目次

2.5 臨床に関する概括評価 4
2.5.1 製品開発の根拠 4
2.5.1.1 目標適応症の臨床的/病態生理学的側面 4
2.5.1.2 臨床開発の経緯 6
2.5.1.3 規制当局によるガイダンスや助言 8
2.5.1.4 臨床データパッケージ 12
2.5.2 生物薬剤学に関する概括評価 15
2.5.2.1 市販予定製剤と治験薬用製剤の相違 15
2.5.3 臨床薬理に関する概括評価 16
2.5.3.1 臨床薬理試験の概要 16
2.5.3.2 DMD 患者における薬物動態 16
2.5.3.3 分布 16
2.5.3.4 代謝 16
2.5.3.5 排泄 17
2.5.3.6 薬物動態に及ぼす内因性要因の影響 17
2.5.3.7 薬物動態に及ぼす外因性要因の影響 17
2.5.3.8 薬力学 18
2.5.3.9 免疫原性 19
2.5.4 有効性の概括評価 20
2.5.4.1 対象患者集団の特性 20
2.5.4.2 試験デザイン 23
2.5.4.3 統計学的手法及び試験結果の解釈に影響すると考えられる問題点 27
2.5.4.4 有効性の主要な結果 27
2.5.4.5 部分集団解析 30
2.5.4.6 推奨される用法・用量 31
2.5.4.7 観察された効果の臨床的意義 31
2.5.5 安全性の概括評価 35
2.5.5.1 安全性情報の収集と評価の方法 35
2.5.5.2 曝露の程度 35
2.5.5.3 安全性に関する結果 36
2.5.5.4 部分集団における有害事象発現率の差異 41
2.5.5.5 投与量、投与方法、投与期間と有害事象 41
2.5.5.6 長期投与時の安全性 42
2.5.5.7 過量投与、依存性、反跳現象及び乱用 42
2.5.5.8 世界における市販後使用経験 42
2.5.6 ベネフィットとリスクに関する結論 43
2.5.6.1 治療の背景 43
2.5.6.2 ベネフィット 44
2.5.6.3 リスク 46
2.5.6.4 ベネフィット・リスク評価 47
2.5.7 参考文献 48

略語一覧表

語句略語	語句略語内容
6MWT	6-minute walk test：6 分間歩行試験
ALT	alanine aminotransferase：アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	aspartate aminotransaminase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	area under plasma concentration-time curve：血漿中濃度－時間曲線下面積 $AUC_{0\text{-}24hr}$：0 時点から 24 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積 $AUC_{0\text{-}last}$：0 時点から測定可能な最終測定時間点までの血漿中濃度－時間曲線下面積 $AUC_{0\text{-}\infty}$：無限大時間まで外挿した血漿中濃度－時間曲線下面積
BCRP	breast cancer resistance protein：乳癌耐性タンパク
BMD	Becker muscular dystrophy：ベッカー型筋ジストロフィー
BMI	body mass index：ボディマス指数
CBB	coomassie brilliant blue：クマシーブリリアントブルー
CDC	Center for Disease Control and Prevention：米国疾病管理予防センター
CGH	comparative genomic hybridization：比較ゲノムハイブリダイゼーション
CINRG	Cooperative International Neuromuscular Research Group：国際神経筋共同研究グループ
CK	creatine kinase：クレアチンキナーゼ
CL_{tot}	total clearance：全身クリアランス
C_{max}	maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
CYP	cytochrome P450：シトクロム P450
DMD	Duchenne muscular dystrophy：デュシェンヌ型筋ジストロフィー
DNA	deoxyribonucleic acid：デオキシリボ核酸
DNase	deoxyribonuclease：デオキシリボヌクレアーゼ
DNHS	Duchenne Natural History Study：デュシェンヌ自然歴研究
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay：酵素結合免疫吸着測定法
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬局
HBs	hepatitis B virus surface：B 型肝炎ウイルス表面
HCV	hepatitis C virus：C 型肝炎ウイルス
HIV	human immunodeficiency virus：ヒト免疫不全ウイルス
IC_{50}	50% inhibition concentration：50%阻害濃度
IL	interleukin：インターロイキン
IMD	Intermediate muscular dystrophy
IND	investigational new drug application：新薬臨床試験開始申請
Ki	inhibition constant：阻害定数
LC-MS/MS	liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry（spectrometer）：高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析（分析計）
LDH	lactate dehydrogenase：乳酸脱水素酵素
LSM	least squares means：最小二乗平均
MCP-1	monocyte chemotactic protein-1：単球走化性促進因子-1

語句略語	語句略語内容
MDCTN	muscular dystrophy clinical trial network：筋ジストロフィー臨床試験ネットワーク
MedDRA	medical dictionary for regulatory activities terminology：国際医薬規制用語集
MLPA	multiplex ligation-dependent probe amplification：多重連結反応依存性プローブ増幅法
MMRM	mixed model for repeated measures：繰り返し測定混合効果モデル
mRNA	messenger ribonucleic acid：メッセンジャーリボ核酸
NCNP	National center of neurology and psychiatry：国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
NDA	new drug application：新薬承認申請
NSAA	North Star Ambulatory Assessment：ノース・スター歩行能力評価
OAT	organic anion transporter：有機アニオントランスポーター
OATP	organic anion transporting polypeptide：有機アニオン輸送ポリペプチド
PDE	phosphodiesterase：ホスホジエステラーゼ
PMDA	Pharmaceuticals and Medical Devices Agency：独立行政法人医薬品医療機器総合機構
PT	preferred term：基本語
QMT	quantitative muscle testing：定量的筋力検査
Radio-HPLC	high performance liquid chromatography coupled to radiation detector：放射線検出器を接続した高速液体クロマトグラフィー
REML	restricted maximum likelihood：制限付き最尤法
RT-PCR	reverse transcription polymerase chain reaction：逆転写ポリメラーゼ連鎖反応
SD	standard deviation：標準偏差
SOC	system organ class：器官別大分類
$t_{1/2}$	elimination half-life：消失半減期
TIBC	total iron binding capacity：総鉄結合能
t_{max}	time to maximum plasma concentration：最高血漿中濃度到達時間
TNF	tumor necrosis factor：腫瘍壊死因子
TTCLIMB	time to climb 4 stairs：4 段階段昇り時間
TTRF	time to rise from floor：床上起き上がり時間
TTRW	time to run/walk 10 meters：10 m 歩行/走行時間
TTSTAND	time to stand：立ち上がり時間
UGT	uridine diphosphate glucuronosyltransferase：ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素
Vd_{ss}	volume of distribution at steady state：定常状態における分布容積

2.5 臨床に関する概括評価

2.5.1 製品開発の根拠

NS-065/NCNP-01（有効成分：ビルトラルセン）は、国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター（NCNP）と日本新薬株式会社（日本新薬）により、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）に対する治療薬として開発された、モルホリノ構造を有するアンチセンス核酸である。DMD は難治性進行性の疾患であり、現在、国内で疾患本体に対する治療法はない。本剤は、DMD 疾患本体を治療するために開発したエクソン 53 を標的としたエクソンスキッピング治療薬である。

2.5.1.1 目標適応症の臨床的/病態生理学的側面

2.5.1.1.1 デュシェンヌ型筋ジストロフィーの発症機序

DMD は、ジストロフィン遺伝子の変異により機能的なジストロフィンタンパク質が産生されない X 連鎖性劣性遺伝の筋疾患である [1)]。

ジストロフィンは細胞質内アクチンと結合し、細胞膜の糖蛋白とジストロフィンージストロフィン関連糖蛋白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 α2 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細胞の細胞骨格を固定しており、天井と柱を支える梁のような役割を果たしている [2)]。筋細胞膜は、ジストロフィン欠損により筋収縮によるダメージを受けやすくなり、筋細胞死やそれに付随した炎症・筋の線維化・筋機能の低下を生じる [3)]。

ジストロフィン遺伝子は 79 のエクソンで構成され、そのタンパク質は 3685 個のアミノ酸からなり、分子量は 427 kDa である [2,4)]。その両端は機能に必須であるが、途中の部分は基本構造の繰り返しであり、両端の構造が保持されていれば途中の部分は少し短くなっていても機能する [5)]。

DMD では、ジストロフィン遺伝子の変異によって一部のエクソンが欠失している。この欠失エクソンの塩基数が 3 の倍数でない場合、mRNA からアミノ酸へ翻訳される過程で、正常な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て翻訳が終止する。このような本来の C 末端領域を欠くジストロフィンは、その構造が不安定であることから速やかに分解される。結果としてジストロフィンタンパク質が欠損することとなり、DMD が発症する。一方、DMD と同様にジストロフィン遺伝子の変異が原因であるベッカー型筋ジストロフィー（BMD）では、欠失しているエクソンの塩基数が 3 の倍数であるためエクソンが欠失してもアミノ酸の読み取り枠が維持される（イン・フレーム）ため翻訳が最後まで完了する [6)]。結果として BMD では、ジストロフィンの繰り返し構造は短くなるものの、両端の構造が保持されたジストロフィンが産生される。BMD の発症は成人期であることが多く、高齢になるまで発症しない場合もあり、筋萎縮による筋力低下を呈するものの、一般にその症状は DMD と比較して軽く、進行も遅いことが知られている [7,8,9)]。

2.5.1.1.2 DMD の患者数

DMD は新生男児の 3500 人に 1 人が罹患し、筋ジストロフィーの中で最も発症頻度が高い [10)]。国内の患者数は約 5000 人と推計される [11)]。

DMD 患者におけるジストロフィン遺伝子の変異で最も多いのは、エクソン単位の欠失であり、全体の約 60%を占めている。DMD 患者で欠失しているエクソンは患者ごとに異なり、複数報告されている。エクソンの欠失部位によりスキッピングの標的となるエクソンは異なるので、標的エクソンごとの欠失エクソンの種類、並びにその患者の割合及び推定患者数を表 2.5.1.1.2-1 に示す[12]。本剤が標的とするエクソン 53 スキッピングの対象となる欠失エクソンを有する患者の割合は、エクソン 51 を標的とする場合に次いで多く、国内における推定患者数は約 400 人と推定される。

国内の筋ジストロフィーのナショナルレジストリーである Remudy のウェブサイトに公開されている情報によると、2019 年 11 月末時点で Remudy に登録されている国内の DMD 患者は 1335 名であった[13]。また、2009 年 7 月から 2017 年 3 月に Remudy に登録された国内の DMD 患者 1167 例中、エクソン 53 スキッピングの対象患者数は 111 例であった[14]。

表 2.5.1.1.2-1 標的エクソンごとの推定患者数

		患者の割合 (%)	推定患者数（人）		
			日本	米国	欧州
DMD全体		100	5,000	12,500	17,500
標的エクソン	欠失エクソン				
51	29-50, 45-50, 48-50, 49-50, 50, 52, 52-63	13	650	1,625	2,275
53	43-52, 45-52, 47-52, 48-52, 49-52, 50-52, 52	8	400	1,000	1,400
45	18-44, 44, 46-47, 46-48, 46-49, 46-51, 46-53	8	400	1,000	1,400
44	35-43, 45, 45-54	6	300	750	1,050
43	44, 44-47, 44-48	4	200	500	700
46	45, 47-54	4	200	500	700
50	51, 51-53, 51-55	4	200	500	700
52	51, 53, 53-55	4	200	500	700

標的エクソンごとの推定患者数は、Human Mutation 2009 [12] に記載される患者の割合をもとに算出した。
標的エクソンのうち、患者の割合の高い者を抜粋した。

