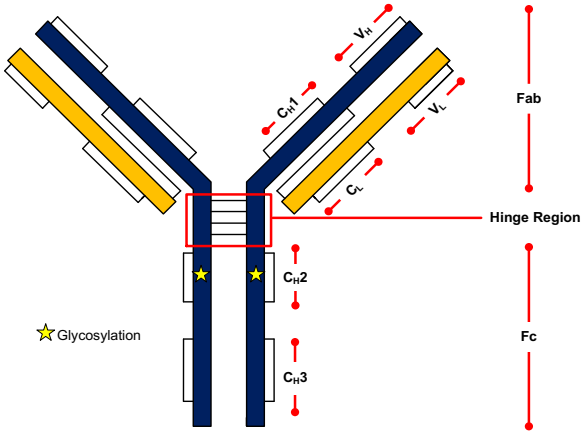
エレヌマブ（AMG 334）は、チャイニーズハムスター卵巣細胞において遺伝子組換えにより産生されるヒトモノクローナル免疫グロブリンG2（IgG2）抗体である。エレヌマブは1344個のアミノ酸からなり、分子量は約150 kDaである（図 1）。エレヌマブはカルシトニン遺伝子関連ペプチド（CGRP）受容体（-R）の細胞外領域に高親和性（解離定数［K_d］：56 pmol/L）で結合する。エレヌマブは、ヒトCGRP-RでのCGRPの作用を強力かつ完全に阻害し、その50%阻害濃度（IC_{50}）は2.3 nmol/Lである。エレヌマブは、構造的に関連するファミリー受容体（アドレノメデュリン-1受容体、アドレノメデュリン-2受容体、カルシトニン受容体及びアミリン受容体）に対して活性を示さない。エレヌマブは、ヒトCGRP-Rに対する作用と同様に、カニクイザルCGRP-Rを強力かつ完全に阻害し、そのIC_{50}値は5.7 nmol/Lであるが、ラットCGRP-Rは阻害しない（IC_{50}：>10 µmol/L）。エレヌマブ結合領域のアミノ酸配列はラットとマウスで相同性が高いため、マウスとの交差反応性については検討しなかった。エレヌマブは、ウサギ又はイヌのCGRP-R（K_i：それぞれ230及び260 nmol/L）と比較して、ヒトCGRP-R複合体（K_i：20 pmol/L）に対して10000倍高い結合親和性を示した。このため、ラット、マウス、イヌ及びウサギは、非臨床毒性評価に適さなかった。カニクイザルにおけるエレヌマブによるCGRP-R拮抗作用の薬力学的根拠は、カプサイシンの局所投与によって誘発される皮膚血流量増加が*in vivo*で用量依存的に阻害され、3 mg/kg以上の用量では最大の阻害に達したことから示された。これら*in vitro*及び*in vivo*薬理試験から、臨床プログラムの妥当性を裏付ける薬理試験、薬物動態試験及び毒性試験にはカニクイザルを用いた。

図 1　エレヌマブ構造の模式図



Heavy chains are shown in blue and light chains are shown in orange
VH is the variable domain of the heavy chain
CH1, CH2, and CH3 are the constant domains of the heavy chain
VL is the variable domain of the light chain
CL is the constant domain of the light chain

カニクイザルを用いた非臨床毒性試験として、エレヌマブを最高225 mg/kgの用量まで投与した探索的1カ月間反復投与毒性試験（皮下投与、週2回又は3回）、単回静脈内投与群（100 mg/kg）を含む1カ月間反復投与毒性試験（皮下投与、週2回、最高225 mg/kg）、3及び6カ月間の複合的な反復投与毒性試験（皮下投与、週2回、最高150 mg/kg）、胚・胎児発生に関する試験／出生後の発生に関する試験（皮下投与、50 mg/kg、2週に1回）を実施した。これらの試験におけるエレヌマブに関連する所見は、抗エレヌマブ免疫複合体の循環に伴う免疫介在性病変と一致した病理組織学的変化及

び皮下投与に起因する投与部位の単核細胞浸潤のみであった。エレヌマブに関連し、ヒトにおけるリスクの評価に意義のある毒性は他にはみられなかった。3及び6カ月間の複合的な反復投与毒性試験における無毒性量（NOAEL）は、検討した最高用量の150 mg/kg（週2回）と設定された。NOAELにおける最高濃度（C_{max}）は2620 µg/mL、Day 0からDay 7までの血中濃度-時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}7d}$）は15300 µg·day/mLであり、ヒトで用いられた用量の140 mgの月1回の投与で得られる曝露量の約123倍であった。母動物及び胎児の発生における無影響量は、50 mg/kg、2週に1回（Day 0からDay 14までのAUC（$AUC_{0\text{-}14d}$）：4280 µg·day/mL、C_{max}：422 µg/mL）と設定され、ヒトで用いられた用量の140 mgの4週に1回投与と比較して約17倍の安全域が得られている。

エレヌマブは片頭痛発作の発症抑制を目的として、70 mgの用量を月1回皮下投与する。

目次

1. まとめ 2
2. 効力を裏付ける試験....3
2.1 細胞を用いた機能試験におけるAMG 334のヒトCGRP受容体に対する*in vitro*機能活性（R20100181試験） 3
2.2 細胞を用いた機能試験におけるカルシトニン受容体ファミリーであるアドレノメデュリン受容体、カルシトニン受容体及びアミリン受容体に対するAMG 334の*in vitro*機能活性（R20100185試験） 3
2.3 ヒト神経芽細胞腫（SK-N-MC）細胞膜のヒトCGRP受容体に対するAMG 334の競合的結合特性（R20100182試験） 4
2.4 ヒト神経芽細胞腫（SK-N-MC）細胞膜のヒトCGRP受容体におけるAMG 334の受容体結合動態試験（R20100183試験） 5
2.5 AMG 334の種選択性（R20100184試験） 5
2.6 カニクイザルのカプサイシン誘発皮膚血流量（DBF）増加に対するAMG 334の抑制作用についての*in vivo*評価（R20100187試験） 6
3. 副次的薬理試験....8
3.1 CGRP及びCGRP受容体の発現及び分布 9
3.2 CGRP受容体拮抗作用と全身血圧変化の関連性 10
3.3 CGRP受容体拮抗作用と血管収縮及び心臓虚血脆弱性との関連性....12
3.4 CGRP受容体拮抗作用が骨代謝に影響する可能性 14
3.5 CGRP受容体拮抗作用が胃粘膜完全性に影響する可能性 15
3.6 正常妊娠時に推定されるCGRPの役割 16
3.7 CGRP及びCGRP受容体拮抗作用の呼吸恒常性への影響....16
3.8 CGRP受容体拮抗作用とがん原性リスクとの関連性 17
3.8.1 CGRPの免疫機能に対する影響 17
3.8.2 CGRP：細胞増殖とがん 20
3.8.3 CGRP及びCGRP受容体欠損マウス 20
4. 安全性薬理 22
4.1 無麻酔テレメトリー装着雄カニクイザルにAMG 334を皮下投与し、呼吸数及び神経行動学的評価を行った、心血管系に関する単回投与試験（113726試験） 22
5. 薬力学的薬物相互作用試験....24
6. 考察及び結論....25
7. 参考文献 26

1. まとめ

エレヌマブ（AMG 334）は、カルシトニン遺伝子関連ペプチド（CGRP）受容体（R）に直接作用するヒトモノクローナル免疫グロブリンG2（IgG2）であり、内因性CGRPの作用を阻害する。細胞を用いた*in vitro*試験では、エレヌマブはヒトCGRP-RにおけるCGRPの作用を阻害し、その50%阻害濃度（IC_{50}）は2.3 ± 0.9 nmol/Lであり、アドレノメデュリン（ADM）-1受容体、ADM-2受容体、カルシトニン（CT）受容体及びアミリン（AMY）受容体を含む他のファミリー受容体（IC_{50}：>10 µmol/L）よりもCGRP-Rに対して高い選択性を示した。エレヌマブは、試験最高濃度（10 µmol/L）までアゴニスト活性を示さなかった。エレヌマブはCGRP-RへのCGRPの結合に競合し、その阻害定数（K_i）は20 ± 10 pmol/L、CGRP-Rとの相互作用の解離定数（K_d）は56 ± 10 pmol/Lであった。また、CGRP-Rからのエレヌマブの解離半減期（t_{off}）は67 ± 18分であった。

エレヌマブはヒト及びカニクイザルのCGRP-Rを同程度の効力で阻害したが、ラット、ウサギ及びイヌのCGRP-Rに対する効力は弱いか、又は生物活性を示さなかった。エレヌマブ結合領域のアミノ酸配列はラットとマウスで相同性が高いため、マウスとの交差反応性については検討しなかった。これらのことから、非臨床毒性試験は、カニクイザルを用いて実施した。

薬理作用としては、エレヌマブの静脈内（IV）投与は、カニクイザルにおけるカプサイシン（CAP）誘発皮膚血流量（DBF）増加を阻害した。この作用は用量依存性であり、顕著な阻害作用が認められた最低用量は0.3 mg/kgであり、3 mg/kg以上の用量では顕著かつ最大の阻害作用に達した。

非臨床薬理試験を表 1に示す。

表 1　非臨床薬理試験の一覧表

Study No.	Study Title	Status
In Vitro		
R20100181	In Vitro Functional Activity of AMG 334 at the Human Calcitonin Gene-related Peptide (CGRP) Receptor in Cell based Functional Assays	Final
R20100185	In Vitro Functional Activity of AMG 334 at Adrenomedullin, Calcitonin, and Amylin Receptors in the Calcitonin Receptor Family in Cell-based Functional Assays	Final
R20100182	Competition Binding Assays with AMG 334 at Human Calcitonin Gene-related Peptide (CGRP) Receptors in Human Neuroblastoma (SK-N-MC) Membranes	Final
R20100183	Receptor Kinetics Studies with AMG 334 at Human Calcitonin Gene-related Peptide (CGRP) Receptors in Human Neuroblastoma (SK-N-MC) Membranes	Final
R20100184	Species Selectivity of AMG 334 at Cynomolgus Monkey, Rat, Rabbit, and Dog Calcitonin Gene-related Peptide (CGRP) Receptors	Final
In Vivo		
R20100187	Assessment of Various Doses of AMG 334 in the Prevention of Capsaicin-induced Increase in Dermal Blood Flow in Male Cynomolgus Monkeys	Final
Safety Pharmacology		
113726	Single-dose Cardiovascular Study With Respiration Rate and Neurobehavioral Evaluation of AMG 334 Administered by Subcutaneous Injection to Telemetry-instrumented Conscious Male Cynomolgus Monkeys	Final

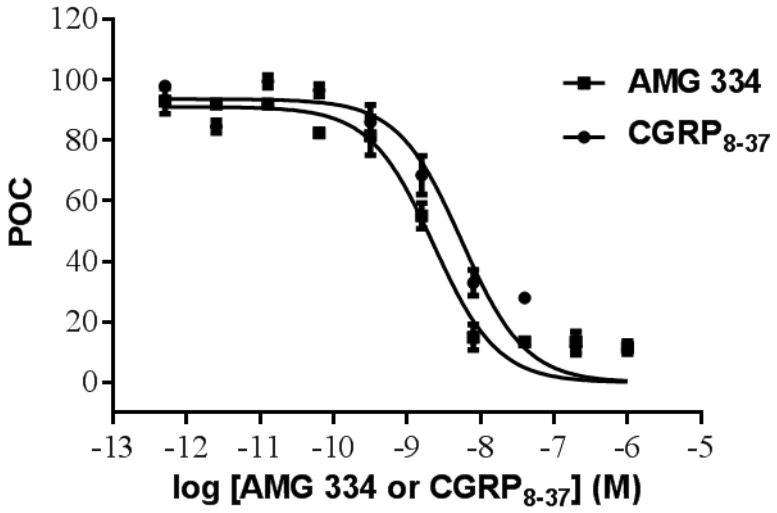
AMG 334 = anti-human CGRP receptor antibody (human IgG2), also known as 4E4; CGRP = calcitonin gene-related peptide; SK-N-MC = human neuroblastoma cell lines endogenously expressing CGRP receptors

2. 効力を裏付ける試験

2.1 細胞を用いた機能試験におけるAMG 334のヒトCGRP受容体に対する*in vitro*機能活性（R20100181試験）

細胞を用いたCGRP誘発サイクリックアデノシン一リン酸（cAMP）の蓄積を測定する試験法により、内因性のヒトCGRP-Rを発現するヒト神経芽細胞腫（SK-N-MC）細胞におけるエレヌマブの機能活性を評価した。エレヌマブは、試験最高濃度の10 μmol/Lまで、cAMP産生刺激に対してアゴニスト活性を示さなかった。一方、エレヌマブは、CGRP誘発cAMP蓄積を阻害し、そのIC$_{50}$値は2.3 ± 0.9 nmol/L、最大阻害率は約100%であった（図 1）。遺伝子組換えヒトCGRP-Rを発現させたチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞をCGRPで刺激した場合にも、エレヌマブによる完全拮抗作用が同様に認められ、そのIC$_{50}$値は5.1 ± 1.0 nmol/Lであった。これらの結果から、エレヌマブはCGRPシグナル伝達に対する強力な完全拮抗薬であることが示された（Manoukian et al, 2019、Shi et al, 2016）。

図 1　SK-N-MC細胞のヒトCGRP受容体におけるCGRP誘発cAMP蓄積に対するエレヌマブの拮抗作用



CGRP = calcitonin gene-related peptide; CGRP$_{8-37}$ = human α-CGRP$_{8-37}$, a truncated CGRP peptide receptor antagonist; SK-N-MC = human neuroblastoma cell lines endogenously expressing human CGRP receptors; POC = percent of control (CGRP induced cAMP accumulation).

Cells were preincubated with AMG 334 (0.5 pM to 1 μM) or CGRP$_{8-37}$ (0.5 pM to 1 μM) before CGRP was added (1 nM). Shown in the figure are representative concentration-dependent inhibition curves ran in duplicates. IC$_{50}$ values from these experiments are expressed as mean ± S.D.

Source: Study R20100181

2.2 細胞を用いた機能試験におけるカルシトニン受容体ファミリーであるアドレノメデュリン受容体、カルシトニン受容体及びアミリン受容体に対するAMG 334の*in vitro*機能活性（R20100185試験）

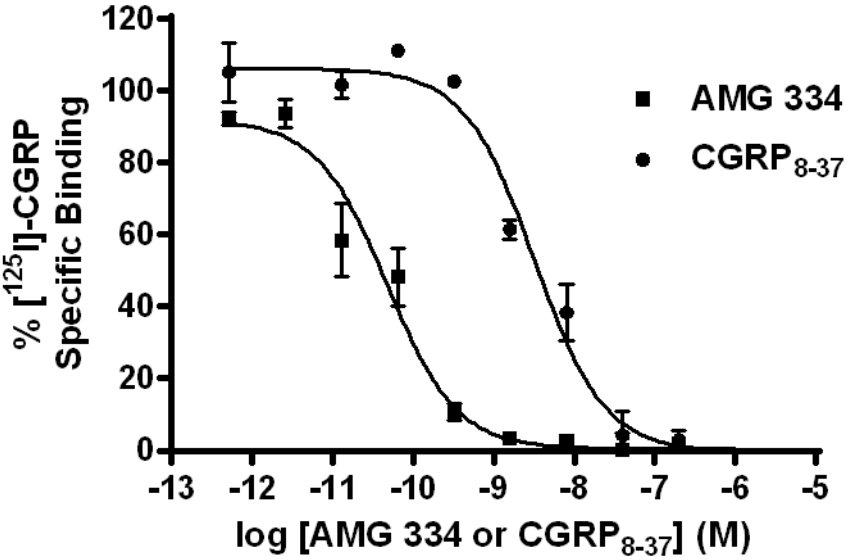
エレヌマブはヒトCGRP-Rに対する選択性が高い拮抗薬であり、CT受容体ファミリーの他のいずれに対しても活性を示さない。エレヌマブは、ヒトADM-1受容体を安定発現するヒト胎児腎臓

（HEK）細胞、ヒトADM-2受容体を安定的に発現するCHO細胞、ヒトCT受容体を安定的に発現するHEK細胞及びヒトAMY受容体を内在的に発現するヒト乳がん（MCF-7）細胞において、濃度10 μmol/Lまでアゴニスト活性及び拮抗作用を示さなかった。

2.3 ヒト神経芽細胞腫（SK-N-MC）細胞膜のヒトCGRP受容体に対するAMG 334の競合的結合特性（R20100182試験）

内因性のヒトCGRP-Rを発現するSK-N-MC細胞の膜標本を用いて、放射性標識CGRP又は放射性標識エレヌマブの競合的結合試験を実施した。エレヌマブはヒトCGRP-Rへの[^{125}I]-CGRPの結合に対して競合的作用を示し、K_i値は20 ± 10 pmol/Lであった（Shi et al, 2016）。

図 2 SK-N-MC細胞膜への[^{125}I]-CGRPの結合に対するエレヌマブの阻害作用



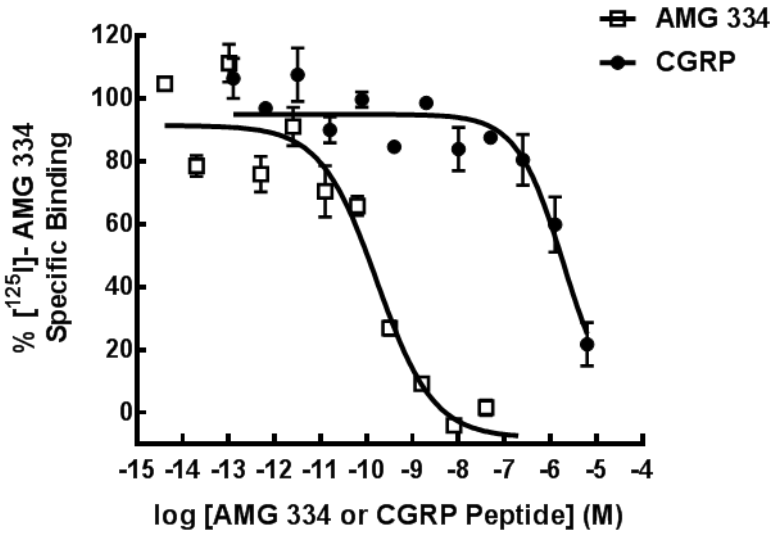
CGRP = calcitonin gene-related peptide, $CGRP_{8-37}$ = human α-$CGRP_{8-37}$, a truncated CGRP peptide receptor antagonist; SK-N-MC = human neuroblastoma cell lines endogenously expressing human CGRP receptors.

