KRN23

第 2 部（モジュール 2）：
CTD の概要（サマリー）

2.4　非臨床試験の概括評価

協和キリン株式会社

略号及び用語の定義一覧

略号

略号	略していない用語
$1,25(OH)_2D$	1,25-dihydroxy vitamin D（1,25-ジヒドロキシビタミン D）
BUN	Blood urea nitrogen（血中尿素窒素）
Ca	Calcium（カルシウム）
CNS	Central nervous system（中枢神経系）
CTx	Carboxy-terminal cross-linked telopeptide of collagen type I（I 型コラーゲン架橋 C-テロペプチド）
ECG	Electrocardiogram（心電図）
EDV	End-diastolic volume（拡張末期容積）
EF	Ejection fraction（駆出率）
ePPND	Enhanced pre- and post-natal development（拡充型出生前及び出生後の発生）
ESV	end-systolic volume（収縮末期容積）
FGF23	Fibroblast growth factor 23（線維芽細胞増殖因子 23）
FGFR	Fibroblast growth factor receptor（線維芽細胞増殖因子受容体）
FITC	Fluorescein isothiocyanate-conjugated（フルオレセインイソチオシアネート標識）
GD	Gestational day（妊娠からの日数）
HFTC	Hyperphosphatemic familial tumoral calcinosis（ヒト高リン血症性家族性腫瘍状石灰沈着症）
Hyp	Hypophosphatemic（低リン血症）
Ig	Immunoglobulin （免疫グロブリン）
IP	Inorganic phosphate（無機リン）
mAb	Monoclonal antibody（モノクローナル抗体）
NaPiIIa	Type IIa sodium-phosphate co-transporter（IIa 型ナトリウム／リン共輸送担体）
NOAEL	No observed adverse effect level（無毒性量）
NZW	New Zealand White（ニュージーランドホワイト）
PD	Pharmacodynamics（薬力学）
PHEX	Phosphate-regulating gene with homologies to endopeptidases on the X-chromosome
PK	Pharmacokinetics（薬物動態学）
POC	Proof of concept
PND5	Postnatal day 5（出生後 5 日）
SV	Stroke volume（一回拍出量）
TIO	Tumor induced osteomalacia（腫瘍性骨軟化症）
TK	Toxicokinetics（トキシコキネティクス）
TmP/GFR	Ratio of renal tubular maximum reabsorption rate of phosphate to glomerular filtration rate（腎近位尿細管リン再吸収閾値）
WT	Wild type（野生型）
XLH	X-linked hypophosphatemic rickets/osteomalacia（X 染色体連鎖性低リン血症性くる病・骨軟化症）

用語の定義

用語	定義
AUC	血漿（血清）中薬物濃度―時間曲線下面積
AUC_{0-t}	投与後 t 時間までの血漿（血清）中薬物濃度―時間曲線下面積
$AUC_{0-\infty}$	無限大時間までの血漿（血清）中薬物濃度―時間曲線下面積
AUC_{last}	最終測定時点までの血漿（血清）中薬物濃度―時間曲線下面積
AUC_{τ}	投与間隔（τ）での血漿（血清）中薬物濃度―時間曲線下面積
C_0	投与直後の血漿（血清）中薬物濃度
CL	全身クリアランス
CL/F	みかけの全身クリアランス
CL_{ss}/F	定常状態におけるみかけの全身クリアランス
C_{max}	最高血漿（血清）中薬物濃度
DNA	デオキシリボ核酸
ELISA	固相酵素結合免疫測定法
F	生物学的利用率、バイオアベイラビリティ
FDA	米国食品医薬品局
GLP	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
K_D	解離定数
Q4W	4 週に 1 回
$t_{1/2}$	血漿（血清）中消失半減期
t_{max}	最高血漿（血清）中薬物濃度到達時間
ST	心電図の S 波の終りから T 波の始まりまでの部分
V_{ss}	定常状態における分布容積
V_z	消失相における分布容積
V_z/F	消失相におけるみかけの分布容積

目次

略号及び用語の定義一覧 2
目次 4
2.4 非臨床試験の概括評価 5
1 緒言 5
2 非臨床試験計画概略 6
3 薬理試験 7
3.1 効力を裏付ける試験 8
3.1.1 *In vitro* 薬理試験 8
3.1.2 *In vivo* 薬理試験 9
3.2 副次的薬理試験 10
3.3 安全性薬理試験 11
3.4 薬力学的薬物相互作用試験 11
4 薬物動態試験 11
4.1 吸収 12
4.1.1 単回投与薬物動態試験 12
4.1.2 反復投与薬物動態試験 12
4.2 分布 14
4.3 代謝（動物種間比較） 14
4.4 排泄 14
4.5 薬物動態学的薬物相互作用 14
4.6 その他の薬物動態試験 14
5 毒性試験 14
5.1 単回投与毒性試験 15
5.2 反復投与毒性試験 16
5.3 遺伝毒性試験及びがん原性試験 16
5.4 生殖発生毒性試験 16
5.5 局所刺激性試験 17
5.6 その他の毒性試験 17
5.6.1 組織交差反応性試験 17
5.6.2 XLH の病態モデルにおける試験 18
6 総括 18
6.1 異所性鉱質沈着の総合リスク評価 22
6.2 結論 24
7 参考文献 24

2.4 非臨床試験の概括評価

1 緒言

線維芽細胞増殖因子 23（FGF23）は血清リンの特異的調節因子として重要な役割を担っており、その主な機能は、腎近位尿細管のリン再吸収の抑制による血清リン濃度を低下させることである（Fukumoto, 2008; Razzaque and Lanske, 2007）。また、FGF23 は、腎臓における 1-α-ヒドロキシラーゼ活性を阻害することにより、活性型ビタミン D である 1,25-ジヒドロキシビタミン D（1,25$(OH)_2$D）の血清中濃度を低下させ、その結果、リン及びカルシウム（Ca）の腸管吸収が抑制される。リンの尿細管再吸収とビタミン D 代謝を介した腸管吸収の両者に対する FGF23 の作用により血清リン濃度が低下する。

FGF23 関連低リン血症性くる病・骨軟化症は、FGF23 過剰産生が原因となる複数の疾患から構成されるが、大きくは遺伝子変異による先天性疾患と、主に間葉系腫瘍等が原因となる後天性疾患に分けられる。遺伝子変異が原因とされる疾患としては、Phosphate-regulating gene with homologies to endopeptidases on the X chromosome（PHEX）遺伝子変異による X 染色体連鎖性低リン血症性くる病・骨軟化症（XLH）、FGF23 遺伝子変異による常染色体優性低リン血症性くる病・骨軟化症、Dentin matrix protein 1 遺伝子変異による常染色体劣性低リン血症性くる病・骨軟化症 1、Ecto-nucleotide Pyrophosphatase/Phosphodiesterase 1 遺伝子変異による常染色体劣性低リン血症性くる病・骨軟化症 2 等が挙げられる。また、後天性疾患としては主に間葉系腫瘍が原因となる疾患である腫瘍性骨軟化症（TIO） 等が挙げられる。

FGF23 関連低リン血症性疾患を代表する XLH は、高濃度の血中 FGF23 に伴う過剰な尿中リン排泄及び低リン血症を特徴とし（Bonewald and Wacker, 2013; Jonsson et al, 2003; Yamazaki et al, 2002）、ごく若い年齢で発症して生涯にわたり患者の日常機能及び Quality of life に大きな影響を及ぼす骨変形を伴う希少疾患である。FGF23 を介した低リン血症は、骨石灰化不全を経て、くる病及び骨軟化症の原因となるが、くる病は小児及び思春期の XLH 患者において骨端線閉鎖前の成長板の石灰化及び骨化不全を特徴とする疾患であるのに対し、骨軟化症は、骨端線閉鎖後の骨石灰化不全を特徴とする疾患である（Shore and Chesney, 2013）。

現行の従来型治療法（リン酸製剤の連日経口補充又はリン酸製剤と活性型ビタミン D 製剤の併用）は、XLH の病態生理学的原因を標的とはしないため、小児の骨及び成長異常に対する治療効果は十分ではない。また、成人においても、従来型治療法による疼痛の改善等の骨軟化症に対する有効性を示す根拠は限られており（Sullivan et al, 1992）、成人の治療に関するコンセンサスは得られていない（Linglart et al, 2014）。加えて、従来型の治療法では、腎石灰化症、高 Ca 尿症、副甲状腺機能亢進症等の潜在的リスクを回避するための慎重なモニタリングが必要である。以上のことから、XLH に対するより有効で、安全かつ簡便な治療法が求められている。

KRN23 は、FGF23 の N 末端ドメインに結合する遺伝子組換えヒト型免疫グロブリン（Ig）G1 モノクローナル抗体（mAb）であり、XLH 及び TIO、表皮母斑症候群等の高濃度血中 FGF23 を特徴とする FGF23 関連低リン血症性くる病・骨軟化症の治療薬として開発された。KRN23 が過剰な FGF23 を中和することで、腎臓におけるリン再吸収の正常化及び血清 1,25$(OH)_2$D 濃度の増加に伴う腸管からのリン吸収を改善し、低リン血症を改善させることが可能となる。外科的治療の適応となる場合を除く FGF23 関連低リン血症性くる病・骨軟化症の現行治療は、尿中に過剰に喪失されるリンを経口補充する対症療法が中心であり、根本的な治

療法は未だに開発されていない。KRN23 による治療は、低リン血症の惹起因子である過剰な FGF23 を中和する根本的な治療であり、血清リン濃度及び血清カルシウム濃度を急激に変化させることなく、継続的に安定して血清リン濃度を回復させることが可能となると考えている。

非臨床試験において、KRN23 の薬理、薬物動態学（PK）及び毒性を幅広く検討した。非臨床試験の結果の主な要約は以下のとおりである。

- KRN23 は高い親和性で FGF23 に結合し、正常動物において血清中の無機リン（IP）及び $1,25(OH)_2D$ 濃度を上昇させた。また、マウス抗 FGF23 抗体は、幼若低リン血症（Hyp）マウス（XLH の病態モデル）において、成長や大腿骨及び脛骨の伸長を著しく改善させたことから、過剰な FGF23 作用を抑制することで XLH に特徴的な臨床症状を改善する可能性が確認された。
- 薬物動態試験の結果から、ウサギ及びカニクイザルにおいて、静脈内投与と皮下投与の投与経路の違い、幼若動物と成熟動物間といった年齢差、若しくは性差にかかわらず、KRN23 の PK パラメータは同様であることが示された。
- ウサギ及びカニクイザルを用いた毒性試験において、KRN23 によって FGF23 の正常な機能が長期間にわたり過剰に阻害された結果、KRN23 の主要な毒性所見として組織及び臓器の鉱質沈着が認められた。これらの所見は、正常動物における過剰な薬理作用の延長上の所見であると考えられ、約 8 mg/dL を超える血清リン濃度に伴い認められた。
- 毒性試験において、休薬により血清 IP 及び $1,25(OH)_2D$ 濃度は正常なベースライン値まで戻ることが示された。腎臓、心臓、骨等の一部の臓器を除き、鉱質沈着の発現頻度及び程度に回復性が認められた。
- 非臨床毒性試験の結果から、正常域を超える過剰な血清リン濃度となった場合に鉱質沈着が認められたことから、臨床において血清リン及び Ca 濃度を長期的に正常域になるように適切にモニター及び維持することで鉱質沈着のリスクを制御可能であると予想された。

