0	1	0	1	0	0	0
Sarcoma: Metastasis	0	0	0	1	0	1	0	1

Footnotes are on the last page of the table.

表 10A. がん原性
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Carcinogenicity							Amgen Study No.: 107895	
Weekly Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 54	F: 60
Postmortem Analyses – Number Evaluated	60	60	60	60	60	60	54	60
Other with Neoplastic Lesions [b]								
Stomach								
Leiomyosarcoma	0	1	0	0	0	0	0	0
Sarcoma: Metastasis	0	0	0	0	0	1	0	1
Subcutaneous Tissue								
Fibroma	3	0	1	0	2	0	1	0
Fibrosarcoma	0	1	2	2	1	0	3	1
Lipoma	0	2	2	0	0	0	1	0
Malignant Fibrous Histiocytoma	0	0	1	1	0	0	0	0
Malignant Schwannoma	2	2	0	0	0	0	0	0
Sarcoma (no otherwise specified)	0	0	0	0	0	0	0	1
Testis								
Adenoma: Interstitial Cell	0	N/A	0	N/A	0	N/A	1	N/A
Malignant Mesothelioma	0	N/A	1	N/A	0	N/A	0	N/A
Thymus								
Benign Thymoma	0	1	0	2	0	0	1	0
Malignant Schwannoma	0	0	0	0	0	0	1	0
Malignant Thymoma	0	0	0	1	0	0	0	0

Footnotes are on the last page of the table.

表 10A. がん原性
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Carcinogenicity							Amgen Study No.: 107895	
Weekly Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 54	F: 60
Postmortem Analyses – Number Evaluated	60	60	60	60	60	60	54	60
Other with Neoplastic Lesions [b]								
Thyroid								
Adenoma: C-cell	8	5	10	11	4	8	6	8
Adenoma: Follicular Cell	6	0	4	2	0	1	0	2
Carcinoma: C-cell	0	1	0	1	2	1	0	0
Carcinoma: Follicular Cell	0	0	0	0	0	1	0	0
Neuroendocrine Tumor	0	0	0	0	0	0	0	1
Tongue								
Sarcoma: Metastasis	0	0	0	1	0	0	0	0
Tooth								
Odontoma	0	4	0	6	0	6	0	3
Ureter								
Sarcoma: Metastasis	0	0	0	0	0	2	0	0
Urinary Bladder								
Sarcoma: Metastasis	0	0	0	0	0	1	0	1

Footnotes are on the last page of the table.

表 10A. がん原性
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Carcinogenicity							Amgen Study No.: 107895	
Weekly Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 54	F: 60
Postmortem Analyses – Number Evaluated	60	60	60	60	60	60	54	60
Other with Neoplastic Lesions [b]								
Uterus								
Adenocarcinoma: Endometrial	N/A	1	N/A	0	N/A	1	N/A	0
Hemangioma	N/A	1	N/A	0	N/A	0	N/A	0
Polyp: Endometrial Stromal	N/A	3	N/A	4	N/A	4	N/A	5
Sarcoma: Endometrial Stromal	N/A	1	N/A	0	N/A	1	N/A	0
Sarcoma: Metastasis	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	1
Vagina								
Benign Schwannoma	N/A	0	N/A	1	N/A	0	N/A	0
Malignant Schwannoma	N/A	0	N/A	0	N/A	0	N/A	1
Gross Pathology [b]								
Calvarium, thickening of the bone	0	1	22	6	54	36	51	56
Femur, thickening of the bone	0	0	25	9	55	42	50	57
L5-L6, thickening of the bone	0	0	19	4	48	33	46	52
Miscellaneous, thickening of the bone	0	0	19	4	48	33	48	52
Spleen, enlargement	10	18	11	24	21	34	13	28
Sternum, thickening of the bone	0	0	20	7	49	37	48	53
Tibia, thickening of the bone	0	0	23	7	53	38	49	57

Footnotes are on the last page of the table.

表 10A. がん原性
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Carcinogenicity							Amgen Study No.: 107895	
Weekly Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 54	F: 60
Postmortem Analyses – Number Evaluated	60	60	60	60	60	60	54	60
Organ Weights	-	-	-	-	-	-	-	-
Histopathology –								
Non-neoplastic lesions [b]								
Calvarium, hyperostosis								
Minimal	0	0	25	29	2	7	3	0
Slight	0	0	13	5	32	34	11	3
Moderate	0	0	3	1	25	17	26	37
Marked	0	0	0	0	0	1	10	20
Femur, hyperostosis								
Minimal	0	0	26	31	3	3	4	0
Slight	0	0	11	12	20	21	3	0
Moderate	0	0	4	2	36	25	29	6
Marked	0	0	2	0	1	10	16	49
Severe	0	0	0	0	0	1	0	5
Injection site, interscapular, infiltration, mononuclear cell								
Minimal	4	1	11	1	6	4	15	7
Slight	1	0	0	0	1	0	1	0

Footnotes are on the last page of the table.

表 10A. がん原性
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Carcinogenicity							Amgen Study No.: 107895	
Weekly Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 54	F: 60
Postmortem Analyses – Number Evaluated	60	60	60	60	60	60	54	60
Histopathology –								
Non-neoplastic Lesions [b]								
Injection site, left scapular, infiltration, mononuclear cell								
Minimal	4	3	12	2	7	9	9	8
Slight	0	0	2	0	2	0	2	3
Injection site, right scapular, infiltration, mononuclear cell								
Minimal	5	4	6	2	8	4	7	8
Slight	0	0	0	0	3	0	1	0
L5-L6, hyperostosis								
Minimal	0	0	27	28	5	5	4	0
Slight	0	0	12	8	38	17	12	
Moderate	0	0	3	0	16	25	25	7
Marked	0	0	0	0	0	12	9	43
Severe	0	0	0	0	0	0	0	10
Liver, extramedullar hematopoiesis								
Minimal	5	17	12	23	11	36	10	34
Slight	0	5	1	2	2	5	2	5

Footnotes are on the last page of the table.

表 10A. がん原性
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Carcinogenicity							Amgen Study No.: 107895	
Weekly Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 54	F: 60
Postmortem Analyses – Number Evaluated	60	60	60	60	60	60	54	60
Histopathology –								
Non-neoplastic Lesions [b]								
Spleen, extramedullar hematopoiesis								
Minimal	6	13	24	13	33	8	24	12
Slight	3	10	8	13	8	19	9	21
Moderate	3	9	4	21	3	23	5	16
Marked	1	5	2	2	0	7	2	9
Severe	0	0	0	0	0	0	0	2
Sternum, hyperostosis								
Minimal	0	0	21	18	16	15	2	0
Slight	0	0	7	4	34	26	23	12
Moderate	0	0	3	0	7	8	18	25
Marked	0	0	1	1	0	7	7	20
Severe	0	0	0	0	0	0	0	3

Footnotes are on the last page of the table.

表 10A. がん原性
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Carcinogenicity							Amgen Study No.: 107895	
Weekly Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 54	F: 60
Postmortem Analyses –	60	60	60	60	60	60	54	60
Number Evaluated								
Histopathology –								
Non-neoplastic Lesions [b]								
Tibia, hyperostosis								
Minimal	0	0	33	31	4	3	4	0
Slight	0	0	2	12	25	17	11	0
Moderate	0	0	4	2	28	27	26	6
Marked	0	0	2	1	2	13	10	45
Severe	0	0	0	0	0	0	0	9
Radiographic Evaluation [b]								
Carcass, increased bone radiopacity	0	2	44	58	53	56	46	55
Bone Densitometry (ex vivo pQCT)								
Femur distal diaphysis								
Total Area (mm^2)	23.126	13.899	23.341	14.633	27.373 C	15.752 E	30.979 C	17.804 F
% change from control	N/A	N/A	0.9	5.3	18.4	13.3	34.0	28.1
Cortical Area (mm^2)	13.254	9.216	17.187 D	11.077	22.281 F	13.473 F	26.731 F	16.769 F
% change from control	N/A	N/A	29.7	20.2	68.1	46.2	101.7	82.0
Cortical BMC (mg/mm)	17.831	12.808	23.025 D	15.098	30.218 F	18.795 F	37.351 F	24.269 F
% change from control	N/A	N/A	29.1	17.9	69.5	46.7	109.5	89.5

Footnotes are on the last page of the table.

