

審議結果報告書

令和 2 年 3 月 6 日
医薬・生活衛生局医薬品審査管理課

[販売名] ビルテプソ点滴静注250 mg
[一般名] ビルトラルセン
[申請者名] 日本新薬株式会社
[申請年月日] 令和元年9月26日

[審議結果]

令和2年2月28日に開催された医薬品第一部会において、本品目を承認して差し支えないとされ、薬事・食品衛生審議会薬事分科会に報告することとされた。

本品目は生物由来製品及び特定生物由来製品のいずれにも該当せず、再審査期間は10年、原体及び製剤は毒薬及び劇薬のいずれにも該当しないとされた。

[承認条件]

1. 医薬品リスク管理計画を策定の上、適切に実施すること。
2. 国内での治験症例が極めて限られていることから、再審査期間中は、全症例を対象とした使用成績調査を実施することにより、本剤の使用患者の背景情報を把握するとともに、本剤の安全性及び有効性に関するデータを早期に収集し、本剤の適正使用に必要な措置を講じること。
3. 本剤の有効性及び安全性の確認を目的とした臨床試験及び国内レジストリを用いた調査を実施し、終了後速やかに試験成績及び解析結果を提出すること。

審査報告書

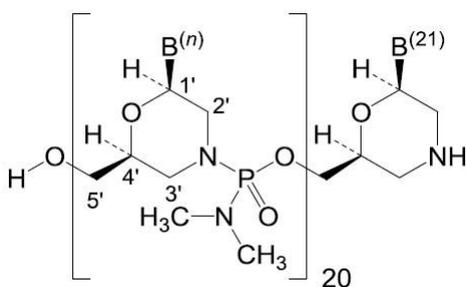
令和2年2月19日

独立行政法人医薬品医療機器総合機構

承認申請のあった下記の医薬品にかかる医薬品医療機器総合機構での審査結果は、以下のとおりである。

記

- [販売名] ビルテプソ点滴静注 250 mg
[一般名] ビルトラルセン
[申請者] 日本新薬株式会社
[申請年月日] 令和元年9月26日
[剤形・含量] 1バイアル (5 mL) 中にビルトラルセン 250 mg を含有する注射剤
[申請区分] 医療用医薬品 (1) 新有効成分含有医薬品
[化学構造]



B⁽ⁿ⁾ : 5'末端から n 番目の塩基 (ただし B⁽²¹⁾は 21 番目の塩基を示す)

塩基配列 : CCTCCGGTTC TGAAGGTGTT C

C : シトシン、T : チミン、G : グアニン、A : アデニン

分子式 : C₂₄₄H₃₈₁N₁₁₃O₈₈P₂₀

分子量 : 6924.82

化学名 :

(日本名) *all-P-ambo*-[2',3'-アザンジイル-*P*,2',3'-トリデオキシ-*P*-(ジメチルアミノ)-2',3'-セコ](2'-*N*→5')(CCTCCGGTTC TGAAGGTGTT C)

(英名) *all-P-ambo*-[2',3'-Azanediyil-*P*,2',3'-trideoxy-*P*-(dimethylamino)-2',3'-seco](2'-*N*→5')(CCTCCGGTTC TGAAGGTGTT C)

[特記事項] 希少疾病用医薬品 (指定番号 : (31 薬) 第 440 号、令和元年 8 月 20 日付け薬生薬審発 0820 第 3 号)

先駆け審査指定医薬品 (指定番号 : 先駆け審査 (27 薬) 第 2 号、平成 27 年 10 月 27 日付け薬生審査発第 1 号)、医薬品先駆け総合評価相談実施品目

条件付き早期承認制度の適用対象（令和元年 10 月 29 日薬生薬審発 1029 第 3 号）

[審査担当部] 新薬審査第三部

[審査結果]

別紙のとおり、提出された資料から、本品目のエクソン 53 スキッピングにより治療可能なジストロフィン遺伝子の欠失が確認されているデュシェンヌ型筋ジストロフィーに対する有効性は示され、認められたベネフィットを踏まえると安全性は許容可能と判断する。

以上、医薬品医療機器総合機構における審査の結果、本品目については、下記の承認条件を付した上で、以下の効能又は効果並びに用法及び用量で承認して差し支えないと判断した。

[効能又は効果] エクソン 53 スキッピングにより治療可能なジストロフィン遺伝子の欠失が確認されているデュシェンヌ型筋ジストロフィー

[用法及び用量] 通常、ビルトラルセンとして 80 mg/kg を週 1 回、1 時間かけて静脈内投与する。

[承認条件]

1. 医薬品リスク管理計画を策定の上、適切に実施すること。
2. 国内での治験症例が極めて限られていることから、再審査期間中は、全症例を対象とした使用成績調査を実施することにより、本剤の使用患者の背景情報を把握するとともに、本剤の安全性及び有効性に関するデータを早期に収集し、本剤の適正使用に必要な措置を講じること。
3. 本剤の有効性及び安全性の確認を目的とした臨床試験及び国内レジストリを用いた調査を実施し、終了後速やかに試験成績及び解析結果を提出すること。

審査報告(1)

令和2年1月21日

本申請において、申請者が提出した資料及び医薬品医療機器総合機構における審査の概略等は、以下のとおりである。

申請品目

- [販売名] ビルテプソ点滴静注 250 mg
[一般名] ビルトラルセン
[申請者] 日本新薬株式会社
[申請年月日] 令和元年9月26日
[剤形・含量] 1バイアル(5 mL)中にビルトラルセン 250 mg を含有する注射剤
[申請時の効能・効果] エクソン 53 スキッピングにより治療可能なジストロフィン遺伝子の欠失が確認されているデュシェンヌ型筋ジストロフィー
[申請時の用法・用量] 通常、ビルトラルセンとして 80 mg/kg を週 1 回、1 時間かけて静脈内投与する。

[目次]

1. 起原又は発見の経緯及び外国における使用状況に関する資料等 2
2. 品質に関する資料及び機構における審査の概略 2
3. 非臨床薬理試験に関する資料及び機構における審査の概略 8
4. 非臨床薬物動態試験に関する資料及び機構における審査の概略 14
5. 毒性試験に関する資料及び機構における審査の概略 17
6. 生物薬剤学試験及び関連する分析法、臨床薬理試験に関する資料並びに機構における審査の概略 22
7. 臨床的有効性及び臨床的安全性に関する資料並びに機構における審査の概略 28
8. 機構による承認申請書に添付すべき資料に係る適合性調査結果及び機構の判断 57
9. 審査報告(1) 作成時における総合評価 57

[略語等一覧]

別記のとおり。

1. 起原又は発見の経緯及び外国における使用状況に関する資料等

DMD は、X 染色体上に存在するジストロフィン遺伝子が遺伝的変異により欠失又は重複することにより、機能的なジストロフィンタンパクが欠損することで発症する X 連鎖性劣性遺伝疾患である (Cell 1987; 51: 919-28)。DMD は、指定難病「筋ジストロフィー」のうちの病型の一つであり、呼吸筋及び心筋の障害、さらには重篤な運動機能障害、嚥下障害、痰の詰まり、消化管障害等が併発する難治性かつ進行性の筋疾患であり、10 歳頃に歩行不能となり、平均寿命は約 30 歳とされている (デュシェンヌ型筋ジストロフィー診療ガイドライン 2014. 南江堂; 2014. p2-5)。DMD は、新生男児の 3500 人に 1 人が罹患すると報告されており (Neuromuscul Disord 1991; 1: 19-29)、本邦における患者数は約 5000 人と推計されている (実験医学 2016; 34: 3151-8)。また、本剤の投与対象となる遺伝子変異を有する患者は DMD 患者の約 8%と報告されていることから (Hum Mutat 2009; 30: 293-9)、本邦における本剤の投与対象患者は約 400 人と推計される。本剤は、「エクソン 53 スキッピングにより治療可能なジストロフィン遺伝子の欠失が確認されているデュシェンヌ型筋ジストロフィー」を予定効能・効果として、令和元年 8 月 20 日付けで希少疾病用医薬品 (指定番号: (31 薬) 第 440 号) に指定されている。

本薬は、申請者及び国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センターにより開発された、モルフォリノ骨格を有する合成オリゴヌクレオチドである。本薬がジストロフィン遺伝子の mRNA 前駆体のエクソン 53 部分に結合することで、エクソン 53 をスキップさせ、正常より短鎖ではあるが、機能するジストロフィンタンパクが発現する。

本邦では、2013 年 6 月から国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センターにより、厚生労働科学研究費補助金による医師主導治験として臨床試験が開始され、今般申請者は、DMD に対する本剤の有効性及び安全性が確認されたとして、製造販売承認申請を行った。

海外では、米国において 2019 年 9 月に本剤の承認申請が行われ、審査中である。なお、2019 年 9 月時点において、本剤が承認されている国又は地域はない。

本邦で筋ジストロフィーに対する医薬品として、プレドニゾロン (効能・効果は「デュシェンヌ型筋ジストロフィー」)、アデノシン三リン二ナトリウム水和物の注射剤 (効能・効果は「筋ジストロフィー症及びその類縁疾患」) が承認されている。

なお、本剤は、「デュシェンヌ型筋ジストロフィー」を予定効能・効果として、平成 27 年 10 月 27 日付けで先駆け審査指定制度の対象品目 (指定番号: 先駆け審査 (27 薬) 第 2 号) に指定されている。また、本剤は、医薬品の条件付き早期承認制度の適用の対象とされている (令和元年 10 月 29 日付け薬生薬審発 1029 第 3 号)。

2. 品質に関する資料及び機構における審査の概略

2.1 原薬

2.1.1 特性

原薬は 21 残基のヌクレオチドからなる合成オリゴヌクレオチドであり、白色の粉末である。性状、溶解性、吸湿性、旋光度、解離定数、分配係数、pH、融点、結晶形について検討されている。原薬は非晶質である。

原薬の化学構造は、元素分析、IR、NMR (^1H -、 ^{13}C -及び ^{31}P -NMR)、MS、UV、円偏光二色性スペクトル及び粉末 X 線回折により確認されている。また、原薬は、モルフォリン環上の炭素原子及び 20 個のリン原子上に不斉中心を有するジアステレオ混合物である。

2.1.2 製造方法

原薬は、¹⁾、²⁾、³⁾、⁴⁾及び [redacted]
 [redacted]
 [redacted]を出発物質として、[redacted]される。合成工程における [redacted] ([redacted])
 は、[redacted]を1サイクルとし、[redacted]サイクルからなる⁵⁾。
 [redacted]の [redacted]を得たのち [redacted]の [redacted]及び [redacted]が行われ ([redacted])、
 精製工程を経て原薬が製造される。精製工程は、 [redacted]工程、 [redacted]工程、 [redacted]工
 程、 [redacted]工程、 [redacted]工程、 [redacted]工程、 [redacted]工程からなる。

QbDの手法を利用し、以下の検討等により、品質の管理戦略が構築されている(表1)。

- CQAの特定
- 欠陥モード影響解析により、CQAに影響を及ぼす製造工程及び要因の特定
- リスク分析の結果に基づく潜在的CPPの特定及び実験計画法に基づく標準操作条件の設定

表1 原薬の管理戦略の概要

CQA		管理方法
[redacted]	[redacted]	製造方法、規格及び試験方法
	[redacted]	製造方法
[redacted]	[redacted]	製造方法、規格及び試験方法
	[redacted]	製造方法、規格及び試験方法
	[redacted]	製造方法
	[redacted]	製造方法
	[redacted]	製造方法
[redacted]	[redacted]	製造方法、規格及び試験方法

重要工程として、 [redacted]工程 ([redacted]工程)、 [redacted]工程、 [redacted]工程及び [redacted]工程が設
 定されている。また、重要中間体として、 [redacted]
 [redacted]及び [redacted]⁶⁾
 [redacted]が管理されている。

2.1.3 原薬の管理

原薬の規格及び試験方法として、含量、性状、確認試験(UV/VIS、IR、MS、 [redacted])、 [redacted]、pH、
 純度試験[溶状、類縁物質(HPLC)、残留溶媒(GC)]、水分、エンドトキシン、微生物限度及び定
 量法(HPLC)が設定されている。

2.1.4 原薬の安定性

原薬で実施された主な安定性試験は表2のとおりである。また、光安定性試験の結果、原薬は光に安
 定であった。

1) [redacted]
 2) [redacted]
 3) [redacted]
 4) [redacted]
 5) [redacted]では [redacted]は [redacted]われない。
 6) [redacted]の [redacted]の [redacted]に [redacted]が [redacted]した [redacted]

表2 原薬の安定性試験

試験名	基準ロット	温度	湿度	保存形態	保存期間
長期保存試験	パイロット 3ロット	5℃	成り行き	ポリエチレン袋（二重）+アルミニウム袋	18カ月
加速試験	パイロット 3ロット	25℃	60%RH		6カ月

以上より、原薬のリテスト期間は、ICH Q1E ガイドラインに基づき、二重のポリエチレン袋に入れ、これを多層アルミニウム袋（ナイロン/アルミニウム/ナイロン/直鎖状低密度ポリエチレン）で2～8℃保存するとき、24カ月と設定された。なお、長期保存試験は■カ月まで継続予定である。

2.2 製剤

2.2.1 製剤及び処方並びに製剤設計

製剤は1バイアル（5 mL）中に原薬 250 mg 含有する水性注射剤である。製剤には、塩化ナトリウム、塩酸、水酸化ナトリウム及び注射用水が添加剤として含まれる。

2.2.2 製造方法

製剤の製造方法は、調製、無菌ろ過、充てん・打栓、巻き締め、包装・表示、試験・保管工程からなり、重要工程として、■工程及び■工程が設定されている。また、■工程、■工程、■工程及び■工程に、工程管理項目及び工程管理値が設定されている。

2.2.3 製剤の管理

製剤の規格及び試験方法として、含量、性状、確認試験（UV/VIS、HPLC、MS）、pH、純度試験〔類縁物質（HPLC）〕、エンドトキシン、採取容量、不溶性異物、不溶性微粒子、無菌及び定量法（HPLC）が設定されている。なお、審査の過程において、純度試験〔■（HPLC）〕が設定された。

2.2.4 製剤の安定性

製剤で実施された主な安定性試験は表3のとおりである。光安定性試験の結果、製剤は光に安定であった。

表3 製剤の安定性試験

試験名	基準ロット	温度	湿度	保存形態	保存期間
長期保存試験	実生産 3ロット	5℃	成り行き	無色ガラスバイアル+ ゴム栓+アルミキャップ+ 紙箱	18カ月
加速試験	実生産 3ロット	25℃	60%RH		6カ月

以上より、製剤の有効期間は、ICH Q1E ガイドラインに基づき、ブチルゴム栓及びアルミニウムキャップにより施栓された無色ホウケイ酸ガラスバイアルに充てんし、紙箱に入れて2～8℃保存するとき18カ月と設定された。なお、長期保存試験は36カ月まで継続予定である。

2.R 機構における審査の概略

機構は、提出された資料及び以下の検討等から、原薬及び製剤の品質は適切に管理されているものと判断した。

2.R.1 原薬の製造工程に関する検討内容について

機構は、原薬の製造工程において一貫した品質を担保するために、開発段階で検討した内容を説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。

原薬のCQAとして、[REDACTED]、[REDACTED]、[REDACTED]及び[REDACTED]、[REDACTED]、[REDACTED]、[REDACTED]及び[REDACTED]、[REDACTED]及び[REDACTED]及び[REDACTED]、[REDACTED]、[REDACTED]及び[REDACTED]を特定し、管理方法は表1のとおりである。また、申請者は、原薬は核酸医薬品であることから、CQAのうち特に[REDACTED]及び[REDACTED]については、有効性及び安全性に影響すると考えた。その上で、類縁物質の副生や除去に関わる工程における工程パラメータについて欠陥モード影響解析を用いて重大性、確率及び検出性の観点から品質への影響を評価した結果、潜在的CPPとして以下のパラメータが特定された。したがって、それぞれのパラメータについて操作条件の立証された許容範囲を確認し、その範囲で製造を行うこととした。

- [REDACTED]の[REDACTED]における[REDACTED]、[REDACTED]及び[REDACTED]
- [REDACTED]における[REDACTED]及び[REDACTED]、[REDACTED]における[REDACTED]、[REDACTED]及び[REDACTED]
- 精製工程のうち、[REDACTED]における[REDACTED]、[REDACTED]の[REDACTED]及び[REDACTED]の[REDACTED]と[REDACTED]の[REDACTED]
- [REDACTED]における[REDACTED]の[REDACTED]及び[REDACTED]
- [REDACTED]における[REDACTED]、[REDACTED]の[REDACTED]及び[REDACTED]の[REDACTED]
- [REDACTED]における[REDACTED]及び[REDACTED]の[REDACTED]

また、オリゴヌクレオチド類縁物質は相互に類似した化学的性質を有しているため、個々に分離して分析することが困難である。そのため、以下の点を検討した結果、ロット間の不純物プロファイルは一貫していることから、純度試験で用いる[REDACTED] HPLC分析において、[REDACTED]として検出される不純物群として管理することが適切と考える。

- 精製前の[REDACTED]中の[REDACTED] HPLCにおける[REDACTED]類縁物質[REDACTED]の組成を[REDACTED]により測定したところ、表4のとおりであり、設定された合成工程において、ロット間で個々の不純物プロファイルに異なる傾向は認められなかった。

表4 [REDACTED]による[REDACTED]の類縁物質の組成分析

[REDACTED]	化合物名	[REDACTED] (%) ^{a)}			
[REDACTED]	化合物A*	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]
	化合物B*	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]
	化合物C*+化合物D* ^{b)}	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]
[REDACTED]	化合物E*	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]
	化合物F*+化合物G* ^{c)}	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]
	化合物H*	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]
[REDACTED]	原薬	100	100	100	100
[REDACTED]	化合物I*	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]
	化合物J*	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]
[REDACTED]	化合物K* ^{d)}	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]	[REDACTED]

a) 原薬に対する類縁物質の[REDACTED]
 b) [REDACTED]及び[REDACTED]の[REDACTED]が[REDACTED]であるため、[REDACTED]を[REDACTED]として示された。
 c) [REDACTED]及び[REDACTED]の[REDACTED]が[REDACTED]であるため、[REDACTED]を[REDACTED]として示された。
 d) [REDACTED]の[REDACTED]の[REDACTED]の[REDACTED]は、[REDACTED]の[REDACTED]と[REDACTED]しているため、測定できない。

- また、精製工程では[REDACTED]の精製（[REDACTED]）を実施しており、精製後の原薬の個々の不純物プロファイルは表5のとおりであった。

*新薬承認情報提供時に置き換え

表5 による原薬のの不純物プロフィール

化合物名	(%) ^{a)}							
化合物A*								
化合物B*								
化合物C*+化合物D* ^{b)}								
化合物E*								
化合物F*+化合物G* ^{c)}								
化合物H*								
原薬	100	100	100	100	100	100	100	100
化合物I*								
化合物J*								
化合物K* ^{d)}								

- a) 原薬に対する類縁物質の
- b) 及びの が であるため、 を として示された。
- c) 及びの が であるため、 を として示された。
- d) のもう一方の である は、原薬の と しているため、測定できない。

- さらに、設定された各類縁物質の規格値は、非臨床試験（サルを用いた反復投与毒性試験）で安全性が確認された投与量（360 mg/kg）とヒトにおける投与量（80 mg/kg）を用いて算出された許容濃度（表6）と比較して、 %と低い値である。

表6 類縁物質の安全性が担保された量

類縁物質	原薬 ^{a)} 中の含量 (%)	原薬の各類縁物質の許容濃度 (%) ^{b)}	原薬の各類縁物質の規格値濃度 (%)
RRT			
合計			

RRT：ピーク相対保持時間

- a) サルを用いた反復投与毒性試験に用いられた原薬（ロット番号）
- b) 許容濃度=原薬（ロット番号）中の各不純物の量 (%) × 毒性試験での原薬の投与量 (360 mg/kg) / 本剤の臨床用量 (80 mg/kg)

機構は、以上の申請者の説明について了承した。

2.R.2 原薬のの管理について

機構は、原薬がののに する ののの であることを踏まえ、ののについて説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。

- パイロットスケール及び実生産スケールにおいて、原薬のに用いた である のの は、 に を、 として ことから、の による に関する検討を行った。その結果、の においても、 において で のの は、の に ことが確認されている（表7）。また、ののの は、 な を経て に されるとの報告がある（ ）。以上より、及び使用するののの が、ののの に影響を及ぼすと考える。

* 新薬承認情報提供時に置き換え

3. 非臨床薬理試験に関する資料及び機構における審査の概略

本薬の非臨床薬理試験として、効力を裏付ける試験、副次的薬理試験及び安全性薬理試験の成績が提出された。なお、特に記載のない限り、数値は平均値±標準偏差で示している。

3.1 効力を裏付ける試験

3.1.1 エクソン 45-52 欠損 DMD 患者由来線維芽細胞を用いた検討 (CTD 4.2.1.1-1~3)

エクソン 45-52 欠損 DMD 患者由来線維芽細胞から分化させた筋管細胞に、遺伝子導入試薬存在下で本薬 (0, 0.1, 0.3, 1, 3 及び 10 µmol/L) を添加して 2 日間培養し、本薬のエクソン 53 スキッピング効率⁷⁾を RT-PCR 法を用いて評価したところ、本薬によりエクソン 53 スキッピングが認められた (EC₅₀: 0.63 µmol/L) (CTD 4.2.1.1-1)。

エクソン 45-52 欠損 DMD 患者由来線維芽細胞から分化させた筋管細胞を、遺伝子導入試薬非存在下で本薬 (0, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3 及び 10 µmol/L) を添加して 2 日間培養し、その後本薬を含有しない培養液に交換して 5 日間培養した。培養後に本薬のエクソン 53 スキッピング効率⁷⁾を RT-PCR 法を用いて評価したところ、本薬によりエクソン 53 スキッピングが認められた (EC₅₀: 0.90 µmol/L) (CTD 4.2.1.1-2)。

エクソン 45-52 欠損 DMD 患者由来線維芽細胞から分化させた筋管細胞を、遺伝子導入試薬非存在下で本薬 (0, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3 及び 10 µmol/L) を添加して 2 日間培養し、その後本薬を含有しない培養液に交換して 5 日間培養した。培養後にジストロフィンタンパクの発現をイムノブロットにより評価したところ、本薬 1 µmol/L 以上の濃度でエクソン 45-53 に相当する部分が欠損した 372 kDa のジストロフィンタンパクに由来すると考えられるバンドが検出された (CTD 4.2.1.1-3)。

3.1.2 エクソン 48-52 欠損 DMD 患者由来線維芽細胞を用いた検討 (CTD 4.2.1.1-4~5)

エクソン 48-52 欠損 DMD 患者由来線維芽細胞から分化させた筋管細胞を、遺伝子導入試薬非存在下で本薬 (0, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 及び 10 µmol/L) を添加して 2 日間培養し、その後本薬を含有しない培養液に交換して 5 日間培養した。培養後に本薬のエクソン 53 スキッピング効率⁷⁾を RT-PCR 法を用いて評価したところ、本薬によりエクソン 53 スキッピングが認められた (EC₅₀: 2.30 µmol/L) (CTD 4.2.1.1-4)。

エクソン 48-52 欠損 DMD 患者由来線維芽細胞から分化させた筋管細胞を、遺伝子導入試薬非存在下で本薬 (0, 0.03, 0.1, 0.3, 1, 3, 及び 10 µmol/L) を添加して 2 日間培養し、その後本薬を含有しない培養液に交換して 5 日間培養した。培養後にジストロフィンタンパクの発現をイムノブロットにより評価したところ、本薬 0.1 µmol/L 以上の濃度でエクソン 48-53 に相当する部分が欠損した 390 kDa のジストロフィンタンパクに由来すると考えられるバンドが検出された (CTD 4.2.1.1-5)。

3.1.3 カニクイザルを用いた検討 (CTD 4.2.1.1-6, 4.2.3.2-4)

カニクイザルを用いた 39 週間反復静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 (CTD 4.2.3.2-4) における剖検時に採取した骨格筋及び心筋組織について、本薬のエクソン 53 スキッピング活性⁷⁾を RT-PCR 法を用いて評価した (CTD 4.2.1.1-6)。投与期間終了時における本薬 0, 10, 60 及び 360 mg/kg 群 (以下同順) のエクソン 53 スキッピング効率は、骨格筋ではそれぞれ 0.1±0.2, 0.5±0.3, 2.3±1.5 及び 6.2±1.8%、心筋ではそれぞれ 0.1±0.1, 0.2±0.0, 0.5±0.2 及び 3.9±3.2% であり、骨格筋では 60 及び 360 mg/kg 群で、心筋では 360 mg/kg 群で増加が認められた。回復期間終了時における本薬 0, 60 及び 360 mg/kg 群 (以下同順) のエクソン 53 スキッピング効率は、骨格筋ではそれぞれ 0.0±0.0, 1.4±0.7 及び 4.8±2.7%、

7) エクソン 53 を含まない PCR 産物 (A) 及びエクソン 53 を含む PCR 産物 (B) を RT-PCR により定量し、A の量を A+B の量で除して算出 (エクソン 53 スキッピング効率=A/(A+B)×100)

心筋ではそれぞれ 0.0±0.0、0.0±0.1 及び 0.6±0.3%であり、骨格筋及び心筋においてともに 360 mg/kg 群で増加が認められた。

3.2 副次的薬理試験

3.2.1 ジストロフィン以外に本薬が結合する可能性がある遺伝子に関する検討 (CTD 4.2.1.2-1)

3.2.1.1 *In silico* 解析

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、その相補配列と同一又は類似した配列を含む標的以外の遺伝子に対し、配列依存的に作用する可能性、また、アンチセンスオリゴヌクレオチドの製造過程において、1塩基が欠失又は同じ塩基が挿入したオリゴヌクレオチド (n±1 mer) が不純物として含まれる場合があり、配列依存的に作用する可能性がある。そのため、本薬及び n±1 mer の相補配列について、結合する可能性のある遺伝子を、申請者が作成したアルゴリズムを用いて、Ensembl Release 86⁸⁾及び BioMart version 0.7⁹⁾を利用して作成したヒト mRNA 配列セット及び pre-mRNA 配列セットをデータセットとして解析した。その結果、本薬の相補配列について、ミスマッチ、インサクション及びデリーションの総数が2塩基以内の配列 (以下、2塩基以内相違配列) を含む遺伝子は検出されなかった。n±1 mer の相補配列について、完全一致及び1塩基相違配列を含む遺伝子は検出されなかったが、2塩基相違配列を含む遺伝子として、ヒト mRNA から3遺伝子、ヒト pre-mRNA から30遺伝子が検出された (表9)。このうち、11遺伝子においてカニクイザルで一致する配列が検出されたため、ヒト特異的なオフターゲット候補遺伝子として19遺伝子が抽出された (CTD 4.2.1.2-1)。

表9 本薬の n±1 mer の2塩基以内相違配列を含むヒト遺伝子

	ヒト mRNA ^{a)}	ヒト pre-mRNA
ヒト特異的な遺伝子	ZNF557	ALDH1A2, APCDD1, CAMKK2, CNTNAP2, FSHR, FUT1, LMTK2, LRIG1, MYT1, PCDH15, PRKCH, RP11-459O1.2, RP11-479O16.1, SLC22A10, SLC24A2, TIAM1, WDR20, WRN, ZNF557
カニクイザルの配列と一致している遺伝子	RP11-649E7.5, SYCP2L	AC008697.1, COL18A1, EEF2K, GRIA1, GRIN2A, RP11-145G20.1, RP11-649E7.5, SLC25A18, SLIT3, SYCP2L, ZMIZ1-AS1

a) ヒト mRNA で検出された3遺伝子は、ヒト pre-mRNA で検出された30遺伝子にも含まれていた。

3.2.1.2 遺伝子発現解析

3.2.1.2.1 エクソンマイクロアレイを用いた RD 細胞における遺伝子発現解析及びパスウェイ解析 (CTD 4.2.1.2-2)

ヒト横紋筋肉腫細胞株 (RD 細胞) を遺伝子導入試薬存在下で本薬 (0、30 及び 60 µmol/L) を添加して2日間培養し、エクソンマイクロアレイを用いて3.2.1.1の項で抽出されたヒト特異的なオフターゲット候補19遺伝子 (表9) の発現解析を行った。その結果、10遺伝子については発現変動が認められなかった。なお、残る9遺伝子については、RP11-459O1.2 及び RP11-479O16.1 はプローブを作成できず、APCDD1、CNTNAP2、FSHR、FUT1、MYT1、SLC22A10 及び SLC24A2 は RD 細胞において発現が認められなかったため、これらの9遺伝子に関する本薬の影響は評価できなかった。また、網羅的な遺伝子発現変動に基づくパスウェイ解析において、30 及び 60 µmol/L 群においてそれぞれ29 及び 19 パスウェイの変動が認められたが、これらのパスウェイに発現変動を示すオフターゲット候補遺伝子は含まれておらず、本薬のハイブリダイゼーション依存的なオフターゲット作用と関連性のない変化と考察されている。