2 非臨床試験計画概略

KRN23 の作用機序を理解し、Proof of concept（POC）による有効性の根拠を確立するため、*in vitro* 及び *in vivo* 薬理試験を実施した。KRN23 の FGF23 に対する結合親和性について、結合の特徴及び種特異性を検討する *in vitro* 試験を実施した。また、KRN23 による FGF23/Klotho/線維芽細胞増殖因子受容体（FGFR）複合体形成に伴う細胞内シグナル伝達阻害効果を *in vitro* における細胞を用いたアッセイ系で検討した。これらの試験の結果、ウサギ及びカニクイザルが、KRN23 に対する薬理及び毒性を評価するための適切な動物種であることが確認された。

In vivo 薬理試験では、KRN23 の最小有効用量を設定することを目的として、ウサギ及びカニクイザルを用いて KRN23 による血清リン及び $1,25(OH)_2D$ 濃度上昇の用量依存性を検討した。Hyp マウスを用い、抗 FGF23 モノクローナル抗体が XLH に伴う病態を改善又は回復させるという仮説について検証を行った。この試験では、KRN23 がマウスの FGF23 には結合しないため、マウス抗 FGF23 モノクローナル抗体を用いた。安全性薬理試験の評価項目として、反復投与毒性試験において KRN23 が心血管系及び呼吸器系に及ぼす影響を評価した。更に、毒性試験での一般状態観察評価により、中枢神経系（CNS）への影響を評価した。

KRN23 に関連する毒性及びその回復性を明らかとする目的で、ウサギ及びカニクイザルを用いた、単回投与及び反復投与（最長 40 週間）毒性試験を実施した。正常な動物を用いた試

験は KRN23 の薬理及び毒性プロファイルを明らかにするために有用であるが、FGF23 関連低リン血症性くる病及び骨軟化症の患者のような過剰量の FGF23 が存在しないため、FGF23 関連低リン血症性くる病及び骨軟化症患者におけるリスクを評価する場合には、感受性の違いを考慮する必要がある。XLH 患者への外挿性及び KRN23 投与による異所性鉱質沈着のリスクについて評価するために、Hyp マウス及びその野生型（WT）マウスを用いて血清中のリン増加及び異所性鉱質沈着の評価を行った。また、異所性鉱質沈着の総合的なリスク評価（4.2.3.7.7-3）も行っており、これについては 6.1 項及び 2.6.6-9 項に簡潔に述べる。

KRN23 の薬物動態及び曝露量と毒性の関連性を明らかにするために、トキシコキネティクス（TK）及び薬物動態試験を実施した。反復投与毒性試験において、生殖器官への潜在的な影響についても評価を実施し、雌雄の生殖器官の標準的な病理組織検査及び月経周期又は精子機能の評価を行った。カニクイザルを用いた拡充型出生前及び出生後の発生（ePPND）に関する試験は、妊娠中の KRN23 反復曝露が、母動物、胎児及び出生児に及ぼす有害作用の可能性を評価するために実施した。

また、KRN23 に特異的な毒性を予測するために、KRN23 の特定の組織又は器官への結合性を評価することを目的とした組織交差反応性試験を実施した。ICH S6(R1)ガイダンス（バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価）に従い、遺伝毒性試験及びがん原性試験は実施しなかった。モノクローナル抗体は、DNA 又は他の遺伝物質と相互に直接作用しないと予測されるため、KRN23 においても、遺伝毒性試験の実施は妥当ではないと考えられた。また、げっ歯類を用いた標準的ながん原性試験は KRN23 に対しては妥当ではないものの、別途、KRN23 のがん原性リスクに関する評価を実施した。モノクローナル抗体の代謝及び排出経路は十分に理解されていること、KRN23 はモノクローナル抗体の典型的な薬物動態学的特性を示したことから、KRN23 の代謝、分布及び排泄の更なる検討は必要でないと判断した。

主要な毒性試験は、FDA の GLP（21 CFR Part 58）及び厚生労働省の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令（平成 9 年厚生省令 21 号）に準拠して実施した。非臨床試験の GLP 準拠の状況を表 3-1、表 4-1 及び表 5-1 に示す。

KRN23 開発期間中に、処方及び製造工程の変更を行った。各工程変更の都度、製剤の同等性を評価した。各非臨床試験で用いた製剤ロットを表 4-1 及び表 5-1 に示す。結論として、すべての試験で使用された製剤は物理的化学的及び生物活性において同等であった。

3 薬理試験

KRN23 の薬理作用を評価するため、効力を裏付ける試験として *in vitro* 試験 8 試験、*in vivo* 試験 8 試験を実施した。安全性薬理は個別の試験としては評価しなかったが、その代わり、複数の反復投与毒性試験で評価した。これらの試験の一覧を表 3-1 に示す。

表 3-1 KRN23 の薬理試験

試験の表題	試験番号	GLP
効力を裏付ける試験		
In vitro 薬理試験		
Determination of the binding affinities of KRN23 to human, cynomolgus monkey and rabbit FGF23 by Biacore	r-[redacted]-0326	非適用
Response Curve of Human, Monkey and Murine FGF23 by Sandwich ELISA	r-[redacted]-0026	非適用
Response Curve of Plasma FGF23 from Various Mammals by Sandwich ELISA	r-[redacted]-0027	非適用
Evaluation of the inhibitory activity of KRN23 against FGF23 signaling using a cell-based assay	d-[redacted]-816	非適用
Neutralization Activity of KRN23 against FGF23 of Various Mammals with In Vitro Assay	r-[redacted]-0021	非適用
Binding analysis of KRN23/FGF23 complex to recombinant human Klotho using Biacore system	r-[redacted]-0106	非適用
Binding analysis of KRN23/FGF23 complex to Klotho expressed in cultured cells using confocal microscopy	r-[redacted]-0107	非適用
Evaluation of the inhibitory activity of KRN23/FGF23 complex against FGF23 signaling using a cell-based assay	r-[redacted]-0342	非適用
In vivo 薬理試験		
A Single Intravenous Dose Study of KRN23 in Rabbits	[redacted]	非適用
Effects of KRN23 on Urinary Phosphate Excretion in Cynomolgus Monkeys、Effects of KRN23 on Urinary Phosphorus Excretion in Cynomolgus Monkeys (Additional Test)	[redacted]	非適用
Determination of Minimum Effective Dose of KRN23 in Cynomolgus Monkeys	[redacted]	非適用
A Single Intravenous/Subcutaneous Dose Pharmacokinetics and Pharmacodynamics Study of KRN23 in Cynomolgus Monkeys	[redacted]-022	適用
A Single Intravenous Dose Pharmacology Study of KRN23 in Juvenile Cynomolgus Monkeys	[redacted]-021	非適用
A 13-Week Intermittent (Once Every 2 Weeks) Subcutaneous Dose Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Study with KRN23 in Adult and Juvenile Cynomolgus Monkeys with a 8-Week Recovery	[redacted]-116	適用
Therapeutic Effects of Anti-FGF23 Antibodies in Hypophosphatemic Rickets/Osteomalacia	Aono et al, 2009	非適用
Anti-FGF-23 Neutralizing Antibodies Ameliorate Muscle Weakness and Decreased Spontaneous Movement of *Hyp* mice	Aono et al, 2011	非適用

3.1 効力を裏付ける試験

3.1.1 *In vitro* 薬理試験

KRN23 の結合親和性及び種特異性を検討するために *in vitro* 薬理試験を実施した。Biacore による競合的結合試験（4.2.1.1-1）では、KRN23 が、ヒト、カニクイザル及びウサギ FGF23 に対して同程度の高い結合親和性（K_D 約 10^{-11} mol/L）を有することが示された。同様に、ELISA 法による結合試験では、KRN23 はサル及びヒト FGF23 とは交差反応を示すが、マウス FGF23 とは交差反応を示さないこと（4.2.1.1-2）、KRN23 は血漿中のヒト及びサル FGF23 とは交差反応を示すが、イヌ及びラット FGF23 とは交差反応を示さないこと（4.2.1.1-3）が確認された。遺伝子組換えヒト FGF23 のシグナル伝達に対する KRN23 の阻害活性について評価した細胞を用いたアッセイ（4.2.1.1-4）では、KRN23 は濃度依存的にヒト FGF23 のシグナル伝達を阻害した。

また、KRN23 による各哺乳動物の FGF23 による FGF23/Klotho/FGFR 複合体形成に伴う細胞内シグナル伝達の阻害について評価した細胞を用いたアッセイ（4.2.1.1-5）において、KRN23 はヒト、サル及びウサギ FGF23 のシグナル伝達を阻害したが、マウス及びラット FGF23 のシグナル伝達は阻害しなかった。KRN23/FGF23 複合体の遺伝子組換えヒト Klotho に対する結合性を Biacore により評価した試験（4.2.1.1-6）では、KRN23/FGF23 複合体は遺伝子組換えヒト Klotho に結合することが確認され、K_D 値は 9.116×10^{-8} mol/L であった。共焦点顕微鏡による培養細胞で発現した KRN23/FGF23 複合体と Klotho の結合解析（4.2.1.1-7）において、KRN23/FGF23 複合体は、ヒト Klotho 発現細胞と結合することが確認され、更には、KRN23/FGF23 複合体の FGF23 シグナル伝達に対する阻害活性について評価した細胞を用いたアッセイ（4.2.1.1-8）において、KRN23/FGF23 複合体は非結合型 FGF23 のヒト Klotho への結合と競合することによって FGF23 のシグナル伝達を阻害することが示された。

これらの試験の結果、KRN23 はヒト、カニクイザル及びウサギ FGF23 に高親和性に結合し、FGF23/Klotho/FGFR 複合体からのシグナル伝達を阻害する可能性が示された。