表 10A. がん原性
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Carcinogenicity								Amgen Study No.: 107895
Weekly Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 54	F: 60
Postmortem Analyses – Number Evaluated	60	60	60	60	60	60	54	60
Bone Densitometry (ex vivo pQCT)								
Femur distal diaphysis								
Cortical BMD (mg/cm^3)	1345.9	1389.2	1340.7	1364.1 A	1355.4	1394.7	1393.7 B	1447.2 C
% change from control	N/A	N/A	-0.4	-1.8	0.7	0.4	3.6	4.2
Cortical Thickness (mm)	0.9442	0.8841	1.3463 C	1.1028 D	1.7031 C	1.3970 F	2.0104 C	1.8187 F
% change from control	N/A	N/A	42.6	24.7	80.4	58.0	112.9	105.7
Periosteal circumference (mm)	17.037	13.201	17.108	13.554	18.533 C	14.056 E	19.700 C	14.929 F
% change from control	N/A	N/A	0.4	2.7	8.8	6.5	15.6	13.1
Endosteal circumference (mm)	11.104	7.646	8.650 C	6.626 C	7.832 C	5.279 C	7.070 C	3.501 C
% change from control	N/A	N/A	-22.1	-13.3	-29.5	-31.0	-36.3	-54.2
CSMI (mm^4)	27.503	11.109	31.411	12.497	44.231 F	15.276 F	59.507 F	20.287 F
% change from control	N/A	N/A	14.2	12.5	60.8	37.5	116.4	82.6
Femur distal metaphysis								
Total Area (mm^2)	33.587	21.457	34.025	22.062	37.360 B	23.715 B	37.341 A	25.166 C
% change from control	N/A	N/A	1.3	2.8	11.2	10.5	11.2	17.3
Total BMC (mg/mm)	17.732	11.952	23.139 D	16.332 D	31.371 F	22.739 F	35.388 F	30.531 F
% change from control	N/A	N/A	30.5	36.6	76.9	90.3	99.6	155.4

Footnotes are on the last page of the table.

表 10A. がん原性
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Carcinogenicity							Amgen Study No.: 107895	
Weekly Dose (mg/kg)	0		3		10		50	
Number of Animals	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 60	F: 60	M: 54	F: 60
Postmortem Analyses – Number Evaluated	60	60	60	60	60	60	54	60
Bone Densitometry (ex vivo pQCT)								
Femur distal metaphysis								
Total BMD (mg/cm^3)	529.39	561.35	685.89 D	744.01 C	845.79 F	956.11 C	947.11 F	1210.49 C
% change from control	N/A	N/A	29.6	40.5	59.8	80.6	78.9	128.7
Trabecular BMC (mg/mm)	2.470	1.781	6.125 E	4.478 D	10.062 F	8.278 F	12.963 F	13.694 F
% change from control	N/A	N/A	148.0	151.4	307.4	364.8	424.8	668.9
Trabecular BMD (mg/cm^3)	148.52	168.33	365.66 E	409.36 D	547.04 F	693.63 F	692.84 F	1087.96 F
% change from control	N/A	N/A	146.2	143.2	268.3	312.1	366.5	546.3
Cortical/Subcortical BMC (mg/mm)	15.264	10.169	17.015 A	11.853	21.310 C	14.461 F	22.424 C	16.838 F
% change from control	N/A	N/A	11.5	16.6	39.6	42.2	46.9	65.6
Cortical/Subcortical BMD (mg/cm^3)	910.83	954.49	1005.93 B	1079.04	1144.56 C	1218.58 F	1201.33 C	1332.61 F
% change from control	N/A	N/A	10.4	13.0	25.7	27.7	31.9	39.6

ADA = anti-drug antibodies; BMC = Bone Mineral Content; BMD = Bone Mineral Density; BQL = below quantification limit; F = female; M = male; N/A = not applicable; pQCT = Peripheral Quantitative Computed Tomography;

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).

[a] Initial group sizes were 60, 150, 80, and 80/sex/group at 0, 3, 10, and 50 mg/kg, respectively. After 12 weeks of treatment, ADA positive animals were removed from the romosozumab groups to reduce the group size to 60/sex/group. When ADA positive incidence resulted in < 60/sex/group, neutralizing antibody analysis was conducted and animals without neutralizing antibodies were included to ensure a minimum group size of 60/sex/group. There were too many males at 50 mg/kg with neutralizing ADAs to achieve a group size of 60 and this group contained 54 animals. When any group had > 60/sex/group, further animals were removed by descending animal number order to achieve 60/sex/group.

[b] Incidence is presented.

表 10B. がん原性
被験物質：AMG 589 (null 抗体)

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Rat/Sprague Dawley	SC (10 mM sodium acetate, 9.0% (w/v) sucrose, 0.004% (w/v) polysorbate 20, pH 5.2 (A52SuT)	Weekly M = 91 weeks F = 98 weeks	0 (saline) 0 (vehicle) AMG 589: 50	M:60 F:60	This study assessed the carcinogenicity of a human IgG2 antibody in the rat. AMG 589, a human IgG2 anti-CGRP antibody, was selected as a “null” antibody because it is the same isotype as romosozumab and it is pharmacologically inactive and immunogenic in the rat. In AMG 589 treated animals, 63% of females and 67% of males were ADA positive by week 13 and these animals had evidence of decreased exposure. No neoplastic changes were attributed to AMG 589. No AMG 589-related radiographic chances were observed. AMG 589 had no effect on mortality (survival), clinical observations, body weight, or food consumption; minimal mononuclear cell infiltration was observed at injection sites. One fibrosarcoma was detected macroscopically and radiographically in the femur of a vehicle female and one occult osteochondroma was detected radiographically in pelvis of a saline male, underscoring the enhanced sensitivity of detection of occult bone tumors by radiographic evaluation. A single incidence of a proliferative finding, osteoblast hyperplasia, was observed in a saline male.	115707 (GLP)

ADA = anti-drug antibodies; CGRP = calcitonin gene-related peptide; F = female; GLP = Good Laboratory Practices; IgG2 = immunoglobulin G2; M = male; SC = subcutaneous

表 10C. がん原性：用量設定試験
被験物質：AMG 601 及び AMG 589

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Gender and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Rat/Sprague Dawley	SC (10 mM sodium acetate, 9.0% (w/v) sucrose, 0.004% (w/v) polysorbate 20, pH 5.2 (A52SuT)	Weekly for 4 weeks 2-week recovery	0, AMG 601: 50 AMG 589: 50	M:15 F:15	This study was conducted to select an antibody for assessment of potential consequences of lifetime exposure to a “null” antibody in a lifetime study in rats. This study explored the potential toxicity of two human monoclonal IgG2 antibodies, AMG 601 directed against human interlueukin-18 receptor and AMG 589 directed against human calcitonin gene-related peptide. Both antibodies are immunogenic and pharmacologically inactive in the rat. By day 29, 87% and 90% of the animals receiving AMG 601 or AMG 589, respectively, developed ADAs which resulted in reduced exposure. There were no in-life effects following treatment with AMG 601 or AMG 589. The test article–related anatomical pathology findings were limited to minimal to mild mononuclear infiltrates at the injection sites in animals administered AMG 601 or AMG 589. Based on these findings, AMG 589 was selected as the candidate “null” antibody for Study 115707.	115823 (Non-GLP)

ADAs = anti-drug antibodies; F = female; GLP = Good Laboratory Practices; IgG2 = immunoglobulin G2; M = male; SC = subcutaneous

表 11　生殖発生毒性：主要な試験以外の試験被験物質：ロモソズマブ

Species/Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Dosing Period	Doses (mg/kg)	No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Rat/Sprague Dawley	SC 10 mM sodium acetate, 9% sucrose, 0.004% polysorbate 20, pH 5.2	Once weekly - GDs 6 and 13	0, 30, 100, 300	Main: 8F TK: 8F all presumed pregnant Fetal exams: no. at 0, 30, 100, and 300 mg/kg respectively: Gross: 69, 122, 107, 114 Soft tissue: 33, 59, 52, 55 Skeletal (including ossification sites): 36, 63, 55, 58	Pregnancy occurred in 5, 8, 8 and 8 rats at 0, 30, 100, and 300 mg/kg, respectively. Caesarean-sectioning observations, litter parameters, and fetal examinations on GD 21 were based on all pregnancies/litters. No effects on Caesarean-sectioning or litter parameters. No AMG 785-related gross external, soft tissue, or skeletal fetal malformations or variations. Maternal exposure increased less than dose proportionally over the dose range. On GD 13, $AUC_{0\text{-}144}$ was 15.8, 53.3, and 103 mg hr/mL and mean serum concentration values on GD 19 were 30.3, 177.0, and 214.0 µg/mL at 30, 100, and 300 mg/kg, respectively. Fetal serum concentrations increased less than dose proportionally over the dose range. Fetal serum concentrations were 80% (16.1 µg/mL), 53% (45.2 µg/mL), and 36% (65.8 µg/mL) of that in maternal serum at 30, 100, and 300 mg/kg, respectively. Anti-AMG 785 antibody formation in 10 AMG 785-treated dams was determined at the end of the study. It was not possible to robustly determine the potential effects of antibody status on exposure. NOAEL: 300 mg/kg	108057 (GLP)

F = female; GD = gestational day; GLP = Good Laboratory Practices; SC = subcutaneous; TK = toxicokinetics.