8) EBI (European Bioinformatics Institute, European Molecular Biology Laboratory, Hinxton, Cambridgeshire, UK) が提供するゲノムアノテーションデータベース Ensembl Release 86 (2016年10月リリース)

9) Ensembl 上の Web ツール BioMart version 0.7

3.2.1.2.2 エクソンマイクロアレイを用いた HEK293 細胞における遺伝子発現解析及びパスウェイ解析 (CTD 4.2.1.2-3)

ヒト胎児由来腎臓 (HEK) 293 細胞を遺伝子導入試薬存在下で本薬 (0、120 µmol/L) を添加して 2 日間培養し、エクソンマイクロアレイを用いて 3.2.1.1 の項で抽出されたヒト特異的なオフターゲット候補 19 遺伝子の発現解析を行ったところ、1 遺伝子 (*FUT1*) において発現増加が、3 遺伝子 (*APCDD1*、*CNTNAP2* 及び *MYT1*) においては発現低下が認められた。なお、*RP11-45901.2* 及び *RP11-479016.1* ではプローブを作成できず、*FSHR*、*PCDH15*、*SLC22A10* 及び *SLC24A2* では HEK293 細胞に発現が認められなかったため、これらの 6 遺伝子については本薬の影響を評価できなかった。網羅的な遺伝子発現変動に基づくパスウェイ解析において、41 パスウェイの変動が認められたが、これらのパスウェイに発現変動を示すオフターゲット候補遺伝子は含まれておらず、本薬のハイブリダイゼーション依存的なオフターゲット作用と関連性のない変化と考察されている。

3.2.1.2.3 エクソンマイクロアレイを用いた ITO-II 細胞における遺伝子発現解析及びパスウェイ解析 (CTD 4.2.1.2-4)

ヒト精巣がん細胞 (ITO-II 細胞) を遺伝子導入試薬存在下で本薬 (0、60 µmol/L) を添加して 2 日間培養し、エクソンマイクロアレイを用いて 3.2.1.1 で抽出されたヒト特異的なオフターゲット候補 19 遺伝子の発現解析を行ったところ、1 遺伝子 (*ALDH1A2*) において発現増加が認められた。なお、*RP11-45901.2* 及び *RP11-479016.1* についてはプローブを作成できず、*CNTNAP2*、*FSHR*、*PCDH15* 及び *SLC22A10* は ITO-II 細胞に発現が認められなかったため、これらの 6 遺伝子については本薬の影響を評価できなかった。網羅的な遺伝子発現変動に基づくパスウェイ解析において、変動が認められたパスウェイは認められなかった。

3.2.1.2.4 RT-PCR 法を用いた HEK293 細胞における遺伝子発現解析 (CTD 4.2.1.2-5)

エクソンマイクロアレイを用いた HEK293 細胞における遺伝子発現解析及びパスウェイ解析 (CTD 4.2.1.2-3) で抽出された total RNA を用いて、エクソンマイクロアレイにおいて発現変動の認められた *APCDD1*、*CNTNAP2*、*FUT1* 及び *MYT1* について、RT-PCR 法で定量的に解析したところ、*APCDD1*、*CNTNAP2* 及び *MYT1* の発現は低下し、*FUT1* の発現は増加した。

3.2.1.2.5 RT-PCR 法を用いた ITO-II 細胞における遺伝子発現解析 (CTD 4.2.1.2-6)

エクソンマイクロアレイを用いた ITO-II 細胞における遺伝子発現解析及びパスウェイ解析 (CTD 4.2.1.2-4) で抽出された total RNA を用いて、エクソンマイクロアレイにおいて発現変動の認められた *ALDH1A2*、並びにエクソンマイクロアレイで発現変動を確認できなかった *FSHR* 及び *SLC22A10* について、RT-PCR 法で定量的に解析したところ、いずれの遺伝子においても発現変動は認められなかった。

3.3 安全性薬理試験

本薬を用いた安全性薬理試験成績の概略は表 10 のとおりであった。中枢神経系について、ラットにおいて影響が認められた曝露量 (C_{max} 1862 µg/mL) は、臨床最高用量における本薬の曝露量 (C_{max} 329 µg/mL) と比較して 5.7 倍であった。

表 10 安全性薬理試験成績の概略

項目	試験系	評価項目・測定方法等	投与量	投与経路	所見	CTD
中枢神経系	SD ラット (雄 6 例/群)	FOB 法	0、125、250、500 mg/kg	静脈内	500 mg/kg : 体温低下	4.2.1.3-1
	カニクイザル (雄 5 例/群)	FOB 法	0、60、200、600 mg/kg (12 週間、1 回/週)	静脈内	影響なし	4.2.3.2-3
心血管系	CHO 細胞 (6 標本)	hERG チャンネル電流	0、0.3、1、3 mg/mL	<i>in vitro</i>	影響なし	4.2.1.3-2
	カニクイザル (雄 4 例)	心電図 ^{a)} 、 血圧 ^{b)}	0、60、200、600 mg/kg (4 週間、1 回/週、漸増投与)	静脈内	影響なし	4.2.1.3-3
	カニクイザル (雄 5 例/群)	心電図 ^{a)} 、 血圧 ^{c)}	0、60、200、600 mg/kg (12 週間、1 回/週)	静脈内	影響なし	4.2.3.2-3
	カニクイザル (雄 5 例/群)	心電図 ^{a)}	0、100 mg/kg (12 週間、1 回/週)	筋肉内	影響なし	4.2.3.2-5
呼吸系	カニクイザル (雄 4 例)	呼吸数、血液ガス パラメータ ^{d)}	0、60、200、600 mg/kg (4 週間、1 回/週、漸増投与)	静脈内	影響なし	4.2.1.3-4
	カニクイザル (雄 5 例/群)	呼吸数	0、60、200、600 mg/kg (12 週間、1 回/週)	静脈内	影響なし	4.2.3.2-3

a) 心拍数、PR 間隔、QRS 時間、QT 間隔、QTc [Bazett の補正式]

b) 拡張期血圧、収縮期血圧及び平均血圧

c) 拡張期血圧及び収縮期血圧

d) pH、酸素分圧、二酸化炭素分圧、ヘモグロビン酸素飽和度

3.R 機構における審査の概略

3.R.1 作用機序について

機構は、本薬の作用機序について、生体内におけるジストロフィンの機能及び DMD の発症機序を踏まえて説明するよう申請者に求めた

申請者は、以下のように説明した。

- ジストロフィンは細胞内アクチンと結合し、細胞膜の糖タンパク質とジストロフィン-ジストロフィン関連糖タンパク質複合体を形成することで、細胞外マトリックスのラミニン $\alpha 2$ を通じて基底膜と連結している。ジストロフィンは基底膜と筋線維の細胞骨格を固定しており、筋線維の構造を保持する機能を担っている (Dis Model Mech 2015; 8: 195-213、Nat Rev Mol Cell Biol 2006; 7: 762-73)。ジストロフィンが機能する上で、アクチンと結合する N 末端ドメインと、 β ジストログリカンと結合する部位が重要と考えられている (Dis Model Mech 2015; 8:195-213)。
- DMD ではジストロフィン遺伝子の変異により一部のエクソンが欠失する。欠失エクソン全体の塩基数が 3 の倍数ではない場合、アミノ酸の読み取り枠にずれ (アウト・オブ・フレーム) が生じ、途中で終止コドンが出現し翻訳が終止するため、構造的に不安定なジストロフィタンパクが産生される。
- 本薬はジストロフィン遺伝子の pre-mRNA のエクソン 53 部分に相補的な配列を有し、pre-mRNA から mRNA を構成するスプライシングの過程において、本薬はスプライソソームによる pre-mRNA の特定領域の認識を阻害してスプライシングを制御し、エクソン 53 をスキッピングする作用を有すると考えられている。なお、ジストロフィン pre-mRNA のエクソン 53 内にある本薬の標的配列はヒトとカニクイザルで保存されている一方、げっ歯類では保存されていないことから、げっ歯類ではジストロフィン pre-mRNA に本薬は薬理作用を示さない。
- エクソン 53 スキッピング作用を有する本薬の投与対象となるのはエクソン 43-52、45-52、47-52、48-52、49-52、50-52 又は 52 等を欠失する DMD 患者と考えられる。これらの患者においては、本薬の作用によりエクソン 53 をスキップすることで、欠失したエクソンの塩基数が 3 の倍数となるため (イン・フレーム化)、アミノ酸の読み取り枠が回復する。エクソン 53 スキッピングによるジス

トロフィン mRNA のイン・フレーム化により産生されたジストロフィンタンパクは、全長は短くなるものの両端の構造が保持されている (Nucleic Acid Ther 2014; 24: 37-47)。

- DMD と同様にジストロフィン遺伝子の変異が原因である BMD では、欠失しているエクソンの塩基数が 3 の倍数で、アミノ酸の読み取り枠が保持されており、機能するジストロフィンタンパクが産生されることが DMD と比較して症状の軽い理由と考えられている (Am J Hum Genet 1989; 45: 498-506)。本薬は全長型と比較して短鎖のジストロフィンタンパクの発現を増加させ、DMD から比較的軽微な BMD の状態へと移行させることで、疾患の進行を抑制するとともに、症状を改善すると考えられる (Brain 2011; 134: 3547-59)。

機構は、以上の申請者の説明について了承した。

3.R.2 本薬と遺伝子との相互作用に関連した安全性について

機構は、本薬はアンチセンスオリゴヌクレオチドであり、遺伝子発現に関連する作用として、①標的配列に対する作用及び②本薬が標的以外の配列にハイブリダイズすることによって生じるオフターゲット作用 (ハイブリダイゼーションに起因するオフターゲット作用) が想定されるため、①及び②の観点から本薬の安全性について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、①について、以下の理由から本薬の標的配列に対する作用に基づき、重篤な有害事象が発現する可能性は低いと考える旨を説明した。

- ジストロフィンタンパクは筋細胞に加え、中枢神経系、網膜及び腎臓で発現していることが知られており (Cell Mol Life Sci 2006; 63: 1614-31)、本薬は網膜及び腎臓に分布し、中枢神経系への分布は少ないと考えられる (4.2.1 参照)。したがって、本薬投与により、ジストロフィンタンパクの発現が増加することで、網膜及び腎臓に影響を及ぼす可能性が考えられる。
- 網膜では、特に、光受容体、ニューロン、ミュラーグリア細胞、血管においてジストロフィン・糖タンパク複合体が確認されていること (Cell Mol Life Sci 2006; 63: 1614-31) から、これらの機能に影響した場合、視覚に対して影響を及ぼす可能性がある。本薬と相補的なジストロフィン遺伝子配列を有するカニクイザルを用いた毒性試験において、網膜に変化は認められず、本薬の臨床試験において、眼障害に関連する事象として、角膜炎及びアレルギー性結膜炎が認められたものの、網膜に関連する有害事象は認められていない。以上から、本薬投与による網膜へのリスクは低いと考える。
- 腎臓では、ネフロン上皮細胞においてジストロフィン・糖タンパク複合体が確認されており (Cell Mol Life Sci 2006; 63: 1614-31)、腎機能に対して影響を及ぼす可能性がある。本薬と相補的なジストロフィン遺伝子配列を有するカニクイザルを用いた毒性試験において、主に尿細管に変化が認められたものの (腎尿細管の拡張・上皮の空胞化及び好塩基性変化等) (5.2 参照)、核酸医薬品で一般的に認められる変化であり標的配列へのハイブリダイゼーション依存的に生じた可能性は低いと考える (Int J Toxicol 2011; 30: 313-21、Nucleic Acid Ther 2016; 26: 199-209)。また、本薬の臨床試験において報告された腎障害に関連する有害事象は軽微なものであった。

次に申請者は、②ハイブリダイゼーションに起因するオフターゲット作用に起因した安全性に関して、実施した *in silico* 解析の妥当性について、以下のとおり説明した。

- *In silico* 解析によるハイブリダイゼーションに起因するオフターゲット作用を有する可能性のある遺伝子の検出(3.2.1.1 参照)において、ヒト mRNA 配列セット及び pre-mRNA 配列セットは Ensembl Release 86 (2016年10月リリース)及び BioMart version 0.7 を利用して作成したが、改めて最近のデータベースである Ensembl Release 94 (2018年10月リリース)を利用して同様の解析を実施した。その結果、新たに *IQSECI* 及び *AL031590.1* がオフターゲット候補遺伝子として検出された。*IQSECI* はエクソンマイクロアレイにおいて、遺伝子発現への影響は認められなかった。また、*AL031590.1* は non-coding RNA であり、ゲノムワイド関連解析において強直性脊椎炎、クローン病、乾癬、原発性硬化性胆管炎及び潰瘍性大腸炎等の遺伝子多型の報告があるものの (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/genes/AL031590.1>)、発症に直接関与するものではなく、本薬の臨床試験においてこれらの慢性炎症性疾患の発症を示唆する所見は認められていない。したがって、新たに検出された *IQSECI* 及び *AL031590.1* を介して本薬がオフターゲット作用を示すリスクは低いと考える。
- *In silico* 解析によるオフターゲット候補遺伝子の検出(3.2.1.1 参照)において使用したアルゴリズムである pyGenome バージョン 2.2.2 について、ランダムなクエリー配列や、オフライン版 GGGenome 等を用いて、検索漏れの有無等に関するバリデーションを実施している。また、公開されているアルゴリズムであるオンライン版 GGGenome により *in silico* 解析を再度実施したところ、新たなオフターゲット候補遺伝子は検出されなかった。
- *In silico* 解析によるオフターゲット候補遺伝子の検出(3.2.1.1 参照)において、検索条件をミスマッチ¹⁰⁾の総数が2塩基以内の配列としたことについて、アンチセンスオリゴヌクレオチドではミスマッチの総数が2塩基以上存在すると、アンチセンス効果をほとんど又は完全に消失する程度まで減弱させることが知られている (Nucleic Acid Ther 2013; 23: 21-8)。また、本薬と同じモルフォリノ骨格を有するアンチセンスオリゴヌクレオチドにおいても、3塩基以上のミスマッチによりアンチセンス効果がほとんど又は完全に消失する程度まで減弱させることが知られている (Biochim Biophys Acta 1999; 1489: 141-58, Antisense Nucleic Acid Drug Dev 1997; 7: 151-7)。以上を踏まえ、ミスマッチの総数を2塩基以内の配列とすることは適切と考える。

その上で申請者は、*in silico* 解析によりオフターゲット候補遺伝子として検出された30遺伝子からカニクイザルにおいて共通配列が存在しない19遺伝子のうち、エクソンマイクロアレイ及び RT-PCR 法において発現変動の認められた4遺伝子 (*CNTNAP2*, *MYT1*, *FUT1* 及び *APCDD1*) について、以下の理由からヒトにおいてハイブリダイゼーション依存的なオフターゲット作用を有する可能性は低く、安全性で問題となる可能性は低いと考える旨を説明した。

- *CNTNAP2* 及び *MYT1* について、神経系に発現していることが知られているが (J Psychiatr Res 2013; 47: 1349-56, Neurogenesis 2017; 4: e1329683 等)、本薬は神経系への分布は少ないと考えられる (4.2.1 参照)。また、本薬の臨床試験において認められた中枢神経系の有害事象について、重篤な事象は認められず、いずれも Grade 2 以下の事象であった (7.R.4.2 参照)。
- *FUT1* について、エクソンマイクロアレイ試験において遺伝子導入試薬とともに本薬 120 µmol/L で処置した際に *FUT1* mRNA の 1.53 倍の発現上昇が認められたが、これは本薬臨床用量 (80 mg/kg) をヒトに投与した際の C_{max} (329 µg/mL)¹¹⁾と比較して 2.5 倍高い。モルフォリノ核酸の細胞への導

10) ミスマッチ、デリーション、インサージョンを含む

11) 国内第 I/II 相試験 (CTD 5.3.5.1-2: P1/2 試験) における最終投与時の 80 mg/kg 群での C_{max} (329 µg/mL) を用いた。

入効率は遺伝子導入試薬により 10~20 倍に上昇することが報告されていること (Mor Ther 2013; 21: 210-6) から、本薬がヒトにおいて *FUT1* 遺伝子発現を増加させ、ヒトの生理機能に影響を及ぼす可能性は低いと考える。なお、*FUT1* 遺伝子の発現増加に関連する疾患として、がん細胞を用いた検討として、がん細胞の増殖、転移、薬剤耐性の獲得等が報告されているが (Biochimie 2014; 107:286-92、Oncol Rep 2016; 35: 3025-33 等)、正常細胞を用いた検討は報告されていない。

- *APCDD1* の変異は先天性貧毛症と関連があり、しばしば毛幹の脱色又は低色素化を伴うことが知られている (Cell 2011; 145: 941-55、Nature 2010; 464: 1043-7)。本薬の臨床試験において 1 例の患者で毛髪変色が認められたものの、当該症例を含め全症例で貧毛は認められていないことから、本薬のハイブリダイゼーション依存的なオフターゲット作用も含めて、当該有害事象の本薬投与との関連性は不明である。

なお、カニクイザルにおいて共通配列が存在しない 19 遺伝子のうち、13 遺伝子 (*ALDH1A2*、*CAMKK2*、*FSHR*、*LMTK2*、*LRIG1*、*PCDH15*、*PRKCH*、*SLC22A10*、*SLC24A2*、*TIAM1*、*WDR20*、*WRN* 及び *ZNF557*) についてはエクソンマイクロアレイ又は RT-PCR 法において発現変動が認められないことが確認されている。また、残る 2 遺伝子 (*RP11-459O1.2* 及び *RP11-479O16.1*) については、non-coding RNA としての機能や生理機能、関連疾患に関する情報はなく、エクソンマイクロアレイ及び RT-PCR 法を用いた評価は実施していない。

また申請者は、*in silico* 解析によりオフターゲット候補遺伝子として検出された 30 遺伝子のうち、カニクイザルにおいて共通配列を有する 11 遺伝子について、以下の理由からヒトにおいてハイブリダイゼーション依存的なオフターゲット作用を有する可能性は低く、安全性で問題となる可能性は低いと考える旨を説明した。

- ヒト細胞を用いたエクソンマイクロアレイから得られたデータを再解析した結果、5 遺伝子 (*COL18A1*、*EEF2K*、*SLC25A18*、*SLIT3* 及び *SYCP2L*) について発現変動は認められなかった。また、カニクイザルを用いた非臨床安全性試験で関連する毒性所見は認められなかった。
- 2 遺伝子 (*GRIA1* 及び *GRIN2A*) については、主に脳で発現する遺伝子であり、本薬は神経系への分布は少ないと考えられる (4.2.1 参照)。また、カニクイザルを用いた非臨床安全性試験において、中枢神経症状を含めこれら 2 遺伝子の変動を疑う変化は認められていない。
- 4 遺伝子 (*ZMIZ1-AS1*、*AC008697.1*、*RP11-145G20.1* 及び *RP11-649E7.5*) については、生物学的特性が不明であるものの、カニクイザルを用いた非臨床安全性試験で認められた所見は核酸医薬品で一般的に認められる腎障害に起因した変化であり、これらの遺伝子の変動を疑う変化は認められていない。

機構は、以上の申請者の説明について了承するものの、本薬投与による腎機能及び中枢神経系に対する影響については、それぞれ 7.R.4.1 及び 7.R.4.2 の項で引き続き議論したい。

4. 非臨床薬物動態試験に関する資料及び機構における審査の概略

本薬の非臨床薬物動態試験として、マウス、ラット及びカニクイザルにおける吸収、分布、代謝及び排泄に関する試験成績が提出された。本申請の対象疾患は、X 連鎖性劣性遺伝疾患である DMD であることから、本薬の非臨床薬物動態試験は雄動物のみを用いて実施された。

生体試料中未変化体濃度は LC-MS/MS (定量下限: 0.04~0.5 µg/mL)、不純物濃度は HPLC (定量下限: 1000 µg/mL) を用いて測定された。また、本薬の ¹⁴C 標識体を用いた試験における生体試料中放射能濃

度は液体シンチレーションカウンターにより測定された（定量下限: 0.002~0.152 µg eq./mL）。抗薬物抗体は酵素免疫測定法により測定された。

なお、特に記載のない限り、薬物動態パラメータのうち t_{max} は中央値で、その他は平均値又は平均値 ± 標準偏差で示している。

4.1 吸収

4.1.1 単回投与試験

4.1.1.1 ラット

雄性ラット（3例/群）に本薬の ^{14}C 標識体 6、20 又は 60 mg/kg を単回静脈内投与したとき、血漿中総放射能の薬物動態パラメータは表 11 のとおりであった（CTD 4.2.2.2-1）。60 mg/kg 投与群の $t_{1/2}$ が長い傾向にあった理由について、申請者は 6 及び 20 mg/kg 投与群では 10 時間後までの採血であったのに対し、60 mg/kg 投与群では 24 時間後までの採血を実施したことによると考えられると説明している。

表 11 雄性ラットに本薬の ^{14}C 標識体を単回静脈内投与したときの薬物動態パラメータ

投与量(mg/kg)	C_{5min} (µg eq./mL)	$AUC_{0-\infty}$ (µg eq.·h/mL)	$t_{1/2}$ (h)	CL_{tot} (mL/h/kg)	Vd_{ss} (mL/kg)
6	32.4 ± 10.2	17.5 ± 4.0	1.19 ± 0.74	358 ± 95	201 ± 61
20	115 ± 4	61.4 ± 6.4	1.19 ± 0.13	328 ± 33	184 ± 1
60	339 ± 83	207 ± 44	10.5 ± 3.0	298 ± 60	217 ± 54

平均値 ± 標準偏差、例数：3 例/群

4.1.1.2 サル

雄性カニクイザル（3例/群）に本薬 6、20 又は 60 mg/kg を単回静脈内投与若しくは 20 mg/kg を単回筋肉内投与、又は本薬の ^{14}C 標識体 20 mg/kg を単回静脈内投与したとき、血漿中未変化体及び血漿中総放射能の薬物動態パラメータは表 12 のとおりであり、筋肉内投与時のバイオアベイラビリティは 113% であった（CTD 4.2.2.2-2）。

表 12 雄性カニクイザルに本薬を単回静脈内若しくは単回筋肉内投与又は本薬の ^{14}C 標識体を単回静脈内投与したときの薬物動態パラメータ

	投与経路	投与量 (mg/kg)	C_{5min} ^{a)} (µg/mL) ^{b)}	$AUC_{0-\infty}$ (µg·h/mL) ^{c)}	$t_{1/2}$ (h)	t_{max} (h)	CL_{tot} (mL/h/kg)	Vd_{ss} (mL/kg)
本薬	静脈内	6	67.5 ± 14.9	38.3 ± 6.8	2.1 ± 0.2	/	160 ± 32	185 ± 44
		20	220 ± 44	124 ± 19	2.0 ± 0.3	/	164 ± 28	179 ± 39
		60	643 ± 303	430 ^{d)}	3.4 ^{d)}	/	157 ^{d)}	196 ^{d)}
	筋肉内	20	24.3 ± 6.9	140 ± 21	2.7 ± 0.4	1.0 [1.0,2.0]	NC	NC
^{14}C 標識体 (本薬)	静脈内	20	300 ± 83	163 ± 38	1.7 ± 0.1	/	NC	NC

平均値又は平均値 ± 標準偏差、 t_{max} は中央値 [範囲]。例数：3 例/群。NC：算出されず

a) 筋肉内投与は C_{max}

b) ^{14}C 標識体（本薬）投与時は µg eq./mL

c) ^{14}C 標識体（本薬）投与時は µg eq.·h/mL

d) 2 例

4.1.2 反復投与（トキシコキネティクス）

雄性マウス及び雄性カニクイザルを用いた反復投与毒性試験において、トキシコキネティクスが検討された。主な試験における薬物動態パラメータは表 13 のとおりであった（CTD 4.2.3.2-2、CTD 4.2.3.2-4、CTD 4.2.3.2-5、CTD 4.2.3.7.6-1、CTD 4.2.3.7.6-2）。

表 13 本薬を反復投与したときの薬物動態パラメータ

	投与経路	投与量 (mg/kg)	例数	測定時点	C _{max} (µg/mL)	AUC ₀₋₂₄ (µg·h/mL)	CTD
マウス ^{a)}	静脈内	15	3	0 日目	57.7	20.3	4.2.3.2-2
			3	175 日目	47.1	17.6	
		60	3	0 日目	229.7	75.8	
			3	175 日目	210.2	67.5	
		240	3	0 日目	981.1	654.9	
			3	175 日目	682.4	500.6	
		1000	3	0 日目	4660	7458	
			3	175 日目	4352	17280	
カニクイザル	静脈内	10	3	1 週目	137.6 ± 6.0	50.3 ± 7.9	4.2.3.2-4
			3	38 週目	122.8 ± 19.6	54.7 ± 15.2	
		60	3	1 週目	805.9 ± 56.5	269.3 ± 31.1	
			3	38 週目	613.9 ± 106.8	261.1 ± 24.4	
		360	3	1 週目	3665 ± 672	2452 ± 1160	
			3	38 週目	3711 ± 63	2294 ± 554	
カニクイザル	筋肉内	100	5	1 週目	85.9 ± 21.3	621.4 ± 120.6	4.2.3.2-5
			5	12 週目	49.3 ± 11.1	540.0 ± 85.2	

平均値又は平均値±標準偏差

a) 初回投与日を 0 日目とした。

4.2 分布

4.2.1 組織分布

雄性野生型マウス及び雄性 mdx マウス¹²⁾に ¹⁴C 標識体 (本薬) 20 mg/kg を単回静脈内投与したとき、脳、脊髄、眼球、精嚢及び胆汁以外の組織に速やかに分布し、投与 15 分後までに最高値に達した。特に放射能濃度が高かった組織は腎臓、膀胱壁及び尿道球腺であった。脳、脊髄、眼球、精嚢及び胆汁における放射能濃度は他の組織と比べて低く、これらの組織への組織移行性は低かった。血漿中及び血液中放射能濃度は投与 5 分後 (最初の測定時点) で最高値に達した後、速やかに低下したが、多くの組織での消失は遅く、最終測定時点である投与 168 時間後でも放射能が検出された。また、mdx マウスでは投与 1 時間後の筋肉組織における放射能濃度は野生型マウスに比べて顕著に高かった (CTD 4.2.2.3-2)。

雄性カニクイザルに本薬の ¹⁴C 標識体 20 mg/kg を単回静脈内投与したとき、大脳、小脳、脊髄及び眼球以外の組織に速やかに分布し、投与 15 分後までに最高値に達した。特に放射能濃度が高かった組織は腎皮質、副腎、甲状腺、肝臓及び脾臓であった。大脳、小脳、脊髄及び眼球における放射能濃度は他の組織と比べて低く、これらの組織への組織移行性は低かった。血漿中及び血液中放射能濃度は投与 15 分後 (最初の測定時点) で最高値に達した後、速やかに低下したが、多くの組織での消失は遅く、投与 504 時間後でも腎皮質、腎髄質、肝臓、脾臓、副腎皮質、副腎髄質、腸間膜リンパ節、鼻甲介、顎下腺、胸腺、陰茎、前立腺、精嚢、精巣、骨髄、褐色脂肪、腓腹筋、皮膚 (淡色部)、小腸壁及び膀胱壁では放射能が検出された。また、雄性カニクイザルに本薬の ¹⁴C 標識体 20 mg/kg を 8 週間反復静脈内投与したとき、組織分布は単回投与時と同様であり、反復投与による蓄積は認められなかった (CTD 4.2.2.3-3、CTD 4.2.2.3-4)。

4.2.2 血清タンパク結合及び血球移行率

マウス、ラット及びカニクイザル血清に本薬の ¹⁴C 標識体 1000 又は 10000 ng/mL を添加し、超遠心法により血清タンパク結合率を検討したとき、血清タンパク結合率はそれぞれ 23.0~25.7%、29.7~32.2% 及び 36.1~36.2% であった (CTD 4.2.2.3-1、CTD 5.3.2.1-1)。

ラット及びカニクイザル血液に本薬の ¹⁴C 標識体 1000 又は 10000 ng/mL を添加し、血球移行率を検討したとき、血球移行率はそれぞれ 0.4~2.5% 及び 4.1~6.7% であった (CTD 5.3.2.3-1)。

12) 筋ジストロフィーモデルマウス

4.3 代謝

4.3.1 *In vitro* 代謝

マウス、ラット及びカニクイザル血清に本薬の ^{14}C 標識体 0.1 mg/mL を添加し、37°Cで1時間インキュベートしたとき、いずれの試料においても代謝物は認められなかった。また、マウス、ラット及びカニクイザルの肝ミクロソーム及びS9に本薬の ^{14}C 標識体 0.1 mg/mL を添加し、NADPH存在下37°Cで2時間インキュベートしたとき、いずれの試料においても代謝物は認められなかった (CTD 4.2.2.3-1、CTD 5.3.2.2-1)。

