スピンラザ髄注 12 mg

第 2 部 CTD の概要

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.4 薬物動態試験の概要文

バイオジェン・ジャパン株式会社

目次

頁

略語・略号一覧表 4
1 まとめ 5
2 分析法 13
2.1 ISIS 396443 濃度測定のための生体試料分析法 13
2.2 免疫原性を測定するための生体試料分析法 17
3 吸収 19
3.1 成熟カニクイザルを用いた単回投与毒性及び薬物動態試験（396443-AS01 試験） 19
3.1.1 成熟サルでの CSF 中薬物濃度 19
3.1.2 成熟サルにおける血漿中薬物濃度 22
3.2 成熟カニクイザルを用いた複数回投与薬物動態試験（396443-APK01 試験） 24
3.2.1 成熟サルにおける CSF 中薬物濃度 24
3.2.2 成熟サルにおける血漿中薬物濃度 25
3.3 幼若カニクイザルを用いた 14 週間複数回投与毒性試験（396443-AS03 試験） 26
3.3.1 幼若サルにおける CSF 中薬物濃度 27
3.3.2 幼若サルにおける血漿中薬物濃度 28
3.4 幼若カニクイザルを用いた 53 週間（1 年間）反復投与毒性試験（396443-AS06 試験） 32
3.4.1 幼若サルにおける CSF 中薬物濃度 32
3.4.2 幼若サルにおける血漿中薬物濃度 34
3.5 成熟カニクイザルと幼若カニクイザルとの比較 41
3.5.1 成熟サルと幼若サルとの CSF 中薬物濃度の比較 41
3.5.2 成熟サルと幼若サルとの血漿中薬物濃度の比較 41
4 分布 43
4.1 組織分布試験 43
4.1.1 成熟サルを用いた単回投与毒性及び薬物動態試験（396443-AS01 試験） 43
4.1.2 成熟サルを用いた複数回投与薬物動態試験（396443-APK01 試験） 44
4.1.3 幼若サルを用いた 14 週間複数回投与毒性試験（396443-AS03 試験） 48
4.1.4 幼若サルを用いた 53 週間（1 年）反復投与毒性試験（396443-AS06 試験） 51
4.1.5 成熟サルと幼若サルとの組織中濃度の比較 55
4.2 血漿及び CSF 中タンパク結合 56
4.3 生殖可能な動物での組織分布及び胎盤通過 56
4.3.1 マウスを用いた受胎能・発生毒性の併合試験（396443-AS08 試験） 56
4.3.2 ウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験（396443-AS09 試験） 57
4.3.3 動物種間の比較 58
5 代謝 59
6 排泄 61

6.1 マウスを用いた出生前及び出生後発生試験における乳汁排泄 61
7 薬物動態学的薬物相互作用 62
8 その他の薬物動態試験 63
9 考察及び結論 64
10 参考文献 67

略語・略号一覧表

略語・略号	略していない表現	
	英語	日本語
ASO	Antisense oligonucleotide	アンチセンスオリゴヌクレオチド
BLQ	Below limit of quantition	検出限界以下
CNS	Central nervous system	中枢神経系
CSF	Cerebrospinal fluid	脳脊髄液
GD	Gestation Days	妊娠日齢
ECL	Electrochemiluminescence	電気化学発光法
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着測定法
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
IT	Intrathecal	髄腔内
IV	Intravenous	静脈内
MS	Mass spectrometer	質量分析計
PK	Pharmacokinetics	薬物動態
SC	Subcutaneous	皮下
SD	Standard deviation	標準偏差
SMA	Spinal muscular atrophy	脊髄性筋萎縮症
TK	Toxicokinetics	トキシコキネティクス

1 まとめ

ISIS 396443 は完全修飾 2’-MOE アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）であり、脊髄性筋萎縮症患者において *SMN2* mRNA 転写産物の選択的スプライシングをエクソン 7 が含まれるように修正することにより、全長 SMN タンパク質の産生を増加させることを意図している。臨床での投与経路は髄腔内（IT）投与を予定しており、ISIS 396443 の薬物動態特性を完全に解明するため、カニクイザルを用いた評価を行った。

ISIS 396443 の非臨床薬物動態は、カニクイザルを用いた 4 つの毒性/薬物動態（PK）試験により評価した。

1) 成熟カニクイザルを用いた単回 IT ボーラス投与毒性試験（396443-AS01 試験）
2) ISIS 396443 の長い終末相消失半減期及び全身曝露の特性を解明するための、成熟カニクイザルを用いた 3 週間反復 IT 及び静脈内（IV）ボーラス投与毒性/PK 試験（396443-APK01 試験）
3) 幼若カニクイザルを用いた 14 週間反復 IT ボーラス投与毒性試験（396443-AS03 試験）
4) 幼若カニクイザルを用いた 53 週間反復 IT ボーラス投与毒性試験（396443-AS06 試験）

サルの脳脊髄液（CSF）、血漿及び評価組織（CNS 及び全身組織）中での経時的薬物濃度推移データが得られ、ISIS 396443 の薬物動態の特性が解明された。また、マウスを用いた反復ボーラス皮下（SC）投与による受胎能及び発生毒性の併合試験（396443-AS08 試験）及びウサギを用いた反復 SC ボーラス投与による胚・胎児発生毒性試験（396443-AS09 試験）から、生殖器及び肝臓組織中薬物濃度データが得られた。反復 IT 投与後、サルの血漿、CSF 及び組織中の ISIS 396443 関連物質（未変化体、及び短鎖オリゴヌクレオチドを含む様々な関連代謝物）を同定し、プロファイリングした（396443-IS07 試験）。また、血漿（マウス、サル及びヒト）及び CSF（サル及びヒト）におけるタンパク結合率を、限外ろ過膜を用いて *in vitro* で評価した（396443-IS04 試験、396443-IS05 試験、396443-IS06 試験）。

サルの CSF、血漿及び組織中の ISIS 396443 濃度を、ハイブリダイゼーション酵素結合免疫吸着測定（Hyb-ELISA）法又はハイブリダイゼーション電気化学発光（Hyb-ECL）法のいずれかにより測定した。Hyb-ELISA 法は、バリデートされた高感度定量分析方法であり、サルの血漿、CSF 及び組織中 ISIS 396443 の測定に関して特異的かつ選択的であることが示されている。Hyb-ECL 法は、バリデートされた高感度定量分析方法であり、ヒトの CSF 及び血漿中 ISIS 396443 の測定に関して特異的かつ選択的であることが示されている。ウサギ及びマウスの生殖器組織中の全長 ISIS 396443（未変化体）濃度を、HPLC 法により測定した。HPLC 法は、マウス組織中 ISIS 396443 の測定に関してバリデートされた特異的かつ選択的な定量分析法であり、また、ウサギ組織中の ISIS 396443 の測定に関しても適格性が確認されている。液体クロマトグラフィーとシングル四重極型又はトリプル四重極型いずれかの質量分析計との組み合わせ（HPLC/MS 又は HPLC/MSMS）により、代謝物としての短鎖オリゴヌクレオチドを同定及び定量した。

IT 投与後の CSF 中 ISIS 396443 の薬物動態は、成熟サルと幼若サルとの間で同様であり、CSF 中薬物濃度は多相性に低下し、急速な分布相（CSF からのクリアランスの大部分を占めた）に続く 1 相以上の多相性のより緩徐で持続した消失相を伴っていた。この急速な分布相は、CSF から

中枢神経系（CNS）組織への急速かつ広範な分布のほか、CSF ターンオーバーを介した全身循環へのさらなる移行にも起因している。IT 投与後の ISIS 396443 の CSF 中推定終末相消失半減期（$t_{1/2}$）は、成熟サル（396443-APK01 試験）と幼若サル（396443-AS06 試験）との間で同様で、102～111 日であった。

成熟サル及び幼若サルでは、IT ボーラス投与後、ISIS 396443 は全身循環へ移行し、血漿中 ISIS 396443 濃度は投与 2～5 時間後に最高値に達した。その後、投与 24～48 時間後にかけて急速に低下した後、より緩徐な消失相に移行した。24～48 時間にかけての血漿中濃度の急速な低下は、主に全身組織への広範な分布によるものと考えられる。血漿中の推定終末相消失半減期（35～56 日）は、CSF 中（102～111 日）よりも短いが、全身組織中（肝臓では 12.2～23.4 日、腎臓では 34.5 日）と同様であったことから、血漿中及び全身組織中の濃度は分布相後に平衡状態に達した可能性が高い（396443-APK01 試験、396443-AS03 試験、396443-AS06 試験）。

ISIS 396443 の用量依存的な組織分布は、成熟サルと幼若サルとで同様であり、IT 投与後、ISIS 396443 は、腰髄、大脳皮質及び肝臓で最高濃度を示すとともに、CNS 組織中へ広範に分布した。組織への分布について、雌雄間の性差を示す明確な又は一貫したエビデンスは認められなかった。IT 投与後の成熟及び幼若サルの肝臓及び腎臓などの全身組織中の濃度は、脊髄中及び大脳皮質中濃度の範囲内にあり、このことは投与された ISIS 396443 が高い割合で CSF から全身循環へ移行したことと整合していた。成熟サルと幼若サルのいずれでも、ISIS 396443 は CNS 及び全身組織から緩徐に消失すると考えられる。CNS 中推定終末相消失半減期（$t_{1/2}$）の中央値は、成熟サル（396443-APK01 試験）と幼若サル（396443-AS06 試験）との間で同様であり、それぞれ 116 日（74～275 日）及び 174 日（117～195 日）であり、CSF 中の終末相消失半減期（102～111 日）とも同様であった。CNS 組織中濃度は CSF 中濃度より高かったが、消失半減期は同様であったことから、ISIS 396443 は CSF と CNS 組織との間で一定の濃度比率で平衡状態に達すると考えられる。妊娠マウス及びウサギに SC 投与後、胎児肝臓に ISIS 396443 への曝露が認められなかったことから、ISIS 396443 は胎盤を通過して胚又は胎児に移行しにくいと考えられる（396443-AS08 試験、396443-AS09 試験）。

直接的な IT 投与によって脊髄及び脳に高い分布を認めたが、IT 投与後及び IV 投与後の血漿、腎皮質及び肝臓中薬物濃度を比較した結果、ISIS 396443 が CNS から血漿に移行する前の CNS 内での代謝クリアランスはわずかであることが示唆された（396443-APK01 試験）。基本的に、ISIS 396443 は IT 投与後最終的に血漿中へ完全に移行するため（396443-APK01 試験）、投与経路に関係なく肝臓及び腎臓中での薬物濃度は同様になる。

ISIS 396443 は、マウス、サル及びヒトの全血漿タンパクとの結合率が高いため（>94%）、糸球体でろ過されず（尿中排泄が制限され）、したがって全身組織への分布が促進される。ISIS 396443 は、CSF タンパクにも結合するが（サル及びヒト）、CSF 中のタンパク質含量の低さを反映し、その結合率は大幅に低い（5 μg/mL では 25%未満、150 μg/mL では 0%）（396443-IS04 試験、396443-IS05 試験、396443-IS06 試験）。

サルへ反復 IT 投与後の CSF、血漿及び臓器・組織（腰髄、大脳皮質、肝臓及び腎臓）中に存在する ISIS 396443 及び関連代謝物の同定及びプロファイリングを行ったところ、未変化 ISIS 396443 がオリゴヌクレオチド（ASO）の中で最も多く検出され、CSF 中では全 ASO の 100%、血漿では

95%超、CNS 及び全身組織では 79～81%を占めていた。CSF、血漿及び組織中に検出された代謝物は短鎖 ASO であり、血漿中では 3’-末端からの N-1 代謝物のみが、組織では 3’-末端からの N-1、N-2、N-3 及び N-4 代謝物、並びに 5’-末端からの N-1、N-2 及び N-3 代謝物が同定され、また CSF 中には代謝物は検出されなかった。このような、ISIS 396443 の代謝物は、エキソヌクレアーゼ（3’-及び 5’-エキソヌクレアーゼ）による加水分解により生成したものと考えられる。CSF、血漿、CNS 及び全身組織では、代謝物の割合が未変化 ISIS 396443 より非常に少なく、このことは ASO のエキソヌクレアーゼによる緩徐な代謝と整合していた（396443-IS07 試験）。凍結保存ヒト初代培養肝細胞の培養系を用いた *in vitro* 試験では、ISIS 396443 は CYP450 を介する酸化的代謝を誘導又は阻害しないことが示されており（396443-IS13 試験、396443-IS14 試験）、したがってこの代謝経路に関して他の薬剤と競合することはないと考えられる。

非臨床試験において ISIS 396443 の尿中排泄は評価していない。ISIS 396443 と類似の ASO では、組織中でエキソヌクレアーゼによる緩徐な代謝を受けた後、短鎖オリゴヌクレオチドとして主に尿中に排泄されるものの、未変化体はほとんど尿中に排泄されないことが報告されており（Geary 2003）、ISIS 396443 でも同様と予想される。

全体として、ISIS 396443 の消失速度は CSF（$t_{1/2}$：102～111 日）と脊髄組織（$t_{1/2}$：115～138 日）中とで同様であったことから、CSF 中及び脊髄組織中の濃度は分布相後に平衡状態に達した可能性が高く、このことは CSF 中濃度を脊髄組織中濃度の代替方法（サロゲート）として使用できる可能性を示唆した。サルで観察された CSF 及び CNS 組織中での長い消失半減期から、臨床での IT 投与の長期投与間隔の妥当性が裏付けられる。

表 1　　ISIS 396443 の非臨床薬物動態試験の概要

試験番号及び表題	動物種	用法・用量 [a]	主な知見
サルにおける ISIS 396443 の単回投与後の CSF 中及び血漿中の薬物動態特性			
カニクイザルを用いた ISIS 396443 の単回スローボーラス腰部髄腔内（IT）投与毒性及び薬物動態試験におけるトキシコキネティクス 評価資料［4.2.3.1-1］ 396443-AS01	カニクイザル	1 、3 又は 7 mg、IT 投与	IT 投与後、ISIS 396443 の CSF 中及び血漿中薬物濃度はいずれも多相性に低下し、急速な分布相に続いて 1 相以上の多相性のより緩徐で持続した消失相（分布後相）を伴っていた。試料採取期間（約 70 日）が CSF 中の消失半減期（100 日超）よりも短かったため、本試験では CSF 中の消失半減期を正確に推定することができなかった ● CSF 中対血漿中濃度比：IT 投与後 2～48 時間後にかけて 95～524
サルにおける ISIS 396443 の反復投与後の CSF 中及び血漿中の薬物動態特性			
カニクイザルを用いた ISIS 396443 の 3 週間複数回腰部 IT ボーラス投与薬物動態試験における薬物動態 参考資料［4.2.2.2-1］ 396443-APK01	カニクイザル	1 mg、IT 投与又は 1 mg、IV 投与	IT 投与後、ISIS 396443 の CSF 中及び血漿中薬物濃度はいずれも多相性に低下し、急速な分布相に続いて 1 相以上の多相性のより緩徐で持続した消失相（分布後相）を伴っていた。 ● CSF 中の消失半減期=102 日 ● 血漿中の消失半減期=52.2 日
幼若カニクイザルを用いた ISIS 396443 の 14 週間複数回腰部 IT ボーラス投与毒性試験におけるトキシコキネティクス（4 週目中間剖検及び 12 週間回復期間を含む） 評価資料［4.2.3.2-1］ 396443-AS03	カニクイザル	0.3、1 又は 3 mg、IT 投与	複数回反復 IT 投与後、ISIS 396443 の CSF 中及び血漿中濃度は用量依存的であり、最大血漿中濃度及び総血漿曝露量は複数回の投与により増加しなかった。IT 投与後、ISIS 396443 の血漿中濃度は多相性に低下し、急速な分布相に続いて 1 相以上の多相性のより緩徐で持続した消失相（分布後相）を伴っていた。 血漿中の消失半減期=34.5 日 分布後 CSF 対血漿中濃度比=3.0～8.1

表 1　　ISIS 396443 の非臨床薬物動態試験の概要（続き）

試験番号及び表題	動物種	用法・用量 [a]	主な知見
幼若カニクイザルを用いた 1 年間（53 週間）の反復投与毒性試験における ISIS 396443 のトキシコキネティクス（26 週間回復期間を含む） 評価資料［4.2.3.2-2］ 396443-AS06	カニクイザル	0.3、1 又は 4 mg、IT 投与	反復 IT 投与後、CSF 中及び血漿中曝露量は用量依存的であり、最大血漿中濃度及び総血漿曝露量は反復投与により増加しなかった。IT 投与後、ISIS 396443 の血漿中濃度は多相性に低下し、急速な分布相に続いて 1 相以上の多相性のより緩徐で持続した消失相（分布後相）を伴っていた。抗 ISIS 396443 抗体の産生による、CSF 中及び CNS 組織中濃度への影響は認められなかった。 ● CSF 中の消失半減期=111 日 ● 血漿中の消失半減期=55.8 日
サルにおける単回投与後の ISIS 396443 の組織分布			
カニクイザルを用いた ISIS 396443 の単回スローボーラス腰部 IT 投与毒性及び薬物動態試験におけるトキシコキネティクス 評価資料［4.2.3.1-1］ 396443-AS01	カニクイザル	1、3 又は 7 mg、IT 投与	IT 投与後、ISIS 396443 は CNS 組織に広範に分布し、CNS 及び肝臓中濃度は用量依存的であった。ISIS 396443 は、CNS 及び肝臓から緩徐に消失したが、試料採取期間（約 70 日）が CNS 組織中の消失半減期（中央値：116～174 日）よりも短かったため、本試験では CNS 中の消失半減期を正確に推定することができなかった。 ● 肝臓での消失半減期=12.2 日

表 1　　ISIS 396443 の非臨床薬物動態試験の概要（続き）

試験番号及び表題	動物種	用法・用量 [a]	主な知見
サルにおける反復投与後の ISIS 396443 の組織分布			
カニクイザルを用いた ISIS 396443 の複数回腰部 IT ボーラス投与薬物動態試験における薬物動態 参考資料［4.2.2.2-1］ 396443-APK01	カニクイザル	1 mg、IT 投与、又は 1 mg、IV 投与	IT 投与後、ISIS 396443 は CNS 組織中に広範に分布し、分布後の CSF 中及び CNS 組織中濃度は平衡状態に達し、両組織間で同様な終末相消失半減期を示した。この長い終末相消失半減期により、臨床での長期投与間隔の妥当性が裏付けられる。 ● CNS 中消失半減期の中央値=116 日（範囲：74.4～275 日） IT 及び IV 投与後の腎臓及び肝臓の ISIS 396443 への曝露量は同様であり、IV 投与時に対する IT 投与時の曝露量比は 0.9～1.3 であったことから、IT 投与後の ISIS 396443 の全身バイオアベイラビリティは 100%であったと考えられる。
幼若カニクイザルを用いた ISIS 396443 の 14 週複数回腰部 IT ボーラス投与毒性試験におけるトキシコキネティクス（4 週目中間剖検及び 12 週間回復期間を含む） 評価資料［4.2.3.2-1］ 396443-AS03	カニクイザル	0.3、1 又は 3 mg、IT 投与	IT 投与後、ISIS 396443 は CNS 組織中に広範に分布し、CNS 組織及び肝臓中薬物濃度は用量依存的であった。 ISIS 396443 は、CNS 組織及び肝臓から緩徐に消失した。また、試料採取期間にわたり CNS 組織中濃度が低下しなかったことから、消失半減期は非常に長いと考えられる。 ● 肝臓での消失半減期=約 20 日
幼若カニクイザルを用いた 1 年間（53 週間）反復投与毒性試験における ISIS 396443 のトキシコキネティクス（26 週間回復期間を含む） 評価資料［4.2.3.2-2］ 396443-AS06	カニクイザル	0.3、1 又は 4 mg、IT 投与	IT 投与後、ISIS 396443 は CNS 組織中に広範に分布し、CNS 組織中及び全身組織中薬物濃度は用量依存的であった。 ISIS 396443 は、CNS 組織及び全身組織から緩徐に消失した。 CNS での消失半減期の中央値=174 日（範囲：117～195 日） ● 肝臓での消失半減期=23.4 日 ● 腎臓での消失半減期=34.5 日

表 1　　ISIS 396443 の非臨床薬物動態試験の概要（続き）

試験番号及び表題	動物種	用法・用量 [a]	主な知見
CSF 中及び血漿中タンパク結合			
ヒト及びサル血漿中 ISIS 396443 タンパク結合率の、限外ろ過膜を用いた *in vitro* 評価 評価資料［5.3.2.1-1］ 396443-IS04	ヒト及びカニクイザルの血漿	0.1 又は 5 µg/mL、*in vitro*	ヒト及びサルの両種について、検討した 2 濃度（0.1 及び 5 µg/mL）で、ISIS 396443 は高い血漿タンパク結合率（>94%）を示した。
ヒト及びサル CSF 中 ISIS 396443 タンパク結合率の、限外ろ過膜を用いた *in vitro* 評価 評価資料［5.3.2.1-2］ 396443-IS05	ヒト及びサルの CSF	5 又は 150 µg/mL、*in vitro*	成人及び成熟サルの CSF 中での ISIS 396443 のタンパク結合率は非常に低く、5 µg/mL では 15%以下、150 µg/mL では測定不能であった。
血漿中（ヒト、サル及びマウス）並びに CSF 中（ヒト及びサル）ISIS 396443 タンパク結合率の、限外ろ過膜を用いた *in vitro* 評価 評価資料［5.3.2.1-3］ 396443-IS06	ヒト、サル及びマウスの血漿、並びにヒト及びサルの CSF	血漿：0.1 又は 5 µg/mL、*in vitro* CSF：5 又は 150 µg/mL、*in vitro*	評価した 3 種すべて（ヒト、サル及びマウス）について、検討した 2 濃度（0.1 及び 5 µg/mL）で、ISIS 396443 は高い血漿タンパク結合率（>94%）を示した。 一方、CSF 中ではタンパク結合率が大幅に低かった（ヒトでは 5 µg/mL で 25%未満、150 µg/mL で測定不能、サルでは測定不能）。

表 1　　ISIS 396443 の非臨床薬物動態試験の概要（続き）

試験番号及び表題	動物種	用法・用量[a]	主な知見
生殖可能な動物（マウス及びウサギ）における反復投与後の ISIS 396443 の組織分布及び胎盤通過性			
CD-1 マウスを用いた ISIS 396443 の SC 投与による受胎能及び発生毒性の併合試験における組織中薬物濃度 評価資料［4.2.3.5.1-1］ 396443-AS08	CD-1 マウス	3、10 又は 25 mg/kg、SC 投与	3 及び 10 mg/kg 投与群の妊娠雌マウスの胎盤では、ISIS 396443 への曝露は認められず、高用量群では、ごく低い曝露（親動物の肝臓での曝露量の 2.3%）が認められた。胎児肝臓では ISIS 396443 への曝露は認められず、ISIS 396443 は胚又は胎児に移行しにくいことが示された。
ニュージーランド白色ウサギを用いた ISIS 396443 の SC 投与による胚・胎児発生毒性試験における組織中薬物濃度 評価資料［4.2.3.5.2-2］ 396443-AS09	ニュージーランド白色ウサギ	6、12.6 又は 25 mg/kg SC 投与	ISIS 396443 は、SC 投与後、中用量及び高用量群の胎盤にのみ低濃度（肝臓中濃度の 9%以下）で検出された。 検討したいずれの用量群でも胎児肝臓中に ISIS 396443 は定量不能であったことから、ISIS 396443 が胚又は胎児に移行しにくいことが示された。
サルにおける反復投与後の CSF、血漿及び組織中での ISIS 396443 の代謝物			
カニクイザル及びヒトから得られた CSF、組織、血漿及び尿検体中の、ISIS 396443 及びその関連代謝物のイオン対 HPLC - エレクトロスプレー/質量分析（IP-HPLC-ES/MSMS）による同定及びプロファイリング 評価資料［5.3.1.4-8］ 396443-IS07	カニクイザル	0.3、1、3 又は 4 mg、IT 投与	検出されたオリゴヌクレオチドのうち ISIS 396443 の割合が最も高く、CSF 中では全オリゴヌクレオチドの 100%、血漿では 95%超、組織では 79～81%を占めていた。代謝物としては短鎖オリゴヌクレオチドが検出され、血漿中では 3’-末端からの N-1 代謝物のみが、また組織中では 3’-末端からの N-1、N-2、N-3 及び N-4、及び 5’-末端からの N-1、N-2 及び N-3 代謝物が同定され、CSF 中には代謝物は検出されなかった。これら代謝物は、主に（3’-及び 5’-）エキソヌクレアーゼによる加水分解により生成したと考えられた。

[a] 全試験で投与した用量は、ISIS 396443 の遊離酸型（分子量 7127）に基づく。

2 分析法

2.1 ISIS 396443 濃度測定のための生体試料分析法

参考資料［5.3.1.4-8］396443-IS07、参考資料［4.2.2.1-1］396443-MV01、参考資料［4.2.2.1-2］396443-MV02、参考資料［4.2.2.1-3］396443-MV03、参考資料［5.3.1.4-3］396443-MV06、参考資料［5.3.1.4-4］396443-MV07、参考資料［4.2.2.1-5］396443-MV11、参考資料［4.2.2.1-6］396443-MV12

サルの CSF、血漿及び組織中の全長 ISIS 396443（未変化体）濃度測定にはハイブリダイゼーション ELISA（Hyb-ELISA）法又はハイブリダイゼーション電気化学発光（Hyb-ECL）法のいずれかを使用した。HPLC 法を用いて、ウサギ及びマウスの生殖器組織における未変化体濃度を測定した。液体クロマトグラフィーとシングル四重極型又はトリプル四重極型いずれかの質量分析計との組み合わせ（HPLC/MS 又は HPLC/MSMS）は、短鎖オリゴヌクレオチドの同定及び定量に用いた（表 2）。なお、Hyb-ELISA、Hyb-ECL、及び IP-HPLC-ES/MSMS の分析法による測定値は、ナトリウム塩（分子量 7518 ダルトン）としての濃度を記載する。

ハイブリダイゼーション後のヌクレアーゼ処理を活用した非競合的 Hyb-ELISA 法又は Hyb-ECL 法を使用し、CSF、血漿及び評価対象組織中の未変化 ISIS 396443 を定量した（表 2）。Hyb-ELISA 及び Hyb-ECL は、薬理作用を示す濃度又は毒性の閾値濃度よりも大幅に低濃度の ISIS 396443 の薬物動態特性を明らかにするのに十分な感度を有する。CSF、血漿及び組織（海馬と腎皮質を除く） 中での ISIS 396443 濃度の測定を、完全にバリデートされた Hyb-ELISA を用いて実施し、試料は米国食品医薬品局の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準（USFDA-GLP）ガイドラインに準拠して分析した。裏付けとなるデータを得るために測定したため、海馬及び腎皮質中濃度の測定には、バリデートされていない Hyb-ELISA 法（バリデートされた Hyb-ELISA と類似した分析法）を用いた。試料採取時点の後半では薬物濃度が低下すると予想されたため、non-GLP サル PK 試験（396443-APK01）から得られた CSF 及び血漿試料中の ISIS 396443 濃度の定量には、バリデートされていない Hyb-ECL 法を用いた。当該 ECL 法は、ヒト CSF 及び血漿試料中の ISIS 396443 濃度の測定について USFDA-GLP ガイドラインに準拠してバリデートされた Hyb-ECL 法と類似している。

USFDA-GLP ガイドラインに準拠してバリデートされた HPLC 法を用いて、マウス生殖器組織中の ISIS 396443 濃度を定量した。この HPLC 法は、裏付けとなるデータを得るために測定したため、ウサギの生殖器中の ISIS 396443 濃度の定量にも使用されたが、ウサギ生殖器の分析については、分析方法の性能は評価されたものの、USFDA-GLP に準拠してバリデートはされなかった。HPLC/MS 法及び HPLC/MSMS 法により、CSF、血漿及び組織中の短鎖オリゴヌクレオチドの同定及び定量を行った。これらの分析方法は USFDA-GLP ガイドラインに準拠してバリデートされていなかったが、厳格な分析方法の基準を満たしているため、CSF、血漿及び組織中濃度の正確な値が得られたと考えられる。すなわち、すべてのクロマトグラフから、ピーク形状及びシグナルノイズ比（s/n 比）が良好であり、検体/キャリブレーターの比は>5:1 であることが確認された。予測した保持時間を一定に維持できなかった、あるいは非対称のピーク形状を示した検体

及びキャリブレーターは測定失敗又は不合格と判定した上で、再測定した。測定結果が報告されたすべての試料の被検物質/IS ピーク面積比は、キャリブレーション試料の被検物質/IS ピーク面積比の範囲内であった。

以上のような厳格な分析性能の基準を満たしていることから、USFDA-GLP 基準に準拠したバリデーションは実施しなかったが、これらの分析法で得た薬物濃度は正確な値であると判断した。

表 2　　ISIS 396443 の開発に用いた生体試料分析法

方法[a]	試料	感度（定量下限）	未変化体に対する選択性の有無	定量範囲[b]	代謝物の定量の可否	定量的又は定性的
Hyb-ELISA（GLP）	CSF、血漿及び組織	1.5 ng/mL（CSF 及び血漿）、15 ng/g（組織）	有	CSF 及び血漿では 1.5～150 ng/mL、組織では 15～1500 ng/g	否	定量的
Hyb-ECL (GLP)	CSF 及び血漿	0.050 ng/mL	有	0.05～10 ng/mL	否	定量的
HPLC	組織	10 µg/g	有	10～1,500 µg/g	可	定量的
HPLC/MSMS（非 GLP）	CSF	25 ng/mL	有	25～500 ng/mL	可	定量的
	血漿	25 ng/mL	有	25～10,000 ng/mL	可	定量的
HPLC/MS（非 GLP）	腎皮質	10 µg/g	有	10～1,500 µg/g	可	定量的
	脳、脊髄及び肝臓	NA[c]	有	NA	可	定性的[a]

[a] 各代謝物の相対含有量は未変化 ISIS 396443 のピーク面積を含めたクロマトグラムの総ピーク面積に対するパーセンテージとして求められる。
[b] 定量範囲は、ISIS 396443 のナトリウム塩（分子量 7501）に基づく。
[c] NA= 該当データなし。
Data source:
HPLC/MSMS: M5.3.1.4-8_Nonclinical and Clinical Report 396443-IS07
Hyb-ELISA: M4.2.2.1-1_Final Report Amendment No.1 396443-MV01
Hyb-ELISA: M4.2.2.1-2_Final Report Ammendment No. 1 396443-MV02
Hyb-ELISA: M4.2.2.1-3_Final Report Amendment No.1 396443-MV03
Hyb-ECL: M5.3.1.4-3_Method Validation Report 396443-MV06
Hyb-ECL: M5.3.1.4-4_Method Validation Report 396443-MV07
HPLC: M4.2.2.1-5_Method Validation Report 396443-MV11
HPLC: M4.2.2.1-6_Method Validation Report 396443-MV12

一般的にハイブリダイゼーション法は、最大の感度、最小のサンプルクリーンアップ、高いスループット、及び高い真度と精度を実現する（Yu 2002; Yu 2004; Yu 2007）。感度及び選択性の高い Hyb-ELISA 法及び Hyb-ECL 法により、CSF、血漿及び組織における ASO の終末消失相を含むあらゆる薬物動態プロファイルの特性を明らかにすることが可能となる。このことにより、PK/薬力学（PD）試験において、組織中濃度との相関性を確認すること、分布相後の血漿中又は CSF 中濃度を使用して曝露－応答関係を確立することが可能となる。これらの Hyb-ELISA 法及び Hyb-ECL 法は、頑健性及び再現性が高いことが示されている。

Hyb-ELISA 法では、両端にそれぞれ標識を付けた相補的配列の DNA プローブを使用した。1 つ目の標識（ビオチン）は分析対象物質を固形支持体（不均一アッセイフォーマット）に結合し、2 つ目の標識（ジゴキシゲニン）は検出のために使用する。ヌクレアーゼに対する感受性の差により、ISIS 396443 とハイブリダイズしたプローブとハイブリダイズしていないプローブとを識別した。次いで、蛍光標識した抗ジゴキシゲニン抗体を、ハイブリダイズしたプローブに結合させ、

蛍光検出を行った。ハイブリダイゼーション後のヌクレアーゼ処理を用いた Hyb-ELISA 法は、CSF、血漿及び組織中の未変化体（ISIS 396443）の定量に用いられるが、この方法は、ある程度、代謝物である鎖長の長い短鎖オリゴヌクレオチド（60～95%が N-1 オリゴヌクレオチド）とも交差反応する可能性があると考えられる。しかし、ヒトの CSF 中に短鎖代謝物は検出されなかった（396443-IS07 試験）。さらに、サルの CSF 試料を Day 36 に分析したところ、代謝物は検出されなかった（IP-HPLC-ES/MSMS による測定）。血漿中に存在する短鎖オリゴヌクレオチドは、微量の N-1 化合物に限られた（サル及びヒトで、それぞれ平均 3%及び 2%）。サルの血漿試料を Day 1、Day 36、及び Day 99 に分析したところ、Day 1 に、未変化体の 0～4.3%の N-1 が確認された。Day 36 では未変化体も代謝物も認められず、Day 99 では N-1 代謝物のみ、2.5～4.2%の濃度で確認された（IP-HPLC-ES/MSMS による測定）。

ISIS 396443 の短鎖配列を有する ISIS 524402（3’末端から N-1 の代謝物）又は ISIS 524403（5’末端から N-1 の代謝物）をサル CSF 又はサル（K_2EDTA）血漿に 30 ng/mL の濃度に添加して 6 回ずつ分析を行い、Hyb ELISA 法における N-1 代謝物の交差反応性を評価した。サル CSF で ISIS 524402 は 93.8%、ISIS 524403 は 65.0%の回収率（396443-MV03 試験報告書 Amendment 1）、サル血漿で ISIS 524402 は 81.5%、ISIS 524403 は 70.9%の回収率（396443-MV01 試験報告書 Amendment 1）で交差反応性を示した。

採取したサルの組織中に存在した短鎖オリゴヌクレオチドは、N-1、N-2 及び N-3 化合物に限られ、検出されたオリゴヌクレオチド中の 78%超は未変化体である全長 ISIS 396443 と同定された。サルの組織中では、検討した全組織で最も多く観察された代謝物は N-1 で、その濃度は 10.14%～21.64%であった。肝組織に含まれる代謝物濃度は、全組織で観察された最低値（10.14%）及び最高値（21.64%）など、最も広範囲であった（IP-HPLC-ES/MSMS による測定）。このことから、N-1 代謝物の組織中濃度は最大 21.64%であり、組織中の未変化体濃度については代謝物の干渉作用を受けている可能性が考えられる。Hyb-ELISA 法は、サルの血漿、組織及び CSF における ISIS 396443 に対し、感度、直線性、再現性、精度、真度及び選択性が高いことが示された（396443-MV01 試験［血漿］、396443-MV02 試験［組織］、396443-MV03 試験［CSF］）。試料中の ISIS 396443 の保存安定性（-80^{o}C）は、サル CSF（209 日）、血漿（214 日）及び組織（193 日）に関して確認した。様々な工程内条件及び凍結融解条件下での ISIS 396443 の安定性も確認した。

Hyb-ECL 法は、相補的配列のプローブを使用する（5’-末端をビオチンで標識した捕捉プローブ、及び 3’-末端をルテニウムで標識した検出プローブ）。捕捉プローブは分析対象物質を固形支持体に結合させるため、検出プローブは検出のために使用された。ECL 法は、CSF 及び血漿中の未変化体（ISIS 396443）を定量するために用いるが、この方法は、ある程度、代謝物である比較的長鎖長の短鎖オリゴヌクレオチド（78～123%が N-1 オリゴヌクレオチド）とも交差反応するため、ISIS 396443 の定量に影響する可能性が考えられる。ECL 法でのこのような影響の有無を、同様な分析方法を用いてヒト血漿試料を用いて検討した（396443-MV06 試験）。本試験では、N-1 短鎖代謝物濃度が ISIS 396443 濃度の 20%のとき、ISIS 396443 の定量への影響が認められ、ISIS 396443 濃度の 5%のとき影響は認められなかった。質量分析計により測定したところ、ヒトの CSF 中に短鎖代謝物は検出されなかった（396443-IS07 試験）。さらに、血漿中の短鎖オリゴヌクレオチドの相対含有量は、サル及びヒトでそれぞれ平均 3%及び 2%に過ぎなかった。よって、本分析方法は CSF 及び血漿試料中の未変化体の定量に対し高い特異性を有する考えられる。ECL 法は、ヒト