2.5.1.1.3 DMD の病態及び予後

DMD は、3-5 歳は転びやすい、走れないことで気づかれることが多いが、日本では乳幼児期に AST、ALT 高値などがきっかけでたまたま発見された高 CK 血症により発症前に発見されることが多い。自然歴では 5 歳頃に運動能力のピークをむかえて以後緩徐に症状が進行し、多くは 10 歳頃に歩行不能となる。また、運動能力の低下に伴い関節拘縮や側弯が出現する。さらに、呼吸筋や心筋の障害も加わり、呼吸不全や心不全で死に至る。DMD は未介入の状態で寿命が約 18 歳とされている。近年、呼吸管理や心不全管理の医療技術の進歩もあり、DMD 患者の平均寿命は 30 歳を超えるようになっているが、DMD は依然として根本的な治療法がなく、重篤な運動機能障害、嚥下障害、痰の詰まり、消化管障害などを併発する難治性進行性疾患である[15]。

国内の筋ジストロフィー専門入院施設 27 施設に入院中の DMD 患者の病状と死因の経年変化を解析した論文では、死亡時平均年齢は 2000 年時点で 26.7 歳、2012 年時点で 32.4 歳であった[16]。死因は、半数が心不全や不整脈の心臓関連死であり、次いで呼吸器感染症や呼吸不全の呼吸器関連死であった。

2.5.1.1.4 DMD の治療の現状

国内では、日本神経学会、日本小児神経学会及び NCNP の監修による「デュシェンヌ型筋ジストロフィーの診療ガイドライン（2014 年）[15]」（国内ガイドライン）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、国内ガイドラインには、DMD に対するステロイド治療は、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、内服では肥満などの副作用に留意する必要があることも記載されている。なお、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、脊柱側彎に対する手術治療、理学療法、呼吸補助及び心不全対策等の対症療法がある。このように、ステロイド治療を含めいずれの治療法も進行予防や対症療法にすぎず、DMD の根本的治療法はないため、患者及び家族からも早期の根本的治療法の開発が強く望まれている。

欧米では、米国疾病管理予防センター（Center for Disease Control and Prevention：CDC）の支援を受け、DMD の診断や治療の専門家らにより DMD 治療等で推奨される事項が 2010 年に公表され、2018 年に更新されている（米国ガイドライン）[17,18,19]。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ている。米国では、ステロイドとしてプレドニゾン、プレドニゾロン又は deflazacort が使用されている。deflazacort は 2017 年に DMD を適応症とするステロイド治療薬として米国のみで承認されており、日本では未承認である。自然歴データの解析において、deflazacort はプレドニゾンと比較して歩行喪失時期を遅らせると報告されており [20]、また、deflazacort の P3 比較試験において、deflazacort はプレドニゾンと比較してステロイドの副作用である体重増加が少なかったと報告されている [21]。

新規治療薬としては、本剤と同じモルホリノ核酸である 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、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 月に米国で迅速承認を取得している。また、ナンセンス変異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 月に欧州で条件付承認されている。なお、米国ガイドラインにおいて、これら新規治療薬の DMD 治療での位置づけは明確にされていない。

2.5.1.2 臨床開発の経緯

DMD の根本的な治療は、遺伝子欠失あるいは重複変異などを DNA レベルで修復し、正常なジストロフィンの全長を産生させることである。しかし、ゲノム DNA 上の変異の修正は現時点では技術的に困難である。エクソンスキッピング治療は、配列特異的に設計したモルホリノや 2′-O-メチル-ホスホロチオエートなどのアンチセンス人工核酸を用いて、pre-mRNA から mRNA を構成するスプライシングの過程において、スプライシング制御タンパク質・RNA 複合体（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、特定のエクソンをスキッピングして読み取り枠を正常化させる。この結果、アウト・オブ・フレームである DMD のジストロフィンの mRNA をイン・フレーム化し、正常よりもやや短いが機能するジストロフィ

ンが産生される[22]。これにより疾患状態の改善、すなわち重症の DMD から比較的症状の軽い BMD と同様の状態となり、疾患の進行が抑制されることを期待している[9]。

本剤は、NCNP と日本新薬により開発された DMD 治療を目的とした新規アンチセンス核酸である。本剤はエクソン 53 を標的にしており、ジストロフィン遺伝子のエクソン 43-52、45-52、47-52、48-52、49-52、50-52 又は 52 等を欠失したタイプの DMD 患者の治療に適用できると考える。DMD 患者由来細胞において、本剤はエクソン 53 スキッピング活性を示し、正常より短いもののジストロフィンが発現することが確認されている（2.6.2.2 項参照）。さらに、エクソン 53 スキッピング活性により産生するジストロフィンを有する BMD 患者が存在し[23]、そのジストロフィンが機能を有することが、BMD 患者の臨床情報から確認されている[24]。これらの結果から、本剤はエクソン 53 スキッピングの治療対象となる DMD 患者のジストロフィン産生を回復させることにより、疾患の進行を抑制するとともに疾患状態の改善を期待することができると考え、臨床試験を実施した。

NCNP は、本剤の first-in-human 試験として日本人 DMD 患者を対象に国内第 I 相試験（NCNP/DMT01；DMT01 試験）を医師主導治験として 2013 年 6 月から実施した。その結果、1.25、5 又は 20 mg/kg の週 1 回、12 週間静脈内投与の忍容性は良好であった。また、20 mg/kg 群の 1 例において、高いエクソンスキッピング効率とジストロフィン発現が確認され、本剤が DMD の進行抑制並びに疾患状態の改善をもたらす可能性が示唆された。

日本新薬は、国内第 I/II 相試験（NS065/NCNP01-P1/2；P1/2 試験）前に、独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）と[redacted]相談（[redacted]：[redacted]年[redacted]月）を実施し、[redacted]の妥当性について相談した。本治験実施計画書は PMDA の意見を適切に反映し、また、本試験は 5 歳以上 18 歳未満の被験者を対象としているため、「小児集団における医薬品の臨床試験に関するガイダンスについて（平成 12 年 12 月 15 日医薬審第 1334 号）」に従い作成した。DMD 患者 16 例に 40 又は 80 mg/kg を 24 週間投与した結果、14 例の DMD 患者にジストロフィン発現が確認された。また、運動機能評価に関しては、時間機能検査や筋力検査で用量依存を示唆する結果や、複数の運動機能評価項目の変化量とジストロフィン発現量との間に正の相関が認められ、ジストロフィン発現量が多い被験者ほど投与前後で運動機能の低下が小さい傾向が認められた。

米国においては、米国食品医薬局（FDA）と[redacted]年[redacted]月の[redacted]Meeting で[redacted]について議論した後に、海外第 II 相試験（NS-065/NCNP-01-201；201 試験）を開始した。日本と同様に 16 例の DMD 患者に 40 又は 80 mg/kg を 24 週間投与（各群 2 例の被験者は 4 週間のプラセボ投与を含む）した結果、全例の DMD 患者にジストロフィン発現が確認された。また、運動機能評価を自然歴データと比較した結果、複数の運動機能評価項目で有意な改善が認められた。

本剤 80 mg/kg 投与での 24 週時のジストロフィン発現量（ウェスタンブロット）は、国内外の臨床試験で同等な結果が得られ、類薬と比較して短期間でより高いジストロフィン発現が確認された。このように、国内外の臨床試験で本剤投与によりジストロフィン発現が確認され、運動機能の改善又は維持につながることを示唆する結果が得られたことから、一定の有効性が示されたと判断した。また、安全性プロファイルでも国内外で問題となる差異は認められず、良好であった。

国内では上記結果に基づいて、[redacted]年[redacted]月に[redacted]相談（[redacted]）を実施した[redacted]、[redacted]、[redacted]等について議論を行い、提示した申請臨床データパッケージを基に、[redacted]ことは可能との見解を得た。

本剤の検証的臨床試験については、プラセボ対照の二重盲検比較試験を日本も参加する国際共同治験として実施し、本剤の有効性及び安全性を検証する予定である。

本剤は、国内では DMD を効能・効果として、2015 年 10 月に先駆け審査指定制度の対象品目［先駆審査（27 薬）第 2 号］となり、[redacted]年[redacted]月よりに[redacted]相談を実施した。また、2019 年 8 月に希少疾病用医薬品［指定番号（31 薬）第 440 号］に指定された。

2.5.1.3 規制当局によるガイダンスや助言

2.5.1.3.1 日本の規制当局の助言

治験相談の主な内容を以下に記載し、治験相談記録を 1.13-2 項に示す。

（1） [redacted]相談（[redacted]）

[redacted]、[redacted]等について相談するため、[redacted]は[redacted]相談（[redacted]）を実施し、以下の助言を得た。

- [redacted]を踏まえると、現時点において、[redacted]が適切に実施され、[redacted]には、[redacted]は可能と考える。
- [redacted]については、[redacted]必要があると考えるので、[redacted]に、[redacted]ことが適切と考える。
- [redacted]において、[redacted]ことに、特に異論はない。
- [redacted]し、[redacted]必要があると考える。
- 現時点では、[redacted]必要があると考えることから、[redacted]に[redacted]と考える。
- [redacted]について、提示されているように[redacted]ことは受け入れ可能と考える。

（2） [redacted]相談（[redacted]）

[redacted]相談（[redacted]）での[redacted]に関する機構意見を踏まえ、[redacted]を実施し、これらの結果より[redacted]ことは妥当と判断したことから、[redacted]や、[redacted]について相談するために、[redacted]は[redacted]相談（[redacted]）を実施し、以下の助言を得た。

- [redacted]ことに、特に異論はない。なお、効率的な開発の観点からは、本試験において[redacted]で、[redacted]と考える。
- [redacted]に大きく影響しないことを前提とすれば、[redacted]とすること、[redacted]ことに異論はない。
- 各コホートの症例数設定について、本試験は本剤を初めてヒトに投与する試験であり、増量計画においては用量に依存した安全性を十分に検討した上で、コホート移行の判断を行う必要があると考えることから、「抗悪性腫瘍薬の臨床評価方法に関するガイドライン」（平成 17 年 11 月 1 日付薬食審査発第 1101001 号）の第 I 相試験の項の考え方も参考に、各々の用量段階で少なくとも 3 例のコホートでの観察を行い、安全性基準を満たさない症例が認められた場合、その段階にさらに少なくとも 3 例を加えた 6 例以上で検討を行うべきと考える。
- [redacted]であることから、[redacted]であり、[redacted]と考えるが、現時点において、[redacted]と考える。
- [redacted]については、[redacted]と考える。

対面助言終了後、機構と相談者で[redacted]が実施され、対面助言時の検討内容を踏まえた[redacted]について相談を行い、相談者の[redacted]は受け入れ可能との見解が示された。

（3） [redacted]相談（[redacted]）

[redacted]を計画した時点で、NCNP による DMT01 試験成績により、日本人 DMD 患者において、本剤 20 mg/kg の 12 週間静脈内投与での忍容性に問題がないことが確認されていた。そこで、日本新薬は、[redacted]相談を実施し、[redacted]に関して以下の助言を得た。

- [redacted]ことに、特に異論はない。
- [redacted]ことに特に異論はないが、[redacted] 投与時には非臨床試験における忍容量付近の曝露量となることが想定されることから、[redacted] に割り付けられたすべての患者に対して同時期に投与を開始するのではなく、まず少数例の患者において忍容性を確認した上で、残りの患者の投与を開始する等の方策を講じるべきと考える。
- [redacted]ことについて、特に異論はない。現時点で、[redacted]ことから、[redacted]と考える。
- [redacted]ことについて、特に異論はない。
- [redacted]については、[redacted]と考える。なお、[redacted]である。また、[redacted]説明する必要がある。
- [redacted]として、[redacted]ことに特に異論はない。なお、[redacted]については、[redacted]必要がある。
- [redacted]については、[redacted]ことが適切と考える。
- [redacted]ことについて、現時点で特に異論はないが、[redacted]必要がある。また、[redacted]

[redacted]が必要である。

- なお、[redacted]ことについても並行して検討を続けることが適切である。
- [redacted]については、[redacted]と考える。
- [redacted]について、[redacted]ことに特に異論はない。