4.3.2 *In vivo* 代謝

雄性ラットに本薬の ^{14}C 標識体 20 mg/kg を単回静脈内投与し腎臓中の代謝物について検討した結果、腎臓中では主に未変化体が認められた (CTD 4.2.2.4-1)。

雄性カニクイザルに本薬の ^{14}C 標識体 20 mg/kg を単回静脈内投与したとき、血漿中及び尿中では主に未変化体が認められた (CTD 4.2.2.4-2)。

4.4 排泄

雄性ラットに本薬の ^{14}C 標識体 20 mg/kg を単回静脈内投与したとき、投与168時間後までに尿中及び糞中に総投与放射能のそれぞれ89.6%及び7.7%が排泄された (CTD 4.2.2.5-1)。

雄性カニクイザルに本薬の ^{14}C 標識体 20 mg/kg を単回静脈内投与したとき、投与168時間後までに尿中及び糞中に総投与放射能のそれぞれ75.8%¹³⁾及び1.2%が排泄された (CTD 4.2.2.2-2)。

4.R 機構における審査の概略

機構は、提出された非臨床薬物動態試験成績から、特段の問題は認められないと判断した。

5. 毒性試験に関する資料及び機構における審査の概略

本薬の毒性試験として、単回投与毒性試験、反復投与毒性試験、遺伝毒性試験、生殖発生毒性試験、その他の試験 (免疫毒性試験、不純物の安全性評価) の成績が提出された。なお、特に記載のない限り、*in vivo* 試験では溶媒として生理食塩水が用いられた。また、本申請の対象疾患は、X連鎖性劣性遺伝疾患であるDMDであることから、本薬の毒性試験は雄動物のみを用いて実施された。

5.1 単回投与毒性試験

サルを用いた単回静脈内投与毒性試験及び単回筋肉内投与毒性試験の結果から、本薬の急性毒性が評価された (表14)。本薬の概略の致死量は、サルの静脈内投与時で600 mg/kg超、筋肉内投与時で100 mg/kg超と判断されている。

表14 単回投与毒性試験成績の概略

試験系	投与経路	用量 (mg/kg)	主な所見	概略の致死量 (mg/kg)	CTD
雄カニクイザル	静脈内	0、600	600：一過性の血中IL-6高値、腎臓近位尿細管上皮の空胞化	> 600	参考 4.2.3.1-1
雄カニクイザル	筋肉内	0、1、10、100	≥10：血中AST高値、血中CK-MM高値、投与部位及び投与部位近傍の大腿四頭筋の筋線維変性/壊死 100：投与部位の炎症性細胞浸潤・水腫・出血	> 100	4.2.3.1-2

13) 投与168時間後までに尿中、ケージ洗液及びケージ堆積物に総投与放射能のそれぞれ28.4、27.3及び20.1%が排泄され、ケージ洗液及びケージ堆積物中の放射能は尿由来と考察された。

5.2 反復投与毒性試験

マウス（13 及び 26 週）及びカニクイザル（12 及び 39 週）を用いた反復投与毒性試験が実施された（表 15）。主な所見として腎毒性が認められている。なお、無毒性量における本薬の曝露量（AUC_{0-24h}）はマウス（26 週）の雄で 17,640 ng・h/mL、カニクイザル（39 週）の雄で 261,100 ng・h/mL であり、臨床用量（80 mg/kg/週）投与時（CTD 5.3.5.1-2: P1/2 試験）の曝露量（AUC_{0-∞} : 508,000 ng・h/mL）と比較して、マウスで 0.03 倍、カニクイザルで 0.51 倍であった。

表 15 反復投与毒性試験成績の概略

試験系	投与経路	投与期間	用量 (mg/kg)	主な所見	無毒性量 (mg/kg/日)	CTD
雄マウス (CD-1)	静脈内	13 週 (1 回/週) + 休薬 4 週	0、60、240、1000	<p>≥240 : 血中 MCP-1 の増加、腎臓重量の増加、腎臓遠位尿細管/集合管上皮の空胞化・好塩基性物質の貯留及び拡張 1000 : 自発運動の減少、血色素量・血球容積・平均赤血球血色素量の低値、血中尿素窒素・クレアチニン・C-反応性タンパク・シスタチン C の高値、血中総ビリルビンの低値、血中 IL-6・TNF-α の増加、胸腺重量の減少、腎臓近位尿細管上皮の空胞化、横隔膜筋線維の再生像</p> <p>回復性 : あり</p>	60	4.2.3.2-1
雄マウス (CD-1)	静脈内	26 週 (1 回/週) + 休薬 8 週	0、15、60、240、1000	<p>死亡 : 1000^{a)} (雄 1/30 例)</p> <p>≥60 : 膀胱移行上皮の細胞質内好酸性物質 ≥240 : 尿 pH の低値、腎臓遠位尿細管/集合管上皮の空胞化・好塩基性物質の貯留・拡張、腎臓近位尿細管上皮の空胞化 1000 : 自発運動の減少、体重の低下、血色素量・血球容積・平均赤血球容積・平均赤血球血色素量の低値、血中 AST・血中尿素窒素・クレアチニン・シスタチン C の高値、血中 IL-6・MCP-1・TNF-α の高値、血中 C3 の変動^{b)}、腎臓重量の増加、腎臓近位尿細管上皮の線維化、腎臓集合管管腔内の低電子密度物質及び高電子物質、腎臓遠位尿細管管腔内の低電子密度物質、腎臓集合管・遠位尿細管・近位尿細管上皮の細胞質内膜結合性空胞、膀胱移行上皮の被蓋細胞細胞質内顆粒及び小胞を含む大型空胞、精巣の好塩基性物質を貪食したマクロファージ</p> <p>回復性 : あり (赤血球パラメータを除く)</p>	15	4.2.3.2-2
雄カニクイザル	静脈内	12 週 (1 回/週) + 休薬 4 週	0、60、200、600	<p>≥200 : 血中 AST・CK・総ビリルビンの高値、脾臓重量の増加、腎臓近位尿細管上皮の好塩基性変化・上皮の空胞化 600 : 赤血球数・血球容積・血色素量の低値、網赤血球率の高値、血中尿素窒素・C-反応性タンパクの高値、腎臓重量の増加、腎臓近位尿細管上皮の単核細胞浸潤・髓放線間質の水腫、投与部位皮下の好中球浸潤・水腫・血管壁への好中球浸潤</p> <p>回復性 : あり</p>	60	4.2.3.2-3
雄カニクイザル	静脈内	39 週 (1 回/週) + 休薬 8 週	0、10、60、360	<p>≥10 : 腎臓尿細管上皮の好塩基性顆粒の沈着 360 : 腎臓近位尿細管上皮の空胞化・尿細管の拡張、近位尿細管直部の好塩基性変化、腎臓尿細管上皮及び集合管上皮の細胞質内の膜結合性空胞</p> <p>回復性 : あり</p>	60	4.2.3.2-4
雄カニクイザル	筋肉内	12 週 (1 回/週) + 休薬 4 週	0、100	<p>100 : 血中 AST・CK-MM・C-反応性タンパク高値、投与部位の白色化・硬結・赤色巣、投与部位あるいは投与部位近傍の大腿四頭筋の筋線維の変性/壊死・再生・炎症細胞浸潤・線維化・筋外膜での水腫・フィブリン滲出・血管周囲の単核細胞浸潤</p> <p>回復性 : あり</p>	< 100	4.2.3.2-5

a) 腎障害によるものと考察されている。

b) 初回投与 1 時間後、最終投与 1 及び 4 時間後に減少傾向、最終投与 24 時間後に増加傾向

5.3 遺伝毒性試験

以下の試験が実施され、遺伝毒性は認められなかった（表 16）。

表 16 遺伝毒性試験成績の概略

試験の種類		試験系	代謝活性化 (処置)	濃度又は用量 ^{a)}	試験成績	CTD
<i>in vitro</i>	細菌を用いる復帰突然変異試験	ネズミチフス菌： TA100、TA1535、TA98、TA1537 大腸菌：WP2uvrA	S9-/+	0、156、313、625、1250、2500、 5000 (µg/plate)	陰性	4.2.3.3.1-1
	ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験	チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞 (CHL/IU 細胞)	S9- (24 時間)	0、1250、2500、5000 (µg/mL)	陰性	4.2.3.3.1-2
			S9+ (6 時間)	0、1250、2500、5000 (µg/mL)		
			S9- (6 時間)	0、1250、2500、5000 (µg/mL)		
<i>in vivo</i>	げっ歯類を用いる骨髄小核試験	雄マウス(CD-1) 骨髄		0、250、500、1000 (mg/kg) (静脈内、1 回/日、2 日間)	陰性	4.2.3.3.2-1

a) 固相法により合成された原薬が用いられた。

5.4 がん原性試験

承認申請時にかん原性試験の成績は提出されていない。

5.5 生殖発生毒性試験

マウスを用いた雄の受胎能に関する試験及び幼若マウスを用いた反復投与毒性試験が実施された (表 17 及び表 18)。

表 17 生殖発生毒性試験成績の概略

試験の種類	試験系	投与経路	投与期間	用量 (mg/kg)	主な所見	無毒性量 (mg/kg/日)	CTD
受胎能に関する試験	雄マウス (CD-1)	静脈内	雄: 交配前 9 週間～交配期間 (計 12 週間) (1 回/週)	0、60、240、1000	1000: BUN の高値	親動物 (一般毒性): 240 ^{a)} 親動物 (生殖能): 1000	4.2.3.5.1-1

a) 腎臓の病理組織学的検査は実施されていないものの、マウス 13 週間反復静脈内投与毒性試験において腎障害を示す病理組織学的所見を伴う BUN の高値が認められており、本試験において認められた BUN の高値は腎障害を示唆する所見であると考えられたことに基づき判断された。

表 18 幼若動物試験成績の概略

試験の種類	試験系	投与期間	用量 (mg/kg)	測定項目	主な所見	CTD
幼若マウスを用いた反復皮下及び静脈内投与毒性試験	7 日齢雄マウス (CD-1)	10 週間 (1 回/週) (初回: 皮下投与、2 回目以降: 静脈内投与)	0、15、60、240、1200	体重及び摂餌量測定、一般状態観察、性成熟評価、機能観察総合評価、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、骨検査、神経行動学的検査、神経病理学的検査、病理組織学的検査、抗本薬抗体測定及びトキシコキネティクス測定を実施。 投薬後 10 週間の回復性も評価。	死亡: 1200 (雄 5/33 例) ^{a)} ≥15: 腎尿細管上皮の肥大、投与部位 (尾静脈) 周囲の炎症性細胞浸潤 ≥240: 腎臓の尿細管変性・好塩基性尿細管・空胞化 1200: 半眼、活動性の低下、発声の増加、立毛、体重の低値、前立腺重量の減少、腎の尿細管拡張・円柱、胸腺の重量減少を伴うリンパ球減少 回復性: あり 無毒性量 (一般毒性): 60 mg/kg 無毒性量 (骨成長・神経毒性): 1200 mg/kg	4.2.3.5.4-3

a) 腎障害によるものと考察されている

5.6 局所刺激性試験

サル 12 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 (CTD 4.2.3.2-3) 及びサル 39 週間反復静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験 (CTD 4.2.3.2-4) の一部として、本薬を静脈内投与した際の局所刺激性が評価された。本薬を静脈内投与した際の局所刺激性に関して、360 mg/kg まで忍容性が認められた (CTD 4.2.3.2-4)。また、サル 12 週間反復筋肉内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 (CTD 4.2.3.2-5) の一部として本薬を筋肉内投与した際の局所刺激性が評価され、本薬を 100 mg/kg 筋肉内投与した際に、投与部位の骨格筋に炎症性変化が認められた。

5.7 その他の試験

5.7.1 免疫毒性評価

サル 12 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 (CTD 4.2.3.2-3)、及びサル 12 週間反復筋肉内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験 (CTD 4.2.3.2-5) において得られた血清試料を用いて、血清中の抗薬物抗体を酵素免疫測定法により測定した。その結果、サル 12 週間反復静脈内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験では投与 29 日目の 200 mg/kg 投与群の雄 5 例中 1 例に、サル 12 週間反復筋肉内投与毒性試験及び 4 週間回復性試験では投与 77 日目の 100 mg/kg 投与群の雄 5 例中 1 例に、本薬に対する抗薬物抗体が認められた。

5.7.2 製法変更前後の毒性評価

本薬の製造方法の変更に伴い、**■**原薬 (■ 原薬)、**■**原薬 (■ 原薬) 及び **■**原薬 (■ 原薬) の毒性を比較するため、これらの原薬を使用してサルを用いた 5 週間反復静脈内投与毒性試験、細菌を用いる復帰突然変異試験及びほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験が実施され、これらの原薬間で毒性所見に差異は認められなかった (表 19 及び表 20)。

表 19 製法変更前後の毒性試験成績の概略

試験系	投与経路	投与期間	用量 (mg/kg)	主な所見	CTD
雄 カニクイザル	静脈内	5 週 (1 回/週)	■ 原薬 0、200、 600 ■ 原薬 0、200、 600	■ 原薬 ≥200：腎臓尿細管上皮の好塩基性顆粒の沈着 600：血中 BUN の高値、尿タンパクの高値、腎臓の近位尿細管曲部及び直部の上皮の空胞化、腎臓遠位尿細管の拡張 ■ 原薬 ≥200：腎臓尿細管上皮の好塩基性顆粒の沈着 600：血中 BUN の高値、尿タンパクの高値、腎臓の近位尿細管曲部及び直部の上皮の空胞化、腎臓遠位尿細管の拡張	4.2.3.7.6-1
雄 カニクイザル	静脈内	5 週 (1 回/週)	■ 原薬 0、200、 600 ■ 原薬 0、200、 600	■ 原薬 ≥200：尿タンパクの高値、腎臓尿細管上皮の好塩基性顆粒の沈着、腎臓の近位尿細管曲部及び直部の上皮の空胞化 600：血中 BUN の高値、腎臓重量の高値、腎臓の腫大、腎臓遠位尿細管の拡張 ■ 原薬 ≥200：尿タンパクの高値、腎臓尿細管上皮の好塩基性顆粒の沈着、腎臓の近位尿細管曲部及び直部の上皮の空胞化 600：血中 BUN の高値、腎臓遠位尿細管の拡張	4.2.3.7.6-2

表 20 製法変更後の遺伝毒性試験成績の概略

試験の種類		試験系	代謝活性化 (処置)	本薬の濃度又は用量 ^{a)}	試験成績	CTD
in vitro	細菌を用いる復帰突然変異試験	ネズミチフス菌： TA100、TA1535、TA98、TA1537 大腸菌：WP2uvrA	S9-/+	■ 原薬 0、156、313、625、1250、2500、 5000 (µg/plate)	陰性	4.2.3.7.6-3
	細菌を用いる復帰突然変異試験	ネズミチフス菌： TA100、TA1535、TA98、TA1537 大腸菌：WP2uvrA	S9-/+	■ 原薬 0、156、313、625、1250、2500、 5000 (µg/plate)	陰性	4.2.3.7.6-4
	ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験	チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞 (CHL/IU 細胞)	S9- (24 時間)	■ 原薬 0、1250、2500、5000 (µg/mL)	陰性	4.2.3.7.6-5
			S9+ (6 時間)	■ 原薬 0、1250、2500、5000 (µg/mL)		
S9- (6 時間)			■ 原薬 0、1250、2500、5000 (µg/mL)			
ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験	チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞 (CHL/IU 細胞)	S9- (24 時間)	■ 原薬 0、1250、2500、5000 (µg/mL)	陰性	4.2.3.7.6-6	
		S9+ (6 時間)	■ 原薬 0、1250、2500、5000 (µg/mL)			
		S9- (6 時間)	■ 原薬 0、1250、2500、5000 (µg/mL)			

5.R 機構における審査の概略

5.R.1 腎臓への影響について

機構は、マウス、ラット及びカニクイザルを用いた毒性試験において、腎尿細管の拡張・上皮の空胞化及び好塩基性物質の沈着が認められていることから、これらの所見の発現機序及びヒトにおける安全性について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。

- 他の核酸医薬品においても、投与後に尿細管の好塩基性顆粒が認められており、投与されたオリゴヌクレオチドがライソゾーム又はファゴライソゾームに取り込まれた像として報告されている (Int J Toxicol 2011; 30: 313-21、Nucleic Acid Ther 2016; 26: 199-209)。本薬のマウス及びサルを用いた毒性試験において尿細管腔内で認められた好塩基性物質は、他のオリゴヌクレオチドで認められた好塩基性顆粒と類似した染色性を示していることから、同質のものと推測される。
- また、他の核酸医薬品において、投与されたオリゴヌクレオチドの腎臓における組織中濃度と毒性発現には相関性があることが知られている (Nucleic Acid Ther 2016; 26: 199-209)。本薬は、腎臓に高濃度に分布すること (4.2.1 参照) から、腎臓で認められた毒性変化は、本薬が腎臓に高濃度に分布することに関連していると考えられる。
- 非臨床安全性試験で認められた腎臓の変化は、ヒト臨床用量 (80 mg/kg) に相当する用量では病理組織学的に軽微であり、壊死や臨床病理パラメータの変化を伴うものではない非重篤なものであった。
- しかしながら、曝露量に基づく十分な安全域が確保されていないこと (5.2 参照)、本剤は腎排泄型の薬剤であり、腎臓に高濃度に分布することにより有害事象が発現する可能性があると考えられることから、本剤の腎臓への影響について添付文書において注意喚起を行うことが適切と考える。

機構は、本薬の腎臓への影響については、7.R.4.1 項において、本薬の臨床試験における有害事象の発現状況も踏まえて引き続き議論したいと考える。

5.R.2 がん原性評価について

機構は、本薬のがん原性試験が提出されていないこと (5.4 参照) から、がん原性試験の実施計画及び現時点で得られている所見からがん原性リスクについて説明するよう申請者に求めた。

申請者は、本薬の対象疾患は難治性かつ進行性の予後不良の疾患であることから、「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンスについて」(平成 22 年 2 月 19 日付け薬食審査発 0219 第 4 号) 及び「医薬品のがん原性試験に関するガイドラインの改正について」(平成 20 年 11 月 27 日付け薬食審査発 1127001 号) を踏まえ、がん原性試験を製造販売承認後に提出することが可能と考えたことを説明した。

その上で申請者は、がん原性試験の試験計画について、rasH2 マウスを用いた 26 週間反復静脈内投与がん原性試験成績 (2020 年度完了予定) 及びラットを用いた 104 週間反復静脈内投与がん原性試験成績 (2023 年度完了予定) の最終報告書を製造販売承認後に提出する予定であることを説明した。

また、申請者は、現時点で得られた情報を踏まえ、本薬のがん原性リスクについて、以下のように説明した。

- 本薬は遺伝毒性試験で陰性を示しており (5.3 参照)、マウス 26 週間反復静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験並びにサル 39 週間反復静脈内投与毒性試験及び 8 週間回復性試験を含む、本薬の

非臨床毒性試験において、前がん病変と考えられる変化又は腫瘍性病変、ホルモン作用と関連する内分泌器官における所見は認められていない。また、本薬の臨床試験において、本薬の発がん性を示唆する有害事象は認められていない。

- 本薬と同じ骨格を有するモルフォリノ核酸である golodirsen（本邦未承認・海外既承認）及び cacimersen（本邦・海外未承認）の反復投与毒性試験において、がん原性リスクを示唆する報告はない（J Neuromuscul Dis 2016; 3: 381-93）。
- 本薬と同じモルフォリノ核酸である eteplirsen（本邦未承認・米国既承認）の臨床試験及び非臨床試験において、がん原性リスクを示唆する明確な報告はないもの（https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/206488lbl.pdf、https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2016/206488Orig1s000PharmR.pdf）、ラット 13 週間反復投与毒性試験では膀胱において異型を伴う大型で不整形の細胞からなる膀胱上皮の肥大が認められている。ただし、eteplirsen と本薬では塩基配列や塩基長、5'末端構造が異なることから、当該所見が本薬のがん原性リスクを示唆するものになるとは言えないと考える。なお、これらの golodirsen、cacimersen 及び eteplirsen は、いずれも遺伝毒性試験は陰性であった（https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2016/206488Orig1s000PharmR.pdf、<https://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/PediatricAdvisoryCommittee/UCM557907.pdf>）。
- また、本薬及び eteplirsen とは異なる化学修飾（2'-MOE）を有するオリゴヌクレオチドである mipomersen 及び inotersen（いずれも本邦未承認・海外既承認）について、これらの薬剤のがん原性試験でヒトにおけるがん原性リスクを示唆する所見は得られていない。なお、これらの薬剤も遺伝毒性試験は陰性であった（https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2013/203568Orig1s000PharmR.pdf、https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2018/211172Orig1s000PharmR.pdf）。
- 以上より、現時点で本薬のがん原性リスクを示唆する知見は得られていないと考える。

なお、申請者より、令和■年■月■日付けで治験副作用等報告として、実施中の rasH2 マウスを用いた 26 週間反復静脈内投与がん原性試験の速報において、50 及び 150 mg/kg 投与群のそれぞれ 1 及び 2 例で剖検により尿管に腫瘍又は肥大が認められ、病理組織学的検査において尿管に移行上皮癌が認められた旨が報告されている。

申請者は、rasH2 マウスを用いた 26 週間反復静脈内投与がん原性試験において認められた尿管移行上皮癌の発生機序として、尿路において不溶化した本薬が尿管壁の移行上皮細胞を継続的に物理的に刺激し、傷害と再生を繰り返した結果、腫瘍化した可能性が高いと考察しており、ヒトとげっ歯類では尿管径が異なること（ヒト：内径約 3.4 mm、げっ歯類：外径約 0.3 mm）、臨床試験において析出物の形成による泌尿器系の傷害を示唆する所見が認められていないこと等の理由からヒトへの外挿性は低いと考えることを説明した。

機構は、rasH2 マウスを用いた 26 週間反復静脈内投与がん原性試験の速報を踏まえた本薬のがん原性について、現在詳細を確認中であり、審査報告（2）において議論したい。

6. 生物薬剤学試験及び関連する分析法、臨床薬理試験に関する資料並びに機構における審査の概略

6.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法

血漿中未変化体濃度及び尿中本薬濃度は、LC-MS/MS を用いて測定された（定量下限: 20.0 ng/mL（血

漿中)、500 ng/mL (尿中))。また、筋肉中ジストロフィン¹⁴⁾はウェスタンブロット、免疫蛍光染色及び LC-MS/MS により、血清中抗本薬抗体は酵素免疫測定法により測定された。

6.2 臨床薬理試験

評価資料として、ヒト生体試料を用いた試験¹⁴⁾、日本人 DMD 患者を対象とした第 I / II 相試験 (CTD 5.3.5.1-2: P1/2 試験)、外国人 DMD 患者を対象とした第 II 相試験 (CTD 5.3.5.1-1: 201 試験)、日本人 DMD 患者を対象とした国内第 I 相医師主導治験 (CTD 5.3.5.2-1: DMT01 試験) の成績が提出された。特に記載のない限り、薬物動態パラメータのうち t_{max} は中央値で、その他は平均値±標準偏差で示している。なお、以下では主な薬物動態試験成績のみを記載する。

6.2.1 ヒト生体試料を用いた試験

ヒト血清に本薬の ¹⁴C 標識体 1000 ng/mL 又は 10000 ng/mL を添加し、血清タンパク結合率を検討したとき、血清タンパク結合率は 39.4~40.3%であった (CTD 5.3.2.1-1)。

ヒト血液に本薬の ¹⁴C 標識体 1000 ng/mL 又は 10000 ng/mL を添加し、超遠心法により血球移行率を検討したとき、血球移行率は 2.1~3.5%であった (CTD 5.3.2.3-1)。

ヒト血清、ヒト肝ミクロソーム、ヒト肝 S9、DNase I 又は PDE1 に本薬の ¹⁴C 標識体 0.1 mg/mL を添加し、37°C で 30 分間以上インキュベートしたとき、いずれの試料においても代謝物は認められなかった (CTD 5.3.2.2-1、CTD 5.3.2.2-2)。

CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1 及び CYP3A4/5 に対する特異的基質¹⁵⁾を用いて、ヒト肝ミクロソーム中の各 CYP 分子種に対する本薬 (1~3000 µmol/L) の阻害能及び時間依存的阻害作用を検討したとき、本薬は CYP3A4 に対して阻害作用 (IC_{50} : 1.44~1.48 mmol/L) を示したが、時間依存的阻害作用は認められなかった (CTD 5.3.2.2-3、CTD 5.3.2.2-4)。

UGT1A1 及び UGT2B7 に対する特異的基質¹⁶⁾を用いて、ヒト肝ミクロソーム中の各 UGT 分子種に対する本薬 (0.1~3 mmol/L) の阻害能を検討したとき、本薬は UGT1A1 に対して阻害作用 (IC_{50} : 0.519 mmol/L) を示した (CTD 5.3.2.2-5)。

ヒト肝細胞に本薬 0.03、0.1、0.3、0.5、1 又は 3 mmol/L を添加し、CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4 に対する本薬の誘導能を検討したとき、これらの代謝酵素に対する明確な誘導作用は認められなかった (CTD 5.3.2.2-8)。

P-gp 及び BCRP を発現させた LLC-PK1 細胞に本薬の ¹⁴C 標識体 10 µmol/L を添加したとき、本薬の輸送活性比 (トランスポーター発現細胞における P_{app} 比¹⁷⁾ / コントロール細胞における P_{app} 比¹⁷⁾) は、P-gp で 1.0、BCRP で 0.9 であり、各トランスポーターの特異的阻害薬による影響も認められなかったことから、本薬は P-gp 及び BCRP の基質ではないことが示唆された。OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 又は MATE2-K を発現させた HEK293 細胞に本薬の ¹⁴C 標識体 100 µmol/L を添加したとき、トランスポーター発現細胞とコントロール細胞における取り込み活性の比はいずれも 2 未満であり、特異的阻害薬による影響も認められなかったことから、本薬は OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 又は MATE2-K の基質では

14) CTD 5.3.2.1-1: BP-065-006 試験、CTD 5.3.2.3-1: BP-065-020 試験、CTD 5.3.2.2-1: BP-065-010 試験、CTD 5.3.2.2-2: BP-065-012 試験、CTD 5.3.2.2-3: BP-065-021 試験、CTD 5.3.2.2-4: BP-065-041 試験、CTD 5.3.2.2-5: BP-065-043 試験、CTD 5.3.2.2-6: BP-065-004 試験、CTD 5.3.2.2-7: BP-065-032 試験、CTD 5.3.2.2-8: BP-065-042 試験、CTD 5.3.2.2-9: BP-065-038 試験、CTD 5.3.2.2-10: BP-065-033 試験、CTD 5.3.2.2-11: BP-065-044 試験

15) CYP1A2: Phenacetin、CYP2A6: Coumarin、CYP2B6: Bupropion、CYP2C8: パクリタキセル、Amodiaquine、CYP2C9: ジクロフェナク、CYP2C19: S-Mephenytoin、CYP2D6: (±)-Bufuralol、CYP2E1: Lauric acid、CYP3A4/5: テストステロン、ミダゾラム

16) UGT1A1: β-エストラジオール、UGT2B7: ジドブジン

17) 頂端膜側→基底膜側への見かけの膜透過係数に対する基底膜側→頂端膜側への見かけの膜透過係数の比 (基底膜側から頂端膜側への見かけの膜透過係数/頂端膜側から基底膜側への見かけの膜透過係数)

ないことが示唆された (CTD 5.3.2.2-9)。

P-gp 及び BCRP を発現させた LLC-PK1 細胞、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、MATE1 又は MATE2-K を発現させた HEK293 細胞、及び BSEP 発現細胞から調製した膜小胞に本薬 30～3000 µmol/L を添加したとき、本薬は BCRP、OATP1B1、OATP1B3 及び OAT3 の輸送活性に阻害作用 (IC₅₀ はそれぞれ 1970、485、448 及び 176 µmol/L) を示した (CTD 5.3.2.2-11)。

6.2.2 患者における検討

日本人 DMD 患者 (薬物動態評価例数: 16 例) を対象に、本剤 40 又は 80 mg/kg を週 1 回 24 週間反復静脈内投与したときの薬物動態パラメータは表 21 のとおりであった。また、初回投与時及び投与 24 週時における投与 24 時間後までの尿中排泄率は、本剤 40 mg/kg 群では 92.8±9.8% 及び 95.6±8.7%、本剤 80 mg/kg 群では 92.0±12.5% 及び 93.1±8.0% であり、本剤は尿中に未変化体として排泄された。(CTD 5.3.5.1-2: P1/2 試験)。

表 21 日本人 DMD 患者に本剤を反復静脈内投与したときの薬物動態パラメータ (国内 P1/2 試験)