の血漿及び CSF 中の ISIS 396443 に対する感度、直線性、再現性、精度、真度及び選択性が高いことが示された（396443-MV06［血漿］試験及び 396443-MV07［CSF］試験）。

HPLC 法、HPLC/MS 法及び HPLC/MSMS 法は、組織試料から ISIS 396443 を 2 段階のプロセスで抽出した後、HPLC、HPLC/MS 又は HPLC/MSMS 装置で分析した。抽出工程では、アンモニウムヒドロキシド及びフェノール：クロロホルム：イソアミルアルコール（25：24：1）での液／液抽出を行った後、固相抽出を行った。これらの試料を、HPLC、HPLC/MS シングル四重極型質量分析計又は HPLC/MS-MS トリプル四重極型質量分析計で分析した。HPLC 法は、全長 ISIS 396443 の定量に使用され、マウス及びウサギ組織中の ISIS 396443 に対する感度、直線性、再現性、精度、真度及び選択性が高いことが示された。肝臓試料中の ISIS 396443 の保存安定性（-80°C で凍結）が確認された（97 日）。HPLC 法に関する詳細は、396443-MV11 試験及び 396443-MV12 試験の報告書に記載した。HPLC/MS 法及び HPLC/MS-MS 法は、代謝物（具体的には短鎖オリゴヌクレオチド）の同定及び相対含有量（%）の測定に用いた。HPLC/MS 法及び HPLC/MS-MS 法の詳細は、396443-IS07 試験の報告書に記載されている。

2.2 免疫原性を測定するための生体試料分析法

参考資料［4.2.2.1-4］396443-MV10

サル血漿試料（396443-AS06 試験）中の抗 ISIS 396443 抗体の有無を ELISA 法により測定した（396443-MV10 試験）。この定性的 ELISA では、5’-末端が遊離アミン型の ISIS 396443 を共有結合により表面に固定化したプレートを使用する。サル血漿試料を 1：50 の割合でブロッキング緩衝液により希釈し、プレートに添加することにより、試料中のサル抗 ISIS 396443 抗体を、固定された遊離アミン型 ISIS 396443 に結合させた。次いで、捕捉された抗 ISIS 396443 抗体を、ホースラディッシュペルオキシダーゼ（HRP）標識組換えプロテイン A 又はプロテイン G を用いて検出した。HRP 存在下で発色団を生成させるため、適切な基質としてテトラメチルベンジジン（TMB）を添加した。発色団の吸光度（A450 nm）は、血漿試料中に存在するサル抗 ISIS396443 IgG/IgM 抗体濃度と相関する。

本分析法は、USFDA-GLP 及び製薬業界で使用されている標準手順（Shankar 2014）に従い、システム適合性、スクリーニングカットポイント（CP）、滴定カットポイント（TCP）、確認カットポイント（CCP）、正規化係数、滴定正規化係数、フック効果、アッセイ感度（LLPC 濃度）、陽性対照でのアッセイ間及びアッセイ内精度、感度、drug tolerance、特異性、確認用陽性対照のアッセイ間精度、抗体価精度、及び安定性を評価することによりバリデートした。本分析法を評価した結果の概要を表 3 に示す。

表 3　　抗 ISIS 396443 抗体測定のための免疫原性試験法の概要

パラメータ	結果
システム適合性、フック効果、抗体価精度及び安定性	適合
スクリーニングカットポイント	0.079
滴定カットポイント	0.082
確認カットポイント	15.3%
正規化係数	1.305
滴定正規化係数	1.354
感度	60 ng/mL
Drug tolerance	8.0 µg/mL 以下で LPC 陽性反応が検出された。 16.0 µg/mL 以下で PC、MPC 及び HPC 陽性反応が検出された。

LPC = 低陽性対照（150 ng/mL）、PC = 陽性対照、MPC = 中陽性対照（1,000 ng/mL）、HPC = 高陽性対照（10,000 ng/mL）
Data source: M4.2.2.1-4_Appendix 5_Method Validation Summary

本免疫原性試験法は、選択性及び特異性が高く、溶血による干渉を受けないことが示され、試料を凍結状態で 24 時間まで及び完全に融解した状態で 12 時間までの短期保存安定性が確認された。

3 吸収

サルでの ISIS 396443 への曝露量及び組織分布を、以下に示す毒性試験及び薬物動態試験 4 試験で CSF 及び血漿中の薬物動態を評価することにより検討した。

- 成熟カニクイザルを用いた単回 IT ボーラス投与毒性試験（396443-AS01 試験）
- ISIS 396443 の長期間の半減期を検討するための、成熟カニクイザルを用いた 3 週間複数回 IT 及び IV ボーラス投与薬物動態試験（396443-APK01 試験）
- 幼若カニクイザルを用いた 14 週間反復 IT ボーラス投与毒性試験（396443-AS03 試験）
- 幼若カニクイザルを用いた 53 週間反復 IT ボーラス投与毒性試験（396443-AS06 試験）。

3.1 成熟カニクイザルを用いた単回投与毒性及び薬物動態試験（396443-AS01 試験）

評価資料［4.2.3.1-1］396443-AS01

成熟サルに単回 IT ボーラス投与後、CSF 及び血漿中 ISIS 396443 の薬物動態を検討した。当該試験では、雄及び雌に溶媒（人工 CSF、用量群 1）又は ISIS 396443（人工 CSF で希釈調製、用量群 2～4）のいずれかを投与した。腰髄腔内に外科的に留置したカテーテルを用いて、1、3 及び 7 mg の ISIS 396443 を 3 分間かけて単回ボーラス IT 投与した。第 2 のカテーテルは、CSF の採取のみを目的とし、用量群 3 の一部のサルの腰髄腔内に留置した。IT 投与後、ISIS 396443 の CSF 中及び血漿中薬物濃度はいずれも多相性に低下し、急速な分布相に続いてより緩徐で持続した消失相（分布後相）を伴っていた。CSF 及び血漿中間でのこのような薬物動態の類似性は、主に組織への速やかな取り込み、及び CSF 中から全身循環への移行に起因している。CSF 中濃度は、IT ボーラス投与後の 0.25 時間（最初の測定時点）で最高値に達し、血漿中濃度は、投与後の 2～5 時間で最高値に達した。

3.1.1 成熟サルでの CSF 中薬物濃度

サルへの単回 IT ボーラス投与後、CSF 中濃度を測定した。成熟サルに単回 IT ボーラス投与後 7 日目に測定された平均 CSF 中濃度は用量依存的で、ほぼ用量に比例して増加した（表 4）。3 mg の単回 IT ボーラス投与後、CSF 中濃度は投与後 15 分以内に最高値に達し、その後に急速に低下した（投与の 24～48 時間後にかけて、表 5、図 1）。これは、ISIS 396443 の CNS 組織への分布、及びそれに続く CSF のターンオーバーを介した全身循環への移行に起因する。IT 投与後、ISIS 396443 の一部は初期に CSF から CNS 組織へ急速に分布し、次いで残存する ISIS 396443 が投与後 48 時間以内に全身循環へ移行することを表す指標として、平均滞留時間（$MRT_{0\text{-}48hr}$）を求めた。サルへ 3 mg IT 投与後の平均 $MRT_{0\text{-}48hr}$ は 4.3～7.7 時間であった（表 5）。また、算出した部分 AUC 値（$AUC_{0\text{-}12hr}$、$AUC_{0\text{-}24hr}$ 及び $AUC_{0\text{-}48hr}$）がほぼ同等であることから、CSF の ISIS 396443 への曝露量の大部分は投与後 12 時間以内に観察されることが示された（表 5）。平均血漿中濃度に対する CSF 中濃度比は、7 mg IT 投与後の 2～48 時間では 95～524 であり（図 1）、投与 7 日後には約 18 にまで低下した（初期分布相後）。初期の急速な分布相の後、CSF からの ISIS 396443 のクリアランスは非常に緩徐であり、消失半減期は約 11 日であった。しかし、本試験での試料採取時間は、ISIS 396443 の長い終末相半減期を正確に評価するには不十分であったため、この消失

半減期は、実際の半減期よりも過小評価されている可能性が高く、他の試験から報告された半減期値と比較した上で解釈すべきである。投与後 48 時間で求めた ISIS 396443 の CSF クリアランス（2.0 mL/hr；成熟サルへ 3 mg IT ボーラス投与；表 4）は、既知の CSF ターンオーバー速度（1.8～2.4 mL/時間；Artru 1999）と同等であり、このことは CSF でのクリアランスの大部分が CSF ターンオーバーによることを示している。しかしながら、ISIS 396443 濃度は CNS 組織中で測定可能であったことから、ISIS 396443 は一定の割合で CNS 組織にも取り込まれると考えられる（4 項）。

表 4　　成熟サルにおける単回 IT ボーラス投与後 7 日目の CSF 中での平均 ISIS 396443 濃度（±SD）

用量	性別	N	ISIS 396443 (ng/mL)
1 mg	雄	3	9.89 ± 3.52
1 mg	雌	3	10.5 ± 6.87
1 mg	雌雄	6	10.2 ± 4.89
3 mg	雄	3	56.6 ± 49.6
3 mg	雌	3	35.2 ± 44.7
3 mg	雌雄	6	45.9 ± 43.8
7 mg	雄	3	79.9 ± 3.1
7 mg	雌	3	48.3 ± 45.1
7 mg	雌雄	6	64.1 ± 33.4

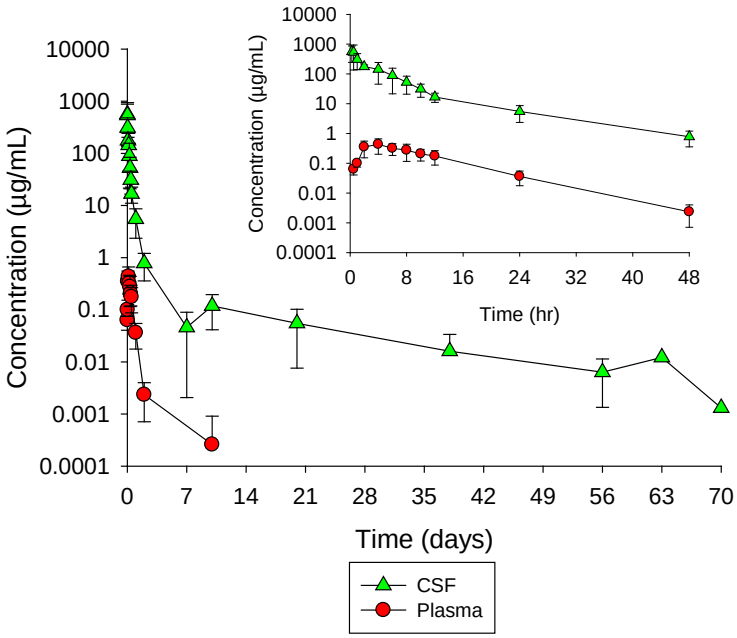
Data source: M4.2.3.1-1_Appendix F_Pharmacokinetics (PK) Reprot_Table A

表 5　　成熟サルにおける単回 IT ボーラス投与後の CSF 中 ISIS 396443 の薬物動態パラメータ

用量	性別	パラメータ	単位	N	平均 ± SD	中央値（範囲）
3 mg	雄	$AUC_{0\text{-}12hr}$	hr*µg/mL	5	1129 ± 189	1146 (877-1329)
	雌	$AUC_{0\text{-}12hr}$	hr*µg/mL	3	2034 ± 936	2277 (1000-2824)
	雌雄	$AUC_{0\text{-}12hr}$	hr*µg/mL	8	1468 ± 700	1215 (877 - 2824)
3 mg	雄	$AUC_{0\text{-}24hr}$	hr*µg/mL	5	1303 ± 253	1404 (977-1584)
	雌	$AUC_{0\text{-}24hr}$	hr*µg/mL	3	2205 ± 1058	2388 (1067-3159)
	雌雄	$AUC_{0\text{-}24hr}$	hr*µg/mL	8	1641 ± 758	1425 (977 - 3159)
3 mg	雄	$AUC_{0\text{-}48hr}$	hr*µg/mL	5	1415 ± 321	1543 (1033-1804)
	雌	$AUC_{0\text{-}48hr}$	hr*µg/mL	3	2264 ± 1087	2445 (1098-3250)
	雌雄	$AUC_{0\text{-}48hr}$	hr*µg/mL	8	1734 ± 768	1552 (1033 - 3250)
3 mg	雄	$CL_{csf,0\text{-}48hr}$ [a)]	mL/hr	5	2.21 ± 0.53	1.94 (1.66-2.90)
	雌	$CL_{csf,0\text{-}48hr}$ [a)]	mL/hr	3	1.63 ± 0.97	1.23(0.92-2.73)
	雌雄	$CL_{csf,0\text{-}48hr}$ [a)]	mL/hr	8	1.99 ± 0.720	1.93 (0.920 - 2.90)
3 mg	雄	C_{max}	µg/mL	5	410 ± 77	404 (322-526)
	雌	C_{max}	µg/mL	3	893 ± 509	1053 (323-1304)
	雌雄	C_{max}	µg/mL	8	592 ± 374	420 (322 - 1304)
3 mg	雄	$MRT_{0\text{-}48hr}$	hr	5	5.91 ± 1.17	5.94 (4.56-7.70)
	雌	$MRT_{0\text{-}48hr}$	hr	3	4.55 ± 0.41	4.36 (4.28-5.02)
	雌雄	$MRT_{0\text{-}48hr}$	hr	8	5.40 ± 1.15	5.15 (4.28 - 7.70)
3 mg	雄	T_{max}	hr	5	0.25 ± 0	0.25 (0.25-0.25)
	雌	T_{max}	hr	3	0.42 ± 0.14	0.50 (0.25-0.50)
	雌雄	T_{max}	hr	8	0.310 ± 0.120	0.250 (0.250 - 0.500)
3 mg	雄	$t_{1/2}$ [b)]	days	-	-	-
	雌	$t_{1/2}$ [b)]	days	-	-	-
	雌雄	$t_{1/2}$ [b)]	days	-	11.35	-

[a] $CL_{csf,0\text{-}48hr}$ =用量(mg)/$AUC_{0\text{-}48hr}$ (hr*µg/mL) x 1000
[b] 半減期は、Phoenix WinNonlin のスパースサンプリング関数を用いて求めたため、単一の値のみを報告している。
Data source: M4.2.3.1-1_Appendix F_Pharmacokinetics (PK) Report Amendment 1_Table 7

図 1　　成熟サルにおける 3 mg 単回 IT ボーラス投与後の CSF 及び血漿中平均 ISIS 396443 濃度（± SD）の推移



Data source: M4.2.3.1-1_Appendix F_Pharmacokinetics (PK) Report_Figure 1

3.1.2　　成熟サルにおける血漿中薬物濃度

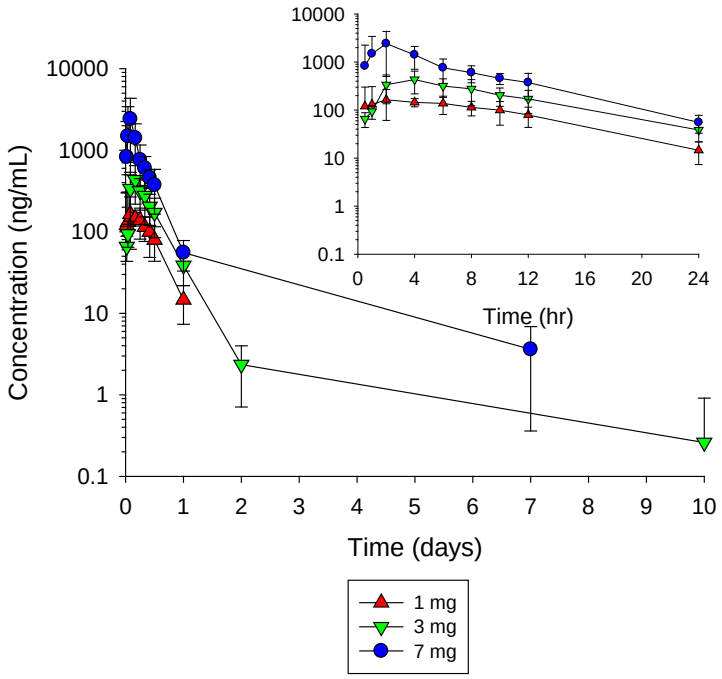
サルへ単回 IT ボーラス投与した後、血漿中薬物濃度を測定した。成熟サルでの血漿曝露量は、用量依存的で、ほぼ用量に比例して増加した。また、平均 $AUC_{0\text{-}24hr}$ 値は用量の増加（7 倍）に比例して増加し（7.2 倍）、平均 C_{max} 値は、同様の用量増加に対し用量比をやや上回る増加（11.8 倍）を示した（表 6）。血漿中濃度は、IT ボーラス投与後約 2～5 時間以内に最高値に達し、その後、投与後 24～48 時間にかけて急速に低下し（分布相）、続いて、より緩徐な消失（分布後）相を伴い低下した（図 2）。

表 6　　成熟サルにおける単回 IT ボーラス投与後の ISIS 396443 血漿中薬物動態パラメータ

用量 (mg)	性別	C_{max} (µg/mL)		T_{max} (hr)		$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr*µg/mL)		CL/F (mL/hr)[a)]	
		N	平均 ± SD	N	中央値（範囲）	N	平均 ± SD	N	平均 ± SD
1	雄	3	0.162 ± 0.025	3	6 (4 - 10)	3	1.92 ± 0.493	3	550 ± 166
	雌	3	0.282 ± 0.178	3	4 (1 - 6)	3	2.14 ± 0.368	3	476 ± 83.2
	雌雄	6	0.222 ± 0.131	6	5 (1.0 - 10)	6	2.03 ± 0.408	6	513 ± 124
3	雄	8	0.438 ± 0.165	8	4 (2 - 8)	8	4.76 ± 1.486	8	697 ± 251
	雌	5	0.483 ± 0.294	5	4 (2 - 4)	5	4.10 ± 2.42	5	893 ± 371
	雌雄	13	0.455 ± 0.213	13	4 (2 - 8)	13	4.50 ± 1.83	13	772 ± 304
7	雄	3	1.206 ± 0.479	3	4 (2 - 4)	3	12.0 ± 3.85	3	621 ± 170
	雌	3	4.02 ± 1.77	3	2 (1 - 2)	3	17.1 ± 3.456	3	420 ± 86.3
	雌雄	6	2.61 ± 1.93	6	2 (1 - 4)	6	14.6 ± 4.32	6	521 ± 163

[a] CL/F = 用量 (mg)/($AUC_{0\text{-}24hr}$/1000)
Data source: M4.2.3.1-1_Appendix F_Pharmacokinetics Report_Table 3

図 2　　成熟サルにおける 1、3 又は 7 mg 単回 IT ボーラス投与後の血漿中平均 ISIS 396443 濃度（± SD）の推移



Data source: M4.2.3.1-1_Appendix F_Pharmacokinetics Report_Figure 2

3.2　　成熟カニクイザルを用いた複数回投与薬物動態試験（396443-APK01 試験）

参考資料［4.2.2.2-1］396443-APK01

成熟サルに 3 週間複数回 IT 及び IV ボーラス投与後の CSF 及び血漿中における ISIS 396443 の薬物動態を検討した。この 3 週間複数回投与試験では、サルの雄 17 例には腰部留置カテーテルを介した 4 回の腰部 IT 投与、雄 3 例には 4 回の IV ボーラス投与をそれぞれ 1 mg/回で Day 1、8、15 及び 22 に行った。CSF 中及び血漿中薬物濃度はいずれも IT 投与後に多相性に低下し、単回 IT 投与後と同様に、急速な分布相に続いてより緩徐で持続した消失相（分布後相）を伴っていた。CSF 濃度は、IT 投与後 1 時間（最初の測定時点）で最高値に達したのに対し、血漿中濃度は IT 投与後 4 時間時点でに最高値に達した。IT 投与によって脊髄及び脳組織に高い分布を認めたが、IT 投与後及び IV 投与後血漿中濃度を比較した結果、ISIS 396443 が最終的に CNS から全身循環へと移行する前に CNS 内でのわずかな代謝クリアランスが示唆された。

3.2.1　　成熟サルにおける CSF 中薬物濃度

サルにおける 2 回目の IT 投与の投与前から 4 回目の投与時の間に採取した CSF 中の薬物濃度の中央値は、1 回目の投与から 3 回目の投与の間の CSF 濃度の中央値の約 2.5 倍であった（表 7）。CSF 中濃度の最高値は、4 回目の IT 投与後の最初の測定時点（1 時間）で認められ、その後 CNS 組織への分布及び CSF ターンオーバーを介した全身循環への移行により、急速かつ多相性に低下

した。4 回目の IT 投与直後に認められた最高 CSF 濃度値は、投与後 48～168 時間にかけて急速に低下した。CSF からの終末相での消失は非常に緩徐であり、推定終末相消失半減期は 102 日間であった（4 項）。投与終了の約 1 年後までの各時点で長い消失半減期を評価するに十分な多くの試料が採取されたことから、本薬物動態試験における半減期値は、CSF 中の消失半減期の最も代表的な推定値と考えられる。

表 7　　成熟サルにおける 1 mg の単回及び複数回 IT 投与、並びに IV ボーラス投与後の CSF 中 ISIS 396443 濃度の概要

投与群	経路	投与回	試料採取日	前回投与からの期間（hr）	ISIS 396443 濃度（μg/mL）		
					N	平均値 ± SD	中央値（範囲）
2	IT	0	1	0	16	BLQ	BLQ
		1	8	0	15	0.116 ± 0.146	0.0507 (0.00557 - 0.465)
		2	15	0	15	0.105 ± 0.0902	0.0687 (0.0186 - 0.347)
		3	22	0	15	0.134 ± 0.0879	0.128 (0.0309 - 0.330)
		4	22	1	4	119 ± 30.4	109 (94.8 - 163)
		4	22	4	4	47.0 ± 16.5	43.2 (32.5 - 69.1)
		4	22	12	4	17.9 ± 7.57	15.4 (12.2 - 28.4)
		4	24	48	4	2.65 ± 1.15	2.77 (1.39 - 3.67)
		4	29	168	8	0.179 ± 0.0801	0.164 (0.0662 - 0.316)
		4	85	1512	7	0.0326 ± 0.0131	0.0367 (0.0153 - 0.0542)
		4	183	3864	7	0.0183 ± 0.0183	0.0111 (0.00151 - 0.0498)
		4	253	5544	7	0.0118 ± 0.0117	0.0124 (0.000149 - 0.0310)
		4	365	8232	4	0.00534 ± 0.00571	0.00367 (0.000868 - 0.0131)
1	IV	4	29	168	3	BLQ	BLQ

Data source: M4.2.2.2-1_Appendix C_Nonclinical PK Report_Table 1

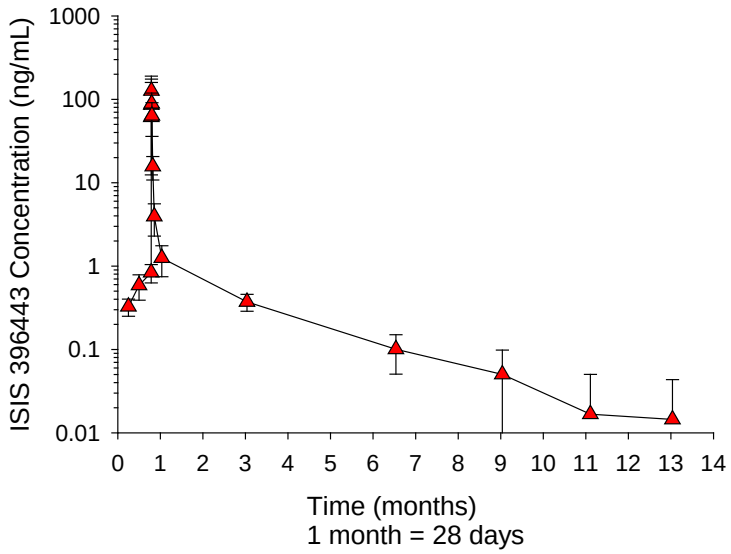
3.2.2　　成熟サルにおける血漿中薬物濃度

IT 投与後、ISIS 396443 は CSF から血漿に急速に移行した。Day 22 の 4 回目（最終投与日）の投与後、1～8 時間（T_{max} 中央値=4 時間）時点で最高血漿中濃度が認められた。最高濃度到達後、ISIS 396443 濃度は投与後 24 時間にかけて急速に低下し（分布相）、その後、より緩徐な消失相（分布後相）を伴い低下した（表 8 及び図 3）。分布後期間での血漿から完全に消失するまでの期間は非常に長く、CSF 及び CNS 組織で観察された消失期間とほぼ同様であったが、血漿中の平均推定終末相消失半減期（$t_{1/2}$）（52.2 日）は、CSF 中の平均半減期（102 日）よりも幾分短かった（4 項）。サルに ISIS 396443 の IT 投与したとき、1、2 及び 3 回目の投与後 168 時間時点での平均血漿中濃度は、反復投与により約 2.9 倍までの蓄積を示した（図 3）。

サルに IT 投与したときの ISIS 396443 の全身への移行の程度を、4 回目の IT 及び IV ボーラス投与後 7 日間の血漿、腎皮質及び肝臓における薬物動態を比較することにより検討した。IT 及び IV 投与後の血漿中 AUC 値を表 8 に示す。IV 投与群の $AUC_{0\text{-}24hr}$ と $AUC_{0\text{-}168hr}$ 値は、22 日目の投

与後 1 時間時点以降の試料しか採取されなかったことから、過小評価されている可能性が高い。396443-IS07 試験では、N-1 代謝産物のみが検出され、その量は親化合物の 10～15%であったことから、中枢神経系からの ISIS 396443 の消失は低いことが示唆される。

図 3　　成熟サルにおける Day 1、8、15 及び 22 での 1 mg 単回及び複数回 IT ボーラス投与後の血漿中平均薬物濃度（± SD）の推移



Data source: M4.2.2.2-1_Appendix C_Nonclinical PK Report_Figure 2

表 8　　1 mg の複数回 IT 及び IV ボーラス投与後の血漿中薬物動態パラメータ

PK パラメータ	N	IT-腰部	N	IV
C_{max} (µg/mL)	17	0.154 ± 0.114	3	0.367 ± 0.0440
T_{max} (hr)[a]	17	4 (1 - 8)	3	1 (1 - 1)
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (µg*hr/mL)	17	1.53 ± 0.441	3	0.720 ± 0.0662
$AUC_{0\text{-}168hr}$ (µg*hr/mL)	17	2.07 ± 0.532	3	1.02 ± 0.163

値は、平均値 ± SD
[a] T_{max} 値は中央値（範囲）
Data source: M4.2.2.2-1_Appendix C_Nonclinical PK Report_Table 4

3.3　　幼若カニクイザルを用いた 14 週間複数回投与毒性試験（396443-AS03 試験）

評価資料［4.2.3.2-1］396443-AS03

幼若サルにおける 14 週間複数回 IT ボーラス投与後の CSF 及び血漿中の ISIS 396443 の薬物動態を検討した。幼若サルを用いた 14 週間複数回投与試験では、雌雄のサルに溶媒（人工 CSF、用量群 1）又は ISIS 396443（0.3、1 及び 3 mg、それぞれ用量群 2、3 及び 4）のいずれかを投与した。 腰髄腔内に外科的に留置したカテーテルを用い、溶媒又は ISIS 396443 を週 1 回 3 分間のボーラス注射により計 5 回投与し、その後は Day 99 まで隔週（用量群 1～3）又は毎週（用量群 4）投与した。

3.3.1 幼若サルにおける CSF 中薬物濃度

5 回目及び 10 回目（又は 15 回目）の IT ボーラス投与の 7 日後に、大槽及び腰髄腔両方から採取した CSF 中に検出された ISIS 396443 の分布後 CSF 中濃度の平均値は、用量範囲全体にわたりほぼ用量依存的に増加した。すべての投与群及び試料採取時点で、試料採取部位間での CSF 中濃度はほぼ同様であり、このことから、ISIS 396443 は投与後 7 日以内に CSF 全体に分布したことが示唆される。しかしながら、全体的に個体間のばらつきが大きく、そのため本試験結果の解釈を幾分困難とした(表 9)。投与 7 日後に採取された CSF 中の分布後 ISIS 396443 濃度の平均値は、Day 36（5 回目の投与）から Day 106（10 又は 15 回目の投与）の間で全体的に同等であったが、用量群によっては増加（用量群 2 及び 4）又は減少（用量群 3）が認められた。回復期間中（3 mg/回投与群)、ISIS 396443 の分布後 CSF 中平均濃度は数分の一（約 1/4～1/5）まで見かけ上低下したが（表 9、Day106～183)、CNS 組織中平均濃度には、ほとんど又は全く変化が認められなかった（4 項)。CSF と CNS 組織中での薬物濃度低下に認められた違いは、恐らく投与後の CNS 組織の試料採取時点が少なかったことによるものと考えられ（Day 106 及び 183 の 2 時点)、したがって、上述のデータは ISIS 396443 について収集されたすべてのデータと比較した上で解釈すべきである。CSF 及び CNS 組織中での ISIS 396443 消失速度のより適切な比較は、396443-APK01 試験及び 396443-AS06 試験で得られている。

表 9　幼若サルにおける複数回 IT ボーラス投与後（5 回目、10 回目［又は 15 回目］投与の 7 日後）、及び回復期間中の CSF 中 ISIS 396443 濃度の概要

用量	性別	試験日	投与回数	CSF 試料採取部位			
					大槽		腰髄腔
				N	ISIS 396443[a] (ng/mL)	N	ISIS 396443[a] (ng/mL)
0.3 mg	雄	36	5	3	3.95 ± 3.43	3	6.82 ± 10.4
	雌	36	5	3	5.49 ± 3.49	2	-
	雌雄	36	5	6	4.72 ± 3.21	5	10.4 ± 12.7
0.3 mg	雄	106	10	3	16.0 ± 5.44	2	-
	雌	106	10	3	15.1 ± 8.51	2	-
	雌雄	106	10	6	15.6 ± 6.41	4	15.2 ± 9.84
1 mg	雄	36	5	3	57.4 ± 52.8	2	-
	雌	36	5	3	41.7 ± 46.3	3	16.1 ± 8.76
	雌雄	36	5	6	49.6 ± 45.2	5	23.3 ± 26.8
1 mg	雄	106	10	3	28.5 ± 10.6	2	-
	雌	106	10	3	15.9 ± 7.93	1	-
	雌雄	106	10	6	22.2 ± 10.9	3	10.8 ± 8.46
3 mg	雄	36	5	3	82.5 ± 54.4	3	57.8 ± 7.88
	雌	36	5	2	-	1	-
	雌雄	36	5	5	66.4 ± 49.2	4	57.2 ± 6.57
3 mg	雄	106	15	3	108 ± 29.5	2	-
	雌	106	15	4	161 ± 107	1	-
	雌雄	106	15	7	139 ± 82.8	3	77.8 ± 72.7
3 mg	雄	183[b]	15	2	-	1	-
	雌	183[b]	15	1	-	1	-
	雌雄	183[b]	15	3	31.0 ± 28.8	2	-

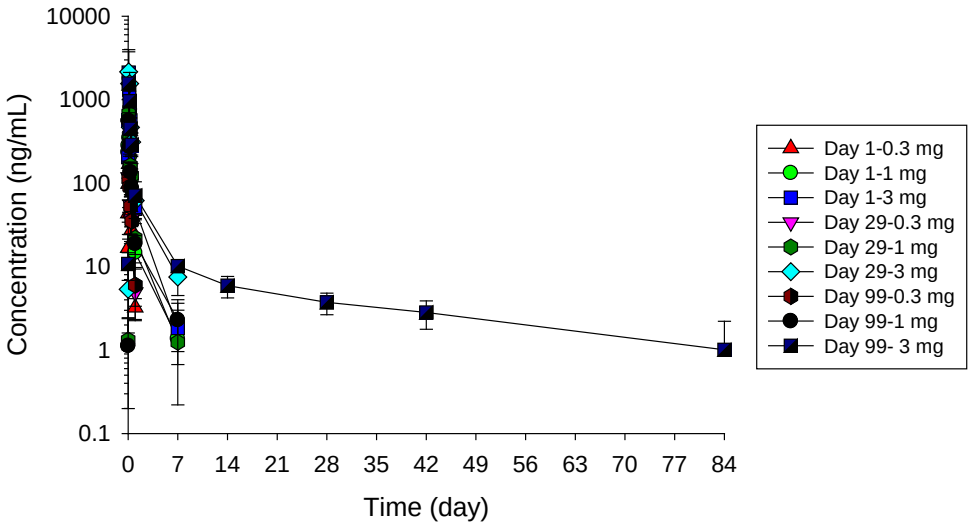
[a] N≥3 の場合、平均値 ± SD。N≤2 の場合は、値を示さず。
[b] 回復期間中、最終投与の 84 日後に採取された試料。
Data source: [M4.2.3.2-1_Appendix I_Table A], [4.2.3.2-1_Appendix I_ Appendix 1]

3.3.2　幼若サルにおける血漿中薬物濃度

ISIS 396443 の血漿中濃度は、IT ボーラス投与後の約 2～5 時間時点で最高値に達し、その後、投与後最初の 24 時間（分布相）にかけて急速に低下し、続いてより緩徐な消失相（分布後相）を伴って低下した（図 4 及び表 10）。Day 1、29 及び 99 に認められた血漿中 PK（分布相）プロファイルは同様であり、最大血漿中濃度及び総血漿曝露量の反復投与による蓄積は、全く又はほと

んど認められなかった。幼若サルでの血漿曝露量は、用量依存的でほぼ用量に比例しており、平均 $AUC_{0\text{-}24hr}$ 値は用量の増加（10 倍）に比例して増加し（10.6～11.3 倍）、平均 C_{max} 値は、同様の用量増加に対し用量比をやや上回る増加（12.0～14.5 倍）を示した（表 10）。これらの知見から、全身バイオアベイラビリティ（IT 投与量に対する曝露量の割合［%］又は比率）は検討した IT 投与量の範囲で変化しないことが示された。ISIS 396443 が測定可能であった場合に限り、投与後 1 週間時点（分布後相）に採取した血漿試料中のトラフ濃度の平均値は、全般的に反復投与により増加した。この増加は、全身組織（肝臓等）中濃度の予想又は実測値の増加及び蓄積と整合している。3 mg/回投与群では、分布後血漿中 ISIS 396443 濃度は、回復期間中緩徐に低下し、平均終末相消失半減期は 34.5 日（範囲：17.2～65.8 日）であり、他の試験で認められた血漿中半減期と同様であった（396443-APK01 試験及び 396443-AS06 試験）。該当する分布後の腰部 CSF 及び血漿中平均濃度を比較すると（Day 29 及び 99 での投与の 7 日後）、血漿中濃度に対する分布後 CSF 中濃度比の平均値は 3.0～8.1 であった（M2.6.5）。

図 4　　幼若サルにおける単回及び複数回 IT ボーラス投与後の血漿中平均 ISIS 396443 濃度（± SD）の推移



注：0.3 及び 1 mg/回投与群は、計 10 回投与を受け、3 mg/回投与群は計 15 回投与を受けた。
Data source: M4.2.3.2-1_Appendix I_Nonclinical PK Report_Figure 2b