3.1.2 *In vivo* 薬理試験

KRN23 の薬理作用を評価するために、ウサギ又は成熟若しくは幼若カニクイザルを対象に、6 試験の *in vivo* 薬理試験を実施した。

これらの試験結果の主な要約は以下のとおりである。

- KRN23 を 3、10 及び 30 mg/kg の用量で単回静脈内投与したウサギにおいて、KRN23 は血清リン及び $1,25(OH)_2D$ 濃度を上昇させ、尿中リン及び Ca 濃度を低下させた（4.2.1.1-9）。30 mg/kg を投与した動物では、血清クレアチニン及び血中尿素窒素（BUN）濃度の上昇が認められ、それに引き続いて 3 例（30 mg/kg 投与群）で死亡及び瀕死状態となる動物が認められたが、これらは、腎臓の鉱質沈着に起因すると考えられる急性腎不全によるものであった。これらの所見は、血清リン濃度が正常範囲を超えて上昇した（範囲：8～39 mg/dL）動物で認められ、KRN23 による過剰な薬理反応によるものと考えられた（6.1 項、2.6.6-9 項及び 4.2.3.7.7-3）。
- 成熟カニクイザルでは、1、3 及び 10 mg/kg の KRN23 の単回静脈内投与後に、血清リン濃度、糸球体ろ過量あたりの腎近位尿細管リン再吸収閾値（TmP/GFR）及び血清 $1,25(OH)_2D$ 濃度の有意な上昇が認められた（4.2.1.1-10、4.2.1.1-11）。
- 成熟カニクイザルへの単回静脈内投与によって、血清リン及び $1,25(OH)_2D$ 濃度上昇に対する KRN23 の最小薬効用量は、それぞれ 0.1 mg/kg 及び 0.03 mg/kg と推定された（4.2.1.1-12）。
- KRN23 を 0.03、0.3 及び 3 mg/kg の用量で成熟カニクイザルに単回静脈内又は皮下投与したときの PK 及び薬力学（PD）を検討した結果、血清リン濃度（0.3 mg/kg 以上）及び $1,25(OH)_2D$ 濃度（0.03 mg/kg 以上）における濃度上昇の程度及び持続時間は、静脈内投与と皮下投与で同程度であった（4.2.1.1-13）。
- 幼若カニクイザルに KRN23（0.001、0.003、0.01、0.03 及び 0.1 mg/kg）を単回静脈内投与したとき、KRN23 は、0.003 mg/kg 以上の投与量で $1,25(OH)_2D$ 濃度を上昇させ、0.03 mg/kg 以上の投与量で血清リン濃度を上昇させた（4.2.1.1-14）。
- 成熟及び幼若カニクイザルに KRN23 を 1 mg/kg の用量で 13 週間（2 週に 1 回）、間歇皮下投与したときの PK/PD 作用を検討した。幼若カニクイザルにおける KRN23 初回投与後の血清リン濃度上昇作用は、成熟カニクイザルと比較してわずかに大きかったが、反復投

与後は同程度であり、最終投与後 28 日目までに血清リン濃度は投与前の濃度に戻った（4.2.1.1-15）。

- *in vivo* 薬理試験全体を通して、KRN23 の動物への投与後の血清 Ca 又は副甲状腺ホルモンには意義のある変化は認められなかった。

これらの結果から、カニクイザルにおいて、KRN23 は FGF23 に起因して阻害された腎臓でのリン再吸収を増加させることにより血清リン濃度を上昇させ、更に血清 $1,25(OH)_2D$ 濃度を上昇させることが示唆された。KRN23 の単回皮下及び静脈内投与後の PD プロファイルは同様であった。2 週に 1 回、13 週間間歇皮下投与した場合では、幼若カニクイザルにおける KRN23 投与前後の血清リン濃度は、成熟カニクイザルと比較してわずかに高かったが、反復投与の影響は認められず、最終投与後 28 日目までに血清リン濃度は投与前の濃度に回復した。

Hyp マウスは、PHEX 遺伝子の 3'領域が欠損した、XLH の病態モデルである。この動物は、血清中 FGF23 濃度の上昇に加えて、低リン血症、くる病及びそれらに関連する成長異常を呈する。Hyp マウスの病態は XLH 患者と多くの類似性があり、PHEX タンパク質の機能低下と一致しており、FGF23 誘導性低リン血症を有する患者における抗 FGF23 抗体の治療有効性を検討する上で、Hyp マウスは現在使用できる最適な動物モデルである。KRN23 はマウス FGF23 に結合しないため、マウス抗 FGF23 抗体を用いて、Hyp マウスにおける PD 作用及び FGF23 を阻害する作用機序を明らかとするために *in vivo* 薬理試験を 2 試験実施した。

マウス抗 FGF23 抗体を 4 又は 16 mg/kg の用量で週 1 回、計 4 回皮下投与した幼若 Hyp マウスの血清リン及び $1,25(OH)_2D$ 濃度は、WT マウスと比較して有意に上昇し、これらの作用は、腎臓における IIa 型ナトリウム／リン共輸送担体（NaPiIIa）の発現増加を伴っていた（4.2.1.1-16）。Hyp マウスの成長期にマウス抗 FGF23 抗体を投与することによって、成長又は大腿骨及び脛骨の伸長が著しく改善した。骨長の改善と併せて、マウス抗 FGF23 抗体の投与は近位骨幹端成長板の柱状構造を著しく改善した。成長期におけるマウス抗 FGF23 抗体の投与は、海綿骨及び皮質骨において類骨を大幅に減少させ、石灰化骨を増加させた。

マウス抗 FGF23 抗体を 4 又は 16 mg/kg の用量で週 1 回、計 8 回皮下投与した成熟 Hyp マウスにおいて、コントロール抗体を投与した成熟 Hyp マウスと比較して血清リン及び $1,25(OH)_2D$ 濃度が上昇した（4.2.1.1-17）。マウス抗 FGF23 抗体を投与した Hyp マウスの類骨量は WT マウスとほぼ同じであり、骨軟化症が正常化したことが示唆されたが、マウス抗 FGF23 抗体を投与した成熟 Hyp マウスの投与後の長骨の長さに関し、コントロール抗体を投与した成熟 Hyp マウスとの差は認められなかった。また、幼若 Hyp マウスで認められたように、マウス抗 FGF23 抗体は、成熟 Hyp マウスにおいても骨石灰化を改善した。筋力低下及び骨痛は、低リン血症性くる病及び骨軟化症患者の日常活動を損なう。疼痛により、Hyp マウスにおける自発運動、探索行動、立ち上がり等の自発的な行動の抑制が認められることが知られている。コントロール抗体を投与した成熟 Hyp マウスでは、WT マウスと比較して、前肢及び後肢の握力並びに自発運動量の減少が認められたが、成熟 Hyp マウスへのマウス抗 FGF23 抗体投与により、握力は増加し、自発運動量も増加した。

Hyp マウスを用いたこれらの試験の結果、過剰な FGF23 作用を抑制することによって、低リン血症及び骨石灰化不全が軽減されるだけでなく、成長、筋力低下及び自発運動も改善されることが示された。

3.2 副次的薬理試験

副次的薬理試験は実施しなかった。

3.3 安全性薬理試験

成熟及び幼若カニクイザルを用いた複数の反復投与毒性試験において、安全性薬理評価項目（呼吸数、心電図（ECG）、血圧及び心エコーによる心機能）を検討した。また、毒性試験での一般状態観察により、CNS への影響を評価した。

成熟カニクイザルを用いた 14 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-3）では、KRN23 を雌雄カニクイザルに 2 週に 1 回、14 週間、0.03、0.3、3 及び 30 mg/kg の用量で静脈内投与した。KRN23 に関連した血圧及び呼吸数に顕著な変化は認められなかった。また、いずれの投与量においても不整脈は認められず、KRN23 に起因する ECG 所見の異常も認められなかった。

成熟カニクイザルを用いた 40 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-4）では、KRN23 を雌雄カニクイザルに 2 週に 1 回、40 週間、0.03、0.3、3 及び 30 mg/kg の用量で静脈内投与又は 30 mg/kg の用量で皮下投与した。ECG 及び心機能評価では、30 mg/kg の静脈内投与群及び皮下投与群の雄で、第 13 週から心拍数の高値が認められた。30 mg/kg 静脈内投与群の雄 1 例では、39 週に ST 低下が認められた。30 mg/kg 静脈内投与群又は皮下投与群の雄で、回復期間中に、左室の拡張末期容積（EDV）及び収縮末期容積（ESV）の低値、一回拍出量（SV）の低値及び駆出率（EF）の低値が認められた。これらの所見は、生理学的濃度を超える約 8 mg/dL 超の血清リン濃度で認められており、大動脈及び心臓の筋繊維／血管での鉱質沈着に関連した変化である可能性が考えられた（6.1 項、2.6.6-9 項及び 4.2.3.7.7-3）。

幼若カニクイザルを用いた 40 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-5）では、KRN23 を雌雄カニクイザルに 2 週に 1 回、40 週間、0.03、0.3 及び 3 mg/kg の用量で静脈内投与又は 3 mg/kg の用量で皮下投与したが、KRN23 に関連した ECG パラメータ及び血圧の変化は認められなかった。

3.4 薬力学的薬物相互作用試験

薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

4 薬物動態試験

表 4-1 に示すように、ウサギ及びカニクイザルに KRN23 を静脈内又は皮下に単回及び反復投与し、薬物動態を評価した。試験には、雌雄の成熟ウサギ、幼若又は成熟カニクイザル、妊娠カニクイザルを用いた。これらの薬物動態試験は、TK 試験及び薬物動態／薬力学試験で構成された。

表 4-1 KRN23 の薬物動態試験

試験の表題	試験番号	KRN23 ロット番号	GLP
単回投与薬物動態試験			
A Single Intravenous Dose Toxicity Study of KRN23 in Male and Female Rabbits	[redacted]-086	[redacted]	適用
A Single Intravenous Dose Pharmacology Study of KRN23 in Juvenile Cynomolgus Monkeys	[redacted]-021	[redacted]	非適用
A Single Intravenous/Subcutaneous Dose Pharmacokinetics and Pharmacodynamics Study of KRN23 in Cynomolgus Monkeys	[redacted]-022	[redacted]	適用

表 4-1 KRN23 の薬物動態試験（続き）

試験の表題	試験番号	KRN23 ロット番号	GLP
反復投与薬物動態試験			
A 14-Week Intermittent (Once Every 2 Weeks) Intravenous Dose Toxicity Study of KRN23 in Rabbits	[redacted]-076	[redacted]	非適用
14-Week Intermittent Intravenous Infusion Toxicity and Toxicokinetic Study with KRN23 in Cynomolgus Monkeys with a 6-Week Recovery	[redacted]-185	[redacted]	適用
A 40-Week Intermittent (Once Every 2 Weeks) Intravenous/Subcutaneous Dose Toxicity and Toxicokinetic Study with KRN23 in Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery	[redacted]-044	[redacted]	適用
A 40-Week Intermittent (Once Every 2 Weeks) Intravenous/Subcutaneous Dose Toxicity and Toxicokinetic Study with KRN23 in Juvenile Cynomolgus Monkeys with a 13-Week Recovery	[redacted]-020	[redacted]	適用
A 13-Week Intermittent (Once Every 2 Weeks) Subcutaneous Dose Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Study with KRN23 in Adult and Juvenile Cynomolgus Monkeys with a 8-Week Recovery	[redacted]-116	[redacted]	適用
反復投与薬物動態試験（TK：生殖毒性）			
A study for effects of KRN23 on embryo-fetal and pre- and postnatal development when administered once every two weeks by intravenous injection to pregnant cynomolgus monkeys (enhanced design)	[redacted]-043	[redacted]	適用