表 12　生殖発生毒性：生殖能及び胚・胎児発生に関する試験（主要な試験）
被験物質：ロモソズマブ

Reproductive and Developmental Toxicity – Fertility and Embryonic Development		Report Title: AMG 785: Fertility and Embryo-fetal Development Study in the Rat			
Species/Strain: Crl:CD(SD) Sprague Dawley rats		Duration of Dosing: All rats: DS 1, 8, 15, 22, 29 and 36; Males: DS 43, 50, 57, 64, 71 and 78; Females (main): GD 1, 8 and 15; Females (TK): GD 6 and 13		Amgen Study No. 108061	
Initial Age: M: Approximately 71 days F: Approximately 66 days		Day of Mating: Gestation Day (GD) 0		[redacted] Study No. 20005072	
Date of First Dose: M: [redacted] 20[redacted] F: [redacted] 20[redacted]		Day of C-Section: GD 21			
Special Features: Toxicokinetics, ADA [a]		Method of Administration: Subcutaneous		GLP Compliance: Yes	
No Observed Adverse Effect Level: F_0 Males: 300 mg/kg F_0 Females: 300 mg/kg F_1 Litters: 300 mg/kg		Vehicle/Formulation: AMG 785 Placebo: 5 mM Acetate, 13 mM Calcium, 6% Sucrose, 0.006% polysorbate 20, pH 5.2			
Dose Level (mg/kg)		0	10	60	300
Males [a]	No. Evaluated – PreADA Determination	31	60	60	60
	No. Evaluated – PostADA Determination	29	26	30	30
	No. Suitable Males after Exclusions (Main Study, TK)	20, 4	18, 4	24, 4	22, 4
	Mean Serum AMG 785 Concentration (µg/mL) [b]				
	DS 22, suitable males	BLQ	30	369	798
	Anti-AMG 785 binding antibodies, No. positive/No. suitable males evaluated (%)				
	Main Study	NE	1/18 (6)	0/24 (0)	13/22 (59)
	Toxicokinetic	NE	0/4 (0)	0/4 (0)	3/4 (75)
	No. Died or Euthanized [c]	0	0	1	1
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-

Footnotes are on the last page of the table.

表 12　生殖発生毒性：生殖能及び胚・胎児発生に関する試験（主要な試験）
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Reproductive and Developmental Toxicity					Amgen Study No. 108061
Dose Level (mg/kg)		0	10	60	300
Males [a]	No. Evaluated – PreADA Determination	31	60	60	60
	No. Evaluated – PostADA Determination	29	26	30	30
	No. Suitable Males (Main Study/TK)	20/4	18/4	24/4	22/4
	Body Weight and Body Weight Change	-	-	-	-
	Food Consumption (Absolute and Relative)	-	-	-	-
	Mean No. Days Prior to Mating	2.1	2.6	2.4	2.6
	No. of Males that Mated	28	26	28	28
	No. of Fertile Males	24	23	28	26
	Gross Pathology	-	-	-	-
	Reproductive Organ Weights	-	-	-	-
	Sperm Evaluation [d]	-	-	-	-
Females[a]	No. Evaluated – PreADA Determination	31	60	60	60
	No. Evaluated – PostADA Determination	28	26	29	28
	No. Suitable Females after Exclusions (Main Study/TK)	20/4	18/4	24/4	22/4
	Mean Serum AMG 785 Concentration (µg/mL) [e]				
	DS 22	BLQ	20.8	465	1290
	GD 21	BLQ	17.5	108	292
	Mean Maternal Concentration - GD 20 [f]	BLQ	3.8	68.9	277
	Mean Fetal Concentration (µg/mL)	BLQ	3.4	54.2	114
	Fetal:maternal concentration ratio (%)	NA	89	79	41

Footnotes are on the last page of the table.

表 12　生殖発生毒性：生殖能及び胚・胎児発生に関する試験（主要な試験）
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Reproductive and Developmental Toxicity					Amgen Study No. 108061
Dose Level (mg/kg)		0	10	60	300
Females[a]	No. Evaluated – PreADA Determination	31	60	60	60
	No. Evaluated – PostADA Determination	28	26	29	28
	No. Suitable Females after Exclusions (Main Study/TK)	20/4	18/4	24/4	22/4
	Toxicokinetics (Mean) [f]				
	AUC_{0-t} (mg·hr/mL)				
	GD 6	BLQ	8.76	123	302
	GD 13	BLQ	4.75	60.5	180
	C_{max} (µg/mL)				
	GD 6	BLQ	69.2	851	2050
	GD 13	BLQ	49.1	616	1570
	Anti-AMG 785 binding antibodies				
	No. positive/No. suitable females evaluated (%)				
	Main Study	NE	0/18 (0)	0/24 (0)	8/22 (36)
	Toxicokinetic	NE	0/4 (0)	1/4 (25)	1/4 (25)
	No. Died or Euthanized [g]	1	1	2	2
	No. Delivered [h]	0	1	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Premating Body Weight and Body Weight Change	-	-	-	-
	Gestation Body Weight and Body Weight Change	-	-	-	-
	Corrected Maternal Body Weight	-	-	-	-
	Corrected Maternal Body Weight Change	-	-	-	-

Footnotes are on the last page of the table.

表 12　生殖発生毒性：生殖能及び胚・胎児発生に関する試験（主要な試験）
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Reproductive and Developmental Toxicity					Amgen Study No. 108061
Dose Level (mg/kg)		0	10	60	300
Females[a]	No. Evaluated – PreADA Determination	31	60	60	60
	No. Evaluated – PostADA Determination	28	26	29	28
	No. Suitable Females after Exclusions (Main Study/TK)	20/4	18/4	24/4	22/4
	Gravid Uterine Weight	-	-	-	-
	Premating Food consumption (absolute and relative)	-	-	-	-
	Gestation Food Consumption (absolute and relative)	-	-	-	-
	Gross Pathology	-	-	-	-
	Females in Cohabitation[i]	29	26	29	29
	Mean Estrous States/14 days				
	PreADA Determination	3.5	3.4	3.4	3.2
	PostADA Determination	3.2	3.2	3.2	3.4
	Mean No. Days Prior to Mating	2.6	2.6	2.4	2.6
	No. of Females Sperm Positive	28	26	29	28
	No. of Pregnant Females	24	23	29	26
	No. Aborted or With Total Resorption of Litter	0	0	0	0
	Mean No. Corpora Lutea	15.6	15.4	15.8	15.5
	Mean No. Implantations	14.6	14.6	15.0	14.0
	Mean % Preimplantation Loss	6.4	4.8	4.5	8.4

Footnotes are on the last page of the table.

表 12　生殖発生毒性：生殖能及び胚・胎児発生に関する試験（主要な試験）
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Reproductive and Developmental Toxicity					Amgen Study No. 108061
Dose Level (mg/kg)		0	10	60	300
Litters	No. Litters Evaluated	20	18	24	22
	Mean No. Live Fetuses	13.9	13.4	14.3	13.2
	Mean No. Early Resorptions	0.6	1.2	0.6	0.8
	No. of Litters With Dead Fetuses	0	0	1	0
	Mean % Postimplantation Loss/Animal	5.2	7.4	4.3	6.5
	Mean Combined Fetal Body Weight (g)	5.40	5.60	5.52	5.50
	Male	5.56	5.78	5.63	5.61
	Female	5.24	5.46	5.39	5.38
	Fetal Sex Ratios (% males)	47.9	46.2	49.6	52.2
	Fetal Anomalies				
	External Anomalies (no. examined)	- (278)	- (242)	- (344)	- (291)
	Visceral Anomalies (no. examined)	- (134)	- (117)	- (167)	- (140)
	Skeletal Anomalies (no. examined)	(145)	(125)	(177)	(151)
	Skeletal Malformations	-	-	-	-
	Skeletal Variations: fetal no. (%)/litter no. (%)				
	Cervical Vetebrae: Reduced Ventral Processes [j]	1 (0.7)/1 (5.0)	0 (0.0)/0 (0.0)	1 (0.6)/1 (4.2)	3 (2.0)/3 (13.6)
	% Fetuses with any alteration/litter	2.6	3.4	3.0	2.5
	Ossification Site Averages/Litter	-	-	-	-

Footnotes are on the last page of the table.