表 10　　幼若サルにおける複数回 IT ボーラス投与（1 回目、5 回目及び 10 回目［又は 15 回目）］後の血漿中薬物動態パラメータ

用量 (mg/dose)	性別	投与回数	測定日	N	C_{max} (µg/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24hr} (hr*µg/mL)	CL/F (mL/hr)[a)]	$t_{1/2}$ (days)
					平均 ± SD	中央値（範囲）	平均 ± SD	平均 ± SD	平均 ± SD（範囲）
0.3	雄	1	1	6	0.098 ± 0.037	4 (2 - 6)	0.78 ± 0.121	396 ± 69.7	NC[b)]
	雌	1	1	7	0.221 ± 0.127	4 (2 - 8)	1.31 ± 0.441	253 ± 86	NC[b)]
	雌雄	1	1	13	0.164 ± 0.113	4 (2 - 8)	1.06 ± 0.423	319 ± 106	NC[b)]
0.3	雄	5	29	6	0.125 ± 0.045	3.5 (2 - 5)	1.06 ± 0.229	293 ± 56.0	NC[b)]
	雌	5	29	7	0.138 ± 0.051	5 (2 - 5)	1.12 ± 0.306	265 ± 66.5	NC[b)]
	雌雄	5	29	13	0.132 ± 0.0471	5 (2 - 5)	1.14 ± 0.272	278 ± 61.1	NC[b)]
0.3	雄	10	99	3	0.088 ± 0.025	5 (2 - 5)	0.848 ± 0.135	360 ± 53.9	NC[b)]
	雌	10	99	4	0.138 ± 0.077	2 (2 - 5)	1.20 ± 0.483	286 ± 123	NC[b)]
	雌雄	10	99	7	0.116 ± 0.0621	2 (2 - 5)	1.05 ± 0.398	317 ± 101	NC[b)]
1	雄	1	1	6	0.501 ± 0.303	2 (0.5 - 2)	2.97 ± 0.79	363 ± 116	NC[b)]
	雌	1	1	7	0.838 ± 0.595	2 (1 - 8)	4.21 ± 1.01	249 ± 56.3	NC[b)]
	雌雄	1	1	13	0.683 ± 0.496	2 (0.5 - 8)	3.64 ± 1.09	301 ± 103	NC[b)]
1	雄	5	29	6	0.448 ± 0.204	2 (2 - 5)	3.14 ± 0.79	336 ± 86.4	NC[b)]
	雌	5	29	7	0.741 ± 0.211	2 (2 - 2)	4.60 ± 1.47	233 ± 59.6	NC[b)]
	雌雄	5	29	13	0.606 ± 0.25	2 (2 - 5)	3.93 ± 1.38	281 ± 87.9	NC[b)]
1	雄	10	99	3	0.510 ± 0.203	2 (2 - 2)	3.45 ± 0.97	309 ± 103	NC[b)]
	雌	10	99	3	0.604 ± 0.028	2 (2 - 2)	3.56 ± 0.41	283 ± 35	NC[b)]
	雌雄	10	99	6	0.557 ± 0.139	2 (2 - 2)	3.51 ± 0.67	296 ± 70.4	NC[b)]

表 10　　幼若サルにおける複数回 IT ボーラス投与（1 回目、5 回目及び 10 回目［又は 15 回目）］後の血漿中薬物動態パラメータ（続き）

用量 (mg/dose)	性別	投与回数	測定日	N	C_{max} (µg/mL)	T_{max} (hr)	AUC_{0-24hr} (hr*µg/mL)	CL/F (mL/hr)[a)]	$t_{1/2}$ (days)
					平均 ± SD	中央値（範囲）	平均 ± SD	平均 ± SD	平均 ± SD（範囲）
3	雄	1	1	9	1.71 ± 0.72	4 (2 - 4)	11.1 ± 2.47	282 ± 57.4	NC[b)]
	雌	1	1	9	2.23 ± 1.15	2 (2 - 6)	12.9 ± 2.11	239 ± 45.5	NC[b)]
	雌雄	1	1	18	1.97 ± 0.968	2 (2 - 6)	12 ± 2.42	261 ± 54.8	NC[b)]
3	雄	5	29	8	1.67 ± 0.72	2 (2 - 5)	12.1 ± 4.28	276 ± 93.6	NC[b)]
	雌	5	29	9	2.14 ± 1.41	2 (2 - 5)	13.3 ± 4.32	245 ± 72.5	NC[b)]
	雌雄	5	29	17	1.92 ± 1.13	2 (2 - 5)	12.7 ± 4.21	260 ± 81.9	NC[b)]
3	雄	15	99	5	1.55 ± 0.295	2 (2 - 2)	9.92 ± 2.46	318 ± 83.9	41.5 ± 34.3 (n=2)
	雌	15	99	6	1.57 ± 0.251	2 (2 - 2)	12.1 ± 1.70	252 ± 29.2	27.6 ± 11.7 (n=2)
	雌雄	15	99	11	1.56 ± 0.258	2 (2 - 2)	11.1 ± 2.26	282 ± 66.7	34.5 ± 22.4[c] (17.2 to 65.8)

[a] CL/F = [用量/AUC_{0-24hr}]/1000；表示した値は、個々に Phoenix WinNonlin で算出した CL/F 値の平均値。
[b] NC = 算出せず。不十分なデータ
[c] n = 4
Data source: M4.2.3.2-1_Appendix I_Nonclinical PK Report_Table 3

3.4 幼若カニクイザルを用いた 53 週間（1 年間）反復投与毒性試験（396443-AS06 試験）

評価資料［4.2.3.2-2］396443-AS06

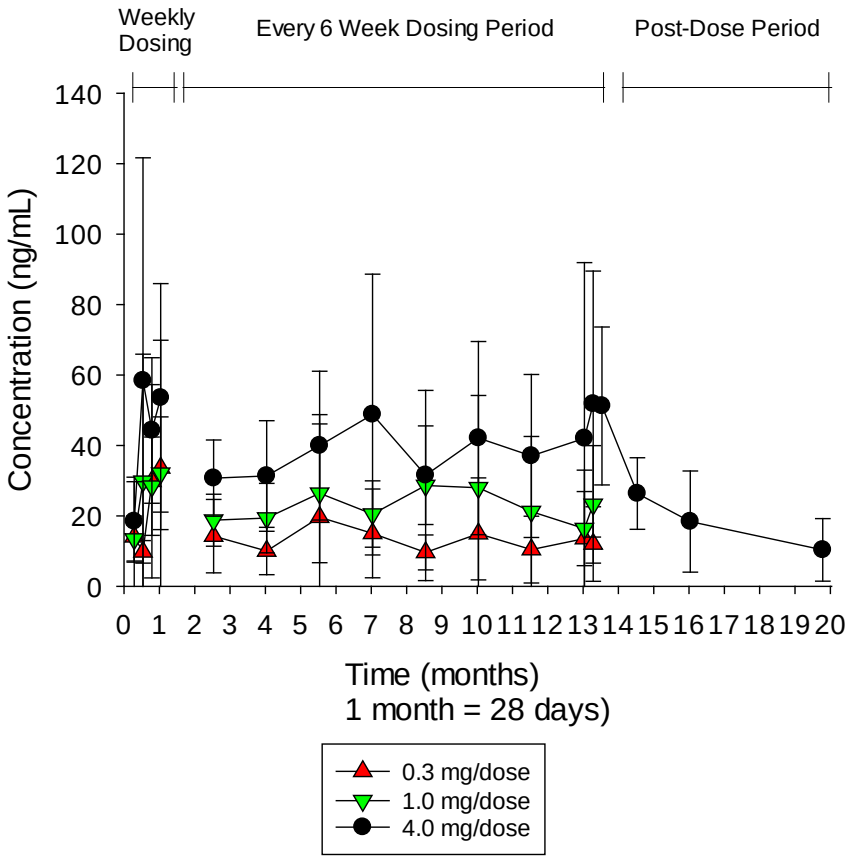
幼若サルにおける 53 週間（1 年間）反復 IT ボーラス投与後の ISIS 396443 の CSF 及び血漿中薬物動態を検討した。幼若サルでの 1 年間反復投与試験では、小児用 25 G ペンシルポイント針（無傷針）での腰椎穿刺により ISIS 396443 を 48 例のカニクイザル（雄 24 例及び雌 24 例）の髄腔内に投与した。Day 1、8、15、22 及び 29 に 0.3、1 又は 4 mg/回をカニクイザルに IT 投与し、その後は 6 週間に 1 回投与を行った（Day 71～365）。

3.4.1 幼若サルにおける CSF 中薬物濃度

腰椎穿刺により採取した CSF 試料中薬物濃度を、投与前、負荷投与期間中週 1 回 4 回投与の各投与の 7 日後、及び維持投与期間中の各投与（6 週間に 1 回投与）の 42 日後に最長 1 年間測定した。CSF 中濃度測定用試料は、6 ヵ月間の回復期間中も腰椎穿刺により 4 回採取した。投与前 CSF 中濃度の平均値は、週 1 回投与期間中（Day 8～29）、反復投与により増加する（約 2 倍）傾向を示した。週 1 回投与期間中の投与前濃度の増加は、恐らく CSF 中の ISIS 396443 の緩徐な多相性の分布、及び分布及び消失半減期と比較して投与間隔が短かったことによると考えられ、CNS 組織中での蓄積を反映している。6 週間に 1 回の維持投与期間中（Day 71～281）、各投与の 42 日後の薬物濃度は週 1 回投与期間の最終投与の 7 日後の濃度よりも低かった。この結果は、恐らく投与間隔と試料採取間隔が長くなったことにより（週 1 回から 6 週間に 1 回）、CSF 及び CNS 組織から薬物がより多く分布及び消失したためと考えられる（図 5）。1 回目から 4 回目の IT ボーラス投与の 7 日後（Day 8～29）に測定された ISIS 396443 投与前 CSF 中濃度の平均値は、全般的に 0.3 mg 投与群と 1 mg 投与群とで同様であったが、4 mg 投与群ではより高い値が認められた（図 5）。5 回目から 10 回目の投与の 42 日後（Day 71～281）に測定された ISIS 396443 の CSF 中濃度の平均値は、用量依存的であったが、13.3 倍の用量範囲に対し用量比を下回る増加を示した（図 5）。維持期間中の各投与の 42 日後に測定した CSF 濃度は、週 1 回投与期間終了時までに認められた濃度変化と比べて、全般的に試料採取時点間でより一貫しており、CNS 組織中濃度により近い用量依存的増加を示したことから、CNS 組織中の濃度をよりよく反映していると考えられる。

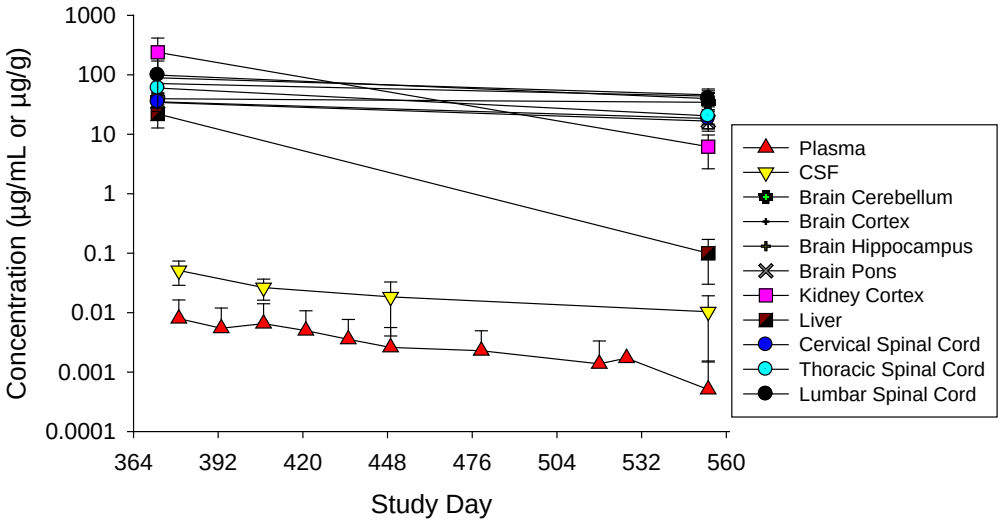
投与終了後（Day 372）、CSF での見かけの推定平均終末相半減期（$t_{1/2}$）（111 日）は、平均 CNS 組織中半減期（117～195 日）と同様であることから、分布後 CSF 中濃度と CNS 組織中濃度との間で平衡状態に達していることが示唆される（4 項及び図 6）。

図 5　幼若サルにおける反復 IT 投与後の用量群 2～4（0.3～4.0 mg/回）の CSF 中平均 ISIS 396443 濃度（± SD）の推移



Data source: M4.2.3.2-2_Nonclinical PK Report_396443-AS06PK_Figure 6

図 6　幼若サルにおける 53 週間反復 IT 投与後の回復期間中（Day 365～554）の CSF、血漿及び組織中平均 ISIS 396443 濃度（± SD）の比較



Data source: M4.2.3.2-2_Nonclinical PK Report_396443-AS06PK_Figure 13

3.4.2 幼若サルにおける血漿中薬物濃度

血漿中 ISIS 396443 濃度は、IT ボーラス投与後、約 1～8 時間（中央値 2～4 時間）以内に最高値に達し、その後、投与後 24 時間にかけて急速に低下し（分布相）、続いて、より緩徐な消失相（分布後相）を伴って低下した（表 11 及び図 7）。サルでのより短期間試験で認められたように、血漿中薬物濃度レベルは定量限界を十分に上回っていたこと、また、肝臓中でも容易に定量可能であったことから、IT 投与後、ISIS 396443 はかなりの割合で CSF から全身循環に移行したことが示された。$AUC_{0\text{-}168hr}$ に対する $AUC_{0\text{-}24hr}$ の比率の平均値は 0.31～0.38 であり、このことより ISIS 396443 の曝露量の約 3 分の 1 が IT 投与後 4 時間以内に全身循環に急速に移行したと考えられる。また、Day 1 及び 365 での $AUC_{0\text{-}168hr}$ に対する $AUC_{0\text{-}24hr}$ の比率の平均値がすべての投与で 0.82 以上であったことは、ISIS 396443 の曝露量の大部分は投与後 24 時間以内に全身循環へ移行したことを示している（表 12）。幼若サルにおいて、Day 1 及び 365 での血漿中薬物濃度は、臨床的に有効な用量範囲（0.3～1 mg：ヒト等価用量 3～10 mg）にわたりほぼ用量に比例して増加し、$AUC_{0\text{-}24hr}$、$AUC_{0\text{-}168hr}$ 及び C_{max} は 3.33 倍の用量範囲に対し 4.06～5.52 倍に増加した。これらの知見は、全身曝露量（IT 投与量に対する曝露量の割合［%］又は比率）は IT 投与で検討された臨床的に有効な用量範囲にわたり変化しなかったことを示している。Day 1 では、血漿中薬物濃度は用量依存的で、用量範囲全体（0.3～4 mg）にわたり用量比をいくらか上回る増加を示し、$AUC_{0\text{-}24hr}$ 及び $AUC_{0\text{-}168hr}$ の平均値では 13.3 倍の用量範囲に対しそれぞれ 23.2 及び 22.8 倍に増加したが、Day 365 ではほぼ用量比例的な増加（それぞれ 15.3 及び 16.4 倍）を示した。同様な傾向は C_{max} の平均値に関しても認められ、平均 C_{max} は同じ用量範囲で Day 1 では用量比を上回る増加（30.6 倍）を示し、一方、Day 365 ではほぼ用量比例的な増加（17.7 倍）を示した（表 11）。血漿 ISIS 396443 曝露量に関するいずれの測定値にも、一貫した性差を示す証拠は認められなかった（396443-AS06PK 試験 Appendix 3）。

投与終了後（Day 372）、回復期間中の血漿からの全般的消失期間は、非常に長く、サルを用いた他試験で認められた値と同様であった。血漿からの ISIS 396443 の消失も全体的に CSF 及び CNS 組織で見られた消失と同様であったが（図 6）、血漿中の推定平均終末相消失半減期（$t_{1/2}$）（55.8 日）は、CNS 組織及び CSF 中での半減期の中央値（それぞれ 174 日及び 111 日）よりも多少短かった（4 項及び図 6）。血漿中終末相消失半減期は、肝臓及び腎皮質中での終末相半減期とより一致していたことから、サルでの分布相後の血漿中濃度は、CNS 組織ではなく全身組織での濃度を反映していると考えられる。

本試験では、用量依存的な血漿中平均トラフ（投与前）濃度が認められており、分布後相での血漿中濃度は概して ISIS 396443 が主に分布する全身組織との間で平衡状態に達していると予想された（ISIS 396443 の蓄積及び組織からの緩徐な消失を反映）（M2.6.5 及び図 8）。各用量群内での最高トラフ値は、4 回目の投与の 7 日後（Day 29）に認められ、週 1 回投与期間（Day 1～29）では反復投与に伴い濃度は上昇した（各投与の 7 日後に試料を採取）。Day 71 以降では、平均薬物濃度は低く、試料採取時点間で一貫していた。この所見は、明らかに投与間隔及び試料採取間隔が長くなったことに起因すると考えられた（週 1 回から 6 週間に 1 回へ変更）。各投与群内で、個体間の血漿中トラフ濃度のばらつきは、初期の投与時点（概して 3 ヵ月未満の投与期間）では小さかったが、それ以降の投与時点（概して 3 ヵ月以上の投与期間）では相対的に大きくなった。

血漿中トラフ濃度で経時的に認められた高いばらつきは、主に 4 例のサルで認められた「外れ値」に起因する考えられる（396443-AS06 試験 Attachment Toxicokinetic Phase Report Section 8.3.1）。血漿中トラフ濃度の平均値及び中央値は、Day 113 以降の投与期間では外れ値を示したサルとそれ以外のサルとの間でほぼ同様であると考えられ、したがって ISIS 396443 濃度は組織中で定常状態に達したと予想された（M2.6.5）。

血漿トラフ試料について、抗 ISIS 396443 抗体の有無を評価した。3 例のサル（1 mg 投与群の 1 例、4 mg 投与群の 2 例）から得られた 7 種の血漿トラフ試料中に抗 ISIS 396443 抗体の存在が確認され（IgM 陽性）、最小希釈倍率 50 倍での抗体価実測値の最高値は 400 であった（範囲 50～400）。全般的に免疫原性は軽微であり、陽性が確認されたサルは 1 mg 投与群では 10%（1/10 例；試料全体の 2.0%）、4 mg 投与群では 14.3%（2/14 例；試料全体の 8.1%）であった。免疫原性陽性と判定されたこれら全 3 例のサルでは、血漿トラフ濃度が高く、薬物濃度は「外れ値」と判定されていた。抗 ISIS 396443 抗体の存在は、血漿トラフ濃度を高めた結果の「外れ値」と関連している可能性はあるものの、免疫原性陽性を示したサルの CSF（投与部位）及び CNS 組織（薬理作用部位）中濃度には影響が認められないことから、有効性及び忍容性への影響は予想されない（396443-IS09 試験）。さらに、これらサルに認められた毒性変化との関連性も認められなかった。

表 11　　幼若サルにおける単回及び反復 IT 投与後の ISIS 396443 の血漿中薬物動態パラメータの概要

群	性別	用量 (mg)	測定日	N	$AUC_{0\text{-}168hr}$ (hr*µg/mL)	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr*µg/mL)	CL/F (mL/hr)[a)]	C_{max} (µg/mL)	T_{max}(hr)
2	雄	0.3	1	5	1.24 ± 0.244	1.1 ± 0.192	280 ± 50.5	0.152 ± 0.0236	2 (1 - 2)
	雌		1	5	0.995 ± 0.104	0.866 ± 0.079	349 ± 33.3	0.0925 ± 0.0158	4 (2 - 4)
	雌雄		1	10	1.12 ± 0.219	0.983 ± 0.186	314 ± 54.4	0.122 ± 0.036	2 (1 - 4)
	雄	0.3	365	5	0.778 ± 0.388	0.662 ± 0.284	528 ± 230	0.109 ± 0.0655	1 (1 - 2)
	雌		365	5	0.65 ± 0.0615	0.59 ± 0.059	513 ± 53.3	0.0626 ± 0.0168	2 (1 - 6)
	雌雄		365	10	0.714 ± 0.270	0.626 ± 0.197	521 ± 158	0.0859 ± 0.0514	2 (1 - 6)
3	雄	1	1	5	4.61 ± 1.18	4.06 ± 1.04	264 ± 90	0.585 ± 0.206	2 (1 - 2)
	雌		1	5	4.49 ± 1.02	3.97 ± 0.894	262 ± 56	0.554 ± 0.217	2 (2 - 4)
	雌雄		1	10	4.55 ± 1.04	4.02 ± 0.915	263 ± 70.7	0.569 ± 0.2	2 (1 - 4)
	雄	1	365	5	5.06 ± 5.68	3.21 ± 2.24	403 ± 173	0.494 ± 0.344	4 (0.5 - 4)
	雌		365	5	2.82 ± 0.43	2.37 ± 0.441	432 ± 69.6	0.415 ± 0.165	2 (1 - 6)
	雌雄		365	10	3.94 ± 3.98	2.79 ± 1.59	417 ± 125	0.454 ± 0.258	3 (0.5 - 6)

表 11　　幼若サルにおける単回及び反復 IT 投与後の ISIS 396443 の血漿中薬物動態パラメータの概要（続き）

群	性別	用量 (mg)	測定日	N	$AUC_{0\text{-}168hr}$ (hr*µg/mL)	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr*µg/mL)	CL/F (mL/hr)[a)]	C_{max} (µg/mL)	T_{max}(hr)
4	雄	4	1	7	30.1 ± 9.23	27.4 ± 8.59	155 ± 33.8	4.97 ± 1.47	2 (2 - 4)
	雌		1	7	20.9 ± 4.92	18.2 ± 4.74	231 ± 53.4	2.51 ± 0.862	4 (2 - 8)
	雌雄		1	14	25.5 ± 8.55	22.8 ± 8.18	193 ± 58.3	3.74 ± 1.72	4 (2 - 8)
	雄	4	365	7	12.1 ± 2.86	10.1 ± 2.15	411 ± 90.1	1.61 ± 0.377	2 (2 - 4)
	雌		365	7	11.3 ± 2.54	9.04 ± 1.6	455 ± 85	1.42 ± 0.675	2 (1 - 6)
	雌雄		365	14	11.7 ± 2.63	9.59 ± 1.90	433 ± 87.2	1.52 ± 0.535	2 (1 - 6)

[a] CL/F = 用量 (mg) / $AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr*µg/mL) x 1000
注：数値は平均値 ± SD。ただし T_{max} は中央値（範囲）。
Data source: M4.2.3.2-2_Nonclinical PK Report_396443-AS06_Table 3

表 12　　幼若サルにおける単回及び反復 IT 投与後の ISIS 396443 の血漿曝露量の経時的変化の比較

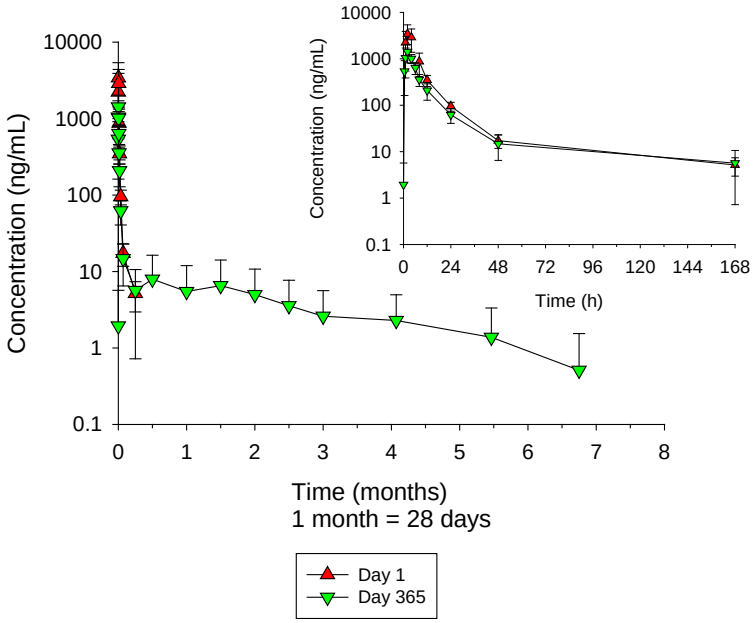
群	用量 (mg)	測定日	性別	N	$AUC_{0\text{-}4hr}$ (hr*µg/mL)	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr*µg/mL)	$AUC_{0\text{-}168hr}$ (hr*µg/mL)	$AUC_{0\text{-}4hr}$ Ratio[a]	$AUC_{0\text{-}24hr}$ Ratio[b]
2	0.3	1	雄	5	0.443 ± 0.0484	1.1 ± 0.192	1.24 ± 0.244	0.36 ± 0.054	0.89 ± 0.035
		1	雌	5	0.263 ± 0.0516	0.866 ± 0.079	0.995 ± 0.104	0.26 ± 0.034	0.87 ± 0.078
		1	雌雄	10	0.353 ± 0.106	0.983 ± 0.186	1.12 ± 0.219	0.31 ± 0.069	0.88 ± 0.058
		365	雄	5	0.284 ± 0.15	0.662 ± 0.284	0.778 ± 0.388	0.38 ± 0.132	0.88 ± 0.114
		365	雌	5	0.179 ± 0.0591	0.59 ± 0.059	0.65 ± 0.0615	0.27 ± 0.069	0.91 ± 0.01
		365	雌雄	10	0.231 ± 0.121	0.626 ± 0.197	0.714 ± 0.270	0.33 ± 0.12	0.89 ± 0.078
3	1.0	1	雄	5	1.79 ± 0.64	4.06 ± 1.04	4.61 ± 1.18	0.38 ± 0.056	0.88 ± 0.032
		1	雌	5	1.61 ± 0.576	3.97 ± 0.894	4.49 ± 1.02	0.35 ± 0.074	0.89 ± 0.01
		1	雌雄	10	1.70 ± 0.582	4.02 ± 0.915	4.55 ± 1.04	0.37 ± 0.064	0.88 ± 0.023
		365	雄	5	1.2 ± 0.715	3.21 ± 2.24	5.06 ± 5.68	0.32 ± 0.191	0.8 ± 0.185
		365	雌	5	0.988 ± 0.331	2.37 ± 0.441	2.82 ± 0.43	0.37 ± 0.167	0.84 ± 0.052
		365	雌雄	10	1.09 ± 0.537	2.79 ± 1.59	3.94 ± 3.98	0.35 ± 0.17	0.82 ± 0.13

表 12　　幼若サルにおける単回及び反復 IT 投与後の ISIS 396443 の血漿曝露量の経時的変化の比較（続き）

群	用量 (mg)	測定日	性別	N	$AUC_{0\text{-}4hr}$ (hr*µg/mL)	$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr*µg/mL)	$AUC_{0\text{-}168hr}$ (hr*µg/mL)	$AUC_{0\text{-}4hr}$ Ratio[a]	$AUC_{0\text{-}24hr}$ Ratio[b]
4	4.0	1	雄	7	14 ± 4.72	27.4 ± 8.59	30.1 ± 9.23	0.47 ± 0.084	0.91 ± 0.017
		1	雌	7	6.41 ± 2.54	18.2 ± 4.74	20.9 ± 4.92	0.30 ± 0.078	0.87 ± 0.029
		1	雌雄	14	10.2 ± 5.37	22.8 ± 8.18	25.5 ± 8.55	0.38 ± 0.12	0.89 ± 0.031
		365	雄	7	4.56 ± 1.25	10.1 ± 2.15	12.1 ± 2.86	0.38 ± 0.082	0.84 ± 0.044
		365	雌	7	3.82 ± 1.8	9.04 ± 1.6	11.3 ± 2.54	0.34 ± 0.137	0.81 ± 0.063
		365	雌雄	14	4.19 ± 1.54	9.59 ± 1.90	11.7 ± 2.63	0.36 ± 0.11	0.82 ± 0.055

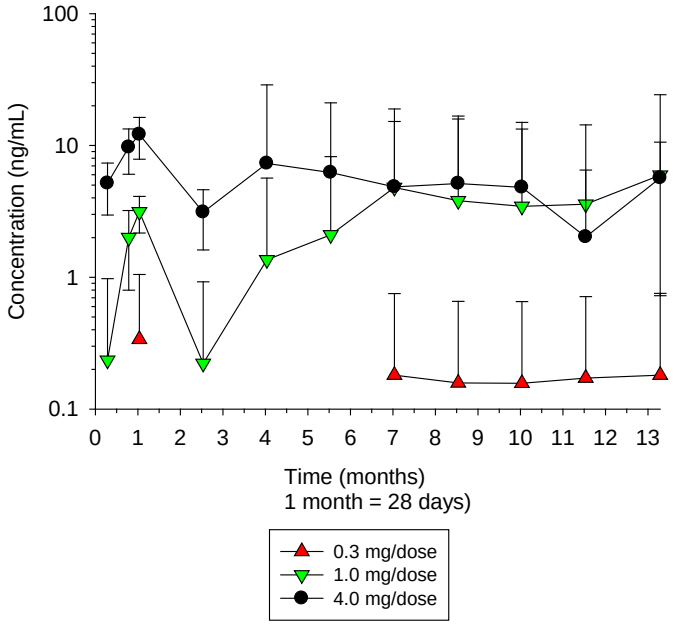
[a] $AUC_{0\text{-}4hr}$ 比率 = $AUC_{0\text{-}4hr}/AUC_{0\text{-}168hr}$；個々のサルについて求めた値。
[b] $AUC_{0\text{-}24hr}$ 比率 = $AUC_{0\text{-}24hr}/AUC_{0\text{-}168hr}$；個々のサルについて求めた値。
注：平均値 ± SD として報告された値。
Data source: M4.2.3.2-2_Nonclinical PK Report_396443-AS06PK_Table 5

図 7　　幼若サルにおける単回又は複数回（Day 1 及び 365）IT 投与後の用量群 4（4.0 mg/回）での血漿中平均 ISIS 396443 濃度（± SD）の推移



Data source: M4.2.3.2-2_Nonclinical PK Report_396443-AS06PK_Figure 5

図 8　　幼若サルにおける複数回 IT 投与後の用量群 2～4（0.3～4.0 mg/回）での血漿中平均 ISIS 396443 トラフ（投与前）濃度（± SD）の推移



Data source: M4.2.3.2-2_Nonclinical PK Report_396443-AS06PK_Figure 10

3.5 成熟カニクイザルと幼若カニクイザルとの比較

IT 投与は予定臨床投与経路であるため、ISIS 396443 の薬物動態特性を完全に明らかにするために、カニクイザルを用いて評価を行った。サルへの IT 投与後、成熟サルと幼若サルの間で、CSF 中の ISIS 396443 の薬物動態は同様であり、CSF 中濃度は多相性に低下し、急速な分布相（CSF からのクリアランスの大部分を占める）に続いて 1 相以上の多相性のより緩徐で持続した消失相（分布後相）を伴っていた。

成熟サル及び幼若サルでは、CNS 組織への分布及び全身循環への移行に続き、血漿中 ISIS 396443 濃度は IT ボーラス投与後 2～5 時間時点で最高値に達し、その後投与後 24～48 時間にかけて急速に減少し、続いてより緩徐な消失相を伴って低下した。

3.5.1 成熟サルと幼若サルとの CSF 中薬物濃度の比較

IT 投与後、ISIS 396443 の CSF 中の薬物動態は成熟サルと幼若サルで同様であり、CSF 中濃度はいずれのサルでも多相性に低下し、急速な分布相（CSF からのクリアランスの大部分を占める）に続いて 1 相以上の多相性のより緩徐で持続した消失相（分布後相）を伴っていた。急速な分布相は、CSF から CNS 組織への急速かつ広範な分布に加え、全身循環への移行による消失により生じたと考えられる。CSF 中推定消失半減期（$t_{1/2}$）は、3 週間の投与期間後の 1 年間の投与後試料採取時（396443-APK01 試験）と、1 年間の長期投与期間後の 6 ヵ月間の試料採取時（396443-AS06 試験）とで同様であり、それぞれ 102 日及び 111 日であった。投与期間又は維持期間での用法・用量が異なることから（それぞれ単回投与、隔週投与、週 1 回又は隔週投与、6 週間に 1 回）、成熟サルを用いた単回投与（396443-AS01 試験）及び複数回投与（396443-APK01 試験）試験、並びに幼若サルを用いた 14 週間複数回投与（396443-AS03 試験）及び 1 年間反復投与試験（396443-AS06 試験）での CSF 中 ISIS 396443 曝露量を直接比較することは不可能であるが、成熟サル及び幼若サルで認められた CSF 中濃度はほぼ同様であった。

3.5.2 成熟サルと幼若サルとの血漿中薬物濃度の比較

血漿中薬物濃度は、成熟サル及び幼若サルのいずれでも用量依存的であった。成熟サル及び幼若サルのいずれでも、全身循環への移行後、血漿中 ISIS 396443 濃度は、IT ボーラス投与後 2～5 時間時点で最高値に達し、その後、投与後 24～48 時間にかけて急速に低下し、続いてより緩徐な消失相を伴って低下した。血漿中濃度の急速な低下は、主に全身組織への広範囲な分布によると考えられる。推定血漿中消失半減期（$t_{1/2}$）は、成熟サル及び幼若サルで 35～56 日であった（396443-APK01 試験、396443-AS03 試験、396443-AS06 試験）。

血漿中薬物濃度の直接比較を可能な範囲で行ったところ、幼若サルでの最高血漿中濃度及び血漿総曝露量の平均値は、同等な用量を投与された成熟サルの約 2 倍～4 倍であり（表 13）、これは成熟サルと幼若サルでの全体の体重差と整合しており（M2.6.5）、これにより以前に類似クラスの ASO で認められたように、血漿クリアランスと体重との直接的関連性が裏付けられた（Geary 2003）。

表 13　　幼若サルと成熟サルにおける 1 mg 又は 3 mg 単回 IT 投与後の血漿中薬物濃度の比較

曝露量	IT 投与（mg）	幼若サル	成熟サル
C_{max} (µg/mL)	1	0.569 ～ 0.683[a,b]	0.222[c]
	3	1.97[b]	0.455[c]
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (µg*hr/mL)	1	3.64 ～ 4.02[a,b]	2.03[c]
	3	12[b]	4.50[c]
体重（kg）	－	1.0	3.0

a 出典：396443-AS06 試験 M4.2.3.2-2_Nonclinical PK Report_396443-AS06PK_Table 3
b 出典：396443-AS03 試験 M4.2.3.2-1_Appendix I_Nonclinical PK Report_Table 3
c 出典：396443-AS01 試験 M4.2.3.1-1_Appendix F_Pharmacokinetics Report_Table 3

4 分布

4.1 組織分布試験

ISIS 396443 の非臨床組織分布を、成熟カニクイザルを用いた単回 IT ボーラス投与試験（396443-AS01 試験）、成熟カニクイザルを用いた 3 週間複数回 IT ボーラス投与試験（396443-APK01 試験）、幼若カニクイザルを用いた 14 週間複数回 IT ボーラス投与試験（396443-AS03 試験）、及び幼若カニクイザルを用いた 1 年間（53 週間）反復 IT ボーラス投与試験（396443-AS06 試験）で検討した。成熟サルでの単回投与試験では、雌雄のサルに溶媒（人工 CSF；用量群 1）又は ISIS 396443（用量群 2～4）を投与した。髄腔内に外科的に留置したカテーテルを用い、1、3 及び 7 mg の ISIS 396443 を 3 分間かけて単回 IT ボーラス IT 投与した。用量群 3 の一部のサルでは、CSF 試料の採取のみを目的とする第 2 カテーテルも腰髄腔内に留置した（396443-AS01 試験）。成熟サルでの 3 週間複数回投与試験では、1、8、15 及び 22 日目に 1 mg/回を、留置された腰椎カテーテルを介して、4 回腰部髄腔内 IT 投与（雄 17 例）あるいは、4 回 IV ボーラス投与を行った（雄 3 例）（396443-APK01 試験）。幼若サルでの 14 週間複数回投与試験では、雌雄のサルに溶媒（人工 CSF、用量群 1）又は ISIS 396443（0.3、1 及び 3 mg；用量群 2～4）のいずれかを投与した。溶媒又は ISIS 396443 を週 1 回 3 分間かけて計 5 回 IT ボーラス投与した後、隔週（用量群 1～3）又は週 1 回（用量群 4）のいずれかの投与間隔で Day 99 まで、腰髄腔内に外科的に留置したカテーテルを用いて投与を行った（396443-AS03 試験）。幼若サルでの 1 年間反復投与試験では、小児用 25 G ペンシルポイント針（無傷針）での腰椎穿刺により、ISIS 396443 を 48 例（雄 24 例及び雌 24 例）の髄腔内に投与した。0.3、1 又は 4 mg/回を Day 1、8、15、22 及び 29 に、その後は 6 週間に 1 回 IT 投与した（Day 71～365、396443-AS06 試験）。