測定時点	用量	例数	C _{max} (µg/mL)	AUC _{0-last} (µg·h/mL)	t _{1/2} (h)	CL _{tot} (mL/h/kg)	Vd _{ss} (mL/kg)
初回投与時	40 mg/kg	8	147 ± 34.5	235 ± 60.0	2.4 ± 0.5	179 ± 37.7	238 ± 39.2
	80 mg/kg	8	321 ± 74.8	490 ± 125	2.5 ± 0.2	164 ± 51.5	223 ± 69.4
投与 24 週時	40 mg/kg	8	165 ± 79.0	240 ± 93.5	2.0 ± 0.7	185 ± 58.0	224 ± 55.4
	80 mg/kg	8	329 ± 91.0	508 ± 111	2.5 ± 0.1	165 ± 38.1	234 ± 50.4

平均値±標準偏差

外国人 DMD 患者 (薬物動態評価例数: 16 例) を対象に、プラセボ若しくは本剤 40 又は 80 mg/kg を週 1 回 4 週間反復静脈内投与し、その後本剤 40 又は 80 mg/kg を週 1 回 20 週間反復静脈内投与したときの薬物動態パラメータは表 22 のとおりであった (CTD 5.3.5.1-1: 201 試験)。

表 22 外国人 DMD 患者に本剤を反復静脈内投与したときの薬物動態パラメータ (海外 201 試験)

測定時点	用量	例数	C _{max} (µg/mL)	AUC _{0-last} (µg·h/mL)	t _{1/2} (h)	CL _{tot} (mL/h/kg)	Vd _{ss} (mL/kg)
初回投与時	40 mg/kg	6	105.2 ± 9.6	174.5 ± 31.4	1.9 ± 0.7	234.3 ± 41.4	296.5 ± 17.9
	80 mg/kg	5	238.8 ± 37.0	435.8 ± 135.7	2.2 ± 0.5	195.4 ± 50.1	283.4 ± 41.9
投与 24 週時	40 mg/kg	8	121.8 ± 7.0	197.1 ± 20.4	2.2 ± 0.7	204.5 ± 22.6	257.5 ± 33.4
	80 mg/kg	8	227.5 ± 35.8	387.4 ± 105.8	2.5 ± 0.2	217.3 ± 48.0	301.4 ± 43.5

平均値±標準偏差

6.R 機構における審査の概略

6.R.1 民族差について

機構は、本剤の薬物動態に及ぼす民族的要因について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。

日本人を対象とした国内第 I/II 相試験 (CTD 5.3.5.1-2: P1/2 試験) 及び外国人を対象とした海外第 II 相試験 (CTD 5.3.5.1-1: 201 試験) において、本剤 40 mg/kg 又は 80 mg/kg 投与時の曝露量 (C_{max} 及び AUC) は外国人と比べて日本人で大きい傾向が認められた (6.2.2 参照)。また、差異が認められた要因について、年齢、体重、全身性コルチコステロイド製剤使用の有無等の被験者背景が影響した可能性を検討した結果、AST 及び ALT が日本人と比較して外国人で高い傾向にあったものの、本剤は主に未変化体として腎から排泄されることから当該差異が影響した可能性は低く、外国人と比べて日本人で曝露が高かった要因は明確にならなかった。P1/2 試験及び 201 試験における 80 mg/kg 投与時の曝露量とジストロフィンタンパク発現、10 メートル歩行/走行時間、立ち上がり時間及び 6 分間歩行試験の関係を個々の被験者の成績から検討したが一定の傾向は認められなかった。また、P1/2 試験及び 201 試験における安全性プロファイルに大きな差異は認められず (7.R.4 参照)、P1/2 試験において 80 mg/kg 投与時の曝露量が比

較的高かった日本人被験者 2 例（ $AUC_{0-\infty}$ が $635 \mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ 及び $656 \mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ であった被験者）に発現した有害事象はすべて非重篤であった。

以上を踏まえ申請者は、民族的要因が本剤の薬物動態に臨床的に意味のある影響を及ぼす可能性は低いと考えることを説明した。

機構は、以上の申請者の説明について了承した。

6.R.2 腎機能障害患者における本剤の薬物動態について

機構は、本剤は主に尿中に排泄されるものの、腎機能が本剤の薬物動態に及ぼす影響について検討する臨床試験は実施されていないことから、腎機能障害患者に本剤を投与したときの薬物動態が異なる可能性及び注意喚起の必要性について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、本剤は正常な遺伝子発現に影響する可能性があるため、安全性の観点から腎機能障害を有する非 DMD 患者を対象とした臨床試験の実施は困難であることを説明した。その上で申請者は、以下の点から、腎機能障害患者に本剤を投与したときの薬物動態が異なる可能性があることから、添付文書において腎機能障害患者では本剤の排泄が遅延するおそれがあることを注意喚起することが適切と考えることを説明した。

- 本剤は主に未変化体として腎排泄されることから、腎機能障害を有する患者に本剤を投与した場合、正常な腎機能を有する患者に投与した場合と比べて曝露量が増大する可能性がある。実際に、国内第 I 相試験（CTD 5.3.5.2-1: DMT01 試験）において、DMD 患者での腎機能の指標となる血清シスタチン C が散発的に高値を示した 1 例について、本剤 5 mg/kg 投与時の薬物動態パラメータを同投与群の他の被験者と比較したとき、投与 12 週時の AUC_{0-t} が高い傾向を示した（表 23）。当該症例について、临床上問題となる有害事象は認められなかった。なお、国内外の臨床試験（CTD 5.3.5.1-2: P1/2 試験、CTD 5.3.5.1-1: 201 試験）においては、試験期間を通じて、血清シスタチン C が基準値上限を一度でも上回った患者は存在しなかった。

表 23 本剤 5 mg/kg 投与時の各被験者における薬物動態パラメータ（DMT01 試験）

	測定時点	C_{\max} ($\mu\text{g/mL}$)	t_{\max} (h)	AUC_{0-t} ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	$t_{1/2}$ (h)	CL_{tot} (mL/h/kg)
被験者 1 (血清シスタチン C が高値)	1 日目	18.9	0.5	31.0	1.68	159
	12 週目	20.2	0.5	37.8	1.56	130
被験者 2	1 日目	26.9	1.0	30.9	1.83	160
	12 週目	20.5	0.5	22.6	1.55	219
被験者 3	1 日目	19.7	1.0	24.2	1.44	205
	12 週目	17.9	1.0	22.6	1.46	220

- P1/2 試験における 80 mg/kg 投与例（16 例）のうち、曝露量が比較的高かった日本人被験者 2 例（ $AUC_{0-\infty}$ が $635 \mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ 及び $656 \mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$ であった被験者）において発現した有害事象はすべて非重篤であった。また、P1/2 試験における有害事象の発現割合は、本剤 40 mg/kg 群で 87.5%（7/8 例）、80 mg/kg 群で 87.5%（7/8 例）であり、重篤な有害事象は 80 mg/kg 群の 1 例（上気道感染）に認められたが、本剤との因果関係は否定された。したがって、用量依存的に発現が増加する事象は認められておらず、曝露量の差異が本剤の安全性に临床上問題となるような影響を及ぼす可能性は低いと考える。
- 以上より、腎機能障害を有する DMD 患者においては本剤の排泄が遅延し、曝露量が増大する可能性があるが、安全性への影響は認められておらず、薬物動態への影響も明確ではないことから、用量調節の必要性はないと考える。

機構は、以上の申請者の説明について了承するが、腎機能障害患者に対する注意喚起の適切性については、本剤が腎機能に及ぼす影響を踏まえて、7.R.4.1の項において判断したい。

6.R.3 薬物間相互作用について

機構は、本剤の薬物動態学的相互作用について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下の理由から、本剤が臨床的に問題となるような薬物動態学的相互作用が生じる可能性は低く、特段の注意喚起は不要と考えることを説明した。

- 本薬の各種のCYPに対する阻害作用を検討した結果、CYP3A4に対する阻害作用が認められ(6.2.1参照)、CYP3A4に対する K_i 値は1090 $\mu\text{mol/L}$ であった。しかしながら、国内第I/II相試験(CTD 5.3.5.1-2: P1/2試験)における C_{max} の平均値(47.5 $\mu\text{mol/L}$ (329 $\mu\text{g/mL}$))と当該 K_i 値から推定された基質薬の非併用時に対する併用時のAUC比は1.05¹⁸⁾であり、本薬がCYP3A4の基質となる薬剤の薬物動態に临床上問題となるような影響を与える可能性は低いと考えられた。
- 本薬のUDP グルクロン酸転移酵素に対する阻害作用を検討した結果、UGT1A1に対する阻害作用が認められ(6.2.1参照)、 K_i 値は642 $\mu\text{mol/L}$ であった。しかしながら、P1/2試験における C_{max} の平均値(47.5 $\mu\text{mol/L}$)と当該 K_i 値から推定された非併用時に対する併用時のAUC比は1.10¹⁸⁾であり、本薬がUGT1A1の基質となる薬剤の薬物動態に临床上問題となるような影響を与える可能性は低いと考えられた。
- 本薬の各トランスポーターに対する阻害作用を検討した結果、OATP1B1、OATP1B3、OAT3及びBCRPに対する阻害作用が認められ、 IC_{50} はそれぞれ485、448、176及び1970 $\mu\text{mol/L}$ であった(6.2.1参照)。しかしながら、P1/2試験における C_{max} の平均値(47.5 $\mu\text{mol/L}$)と当該 IC_{50} 値から推定された基質薬の非併用時に対する併用時のAUC比は、最も阻害活性が強いOAT3においても1.16¹⁹⁾であり、本薬がOATP1B1、OATP1B3、OAT3又はBCRPの基質となる薬剤の薬物動態に临床上問題となるような影響を与える可能性は低いと考えられた。
- 上記において、阻害作用が認められた分子種のうち、臨床において併用が想定される薬剤があるかどうかを、DMD治療ガイドライン(デュシェンヌ型筋ジストロフィー診療ガイドライン2014. 南江堂; 2014、デュシェンヌ型筋ジストロフィー診療のお子さんを持つ家族のためのガイド. 独立行政法人国立精神・神経医療研究センター; 2011)に記載されている薬剤及び国内臨床試験で併用薬として使用された薬剤から検討した。UGT1A1の基質となる薬剤はなく、CYP3A4の基質となる薬剤は6剤²⁰⁾、OAT3の基質となる薬剤は6剤²¹⁾が該当した。これらの薬剤の薬物動態に本薬が及ぼす影響を検討した結果、CYP3A4の基質となる薬剤では最大で基質薬のAUCが1.05倍、OAT3の基質となる薬剤では最大で基質薬のAUCが1.16倍となることが推定された。本薬は静脈内投与後速やかに血漿中から消失することも考慮すると、本薬が臨床において併用が想定される薬剤に対して臨床的に意味のある影響を与える可能性は低いと考えられた。

18) $\text{AUC比} = (1 + [I]/K_i)^2$ より算出。[I]は C_{max} の非結合型濃度であり、国内第I/II相試験(CTD 5.3.5.1-2: P1/2試験)における24週投与時の C_{max} の平均値(47.5 $\mu\text{mol/L}$)に、非結合型分率として60.6%を乗じて算出された(28.8 $\mu\text{mol/L}$)。

19) $\text{AUC比} = 1 + [I]/\text{IC}_{50}$ より算出。[I]は C_{max} の非結合型濃度であり、国内第I/II相試験(CTD 5.3.5.1-2: P1/2試験)における24週投与時の C_{max} の平均値(47.5 $\mu\text{mol/L}$)に、非結合型分率として60.6%を乗じて算出された(28.8 $\mu\text{mol/L}$)。

20) エブレレノン、フェロジピン、ミダゾラム、ニソルジピン、トルパブタン、トリアゾラム

21) セファクロル、セフトチキシム、シプロフロキサシン、フロセミド、オセルタミビル、ペニシリン

機構は、以上の申請者の説明について了承した。

6.R.4 QT/QTc 間隔延長リスクについて

機構は、本剤の QT/QTc 間隔延長リスクについて説明するよう申請者に求めた。

申請者は、本剤は正常な遺伝子発現に影響する可能性があるため、安全性の観点から健康被験者を対象とした ICH E14 ガイドラインに基づく QT/QTc 間隔評価試験は実施できなかったことを説明した。その上で申請者は、本剤の QT/QTc 間隔延長リスクについて以下のように説明した。

- hERG 試験において、本薬は 3 mg/mL まで hERG 電流に影響は及ぼさず、サルを用いた心血管系の安全性薬理試験 (CTD 4.2.1.3-3、CTD 4.2.3.2-3、CTD 4.2.3.2-5) においても、血圧、心拍数及び心電図パラメータに影響は認められなかった。
- 国内外臨床試験²²⁾での心電図測定²³⁾における最終評価時点での QTcF のカテゴリカル解析は表 24 のとおりであり、海外第 II 相試験 (CTD 5.3.5.1-1: 201 試験) 及びその継続試験 (202 試験) において、心拍数が高い小児で評価に用いることが勧められている QTcF 間隔においては、ベースラインからの変化量の平均値はいずれも 20 msec 未満であり、また、QTcF 間隔が 450 msec を超える被験者及びベースラインからの変化量が 60 msec を超える被験者は認められなかった。

表 24 国内外臨床試験における QTcF 間隔のカテゴリカル解析結果

		P1/2 試験		201 試験		202 試験	
		40 mg/kg	80 mg/kg	40 mg/kg	80 mg/kg	40 mg/kg	80 mg/kg
評価例数		8	8	8	8	8	8
QTcF 間隔の絶対値 (msec)	>450	0	0	0	0	0	0
	>480	0	0	0	0	0	0
	>500	0	0	0	0	0	0

該当例数 (割合 (%))

- QT 間隔延長関連の有害事象²⁴⁾は、海外 202 試験の 40 mg/kg 群の 1 例に洞性不整脈が認められたが、本剤投与を継続したまま同日中に回復し、本剤との因果関係は否定されている。

以上より申請者は、本剤が QT/QTc 間隔に影響を及ぼす可能性は低いと考えることを説明した。

機構は、以上の申請者の説明について了承した。

6.R.5 抗本薬抗体について

機構は、抗本薬抗体が本剤の薬物動態に及ぼす影響及び本剤の免疫原性について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。

国内外臨床試験²⁵⁾において抗本薬抗体は認められなかった。また、カニクイザル 12 週間静脈内反復投与毒性試験 (CTD 4.2.3.2-3) 及びカニクイザル 12 週間筋肉内反復投与毒性試験 (CTD 4.2.3.2-5) におい

22) 国内第 I/II 相試験 (CTD 5.3.5.1-2: P1/2 試験)、海外第 II 相試験 (CTD 5.3.5.1-1: 201 試験) 及び海外第 II 相試験 (202 試験)

23) P1/2 試験: 投与 14 日前、1 日目、85 日目、162 日目、169 日目又は中止時に 12 誘導心電図検査が実施された。1 日目及び 162 日目は、投与 1 時間前、40、20 分前、投与 30 分後、投与終了直後、投与終了 1、2 及び 4 時間後に測定され、中央読影施設で心電図パラメータの測定が実施された。

201 試験: 投与 21 日前、1 日目、13 週目、25 週目又は中止時に 12 誘導心電図検査が実施された。

202 試験 (201 試験からの継続): 投与 37 週目、49 週目、73 週目、97 週目、121 週目、145 週目、169 週目、193 週目又は中止時に 12 誘導心電図検査が実施された。

24) MedDRA SMQ 「トルサード ド ポアント/QT 延長」及び「不整脈」

25) 国内第 I/II 相試験 (CTD 5.3.5.1-2: P1/2 試験)、海外第 II 相試験 (CTD 5.3.5.1-1: 201 試験)、海外第 II 相試験 (202 試験) 及び国内第 I 相試験 (CTD 5.3.5.2-1: DMT01 試験)

て、抗本薬抗体陽性例と陰性例における薬物動態に明らかな差異は認められず（表 25）、また、一般状態及び病理組織学的検査ではいずれの組織及び器官においても免疫複合体の沈着等の免疫原性を示唆する変化は認められなかった。

表 25 カニクイザルを用いた反復投与毒性試験における抗本薬抗体陽性/陰性別の投与 12 週時のトキシコキネティクス

抗本薬抗体	No.	12 週間静脈内反復投与毒性試験 ^{a)}		12 週間筋肉内反復投与毒性試験 ^{b)}		
		C _{max} (µg/mL)	AUC _{0-24h} (µg·h/mL)	C _{max} (µg/mL)	T _{max} (h)	AUC _{0-24h} (µg·h/mL)
陽性	1	2269	863.5	51.78	4.0	531.3
陰性	2	2173	746.9	56.52	4.0	528.9
	3	2144	863.0	54.43	4.0	572.2
	4	2950	1379	54.06	1.0	651.4
	5	2305	964.1	29.62	8.0	416.0

a) 投与量：200 mg/kg、b) 投与量：100 mg/kg

以上より申請者は、抗本薬抗体が本剤の薬物動態に及ぼす影響及び本剤の免疫原性が問題となる可能性は低いと考えることを説明した。

機構は、以上の申請者の説明について了承するが、本剤の臨床試験における投与例数は極めて限られることから、本薬の免疫原性については、製造販売後に引き続き情報収集する必要があると考える。

7. 臨床的有効性及び臨床的安全性に関する資料並びに機構における審査の概略

有効性及び安全性に関する評価資料として、表 26 に示す臨床試験（国内第 I 相試験 1 試験、国内第 I/II 相試験 1 試験、海外第 II 相試験 1 試験）の成績が提出された。なお、以下では主な試験成績を記載する。

表 26 有効性及び安全性に関する臨床試験の一覧

資料区分	実施地域	試験名 CTD	相	対象患者	投与例数	用法・用量の概略	主な評価項目
評価	国内	DMT01 試験 5.3.5.2-1	I	5-17 歳 DMD 患者	10	本剤 1.25、5 又は 20 mg/kg を週 1 回 12 週間点滴静注	安全性 有効性 薬物動態
	国内	P1/2 試験 5.3.5.1-2	I/II	5-17 歳 DMD 患者	16	本剤 40 又は 80 mg/kg を週 1 回 24 週間点滴静注	安全性 有効性 薬物動態
	海外	201 試験 ^{a)} 5.3.5.1-1	II	4-9 歳 DMD 患者	16	二重盲検期：プラセボ、本剤 40 又は 80 mg/kg を週 1 回 4 週間点滴静注 オープンラベル期：本剤 40 又は 80 mg/kg を週 1 回 20 週間点滴静注	有効性 安全性 薬物動態

a) 継続投与試験（202 試験）が実施中であり、安全性解析結果が提出されている（CTD 5.3.5.3-1）。

7.1 第 I 相試験

7.1.1 国内第 I 相医師主導治験（CTD 5.3.5.2-1: DMT01 試験＜2013 年 6 月～2014 年 9 月＞）

エクソン 53 スキップにより治療可能なジストロフィン遺伝子の欠失が確認されている、5 歳以上 18 歳未満の日本人 DMD 男児患者²⁶⁾（目標症例数 9～10 例（1.25 mg/kg 群: 3 例、5 mg/kg 群: 3 例、20 mg/kg 群: 3～4 例）を対象に、本剤の安全性、有効性及び薬物動態を検討するため、非盲検非対照試験が厚生労働科学研究費補助金による医師主導治験として実施された。

用法・用量は、本剤 1.25、5 又は 20 mg/kg を週 1 回、12 週間、1 時間かけて静脈内投与することと設定された。

26) 以下の主な選択基準を満たす患者が対象とされた。

- 遺伝子診断の MLPA、CGH 等の検査によって、ジストロフィン遺伝子のエクソン 53 スキップによりイン・フレーム欠失に修正可能なアウト・オブ・フレーム欠失が確認されている。

無作為化症例 10 例（1.25 mg/kg 群: 3 例、5 mg/kg 群: 3 例、20 mg/kg 群: 4 例）全例に治験薬が投与され、安全性及び有効性の解析対象集団であった。中止例は認められなかった。

有効性評価項目である筋生検によるエクソン 53 スキッピング効率⁷⁾及びジストロフィンタンパク発現（ウェスタンブロット法、免疫蛍光染色法）の結果は表 27 のとおりであり、ウェスタンブロット法におけるジストロフィンタンパクの発現は 20 mg/kg 群の 1 例にのみ認められ、その他の評価項目については、用量依存的に増加する傾向であった。

表 27 ジストロフィンの発現及びエクソン 53 スキッピング効率の要約

投与群		1.25 mg/kg 群			5 mg/kg 群			20 mg/kg 群				
RT-PCR ^{a)}	エクソン 53 スキッピング効率の変化	個々 ^{b)}	0.7	1.5	0.3	3.6	2.7	1.6	47.5	1.8	7.3	2.6
		平均値	0.8			2.6			14.8			
免疫蛍光染色 ^{c)}	撮像領域ごとのジストロフィン/スペクトリン蛍光強度比の変化	個々 ^{b)}	-0.2	0.4	0.0	1.9	2.0	0.2	16.9	1.7	0.6	0.0
		平均値	0.1			1.3			4.8			
	筋線維ごとの Dys/Spec 蛍光強度比の変化	個々 ^{b)}	-0.3	0.3	0.1	2.0	1.9	0.2	18.0	1.7	0.6	0.1
		平均値	0.0			1.4			5.1			
ジストロフィン陽性筋線維数の治験薬投与前からの変化	個々 ^{b)}	-0.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	6.3	0.9	0.0	0.0	
	平均値	-0.1			0.0			1.8				
ウェスタンブロット ^{d)}	正常対照に対するジストロフィン/スペクトリン比	個々 ^{b)}	ND	ND	ND	ND	ND	ND	8.1	ND	ND	ND

単位: %, ND: 検出されず

- 治験薬投与前開始前の筋生検サンプルと治験薬投与終了後の筋生検サンプルの差を算出。投与前、投与終了後とも、同一サンプルの溶解液から複数回測定を実施。
- 各被験者から得られた複数の測定値の平均値。
- 治験薬投与前開始前の筋生検サンプルと治験薬投与終了後の筋生検サンプルの差を算出。投与前、投与終了後とも、各被験者から複数のスライスを作成し、それぞれ複数の撮像を実施。
- 治験薬投与終了後の筋生検サンプルの測定値。同一サンプルの溶解液から複数回測定を実施。

有害事象（臨床検査値異常を含む、以下同様）は全例に認められ、死亡及びその他の重篤な有害事象は認められなかった。治験薬との因果関係が否定されなかった有害事象も全例に認められ、主な事象はβ-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加（1.25 mg/kg 群: 3 例、5 mg/kg 群: 3 例、20 mg/kg 群: 3 例、以下同順）、尿中蛋白陽性（1 例、3 例、4 例）、尿中アルブミン陽性（2 例、2 例、3 例）、貧血（1 例、3 例、3 例）、インターロイキン濃度増加（2 例、1 例、2 例）、補体成分 C3 増加（2 例、0 例、0 例）、脳性ナトリウム利尿ペプチド増加（1 例、1 例、0 例）、拡張期血圧上昇（0 例、2 例、0 例）、β2 ミクログロブリン増加（0 例、0 例、2 例）であった。

バイタルサイン（血圧、酸素飽和度、呼吸数、駆出率）について、拡張期血圧上昇が 2 例、酸素飽和度低下、呼吸数増加及び駆出率減少が各 1 例に認められ、いずれも因果関係は否定されなかった。

7.2 第Ⅱ相試験

7.2.1 国内第Ⅰ/Ⅱ相試験（CTD 5.3.5.1-2: P1/2 試験<2016 年 月～ 年 月>）

エクソン 53 スキッピングにより治療可能なジストロフィン遺伝子の欠失が確認されている、5 歳以上 18 歳未満の日本人 DMD 男児患者²⁷⁾（目標症例数 16 例（40 mg/kg 群 8 例、80 mg/kg 群 8 例））を対象に、本剤の有効性、安全性及び薬物動態を検討するため、非盲検用量設定試験が実施された（薬物動態については、6.2.2 参照）。

27) 以下の主な選択基準を満たす患者が対象とされた。

- 遺伝子診断の MLPA 検査によって、エクソン 53 スキッピングにより治療可能なジストロフィン遺伝子の欠失（エクソン 43-52、45-52、47-52、48-52、49-52、50-52、52 欠失等）が確認されている患者
- 歩行の可否は問わない

用法・用量は、本剤 40 又は 80 mg/kg を週 1 回、24 週間、1 時間かけて静脈内投与することと設定された²⁸⁾。

割付け²⁹⁾が行われた 16 例 (40 mg/kg 群 8 例、80 mg/kg 群 8 例) 全例に治験薬が投与され、安全性解析集団及び有効性解析対象集団の FAS であった。中止例は認められなかった。

主要評価項目である筋生検によるジストロフィンタンパク発現及びエクソン 53 スキッピング効率⁷⁾は表 28 のとおりであり、本剤 40 mg/kg 及び 80 mg/kg 投与によりエクソン 53 スキッピング効率が、本剤 80 mg/kg 投与によりウェスタンブロット法におけるジストロフィンタンパクの発現が本剤投与前と比較して有意に増加した (対応のある t 検定、各検定の多重性は調整されていない)。

表 28 ジストロフィンタンパク発現及びエクソン 53 スキッピング効率の治験薬投与前からの変化 (FAS)

投与群 (評価例数) ^{a)}	免疫蛍光染色 ^{b)}				ジストロフィン 陽性筋線維数の 割合 (%)		ウェスタンブロット ^{c)}		RT-PCR ^{d)}	
	ジストロフィン/スペクトリン 蛍光輝度比 (%)		筋線維ごと ^{e)}				ジストロフィン 定量値 (%)		エクソン 53 スキッピング効率 (モル濃度比 (%))	
	撮像領域ごと	筋線維ごと	変化量	p 値 ^{f)}	変化量	p 値 ^{f)}	変化量	p 値 ^{f)}	変化量	p 値 ^{f)}
	変化量	p 値 ^{f)}	変化量	p 値 ^{f)}	変化量	p 値 ^{f)}	変化量	p 値 ^{f)}	変化量	p 値 ^{f)}
40 mg/kg 群 (8)	0.0±3.4	0.9949	0.0±3.3	0.9691	0.1±0.6	0.6668	0.126±2.769	0.9009	21.77±10.86	0.0008
80 mg/kg 群 (8)	1.5±4.6	0.3770	2.7±5.1	0.1793	1.3±2.2	0.1445	2.785±3.051	0.0364	42.40±11.26	<0.0001

平均値±標準偏差

a) 測定時点が異なる被験者 (12 週、24 週) を併合

b) 各被験者から複数のスライスを作成し、それぞれのスライス毎に複数の撮像を実施

c) 正常対照に対する割合。各検体について 3 回の測定を行い、その平均値を当該検体の測定値とした

d) 各検体について、同一のゲル内で 3 レーン泳動し、その平均値を当該検体の測定値とした

e) 撮像領域中の筋線維ごとに蛍光強度を計測し、その平均値を算出

f) 対応のある t 検定

有害事象は、40 mg/kg 群の 87.5% (7/8 例)、80 mg/kg 群の 87.5% (7/8 例) に認められた。死亡は認められず、その他の重篤な有害事象は、80 mg/kg 群で 1 例 (上気道感染) に認められたが、本剤との因果関係は否定された。

治験薬との因果関係が否定されなかった有害事象は、40 mg/kg 群の 37.5% (3/8 例)、80 mg/kg 群の 75.0% (6/8 例) (以下同順) に認められ、主な事象は、脳性ナトリウム利尿ペプチド増加 (1 例、1 例)、インターロイキン濃度増加 (1 例、1 例)、発熱 (0 例、2 例)、β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加 (0 例、2 例)、駆出率減少 (0 例、2 例) 及び蕁麻疹 (0 例、2 例) であった。

バイタルサイン (血圧、脈拍数) 及び心電図について、臨床的に問題となる変動は認められなかった。

7.2.2 海外第 II 相試験 (CTD 5.3.5.1-1: 201 試験<2016 年 12 月~2018 年 月>)

エクソン 53 スキッピングにより治療可能なジストロフィン遺伝子の欠失が確認されている、4 歳以上 10 歳未満の外国人 DMD 男児患者³⁰⁾ (目標症例数 16 例) を対象に、本剤の有効性、安全性及び薬物動態を検討するため、プラセボ対照無作為化二重盲検並行群間比較試験が米国及びカナダで実施された (薬物

28) 有害事象等の発現により安全性に問題があると治験責任 (分担) 医師が判断した場合は、適宜減量又は休薬することとされた。

29) 歩行機能の状態 (歩行可能、歩行不能) を層別因子として、① 40 mg/kg 群×12 週時筋生検、② 40 mg/kg 群×24 週時筋生検、③ 80 mg/kg 群×12 週時筋生検、④ 80 mg/kg 群×24 週時筋生検の 4 区分の被験者数が均等になるように割付けが行われ、24 週時筋生検 (②及び④)、40 mg/kg 投与群 (①及び②) に優先的に割付けが行われた。

30) 以下の主な選択基準を満たす患者が対象とされた。

- 遺伝子診断の MLPA、CGH 等の検査によって、エクソン 53 スキッピングによりジストロフィン mRNA リーディングフレームを修復可能な DMD 変異 (明確に定義されたエクソン境界の決定を含む) がジストロフィン遺伝子で確認されている
- 補助機器なしで独立歩行可能
- スクリーニング時に臨床評価者により、立ち上がり時間、10 メートル歩行時間及び 4 段階段登り時間を実施できることが確認されている
- 少なくとも試験組入れの 3 カ月前からグルココルチコイドの用量を変更せず、試験期間中も変更の予定がないこと