(4) [redacted]相談（[redacted]）

[redacted]、[redacted]相談を実施し、以下の助言を得た。

- [redacted]における[redacted]について、[redacted]と考える。しかしながら、以下の点等を考慮すると、これらの[redacted]と考える。
  1. [redacted]において[redacted]と考えられること。
  2. [redacted]について、[redacted]と考えられること。
- 現時点で、[redacted]において、[redacted]にあたっては、[redacted]についても重要である。
- [redacted]であり、[redacted]においても[redacted]こと、[redacted]こと、[redacted]ことから、[redacted]ことが適切である。
- [redacted]は受入れ可能である。

- [redacted]と考えるため、[redacted]である。
- [redacted]と考えられること、[redacted]において、[redacted]ことを踏まえると、[redacted]においては、[redacted]ことが適切と考える。
- [redacted]においては、[redacted]については、[redacted]ことが適切と考える。
- [redacted]において、[redacted]ことが適切と考える。
- [redacted]であり、[redacted]についても、[redacted]における[redacted]と考える。

2.5.1.3.2 海外の規制当局の助言

米国においては、[redacted]年[redacted]月の[redacted] Meeting で試験計画について FDA と議論した後に、米国及びカナダで 201 試験を開始した。

FDA とはこれまでに[redacted] meeting を実施している。[redacted]年[redacted]月に[redacted]について、[redacted]年[redacted]月に[redacted]について、[redacted]相談を行った。その後、201 試験の 40 mg/kg 群において顕著なジストロフィン増加が認められたことから、[redacted]年[redacted]月に[redacted] meeting を[redacted]にて実施した。[redacted]ことは、FDA に受け入れられた。

2016 年 10 月にファストトラック審査の指定されていることから、[redacted] meeting（[redacted]年[redacted]月）において、FDA は現在の臨床データパッケージでローリング申請することを受け入れ可能と判断した。また、FDA は[redacted]し、[redacted]については FDA と[redacted]と指摘した。その後、[redacted]について FDA と合意し、2019 年 2 月よりローリング申請を開始し、2019 年 12 月に完了した。

なお、本剤は、米国では 2017 年 1 月に希少疾病用医薬品及び希少小児疾患に指定されている。

2.5.1.4 臨床データパッケージ

臨床評価に用いるデータパッケージを表 2.5.1.4-1 に示す。

P1/2 試験及び 201 試験において、本剤の有効性（ジストロフィン発現）及び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、両試験の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てデータパッケージを構築した。安全性は、これらの試験に加えて 201 試験の継続投与試験である（NS-065/NCNP-01-202；202 試験）のカットオフデータ（最終被験者が 73 週の投与を終了するまで）を含めて評価した。また、早期探索的試験である DMT01 試験の臨床成績も評価に含めた。

表 2.5.1.4-1 臨床データパッケージ

相	試験の種類 （資料取扱い）	試験番号、対象、デザイン	国内/海外
第 I 相	早期探索的臨床試験 （評価資料）	【NCNP/DMT01 試験】 DMD 対象、オープンラベル、医師主導治験	国内
第 I/II 相	探索的試験 （評価資料）	【NS065/NCNP01-P1/2 試験】 DMD 対象、並行群間比較、オープンラベル	国内
第 II 相	探索的試験 （評価資料）	【NS-065/NCNP-01-201 試験】 DMD 対象、用量設定、自然歴対照 Period 1（4 週間）：ランダム化、二重盲検、プラセボ対照 Period 2（20 週間）：オープンラベル	海外
	長期投与試験	【NS-065/NCNP-01-202 試験 [a]】 上記 201 試験のオープンラベル継続投与試験	海外

a：m5.3.5.3-1 に最終被験者が 73 週の投与を終了した時点でカットオフしたデータを添付する。

海外試験成績を利用して国内申請するにあたり、国内と海外の内因性及び外因性民族的要因、P1/2 試験及び 201 試験の試験デザイン及び試験成績等について比較した結果、有効性及び安全性の結果に大きな差異はなく試験間で一貫性が認められたことから、P1/2 試験の成績に 201 試験の成績を利用して申請することは可能と考えた。以下に概要を示す。

- 日本人 DMD 患者（P1/2 試験）及び外国人 DMD 患者（201 試験）に、本剤 80 mg/kg を 1 時間かけて静脈内投与した際の初回投与時及び 24 週投与時の薬物動態パラメータを検討した結果、日本人 DMD 患者と外国人 DMD 患者の間で血漿中濃度に顕著な差は認められなかった。
- 本剤は投与された大半が投与後 24 時間以内に尿中へ未変化体として排泄され、シトクロム P450（CYP）に対する誘導作用はなく、CYP 及び薬物トランスポーターの阻害作用のリスクは低いことから、薬物代謝や薬物トランスポーターの遺伝子多型により、本剤が影響を受けたり、併用薬に影響を与えたりする可能性は低いと考えられる。
- 国内外の DMD の定義及び診断方法に違いはない。
- DMD の治療方法として、国内外でステロイドが推奨されており、国内ではプレドニゾロンが治療薬として承認されている。米国では DMD を適応症とするステロイド治療薬として 2017 年に deflazacort が承認されているが、日本では未承認である。deflazacort 以外の使用薬剤は国内外で類似している。また、新規の DMD 治療薬である eteplirsen 及び ataluren はいずれも本剤とは適応患者が異なる。
- P1/2 試験及び 201 試験では、DMD 診断基準や選択・除外基準、用法・用量、有効性評価項目等の試験デザインに有効性及び安全性評価に影響を与えるような違いはなかった。

- P1/2 試験及び 201 試験の患者背景を比較すると、年齢に関する選択基準は、201 試験では 4 歳以上 10 歳未満、P1/2 試験では 5 歳以上 18 歳未満と試験間で異なっていた。実際に組み入れられた被験者の年齢の平均値も、201 試験で 7.4 歳、P1/2 試験で 8.4 歳と P1/2 試験の方が若干高かった。体重、身長及び BMI は、201 試験と比較して P1/2 試験で若干高かったが、これは、P1/2 試験の被験者の方が高年齢であったためと考えられる。自立歩行の可否について、選択基準により 201 試験では「補助機器なしで独立歩行可能な患者」、P1/2 試験では「歩行の可否は問わない」と規定していた。組み入れられた被験者は、201 試験では全例、P1/2 試験では 16 例中 13 例が歩行可能であった。
  それ以外の患者背景は類似していた。
- P1/2 試験及び 201 試験において本剤 80 mg/kg 投与の結果、適切にバリデートされた測定法により、同様のジストロフィン発現及びエクソン 53 スキッピングが確認された。
- P1/2 試験の運動機能評価（床上起き上がり時間及び 10 m 歩行/走行時間）において、ジストロフィン発現量が多いほど運動機能の低下が小さい傾向が認められた。
- 201 試験の一部の運動機能評価項目で自然歴と比較して改善が認められた。
- P1/2 試験及び 201 試験において、死亡、高度の有害事象及び中止・減量に至った有害事象の発現は認められておらず、本剤の安全性プロファイルは類似していた。

2.5.2 生物薬剤学に関する概括評価

2.5.2.1 市販予定製剤と治験薬用製剤の相違

本剤は、1 バイアル（5 mL）中にビルトラルセン 250 mg を含有する水性注射剤（50 mg/mL バイアル製剤）である。国内の市販予定製剤では[redacted]で製造した原薬を使用する。

DMT01 試験では、原薬を[redacted]で製造し、1 アンプル（5 mL）中にビルトラルセン 125 mg を含有する 25 mg/mL アンプル製剤を用いた。P1/2 試験では、原薬を[redacted]で製造し、1 バイアル（10 mL）中にビルトラルセン 250 mg を含有する 25 mg/mL バイアル製剤を用いた。201 試験では、原薬を[redacted]で製造し、1 バイアル（10 mL）中にビルトラルセン 250 mg を含有する 25 mg/mL バイアル製剤を用いた。202 試験では、原薬を[redacted]又は[redacted]で製造し、1 バイアル（10 mL）中にビルトラルセン 250 mg を含有する 25 mg/mL バイアル製剤又は 1 バイアル（5 mL）中にビルトラルセン 250 mg を含有する 50 mg/mL バイアル製剤を用いた。

[redacted]、[redacted]及び[redacted]により製造された原薬について、製造方法の違いによる化学構造の差異は認められなかった（2.3.S.2.6 項参照）。また、[redacted]、[redacted]及び[redacted]により製造された原薬について、薬理学的及び毒性学的な同等性を確認する非臨床試験を実施した結果、製造方法の違いによる薬理学的及び毒性学的な差異は認められなかった。

また、202 試験では、試験期間中に 25 mg/mL バイアル製剤から 50 mg/mL バイアル製剤に変更した。バイアル中のビルトラルセンの濃度は変わるものの、患者に投与する際は体重に応じた投与量を生理食塩液で 100 mL に希釈して投与するため、この変更による影響はないと考えられた。

2.5.3 臨床薬理に関する概括評価

2.5.3.1 臨床薬理試験の概要

本剤を用いた薬物動態及び薬力学試験の概要を表 2.5.3.1-1 に示した。

表 2.5.3.1-1 薬物動態及び薬力学の評価に用いた試験の概要

試験番号 資料番号 （評価／参考）	試験の目的	用法及び用量
NS065/NCNP01-P1/2 5.3.5.1-2 （評価資料）	日本人 DMD 患者における薬物動態、有効性、安全性及び薬力学	本剤 40 及び 80 mg/kg を 1 時間かけて、週 1 回、24 週間反復静脈内投与
NS-065/NCNP-01-201 5.3.5.1-1 （評価資料）	外国人 DMD 患者における薬物動態、有効性、安全性及び薬力学	Period 1（1～4 週目） 本剤 40 及び 80 mg/kg、プラセボ（生理食塩液）を 1 時間かけて、週 1 回、4 週間反復静脈内投与 Period 2（5～24 週目） 本剤 40 及び 80 mg/kg を 1 時間かけて、週 1 回、20 週間反復静脈内投与
NCNP/DMT01 5.3.5.2-1 （評価資料）	日本人 DMD 患者における薬物動態、有効性及び安全性	本剤 1.25、5 及び 20 mg/kg を 1 時間かけて、週 1 回、12 週間反復静脈内投与

2.5.3.2 DMD 患者における薬物動態

日本人 DMD 患者（P1/2 試験）及び外国人 DMD 患者（201 試験）に、本剤 40 及び 80 mg/kg を初回投与時に 1 時間かけて単回静脈内投与した際、用量の増加に伴い C_{max} 及び AUC は増加した。また、80 mg/kg 群において、t_{max}（中央値）は 1 時間、$t_{1/2}$（平均値）は 2.2～2.5 時間であった。

DMT01 試験及び P1/2 試験で得られた結果を用いて、パワーモデルにより C_{max} 及び AUC_{0-last} の用量比例性について解析した結果、本剤 1.25～80 mg/kg の範囲において C_{max} 及び AUC_{0-last} は用量比例性を示した（2.7.2.3.1.4 項参照）。また、$t_{1/2}$、CL_{tot} 及び Vd_{ss} について、用量間で差は認められなかった。

P1/2 試験において、初回投与時及び投与 24 週時の C_{max}、AUC_{0-last}、$t_{1/2}$、CL_{tot}、Vd_{ss}、t_{max} 及び尿中排泄率を比較した結果、40 及び 80 mg/kg 群のいずれの薬物動態パラメータにおいても、初回投与時及び投与 24 週時の間で統計学的に有意な差は認められなかったことから、反復投与による影響はないと考えられた（2.7.2.3.1.3 項参照）。