SK-N-MC cell membranes were incubated with [^{125}I]-CGRP and increasing concentrations of AMG 334 or $CGRP_{8-37}$. Shown in the figure is a representative concentration-dependent competition curve ran in duplicates. Error bars represent ± the S.D. from the single experiment performed in duplicate.

Source: Study R20100182

一方、CGRP-Rへの[^{125}I]- エレヌマブの結合に対するCGRPの競合的作用の効力は、エレヌマブよりも顕著に弱く、エレヌマブ及びCGRPのK_i値は、それぞれ61 ± 14 pmol/L及び500 nmol/L超であった。このことから、エレヌマブは、CGRP-R複合体へのCGRPの結合に対する競合的作用が強いことが示された。

図 3　SK-N-MC細胞膜への[125I]- エレヌマブの結合に対するエレヌマブ及びCGRPペプチドの阻害作用



CGRP = calcitonin gene-related peptide, SK-N-MC = human neuroblastoma cell lines endogenously expressing human CGRP receptors.

SK-N-MC cell membranes were incubated with [125I]-AMG 334 and increasing concentrations of AMG 334 or CGRP. Shown in the figure is a representative concentration-dependent competition curve ran in duplicates. Error bars represent ± the S.D. from the single experiment performed in duplicate.

Source: Study R20100182

2.4　ヒト神経芽細胞腫（SK-N-MC）細胞膜のヒトCGRP受容体におけるAMG 334の受容体結合動態試験（R20100183試験）

放射性標識エレヌマブを用いて、内因性CGRP-Rとエレヌマブとの結合との直接的な相互作用について検討した。内因性CGRP-Rと結合する[125I]- エレヌマブの飽和結合試験から、エレヌマブは単独かつ飽和性の結合部位に結合し、そのK_dは56 ± 10 pmol/L、平衡時最大結合数（B_{max}）は237 ± 9 fmol/mgタンパク質（細胞膜標本）であることが示された。

[125I]- エレヌマブをSK-N-MC細胞膜標本と各種時間インキュベートし、エレヌマブの結合動態について検討した。[125I]- エレヌマブの結合は約200 minで平衡に達し、その結合速度定数（k_{on}）は8.3×10^7 mol^{-1} min^{-1}であった。結合反応が平衡に達した後の解離動態の検討では、構造的に異なる抗CGRP-R抗体（Ab12G8.2、100 nmol/L）の過剰量を各種測定時点（2～1440 min）に添加した結果、[125I]- エレヌマブのt_{off}は67 ± 18 min、解離速度（k_{off}）は11×10^{-3} min^{-1}であった。

これらの試験から、エレヌマブは単独かつ飽和性のヒトCGRP-R結合部位に高親和性で結合し、解離速度は中程度であることが示された。

2.5　AMG 334の種選択性（R20100184試験）

細胞を用いた試験において、エレヌマブはヒト及びカニクイザルのCGRP-Rに同程度の効力で拮抗したが、ラットCGRP-Rに対しては阻害作用を示さなかった（表 2）。受容体結合試験では、エレヌマブは、ウサギ又はイヌのCGRP-R（K_i：それぞれ230及び260 nmol/L）と比較して、ヒトCGRP-R（K_i：20 pmol/L、R20100182試験）に対して10000倍超の差の結合親和性を示した（表 3）。文献

（Mallee et al, 2002）によると、CGRP-R拮抗薬の種選択性は、RAMP1の74番目の残基を中心とした特異的領域が担っている。本領域の配列はラット、マウス、ウサギ、イヌ及びカニクイザルを除く非霊長類の間で相同性が高く、また、エレヌマブはラット、ウサギ及びイヌの受容体に拮抗しなかったことから、マウス及びカニクイザルを除く非霊長類のCGRP-Rについても同様であると推察されたため、エレヌマブの交差反応性についての追加検討はしなかった。ラット、マウス、ウサギ、イヌ及びカニクイザルを除く非霊長類は、交差反応性がないことから、非臨床試験に適さないと考えられた（表 3）。

表 2　カニクイザル及びラットCGRP-Rに対するエレヌマブの拮抗効力

Protein (Cell line)	IC_{50} (nmol/L)
Cynomolgus CGRP-R (HEK)	5.7 ± 2.8 (n = 4)
Rat CGRP-R (L6)	> 10000 (n = 4)

CGRP-R = calcitonin gene-related peptide receptor; IC_{50} = concentration of antagonist that inhibits 50% of the maximal response produced by CGRP; HEK = human embryonic kidney; L6 = rat skeletal muscle cell line

HEK cells stably expressing cynomolgus monkey (cynomolgus) CGRP receptors and L6 cells endogenously expressing rat CGRP receptors were used to determine antagonist activity of AMG 334 in cell-based functional assays measuring CGRP induced cAMP accumulation. IC_{50} values are expressed as mean ± S.D.

Source: Study R20100184

表 3　ウサギ及びイヌCGRP-Rに対するエレヌマブの結合効力

Receptor Studied	K_i (nmol/L)
Rabbit CGRP-R	230 ± 130 (n = 3)
Dog CGRP-R	260 ± 130 (n = 6)

CGRP-R = calcitonin gene-related peptide receptor; K_i = inhibition constant

Rabbit and dog brain membrane preparations were used to determine binding potency of AMG 334 at rabbit and dog CGRP receptors using [^{125}I]-CGRP competitive binding assays. Human CGRP receptor antagonist $CGRP_{8-37}$ was used as a positive control in the experiments. K_i values are expressed as mean ± S.D.

Source: Study R20100184

2.6　カニクイザルのカプサイシン誘発皮膚血流量（DBF）増加に対するAMG 334の抑制作用についての*in vivo*評価（R20100187試験）

雄カニクイザルにおいて、CAPの局所投与によって誘発される皮膚血流量（DBF）増加に対するエレヌマブによる阻害作用を測定し、CGRP-R拮抗作用を評価した。試験は、予備試験（4 mg/kg）及びその後の用量反応試験（0.1、0.3、3、10及び30 mg/kg）の2段階で実施した。なお、エレヌマブは静脈内投与とした。

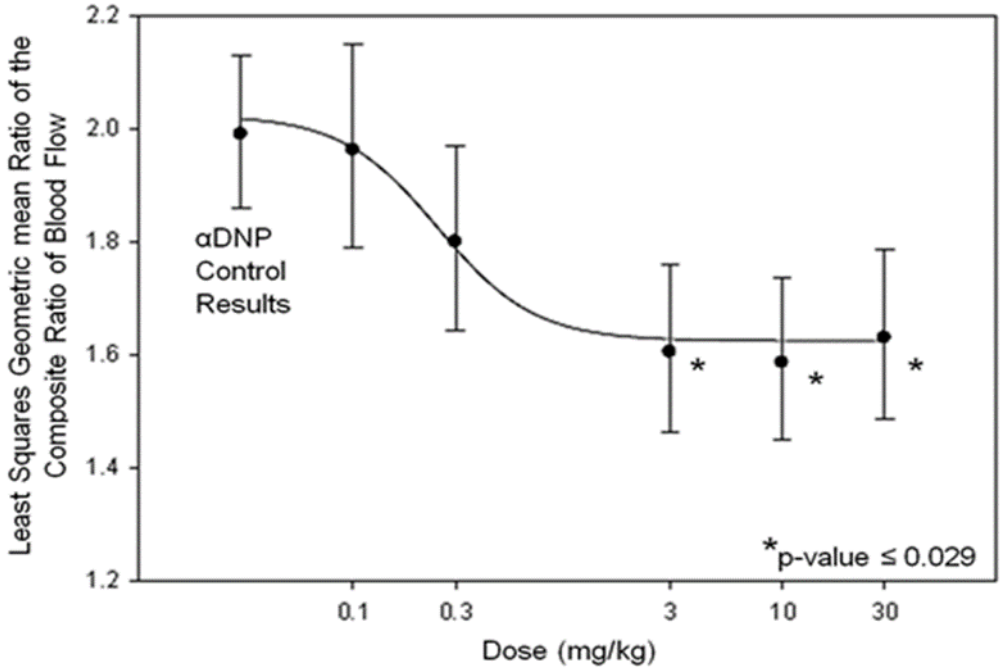
CAP投与前にDBFの投与前値を測定した。エレヌマブ非存在下では、投与前値と比較して、CAP投与によって顕著にDBFが増加した。エレヌマブ又は不活性コントロール抗体（抗ジニトロフェノール、αDNP）のCAP誘発DBF増加に対する阻害能を静脈内投与後のDay 0、Day 2及びDay 4に測定した。

エレヌマブを単回投与したときの抗エレヌマブ結合抗体及び抗エレヌマブ中和抗体の総発現頻度は高かった（イムノアッセイ［結合抗体］では23/30［77%］、バイオアッセイ［中和抗体］では20/30［67%］）。イムノアッセイの結果及び曝露プロファイルから、抗薬物抗体（ADA）の発現は、エレヌマブの単回静脈内注入（30分間）後の早くても14日後であったと推察され、薬理活性の評価には影響はなかったと考えられる。

予備試験では、対照と比較して、エレヌマブの4 mg/kg投与によりCAP誘発DBF増加が統計学的有意に阻害された。その後の用量反応試験での解析から、エレヌマブのCAP誘発DBF増加に対する阻害作用に、シンプルな用量反応性が確認された。顕著な阻害作用を示した最低用量は0.3 mg/kgであり、3 mg/kg以上の用量では顕著な、最大の阻害に達した。Day 4の用量反応性を図 4に示す。

以上、エレヌマブは雄カニクイザルのCAP誘発DBF増加を用量依存的に阻害した。これらの結果は、カニクイザルを除く非ヒト霊長類動物モデルにおいてエレヌマブがCGRP-R拮抗作用を示すことの薬力学的根拠となるものである（Shi et al, 2016）。

図 4　カニクイザルのカプサイシン誘発皮膚血流量増加に対するエレヌマブ投与4日後の阻害作用



αDNP = anti-dinitrophenol antibody

Cynomolgus monkeys were given IV fusions of AMG 334 (0.1 to 30 mg/kg) or control anti-dinitrophenol antibody (αDNP) (4 mg/kg) on Day 0. On Day 4 (4 days post-AMG 334), after obtaining a post-drug baseline, capsaicin (CAP) solution at a dose of 1 mg was added topically inside of rubber O rings, which were placed on the skin on the ventral side of the forearms or the medial thighs of cynomolgus monkeys, and dermal blood flow (DBF) was measured by a laser Doppler imager. The increase in DBF caused by CAP topical application was expressed as least squares geometric mean ratio of the composite ratio for statistical analysis. Data are expressed as the mean ± standard error of the mean (SEM). Shown above is the dose-response on Day 4. AMG 334 inhibited CAP-induced increase in DBF relative to αDNP with a clear dose-response on Day 4 (P = 0.001 with 1-sided trend test. Using the Emax model of analysis 3, 10, and 30 mg/kg doses each produced a significant effect.

Source: Study R20100187

3. 副次的薬理試験

CT/CGRPファミリーのペプチドホルモンには、CT、AMY、CGRP、ADM及びインテルメジン（IMD）がある。*Calca*遺伝子は、これらのペプチドホルモンのうち、CT及びα-CGRPの2つをコードしている。これら2つのペプチドは選択的スプライシングを介して生成され、組織特異的である（Rosenfeld et al, 1983）。CGRPの別の形態であるβ-CGRP（ヒトにおいてはα-CGRPと3個のアミノ酸が異なる）は、別の遺伝子で産生され、主に腸及び腸神経において発現する（Mulderry et al, 1988）。α-CGRP（本資料全体でCGRPと称す）は、最も広範囲に研究されていると共に、最も豊富に存在するCGRPの型であるが、αとβ型の薬理作用の違いはわずかである（Bailey and Hay, 2006）。

CT/CGRPファミリーのホルモンの生理活性は、異なる複数の受容体複合体を介している（McLatchie et al,1998）。この受容体複合体は、Gタンパク質共役型受容体（GPCR）及び固有の受容体活性調節タンパク質（RAMP）によって形成される。GPCRにはCT受容体（CTR）及びCT様受容体（CLR）の2種がある。RAMPには、RAMP1～3の3種があり、これらRAMPの基本構造は類似しており、大きな細胞外領域、1回膜貫通領域及び短い細胞内領域が共通している。各種ペプチドホルモンの受容体特異性については、表 4に示す。

表 4　カルシトニンファミリーの各種ペプチドの受容体特異性

Receptor	Receptor Components	Ligand
CGRP	CLR + RAMP1	CGRP > IMD > ADM
ADM1	CLR + RAMP2	ADM >> CGRP
ADM2	CLR + RAMP3	ADM = IMD > CGRP
CTR	CTR	Calcitonin
AMY1	CTR + RAMP1	Amylin
AMY2	CTR + RAMP2	Amylin
AMY3	CTR + RAMP3	Amylin

ADM = adrenomedullin; AMY = amylin; CGRP = calcitonin gene-related peptide; CLR = calcitonin like receptor; CTR = CT receptor; IMD = intermedin; RAMP = receptor activity modifying protein. Adapted from Poyner et al., 2002.