4.1 吸収

4.1.1 単回投与薬物動態試験

雌雄ニュージーランドホワイト（NZW）ウサギに 0.03、0.3 及び 3 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの血清中 KRN23 の薬物動態を評価した（4.2.3.1-1）。C_0 及び $AUC_{0-\infty}$は、投与量に応じて増加した。

雄幼若カニクイザルに 0.001、0.003、0.01、0.03 及び 0.1 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの血清中 KRN23 の薬物動態解析を行った（4.2.1.1-14）。C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$は 0.01～0.1 mg/kg の範囲で投与量に応じて増加し、$t_{1/2}$は 102～172 時間であった。

また、雄成熟カニクイザルに 0.03、0.3 及び 3 mg/kg の用量で静脈内又は皮下に単回投与したときの血清中 KRN23 の薬物動態を評価した（4.2.1.1-13）。いずれの投与経路においても、C_{max} 及び $AUC_{0-\infty}$は 0.03～3 mg/kg の範囲で投与量に応じて増加した。両投与経路の $AUC_{0-\infty}$は、同用量間で同程度であった。皮下投与時の t_{max}は 60～96 時間であった。$t_{1/2}$は 172～310 時間であり、いずれの投与経路においても、KRN23 用量間で顕著な差がなかった。

4.1.2 反復投与薬物動態試験

NZW ウサギを用いた 14 週間反復静脈内投与毒性試験（4.2.3.2-1、4.2.3.2-2）では、KRN23 を 0.03、0.3 及び 3 mg/kg の用量で 2 週に 1 回投与した結果、初回投与後の C_{max}及び $AUC_{0-\infty}$は雌雄いずれにおいても投与量に応じて増加したが、$AUC_{0-\infty}$の増加は用量比をわずかに下回った。

7 回目投与後のすべての薬物動態パラメータで、雌雄間に顕著な差は認められなかった。反復静脈内投与期間中の KRN23 の血清中濃度推移に明らかな変化は認められず、いずれの薬物動態パラメータにおいても雌雄間に明らかな差は認められなかった。この試験では、抗 KRN23 抗体は検出されなかった。

成熟カニクイザルを用いた 14 週間反復静脈内投与毒性試験（4.2.3.2-3）では、KRN23 を 0.03、0.3、3 及び 30 mg/kg の用量で 2 週に 1 回投与した結果、$AUC_{0-\infty}$は用量に応じて増加し、初回投与後のその他の薬物動態パラメータには用量間で明らかな差は認められなかったことから、初回投与後の KRN23 の薬物動態は 0.03～30 mg/kg の範囲で線形であることが示された。初回及び最終投与後の AUC 及び C_{max} は同程度であったことから、0.03～30 mg/kg の範囲では顕著な蓄積は認められないことが示された。V_{ss} はサルの血清量とほぼ同じであったことから、静脈内投与後の KRN23 は主に血清に分布することが示された。雌雄間の薬物動態パラメータにも明らかな差は認められなかった。抗 KRN23 抗体は 3 mg/kg 投与群の 2 匹で検出され、これらの個体ではこの群の他の個体と比較して KRN23 の血清中濃度が低かった。

成熟カニクイザルを用いた 40 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-4）では、KRN23 を 0.03、0.3、3 及び 30 mg/kg の用量で 2 週に 1 回、40 週間（計 20 回）静脈内又は皮下投与した結果、KRN23 の曝露量は投与量に応じて増加し、反復投与による明らかな蓄積は認められなかった。薬物動態パラメータに、明らかな性差は認められなかった。抗 KRN23 抗体が 30 mg/kg 静脈内投与群の雄 1 匹で検出された。この個体では、最終投与後の KRN23 の曝露量が、この群の他の個体と比較して明らかに低下していた。

幼若カニクイザルに対し KRN23 を 0.03、0.3 及び 3 mg/kg の用量で 2 週に 1 回、40 週間（計 20 回）静脈内又は皮下投与する試験を実施した（4.2.3.2-5）。KRN23 の曝露量は投与量に応じて増加した。3 mg/kg 投与群での 7 回目及び 20 回目投与における AUC は、静脈内投与群と皮下投与群で同程度であった。いずれの薬物動態パラメータにおいても、明らかな性差は認められなかった。抗 KRN23 抗体はいずれの個体においても検出されなかった。

成熟及び幼若カニクイザルに対し KRN23 を 1.0 mg/kg の用量で 2 週に 1 回、13 週間（計 7 回）皮下投与する薬物動態／薬力学試験を実施した（4.2.1.1-15）。初回投与後、血清中薬物濃度は 60.0 又は 72.0 時間後に C_{max} に到達し、C_{max} 値は 14500～18700 ng/mL であった。$t_{1/2}$ は 240～366 時間であった。反復投与後の $t_{1/2}$、CL/F 又は CL_{ss}/F 及び V_z/F に明らかな変化は認められなかった。KRN23 の曝露量は、3 回目の投与以降定常状態に達すると考えられた。初回投与後の $AUC_{0-\infty}$及び 7 回目投与時の AUC_{0-t} はほぼ同じであったことから、反復投与による薬物動態プロファイルに明らかな差は認められなかった。KRN23 の薬物動態パラメータは、幼若動物と成熟動物間又は雌雄間で明らかな差は認められなかった。抗 KRN23 抗体はいずれの個体においても検出されなかった。

ePPND 毒性試験（4.2.3.5.3-1）では、KRN23 反復静脈内投与後の母動物、胎児及び出生児における血清中 KRN23 の薬物動態を評価した。妊娠カニクイザルに、KRN23 を 0.3、3 又は 30 mg/kg の用量で、妊娠からの日数（GD）20 日から出産まで 2 週に 1 回投与した（雌 20～28 匹/群）。母動物における KRN23 の曝露量は投与量に応じて増加した。9 回目の投与後の AUC_{0-t} は初回投与後の $AUC_{0-\infty}$とほぼ同じであったことから、反復投与における薬物動態プロファイルに明らかな差は認められなかった。いずれの母動物においても、妊娠中に抗 KRN23 抗体は認められなかったが、授乳中に 2 頭で抗 KRN23 抗体が検出された。GD133 の胎児の KRN23 の血清中濃度は、母動物の約 0.25 倍であった。出生後 5 日（PND5）の出生児における血清中 KRN23 濃度は投与量に応じて高値を示し、出生後は 15.2～21.3 日の $t_{1/2}$ で消失した。こ

の期間中の出生児における血清中 KRN23 濃度は、母動物の約 0.7～3.8 倍であった。抗 KRN23 抗体はいずれの胎児及び出生児においても検出されなかった。

4.2 分布

KRN23 の分布試験は実施しなかった。IgG と同様、KRN23 の分布は細胞外液に限定されていると考えている。

4.3 代謝（動物種間比較）

KRN23 の代謝試験は実施しなかった。KRN23 は他の治療用タンパク製剤と同様に、一般的なタンパク質分解プロセスによって除去されると考えている。

4.4 排泄

KRN23 の排泄試験は実施しなかった。モノクローナル抗体である KRN23 の分子サイズを考慮すると、腎又は胆汁から排泄される可能性は低いと考えている。

4.5 薬物動態学的薬物相互作用

KRN23 の薬物相互作用試験は実施しなかった。

4.6 その他の薬物動態試験

該当する試験は実施しなかった。

5 毒性試験

KRN23 の毒性評価として、ICH ガイドライン及び各種ガイダンスに基づき、医薬品の製造販売承認に必要な試験を実施し、KRN23 の安全性を評価した。KRN23 はヒト、ウサギ及びカニクイザルの FGF23 に結合し、これらの動物種で薬理作用を示すが、マウス及びラットの FGF23 には結合しないため、毒性試験の動物種としてウサギ及びカニクイザルを選択した。KRN23 は FGF23 関連低リン血症性疾患を対象とした長期投与による治療を想定していることから、成熟及び幼若のカニクイザルを用いて最長 40 週間の反復投与毒性試験を実施した。投与経路については静脈内投与に加えて、40 週間反復投与毒性試験では臨床投与経路である皮下投与も設定した。

正常動物は KRN23 の薬理及び毒性プロファイルを明らかにするために有用であるが、FGF23 関連低リン血症性くる病及び骨軟化症の患者のような過剰量の血清中 FGF23 が存在しないため KRN23 の薬理作用が過剰に発現することが考えられる。そのため、正常動物を用いた非臨床試験で認められた KRN23 の薬理作用と考えられる変化（血清 IP 濃度の著明な上昇及びそれに伴う異所性鉱質沈着等）の、FGF23 関連低リン血症性くる病及び骨軟化症患者におけるリスクについて評価するため、適用疾患の一つである XLH の病態モデルとして知られている Hyp マウスを用いて血漿中の IP 濃度推移及び異所性鉱質沈着の評価を行った。