動態については、6.2.2参照)。本試験は、低用量コホート（8例）及び高用量コホート³¹⁾（8例）から構成され、各コホートは二重盲検期（4週間）及びオープンラベル期（20週間）から構成された³²⁾。各コホートの二重盲検期について、低用量コホートではプラセボ群及び本剤40 mg/kg群に（1:3で割り付け）、高用量コホートではプラセボ群及び本剤80 mg/kg群に（1:3で割り付け）、無作為に割り付けられた。オープンラベル期では、全例に本剤（低用量コホート: 40 mg/kg、高用量コホート80 mg/kg）が20週間投与された。

用法・用量は、二重盲検期には、プラセボ又は本剤（40 mg/kg又は80 mg/kg）を週1回、オープンラベル期には、本剤40又は80 mg/kgを週1回、それぞれ1時間かけて静脈内投与することと設定された。

無作為化症例 16 例（低用量コホート 8 例、高用量コホート 8 例）全例に本剤が投与され、安全性解析対象集団及び有効性解析対象集団であった。中止例は認められなかった。また、有効性の運動機能評価を比較するために、CINRG が実施した自然歴研究³³⁾におけるベースライン時のデータに基づき選択³⁴⁾された自然歴患者集団 65 例（エクソン 53 スキッピング群 9 例、非エクソン 53 スキッピング群 56 例）が比較対照として設定された。

主要評価項目³⁵⁾である筋生検によるジストロフィンタンパク発現（ウェスタンブロット法）のベースラインからの変化は表 29 のとおりであり、リファレンスタンパクとしてミオシン重鎖及び α-アクチニンのいずれで標準化した場合においても、本剤 40 及び 80 mg/kg 群ともに、24 週投与（25 週時）後のジストロフィンタンパク発現はベースライン時と比較して統計学的に有意に増加した（対応のある t 検定、各検定の多重性は調整されていない）。

表 29 ウェスタンブロット法によるジストロフィンタンパク発現のベースラインからの変化

投与群 (評価例数)	ミオシン重鎖による標準化				α-アクチニンによる標準化			
	ベースライン	25 週時	ベースライン からの変化	p 値 ^{a)}	ベースライン	25 週時	ベースライン からの変化	p 値 ^{a)}
40 mg/kg 群 (8)	0.3±0.10	5.7±2.37	5.4±2.40	0.0004	0.2±0.22	5.4±2.79	5.2±2.83	0.0012
80 mg/kg 群 (8)	0.6±0.82	5.9±4.50	5.3±4.48	0.0123	0.4±0.67	3.7±2.37	3.3±2.47	0.0074

平均値±標準偏差、単位 (%)

各測定値は正常対照に対する割合。各検体について 3 回の測定を行い、その平均値を当該検体の測定値とした。

a) 対応のある t 検定

副次評価項目である本剤群（併合）及び自然歴患者集団における 25 週時のベースラインからの時間機能検査 [10 メートル歩行/走行時間（速度、秒）、立ち上がり時間（速度、秒）、6 分間歩行距離（メー

31) 高用量コホートの投与は、低用量コホートの全被験者が二重盲検期を終了し、安全性が確認された後に開始した。

32) オープンラベル期終了後、希望する被験者は延長試験（NS-065/NCNP-01-202）に参加することができ、参加しない場合は 30 日の追跡期間が設けられた。

33) 約 440 名の DMD 患者を対象とした縦断的自然歴研究で、2006 年-2016 年のデータを収集し、ベースライン時、1 年目に 4 回、2 年目に 2 回、その後年 1 回、時間機能検査、筋力検査、アンケートによる機能検査、肺機能検査、生活の質の評価を最長 10 年間実施。

34) 以下の基準を満たす患者が対象とされた。

- 少なくとも 12 カ月間の時間機能検査データがある（ベースライン時の立ち上がり時間、10 m 歩行/走行時間及び 4 段階段昇り時間のデータが必要）
- ベースライン時に 4 歳以上 10 歳未満
- 北米（米国及びカナダ）在住
- グルココルチコイドを少なくとも 3 カ月間投与し、12-24 ヶ月の観察期間を通して継続して使用している
- 他のエクソンスキッピング薬の臨床試験に登録していない
- 遺伝子検査の結果、重複変異をもち、ナンセンス変異又はフレームシフトを引き起こす変異を持つ患者を対照とした
- プロモーターからエクソン 8 の間に変異がある患者、エクソン 44 スキッピング治療の対象となる患者は除外した
- イン・フレーム変異を持つ患者、及びリーディングフレームかどうか判断できない変異を持つ患者は除外した

35) 試験開始時の主要評価項目は質量分析法によるジストロフィン発現であったが、各被験者の測定実施前に、ウェスタンブロット法によるジストロフィン発現に変更された。

トル)、NSAA、4段階昇り時間(速度、秒)]の変化は表30のとおりであり、10メートル歩行/走行時間(速度、秒)、立ち上がり時間(秒)及び6分間歩行距離では自然歴集団と比較して本剤群において改善が認められた³⁶⁾。

表30 海外201試験と自然歴集団における各有効性評価項目の結果(mITT, MMRM)

	集団 ^{a)}	ベースライン	25週時	変化量	自然歴集団との比較 ^{a)}
					差 [95%信頼区間]
10 m 歩行/走行時間 (速度)	自然歴	1.91 ± 0.465 (65)	1.89 ± 0.464 (43)	-0.04 ± 0.327	0.2665 [0.0953, 0.4377]
	本剤群	1.77 ± 0.374 (16)	2.00 ± 0.443 (16)	0.23 ± 0.251	
10 m 歩行/走行時間 (秒)	自然歴	5.61 ± 1.671 (65)	5.64 ± 1.500 (43)	0.08 ± 1.414	-0.6622 [-1.3126, -0.0117]
	本剤群	5.93 ± 1.469 (16)	5.27 ± 1.319 (16)	-0.66 ± 1.047	
立ち上がり時間(速 度)	自然歴	0.22 ± 0.089 (65)	0.21 ± 0.108 (42)	-0.01 ± 0.074	0.0395 [-0.0023, 0.0813]
	本剤群	0.25 ± 0.074 (16)	0.28 ± 0.102 (16)	0.02 ± 0.075	
立ち上がり時間 (秒)	自然歴	5.55 ± 3.041 (65)	5.80 ± 2.867 (41)	0.66 ± 1.845	-1.0009 [-1.9372, -0.0646]
	本剤群	4.44 ± 1.956 (16)	4.25 ± 2.148 (16)	-0.19 ± 1.141	
6分間歩行距離(メ ートル)	自然歴	408.0 ± 167.16 (21)	358.3 ± 139.28 (13)	-65.3 ± 162.60	88.9907 [1.2646, 176.7167]
	本剤群	372.4 ± 78.59 (16)	407.3 ± 83.12 (15)	28.9 ± 36.31	
4段階昇り時間 (速度)	自然歴	0.28 ± 0.112 (65)	0.30 ± 0.162 (42)	0.01 ± 0.090	0.0217 [-0.0278, 0.0711]
	本剤群	0.30 ± 0.082 (16)	0.33 ± 0.122 (16)	0.03 ± 0.088	
4段階昇り時間 (秒)	自然歴	4.30 ± 1.865 (65)	4.22 ± 1.992 (42)	0.15 ± 1.282	-0.4645 [-1.1215, 0.1925]
	本剤群	3.61 ± 0.954 (16)	3.44 ± 1.233 (16)	-0.17 ± 0.897	
NSAA (合計スコア)	自然歴	25.7 ± 5.37 (22)	24.2 ± 7.27 (15)	-1.1 ± 4.28	2.1216 [-0.6246, 4.8678]
	本剤群	24.3 ± 5.36 (16)	25.1 ± 5.22 (16)	0.8 ± 2.86	

平均値±標準偏差(評価例数)

a) 治療、来院週、来院週と治療の交互作用を因子とし、201試験登録時及び自然歴のベースライン時の年齢及びベースライン値を共変量としたMMRM(被験者内分散共分散行列:無構造)に基づく。

有害事象は、二重盲検期では、プラセボ群(併合)の60.0%(3/5例)、40 mg/kg群の66.7%(4/6例)、80 mg/kg群の80.0%(4/5例)、オープンラベル期では、40 mg/kg群の62.5%(5/8例)、80 mg/kg群の87.5%(7/8例)(以下同順)に認められた。死亡及びその他の重篤な有害事象は認められず、また治験薬との因果関係が否定されなかった有害事象は認められなかった。

バイタルサイン(血圧、脈拍数、呼吸数及び体温)について、オープンラベル期の本剤80 mg/kg群1例で発熱が認められた。心電図について、臨床的に問題となる変動は認められなかった。

7.R 機構における審査の概略

7.R.1 臨床的位置付けについて

機構は、本剤の臨床的位置付けについて説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。

- DMDの根本的治療薬はないが、本邦の診療ガイドライン(デュシェンヌ型筋ジストロフィー診療ガイドライン2014. 南江堂;2014. p58-70)において、DMDの進行予防に対してエビデンスが得られている唯一の治療薬としてステロイドが推奨されており、プレドニゾロンが2013年にDMDの効能を取得している。しかしながら、ステロイド治療は、DMDの長期的な予後の改善に関するエビデンスが乏しいことや、肥満等の副作用に留意する必要があることも記載されている。その他の薬剤として、国内ではアデノシン三リン酸二ナトリウム水和物が「筋ジストロフィー症及びその類縁疾患」の適応を有するが、現在ではほとんど使用されていない。薬物療法以外では、関節拘縮や脊柱側彎に対する手術治療、理学療法、呼吸補助及び心筋症に対する薬物療法等があるが、いずれの治療法も進行予防や対症療法にすぎない。

36) 副次評価項目であり探索的な比較ではあるものの、201試験はCINRGが実施した自然歴研究の実施施設で、同じ手順で運動機能評価が実施されている。

- 海外では、米国疾病管理予防センターの支援のもと、2010年にDMDの医学専門家らにより、DMDの治療等における推奨事項が公表され、2018年に更新版が公表された（Lancet Neurol 2018; 17: 251-67, 347-61, 445-55）。その中でステロイド療法は理学療法とともにDMD治療の中心であり、歩行不能後も継続すべきであると記載され、米国では、ステロイドとしてプレドニゾロン、prednisone又はdeflazacortが使用されている。
- 他の治療薬としては、海外では、米国において本剤と同じモルフォリノ核酸であるeteplirsenがエクソン51スキッピングで治療可能なDMDを適応症として2016年9月に、また、golodirsenがエクソン53スキッピングで治療可能なDMDを適応症として2019年12月に迅速承認³⁷⁾されている。また、欧州においてナンセンス変異のリードスルーを誘導する低分子医薬品であるatalurenが、ナンセンス変異型DMDを適応症として2014年8月に条件付き承認³⁸⁾されている。なお、海外の診療ガイドラインにおいて、これらの薬剤は現時点では記載されていない。また、これらの薬剤は本邦において承認されていない。
- 本剤はステロイドとは作用機序が異なる新規の治療薬であり、本剤投与によりジストロフィンタンパクの発現及びエクソン53スキッピングが確認されていること（7.R.3参照）から、本剤の治療対象となるジストロフィン遺伝子の変異をもつDMD患者において、新たな治療選択肢になると考える。

機構は、以上の申請者の説明について了承し、本剤はエクソン53スキッピングにより治療可能なジストロフィン遺伝子の欠失が確認されているDMD患者に対する新たな治療の選択肢を提供するものと考ええる。

7.R.2 本剤の臨床データパッケージについて

機構は、本剤の臨床データパッケージの適切性について、各臨床試験の位置付けを踏まえて説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。

- DMDは筋線維の構造の保持等を行っているジストロフィンタンパクが欠損することで発症する。本剤はエクソン53をスキップさせ、正常より短鎖ではあるが、機能するジストロフィンタンパクを増加させることにより、有効性を示すと考えられる（3.R.1参照）。したがって、本剤の早期の臨床試験では、有効性の主な評価項目として、ジストロフィン発現に関連する評価項目を設定することが適切と考え、国内第I相試験（CTD 5.3.5.2-1: DMT01試験）、国内第I/II相試験（CTD 5.3.5.1-2: P1/2試験）及び海外第II相試験（CTD 5.3.5.1-1: 201試験）を実施した。
- 国内P1/2試験及び海外201試験において、本剤投与によりジストロフィンタンパクの増加が認められ（表28及び表29）、その発現量は臨床試験により大きく異ならないと考えたこと、安全性が日本人と外国人で大きく異ならないことが示されたことから、両試験成績を国内承認申請における臨床データパッケージの主要な試験成績と位置付けることが適切と考えた。
- また、本剤の薬物動態に大きな民族差はなく（6.R.1参照）、DMDの診断基準及び治療方法に国内外で大きな差異はないことから、海外201試験成績を利用することは可能と考えた。海外201試験

37) eteplirsenの承認条件として、主要評価項目をNSAA、投与期間を96週間とし、承認用量及びそれを超える用量の2用量での二重盲検比較試験の実施が課されている。

38) atalurenの承認条件として、プラセボ対照試験（18カ月）及びオープンラベルの継続投与試験（18カ月）の実施が課されている。

では、探索的な検討ではあるものの、外部対照である自然歴集団と比較して、本剤群で運動機能の改善傾向が認められている（表 30）。

- 国内外の臨床試験において、本剤投与によりジストロフィンタンパク増加が認められたこと、海外 201 試験の本剤群では外部対照である CINRG の自然歴集団と比較して、運動機能の改善傾向が認められていることから、本剤の一定の有効性が示されたと考えられる。なお、米国において、本剤と類似した作用機序のオリゴヌクレオチドである **eteplirsen** は、ジストロフィン発現を主な有効性評価として迅速承認されている。
- 運動機能等、臨床的な評価項目に基づき本剤の有効性を検証することを目的とした臨床試験を実施する場合、国際共同治験として実施した場合でも被験者の組入りに 1 年程度、試験全体としては 5 年程度を要する。
- 以上より、本剤の対象疾患は希少かつ重篤であり、有効な治療法も少ないこと等から、現在の臨床データパッケージ（表 26）に基づき、条件付き早期承認制度³⁹⁾を利用して承認申請することが適切と考えた。

機構は、以上の申請者の説明について了承するものの、本剤の有効性については、7.R.3 の項で議論したい。

7.R.3 有効性について

7.R.3.1 評価項目の適切性について

機構は、国内第 I / II 相試験（CTD 5.3.5.2-1: P1/2 試験）及び海外第 II 相試験（CTD 5.3.5.1-1: 201 試験）において、ジストロフィンタンパク発現を主な有効性評価項目としたことの適切性について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。

- DMD 治療薬の医薬品開発において、特に開発後期の臨床試験の主要評価項目としては 6 分間歩行距離が標準的に使用されてきたものの、プラセボに対する優越性が検証された品目は存在しない。また、FDA における DMD 治療薬開発のためのガイダンス⁴⁰⁾においても、ジストロフィン異常症（DMD、BMD、ジストロフィン遺伝子関連拡張型心筋症等）の医薬品開発において、組織レベル等で骨格筋の量を確実に反映するバイオマーカーは、十分な科学的エビデンスと許容可能な分析法で裏付けられる場合には、迅速承認を支持する代替エンドポイントとして有益である可能性がある旨が記載されている。本剤の国内 P1/2 試験及び海外 201 試験計画の検討段階において、海外においてエクソン 51 スキッピングで治療可能な DMD を適応症として開発中であった **drisapersen** や **eteplirsen** では、ジストロフィンタンパクの発現を主要評価項目として臨床試験を実施し、その結果を踏まえて承認申請がなされ、**drisapersen** は米国において承認審査中、**eteplirsen** は段階的承認申請開始の段階であった。なお、現在、本剤と類似した作用機序のオリゴヌクレオチドである **eteplirsen** は、ジストロフィン発現を主な有効性評価として迅速承認されている。また、当該ガイダンスでは、検証的試験では臨床的な機能評価に関連する評価項目を主要評価項目に設定することを推奨しているものの、いずれかの評価項目を具体的に推奨しているわけではない。

39) 平成 29 年 10 月 20 日付け薬生薬審発 1020 第 1 号

40) Guidance for Industry Duchenne Muscular Dystrophy and Related Dystrophinopathies: Developing Drugs for Treatment February 2018 (<https://www.fda.gov/media/92233/download>)

- 本剤は、DMD 患者において、エクソン 53 スキッピングにより、正常より短鎖であるものの、ジストロフィンタンパクの発現を増加させることで有効性を示すと考える (3.R.1 参照)。また、本剤投与により産生される不完全長のジストロフィン (43-53、45-53、47-53、48-53、49-53、50-53 又は 52-53 欠失) と同様の不完全長のジストロフィンを有する BMD 患者の公表文献では、いずれの BMD 患者も歩行可能で、重症度に関しても無症状又は軽度の症例が確認されていたこと (Brain 2011; 134: 3547-59、Brain 1994; 117: 1-14 等) から、本剤投与により産生されるジストロフィンタンパクは生理機能を有していると考えられる。
- さらに、女性保因者は、X 染色体に正常なジストロフィン遺伝子と異常なジストロフィン遺伝子を有しており、正常なジストロフィン遺伝子がある X 染色体が不活性化される割合が高いとジストロフィンの発現が少なくなり症状を発症する。症状を発症した 14 例の女性保因者のジストロフィン発現量、臨床表現型及び X 染色体の不活性化の関連性を評価した報告 (Neurology 1995; 45: 677-90) では、発症保因者のジストロフィン発現量は正常の 3~76%と幅があり、正常の 3~5%であった発症保因者 4 例の重症度は重度が 1 例、中等度が 2 例、軽度が 1 例で、典型的な DMD と比べ病態が軽度な患者が存在した。以上から、測定法の差異により厳密な比較は困難であるが、正常の 3~5% 程度等、少量のジストロフィン発現を確認することにより、DMD 患者において予後の改善が期待できる。
- 以上を踏まえ、国内 P1/2 試験及び海外 201 試験においても、主な評価項目としてジストロフィン発現に関する評価項目を設定し、運動機能については副次評価項目に設定することが適切と考えた。

機構は、国内 P1/2 試験及び海外 201 試験において主な有効性評価項目として設定されたウェスタンブロット法によるジストロフィンタンパクの測定法の適切性について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。

- 国内 P1/2 試験及び海外 201 試験におけるウェスタンブロット法の概要は表 31 のとおりである。P1/2 試験でのウェスタンブロット法は、医師主導治験として実施された国内第 I 相試験 (CTD 5.3.5.2-1: DMT01 試験) を参考に、スペクトリンをリファレンスタンパクとして測定し、正常対照のジストロフィン/スペクトリン比を評価した (旧法)。旧法では定量下限が ■% (正常対照を 100%とした場合) であったが、類薬である eteplirsen のジストロフィン発現量が正常対照に対して 0.93%との報告があることを踏まえて、サンプルバッファーを変更する等により、感度及び定量性を向上させたウェスタンブロット (新法) を構築し盲検下で再測定を行った。また、海外 201 試験では、2 種類 (ミオシン重鎖及び α -アクチニン) のリファレンスタンパクを用いて内部標準化した試験法で測定を行った。

表 31 各臨床試験のウェスタンブロット法の概要

	海外 201 試験	国内 P1/2 試験	
		旧法	新法
希釈液、ネガティブコントロール	DMD 患者の筋肉溶解液	サンプルバッファー	DMD 患者の筋肉溶解液
正常対照	3 歳、8 歳、13 歳、14 歳、32 歳の健康人の筋生検サンプルを混合	61 歳男性からの筋生検サンプル	61 歳男性からの筋生検サンプル
標準サンプル	正常対照の ■、■、■、■、■% ゲルごとに作成	正常対照	正常対照の ■、■、■、■、■% ゲルごとに作成
定量下限	1%	■%	1%
標準曲線	2 次曲線	-	■
主な適合基準	回帰直線: $R^2 > 0.95$ 正常対照の 1% のシグナルが DMD のみ (0%) よりも高い	デフォルト設定でのバンド自動検出 ジストロフィン/スペクトリン比の CV (n=3) が ■% 以内	回帰直線: $R^2 > 0.95$ 正常対照の 1% のシグナルがネガティブコントロール (0%) よりも高い
ローディングコントロール	α -アクチニン ミオシン重鎖	スペクトリン	α -アクチニン
標準化タンパク	α -アクチニン ミオシン重鎖	スペクトリン	なし

- それぞれの測定法について、特異性、繰返し測定時の再現性、検量線、定量下限等のバリデーションを実施した結果、国内 P1/2 試験ではすべての項目を満たした一方、海外 201 試験では測定者間再現性⁴¹⁾及び同時再現性⁴²⁾において、いずれも事前に設定した基準 ($CV < \blacksquare$) を満たさなかった。海外 201 試験のバリデーション実施時には正常対照の 1% 未満 (0.6%) を検量線に加えることについて検討したが、事前に設定した基準を満たさなかったため、1% 未満 (0.6%) は除き検量線を作成する方法で、海外 201 試験の測定を実施した。なお、海外 201 試験におけるウェスタンブロット法検量線の範囲を変更した後の測定法のバリデーションを現在実施中である。
- いずれの試験においても、定量下限は 1% であったが、1% 未満の数値についても、検量線を外挿し、測定値を算出し、解析に含めることとした。1% 未満の値を①投与前「1%」及び投与後「0%」、②すべて「1%」又は③すべて「0%」と仮定して解析した結果、大きな数値の変動は認められず、有効性の結論に大きな変更はないと考えられたことから、バリデーションで検量線が確認された定量下限 (1%) 未満の場合であっても、検量線を外挿することで数値を算出することに問題はないと判断した。

機構は、以下のように考える。

- 主要評価項目を「ウェスタンブロットによるジストロフィン発現」とすること及び各試験における測定法に現時点で大きな問題はないと考える。
- 国内 P1/2 試験 (新法) 及び海外 201 試験の測定法について、バリデーション時に正常対照に対して 1% 未満の測定値を含めた場合、適切な検量線を作成できなかったことを踏まえると、検量線の範囲外の量が算出された結果を正確な測定値と判断できない。しかしながら、国内 P1/2 試験及び海外 201 試験で用いられたウェスタンブロットの手法において、1% 未満では正確な検量線を作成することが困難であることを踏まえると、定量下限値 (1%) 未満の値により有効性の結論に大きな変更がないと考えられるとの申請者の見解は受入れ可能と考える。
- なお、本剤による臨床試験におけるジストロフィン発現増加の臨床的意義については、7.R.3.2 の項で引き続き議論したい。

41) 2 名の測定者で同一の試料を測定し、測定値の差異を評価

42) 同一の測定者が同一の試料を複数回測定し、測定値間の差異を評価

- また、海外 201 試験については追加のバリデーションが実施中であることから、当該結果を踏まえ、審査報告 (2) において報告する。

7.R.3.2 ジストロフィン発現量について

機構は、国内 P1/2 試験及び海外 201 試験におけるジストロフィン発現量を踏まえた、本剤の有効性について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。

- 国内 P1/2 試験及び海外 201 試験における、ベースラインから投与 24 週後（海外 201 試験では 25 週後に測定）のウェスタンブロットによるジストロフィン発現の変化量は表 32 のとおりであり、両試験ともに本剤 24 週投与によりベースラインから増加傾向が認められた。
- ウェスタンブロットによるジストロフィンの投与前後の変化の平均値は、40 mg/kg 群では国内 P1/2 試験と比較して海外 201 試験で高かった。ジストロフィンの発現に影響を与える因子の解析において、45-52 欠失及び 49-52 欠失の被験者で、投与終了後のジストロフィン発現量が少ない傾向が認められており（7.R.3.3 参照）、45-52 欠失の被験者の割合の違い（国内 P1/2 試験: 50%（2/4 例）、海外 201 試験: 25%（2/8 例））が結果に影響を及ぼした可能性が考えられた。80 mg/kg 群ではいずれの試験でも同程度のジストロフィン発現増加が認められた。

表 32 ウェスタンブロットによるジストロフィン発現のベースラインからの変化（国内 P1/2 試験及び海外 201 試験）

試験	用量	評価例数	ジストロフィン発現（正常対照に対する割合）			p 値 ^{a)}
			ベースライン	24 週後	変化量	
国内 P1/2 試験 ^{b)}	40 mg/kg	4	0.459 ± 0.150	1.916 ± 1.701	1.458 ± 1.587	0.1636
	80 mg/kg	4	0.394 ± 0.167	5.208 ± 3.122	4.814 ± 3.113	0.0536
海外 201 試験 ^{c)}	40 mg/kg	8	0.3 ± 0.10	5.7 ± 2.37	5.4 ± 2.40	0.0004
	80 mg/kg	8	0.6 ± 0.82	5.9 ± 4.50	5.3 ± 4.48	0.0123

平均値 ± 標準偏差

ウェスタンブロットに関して、測定値が定量下限である 1%未満の場合は参考値とし、集計は参考値を含めて行った。

a) 対応のある t 検定

b) ウェスタンブロット法（新法）による測定結果

c) ミオシン重鎖で標準化した値

- また、国内 P1/2 試験及び海外 201 試験の全例（24 例）で 24 週後のジストロフィン発現量の増加が認められ、国内 P1/2 試験では 80 mg/kg 群の 4 例中 3 例、海外 201 試験では 40 mg/kg 群の 8 例中 7 例、80 mg/kg 群の 8 例中 3 例において 24 週時までのジストロフィン変化量が 4%を超えた。さらに、ジストロフィン変化量が 10%を超えた症例が海外 201 試験の 40 mg/kg 群で 1 例、80 mg/kg 群で 2 例認められた（表 33）。

表 33 被験者ごとのウェスタンブロットによるジストロフィン発現の変化

投与群 ^{a)}	40 mg/kg/12 週				40 mg/kg/24 週				80 mg/kg/12 週				80 mg/kg/24 週			
P1/2 試験	0.76	0.14	0.37	-0.34 ^{b)}	3.23	0.23	0.01	2.36	-0.20	2.20	0.63	0.39	7.85	6.42	0.69	4.30
投与群	40 mg/kg								80 mg/kg							
201 試験 ^{c)}	4.2	2.8	10.0	4.4	4.7	4.2	8.1	5.1	3.6	2.6	2.5	0.7	4.8	13.9	10.3	4.0

正常対照に対する割合、単位: %

a) 投与群/筋生検実施時期

b) 想定される分子量領域のバンドを検出する追加解析

c) ミオシン重鎖で標準化

- BMD 及び DMD 患者の骨格筋のジストロフィン発現量と臨床表現型（車いす使用開始年齢）の関連性は、4 つの臨床カテゴリー（DMD、Severe BMD、Moderate BMD、Mild BMD）に分類される（表

34)。正常対照に対するジストロフィン発現量が3～10%である Severe BMD は、典型的な BMD 患者よりも重篤な病態を呈するが、DMD よりは軽度であると報告されている (N Engl J Med 1989; 39: 1011-7、N Engl J Med 1988; 318: 1363-8)。

表 34 BMD 及び DMD 患者の骨格筋のジストロフィン発現量と臨床表現型 (車いす使用開始年齢) の関連性

臨床カテゴリー	車いす使用開始年齢	ジストロフィン発現量
DMD	11 歳	正常の 3%未満
Severe BMD	13～20 歳	3%～10%
Moderate BMD	20 歳以上	20%以上
Mild BMD	20 歳以上	20%以上

- 33 例の BMD 患者のジストロフィン発現量と臨床重症度の関連性について、ジストロフィン発現量が 10%未満の BMD 患者はより早期に重篤な病態経過を示すが、ジストロフィン発現量が 3～78% の範囲では、ジストロフィン発現量と筋力又は階段歩行の困難、歩行補助具の使用等の臨床的な機能に関するマイルストーンと年齢との間に、直線的な関連はないと報告されており (J Neurol Neurosurg Psychiatry 2014; 85: 747-53)、少量のジストロフィンの発現量の患者でも運動機能が維持されている症例も存在した (Acta Myol 2011 30: 182-4、Neuromuscul Disord 2013; 23: 25-8 等)。

機構は、以上について了承し、本剤投与によるジストロフィン発現増加に関する一定の臨床的意義に関する説明はなされていると考えるが、本剤投与による運動機能への影響については、7.R.3.5 の項において引き続き議論したい。

7.R.3.3 ジストロフィンの発現に影響を与える因子について

機構は、国内 P1/2 試験及び海外 201 試験における、エクソン欠失部位別のジストロフィン発現量の解析結果を提示した上で、エクソン欠失部位の違いによりジストロフィン発現量に差異が認められていないか説明するよう申請者に求めた。

申請者は、国内 P1/2 試験及び海外 201 試験におけるベースラインから投与終了後までのジストロフィン変化量は表 35 のとおりであり、被験者毎のばらつきも大きく、また例数も少ないため明確な結論は困難であるものの、45-52 欠失及び 49-52 欠失の被験者で、投与終了後のジストロフィン発現量が少ない傾向が認められたことを説明した。