2.5.3.3 分布

ビルトラルセンのヒトの *in vitro* 血清タンパク結合率（平均値）は 39.4%～40.3%であった。

P1/2 試験において、日本人 DMD 患者に本剤 80 mg/kg を週 1 回、24 週間反復静脈内投与した際の初回投与時の Vd_{ss}（平均値）は 223 mL/kg であった（2.7.2.3.1.1（1）項参照）。

2.5.3.4 代謝

ヒトの血清及び肝臓由来試料（ミクロソーム及び S9）を用いて、^{14}C-ビルトラルセンの代謝安定性を放射線検出器を接続した高速液体クロマトグラフィー（Radio-HPLC）で評価した。また、deoxyribonuclease I（DNase I）及び phosphodiesterase 1（PDE 1）に対する代謝安定性についても同

様に評価した（2.7.2.2.1.2（1）項参照）。その結果、いずれの試料においても ^{14}C-ビルトラルセンは減少しなかった。また、ビルトラルセンの不純物及びその他のピークの明らかな増減は認められず、明確な代謝物ピークは検出されなかった。したがって、^{14}C-ビルトラルセンはヒトの血清及び肝臓並びに DNase I 及び PDE 1 による代謝に対して安定であると考えられた。

In vitro 及び *in vivo* における代謝の検討において、ビルトラルセンは安定であること（2.6.4.5 項参照）、また、ヒトに本剤を投与した際に大半が未変化体として尿中に排泄されることから、代謝経路の検討は実施していない。

2.5.3.5 排泄

P1/2 試験において、日本人 DMD 患者に本剤 80 mg/kg を週 1 回、24 週間反復静脈内投与した際、投与後 24 時間までの尿中排泄率（平均値）は、初回投与時が 92.0%、24 週投与時が 93.1%であり、投与された本剤の大半が投与後 24 時間以内に尿中へ未変化体として排泄された。

2.5.3.6 薬物動態に及ぼす内因性要因の影響

2.5.3.6.1 人種

日本人 DMD 患者（P1/2 試験）及び外国人 DMD 患者（201 試験）に、本剤 80 mg/kg を 1 時間かけて静脈内投与した際、初回投与時において、日本人 DMD 患者及び外国人 DMD 患者の C_{max}（平均値±標準偏差）は 321000 ± 74800 及び 239000 ± 37000 ng/mL、$AUC_{0-\infty}$（平均値±標準偏差）は 491000 ± 125000 及び 436000 ± 135000 ng·hr/mL であった。24 週投与時において、日本人 DMD 患者及び外国人 DMD 患者の C_{max}（平均値±標準偏差）は 329000 ± 91000 及び 228000 ± 35800 ng/mL、$AUC_{0-\infty}$（平均値±標準偏差）は 508000 ± 111000 及び 387000 ± 106000 ng·hr/mL であった。また、日本人 DMD 患者及び外国人 DMD 患者の t_{max}（中央値）は 0.7～1 時間、$t_{1/2}$（平均値）は 2.2～2.5 時間であった。

以上より、日本人 DMD 患者と外国人 DMD 患者の間で薬物動態に顕著な差は認められなかった。

日本人 DMD 患者及び外国人 DMD 患者の投与後 24 時間までの尿中排泄率は、初回投与時が 92.0 ± 12.5 及び 75.4 ± 36.6%、24 週投与時が 93.1 ± 8.0 及び 71.1 ± 24.3%であり、日本人 DMD 患者より外国人 DMD 患者の尿中排泄率は低値を示した。しかしながら、日本人及び外国人 DMD 患者の尿中排泄率の差については検討した症例数が少なく、外国人 DMD 患者でばらつきが大きいため個体間差とも考えられたが、要因は不明であった。なお、臨床試験において、日本人及び外国人 DMD 患者のいずれも、本剤投与による腎機能への明らかな影響は認められていない（2.7.4.2.1.5 項参照）

2.5.3.7 薬物動態に及ぼす外因性要因の影響

2.5.3.7.1 薬物相互作用

In vitro で CYP 及び UGT に対するビルトラルセンの阻害作用及び誘導作用、並びに薬物トランスポーターに対する阻害作用を検討した結果、ビルトラルセンは CYP3A4 を除く CYP 各分子種に対して誘導作用を示さなかった。CYP3A4 に関しては、検討した 3 ロット中の 1 ロットにおい

て高濃度（3 mmol/L）でのみ誘導作用が認められた。P1/2 試験において、DMD 患者に本剤 80 mg/kg を週 1 回、1 時間かけて静脈内投与した際の 24 週投与時における C_{max} の平均値は 329000 ng/mL（47.5 μmol/L）であり、*in vitro* 試験で誘導作用が認められた濃度（3 mmol/L）とは約 60 倍の乖離があることから、臨床においてビルトラルセンが CYP3A4 誘導作用を示す可能性はないと考えられた。したがって、CYP 各分子種の誘導作用はないと判断した。

一方、CYP3A4（基質：テストステロン）、UGT1A1、BCRP、OATP1B1、OATP1B3 及び OAT3 に対し、ビルトラルセンは阻害作用を示した。これらの分子種の Ki 値又は IC_{50} 値、及び P1/2 試験における C_{max} の平均値（47.5 μmol/L）を用いて、「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン」（平成 30 年 7 月 23 日付け 薬生薬審発 0723 第 4 号）に基づき、ビルトラルセンの阻害作用を評価した。その結果、臨床においては、*in vitro* 試験で阻害作用を示した薬物代謝酵素（CYP3A4 及び UGT1A1）及び薬物トランスポーター（BCRP、OATP1B1、OATP1B3 及び OAT3）による阻害作用のリスクは低いことから、本剤の臨床薬物相互作用試験は不要と判断した（2.7.2.3.3.1 項参照）。

2.5.3.8 薬力学

2.5.3.8.1 ジストロフィン定量値と血漿中濃度との関係

P1/2 試験において、投与後 12 及び 24 週時のウェスタンブロット［P1/2 試験で最初に実施したウェスタンブロット（旧法）よりも感度及び定量性を向上させたウェスタンブロット：以下、新法］によるジストロフィン定量値のベースラインからの変化量と 24 週投与時の血漿中濃度（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-last}}$）の関係を検討した結果、ジストロフィン定量値のベースラインからの変化量と C_{max} 及び $AUC_{0\text{-last}}$ の相関係数は 0.03 及び 0.205 であり、相関は低かった。

201 試験において、25 週投与時のウェスタンブロット（ミオシン重鎖及び α-アクチニンによる標準化）、免疫蛍光染色（ジストロフィン、ラミニン α2 及び α-サルコグリカンを染色）及び LC-MS/MS によるジストロフィン定量値のベースラインからの変化量と 24 週投与時の血漿中濃度（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-last}}$）の関係を検討した。その結果、ウェスタンブロット（ミオシン重鎖及び α-アクチニンによる標準化）及び免疫蛍光染色（ラミニン α2 及び α-サルコグリカンを染色）によるジストロフィン定量値のベースラインからの変化量と血漿中濃度（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-last}}$）の相関は低かったが、免疫蛍光染色（ジストロフィンを染色）及び LC-MS/MS によるジストロフィン定量値は、血漿中濃度（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-last}}$）が高いほど増加する傾向が認められた。

2.5.3.8.2 エクソン 53 スキッピング効率と血漿中濃度との関係

P1/2 試験において、投与後 12 及び 24 週時のエクソン 53 スキッピング効率（質量濃度比）のベースラインからの変化量と 24 週投与時の血漿中濃度（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-last}}$）の関係を検討した結果、エクソン 53 スキッピング効率のベースラインからの変化量と C_{max} 及び $AUC_{0\text{-last}}$ の相関係数は 0.494 及び 0.675 であり、血漿中濃度（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-last}}$）が高いほど、エクソン 53 スキッピング効率が高くなる傾向が認められた。

201 試験において、25 週投与時のエクソン 53 スキッピング効率（モル濃度比及び質量濃度比）のベースラインからの変化量と 24 週投与時の血漿中濃度（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-last}}$）の関係を検討した

結果、血漿中濃度（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}last}$）が高いほど、エクソン 53 スキッピング効率（モル濃度比及び質量濃度比）が高くなる傾向が認められた。

2.5.3.8.3 QT 間隔に及ぼす影響

本剤は正常な遺伝子発現に影響する可能性が否定できないため、安全性の観点から健常人を対象にした QT/QTc 評価試験を実施しなかった。また、本剤の非臨床試験及び臨床試験において、QT/QTc 延長及び催不整脈リスクは示唆されていないため、QT/QTc 評価試験は不要と判断した（2.7.2.3.4.3 項参照）。

2.5.3.9 免疫原性

P1/2 試験、201 試験、202 試験及び DMT01 試験において、本剤投与により発現するジストロフィン及び本剤の免疫原性を検討するため、抗ジストロフィン抗体をウェスタンブロットにより測定し、抗ビルトラルセン抗体を ELISA により測定した。

P1/2 試験、202 試験及び DMT01 試験において、抗ジストロフィン抗体及び抗ビルトラルセン抗体を測定した結果、全例で陰性であった。

201 試験では、投与前、5（抗ビルトラルセン抗体のみ）、13 及び 24 週投与時に、抗ジストロフィン抗体及び抗ビルトラルセン抗体を測定した結果、抗ビルトラルセン抗体は全例で陰性であったが、80 mg/kg 群 1 例で 13 及び 24 週投与時に抗ジストロフィン抗体が検出された。しかしながら、本被験者において、25 週投与時のウェスタンブロットによるジストロフィン発現量のベースラインからの変化量は 4.79%（ミオシン重鎖による標準化）及び 2.34%（α-アクチニンによる標準化）であり（表 2.7.6.1.4.2-13 参照）、また、過敏症に関連した有害事象は認められなかった。

2.5.4 有効性の概括評価

本剤の有効性評価に用いた 201 試験、P1/2 試験及び DMT01 試験の概要を表 2.5.4-1 に示す。

表 2.5.4-1 有効性評価に用いた試験の概要

試験番号 フェーズ	試験デザイン	対象患者	投与例数	有効性評価項目	添付資料番号
NS-065/NCNP-01-201 海外第 II 相	用量設定、自然歴対象 Period 1(4 週間)： ランダム化 二重盲検 プラセボ対照 Period 2(20 週間)： オープンラベル	DMD 患者 [a] (4-<10 歳) 男性 歩行可能	40 mg/kg 群 8 例 80 mg/kg 群 8 例 4 週間： プラセボ群 5 例 40 mg/kg 群 6 例 80 mg/kg 群 5 例 20 週間 40 mg/kg 群 8 例 80 mg/kg 群 8 例	主要：ジストロフィン蛋白(WB) 副次：ジストロフィン蛋白(IF、MS)、ジストロフィン mRNA(RT-PCR)、運動機能評価	5.3.5.1-1 （評価）
NS065/NCNP01-P1/2 国内第 I/II 相	用量設定、 並行群間比較、 オープンラベル 24 週間	DMD 患者 [a] (5-<18 歳) 男性 歩行の可否問わない	40 mg/kg 群 8 例 80 mg/kg 群 8 例	主要：ジストロフィン蛋白(WB、IF)、ジストロフィン mRNA(RT-PCR) 副次：運動機能評価、血清 CK 値	5.3.5.1-2 （評価）
NCNP/DMT01 国内第 I 相	オープンラベル、 用量漸増 12 週間	DMD 患者 [a] (5-<18 歳) 男性 歩行不能 [b]	1.25 mg/kg 群 3 例 5 mg/kg 群 3 例 20 mg/kg 群 4 例	副次 [c]：ジストロフィン蛋白(WB、IF)、ジストロフィン mRNA(RT-PCR)、血清 CK 値	5.3.5.2-1 （評価）

DMD：デュシェンヌ型筋ジストロフィー、WB：ウェスタンブロット、IF：免疫蛍光染色
a：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
b：原則、歩行不能としたが、歩行可能な被験者が 10 例中 3 例組み入れられた。
c：安全性が主要評価項目