4.1.1 成熟サルを用いた単回投与毒性及び薬物動態試験（396443-AS01 試験）

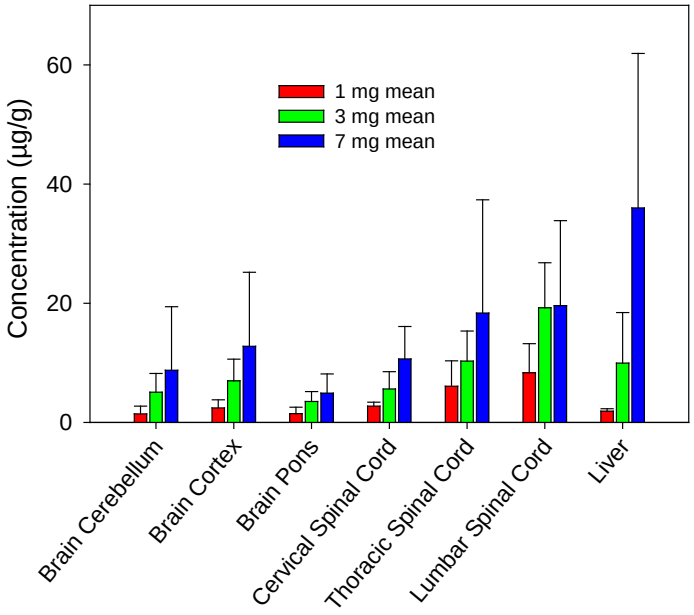
評価資料［4.2.3.1-1］396443-AS01

単回 IT ボーラス投与後の ISIS 396443 の組織分布を成熟サルで検討した。

ISIS 396443 は、成熟サルの脊髄及び脳を含む CNS 組織に広範に分布した。ISIS 396443 の最高濃度は、腰髄で認められ、IT 投与の際のカテーテル留置部位と整合した（図 9）。成熟サルで認められた脊髄中濃度は、概して脳組織中濃度よりも高かった。なお、脳組織中濃度の最高値は頸髄組織中濃度の最高値に近かった。CNS 組織及び肝臓では、組織中濃度が用量依存的に増加し、検討したすべての用量で、CNS 組織のうち ISIS 396443 濃度が概して最も高くなったのは腰髄であった（図 9）。脊髄及び脳橋中濃度の増加は、検討した用量範囲にわたり、幾分用量比を下回ったが、小脳及び脳皮質中濃度の増加はほぼ用量比例的であった。

他の ASO の全身分布に関する既知の所見及び公表文献によると、全身分布の主要臓器は肝臓及び腎臓である（Geary 2003; Yu 2007）。肝臓は、本試験で評価された唯一の全身組織である。単回 IT ボーラス投与後の肝臓中 ISIS 396443 濃度は、1 及び 3 mg の投与では脳中濃度と同様であったが、7 mg では腰髄での濃度よりも高かった。

図 9　　成熟サルにおける単回 IT ボーラス投与の 7 日後の ISIS 396443 組織中濃度平均値（± SD）の比較



Data source: M4.2.3.1-1_Appendix F_Nonclinical PK Report_Figure 3

4.1.2　　成熟サルを用いた複数回投与薬物動態試験（396443-APK01 試験）

参考資料［4.2.2.2-1］396443-APK01

成熟サルにおいて 3 週間複数回 IT 及び IV ボーラス投与後の ISIS 396443 の組織分布を検討した（396443-APK01 試験）。CNS 組織への分布は広範であり、脊髄及び脳では評価されたすべての領域に分布が確認された（図 10）。ISIS 396443 の最高 CNS 組織中濃度は腰髄で認められ、IT 投与部位と整合していた。次に濃度が高かったのは、胸髄及び頸髄領域、並びに前頭皮質及び側頭皮質領域であった。ISIS 396443 は、脳幹、小脳、海馬及び被殻ではより低濃度で検出されたが、Day 85 では小脳で異常な高濃度で検出された。

CNS からの消失を、Day 22 での 4 回目（最終投与）の IT 投与後に評価したところ、ISIS 396443 の CNS 組織からのクリアランスは非常に遅く、終末相消失半減期の中央値は 116 日であり、CSF 中での半減期と同等であった（表 14、図 10）。回復期間中の CSF 及び CNS 組織からの消失速度が同等であったことから、分布後期間の CSF 中濃度が CNS 組織中濃度との間で平衡状態に達していることが示唆された。CSF 及び CNS 組織での半減期が長いことから、IT 投与での長期投与間隔の妥当性が裏付けられる。

他の ASO の全身分布に関する既知の所見及び公表文献によると、全身分布の主要臓器は肝臓及び腎臓である（Geary 2003; Yu 2007）。IV 投与群では、腎皮質及び肝臓のみが評価された組織であるが、ISIS 396443 は腎皮質と肝臓の両方に検出された（表 15）。Day 22 での投与後早期の時点では（Day 85 まで）、腎皮質中濃度は概して CNS 組織中濃度と同等以上であったが、それ以降の時

点では、クリアランスが加速したことにより、腎皮質中濃度は CNS 組織中濃度より低くなった。肝臓中濃度は、すべての試料採取時点で評価した CNS 組織中濃度よりも概して低かった。IT 投与後、組織中濃度が最も低かったのは骨格筋であった。

4 回目の IT 及び IV 投与後 7 日間にわたり、血漿中 AUC 及び全身組織中濃度などの曝露量を比較し、CSF から血漿への ISIS 396443 の移行を推定した。IV 投与時の血漿中 AUC に対する IT 投与時の ACU の比率が高かった（＞1.0）ことに加え、IV 投与時と比較した IT 投与の 7 日後（29 日目）の全身組織（腎皮質及び肝臓）中 ISIS 396443 濃度の中央値の比率も 1 に近かった（表 16）。これらを総合すると、血漿及び全身組織のデータは、全身循環に移行する前の CNS での代謝クリアランスはわずかであることを示唆している。ISIS 396443 は、IT 投与後 CSF から全身へ本質的に完全に移行したと考えられる。

表 14　　複数回 1 mg IT ボーラス投与後の CSF、血漿及び CNS 組織中の ISIS 396443 の推定終末相消失半減期

マトリックス/組織	R^2	$t_{1/2}$（日）
CSF	0.999	102
血漿	0.977	52.2
脳幹	0.741	84.3
小脳	0.408	117
頸髄	0.922	126
前頭皮質	0.636	164
海馬	0.996	275
腰髄	0.991	74.4
被殻 [a]	NA	NC[a]
側頭皮質	0.932	103
胸髄	0.991	115
CNS 組織中央値 [b:]		116

[a] 被殻については、評価期間中の組織中濃度の低下が不十分であったため算出されていない。
[b] 脳幹、小脳、頸髄、前頭皮質、海馬、腰髄、側頭皮質、胸髄
NA= 当該データなし
Data source: M4.2.2.2-1_Nonclinical PK Report_Amendment 1_396443-APK01PK_Table 2

表 15　サルにおける 1 mg 複数回 IT 又は IV ボーラス投与後の ISIS 396443 の全身組織中濃度の概要

臓器／組織	投与経路	Day 29		Day 85		Day 183		Day 253		Day 365	
		N	平均値 ± SD	N	平均値 ± SD	N	平均値 ± SD	N	平均値 ± SD	N	平均値 ± SD
腎皮質	IT	4	61.3 ± 15.8	3	14.3 ± 11.6	3	0.962 ± 0.797	3	0.362 ± 0.197	4	0.652 ± 0.363
	IV	3	112 ± 73.5	-	NSC	-	NSC	-	NSC	-	NSC
肝臓	IT	4	4.74 ± 2.02	3	0.113 ± 0.0556	3	0.0598 ± 0.0425	3	BLQ	4	BLQ
	IV	3	3.47 ± 1.32	-	NSC	-	NSC	-	NSC	-	NSC
骨格筋	IT	4	0.0140 ± 0.0280	3	BLQ	3	BLQ	3	BLQ	4	BLQ

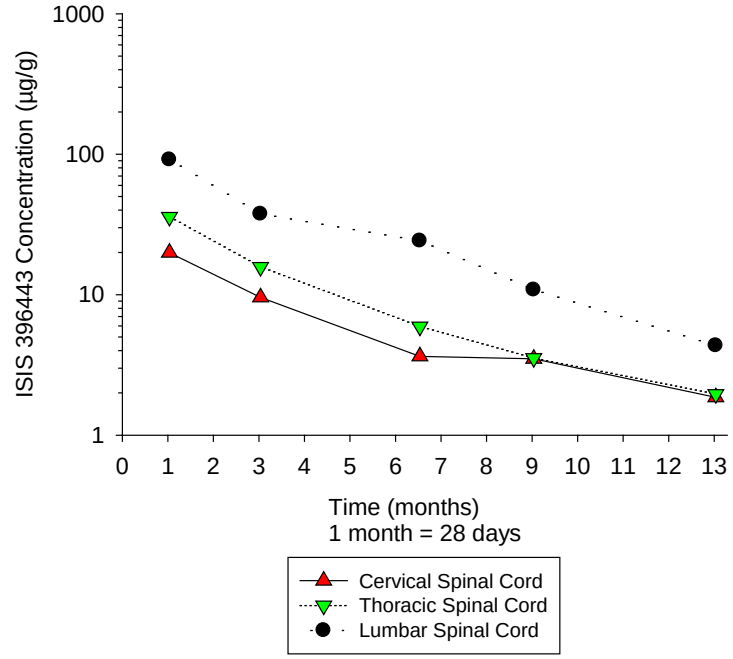
数値の単位は µg/g。
BLQ＝検出限界以下（<0.015 µg/g）、SD = 標準偏差、NSC = 採取した試料なし
Data source: M4.2.2.2-1_Appendix C_Nonclinical PK Report_Table 6

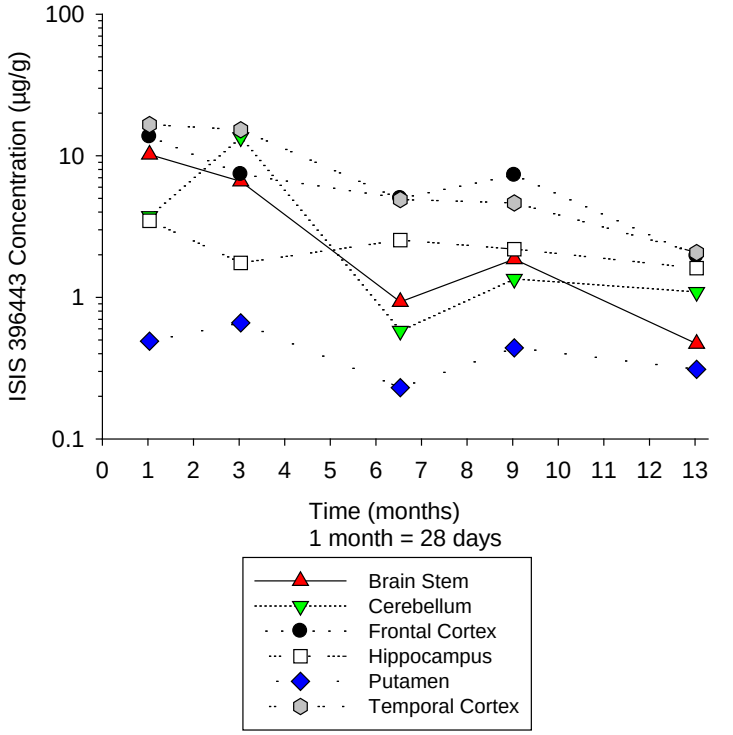
表 16　サルにおける 1 mg 複数回 IT 又は IV ボーラス投与後の Day 29 での全身組織中 ISIS 396443 濃度の中央値

臓器／組織	IV 投与（µg/g）		IT 投与（µg/g）		比率 [a]
	N	中央値（範囲）	N	中央値（範囲）	
腎皮質	3	72.5 (67.0 – 197)	4	67.8 (37.7 – 71.8)	0.935
肝臓	3	3.33 (2.22 – 4.84)	4	4.23 (2.89 – 7.61)	1.27

[a] IT 投与後濃度/IV 投与後濃度
Data source: M4.2.2.2-1_Appendix C_Nonclinical PK Report_Table 7

図 10　サルにおける 1 mg 複数回 IT ボーラス投与後の脊髄及び脳領域中平均 ISIS 396443 濃度の推移





Data source: M4.2.2.2-1_Appendix C_Nonclinical PK Report_Figure 3 and 4

4.1.3 幼若サルを用いた 14 週間複数回投与毒性試験（396443-AS03 試験）

評価資料［4.2.3.2-1］396443-AS03

幼若サルにおいて 14 週間複数回 IT ボーラス投与後の ISIS 396443 の組織分布を検討した（396443-AS03 試験）。

幼若サルにおける IT 投与後の CNS 組織内の ISIS 396443 の分布は、広範（評価したすべての脊髄及び脳組織中に検出された）であった（表 17）。5 回目（Day 36）及び最終（Day 106）投与後、ISIS 396443 の最高平均 CNS 組織中濃度は、検討したすべての用量で、概して腰髄に認められ（IT 投与の際のカテーテル留置部位と整合）、頸髄及び胸髄中濃度は腰髄中濃度と比較してほぼ同程度であるが、やや低かった。ISIS 396443 濃度は大脳皮質（特に 3 mg/回で）及び肝臓でも比較的高かった（肝臓及び血漿曝露量［3.3.2 項］は、IT 投与量のかなりの部分が CSF から全身循環に移行したことを示している）。Day 36 及び 106 では、平均組織中濃度は CNS 組織及び肝臓で用量依存的に増加した。しかし、平均 CNS 組織中濃度（Day 36、すべての用量群で週 1 回投与）の増加は、用量範囲全体にわたり、見かけ上幾分用量比を下回っていたが、肝臓での平均濃度の増加は幾分用量比を上回っていた（しかし、血漿曝露量についての評価では、IT 投与のすべての用量範囲で、全身バイオアベイラビリティは変化しないことが示された）。肝臓中濃度の用量比を上回る増加は、データのばらつき及びこの試験での例数が少なかったことに起因する可能性があり、また肝臓への取り込みが用量依存的である可能性も考えられる（表 17）。

週 1 回又は隔週の投与間隔、及び投与間隔に比べて緩徐な組織からの消失から予想されたとおり、すべての用量群での平均 ISIS 396443 組織中濃度は、全般的に、Day 36（投与 5 回目）から Day 106 日目（投与 10 又は 15 回目）にかけて増加した（蓄積された）。実際に、13 週間の回復期間中（3 mg/回投与群）、ISIS 396443 は CNS 組織から非常に緩徐に消失したと考えられ（表 17）、このことは 396443-APK01 試験での推定半減期と整合していた。この所見は、平均肝臓中濃度に認められた低下とは対照的である（肝臓での推定された見かけの半減期は約 20 日［表 17］であり、血漿中半減期の平均値［34.5 日、3 項］と同様であった）。血漿中の終末相消失半減期（34.5 日）は、肝臓での終末相消失半減期により近かったことから、サルでの分布相後の血漿中濃度は全身組織中濃度を反映しており、CNS 組織中濃度を反映していないと考えられた。

表 17　幼若サルにおける 5 回目及び 10 回目（又は 15 回目）の IT ボーラス投与 7 日後並びに回復期間後の（それぞれ Day 36、106、及び 183）の全身組織中 ISIS 396443 濃度の概要

臓器／組織	性別	試験日	0.3 mg/dose		1 mg/dose		3 mg/dose	
			N	ISIS 396443[a] (µg/g)	N	ISIS 396443[a] (µg/g)	N	ISIS 396443[a] (µg/g)
頸髄	雄	36	3	5.66 ± 2.70	3	14.5 ± 4.08	3	24.2 ± 5.55
	雌	36	3	8.63 ± 5.92	3	18.1 ± 11.3	3	29.3 ± 19.2
	雌雄	36	6	7.15 ± 4.43	6	16.3 ± 7.83	6	26.7 ± 13
頸髄	雄	106	3	13.0 ± 8.37	3	27.6 ± 6.20	3	93.3 ± 27.6
	雌	106	4	8.78 ± 4.48	3	26.0 ± 7.89	4	74.9 ± 29.0
	雌雄	106	7	10.6 ± 6.21	6	26.8 ± 6.4	7	82.8 ± 27.8
頸髄	雄	183[e]	NSC[b]	NSC[b]	NSC	NSC	2	-
	雌	183[e]	NSC[b]	NSC[b]	NSC	NSC	2	-
	雌雄	183[e]	NSC[b]	NSC[b]	NSC	NSC	4	69.1 ± 4.91
胸髄	雄	36	3	8.09 ± 2.92	3	12.2 ± 2.54	3	22.2 ± 7.32
	雌	36	3	8.77 ± 4.94	3	12.1 ± 5.91	3	24.3 ± 19.4
	雌雄	36	6	8.43 ± 3.65	6	12.2 ± 4.07	6	23.3 ± 13.2
胸髄	雄	106	3	18.5 ± 4.79	3	39.3 ± 7.30	3	100 ± 30.5
	雌	106	4	21.4 ± 4.71	3	37.6 ± 8.32	4	102 ± 60.8
	雌雄	106	7	20.2 ± 4.59	6	38.4 ± 7.06	7	101 ± 46.5

表 17　幼若サルにおける 5 回目及び 10 回目（又は 15 回目）の IT ボーラス投与 7 日後並びに回復期間後の（それぞれ Day 36、106、及び 183）の全身組織中 ISIS 396443 濃度の概要（続き）

臓器／組織	性別	試験日	0.3 mg/dose		1 mg/dose		3 mg/dose	
			N	ISIS 396443[a] (µg/g)	N	ISIS 396443[a] (µg/g)	N	ISIS 396443[a] (µg/g)
胸髄	雄	183[e]	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌	183[e]	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌雄	183[e]	NSC	NSC	NSC	NSC	4	107 ± 35.2
腰髄	雄	36	3	10.1 ± 1.23	3	30.1 ± 8.88	3	66.8 ± 16.2
	雌	36	3	15.7 ± 4.43	3	37.4 ± 5.64	3	59.1 ± 48.1
	雌雄	36	6	12.9 ± 4.22	6	33.8 ± 7.77	6	62.9 ± 32.4
腰髄	雄	106	3	24.6 ± 2.8	3	109 ± 53.0	3	170 ± 86.3
	雌	106	4	37.5 ± 16.6	3	48.1 ± 38.7	4	169 ± 30.0
	雌雄	106	7	31.9 ± 15.5	6	78.6 ± 53.3	7	169 ± 54.2
腰髄	雄	183[e]	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌	183[e]	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌雄	183[e]	NSC	NSC	NSC	NSC	4	242 ± 246
小脳	雄	36	3	4.20 ± 3.11	3	12.6 ± 7.89	3	26.2 ± 26.4
	雌	36	2	-	3	7.48 ± 3.28	3	9.01 ± 7.89
	雌雄	36	5	3.9 ± 2.3	6	10 ± 6.08	6	17.6 ± 19.8
小脳	雄	106	3	12.9 ± 5.66	3	37.8 ± 19.8	3	50.8 ± 21.8
	雌	106	4	16.6 ± 13.5	3	9.70 ± 5.61	4	51.5 ± 13.7
	雌雄	106	7	15 ± 10.2	6	23.7 ± 20.1	7	51.2 ± 15.9
小脳	雄	183[e]	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌	183[e]	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌雄	183[e]	NSC	NSC	NSC	NSC	4	65.3 ± 21.5
大脳皮質	雄	36	3	9.25 ± 1.49	3	25.2 ± 2.99	3	93.0 ± 25.3
	雌	36	3	10.7 ± 1.5	3	27.4 ± 4.63	3	43.0 ± 36.8
	雌雄	36	6	9.98 ± 1.56	6	26.3 ± 3.68	6	68 ± 39.3
大脳皮質	雄	106	3	13.9 ± 4.28	3	39.7 ± 4.45	3	129 ± 38.6
	雌	106	4	16.2 ± 3.89	3	31.0 ± 19.8	4	193 ± 29.2
	雌雄	106	7	15.2 ± 3.9	6	35.4 ± 13.7	7	166 ± 45.8
大脳皮質	雄	183[e]	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌	183[e]	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌雄	183[e]	NSC	NSC	NSC	NSC	4	122 ± 26.3

表 17　幼若サルにおける 5 回目及び 10 回目（又は 15 回目）の IT ボーラス投与 7 日後並びに回復期間後の（それぞれ Day 36、106、及び 183）の全身組織中 ISIS 396443 濃度の概要（続き）

臓器／組織	性別	試験日	0.3 mg/dose		1 mg/dose		3 mg/dose	
			N	ISIS 396443[a] (µg/g)	N	ISIS 396443[a] (µg/g)	N	ISIS 396443[a] (µg/g)
脳橋	雄	36	3	5.60 ± 3.04	3	10.5 ± 5.26	2	-
	雌	36	3	7.97 ± 7.23	3	22.2 ± 18.9	3	21.7 ± 18.2
	雌雄	36	6	6.79 ± 5.13	5	15.2 ± 12	5	27.1 ± 14.9
脳橋	雄	106	3	5.70 ± 2.52	3	14.1 ± 5.24	3	43.4 ± 5.30
	雌	106	4	7.97 ± 2.06	3	11.8 ± 1.51	4	47.8 ± 25.5
	雌雄	106	7	7 ± 2.39	6	13 ± 3.67	7	45.9 ± 18.4
脳橋	雄	183[e]	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌	183[e]	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌雄	183[e]	NSC	NSC	NSC	NSC	4	32.4 ± 18.5
肝臓	雄	36	3	1.47 ± 0.204	3	23.6 ± 31.7	3	31.1 ± 3.52
	雌	36	3	1.70 ± 0.589	3	9.22 ± 6.32	3	59.2 ± 28.4
	雌雄	36	6	1.59 ± 0.414	6	16.4 ± 21.9	6	45.2 ± 23.8
肝臓	雄	106	3	2.10 ± 0.233	3	43.8 ± 26.9	3	66.6 ± 24.8
	雌	106	4	1.71 ± 0.404	3	41.2 ± 58.7	4	151 ± 63.5
	雌雄	106	7	1.88 ± 0.377	6	42.5 ± 40.9	7	115 ± 65.1
肝臓	雄	183[e]	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌	183[e]	NSC	NSC	NSC	NSC	1	-
	雌雄	183[e]	NSC	NSC	NSC	NSC	3	8.52 ± 6.19

[a] 平均値 ± SD。N≤2 の場合は、値を示さず。
[b] NSC＝採取した試料なし
[c] 動物 059（肝組織中濃度 = 866 µg/g）は外れ値として除外した。
[d] 0.3 及び 1 mg/回群の動物は 10 回投与を受け、3 mg/回群の動物は 15 回投与を受けた。
[e] 回復期間終了時（最終投与の 84 日後）に採取した試料。
Data source: M4.2.3.2-1_Appendix I_Nonclinical PK Report_Table C

4.1.4　幼若サルを用いた 53 週間（1 年）反復投与毒性試験（396443-AS06 試験）

評価資料［4.2.3.2-2］396443-AS06

幼若サルにおいて腰椎穿刺による 53 週間反復 IT ボーラス投与後の ISIS 396443 の組織分布を検討した（396443-AS06 試験）。

Day 372 に、CNS 組織への分布が脊髄及び脳を含む広い範囲で認められ、CNS 組織中の ISIS 396443 濃度は用量依存的な増加を示した（表 18）。ISIS 396443 の CNS 組織中濃度が最も高かったのは、腰髄であり（IT 投与部位と整合）、次いで海馬、大脳皮質及び胸髄の順であった。低用量（0.3 mg/回）の投与後に観察された海馬（10.1 ± 2.81 µg/g）、腰椎（21.4 ± 9.28 µg/g）及び胸髄（14.0 ± 9.34 µg/g）中濃度はいずれも、薬理学的な活性濃度である 5 µg/g（CTD2.6.2、図 8 参照）よりも高く、ICV ボーラス投与後の脊髄及び脳の両領域における全長 SMN mRNA レベル

の 3 倍を超える値であった。ISIS 396443 は、頸髄、小脳及び脳橋中により低濃度で検出された。全体として脊髄組織中濃度（Day 372）は、用量の増加（13.3 倍）に対し用量比を下回る増加を示した（表 18）。

他の ASO の全身分布に関する既知の所見及び公表文献によると、全身分布の主要臓器は肝臓及び腎臓である（Geary 2003; Yu 2007）。本試験で評価した全身組織は、腎皮質及び肝臓のみであったが、ISIS 396443 は、これら組織中に検出された。腎皮質中濃度は、概して CNS 組織中濃度よりも高かったが、肝臓中濃度は、評価した他のすべての組織中での濃度より低かった。平均腎皮質中濃度の増加は、脳組織でみられたと同様に、幾分用量比を下回ったが（9.9 倍）、肝臓中濃度の増加は用量比を上回った（25.5 倍）（表 18）。

回復期間中（4 mg 投与群）、ISIS 396443 は CNS 組織から非常に緩徐に消失し（表 18）、終末相消失半減期の中央値は 174 日（範囲 117～195 日）であり、この値は CSF 中での半減期と同様であった（表 19）。このことは、腎皮質中及び肝臓中の平均薬物濃度で認められた見かけ上のより速い低下（それでも緩徐な低下であるが）とは対照的である（これら組織での推定された見かけの半減期は 23～34.5 日）。回復期間中の CSF 及び CNS 組織中からの消失速度が同様であることから、分布後期間中の CSF 中濃度は、CNS 組織中濃度との間で平衡状態に達したと考えられる。ISIS 396443 は、肝臓及び腎臓ではより急速に消失した。CSF 及び CNS 組織での消失半減期が長いことから、IT 投与での長期投与間隔の妥当性が裏付けられる。

表 18　　サルにおける最終（13 回目）IT 投与 7 日後の ISIS 396443 の全身組織中濃度

臓器／組織	性別	採取日	ISIS 396443 濃度 (µg/g)			
			平均 ± SD			
			N	0.3 mg/回	1.0 mg/回	4.0 mg/回
小脳	雄	372	5	3.43 ± 0.472	19.7 ± 15.3	52.1 ± 16.2
	雌	372	5	5.11 ± 1.54	21.8 ± 18.4	27.2 ± 15
	雌雄	372	10	4.27 ± 1.39	20.8 ± 16.0	39.6 ± 19.7
	雄	554[a]	2	NSC	NSC	-
	雌	554[a]	2	NSC	NSC	-
	雌雄	554[a]	4	NSC	NSC	34.5 ± 23.2
大脳皮質	雄	372	5	2.88 ± 1.34	14.2 ± 2.5	80.4 ± 33.8
	雌	372	5	5.59 ± 1.29	19 ± 7.73	62.2 ± 24
	雌雄	372	10	4.23 ± 1.89	16.6 ± 5.97	71.3 ± 29.3
	雄	554[a]	2	NSC	NSC	-
	雌	554[a]	2	NSC	NSC	-
	雌雄	554[a]	4	NSC	NSC	43.8 ± 4.41
海馬	雄	372	5	8.51 ± 2.98	26.6 ± 7.59	89 ± 16.7
	雌	372	5	11.8 ± 1.5	31.2 ± 13	88.8 ± 21.2
	雌雄	372	10	10.1 ± 2.81	28.9 ± 10.3	88.9 ± 18.0
	雄	554[a]	2	NSC	NSC	-
	雌	554[a]	2	NSC	NSC	-
	雌雄	554[a]	4	NSC	NSC	46.0 ± 7.75
脳橋	雄	372	5	3.83 ± 4.17	9.74 ± 4.45	35.5 ± 19
	雌	372	5	4.44 ± 1.84	7.94 ± 3.71	32.9 ± 13.3
	雌雄	372	10	4.14 ± 3.06	8.84 ± 3.97	34.2 ± 15.5
	雄	554[a]	2	NSC	NSC	-
	雌	554[a]	2	NSC	NSC	-
	雌雄	554[a]	4	NSC	NSC	16.6 ± 4.27
頸髄	雄	372	5	5.12 ± 2.74	17.5 ± 2.21	40.8 ± 13.2
	雌	372	5	8.24 ± 1.96	14.3 ± 6.95	29.4 ± 4.16
	雌雄	372	10	6.68 ± 2.78	15.9 ± 5.14	35.1 ± 11.0
	雄	554[a]	2	NSC	NSC	-
	雌	554[a]	2	NSC	NSC	-
	雌雄	554[a]	4	NSC	NSC	18.4 ± 6.05

表 18　　サルにおける最終（13 回目）IT 投与 7 日後の ISIS 396443 の全身組織中濃度（続き）

臓器／組織	性別	採取日	ISIS 396443 濃度 (µg/g)			
			平均 ± SD			
			N	0.3 mg/回	1.0 mg/回	4.0 mg/回
胸髄	雄	372	5	9.48 ± 4.62	21.5 ± 5.41	66.6 ± 9.18
	雌	372	5	18.5 ± 11.1	24.5 ± 14.8	53 ± 10.3
	雌雄	372	10	14.0 ± 9.34	23.0 ± 10.6	59.8 ± 11.7
	雄	554 [a]	2	NSC	NSC	-
	雌	554 [a]	2	NSC	NSC	-
	雌雄	554 [a]	4	NSC	NSC	20.3 ± 5.60
腰髄	雄	372	5	18.7 ± 11.4	40.8 ± 17.9	123 ± 99.4
	雌	372	5	24.2 ± 6.76	66.1 ± 42.6	75.4 ± 15.4
	雌雄	372	10	21.4 ± 9.28	53.5 ± 33.6	99.0 ± 71.5
	雄	554 [a]	2	NSC	NSC	-
	雌	554 [a]	2	NSC	NSC	-
	雌雄	554 [a]	4	NSC	NSC	39.7 ± 10.8
腎皮質	雄	372	5	31.7 ± 21.4	28.1 ± 9.46	309 ± 231
	雌	372	5	15.6 ± 8.53	57.5 ± 13.5	168 ± 59.6
	雌雄	372	10	23.7 ± 17.6	42.8 ± 19.0	239 ± 176
	雄	554 [a]	2	NSC	NSC	-
	雌	554 [a]	2	NSC	NSC	-
	雌雄	554 [a]	4	NSC	NSC	6.17 ± 3.54
肝臓	雄	372	5	1.05 ± 0.531	3.34 ± 2.22	23.2 ± 7.14
	雌	372	5	0.642 ± 0.148	2.24 ± 0.602	20.7 ± 11.6
	雌雄	372	10	0.850 ± 0.430	2.79 ± 1.64	21.9 ± 9.16
	雄	554 [a]	2	NSC	NSC	-
	雌	554 [a]	2	NSC	NSC	-
	雌雄	554 [a]	4	NSC	NSC	0.101 ± 0.0675

[a] 回復期間終了時（最終投与 189 日後）に試料を採取。
NSC＝採取した試料なし。N≤2 の場合は、値を示さず。
Data source: M4.2.3.2-2_Nonclinical PK Report_396443-AS06PK_Table 9

表 19　回復期間中（Day 365～554）の血漿、CSF 及び組織中の ISIS 396443 終末相消失半減期推定値

マトリックス／組織	半減期（日）
血漿 [a]	55.8
CSF	111
小脳	NR[b]
大脳皮質	NR[b]
海馬 [c]	191
脳橋 [c]	174
腎皮質 [c]	34.5
肝臓 [c]	23.4
頸髄 [c]	195
胸髄 [c]	117
腰髄 [c]	138

[a] Day 372～554 のデータを用いて半減期を推定した。Day 526 の濃度は検出限界以下であったため、半減期の推定から除外した。
[b] 評価期間中の不十分な濃度低下により値は算出されなかった。
[c] 2 時点間の曲線（Day 372 と 554 のみ）を用いて半減期を求めたため、データの解釈には注意が必要である。
NR = 報告されず
Data source: M4.2.3.2-2_Nonclinical PK Report_396443-AS06PK_Table 11

4.1.5　成熟サルと幼若サルとの組織中濃度の比較

ISIS 396443 の用量依存的組織分布は、成熟サルと幼若サルで同様であり、IT 投与後 ISIS 396443 は CNS 組織中に広範に分布し、最高濃度は腰髄（IT 投与部位と整合）、大脳皮質及び肝臓で認められた。組織への分布における性差を示す明確又は一貫した証拠はなかった。IT 投与後、ISIS 396443 は肝臓及び腎臓では比較的高濃度で検出されたことから、投与量のうちかなりの割合が CSF から全身循環に移行したことが示された。成熟サルと幼若サルとで同様に、ISIS 396443 は CNS 及び全身組織から緩徐に消失したと考えられた。推定された CNS 組織中の消失半減期（$t_{1/2}$）の中央値は、3 週間の投与期間後、試料採取を 1 年間行った成熟サルでの試験（396443-APK01 試験）と、1 年間の長期投与期間後、試料採取を 6 ヵ月間行った幼若サルでの試験（396443-AS06 試験）で同様であり、それぞれ 116 日（範囲：74～275 日）及び 174 日（範囲：117～195 日）と推定され、CSF 中での終末相消失半減期（102～111 日）と同様であった。回復期間中の CSF 及び CNS 組織からの消失速度が同様であることから、分布後期間中の CSF 濃度は、CNS 組織との間で平衡状態に達したと考えられる。CSF 及び CNS 組織中での半減期が長いことから、IT 投与での長期投与間隔の妥当性が裏付けられた。

反復 IT 投与後に約 6 ヵ月間の投与後試料採取を実施した幼若サルでは、推定された全身組織中消失半減期（$t_{1/2}$）は CNS 中での半減期より短かったが、血漿中半減期と同様であり、肝臓及び腎皮質中での半減期はそれぞれ 23 日及び 35 日であった（396443-AS06 試験）。血漿中での終末相消失半減期は、肝臓及び腎皮質での終末相消失半減期により近かったことから、サルでの分布相後の血漿中濃度は全身組織中濃度を反映しており、CNS 組織中濃度を反映していないと考えられた。

CNS 中濃度は、成熟サルと幼若サルとで同様であったが、肝臓中濃度は幼若サルの方が成熟サルよりも高かった。成熟サルに週 1 回 1 mg の 4 回投与（累積投与量=3 週間で 4 mg［1.33 mg/週］）後 7 日目の時点での腰髄中濃度は、91.4 ± 37.9 であり、この値は 13 週間複数回投与試験（累積投与量=10 x 1 mg = 10 mg［0.77 mg/週］）の最終投与の 7 日後に幼若サルで認められた濃度（78.6 ± 53.3 µg/g）と同様であった。

4.2 血漿及び CSF 中タンパク結合

評価資料［5.3.2.1-1］396443-IS04、評価資料［5.3.2.1-2］396443-IS05、
評価資料［5.3.2.1-3］396443-IS06

限外ろ過法と Hyb-ELISA 法を併用して、血漿中（ヒト、サル、マウス）及び CSF 中（ヒト、サル）の ISIS 396443 のタンパク結合を検討した（396443-IS04 試験、396443-IS05 試験、396443-IS06 試験）。マウス、サル及びヒトでは、臨床有効血漿中濃度若しくははそれ以上の血漿中濃度（100 ng/mL 及び 5 µg/mL）で ISIS 396443 の血漿タンパク結合率は高いため（94%以上）、糸球体でろ過されず（尿中排泄が制限され）、したがって全身組織への分布が促進される（396443-IS04 試験及び 396443-IS06 試験）。ただし、サル及びヒトの CSF 中のタンパク結合率は低く（5 µg/mL で 25%以下）、150 µg/mL では測定可能な結合は認められなかった。この傾向は、CSF 中のタンパク質含量がより低いことと整合していた（396443-IS05 試験及び 396443-IS06 試験）。