これら毒性試験の一覧を表 5-1 に示す。

表 5-1 KRN23 の毒性試験

試験の種類／期間	動物種	用量（投与経路）	GLP	試験番号	被験物質のロット番号
単回投与（急性）					
	ウサギ	0（溶媒）、0.03、0.3 及び 3 mg/kg（静脈内投与）	適用	[redacted]-086	[redacted]
反復投与					
14 週間（1 回／2 週）	ウサギ	0（溶媒）、0.03、0.3 及び 3 mg/kg（静脈内投与）	非適用	[redacted]-076	[redacted]
14 週間（1 回／2 週）6 週間回復	カニクイザル	0（溶媒）、0.03、0.3、3 及び 30 mg/kg（静脈内投与）	適用	[redacted]-185	[redacted]
40 週間（1 回／2 週）13 週間回復	カニクイザル	0（溶媒）、0.03、0.3、3 及び 30 mg/kg（静脈内投与）30 mg/kg（皮下投与）	適用	[redacted]-044	[redacted]
	幼若カニクイザル	0（溶媒）、0.03、0.3 及び 3 mg/kg（静脈内投与）3 mg/kg（皮下投与）	適用	[redacted]-020	[redacted]
遺伝毒性：試験は実施せず					
がん原性：試験は実施せず					
生殖発生毒性					
胚・胎児並びに出生前後の発生への影響	妊娠カニクイザル	0（溶媒）、0.3、3 及び 30 mg/kg（静脈内投与）	適用	[redacted]-043	[redacted]
局所刺激性：これに特化した試験は実施せず。局所刺激性は [redacted]-044 及び [redacted]-020 試験で評価した。					
その他の試験					
組織交差反応性	ヒト、ウサギ、カニクイザル	*in vitro*（0.5 及び 2.5 μg/mL）	適用	[redacted]00019	[redacted]
14 日間反復投与（週 2 回）	Hyp[a] 及び WT マウス	0（溶媒）、3、10 及び 30 mg/kg（皮下投与）	非適用	[redacted]-084	[redacted][b](FN1) [b](FC1)

a：低リン血症（Hypophosphatemia）モデルマウス
b：マウス抗 FGF23 抗体（FN1 と FC1 の等量混合物）を用いた。

5.1 単回投与毒性試験

KRN23 をウサギに単回静脈内投与して毒性を評価した（4.2.3.1-1）。最高用量である 3 mg/kg 投与群で 1 例が死亡し、死因は腎石灰沈着による腎不全と考えられた。更に 3 mg/kg 投与群では複数の組織で異所性鉱質沈着が認められた。KRN23 の薬理作用が血清 IP 及び $1,25(OH)_2D$ 濃度を過剰に上昇させ、3 mg/kg 投与群では平均血清 IP 濃度が約 8 mg/dL を超える高値となった結果、死亡及び異所性鉱質沈着が発現したと考えられた（6.1 項、2.6.6-9 項及び 4.2.3.7.7-3）。また、ウサギは他のほ乳類と比較して血清 Ca 濃度が比較的高く、特有の Ca 代謝及びホルモン調節を有することが知られており（Eckermann-Ross, 2008）、KRN23 の薬理作用による血清 IP 濃度の上昇に対して特に感受性が高い可能性が考えられた。死亡及び異所性鉱質沈着の発現が認められなかった 0.3 mg/kg を無毒性量（NOAEL）とした。

更に、ウサギを用いた KRN23 の単回静脈内投与薬理試験（LB07448）（2.6.2-2.2.1 項）では、30 mg/kg 投与群の 3 例が腎石灰沈着によると考えられる急性腎不全で死亡（又は切迫屠殺）した。死亡（又は切迫屠殺）した 3 例の血清 IP 濃度は約 24～39 mg/dL であり、正常範囲より極めて高かったことから、単回静脈内投与毒性試験（4.2.3.1-1）と同様に、死亡は KRN23 による過剰な薬理作用に起因することが示唆された。

5.2 反復投与毒性試験

反復投与毒性は、ウサギを用いた 14 週間反復静脈内投与毒性試験（4.2.3.2-1）、並びにカニクイザルを用いた 14 週間反復静脈内投与毒性試験（4.2.3.2-3）及び 40 週間反復投与毒性試験（成熟カニクイザル（4.2.3.2-4）及び幼若カニクイザル（4.2.3.2-5）各 1 試験）の計 4 試験で評価した。これらの反復投与毒性試験に共通して認められた主要な毒性所見は、血清 IP 及び $1,25(OH)_2D$ 濃度の上昇による複数の組織における異所性鉱質沈着及び骨過形成であった。ウサギ 14 週間試験では最高用量である 3 mg/kg 投与群で 1 例が死亡し、死因は腎石灰沈着による腎不全と考えられた。更に成熟カニクイザル 40 週間試験では、最高用量の 30 mg/kg 投与群において、1 例で四肢の進行性の異所性鉱質沈着に起因する腫脹が認められ、重度の歩行異常及び側臥位を呈したため、安楽死させた。これらの所見は、血清 IP 濃度が正常範囲を超えて上昇した動物（血清 IP 濃度：約 13～15 mg/dL）で認められ、KRN23 の薬理作用が過剰に生じた結果だと考えられた（6.1 項、2.6.6-9 項及び 4.2.3.7.7-3）。各試験の NOAEL は、血清 $1,25(OH)_2D$ 又は IP 濃度の上昇は認められるものの、異所性鉱質沈着には至らなかった用量である 0.03 又は 0.3 mg/kg とした。試験に用いたいずれの動物種でも腎臓が最も影響を受けやすく、各試験で鉱質沈着が散見された。ほとんどの病理組織学的所見は、腎臓、心臓及び骨等の一部を除き、投与期間終了時の同用量の動物と比較して、発現頻度及び程度に回復性が認められた。静脈内投与群と皮下投与群の間に毒性の差は認められなかった。

幼若動物に特異的な毒性は認められなかった。また、幼若動物では、同じ用量を投与した成熟動物と比較して、同程度の最大血清 IP 濃度が認められたが、異所性鉱質沈着の程度は低かった。

5.3 遺伝毒性試験及びがん原性試験

他のモノクローナル抗体と同様、KRN23 は DNA 又はその他の染色体物質に直接作用する可能性は極めて低いと考えられるため、遺伝毒性試験は実施しなかった。また、KRN23 はげっ歯類の FGF23 には結合しないため、げっ歯類を用いたがん原性試験は適切ではないと考えられた。そこで、KRN23 の作用機序、既存の *in vitro* 及び *in vivo* の文献情報、*ex vivo* の増殖性評価並びに KRN23 の反復投与毒性試験における増殖性の変化に基づいて KRN23 のがん原性のリスクを評価した（4.2.3.4.3-1）。ヒト高リン血症性家族性腫瘍状石灰沈着症（HFTC）患者、FGF23 ノックアウトマウス及び *ex vivo* アッセイによる報告並びに反復投与毒性試験（最大 40 週間投与）において増殖性の変化が認められず、遺伝毒性の可能性も無いことから、KRN23 のがん原性リスクは低いと判断した。

5.4 生殖発生毒性試験

成熟カニクイザルを用いた 40 週間反復投与毒性試験（4.2.3.2-4）において、雌生殖臓器又は排卵周期に対し、KRN23 は影響を及ぼさなかった。雄では精巣網／精細管に鉱質沈着が認められたが、精子検査では精子機能に異常は認められなかった。更に、KRN23 の妊娠／授乳中

の母動物、胚・胎児の発生及び出生児の成長に及ぼす影響を検討するため、カニクイザルにおける ePPND 試験（4.2.3.5.3-1）を実施した。KRN23 を投与した妊娠動物で認められた異所性鉱質沈着の病理組織学的所見及び早産率の増加に基づき、母動物での一般毒性に対する KRN23 の NOAEL は 0.3 mg/kg とした。なお、3 及び 30 mg/kg 投与群では妊娠期間が媒体投与群と比べてわずかに短かった。胎児の血清中に KRN23 が検出され、KRN23 が胎盤を通じて胎児に移行することが示されたが、催奇形性は認められなかった。また、胎児及び出生児に異所性鉱質沈着は認められず、KRN23 は、生存能を含む出生児の出生前後の発達に影響しなかった。胎児発生期間中に認められた流産及び胚・胎児死亡の発生率の上昇に基づき、出生前及び出生後の発達に関する NOAEL は 3 mg/kg とした。

KRN23 に関連すると判断した上述の早産、流産及び胚・胎児死亡の増加並びに 3 及び 30 mg/kg 投与群で認められた妊娠期間の短縮は、用量依存性及び／又は統計学的有意差は認められず、この動物種でみられる正常な範囲内である可能性が考えられたことから、共同開発先の Ultragenyx 社は、[redacted] 社とサルの生殖発生毒性の専門家である [redacted]（[redacted] 社）によるコンサルテーションを受けた（4.2.3.5.2-1、4.2.3.5.2-2）。コンサルテーションの結果、これらの生殖発生における異常が KRN23 の影響である可能性は低いと考えられたが、KRN23 の過剰な薬理作用による胎盤の鉱質沈着が上記の生殖毒性として顕在化した可能性は完全に否定することはできないと考えられた。

KRN23 の PK 及び血清 IP 濃度の上昇は妊娠動物と非妊娠動物で同程度であったことから、高リン血症及びそれに伴う異所性鉱質沈着のリスクは妊娠によって増加しないと考えられた。また、FGF23 関連低リン血症性くる病及び骨軟化症の妊娠患者は FGF23 が上昇していると予測され、健康成人よりも高リン血症のリスクは低いと考えられる。しかし、高リン血症に起因する胎盤の重度の鉱質沈着及び妊娠早期の鉱質沈着については、妊娠・出産の経過に有害な作用を及ぼすリスクがあるため、妊娠中の KRN23 の使用は慎重に判断すべきであり、高リン血症を回避するため妊婦に対しては適切な経過観察を行う必要がある。更に、ヒト IgG はヒト乳汁中に含まれているが、乳児の消化管における吸収は限定的であることが示されていることから、授乳中の乳児に対する KRN23 の潜在的リスクは低いと予想される（Stewart, 2009）。

5.5 局所刺激性試験

局所刺激性は、反復投与毒性試験（4.2.3.2-4、4.2.3.2-5）において評価した。成熟又は幼若カニクイザルを用いた 40 週間反復投与毒性試験では、静脈内又は皮下投与部位に肉眼的及び病理組織学的異常は認められなかった。

5.6 その他の毒性試験

5.6.1 組織交差反応性試験

組織交差反応性試験（4.2.3.7.7-1）において、ヒト、ウサギ及びカニクイザルの正常組織に対する交差反応性を、フルオレセインイソチオシアネート標識 KRN23（FITC-KRN23）を用いて、免疫組織化学染色によって評価した。ヒト、ウサギ及びカニクイザル正常組織では、FITC-KRN23 の 0.5 及び 2.5 µg/mL のいずれにおいても特異的な陽性反応は認められなかった。ヒト、ウサギ及びカニクイザルの正常組織・器官において、KRN23 が直接結合し、シグナル伝達を介した毒性を発現するリスクは低いと考えられた。

5.6.2 XLH の病態モデルにおける試験

正常動物を用いた非臨床試験で認められた KRN23 の薬理作用と考えられる変化について、FGF23 関連低リン血症性くる病及び骨軟化症患者におけるリスクを評価するため、XLH の病態モデルである Hyp マウスを用いた試験（4.2.3.7.7-2）を実施した。雄の WT マウス（C57BL/6J）及び Hyp（B6.Cg-*Phex*^{Hyp}/J）マウスに、マウス抗 FGF23 抗体（KRN23 のマウス相同体）を 1 週に 2 回、2 週間皮下投与した。Hyp マウスの血漿 IP の濃度上昇又は上昇期間は同じ用量のマウス抗 FGF23 抗体を投与した WT マウスと比較して低い又は短く、Hyp マウスの腎臓、肺、心臓、大動脈弓及び胸部大動脈で認められた異所性鉱質沈着の発現頻度並びに程度は、同じ用量のマウス抗 FGF23 抗体を投与した WT マウスと比較して低かった。更に、Hyp マウスでは、マウス抗 FGF23 抗体が骨形成を促進すること及び骨成長を改善することが確認された。