2.5.4.1 対象患者集団の特性

2.5.4.1.1 対象患者集団

いずれの試験もエクソン 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男性 DMD 患者を対象とした。ジストロフィン遺伝子の欠失は、multiplex ligation-dependent probe amplification（MLPA）法や comparative genomic hybridization（CGH）法など、ジストロフィン遺伝子の全エクソンコピー数の変化を検出できる検査で確認した。

本疾患を有する成人患者は既に呼吸機能低下や心機能低下を合併していること、本剤の有効性を評価するうえで適切な量の骨格筋を採取することが困難であることが想定されるため、小児を対象とした。年齢の選択基準は、201 試験では 4 歳以上 10 歳未満、P1/2 試験及び DMT01 試験では 5 歳以上 18 歳未満とした。

歩行の可否に関する基準は 3 試験で異なっており、201 試験では補助機器なしで独立歩行可能な患者、P1/2 試験では歩行の可否を問わないとした。DMT01 試験では、原則自力歩行が不可能な患者としたが、組み入れ状況により、自力歩行可能な患者の組み入れも可とした。

いずれの試験も病態の進行により心肺機能が低下している患者、B 型肝炎ウイルス表面（HBs）抗原、C 型肝炎ウイルス（HCV）抗体及びヒト免疫不全ウイルス（HIV）抗体で陽性である患者は除外した。また、P1/2 試験及び DMT01 試験では重度の肝疾患又は腎疾患を有する患者、免疫不全又は自己免疫疾患を有する患者を除外した。

有効性に影響を及ぼす薬剤の併用は原則禁止した。また、治験開始 3 ヵ月前から治験終了までは手術を禁止した。P1/2 試験では治験開始 3 ヵ月前から、201 試験では治験中の新たな理学療法等の開始及びスケジュールの変更を禁止した。

ステロイドに関して、201 試験では試験組み入れの 3 ヵ月前からグルココルチコイドの使用を必須としており、試験組み入れの 3 ヵ月前から試験終了まで用量変更を必要最低限に抑えることを推奨した。P1/2 試験では、治療開始 3 ヵ月前から後観察期終了時まで、全身性コルチコステロイド剤による新たな治療の開始及び用法・用量の変更を原則禁止したが、局所使用を目的とした外用剤、及び検査目的の場合は併用可とした。DMT01 試験では、仮登録以降ステロイドの用法・用量の著しい変更は禁止した。

選択・除外基準、前治療及び併用療法に関する詳細は 2.7.3.1.2 項に示した。

各試験に組み入れられた患者集団の人口統計学的特性及びベースライン時の特性を表 2.5.4.1.1-1 に示す。

被験者の年齢平均値（最小～最大）は、201 試験で 7.4（4.3～9.8）歳、P1/2 試験で 8.4（5～12）歳、DMT01 試験で 11（6～16）歳であった。被験者はいずれも男性で、201 試験では 1 例を除き白人、P1/2 試験及び DMT01 試験は全例アジア人であった。

体重、身長及び BMI は、DMT01 試験、P1/2 試験、201 試験の順に高く、これは組み入れられた被験者の年齢が関連すると考えられた。

エクソン欠失部位は、3 試験共に 45-52 欠失の被験者が一番多く、43-52 欠失の被験者はエントリーしなかった。

自立歩行の可否については、前述のとおり選択基準が 3 試験で異なるため、組み入れられた被験者も 201 試験では全例、P1/2 試験では 16 例中 13 例、DMT01 試験では 10 例中 3 例が歩行可能と試験間で異なっていた。

ステロイドは、201 試験では全例、P1/2 試験では 16 例中 14 例、DMT01 試験では 10 例中 6 例が使用していた。

表 2.5.4.1.1-1 人口統計学的特性及びベースライン時の特性

		201 試験 (N=16)	P1/2 試験 (N=16)	DMT01 試験 (N=10)
性別	男	16 (100.0)	16 (100.0)	10 (100.0)
年齢 [a] (歳)	平均値 (SD)	7.4 (1.84)	8.4 (2.0)	11 (3)
	中央値	7.7	9	12
	最小、最大	4.3, 9.8	5, 12	6, 16
人種 n (%)	白人	15 (93.8)	0	0
	アジア人	1 (6.3)	16 (100.0)	10 (100.0)
体重 (kg)	平均値(SD)	23.0 (5.34)	28.3 (10.5)	41.3 (17.5)
	中央値	22.7	25	38.8
	最小、最大	14.9, 35.4	16, 52.1	23.4, 83.4
身長 (cm)	平均値(SD)	113.4 (8.22)	120.3 (12.4)	135.8 (14.3)
	中央値	114.1	119.6	138.0
	最小、最大	99.4, 127.1	98, 140.7	113.5, 154.0
BMI (kg/m^2)	平均値(SD)	17.7 (2.10)	19.0 (4.0)	22.0 (7.1)
	中央値	17.26	17.5	19.9
	最小、最大	14.2, 21.9	15.3, 30.2	15.3, 36.6
エクソンの欠失部位 n(%)	43-52	0	0	0
	45-52	7 (43.8)	6 (37.5)	5 (50.0)
	47-52	1 (6.3)	0	0
	48-52	3 (18.8)	3 (18.8)	4 (40.0)
	49-52	3 (18.8)	2 (12.5)	1 (10.0)
	50-52	2 (12.5)	2 (12.5)	0
	52	0	3 (18.8)	0
自立歩行の可否 n(%)	可能	16 (100.0)	13 (81.3)	3 (30.0)
	不可能	0	3 (18.8)	7 (70.0)
ステロイド使用 n(%)	有	16 (100.0)	14 (87.5)	6 (60.0)
	無	0	2 (12.5)	4 (40.0)

SD：標準偏差
a：P1/2 試験、DMT01 試験は投与開始日、201 試験は同意取得日の年齢

［5.3.5.1-1 Table 14、Table 15、5.3.5.1-2 表 14.1-1、5.3.5.2-1 表 11.2-1、表 11.2-2 を改変］

2.5.4.1.2 試験対象集団と市販後投与対象集団との差異

臨床試験では、上述のように有効性及び安全性の評価が可能な患者を選択するため小児を対象としていた。そのため、臨床試験では 4 歳未満及び 17 歳以上の患者は組み入れられなかった。また、全ての試験で心肺機能が低下している患者、HBs 抗原、HCV 抗体及び HIV 抗体で陽性である患者を除外し、国内 2 試験では重度の肝疾患又は腎疾患を有する患者、免疫不全又は自己免疫疾患を有する患者を除外していた。市販後では、これらの乳幼児や成人の患者、原疾患が進行して心肺機能等が低下している患者などへの投与も想定される。

また、選択基準で規定していたエクソン 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欠失のうち、エクソン 43-52 欠失の患者はいずれの臨床試験にも組み入れられなかった。市販後ではエクソン 43-52 欠失の患者が対象となる可能性もあるが、国内外の臨床試験の結果、本剤の安全性は概ね良好であったことから、他の欠失患者と同様に、エクソン 43-52 欠失の患者へ投与する際の安全性上のリスクはないと想定される。

2.5.4.2 試験デザイン

（1） 海外第 II 相試験（NS-065/NCNP-01-201 試験）＜評価資料＞

201 試験は、DMD 患者 16 例を対象として海外 6 施設（米国及びカナダ）で実施した用量設定試験であり、本剤 40 又は 80 mg/kg を週 1 回、20 又は 24 週間投与した際の有効性、安全性及び薬物動態を評価した。本試験は、安全性を確認するためのプラセボを対照とした 4 週間のランダム化二重盲検期と、それに続く 20 週間のオープンラベル期の計 24 週間で構成された。オープンラベル期終了後、希望する被験者は継続試験（202 試験）に参加できることとしており、全ての被験者が 202 試験に移行した。

（2） 国内第 I/II 相試験（NS065/NCNP01-P1/2 試験）＜評価資料＞

P1/2 試験は、日本人 DMD 患者 16 例を対象として国内 5 施設で実施したオープンラベルの用量設定試験である。本剤 40 又は 80 mg/kg を週 1 回、24 週間投与した際の有効性をジストロフィン発現及びエクソン 53 スキッピング効率を指標として検討することを主目的とし、有効性、安全性及び薬物動態を評価した。

本試験の対象疾患である DMD は重篤な進行性の疾患であり、有効性評価のために実施する筋生検は侵襲性の高い検査であること、また、本試験の投与量は初めて人に投与される用量であるため、忍容性を確認しながら低用量から投与する必要があったことから、プラセボを対照と設定せず、オープンラベルのデザインとした。なお、本試験の有効性の指標であるジストロフィンの発現及びエクソン 53 スキッピング効率は客観的な評価手法であり、オープンラベル試験であっても本剤の有効性の評価は可能と判断した。

（3） 国内第 I 相試験（NCNP/DMT01 試験）＜評価資料＞

本剤の first-in-human 試験である DMT01 試験は、日本人 DMD 患者 10 例を対象として単一施設で実施したオープンラベルの医師主導治験であり、本剤 1.25、5 又は 20 mg/kg を週 1 回、12 週間投与した際の安全性、薬物動態及び有効性の検討を目的とした。本剤は遺伝子変異特異的に作用する機序によって効果を期待するものであり、健康成人においてはジストロフィン mRNA のフレームシフト変異を誘導し、ジストロフィンタンパク質の発現を低下させる可能性があることから、DMD 患者を対象とした。

2.5.4.2.1 用法・用量

臨床試験における用法はいずれも、割り付けられた投与量を週 1 回、1 時間かけて静脈内投与であった。投与期間は、DMT01 試験では 12 週間、P1/2 試験及び 201 試験では 24 週間とした。

投与量は、DMT01 試験では 1.25、5、又は 20 mg/kg、P1/2 試験及び 201 試験では 40 又は 80 mg/kg であった。201 試験では、最初の 4 週間は安全性を確認するためのプラセボを対照とした 3 群のランダム化二重盲検期であり、その後 40 及び 80 mg/kg の 2 群による 20 週間のオープンラベル期へ移行した。

いずれの試験においても低用量群から開始し、安全性を確認したのち、次の用量群へ移行した。

2.5.4.2.2 有効性評価項目

各試験の有効性評価項目を表 2.5.4.2.2-1 に示す。

表 2.5.4.2.2-1 有効性評価項目

評価項目	201 試験	P1/2 試験	DMT01 試験 [a]
ジストロフィン			
ウェスタンブロット	主要	主要	副次
免疫蛍光染色	副次	主要	副次
質量分析	副次	－	－
RT-PCR [b]	副次	主要	副次
運動機能評価			
TTRW	副次（速度、秒）	副次（速度）	－
TTSTAND/TTRF	副次（TTSTAND 速度、秒）	副次（TTRF 速度）	－
6MWT	副次	副次	－
TTCLIMB	副次（速度、秒）	－	－
Timed Up & Go test	－	副次（速度）	－
NSAA	副次	－	－
QMT [c]	副次	副次	－
血清 CK 値	（安全性データに含まれる）	副次	副次

TTRW：10 m 走行/歩行時間、TTSTAND：time to stand（立ち上がり時間）、TTRF：time to rise from floor（床上起き上がり時間）、6MWT：6 分間歩行試験、TTCLIMB：4 段階段昇り時間、NSAA：ノース・スター歩行能力評価

a：DMT01 試験では、安全性が主要評価項目であった。

b：RT-PCR によるエクソン 53 スキッピング効率（%）は下記の式で算出した。

$$\text{スキッピング効率（\%）} = \frac{\text{エクソン 53 を含まない増幅産物}}{\text{（エクソン 53 を含まない増幅産物 + エクソン 53 を含む増幅産物）}} \times 100$$

c：201 試験と 1/2 試験では、測定部位及び装置（各々CINRG QMT system 及びマイクロ FET 筋力計）が異なっていた。201 試験：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）、膝関節伸筋（大腿四頭筋）、P1/2 試験：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