表 35 エクソン欠失部位別のウェスタンブロットによるジストロフィン発現 (国内 P1/2 試験及び海外 201 試験)

欠失部位	ベースラインから投与終了後 ^{a)} までの変化					
	国内 P1/2 試験 正常対照に対する割合 (%)			海外 201 試験 正常対照に対する割合 (%) (ミオシン重鎖で標準化)		
	40 mg/kg (8 例)	80 mg/kg (8 例)	合計 (16 例)	40 mg/kg (8 例)	80 mg/kg (8 例)	合計 (16 例)
45-52	0.202 ± 0.178 (3)	0.274 ± 0.431 (3)	0.238 ± 0.297 (6)	2.8, 4.2 (2)	2.8 ± 1.51 (5)	3.0 ± 1.34 (7)
47-52	—	—	—	10.0 (1)	—	10.0 (1)
48-52	0.136, 2.364 (2)	2.198 (1)	1.566 ± 1.241 (3)	4.4 (1)	10.3, 13.9 (2)	9.5 ± 4.80 (3)
49-52	-6.083, 0.759 (2)	—	-6.083, 0.759 (2)	4.2, 4.7 (2)	4.0 (1)	4.3 ± 0.38 (3)
50-52	3.228 (1)	7.847 (1)	3.228, 7.847 (2)	5.1, 8.1 (2)	—	5.1, 8.1 (2)
52	—	3.803 ± 2.899 (3)	3.803 ± 2.899 (3)	—	—	—

平均値 ± 標準偏差 (評価例数)、2 例以下は個別値

—: 該当する被験者なし

測定値が定量下限である 1%未満の場合は参考値とし、集計は参考値を含めて行った。

a) 201 試験は 24 週後、P1/2 試験は 12 週後又は 24 週後

その上で申請者は、エクソン 45-52 欠失及び 49-52 欠失の患者に対する有効性について、それぞれ以下のように説明した。

- エクソン 45-52 欠失の患者について、国内 P1/2 試験で低値を示した 6 例のうち 4 例は 12 週時に測定した被験者であった。海外 201 試験ではエクソン 45-52 欠失の 7 例中 4 例においてジストロフィンの発現は、他の欠失部位の被験者と比較して低い数値であった一方、他の 3 例では他の欠失部位の被験者と同等の発現量を示していた。また、国内 P1/2 試験及び海外 201 試験ともに、RT-PCR によるエクソンスキッピング効率⁷⁾及び免疫蛍光染色では他の欠失部位の被験者と比較して顕著な違いは認められなかった (表 36)。以上を踏まえると、他のエクソンを欠失した患者と比較して明確に有効性が減弱する傾向は示されていないと考える。なお、エクソン 45-52 欠失の被験者で生成されるジストロフィンタンパクは、他のエクソン欠失部位と比較して不安定であったとの報告がある (Biochemistry 2019; 58: 2061-76)。しかしながら、本報告は、生理的条件下とはかけ離れた欠失タンパク単独の溶液条件下での解析及び測定であり、生理的条件下でのジストロフィンはジストロフィン関連糖タンパク質複合体を形成して存在するため、本報告のみで 45-52 欠失の被験者において本剤投与によるジストロフィン発現が少ないと結論付けることはできないと考える。
- エクソン 49-52 欠失の患者について、国内 P1/2 試験の 49-52 欠失の被験者 2 例はともに 40 mg/kg 群で 12 週時に測定した被験者であった。また、そのうち 1 例でベースラインのジストロフィン定量値が 6.390% (変化量は-6.08%) と高かったため、49-52 欠失の 40 mg/kg 及び全体でのジストロフィン発現量の数値が減少を示し⁴³⁾、結果として 49-52 欠失の被験者でジストロフィン変化量が小さい傾向が認められたと考えられる。49-52 欠失の被験者でのエクソン 53 スキッピング効率⁷⁾が低い傾向が認められた理由として、国内 P1/2 試験では 2 例とも 40 mg/kg 群で 12 週時に測定された被験者であったこと、海外 201 試験では 3 例中 2 例が 40 mg/kg 群であったことが原因として考えられる。

表 36 エクソン欠失部位別の免疫蛍光染色によるジストロフィン陽性筋線維数の割合及びエクソンスキッピング効率のベースラインからの変化^{a)} (国内 P1/2 試験及び海外 201 試験)

欠失部位	正常対照に対する免疫蛍光染色によるジストロフィン陽性筋線維数の割合 (%)					
	国内 P1/2 試験			海外 201 試験		
	40 mg/kg (8 例)	80 mg/kg (8 例)	合計 (16 例)	40 mg/kg (8 例)	80 mg/kg (8 例)	合計 (16 例)
全体	0.1 ± 0.6 (8)	1.3 ± 2.2 (8)	0.7 ± 1.7 (16)	12.8 ± 8.05 (8)	33.0 ± 20.43 (8)	22.9 ± 18.28 (16)
45-52	-0.2 ± 0.2 (3)	0.4 ± 0.4 (3)	0.1 ± 0.4 (6)	10.66, 10.90 (2)	24.7 ± 13.50 (5)	20.8 ± 12.95 (7)
47-52	—	—	—	11.70 (1)	—	11.70 (1)
48-52	-0.0, 1.1 (2)	0.3 (1)	0.5 ± 0.6 (3)	11.90 (1)	53.33, 68.14 (2)	44.5 ± 29.15 (3)
49-52	-0.6, 0.2 (2)	—	-0.6, 0.2 (2)	4.00, 12.66 (2)	18.72 (1)	11.8 ± 7.40 (3)
50-52	0.6 (1)	6.5 (1)	0.6, 6.5 (2)	8.82, 31.50 (2)	—	8.82, 31.50 (2)
52	—	0.8 ± 1.2 (3)	0.8 ± 1.2 (3)	—	—	—
欠失部位	RT-PCR によるエクソンスキッピング効率 (モル濃度比 (%))					
	国内 P1/2 試験			海外 201 試験		
	40 mg/kg (8 例)	80 mg/kg (8 例)	合計 (16 例)	40 mg/kg (8 例)	80 mg/kg (8 例)	合計 (16 例)
全体	21.77 ± 10.86 (8)	42.40 ± 11.26 (8)	32.08 ± 15.09 (16)	17.4 ± 7.17 (8)	43.9 ± 16.68 (8)	30.6 ± 18.45 (16)
45-52	28.23 ± 14.52 (3)	31.11 ± 3.70 (3)	29.67 ± 9.60 (6)	17.56, 25.72 (2)	44.3 ± 17.82 (5)	37.9 ± 18.44 (7)
47-52	—	—	—	26.62 (1)	—	26.62 (1)
48-52	18.04, 25.42 (2)	47.05 (1)	30.17 ± 15.08 (3)	15.02 (1)	52.57, 54.72 (2)	40.8 ± 22.33 (3)
49-52	7.7, 14.63 (2)	—	7.7, 14.63 (2)	7.54, 10.93 (2)	21.89 (1)	13.5 ± 7.50 (3)
50-52	23.66 (1)	61.37 (1)	23.66, 61.37 (2)	12.43, 23.41 (2)	—	12.43, 23.41 (2)
52	—	45.81 ± 5.54 (3)	45.81 ± 5.54 (3)	—	—	—

平均値 ± 標準偏差 (評価例数)、2 例以下は個別値。—: 該当する被験者なし

a) 海外 201 試験は 24 週後、国内 P1/2 試験は 12 週後又は 24 週後

43) 本症例でベースラインのジストロフィン定量値が高かった理由としては、revertant fiber (ジストロフィン免疫染色において正常筋線維と同等の蛍光輝度比を示す筋線維) 及び trace dystrophin (正常筋線維よりも弱いわずかなジストロフィン蛍光輝度を示す筋線維) を測定した可能性があると考えられ、別の筋ブロックを用いた再測定でベースラインのジストロフィン定量値は 0.508% であった。なお、本症例の RT-PCR によるエクソンスキッピング効率の変化量は 14.63% であり、40 mg/kg 群の 12 週時測定例の平均値 15.56% とほぼ同等であった。免疫蛍光染色についても他の症例と大きな差異は認められなかった。

また申請者は、本剤の臨床試験ではエクソン 43-52 欠失の患者は組み入れられなかったものの、本薬の作用機序並びにこれまでの臨床試験では 43-52 欠失以外のいずれのエクソン欠失部位においてもジストロフィンの発現が認められ、エクソン欠失部位別で本剤の有効性が明確に異なる傾向は認められていないことから、43-52 欠失の患者に対しても、本剤の有効性は期待できると考えることを説明した。その上で申請者は、添付文書において、エクソン 43-52 欠失患者に対する投与経験がない旨を記載し注意喚起することを説明した。

機構は、国内 P1/2 試験では歩行の可否を問わず被験者が組み入れられたことから、疾患が進行し、歩行不能となった患者における有効性について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、国内 P1/2 試験及び海外 201 試験において、歩行可否別のウェスタンブロットによるジストロフィン発現量の変化量は表 37 のとおりであり、40 mg/kg 群及び 80 mg/kg 群のいずれの投与群でも、歩行可能な被験者の方が、ベースラインから投与終了後までのジストロフィン変化量が多かったものの、以下の理由より、歩行不能の患者であっても本剤の有効性は期待できることを説明した。

- 歩行不能の被験者でジストロフィン変化量が小さい傾向が認められた要因として、国内 P1/2 試験の歩行不能被験者 3 例中、ジストロフィン定量値のベースライン値が 6.390% と顕著な高値を示した被験者が 1 例存在したことで、ベースラインからのジストロフィン発現量の変化量が -6.08% と顕著に減少したことが考えられる。また、本被験者は 40 mg/kg 群で 12 週時に測定した被験者であったため、歩行不能の 40 mg/kg 群の被験者及び歩行不能全例でのジストロフィン発現量の数値が負の値を示したと考えられる。
- ジストロフィン陽性筋線維数の割合及びエクソン 53 スキッピング効率^{a)}のいずれも歩行の可否でベースラインからの変化量に大きな差異は認められていない (表 38)。

表 37 歩行可否別のウェスタンブロットによるジストロフィン発現のベースラインからの変化量 (国内 P1/2 試験、海外 201 試験)

歩行可否	ベースラインから筋生検実施時 ^{a)} までの変化量					
	国内 P1/2 試験 正常対照に対する割合			海外 201 試験 正常対照に対する割合 (ミオシン重鎖で標準化)		
	40mg/kg (8 例)	80mg/kg (8 例)	合計 (16 例)	40mg/kg (8 例)	80mg/kg (8 例)	合計 (16 例)
可能	1.180 ± 1.299 (6)	3.084 ± 3.166 (7)	2.205 ± 2.587 (13)	5.4 ± 2.4 (8)	5.3 ± 4.48 (8)	5.4 ± 3.47 (16)
不能	-3.035 ± 4.311 (2)	0.687 (1)	-1.794 ± 3.730 (3)	—	—	—

平均値 ± 標準偏差 (評価例数)、測定値が定量下限である 1%未満の場合は参考値とし、集計は参考値を含む

—: 該当する被験者なし

a) 国内 P1/2 試験は 12 週後又は 24 週後、海外 201 試験は 24 週後

表 38 歩行可否別の免疫蛍光染色によるジストロフィン陽性筋線維数の割合及びエクソンスキッピング効率のベースラインからの変化^{a)} (国内 P1/2 試験及び海外 201 試験)

歩行可否	正常対照に対する免疫蛍光染色によるジストロフィン陽性筋線維数の割合 (%)					
	国内 P1/2 試験			海外 201 試験		
	40 mg/kg (8 例)	80 mg/kg (8 例)	合計 (16 例)	40 mg/kg (8 例)	80 mg/kg (8 例)	合計 (16 例)
可能	0.2 ± 0.6 (6)	1.2 ± 2.4 (7)	0.7 ± 1.8 (13)	12.8 ± 8.05 (8)	33.0 ± 20.43 (8)	22.9 ± 18.28 (16)
不能	-0.4 ± 0.3 (2)	2.1 (1)	0.4 ± 1.5 (3)	—	—	—

歩行可否	RT-PCR によるエクソンスキッピング効率 (モル濃度比 (%))					
	国内 P1/2 試験			海外 201 試験		
	40 mg/kg (8 例)	80 mg/kg (8 例)	合計 (16 例)	40 mg/kg (8 例)	80 mg/kg (8 例)	合計 (16 例)
可能	19.35 ± 7.37 (6)	41.46 ± 11.82 (7)	31.25 ± 14.97 (13)	17.4 ± 7.17 (8)	43.9 ± 16.68 (8)	30.6 ± 18.45 (16)
不能	29.03 ± 20.36 (2)	48.97 (1)	35.67 ± 18.43 (3)	—	—	—

平均値 ± 標準偏差 (評価例数)

—: 該当する被験者なし

a) 国内 P1/2 試験は 12 週後又は 24 週後、海外 201 試験は 24 週後

なお申請者は、歩行不能な患者における本剤の臨床的な有効性については、被験者が3例と極めて少なく明確な解釈は困難であるものの、定量的筋力検査⁴⁴⁾におけるベースラインと24週時点での比較ではすべての症例で1つの測定部位以上で筋力の維持が認められたこと、血清CK値も維持又は低下傾向が認められたこと、40 mg/kgの症例と比較して80 mg/kgの症例で多くの筋力で維持が認められたことから、本剤の臨床的な有効性は期待できると考えることを説明した。

機構は、以下のように考える。

- 45-52欠失及び49-52欠失患者、歩行不能の患者において本剤の有効性が減弱する可能性が示唆されていることから、当該結果を医療現場に情報提供することが適切である。
- 43-52欠失患者について、投与経験がないものの、作用機序の観点から一定の有効性は期待できると、他のエクソン欠失患者と同様に治療薬に限られ、極めて希少かつ重篤な疾患であることから、投与対象に含めることは可能である。また、投与経験がない旨を情報提供することは適切である。
- なお、患者背景が本剤の有効性に与える影響、疾患が進行した患者における有効性については、製造販売後に引き続き検討する必要があると考える。

7.R.3.4 運動機能に対する有効性について

機構は、本剤投与による運動機能に対する有効性について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、国内P1/2試験及び海外201試験の両試験で評価した10m歩行/走行時間、立ち上がり時間/床上起き上がり時間及び6分間歩行距離の結果は表39のとおりであり、比較対照がなく明確な評価は困難であるものの、進行性の疾患であり経時的に疾患進行が認められると考えられるDMD患者において、国内P1/2試験における10m歩行/走行時間（速度）、海外201試験における6分間歩行距離では、40 mg/kg群に比べ80 mg/kg群で低下抑制又は改善が認められたことを説明した。

表39 国内P1/2試験及び海外201試験における運動機能評価

	試験	用量	評価例数	平均値±標準偏差		
				ベースライン	24週後	変化量
10 m 歩行/走行時間(m/秒)	国内 P1/2 試験	40 mg/kg	6	1.659 ± 0.541	1.467 ± 0.625	-0.192 ± 0.101
		80 mg/kg	7	1.466 ± 0.544	1.386 ± 0.482	-0.080 ± 0.148
	海外 201 試験	40 mg/kg	8	1.67 ± 0.385	1.88 ± 0.484	0.21 ± 0.291
		80 mg/kg	8	1.88 ± 0.357	2.12 ± 0.394	0.24 ± 0.222
立ち上がり時間/床上起き上がり時間(rise/秒) ^{a)}	国内 P1/2 試験	40 mg/kg	5	0.2219 ± 0.0981	0.1724 ± 0.1362	-0.0496 ± 0.0408
		80 mg/kg	6	0.1525 ± 0.0888	0.1274 ± 0.0461	-0.0251 ± 0.0615
	海外 201 試験	40 mg/kg	8	0.26 ± 0.058	0.28 ± 0.128	0.02 ± 0.093
		80 mg/kg	8	0.25 ± 0.090	0.27 ± 0.078	0.02 ± 0.060
6 分間歩行距離(m)	国内 P1/2 試験	40 mg/kg	6	346.5 ± 102.7	317.3 ± 118.1	-29.2 ± 37.3
		80 mg/kg	7	316.7 ± 90.5	291.7 ± 88.7	-25.0 ± 41.1
	海外 201 試験	40 mg/kg	8	391.4 ± 33.27	407.0 ± 38.24	15.6 ± 26.40
		80 mg/kg	8	353.4 ± 106.32	407.6 ± 120.07	44.0 ± 41.98

a) 国内 P1/2 相試験では立ち上がり時間が、海外 201 試験では床上起き上がり時間が評価された。

また申請者は、海外201試験では外部対照として設定したCINRGの自然歴集団との比較において、複数の評価項目で本剤投与患者において改善傾向が認められたこと（表30）を説明した上で、自然歴と201試験成績を比較することの適切性について、以下のように説明した。

44) P1/2試験と201試験では、定量筋力検査の測定部位及び装置が異なっていた。

P1/2試験（マイクロFET筋力計）：膝関節伸展、膝関節屈曲、股関節屈曲、股関節伸展、足関節背屈、足関節底屈

201試験（CINRG QMT system）：握力、肘関節屈曲（上腕二頭筋）、肘関節伸展（上腕三頭筋）、膝関節屈曲（ハムストリングス）、膝関節伸展（大腿四頭筋）

- 2018年2月に発行されたFDAのDMD治療薬開発のためのガイダンス⁴⁰⁾において、外部対照を使用するにあたり、治療群と外部対照の間で、年齢、有効性の評価項目のベースライン値、併用療法の用量・期間、及び遺伝子型が類似している必要があると記載されている。当該内容を参考に、海外201試験における主要な選択・除外基準を満たす患者をCINRGの自然歴集団から抽出した。
- 海外201試験と、CINRGの自然歴集団の患者のうち、海外201試験の主要な選択・除外基準を満たす患者におけるベースラインの患者背景は表40のとおりであり、各患者背景及び運動機能評価のベースライン値に大きく異なる傾向は認められなかった。また、外部対照として使用する患者のうち9例はエクソン53スキッピング治療対象の患者で、56例はエクソン53スキッピング治療対象外の患者であった。エクソン53スキッピング治療対象のDMD患者はそれ以外のDMD患者と比較して、病状の進行経過に差がない(Hum Mutat 2018; 39: 1193-202、PLoS One 2014; 9: e83400等)、又は病状の進行が早いとの報告があること(J Neurol Neurosurg Psychiatry 2016; 87: 149-55)から、エクソン53スキッピング治療対象外のDMD患者を自然歴集団に含めて本剤群と比較しても、本剤の有効性を過大に評価することはないと考えられた。なお、外部対照に含まれるエクソン53スキッピング治療対象患者(9例)のうち、各運動機能評価が得られたのは2例又は3例であり、臨床試験との比較は困難であった。

表40 海外201試験と自然歴集団の患者背景の比較

	海外201試験			自然歴集団			
	40 mg/kg	80 mg/kg	全体	エクソン53スキッピング	エクソン53スキッピング以外	全体	
評価例数	8	8	16	9	56	65	
年齢(歳)	7.5 ± 1.75	7.2 ± 2.03	7.4 ± 1.84	6.3 ± 1.07	7.2 ± 1.36	7.1 ± 1.35	
人種 ^{a)}	白人	8 (100)	7 (87.5)	15 (93.8)	7 (77.8)	48 (85.7)	55 (84.6)
	黒人 ^{b)}	0	0	0	0	1 (1.8)	1 (1.5)
	アジア人	0	1 (12.5)	1 (6.3)	1 (11.1)	3 (5.4)	4 (6.2)
	その他	0	0	0	1 (11.1)	4 (7.1)	5 (7.7)
身長(cm)	114.6 ± 6.50	112.2 ± 9.97	113.4 ± 8.22	111.3 ± 7.57	117.0 ± 10.20	116.2 ± 10.03	
体重	23.7 ± 4.70	22.3 ± 6.16	23.0 ± 5.34	21.6 ± 3.99	24.4 ± 6.22	24.0 ± 6.02	
BMI	17.9 ± 2.28	17.4 ± 2.02	17.7 ± 2.10	17.3 ± 1.99	17.6 ± 2.30	17.5 ± 2.25	
立ち上がり時間 (rise/秒)	0.26 ± 0.058	0.25 ± 0.090	0.25 ± 0.074	0.23 ± 0.068	0.21 ± 0.092	0.22 ± 0.089	
10 m歩行/走行時間 (m/秒)	1.67 ± 0.385	1.88 ± 0.357	1.77 ± 0.374	1.92 ± 0.458	1.90 ± 0.470	1.91 ± 0.465	
4段階段昇り時間 (task/秒)	0.27 ± 0.081	0.32 ± 0.081	0.30 ± 0.082	0.30 ± 0.082	0.27 ± 0.105	0.28 ± 0.112	
NSAA Total Score	24.8 ± 5.92	23.8 ± 5.09	24.3 ± 5.36	28.0 ± 6.68	25.2 ± 5.11	25.7 ± 5.37	
6分間歩行距離 (m)	391.4 ± 33.27	353.4 ± 106.32	372.4 ± 78.59	428.4 ± 63.50	403.2 ± 184.51	408.0 ± 167.16	

平均値 ± 標準偏差

a) 例数(割合)

b) アフリカ系アメリカ人含む

- 海外201試験の運動機能評価の測定時点、治験実施施設、治験業務の委託先、運動機能評価の手順書及びトレーニング方法は、CINRGの自然歴集団と比較可能なデザインとなるように設定した。
- 有効性評価に影響を及ぼすと考えられるステロイドの併用について、海外201試験の被験者に使用されていたステロイドの種類、用法及び用量は、米国でDMD患者に使用されるステロイドの種類、用法及び用量に関する調査結果(J Neuromuscul Dis 2015; 2: 63-72、BMC Neurol 2019; 19: 84)から、米国の標準的なステロイド使用の範囲内であると考えられた。

その上で申請者は、文献等で公開されている自然歴⁴⁵⁾データ及び過去の他品目の臨床試験⁴⁶⁾のプラセボ群データ⁴⁷⁾と海外 201 試験及びその継続試験（海外 202 試験）の本剤群と比較したところ、海外 201 試験において運動機能の改善傾向が認められ（表 41 及び表 42）、本剤投与によるジストロフィン発現が、DMD 患者の運動機能を改善させる可能性が示唆されたことを説明した。

表 41 海外 201+202 試験と自然歴との運動機能評価の比較

	海外 201+202 試験	自然歴 A ^{a)}		自然歴 B ^{b)}	自然歴 C ^{c)}	
		A1 群	A2 群		C1 群	C2 群
評価例数	16	132	28	28	23	27
年齢 (歳)	7.4 ± 1.84	7.96 ± 2.32	8.6 ± 1.96	8.14	6.3 ± 0.5	8.1 ± 0.5
対象患者	エクソン 53 スキップ治療対象	エクソン欠失	エクソン 53 スキップ治療対象	エクソン 53 スキップ治療対象	5~6.9 歳の DMD	7~8.9 歳の DMD
10 m 歩行/走行時間 (m/秒)						
ベースライン	1.77 ± 0.374	—	—	—	2.16 ± 0.35	1.98 ± 0.48
変化量 (49 週時)	0.36 ± 0.450	—	—	—	0.07 ± 0.32	-0.33 ± 0.32
立ち上がり時間/床上起き上がり時間(rise/秒)						
ベースライン	0.252 ± 0.074	—	—	—	0.32 ± 0.09	0.24 ± 0.12
変化量 (49 週時)	0.024 ± 0.100	—	—	—	-0.01 ± 0.06	-0.07 ± 0.06
6 分間歩行距離 (m)						
ベースライン	372.4 ± 78.59	368.07 ± 71.93	344.11 ± 67.16	359.46	—	—
変化量 (49 週時)	6.9 ± 52.5	-14.95 ± 75.09	-34.18 ± 77.99	-28.97	—	—

平均値 ± 標準偏差

—: データなし

a) イタリア (14 施設) 及びベルギー (1 施設) の DMD 患者の自然歴データ (PLoS One 2014; 9: e83400)

b) イタリア (12 施設)、ベルギー (1 施設) 及びイギリス (1 施設) の DMD 患者の自然歴データ (PLoS One 2019; 14: e0218683)

c) 米国 (3 施設) の DMD 患者の自然歴データ (Muscle Nerve 2018; 58: 631-8)

表 42 海外 201+202 試験と過去の他品目の臨床試験のプラセボ群との 6 分間歩行距離の比較

	海外 201+202 試験	DP3P ^{b)} プラセボ	AP3P ^{c)} プラセボ	TP3P ^{d)} プラセボ
評価例数	16	61	115	116
年齢 (歳)	7.4 ± 1.84 7.7 (4.3, 9.8) ^{a)}	8.0 ± 2.37	9.0 (8, 10) ^{a)}	9.4 ± 1.76
対象患者	エクソン 53 スキップ治療対象	エクソン 51 スキップ治療対象	ナンセンス変異	エクソン欠失 69 エクソン重複 20 微小挿入/欠失 6 ナンセンス/ミスセンス変異 3 その他/未実施 18
6 分間歩行距離 (m)				
ベースライン	372.4 ± 78.59 380 (201, 569) ^{a)}	348.00 ± 92.153	370.5 (314, 422) ^{a)}	337.5 ± 51.2
変化量 (49 週時)	6.9 ± 52.5	-52.65 ± 10.423	-60.7 ± 9.3	-51.0 ± 9.3

平均値 ± 標準偏差

a) 中央値 (最小値, 最大値)

b) Drisapersen Phase3 試験 (DMD114044) (GlaxoSmithKline 公開資料)

c) Ataluren Phase3 試験 (Lancet 2017; 390: 1489-98)

d) Tadalafil Phase3 試験 (Neurology 2017; 89: 1811-20)

なお申請者は、プラセボ群を対照とし、床上起き上がり時間を主要評価項目とした国際共同第Ⅲ相試験⁴⁸⁾が実施中であり日本からも参加していることから、試験成績が得られた段階で報告することを説明した。

機構は、以下のように考える。

45) PLoS One 2014; 9: e83400, PLoS One 2019; 14: e0218683, Muscle Nerve 2018; 58: 631-8

46) Lancet 2017; 390: 1489-98, Neurology 2017; 89: 1811-20

47) 被験者背景に年齢情報があり、かつ運動機能評価としてベースライン、25 週時又は 49 週時までの変化量があるもの

48) 歩行可能な 4 歳以上 8 歳未満の DMD 男児患者を対象とし、本剤 80 mg/kg を週一回 48 週間静脈内投与した際の有効性及び安全性の検討を目的とした、プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験。欧州、北米 (米国、カナダ)、アジア (日本、韓国)、南米、オーストラリア等、約 15 カ国、最大 35 施設で実施。

- 海外 201 試験と CINRG の自然歴集団等の外部対照との比較について、無作為化により比較可能性の担保された集団間での比較ではなく、探索的な検討ではあるものの、得られた試験成績から、本剤投与によるジストロフィン発現増加により、運動機能が改善する傾向は示唆されている。また、国内 P1/2 相試験及び海外 201 試験において、いずれもジストロフィン発現の増加が認められ、その発現量の意義についても一定の説明はなされている（7.R.3.2 参照）。これらの点を踏まえると、本剤投与により運動機能に対する有効性は期待できる。
- なお、本剤の有効性については、製造販売後に引き続き検討する必要がある。
- 以上の適切性については、専門協議における検討を踏まえて最終的に判断したい。

7.R.3.5 長期投与時の有効性について

機構は、本剤の長期投与時の有効性について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。

- 海外 201 試験及びその継続投与試験である 202 試験において、本剤の投与期間が 1 年を超えた被験者 16 例において、いずれの運動機能評価項目も、最高到達時点と比較すると 73 週時では運動機能は低下していたものの、すべての評価項目において 73 週時の運動機能は投与前より改善しており、25 週時の運動機能を概ね維持又は改善していた（表 43）。
- DMD の自然経過は、5 歳頃に運動能力のピークをむかえ、以後緩徐に症状が進行し 10 歳頃に歩行不能になるとされる（デュシェンヌ型筋ジストロフィー診療ガイドライン 2014. 南江堂; 2014. p2）。海外 201 試験では、大部分（13/16 例）の患者で、投与開始時に 5 歳を超えているものの、本剤投与によって 73 週時の運動機能が投与前より改善していたこと、最高到達機能を示した時点が 1 年（49 週）以降の被験者が複数認められたことから、投与期間が 1 年を超えても本剤の運動機能に対する有効性は期待できると考えられる。
- なお、製造販売後には本邦における DMD 患者レジストリを使用した製造販売後調査を計画しており、当該調査において長期投与時の有効性についてさらに検討する計画である。

表 43 運動機能評価項目の記述統計量の推移 (海外 201+202 試験^{a)})