表 12　生殖発生毒性：生殖能及び胚・胎児発生に関する試験（主要な試験）
被験物質：ロモソズマブ（続き）

ADA = anti-drug antibody; AUC_{0-t} = area under the concentration time curve from 0 to 168 hours postdose; BQL = below quantitation limit; C_{max} = maximal concentration observed after subcutaneous administration; DS = study day; F = female; GD = gestation day; M = male: NE = not evaluated; TK = toxicokinetic; - No noteworthy findings;

[a] All animals were included until DS 38 (preADA determination). Some animals were expected to develop anti-drug antibodies; therefore, more animals were initially assigned to the study in order to ensure a sufficient population of animals were ADA negative at the initiation of cohabitation or ADA positive with the lowest immunoassay signal-to-noise ratio and/or the highest romosozumab serum concentration. Only qualified animals were evaluated after DS 38 (postADA determination). Number of suitable males (or number of suitable females) represents the final group assignments and includes the animals used for summarization and statistical analyses following exclusions at DS 22 based on ADA results, culling to reduce group size to n = 25/sex/group (main study) or n = 4/sex/group (TK satellites), and exclusions based on ADA results at terminal euthanasia.
[b] Exposure was maintained through the study (verified at necropsy).
[c] A 60 mg/kg male rat was euthanized on DS 29 and a 300 mg/kg male rat was euthanized on DS 57. The reason for euthanasia for both animals was due to an injury and unrelated to the administration of romosozumab.
[d] Evaluations included vas deferens sperm motility and caudal epididymal sperm density. Sperm motility ranged from 88.9% to 91.1% across the dose groups.
[e] Data shown for suitable main study females.
[f] Data shown for females assigned to the toxicokinetic study (n = 4/group).
[g] There were no romosozumab -related deaths. Between DS 22 and DS 31, 1, 1, 2, and 1 females at 0, 10, 60 and 300 mg/kg, respectively, were found dead for reasons considered secondary to the week 4 blood collection procedure (via jugular vein). These deaths were not dose-dependent, and there were no concomitant signs of toxicity that would suggest that the events were related to the test article. One female at 300 mg/kg was found dead on day 64. This animal had been administered 8 doses and did not have a confirmed date of mating, but was confirmed pregnant during the necropsy examination. This animal was arbitrarily excluded from study to achieve the appropriate group size for the main study.
[h] There were no romosozumab -related early deliveries at any dose level. One female at 10 mg/kg delivered and was euthanized on GD 21. There were no clinical signs before death.
[i] These animals were either ADA negative or if ADA positive, had lowest signal-to-noise ratio and/or highest romosozumab serum concentration values based on evaluation on DS 22.
[j] The skeletal variations at 10 and 60 mg/kg were not considered romosozumab-related. The findings in the 300 mg/kg group: 3 fetuses from 3 litters with reduced ventral process (carotid tubercles) in the 6^{th} cervical vertebra, was a skeletal variation considered a developmental delay attributed to romosozumab because the fetal incidences of this skeletal variation exceeded the historical range of the testing facility.

表 13　生殖発生毒性：胚・胎児発生に関する試験（主要な試験）
被験物質：ロモソズマブ

Reproductive and Developmental Toxicity – Effects on Embryo-fetal Development Species/Strain: Rat/Crl:CD(SD) Initial Age: Approximately 65 days Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] Special Features: None No Observed Adverse Effect Level: F_0 Females: 300 mg/kg F_1 Litters: 300 mg/kg[b]		Report Title: Subcutaneous Developmental Toxicity Study of AMG 785 in Rats Duration of Dosing: Once weekly for 2 total doses (DG 6 and DG 13) Day of Mating: DG 0 Day of C-Section: DG 21 Method of Administration: Subcutaneous Vehicle/Formulation: AMG 785 Placebo (10 mM sodium acetate, 9% sucrose, 0.004% polysorbate 20, pH 5.2)		Amgen Study No. 108059 [redacted] Study No. FIA00554 GLP Compliance: Yes	
Dose (mg/kg)		0	30	100	300
Dams:	Toxicokinetics				
	Maternal Serum Concentrations (ng/mL) – DG 21	<100	38835	76718	120971
	Anti-AMG 785 Antibodies n/N (%) – DG 21	1/25 (4)	6/24 (25)	5/25 (20)	16/25 (64)
	No. Pregnant	23	20	24	22
	No. Died or Euthanized	0	0	0	0
	No. Aborted or With Total Resorption of Litter	0	0	0	0
	No. Delivered and Euthanized	0	1 [a]	0	0
	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Maternal Body Weight and Body Weight Change	-	-	-	-
	Absolute and Relative Maternal Food Consumption	-	-	-	-
	Mean No. Corpora Lutea (mean ± SD)	16.8 ± 2.4	16.7 ± 1.6	16.6 ± 2.9	16.4 ± 1.8
	Mean No. Implantations (mean ± SD)	15.8 ± 2.3	16.1 ± 1.4	15.3 ± 3.2	15.6 ± 1.5
	Mean % Preimplantation Loss/Animal	5.8 ± 7.8	3.3 ± 5.0	7.8 ± 13.4	4.1 ± 6.8

Footnotes are on the last page of the table.

表 13　生殖発生毒性：胚・胎児発生に関する試験（主要な試験）
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Reproductive and Developmental Toxicity					Amgen Study No. 108059
Dose (mg/kg)		0	30	100	300
Litters:	No. Litters Evaluated	23	19	24	22
	Mean No. Live Fetuses (mean ± SD)	14.6 ± 2.3	15.2 ± 1.6	14.3 ± 2.8	15.0 ± 1.4
	Mean No. Early Resorptions (mean ± SD)	1.2 ± 1.1	0.8 ± 1.1	1.0 ± 1.0	0.6 ± 0.8
	No. of Litters With Dead Fetuses	0	0	0	0
	Mean % Postimplantation Loss/Animal (mean ± SD)	7.5 ± 7.0	5.5 ± 6.8	5.8 ± 5.6	4.0 ± 5.2
	Mean Fetal Body Weight (g)				
	Male (mean ± SD)	5.69 ± 0.38	5.85 ± 0.28	5.72 ± 0.44	5.72 ± 0.24
	Female (mean ± SD)	5.44 ± 0.30	5.53 ± 0.28	5.41 ± 0.39	5.45 ± 0.22
	Fetal Sex Ratios (% live males/liitter) (mean ± SD)	50.7 ± 11.7	51.4 ± 14.5	51.4 ± 15.5	52.4 ± 15.0
	Fetal Anomalies [b]				
	Gross External / Malformations				
	No. Litters (Fetuses) Evaluated	23 (336)	19 (289)	24 (344)	22 (330)
	Fore and/or Hindlimbs: Digits Fused, N (%)				
	Litter incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.5)
	Fetal incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (1.8) **
	Fore and/or Hindlimbs: Extra Digits, N (%)				
	Litter incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.5)
	Fetal incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	7 (2.1) **
	Visceral Anomalies				
	No. Litters (Fetuses) Evaluated	23 (162)	19 (139)	24 (167)	22 (162)
	Soft tissue alterations	-	-	-	-

Footnotes are on the last page of the table.

表 13　生殖発生毒性：胚・胎児発生に関する試験（主要な試験）
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Reproductive and Developmental Toxicity					Amgen Study No. 108059
Dose (mg/kg)		0	30	100	300
Litters:	Skeletal Anomalies				
	No. Litters (Fetuses) Evaluated	23 (174)	19 (150)	24 (177)	22 (168)
	Skeletal Malformations				
	Forelimbs: Metacarpal, Not Ossified, N (%)				
	Litter incidence	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (4.5)
	Fetal incidence	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.2)
	Forelimb: Digit, Extra, N (%)				
	Litter incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.5)
	Fetal incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)
	Forelimb: Phalanx, Extra, N (%)				
	Litter incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.5)
	Fetal incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)
	Forelimb: Phalanges, Fused, N (%)				
	Litter incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.5)
	Fetal incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)
	Hindlimb: Metatarsal, Not Ossified, N (%)				
	Litter incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.5)
	Fetal incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.8) **
	Hindlimb: Digit, Extra, N (%)				
	Litter incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.5)
	Fetal incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.8) **
	Hindlimb: Phalanx, Extra, N (%)				
	Litter incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.5)
	Fetal incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.8) **
	Hindlimb: Tibia, Bent, N (%)				
	Litter incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.5)
	Fetal incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)

Footnotes are on the last page of the table.