なお、ISIS 396443 と同類の ASO の血漿中でのタンパク結合は比較的弱く（解離定数 Kd は µM オーダー）、ASO のような親水性薬剤の結合部位は低分子量の疎水性薬剤の結合部位とは異なる。また、臨床有効血漿中濃度でみられる血漿中タンパク結合率からは、薬物相互作用を引き起こすことははほとんどないと考えられる。短鎖長の代謝物ほど血漿タンパク質と結合しにくく、尿中に排泄されやすいことから、血漿タンパク結合は ASO の鎖長に依存すると考えられる（McMullen 2009）。

4.3 生殖可能な動物での組織分布及び胎盤通過

生殖可能な動物での ISIS 396443 の組織分布及び胎盤通過性を、マウスを用いた複数回 SC ボーラス投与による受胎能及び発生毒性の併合試験（396443-AS08 試験）、及びウサギを用いた複数回 SC ボーラス投与による胚・胎児発生毒性試験で評価した（396443-AS09 試験）。

4.3.1 マウスを用いた受胎能・発生毒性の併合試験（396443-AS08 試験）

評価資料［4.2.3.5.1-1］396443-AS08

成熟雌及び雄マウスの肝臓の ISIS 396443 への曝露量は用量依存的であった。ISIS 396443 濃度は、3 及び 10 mg/kg 投与群の妊娠雌マウスの胎盤中で検出限界以下（BLQ）であり、高用量群での測定値も非常に低かった（親マウスの肝臓中薬物濃度の 2.3%）。すべての用量群で、胎児肝臓中の ISIS 396443 濃度は BLQ であった（妊娠雌マウスの胎児で測定）。胎児肝臓で曝露が認められないことから、ISIS 396443 は胚及び胎児に移行しにくいことが示された（表 20）。

表 20　　396443-AS08 試験における母動物及び胎児臓器中の ISIS 396443 濃度

群	用量	試験日	性別	N	投与回数	臓器中濃度（μg/g） 平均値 ± SD		
						胎児肝臓	母動物肝臓	母動物胎盤
1	0 mg/kg	71	雄	6	35	NA	BLQ	NA
		GD 18	雌	5[a]	16-20	NA[b]	BLQ	NA[b]
2	3 mg/kg	71	雄	6	35	NA	185 ± 23.6	NA
		GD 18	雌	5[a]	16-17	BLQ	69.2 ± 10.9	BLQ
3	10 mg/kg	71	雄	6	35	NA	478 ± 131	NA
		GD 18	雌	6	16-17	BLQ	164 ± 32.7	BLQ
4	25 mg/kg	71	雄	6	35	NA	989 ± 255	NA
		GD 18	雌	6	16-17	BLQ	417 ± 57.0	9.60 ± 4.82

注：本アッセイの定量下限（LLOQ）は 10.0 μg/g。検出限界以下（BLQ）のすべての値は、要約統計量の解析で 0 とした。

[a] 用量群 1 の雌 1 例及び用量群 2 の雌 1 例は、剖検時に妊娠しておらず、試料を採取しなかった（詳細については毒性試験報告書を参照のこと）。

[b] プロトコルに従い解析しなかった。

Data source: M4.2.3.5.1-1_Appendix 7_Nonclinical PK Report_Table A

4.3.2　　ウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験（396443-AS09 試験）

評価資料［4.2.3.5.2-2］396443-AS09

検討した全用量群で、評価対象となった母動物の肝臓中の平均 ISIS 396443 濃度は用量依存的であった（表 21）。予想されたとおり、検討した各投与群で、ISIS 396443 の平均肝臓中濃度は GD 20（最終投与の 2 日後）で GD 28（最終投与の 10 日後）よりも高かった。すべての用量群で、妊娠雌ウサギの胎児から採取したいずれの肝臓中においても ISIS 396443 の曝露量は定量不能であった。GD 20 では中用量群及び高用量群の両方で、及び GD 28 では高用量群のみで、ISIS 396443 は胎盤中に低濃度で検出された。すべての用量群で、ISIS 396443 の胎盤中濃度は肝臓中濃度の 9%以下であった。胎児肝臓組織中に曝露が認められないことから、ISIS 396443 は胚及び胎児に移行しにくいことが示された。

表 21　　396443-AS09 試験における母動物及び胎児臓器中薬物濃度

群	用量（mg/kg）[a]	試験日	投与回数	N	臓器中濃度（μg/g）		
					胎児肝臓	母動物肝臓	母動物胎盤
1	0	GD 28	7	5	NA	BLQ	NA
2	6	GD 20	7	3	BLQ	90.5 ± 38.3	BLQ
		GD 28	7	5	BLQ	40.1 ± 11.4	BLQ
3	12.6	GD 20	7	3	BLQ	224 ± 40.9	18.4 ± 3.23
		GD 28	7	5	BLQ	120 ± 57.1	BLQ
4	25	GD 20	7	3	BLQ	374 ± 128	28.3 ± 9.61
		GD 28	7	5	BLQ	281 ± 60.1	17.7 ± 5.17

注：評価したすべの組織に対し、本アッセイの定量下限（LLOQ）は 10.0 μg/g であった。検出限界以下（BLQ）のすべての値は、要約統計量の解析で 0 とした。数値は平均値 ± SD。
すべての用量群で、投与は GD 6、8、10、12、14、16 及び 18 に行った。
GD = 妊娠日齢、NA＝該当せず、BLQ＝定量下限（10.0 μg/g）未満
Data source: M4.2.3.5.2-2_Nonclinical PK Report_396443-AS09PK_Table A

4.3.3　　動物種間の比較

妊娠マウス及びウサギへの SC 投与後、胎児肝臓中に曝露が認められないことから、ISIS 396443 は胚及び胎児に移行しにくいことが示された（396443-AS08 試験、396443-AS09 試験）。

5 代謝

評価資料［5.3.1.4-8］396443-IS07

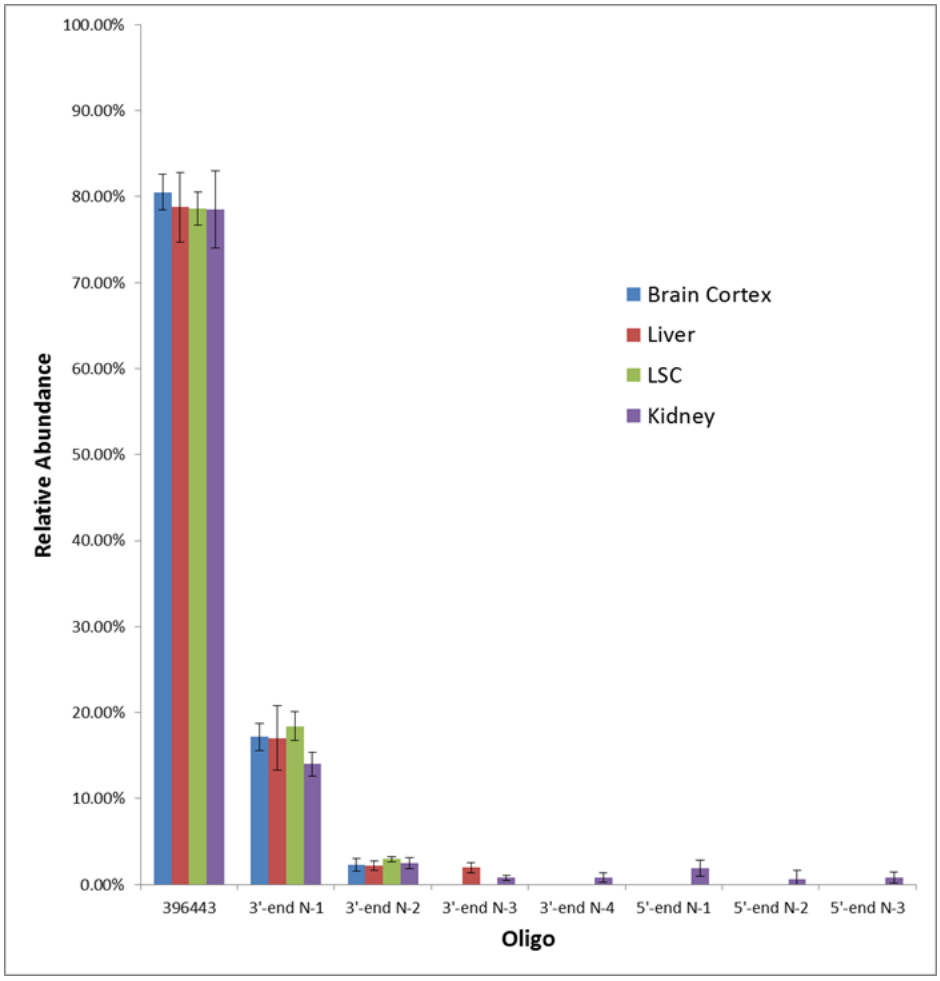
サルを用いた 14 週間（396443-AS03 試験）及び 53 週間（396443-AS06 試験）反復 IT ボーラス投与試験で得られた CSF、血漿及び組織試料を用いて ISIS 396443 の代謝を検討した（396443-IS07 試験）。IT 投与後、サルの CSF 中に検出されたオリゴヌクレオチドは、未変化 ISIS 396443 のみであった。サルの血漿試料中では、未変化 ISIS 396443 がオリゴヌクレオチドの中で最も多く検出されたオリゴヌクレオチドであり、全オリゴヌクレオチドの 95%以上を占めていた。血漿試料中に検出された唯一の ISIS 396443 関連代謝物は、17-mer オリゴヌクレオチドであった（3’-末端からの N-1 代謝物、表 22）。未変化 ISIS 396443 は、大脳皮質、腰髄、肝臓及び腎臓を含む、評価したすべての組織中で最も多く検出されたオリゴヌクレオチドでもあり、全オリゴヌクレオチドの 79～81%を占めていた（図 11）。これらの組織中に検出された代謝物は、短鎖オリゴヌクレオチド（3’-末端からの N-1、N-2、N-3 及び N-4、並びに 5’-末端からの N-1、N-2 及び N-3 代謝物）であった。3’-末端からの N-1 代謝物は、すべての組織中で同定された代謝物の中で圧倒的に多く検出された代謝物であったが（ピーク面積に基づき、全オリゴヌクレオチド中最大 20%含有率）、残りの個々の代謝物の相対含有量はいずれも 5%未満であった。結論として、これらの知見は骨格構造の糖成分が 2’-MOE で完全に修飾された ISIS 396443 の安定な化学構造特性と整合していることから、ISIS 396443 は主にエキソヌクレアーゼによる 3’-末端及び 5’-末端での加水分解を介して緩徐に代謝されると考えられる。

表 22 サル血漿中 ISIS 396443 とその関連代謝物の平均相対含有量（%）（± SD）（396443-AS03 試験）

オリゴヌクレオチド	Day 1 投与 2 時間後	Day 36 投与 7 日後	Day 99 投与 2 時間後
ISIS 396443（18-mer、全長）	97.74 ± 1.34	ND	96.93 ± 0.52
ISIS 524402（17-mer、3'-末端欠失)	2.26 ± 1.34	ND	3.07 ± 0.52

Data source: M5.3.1.4-8_Nonclinical and Clinical Report_396443-IS07_Table 4

図 11　サルを用いた ISIS 396443 複数回 IT 投与試験（396443-AS03 試験及び 396443-AS06 試験）で Day 106（投与後 7 日目）に採取した大脳皮質、肝臓及び腰髄（LSC）、及び Day 372（投与後 7 日目）に採取した腎臓皮質中の ISIS 396443 及びその代謝物の相対含有量（%、平均値 ± SD）



Data source: M5.3.1.4-8_Nonclinical and Clinical Report_396443-IS07_Figure 10

6 排泄

非臨床試験において ISIS 396443 の尿中排泄は評価していない。組織中でエキソヌクレアーゼによる緩徐な代謝を受けた後、短鎖オリゴヌクレオチドは尿中に排泄されると予想されるが、これは ASO の全身クリアランスの主要経路であり、ISIS 396443 でも同様と思われる（Geary 2003）。

6.1 マウスを用いた出生前及び出生後発生試験における乳汁排泄

評価資料［4.2.3.5.3-1］396443-AS12

妊娠中及び授乳中のマウスに 0、5、20、60 mg/kg/週の用量で被験物質を妊娠 6 日目（GD 6）、8、10、12、14、16 の隔日及び授乳 0 日目（LD 0）、6、12、18 の週 1 回皮下投与した。

乳汁中の被験物質濃度を測定するため LD 13 に各群 4 例の動物から乳汁を採取した。腎臓及び肝臓中の被験物質濃度を測定するため各群とも母動物 10 例、及び F1 出生児の雌雄それぞれ 10 例から組織を採取した。ISIS 396443 は授乳中の母動物の乳汁に検出され、用量依存的な増加が認められた。乳汁中濃度は 5、20 及び 60 mg/kg/週の用量で 0.00847、0.0252 及び 0.0552 µg/mL であった。母動物の肝臓中濃度と比較して乳汁中濃度は極めて低かった。全身曝露の指標として、母動物の肝臓中 ISIS 396443 濃度が評価された。組織肝臓中濃度に対する乳汁中濃度の比（0.000220～0.000227）が 3 用量群間で類似して低かったことは、皮下投与後に乳汁中に容易には移行しないことを示している。

7 薬物動態学的薬物相互作用

タンパク結合

マウス、サル及びヒトで ISIS 396443 は、臨床有効濃度あるいはそれ以上の血漿中濃度（100 ng/mL 及び 5 μg/mL）で高い血漿タンパク結合率（>94%）を示すことから、糸球体でろ過されず、したがって腎クリアランスは小さいと考えられた（396443-IS04 試験及び 396443-IS06 試験、4.2 項）。しかし、ISIS 396443 と同クラスの ASO の血漿中でのタンパク結合性は比較的弱い（解離定数 Kd は μM オーダー）ことが知られており、また ASO のような親水性薬剤の結合部位は低分子量の疎水性薬剤の結合部位とは異なる（Watanabe 2006）。したがって、血漿タンパクへの結合を競合することによる薬物相互作用の可能性は低いと考えられる。

トランスポーター

ISIS 396443 は、ヒト BCRP、P-gp、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、OATP1B1、OATP1B3 及び BSEP トランスポーターの基質又は阻害剤とはならない（396443-IS12 試験 [M2.7.2]）。したがって、これらのトランスポーターの競合又は阻害により他の薬剤と相互作用を示す可能性は低い。

代謝

CSF、血漿及び尿試料中に認められる ISIS 396443 の代謝物プロファイルは、ISIS 396443 が、主にエキソヌクレアーゼによる 3’-末端及び 5’-末端の加水分解を介して緩徐に代謝されることを示唆している（396443-IS07 試験）。凍結保存ヒト初代培養肝細胞を用いた *in vitro* 試験では、ISIS 396443 が CYP450 を介する酸化的代謝を誘導又は阻害しないことが示されており、この代謝経路において、他の薬剤と競合することはないと考えられる（396443-IS13 試験、396443-IS14 試験）。

8　　その他の薬物動態試験

これまで、その他の薬物動態試験は実施されていない。

9 考察及び結論

ISIS 396443 の非臨床薬物動態特性を毒性及び薬物動態試験 4 試験で検討した（396443-AS01 試験、396443-APK01 試験、396443-AS03 試験及び 396443-AS06 試験）。成熟サル及び幼若サルを用いて、ISIS 396443 を単回又は複数回 IT 投与した。幼若サルでは 0.3～4 mg、成熟サルでは 1～7 mg の用量を用いた。ISIS 396443 のサルへの IV ボーラス投与も行い、IT 投与時と比較することにより ISIS 396443 の CNS から全身循環へ移行する割合を評価した。

IT 投与された ISIS 396443 は速やかに CSF 全体に分布し、CNS 組織に取り込まれた後、CSF ターンオーバーを介して全身循環に移行する。成熟サルを用いた 3 週間の薬物動態試験で、複数回 IT 投与と IV ボーラス投与したときの血漿、腎皮質及び肝臓における薬物動態を比較することにより、サルにおける ISIS 396443 の全身曝露量を検討した（396443-APK01 試験）。当該試験では成熟サルに、ISIS 396443 1 mg/回を、留置した腰椎カテーテルを介して 4 回 IT 投与する、又は 4 回 IV ボーラス投与した（396443-APK01 試験）。4 回目の投与の 7 日後に測定した血漿中 AUC 及び全身組織中濃度を IT 及び IV 投与間で比較することにより、CSF から全身組織への移行を推定した。直接的な IT 投与によって、脊髄及び脳組織に他の組織に比して高い分布を認めたが、血漿中及び全身組織中の薬物濃度データから、CNS から最終的に全身循環に移行する前の CNS 内での代謝クリアランスはわずかであることが示唆された。IT 投与後、ISIS 396443 は本質的に完全に血漿へ移行した。投与量のうち CNS から全身循環へ移行する割合は、臨床的に有効な用量範囲において一貫しており、初回投与日及び最終投与日の AUC 及び C_{max} の値は、用量に比例した増加を示した（396443-AS06 試験）。

IT 投与後の CSF 中の ISIS 396443 の薬物動態は、成熟サルと幼若サルとで同様であった。成熟サルと幼若サルのいずれでも、CSF 中薬物濃度は多相性を示して低下し、急速な分布相（CSF からのクリアランスの大部分を占める）に続いて 1 相又はそれ以上の多相性のより緩徐で持続した消失相（分布後相）を伴っていた。急速な分布相は、CSF から CNS 組織への急速かつ広範な分布に加え、全身循環への移行による消失に起因すると考えられる。成熟及び幼若サルでの複数回 IT 投与後の CSF 中推定終末相消失半減期（$t_{1/2}$）は 102～111 日であり、CNS 組織での終末相消失半減期（116～174 日）と同様であることから、CSF 濃度は CNS 組織中濃度との間で平衡状態に達したことが示された。

また、CSF から全身循環への移行後も、成熟サルと幼若サルとの間で同様な血漿中及び全身組織中薬物動態が認められた。血漿中 ISIS 396443 濃度は、IT ボーラス投与後の 2～5 時間時点で最高値に達し、その後、投与後 24～48 時間にかけて急速に低下し、また、投与後 24 時間にわたり、ISIS 396443 の大部分が CSF から血漿に移行した。分布相後、より緩徐な消失相が認められた。血漿中での薬物濃度の急速な低下は、主に全身組織への広範な分布による。血漿中推定終末相消失半減期（35～56 日）は、CSF 中推定終末相消失半減期（102～111 日）よりも短いが、全身組織中での推定終末相消失半減期（肝臓では 23.4 日、腎臓では 34.5 日）と同様であったことから、血漿中及び全身組織中の濃度は分布相後に平衡状態に達した可能性が高い（396443-APK01 試験、396443-AS03 試験、396443-AS06 試験）。分布相後の CSF から血漿への ISIS 396443 の連続的移行も、観察された長い血漿中 $t_{1/2}$ に寄与したと考えられる。

抗 ISIS 396443 抗体の有無を、血漿トラフ試料を用いて評価した。全般的に免疫原性は軽微で

あり、陽性が確認されたサルは 1 mg 投与群では 10%（1/10 例；総試料数の 2.0%）、4 mg 投与群では 14.3%（2/14 例；総試料数の 8.1%）であった。抗 ISIS 396443 抗体の産生は、見かけ上血漿トラフ濃度の上昇と相関しているようであるが、免疫原性陽性サルの CSF（投与部位）及び CNS 組織（薬理作用部位）中濃度には影響が認められないことから、有効性及び忍容性への影響は予想されない（396443-IS09 試験）。毒性学的所見に関する変化との間にも関連性は認められなかった。

ISIS 396443 は CSF タンパク（サル及びヒト）への結合率が低いが（5 µg/mL で 25%未満、150 µg/mL で測定不能）、これは CSF 中のタンパク質含量が低いことと整合している（396443-IS04 試験、396443-IS05 試験、396443-IS06 試験）。ISIS 396443 は、マウス、サル及びヒトの全血漿タンパク結合率が高いため（>94%）、糸球体でろ過されず（尿中排泄が制限され）、したがって全身組織への分布が促進される。

ISIS 396443 の CNS 組織中分布は用量依存的であり、成熟サルと幼若サルとの間で同様であった。IT 投与後、ISIS 396443 は CNS 組織中に広範に分布し、最高濃度は一貫して腰髄及び大脳皮質で認められ、組織への分布における性差を示す明確な、又は一貫した証拠は認められなかった。成熟サル及び幼若サルの CSF 中における緩徐な終末相の消失と整合して、ISIS 396443 は CNS 組織からの緩徐な消失を示し、終末相消失半減期（$t_{1/2}$）の中央値は 116～174 日の範囲にあり、また個々の組織中での $t_{1/2}$ のばらつきの範囲（74～275 日）はやや広かった。CSF 及び血漿中濃度と比較して CNS 組織中での薬物濃度が大幅に高かったことから、すべてのマトリックス（CSF、血漿及び CNS 組織）中で一貫して認められた緩徐な消失は、主に CNS 組織からの ISIS 396443 の緩徐な消失、CSF と CNS 組織中との間で薬物濃度は平衡状態に達していること、及び CSF のターンオーバーを介した CSF から血漿への移行に起因すると考えられる。

幼若サルにおける 13 週間の投与期間にわたり 1 mg を 10 回投与（累積投与量=10 mg）後の腰髄中薬物濃度（78.6 ± 53.3 µg/g）は、薬理作用を示すと予想される濃度（5 µg/g）を上回った（M2.6.2）。サルでの 1 年間にわたる累積投与量 40 mg をヒトへ外挿することにより、臨床試験での用法・用量との比較が可能となる。サル（15 mL；Di Chiro 1985）とヒト（150 mL；Matsuzawa 2001）との CSF 量の差である 10 倍で補正すると、サルでの年間累積投与量 40 mg はヒト等価用量 400 mg に相当する。乳児での推奨用法・用量である 1 年目の年間累積投与量 72 mg（負荷投与を含む）、2 年目以降では年間 36 mg と比較すると、ヒト等価用量 400 mg は乳児での推奨用法・用量の 5 倍以上となる。

IT 投与後の成熟サル及び幼若サルの肝臓及び腎皮質中での ISIS 396443 濃度は、CSF のターンオーバーを介した全身組織への分布を反映しており、また、これらの濃度は脊髄及び大脳皮質中での濃度のばらつきの範囲内であった。しかし、これら組織中の ISIS 396443 濃度は、類似化合物を週 1 回反復 SC 投与したときに報告された濃度に比べて低かったため、標的器官での毒性を懸念するには及ばない（Yu 2007）。幼若サルにおいて反復 IT 投与後の推定全身組織中消失半減期（$t_{1/2}$）は CNS 中半減期より短かったが、血漿中半減期と同様であり、肝臓及び腎臓中での半減期はそれぞれ 23 日及び 35 日であった（396443-AS06 試験）。

マウスを用いた複数回ボーラス SC 投与による受胎能及び発生毒性の併合試験及びウサギを用いた複数回ボーラス SC 投与による胚・胎児の発生毒性試験から、生殖器及び肝臓における薬物

濃度データが得られた。妊娠マウス及びウサギへの SC 投与後、胎児肝臓に ISIS 396443 への曝露が認められないことから、ISIS 396443 は胚及び胎児に移行しにくいことが示された（396443-AS08 試験、396443-AS09 試験）。

ISIS 396443 の代謝を、CSF、血漿、CNS 組織及び全身組織で評価した。ISIS 396443 及びその関連代謝物（短鎖オリゴヌクレオチドを含む）の同定及びプロファイリングから、検出されたオリゴヌクレオチドのうち未変化 ISIS 396443 の相対含有量が最も高く、CSF 中では全オリゴヌクレオチドの 100%、血漿中では 95%超、組織中では 79～81%を占めていた。血漿中（3'-末端からの N-1 代謝物のみ）及び組織中（3'-末端からの N-1、N-2、N-3 及び N-4、並びに 5'-末端からの N-1、N-2 及び N-3 代謝物）で観察された代謝物プロファイルは、主にエキソヌクレアーゼ（3'及び 5'エキソヌクレアーゼ）による加水分解と整合していると考えられる。短鎖オリゴヌクレオチドは、脳及び腰髄を含む組織中で最も多く認められ、これら組織中に同定された分子種の中では全長 ISIS 396443（未変化体）が最も多く（>78%）、次いで N-1、N-2、N-3 及び N-4 代謝物の順で続き、この結果はエキソヌクレアーゼ活性と整合していた（396443-IS07 試験）。

凍結保存ヒト初代培養肝細胞の培養系を用いた *in vitro* 試験において、ISIS 396443 は CYP450 を介する酸化的代謝を誘導又は阻害しないことが示されており、したがって代謝経路に関して他の薬剤と競合することはないと考えられる（396443-IS13 試験、396443-IS14 試験）。

ISIS 396443 の非臨床尿中排泄試験は、実施していない。ISIS 396443 と同類の ASO の組織中での代謝は緩徐であり、代謝過程後は主として代謝物が尿中排泄され、未変化体の尿中排泄は比較的少ないことが報告されていることから（Geary 2003）、ISIS 396443 についても同様と予想される。

全体として、サルにおける IT 投与後の CSF、血漿及び組織中の ISIS 396443 の薬物動態の特性が十分に明らかになった。CSF からの消失速度（$t_{1/2}$：102～111 日）と脊髄組織からの消失速度（$t_{1/2}$：115～138 日）が同様であったことから、分布相後に CSF 及び脊髄組織中の濃度が平衡状態に達した。このことにより CSF 中濃度を脊髄組織中濃度のサロゲートとして用いることが可能と考えられる。サルで認められた CSF 中及び CNS 組織中での長い消失半減期により、臨床での IT 投与の長期投与間隔の妥当性が裏付けられる。

10 参考文献

Artru AA. Spinal cerebrospinal fluid chemistry and physiology. In: Spinal Drug Delivery, Tony I. Yaksh (ed). Elsevier Science B.V. 8: 177-237 (1999).

Di Chiro G, Knop RH, Girton ME, Dwyer AJ, Doppman JL, Patronas NJ, Gansow OA, Brechbiel MW, Brooks RA. MR cisternography and myelography with Gd-DTPA in monkeys. Radiology. 1985 Nov;157(2):373-7.

Geary RS, Yu RZ, Watanabe T, Henry SP, Hardee GE, Chappell A, Matson J, Sasmor H, Cummins L, Levin AA. Pharmacokinetics of a tumor necrosis factor-α phosphorothioate 2'-O-(2-methoxyethyl) modified antisense oligonucleotide: comparison across species. American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics. 2003;31:1419–28.

Matsuzawa J, Matsui M, Konishi T, Noguchi K, Gur RC, Bilker W, Miyawaki T. Age-related volumetric changes of brain gray and white matter in healthy infants and children. Cereb Cortex. 2001;11(4):335-42.

McMullen GC, Watanabe TA, Grundy JS. In vitro protein binding evaluation of two antisense oligonucleotides, ISIS 353512 and ISIS 329993, targeting C-reactive protein (CRP). [Poster] AAPS National Meeting, November 2009, Los Angeles. Poster No. 6154.

Shankar G, Arkin S, Cocea L, Devanarayan V, Kirshner S, Kromminga A, Quarmby V, et al. Assessment and reporting of the clinical immunogenicity of therapeutic proteins and peptides—harmonized terminology and tactical recommendations. AAPS J. 2014;16(4):658–73.

Watanabe TA, Geary RS, Levin AA. Plasma protein binding of an antisense oligonucleotide targeting human ICAM-1 (ISIS 2302). Oligonucleotides. 2006;16(2):169-80.

Yu RZ, Baer B, Chappel A, Geary RS, Chueng E, Levin AA. Development of an ultrasensitive noncompetitive hybridization-ligation enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of phosphorothioate oligodeoxynucleotide in plasma. Anal Biochem. 2002;304(1):19–25.

Yu RZ, Geary RS, Levin AA. Application of novel quantitative bioanalytical methods for pharmacokinetic and pharmacokinetic/pharmacodynamic assessment of antisense oligonucleotides. Curr Opin Drug Discov Devel. 2004;7(2):195-203.

Yu RZ, Kim TW, Hong A, Watanabe TA, Gaus HJ, Geary RS. Cross-species pharmacokinetic comparison from mouse to man of a second-generation antisense oligonucleotide, ISIS 301012, targeting human apolipoprotein B-100. Drug Metab Dispos. 2007;35(3):460-8.

スピンラザ髄注 12 mg

第 2 部 CTD の概要

2.6 非臨床試験の概要文及び概要表

2.6.5 薬物動態試験概要表

バイオジェン・ジャパン株式会社

目次

頁

1 薬物動態試験：一覧表 4
1.1 一覧表 4
2 分析方法及びバリデーション試験 8
2.1 分析方法及びバリデーション試験一覧 8
3 薬物動態試験：単回投与後の吸収 10
3.1 単回髄腔内投与後の脳脊髄液中薬物動態 10
3.2 単回髄腔内投与後の脳脊髄液中と血漿中薬物濃度の比較 13
3.3 単回髄腔内投与後の血漿中薬物動態 15
3.4 14 週間複数回投与毒性試験における単回髄腔内投与後の血漿中薬物動態 16
3.5 1 年間反復投与毒性試験における単回髄腔内投与後の血漿中薬物動態 18
4 薬物動態試験：反復投与後の吸収 21
4.1 複数回髄腔内投与後の脳脊髄液中薬物動態 21
4.2 複数回投与後の血漿中薬物動態 23
4.3 14 週間毒性試験における髄腔内反復投与後の脳脊髄液中薬物動態 24
4.4 14 週間毒性試験における髄腔内 5 回投与後の血漿中薬物動態 27
4.5 14 週間毒性試験における髄腔内 10（又は 15）回投与後の血漿中薬物動態 29
4.6 14 週間毒性試験における髄腔内単回及び反復投与後のトラフ血漿中濃度 31
4.7 14 週間毒性試験における髄腔内 5 回投与後の脳脊髄液中と血漿中薬物動態の比較 33
4.8 1 年間毒性試験における髄腔内反復投与後の脳脊髄液中薬物動態 35
4.9 1 年間毒性試験における髄腔内 13 回投与後の血漿中薬物動態 40
4.10 1 年間毒性試験における髄腔内単回及び反復投与後のトラフ血漿中濃度 43
4.11 1 年間毒性試験における髄腔内 13 回投与後の脳脊髄液、血漿及び組織中の薬物動態の比較 45
4.12 複数回髄腔内投与後の消失半減期 48
4.13 複数回髄腔内投与後の消失半減期 49
5 薬物動態試験：分布 50
5.1 単回髄腔内投与後の組織分布 50
5.2 複数回髄腔内投与後の中枢神経系での組織分布 52
5.3 複数回髄腔内投与後の全身組織分布 54
5.4 14 週間毒性試験における髄腔内 5 回投与後の組織分布 56
5.5 14 週間毒性試験における髄腔内 10（又は 15）回投与後の組織分布 59
5.6 14 週間毒性試験における髄腔内 15 回投与後及び回復期後の組織分布 62
5.7 1 年間毒性試験による髄腔内 13 回投与後の組織分布 65
6 薬物動態試験：蛋白結合 68
6.1 脳脊髄液中タンパク結合 68
6.2 血漿中タンパク結合 69

7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 70
7.1 妊娠マウスにおける複数回投与後の組織分布及び胎盤通過性 70
7.2 妊娠ウサギにおける複数回投与後の組織分布及び胎盤通過性 72
8 薬物動態試験：その他の分布試験 74
9 薬物動態試験：代謝：In Vivo 75
9.1 In vivo 代謝試験 75
10 薬物動態試験：代謝：In Vitro 77
11 薬物動態試験：推定代謝経路 78
11.1 推定代謝経路 78
12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 81
13 薬物動態試験：排泄：尿中、胆汁中、乳汁中 82
13.1 マウスを用いた出生前及び出生後発生試験における乳汁排泄 82
14 薬物動態試験：薬物相互作用 83
15 薬物動態試験：その他 84
15.1 免疫原性 84
15.2 免疫原性が薬物動態に及ぼす影響 86

1 薬物動態試験：一覧表

1.1 一覧表

概要						被験物質: ISIS 396443	
試験の種類/内容	GLP 適用	動物種	年齢/平均体重 [b]	投与方法	試験施設	試験番号	CTD での記載箇所
吸収							
PK/TK	適	サル/ カニクイザル	成熟/2 - 5 kg	腰椎髄腔内ボーラス注射	In-Life: [redacted] Bioanalytical: [redacted]	396443-AS01	4.2.3.1-1
PK/TK	非適用	サル/ カニクイザル	成熟/3 - 5 kg	腰椎髄腔内ボーラス注射/IV ボーラス	In-Life: [redacted] Bioanalytical: Ionis Pharmaceuticals, Inc	396443-APK01	4.2.2.2-1
PK/TK	適	サル/ カニクイザル	幼若/ 0.75 - 1.5 kg	腰椎髄腔内ボーラス注射	In-Life: [redacted] Bioanalytical: [redacted]	396443-AS03	4.2.3.2-1

1.1 一覧表（続き）

概要						被験物質: ISIS 396443	
試験の種類/内容	GLP 適用	動物種	年齢/平均体重 [b]	投与方法	試験施設	試験番号	CTD での記載箇所
PK/TK	適	サル/ カニクイザル	幼若/1 - 2 kg	腰椎髄腔内ボーラス注射	In-Life: [redacted] Bioanalytical: [redacted]	396443-AS06	4.2.3.2-2
分布							
組織／臓器分布	適	サル/ カニクイザル	成熟/2 - 5 kg	腰椎髄腔内ボーラス注射	In-Life: [redacted] [redacted] Bioanalytical: [redacted]	396443-AS01	4.2.3.1-1
組織／臓器分布	非適用	サル/ カニクイザル	成熟/3 - 5 kg	腰椎髄腔内ボーラス注射/IV ボーラス	In-Life: [redacted] [redacted] Bioanalytical: [redacted] and Ionis Pharmaceuticals, Inc	396443-APK01	4.2.2.2-1

1.1 一覧表（続き）

概要						被験物質: ISIS 396443	
試験の種類/内容	GLP 適用	動物種	年齢/体重 [a]	投与方法	試験施設	試験番号	CTD での記載箇所
組織／臓器分布	適	サル/カニクイザル	幼若/0.75 - 1.5 kg	腰椎髄腔内ボーラス注射	In-Life: [redacted] Bioanalytical: [redacted] and Ionis Pharmaceuticals, Inc.	396443-AS03	4.2.3.2-1
組織／臓器分布	適	サル/カニクイザル	幼若/1 - 2 kg	腰椎髄腔内ボーラス注射	In-Life: [redacted] Bioanalytical: [redacted]	396443-AS06	4.2.3.2-2
CSF タンパク結合	非適用	サル及びヒト	NA	*In Vitro*	Bioanalytical: Ionis Pharmaceuticals, Inc.	396443-IS05	5.3.2.1-2
血漿タンパク結合	非適用	サル及びヒト	NA	*In Vitro*	Bioanalytical: Ionis Pharmaceuticals, Inc.	396443-IS04	5.3.2.1-1
血漿及び CSF タンパク結合	非適用	マウス、サル及びヒト	NA	*In Vitro*	Bioanalytical: [redacted]	396443-IS06	5.3.2.1-3

1.1 一覧表（続き）

概要						被験物質: ISIS 396443	
試験の種類/内容	GLP	動物種	年齢/体重 [a]	投与方法	試験施設	試験番号	CTD での記載箇所
妊娠動物における組織／臓器分布	適	マウス/ CD-1	60 - 70 days/ 20 - 45 g	SC	In-Life: [redacted] Bioanalytical: [redacted]	396443-AS08	4.2.3.5.1-1
妊娠動物における組織／臓器分布	適	ウサギ/ New Zealand White	4.5 – 5 months/ 2.795 – 3.499 kg	SC	In-Life: [redacted] Bioanalytical: [redacted]	396443-AS09	4.2.3.5.2-2
代謝							
代謝物の同定（*in Vivo*）	非適用	サル/ カニクイザル	幼若/0.75 - 2 kg	腰椎髄腔内ボーラス注射	Ionis Pharmaceuticals, Inc.	396443-IS07	5.3.1.4-8
その他							
免疫原性	非適用	サル/ カニクイザル	幼若/1 - 2 kg	腰椎髄腔内ボーラス注射	Ionis Pharmaceuticals, Inc.	396443-IS09	5.3.5.4-4