いずれの試験においてもジストロフィンの発現を評価した。201 試験では、ウェスタンブロットで測定したジストロフィン発現を主要評価項目とし、免疫蛍光染色及び質量分析によるジストロフィン発現、RT-PCR によるジストロフィン mRNA のエクソン 53 スキッピング効率を副次評価項目とした。P1/2 試験では、ウェスタンブロット及び免疫蛍光染色によるジストロフィン発現、RT-PCR によるエクソン 53 スキッピング効率を主要評価項目とし、DMT01 試験ではこれらを副次評価項目とした。測定時期は初回投与前と、201 試験では 24 週後（Week 25）、P1/2 試験では 12 週後（V12-13）及び 24 週後（V24-26）の被験者が半数ずつ、DMT01 試験では 12 週後であった。

201 試験及び P1/2 試験では、運動機能評価を副次評価項目とした。両試験共に 10 m 走行/歩行時間（TTRW）及び 6 分間歩行試験（6MWT）を評価した。また、201 試験では立ち上がり時間（TTSTAND）、P1/2 試験では床上起き上がり時間（TTRF）を評価しており、これらは同じ評価項目であった。さらに、201 試験では TTCLIMB 及びノース・スター歩行能力評価（NSAA）を、P1/2 試験では Timed Up & Go test を評価した。定量的筋力検査（QMT）は、201 試験及び P1/2 試験で評価されたが、測定部位及び装置が異なっていたため試験間の比較は困難である。運動機能評価の測定時期は、両試験共に 12 週後と 24 週後であった。DMD 治療薬の医薬品開発において、DMD 患者の運動機能を評価する指標としては 6MWT が汎用され、特に開発後期段階の臨床試験の主要

評価項目として標準的に使用されてきたが、どの評価方法が最適かについては結論には至っていない。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 [25]においても、運動機能評価に関して明確な指針や推奨は示されておらず、患者の年齢や重症度に応じた評価項目の説明に留まっている。

血清 CK 値は、P1/2 試験及び DMT01 試験では副次評価項目であった。201 試験では有効性評価項目ではなかったが、安全性の結果として報告されているため、試験間の比較は可能である。

2.5.4.2.3 対照群

201 試験では、副次評価項目の運動機能評価を自然歴群と比較した。自然歴群は米国の筋ジストロフィーの臨床試験ネットワークである cooperative international neuromuscular research group（CINRG）が実施した Duchenne natural history study（DNHS）と呼ばれる研究から、ベースライン時のデータ（自然歴への参加同意取得後最初のデータ）に基づき選択した。

CINRG DNHS は男性 440 名の DMD 患者を対象とした縦断的自然歴研究であり [26,27,28]、2006 年から 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、最長 10 年間来院することとしていた。各来院時には時間機能検査、筋力検査、アンケートによる機能検査、肺機能検査、生活の質の評価が実施された。

外部コントロールの使用においては、治療群と外部コントロール群の間で、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ことが重要である [25]。また、自然歴データとの比較を行う上では、運動機能評価時の励まし方の違い等の潜在的なバイアスの原因を排除又は最小化する必要がある [25]。

そこで、CINRG DNHS から、年齢、地域、ステロイドの使用状況及び遺伝子型等について 201 試験の重要な以下の選択・除外基準を満たす患者を 201 試験の自然歴群として選択した。また、201 試験は CINRG に所属する医療機関で行い、運動機能評価のマニュアルは CINRG DNHS と統一した。更に、各施設の試験開始前に CINRG の評価者訓練を受け、認定を受けた評価者のみが評価を行った。

- 少なくとも 12 ヵ月の時間機能検査データがある［ベースライン時の 10 m 歩行/走行時間（TTRW）、立ち上がり時間（TTSTAND）及び 4 段階段昇り時間（TTCLIMB）のデータが必要］。
- ベースライン時に 4 歳以上 10 歳未満
- 北アメリカ（米国又はカナダ）に居住
- コルチコステロイドを少なくとも 3 ヵ月間投与し、12-24 ヵ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同時に登録していない。
- 下記の遺伝的適格性基準を満たす。

  （選択基準）：
  - 遺伝子検査結果がある患者
  - 重複変異をもつ患者

- 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もつ患者

（除外基準）：

- プロモーターからエクソン 8 の間に変異がある患者（病状の進行が遅いとの報告[29,30)]があることから除外した）
- エクソン 44 スキッピング治療対象の患者（病状の進行が遅いとの報告[30)]があることから除外した）
- イン・フレーム変異をもつ患者
- リーディングフレームかどうかを判断できない変異をもつ患者

その結果、男児 DMD 患者 65 例が上記基準を満たし、そのうち、9 例はエクソン 53 スキッピング治療対象の DMD 患者（エクソン 53 スキッピング群）、56 例はエクソン 53 スキッピング治療対象外の DMD 患者（非エクソン 53 スキッピング群）であった。なお、エクソン 53 スキッピング治療対象の DMD 患者は、他の DMD 患者と病状の進行経過に差がないか[30,31,32)]、あるいは病状の進行が早い[33)]との報告があることから、DNHS にエクソン 53 スキッピング治療対象以外の DMD 患者を加えて比較したとしても本剤群が有利になることはないため、比較可能と考えた。

なお、患者背景の影響を除去するために、年齢及びベースライン値を共変量とした mixed model for repeated measures（MMRM）解析を用いて比較した（2.5.4.3 項参照）。

2.5.4.2.4 評価スケールのバリデーションに関する考察

運動機能の評価において、励まし方の違いのような潜在的なバイアスの原因は排除又は最小化することが推奨されており、評価手順書や評価者のトレーニングを統一し、標準化することは、バイアスを低減する上で重要である。P1/2 試験及び 201 試験ともに試験開始前に各施設の運動機能評価の実施者（主に理学療法士）に対してトレーニングを実施した。P1/2 試験では Master PT（NCNP に所属する運動機能評価の経験が豊富な理学療法士）、201 試験では CINRG の認証を受けた CINRG Gold Standard Clinical Evaluator の指導の下、トレーニングを行った。トレーニング期間は 201 試験が 2 日、P1/2 試験は 1 日であり、トレーニングの後に認定テストを実施した。

201 試験では、治験実施計画書で CINRG DNHS を比較対照群として運動機能評価の比較を行うことを規定していたことから、運動機能評価の規定や手順は可能な限り CINRG に合わせた。具体的には運動機能評価の手順書は CINRG と同じものを使用し、運動機能評価の評価者のトレーニング方法と評価者の認証方法も CINRG の規定に基づいて実施し、さらに治験実施施設も CINRG に加入している施設に限定した。

201 試験と P1/2 試験の運動機能評価手順を比較した結果を表 2.5.4.2.4-1 に示す。P1/2 試験及び 201 試験において、評価の順序以外に顕著な差異は認められなかった。評価の順序については、P1/2 試験では疲労や集中力の低下による運動機能評価への影響を考慮し、重視していた 6MWT を最初に実施し、201 試験では重視していた TTSATND を最初に実施した。

測定ポイントについて、CINRG DNHS はベースライン、3 ヵ月及び 6 ヵ月、201 試験はベースライン、Week 13 及び Week 25、P1/2 試験ではベースライン、Week 12-13 及び Week 24-26 としており、各試験間で差異は認められなかった。

表 2.5.4.2.4-1 201 試験と P1/2 試験の運動機能評価手順の差異

項目	P1/2 試験	201 試験
評価の順序	1. 6MWT 2. TTSTAND 3. Timed up & Go 4. TTRW 5. QMT	1. TTSTAND 2. TTRW 3. TTCLIMB 4. NSAA 5. 6MWT 6. QMT
評価方法	評価方法に大きな差異はなかった。	
評価時の被験者への指示	被験者への説明、励ますための声掛けの内容に、両試験に特に大きな差異はなかった。	
評価に際しての注意事項	装具の使用、測定中の家族等の同席等、運動機能に影響する注意事項について、両試験に差異はなかった。	

2.5.4.3 統計学的手法及び試験結果の解釈に影響すると考えられる問題点

201 試験において、CINRG DNHS の患者群との比較では、治療群、来院週、来院週と治療の交互作用を因子とし、201 試験のエントリーもしくは CINRG DNHS のベースライン時の年齢とベースライン値を共変量とした restricted maximum likelihood（REML）による MMRM 解析により、ベースラインからの変化量を比較した。来院週（13 週及び 25 週）を、来院週と治療の交互作用とともにカテゴリー変数としてモデルに含めた。

また、201 試験では、試験期間中に主要評価項目の変更を行った（2.7.3.1.3 項参照）。201 試験の最初のプロトコール（2016 年 3 月 24 日）では、有効性の主要評価項目は「質量分析によるジストロフィン発現」であった。しかしながら、2016 年 9 月に、類薬である eteplirsen がウェスタンブロットによるジストロフィン発現を主要評価項目として FDA により承認された。そこで、201 試験においても主要評価項目を eteplirsen と同様に「ウェスタンブロットによるジストロフィン発現」に変更し、「質量分析によるジストロフィン発現」は副次評価項目とした（プロトコール Amendment 5：2017 年 10 月 30 日）。なお、この主要評価項目の変更については、[redacted] meeting（[redacted] 年[redacted] 月）により FDA の合意を得ており、この時点で臨床検体のジストロフィン測定は実施していなかったことから、本剤の有効性評価に影響はなかったと考える。

P1/2 試験では、歩行機能の状態（歩行可能、歩行不能）を層別因子とし、投与群（40 mg/kg 群、80 mg/kg 群）並びに筋生検の実施時期（12 週時、24 週時）の組み合わせで構成される 4 水準に対して、可能な限り歩行可能・歩行不能の被験者数が均等になるように割り付けた。ただし、80 mg/kg 群の投与を開始する前に 40 mg/kg 群の安全性データを安全性評価委員会で審議する必要があることから、開始後 6 例は 40 mg/kg 群に優先的に振り分けた。また、試験開始時に 16 例を集積できるかどうかが不明確であり、12 週よりも 24 週でジストロフィン発現量が大きくなることが予想されたため、より明確に有効性を評価することが可能であると考えられる 24 週の筋生検を優先的に割り付けた。

2.5.4.4 有効性の主要な結果

（1） ジストロフィンの発現

201 試験及び P1/2 試験における、ベースラインから投与 24 週後までのウェスタンブロットによるジストロフィン発現量、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、LC-MS/MS

（質量分析）によるジストロフィン発現量及び RT-PCR によるエクソン 53 スキッピング効率を表 2.5.4.4-1 に示す。なお、LC-MS/MS は P1/2 試験では測定しなかった。

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量の平均値は、40 mg/kg 群では P1/2 試験で 1.458%、201 試験で 5.4%と 201 試験で高かったが、80 mg/kg 群では P1/2 試験で 4.814%、201 試験で 5.3%と同等であった。また、201 試験では、40 mg/kg 群で 8 例中 7 例、80 mg/kg 群で 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%を超えていた。さらに、ジストロフィン変化量が 10%を超えた症例は 40 mg/kg 群で 1 例（10.03%）、80 mg/kg 群で 2 例（10.31%、13.91%）認められた。P1/2 試験では、80 mg/kg 群で 24 週時に筋生検を行った 4 例中 3 例でジストロフィン変化量は 4%を超えていた（7.85%、6.42%、4.30%）。