表 13　生殖発生毒性：胚・胎児発生に関する試験（主要な試験）
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Reproductive and Developmental Toxicity					Amgen Study No. 108059
Dose (mg/kg)		0	30	100	300
Litters:	Skeletal Anomalies (cont'd)				
	No. Litters (Fetuses) Evaluated	23 (174)	19 (150)	24 (177)	22 (168)
	Skeletal Variations				
	Cervical Vertebrae: Arch, 6th has the appearance like the 7th, N (%)				
	Litter incidence	0 (0)	1 (5.3)	4 (16.7)	4 (18.2)
	Fetal incidence	0 (0)	1 (0.7)	4 (2.2)	5 (3.0)
	Ribs: Broad, N (%)				
	Litter incidence	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (4.5)
	Fetal incidence	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (1.8)**
	Forelimb: Phalanx, Incompletely Ossified, N (%)				
	Litter incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.5)
	Fetal incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)
	Forelimb: Metacarpals, Misaligned, N (%)				
	Litter incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.5)
	Fetal incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)
	Forelimb: Ulna, Large, N (%)				
	Litter incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.5)
	Fetal incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)
	Forelimb: Metacarpal, Irregularly Shaped, N (%)				
	Litter incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.5)
	Fetal incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)
	Pelvis: Ilium, Irregularly Shaped, N (%)				
	Litter incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.5)
	Fetal incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.8) **

Footnotes are on the last page of the table.

表 13　生殖発生毒性：胚・胎児発生に関する試験（主要な試験）
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Reproductive and Developmental Toxicity					Amgen Study No. 108059
Dose (mg/kg)		0	30	100	300
Litters:	Skeletal Anomalies (cont'd)				
	No. Litters (Fetuses) Evaluated	23 (174)	19 (150)	24 (177)	22 (168)
	Skeletal Variations				
	Hindlimb: Metatarsals, Misaligned, N (%)				
	Litter incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.5)
	Fetal incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.2)
	Hindlimb: Tibia, Large, N (%)				
	Litter incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (4.5)
	Fetal incidence	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.8) **
	Ossification Averages/Fetus/Litter	-	-	-	-

DG = Day of (presumed) gestation; SD = standard deviation. - = no noteworthy findings; **Significantly different from the control group value ($p \leq 0.01$).

[a] One 30 mg/kg female delivered on the day prior to scheduled euthanasia (DG 20) and was subsequently euthanized. The delivery was not considered related to AMG 785 because the incidence was not dosage-dependent and was within the historical control range for this testing facility.

[b] When the study completed, the gross and skeletal malformations and variations that occurred in one litter receiving 300 mg/kg were considered to be attributable to maternal treatment with AMG 785. However, following completion of the entire developmental and reproductive toxicology package, the weight of evidence supported the findings in this study were not AMG 785-related. Except for digit malformations, the additional skeletal findings noted in the affected fetuses do not occur in humans or mice with a total absence of sclerostin from conception nor were the gross external and skeletal malformations and variations reproduced in the subsequent fertility/EFD and pre-and postnatal development studies (Studies 108061 and 108062) at substantially higher maternal and fetal exposures. Hence the NOAEL is concluded to be 300 mg/kg

表 14　生殖発生毒性：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（主要な試験）
被験物質：ロモソズマブ

Reproductive and Developmental Toxicity: Effects on Pre- and Postnatal Development, Including Maternal Function Species/ Strain: Rat/Sprague Dawley [Crl:CD(SD)] Initial Age: Approximately 62 days Date of First Dose: [redacted] 20[redacted] Special Features: F_0 Females: Serum AMG 785 and anti-AMG 785 antibodies; F_1 generation: serum AMG 785, growth/development, behavioral, reproductive function, bone and skeletal evaluations No Observed Adverse Effect Level: F_0 Females: 300 mg/kg F_1 Generation: 300 mg/kg	Report Title: AMG 785: Pre- and Postnatal Development Study in the Sprague-Dawley Rat Duration of Dosing: Once weekly for 12/13 doses [a] Day of Mating: GD 0 (approximately DS 43) 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 Litters Culled/Not Culled: Culled [b]	Amgen Study No. 108062 [redacted] Study No. 20058615 GLP Compliance: Yes		
Dose Level (mg/kg)		0	10	60	300
F_0 Females:	Bioanalysis: Concentration (ng/mL)				
	F_0 Females receiving 12 Doses (LD21 = 5 to 7 Days PD)				
	No. F_0 Females, No. Male Pups, No. Female Pups		10, 10, 10	16, 16, 16	8, 7, 7
	F_0 Females, Day 36	< LLOQ	33600	707000	1530000
	F_0 Females, LD 21	< LLOQ	9510	120000	539000
	Male Pup Mean (Maternal/Male Pup Ratio), LD21	< LLOQ	1610 (0.194)	251000 (2.28)	915000 (1.84)
	Female Pup Mean (Maternal/Female Pup Ratio), LD21	< LLOQ	1610 (0.209)	280000 (2.41)	1010000 (2.01)
	F_0 Females receiving 13 Doses (LD21 = 1 to 2 Days PD)				
	No. F_0 Females, No. Male Pups, No. Female Pups		14, 13, 14	9, 9, 9	15, 15, 15
	F_0 Females, Day 36	< LLOQ	28100	647000	1910000
	F_0 Females, LD 21	< LLOQ	61500	396000	1610000
	Male Pup Mean (Maternal/Male Pup Ratio), LD21	< LLOQ	484 (0.00876)	157000 (0.462)	639000 (0.398)
	Female Pup Mean (Maternal/Female Pup Ratio), LD21	< LLOQ	416 (0.00653)	185000 (0.557)	721000 (0.451)

Footnotes are on the last page of the table.

表 14　生殖発生毒性：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（主要な試験）
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Reproductive and Developmental Toxicity					Amgen Study No. 108062
Dose Level (mg/kg)		0	10	60	300
F_0 Females:	Anti-AMG 785 Antibodies, Positive/Total (%) [c]				
	DS 36	NE	0/25 (0)	0/25 (0)	3/25 (12)
	LD 21	NE	1/24 (4)	1/25 (4)	5/23 (22)
	No. Pregnant	23	24	25	24
	No. Died or Euthanized	0	0	0	0
	Clinical Observations n/N				
	Sparse hair coat (limbs) [d]				
	Precohabitation	1/25	1/25	1/25	7/25 **
	Gestation Period	1/25	2/25	6/25	7/25
	Lactation Period	0/23	2/24	4/25	5/23
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Precohabitation Body Weight/Body Weight Changes	-	-	-	-
	Gestation Body Weight/Body Weight Changes	-	-	-	-
	Lactation Body Weight/Body Weight Changes	-	-	-	-
	Precohabitation Food Consumption (g/animal/day, % [e])				
	DS 1 to 8	18.5	-5.4*	-9.2**	-9.7**
	DS 8 to 15	18.7	-4.3	-7.5**	-7.5**
	Gestation Food Consumption	-	-	-	-
	Lactation Food Consumption	-	-	-	-
	Mean Duration of Gestation (days)	22.4	22.6	22.3	22.5
	Abnormal Parturition				
	Dams with stillborn pups n, (%)	2 (8.7)	2 (8.3)	2 (8.0)	2 (8.7)
	Dams with no liveborn pups	0	0	0	0

Footnotes are on the last page of the table.