[a] 体重は試験計画書に記載の値。実際の体重は毒性試験報告書に記載されている。
IT = Intrathecal; NA = Not Applicable

2 分析方法及びバリデーション試験

2.1 分析方法及びバリデーション試験一覧

被験物質: ISIS 396443									
試験番号	動物種／マトリックス	分析方法	定量的又は定性的	定量範囲	感度 (LLOQ)	未変化体に対する選択性	代謝物の定量	GLP 適用	CTD での記載箇所
396443-APK01BA01	サル／血漿	ECL	定量的	0.05 – 10 ng/mL	0.05 ng/mL	有り	不可	非適用	4.2.2.2-1
396443-APK01BA02	サル／腎皮質及び骨格筋組織	Hybridization ELISA	定量的	15 – 1500 ng/g	15 ng/g	有り	不可	非適用	4.2.2.2-1
396443-APK01BA03	サル／CSF	ECL	定量的	0.05 – 10 ng/mL	0.05 ng/mL	有り	不可	非適用	4.2.2.2-1
396443-IS07	サル／血漿	HPLC-MSMS	定量的	25 – 10000 ng/mL	25 ng/mL	有り	可	非適用	5.3.1.4-8
396443-IS07	サル／腎皮質	HPLC-MS	定量的	10 – 1500 µg/g	10 µg/g	有り	可	非適用	5.3.1.4-8
396443-IS07	サル／脳、脊髄及び肝臓	HPLC-MS	定性的 [a]	NA	NA	有り	可	非適用	5.3.1.4-8
396443-IS07	サル／CSF	HPLC/MSMS	定量的	25 – 500 ng/mL	25 ng/mL	有り	可	非適用	5.3.1.4-8

2.1 分析方法及びバリデーション試験一覧（続き）

被験物質: ISIS 396443									
試験番号	動物種/ マトリックス	分析方法	定量的又は 定性的	検量範囲	感度 (LLOQ)	未変化体 に対する 選択性	代謝物の 定量	GLP 適用	CTD での 記載箇所
396443-MV01	サル/血漿	Hybridization ELISA	定量的	1.5 – 150 ng/mL	1.5 ng/mL	有り	不可	適	4.2.2.1-1
396443-MV02	サル/脳、肝臓、脊髄組織	Hybridization ELISA	定量的	15 - 1500 ng/g	15 ng/g	有り	不可	適	4.2.2.1-2
396443-MV03	サル／CSF	Hybridization ELISA	定量的	1.5 - 150 ng/mL	1.5 ng/mL	有り	不可	適	4.2.2.1-3
396443-MV10	サル／血漿	ELISA	定性的	NA	NA	有り [b]	NA	適	4.2.2.1-4
396443-MV11	マウス／肝臓	HPLC	定量的	10 – 1500 µg/g	10 µg/g	有り	可	適	4.2.2.1-5
396443-MV12	ウサギ／肝臓	HPLC	定量的	10 – 1500 µg/g	10 µg/g	有り	不可	非適用	4.2.2.1-6

[a] 代謝物量は全長未変化体に対する相対的な割合（クロマトグラム上の総ピーク面積に占める割合%）として求めた。
[b] 抗 ISIS 396443 抗体に関して特異的
ECL = Electrochemilumiscense; ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; HPLC = High Performance Liquid Chromatography; LLOQ = Lower Limit of Quantitation; MS = Mass Spectrometry; NA = Not Applicable

3 薬物動態試験：単回投与後の吸収

3.1 単回髄腔内投与後の脳脊髄液中薬物動態

成熟サルにおける単回髄腔内投与後の CSF 中での吸収	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.1-1
	試験番号 396443-AS01

動物種	サル								
給餌条件	摂餌								
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液								
被検物質	ISIS 396443								
分析法	ELISA								
試料	CSF								
Data Analysis Software	[redacted]								
投与方法	腰椎髄腔内（IT）ボーラス注射								
性別 (雄/雌) /動物数	雄 3 匹/ 雌 3 匹								
投与回数	1								
試料採取時点	Day 8								
最終投与からの時間	7 日								
用量 (mg)	1			3			7		
性別	雄	雌	雌雄	雄	雌	雌雄	雄	雌	雌雄
濃度 (ng/mL)[a]	9.89 ± 3.52	10.5 ± 6.87	10.2 ± 4.89	56.6 ± 49.6	35.2 ± 44.7	45.9 ± 43.8	79.9 ± 3.1	48.3 ± 45.1	64.1 ± 33.4

[a] 値は平均値 ± SD
CSF = Cerebrospinal Fluid; ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; SD = Standard Deviation

3.1 単回髄腔内投与後の脳脊髄液中薬物動態（続き）

成熟サルにおける単回髄腔内投与後の CSF 中での吸収					被験物質: ISIS 396443 CTD での記載箇所: 4.2.3.1-1 試験番号 396443-AS01
動物種		サル			
用量 (mg)		3			
CSF PK パラメータ		単位	N	**平均 ± SD**	**中央値（範囲）**
雄	$AUC_{0\text{-}12hr}$	hr*µg/mL	5	1129 ± 189	1146 (877-1329)
雌	$AUC_{0\text{-}12hr}$	hr*µg/mL	3	2034 ± 936	2277 (1000-2824)
雌雄	$AUC_{0\text{-}12hr}$	hr*µg/mL	8	1468 ± 700	1215 (877 - 2824)
雄	$AUC_{0\text{-}24hr}$	hr*µg/mL	5	1303 ± 253	1404 (977-1584)
雌	$AUC_{0\text{-}24hr}$	hr*µg/mL	3	2205 ± 1058	2388 (1067-3159)
雌雄	$AUC_{0\text{-}24hr}$	hr*µg/mL	8	1641 ± 758	1425 (977 - 3159)
雄	$AUC_{0\text{-}48hr}$	hr*µg/mL	5	1415 ± 321	1543 (1033-1804)
雌	$AUC_{0\text{-}48hr}$	hr*µg/mL	3	2264 ± 1087	2445 (1098-3250)
雌雄	$AUC_{0\text{-}48hr}$	hr*µg/mL	8	1734 ± 768	1552 (1033 - 3250)
雄	$CL_{csf,0\text{-}48hr}$ [a)]	mL/hr	5	2.21 ± 0.53	1.94 (1.66-2.90)
雌	$CL_{csf,0\text{-}48hr}$ [a)]	mL/hr	3	1.63 ± 0.97	1.23(0.92-2.73)
雌雄	$CL_{csf,0\text{-}48hr}$ [a)]	mL/hr	8	1.99 ± 0.720	1.93 (0.920 - 2.90)
雄	C_{max}	µg/mL	5	410 ± 77	404 (322-526)
雌	C_{max}	µg/mL	3	893 ± 509	1053 (323-1304)
雌雄	C_{max}	µg/mL	8	592 ± 374	420 (322 - 1304)
雄	$MRT_{0\text{-}48hr}$	hr	5	5.91 ± 1.17	5.94 (4.56-7.70)
雌	$MRT_{0\text{-}48hr}$	hr	3	4.55 ± 0.41	4.36 (4.28-5.02)
雌雄	$MRT_{0\text{-}48hr}$	hr	8	5.40 ± 1.15	5.15 (4.28 - 7.70)

3.1 単回髄腔内投与後の脳脊髄液中薬物動態（続き）

成熟サルにおける単回髄腔内投与後の CSF 中での吸収					被験物質: ISIS 396443 CTD での記載箇所: 4.2.3.1-1 試験番号 396443-AS01
動物種		サル			
用量 (mg)		3			
CSF PK パラメータ		単位	N	**平均 ± SD**	**中央値（範囲）**
雄	T_{max}	hr	5	0.25 ± 0	0.25 (0.25-0.25)
雌	T_{max}	hr	3	0.42 ± 0.14	0.50 (0.25-0.50)
雌雄	T_{max}	hr	8	0.310 ± 0.120	0.250 (0.250 - 0.500)
雄	$t_{1/2}$ [b)]	日	-	-	-
雌	$t_{1/2}$ [b)]	日	-	-	-
雌雄	$t_{1/2}$ [b)]	日	-	11.35	-

[a] $CL_{csf,0\text{-}48hr}$ = 用量（mg）/$AUC_{0\text{-}48hr}$ (hr x µg/mL) x 1000
[b] 半減期値は [redacted] のスパースサンプリング関数を用いて求めた。そのため、単一の値のみが報告されている。
ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; SD = Standard Deviation

3.2 単回髄腔内投与後の脳脊髄液中と血漿中薬物濃度の比較

成熟サルにおける単回髄腔内投与後の CSF 中及び血漿中薬物濃度の比較			被験物質: ISIS 396443 CTD での記載箇所: 4.2.3.1-1 試験番号 396443-AS01
動物種	サル		
給餌条件	摂餌		
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液		
被検物質	ISIS 396443		
分析法	ELISA		
Data Analysis Software	[redacted]		
投与法	腰椎髄腔内ボーラス注射		
用量（mg）	3		
性別（雄/雌）/動物数	雄 8 / 雌 5 [e]	雄 5 / 雌 3 [h]	-
試料	血漿	CSF	-
最終投与からの時間 (hr)	濃度 (ng/mL)[a]		CSF: 血漿比率 [b]
0	BLQ	BLQ	NC
0.5	65.6 ± 21.9[f]	538 ± 402	8201
1	93.9 ± 29.5	322 ± 178	3429
2	336 ± 201	176 ± 26.9	524
4	432 ± 215	144 ± 98.2	333
6	316 ± 132	88.8 ± 67.3	281
8	277 ± 153	52.4 ± 31.5	189
10	204 ± 83.8[f]	31.0 ± 14.5	152
12	171 ± 86.7	16.3 ± 6.27	95.3

3.2 単回髄腔内投与後の脳脊髄液中と血漿中薬物濃度の比較（続き）

成熟サルにおける単回髄腔内投与後の CSF 中及び血漿中薬物濃度の比較			被験物質: ISIS 396443 CTD での記載箇所: 4.2.3.1-1 試験番号 396443-AS01
試料	血漿	CSF	-
最終投与からの時間 (hr)	濃度 (ng/mL)[a]		CSF:血漿比率[b]
24	38.6 ± 16.8	5.49 ± 3.40	142
48	2.35 ± 1.64[h]	0.780 ± 0.423	332
168	BLQ[g]	0.0459 ± 0.0438[m]	NC
168[c]	3.61 ± 3.25[m]	0.0641 ± 0.0334[m]	17.8
240	0.260 ± 0.650[i]	0.118 ± 0.0771[l]	454
480	BLQ[i]	0.0549 ± 0.0473[m]	NC
912	BLQ[j]	0.0160 ± 0.0176[n]	NC
1344	BLQ[j]	0.00634 ± 0.00500[o]	NC
1512	BLQ[k]	0.0122[p]	NC
1680	BLQ[k]	0, 0.00262[d]	NC

[a] 値は平均 ± SD; [b] 比率 = [CSF, µg/mL]/([血漿, ng/mL]/1000); [c] 用量 = 7 mg; [d] N = 2 の場合、値は最小値と最大値
[e] 雄 8 匹/雌 8 匹が分析された; 雌 2 匹は異常値を示したため分析から除外した。雌 1 匹は試料量が分析に不十分であったため値は得られなかった。
[f] 雄 8 匹）/雌 8 匹）が分析された; 雌 2 匹は異常値を示したため分析から除外した。雄雌各 1 匹は試料量が分析に不十分であったため値は得られなかった。
[g] 雄 3 匹/雌 3 匹が分析された; 雄 1 匹は異常値を示したため分析から除外した。1 匹の雌は試料量が分析に不十分であったため値は得られなかった。
[h] 雄 5 匹/雌 5 匹）が分析された; 雌 2 匹は異常値を示したため分析から除外した。
[i] 雄 3 匹/雌 4 匹が分析された; 雌 1 匹は異常値を示したため分析から除外した。
[j] 雄 2 匹/雌 3 匹が分析された; 雌 1 匹は異常値を示したため分析から除外した。
[k] 雄 1 匹/雌 2 匹が分析された; 雌 1 匹は異常値を示したため分析から除外した。
[l] 雄 3 匹/雌 3 匹が分析された; 雌 1 匹は異常値を示したため分析から除外した。
[m] N = 6; [n] N = 4; [o] N = 3; [p] N = 1
CSF = Cerebrospinal Fluid; ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; NC = Not Calculated (cannot divide by zero); SD = Standard Deviation; BLQ = Below limit of quantification (1.5 ng/mL)

3.3 単回髄腔内投与後の血漿中薬物動態

成熟サルにおける単回髄腔内投与後の血漿中での吸収	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.1-1
	試験番号 396443-AS01

動物種	サル
給餌条件	摂餌
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液
被検物質	ISIS 396443
分析法	ELISA
試料	血漿
血漿中 PK パラメータ	

用量（mg）	性別	C_{max} (µg/mL)		T_{max} (hr)		AUC_{0-24hr} (hr*µg/mL)		CL/F (mL/hr)[a)]	
		N	平均 ± SD	N	中央値（範囲）	N	平均 ± SD	N	平均 ± SD
1	雄	3	0.162 ± 0.025	3	6 (4 - 10)	3	1.92 ± 0.493	3	550 ± 166
	雌	3	0.282 ± 0.178	3	4 (1 - 6)	3	2.14 ± 0.368	3	476 ± 83.2
	雌雄	6	0.222 ± 0.131	6	5 (1.0 - 10)	6	2.03 ± 0.408	6	513 ± 124
3	雄	8	0.438 ± 0.165	8	4 (2 - 8)	8	4.76 ± 1.486	8	697 ± 251
	雌	5	0.483 ± 0.294	5	4 (2 - 4)	5	4.10 ± 2.42	5	893 ± 371
	雌雄	13	0.455 ± 0.213	13	4 (2 - 8)	13	4.50 ± 1.83	13	772 ± 304
7	雄	3	1.206 ± 0.479	3	4 (2 - 4)	3	12.0 ± 3.85	3	621 ± 170
	雌	3	4.02 ± 1.77	3	2 (1 - 2)	3	17.1 ± 3.456	3	420 ± 86.3
	雌雄	6	2.61 ± 1.93	6	2 (1 - 4)	6	14.6 ± 4.32	6	521 ± 163

[a] CL/F = 用量（mg）/(AUC_{0-24hr}/1000)
ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; SD = Standard Deviation

3.4 14 週間複数回投与毒性試験における単回髄腔内投与後の血漿中薬物動態

14 週間毒性試験における単回髄腔内投与後の幼若サルでの血漿中の吸収	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1
	試験番号: 396443-AS03

動物種	サル
給餌条件	摂餌
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液
被検物質	ISIS 396443
分析法	ELISA
試料	血漿
Data Analysis Software	[redacted]
投与方法	腰椎髄腔内ボーラス注射

3.4 14 週間複数回投与毒性試験における単回髄腔内投与後の血漿中薬物動態（続き）

14 週間毒性試験における単回髄腔内投与後の幼若サルでの血漿中の吸収	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1
	試験番号: 396443-AS03

PK パラメータ									
用量 (mg/dose)	**性別**	**投与回数**	**測定日**	N	**C_{max} (µg/mL)**	**T_{max} (hr)**	**$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr*µg/mL)**	**CL/F (mL/hr)[a)]**	**$t_{1/2}$ (days)**
					平均 ± SD	**中央値（範囲）**	**平均 ± SD**	**平均 ± SD**	**平均 ± SD（範囲）**
0.3	雄	1	1	6	0.098 ± 0.037	4 (2 - 6)	0.78 ± 0.121	396 ± 69.7	NC[b)]
	雌	1	1	7	0.221 ± 0.127	4 (2 - 8)	1.31 ± 0.441	253 ± 86	NC[b)]
	雌雄	1	1	13	0.164 ± 0.113	4 (2 - 8)	1.06 ± 0.423	319 ± 106	NC[b)]
1	雄	1	1	6	0.501 ± 0.303	2 (0.5 - 2)	2.97 ± 0.79	363 ± 116	NC[b)]
	雌	1	1	7	0.838 ± 0.595	2 (1 - 8)	4.21 ± 1.01	249 ± 56.3	NC[b)]
	雌雄	1	1	13	0.683 ± 0.496	2 (0.5 - 8)	3.64 ± 1.09	301 ± 103	NC[b)]
3	雄	1	1	9	1.71 ± 0.72	4 (2 - 4)	11.1 ± 2.47	282 ± 57.4	NC[b)]
	雌	1	1	9	2.23 ± 1.15	2 (2 - 6)	12.9 ± 2.11	239 ± 45.5	NC[b)]
	雌雄	1	1	18	1.97 ± 0.968	2 (2 - 6)	12 ± 2.42	261 ± 54.8	NC[b)]

[a] CL/F = 用量（mg）/($AUC_{0\text{-}24hr}$/1000)
[b] NC= Not calculated
ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; SD = Standard Deviation

3.5 1 年間反復投与毒性試験における単回髄腔内投与後の血漿中薬物動態

1 年間毒性試験における単回髄腔内投与後の幼若サルでの血漿中の吸収	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-2
	試験番号 396443-AS06

動物種	サル
給餌条件	摂餌
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液
被検物質	ISIS 396443
分析法	ELISA
試料	血漿
Data Analysis Software	[redacted]
投与方法	腰椎髄腔内ボーラス注射

3.5　1 年間反復投与毒性試験における単回髄腔内投与後の血漿中薬物動態（続き）

1 年間毒性試験における単回髄腔内投与後の幼若サルでの血漿中の吸収							被験物質:　ISIS 396443 CTD での記載箇所:　4.2.3.2-2 試験番号. 396443-AS06
PK パラメータ							
用量（mg）	**性別**	**N**	**$AUC_{0\text{-}168hr}$ (hr*µg/mL)**	**$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr*µg/mL)**	**CL/F (mL/hr)[a)]**	**C_{max} (µg/mL)**	**T_{max}(hr)**
			平均 ± SD	**平均 ± SD**	**平均 ± SD**	**平均 ± SD**	**中央値（範囲）**
0.3	雄	5	1.24 ± 0.244	1.1 ± 0.192	280 ± 50.5	0.152 ± 0.0236	2 (1 - 2)
	雌	5	0.995 ± 0.104	0.866 ± 0.079	349 ± 33.3	0.0925 ± 0.0158	4 (2 - 4)
	雌雄	10	1.12 ± 0.219	0.983 ± 0.186	314 ± 54.4	0.122 ± 0.036	2 (1 - 4)
1	雄	5	4.61 ± 1.18	4.06 ± 1.04	264 ± 90	0.585 ± 0.206	2 (1 - 2)
	雌	5	4.49 ± 1.02	3.97 ± 0.894	262 ± 56	0.554 ± 0.217	2 (2 - 4)
	雌雄	10	4.55 ± 1.04	4.02 ± 0.915	263 ± 70.7	0.569 ± 0.2	2 (1 - 4)
4	雄	7	30.1 ± 9.23	27.4 ± 8.59	155 ± 33.8	4.97 ± 1.47	2 (2 - 4)
	雌	7	20.9 ± 4.92	18.2 ± 4.74	231 ± 53.4	2.51 ± 0.862	4 (2 - 8)
	雌雄	14	25.5 ± 8.55	22.8 ± 8.18	193 ± 58.3	3.74 ± 1.72	4 (2 - 8)

3.5　1 年間反復投与毒性試験における単回髄腔内投与後の血漿中薬物動態（続き）

1 年間毒性試験における単回髄腔内投与後の幼若サルでの血漿中の吸収	被験物質:　ISIS 396443
	CTD での記載箇所:　4.2.3.2-2
	試験番号. 396443-AS06

PK パラメータ							
用量（mg）	性別	**N**	**$AUC_{0\text{-}4hr}$ (hr*µg/mL)**	**$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr*µg/mL)**	**$AUC_{0\text{-}168hr}$ (hr*µg/mL)**	**$AUC_{0\text{-}4hr}$ 比率 [b]**	**$AUC_{0\text{-}24hr}$ 比率 [c]**
0.3	雄	5	0.443 ± 0.0484	1.1 ± 0.192	1.24 ± 0.244	0.36 ± 0.054	0.89 ± 0.035
	雌	5	0.263 ± 0.0516	0.866 ± 0.079	0.995 ± 0.104	0.26 ± 0.034	0.87 ± 0.078
	雌雄	10	0.353 ± 0.106	0.983 ± 0.186	1.12 ± 0.219	0.31 ± 0.069	0.88 ± 0.058
1.0	雄	5	1.79 ± 0.64	4.06 ± 1.04	4.61 ± 1.18	0.38 ± 0.056	0.88 ± 0.032
	雌	5	1.61 ± 0.576	3.97 ± 0.894	4.49 ± 1.02	0.35 ± 0.074	0.89 ± 0.01
	雌雄	10	1.70 ± 0.582	4.02 ± 0.915	4.55 ± 1.04	0.37 ± 0.064	0.88 ± 0.023
4.0	雄	7	14 ± 4.72	27.4 ± 8.59	30.1 ± 9.23	0.47 ± 0.084	0.91 ± 0.017
	雌	7	6.41 ± 2.54	18.2 ± 4.74	20.9 ± 4.92	0.30 ± 0.078	0.87 ± 0.029
	雌雄	14	10.2 ± 5.37	22.8 ± 8.18	25.5 ± 8.55	0.38 ± 0.12	0.89 ± 0.031

[a] CL/F = 用量（mg）/($AUC_{0\text{-}24hr}$/1000)
[b] $AUC_{0\text{-}4hr}$ 比率 = $AUC_{0\text{-}4hr}$/ $AUC_{0\text{-}168hr}$; 値は個々の動物について求められた。
[c] $AUC_{0\text{-}24hr}$ 比率 = $AUC_{0\text{-}24hr}$/ $AUC_{0\text{-}168hr}$; 値は個々の動物について求められた。
ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; SD = Standard Deviatio

4 薬物動態試験：反復投与後の吸収

4.1 複数回髄腔内投与後の脳脊髄液中薬物動態

成熟サルにおける複数回投与後の CSF 中の吸収	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.2.2-1
	試験番号 396443-APK01

動物種				サル			
給餌条件				摂餌			
溶媒/投与形態				人工脳脊髄液/溶液			
被検物質				ISIS 396443			
分析法				ECL			
Data Analysis Software				[redacted]			
試料				CSF			
投与頻度				Days 1, 8, 15, 22			
用量（mg）				1			
投与方法				腰椎 IT ボーラス	IV ボーラス	腰椎 IT ボーラス	IV ボーラス
試験日	最終投与からの時間（hr）	投与回数	性別（雄/雌）/動物数	濃度 (μg/mL)[a]			
				平均 ± SD		中央値（範囲）	
1	0	0	雄/16	BLQ	NSC	BLQ	NSC
8	0	1	雄/15	0.116 ± 0.146	NSC	0.0507 (0.00557 – 0.465)	NSC
15	0	2	雄/15	0.105 ± 0.0902	NSC	0.0687 (0.0186 – 0.347)	NSC
22	0	3	雄/15	0.134 ± 0.0879	NSC	0.128 (0.0309 – 0.330)	NSC
22	1	4	雄/4	119 ± 30.4	NSC	109 (94.8 – 163)	NSC

4.1 複数回髄腔内投与後の脳脊髄液中薬物動態（続き）

成熟サルにおける複数回投与後の CSF 中の吸収				被験物質: ISIS 396443			
				CTD での記載箇所: 4.2.2.2-1			
				試験番号. 396443-APK01			
投与方法				腰椎 IT ボーラス	IV ボーラス	腰椎 IT ボーラス	IV ボーラス
試験日	最終投与からの時間（hr）	投与回数	性別（雄/雌）/動物数	濃度 (µg/mL)[a]			
				平均 ± SD		中央値（範囲）	
22	4	4	雄/4	47.0 ± 16.5	NSC	43.2 (32.5 – 69.1)	NSC
22	12	4	雄/4	17.9 ± 7.57	NSC	15.4 (12.2 - 28.4)	NSC
24	48	4	雄/4	2.65 ± 1.15	NSC	2.77 (1.39 - 3.67)	NSC
29	168	4	雄/8	0.179 ± 0.0801	BLQ[a]	0.164 (0.0662 - 0.316)	BLQ[a]
85	1512	4	雄/7	0.0326 ± 0.0131	NSC	0.0367 (0.0153 - 0.0542)	NSC
183	3864	4	雄/7	0.0183 ± 0.0183	NSC	0.0111 (0.00151 - 0.0498)	NSC
253	5544	4	雄/7	0.0118 ± 0.0117	NSC	0.0124 (0.000149 - 0.0310)	NSC
365	8232	4	雄/4	0.00534 ± 0.00571	NSC	0.00367 (0.000868 - 0.0131)	NSC

[a] N= 3
BLQ = Below limit of quantitation (<50.0 pg/mL); CSF = Cerebrospinal Fluid; ECL = Electrochemiluminescense; IT = Intrathecal; IV = Intravenous; NSC = No Sample Collected; SD = Standard Deviation

4.2 複数回投与後の血漿中薬物動態

成熟サルにおける複数回投与後の血漿中の吸収		被験物質: ISIS 396443
		CTD 参での記載箇所: 4.2.2.2-1
		試験番号 396443-APK01
動物種	サル	
給餌条件	摂餌	
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶媒	
被検物質	ISIS 396443	
分析法	ECL	
試料	血漿	
Data Analysis Software	[redacted]	
投与頻度	Days 1, 8, 15, 22	
投与回数	4	
用量（mg）	1	
投与方法	腰椎髄腔内ボーラス注射	IV ボーラス
性別 (雄/雌) /動物数	雄 17	雄 3
PK パラメータ	平均値 ± SD	
T_{max} (hr)[a]	4 (1 - 8)	1 (1 - 1)
T_{last} (hr)	8232	168
C_{max} (µg/mL)	0.154 ± 0.114	0.367 ± 0.0440
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (µg x hr/mL)	1.53 ± 0.441	0.720 ± 0.0662
$AUC_{0\text{-}168hr}$ (µg x hr/mL)	2.07 ± 0.532	1.02 ± 0.163

[a] 値は中央値（範囲）
ECL = Electrochemilumiscense; IT = Intrathecal; SD = Standard Deviation

4.3 14 週間毒性試験における髄腔内反復投与後の脳脊髄液中薬物動態

14 週間毒性試験における反復髄腔内投与後の幼若サルでの CSF 中の吸収			被験物質: ISIS 396443 CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1 試験番号 396443-AS03
動物種	サル		
給餌条件	摂餌		
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液		
被検物質	ISIS 396443		
分析法	ELISA		
Data Analysis Software	[redacted]		
投与法	腰椎髄腔内ボーラス注射		
試料	CSF		
投与頻度	Days 1, 8, 15, 22, 29, 43, 57, 71, 85, 99		Days 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78, 85, 92, 99
用量（mg）	0.3	1	3

4.3 14 週間毒性試験における髄腔内反復投与後の脳脊髄液中薬物動態（続き）

14 週間毒性試験における反復髄腔内投与後の幼若サルでの CSF 中の吸収	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1
	試験番号 396443-AS03

用量（mg）		0.3		1		3	
用量	**性別**	**試験日**	**投与回数**	**CSF 試料採取部位**			
					大槽		**腰髄腔**
				N	**ISIS 396443[a] (ng/mL)**	**N**	**ISIS 396443[a] (ng/mL)**
0.3 mg	雄	36	5	3	3.95 ± 3.43	3	6.82 ± 10.4
	雌	36	5	3	5.49 ± 3.49	2	-
	雌雄	36	5	6	4.72 ± 3.21	5	10.4 ± 12.7
0.3 mg	雄	106	10	3	16.0 ± 5.44	2	-
	雌	106	10	3	15.1 ± 8.51	2	-
	雌雄	106	10	6	15.6 ± 6.41	4	15.2 ± 9.84
1 mg	雄	36	5	3	57.4 ± 52.8	2	-
	雌	36	5	3	41.7 ± 46.3	3	16.1 ± 8.76
	雌雄	36	5	6	49.6 ± 45.2	5	23.3 ± 26.8
1 mg	雄	106	10	3	28.5 ± 10.6	2	-
	雌	106	10	3	15.9 ± 7.93	1	-
	雌雄	106	10	6	22.2 ± 10.9	3	10.8 ± 8.46

4.3 14 週間毒性試験における髄腔内反復投与後の脳脊髄液中薬物動態（続き）

14 週間毒性試験における反復髄腔内投与後の幼若サルでの CSF 中の吸収	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1
	試験番号 396443-AS03

用量（mg）		0.3		1		3	
用量	**性別**	**試験日**	**投与回数**	**CSF 試料採取部位**			
					大槽		**腰髄腔**
				N	**ISIS 396443[a] (ng/mL)**	**N**	**ISIS 396443[a] (ng/mL)**
3 mg	雄	36	5	3	82.5 ± 54.4	3	57.8 ± 7.88
	雌	36	5	2	-	1	-
	雌雄	36	5	5	66.4 ± 49.2	4	57.2 ± 6.57
3 mg	雄	106	15	3	108 ± 29.5	2	-
	雌	106	15	4	161 ± 107	1	-
	雌雄	106	15	7	139 ± 82.8	3	77.8 ± 72.7
3 mg	雄	183[b]	15	2	-	1	-
	雌	183[b]	15	1	-	1	-
	雌雄	183[b]	15	3	31.0 ± 28.8	2	-

[a] N≥3 の場合、平均値 ± SD。N≤2 の場合は、値を示さず。
[b] 回復期間中、最終投与 84 日後に採取された試料。
CSF = Cerebrospinal Fluid; ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; SD = Standard Deviation

4.4 14 週間毒性試験における髄腔内 5 回投与後の血漿中薬物動態

14 週間毒性試験における 5 回反復髄腔内投与後の幼若サルでの血漿中の吸収	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1
	試験番号 396443-AS03

動物種	サル
給餌条件	摂餌
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液
被検物質	ISIS 396443
分析法	ELISA
試料	血漿
Data Analysis Software	[redacted]
投与法	腰椎髄腔内ボーラス注射
投与頻度	Days 1, 8, 15, 22, 29
投与回数	5

4.4 14 週間毒性試験における髄腔内 5 回投与後の血漿中薬物動態

14 週間毒性試験における 5 回反復髄腔内投与後の幼若サルでの血漿中の吸収	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1
	試験番号 396443-AS03

PK パラメータ									
用量 (mg/dose)	**性別**	**投与回数**	**測定日**	**N**	**C_{max} (µg/mL)**	**T_{max} (hr)**	**$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr*µg/mL)**	**CL/F (mL/hr)[a)]**	**$t_{1/2}$ (days)**
					平均 ± SD	**中央値（範囲）**	**平均 ± SD**	**平均 ± SD**	**平均 ± SD（範囲）**
0.3	雄	5	29	6	0.125 ± 0.045	3.5 (2 - 5)	1.06 ± 0.229	293 ± 56.0	NC[b)]
	雌	5	29	7	0.138 ± 0.051	5 (2 - 5)	1.12 ± 0.306	265 ± 66.5	NC[b)]
	雌雄	5	29	13	0.132 ± 0.0471	5 (2 - 5)	1.14 ± 0.272	278 ± 61.1	NC[b)]
1	雄	5	29	6	0.448 ± 0.204	2 (2 - 5)	3.14 ± 0.79	336 ± 86.4	NC[b)]
	雌	5	29	7	0.741 ± 0.211	2 (2 - 2)	4.60 ± 1.47	233 ± 59.6	NC[b)]
	雌雄	5	29	13	0.606 ± 0.25	2 (2 - 5)	3.93 ± 1.38	281 ± 87.9	NC[b)]
3	雄	5	29	8	1.67 ± 0.72	2 (2 - 5)	12.1 ± 4.28	276 ± 93.6	NC[b)]
	雌	5	29	9	2.14 ± 1.41	2 (2 - 5)	13.3 ± 4.32	245 ± 72.5	NC[b)]
	雌雄	5	29	17[c)]	1.92 ± 1.13	2 (2 - 5)	12.7 ± 4.21	260 ± 81.9	NC[b)]

用量（mg）	0.3	1	3
性別	雌雄（n = 13）	雌雄（n = 13）	雌雄（n = 17）
T_{last} (hr)	168	168	168
$C_{168hr,post\ dose}$ (ng/mL)[b]	0 (0 - 1.72)	2.50 (0 - 4.28)	7.73 (3.34 - 20.3)[c]

[a] CL/F = 用量（mg）/($AUC_{0\text{-}24hr}$/1000); [b] NC = Not Calculated; [c] 雄 8 匹雌 9 匹を分析した。雄 1 匹は試料量が分析に不十分であったため値が報告されなかった
ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; SD = Standard Deviation

4.5 14 週間毒性試験における髄腔内 10（又は 15）回投与後の血漿中薬物動態

14 週間毒性試験における 10 回（又は 15 回）反復髄腔内投与後の幼若サルでの血漿中の吸収		被験物質: ISIS 396443 CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1 試験番号 396443-AS03
動物種	サル	
給餌条件	摂餌	
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液	
被検物質	ISIS 396443	
分析法	ELISA	
試料	血漿	
Data Analysis Software	[redacted]	
投与方法	腰椎髄腔内ボーラス注射	
投与頻度	Days 1, 8, 15, 22, 29, 43, 57, 71, 85, 99	Days 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78, 85, 92, 99
投与回数	10	15

4.5 14 週間毒性試験における髄腔内 10（又は 15）回投与後の血漿中薬物動態（続き）

14 週間毒性試験における 10 回（又は 15 回）反復髄腔内投与後の幼若サルでの血漿中の吸収	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1
	試験番号 396443-AS03

PK パラメータ									
用量 (mg/dose)	**性別**	**投与回数**	**測定日**	**N**	**C_{max} (µg/mL)**	**T_{max} (hr)**	**$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr*µg/mL)**	**CL/F (mL/hr)[a)]**	**$t_{1/2}$ (days)**
					平均 ± SD	**中央値(範囲)**	**平均 ± SD**	**平均 ± SD**	**平均 ± SD (範囲)**
0.3	雄	10	99	3	0.088 ± 0.025	5 (2 - 5)	0.848 ± 0.135	360 ± 53.9	NC[b)]
	雌	10	99	4	0.138 ± 0.077	2 (2 - 5)	1.20 ± 0.483	286 ± 123	NC[b)]
	雌雄	10	99	7	0.116 ± 0.0621	2 (2 - 5)	1.05 ± 0.398	317 ± 101	NC[b)]
1	雄	10	99	3	0.510 ± 0.203	2 (2 - 2)	3.45 ± 0.97	309 ± 103	NC[b)]
	雌	10	99	3	0.604 ± 0.028	2 (2 - 2)	3.56 ± 0.41	283 ± 35	NC[b)]
	雌雄	10	99	6	0.557 ± 0.139	2 (2 - 2)	3.51 ± 0.67	296 ± 70.4	NC[b)]
3	雄	15	99	5	1.55 ± 0.295	2 (2 - 2)	9.92 ± 2.46	318 ± 83.9	41.5 ± 34.3 (n=2)
	雌	15	99	6	1.57 ± 0.251	2 (2 - 2)	12.1 ± 1.70	252 ± 29.2	27.6 ± 11.7 (n=2)
	雌雄	15	99	11	1.56 ± 0.258	2 (2 - 2)	11.1 ± 2.26	282 ± 66.7	34.5 ± 22.4[c] (17.2 to 65.8)

[a] CL/F = 用量（mg）/($AUC_{0\text{-}24hr}$/1000)
[b] Not Calculated
[c] n = 4
ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; SD = Standard Deviation; BLQ = Below limit of quantification (1.5 ng/mL); 定量可能な値が観察された場合では、BLQ 値を「0」として記述統計量を計算した; NC = Not Calculated

4.6 14 週間毒性試験における髄腔内単回及び反復投与後のトラフ血漿中濃度

14 週間毒性試験における単回及び反復髄腔内投与後の幼若サルでのトラフ血漿中濃度			被験物質: ISIS 396443
			CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1
			試験番号 396443-AS03
動物種	サル		
給餌条件	摂餌		
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液		
被検物質	ISIS 396443		
分析法	ELISA		
試料	血漿		
Data Analysis Software	[redacted]		
投与方法	腰椎髄腔内ボーラス注射		
投与頻度	Days 1, 8, 15, 22, 29, 43, 57, 71, 85, 99		Days 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78, 85, 92, 99
性別 (雄/雌) /動物数	雄 6 / 雌 7		雄 9 / 雌 9
用量（mg）	0.3	1	3