以上のように、過剰な FGF23 が存在する病態モデル動物においては、正常動物と比較して高リン血症及び異所性鉱質沈着の発現頻度並びに程度は低かった。

6 総括

KRN23 の薬理、薬物動態及び毒性について、*in vitro* 試験並びに成熟及び幼若動物に単回投与又は最長 40 週間反復静脈内若しくは皮下投与した *in vivo* 試験により評価を行った。

In vitro 薬理試験の結果から、KRN23 の作用機序は、KRN23 が、ヒト、サル及びウサギ（げっ歯類以外）の FGF23 と高い親和性で結合し、FGF23/Klotho/FGFR 複合体の形成による FGF23 を介したシグナル伝達の阻害であるとする根拠が得られた。更に、これらの結果から、ウサギとカニクイザルが、KRN23 の薬力学的及び毒性学的特性を検討できる薬理反応を示す動物種であることが確認された。

正常動物は KRN23 の薬理及び毒性の全体的なプロファイルを明らかにするためには有用であるが、FGF23 関連低リン血症性疾患の患者と異なり正常動物は FGF23 が過剰ではないため、KRN23 の過剰な薬理反応が認められると考えられた。そのため、FGF23 関連低リン血症性疾患患者における潜在的リスクに関して、正常動物を用いた試験の結果で解釈する場合は注意が必要である。また、Ca 代謝及びホルモン調節における種差についても考慮する必要がある。例えば、ウサギの Ca 代謝及びホルモン調節はヒトを含む他の哺乳動物とは異なり独特であることが知られており、このため、他の哺乳動物と比較して血清 Ca 濃度が高く（Eckermann-Ross, 2008）、血清リン濃度の薬理学的上昇に対する感受性が高い可能性がある。KRN23 に対する過剰な薬理作用に起因する生理学的濃度を超える血清リン濃度（約 8 mg/dL 超）と、正常動物で認められた組織の異所性鉱質沈着の毒性所見の関連性を検討するためのリスク評価を実施した。このリスク評価の要約は、6.1 項、2.6.6-9 項及び 4.2.3.7.7-3 に示す。

ウサギ及び成熟並びに幼若カニクイザルを用いた試験では、KRN23 を投与したときの血清リン及び $1,25(OH)_2D$ 濃度の用量依存的な上昇が認められ、これらの動物種における KRN23 の薬理作用が確認された。血清リン及び $1,25(OH)_2D$ 濃度への影響に関する成熟カニクイザルにおける KRN23 の最小有効量は、それぞれ 0.1 mg/kg 及び 0.03 mg/kg であると推定された。幼若カニクイザルでは、KRN23 の単回静脈内投与において、0.003 mg/kg 以上の投与量における血清 $1,25(OH)_2D$ 濃度の上昇及び 0.03 mg/kg 以上の投与量における血清リン濃度の上昇が確認された。これらの試験の結果、ウサギ及びカニクイザルにおいて KRN23 の予測された作用機序

及び薬理作用が確認されたが、病態に関連した変化を正常に戻すというエビデンスは得られなかった。

抗 FGF23 抗体が XLH で認められる病態に関連した特徴的な変化を正常にするという POC のエビデンスを得るため、XLH のモデルである Hyp マウスにおける抗 FGF23 抗体の作用を検討した。KRN23 はマウス FGF23 に結合しないため、Hyp マウスの試験ではマウス抗 FGF23 抗体を用いた。幼若及び成熟 Hyp マウスの両方の実験から、マウス抗 FGF23 抗体による FGF23 阻害が、Hyp マウスで観察され、XLH 疾患に伴う多くの特徴的な異常（低リン血症性くる病／骨軟化症、成長障害、石灰化障害、軟骨発達異常等）を正常化又は改善できるというエビデンスが示された。マウス抗 FGF23 抗体の成熟 Hyp マウスへの投与により、握力及び自発運動の頻度も増加したことから、抗 FGF23 療法により、成人の XLH 疾患に伴う筋力低下及び疼痛も改善される可能性が示唆された。

成熟及び幼若サルを用いた複数の反復投与毒性試験において、安全性薬理パラメータ（呼吸数、ECG、血圧及び心機能）を検討した。成熟カニクイザルに KRN23 を 2 週に 1 回投与した 14 週間反復投与毒性試験では、30 mg/kg までの投与量において、KRN23 に起因する、不整脈、ECG 所見の異常、血圧又は呼吸数の顕著な変化は認められなかった。しかし、成熟カニクイザルに KRN23 を 2 週に 1 回投与した 40 週間の反復投与毒性試験では、雄の KRN23 30 mg/kg の静脈内投与群又は皮下投与群で、ECG への影響（心拍数増加並びに ST 降下）及び心機能への影響（EDV 及び ESV の低下、SV 及び EF の低下）が認められた。これらの変化は、生理学的濃度を超える約 8 mg/dL 超の血清リン濃度で認められたことから、大動脈及び心臓の筋繊維並びに血管での鉱質沈着に関連した変化である可能性が考えられた（2.6.6-9 項及び 4.2.3.7.7-3）。回復期間中に ECG 変化は回復したが、心機能測定は回復期間中のみの実施であったため、心機能パラメータの回復性については評価できなかった。一方、幼若カニクイザルにおける 40 週間反復投与毒性試験では、KRN23 に関連した ECG パラメータ及び血圧の変化は認められなかった。

ウサギを用いた薬物動態試験では、血清中 KRN23 濃度及び AUC は雌雄いずれにおいても投与量に応じて増加した。KRN23 投与後の薬物動態パラメータに、雌雄間で有意差は認められなかった。$t_{1/2}$ は高用量投与群で短縮する傾向が認められ、CL は投与量に応じて増加した。反復投与後のウサギでは、抗 KRN23 抗体は検出されなかった。

カニクイザルを用いた薬物動態試験では、静脈内投与後と皮下投与後のいずれにおいても C_{max} 及び AUC は KRN23 の投与量に応じて増加した。皮下投与後の KRN23 の吸収は緩やかであり、投与 60～96 時間後に C_{max} に達した。0.03～3 mg/kg の用量範囲では、皮下投与時の平均 F は 79.1～136.8%であったことから、皮下投与で KRN23 はほぼ完全に吸収されることが示唆された。各試験の AUC の結果から、反復投与による KRN23 の薬物動態プロファイルに明らかな差は認められないことが示された。静脈内及び皮下投与後の成熟及び幼若カニクイザルにおける KRN23 の $t_{1/2}$ は 100～360 時間程度であり、雌雄間、成熟動物と幼若動物間又は用量間で著しい差は認められなかった。静脈内又は皮下投与後の CL 及び V_{ss} 又は V_z も、雌雄間、成熟動物と幼若動物間、又は用量間で明らかな差は認められなかった。V_{ss} は血清量とほぼ同じであったことから、投与後の KRN23 は主に血清に分布することが示された。1 mg/kg の用量において 4 回目、6 回目及び 7 回目（最終）の皮下投与前の KRN23 濃度のトラフ値は一定であったことから、KRN23 の曝露量は 3 回目の皮下投与によって定常状態に達すると考えられた。反復投与において、一部のカニクイザルに抗 KRN23 抗体が検出され、これらの個体における KRN23 の曝露量は減少した。

カニクイザルにおける ePPND 毒性試験では、母動物における KRN23 の曝露量が投与量に応じて増加した。反復投与後の AUC から、薬物動態プロファイルに明らかな差は認められないことが示された。AUC を 40 週間毒性試験と比較した結果、曝露量はほぼ等しく、妊娠によって薬物動態は変化しないことが示唆された。GD 133 の胎児における KRN23 の血清中濃度は、母動物と比較して約 0.25 倍と低いものの、KRN23 は内因性 IgG と同様に母動物から胎児に胎盤を通じて移行することが示唆された。PND 5 の出生児における血清中 KRN23 濃度は投与量に応じて増加し、更に出生後の期間を通じて低下し、$t_{1/2}$ は 15.2～21.3 日であった。授乳期間中、30 mg/kg 投与群の母動物 2 例で抗 KRN23 抗体が検出されたが、胎児又は出生児では検出されなかった。

KRN23 投与後の主要な毒性所見は、生理学的範囲を超える血清 IP 及び $1,25(OH)_2D$ 濃度の上昇に代表される、KRN23 の過剰な薬理作用に起因した変化と考えられた。すべての *in vivo* 毒性試験において共通して認められた最も顕著な変化は、組織及び臓器における異所性鉱質沈着であり、血清 IP 及び $1,25(OH)_2D$ 濃度の上昇と相関した。ウサギを用いた試験では、最高用量（3 mg/kg）を投与した動物で、血清 IP 濃度の過剰な上昇によると考えられる腎臓の異所性鉱質沈着（腎石灰沈着）を伴った腎不全のために死亡例が認められた。また、成熟カニクイザルを用いた 40 週間反復投与毒性試験では、最高用量の 30 mg/kg において、1 例で四肢の進行性の異所性鉱質沈着に起因する腫脹の重篤化により、歩行異常及び側臥位が認められたため安楽死させた。更に、カニクイザルを用いた試験では KRN23 の 30 mg/kg 投与群において、血清 I 型コラーゲン架橋 C-テロペプチド（CTx）及びオステオカルシン濃度の上昇に伴って、骨膜での骨過形成が認められた。KRN23 の薬理作用に関連する毒性の他には、重篤な毒性は認められなかった。それぞれの試験で、血清 $1,25(OH)_2D$ 又は IP 濃度の上昇は最低用量から認められるものの、異所性鉱質沈着には至らなかった用量を NOAEL とした。異所性鉱質沈着リスクには生体中 Ca 濃度の上昇も寄与する可能性が考えられたが、尿中及び血清中の Ca 濃度の変化は軽微で、必ずしも変動が認められているわけではないことから、特に正常動物では血清及び尿中 Ca 濃度よりも血中 IP 濃度が KRN23 による異所性鉱質沈着の発現に関連する重要な生化学的マーカーであることが示唆された。試験に用いたいずれの動物種でも腎臓が最も影響を受けやすく、各試験の最小毒性量でも変化が散見された。KRN23 投与により認められた血清 $1,25(OH)_2D$、IP、CTx 及びオステオカルシン濃度の上昇は休薬により回復し、腎臓、心臓、骨、眼球等の一部を除きほとんどの病理組織学的所見は、投与期間終了時の同用量の動物と比較して、発現頻度及び程度に回復性が認められた。静脈内投与群と皮下投与群の間に毒性の差は認められなかった。幼若動物では特異的な毒性は認められず、同じ用量を投与した成熟動物と比較して、同程度の最大血清 IP 濃度が認められたが、異所性鉱質沈着の程度は低かった。