表 14　生殖発生毒性：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（主要な試験）
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Reproductive and Developmental Toxicity					Amgen Study No. 108062
Dose Level (mg/kg)		0	10	60	300
F_1 Litters:	No. Litters Evaluated	23	24	25	23
(Preweaning)	Mean No. Pups/Litter	13.6	13.4	13.5	12.7
	Mean No. Liveborn Pups/Litter	13.5	13.3	13.4	12.6
	Mean No. Stillborn Pups/Litter	0.1	0.1	0.1	0.1
	Postnatal Survival to Day 4 (%)	99.4	98.7	99.1	98.6
	Total No. Live Pups Day 4 preculling/Day 1	309/310	315/317	323/333	286/289
	Postnatal Survival Day 4 to Day 21 Weaning (%)	99.6	99.1	99.2	100.0
	Total No. Live Pups Day 21/Day 4 postculling	229/230	230/232	248/250	225/225
	Pup Body Weight Gain	-	-	-	-
	Pup Sex Ratios Day 1 (% male)	51.4	49.0	47.8	47.2
	Pup Clinical Signs	-	-	-	-
	Pup External Exams, Day 1 and Day 4 (preculling)	-	-	-	-
	Pup Necropsy Observations	-	-	-	-
F_1 Males:	No. Evaluated Postweaning	25	25	25	25
(Postweaning)	No. Died or Euthanized Moribund [g]	0	1	0	1
Subset 1 [f]	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Reproductive Organ Weights	-	-	-	-
	Body Weight Change	-	-	-	-
	Food Consumption	-	-	-	-
	Preputial Separation (mean days)	45.2 [h]	45.3 [h]	46.0	45.6 [h]
	Motor Activity	-	-	-	-
	Learning and Memory (Passive Avoidance)	-	-	-	-
	No. of Males that Mated	25	24	25	24
	No. of Fertile Males	21	21	23	23

Footnotes are on the last page of the table.

表 14　生殖発生毒性：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（主要な試験）
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Reproductive and Developmental Toxicity					Amgen Study No. 108062
Dose Level (mg/kg)		0	10	60	300
F_1 Females	No. Evaluated Postweaning	25	25	25	25
(Postweaning)	No. Died or Euthanized Moribund	0	0	0	0
Subset 1 [f]	Clinical Observations	-	-	-	-
	Necropsy Observations	-	-	-	-
	Reproductive Organ Weights	-	-	-	-
	Premating/Gestation Body Weight Change	-	-	-	-
	Premating/Gestation Food Consumption	-	-	-	-
	Precohabitation:				
	Mean No. Estrous Stages/14 Days	3.1	3.2	3.1	3.2
	No. With ≥ 6 Consecutive Days of Estrus	0	0	0	0
	No. With ≥ 6 Consecutive Days of Diestrus	1	0	1	1
	Mean Age of Vaginal Patency (days)	33.3	33.8	32.9	32.8
	Motor Activity	-	-	-	-
	Learning and Memory (Passive Avoidance)	-	-	-	-
	Mean No. Days in Cohabitation	2.4	2.9	2.8	2.9
	No. of Pregnant Females	21	22	23	24
	Mean No. Corpora Lutea	16.5	15.9	16.4	16.5
	Mean No. Implantations	16.1	15.4	15.8	16.2
	Mean % Preimplantation Loss	2.1	2.9	3.5	1.6

Footnotes are on the last page of the table.

表 14　生殖発生毒性：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（主要な試験）
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Reproductive and Developmental Toxicity								Amgen Study No. 108062
Dose Level (mg/kg)		0		10		60		300
F_1 Litters	No. Pups Evaluated	44		47		50		44
(Postweaning)	Mean Right Femur Length (mm)	16.53		16.64		16.41		16.62
Subset 2 [i]	Bone Histopathology	-		-		-		-
	No. Pups Evaluated	M: 22	F:22	M: 23	F: 24	M: 25	F: 25	M: 22	F: 22
	pQCT Ex Vivo								
	Distal Femur Metaphysis								
	Total BMC (mg/mm)	2.66	2.61	2.72	2.66	2.35 A	2.25 B	2.45	2.36
	Total BMC (% change from control)	NA	NA	2.1	2.1	-11.6	-13.7	-8.1	-9.6
	Total BMD (mg/cm^3)	270.51	281.06	289.81 A	295.57	252.31 A	253.90 C	255.94	259.76 A
	Total BMD (% change from control)	NA	NA	7.1	5.2	-6.7	-9.7	-5.4	-7.6
	Trabecular BMC (mg/mm)	0.97	0.98	1.04	1.03	0.89	0.82 A	0.93	0.90
	Trabecular BMC (% change from control)	NA	NA	7.7	5.4	-7.7	-15.9	-4.3	-7.7
	Trabecular BMD (mg/cm^3)	177.59	190.35	201.67 A	207.34	172.55	167.77 A	175.60	179.46
	Trabecular BMD (% change from control)	NA	NA	13.6	8.9	-2.8	-11.9	-1.1	-5.7
	Cortical/Subcortical BMC (mg/mm)	1.70	1.63	1.68	1.63	1.46 C	1.43 C	1.52 A	1.46 B
	Cortical/Subcortical BMC (% change from control)	NA	NA	-1.1	0.2	-13.9	-12.4	-10.3	-10.7
	Cortical/Subcortical BMD (mg/cm^3)	384.27	392.34	397.75	403.53	350.56 C	359.32 C	354.45 C	358.00 C
	Cortical/Subcortical BMD (% change from control)	NA	NA	3.5	2.9	-8.8	-8.4	-7.8	-8.8

Footnotes are on the last page of the table.

表 14　生殖発生毒性：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（主要な試験）
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Reproductive and Developmental Toxicity									Amgen Study No. 108062
Dose Level (mg/kg)		0		10		60		300	
F_1 Litters	No. Pups Evaluated	M: 22	F:22	M: 23	F: 24	M: 25	F: 25	M: 22	F: 22
(Postweaning)	pQCT Ex Vivo								
Subset 2 [i]	Distal Femur Diaphysis								
	Total Area (mm^3)	4.16	3.91	3.83 B	3.84	3.88 A	3.88	3.98	3.84
	Total Area (% change from control)	NA	NA	-8.0	-1.7	-6.7	-0.6	-4.3	-1.8
	Cortical Thickness (mm)	0.25	0.25	0.26	0.25	0.26	0.26	0.27 A	0.27
	Cortical Thickness (% change from control)	NA	NA	4.2	0.9	3.3	1.7	7.4	6.2
	Periosteal Circumference (mm)	7.22	7.00	6.93 B	6.94	6.98 A	6.98	7.06	6.94
	Periosteal Circumference (% change from control)	NA	NA	-4.0	-0.9	-3.3	-0.3	-2.1	-0.9
	Endosteal Circumference (mm)	5.67	5.42	5.31 B	5.34	5.37 B	5.37	5.40 A	5.26
	Endosteal Circumference (% change from control)	NA	NA	-6.3	-1.4	-5.2	-0.9	-4.7	-3.0
	CSMI (mm^4)	0.77	0.72	0.70 A	0.69	0.71	0.71	0.76	0.73
	CSMI (% change from control)	NA	NA	-10.1	-4.2	-8.7	-0.4	-2.1	1.5
F_1 Litters	No. Litters	23		23		25		23	
(Postweaning)	Cervical Vertebra Evaluations [k]	-		-		-		-	
Subset 3 [j]									
F_2 Litters [l]	Mean Litter Size	15.2		14.7		15.4		15.2	
	Mean No. Viable Embryos/Litter	15.2		14.7		15.4		15.2	
	Mean No. Nonviable Embryos/Litter	0.9		0.8		0.4		1.0	
	Mean % Postimplantation Loss	5.6		5.1		2.8		6.6	

Footnotes are on the last page of the table.

表 14　生殖発生毒性：出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験（主要な試験）
被験物質：ロモソズマブ（続き）

- No noteworthy findings.

ADA = anti-drug antibody; BMC = bone mineral content; BMD = bone mineral density; CSMI = cross-sectional moment of inertia in the place of bending; DS = day of study; F = female; GD = gestation day; GLP = good laboratory practice; LD = lactation day; LLOQ = lower limit of quantification; M = male: NA = not applicable; NE = not evaluated; PD = postdose; pQCT = peripheral quantitative computed tomography.

[a] Subcutaneous doses were administered once weekly. Twelve or thirteen (12/13) doses were administered from DS 1 through LD 20 for females that reared litters. Ten (10) doses were administered from DS 1 to GD 25 for females that did not deliver a litter.

[b] One hundred-seventy five female rats were assigned to study (25 control and 50 per group at 10, 60 and 330 mg/kg AMG 785). Dosing continued through the gestation period and before the estimated day of natural delivery the AMG 785-treated groups were culled to 25 females/group to remove rats where ADAs may have compromised or attenuated the pharmacologic response. After elimination of ADA-positive animals, the 300 mg/kg group had < 25 females; therefore, animals that were ADA positive but had the lowest signal to noise ratio were added to obtain 25 females. Animals not selected for study were euthanized without further evaluation.

[c] Results shown for animals retained on study before delivery. The number of animals evaluated on LD 21 at10 and 300 mg/kg was reduced because serum samples were not available for animals that were not pregnant or did not deliver.

[d] Sparse hair coat was noted on the limbs, back, and/or head across all groups, including controls, but the most frequent of these observations was on the limbs at 300 mg/kg.