4.6 14 週間毒性試験における髄腔内単回及び反復投与後のトラフ血漿中濃度（続き）

14 週間毒性試験における単回及び反復髄腔内投与後の幼若サルでのトラフ血漿中濃度								被験物質: ISIS 396443 CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1 試験番号 396443-AS03	
試験日	最終投与からの日数	投与回数	濃度 (ng/mL)[a]	最終投与からの日数	投与回数	濃度 (ng/mL)[a]	最終投与からの日数	投与回数	濃度 (ng/mL)[a]
1	0	0	BLQ	0	0	BLQ	0	0	BLQ
8	7	1	BLQ	7	1	1.36 ± 2.45	7	1	2.09 ± 1.38
29	7	4	BLQ	7	4	2.55 ± 2.24	7	4	6.63 ± 3.36[d]
36	7	5	0.133 ± 0.478	7	5	2.20 ± 1.56	7	5	8.29 ± 4.18[e]
43	14	5	BLQ[b]	14	5	1.61 ± 1.20[b]	7	6	8.17 ± 2.67[f]
57	14	6	BLQ[b]	14	6	1.63 ± 1.15[b]	7	8	9.74 ± 4.42[g]
99	14	9	BLQ[b]	14	9	1.12 ± 1.26[c]	7	14	10.8 ± 3.93[f]
106	7	10	BLQ[b]	7	10	2.30 ± 1.34[c]	7	15	10.2 ± 1.62[f]

[a] 値は平均値 ± SD
[b] N = 7
[c] N = 6
[d] N = 17
[e] N = 16
[f] N = 11
[g] N = 10
ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; SD = Standard Deviation; BLQ = Below limit of quantification (1.5 ng/mL)

4.7 14 週間毒性試験における髄腔内 5 回投与後の脳脊髄液中と血漿中薬物動態の比較

14 週間毒性試験における 5 回髄腔内投与後の幼若サルでの CSF 中及び血漿中薬物動態の比較	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1
	試験番号 396443-AS03

動物種	サル
給餌条件	摂餌
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液
被検物質	ISIS 396443
分析法	ELISA
Data Analysis Software	[redacted]
投与方法	腰椎髄腔内ボーラス注射
投与頻度	Days 1, 8, 15, 22, 29
投与回数	5
試料採取時点	Day 36
最終投与からの日数	7 日

4.7　14 週間毒性試験における髄腔内 5 回投与後の脳脊髄液中と血漿中薬物動態の比較（続き）

14 週間毒性試験における 5 回髄腔内投与後の幼若サルでの CSF 中及び血漿中薬物動態の比較							被験物質:　ISIS 396443 CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1 試験番号 396443-AS03		
性別 (雄/雌) /動物数	雄 6 / 雌 7	雄 3 / 雌 3	雄 3 / 雌 2	雄 6 / 雌 7	雄 3 / 雌 3	雄 2 / 雌 3	雄 8 / 雌 8	雄 3 / 雌 2	雄 3 / 雌 1
用量（mg）	0.3			1			3		
試料	血漿	大槽 CSF	腰髄腔 CSF	血漿	大槽 CSF	腰髄腔 CSF	血漿	大槽 CSF	腰髄腔 CSF
濃度 (ng/mL)[a]	0 (0 - 1.72)	3.85 (1.89 - 8.89)	2.97 (0 - 28.7)	2.50 (0 - 4.28)	47.2 (0 - 104)	20.2 (0 - 68.2)	7.73 (3.34 - 20.3)	72.4 (12.1 - 127)	55.5 (51.3 - 66.6)
濃度 (µg/mL)[c]	0.133 ± 0.478	0.00472 ± 0.00321	0.0104 ± 0.0127	2.20 ± 1.56	0.0496 ± 0.0452	0.0233 ± 0.0268	8.29 ± 4.18	0.0664 ± 0.0492	0.0572 ± 0.0655
CSF:血漿比率 [b]	-	NC[d]	NC[d]	-	18.9	8.08	-	9.3	7.18

[a] 値は中央値（範囲）
[b] 比率 = [CSF, µg/mL]/([血漿, ng/mL]/1000)
[c] 値は平均値 ± SD
[d] 分母が 0 となるため比率は計算できなかった。
CSF = Cerebrospinal Fluid; ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; NC = Not Calculated (cannot divide by zero); SD = Standard Deviation; BLQ = Below limit of quantification (1.5 ng/mL); 定量可能な値が観察された場合では、BLQ 値を「0」として記述統計量を計算した

4.8 1 年間毒性試験における髄腔内反復投与後の脳脊髄液中薬物動態

1 年間毒性試験における反復髄腔内投与後の幼若サルでの CSF 中の吸収						被験物質: ISIS 396443
						CTD での記載箇所: 4.2.3.2-2
						試験番号 396443-AS06
動物種				サル		
給餌条件				摂餌		
溶媒/投与形態				人工脳脊髄液/溶液		
被検物質				ISIS 396443		
分析法				ELISA		
Data Analysis Software				[redacted]		
投与方法				腰椎髄腔内ボーラス注射		
試料				CSF		
投与頻度				Days 1, 8, 15, 22, 29, 71, 113, 155, 197, 239, 281, 323, 365		
用量（mg）				0.3	1	4
性別 (雄/雌) /動物数				雄 5 / 雌 5	雄 5 / 雌 5	雄 7 / 雌 7
試験日	最終投与からの日数	投与回数	性別	濃度 (ng/mL)[a]		
			雄	21.1 ± 22.6	11.5 ± 4.74	11.3 ± 6.86
8	7	1	雌	6.96 ± 2.92	15.3 ± 8.06	25.5 ± 10.5
			雌雄	14.1 ± 16.9	13.4 ± 6.54	18.5 ± 11.3
15	7	2	雄	9.85 ± 3.51	16.5 ± 4.9	62.6 ± 83.5
			雌	9.73 ± 3.26	43.1 ± 49.7	54.2 ± 40.8
			雌雄	9.79 ± 3.20	29.8 ± 36.1	58.4 ± 63.3

4.8　1 年間毒性試験における髄腔内反復投与後の脳脊髄液中薬物動態（続き）

1 年間毒性試験における反復髄腔内投与後の幼若サルでの CSF 中の吸収						被験物質:　ISIS 396443
						CTD での記載箇所: 4.2.3.2-2
						試験番号 396443-AS06
用量（mg）				0.3	1	4
性別 (雄/雌) /動物数				雄 5 / 雌 5	雄 5 / 雌 5	雄 7 / 雌 7
試験日	最終投与からの日数	投与回数	性別	濃度 (ng/mL)[a]		
22	7	3	雄	41.7 ± 35.5	30.4 ± 11.8 (n=5)	40.2 ± 16.5
			雌	17.9 ± 9.02	25.9 ± 17.9 (n=4)	48.4 ± 24.8
			雌雄	29.8 ± 27.4	28.4 ± 14.0[b]	44.3 ± 20.7
29	7	4	雄	42 ± 50.2	28.1 ± 11.6 (n=5)	54.8 ± 46.5
			雌	25.2 ± 16.3	37.1 ± 21.1 (n=4)	52.2 ± 10.8
			雌雄	33.6 ± 36.3	32.1 ± 16.0[b]	53.6 ± 32.5
71	42	5	雄	17.7 ± 14.4	17.8 ± 6.92 (n=5)	26.8 ± 5.52
			雌	10.8 ± 2.82	20 ± 8.85 (n=4)	34.6 ± 13.7
			雌雄	14.3 ± 10.4	18.8 ± 7.39[b]	30.8 ± 10.8

4.8　1 年間毒性試験における髄腔内反復投与後の脳脊髄液中薬物動態（続き）

1 年間毒性試験における反復髄腔内投与後の幼若サルでの CSF 中の吸収						被験物質:　ISIS 396443
						CTD での記載箇所: 4.2.3.2-2
						試験番号 396443-AS06
用量（mg）				0.3	1	4
性別 (雄/雌) /動物数				雄 5 / 雌 5	雄 5 / 雌 5	雄 7 / 雌 7
試験日	最終投与からの日数	投与回数	性別	濃度 (ng/mL)[a]		
113	42	6	雄	10.2 ± 9.16	16.3 ± 4.99	33.5 ± 12.5
			雌	9.81 ± 4.18	22.4 ± 13.1	29.1 ± 19.2
			雌雄	10.0 ± 6.72	19.4 ± 9.86	31.4 ± 15.7
155	42	7	雄	28.9 ± 40.9	23.2 ± 12.5	41.3 ± 22.8
			雌	10.4 ± 4.86	29.6 ± 26.3	38.6 ± 21.1
			雌雄	19.6 ± 29.1	26.4 ± 19.7	40.0 ± 21.2
197	42	8	雄	15.7 ± 15.9	16.7 ± 4.86	38.5 ± 17.5
			雌	14.3 ± 10.2	24.3 ± 11.8	59 ± 53.8
			雌雄	15.0 ± 12.6	20.5 ± 9.42	48.8 ± 39.9
239	42	9	雄	10.2 ± 5.48	13.3 ± 1.52	36.3 ± 16.3
			雌	9.01 ± 4.97	44 ± 32.4	26.8 ± 10.3
			雌雄	9.62 ± 4.97	28.6 ± 27.0	31.6 ± 14.0
281	42	10	雄	16.4 ± 22.4	20.6 ± 11.3	45.6 ± 26.2
			雌	13.5 ± 7.57	35.4 ± 35.7	38.7 ± 30.3
			雌雄	15.0 ± 15.8	28.0 ± 26.2	42.1 ± 27.5

4.8 1 年間毒性試験における髄腔内反復投与後の脳脊髄液中薬物動態（続き）

1 年間毒性試験における反復髄腔内投与後の幼若サルでの CSF 中の吸収						被験物質: ISIS 396443
						CTD での記載箇所: 4.2.3.2-2
						試験番号 396443-AS06
用量（mg）				0.3	1	4
性別 (雄/雌) /動物数				雄 5 / 雌 5	雄 5 / 雌 5	雄 7 / 雌 7
試験日	最終投与からの日数	投与回数	性別	濃度 (ng/mL)[a]		
323	42	11	雄	11.6 ± 13.1	23.8 ± 26.4 (n=5)	39.4 ± 10.8
			雌	9.19 ± 5.12	18.1 ± 16.1 (n=4)	34.7 ± 32.1
			雌雄	10.4 ± 9.48	21.2 ± 21.3[b]	37.0 ± 23.1
365	42	12	雄	20.8 ± 29.5	11.6 ± 3.65	60.8 ± 67
			雌	7.72 ± 3.19	21.1 ± 13.4	23.2 ± 10.1
			雌雄	13.5 ± 19.4[b]	16.4 ± 10.5	42.0 ± 49.9
372	7	13	雄	14.5 ± 15.1	17.4 ± 4.63	42 ± 20.2
			雌	9.5 ± 3.02	29.1 ± 22.8	61.5 ± 49.6
			雌雄	12.0 ± 10.6	23.3 ± 16.7	51.8 ± 37.8
379	14	13	雄	NSC	NSC	40.6 ± 22.7 (n=2)
			雌	NSC	NSC	61.8 ± 23.3 (n=2)
			雌雄	NSC	NSC	51.2 ± 22.4[c]

4.8 1 年間毒性試験における髄腔内反復投与後の脳脊髄液中薬物動態（続き）

1 年間毒性試験における反復髄腔内投与後の幼若サルでの CSF 中の吸収						被験物質: ISIS 396443
						CTD での記載箇所: 4.2.3.2-2
						試験番号 396443-AS06
用量（mg）				0.3	1	4
性別 (雄/雌) /動物数				雄 5 / 雌 5	雄 5 / 雌 5	雄 7 / 雌 7
試験日	最終投与からの日数	投与回数	性別	濃度 (ng/mL)[a]		
407	42	13	雄	NSC	NSC	20.2 ± 4.34 (n=2)
			雌	NSC	NSC	32.5 ± 11.8 (n=2)
			雌雄	NSC	NSC	26.4 ± 10.2[c]
449	84	13	雄	NSC	NSC	19.3 ± 1.69 (n=2)
			雌	NSC	NSC	17.5 ± 24.7 (n=2)
			雌雄	NSC	NSC	18.4 ± 14.4[c]
554	189	13	雄	NSC	NSC	12.9 ± 9.4 (n=2)
			雌	NSC	NSC	7.77 ± 11 (n=2)
			雌雄	NSC	NSC	10.3 ± 8.86[c]

[a] 値は平均値 ± SD
[b] N = 9
[c] N = 4
CSF = Cerebrospinal Fluid; ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; SD = Standard Deviation; NSC = No Sample Collected

4.9 1 年間毒性試験における髄腔内 13 回投与後の血漿中薬物動態

1 年間毒性試験における 13 回反復髄腔内投与後の幼若サルでの血漿中の吸収	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-2
	試験番号 396443-AS06
動物種	サル
給餌条件	摂餌
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液
被検物質	ISIS 396443
分析法	ELISA
試料	血漿
Data Analysis Software	[redacted]
投与方法	腰椎髄腔内ボーラス注射
投与頻度	Days 1, 8, 15, 22, 29, 71, 113, 155, 197, 239, 281, 323, 365
投与回数	13

4.9　　1 年間毒性試験における髄腔内 13 回投与後の血漿中薬物動態（続き）

1 年間毒性試験における 13 回反復髄腔内投与後の幼若サルでの血漿中の吸収	被験物質:　ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-2
	試験番号 396443-AS06

PK パラメータ								
用量（mg）	性別	**測定日**	**N**	**$AUC_{0\text{-}168hr}$ (hr*µg/mL)**	**$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr*µg/mL)**	**CL/F (mL/hr)[a)]**	**C_{max} (µg/mL)**	**T_{max} (hr)**
				平均 ± SD	**平均 ± SD**	**平均 ± SD**	**平均 ± SD**	**中央値（範囲）**
0.3	雄	365	5	0.778 ± 0.388	0.662 ± 0.284	528 ± 230	0.109 ± 0.0655	1 (1 - 2)
	雌	365	5	0.65 ± 0.0615	0.59 ± 0.059	513 ± 53.3	0.0626 ± 0.0168	2 (1 - 6)
	雌雄	365	10	0.714 ± 0.270	0.626 ± 0.197	521 ± 158	0.0859 ± 0.0514	2 (1 - 6)
1	雄	365	5	5.06 ± 5.68	3.21 ± 2.24	403 ± 173	0.494 ± 0.344	4 (0.5 - 4)
	雌	365	5	2.82 ± 0.43	2.37 ± 0.441	432 ± 69.6	0.415 ± 0.165	2 (1 - 6)
	雌雄	365	10	3.94 ± 3.98	2.79 ± 1.59	417 ± 125	0.454 ± 0.258	3 (0.5 - 6)
4	雄	365	7	12.1 ± 2.86	10.1 ± 2.15	411 ± 90.1	1.61 ± 0.377	2 (2 - 4)
	雌	365	7	11.3 ± 2.54	9.04 ± 1.6	455 ± 85	1.42 ± 0.675	2 (1 - 6)
	雌雄	365	14	11.7 ± 2.63	9.59 ± 1.90	433 ± 87.2	1.52 ± 0.535	2 (1 - 6)

4.9　1 年間毒性試験における髄腔内 13 回投与後の血漿中薬物動態（続き）

1 年間毒性試験における 13 回反復髄腔内投与後の幼若サルでの血漿中の吸収	被験物質:　ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-2
	試験番号. 396443-AS06

PK パラメータ		平均値 ± SD						
用量（mg）	性別	**測定日**	**N**	**$AUC_{0\text{-}4hr}$ (hr*µg/mL)**	**$AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr*µg/mL)**	**$AUC_{0\text{-}168hr}$ (hr*µg/mL)**	**$AUC_{0\text{-}4hr}$ 比率 [b]**	**$AUC_{0\text{-}24hr}$ 比率 [c]**
0.3	雄	365	5	0.284 ± 0.15	0.662 ± 0.284	0.778 ± 0.388	0.38 ± 0.132	0.88 ± 0.114
	雌	365	5	0.179 ± 0.0591	0.59 ± 0.059	0.65 ± 0.0615	0.27 ± 0.069	0.91 ± 0.01
	雌雄	365	10	0.231 ± 0.121	0.626 ± 0.197	0.714 ± 0.270	0.33 ± 0.12	0.89 ± 0.078
1.0	雄	365	5	1.2 ± 0.715	3.21 ± 2.24	5.06 ± 5.68	0.32 ± 0.191	0.8 ± 0.185
	雌	365	5	0.988 ± 0.331	2.37 ± 0.441	2.82 ± 0.43	0.37 ± 0.167	0.84 ± 0.052
	雌雄	365	10	1.09 ± 0.537	2.79 ± 1.59	3.94 ± 3.98	0.35 ± 0.17	0.82 ± 0.13
4.0	雄	365	7	4.56 ± 1.25	10.1 ± 2.15	12.1 ± 2.86	0.38 ± 0.082	0.84 ± 0.044
	雌	365	7	3.82 ± 1.8	9.04 ± 1.6	11.3 ± 2.54	0.34 ± 0.137	0.81 ± 0.063
	雌雄	365	14	4.19 ± 1.54	9.59 ± 1.90	11.7 ± 2.63	0.36 ± 0.11	0.82 ± 0.055

[a] CL/F = 用量（mg） / $AUC_{0\text{-}24hr}$ (hr*µg/mL) x 1000
[b] $AUC_{0\text{-}4hr}$ 比率 = $AUC_{0\text{-}4hr}/AUC_{0\text{-}168hr}$; 値は個々の動物について求められた。
[c] $AUC_{0\text{-}24hr}$ 比率 = $AUC_{0\text{-}24hr}/AUC_{0\text{-}168hr}$; 値は個々の動物について求められた。
ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; SD = Standard Deviation

4.10 1 年間毒性試験における髄腔内単回及び反復投与後のトラフ血漿中濃度

1 年間毒性試験における単回及び反復髄腔内投与後の幼若サルでのトラフ血漿中濃度の比較					被験物質: ISIS 396443
					CTD での記載箇所: 4.2.3.2-2
					試験番号. 396443-AS06
動物種			サル		
給餌条件			摂餌		
溶媒 /投与形態			人工脳脊髄液/溶液		
被検物質			ISIS 396443		
分析法			ELISA		
試料			血漿		
Data Analysis Software			[redacted]		
投与方法			腰椎髄腔内ボーラス注射		
投与頻度			Days 1, 8, 15, 22, 29, 71, 113, 155, 197, 239, 281, 323, 365		
用量（mg）			0.3	1	4
性別 (雄/雌) /動物数			雄 5 / 雌 5	雄 4 / 雌 5 [b]	雄 5 / 雌 6 [c]
試験日	最終投与からの日数	投与回数	濃度 (ng/mL)[a,d]		
8	7	1	BLQ	0.261 ± 0.782	5.03 ± 2.37
22	7	3	BLQ	1.92 ± 1.25	9.39 ± 3.74
29	7	4	0.338 ± 0.712	3.09 ± 1.02	11.7 ± 4.23

4.10　1 年間毒性試験における髄腔内単回及び反復投与後のトラフ血漿中濃度（続き）

1 年間毒性試験における単回及び反復髄腔内投与後の幼若サルでのトラフ血漿中濃度の比較					被験物質:　ISIS 396443
					CTD での記載箇所: 4.2.3.2-2
					試験番号. 396443-AS06
用量（mg）			0.3	1	4
性別 (雄/雌) /動物数			雄 5 / 雌 5	雄 4 / 雌 5 [b]	雄 5 / 雌 6 [c]
試験日	最終投与からの日数	投与回数	濃度 (ng/mL)[a,d]		
71	42	5	BLQ	0.246 ± 0.739	2.76 ± 0.740
113	42	6	BLQ	BLQ	1.39 ± 1.14
155	42	7	BLQ	0.169 ± 0.506	0.726 ± 1.01
197	42	8	0.181 ± 0.572	0.335 ± 0.664	0.689 ± 0.990
239	42	9	0.158 ± 0.498	BLQ	0.672 ± 0.949
281	42	10	0.157 ± 0.497	0.335 ± 0.665	0.863 ± 1.01
323	42	11	0.172 ± 0.542	BLQ[e]	0.175 ± 0.580
372	7	13	0.181 ± 0.574	0.169 ± 0.506	3.37 ± 1.13

[a] 値は平均値 ± SD
[b] 雄 5 匹/雌 5 匹が分析された; 雄 1 匹は異常値を示したことから解析から除かれた。
[c] 雄 7 匹/雌 7 匹が分析された; 雄 2 匹及び雌 1 匹は異常値を示したことから解析から除かれた。
[d] 1.5 ng/mL 以下の平均値は定量限界以下の値であり、数値の解釈には注意が必要である。
[e] 雌 1 匹は試料量が再分析には不十分であった; N = 8
ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent assay; IT = Intrathecal; SD = Standard Deviation; BLQ = Below limit of quantification (1.5 ng/mL)

4.11 1 年間毒性試験における髄腔内 13 回投与後の脳脊髄液、血漿及び組織中の薬物動態の比較

1 年間毒性試験における髄腔内 13 回投与後の幼若サルでの CSF、血漿及び組織中薬物動態の比較	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-2
	試験番号. 396443-AS06

動物種	サル
給餌条件	摂餌
溶媒 /投与形態	人工脳脊髄液/溶液
被検物質	ISIS 396443
分析法	ELISA
Data Analysis Software	[redacted]
投与方法	腰椎髄腔内ボーラス注射
投与頻度	Days 1, 8, 15, 22, 29, 71, 113, 155, 197, 239, 281, 323, 365
投与回数	13
用量（mg）	4

試料採取時点	最終投与からの日数	性別 (雄/雌) /動物数	試料	濃度 (ng/mL[a] 又は ng/g)	血漿中濃度に対する比率	CSF 中濃度に対する比率	$AUC_{407\text{-}554}$[d] (ng*day/mL 又は ng*day/g)	血漿 AUC に対する比率
372	7 日	雄 5 / 雌 5	小脳	39620	4990	774	NA	NA
			大脳皮質	71320	8982	1393	NA	NA

4.11　1 年間毒性試験における髄腔内 13 回投与後の脳脊髄液、血漿及び組織中の薬物動態の比較（続き）

1 年間毒性試験における髄腔内 13 回投与後の幼若サルでの CSF、血漿及び組織中薬物動態の比較	被験物質:　ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-2
	試験番号. 396443-AS06

試料採取時点	最終投与からの日数	性別 (雄/雌) /動物数	試料	濃度 (ng/mL[a] 又は ng/g)	血漿中濃度に対する比率	CSF 中濃度に対する比率	$AUC_{407\text{-}554}$[d] (ng*day/mL 又は ng*day/g)	血漿 AUC に対する比率
372（続き）	7 日（続き）	雄 5 / 雌 5（続き）	脳海馬	88940	11202	1737	NA	NA
			脳橋	34210	4309	668	NA	NA
			頸髄	35100	4421	686	NA	NA
			腎皮質	238580	30048	4660	NA	NA
			肝臓	21920	2761	428	NA	NA
			腰髄	98980	12466	1933	NA	NA
			胸髄	59790	7530	1168	NA	NA
379	14 日	雄 2 / 雌 2	血漿	7.94	NA	NA	543	NA
			CSF	51.2	6.4	NA	3534	6.5
554	189 日	雄 2 / 雌 2	小脳	34470	67588	3347	NA	NA

4.11　1 年間毒性試験における髄腔内 13 回投与後の脳脊髄液、血漿及び組織中の薬物動態の比較（続き）

1 年間毒性試験における髄腔内 13 回投与後の幼若サルでの CSF、血漿及び組織中薬物動態の比較	被験物質:　ISIS 396443
	CTD での記載箇所:　4.2.3.2-2
	試験番号. 396443-AS06

試料採取時点	最終投与からの日	性別 (雄/雌) /動物数	試料	濃度 (ng/mL[a] 又は ng/g)	血漿中濃度に対する比率	CSF 中濃度に対する比率	$AUC_{407-554}$[d] (ng*day/mL 又は ng*day/g)	血漿 AUC に対する比率
554 （続き）	189 日 （続き）	雄 2/ 雌 2 （続き）	大脳皮質	43800	85882	4252	NA	NA
			脳海馬	46010	90216	4467	NA	NA
			脳橋	16600	32549	1612	NA	NA
			頸髄	18380	36039	1784	NA	NA
			腎皮質	6170	12098	599	NA	NA
			肝臓	100	196	10	NA	NA
			腰髄	39680	77804	3852	NA	NA
			胸髄	20330	39863	1974	NA	NA
			血漿	0.515	NA	NA	NA	NA
			CSF	10.3	20.2	NA	NA	NA

CSF = Cerebrospinal Fluid; ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; NA = Not Applicable

4.12 複数回髄腔内投与後の消失半減期

反復投与後の成熟サルでの消失半減期	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.2.2-1
	試験番号. 396443-APK01

動物種	サル										
給餌条件	摂餌										
溶媒 /投与形態	人工脳脊髄液/溶液										
被検物質	ISIS 396443										
Data Analysis Software	[redacted]										
投与方法	腰椎髄腔内ボーラス注射										
投与頻度	Days 1, 8, 15, 22										
投与回数	4										
用量（mg）	1										
分析法	ECL		Hybridization ELISA								
試料	CSF	血漿	脳幹	小脳	頸髄	前頭皮質	海馬	腰髄	被殻	側頭皮質	胸髄
$t_{1/2\lambda Z}$ (日)	102	52.2	84.3	117	126	164	275	74.4	NC[a]	103	115
R^2	0.999	0.977	0.741	0.408	0.922	0.636	0.996	0.991	NA	0.932	0.991
CNS 組織中：中央値 $t_{1/2\lambda Z}$ (日)[b,c]	116 (74.4 – 275)										

[a] 被殻中の半減期は、測定時点にわたって組織中薬物濃度が十分に減少しなかったため、求められなかった。
[b] 脳幹、小脳、頸髄、前頭皮質、海馬、腰髄、側頭皮質、及び胸髄に関する値に基づく。.
[c] 値は中央値（範囲）
ECL = Electrochemiluminescence; ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; NA = Not Applicable; NC = Not Calculated

4.13 複数回髄腔内投与後の消失半減期

反復髄腔内投与後の幼若サルでの消失半減期	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-2
	試験番号. 396443-AS06

動物種	サル										
給餌条件	摂餌										
溶媒 /投与形態	人工脳脊髄液/溶液										
被検物質	ISIS 396443										
Data Analysis Software	[redacted]										
投与方法	腰椎髄腔内ボーラス注射										
投与頻度	Days 1, 8, 15, 22, 29, 71, 113, 155, 197, 239, 281, 323, 365										
投与回数	13										
用量（mg）	4										
分析法	ELISA										
試料	CSF	血漿 [a]	小脳	大脳皮質	脳海馬 [c]	脳橋 [c]	腎皮質 [c,d]	肝臓 [c]	頸髄 [c]	胸髄 [c]	腰髄 [c]
$t_{1/2\lambda Z}$ (days)	111	55.8	NR[b]	NR[b]	191	174	34.5	23.4	195	117	138

[a] Day 372～554 の間のデータを用いて半減期を推定した。Day 526 時点での濃度は定量限界以下であったことから、半減期の推定から除かれた。
[b] 測定時点間隔にわたって薬物濃度の減少が十分でなかったことから、値は求められなかった。
[c] 半減期は、Day 372 と Day 554 の 2 点間の濃度推移を基に推定された。そのため、データの解釈には注意を要する。
[d] 濃度はバリデートされていない分析法により測定された。
ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; NR = Not Reported

5 薬物動態試験：分布

5.1 単回髄腔内投与後の組織分布

単回髄腔内投与後の成熟サルでの組織分布	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.1-1
	試験番号. 396443-AS01

動物種	サル
給餌条件	摂餌
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液
投与方法	腰椎髄腔内ボーラス注射
被検物質 / 分析法	ISIS 396443 / ELISA
Data Analysis Software	[redacted]
投与頻度	単回
性別 (雄/雌) /動物数	雄 3 / 雌 3
投与回数	1
試料採取時点	Day 8
最終投与からの日数	7 日

5.1 単回髄腔内投与後の組織分布（続き）

単回髄腔内投与後の成熟サルでの組織分布				被験物質: ISIS 396443
				CTD での記載箇所: 4.2.3.1-1
				試験番号. 396443-AS01
用量（mg）	1	3	7	3
試料	濃度 (µg/g)[a]			$t_{1/2\lambda Z}$ (days)[c]
頸髄	2.72 ± 0.676	5.60 ± 2.91	10.7 ± 5.43	37.9
胸髄	6.07 ± 4.26	10.3 ± 5.04	18.4 ± 19.0	32.7
腰髄	8.33 ± 4.89	19.2 ± 7.55	19.6 ± 14.3	NR[b]
小脳	1.43 ± 1.31	5.07 ± 3.14	8.75 ± 10.7	47.1
大脳皮質	2.42 ± 1.37	6.98 ± 3.63	12.8 ± 12.4	54.0
脳橋	1.46 ± 1.08	3.51 ± 1.66	4.92 ± 3.22	31.2
肝臓	1.89 ± 0.401	9.95 ± 8.48	36.0 ± 25.9	12.2

[a] 値は平均値 ± SD
[b] Not reported, correlation coefficient (r^2) < 0.8
[c] 組織からの消失は比較的遅いこと及び試料が投与後 70 日までしか採取されなかったことを考慮して、組織中の推定半減期（特に CNS 組織での半減期）の解釈には注意が必要である。
ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; SD = Standard Deviation

5.2 複数回髄腔内投与後の中枢神経系での組織分布

成熟サルにおける複数回髄腔内投与後の中枢神経系組織での組織分布					被験物質: ISIS 396443 CTD での記載箇所: 4.2.2.2-1 試験番号. 396443-APK01
動物種	サル				
給餌条件	摂餌				
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液				
投与方法	腰椎髄腔内ボーラス注射				
被検物質 / 分析法	ISIS 396443 / ELISA				
Data Analysis Software	[redacted]				
投与頻度	Days 1, 8, 15, 22				
投与回数	4				
用量（mg）	1				
性別 (雄/雌) /動物数	雄 4	雄 3	雄 3	雄 3	雄 4
試料採取時点	Day 29	Day 85	Day 183	Day 253	Day 365
最終投与からの日数	7 日	63 日	161 日	231 日	343 日
試料	濃度 (µg/g)[a]				
脳幹	10.2 ± 8.65	6.60 ± 0.797	0.931 ± 0.402	1.86 ± 2.27	0.472 ± 0.343
小脳	3.74 ± 2.49	13.5 ± 6.86	0.575 ± 0.437	1.35 ± 1.33	1.09 ± 0.800
頸髄	19.9 ± 4.69	9.58 ± 0.602	3.64 ± 2.44	3.50 ± 3.25	1.86 ± 1.76
前頭皮質	13.6 ± 4.98	7.39 ± 5.36	5.00 ± 3.61	7.30 ± 8.61	1.96 ± 1.10

5.2 複数回髄腔内投与後の中枢神経系での組織分布（続き）

成熟サルにおける複数回髄腔内投与後の中枢神経系組織での組織分布				被験物質: ISIS 396443	
				CTD での記載箇所: 4.2.2.2-1	
				試験番号. 396443-APK01	
試料採取時点	Day 29	Day 85	Day 183	Day 253	Day 365
最終投与からの日数	7 日	63 日	161 日	231 日	343 日
試料	濃度 (µg/g)[a]				
海馬	3.47 ± 3.24	1.75 ± 0.745	2.54 ± 1.85	2.19 ± 2.96	1.61 ± 0.953
腰髄	91.4 ± 37.9	37.5 ± 15.9	24.2 ± 18.0	10.8 ± 9.14	4.34 ± 4.78
被殻	0.493 ± 0.352	0.658 ± 0.317	0.230 ± 0.106	0.437 ± 0.392	0.306 ± 0.250
側頭皮質	16.6 ± 5.93	15.3 ± 6.70	4.91 ± 1.86	4.64 ± 4.86	2.07 ± 0.948
胸髄	35.8 ± 9.51	15.7 ± 4.62	5.93 ± 3.79	3.53 ± 2.27	1.96 ± 1.20

[a] 値は平均値 ± SD
BLQ = Below limit of quantitation (<0.015 µg/g); CNS = Central Nervous System; ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; SD = Standard Deviation

5.3 複数回髄腔内投与後の全身組織分布

成熟サルにおける複数回髄腔内投与後の全身組織分布	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.2.2-1
	試験番号. 396443-APK01

動物種	サル
給餌条件	摂餌
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液
投与方法	腰椎髄腔内ボーラス注射
被検物質 / 分析法	ISIS 396443 / ELISA
Data Analysis Software	[redacted]
投与頻度	Days 1, 8, 15, 22
投与回数	4
用量（mg）	1

5.3 複数回髄腔内投与後の全身組織分布（続き）

成熟サルにおける複数回髄腔内投与後の全身組織分布							被験物質: ISIS 396443 CTD での記載箇所: 4.2.2.2-1 試験番号. 396443-APK01	
性別 (雄/雌) /動物数		雄 4			雄 3	雄 3	雄 3	雄 4
試料採取時点		Day 29			Day 85	Day 183	Day 253	Day 365
最終投与からの日数		7 日			63 日	161 日	231 日	343 日
試料	投与方法	濃度 (µg/g)		比率 [a]	濃度 (µg/g)			
		平均値 ± SD	中央値（範囲）		平均値 ± SD			
腎皮質	腰椎髄腔内ボーラス	61.3 ± 15.8	67.8 (37.7 – 71.8)	0.935	14.3 ± 11.6	0.962 ± 0.797	0.362 ± 0.197	0.652 ± 0.363
腎皮質	IV ボーラス	112 ± 73.5[b]	72.5 (67.0 – 197)[b]	0.935	NSC	NSC	NSC	NSC
肝臓	腰椎髄腔内ボーラス	4.74 ± 2.02	4.23 (2.89 – 7.61)	1.27	0.113 ± 0.0556	0.0598 ± 0.0425	BLQ	BLQ
	IV ボーラス	3.47 ± 1.32[b]	3.33 (2.22 – 4.84)[b]		NSC	NSC	NSC	NSC
骨格筋	腰椎髄腔内ボーラス	0.0140 ± 0.0280	NC	NA	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ

[a] IT 濃度/IV 濃度
[b] N = 3
BLQ = Below limit of quantitation (<0.015 µg/g); ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; IV = Intravenous; NA = Not Applicable; NC = Not Calculated; NSC = No Sample Collected; SD = Standard Deviation

5.4 14 週間毒性試験における髄腔内 5 回投与後の組織分布

14 週間毒性試験における髄腔内 5 回投与後の幼若サルでの臓器分布	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1
	試験番号. 396443-AS03

動物種	サル
給餌条件	摂餌
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液
投与方法	腰椎髄腔内ボーラス注射
被検物質 / 分析法	ISIS 396443 / ELISA
Data Analysis Software	[redacted]
投与頻度	Days 1, 8, 15, 22, 29
性別 (雄/雌) /動物数	雄 3 / 雌 3
投与回数	5
試料採取時点	Day 36
最終投与からの日数	7 日