免疫蛍光染色によるジストロフィン陽性筋線維数の変化量の平均値は、201 試験では 40 mg/kg 群で 12.8%、80 mg/kg 群で 33.0%、P1/2 試験では 40 mg/kg 群で 0.0%、80 mg/kg 群で 2.2%といずれの試験でも 80 mg/kg 群の方が大きく増加していた。なお、P1/2 試験では 80 mg/kg 群の 1 例（被験者 [redacted] ）で顕著な増加が認められたが、他の被験者で大きな増加が認められなかった。この原因としては、切片の全領域を撮像することを試験計画書で規定していたため、評価に適さない領域（筋線維が少ない領域等）も評価してしまったことが考えられた。

LC-MS/MS によるジストロフィンの投与前後の変化量の平均値は、201 試験の 40 mg/kg 群で 1.5%、80 mg/kg 群で 3.7%であった。

RT-PCR によるエクソン 53 スキッピング効率の投与前後の変化量の平均値は、201 試験では 40 mg/kg 群で 17.4%、80 mg/kg 群で 43.9%、P1/2 試験では 40 mg/kg 群で 27.97%、80 mg/kg 群で 49.70%であり、いずれも 80 mg/kg 群の方が大きく増加した。

表 2.5.4.4-1 201 試験及び P1/2 試験におけるジストロフィン発現及びエクソン 53 スキッピング効率

	試験	用量	N	平均値（標準偏差）%			対応のある t 検定
				ベースライン	24 週後	変化量	
ウェスタンブロットによるジストロフィン発現（正常対照に対する割合）	201 試験 [a]	40 mg/kg	8	0.3 (0.10)	5.7 (2.37)	5.4 (2.40)	P = 0.0004
		80 mg/kg	8	0.6 (0.82)	5.9 (4.50)	5.3 (4.48)	P = 0.0123
	P1/2 試験 [b]	40 mg/kg	4	0.459 (0.150)	1.916 (1.701)	1.458 (1.587)	P = 0.1636
		80 mg/kg	4	0.394 (0.167)	5.208 (3.122)	4.814 (3.113)	P = 0.0536
免疫蛍光染色による陽性筋線維数の割合	201 試験	40 mg/kg	8	1.5 (0.98)	14.2 (7.77)	12.8 (8.05)	P = 0.0028
		80 mg/kg	8	1.8 (2.36)	34.8 (20.42)	33.0 (20.43)	P = 0.0026
	P1/2 試験	40 mg/kg	4	0.2 (0.2)	0.2 (0.3)	0.0 (0.4)	P = 0.9834
		80 mg/kg	4	0.4 (0.3)	2.6 (3.0)	2.2 (3.0)	P = 0.2344
LC-MS/MS によるジストロフィン発現	201 試験	40 mg/kg	8	0.5 (0.15)	2.1 (1.09)	1.5 (1.11)	P = 0.0061
		80 mg/kg	8	0.6 (0.19)	4.2 (3.73)	3.7 (3.81)	P = 0.0300
	P1/2 試験	-	-	-	-	-	-
RT-PCR によるエクソン 53 スキッピング効率（モル濃度比）	201 試験	40 mg/kg	8	0.0 (0.00)	17.4 (7.17)	17.4 (7.17)	P = 0.0002
		80 mg/kg	8	0.0 (0.00)	43.9 (16.68)	43.9 (16.68)	P = 0.0001
	P1/2 試験	40 mg/kg	4	1.74 (0.74)	29.71 (11.57)	27.97 (10.91)	P = 0.0144
		80 mg/kg	4	2.63 (1.34)	52.33 (8.61)	49.70 (9.00)	P = 0.0016

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：ミオシン重鎖で標準化した値

b：ウェスタンブロット法（新法）による測定結果

［5.3.5.1-1 Table 21、Table 22、Table 14.2.2、Table 14.2.4、Table 14.2.5、5.3.5.3-2 1-5、表 1-7、表 1-9 を改変］

（2） 運動機能評価

運動機能評価に関して、201 試験及び P1/2 試験の両試験で評価した TTRW、TTSTAND/TTRF 及び 6MWT の結果を表 2.5.4.4-2 に示す。

201 試験及び P1/2 試験における TTRW（速度）、201 試験における 6MWT 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。

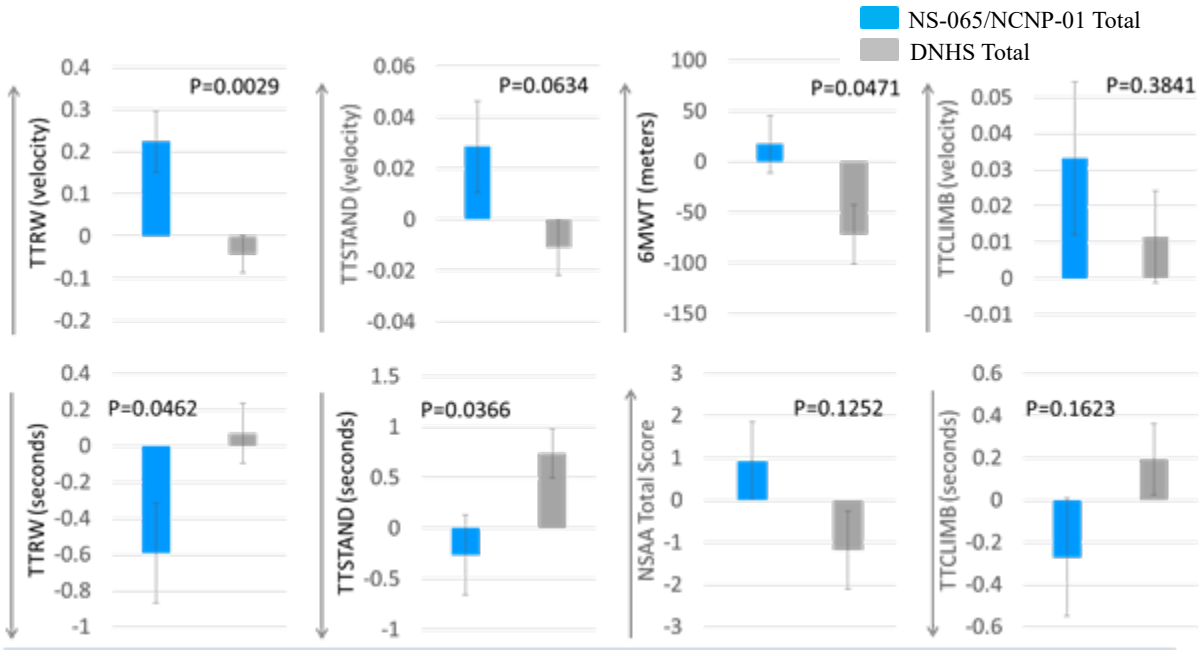
表 2.5.4.4-2 201 試験及び P1/2 試験における運動機能評価（TTRW、TTSTAND/TTRF、6MWT）

	試験	用量	N	平均値（標準偏差）			対応のある t 検定
				ベースライン	24 週後	変化量	
TTRW（m/秒）	201 試験	40 mg/kg	8	1.67 (0.385)	1.88 (0.484)	0.21 (0.291)	P = 0.0784
		80 mg/kg	8	1.88 (0.357)	2.12 (0.394)	0.24 (0.222)	P = 0.0177
	P1/2 試験	40 mg/kg	6	1.659 (0.541)	1.467 (0.625)	-0.192 (0.101)	P = 0.0055
		80 mg/kg	7	1.466 (0.544)	1.386 (0.482)	-0.080 (0.148)	P = 0.2023
TTSTAND/TTRF（rise/秒）	201 試験	40 mg/kg	8	0.26 (0.058)	0.28 (0.128)	0.02 (0.093)	P = 0.4742
		80 mg/kg	8	0.25 (0.090)	0.27 (0.078)	0.02 (0.060)	P = 0.2926
	P1/2 試験	40 mg/kg	5	0.2219 (0.0981)	0.1724 (0.1362)	-0.0496 (0.0408)	P = 0.0531
		80 mg/kg	6	0.1525 (0.0888)	0.1274 (0.0461)	-0.0251 (0.0615)	P = 0.3635
6MWT（m）	201 試験	40 mg/kg	8	391.4 (33.27)	407.0 (38.24)	15.6 (26.40)	P = 0.1381
		80 mg/kg	8	353.4 (106.32)	407.6 (120.07)	44.0 (41.98)	P = 0.0323
	P1/2 試験	40 mg/kg	6	346.5 (102.7)	317.3 (118.1)	-29.2 (37.3)	P = 0.1135
		80 mg/kg	7	316.7 (90.5)	291.7 (88.7)	-25.0 (41.1)	P = 0.1583

［5.3.5.1-1 Table 14.2.8.2、Table 14.2.6.2v2、Table 14.2.9、5.3.5.1-2 表 14.2.2-1 改変］

201 試験において、NS-065/NCNP-01 の治療を受けた被験者（NS-065/NCNP-01 群）16 例と CINRG DNHS の自然歴群（DNHS 群）65 例における、25 週時のベースラインからの時間機能検査［TTRW（速度、秒）、TTSTAND（速度、秒）、6MWT、NSAA、TTCLIMB（速度、秒）］の変化を比較した（図 2.5.4.4-1）。その結果、TTRW（速度）、TTRW（秒）、TTSTAND（秒）及び 6MWT では、本剤群の方が有意に改善した（P=0.0029、P=0.0462、P=0.0366、P=0.0471、MMRM）。

時間機能検査の結果で改善が認められたことにより、本剤投与により誘発されるジストロフィンタンパク発現量は臨床的利益をもたらす可能性が示唆された。



TTRW：10 m 歩行/走行時間、TTSTAND：立ち上がり時間、6MWT：6 分間歩行試験、NSAA：ノース・スター歩行能力評価、TTCLIMB：4 段階段昇り時間、
図左横の↑↓は改善方向を示す。
カラムはベースラインから 25 週時までの変化量の LSM、エラーバーは標準誤差、P 値は MMRM を用いて算出した。
DNHS 群では、TTRW（秒及び速度）は N=43、TTSTAND（速度）及び TTCLIMB（秒及び速度）は N=42、TTSTAND（秒）は N=41、NSAA 合計スコアは N=14、及び 6MWT は N=13 であった。NS-065/NCNP-01 群では、すべてのエンドポイントで N=16 であった。

図 2.5.4.4-1 時間機能検査：25 週時におけるベースラインからの変化-mITT-

［5.3.5.1-1 Figure 6 を引用］

（3） ジストロフィンの発現と運動機能評価との相関

201 試験及び P1/2 試験の各被験者のウェスタンブロットによるジストロフィン定量値の変化量と、時間機能検査（6MWT、TTSTAND、TTRW）の変化量（25 週時）についての散布図、Pearson の相関係数及び回帰直線を作成し、関連性を検討した（図 2.7.3.3.2-1）。

201 試験では、TTSTAND 及び TTRW において、相関係数は低いものの回帰直線の傾きは正の値となった。P1/2 試験では、TTRF 及び TTRW の相関係数(r)はそれぞれ 0.64 及び 0.92 で、回帰直線の傾きは正の値となり、ジストロフィン発現量の増加に伴い運動機能の減少が低下する傾向が見られた。

2.5.4.5 部分集団解析

201 試験及び P1/2 試験において、エクソン欠失部位、歩行可否及び年齢のサブグループにおける本剤の有効性を検討した（2.7.3.3.3 項参照）。なお、サブグループ解析では例数が少ないため、明確な解釈は困難である。

その結果、45-52 欠失及び 49-52 欠失の被験者でジストロフィンの増加量が低い傾向が認められた。このうち、49-52 欠失については、P1/2 試験での増加量が顕著に低く、これは 40 mg/kg 群の

1 例（被験者識別コード：[redacted]）において、ベースラインのジストロフィン定量値が 6.390%と他の被験者と比較して高かったことが影響していると考えられた。