CTRとCLRのアミノ酸相同性は50%超であるが、CTRは単独でCTに特異的に結合するのに対し、CLRは単独ではいずれの特異的リガンドにも結合せず、CLRが1種のRAMPとヘテロ二量体を形成することよって、リガンドへの結合が可能となる。RAMPはCTR及びCLRのみと相互作用するわけではなく、クラスIIの他のGPCR（Christopoulos et al, 2003）及びクラスIIIのGPCRであるカルシウム感知受容体（CaSR）（Bouschet et al, 2005）とも二量体を形成する。また、各種リガンドは、それらの特異的受容体に対して非常に高い親和性を示すが、リガンドと受容体との交差反応性がみられる場合もある。

CGRP-Rは、主に中枢神経系（CNS）、末梢神経系（PNS）及び心血管（CV）系で発現する（Wimalawansa, 1996）。また、免疫細胞、骨、気道、消化器系及び胎盤にもCGRP-Rが存在する。上記組織におけるCGRPの生理的及び理論的な役割、並びにCGRP-R拮抗作用から考えられる影響の詳細について、以下に示す。

3.1 CGRP及びCGRP受容体の発現及び分布

CGRP-Rは、7回膜貫通型タンパク質のCLRと1型膜貫通タンパク質のRAMP1で構成されている（Hay et al, 2006、Hay et al, 2008、Walker et al, 2010）。第3のタンパク質である受容体成分タンパク質（RCP）は、Gタンパク質共役及び受容体活性化に必要であるが、リガンド結合との関連性については明らかではない（Prado et al, 2002）。

ラット、サル及びヒト脳の放射性標識CGRP試験、mRNA発現解析及び免疫組織化学的検査から、線条体、丘、中脳水道周囲灰白質（中心灰白質）、傍小脳脚核、三叉神経核、孤束核、小脳、海馬、扁桃体などの各種脳領域において、CGRP及びその受容体の発現が確認された（Van Rossum et al, 1997、Christopoulos et al, 1995、Eftekhari and Edvinsson, 2011）。げっ歯類の末梢神経系では、CGRPは末梢の細い無髄C線維（知覚神経）及び有髄Aδ線維に主に発現し、血管と密に関連する神経において最も高頻度で認められている（Wimalawansa, 1996）。モルモットでは、C線維において他のペプチド（特にタキキニンのサブスタンスP及びニューロキニンA）と共存することが明らかにされている（Lundberg et al, 1985）。

心血管系では、心血管恒常性を制御している末梢血管周囲神経、心外膜動脈、洞房結節、房室結節などにおいて、中枢神経系領域と同様に広範なCGRP免疫活性がげっ歯類で確認されている（Hökfelt et al, 1992）。また、げっ歯類、モルモット及びヒト心臓のオートラジオグラムから、結節伝導系及びペースメーカー細胞の他にも、抵抗血管内膜及び心筋においてCGRP-Rが確認された（Coupe et al, 1990、Ono et al, 1989）。

ヒト胎盤の免疫蛍光染色では、臍帯動脈・静脈、絨毛膜動脈・静脈及び幹絨毛血管、並びに胎盤絨毛の栄養膜層においてCGRP-Rが認められた（Dong et al, 2004）。放射免疫測定では、妊婦における血漿中CGRP濃度の上昇が示されている（Stevenson et al, 1986）。CGRP濃度の上昇は、妊娠中に必要とされる代謝亢進に適応するための生理的適応を助けるものと推察されているが、妊娠中におけるCGRPの特定の役割については不明である（Chang and Hsu, 2013）。

各種動物の免疫系においては、CGRPを含有する知覚神経が一次及び二次リンパ器官で確認（逆転写ポリメラーゼ連鎖反応［RT-PCR］及び免疫蛍光法）されており、また、*in vitro*ではヒトBリンパ球（Bracci Laudiero et al, 2002）、Tリンパ球（Wang et al, 2002）、単球（Bracci Laudiero et al, 2005）などの活性化した免疫細胞によってCGRPが産生される。マウスでは、CGRPはランゲルハンス細胞（Ding et al, 2008）、骨髄由来マクロファージ（Fernandez et al, 2001）、ナチュラルキラー（NK）細胞（Umeda and Arisawa, 1989）、樹状細胞、T細胞（Mikami et al, 2011、Mikami et al, 2014）などの種々の免疫細胞に結合し、これらを介してシグナル伝達することが、機能活性又はmRNA発現の評価から示されている。ヒトにおける報告より、CD34陽性造血前駆細胞（Harzenetter et al, 2002）、ランゲルハンス細胞（Asahina et al, 1995c）、樹状細胞（Carucci et al, 2000）及び末梢血単核細胞（Fox et al, 1997）においてCGRP-R活性が確認されている。

骨におけるCGRP-R発現に関する情報は非常に少ない。破骨細胞系細胞では、マウス骨髄マクロファージにおいてCGRP（並びにAMY及びADM）に対する受容体の発現が示された（Granholm et al, 2008）。ラット骨芽初代培養細胞のRT-PCR及びノーザンブロット解析ではCLRの発現が示されたが、RAMP1の発現レベルは非常に低かった（Naot et al, 2001）。骨片から増殖させたヒト培養骨芽細胞様（骨芽初代培養細胞）においてもCGRP-Rが認められた（Naot et al, 2007）。また、ラット骨端海

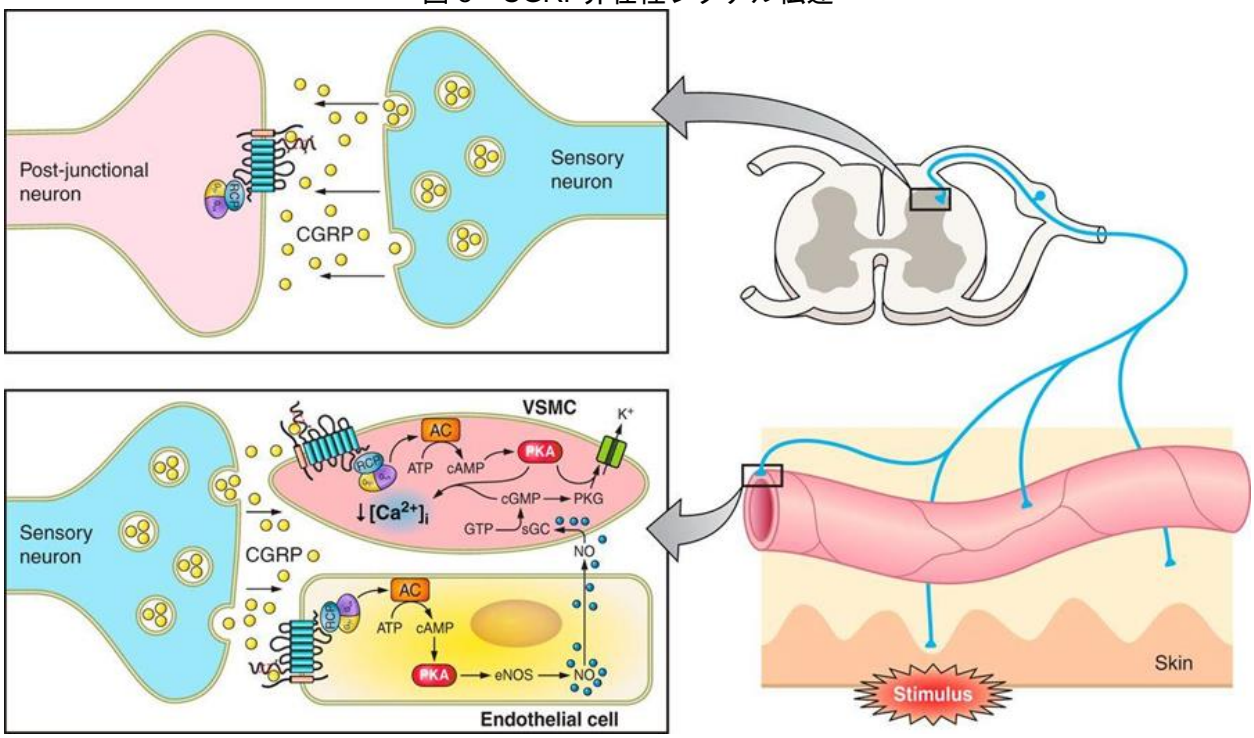
綿骨の骨組織においてもCGRP免疫反応性知覚神経線維が認められたことから、CGRPは骨代謝制御の役割を担っている可能性が示唆された（Irie et al, 2002）。

CGRPは気道全体にわたり知覚神経線維に存在し、CGRP-Rは肺血管に豊富に存在する（McCormack et al, 1989）。免疫標識試験では、消化管の内臓求心性神経においてCGRPが確認された（Sternini, 1992）。ラットでは、CGRPを放出する脊髄求心性神経は、組織血流量を増加させることによって胃酸による胃粘膜損傷に対する抵抗性を増大させるため、胃局所の恒常性に関与することが示された（Holzer, 2000）。なお、多くの組織がリガンド（放射免疫測定法）及び受容体（免疫組織化学的検査又はmRNA発現解析）のいずれにも陽性反応を示したが、これらが、受容体-リガンド結合に至る程に隣接しているか否かについてはほとんど不明であることに留意されたい。また、特定の組織部位でCGRPが検出されたことが、同部位においてCGRP-Rも存在することをそのまま示唆するものではなく、その逆の場合でも同じである。

3.2　CGRP受容体拮抗作用と全身血圧変化の関連性

三叉神経節・知覚神経の刺激によってCGRP及び他の神経ペプチドが放出される（Goadsby et al, 1988、Kurosawa et al, 1995）。CGRPを含有する神経線維は、血管平滑筋（VSMC）層に達している。この解剖学的位置関係から、CGRPは放出部位でパラクリン的に血管拡張作用を示すという生理的役割が明らかにされている（図 5、Edvinsson et al, 1998、Bell and McDermott, 1996、Russell et al, 2014）。

図 5　CGRP介在性シグナル伝達



CGRP = calcitonin gene-related peptides; VSMC = vascular smooth muscle.
Source: From Russell et al, 2014

循環CGRPの大部分は後根神経節（DRG）で産生され、軸索線維を介して輸送されると考えられている（Sun et al, 1998）。血漿中CGRPは、局所放出後の漏出によるものであり、特定の全身性機能をもたらす可能性は低いと考えられる（Russel et al, 2014）。

VSMCにおける血管拡張の機序は、細胞内cAMP濃度の増加を介している。内皮非依存的血管拡張では、cAMP増加が生じることによって、プロテインキナーゼA（PKA）が活性化される。PKAはK^+チャネルをリン酸化して開口させ、Ca^{2+}隔離メカニズムを作動して平滑筋弛緩を引き起こす。内皮依存的血管拡張では、CGRPが内皮細胞上の受容体と相互作用し、一酸化窒素（NO）産生を亢進する。これは、cAMP蓄積や内皮NO合成酵素に対するPKAの直接作用によって媒介される。隣接細胞にNOが拡散することでグアニル酸シクラーゼが活性化し、血管緊張が低下する（Brain and Cambridge, 1996）。

CGRPは、強力な血管拡張作用を有する。このためCGRP-Rを阻害することで、理論的には全身血圧上昇のリスクの可能性がある（Brain et al, 1985）。CGRP含有線維は、通常、血管と密に関連しており（Uddman et al, 1986）、特に動脈血行においては、CGRPは血管作動性物質としての役割を担っている（Holzer, 1992)。外因性CGRPの投与は、脳血管、冠血管、腎血管などの複数の血管床において血管拡張を誘発した（Brain and Grant, 2004）。げっ歯類では、外因性CGRPの投与による血管拡張作用が選択的受容体拮抗薬BIBN4096BSによって顕著に阻害された（Tam et al, 2006）。CGRPの全身投与では、正常血圧ラット及び高血圧ラットにおいて血圧の低下が生じ、また、健康成人及び心血管系に疾患を有する患者においては血管拡張作用が認められている（Russell et al, 2014）。

しかし、ラット、ヒトなどの複数の動物種においてCGRP-R拮抗薬を用いた試験の結果から、CGRPは正常個体における全身血圧の生理的制御を関与しないことが示唆された（Russell et al, 2014）。健康成人では、telcagepant（低分子CGRP-R拮抗薬）は、末梢血行動態（Sinclair et al, 2010）、24時間携帯型血圧計による平均血圧及び心拍数（Blanchard et al, 2010）に影響せず、ニトログリセリン誘発性の血管拡張にも影響しなかった（Van der Schueren et al, 2008）。また、telcagepantをスマトリプタンと併用投与した場合、血圧上昇もみられなかった（Depre et al, 2013）。Telcagepant及びBIBN4096BSの前向きプラセボ対照臨床試験では、急性片頭痛患者のバイタルサインにおいて、健康成人と比較して臨床的意義のある差は認められなかった（Connor et al, 2011、Han et al, 2010、Ho et al, 2010、Connor et al, 2009及びIovino et al, 2004）。CGRPは心臓保護物質として機能するADM、キニン、ナトリウム利尿ペプチド、ウロコルチンなどの数多くの神経ペプチドのうちの1つに過ぎないことを認識することは重要である（Burley et al, 2007）。他の各種神経ペプチド及びパラクリン因子と比較したときのCGRPの血管拡張における相対的寄与については不明である。

エレヌマブの非臨床毒性試験では、血圧上昇作用は認められなかった。心血管系に特化したカニクイザル単回投与試験（第4項、113726試験）では、エレヌマブは、225 mg/kgまでの用量で血圧上昇を誘発しなかった。収縮期血圧、拡張期血圧、平均動脈圧（最大7 mmHg）及び脈圧（最大3 mmHg）の軽微な間欠的及び一過性の低下が225 mg/kgで認められた。これらの変化が間欠的かつ軽微であることを考慮すると、これらは生物学的に意義のある変化ではないと考えられた。ヒト摘出冠動脈を用いてエレヌマブの血管に対する作用の有無を検討し、その冠血管収縮作用についてスマトリプタンと比較することを目的として実施した*in vitro*試験では、エレヌマブは血管収縮張力を

変化させなかったが、スマトリプタンは近位及び遠位冠動脈を濃度依存的に収縮させた（モジュール2.6.6 第8.7.3項 121150試験）。

これらの結果と一致して、24時間携帯型血圧計による血圧測定などの臨床結果及び血圧値と血清中エレヌマブ濃度との曝露-反応解析において、エレヌマブ投与による収縮期及び拡張期血圧の上昇は認められなかった（20101268試験）。同様に、健康成人におけるエレヌマブとスマトリプタンの併用投与は、安静時血圧に対して、スマトリプタン単独と比較して臨床的意義あるいは相加的な作用を示さなかった。（20140255試験）。また、第II相試験と第III相試験を統合したデータでは、収縮期及び拡張期血圧の値並びに血圧上昇の有害事象の発現頻度において、エレヌマブとプラセボとの間で臨床的意義のある差はみられなかった（モジュール2.7.4）。

以上、CGRPは*in vivo*及び*in vitro*のいずれにおいても強力な血管拡張作用を示す（Brain and Grant, 2004の概説）。しかし、*in vitro*及び*in vivo*において、CGRP-R拮抗薬でCGRP-Rを薬理学的に阻害した結果、直接的な血管収縮はみられなかった（121150試験、Edvinsson et al, 2010、Verheggen et al, 2002）。また、開発中の複数のCGRP拮抗薬が、非臨床試験及び臨床試験のいずれにおいても血行動態に影響していないことから（113726試験、Walter et al, 2014、Depre et al, 2013）、正常個体の血管恒常性に対するCGRPの役割は低いことが示唆された。

3.3 CGRP受容体拮抗作用と血管収縮及び心臓虚血脆弱性との関連性

CGRPは血管拡張作用を有するため、CGRP-R阻害による理論的な心血管安全性リスクの一つは、特に冠循環において、虚血関連疾患ないし病態下で代償性血管拡張が低下することである。

心血管系におけるCGRP-R拮抗作用の関与について、*in vitro*、*ex vivo*及び*in vivo*動物モデルで数多く検討した。

ヒト摘出冠動脈及び頭蓋動脈を予め収縮させた*in vitro*試験では、低分子CGRP-R拮抗薬（telcagepant）による血管運動反応性（弛緩及び収縮）はみられなかったことから、CGRP-Rは血管張力に関与しないことが示唆された。一方、同モデルにおいて、ゾルミトリプタンによる血管収縮作用が認められた（Chan et al, 2010、Lynch et al, 2010、Edvinsson et al, 2010）。同様に、ヒト摘出近位及び遠位冠動脈において、エレヌマブによる血管運動反応性はみられなかったが、スマトリプタンでは血管収縮が誘発された（121150試験）。

マウス摘出心臓（Zhong and Wang, 2007、Wang and Wang, 2005）及びモルモット摘出心臓（Song et al, 2001）を用いた*ex vivo*試験では、CGRP-R拮抗薬$CGRP_{8-37}$によるCGRP-Rの阻害は、心機能及び虚血後の回復に影響しなかった。ラット摘出心臓を用いた試験では、広範囲の短期虚血（プレコンディショニング）時に冠流出液中のCGRP濃度が増加した。長期間の虚血及び再灌流を行う前に虚血プレコンディショニングを行うと、心機能は亢進した（左心室圧、冠血流量及び心拍数が改善した）が、この促進は選択的CGRP-R拮抗薬$CGRP_{8-37}$の前処理によって抑制された（Lu R et al, 1999）。同様に、ラットにおいて、生理学的濃度を大きく上回る外因性CGRPの投与は、プレコンディショニング様の心臓保護作用を誘発した（Chai et al, 2006）。マウス摘出心臓を用いた試験でも、プレコンディショニングは、CGRP（及びサブスタンスP）の放出を介して虚血性傷害に有益な効果を示した（Zhong and Wang, 2007）。しかし、臨床におけるプレコンディショニングの実在については確認