低リン血症性疾患状態における、血中 IP 濃度上昇による異所性鉱質沈着のリスクを評価するため、XLH 疾患モデルである Hyp マウスを用いた反復投与試験を実施した。Hyp マウスでは、正常動物と比較して FGF23 濃度が高い。この試験では、マウス抗 FGF23 抗体を投与した WT マウス及び Hyp マウスのいずれにおいても、血漿 IP 濃度の上昇による異所性鉱質沈着が認められた。しかし、Hyp マウスでは、同じ用量を投与した WT マウスと比較して血漿 IP 濃度が低く、また異所性鉱質沈着発現が低かった。マウス抗 FGF23 抗体の投与により、Hyp マウスにおいて IP 及び Ca における恒常性の正常な調節が回復し、Hyp マウス特異的な毒性は認められなかった。

ICH S6(R1)ガイダンスに基づいて、遺伝毒性及びがん原性リスクを評価するための非臨床試験は実施しなかった。他のモノクローナル抗体と同様、KRN23 は DNA 及びその他の染色体物

質に直接作用する可能性は極めて低いと考えている。また、KRN23 はげっ歯類の FGF23 には結合しないため、げっ歯類を用いたがん原性試験は適当ではないと考えられた。そこで、KRN23 の作用機序及び既存の文献情報、*In vitro* 増殖性評価並びに KRN23 の反復投与毒性試験における増殖性の変化に基づいて KRN23 のがん原性のリスクを評価した（4.2.3.4.3-1）。HFTC 患者、ノックアウトマウス及び *ex vivo* アッセイによる報告並びに反復投与毒性試験において増殖性の変化が認められず、遺伝毒性の可能性も無いことから、KRN23 のがん原性リスクは低いと判断した。

成熟カニクイザルを用いた 40 週間反復投与毒性試験において、雌生殖臓器又は排卵周期に対し、KRN23 は影響を及ぼさなかった。雄では精巣網／精細管に鉱質沈着が認められたが、精子検査では精子機能に異常は認められなかった。

カニクイザルにおける ePPND に関する試験において、異所性鉱質沈着の病理組織学的所見及び早産率の増加に基づき、母動物での一般毒性に関する KRN23 の NOAEL は 0.3 mg/kg と判断した。胎児発生期間中の流産及び胚・胎児死亡の発生率の上昇に基づき、胎児並びに出生児における出生前及び出生後の発生に関する NOAEL は 3 mg/kg と判断した。また、3 及び 30 mg/kg 投与群では妊娠期間が媒体投与群と比べてわずかに短かった。胎児の血清において KRN23 が検出されたことから、KRN23 が胎盤を通じて胎児に移行することが示されたが、胎児において催奇形性は認められなかった。また、胎児及び出生児に異所性鉱質沈着は認められず、KRN23 は出生児の生存能を含む出生前及び出生後の成長に影響しなかった。

サルを用いた生殖発生毒性試験は、高頻度の胎児の死亡が認められることが知られており、生殖発生におけるわずかな変化を検出し、リスクを評価するには不向きと考えられている（Jarvis et al, 2010）。KRN23 に関連すると判断した上述の早産、流産及び胚・胎児死亡の増加並びに妊娠期間の短縮は、用量依存性及び／又は統計学的有意差は認められず、この動物種でみられる正常な範囲内である可能性が考えられたことから、共同開発先の Ultragenyx 社は、[redacted] 社と、サルの生殖発生毒性の専門家である [redacted]（[redacted] 社）によるコンサルテーションを受けた（4.2.3.5.2-1、4.2.3.5.2-2）。コンサルテーションの結果、これらの生殖発生における異常が KRN23 の影響である可能性は低いと考えられたが、KRN23 の過剰な薬理作用による胎盤の鉱質沈着が上記の生殖毒性として顕在化した可能性は完全に否定することはできないと考えられた（2.6.6-6.2 項）。胎盤の鉱質沈着は、通常妊娠の経過日に伴って増加し、妊娠に影響を及ぼすか否かはその重症度と時期によって決まる（Chen et al, 2011; Tindall and Scott, 1965）。SBL303-043 試験（4.2.3.5.3-1）では、KRN23 は母動物では 0.3 mg/kg 以上、胎児及び出生児では 30 mg/kg の用量で血清リン濃度を上昇させた。FGF23 が胎児のリン代謝又は胎盤通過の調節に重要であることは示されていないため（Kovacs, 2014; Ma et al, 2014; Ma et al, 2017）、これらの変化は、母動物のリン濃度の変化に関連している可能性が高いと考えられる。SBL303-043 試験の解釈及びそのヒトとの関連性に関するさらなる考察は、2.6.6-6.2 項及び 2.6.6-10 項に示す。KRN23 の PK 及び血清 IP 濃度の上昇は妊娠動物と非妊娠動物で同程度であったことから、高リン血症及びそれに伴う異所性硬質沈着のリスクは妊娠によって増加しないと考えられた。

カニクイザルを用いた 14 週間反復投与毒性試験において、カニクイザル 36 例中 2 例の血清中に抗 KRN23 抗体が検出された。また 40 週間反復投与毒性試験では、カニクイザル 56 例中 1 例の血清中に抗 KRN23 抗体が検出された。これらの動物では、KRN23 の曝露及び薬理作用が減弱した。一方、カニクイザルを用いた生殖発生毒性試験においても、母動物 2 例の血清中に抗 KRN23 抗体が検出されたが、この試験では血清 IP 及び 1,25(OH)$_2$D 濃度並びに血清中

KRN23 濃度に対し、明らかな影響は認められなかった。全毒性試験を通して、抗 KRN23 抗体の発現頻度は低く、薬理作用に及ぼす影響も一貫していなかった。

組織交差反応性について、FITC-KRN23 を用いてヒト、ウサギ及びカニクイザルの正常組織に対する結合性を免疫組織化学染色によって評価した。ヒト、ウサギ及びカニクイザルの正常組織では、特異的な陽性反応は認められなかったことから、ヒト、ウサギ及びカニクイザルの正常組織・器官において、KRN23 が直接結合し、シグナル伝達を介した毒性を発現するリスクは低いと考えられた。

KRN23 の静脈内及び皮下投与における投与局所の忍容性は良好であった。成熟又は幼若カニクイザルを用いた 40 週間反復投与毒性試験では、静脈内又は皮下投与部位に肉眼的異常及び病理組織学的異常は認められなかった。

主要な非臨床安全性試験で得られた KRN23 の安全域の要約を表 6-1 に示す。正常な動物は FGF23 過剰の動物（及び FGF23 関連低リン血症性疾患患者）と比較して感受性が高いと予想されるため（2.6.6-9 項）、FGF23 関連低リン血症性疾患患者への潜在的リスクを外挿する上で、正常動物で求められた投与量及び曝露量に基づく安全域の有用性は限定的であると考えられる。FGF23 関連低リン血症性疾患患者のリスク管理において、高リン血症をモニターすることがより適切であると考えられる。

表 6-1　　主要な非臨床安全性試験で得られた KRN23 の安全域の要約

試験番号	動物種（年齢）	試験期間	NOAEL[a] (mg/kg)	安全域（C_{max} に基づく [b]）	安全域（AUC に基づく [c]）
[redacted]-044	カニクイザル（成熟）	40 週間	0.03[d] 0.3[e]	0.20[d] 1.54[e]	0.129[d] 1.00[e]
[redacted]-020	カニクイザル（幼若）	40 週間	0.3[f]	0.78[g] 0.59[h]	0.38[g] 0.29[h]
[redacted]-043	カニクイザル（妊娠）	GD20~GD133／出産	0.3 3	1.39[i] 12.1[i]	0.875[i] 7.33[i]

a [redacted]-044 及び [redacted]-020 試験では、血清リン濃度の上昇が明らかであったが、異所性鉱質沈着には至らなかった投与量を NOAEL として定義した。[redacted]-043 試験では、母動物の NOAEL は 0.3 mg/kg、胎児並びに出生児における出生前及び出生後の発生に関する NOAEL は 3 mg/kg であった。

b 成人への 1 mg/kg の Q4W 投与時のシミュレーションによる平均 KRN23 濃度（11114 ng/mL）、UX023-CL205 試験の 1～4 歳以下の小児患者における Bayes 法による平均曝露量（16195 ng/mL）及び UX023-CL201 試験の 5～12 歳以下の小児患者における Bayes 法による平均曝露量（21349 ng/mL）との比較。曝露量は定常状態で予測した（5.3.3.5-1）。

c 成人への 1 mg/kg の Q4W 投与時のシミュレーションによる平均 AUCτ（5808000 ng· h/mL）、UX023-CL205 試験の 1～4 歳以下の小児患者における Bayes 法による曝露パラメータ（4896000 ng· h/mL）及び UX023-CL201 試験の 5～12 歳以下の小児患者における Bayes 法による曝露パラメータ（6456000 ng· h/mL）との比較による AUC_{last} 曝露量は定常状態で予測した（5.3.3.5-1）。[redacted]-043 及び [redacted]-044 試験（2 週に 1 回投与）では、成人の UX023-CL303 試験（4 週に 1 回投与）との投与頻度の差を考慮するため、AUC に 2 を乗じた。[redacted]-020 試験では、小児と同様に幼若サルの投与頻度はいずれも 2 週に 1 回であったため、AUC の補正は行わなかった。

d 雄サル（20 回目の投与時の C_{max}= 2240 ng/mL、AUC= 752000 ng· h/mL）

e 雌サル（20 回目の投与時の C_{max}= 17100 ng/mL、AUC= 5820000 ng· h/mL）

f 雌雄サルの各平均値の平均を考慮した（20 回目の投与時、雌では C_{max}= 12500 ng/mL、AUC= 1830000 ng· h/mL、雄では C_{max}= 12900 ng/mL、AUC= 1910000 ng· h/mL）。