項目	群	時点	評価例数	測定値 (平均値±標準偏差)	変化量 (平均値±標準偏差)
6 分間歩 行距離 (m)	全例	投与前	16	372.4 ± 78.6	
		25 週投与時	15	407.3 ± 83.1	28.9 ± 36.3
		73 週投与時	16	385.4 ± 67.1	13.0 ± 64.1
		最高到達時	16	433.8 ± 78.1	61.4 ± 37.8
	80 mg/kg 群	投与前	8	353.4 ± 106.3	
		25 週投与時	7	407.6 ± 120.1	44.0 ± 42.0
		73 週投与時	8	386.9 ± 85.5	33.5 ± 67.4
		最高到達時	8	426.4 ± 106.2	73.0 ± 34.7
立ち上が り時間 (rise/秒)	全例	投与前	16	0.2519 ± 0.0736	
		25 週投与時	16	0.2764 ± 0.1025	0.0245 ± 0.0754
		73 週投与時	16	0.2760 ± 0.1147	0.0241 ± 0.1058
		最高到達時	16	0.3397 ± 0.0938	0.0878 ± 0.0744
	80 mg/kg 群	投与前	8	0.2479 ± 0.0904	
		25 週投与時	8	0.2721 ± 0.0777	0.0242 ± 0.0601
		73 週投与時	8	0.2810 ± 0.1224	0.0331 ± 0.1016
		最高到達時	8	0.3262 ± 0.0923	0.0783 ± 0.0637
4 段階段 昇り時間 (task/秒)	全例	投与前	16	0.2965 ± 0.0820	
		25 週投与時	16	0.3282 ± 0.1219	0.0318 ± 0.0885
		73 週投与時	16	0.3408 ± 0.1442	0.0443 ± 0.1017
		最高到達時	16	0.4027 ± 0.1307	0.1062 ± 0.0917
	80 mg/kg 群	投与前	8	0.3204 ± 0.0808	
		25 週投与時	8	0.3171 ± 0.0757	-0.0033 ± 0.0541
		73 週投与時	8	0.3495 ± 0.1289	0.0290 ± 0.0753
		最高到達時	8	0.3922 ± 0.1131	0.0718 ± 0.0571
10 m 歩行/ 走行 時間 (m/秒)	全例	投与前	16	1.773 ± 0.374	
		25 週投与時	16	2.000 ± 0.443	0.227 ± 0.251
		73 週投与時	16	2.139 ± 0.546	0.366 ± 0.439
		最高到達時	16	2.443 ± 0.436	0.670 ± 0.392
	80 mg/kg 群	投与前	8	1.876 ± 0.357	
		25 週投与時	8	2.119 ± 0.394	0.242 ± 0.222
		73 週投与時	8	2.162 ± 0.466	0.286 ± 0.301
		最高到達時	8	2.547 ± 0.204	0.670 ± 0.329
NSAA(合 計スコア)	全例	投与前	16	24.3 ± 5.4	
		25 週投与時	16	25.1 ± 5.2	0.8 ± 2.9
		73 週投与時	16	24.9 ± 6.7	0.6 ± 4.2
		最高到達時	16	27.5 ± 5.0	3.3 ± 3.4
	80 mg/kg 群	投与前	8	23.8 ± 5.1	
		25 週投与時	8	24.9 ± 4.5	1.1 ± 2.8
		73 週投与時	8	25.0 ± 6.9	1.3 ± 3.8
		最高到達時	8	27.3 ± 5.3	3.5 ± 2.6

a) 海外 202 試験の 73 週時のデータカットオフは安全性データを集計するためであり、データカットオフ時点で有効性データは未固定のため、73 週時及び最高到達時の記述統計量は QC 前のデータから算出。

機構は、提示されたデータは非盲検非対照試験であり、個々の患者の背景も異なることから、長期投与時の有効性は明確ではないと考えるものの、本剤はジストロフィン発現を増加させ症状の進行を抑制すると考えることから、一定の有効性は期待できると考える。なお機構は、本剤の長期投与時の有効性については、製造販売後に引き続き検討する必要があると考える。

7.R.4 安全性について

7.R.4.1 腎機能障害関連の有害事象について

機構は、マウス、ラット及びカニクイザルを用いた非臨床安全性試験において、腎尿細管の拡張・上皮の空胞化及び好塩基性物質の沈着が認められたこと (5.R.1 参照) から、本剤投与による腎機能障害関連の有害事象の発現状況について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。

国内第 I / II 相試験 (CTD 5.3.5.1-2: P1/2試験)、海外第 II 相試験 (CTD 5.3.5.1-1: 201試験) 及びその継続試験 (202試験)、並びに国内第 I 相試験 (CTD 5.3.5.2-1: DMT01試験) における腎機能障害関連の有害事象⁴⁹⁾の発現状況は表44のとおりであった。重篤な有害事象及び死亡又は中止に至った有害事象は認められず、いずれの事象もGrade 2⁵⁰⁾以下であり、DMT01試験のβ-NアセチルDグルコサミニダーゼ増加1例のみ転帰が未回復だったが、それ以外の腎機能障害関連の有害事象はすべて対症療法なしで回復した。

表 44 腎機能障害関連の有害事象の発現状況

	国内 P1/2 試験		海外 201+202 試験		国内 DMT01 試験		
	40 mg/kg	80 mg/kg	40 mg/kg	80 mg/kg	1.25 mg/kg	5 mg/kg	20 mg/kg
評価例数	8	8	8	8	3	3	4
腎機能障害関連の有害事象	1 (12.5)	2 (25.0)	0	1 (12.5)	3 (100.0)	3 (100.0)	4 (100.0)
重篤な有害事象	0	0	0	0	0	0	0
すべての有害事象							
β-NアセチルDグルコサミニダーゼ増加 ^{a)}	1 (12.5)	2 (25.0)	0 ^{a)}	0 ^{a)}	3 (100.0)	3 (100.0)	3 (75.0)
尿中アルブミン陽性	1 (12.5)	0	0	0	2 (66.7)	2 (66.7)	3 (75.0)
尿中血陽性	1 (12.5)	0	0	0	1 (33.3)	0	0
尿中蛋白陽性	1 (12.5)	0	0	0	1 (33.3)	3 (100.0)	4 (100.0)
α1 ミクログロブリン増加	1 (12.5)	0	0	0	0	0	0
尿中 β2 ミクログロブリン増加	0	1 (12.5)	0	0	0	0	2 (50.0)
血中クレアチニン増加	0	0	0	1 (12.5)	0	0	0
血中尿素増加	0	0	0	1 (12.5)	0	0	0
高カルシウム尿症	0	0	0	1 (12.5)	0	0	0
シスタチンC増加	0	0	0	0	1 (33.3)	1 (33.3)	0
血尿	0	0	0	0	1 (33.3)	0	0
尿中蛋白/クレアチニン比増加	0	0	0	0	1 (33.3)	0	0
尿中ケトン体陽性	0	0	0	0	1 (33.3)	0	0

発現例数 (発現割合 (%))

a) β-NアセチルDグルコサミニダーゼについて、海外 201 試験では正常基準値の設定はしていなかった。

以上より、臨床試験結果からは、本剤投与による腎機能障害関連の有害事象の発現が臨床上問題となる可能性は示されなかった。しかしながら、非臨床安全性試験で認められた腎臓への影響は、本剤が腎臓に高濃度に分布することに関連することが考えられ (4.2.1参照)、本剤は主に未変化体として腎排泄される (4.3.2及び4.4参照)。DMD患者の進行例では腎機能障害の合併が多く、30歳以上のDMD患者では3割以上で腎機能異常 (シスタチンCの増加) が認められたと報告されていること (臨床神経 2012; 52: 211-7) を踏まえると、腎機能障害を有する患者に本剤を投与した場合、正常な腎機能を有する患者に投与した場合と比べて曝露量が増大する可能性が否定できないと考える。したがって、腎機能障害を有するDMD患者では本剤の排泄が遅延するおそれがあることについて、添付文書で注意喚起を行う。

機構は、本剤の投与の可否、及び投与継続や中止を判断する上で、適切な腎機能のモニタリングについて、申請者に説明を求めた。

申請者は、国内外の臨床試験で腎機能障害関連の有害事象発現による本剤の投与中止、減量及び休業等の事例が認められていないことから、腎機能に関して特定のモニタリング方法は規定せず、国内の

49) MedDRA SOC 「腎および尿路障害」、HLGT 「腎尿路系検査および尿検査」に該当する事象、並びに尿検査項目に関連して発現した有害事象 (β-NアセチルDグルコサミニダーゼ増加、α1ミクログロブリン増加、尿中β2ミクログロブリン増加、尿中ケトン体陽性) を含めた事象

50) いずれの試験も有害事象の重症度はCTCAE ver.4.03 [ver.4.0日本語訳 日本臨床腫瘍研究グループ(JCOG)版] の基準に準じてGrade 1~5で分類した。疾患の性質上、CTCAEの各項目一覧の数値等から重症度を判断することが適切でない場合は、以下に示すCTCAEグレード分類の原則に従って重症度を評価した。

Grade 1 (軽症): 症状がない; 軽度の症状がある; 臨床所見又は検査所見のみ; 治療を要さない

Grade 2 (中等症): 最小限/局所的/非侵襲的治療を要する; 年齢相応の身の回り以外の日常生活動作の制限

Grade 3 (重症又は医学的に重大であるが、ただちに生命を脅かすものではない): 重症又は医学的に重大であるが、ただちに生命を脅かすものではない; 入院又は入院期間の延長を要する; 活動不能/動作不能; 身の回りの日常生活動作の制限

Grade 4 (生命を脅かす): 生命を脅かす; 緊急処置を要する

Grade 5 (有害事象による死亡): 有害事象による死亡

DMD診療ガイドライン（デュシェンヌ型筋ジストロフィー診療ガイドライン2014. 南江堂; 2014. p37）に準じて、DMD患者の治療及び管理に精通した医師が患者の腎機能障害の程度に応じて、定期的な検査を行うことで問題ないと考えていることを説明した。

機構は、以上の申請者の説明を了承するが、適切な腎機能に関するモニタリングについては、添付文書において注意喚起する必要があると考える。なお機構は、腎機能関連の有害事象の発現状況については、製造販売後に引き続き情報収集する必要があると考える。

7.R.4.2 中枢神経系の有害事象について

機構は、類薬の eteplirsen の臨床試験で、平衡障害の有害事象の発現を認めていることから、本剤投与による中枢神経系の有害事象の発現状況について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。

国内P1/2試験、海外201試験及びその継続試験（海外202試験）、並びに国内DMT01試験における中枢神経系関連の有害事象⁵¹⁾の発現状況は表45のとおりであった。重篤な有害事象は認められず、いずれの事象もGrade 2以下であった。また、すべての有害事象は本剤との因果関係が否定されており、ほとんどの事象は発現の翌日までに回復し、注意欠陥多動性障害の有害事象は8日後に回復した。

表 45 中枢神経系の有害事象の発現状況

	国内 P1/2 試験		海外 201+202 試験		国内 DMT01 試験		
	40 mg/kg	80 mg/kg	40 mg/kg	80 mg/kg	1.25 mg/kg	5 mg/kg	20 mg/kg
評価例数	8	8	8	8	3	3	4
中枢神経系の有害事象	2 (25.0)	1 (12.5)	4 (50.0)	2 (25.0)	0	0	0
重篤な有害事象	0	0	0	0	0	0	0
すべての有害事象							
浮動性めまい	0	1 (12.5)	1 (12.5)	0	0	0	0
頭痛	1 (12.5)	0	1 (12.5)	1 (12.5)	0	0	0
感覚鈍麻	1 (12.5)	0	0	0	0	0	0
不安	0	0	1 (12.5)	0	0	0	0
注意欠陥多動性障害	0	0	1 (12.5)	0	0	0	0
感情の平板化	0	0	0	1 (12.5)	0	0	0

発現例数（発現割合（%））

以上より、申請者は、本剤投与による中枢神経系の有害事象の発現が臨床上問題となる可能性は低いと考えることを説明した。

機構は、以上の申請者の説明を了承するものの、類薬の臨床試験において平衡障害の有害事象の発現を認めていること、*in silico*解析によりオフターゲット候補遺伝子として検出され、エクソンマイクロアレイ及びRT-PCR法において発現変動の認められた遺伝子である *CNTNAP2* 及び *MYT1* は神経系に発現することが知られていること（3.R.2参照）を踏まえ、中枢神経系の有害事象について、製造販売後に引き続き情報収集する必要があると考える。

7.R.4.3 薬剤過敏症関連の有害事象について

機構は、類薬の eteplirsen の臨床試験で、薬剤過敏症関連の有害事象の発現を認めていることから、本剤投与による薬剤過敏症の有害事象の発現状況について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。

51) MedDRA/SOC 「神経系障害」「精神障害」に該当する事象

国内 P1/2 試験、海外 201 試験及びその継続試験（海外 202 試験）、並びに国内 DMT01 試験における薬物過敏症関連の有害事象⁵²⁾の発現状況は表 46 のとおりであった。重篤な有害事象及び死亡又は中止に至った有害事象は認められず、いずれも Grade 2 以下であり、Grade 2 の事象は、湿疹、接触皮膚炎、蕁麻疹、アレルギー性結膜炎、発疹であり、このうち 1 例の湿疹以外のすべての事象は投与を継続したまま軽快又は回復した。

表 46 薬物過敏症関連の有害事象の発現状況

	国内 P1/2 試験		海外 201+202 試験		国内 DMT01 試験		
	40 mg/kg	80 mg/kg	40 mg/kg	80 mg/kg	1.25 mg/kg	5 mg/kg	20 mg/kg
評価例数	8	8	8	8	3	3	4
薬物過敏症関連の有害事象	2 (25.0)	5 (62.5)	4 (50.0)	5 (62.5)	1 (33.3)	0	1 (25.0)
重篤な有害事象	0	0	0	0	0	0	0
すべての有害事象							
蕁麻疹	0	2 (25.0)	0	0	0	0	0
発疹	1 (12.5)	1 (12.5)	3 (37.5)	3 (37.5)	0	0	0
湿疹	1 (12.5)	1 (12.5)	0	0	1 (33.3)	0	1 (25.0)
接触皮膚炎	1 (12.5)	0	0	1 (12.5)	0	0	0
皮膚炎	0	0	0	1 (12.5)	0	0	0
薬物過敏症	0	0	1 (12.5)	0	0	0	0
アレルギー性結膜炎	0	1 (12.5)	0	0	0	0	0
血中免疫グロブリン E 増加	0	0	0	0	0	0	1 (25.0)

発現例数（発現割合（%））

以上を踏まえ、申請者は、臨床試験において本剤投与時の薬物過敏症関連の有害事象の発現が臨床上問題となる可能性は示されなかったものの、発現した場合は重大な転帰をたどる可能性があることから、添付文書においては、本剤の成分に対し過敏症の既往歴のある患者を禁忌とした上で、副作用の項に本剤との因果関係が否定されなかった蕁麻疹、湿疹及び発疹を記載することを説明した。

機構は、以上の申請者の説明を了承するが、薬剤過敏症関連の有害事象について、製造販売後に引き続き情報収集する必要があると考える。

7.R.4.4 注射部位反応関連の有害事象について

機構は、本剤による注射部位反応関連の有害事象の発現状況について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。

国内P1/2試験、海外201試験及びその継続試験（海外202試験）、並びに国内DMT01試験における注射部位反応関連の有害事象⁵³⁾の発現状況は、表47のとおりであった。重篤な有害事象及び死亡又は中止に至った有害事象は認められず、いずれの事象も重症度はGrade 1で、2日以内に回復した。また、注射部位反応関連の有害事象の発現時期に一定の傾向は認められず、有害事象及び事象別の発現割合について年齢による差異は認められなかった。

52) MedDRA SMQ 「過敏症」（狭域）に該当する事象

53) MedDRA HLT 「投与部位反応 NEC」「注入部位反応」「注射部位反応」及び「適用及び滴下部位投与部位反応」に該当する事象

表 47 注射部位反応関連の有害事象の発現状況

	国内 P1/2 試験		海外 201+202 試験		国内 DMT01 試験		
	40 mg/kg	80 mg/kg	40 mg/kg	80 mg/kg	1.25 mg/kg	5 mg/kg	20 mg/kg
評価例数	8	8	8	8	3	3	4
注射部位反応関連の有害事象	0	3 (37.5)	3 (37.5)	2 (25.0)	0	0	0
重篤な有害事象	0	0	0	0	0	0	0
すべての有害事象							
注射部位疼痛	0	1 (12.5)	1 (12.5)	0	0	0	0
注射部位紅斑	0	1 (12.5)	0	0	0	0	0
注射部位腫脹	0	1 (12.5)	0	0	0	0	0
注入部位不快感	0	0	1 (12.5)	0	0	0	0
注射部位内出血	0	0	0	1 (12.5)	0	0	0
注射部位反応	0	0	0	1 (12.5)	0	0	0
注入部位疼痛	0	0	1 (12.5)	0	0	0	0
注射部位漏出	0	0	0	1 (12.5)	0	0	0

発現例数（発現割合（%））

以上を踏まえ申請者は、本剤投与による薬物過敏症関連の有害事象の発現が臨床上問題となる可能性は低いと考えることを説明した。

機構は、以上の申請者の説明について了承するが、本剤による注射部位反応関連の有害事象の発現状況については、製造販売後に引き続き情報収集する必要があると考える。

7.R.4.5 消化器系の有害事象について

機構は、類薬の eteplirsen の臨床試験で、嘔吐の有害事象が認められていたことから、本剤投与による消化器系の有害事象の発現状況について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。

国内 P1/2 試験、海外 201 試験及びその継続試験（海外 202 試験）、並びに国内 DMT01 試験における消化器系の有害事象⁵⁴⁾の発現状況は表 48 のとおりであった。重篤な有害事象及び死亡又は中止に至った有害事象は認められず、いずれの事象も Grade 2 以下であり、Grade 2 の腹痛及び下痢は、本剤との因果関係が否定されなかったものの、本剤の投与を継続したまま回復した。

表 48 消化器系関連の有害事象の発現状況

	国内 P1/2 試験		海外 201+202 試験		国内 DMT01 試験		
	40 mg/kg	80 mg/kg	40 mg/kg	80 mg/kg	1.25 mg/kg	5 mg/kg	20 mg/kg
評価例数	8	8	8	8	3	3	4
消化器系関連の有害事象	2 (25.0)	2 (25.0)	5 (62.5)	3 (37.5)	0	0	1 (25.0)
重篤な有害事象	0	0	0	0	0	0	0
すべての有害事象							
腹痛	0	1 (12.5)	0	0	0	0	0
下痢	0	1 (12.5)	2 (25.0)	2 (25.0)	0	0	0
上腹部痛	0	1 (12.5)	1 (12.5)	0	0	0	0
齲歯	1 (12.5)	0	0	0	0	0	0
嘔吐	1 (12.5)	0	2 (25.0)	2 (25.0)	0	0	0
便秘	0	0	1 (12.5)	1 (12.5)	0	0	1 (25.0)
血便排泄	0	0	1 (12.5)	1 (12.5)	0	0	0
悪心	0	0	2 (25.0)	0	0	0	0
歯痛	0	0	1 (12.5)	0	0	0	0

発現例数（発現割合（%））

以上を踏まえ申請者は、本剤投与による消化器系の有害事象の発現が臨床上問題となる可能性は低いと考えることを説明した。

54) MedDRA/SOC「胃腸障害」に該当する事象

機構は、以上の申請者の説明を了承した。

7.R.4.6 血液障害関連の有害事象について

機構は、本剤投与による血液障害関連の有害事象の発現状況について説明するよう申請者に求めた。申請者は、以下のように説明した。

国内P1/2試験、海外201試験及びその継続試験（海外202試験）、並びに国内DMT01試験における血液障害関連の有害事象⁵⁵⁾の発現状況は表49のとおりであった。重篤な有害事象及び死亡又は中止に至った有害事象は認められず、いずれの事象もGrade 1であった。国内DMT01試験でのみ高頻度に貧血が認められたが、国内DMT01試験では採血量が多い⁵⁶⁾ことに起因している可能性が考えられたことから、国内P1/2試験、海外201+202試験では採血量を減らした結果、両試験では貧血は認められなかったことを説明した。

表 49 血液障害関連の有害事象発現状況

	国内 P1/2 試験		海外 201+202 試験		国内 DMT01 試験		
	40 mg/kg	80 mg/kg	40 mg/kg	80 mg/kg	1.25 mg/kg	5 mg/kg	20 mg/kg
評価例数	8	8	8	8	3	3	4
血液障害関連の有害事象	1 (12.5)	0	0	1 (12.5)	1 (33.3)	3 (100.0)	4 (100.0)
重篤な有害事象	0	0	0	0	0	0	0
すべての有害事象							
ヘマトクリット減少	1 (12.5)	0	0	0	0	0	0
ヘモグロビン減少	1 (12.5)	0	0	0	0	0	0
血清フェリチン減少	1 (12.5)	0	0	0	0	0	0
末梢動脈閉塞	0	0	0	1 (12.5)	0	0	0
貧血	0	0	0	0	1 (33.3)	3 (100.0)	3 (75.0)
赤血球増加症	0	0	0	0	0	0	1 (25.0)

発現例数（発現割合（%））

以上を踏まえ申請者は、本剤投与による血液障害関連の有害事象の発現が臨床上問題となる可能性は低いと考えることを説明した。

機構は、以上の申請者の説明を了承した。

7.R.4.7 心機能関連の有害事象について

機構は、本剤投与による心機能への影響について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、国内P1/2試験において、血圧又は脈拍数の臨床的に重要な変動が認められた被験者の割合は表50のとおりであったこと、海外201試験及びその継続試験（海外202試験）並びに国内DMT01試験では、血圧及び脈拍数について臨床的に重要な変動は認められなかったことを説明した。

55) MedDRA/SOC「血管障害」及び「血液およびリンパ系障害」に該当する事象並びに貧血に関連する有害事象（ヘマトクリット減少、ヘモグロビン減少、血清フェリチン減少）を含めた事象

56) DMT01 試験期間中の総採血量は 594.8mL、総採血回数は 36 回であった。

表 50 国内 P1/2 試験において本剤投与後に血圧又は脈拍数の異常変動が認められた患者の割合

評価例数		40 mg/kg 8	80 mg/kg 8
収縮期血圧	高値 ^{a)}	1 (12.5)	1 (12.5)
	低値 ^{b)}	4 (50.0)	6 (75.0)
拡張期血圧	高値 ^{c)}	4 (50.0)	3 (37.5)
	低値 ^{d)}	6 (75.0)	5 (62.5)
脈拍数	高値 ^{d)}	6 (75.0)	5 (62.5)
	低値 ^{e)}	2 (25.0)	0 (0.0)

発現例数（発現割合（%））

- a) ≥ 140 mmHg かつ \geq ベースライン+20 mmHg
- b) < 100 mmHg かつ \leq ベースライン-20 mmHg
- c) ≥ 90 mmHg かつ \geq ベースライン+20 mmHg
- d) ≥ 100 拍/分 かつ \geq ベースライン+15 拍/分
- e) < 60 拍/分 かつ \leq ベースライン-15 拍/分

また申請者は、国内P1/2試験、海外201試験及びその継続投与試験（海外202試験）並びに国内DMT01試験における心機能関連の有害事象⁵⁷⁾の発現状況は、202試験の40 mg/kg群で発現した洞性不整脈1例のみであり、この事象はGrade 1の事象であったこと、本剤投与開始630日後に発現し本剤投与継続のまま同日中に回復し、本剤との因果関係は否定されていることを説明した。

以上を踏まえ申請者は、本剤投与による心機能関連の有害事象の発現が臨床上問題となる可能性は低いと考えることを説明した。

機構は、以上の申請者の説明を了承するが、DMD患者では疾患進行に伴い心機能障害が認められることから、本剤による心機能への影響について、製造販売後に引き続き情報収集する必要があると考える。

7.R.4.8 成長への影響について

機構は、本剤投与による成長への影響について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、国内 P1/2 試験、海外 201 試験及びその継続試験（海外 202 試験）の身長及び体重について、患者毎にステロイド未使用の DMD 患者における年齢別平均身長及び体重のデータ（J Pediatr 2013; 163: 1759-63）と比較したパーセンタイル値の平均値の推移は表 51 のとおりであることを説明した。

表 51 DMD 患者の成長に関する公表文献に対する国内 P1/2 試験、海外 201+202 試験における成長パラメータの推移

評価時期	国内 P1/2 試験				海外 201+202 試験			
	身長		体重		身長		体重	
	40 mg/kg 群 (8 例)	80 mg/kg 群 (7 例)	40 mg/kg 群 (8 例)	80 mg/kg 群 (7 例)	40 mg/kg 群 (8 例)	80 mg/kg 群 (8 例)	40 mg/kg 群 (8 例)	80 mg/kg 群 (8 例)
ベースライン	23.2 ± 25.5	31.5 ± 25.4	35.9 ± 26.2	50.8 ± 28.7	28.0 ± 20.6	21.7 ± 24.0	50.0 ± 24.6	39.2 ± 26.3
13 週	24.0 ± 23.9	29.3 ± 28.6	39.8 ± 24.0	55.4 ± 26.8	24.4 ± 17.1	24.6 ± 30.8	50.1 ± 25.6	37.9 ± 30.4
21 週	22.4 ± 22.3	29.5 ± 27.9	38.0 ± 27.4	54.7 ± 31.4	18.4 ± 12.1	22.3 ± 25.0	49.1 ± 25.0	35.6 ± 27.3
49 週					11.2 ± 10.9 ^{a)}	18.8 ± 22.2	45.5 ± 25.5 ^{a)}	38.1 ± 26.7
73 週					18.8 ± 12.2	15.2 ± 19.1	46.6 ± 25.7	39.7 ± 25.0

パーセンタイル値の平均値±標準偏差

a) 7 例

また申請者はいずれの試験においてもベースライン時に、ステロイド未使用の DMD 患者と比較して身長は低い傾向にあり、体重は身長と比較してパーセンタイル値が高い傾向であったこと、海外 201 試験では、身長のパーセンタイル値が減少する傾向が認められたことを説明した。その上で申請者は、これらの傾向が認められた理由について、以下のように説明した。

57) MedDRA/SOC「心臓障害」に該当する有害事象

- DMD 患児は非 DMD 患児より身長が低く BMI が高い傾向があり (J Pediatr 2013; 163: 1759-63)、ステロイド使用により更に身長が低く、BMI が高く推移する傾向があることが報告されている (J Pediatr 2016; 173: 207-13)。国内 P1/2 試験及び海外 201 試験では、いずれもステロイドの併用を許容し、国内 P1/2 試験では 16 例中 14 例、海外 201 試験では全例がステロイドを使用していたことから、ベースライン時に身長が低い傾向であり、体重は身長と比較してパーセンタイル値が高い傾向であった理由はステロイド使用によるものと考えられる。
- 海外 201 試験と国内 P1/2 相試験におけるステロイドの用量を比較した結果、本邦既承認のプレドニゾロンを併用している患者の 1 日投与量 (平均値±標準偏差) は、海外 201 試験で 0.571 ± 0.031 mg/kg、国内 P1/2 試験で 0.362 ± 0.153 mg/kg であり、海外 201 試験で高い用量のステロイドが投与されている傾向であったこと及び海外 202 試験では身長のパーセンタイル値の減少に用量依存的な傾向は認められていないこと等を踏まえると、ステロイドの併用が身長に影響している可能性が考えられる。
- 以上を踏まえると、本剤投与が成長に影響を及ぼす可能性は低いと考える。

機構は、以上の申請者の説明を了承するが、本剤を長期投与した際の成長への影響については、製造販売後に引き続き情報収集する必要があると考える。

7.R.4.9 抗ジストロフィン抗体について

機構は、DMD 患者はジストロフィンが欠損しているため、本剤投与により、変異型ジストロフィンタンパクが後天的に産生されることにより免疫反応が誘発される可能性があること、毒性試験の一部において抗本薬抗体の発現が認められたことから、抗ジストロフィン抗体産生の有無並びに有効性及び安全性への影響について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。

- 国内 DMT01 試験、国内 P1/2 試験及び海外 201 試験の継続試験 (海外 202 試験) において抗ジストロフィン抗体は認められなかったものの、海外 201 試験の 80 mg/kg の 1 例 (6.3%) のみで抗ジストロフィン抗体が認められた。当該被験者の抗ジストロフィン抗体は 13 及び 24 週時で陽性であったが、ジストロフィン発現のベースラインからの変化は 4.79% (ミオシン重鎖による標準化) であり、他の被験者と大きく異なる傾向は認められず、発現した有害事象はいずれも Grade 1 であり、本剤の投与を継続したまま回復した。
- 以上を踏まえ、本剤の長期投与により、抗ジストロフィン抗体及び抗本薬抗体による免疫原性が問題となる可能性は低いと考える。なお、実施中の国際共同第 III 相試験⁴⁸⁾において、抗ジストロフィン抗体の発現についてさらに検討する計画である。