されておらず、非臨床で虚血プレコンディショニング処置によって得られた結果の臨床的意義は不明である。

種々の動物モデルを用いた*in vivo*試験により、心機能及び心臓虚血におけるCGRPの役割について検討した。ラットを用いた*in vivo*麻酔下虚血再灌流試験では、冠動脈閉塞（虚血）前又は再灌流時に薬理用量を大きく上回る外因性CGRPを持続投与すると、心筋梗塞サイズが顕著に減少した。しかし、虚血再灌流処置開始前のCGRP-R拮抗薬（BIBN4096BS：olcegepant）の投与は、虚血性梗塞サイズに影響しなかったことから、本試験における虚血状態での内因性CGRP放出は、心血管保護効果を示すほど十分ではないことが示唆された。この所見は、虚血再灌流処置前の外因性CGRPの静脈内投与がCGRP濃度を約8倍増加させたのに対し、本試験における虚血中の内因性CGRP放出量増加は約2倍であったという結果からも説明できる。このことから、薬理用量を大きく上回る用量のCGRPは心血管保護作用を示すが、内因性に放出されるCGRPの濃度は極めて低く、心血管保護作用を示すには不十分であることが示唆された（Wu et al, 2001）。無麻酔下においてテレメトリーを装着したイヌでは、ペプチド性CGRP-R拮抗薬$CGRP_{8-37}$による内因性CGRPの阻害は、全身及び局所血流量に影響しなかったが、外因性CGRPは局所血管床の顕著な血管緊張低下を誘発し、平均動脈血圧を低下させた（Shen et al, 2001）。この結果は、麻酔処置したラット（Arulmani et al, 2004）及びブタ（Kapoor et al, 2003）を用いた別の試験において、olcegepantでCGRP-Rを阻害したときに心筋血流量の変化はみられなかったことと一致する。拡張型心筋症を合併する心筋梗塞のイヌ心不全モデルでは、CGRP-R拮抗薬$CGRP_{8-37}$は心機能に影響しなかったが（Shen et al, 2003）、スマトリプタンは同様の試験において虚血重症度を悪化させ、反応性充血を低下させた（Lynch et al, 2009）。イヌを用いた急性局所心筋虚血（連続的な短期心房ペーシングと急性冠動脈狭窄の併用による）モデルでは、ペプチド性CGRP-R拮抗薬$CGRP_{8-37}$は、虚血重症度及び冠血流量に影響しなかった。また、外因性CGRPの投与は、冠血流量及び虚血重症度に影響しなかった。一方、セロトニンの冠動脈内投与では冠血管収縮が誘発され、虚血重症度が悪化したことから、この急性ペーシング／冠動脈狭窄モデルは臨床的意義のある機序によって生じる冠動脈血管痙攣に対する検出感度が高いことが示された（Regan et al, 2009）。この急性ペーシング／冠動脈狭窄イヌモデルにおいて、$CGRP_{8-37}$の全身投与は局所虚血重症度に影響しなかったことは、麻酔処置したイヌ試験において、外因性CGRPの投与は冠動脈微小血管を選択的に拡張したにも関わらず、冠動脈閉塞の前後に$CGRP_{8-37}$を投与しても急性心筋虚血中の冠微小血管径に影響しなかった結果（Sekiguchi et al, 1994）と一致する。また、麻酔処置したブタ（冠動脈構造がヒト心臓に最も類似する動物種）を用いた虚血再灌流試験では、外因性CGRPは血圧の低下を誘発し、虚血後の冠血流量を増加させたが、CGRP及び$CGRP_{8-37}$のいずれの投与によっても、冠動脈梗塞サイズは変化しなかった（Källner et al, 1998）。

以上、イヌ及びブタを用いて正常生理的状態及び心筋虚血状態の両条件下で実施した試験から、外因性CGRPの投与は血管緊張を低下させて血圧を低下させるが、内因性CGRPの阻害は冠動脈微小循環系に影響せず、全身及び局所血行動態にも影響しない（CGRP-R阻害中に血流量及び血圧の変化はない）ことが示された。また、動物モデルを用いた試験から、急性局所心筋虚血状態下で、CGRPは心臓保護において主要な役割を担わないこと、また、CGRP阻害は虚血重症度に影響しないことが示されている。数種の動物モデルにおいて、急性又は自然発症心筋虚血状態下ではなく、虚血性（冠動脈閉塞）プレコンディショニング処置を用いたときに、CGRPによる心臓保護作用が確

認された。これらの虚血プレコンディショニングモデルについて注意すべき重要な点は、臨床におけるプレコンディショニングの実在については確認されておらず、非臨床で虚血プレコンディショニング処置によって得られた結果の臨床的意義は不明であるということである（Napoli et al, 2000）。

Telcagepantの心血管系プロファイルを評価するために、健康成人及び片頭痛患者を対象とした数試験の臨床試験が実施されている。健康成人では、telcagepantは上腕動脈径及び大動脈増大係数（動脈硬化の測定）の測定値に影響せず、生体内では血管収縮作用はないことが示された（Van der Schueren et al, 2011）。また、CGRP-R拮抗薬BIBN4096BSは、健康成人の中大脳動脈径に影響せず、脳血流量も変化させなかった（Petersen et al, 2005）。

ECGを厳密にモニタリングしたプラセボ対照第I相試験では、安定した冠動脈疾患が確認された患者からなる小人数のコホートにおいて、300 mgの用量のtelcagepantを2時間間隔で2回投与し、24時間携帯型血圧計によるECGモニターで評価したところ、自然発症虚血の悪化はなく、また、忍容性はおおむね良好であった（Behm et al, 2011）。冠動脈疾患及び片頭痛を有する被験者を対象として、片頭痛緩和のためにtelcagepant又はプラセボを投与した、より大規模な試験（n = 165）では、telcagepant投与14日以内に心血管の血栓性の有害事象は認められなかった（Ho et al, 2012）。

再現性のある運動時間を示す安定狭心症患者を対象としたトレッドミル運動試験では、telcagepantはヒトで用いられた用量の140 mgを大きく上回る用量で運動耐容性を低下させないことが明らかとなった（Chaitman et al, 2012）。このことから、telcagepantは直接的な血管収縮作用を示さないことに加えて、冠血管拡張能も低下させないことが示唆された。したがって、健康成人又は冠動脈疾患を有する患者において、CGRP-R拮抗作用は冠・脳血管系に検出可能な変化をもたらさなかった。

臨床試験の結果、エレヌマブによる心血管への影響によるリスクはみられなかった。Telcagepantの試験と同様に、再現性のある運動時間を示す安定狭心症患者を対象としたトレッドミル運動試験から、エレヌマブはプラセボと比較して総運動時間に有意差を示さないことが明らかとなった（20140254試験）。また、第II相試験と第III相試験の結果を統合した綿密な心血管リスク評価では、心血管安全性の問題となるリスク及びその可能性の増加は認められなかった（モジュール2.7.4）。

3.4 CGRP受容体拮抗作用が骨代謝に影響する可能性

骨におけるCGRPの役割は十分に明らかではない。ラットでは、CGRP陽性ニューロンが海綿骨で検出されており、また、分化過程にある骨芽初代培養細胞はCGRP-Rを発現する。このため、CGRPは骨代謝において役割を有している可能性があるとの仮説が立てられている（Irie et al, 2002）。卵巣摘出ラットにCGRPを投与すると、卵巣摘出による骨量低下が部分的に抑制された（Valentijn et al, 1997）。*In vitro*ではCGRPは、ヒト歯髄細胞において骨形成タンパク質2（BMP2）の発現を誘発することが示された（Calland et al, 1997）。しかし、α-CGRPノックアウトマウスでは、軽度の骨減少のみが認められたに過ぎなかった（Schinke et al, 2004）。骨においてはCGRP及びAMYに特異的な受容体が別々に存在するという仮説があったが、共通の受容体でありCGRPよりもAMYに対して非常に高い親和性を有するという報告がある。（Cornish et al, 1999）。カニクイザルを用いた反復投与慢性毒性試験では、インタクトオステオカルシン（OC）、骨型アルカリ性ホスファターゼ（BAP）、インタクトI型プロコラーゲン-N-プロペプチド（P1NP）、I型コラーゲン-C-テロペプチ

ド（CTx）、I型コラーゲン-N-テロペプチド（NTx）などの骨形成及び骨吸収バイオマーカーを評価した。エレヌマブを最高150 mg/kgまでの用量で週2回、最長6カ月間、皮下（SC）投与したところ、同時対照及び投与前値と比較して、骨形成マーカー（OC、BAP及びP1NP）値及び骨吸収マーカー（CTx及びNTx）値に影響はなかった。また、骨の病理組織学的変化もみられなかった（モジュール2.6.6 第3.3項 113732試験）。さらに、拡充型出生前及び出生後の発生に関する試験（ePPND）では、放射線検査において出生児の骨格所見に変化はみられなかった（モジュール2.6.6 第6.1項 113734試験）。

健康成人及び片頭痛患者を対象にエレヌマブの安全性、忍容性、薬物動態及び薬力学を評価する無作為二重盲検プラセボ対照漸増反復投与第I相試験（20101268試験）において、骨代謝回転バイオマーカーのP1NP及びCTxに対するエレヌマブの作用を評価した。その結果、エレヌマブ 140 mg群とプラセボ群の間で統計学的に有意なP1NP増加がみられたが、1回の測定時点（健康成人で29日目にP = 0.045、片頭痛患者で15日目にP = 0.014）のみであった。この1回の測定時点でのP1NP増加は、統計学的に有意であったものの、臨床的意義はないと考えられた。また、他の測定時点でP1NP増加は認められず、P1NP濃度を測定した他のいずれの測定時点でも、エレヌマブ群とプラセボ群との間に有意差はみられなかった。なお、CTx濃度の投与前値からの変化量において、エレヌマブ群とプラセボ群との間に統計学的な有意差はなかった。全体として、健康成人及び片頭痛患者における骨代謝回転バイオマーカーのP1NP及びCTxの投与前値からの変化量に、エレヌマブ群とプラセボ群との間で臨床的意義のある差はみられなかった（モジュール2.7.4）。

3.5 CGRP受容体拮抗作用が胃粘膜完全性に影響する可能性

CGRPの胃損傷保護作用の機序として、ソマトスタチンによる胃液分泌阻害作用及び直接的な血管拡張作用を介した粘膜充血など、いくつかの機序が推察されている（Evangelista, 2009）。外因的に胃酸分泌を亢進したラットモデルでは、内因性CGRPは胃酸分泌を低下させ（Taché et al, 1984）、CGRP拮抗薬の静脈内投与はCGRPの胃酸分泌阻害作用を抑制した（Saeki et al, 2000）。CGRPによる胃粘膜血流量の制御は、胃粘膜保護及び修復機序の1つであると考えられている。ラット及びマウスでは、低用量CGRPの末梢投与は、実験的に誘発した胃潰瘍を改善することが示されている（Clementi et al, 1993、Ohno et al, 2008）。CGRPファミリーの他のメンバー（ADM及びAMY）を含む多くのペプチドは胃粘膜保護を促進することが報告されていることから（Taché, 2012）、共力的かつ重複性の機序及び経路が複数存在すると考えられる。これに対して、CGRPは腸炎症に関与し、運動性障害を誘発するとの仮説が立てられており、低分子CGRP-R拮抗薬はマウスの炎症を抑制し、胃運動性を回復させることが示された（Glowka et al, 2015）。エレヌマブの最長6カ月間の非臨床反復投与毒性試験では、消化器系関連の一般状態の変化及び病変はみられなかった（モジュール2.6.6 第3項）。

これらの結果と一致して、臨床試験において、消化器系炎症及び潰瘍のリスクの増加はみられなかった。臨床試験で認められた消化器系関連有害事象で、エレヌマブに関連すると考えられる有害事象は、軽度から中等度の便秘のみであった（モジュール2.7.4）

3.6 正常妊娠時に推定されるCGRPの役割

CGRP及びCGRP-Rは、ヒト母体及び胎児・胎盤組織において確認されている（Dong et al, 2004）。ヒトでは、妊娠中に循環血中CGRP濃度が増加する。しかし、ラットでは妊娠中に後根神経節における発現増加が認められた（Lanlua et al, 2001）が、ヒトでの循環血中CGRPの正確な起源については未だ不明である（Stevenson et al, 1986）。妊娠に伴う子宮胎盤血流量の増加及び子宮血管抵抗の低下がみられており（Roberts, 1989、Magness, 1998）、CGRPは、強力な血管拡張物質として機能的に重要である可能性が推察されている。また、正常血圧妊婦から得られた胎盤の血管組織及び栄養膜において、CGRP-R発現の低下が示された（Dong et al, 2004）。ニトロ-L-アルギニンメチルエステルで子癇前症を誘発した妊娠ラットにおいて、妊娠17日目から分娩後2日目までCGRPを持続投与した結果、妊娠中の血圧は低下し、胎児の成長及び生存率が改善された（Yallampalli et al, 1996）。これに対して、妊娠ラットに妊娠17日目から20日目までCGRP-R拮抗薬$CGRP_{8-37}$を持続皮下投与した結果、血圧上昇、胎児体重減少及び出生児の死亡率上昇がみられた（Gangula et al, 2002）。このような状態は、正確な生理的状態を表すものではないと考えられ、興味深いことに、α-CGRPノックアウトマウスでは受胎能及び生存能も確認され、正常同腹児の発生もみられた（Lu et al, 1999）。また、最近の所見では、妊娠中におけるADMの役割はCGRPよりも顕著であることが確認されている。ヒトでは、母体血漿中ADM濃度は正常妊娠期間中に増加し、非妊婦と比較して、妊娠末期までに最高4～7倍となるが（Senna et al, 2008）、母体血漿中ADM濃度の低下は妊娠転帰不良と関連していた。血漿中ADM及び妊娠合併症の試験と一致して、妊婦1353人の遺伝子タイピングを行った試験では、ADM及びそのシグナル伝達成分の遺伝子変異体が妊娠転帰不良と関連することが示された（Lenhart et al, 2014）。カニクイザルを用いたエレヌマブのePPND試験（モジュール2.6.6 第6.1項 113734試験）において、エレヌマブに関連する所見はみられなかった。

3.7 CGRP及びCGRP受容体拮抗作用の呼吸恒常性への影響

CGRPは気道全体にわたる知覚神経線維に存在し、肺における血管緊張の制御に関与しており、また、肺では、CGRP-Rが肺静脈において多く存在する（McCormack et al, 1989）。低酸素肺高血圧症ラットにCGRPを投与すると、慢性低酸素肺高血圧症の発症が抑制され（Keith, 2000）、これは、CGRPの血管拡張作用によるものと考えられた。CGRPは気道機能並びに気管支過敏症及び喘息の発現機序において重要な作用を有する可能性がある（Palmer et al, 1987）。しかし、CGRPは*in vitro*でヒト及びモルモットの気道を収縮及び弛緩しなかった（Cadieux et al, 1999）。α-CGRPノックアウトマウスでは抗原誘発性の気道過敏症（AHR）が軽減されたが（Aoki-Nagase et al, 2002）、アレルゲンを投与して感作させたマウスへのCGRP拮抗薬の投与は、AHR及び気道炎症の発症を抑制しなかったことから、CGRPはAHRを仲介しないことが示唆された（Dakhama et al, 2002）。また、喘息患者から得られた気管支組織を検討した試験では、CGRP発現の増加は認められなかった（Howarth et al, 1995、Chanez et al, 1998）。全体として、呼吸恒常性におけるCGRPの役割は不明である。カニクイザルを用いたエレヌマブの非臨床毒性試験（モジュール2.6.6 第3項 113724及び113732試験）では、呼吸困難に関連する一般状態の変化及び病理組織学的変化はみられなかった。また、テレメトリー装着カニクイザルを用いた単回投与試験においても、呼吸数の変化はみられな

かった（第4項、113726試験）。これらの結果と一致して、臨床試験においてもエレヌマブ投与による急性気道感染症や喘息のような慢性状態などの気道疾患はみられなかった（モジュール2.7.4）。

3.8　CGRP受容体拮抗作用とがん原性リスクとの関連性

エレヌマブは、げっ歯類において生物学的活性を示さないモノクローナル抗体であるため、がん原性リスクを評価する非臨床試験はエレヌマブには適用されないことから、これらの試験は実施しなかった。エレヌマブはカニクイザルにおいて生物学的活性を示すが、本動物種はがん原性リスク評価に適切なモデルではない。また、CGRP拮抗作用と悪性腫瘍の関連性を示す直接的証拠はない。CGRP-R拮抗作用の発がん性の可能性については、ノックアウトモデルの免疫機能、細胞増殖及び表現型特徴に対するCGRPの影響についての包括的なレビューを含め、以下に示す。本レビューから、エレヌマブの長期臨床使用によるがん原性リスクはないと結論付けられた。

3.8.1　CGRPの免疫機能に対する影響

免疫系とがんとの間には複雑な関係がある。免疫系は宿主をがんから防御するという概念は、Burnet（Burnet, 1970）によって確立され、さらに最近ではDunnらによって、各種免疫不全動物の化学誘発及び自然発症がん実験モデルに基づいて詳細に報告されている（Dunn et al, 2002）。

一方、腫瘍及び腫瘍ウイルス免疫監視機構は、NK細胞、骨髄樹状細胞、CD4陽性ヘルパーT細胞、CD8陽性細胞傷害性T細胞及びナチュラルキラーT（NKT）細胞が主要サイトカイン及び伝達物質（インターフェロン［IFN］-γ、パーフォリンなど）との協力のもとで主力として働く（Schreiber et al, 2011、Vesely et al, 2011）。これに反して、特定の免疫制御成分は、末梢忍容性を維持するように、又は宿主を保護する炎症反応を抑制するように変化することが多く、がんでは機能が損なわれて、腫瘍免疫を抑制する場合がある（多くは腫瘍に感作されたマクロファージ、形質細胞様樹状細胞、制御性T細胞など）（Chaput et al, 2008、Menen et al, 2012、Sisirak et al, 2012、Demoulin et al, 2013、Bleckmann et al, 2015）。

現在のがん治療法は、樹状細胞及び腫瘍特異的エフェクターT細胞の促進を介した抗腫瘍獲得免疫応答の増強に依存する療法である。腫瘍微小環境の評価では、腫瘍浸潤及び長期生存において、これらの細胞との正の相関が示されている（Galon et al, 2006、Pardoll, 2012、Bindea et al, 2014）。この点から、CGRPで考えられる免疫系不均衡に関連する潜在的がんリスクについて以下に示す。