g 1～4 歳以下の小児患者

h 5～12 歳以下の小児患者

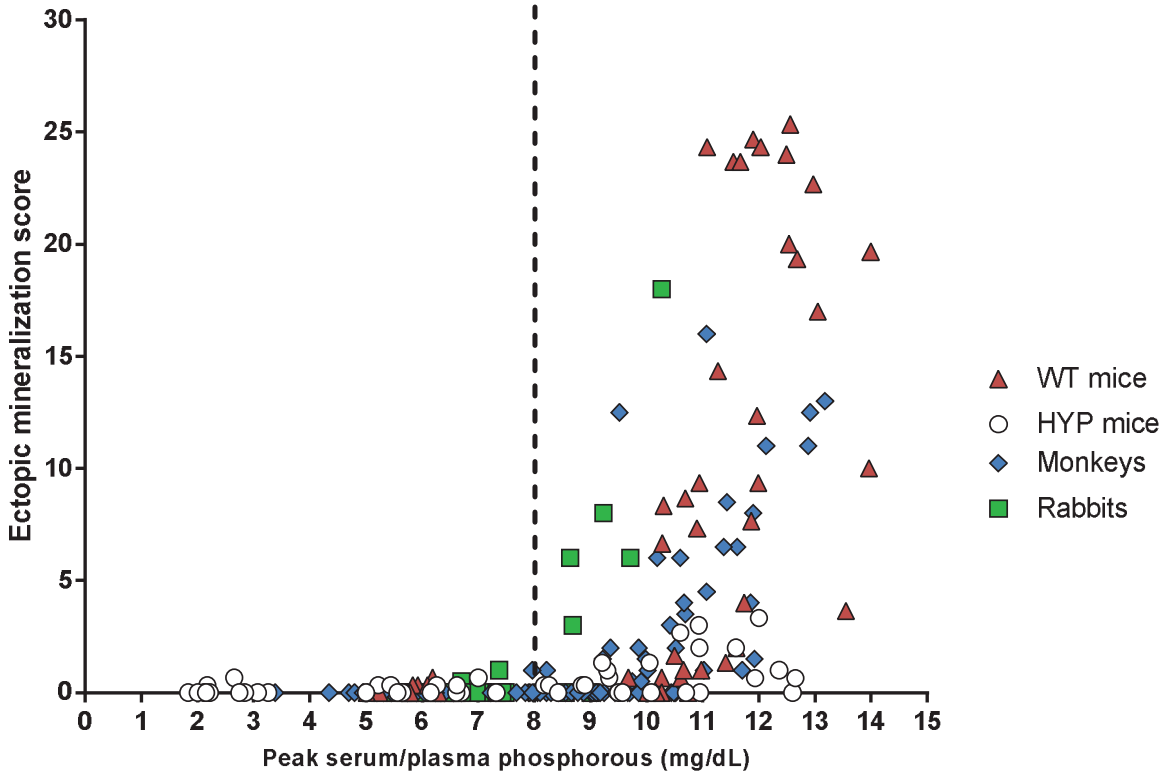
i 9 回目投与時の GD132 の妊娠母動物（0.3 mg/kg で C_{max}= 15400 ng/mL、AUC= 5080000 ng· h/mL、3 mg/kg で C_{max}= 135000 ng/mL、AUC= 42600000 ng· h/mL)

6.1　異所性鉱質沈着の総合リスク評価

正常な動物を用いた試験は KRN23 の薬理及び毒性プロファイルを明らかにするために有用であるが、FGF23 関連低リン血症性くる病及び骨軟化症の患者のような過剰量の FGF23 が過剰に存在しないため、FGF23 関連低リン血症性くる病及び骨軟化症患者におけるリスクを評価

する場合には、感受性の違いを考慮する必要がある。正常なマウス、ウサギ及びサルを用いた非臨床データにより、異所性鉱質沈着は血中 IP 濃度が生理学的範囲を超える濃度（約 8 mg/dL 超）に到達することで引き起こされることが示唆された（図 6.1-1、詳細は 4.2.3.7.7-3 参照）。異所性鉱質沈着リスクには生体中 Ca 濃度の上昇も寄与する可能性があるが、特に正常動物では、血清及び尿中 Ca 濃度よりも血中 IP が異所性鉱質沈着の発現に関連する重要な生化学的マーカーだと考えられた。WT マウスと比較して過剰な FGF23 を有する Hyp マウスでの鉱質沈着のリスクは低かった。更に、同じ血清 IP 濃度では、成熟サルと比較して幼若サルでの異所性鉱質沈着の重症度は低くなる傾向がみられ、成長期においては異所性鉱質沈着のリスクは低下している可能性が考えられた。

図 6.1-1　　異所性鉱質沈着に関する各動物種の血中 IP 閾値



各動物種における試験の雌雄データを統合した：[redacted]-076（ウサギ 14 週）、[redacted]-044（成熟サル 40 週）、[redacted]-020（幼若サル 40 週）、[redacted]-084（WT 及び Hyp マウス 2 週）。回復動物及び途中死亡動物のデータは含めなかった。縦軸は各動物の病理組織学的検査結果に基づいて算出した mineralization score、横軸は血中 IP の最高値とした。すべての動物種における異所性鉱質沈着の血中 IP 閾値を破線で表した。

KRN23 の非臨床及び臨床試験に基づき鉱質沈着リスクを総合的に解析した結果（4.2.3.7.7-3）、KRN23 の臨床使用時に到達する血清 IP 及び Ca 濃度は、異所性鉱質沈着のリスクが高いと考えられる濃度に満たないことが示唆され、本申請の臨床試験データでは、KRN23 を投与した FGF23 関連低リン血症性くる病・骨軟化症患者において、臨床的に意義のある高リン血症及び血清又は尿中 Ca 濃度の変化は認められなかった。血清 IP 濃度は異所性鉱質沈着が発現する可能性を示す直接的な生化学的マーカーであると考えられているため、臨床で血清 IP 濃度が年齢に応じた正常範囲でコントロールされていれば、異所性鉱質沈着のリスクは低減できると予想される。

6.2 結論

FGF23 関連低リン血症性疾患患者に対して想定している KRN23 の長期皮下投与の根拠とすべく、非臨床において KRN23 の薬理、PK 及び毒性を幅広く評価した。

KRN23 は、高い親和性で FGF23 に結合し、正常及び疾患動物において血清リン及び $1,25(OH)_2D$ 濃度を上昇させた。更に、マウス抗 FGF23 抗体は、Hyp マウスにおいて XLH に関連する特徴的な異常を回復又は改善することが示された。KRN23 は、投与経路が静脈内投与であるか皮下投与であるかにかかわらず、ウサギ及びカニクイザルのいずれにおいても、曝露はおおむね用量に比例して増加し、反復投与による薬物動態の変動も小さく、また、幼若動物と成熟動物間又は雌雄間で同等の薬物動態であった。

KRN23 の主要な毒性作用である高用量で認められた腎石灰化を含む、軟組織及び器官における鉱質沈着は、腎尿細管リン再吸収及びビタミン D 代謝に対する FGF23 の正常な調節作用が長期かつ過剰に阻害されることに関連することが示唆された。正常な動物で認められた異所性鉱質沈着は、約 8 mg/dL の生理学的濃度を超える血清リン濃度と関連しているものと考えられた。鉱質沈着は、一部の動物では回復性が認められた。鉱質沈着については、FGF23 が過剰である FGF23 関連低リン血症性疾患患者では発生するリスクは低いと考えられる。また、血中のリン及び Ca 濃度をモニターし、基準範囲内を維持することで発生のリスクは低下できると考えられる。

7 参考文献

Bonewald and Wacker, 2013
Bonewald LF, Wacker MJ. FGF23 Production by Osteocytes. Pediatr Nephrol. 2013;28(4):563-8.

Chen et al, 2011
Chen KH, Chen LR, Lee YH. Exploring the relationship between preterm placental calcification and adverse maternal and fetal outcome. Ultrasound Obstet Gynecol. 2011;37(3):328-34.

Eckermann-Ross, 2008
Eckermann-Ross C. Hormonal Regulation and Calcium Metabolism in the Rabbit. Vet Clin North Am Exot Anim Pract. 2008;11(1):139-52.

Fukumoto, 2008
Fukumoto S. Physiological Regulation and Disorders of Phosphate Metabolism. -Pivotal Role of Fibroblast Growth Factor 23- Intern Med. 2008;47(5):337-43.

Jarvis et al, 2010
Jarvis P, Srivastav S, Vogelwedde E, Stewart J, Mitchard T, Weinbauer GF. The Cynomolgus Monkey as a Model for Developmental Toxicity Studies: Variability of Pregnancy Losses, Statistical Power Estimates, and Group Size Considerations. Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol. 2010;89(3):175-87.

Jonsson et al, 2003
Jonsson KB, Zahradnik R, Larsson T, White KE, Sugimoto T, Imanishi Y, et al. Fibroblast Growth Factor 23 in Oncogenic Osteomalacia and X-Linked Hypophosphatemia. N Engl J Med. 2003;348(17):1656-63.

Kovacs, 2014
Kovacs CS. BONE DEVELOPMENT AND MINERAL HOMEOSTASIS IN THE FETUS AND NEONATE: ROLES OF THE CALCIOTROPIC AND PHOSPHOTROPIC HORMONES. Physiol Rev. 2014;94(4):1143-218.

Linglart et al, 2014
Linglart A, Biosse-Duplan M, Briot K, Chaussain C, Esterle L, Guillaume-Czitrom S, et al. Therapeutic management of hypophosphatemic rickets from infancy to adulthood. Endocr Connect. 2014;3(1):R13-30.

Ma et al, 2014
Ma Y, Samaraweera M, Cooke-Hubley S, Kirby BJ, Karaplis AC, Lanske B, et al. Neither Absence Nor Excess of FGF23 Disturbs Murine Fetal-Placental Phosphorus Homeostasis or Prenatal Skeletal Development and Mineralization. Endocrinology. 2014;155(5):1596-605.

Ma et al, 2017
Ma Y, Kirby BJ, Fairbridge NA, Karaplis AC, Lanske B, Kovacs CS. FGF23 Is Not Required to Regulate Fetal Phosphorus Metabolism but Exerts Effects Within 12 Hours After Birth. Endocrinology. 2017;158(2):252-63.

Razzaque and Lanske, 2007
Razzaque MS, Lanske B. The emerging role of the fibroblast growth factor-23- klotho axis in renal regulation of phosphate homeostasis. J Endocrinol. 2007;194(1):1-10.

Shore and Chesney, 2013
Shore RM, Chesney RW. Rickets: Part I. Pediatr Radiol. 2013;43(2):140-51.

Stewart, 2009
Stewart J. Developmental toxicity testing of monoclonal antibodies: An enhanced pre- and postnatal study design option. Reprod Toxicol. 2009;28(2):220-5.

Sullivan et al, 1992
Sullivan W, Carpenter T, Glorieux F, Travers R, Insogna K. A Prospective Trial of Phosphate and 1,25-Dihydroxyvitamin D_3 Therapy in Symptomatic Adults with X-Linked Hypophosphatemic Rickets. J Clin Endocrinol Metab. 1992;75(3):879-85.

Tindall and Scott, 1965
Tindall VR, Scott JS. PLACENTAL CALCIFICATION A STUDY OF 3,025 SINGLETON AND MULTIPLE PREGNANCIES. J Obstet Gynaecol Br Commonw. 1965;72:356-73.

Yamazaki et al, 2002

Yamazaki Y, Okazaki R, Shibata M, Hasegawa Y, Satoh K, Tajima T, et al. Increased circulatory level of biologically active full-length FGF-23 in patients with hypophosphatemic rickets/osteomalacia. J Clin Endocrinol Metab. 2002;87(11):4957-60.