5.4 14 週間毒性試験における髄腔内 5 回投与後の組織分布（続き）

14 週間毒性試験における髄腔内 5 回投与後の幼若サルでの臓器分布						被験物質: ISIS 396443	
						CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1	
						試験番号. 396443-AS03	
用量（mg）		0.3		1		3	
臓器／組織	性別	濃度 (µg/g)					
		N	**ISIS 396443[a] (µg/g)**	**N**	**ISIS 396443[a] (µg/g)**	**N**	**ISIS 396443[a] (µg/g)**
頸髄	雄	3	5.66 ± 2.70	3	14.5 ± 4.08	3	24.2 ± 5.55
	雌	3	8.63 ± 5.92	3	18.1 ± 11.3	3	29.3 ± 19.2
	雌雄	6	7.15 ± 4.43	6	16.3 ± 7.83	6	26.7 ± 13
胸髄	雄	3	8.09 ± 2.92	3	12.2 ± 2.54	3	22.2 ± 7.32
	雌	3	8.77 ± 4.94	3	12.1 ± 5.91	3	24.3 ± 19.4
	雌雄	6	8.43 ± 3.65	6	12.2 ± 4.07	6	23.3 ± 13.2
腰髄	雄	3	10.1 ± 1.23	3	30.1 ± 8.88	3	66.8 ± 16.2
	雌	3	15.7 ± 4.43	3	37.4 ± 5.64	3	59.1 ± 48.1
	雌雄	6	12.9 ± 4.22	6	33.8 ± 7.77	6	62.9 ± 32.4
小脳	雄	3	4.20 ± 3.11	3	12.6 ± 7.89	3	26.2 ± 26.4
	雌	2	-[b]	3	7.48 ± 3.28	3	9.01 ± 7.89
	雌雄	5	3.9 ± 2.3	6	10 ± 6.08	6	17.6 ± 19.8
大脳皮質	雄	3	9.25 ± 1.49	3	25.2 ± 2.99	3	93.0 ± 25.3
	雌	3	10.7 ± 1.5	3	27.4 ± 4.63	3	43.0 ± 36.8
	雌雄	6	9.98 ± 1.56	6	26.3 ± 3.68	6	68 ± 39.3

5.4 14 週間毒性試験における髄腔内 5 回投与後の組織分布（続き）

14 週間毒性試験における髄腔内 5 回投与後の幼若サルでの臓器分布						被験物質: ISIS 396443	
						CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1	
						試験番号. 396443-AS03	
用量（mg）		0.3		1		3	
臓器／組織	性別	濃度 (µg/g)					
		N	**ISIS 396443[a] (µg/g)**	**N**	**ISIS 396443[a] (µg/g)**	**N**	**ISIS 396443[a] (µg/g)**
脳橋	雄	3	5.60 ± 3.04	3	10.5 ± 5.26	2	-
	雌	3	7.97 ± 7.23	3	22.2 ± 18.9	3	21.7 ± 18.2
	雌雄	6	6.79 ± 5.13	5	15.2 ± 12	5	27.1 ± 14.9
肝臓	雄	3	1.47 ± 0.204	3	23.6 ± 31.7	3	31.1 ± 3.52
	雌	3	1.70 ± 0.589	3	9.22 ± 6.32	3	59.2 ± 28.4
	雌雄	6	1.59 ± 0.414	6	16.4 ± 21.9	6	45.2 ± 23.8

[a] 値は平均値 ± SD。N≤2 の場合は、値を示さず。
ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; SD = Standard Deviation

5.5 14 週間毒性試験における髄腔内 10（又は 15）回投与後の組織分布

14 週間毒性試験における髄腔内 10 回（又は 15 回）投与後の幼若サルでの臓器分布	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所; 4.2.3.2-1
	試験番号. 396443-AS03

動物種	サル		
給餌条件	摂餌		
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液		
投与方法	腰椎髄腔内ボーラス注射		
被検物質 / 分析法	ISIS 396443 / ELISA		
Data Analysis Software	[redacted]		
試料採取時点	Day 106		
最終投与からの日数	7 日		
投与頻度	Days 1, 8, 15, 22, 29, 43, 57, 71, 85, 99		Days 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78, 85, 92, 99
投与回数	10		15
性別 (雄/雌) /動物数	雄 3 / 雌 4	雄 3 / 雌 3	雄 3 / 雌 4
用量（mg）	0.3	1	3

臓器／組織	**性別**	濃度 (μg/g)[a]						
		N	**ISIS 396443[a] (μg/g)**	**N**	**ISIS 396443[a] (μg/g)**	**N**	**ISIS 396443[a] (μg/g)**	
頸髄	雄	3	13.0 ± 8.37	3	27.6 ± 6.20	3	93.3 ± 27.6	ND
	雌	4	8.78 ± 4.48	3	26.0 ± 7.89	4	74.9 ± 29.0	ND
	雌雄	7	10.6 ± 6.21	6	26.8 ± 6.4	7	82.8 ± 27.8	ND

5.5 14 週間毒性試験における髄腔内 10（又は 15）回投与後の組織分布（続き）

14 週間毒性試験における髄腔内 10 回（又は 15 回）投与後の幼若サルでの臓器分布	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1
	試験番号. 396443-AS03

臓器／組織	性別	濃度 (μg/g)[a]						
		N	ISIS 396443[a] (μg/g)	N	ISIS 396443[a] (μg/g)	N	ISIS 396443[a] (μg/g)	
胸髄	雄	3	18.5 ± 4.79	3	39.3 ± 7.30	3	100 ± 30.5	ND
	雌	4	21.4 ± 4.71	3	37.6 ± 8.32	4	102 ± 60.8	ND
	雌雄	7	20.2 ± 4.59	6	38.4 ± 7.06	7	101 ± 46.5	ND
腰髄	雄	3	24.6 ± 12.8	3	109 ± 53.0	3	170 ± 86.3	ND
	雌	4	37.5 ± 16.6	3	48.1 ± 38.7	4	169 ± 30.0	ND
	雌雄	7	31.9 ± 15.5	6	78.6 ± 53.3	7	169 ± 54.2	ND
小脳	雄	3	12.9 ± 5.66	3	37.8 ± 19.8	3	50.8 ± 21.8	ND
	雌	4	16.6 ± 13.5	3	9.70 ± 5.61	4	51.5 ± 13.7	ND
	雌雄	7	15 ± 10.2	6	23.7 ± 20.1	7	51.2 ± 15.9	ND
大脳皮質	雄	3	13.9 ± 4.28	3	39.7 ± 4.45	3	129 ± 38.6	ND
	雌	4	16.2 ± 3.89	3	31.0 ± 19.8	4	193 ± 29.2	ND
	雌雄	7	15.2 ± 3.9	6	35.4 ± 13.7	7	166 ± 45.8	ND
脳橋	雄	3	5.70 ± 2.52	3	14.1 ± 5.24	3	43.4 ± 5.30	ND
	雌	4	7.97 ± 2.06	3	11.8 ± 1.51	4	47.8 ± 25.5	ND
	雌雄	7	7 ± 2.39	6	13 ± 3.67	7	45.9 ± 18.4	ND

5.5 14 週間毒性試験における髄腔内 10（又は 15）回投与後の組織分布（続き）

14 週間毒性試験における髄腔内 10 回（又は 15 回）投与後の幼若サルでの臓器分布	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1
	試験番号. 396443-AS03

臓器／組織	性別	濃度 (µg/g)[a]						
		N	ISIS 396443[a] (µg/g)	N	ISIS 396443[a] (µg/g)	N	ISIS 396443[a] (µg/g)	
肝臓	雄	3	2.10 ± 0.233	3	43.8 ± 26.9	3	66.6 ± 24.8	ND
	雌	4	1.71 ± 0.404	3	41.2 ± 58.7	4	151 ± 63.5	ND
	雌雄	7	1.88 ± 0.377	6	42.5 ± 40.9	7	115 ± 65.1	ND
海馬[b]	雌雄		NSC		NSC		ND	149 ± 49.0

[a] 値は平均値 ± SD
[b] バリデートされていない分析法により測定された。
ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; SD = Standard Deviation; ND = Not Determined; NSC = No Sample Collected

5.6 14 週間毒性試験における髄腔内 15 回投与後及び回復期後の組織分布

14 週間毒性試験における髄腔内 15 回投与後及び回復期後の幼若サルでの臓器分布				被験物質: ISIS 396443
				CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1
				試験番号. 396443-AS03
動物種	サル			
給餌条件	摂餌			
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液			
投与方法	腰椎髄腔内ボーラス注射			
被検物質 / 分析法	ISIS 396443 / ELISA			
Data Analysis Software	[redacted]			
試料採取時点	Day 183			
最終投与からの日数	84 days			
投与頻度	Days 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78, 85, 92, 99			
投与回数	15			
性別 (雄/雌) /動物数	雄 2 / 雌 2			
用量（mg）	0.3	1	3	

5.6 14 週間毒性試験における髄腔内 15 回投与後及び回復期後の組織分布（続き）

14 週間毒性試験における髄腔内 15 回投与後及び回復期後の幼若サルでの臓器分布	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1
	試験番号. 396443-AS03

臓器／組織	性別	濃度 (µg/g)[a]					
		N	ISIS 396443[a] (µg/g)	N	ISIS 396443[a] (µg/g)	N	ISIS 396443[a] (µg/g)
頸髄	雄	NSC[b]	NSC[b]	NSC	NSC	2	-
	雌	NSC[b]	NSC[b]	NSC	NSC	2	-
	雌雄	NSC[b]	NSC[b]	NSC	NSC	4	69.1 ± 4.91
胸髄	雄	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌雄	NSC	NSC	NSC	NSC	4	107 ± 35.2
腰髄	雄	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌雄	NSC	NSC	NSC	NSC	4	242 ± 246
小脳	雄	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌雄	NSC	NSC	NSC	NSC	4	65.3 ± 21.5
大脳皮質	雄	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌雄	NSC	NSC	NSC	NSC	4	122 ± 26.3

5.6 14 週間毒性試験における髄腔内 15 回投与後及び回復期後の組織分布（続き）

14 週間毒性試験における髄腔内 15 回投与後及び回復期後の幼若サルでの臓器分布	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-1
	試験番号. 396443-AS03

臓器／組織	**性別**	濃度 (µg/g)[a]					
		N	**ISIS 396443[a] (µg/g)**	**N**	**ISIS 396443[a] (µg/g)**	**N**	**ISIS 396443[a] (µg/g)**
脳橋	雄	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌雄	NSC	NSC	NSC	NSC	4	32.4 ± 18.5
肝臓	雄	NSC	NSC	NSC	NSC	2	-
	雌	NSC	NSC	NSC	NSC	1	-
	雌雄	NSC	NSC	NSC	NSC	3[b]	8.52 ± 6.19

[a] 値は平均値 ± SD。N≤2 の場合は、値を示さず。
[b] 雄 2 匹/雌 2 匹が分析された; 雌 1 匹は異常値を示したため解析から除かれた。
NSC = No sample was collected.
ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; SD = Standard Deviation

5.7 1 年間毒性試験による髄腔内 13 回投与後の組織分布

1 年間毒性試験における髄腔内 13 回投与後の幼若サルでの臓器分布	被験物質: ISIS 396443	
	CTD での記載箇所: 4.2.3.2-2	
	試験番号. 396443-AS06	
動物種	サル	
給餌条件	摂餌	
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液	
投与方法	腰椎髄腔内ボーラス注射	
被検物質 / 分析法	ISIS 396443 / ELISA	
Data Analysis Software	[redacted]	
投与頻度	Days 1, 8, 15, 22, 29, 71, 113, 155, 197, 239, 281, 323, 365	
投与回数	13	
性別 (雄/雌) /動物数	雄 5 / 雌 5	雄 2 / 雌 2
試料採取時点	Day 372	Day 554
最終投与からの日数	7 日	189 日

5.7　1 年間毒性試験による髄腔内 13 回投与後の組織分布（続き）

1 年間毒性試験における髄腔内 13 回投与後の幼若サルでの臓器分布						被験物質: ISIS 396443	
						CTD での記載箇所: 4.2.3.2-2	
						試験番号. 396443-AS06	
用量（mg）		N	0.3	1	4	N	4
臓器／組織	**性別**	ISIS 396443 濃度 (µg/g)[a]					
小脳	雄	5	3.43 ± 0.472	19.7 ± 15.3	52.1 ± 16.2	2	-
	雌	5	5.11 ± 1.54	21.8 ± 18.4	27.2 ± 15	2	-
	雌雄	10	4.27 ± 1.39	20.8 ± 16.0	39.6 ± 19.7	4	34.5 ± 23.2
大脳皮質	雄	5	2.88 ± 1.34	14.2 ± 2.5	80.4 ± 33.8	2	-
	雌	5	5.59 ± 1.29	19 ± 7.73	62.2 ± 24	2	-
	雌雄	10	4.23 ± 1.89	16.6 ± 5.97	71.3 ± 29.3	4	43.8 ± 4.41
海馬	雄	5	8.51 ± 2.98	26.6 ± 7.59	89 ± 16.7	2	-
	雌	5	11.8 ± 1.5	31.2 ± 13	88.8 ± 21.2	2	-
	雌雄	10	10.1 ± 2.81	28.9 ± 10.3	88.9 ± 18.0	4	46.0 ± 7.75
脳橋	雄	5	3.83 ± 4.17	9.74 ± 4.45	35.5 ± 19	2	-
	雌	5	4.44 ± 1.84	7.94 ± 3.71	32.9 ± 13.3	2	-
	雌雄	10	4.14 ± 3.06	8.84 ± 3.97	34.2 ± 15.5	4	16.6 ± 4.27
頸髄	雄	5	5.12 ± 2.74	17.5 ± 2.21	40.8 ± 13.2	2	-
	雌	5	8.24 ± 1.96	14.3 ± 6.95	29.4 ± 4.16	2	-
	雌雄	10	6.68 ± 2.78	15.9 ± 5.14	35.1 ± 11.0	4	18.4 ± 6.05

5.7 1 年間毒性試験による髄腔内 13 回投与後の組織分布（続き）

1 年間毒性試験における髄腔内 13 回投与後の幼若サルでの臓器分布						被験物質: ISIS 396443 CTD での記載箇所: 4.2.3.2-2 試験番号. 396443-AS06	
用量（mg）		N	0.3	1	4	N	4
臓器／組織	**性別**	ISIS 396443 濃度 (µg/g)[a]					
胸髄	雄	5	18.7 ± 11.4	40.8 ± 17.9	123 ± 99.4	2	-
	雌	5	24.2 ± 6.76	66.1 ± 42.6	75.4 ± 15.4	2	-
	雌雄	10	21.4 ± 9.28	53.5 ± 33.6	99.0 ± 71.5	4	20.3 ± 5.60
腰髄	雄	5	18.7 ± 11.4	40.8 ± 17.9	123 ± 99.4	2	-
	雌	5	24.2 ± 6.76	66.1 ± 42.6	75.4 ± 15.4	2	-
	雌雄	10	21.4 ± 9.28	53.5 ± 33.6	99.0 ± 71.5	4	39.7 ± 10.8
腎皮質	雄	5	31.7 ± 21.4	28.1 ± 9.46	309 ± 231	2	-
	雌	5	15.6 ± 8.53	57.5 ± 13.5	168 ± 59.6	2	-
	雌雄	10	23.7 ± 17.6	42.8 ± 19.0	239 ± 176	4	6.17 ± 3.54
肝臓	雄	5	1.05 ± 0.531	3.34 ± 2.22	23.2 ± 7.14	2	-
	雌	5	0.642 ± 0.148	2.24 ± 0.602	20.7 ± 11.6	2	-
	雌雄	10	0.850 ± 0.430	2.79 ± 1.64	21.9 ± 9.16	4	0.101 ± 0.0675
腎皮質[b]	雌雄	23.7 ± 17.6		42.8 ± 19.0	239 ± 176	6.17 ± 3.54	

[a] 値は平均値 ± SD。N≤2 の場合は、値を示さず。
[b] バリデートされていない分析法により測定された。
ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IT = Intrathecal; SD = Standard Deviation

6 薬物動態試験：蛋白結合

6.1 脳脊髄液中タンパク結合

脳脊髄液中タンパク結合				被験物質: ISIS 396443
被検物質	ISIS 396443			
試験の種類	*In Vitro* CSF 中タンパク結合試験			
分析法	限外ろ過 / Nuclease-Dependent Hybridization ELISA (測定回数/動物種/濃度 = 3)			
動物種	ヒト		サル	
ISIS 396443 CSF 中濃度 (μg/mL)	% 結合 (平均値 ± SD)			
5	15.14 ± 9.52	24.92 ± 8.54	3.03 ± 11.69	0
150	0	0	0	0
試験番号	396443-IS05	396443-IS06	396443-IS05	396443-IS06
CTD での記載箇所	5.3.2.1-2	5.3.2.1-3	5.3.2.1-2	5.3.2.1-3

ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

6.2 血漿中タンパク結合

血漿タンパク結合					被験物質: ISIS 396443
被検物質	ISIS 396443				
試験の種類	*In Vitro* 血漿タンパク結合試験				
分析法	限外ろ過 / Nuclease-Dependent Hybridization ELISA (測定回数/動物種/濃度 = 3)				
動物種	ヒト		サル		マウス
ISIS 396443 血漿中濃度 (µg/mL)	% 結合 (平均値 ± SD)				
0.1	94.83 ± 0.72	96.13 ± 0.26	96.99 ± 1.02	99.44 ± 0.35	96.55 ± 0.16
5	94.05 ± 0.99	94.82 ± 0.83	98.05 ± 0.18	98.69 ± 0.11	95.97 ± 0.27
試験番号:	396443-IS04	396443-IS06	396443-IS04	396443-IS06	396443-IS06
CTD での記載箇所	5.3.2.1-1	5.3.2.1-3	5.3.2.1-1	5.3.2.1-3	5.3.2.1-3

ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

7.1 妊娠マウスにおける複数回投与後の組織分布及び胎盤通過性

妊娠マウスにおける試験		被験物質: ISIS 396443
		CTD での記載箇所: 4.2.3.5.1-1
		試験番号. 396443-AS08
動物種	マウス	
給餌条件	自由摂餌	
溶媒/投与形態	滅菌生理食塩水/溶液	
被検物質 / 分析法	ISIS 396443 / HPLC	
投与方法	SC	
Data Analysis Software	NA	
投与頻度	Day 1 から 1 日 1 回隔日投与（交配前 2 週間、交配期間中、及び妊娠 14 日［GD14］又は 15 日［GD15］まで）	Day 1 から 1 日 1 回隔日投与（交配前 2 週間、交配期間中、及び Day 69 まで）
試料採取時点	GD18	71 日
最終投与からの時間／日数	3 日又は 4 日 [b]	48 hr
投与回数	16 ～ 20[c]	35

7.1 妊娠マウスにおける複数回投与後の組織分布及び胎盤通過性（続き）

妊娠マウスにおける試験							被験物質: ISIS 396443 CTD 記載箇所: 4.2.3.5.1-1 試験番号. 396443-AS08	
性別 (雄/雌) /動物数	雌 5 [e]	雌 5 [e]	雌 6	雌 6	雄 6			
投与群	1	2	3	4	1	2	3	4
用量 (mg/kg)	0	3	10	25	0	3	10	25
試料	濃度 (µg/g)[a]							
胎児肝臓	NA[f]	BLQ	BLQ	BLQ	NA	NA	NA	NA
肝臓	BLQ	69.2 ± 10.9	164 ± 32.7	417 ± 57.0	BLQ	185 ± 23.6	478 ± 131	989 ± 255
胎盤 [d]	NA[f]	BLQ	BLQ	9.60 ± 4.82	NA	NA	NA	NA

[a] 値は平均値 ± SD
[b] 最終投与からの期間は、最終投与日に基づき異なる。
[c] 投与回数は交尾日により異なる。
[d] バリデートされていない分析法により測定された。
[e] 剖検時に妊娠が確認されなかった動物は除外した。
[f] 試験計画書どおりに分析されなかった。
BLQ = Below the lower limit of quantitation (<10.0 µg/g); GD = Gestation Day; HPLC = High Performance Liquid Chromatography; NA = Not Applicable; SC = Subcutaneous; SD = Standard Deviation; q2d = Once Every Other Day

7.2 妊娠ウサギにおける複数回投与後の組織分布及び胎盤通過性

妊娠ウサギにおける試験							被験物質: ISIS 396443
							CTD での記載箇所: 4.2.3.5.2-2
							試験番号. 396443-AS09
動物種	ウサギ						
給餌条件	摂餌						
溶媒/投与形態	滅菌生理食塩水/溶液						
被検物質 / 分析法	ISIS 396443 / HPLC						
投与方法	SC						
Data Analysis Software	NA						
投与頻度	妊娠 6 日（GD 6）～妊娠 18 日（GD 18）の間 1 日 1 回隔日投与						
投与回数	7						
試料採取時点	GD20			GD28			
最終投与からの時間／日数	48 hr			10 日			
性別 (雄/雌) /動物数	雌 3			雌 5			
投与群	2	3	4	1	2	3	4
用量 (mg/kg)	6	12.6	25	0	6	12.6	25
試料	濃度 (µg/g)[a]						
胎児肝臓	BLQ	BLQ	BLQ	NA[b]	BLQ	BLQ	BLQ
肝臓	90.5 ± 38.3	224 ± 40.9	374 ± 128	BLQ	40.1 ± 11.4	120 ± 57.1	281 ± 60.1
胎盤	BLQ	18.4 ± 3.23	28.3 ± 9.61	NA[b]	BLQ	BLQ	17.7 ± 5.17

[a] 値は平均値 ± SD
[b] 試験計画書どおりに分析されなかった。
BLQ = Below the lower limit of quantitation (<10.0 µg/g); GD = Gestation Day; HPLC = High Performance Liquid Chromatography; NA = Not Applicable; SC = Subcutaneous;

SD = Standard Deviation; q2d = Once Every Other Day

8　　薬物動態試験：その他の分布試験

その他の分布試験は実施されていない。

9 薬物動態試験：代謝：In Vivo

9.1 In vivo 代謝試験

In Vivo 代謝								被験物質: ISIS 396443 CTD での記載箇所: 5.3.1.4-8 試験番号. 396443-IS07
動物種	サル							
給餌条件	摂餌							
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液							
投与方法	腰椎髄腔内ボーラス注射							
分析法	HPLC-MSMS							
In-Life 試験番号	396443-AS03							396443-AS06
投与頻度	Days 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78, 85, 92, 99							Days 1, 8, 15, 22, 29, 71, 113, 155, 197, 239, 281, 323, 365
用量（mg）	3							4
性別 (雄/雌) /動物数	雄 3 / 雌 3				雄 3 / 雌 4		雄 2 /雌 4	雄 3 / 雌 3
試料	血漿			CSF	脳	肝臓	腰髄	腎皮質
試料採取日	1	36	99	36	106			372
最終投与からの時間／日数	2 hr	7 日	2 hr	7 日	7 日			7 日
投与回数	1	5	15	5	15			13

9.1 In vivo 代謝試験（続き）

In Vivo 代謝							被験物質: ISIS 396443 CTD での記載箇所: 5.3.1.4-8 試験番号. 396443-IS07	
動物種	サル							
試料	血漿			CSF	脳	肝臓	腰髄	腎皮質
被検物質	試料中の相対含有率 (%)[a]							
ISIS 396443[b]	97.74 ± 1.34	ND	96.93 ± 0.52	100	80.5 ± 2.05	78.77 ± 4.05	78.61 ± 1.91	78.53 ± 4.50
17-mer, N-1, 3′-deletion[c]	2.26 ± 1.34	ND	3.07 ± 0.52	ND	17.16 ± 1.56	17.05 ± 3.76	18.44 ± 1.64	14.00 ± 1.41
16-mer, N-2, 3′-deletion	ND	ND	ND	ND	2.33 ± 0.75	2.20 ± 0.51	2.96 ± 0.32	2.49 ± 0.62
15-mer, N-3, 3′-deletion	ND	ND	ND	ND	ND	1.98 ± 0.58	ND	0.77 ± 0.32
14-mer, N-4, 3′-deletion	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.82 ± 0.59
17-mer, N-1, 5′-deletion	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.91 ± 0.92
16-mer, N-2, 5′-deletion	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.66 ± 0.98
15-mer, N-3, 5′-deletion	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.82 ± 0.61

[a] 値は平均値 ± SD
[b] 18-mer（全長未変化体）
[c] ISIS 524402 は ISIS 396443 の 3′-末端が欠失した 17-mer 推定代謝物と同定され、代謝物同定のための標準物質として用いられた。
HPLC = High Performance Liquid Chromatography; IT = Intrathecal; MS = Mass Spectrometry; ND = Not Detected; SD = Standard Deviation

10 薬物動態試験：代謝：In Vitro

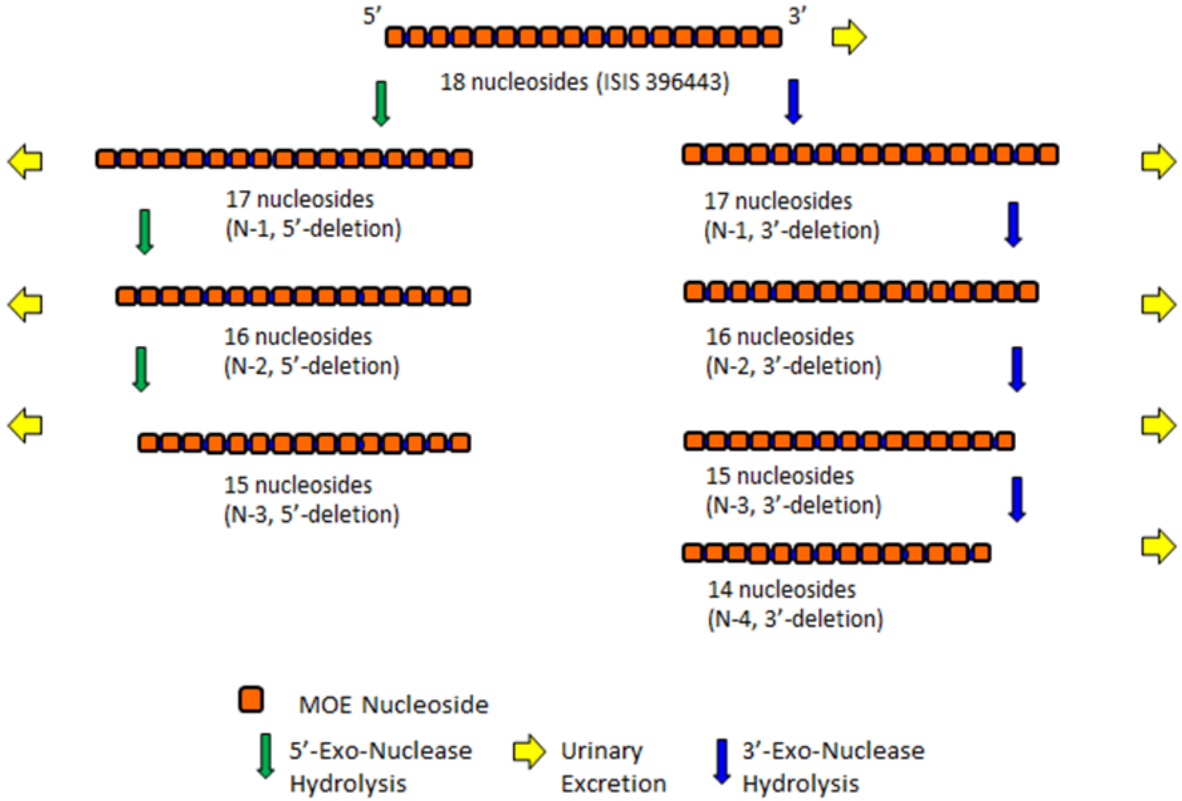
In-vitro 代謝試験は実施されていない。

11 薬物動態試験：推定代謝経路

11.1 推定代謝経路

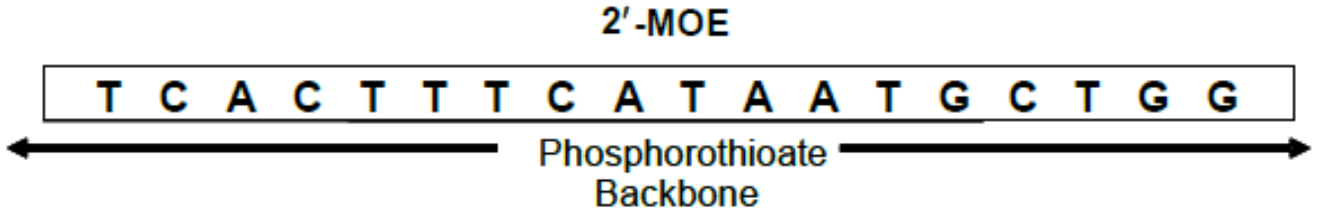
推定代謝経路	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 5.3.1.4-8
	試験番号. 396443-IS07
試験の種類	代謝
分析法	HPLC-MS/MS

図 1　　推定代謝経路


5′
3′
18 nucleosides (ISIS 396443)
17 nucleosides
(N-1, 5′-deletion)
17 nucleosides
(N-1, 3′-deletion)
16 nucleosides
(N-2, 5′-deletion)
16 nucleosides
(N-2, 3′-deletion)
15 nucleosides
(N-3, 5′-deletion)
15 nucleosides
(N-3, 3′-deletion)
14 nucleosides
(N-4, 3′-deletion)
MOE Nucleoside
5′-Exo-Nuclease
Hydrolysis
Urinary
Excretion
3′-Exo-Nuclease
Hydrolysis

補足情報:

下図は、上図の着色された正方形に相当する各核酸を略号で示した未変化体を示す。



注: 全てのシトシン塩基は 5 位がメチル化されている。
HPLC = High Performance Liquid Chromatography; MS = Mass Spectrometry

12　　薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

薬物代謝酵素の誘導/阻害に関する *in-vitro* 試験の詳細は M2.7.2 を参照。

13 薬物動態試験：排泄：尿中、胆汁中、乳汁中

尿中及び胆汁中排泄に関する試験は実施されていない。

13.1 マウスを用いた出生前及び出生後発生試験における乳汁排泄

妊娠及び授乳マウスにおける試験				被験物質: ISIS 396443 CTD での記載箇所: 4.2.3.5.3-1 試験番号. 396443-AS12
動物種	マウス			
給餌条件	自由摂餌			
溶媒/投与形態	注射用 0.9%塩化ナトリウム、USP			
被検物質 / 分析法	ISIS 396443 / HPLC			
投与方法	SC			
Data Analysis Software	NA			
投与頻度	妊娠 6 日目（GD 6）、8、10、12、14、16 の隔日及び授乳 0 日目（LD 0）、6、12、18 の週 1 回			
1 日用量 (mg/kg)	0	1.4	5.8	17.2
1 週間用量（mg/kg/週）	0	5.0	20.0	60.0
試料：肝臓（µg/mg ± SD）	10 匹	10 匹	10 匹	10 匹
肝臓：出生後 22 日目	BLQ	37.6 ± 3.60	111 ± 18.7	251 ± 49.9
試料：乳汁（µg/mL）	4 匹からのプール試料	4 匹からのプール試料	4 匹からのプール試料	4 匹からのプール試料
乳汁：LD13	<0.00500	0.00847	0.0252	0.0552
肝臓に対する乳汁の比	NC	0.000225	0.000227	0.000220

14　　薬物動態試験：薬物相互作用

薬物動態学的薬物相互作用に関する試験は実施されていない。

15 薬物動態試験：その他

15.1 免疫原性

免疫原性	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 5.3.5.4-4
	試験番号. 396443-IS09

動物種	サル
In-Life 試験番号	396443-AS06
給餌条件	摂餌
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液
投与方法	腰椎髄腔内ボーラス注射
被検物質 / 分析法	抗 ISIS 396443 抗体 / ELISA
試料	血漿
投与頻度	Days 1, 8, 15, 22, 29, 71, 113, 155, 197, 239, 281, 323, 365
評価時点	Days 1, 29, 113, 197, 323, 554[c]

15.1 免疫原性（続き）

免疫原性	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 5.3.5.4-4
	試験番号. 396443-IS09

用量（mg）	発現状況				免疫原性陽性動物				
	試験試料数	免疫原性陽性試料数 (%)[a]	試験動物数	免疫原性陽性サル数 (%)[b]	動物番号	免疫原性陽性試料数	報告された最大抗体価	抗薬物抗体検出期間 (日)	$T_{last_sampling}$ (日)
0	74	0 (0)	14	0 (0)	NA	NA	NA	NA	NA
0.3	50	0 (0)	10	0 (0)	NA	NA	NA	NA	NA
1	50	1 (2)	10	1 (10)	17345	1	8	1 (Day 197)	323
4	74	6 (8.1)	14	2 (14.3)	17348	3	8	210 (Day 113 ～ Day 323)	323
					17367	3	8	210 (Day 113 ～ Day 323)	554

[a] 各用量群での総試料数に対する陽性が確認された試料数の割合（%）
[b] 総動物数に対する 1 回以上陽性が確認された動物の割合（%）。
[c] 4 mg 用量のみ。
ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IM = Immunogenicity; IT = Intrathecal

15.2 免疫原性が薬物動態に及ぼす影響

免疫原性が薬物動態に及ぼす影響	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 5.3.5.4-4
	試験番号. 396443-IS09

動物種	サル
In-Life 試験番号	396443-AS06
給餌条件	摂餌
溶媒/投与形態	人工脳脊髄液/溶液
投与方法	腰椎髄腔内ボーラス注射
被検物質 / 分析法	抗-ISIS 396443 抗体 / ELISA and ISIS 396443 / ELISA
Data Analysis Software	[redacted]
投与頻度	Days 1, 8, 15, 22, 29, 71, 113, 155, 197, 239, 281, 323, 365

15.2 免疫原性が薬物動態に及ぼす影響（続き）

免疫原性が薬物動態に及ぼす影響	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 5.3.5.4-4
	試験番号. 396443-IS09

試料	用量 (mg)	免疫原性陽性動物番号/性別	試料採取日	最終投与からの日数	動物での ISIS 396443 濃度 (ng/mL 又は μg/g)[a]	性別 (雄/雌) / 動物数	投与群 平均値 ± SD ISIS 396443 濃度 (ng/mL 又は μg/g)[a,c]
CSF	1	17345 / 雄	197	投与前	13.8	雄 5 / 雌 5	20.5 ± 9.42
	4	17348 / 雄	113	投与前	54.7	雄 7 / 雌 7	31.3 ± 15.7
			197	投与前	39.1	雄 7 / 雌 7	48.8 ± 39.9
			323	投与前	39.0	雄 7 / 雌 7	37.0 ± 23.1
		17367 / 雌	113	投与前	69.2	雄 7 / 雌 7	31.3 ± 15.7
			197	投与前	168	雄 7 / 雌 7	48.8 ± 39.9
		17367 / 雌	323	投与前	36.2	雄 7 / 雌 7	37.0 ± 23.1
脳皮質[b]	1	17345 / 雄	372	7 日	12.6	雄 5 / 雌 5	16.6 ± 5.97
	4	17348 / 雄	372	7 日	48.1	雄 5 / 雌 5	71.3 ± 29.3
		17367 / 雌	554	189 日	49.0	雄 2 / 雌 2	43.8 ± 4.41
腰髄[b]	1	17345 / 雄	372	7 日	30.5	雄 5 / 雌 5	53.5 ± 33.6
	4	17348 / 雄	372	7 日	76.1	雄 5 / 雌 5	99.0 ± 71.5
		17367 / 雌	554	189 日	39.3	雄 2 / 雌 2	39.7 ± 10.8

15.2 免疫原性が薬物動態に及ぼす影響（続き）

免疫原性が薬物動態に及ぼす影響	被験物質: ISIS 396443
	CTD での記載箇所: 5.3.5.4-4
	試験番号. 396443-IS09

試料	用量 (mg)	免疫原性陽性動物番号/性別	試料採取日	最終投与からの日数	動物での ISIS 396443 濃度 (ng/mL 又は μg/g)[a]	性別 (雄/雌) / 動物数	投与群 平均値 ± SD ISIS 396443 濃度 (ng/mL 又は μg/g)[a,c]
血漿	1	17345 / 雄	197	投与前	45.0	雄 5 / 雌 5	4.80 ± 14.1
	4	17348 / 雄	113	投与前	5.321	雄 7 / 雌 7	7.32 ± 21.5
			197	投与前	18.3	雄 7 / 雌 7	4.84 ± 10.4
			323	投与前	3.03	雄 7 / 雌 7	2.02 ± 4.49
		17367 / 雌	113	投与前	81.9	雄 7 / 雌 7	7.32 ± 21.5
			197	投与前	36.7	雄 7 / 雌 7	4.84 ± 10.4
			323	投与前	15.8	雄 7 / 雌 7	2.02 ± 4.49

[a] 血漿中及び CSF 中濃度の単位は ng/mL; 脳皮質及び腰髄中の濃度の単位は μg/g。
[b] 組織中薬物濃度は最終剖検時点での測定値を示す。
[c] 免疫原性陽性を示した動物についての薬物濃度データは群平均値の算定に含めた。
ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; IM = Immunogenicity; IT = Intrathecal; SD = Standard Deviation