末梢神経系は、疼痛反射を伝達する知覚神経を介してリンパ器官とつながっており、CGRPのような神経ペプチドの放出を介して免疫応答に影響する可能性がある。CGRPを含有する知覚神経が一次及び二次リンパ器官で検出されており、ここで、マクロファージ、組織肥満細胞及びランゲルハンス細胞と直接接触していると考えられる（Holzmann, 2013bの概説）。炎症反応中に、局所及び全身のCGRP濃度は急速に上昇する。例えば、腹膜炎性敗血症ハムスターモデルでは、過剰なサイトカイン産生を制御する手段として、CGRP発現が組織特異的な制御から全身性発現に変わると考えられている（Domenech et al, 2001）。また、ラット敗血症モデルでは、血漿中CGRP濃度はバクテリアエンドトキシン投与後30分で4倍、3時間で22倍に上昇した（Wang X et al, 1992）。CGRPは先天性及び適応性免疫の負の制御因子であり、炎症性疾患における組織損傷を抑制し、創傷治癒を促進

する（Holzmann, 2013a）。以上をまとめると、これらのCGRPの活性は、炎症から創傷治癒過程への移行を制御し、宿主を炎症性損傷から防御するものである。

知覚神経の他には、CGRPはヒトB細胞（Bracci-Laudiero et al, 2002）、T細胞（Wang et al, 2002）、単球（Bracci-Laudiero et al, 2005）などの活性化した免疫細胞によっても産生される可能性がある。分子レベルでは、CGRP-Rはランゲルハンス細胞、樹状細胞、マクロファージ、CD34陽性造血前駆細胞などの種々の免疫細胞で発現すると考えられており、また、機能的反応によりリンパ球で発現されると推察される（Holzmann, 2013b）。

CGRPは、先天性及び適応性免疫細胞に対して数多くの抗炎症作用を示す。表 5に要約したように、各種*in vitro*及び*in vivo*モデルにおいて、CGRPは先天性及び適応性免疫細胞による炎症性サイトカイン及びケモカイン（腫瘍壊死因子［TNF］α、インターロイキン［IL］-1β、IL-2、IL-12など）を下方制御し（Wang F et al, 1992、Fox et al, 1997）、抗原提示を低減させ（Fox et al, 1997）、NK細胞の細胞溶解活性を低下させ（Umeda and Arisawa, 1989）、樹状細胞及び単球の共刺激受容体CD86の発現を減少させる（Carucci et al, 2000、Bracci-Laudiero et al, 2005）。CGRPは、単球、マクロファージ及び樹状細胞による抗炎症サイトカインIL-10産生も刺激する（Fox et al., 1997、Matsuda et al, 2012、Jusek et al, 2012）。*In vitro*でのこれらの所見の多くは、*in vivo*での生理的状態に置き換えて解釈することが困難である。例えば、*in vitro*でのリンパ球増殖及び抗原提示は100 ng/mLのCGRPで阻害されたが（Fox et al, 1997）、健康成人及び片頭痛患者における循環血漿中CGRP濃度はそれぞれ約50及び約75 pmol/Lであると示されている（Ashina et al, 2000）。CGRPは、転写抑制因子である誘導性cAMP初期転写抑制因子（inducible cAMP early repressor、ICER）を上方制御する（細胞内cAMP増加によって）ことで、各種炎症性サイトカインの転写を抑制し、T細胞機能を低下させる（Bodor et al, 1996、Bodor et al, 2001、Harzenetter et al, 2007）。

表 5　免疫細胞に対するCGRPの抗炎症作用

Cell type	Activities	References
CD4+ T cells, thymic T cells	↓ IL 2, TNFα and IFNγ production, Concanavalin A stimulated proliferation ↑ IL 4 production, Concanavalin A stimulated apoptosis	(Wang F et al, 1992; Kawamura et al, 1998; Tokoyoda et al, 2004)
Monocytes	↓ Antigen presentation, CD86 expression, IL 12 production ↑ IL 10 production	(Fox et al, 1997)
Macrophages	↓ CD86 expression, IL 1β and TNFα production ↑ IL 10 production	(Torii et al, 1997; Gomes, et al, 2005; Jusek et al, 2012)
Monocyte-derived dendritic cells	↓ Antigen presentation, CD86 expression, HLA DR expression	(Carucci et al, 2000)
Bone marrow derived dendritic cells	↓ CCL2, CCL4, CCL12 and TNFα production ↑ ICER expression	(Harzenetter et al, 2007; Altmayr et al, 2010; Mikami et al, 2014)
Langerhans cells	↓ Antigen presentation, elicitation of delayed type hypersensitivity, CD86 expression, IL 1β, T_H1 cell cytokine production, decreased migration following activation ↑ IL 4, IL 10 production, T_H2 cell cytokine production	(Hosoi et al, 1993; Asahina et al, 1995b; Asahina et al, 1995c; Torii et al, 1997; Ding et al, 2007; Ding et al, 2008; Mikami et al, 2011)
Splenic dendritic cells	↓ Elicitation of contact hypersensitivity ↑ IL 10 production	(Kitazawa and Streilein 2000)
NK cells	↓ Cytolytic activity	(Umeda and Arisawa 1989)

CCL = chemokine (C C motif) ligand; CD = cluster of differentiation; ICER = inducible cAMP early repressor; HLA-DR = human leukocyte antigen – antigen D-related; IFN = interferon; IL = interleukin; T_H1 = T helper cell type 1; T_H2 = T helper cell type 2; TNF = tumor necrosis factor

CGRPは、機能的には1型ヘルパーT細胞（T_H1）応答を抑制し、樹状細胞における遅延型過敏症及び接触性過敏反応を抑制し、皮膚ランゲルハンス細胞の活性化による流入領域リンパ節への遊走を阻害する（Asahina et al, 1995a、Asahina et al, 1995c、Ding et al, 2007、Ding et al, 2008）。マウスにおけるCGRPの投与は、各種炎症伝達物質による皮膚炎症及び浮腫形成を阻害した（Clementi et al, 1994、Kitazawa and Streilein, 2000）。

数種のモデルにおいて、CGRPは、2型ヘルパーT細胞（T_H2）介在性の接触過敏症並びにCD4陽性T細胞及びランゲルハンス細胞によるサイトカイン（IL-4など）産生を促進する（Ding et al, 2008）。T_H2応答は多くの場合、局所的には「抗炎症性」と考えられているが、T_H2免疫は、寄生虫感染からの隔離のために必要な創傷治癒反応を維持するように変化し、宿主を蠕虫（及び他の後生動物）から防御する（Allen and Wynn, 2011、Allen and Sutherland, 2014）。また、寄生虫感染中は、T_H2介在性応答は、IgE及びIgG1へのB細胞クラススイッチの基礎にもなっている（Harris and Gause, 2011、Vitale and Pucillo, 2012）。このように、T_H2介在性応答が変化すると、蠕虫に対する宿主防御が減弱し、B細胞クラススイッチ及び抗体産生が影響を受ける可能性がある。

宿主防御における免疫の役割とは対照的に、消散していない慢性炎症は局所腫瘍イニシエーションを促進し、腫瘍は炎症を引き起こして、腫瘍の増殖及び拡散を許容する環境を構築する（Mantovani et al, 2008、Balkwill et al, 2005）。特に、炎症性サイトカイン及びケモカインは、腫瘍細胞に直接作用して腫瘍の生存性、増殖及び転移を促進し、間接的に作用して血管新生、マトリックスリモデリング及び転移を促進する（Tan and Coussens, 2007、Coussens and Werb, 2002、Balkwill et al, 2005）。この点から、CGRP拮抗作用は、理論的には既存の局所炎症を悪化させ、消散していない慢性炎症は、背景にあるがん原性リスクを高める可能性がある。しかし、基礎疾患の炎

症は臨床での管理が必要とされる可能性が高く、その管理によって、がん原性リスクが低下すると考えられる。

全体的に考慮すると、CGRPは、炎症状態下において樹状細胞、単球、マクロファージ、NK細胞及びT細胞に対して広範な抑制性の主要活性を示し、概して炎症を下方制御又は回復するように働く。樹状細胞、NK細胞及びT細胞は腫瘍免疫機構の一次伝達物質としての役割を有することを考慮すると、CGRP-R阻害は、理論的には、これらの細胞に対する阻害作用を軽減すると予想され、抗腫瘍免疫応答を正常化又は増強すると考えられる。そのような場合に、CGRP-R阻害薬の使用が腫瘍免疫機構を減弱するとは推察されず、がん原性リスクは増加しないと考えられる。

3.8.2 CGRP：細胞増殖とがん

*In vitro*において、CGRPは、マイトジェン活性化タンパク質キナーゼファミリーを活性化することによって細胞増殖を亢進させた（Kawase et al, 2005）。CGRPはヒト肺胞上皮細胞の増殖を亢進させたが、$CGRP_{8-37}$（受容体拮抗薬）はCGRPで誘発される増殖を低下させた（Kawanami et al, 2009）。CGRPはヒト前立腺がん由来細胞の浸潤性を高め（Nagakawa et al, 2001）、げっ歯類シュワン細胞では分裂促進因子の反応を制御することによって*in vitro*で増殖を刺激し（Cheng et al,1995）、培養げっ歯類平滑筋細胞では増殖及び分化を変化させた（Connat et al, 2001）。

数種のヒト腫瘍及び腫瘍由来細胞株を用いて、CGRP-R成分の発現及びCGRP活性について検討した。RAMP1 mRNAの発現は、良性及び悪性褐色細胞腫（Thouënnon et al, 2010）、Conn腺腫（Forneris et al, 2001）及び膵臓がん（Ramachandran et al, 2007）で認められた。免疫組織化学的検査及びmRNA試験では、小細胞肺がん（Kelley et al, 1994）、前立腺がん（Suzuki et al, 2006）、乳がん（Papantoniou et al, 2007）、甲状腺がん（Pacini et al, 1992）などの特定のがんから得られた血漿及び腫瘍のいずれにおいても、CGRP発現の増加がみられた。しかし、がんにおけるCGRP-R及びそのリガンドの機能的意義については不明である。例えば、前立腺がんでは、患者の血清中CGRP濃度は顕著に高かったが、CGRP濃度と血清中前立腺特異抗原値との明らかな関連性はみられなかった（Suzuki et al, 2006）。

腫瘍を移植したCGRPノックアウトマウスモデルでは、野生型（WT）対照マウスと比較して、腫瘍容積及び血管新生の低下を示した。また、WTマウスにCGRP-R拮抗薬（$CGRP_{8-37}$）を持続投与し、CGRPノックアウトモデルと模倣させた場合、移植腫瘍の血管新生が低下（腫瘍間質における血管内皮増殖因子の発現が減少）し、腫瘍増殖が抑制された（Toda et al, 2008）。

全体として、大半の知見から、CGRPはがん原性の促進に関与する可能性があり、CGRPの機能的阻害にはがん原性リスクはないか、又は抗腫瘍性であることが示唆される。

3.8.3 CGRP及びCGRP受容体欠損マウス

CGRP欠損による直接的ながん原性のリスク又はホルモン制御や免疫機能の変化を介した間接的な影響の有無を確認することを目的として、各種マウスCGRPノックアウトモデルの包括的な評価を実施した。各種マウスCGRPノックアウトモデル及びそれらの表現型の特徴を表 6に示す。

表 6　各種マウスノックアウトモデルにおけるCGRP欠損の影響

Knockout	Phenotype	References
αCGRP	Attenuation of antigen induced bronchial hyper responsiveness in four week old CGRP deficient mice, possibly mediated by reduced production of cysteinyl leukotrienes. No effect on eosinophils was observed.	(Aoki-Nagase et al, 2002)
αCGRP	By six-months of age, CGRP deficient mice develop osteopenia, attributed to reduced bone formation rate in the absence of CGRP.	(Schinke et al, 2004)
αCGRP	Eight- to 12 week old CGRP deficient mice have elevated basal blood pressure and heart rate, associated with increased peripheral vascular resistance. Using atropine and/or atenolol challenge, CGRP deficient mice demonstrated elevated sympathetic nervous activity.	(Oh-hashi et al, 2001)
αCGRP	Adult CGRP deficient mice have attenuated response to chemical pain and inflammation and decreased morphine or nicotine withdrawal signs (but not changes in heroin self administration or morphine tolerance).	(Salmon et al, 2001; Salmon et al, 2004)
αCGRP	In CGRP deficient mice up to 12 weeks of age, no obvious developmental phenotypic differences seen versus WT littermates, including cardiovascular or neuromuscular function in response to challenge testing.	(Lu JT et al, 1999)
αCGRP/ calcitonin	Increased blood pressure and mean arterial pressure found were attributed to loss of ability to moderate vasodilation.	(Gangula et al, 2000)
αCGRP/ calcitonin	αCGRP/calcitonin deficient adult mice demonstrated reduced inflammation associated pain (secondary hyperalgesia) in a model of knee joint arthritis, and in response to heat.	(Zhang et al, 2001)
Calcitonin receptor-like receptor	Inducible deletion (in 3- to 4 month old adult mice) results in a spectrum of lymphatic alterations similar to clinical lymphangiectasia affecting the eye, intestines, and peripheral tissues. Widespread edema and increased lymphatic permeability with no apparent effect on blood vascular permeability. Effect attributed to loss of adrenomedullin/calcitonin receptor like receptor signaling in lymphatic endothelium.	(Hoopes et al, 2012)
Calcitonin receptor-like receptor	Embryonic death between GD13.5 14.5. Embryos develop severe interstitial fluid accumulation and systemic edema, cardiac defects (eg, thin vascular smooth muscle walls, disorganized hearts) demonstrating a role for this gene in cardiovascular development.	(Dackor et al, 2006)
RAMP1	Ten week old RAMP1 deficient mice demonstrated impaired wound healing and wound induced angiogenesis/lymphangiogenesis, accompanied by reduced VEGF expression.	(Kurashige et al, 2014)

CGRP = calcitonin gene-related peptides; GD = gestation day; RAMP = receptor activity modifying protein; VEGF = vascular endothelial growth factor; WT = wild type

CGRP-Rと各種リガンドとの関係は複雑であるため（表 6）、CGRP阻害のみを代表するノックアウトモデルはない。α-CGRP及びCTの両ペプチドは*Calca*遺伝子の選択的スプライシングによって生成されるため、同遺伝子のノックアウトはα-CGRPのみではなく、CTも欠損する。しかし、CT遺伝子を欠損しないα-CGRPノックアウトマウス（エクソン5内CGRPコード領域前の特定部位変異をオリゴヌクレオチドで誘発して作製）は、CGRP欠損表現型の理想的なモデルである。β-CGRPの発現及び活性は、異なる遺伝子によってコードされるため、*Calca*遺伝子又はα-CGRPノックアウトのいずれにも影響を受けないことに留意することは重要である。RAMP1欠損は特定のCGRP-Rのヘテロ二量体化及び生成を妨げるが、RAMPはクラスII及びIIIの他のGPCRともヘテロ二量体を形成し、他の多くのリガンドの機能喪失をもたらす。これは、CLR受容体ノックアウトについても同様である。

CGRPノックアウトマウス（インタクトCT）は、発生過程で明らかな表現型変化を示さないが（Lu JT et al, 1999）、6カ月齢までに軽度の骨減少症を発症する（Schinke et al, 2004）。この表現型が6カ月齢で観察されるという事実から、CGRPは骨の成長や増殖ではなく、骨リモデリングに関与することが示唆される。CGRPは神経原性血管拡張物質としての役割を有することと一致して、マウスにおけるCGRPノックアウトによって、末梢血管抵抗の変化、基礎血圧の上昇、疼痛知覚閾値の低下及び卵白アルブミン抗原誘発気管支過敏性反応の低下がみられている（Oh-hashi et al, 2001、

Salmon et al, 2001、Aoki-Nagase et al, 2002、Salmon et al, 2004）。CGRPノックアウトマウスの自然発生腫瘍について、特定の評価がされているかは不明である。しかし、CGRPノックアウトマウスの生存期間は最長18カ月であり（Huebner et al, 2008）、慢性炎症を示唆する表現型の特徴はみられず、また、これらの動物モデルにおいて過形成及び腫瘍形成を示唆する所見もみられていない。さらに、*Calca*遺伝子ノックアウトマウスでの評価では、測定が血清中上皮小体ホルモン、レプチン及びエストラジオールに限られているものの、主要な内分泌ホルモン欠損はみられなかった（Huebner et al, 2008）。

CT/CGRPノックアウトマウスは、1及び3カ月齢での海綿骨形成の亢進などの、骨形成亢進によると考えられる卵巣摘出後の骨量は維持される（Hoff et al, 2002）。その後、α-CGRP/CTノックアウトマウスとα-CGRPノックアウトマウスで加齢に伴う影響を直接比較したところ、骨に対する影響はCT反応性の低下に起因しており、CGRPノックアウトには起因しないことが示された（Hoff et al, 2002、Huebner et al, 2008）。