[e] For controls, absolute food consumption is shown as the weekly mean g/animal/day during precohabitation period (beginning on the first day of dosing, DS 1). For treated groups, percent differences from controls are shown. Statistical significance is based on actual data (not on the percent differences).

[f] Subset 1 animals evaluated for growth/development, behavioral, and reproductive function assessments.

[g] There were no AMG 785-related deaths during the postweaning period. A 10 mg/kg F1 generation male was euthanized on day 23 postpartum because of an injury. A 300 mg/kg male was found dead on day 26 postpartum. There were no clinical signs or macroscopic observations for this animal; however, this pup had one of the lowest body weights on the day after weaning (36 g) and the presumed cause of death was failure to thrive after weaning.

[h] Mean excludes one rat for which the exact day of maturity could not be determined.

[i] Subset 2 animals were euthanized on day 21 postpartum and bled from the vena cava for analysis of serum concentrations of AMG 785 (data shown in bioanalysis section) and evaluated for femur length measurement, bone densitometry assessment using pQCT analysis, and bone histopathology.

[j] Subset 3 animals were euthanized on day 21 postpartum for examination of the C6 cervical vertebra.

[k] There were no AMG 785-related skeletal malformations or variations in the 6th cervical vertebrae. A total of 133, 133, 148, and 130 pups at doses of 0, 10, 60, and 300 mg/kg, respectively were examined.

[l] F2 litters were the GD 13 caesarean-sectioned Subset 1 animals evaluated for reproductive function assessments.

* $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ using Dunnett's test.

Statistical evaluations for bone measurements:

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)

表 15　新生児を用いた試験
被験物質：ロモソズマブ

新生児を用いた試験は実施しなかった。

表 16　局所刺激性（*In vivo*）
被験物質：ロモソズマブ

Species/Strain	Method of Administration	Dose (mg/mL)	Sex and No. Per Group	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Rat/Sprague Dawley	SC injection	0, 64, 118 (1.2 mL dosed) Control: 27mM acetate, 14mM calcium, 6% (w/v) sucrose, and 0.006% (w/v) polysorbate 20, pH 5.2	5M	Scab and a raised, non-discolored skin surface at the injection site in 1 animal at 118 mg/mL. Histological changes: Dose-related granulomatous inflammation at the injection site (minimal to mild at 64 mg/mL; mild to moderate at 118 mg/mL) and mixed cell infiltrates in the surrounding tissue. Dose-related irregular-shaped intracellular and extracellular deposits of proteinaceous material consistent with drug were present at the injection site. There was a dose-related increased incidence and severity of edema (minimal to mild) in the area of inflammation in many of the animals.	113234 (non-GLP)

GLP = Good Laboratory Practices; F = female; IV = intravenous; M = male; SC = subcutaneous; SD = Sprague Dawley.

[a] Group 1 received AMG 785 Placebo B (10 mM sodium acetate, 9.0% w/v sucrose, 0.004% w/v polysorbate 20, pH 5.2) on the left scapular region and AMG 785 (70 mg/mL; formulated in Placebo B) on the right scapular region. Group 2 received AMG 785 Placebo A (27 mM acetate, 14 mM calcium acetate anhydride, 6% (w/v) sucrose, 0.006% (w/v) polysorbate 20, pH 5.2) on the left scapular region and AMG 785 (120 mg/mL; formulated in Placebo A) on the right scapular region. Animals were dosed at a volume of 1.2 mL/dose site.

[b] No substantive differences in nature of response between Placebo A and B were noted, although incidence of the findings was greater with Placebo A.

表 16　局所刺激性（*In vivo*）
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Species/Strain	Method of Administration	Dose (mg/mL)	Sex and No. Per Group	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Rats/Crl:CD(SD)	SC injection	0 (Placebo A or B) [a], 70, or 120 (1.2 mL/dose site)	5M	Placebo A and B[b]: minimal to slight mononuclear infiltrates in the region of the injection that extended up to 3 cm from the site of injection, minimal to slight degeneration/regeneration of the panniculus muscle, and minimal to slight subcutis hemorrhage. 70 mg/mL: minimal to slight granulomatous inflammation with proteinaceous foreign material in the region of the injection that dissipated peripherally through 3 cm from the site of injection (3 of 5 sites). 120 mg/mL: slight to marked granulomatous inflammation with proteinaceous foreign material that extended peripherally through 3 cm from the injection site (5 of 5 sites), slight to moderate mononuclear infiltrates in the subcutis in the region of the injection.	112795 (GLP)

GLP = Good Laboratory Practices; F = female; IV = intravenous; M = male; SC = subcutaneous; SD = Sprague Dawley.

[a] Group 1 received AMG 785 Placebo B (10 mM sodium acetate, 9.0% w/v sucrose, 0.004% w/v polysorbate 20, pH 5.2) on the left scapular region and AMG 785 (70 mg/mL; formulated in Placebo B) on the right scapular region. Group 2 received AMG 785 Placebo A (27 mM acetate, 14 mM calcium acetate, 6% (w/v) sucrose, 0.006% (w/v) polysorbate 20, pH 5.2) on the left scapular region and AMG 785 (120 mg/mL; formulated in Placebo A) on the right scapular region. Animals were dosed at a volume of 1.2 mL/dose site.

[b] No substantive differences in nature of response between Placebo A and B were noted, although incidence of the findings was greater with Placebo A.

表 16　局所刺激性（*In vivo*）
被験物質：ロモソズマブ（続き）

Species/Strain	Method of Administration	Dose (mg/mL)	Sex and No. Per Group	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Rat/Sprague Dawley	SC or IV injection	SC: 0, 10, 70 IV: 70 At 10 mg/mL was dosed at 5 and 35 mg/kg. 70 mg/mL was dosed at 35 mg/kg Control: 10mM acetate, pH 5.2; 9% sucrose; 0.004% polysorbate 20.	16F	4/sex were euthanized at 2, 24, 72, and 168 hours after dosing. The incidence and severity of SC injection site reactions (increased inflammatory cell infiltrates) and amount of detected human IgG peaked at 24 hours postdose, followed by reduced severity of reaction and reduced staining intensity for human IgG. No or minor reactions to the administered material were evident by light microscopy.	106718 (non-GLP)

GLP = Good Laboratory Practices; F = female; IV = intravenous; M = male; SC = subcutaneous; SD = Sprague Dawley.

[a] Group 1 received AMG 785 Placebo B (10 mM sodium acetate, 9.0% w/v sucrose, 0.004% w/v polysorbate 20, pH 5.2) on the left scapular region and AMG 785 (70 mg/mL; formulated in Placebo B) on the right scapular region. Group 2 received AMG 785 Placebo A (27 mM acetate, 14 mM calcium acetate anhydride , 6% (w/v) sucrose, 0.006% (w/v) polysorbate 20, pH 5.2) on the left scapular region and AMG 785 (120 mg/mL; formulated in Placebo A) on the right scapular region. Animals were dosed at a volume of 1.2 mL/dose site.

[b] No substantive differences in nature of response between Placebo A and B were noted, although incidence of the findings was greater with Placebo A.

表 17A. その他の試験 - 作用機序試験-
被験物質：ロモソズマブ代替抗体

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Rat/Sprague Dawley (OVX at 6 months)	SC (10mM sodium acetate, 9.0% sucrose, 0.004% polysorbate 20, pH 5)	Single dose of Scl-Ab	r13C7: 0, 100	20 F	8-month old OVX rats received 0 or 100 mg/kg Scl-Ab and lumbar vertebrae were collected at 6, 24, 72, and 168 hours postdose. Amplified mRNA from osteocytes, osteoblasts, and lining cells were profiled by TaqMan® and microarray. Scl-Ab caused strikingly similar transcriptional profiles across all 3 cell types. Only 13 known canonical Wnt target genes, the majority with known functions in bone, showed a significant change in expression by microarray in response to Scl-Ab, with Wisp1 and Twist1 being the most responsive. Coincident with increased expression of Wnt target genes was the upregulation of numerous ECM genes. The acute and sustained upregulation of ECM genes in lining cells supports their activation into matrix-producing osteoblasts, consistent with modeling-based bone formation. Pathway analyses indicated that Scl-Ab regulated a limited number of genes related to cell cycle arrest and B cell development. In conclusion, these data demonstrated that Scl-Ab does not acutely activate a large number of genes associated with canonical Wnt signaling	115877 (non-GLP)

Footnotes are on the last page of the table.