機構は、以上の申請者の説明について了承した。

7.R.5 効能・効果及び投与対象について

機構は、申請効能・効果について、投与対象となるジストロフィン遺伝子の変異を有する患者において、本剤投与によりジストロフィン遺伝子の mRNA 前駆体のエクソン 53 部分に結合し、エクソン 53 をスキップさせることで、正常より短鎖のジストロフィンタンパクを産生すると考えられること (3.R.1 参照)、臨床試験において本剤投与によりジストロフィンタンパクの増加が認められ (7.R.3.2 参照)、運

動機能に対しても一定の有効性が示唆されていること（7.R.3.4 参照）を踏まえると、大きな問題はないと考える。

機構は、極めて稀に女性でも DMD を発症することが報告されている一方で、女性患者に対する投与経験はないことから、女性患者への投与に関する注意喚起の必要性について説明するよう申請者に説明を求めた。

申請者は、以下のように説明した。

- DMD は X 連鎖性劣性遺伝疾患であり、男性の場合、X 染色体上のジストロフィン遺伝子の変異により発症する。女性の場合は、通常正常な X 染色体を有するため、ジストロフィンが完全に欠損した DMD ではなく保因者となり、遺伝子変異を持つ X 染色体の不活化の程度により無症状から歩行困難まで様々な程度で症状が現れることがある。また、極めて稀に、女性において、もう一方の X 染色体の不活性化、ジストロフィン遺伝子の崩壊につながる X 常染色体転座、X 染色体モノソミー（ターナー症候群）等により、男性と同様にジストロフィンタンパクを欠損し、DMD を発症することがある（Neuromuscul Disord 2017; 27: 569-73、Brain Dev 1986; 8: 619-23）。
- 片方の X 染色体に本剤で治療可能なジストロフィン遺伝子欠失を有する女性保因者に、本剤を投与した場合、もう一方の正常な X 染色体より転写されたジストロフィン遺伝子 mRNA 前駆体に本剤が作用してエクソン 53 スキッピングを引き起こすことにより、正常なジストロフィンタンパクの産生に影響を及ぼす懸念がある。したがって、正常な X 染色体を有する女性保因者に対しては本剤の投与を行うべきではないが、正常な X 染色体を有する女性保因者は DMD 患者ではないため、本剤の効能・効果の対象外であり、添付文書における注意喚起は不要と考える。
- ジストロフィンタンパクを欠損した女性 DMD 患者への投与について、本剤の開発は男性の DMD 患者を対象としていたことから、非臨床試験ではすべて雄動物を用いて実施しており、臨床試験においても男児のみを対象としていたため、男性の DMD 患者以外に対する本剤の有効性及び安全性は明らかではない。したがって、本剤で治療可能なジストロフィン遺伝子欠失が認められている女性 DMD 患者は、本剤の治療対象として適切ではなく、女性への投与を想定した注意喚起が必要と考えることから、添付文書において臨床試験において、女性に対する投与経験はない旨を注意喚起する。

機構は、以下のように考える。

- 正常な X 染色体を有する女性保因者について、本剤の効能・効果の対象外であるため、添付文書における注意喚起は不要との申請者の見解に問題はない。しかしながら、正常な X 染色体を有する女性保因者に本剤を投与することで、正常なジストロフィン発現に影響を及ぼす可能性があることから、正常な X 染色体を有する女性保因者に投与を行わないよう、情報提供資材等を用いて医療現場に十分に情報提供する必要がある。
- 女性 DMD 患者への投与について、女性 DMD 患者は極めてまれに存在することが説明されているものの、本剤の非臨床試験は雄動物のみを対象としており、臨床試験においても女性患者への投与経験はないことから、添付文書において注意喚起を行うことは適切である。
- 以上の判断及び具体的な注意喚起内容については、専門協議における議論を踏まえて最終的に判断したい。

7.R.6 用法・用量について

機構は、申請用法・用量として、「通常、ビルトラルセンとして 80 mg/kg を週 1 回、1 時間かけて静脈内投与する。」と設定したことの適切性について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。

- 国内第 I 相試験 (CTD 5.3.5.2-1: DMT01 試験) で 1.25、5 及び 20 mg/kg を週 1 回、12 週間静脈内投与した結果、忍容性は良好であり、高用量群である 20 mg/kg 群の 1 例において、高いジストロフィン発現が確認された (表 27)。より高用量を投与することで有効性が期待できると考え、毒性試験における忍容量と同程度の曝露量が得られる用量として、週 1 回、80 mg/kg を設定⁵⁸⁾した。また、低用量群として、当該用量の半量であり、国内 DMT01 試験での最大用量 (20mg/kg) の 2 倍量である週 1 回、40 mg/kg を設定した。
- 国内第 I /II 相試験 (CTD 5.3.5.1-2: P1/2 試験) 及び海外第 II 相試験 (CTD 5.3.5.1-1:201 試験) の結果、本剤投与によりウェスタンブロットによるジストロフィン発現量は増加し、国内 P1/2 試験では 40 mg/kg よりも 80 mg/kg を投与した方がジストロフィン発現量の増加が大きい傾向が認められた (表 28)。また、海外 201 試験では、ウェスタンブロットによるジストロフィン発現量は 40 mg/kg と 80 mg/kg で大きく異ならなかったものの (表 29)、免疫蛍光染色によるジストロフィン発現の変化は 40 mg/kg と比較して 80 mg/kg で投与時に高い傾向であり、RT-PCR によるエクソン 53 スキッピング効率⁷⁾においても、40 mg/kg と比較して 80 mg/kg で高い傾向であった (表 36)。
- 以上を踏まえ、本剤の投与量を週 1 回、80 mg/kg 静脈内投与することとした。
- 投与時間を 1 時間以上かけることとした理由として、本剤と同じ骨格のモルフォリノ核酸である eteplirsen の臨床試験 (Ann Neurol 2013; 74: 637-47) における静脈内投与の点滴時間が 1 時間であり、安全性に問題がないことが示されていたことから、本剤についても 1 時間かけて静脈内投与したときの血漿中濃度シミュレーション結果等を基に投与量を設定した。その後の臨床試験でも国内 DMT01 試験に倣い点滴時間を 1 時間とした結果、本剤の有効性が確認でき、かつ安全性に問題が認められなかったことから、本剤の用法・用量において、静脈内投与の点滴時間を 1 時間とした。
- 点滴量について、国内 DMT01 試験は低用量であり、希釈前の本剤の薬液量が少なかったことから 1 時間で点滴しやすく生理食塩液と混和し総量 100 mL とすると規定した。国内 DMT01 試験の調製方法に倣い、国内 P1/2 試験では生理食塩液と混和し 100~300 mL に調製すること、海外 201 試験では治験薬の量が 100 mL 未満の場合は生理食塩液を用いて 100 mL に調製することを治験薬調製マニュアル等に規定した。臨床試験では 100 mL 以上に調製し投与されていたことを踏まえ、添付文書では 100 mL に調製する旨を記載することとしたが、体重が 10 kg 未満の乳幼児への投与については、患者の負担とならない量に希釈して投与しても問題はないと考える。

機構は、国内 P1/2 試験で組み入れられた患者は 5~12 歳、海外 201 試験に組み入れられた患者は 4~9 歳であったことから、臨床試験で組み入れられなかった低年齢の患者における有効性及び安全並びに当該患者における用法・用量の適切性について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、以下のように説明した。

- 国内 P1/2 試験では 3 例、海外 201 試験では 6 例の 4~6 歳の DMD 患児が組み入れられ、ジストロフィンの発現及びエクソン 53 スキップが認められ、安全性に問題は認められなかった。一方、乳児及び 4 歳

58) マウスを用いた 12 週間反復静脈内投与毒性試験 (CTD 4.2.3.2-2) の忍容量 (240 mg/kg) 投与時の曝露量 (最終投与時の AUC₀₋₂₄: 420.6 µg/hr/mL) に相当する曝露量がヒトにおいて得られる用量が直線回帰分析 (Power model 解析) により推測された。

- 成人及び疾患が進行した患者について、投与対象から除外せず、他の患者と同様の用法・用量を設定することに問題はないと考えるが、これらの患者に投与経験がない旨を添付文書において注意喚起する必要がある。
- 4歳未満の患者並びに成人及び疾患が進行した患者における有効性及び安全性については、製造販売後に引き続き検討する必要があると考える。

7.R.7 適正使用について

機構は、本剤は正常なジストロフィン遺伝子発現に影響する可能性があるため、本剤の治療対象となる患者以外に投与した場合に、安全性の観点から懸念があること、本剤の臨床試験は極めて限られた施設で実施されていたこと（国内5施設、海外（米国及びカナダ）6施設）、適切な診断、投薬、患者管理が可能な施設において投与されることが重要と考えられることから、本剤の適正使用のために実施する方策について説明するよう申請者に求めた。

申請者は、本剤の初回投与の可否、投与継続及び有効性の判断は、DMDを専門に診療しており、ジストロフィン遺伝子の遺伝子診断が可能な施設で適切に行われる必要があると考えていることから、本剤の納入時に以下の対応を行い、本剤の投与を行う施設の把握及び管理を行うことを検討していることを説明した。

- ① DMDを専門に診療しており、ジストロフィン遺伝子診断を含め、本剤の投与対象の診断が可能な施設を確認し、納入可能施設として登録する。医療機関より発注を受けた医薬品卸売販売業者は、申請者に「納入可否」の確認を書面で行う。申請者は納入可否の依頼が来た医療機関について、納入可能施設であるのか照合した上で、納入可否の連絡を医薬品卸売販売業者に行う。
- ② 本剤の投与が可能と判断された患者が①とは別の施設で投与を受ける際には、遺伝子診断が実施されていることを申請者が確認した上で納入する。
- ③ 納入不可の場合は、申請者が医療機関への説明を実施する。

また、申請者は、本剤を納入する施設には製品説明及び安全対策説明に加えて、医療者向け及び患者向けの情報提供資材を配布することにより適正使用の推進に努めることを説明した。

機構は、これらの対応の適切性については、専門協議における議論を踏まえ最終的に判断したいと考える。

7.R.8 製造販売後の検討事項について

機構は、提示された非臨床試験及び臨床試験成績を踏まえると、製造販売後調査において、腎機能への影響、薬剤過敏症の発現状況、抗本薬抗体及び抗ジストロフィン抗体発現の安全性及び有効性への影響、本剤を長期間投与した場合の安全性及び有効性、腎機能障害患者における安全性及び有効性、患者背景が本剤の有効性に与える影響、病態が進行した患者における有効性について情報収集する必要があると考える。

なお、申請者からは、本剤の製造販売後調査として、本剤が投与された全患者を対象とし、使用実態下で観察しうる期間（本剤投与開始から最長9年間）を観察期間とする使用成績調査及びレジストリ研究を実施予定であることが説明されている。また申請者から、現在プラセボ対照国際共同第Ⅲ相試験を実施中（7.R.3.4参照）であり、製造販売後にその結果を報告する旨が説明されている。

機構は、これらの対応の適切性については、専門協議における議論を踏まえ最終的に判断したいと考える。

8. 機構による承認申請書に添付すべき資料に係る適合性調査結果及び機構の判断

8.1 適合性書面調査結果に対する機構の判断

医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律の規定に基づき承認申請書に添付すべき資料に対して書面による調査を実施した。その結果、提出された承認申請資料に基づいて審査を行うことについて支障はないものと機構は判断した。

8.2 GCP 実地調査結果に対する機構の判断

医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律の規定に基づき承認申請書に添付すべき資料（CTD 5.3.5.1-2、CTD 5.3.5.2-1）に対して GCP 実地調査を実施した。その結果、全体としては治験が GCP に従って行われていたと認められたことから、提出された承認申請資料に基づいて審査を行うことについて支障はないものと機構は判断した。なお、試験全体の評価には大きな影響を与えないものの、一部の実施医療機関において以下の事項が認められたため、当該実施医療機関の長に改善すべき事項として通知した。

〈改善すべき事項〉

実施医療機関

- ・実施医療機関の長は、監査担当者から受け取った監査報告書の一部に関し、当該実施医療機関において治験が適切に行われたかどうかについて、治験審査委員会の意見を聴いていなかった

9. 審査報告（1）作成時における総合評価

提出された資料から、本品目のエクソン 53 スキッピングにより治療可能なジストロフィン遺伝子の欠失が確認されている DMD に対する有効性は示され、認められたベネフィットを踏まえると安全性は許容可能と考える。また、本剤は DMD の治療において新たな選択肢を提供するものであり、臨床的意義はあると考える。なお、本剤の有効性、効能・効果、適正使用のための方策、製造販売後の検討事項の適切性等については、専門協議においてさらに検討が必要と考える。

専門協議での検討を踏まえて特に問題がないと判断できる場合には、本品目を承認して差し支えないと考える。

以上

審査報告 (2)

令和2年2月17日

申請品目

[販売名] ビルテプソ点滴静注 250 mg
[一般名] ビルトラルセン
[申請者] 日本新薬株式会社
[申請年月日] 令和元年9月26日

[略語等一覧]
別記のとおり。

1. 審査内容

専門協議及びその後の機構における審査の概略は、以下のとおりである。なお、本専門協議の専門委員は、本品目についての専門委員からの申し出等に基づき、「医薬品医療機器総合機構における専門協議等の実施に関する達」（平成20年12月25日付け 20達第8号）の規定により、指名した。

専門協議では、審査報告(1)に記載した機構の判断及び「7.R.7 適正使用について」の対応は専門委員に支持された。

機構は、下記の点について追加で検討し、必要な対応を行った。

1.1 有効性について

機構は、海外第Ⅱ相試験(CTD 5.3.5.1-1: 201 試験)とCINRGの自然歴集団等の外部対照との比較について、無作為化により比較可能性の担保された集団間での比較ではなく、探索的な検討ではあるものの、得られた試験成績から、本剤投与によるジストロフィン発現増加により、運動機能が改善する傾向は示唆されていると考えた(審査報告(1) 7.R.3.4 参照)。また、機構は、本剤はジストロフィン発現を増加させ症状の進行を抑制すると考えることから、一定の有効性は期待できると考えること、本剤の長期投与時の有効性については、製造販売後に引き続き検討する必要があると考えた(審査報告(1) 7.R.3.5 参照)。以上の機構の判断は専門委員に支持された。

なお、専門委員から、製造販売後の有効性の評価において、立ち上がり時間や10m歩行時間等の定量的な評価は必要であり、製造販売後調査で実施するレジストリにおいて評価が揃えられることは重要であるとの意見が寄せられた。

以上を踏まえ機構は、現在実施中の国際共同第Ⅲ相試験⁴⁸⁾(主要評価項目を床上起き上がり時間とした48週間のプラセボ対照二重盲検並行群間比較試験)及び製造販売後調査として実施予定の国内レジストリを用いた調査を適切に実施し、試験成績及び解析結果を提出するよう申請者に指示し、申請者は適切に対応すると回答した。

1.2 がん原性評価について

審査報告 (1) の作成時点において詳細を確認中であった rasH2 マウスで認められた尿管移行上皮癌の発生機序について (審査報告 (1) 5.R.2 参照)、申請者は、腫瘍発生個体における増殖病変内において本薬由来と考えられる顆粒状又は針状の結晶性物質が存在し、周囲に炎症病変も認められたことから、尿路において不溶化した本薬が尿管壁の移行上皮細胞を継続的に刺激したことが原因であると考えられることを説明した。その上で申請者は、以下の理由から、ヒトへの外挿性は低く、ヒトへの投与が可能であると考えることを説明した。

- 本薬の推定最高尿中薬物濃度について、がん原性試験の投与量 (50 mg/kg) におけるげっ歯類での濃度は、臨床用量 (80 mg/kg) のヒトでの濃度と比べて高いこと (rasH2 マウス: 167.5 mg/mL、ヒト: 40.9 mg/mL) ⁶⁰⁾。
- グアニジン含量が高いオリゴヌクレオチドでは高次構造の形成にカリウムイオンが影響することが報告されている (Biochemistry 1999; 38: 6981-6)。げっ歯類の尿中カリウム濃度 (372~397 mM) はヒト及びカニクイザルにおける尿中カリウム濃度 (ヒト: 12.5~100 mM、臨床検査法提要 改訂第 32 版、カニクイザル: 58.3~63.4 mM) よりも高く、ヒトにおいて尿中で本薬が析出する可能性は低いと考えること。
- ヒトの尿管径 (内径約 3.4 mm) はげっ歯類 (外径約 0.3 mm) よりも大きく (Biomicrofluidics 2019; 13: 014101 1-15、Boorman's pathology of the rat, second edition. Academic Press; 2018. p167-80)、ヒトの尿路系はげっ歯類と比べ尿中結晶による物理的刺激を受けにくいと考えること。
- 各動物種/系統 (無投薬個体) の尿に ¹⁴C 標識した本薬を添加し、肉眼的に透明になるまで混和し、添加尿全体の放射能に対して、ポアサイズ 0.2 μm のフィルターで添加尿をろ過した後にフィルター上に残存する放射能の割合を算出することで、本薬の *in vitro* 尿中溶解性の検討を行った。結果は表 52 のとおりであり、rasH2 マウスのバックグラウンド系統である C57BL/6 マウス及び BALB/c マウスと比較してヒトの尿では本薬が不溶化しにくいと考えること。
- 移行上皮癌の発生に先立ち尿路上皮の障害が想定されるが、本薬は非遺伝毒性物質であり、短期間で発がんに至る可能性は低く、尿沈渣の異常、尿潜血、自覚症状を注意深く、定期的にモニタリングすることにより移行上皮癌への進展は回避可能と考えること。

表 52 各動物種/系統の尿を用いた本薬の *in vitro* 尿中溶解性

本薬濃度 (mg/mL)	フィルター上の残存放射能 (%) ^{a)}					
	蒸留水	C57BL/6 雄性マウス (10 例のプール尿)	BALB/c 雄性マウス (10 例のプール尿)	CD-1 雄性マウス (10 例のプール尿)	雄性カニクイザル (3 例のプール尿)	ヒト (3 例のプール尿)
25	0.99 (1.01, 0.96)	1.79 (1.34, 2.23)	4.42 (4.88, 3.96)	0.72 (0.65, 0.79)	1.17 (1.44, 0.89)	—
	1.36 (1.25, 1.46)	—	—	—	—	1.68 (1.83, 1.53)
50	1.55 (1.37, 1.73)	5.21 (2.54, 7.87)	9.28 (7.75, 10.81)	0.68 (0.70, 0.65)	1.06 (0.98, 1.14)	—
	1.62 (1.41, 1.82)	—	—	—	—	1.48 (1.41, 1.55)
100	0.80 (0.83, 0.77)	8.13 (11.12, 5.14)	10.1 (8.43, 11.77)	0.81 (0.88, 0.74)	1.04 (0.97, 1.11)	—
	1.64 (1.38, 1.90)	—	—	—	—	1.48 (1.66, 1.29)

値は 2 回測定 の平均値

a) フィルターろ過前の放射能を 100 とした場合の相対量

機構は、上記の申請者の説明及び臨床試験において泌尿器系への影響も含め、腎機能障害関連の明確な影響は確認されていないこと (審査報告 (1) 7.R.4.1 参照) 等を踏まえ、ヒトで発がんに至る可能性

60) 単位時間 (1 分間) 当たりの尿中薬物量/単位時間当たりの尿量より算出。単位時間当たりの尿中薬物量は、体内から消失する薬物の全量が尿中に排泄されると仮定し、rasH2 マウスを用いた 26 週間がん原性試験及び国内第 I/II 相試験 (CTD 5.3.5.1-2: P1/2 試験) から推定した薬物動態パラメータを用い、rasH2 マウスに本薬 50 mg/kg 及びヒトに本薬 80 mg/kg の投与をシミュレーションしたときの推定値が用いられた。単位時間当たりの尿量は、1 日尿量を、rasH2 マウスは 1 mL (薬物動態研究ガイド—創薬から臨床へ— LIFE SCIENCE INFORMATION CENTER; 2003. p126-7)、ヒトは P1/2 試験における 24 時間蓄尿データから 920.125 mL として算出された。

が高いことを示唆するエビデンスは現時点で認められていないと判断した。また機構は、本剤の投与対象患者は希少かつ重篤な疾患であり、治療薬も極めて限られることも考慮し、患者に対して十分に情報提供を行い、本剤投与中は定期的に尿沈渣、尿細胞診、腎尿路系の超音波腹部エコー検査を実施し、モニタリングを行うことで、臨床使用は可能であると判断した。なお、機構は、今後得られるラットを用いた2年間のがん原性試験の成績も踏まえ、あらためて尿管移行上皮癌の発生機序及びヒトへの外挿性について検討する必要があると考えた。

以上の機構の判断は、専門委員に支持された。以上を踏まえ機構は、患者への適切な情報提供及びモニタリングを行うよう申請者に指示し、申請者は適切に対応すると回答した。

1.3 効能・効果及び投与対象について

本剤の効能・効果及び投与対象について、正常なX染色体を有する女性保因者は本剤の効能・効果の対象外であること及び本剤の非臨床試験は雄動物のみを対象としており、臨床試験においても女性患者への投与経験はないことから、添付文書において注意喚起を行うことが適切であるとの機構の考え（審査報告(1) 7.R.5 参照）は専門委員に支持された。なお、専門委員から、正常なX染色体を有する女性ジストロフィン異常症患者に本剤を投与した場合、エクソン 53 スキッピングにより正常なジストロフィン発現を低下させる可能性があること、正常なX染色体を有する女性ジストロフィン異常症患者においても著しい *skewed inactivation* 等により、正常なX染色体のほとんどが不活化され、DMDと同様の症状を有する患者が存在することを踏まえ、これらの患者には本剤を投与しない旨を添付文書において注意喚起することは重要であるとの意見が示された。以上を踏まえ機構は、正常なX染色体を有する女性ジストロフィン異常症患者に投与を行わない旨を添付文書において注意喚起するとともに、女性への投与について、情報提供資料等により十分に情報提供するよう申請者に指示し、申請者は適切に対応すると回答した。

1.4 ウェスタンブロット法の追加バリデーション結果の提出について

申請者から、海外第II相試験（CTD 5.3.5.1-1: 201 試験）におけるウェスタンブロット法の検量線の範囲（正常対照の■、■、■、■、■%）での測定法に関する追加のバリデーション（審査報告(1) 7.R.3.1 参照）の報告書が提出された。バリデーション結果において、ミオシン重鎖をリファレンスタンパクとして用いて内部標準化した試験法で測定した場合は全ての評価項目に適合したが、 α -アクチニンをリファレンスタンパクとして用いて内部標準化した試験法で測定した場合は9項目中2項目の基準（定量限界がCVの■%を超えないこと及び測定者間の標準化データの差異が■%を超えないこと）を満たさなかった。

以上の結果を踏まえ、機構は、海外 201 試験におけるウェスタンブロット法の測定結果の評価については、事前に設定したバリデーションの基準に適合したミオシン重鎖をリファレンスタンパクとして用いて内部標準化した測定法を用いて測定した結果を主に評価することで大きな問題はないと考える。

1.5 医薬品リスク管理計画（案）について

機構は、審査報告(1)の「7.R.8 製造販売後の検討事項について」の項における検討及び専門協議における専門委員からの意見を踏まえ、現時点における本剤の医薬品リスク管理計画（案）について、表 53 に示す安全性検討事項及び有効性に関する検討事項を設定すること、並びに表 54 及び表 55 に示す追加の医薬品安全性監視活動、有効性に関する調査・試験及び追加のリスク最小化活動を実施することが

適切と判断した。なお、レジストリを用いた調査について、筋ジストロフィー患者の国内疾患レジストリである Remudy⁶¹⁾を用いる予定である。

表 53 医薬品リスク管理計画（案）における安全性検討事項及び有効性に関する検討事項

安全性検討事項		
重要な特定されたリスク	重要な潜在的リスク	重要な不足情報
該当なし	<ul style="list-style-type: none"> ・過敏症 ・腎機能障害 ・尿管における移行上皮癌、泌尿器系への影響 	<ul style="list-style-type: none"> ・長期投与患者及び原疾患が進行した患者における安全性プロファイル ・4歳未満の患者における安全性プロファイル ・腎機能障害を有する患者における安全性プロファイル
有効性に関する検討事項		
<ul style="list-style-type: none"> ・運動機能等に対する有効性 		

表 54 医薬品リスク管理計画（案）における追加の医薬品安全性監視活動、有効性に関する調査・試験及び追加のリスク最小化活動の概要

追加の医薬品安全性監視活動	有効性に関する調査・試験	追加のリスク最小化活動
<ul style="list-style-type: none"> ・市販直後調査 ・使用成績調査（全例調査） ・レジストリを用いた調査 ・製造販売後臨床試験^{a)} ・ラットがん原性試験 	<ul style="list-style-type: none"> ・レジストリを用いた調査 ・製造販売後臨床試験^{a)} 	<ul style="list-style-type: none"> ・市販直後調査による情報提供 ・医療従事者向け資材（適正使用ガイド）の作成及び提供 ・患者向け資材の作成及び配布

a) 本剤の承認取得後に国際共同第Ⅲ相試験⁴⁸⁾（継続中）を製造販売後臨床試験に読み替えて実施。

表 55 使用成績調査計画の骨子（案）

目的	本剤の使用実態下における安全性の検討
調査方法	全例調査方式
対象患者	販売開始以降に本剤の投与を受けたすべての患者
観察期間	最大9年間
予定症例数	再審査期間中全症例（予定症例数は設定しない）
主な調査項目	<ul style="list-style-type: none"> ・患者背景（性別、生年月日又は年齢、身長、体重、入院・外来区分、診断名、診断日、既往歴、合併症、自立歩行（可能/不可能）、全身性コルチコステロイド剤使用状況、ジストロフィン遺伝子検査（エクソン欠失部位）、投与開始時の人工呼吸器の使用の有無、投与開始時の車いすの使用の有無等） ・本剤の投与状況（1日投与量、投与期間、投与量変更理由）、併用薬剤（薬剤名、投与経路、1日投与量投与期間、使用理由）、併用療法、リハビリテーション ・臨床経過（臨床検査（異常変動有の場合）（検査項目名、単位、施設基準値、検査日、検査値）、腎機能検査、尿沈査、尿細胞診、腎尿路系の超音波検査） ・有害事象（事象発現の有無、事象名、発現年月日、重篤性、本剤の処置等）

以上を踏まえ機構は、本剤の製造販売後の安全性及び有効性に係る検討を適切に行うよう申請者に指示し、申請者は適切に検討すると説明した。

2. 審査報告（1）の訂正事項

審査報告（1）の下記の点について、以下のとおり訂正するが、本訂正後も審査報告（1）の結論に影響がないことを確認した。

61) AMEDにおける臨床研究・治験推進研究事業「難病、希少疾患の医薬品開発におけるクリニカルイノベーションネットワーク構想の推進を目指した疾患登録システム（患者レジストリ）の構築」により構築された疾患レジストリ

頁	行	訂正前	訂正後
2	下 19	米国において 2019 年 9 月に本剤の承認申請が行われ、審査中である。なお、2019 年 9 月	米国において 2019 年 12 月に本剤の承認申請が行われ、審査中である。なお、2019 年 12 月
3	表 1	CQA ████████ 管理方法 製造方法	CQA ████████ 管理方法 製造方法、規格及び試験方法
23	10	血清タンパク結合率を検討したとき	超遠心法により血清タンパク結合率を検討したとき
23	12	超遠心法により血球移行率を検討したとき	血球移行率を検討したとき

3. 総合評価

以上の審査を踏まえ、機構は、下記の承認条件を付した上で、以下の効能・効果及び用法・用量で承認して差し支えないと判断する。本品目は希少疾病用医薬品であることから再審査期間は 10 年、生物由来製品及び特定生物由来製品のいずれにも該当せず、原体及び製剤は毒薬及び劇薬のいずれにも該当しないと判断する。

[効能・効果]

エクソン 53 スキッピングにより治療可能なジストロフィン遺伝子の欠失が確認されているデュシェンヌ型筋ジストロフィー

[用法・用量]

通常、ビルトラルセンとして 80 mg/kg を週 1 回、1 時間かけて静脈内投与する。

[承認条件]

1. 医薬品リスク管理計画を策定の上、適切に実施すること。
2. 国内での治験症例が極めて限られていることから、再審査期間中は、全症例を対象とした使用成績調査を実施することにより、本剤の使用患者の背景情報を把握するとともに、本剤の安全性及び有効性に関するデータを早期に収集し、本剤の適正使用に必要な措置を講じること。
3. 本剤の有効性及び安全性の確認を目的とした臨床試験及び国内レジストリを用いた調査を実施し、終了後速やかに試験成績及び解析結果を提出すること。

以上

<i>WRN</i>	Werner syndrome RecQ like helicase	
<i>ZMIZ1-ASI</i>	Zinc finger MIZ-type containing 1 antisense RNA 1	
<i>ZNF557</i>	Zinc Finger Protein 557	
機構		独立行政法人 医薬品医療機器総合機構
201 試験		NS-065/NCNP-01-201 試験 (CTD 5.3.5.1-1)
202 試験		NS-065/NCNP-01-202 試験 (CTD 5.3.5.3-1)
本剤		ビルテプソ点滴静注 250 mg
本薬		ビルトラルセン