CGRP-R成分（CLR又はRAMP1）をノックアウトマウスも作製されている。CLRノックアウトマウスは重度の心血管発生形態異常を示し、妊娠14.5日目までに胚吸収となる（Dackor et al, 2006）。成熟マウスにCLR欠損を誘発すると、リンパ内皮におけるADM/CLRシグナル伝達の低下に起因した浮腫及びリンパ透過性亢進を来した（Hoopes et al, 2012）。対照的に、RAMP1ノックアウトマウスでは、創傷治癒における血管及びリンパ発生の変化並びにVEGF遺伝子発現減少を伴う創傷治癒の障害が確認された（Kurashige et al, 2014）。RAMPはクラスII及びIIIの他のGPCRとも二量体を形成するため、この表現型はCGRP機能の低下のみに起因するものではない。

以上、CGRPノックアウトマウスのがん原性を対象とした特定の試験はなかった。しかし、CGRPノックアウトマウス（α-CGRP及び*Calca*遺伝子ノックアウトの両方）は、生存率が正常であり、主要内分泌の異常はなく、慢性炎症を示唆する表現型の特徴もみられなかった。また、これらのモデルにおいて、過形成及び腫瘍形成を示唆する所見はみられなかった。

結論として、CGRPと悪性腫瘍の関連性を示す直接的証拠はない。CGRPは主に神経原性血管拡張物質として作用するが、樹状細胞、単球、マクロファージ、NK細胞及びT細胞に対して広範な抑制性の活性を示し、炎症の下方制御又は回復も行う。腫瘍免疫監視機構はこれらの細胞が支配していることを考慮すると、CGRP阻害は先天性及び適応性免疫を増強又は正常化する可能性があり、腫瘍免疫監視機構を障害しないと考えられる。実験的に、腫瘍移植CGRPノックアウトマウスは、腫瘍容積減少及び血管新生低下を示した。この動物モデルにおいて、過形成及び腫瘍形成を示唆する結果はみられなかった。

4. 安全性薬理

4.1 無麻酔テレメトリー装着雄カニクイザルにAMG 334を皮下投与し、呼吸数及び神経行動学的評価を行った、心血管系に関する単回投与試験（113726試験）

心血管系評価項目、呼吸数及び神経行動学的検査におけるエレヌマブの影響について、テレメトリー装着カニクイザルを用いて検討した。Day 1に、各動物に溶媒対照を皮下投与し、Day 8にはエレヌマブを25又は225 mg/kgの用量で投与した（n = 6/用量）。

心電図、血圧、呼吸数及び腹腔内体温の測定値は、投与の少なくとも90分前及び投与後は72時間後まで連続的に記録した。投与後約143時間から測定を再び開始し、投与後少なくとも164時間まで連続的に測定した。定性的な心電図評価では、各動物の1~1.5分間の連続心電図記録を投与前及び投与後24、36、48、60、72、144及び156時間に測定した。血行動態パラメータ（動脈圧波形からの心拍数、収縮期動脈圧、拡張期動脈圧、平均動脈圧）、呼吸数及び腹腔内体温を測定した。すべての動物は投与前（投与前日）並びにDay 4及びDay 11におけるテレメトリーによるデータ測定後（投与約72時間後）に、訓練を受けた技術者が神経行動学的影響を評価した。

エレヌマブに関連する不整脈及びECG波形の変化はみられなかった。エレヌマブに関連するQRS間隔及びQTc間隔の変化はみられなかった。PR間隔の変化は、高用量である225 mg/kgで4 msを超えなかった。このわずかな増加は心拍数の一貫した変化とは関連しておらず、心機能に影響を及ぼさないと考えられる（Bergenholm, 2017）こと、また、変化の程度が小さかったことから、生物学的意義はないと考えられた。収縮期血圧、拡張期血圧、平均動脈圧（最大7 mmHg）及び脈圧（最大3 mmHg）の軽微な間欠的及び一過性の低下が225 mg/kgで認められた。これらの変化が間欠的かつ軽微であることを考慮すると、これらは生物学的に意義のある変化ではないと考えられた。したがって、PR間隔、心拍数及び血圧に生物学的意義のある変化はみられず、体温、呼吸数及び神経行動学的検査においてもエレヌマブに関連する変化はみられなかった。

エレヌマブはモノクローナル抗体であり、hERGイオンチャネルと相互作用しないと考えられるため、エレヌマブのhERGイオンチャネル電流阻害作用の有無については検討しなかった（Vargas et al, 2013）。

5. 薬力学的薬物相互作用試験

エレヌマブの機序から、薬物-薬物相互作用はないと考えられたため、特定の非臨床薬物相互作用試験は実施しなかった。

6. 考察及び結論

*In vitro*試験から、エレヌマブはヒトCGRP-Rの強力な拮抗薬であることが確認された。エレヌマブにはアゴニスト活性はなく、CGRP-Rファミリーの他の受容体よりもCGRP-Rに対して選択性が高い。エレヌマブは、カニクイザルCGRP-Rの強力な拮抗薬でもあるが、イヌ及びウサギのCGRP-Rへの結合親和性は1/10000未満であり、ラットCGRP-Rでの機能活性はほとんどない。カニクイザルを用いた薬理試験では、エレヌマブの静脈内注入は、3 mg/kg以上の用量でCAP誘発DBF増加に対して、顕著な、最大の阻害作用を示したことから、エレヌマブによって標的CGRP-Rが完全に阻害されることが示された。正常生理的状態下及び心筋虚血状態下の動物モデルを用いた試験、健康成人及び片頭痛患者を対象とした臨床試験から、内因性CGRPの阻害は全身及び局所血行動態に影響せず、虚血脆弱性を悪化させないことが確認された。安全性薬理試験において、エレヌマブに関連する所見はみられず、また、エレヌマブはCGRP-R拮抗作用によって血管収縮を誘発しない。CGRP-R拮抗作用と悪性腫瘍の関連性を示す直接的証拠はない。ノックアウトモデルの免疫機能、細胞増殖及び表現型特徴に対するCGRP及びCGRP拮抗作用の影響についての包括的なレビューに基づき、エレヌマブの長期臨床使用によるがん原性リスクはないと結論付けられた。

結論として、エレヌマブは強力かつ選択的なCGRP-R拮抗薬である。エレヌマブはカニクイザルにおいてヒトと同程度の*in vitro*活性を示し、また、薬力学的試験において完全な標的阻害作用を示したことから、非臨床安全性評価にカニクイザルを使用することの妥当性が裏付けられた。CGRP-R拮抗作用は血行動態を変化させないことから、CGRP-R拮抗作用にはがん原性リスクはないことが示唆された。

7. 参考文献

Allen JE and Sutherland TE. Host protective roles of type 2 immunity: Parasite killing and tissue repair, flip sides of the same coin. *Semin Immunol.* 2014;26:329-340.

Allen JE and Wynn TA. Evolution of Th2 immunity: a rapid repair response to tissue destructive pathogens. *PLoS Pathog.* 2011; 7(5):e1002003.

Altmayr F, Jusek G, Holzmann B. The neuropeptide calcitonin gene-related peptide causes repression of tumor necrosis factor-α transcription and suppression of ATF-2 promoter recruitment in Toll-like receptor-stimulated dendritic cells. *J Biol Chem.* 2010;285:3525-3531.

Aoki-Nagase T, Nagase T,Oh-hashi Y, et al. Attenuation of antigen-induced airway hyperresponsiveness in CGRP-deficient mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2002;283:L963-970.

Arulmani U, Schuijt MP, Heiligers JP, Willems EW, Villalón CM, Saxena PR. Effects of the calcitonin gene-related peptide (CGRP) receptor antagonist BIBN4096BS on α-CGRP-induced regional haemodynamic changes in anaesthetised rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2004;94:291-297.

Asahina A, Hosoi J, Beissert S, Stratigos A, Granstein RD. Inhibition of the induction of delayed-type and contact hypersensitivity by calcitonin gene-related peptide. *J Immunol.* 1995a;154:3056-3061.

Asahina A, Hosoi J, Murphy GF, Granstein RD. Calcitonin gene-related peptide modulates Langerhans cell antigen-presenting function. *Proc Assoc Am Physicians.* 1995b;107:242-244.

Asahina A, Moro O, Hosoi J, et al. Specific induction of cAMP in Langerhans cells by calcitonin gene-related peptide: relevance to functional effects. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995c;92:8323-8327.

Ashina M, Bendtsen L, Jensen R, Schifter S, Olesen J. Evidence for increased plasma levels of calcitonin gene related peptide in migraine outside of attacks. *Pain.* 2000;86:133-138.

Balkwill F, Charles KA, Mantovani A. Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. *Cancer Cell.* 2005;7:211-217.

Bailey RJ and Hay DL . Pharmacology of the human CGRP1 receptor in Cos 7 cells. *Peptides.* 2006;27:1367–1375.

Behm MO, Blanchard RL, Murphy MG, et al. Effect of telcagepant on spontaneous ischemia in cardiovascular patients in a randomized study. *Headache.* 2011;51:954-960.

Bell D and McDermott BJ. Calcitonin gene-related peptide in the cardiovascular system: characterization of receptor populations and their (patho)physiological significance. *Pharmacol Rev.* 1996;48:253–288.

Bergenholm L, Parkinson J, Mettetal J, Evans ND, Chappell MJ, Collins T. Predicting QRS and PR interval prolongations in humans using nonclinical data. *Br. J Pharmacol*. 2017; 174:3268-83.

Bindea G, Mlecnik B, Angell HK, Galon J. The immune landscape of human tumors: Implications for cancer immunotherapy. *OncoImmunology.* 2014;3:e27456.

Blanchard RL, Rowe J, Palcza J, et al. High dose telcagepant has no effect on 24-hr ambulatory blood pressure or heart rate in healthy volunteers. *Headache.* 2010;50 suppl 1:35-36.

Bleckmann A, Leha A, Artmann S, et al. Integrated miRNA and mRNA profiling of tumor educated macrophages identifies prognostic subgroups in estrogen receptor positive breast cancer. *Mol Oncol.* 2015;9:155-166.

Bodor J, Feigenbaum L, Bodorova J, Bare C, Reitz MS Jr, Gress RE. Suppression of T cell responsiveness by inducible cAMP early repressor (ICER). *J Leukoc Biol.* 2001; 69:1053-1059.

Bodor J, Spetz AL, Strominger JL, Habener JF. cAMP inducibility of transcriptional repressor ICER in developing and mature human T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996;93:3536-3541.

Bouschet T, Martin S, Henley JM. Receptor-activity-modifying proteins are required for forward trafficking of the calcium-sensing receptor to the plasma membrane. *J Cell Sci.* 2005;118:4709–4720.

Bracci-Laudiero L, Aloe L, Buanne P, et al. NGF modulates CGRP synthesis in human B-lymphocytes: a possible anti-inflammatory action of NGF? *J Neuroimmunol.* 2002; 123:58-65.

Bracci-Laudiero L, Aloe L, Caroleo MC, et al. Endogenous NGF regulates CGRP expression in human monocytes, and affects HLA-DR and CD86 expression and IL-10 production. *Blood.* 2005;106:3507-3514.

Brain SD and Grant AD. Vascular actions of calcitonin gene-related peptide and adrenomedullin. *Physiol Rev.* 2004;84:903–934.

Brain SD and Cambridge H. Calcitonin gene-related peptide: vasoactive effects and potential therapeutic role. *Gen Pharmacol.* 1996;27:607-611.

Brain SD, Williams TJ, Tippins JR, Morris HR, MacIntyre I. Calcitonin gene related peptide is a potent vasodilator. *Nature.* 1985;313:54-56.

Burley DS, Hamid SA, Baxter GF. Cardioprotective actions of peptide hormones in myocardial ischemia. *Heart fail Rev.* 2007;12:279-291.

Burnet FM. The concept of immunological surveillance. *Prog Exp Tumor Res.* 1970;13:1-27.

Cadieux A, Monast NP, Pomerleau F, Fournier A, Lanoue C: Bronchoprotector properties of calcitonin gene-related peptide in guinea pig and human airways. Effect of pulmonary inflammation. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999;159:235-243.

Calland, JW, Harris SE, Carnes DL et al. Human pulp cells respond to calcitonin gene related peptide in vitro. *J Endod* 1997;23:485-489.

Carucci JA, Ignatius R, Wei Y, et al. Calcitonin gene-related peptide decreases expression of HLA-DR and CD86 by human dendritic cells and dampens dendritic cell driven T cell-proliferative responses via the type I calcitonin gene-related peptide receptor. *J Immunol.* 2000;164:3494-3499.

Chai W, Mehrotra S, Jan Danser AH, Schoemaker RG. The role of calcitonin gene-related peptide (CGRP) in ischemic preconditioning in isolated rat hearts. *Eur J Pharmacol.* 2006;531:246-253.

Chaitman BR, Ho AP, Behm MO, et al. A randomized, placebo-controlled study of the effects of telcagepant on exercise time in patients with stable angina. *Clin Pharmacol Ther.* 2012;91:459-466.

Chan KY, Edvinsson L, Eftekhari S, et al. Characterization of the calcitonin gene-related peptide receptor antagonist telcagepant (MK-0974) in human isolated coronary arteries. *J Pharmacol Exp Ther.* 2010;334:746-752.

Chanez P, Springall D, Vignola AM, et al. Bronchial mucosal immunoreactivity of sensory neuropeptides in severe airway diseases. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;158:985-990.

Chang CL and Hsu SYT. Roles of CLR/RAMP receptor signaling in reproduction and development. *Curr Protein Pept Sci.* 2013;14:393-406.

Chaput N, Conforti R, Viaud S, Spatz A, Zitvogel L. The Janus face of dendritic cells in cancer. *Oncogene.* 2008;27:5920-5931.

Cheng L. Khan M, Mudge AW. Calcitonin gene-related peptide promotes Schwann cell proliferation. *J Cell Biol.* 1995;129:789-796.

Christopoulos A, Christopoulos G, Morfis M, et al. Novel receptor partners and function of receptor activity-modifying proteins. *J Biol Chem.* 2003; 278:3293–3297.

Christopoulos G, Paxinos G, Huang XF, et al. Comparative distribution of receptors for amylin and the related peptides calcitonin gene related peptide and calcitonin in rat and monkey brain. *Can J Physiol Pharmacol.* 1995;73:1037-1041.

Clementi G, Amico-Roxas M, Caruso A, et al. Effects of CGRP in different models of mouse ear inflammation. *Life Sci.* 1994;54:PL119-124.

Clementi G, Amico-Roxas M, Caruso A, Cutul VMC, Maugeri S, Prato A. Protective effects of calcitonin gene-related peptide in different experimental models of gastric ulcers. *Eur J Pharmacol.* 1993;238:101-104.

Connat JL Schnüriger V, Zanone R, et al. The neuropeptide calcitonin gene-related peptide differently modulates proliferation and differentiation of smooth muscle cells in culture depending on the cell type. *Reg Pept.* 2001;101:169-178.

Connor KM, Aurora SK, Loeys T, et al. Long-term tolerability of telcagepant for acute treatment of migraine in a randomized trial. *Headache.* 2011;51:73-84.

Connor KM, Shapiro RE, Diener HC, et al. Randomized, controlled trial of telcagepant for the acute treatment of migraine. *Neurology.* 2009;73:970-977.

Cornish J, Callon KE, Lin CQx, et al. Comparison of the effects of calcitonin gene related peptide and amylin on osteoblasts. *J Bone Miner Res.*1999;14:1302 1309.

Coupe MO, Mark JCW, Yacoub M, Oldershaw PJ, Bames PJ. Autoradiographic mapping of calcitonin gene-related peptide receptors in human and guinea pig hearts. *Circulation.* 1990;81:741-747.

Coussens LM and Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature.* 2002;420:860-867.

Dackor RT, Fritz-Six K, Dunworth WP, Gibbons CL, Smithies O, Caron KM. Hydrops fetalis, cardiovascular defects, and embryonic lethality in mice lacking the calcitonin receptor-like receptor gene. *Mol Cell Biol.* 2006;26:2511-2518.

Dakhama A, Kanehiro A, Mäkelä MJ, Loader JE, Larsen GL, Gelfand EW: Regulation of airway hyperresponsiveness by calcitonin gene-related peptide in allergen sensitized and challenged mice. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:1137-1144.

Demoulin S, Herfs M, Delvenne P, Hubert P. Tumor microenvironment converts plasmacytoid dendritic cells into immunosuppressive/tolerogenic cells: insight into the molecular mechanisms. *J Leukoc Biol.* 2013;93:343-352.

Depre M, MacLeod C, Palcza J, et al. Lack of hemodynamic interaction between CGRP receptor antagonist telcagepant (MK-0974) and sumatriptan: Results from a randomized study in patients with migraine. *Cephalgia.* 2013;33:1292-1301.

Ding W, Stohl LL, Wagner JA, Granstein RD. Calcitonin gene-related peptide biases Langerhans cells toward Th2-type immunity. *J Immunol.* 2008;181:6020-6026.

Ding W, Wagner JA, Granstein RD. CGRP, PACAP, and VIP modulate Langerhans cell function by inhibiting NF-κB activation. *J Invest Dermatol.* 2007; 127:2357-2367.