表 17A.　その他の試験 - 作用機序試験-
被験物質：ロモソズマブ代替抗体（続き）

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Rat/Sprague Dawley (OVX at 6 months)	SC (10mM sodium acetate, 9% sucrose, 0.004% polysorbate 20, pH 5)	Weekly, up to 26 weeks [b], 2, 8, 12, or 18-week recovery	r13C7: 0, 3, 50	0 mg/kg: 78F 3 or 50 mg/kg: 69F	Vertebrae from aged OVX rats treated with Scl-Ab for 26 weeks followed by a recovery period displayed a rapid and marked increase in BFR/BS and Ob.N with maximal BFR/BS on day 29, followed by a progressive decline in BFR/BS and Ob.N with continued dosing through day 183. During the recovery, BFR/BS was initially suppressed and then returned to vehicle levels. Trabecular bone mass progressively increased through day 183, and declined during recovery. Oc.S/BS was decreased during dosing and increased in the recovery period with corresponding changes in expression of major regulators of osteoclastogenesis. Reduction in osteoprogenitors preceded the reduction in osteoblasts and bone formation and correlated with significant transcriptional changes in the osteocyte. Transcriptional changes included induction of signaling pathways known to regulate Wnt signaling and suppress mitogenesis and cell cycle progression. The temporal correspondence of these changes suggest this coordinated response of downsteam regulatory pathways modulates the transcriptional output of canonical Wnt signaling and contributes to self-regulation of bone formation with long term Scl-Ab treatment.	115777 (non-GLP)

Footnotes are on the last page of the table.

表 17A.　その他の試験 - 作用機序試験-
被験物質：ロモソズマブ代替抗体（続き）

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Rat/Sprague Dawley (aged, OVX)	SC (10mM sodium acetate, 9% sucrose, 0.004% polysorbate 20, pH 5)	Weekly, up to 26 weeks [b], 2, 8, 12, or 18-week recovery	r13C7: 0, 3, 50	0 mg/kg: 78F 3 or 50 mg/kg: 69F	The data suggest regulation of canonical Wnt signaling is multifactorial involving induction of pathways such as TGF-β1, Hippo, and noncanonical Wnt that are recognized to modulate the output of canonical Wnt signaling as well as induction of extracellular inhibitors such as SOST and DKK1. However, the most significant signaling changes occurred in pathways that would limit cell cycle progression. The temporal relationship between these transcriptional changes and changes in BFR/BS suggests that suppression of mitogenesis and cell cycle progression may contribute to the self-regulation of bone formation observed with long-term Scl-Ab treatment. The induction of p53 and other tumor suppressor signaling would limit mitogenesis and reduce carcinogenic risk in bone.	115777 (non-GLP) (con't)

Footnotes are on the last page of the table.

表 17A.　その他の試験 - 作用機序試験-
被験物質：ロモソズマブ代替抗体（続き）

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Rat/Sprague Dawley	SC (55 mM acetate, 13 mM calcium, 6% sucrose, 0.006% polysorbate 20, pH 5.2)	4 or 26 weeks [c]	0 QW romosozumab3 or 50 QW hPTH (1-34): 75 µg/kg QD	Control (0 mg/kg): 10/sex/ for 4 or 26 weeks romosozumab 3 mg/kg = 20/sex for 4 weeks 50/sex for 26 weeks 50 mg/kg = 18/sex for 4 weeks 20/sex for 26 weeks. hPTH (1-34): 10/sex/ for 4 or 26 weeks	The effects of these romosozumab and PTH were compared specifically at the level of the Ob lineage in vertebrae from female rats using stereological methods. Using RUNX2 or nestin immunostaining, location, and morphology, the total number of osteoprogenitor subpopulations, Ob, and lining cells were estimated using the fractionator or proportionator estimators. Density estimates were calculated referent to total bone surface, total Ob surface, or total marrow volume. Romosozumab generally effected greater increases in cancellous and cortical bone mass than PTH, correlating with BFR at 4 weeks in the spine and mid-femur without corresponding increases in bone resorption indices. The increases in vertebral BFR/BS at 4 weeks attenuated with continued treatment to a greater extent with romosozumab than with PTH. At 4 weeks, both romosozumab and PTH effected equivalent increases in total Ob.N. Ob.N/Ob.S remained similar across groups while MAR was significantly higher with romosozumab at week 4, reflecting an increase in individual Ob vigor relative to Vehicle and PTH. After 26 weeks romosozumab maintained BFR/BS with fewer Ob and lower Ob.N/Ob.S by increasing the Ob footprint (bone surface area occupied by an Ob) and increasing MAR, compared with PTH.	115776 (non-GLP)

Footnotes are on the last page of the table.

表 17A. その他の試験 - 作用機序試験-
被験物質：ロモソズマブ代替抗体（続き）

Species/ Strain	Method of Administration (Vehicle/ Formulation)	Duration of Dosing	Doses (mg/kg) [a]	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number (GLP status)
Rat/Sprague Dawley	SC (55 mM acetate, 13 mM calcium, 6% sucrose, 0.006% polysorbate 20, pH 5.2)	4 or 26 weeks [c]	0 QW romosozumab3 or 50 QW hPTH (1-34): 75 µg/kg QD	Control: 10/sex/ for 4 or 26 weeks romosozumab 3 mg/kg = 20/sex for 4 weeks 50/sex for 26 weeks 50 mg/kg = 18/sex for 4 weeks 20/sex for 26 weeks. hPTH (1-34) 10/sex/ for 4 or 26 weeks	The lower Ob.N and Ob.N/Ob.S with romosozumab at 26 weeks was associated with decreased osteoprogenitor numbers compared with both vehicle and PTH, an effect not evident at week 4. Osteoprogenitor numbers were generally positively correlated with Ob.N across groups and time points, suggesting dynamic coordination between the progenitor and Ob populations. The time-dependent reductions in subpopulations of the Ob lineage with romosozumab may be integral to the greater attenuation or self-regulation of bone formation observed at the vertebra. In contrast, PTH required more Ob at the formative site with correlative increased numbers of progenitors compared with romosozumab indicating potentially greater stimulus for progenitor pool proliferation or differentiation.	115776 (non-GLP) (con't)

BFR = bone formation rate; BS = bone surface; DKK1 = dickkopf 1; ECM = extracellular matrix; GLP = Good Laboratory Practices; F = female; hPTH (1-34) = human parathyroid hormone 1-34; MAR = mineral apposition rate; mRNA = messenger RNA (ribonucleic acid); Ob = osteoblast(s); Ob.N = osteoblast number; Ob.N/Ob.S = osteoblast number/osteoblast surface (osteoblast density on formative surfaces); Oc.S = osteoclastic surface; OVX = ovariectomized;; QD = once daily; QW = once weekly; r13C7 = rat surrogate antibody for romosozumab; RUNX2 = runt-related transcription factor 2; SC = subcutaneous; Scl-Ab = sclerostin antibody; SOST = sclerostin gene.

[a] Unless otherwise specified.

[b] This study compared and contrasted the temporal and spatial changes in bone formation rates and transcriptional profiles in cortical and cancellous bone cell populations. This study had serial necropsies on days 8, 29, 85, 183, 197 (recovery week 2 for 0 and 3 mg/kg only), 237 (recovery week 8, for 0 and 50 mg/kg only), 267 (recovery week 12 for 0 and 3 mg/kg only) and 309 (recovery week 18 for 0 and 50 mg/kg only). Flurochrome (calcein green) was administered 13 and 3 days before necropsy for laser capture microdissection.

[c] This study compared bone-forming agents romosozumab and PTH. Animals administered control or romosozumab were euthanized one week after the final dose. Animals administered PTH were euthanized after the final dose. ADA status was determined for animals administered AMG 785 and ADA positive animals were excluded from evaluation for the respective dosing durations. For all groups, bone analysis was conducted on 10/sex/group for each dose duration.

表 17B.　その他の試験 -交差反応性-
被験物質：ビオチン化ロモソズマブ

Species/Strain or Test Model	Method of Administration	Concentration (μg/mL)	Sex and No. per Group	Noteworthy Findings	Study Number (GLP Status)
Tissue cross-reactivity in Sprague Dawley rat, New Zealand white rabbit, cynomolgus monkey, and human tissues	*In vitro* – single application to frozen tissue samples	2 and 20 Biotin-AMG 785	Tissue panels from rat, rabbit, monkey, and human	Osteocyte staining in human, monkey, and rabbit. Stromal fiber staining in the aorta or pulmonary artery present in heart section from one monkey. No unexpected tissue binding or cross-reactivity.	105783 GLP

GLP = Good Laboratory Practices