Domenech VS, Nylen ES, White JC, et al. Calcitonin gene-related peptide expression in sepsis: postulation of microbial infection-specific response elements within the calcitonin I gene promoter. *J Investig Med.* 2001;49:514-521.

Dong YL, Vegiraju S, Chauhan M, et al. Involvement of calcitonin gene-related peptide in control of human fetoplacental vascular tone. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2004;286:H230-H239.

Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol.* 2002;3:991-998.

Edvinsson L, Chan KY, Eftekhari S, et al. Effect of the calcitonin gene-related peptide (CGRP) receptor antagonist telcagepant in human cranial arteries. *Cephalgia.* 2010;30:1233-1240.

Edvinsson L, Mulder H, Goadsby PJ, Uddman R. Calcitonin gene-related peptide and nitric oxide in the trigeminal ganglion: cerebral vasodilatation from trigeminal nerve stimulation involves mainly calcitonin gene-related peptide. *J Auton Nerv Syst.* 1998;70:15-22.

Eftekhari S and Edvinsson L. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) and its receptor components in human and rat spinal trigeminal nucleus and spinal cord at C1-level. *BMC Neurosci.* 2011;12:112.

Evangelista, S. Role of calcitonin gene-related peptide in gastric mucosal defence and healing. *Curr Pharm Des.* 2009;15:3571-3576.

Fernandez S, Knopf MA, Bjork SK, McGillis JP. Bone marrow-derived macrophages express functional CGRP receptors and respond to CGRP by increasing transcription of c-fos and IL-6 mRNA. *Cell Immunol.* 2001;209:140-148.

Forneris M, Gottardo L, Albertin G, Malendowicz LK, Nussdorfer GG. Expression and function of adrenomedullin and its receptors in Conn's adenoma cells. *Int J Mol Med.* 2001;8:675–679.

Fox FE, Kubin M, Cassin M, et al. Calcitonin gene-related peptide inhibits proliferation and antigen presentation by human peripheral blood mononuclear cells: effects on B7, interleukin 10, and interleukin 12. *J Invest Dermatol.* 1997;108:43-48.

Galon J, Costes A, Sanchez-Cabo F, et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science.* 2006;313:1960-1964.

Gangula PR, Dong YL. Wimalawansa SJ, Yallampalli C. Infusion of pregnant rats with calcitonin gene-related peptide $(CGRP)_{8-37}$, a CGRP receptor antagonist, increases blood pressure and fetal mortality and decreases fetal growth. *Biol Reprod.* 2002;67:624-629.

Gangula PRR, Zhao H, Supowit SC, et al. Increased blood pressure in α-calcitonin gene-related peptide/calcitonin gene knockout mice. *Hypertension.* 2000;35:470-475.

Glowka TR, Steinebach A, Stein K , et al. The novel CGRP receptor antagonist BIBN4096BS alleviates a postoperative instestinal inflammation and prevents postoperative ileus. *Neurogastroenterol Motil.* 2015:27:1038-1049.

Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R. Release of vasoactive peptides in the extracerebral circulation of humans and the cat during activation of the trigeminovascular system. *Ann Neurol.* 1988;23:193-196.

Gomes RN, Castro-Faria-Neto HC, Bozza PT, et al. Calcitonin gene-related peptide inhibits local acute inflammation and protects mice against lethal endotoxemia. *Shock.* 2005;24:590-594.

Granholm S, Lundberg P, Lerner UH. Expression of the calcitonin receptor, calcitonin receptor-like receptor, and receptor activity modifying proteins during osteoclast differentiation. *J Cell Biochem.* 2008;104:920–933.

Han TH, Blanchard RL, Palcza J, et al. Single- and multiple-dose pharmacokinetics and tolerability of telcagepant, an oral calcitonin gene-related peptide receptor antagonist, in adults *J Clin Pharmacol.* 2010;50:1367-1376.

Harris N and Gause WC. To B or not to B: B cells and the Th2-type immune response to helminths. *Trends Immunol.* 2011;32:80-88.

Harzenetter MD, Keller U, Beer S, Riedl C, Peschel C, Holzmann B. Regulation and function of the CGRP receptor complex in human granulopoiesis. *Exp Hematol.* 2002; 30:306-312.

Harzenetter MD, Novotny AR, Gais P, Molina CA, Altmayr F, Holzmann B. Negative regulation of TLR responses by the neuropeptide CGRP is mediated by the transcriptional repressor ICER. *J Immunol.* 2007;179:607-615.

Hay DL, Poyner DR, Quirion R. International Union of Pharmacology. LXIX. Status of the calcitonin gene-related peptide subtype 2 receptor. *Pharmacol Rev.* 2008;60:143 145.

Hay DL, Poyner DR, Sexton PM. GPCR modulation by RAMPs. *Pharmacol Ther.* 2006; 109:173-197.

Ho AP, Dahlöf CGH, Silberstein SD, et al. Randomized, controlled trial of telcagepant over four migraine attacks. *Cephalalgia.* 2010;30:1443-1457.

Ho TW, Ho AP, Chaitman BR, et al. Randomized, controlled study of telcagepant in patients with migraine and coronary artery disease. *Headache.* 2012;52:224-235.

Hoff AO, Catala-Lehnen P, Thomas PM, et al. Increased bone mass is an unexpected phenotype associated with deletion of the calcitonin gene. *J Clin Invest.* 2002;110: 1849–1857.

Hökfelt T, Avidsson U, Ceccatelli S, et al. Calcitonin gene-related peptide in the brain, spinal cord, and some peripheral systems. *Ann NY Acad Sci.* 1992; 657:119-134.

Holzer P. Peptidergic sensory neurons in the control of vascular functions: mechanisms and significance in the cutaneous and splanchnic vascular beds. Rev *Physiol Biochem Pharmacol.* 1992;121:49–146.

Holzer P. Local microcirculatory reflexes and afferent signalling in response to gastric acid challenge. *Gut.* 2000;47: iv46-iv48.

Holzmann B. Antiinflammatory activities of CGRP modulating innate immune responses in health and disease. *Curr Protein Pept Sci.* 2013a;14:268-274.

Holzmann B. Modulation of immune responses by the neuropeptide CGRP. *Amino Acids.* 2013b;45:1-7.

Hoopes SL, Willcockson HH, Caron KM. Characteristics of multi-organ lymphangiectasia resulting from temporal deletion of calcitonin receptor-like receptor in adult mice. *PLoS One.* 2012;7:e45261.

Hosoi J, Murphy GF, Egan CL, et al. Regulation of langerhans cell function by nerves containing calcitonin gene-related peptide. *Nature.* 1993; 363:159-163.

Howarth PH, Springall DR, Redington AE, Djukanovic R, Holgate ST, Polak JM: Neuropeptide-containing nerves in endobronchial biopsies from asthmatic and nonasthmatic subjects. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1995;13:288-296.

Huebner AK, Keller J, Catala-Lehnen P, et al. The role of calcitonin and α-calcitonin gene-related peptide in bone formation. *Arch Biochem Biophys.* 2008; 473:210-217.

Iovino M, Feifel U, Yong CL, Wolters JM, Wallenstein G. Safety, tolerability and pharmacokinetics of BIBN 4096 BS, the first selective small molecule calcitonin gene-related peptide receptor antagonist, following single intravenous administration in healthy volunteers. *Cephalalgia.* 2004;24:645-656.

Irie, K; Hara-Irie, F; Ozawa, H; Yajima, T. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) containing nerve fibers in bone tissue and their involvement in bone remodeling. *Microsc Res Tech.* 2002;58:85-90.

Jusek G, Reim D, Tsujikawa K, Holzmann B. Deficiency of the CGRP receptor component RAMP1 attenuates immunosuppression during the early phase of septic peritonitis. *Immunobiology.* 2012; 217:761-767.

Källner G, Gonon A, Franco-Cereceda A. Calcitonin gene-related peptide in myocardial ischaemia and reperfusion in the pig. *Cardiovas Res.* 1998;38:493-499.

Kapoor K, Arulmani U, Heiligers JPC, et al. Effects of BIBN4096BS on cardiac output distribution and on CGRP-induced carotid haemodynamic responses in the pig. *Eur J Pharmacol.* 2003;475:69-77.

Kawamura N, Tamura H, Obana S, et al. Differential effects of neuropeptides on cytokine production by mouse helper T cell subsets. *Neuroimmunomodulation.* 1998; 5:9-15.

Kawanami Y, Morimoto Y, Kim H, et al. Calcitonin gene-related peptide stimulates proliferation of alveolar epithelial cells. *Respiratory Research.* 2009;10:8.

Kawase T, Okuda K, Burns DM. Immature osteoblastic MG63 cells possess two calcitonin generated peptide receptor subtypes that respond differently to [Cys(Acm)$^{(2,7)}$] calcitonin gene-related peptide and $CGRP_{(8–37)}$. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2005;289:C811-C818.

Keith IM. The role of endogenous lung neuropeptides in regulation of the pulmonary circulation. *Physiol Res.* 2000;49:519-537.

Kelley MJ, Snider RH, Becker KL, Johnson BE. Small cell lung carcinoma cell lines express mRNA for calcitonin and α- and β-calcitonin gene related peptides. *Cancer Letters.* 1994;81:19–25.

Kitazawa T and Streilein JW. Hapten-specific tolerance promoted by calcitonin gene related peptide. *J Invest Dermatol.* 2000;115:942-948.

Kurashige C, Hosono K, Matsuda H, Tsujikawa K, Okamoto H, Majima M. Roles of receptor activity-modifying protein 1 in angiogenesis and lymphangiogenesis during skin wound healing in mice. *FASEB J.* 2014;28:1237-1247.

Kurosawa M, Messlinger K, Pawlak M, Schmidt RF. Increase of meningeal blood flow after electrical stimulation of rat dura mater encephali: mediation by calcitonin gene-related peptide. *Br J Pharmacol.* 1995;114:1397-1402.

Lanlua P, Gangula PR, Taglialatela G, Yallampalli C. Gestational changes in calcitonin gene-related peptide, nerve growth factor, and its receptors in rat dorsal root ganglia. *Biol Reprod.* 2001;65:1601-1605.

Lenhart PM, Nguyen T, Wise A, Caron KM, Herring AH, Stube AM. Adrenomedullin signaling pathway polymorphisms and adverse pregnancy outcomes. *Am J Perinatol* 2014;31:327-334.

Lu JT, Son YJ, Lee J, et al. Mice lacking α-calcitonin gene-related peptide exhibit normal cardiovascular regulation and neuromuscular development. *Mol Cell Neurosci.* 1999;14:99-120.

Lu R, Li YJ, Deng HW. Evidence for calcitonin gene-related peptide-mediated ischemic preconditioning in the rat heart. *Regul Pept.* 1999;82:53-57.

Lundberg JM, Franco-Cereceda A, Hua X, Hökfelt T, Fischer JA. Co-existence of substance P and calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivities in sensory nerves in relation to cardiovascular and bronchoconstrictor effects of capsaicin. *Eur J Pharmacol.* 1985;108: 315–319.

Lynch JJ, Regan CP, Edvinsson L, Hargreaves RJ, Kane SA. Comparison of the vasoconstrictor effects of the calcitonin gene-related peptide receptor antagonist telcagepant (MK-0974) and zolmitriptan in human isolated coronary arteries. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2010;55:518-521.

Lynch JJ, Shen YT, Pittman TJ, et al. Effects of the prototype serotonin $5\text{-}HT_{(1B/1D)}$receptor agonist sumatriptan and the calcitonin gene-related peptide (CGRP) receptor antagonist $CGRP_{(8\text{-}37)}$ on myocardial reactive hyperemic response in conscious dogs. *Eur J Pharmacol.* 2009;623:96-102.

Magness RR. Maternal cardiovascular and other physiologic responses to the endocrinology of pregnancy. In: Bazar F (ed.), *Endocrinology of Pregnancy.* Totowa, NJ: Humana Press: 507-539,1998.

Mallee JJ, Salvatore CA, LeBourdelles B, et al. Receptor activity-modifying protein 1 determines the species selectivity of non-peptide CGRP receptor agonists. *J Biol Chem.* 2002;277:14294-14298.

Manoukian R, Sun H, Miller S, Shi D, Chan B, Xu C. Effects of monoclonal antagonist antibodies on calcitonin gene-related peptide receptor function and trafficking. J. Headache and Pain 2019; 20:44-56.

Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature.* 2008; 454:436-444.

Matsuda R, Kezuka T, Nishiyama C, et al. Suppression of murine experimental autoimmune optic neuritis by mature dendritic cells transfected with calcitonin gene related peptide gene. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2012;53:5475-5485.

McCormack DG, Mak JC, Coupe MO, Barnes PJ: Calcitonin gene-related peptide vasodilation of human pulmonary vessels. *J Appl Physiol.* 1989;67:1265-1270.

McLatchie LM, Fraser NJ, Main MJ, et al. RAMPs regulate the transport and ligand specificity of the calcitonin-receptor-like receptor. *Nature.* 1998;393:333-339.

Menen RS, Hassanein MK, Momiyama M, et al. Tumor-educated macrophages promote tumor growth and peritoneal metastasis in an orthotopic nude mouse model of human pancreatic cancer. *In Vivo.* 2012;26:565-569.

Mikami N, Matsushita H, Kato T, et al. Calcitonin gene-related peptide is an important regulator of cutaneous immunity: effect on dendritic cell and T cell functions. *J Immunol.* 2011;186:6886-6893.

Mikami N, Sueda K, Ogitani Y, et al. Calcitonin gene-related peptide regulates type IV hypersensitivity through dendritic cell functions. *PLoS One.* 2014;9:e86367.

Mulderry PK, Ghatei MA, Spokes RA, et al. Differential expression of α-CGRP and β-CGRP by primary sensory neurons and enteric autonomic neurons of the rat. *Neuroscience.* 1988;25:195–205.

Nagakawa O, Ogasawara M, Murata J, Fuse H, Saiki I. Effect of prostatic neuropeptides on migration of prostate cancer cell lines. *Int J Urology.* 2001;8:65–70.

Naot D, Bava U, Matthews B, et al. Differential gene expression in cultured osteoblasts and bone marrow stromal cells from patients with Paget's disease of bone. *J Bone Miner Res.* 2007;22:298–309.

Naot D, Callon KE, Grey A, Cooper GJS, Reid IR, Cornish J. A potential role for adrenomedullin as a local regulator of bone growth. *Endocrinology.* 2001;142:1849–1857.

Napoli C, Pinto A, Cirino G. Pharmacological modulation, preclinical studies, and new clinical features of myocardial ischemic preconditioning. *Pharmacol Ther.* 2000;88:311- 331.

Oh-hashi Y, Shindo T, Kurihara Y, et al. Elevated sympathetic nervous activity in mice deficient in αCGRP. *Circ Res.* 2001;89:983-990.

Ohno T, Hattori Y, Komine R et al. Roles of calcitonin gene-related peptide in maintenance of gastric mucosal integrity and in enhancement of ulcer healing and angiogenesis. *Gastroenterology.* 2008;134:215-225.

Ono K, Delay M, Nakajima T, Irisawa H, Giles W. Calcitonin gene-related peptide regulates calcium current in heart muscle. *Nature.* 1989;340:721-24.

Pacini F, Fugazzola L, Basolo F, Elisei R, Pinchera A. Expression of calcitonin gene related peptide in medullary thyroid cancer. *J Endocr Invest.* 1992;15:539–542.

Palmer JBD, Cuss FMC, Mulderry PK, et al. Calcitonin gene-related peptide is localised to human airway nerves and potently constricts human airway smooth muscle. *Br J Pharmacol.* 1987;91:95-101.

Papantoniou V, Tsiouris S, Sotiropoulou M, et al. The potential role of calcitonin gene related peptide (CGRP) in breast carcinogenesis and its correlation with ^{99m}Tc- (V)DMSA scintimammography. *Am J Clin Oncol.* 2007;30:420–427.

Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer.* 2012;12:252-264.

Petersen KA, Lassen LH, Birk S, Lesko L, Olesen J. BIBN4096BS antagonizes human α-calcitonin gene related peptide-induced headache and extracerebral artery dilatation. *Clin Pharmacol Ther.* 2005;77:202-213.

Poyner DR, Sexton PM, Marshall I, Smith DM, Quirion R, Born W, et al. International Uniton of Pharmacology. XXXII. The mammalian calcitonin gene-related peptides, adrenomedullin, amylin, and calcitonin receptors. Pharmacol. Rev. 2002; 54:233-246.

Prado MA, Evans-Bain B, Dickerson IM. Receptor component protein (RCP): a member of a multi-protein complex required for G-protein-coupled signal transduction. *Biochem Soc Trans.* 2002;30:460–464.

Ramachandran V, Arumugam T, Hwang RF, Greenson JK, Simeone DM, Logsdon CD. Adrenomedullin is expressed in pancreatic cancer and stimulates cell proliferation and invasion in an autocrine manner via the adrenomedullin receptor, ADMR. *Cancer Res.* 2007;67:2666–2675.

Regan CP, Stump GL, Kane SA, Lynch JJ. Calcitonin gene-related peptide receptor antagonism does not affect the severity of myocardial ischemia during atrial pacing in dogs with coronary artery stenosis. *J Pharmacol Exp Ther.* 2009;328:571-578.

Roberts JM. Pregnancy related hypertension. In: Creasy RK, Resnik R (eds.), Maternal Fetal Medicine: Principles and Practice, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders: 777–823, 1989.

Rosenfeld MG, Mermod JJ, Amara SG, et al. Production of a novel neuropeptide encoded by the calcitonin gene via tissue-specific RNA processing. *Nature.* 1983;304: 129-135.

Russell FA, King R. Smillie SJ, Kodji X, Brain SD. Calcitonin gene-related peptide: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev* 2014; 94:1099-1142.

Saeki T, Ohno T, Boku K, Saigenji K, Katori M, Majima M. Mechanism of prevention by capsaicin of ethanol-induced gastric mucosal injury—a study in the rat using intravital microscopy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2000;14:135–144.

Salmon AM, Damaj MI, Marubio LM, Epping-Jordan MP, Merlo-Pich E, Changeux JP. Altered neuroadaptation in opiate dependence and neurogenic inflammatory nociception in αCGRP-deficient mice. *Nat Neurosci.* 2001;4:357-358.

Salmon AM, Evrard A, Damaj I, Changeux JP. Reduction of withdrawal signs after chronic nicotine exposure of α-calcitonin gene-related peptide knock-out mice. *Neurosci Lett.* 2004;360:73-76.

Schinke T, Liese S, Priemel M, et al. Decreased bone formation and osteopenia in mice lacking α-calcitonin gene-related peptide. *J Bone Miner Res.* 2004;19:2049 2056.

Schreiber RD, Old LJ and Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science.* 2011;331:1565-1570.

Sekiguchi N, Kanatsuka H, Sato K, et al. Effect of calcitonin gene-related peptide oncoronary microvessels and its role in acute myocardial ischemia. *Circulation.* 1994;89:366-374.

Senna AA, Zedan M, El-Salam GEA, El-Mashad AI. Study of plasma adrenomedullin level in normal pregnancy and preclampsia. *Medscape J Med.* 2008;10:29.

Shen YT, Mallee JJ, Handt LK, et al. Effects of inhibition of α-CGRP receptors oncardiac and peripheral vascular dynamics in conscious dogs with chronic heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2003;42:656-661.

Shen YT, Pittman, TJ, Buie PS, et al. Functional role of α-calcitonin gene-related peptide in the regulation of the cardiovascular system. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001;298:551-558.

Shi L, Lehto SG, Zhu DXD, Sun H, Zhang J, Smith BP, Immke DC, Wild KD, Xu C. Pharmacologic characterization of AMG 334, a potent and selective human monoclonal antibody against the calcitonin gene-related peptide receptor. J Pharmacol. Exp. Therap. 2016; 356:223-231.

Sinclair SR, Kane SA, Van der Schueren BJ, et al. Inhibition of capsaicin-induced increase in dermal blood flow by the oral CGRP receptor antagonist, telcagepant (MK-0974). *Br J Clin Pharmacol.* 2010;69:15-22.

Sisirak V, Faget J, Gobert M , et al. Impaired IFN-α production by plasmacytoid dendritic cells favors regulatory T-cell expansion that may contribute to breast cancer progression. *Cancer Res.* 2012;72:5188-5197.

Song QJ, Xiao J, Deng HW, Li YJ. Role of calcitonin gene-related peptide in prostaglandins-mediated ischemic preconditioning in guinea pig hearts. *Acta Pharmacol Sin.* 2001;22:3-9.

Sternini C. Enteric and visceral afferent CGRP neurons. *Ann NY Acad Sci.* 1992:657:170-186.

Stevenson JC, MacDonald DW, Warren RC, Booker MW. Whitehead MI. Increased concentration of circulating calcitonin gene related peptide during normal human pregnancy. *Br Med J.* 1986;293;1329-1330.

Sun W, Guo J, Tang Y, Wang X. Alteration of capsaicin and endotoxin-induced calcitonin gene-related peptide release from mesenteric arterial bed and spinal cord slice in 18-month-old rats. *J. Neurosci. Res.* 1998;53:385–392.

Suzuki K, Kobayashi Y, Morita T. Serum calcitonin gene-related peptide levels in untreated prostate cancer patients. *Int J Urology.* 2006;13:781–784.

Taché Y. Brainstem neuropeptides and vagal protection of the gastric mucosal against injury: role of prostaglandins, nitric oxide and calcitonin-gene related peptide in capsaicin afferents. *Curr Med Chem.* 2012;19:35–42.

Taché Y, Pappas T, Lauffenburger M, Goto Y, Walsh JH, Debas H. Calcitonin gene related peptide: potent peripheral inhibitor of gastric acid secretion in rats and dogs. *Gastroenterology.* 1984;87:344–349.

Tam CW, Husmann K, Clark NC, et al. Enhanced vascular responses to adrenomedullin in mice overexpressing receptor-activity-modifying protein 2. *Circ Res.* 2006;98:262 270.

Tan TT and Coussens LM. Humoral immunity, inflammation and cancer. *Curr Opin Immunol.* 2007;19:209-216.

Thouënnon E, Pierre A, Tanguy Y, et al. Expression of trophic amidated peptides and their receptors in benign and malignant pheochromocytomas: high expression of adrenomedullinRDC1 receptor and implication in tumoral cell survival. *Endoc Relat Cancer.* 2010;17:637–651.

Toda M, Suzuki T, Hosono K, et al. Neuronal system-dependent facilitation of tumor angiogenesis and tumor growth by calcitonin gene-related peptide. *PNAS.* 2008;105: 13550–13555.

Tokoyoda K, Tsujikawa K, Matsushita H, et al. Up-regulation of IL-4 production by the activated cAMP/cAMP-dependent protein kinase (protein kinase A) pathway in CD3/CD28-stimulated naive T cells. *Int Immunol.* 2004;16:643-653.

Torii H, Hosoi J, Beissert S, et al. Regulation of cytokine expression in macrophages and the Langerhans cell-like line XS52 by calcitonin gene-related peptide. *J Leukoc Biol.* 1997;61:216-223.

Uddman R, Edvinsson L, Ekblad E, Håkanson R, Sundler F. Calcitonin gene-related peptide (CGRP): perivascular distribution and vasodilatory effects. *Regul Pept.* 1986;15:1–23.

Umeda Y and Arisawa M. Inhibition of natural killer activity by calcitonin gene-related peptide. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 1989;11:309-320.

Valentijn K, Gutow AP, Troiano N, Gundberg C, Gilligan JP, Vignery A. Effects of calcitonin gene-related peptide on bone turnover in ovariectomized rats. *Bone* 1997;21:269–274.

Van der Schueren BJ, Blanchard R, Murphy MG, et al. The potent calcitonin gene-related peptide receptor antagonist, telcagepant, does not affect nitroglycerin-induced vasodilation in healthy men. *Br J Clin Pharmacol.* 2011;71:708-717.

Van der Schueren BJ, Blanchard R, Murphy MG, et al. Effect of MK-0974, an oral CGRP antagonist, on the hemodynamic response to sublingual nitroglycerin. *Headache.* 2008;48(Suppl. 1):S63-S64.

Van Rossum D, Hanisch UK, Quirion R. Neuroanatomical localization, pharmacological characterization and functions of CGRP, related peptides and their receptors. *Neurosci Biobehav Rev.* 1997;21:649-78.

Vargas HM, Amouzadeh HR, Engwall MJ. Nonclinical strategy considerations for safety pharmacology: evaluation of biopharmaceuticals. *Expert Opin Drug Saf.* 2013;12:91-102.

Verheggen R, Bumann K, Kaumann AJ. BIBN4096BS is a potent competitive antagonist of the relaxant effects of α-CGRP on human temporal artery: comparison with $CGRP_{(8\ 37)}$. *Br J Pharm.* 2002;136,120-126.

Vesely MD, Kershaw MH, Schreiber RD and Smyth MJ. Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Annu Rev Immunol.* 2011;29:235-271.

Vitale G and Pucillo CE. New roots for IgE-producing B cells. *Cell Mol Immunol.* 2012;9:321.

Walker CS, Conner AC, Poyner DR, Hay DL. Regulation of signal transduction by calcitonin gene-related peptide receptors. *Trends Pharmacol Sci.* 2010;31:476-483.

Walter S, Alibhoy A, Escandon R, Bigal ME. Evaluation of cardiovascular parameters in cynomolgus monkeys following IV administration of LBR-101, a monoclonal antibody against calcitonin gene-related peptide. *mAbs*. 2014;6:871-878.

Wang F, Millet I, Bottomly K, Vignery A. Calcitonin gene-related peptide inhibits interleukin 2 production by murine T lymphocytes. *J Biol Chem.* 1992;267:21052 21057.

Wang H, Xing L, Li W, Hou L, Guo J, Wang X. Production and secretion of calcitonin gene-related peptide from human lymphocytes. *J Neuroimmunol.* 2002;130:155 162.

Wang L and Wang DH. TRPV1 gene knockout impairs postischemic recovery in isolated perfused heart in mice. *Circulation.* 2005;112:3617-3623.

Wang X, Jones SB, Zhou Z, Han C, Fiscus RR. Calcitonin gene-related peptide (CGRP) and neuropeptide Y (NPY) levels are elevated in plasma and decreased in vena cava during endotoxin shock in the rat. *Circ Shock.* 1992;36:21-30.

Wimalawansa SJ. Calcitonin gene-related peptide and its receptors: molecular genetics, physiology, pathophysiology, and therapeutic potentials. *Endocri Rev.* 1996; 17:533-585.

Wu DM, van Zwieten PA, Doods HN. Effects of calcitonin gene-related peptide and BIBN4096BS on myocardial ischemia in anesthetized rats. *Acta Pharmacol Sin.* 2001;22:588-594.

Yallampalli C, Dong YL, Wimalawansa SJ. Calcitonin gene-related peptide reverses the hypertension and significantly decreases the fetal mortality in pre-eclampsia rats induced by nitro-L-arginine methyl ester. *Hum Reprod.* 1996;11:895–899.

Zhang L, Hoff AO, Wimalawansa SJ, Cote GJ, Gagel RF, Westlund KN. Arthritic calcitonin/α calcitonin gene-related peptide knockout mice have reduced nociceptive hypersensitivity. *Pain.* 2001;89:265-273.

Zhong B and Wang DH. TRPV1 gene knockout impairs preconditioning protection against myocardial injury in isolated perfused hearts in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;293:H1791-1798.

表 1　薬理　一覧表

被験物質：エレヌマブ

Type of Study	Study Title (Study Number)	Study Objective	Test System	Method/Route of Administration
Primary Pharmacodynamics				
Pharmacology, *In Vitro*	*In Vitro* Functional Activity of AMG 334 at the Human Calcitonin Gene-related Peptide (CGRP) Receptor in Cell Cell-based Functional Assays (R20100181)	Determine the functional activity of AMG 334 at the human CGRP receptor.	Human neuroblastoma (SK-N-MC) cells and Chinese hamster ovary (CHO) cells cell-based functional cAMP accumulation assays	*In vitro*
Pharmacology, *In Vitro*	*In Vitro* Functional Activity of AMG 334 at Adrenomedullin, Calcitonin, and Amylin Receptors in the Calcitonin Receptor Family in Cell-based Functional Assays (R20100185)	Study the agonist and antagonist activities of AMG 334 at adrenomedullin-1 (AM1), adrenomedullin-2 (AM2), calcitonin, and amylin receptors in the calcitonin receptor family.	Chinese hamster ovary (CHO) cells stably expressing Human adrenomedullin-1 receptor , human adrenomedullin-2 receptor, and human calcitonin receptor cell-based functional cAMP accumulation assays	*In vitro*
Pharmacology, *In Vitro*	Competition Binding Assays with AMG 334 at Human Calcitonin Gene-related Peptide (CGRP) Receptors in Human Neuroblastoma (SK-N-MC) Membranes (R20100182)	Determine the inhibition potency (IC_{50}) of AMG 334 against CGRP binding to the human CGRP receptor.	Human neuroblastoma (SK-N-MC) cells radioligand binding assay using [^{125}I]-CGRP and [^{125}I]-AMG 334	*In vitro*

Footnotes are defined on last page of this table.

表 1　薬理　一覧表（続き）

被験物質：エレヌマブ

Type of Study	Study Title (Study Number)	Study Objective	Test System	Method/Route of Administration
Primary Pharmacodynamics				
Pharmacology, *In Vitro*	Receptor Kinetics Studies with AMG 334 at Human Calcitonin Gene-related Peptide (CGRP) Receptors in Human Neuroblastoma (SK-N-MC) Membranes (R20100183)	Determine the kinetic properties of [^{125}I]-AMG 334 binding at the CGRP receptor, and its dissociation equilibrium constant (k_d), maximum number of binding sites at equilibrium (B_{max}), association rate constant (k_{on}), and dissociation rate constant (k_{off}).	Human neuroblastoma (SK-N-MC) cells radioligand binding assay	*In vitro*
Pharmacology, *In Vitro*	Species Selectivity of AMG 334 at Cynomolgus Monkey, Rat, Rabbit, and Dog Calcitonin Gene-related Peptide (CGRP) Receptors (R20100184)	Determine the species selectivity of AMG 334 at cynomolgus monkey, rat, rabbit, and dog CGRP receptors.	HEK cells, Rat skeletal muscle (L6) cells, Rabbit and dog whole brain membrane preparations cell-based functional cAMP accumulation assays or radioligand binding assays	*In vitro*
Pharmacodynamics, *In Vivo*	Assessment of Various Doses of AMG 334 in the Prevention of Capsaicin-induced Increase in Dermal Blood Flow in Male Cynomolgus Monkeys (R20100187)	Evaluate the dose dependent phamacodynamic effect of AMG 334 in preventing capsaicin (CAP)-induced increase in dermal blood flow (DBF).	Male naïve cynomolgus monkeys	IV infusion
Secondary Pharmacodynamics – Secondary pharmacodynamics studies using AMG 334 were not conducted.				

Footnotes are defined on last page of this table.

表 1　薬理　一覧表（続き）

被験物質：エレヌマブ

Type of Study	Study Title (Study Number)	Study Objective	Test System	Method/Route of Administration
Safety Pharmacology	Single-dose Cardiovascular Study with Respiration Rate and Neurobehavioral Evaluation of AMG 334 Administered by Subcutaneous Injection to Telemetry-instrumented Conscious Male Cynomolgus Monkeys (113726)	Evaluate the effects of AMG 334 on cardiovascular endpoints, respiration rate, and neurobehavioral effects in the telemetry-instrumented, conscious cynomolgus monkey.	Telemetry-instrumented male naïve cynomolgus monkeys	Subcutaneous injection
Pharmacodynamic Drug Interactions – Pharmacodynamic drug interaction studies using AMG 334 were not conducted.				

AMG 334 = anti-human CGRP receptor antibody (human IgG2), also known as 4E4; [^{125}I]- = ^{125}I-labeled radiochemistry; AM1 = adrenomedullin-1; AM2 = adrenomedullin-2; B_{max} = maximal binding at equilibrium; cAMP = cyclic adenosine monophosphate; CAP = capsaicin; CGRP = calcitonin gene-related peptide; CHO = Chinese hamster ovary; DBF = dermal blood flow; HEK = human embryonic kidney; IC_{50} = concentration of antagonist that inhibits half of the maximal response produced by an agonist; IV = intravenous; K_d = dissociation equilibrium constant; K_{off} = dissociation rate constant in inverse time units; K_{on} = association rate constant, in units of inverse concentration multiplied by inverse time; L6 = skeletal muscle; MCF-7 = human breast carcinoma cells endogenously expressing human amylin receptors; SK-N-MC = Human neuroblastoma cell line endogenously expressing CGRP receptors

表 2　安全性薬理試験

被験物質：エレヌマブ

Type of Study	Species/ Strain	Method of Administration	Doses (mg/kg)	Sex and No. per Group	Organ System Evaluated	Noteworthy Findings	GLP Compliance	Study Number
Cardiovascular, Respiratory, Neurobehavioral	Monkey Cynomolgus	SC	0, 25, 225	6 M [a]	Cardiovascular, Respiratory, Neurobehavioral	Cardiovascular: None Respiratory: None Neurobehavioral: None	Yes	113726

		Mean (SD) Serum Concentration (μg/mL)	
Toxicokinetics:	Dose (mg/kg)	72 hour postdose	168 hour postdose
	0	BQL[b]	BQL[b]
	25	140 (15)	99 (13)
	225	1305 (142)	848 (94)

BQL = below the quantifiable limit; GLP = Good Laboratory Practice; M = male; SC = subcutaneous; SD = standard deviation

[a] N = 12 M; in a parallel design approach, each animal received 0 mg/kg on study day 1 and either 25 or 225 mg/kg of AMG 334 (n = 6 per dose of AMG 334) on study day 8

[b] All samples BQL (< 10 ng/mL) except for animal No. I08189 (all samples [including prestudy] had values slightly greater than the lower limit of quantification)