2.5.4.6 推奨される用法・用量

添付文書（案）において、用法及び用量を、「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。

設定根拠を以下に記載する（詳細は 2.7.3.4.2 項参照）。

- first-in-human 試験である 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、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ため、用量設定試験である P1/2 試験及び 201 試験の投与量を 40 及び 80 mg/kg とした。
- DMT01 試験及び P1/2 試験の直線回帰分析により、本剤 1.25～80 mg/kg の範囲において C_{max} 及び AUC_{0-last} は用量比例性を示した。また、本剤 80 mg/kg を 1 時間かけて静脈内投与した際の初回投与時及び 24 週投与時の血漿中 NS-065/NCNP-01 濃度は、日本人 DMD 患者（P1/2 試験）と外国人 DMD 患者（201 試験）で顕著な差は認められなかった。
- 201 試験及び P1/2 試験において、本剤 40 又は 80 mg/kg を DMD 患者 16 例ずつ（2 試験共に各群 8 例）に、週 1 回、24 週間静脈内に投与した結果、安全性ではいずれの用量においても臨床上大きな問題は認められなかった。
- 201 試験及び P1/2 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、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。201 試験では、免疫蛍光染色によるジストロフィン発現量も本剤投与により増加し、40 mg/kg よりも 80 mg/kg を投与した方が統計学的に有意な増加を認めた。さらに、両試験共に本剤投与により RT-PCR によるエクソン 53 スキッピング効率は増加し、40 mg/kg よりも 80 mg/kg を投与した方が統計学的に有意な増加を認めた。

2.5.4.7 観察された効果の臨床的意義

本剤による臨床効果については、P1/2 試験で時間機能検査や筋力検査で用量依存を示唆する結果や、ジストロフィン発現量が多い被験者で運動機能の低下が小さい傾向が認められた。さらに、201 試験では複数の運動機能評価が自然歴と比較して有意に改善していた。

エクソンスキッピング治療は配列特異的に設計したアンチセンス人工核酸を用い、特定のエクソンをスキップすることでジストロフィン遺伝子の mRNA をイン・フレーム化し、ジストロフィン発現を誘導することである。しかしながら、エクソンスキッピング治療により臨床効果が期待できるジストロフィン発現量に関する臨床報告がないため、BMD 患者、女性保因者及びエクソン

44 スキッピング治療対象患者のジストロフィン発現量と臨床症状に関する報告を調査し、臨床効果が期待できるジストロフィン発現量について検討した。

（1） BMD 患者におけるジストロフィン発現量と臨床症状に関する報告

Hoffman らは、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（車椅子年齢）の関連性について、以下の 4 つの臨床カテゴリー（DMD、Severe BMD、Moderate BMD、Mild BMD）に分類され、3%～10%のジストロフィンを発現する Severe BMD は、典型的な BMD 患者（Moderate/Mild BMD）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している [7,8]。

【4 Clinically useful categories】

臨床カテゴリー	車椅子年齢	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	20 歳以上	20%以上
Mild BMD	20 歳以上	20%以上

Van den Bergen らは、33 名の 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、歩行補助具の使用などのクリニカルマイルストーン年齢との間に、直線的な関連はないと報告されており [9]、ジストロフィンの発現量が低い患者でも運動機能が維持されている症例も存在した。

症例報告においては、本剤投与によるものと同じレベルのジストロフィン発現量で、運動機能が維持されている BMD 又は Intermediate muscular dystrophy（IMD）患者の文献が複数報告されている（表 2.5.4.7-1）。

表 2.5.4.7-1 本剤投与によるジストロフィン発現量のレベルで運動機能が維持されている BMD 又は IMD 患者の文献報告

著者	発行年	WB 発現量 [a]	内容
Witting et al. [34]	2011	5%未満	（症例 1）23 歳の BMD 患者（エクソン 26 欠失）。歩行開始年齢は 1 歳 6 ヵ月であり、運動機能発達にわずかな遅れがみられた。16 歳の時点で筋消耗及び筋力低下はなかったが、CK 上昇（1500-7000 U/L）及び筋組織のジストロフィン変化が認められた。20 歳で筋力及び筋量は保持していた。 （症例 2）BMD 患者（症例 1 の伯父）。43 歳で診療を開始し、筋肉痛の症状があった。検査の結果、股関節伸展麻痺（MRC* Grade 4+）及び下腿肥大が認められた。CK 値は正常であり最高値で 500 U/L であった。筋組織では筋変性がみられたが、症例 1 のようなジストロフィン変化はみられなかった。
Witting et al. [35]	2013	5%未満	35 歳の BMD 患者（エクソン 2 のナンセンス変異）。17 歳で初発症状として筋肉痛及び痙攣が発現した。29 歳で左胸壁痛があったが、検査結果は正常であった。30 歳で CK 上昇（1000-2000 U/L）及び筋肥大が認められた。35 歳の時点では広範囲の筋肥大及び遠位大腿四頭筋の筋消耗がみられるが、筋力は正常である（股関節屈曲・内転で MRC Grade 4）。筋組織では線維化、壊死、多核のようなジストロフィン変化がみられた。WB ではジストロフィンの分子量がわずかに小さく、発現量は 5%未満であった。
Martone et al. 36)	2016	7%	BMD 患者（エクソン 44 欠失）。18 歳時点でも歩行可能であり、15 歳時点の筋組織では低量だがジストロフィン発現が認められた。患者の筋芽細胞から初代培養・分化させた筋細胞で評価した結果、本症例の筋細胞でジストロフィン発現を認め、その発現量は正常対照の約 7%に相当した。

表 2.5.4.7-1 本剤投与によるジストロフィン発現量のレベルで運動機能が維持されている BMD 又は IMD 患者の文献報告（続き）

著者	発行年	WB 発現量 [a]	内容
Waldrop et al. [37]	2017	3.2%	10 歳の IMD 患者（エクソン 42 のナンセンス変異）。運動機能、言語、社会性の発達は良好であった。歩行開始は 1 歳 4 ヵ月で、爪先歩行及び下腿肥大がみられた。7 歳でアキレス腱の拘縮、9 歳で CK 上昇（15,370 U/L）が認められた。10 歳時の下腿肥大は軽度であり、アキレス腱は直角まで底屈可能だった。また、軽度の脊柱前弯のため立ち上がり時は片手を膝につくが、筋力は全部位で MRCGrade4 以上、6 分間歩行距離は 575 m（同年代の健常者で 630 m、DMD で 366 m）、NSAA スコアは 30（最高値 34）だった。この時点でステロイドは未使用であり、症状が軽度であることから IMD と診断された。

a 正常対照に対する割合

（2） 不完全長のジストロフィンを有する BMD 患者に関する報告

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）と同様に、不完全長のジストロフィンを有する BMD 患者に関して、公表文献として報告のある BMD 患者の重症度を表 2.5.4.7-2 に示す。

いずれの BMD 患者も歩行可能であり、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。したがって、本剤投与により産生される不完全長のジストロフィンは生体内において生理機能を有していると考えられた。

表 2.5.4.7-2 不完全長のタンパク質が作られる BMD 患者の重症度

欠失部位	重症度*	発症年齢（歳）	調査時年齢（歳）	歩行可否	症状	文献
45-53	軽度	6	10	可	転倒頻度高、昇降困難	Comi et al. [38]
	無症状	20	25	可	CK 上昇のみ	
	中等度	7	31	可	易疲労、昇降困難	
	軽度	10	21	可	下腿肥大	Anthony et al. [5]
	軽度	—	14	可	前脛骨筋拘縮	
	重症	—	25	可	重度の近位筋力低下、中殿筋麻痺、走行不可	
	無症状	5	7	可	筋痙攣	Beggs et al. [39]
	中等度	5	7.5	可	尖足歩行	
	無症状	13	15	可	下腿肥大	
47-53	記載なし	—	10	可	易疲労、筋肉痛、学習障害	Torelli et al. [40]
48-53	軽度	7	9	可	運動後の筋硬直	Comi et al. [38]
	無症状	16	16	可	CK 上昇のみ	
50-53	無症状	56	56	可	CK 上昇のみ	
	記載なし	5	13	可	歩行・階段昇降可（介助不要）、筋力・心機能低下	Kaspar et al. [41]
52-53	無症状	NA	13	可	CK 上昇のみ	Anthony et al. [5]

CK：クレアチンキナーゼ

*重症度判定基準

（文献 38）無症状：CK 上昇/下腿肥大、軽度：易疲労/筋肉痛/筋痙攣/転倒/異常歩行、中等度：Gowers 徴候、重症：立ち上がり不可/近位筋筋力低下/重度の筋消耗

（文献 5）無症状：CK 上昇、軽度：軽度の近位筋筋力低下/自立歩行可/走行可、重症：重度の筋力低下/走行不可

（文献 39）無症状：CK 上昇/下腿肥大/筋痙攣、軽度：易疲労/転倒/異常歩行/尖足歩行/走行可、重症：重度の筋力低下/走行不可

（文献 40）記載なし
（文献 41）記載なし

（3） 女性保因者におけるジストロフィン発現量と臨床症状に関する報告

女性保因者は、正常と異常なジストロフィン遺伝子がある X 染色体を有している。どちらの X 染色体が不活性化されるかは無作為に決定され、筋線維のジストロフィン発現はモザイクパターンとなる。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低くなり発症保因者となる。

Pegorano らは、14 名の女性の発症保因者（manifesting carrier）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[42)]。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、ジストロフィン発現量が低い発症保因者が 4 名存在した。これら 4 名の発症保因者のジストロフィン発現量は 3%～5%であり、表現型は 1 名で Severe であったが、Mild が 1 名、Intermediate は 2 名おり、典型的な DMD と比べ病態が軽度な患者が存在した。

（4） エクソン 44 スキッピング治療対象患者に関する報告

Beekman らは、BMD（n=25）及び DMD 患者（n=17）の骨格筋中のジストロフィン発現量を、Wes system（capillary Western immunoassay）により評価した[43)]。その結果、エクソン 44 に隣り合うエクソン欠失のある DMD 患者において、2%～7%のジストロフィンの発現が認められたことを報告している。

エクソン 44 スキッピングの治療対象となるエクソン欠失をもつ DMD 患者は、他の DMD 患者と比較して運動機能が高いこと、歩行喪失時期が遅い等、病態の進行が遅いことが報告されている[30,31,32,44)]。Wang らは DMD のレジストリーデータから、エクソンスキッピング治療の標的となるエクソン欠失のタイプごとに歩行機能の喪失時期の比較を行った結果、エクソン 44 スキッピングの治療対象となる DMD 患者は歩行機能の喪失時期が有意に遅いことを報告している[30)]。

これら文献報告からは、以下が示唆された。

- BMD 患者、女性保因者において、ジストロフィン発現量が正常の 10%未満の症例で、典型的な DMD 患者と比較して病態が軽度な症例が存在する。
- 本剤投与により産生される不完全長のジストロフィンは生体内において生理機能を有している。
- エクソン 44 スキッピング治療対象の DMD 患者は病態の進行が遅いことが報告されており、正常の 2%～7%のジストロフィンが発現している症例が存在する。

P1/2 試験 80 mg/kg 投与群の 24 週間投与後の 4 例では 4.814%（前後差の平均値）（範囲 : 0.687%～7.851%）、201 試験 80 mg/kg 投与群の 24 週間投与後の 8 例では 5.3%（前後差の平均値）（範囲 : 0.7%～13.9%）（ミオシン重鎖で標準化）のジストロフィン発現が認められており、本剤投与によるジストロフィン発現が運動機能の改善又は維持、病態の進行抑制につながる可能性があると考えられた。

2.5.5 安全性の概括評価

本剤の安全性は、P1/2 試験、201 試験及び 201 試験の継続試験である 202 試験のカットオフ時点（最終被験者が 73 週の投与を終了）までのデータ及び DMT01 試験を用いて評価した。

2.5.5.1 安全性情報の収集と評価の方法

2.5.5.1.1 動物における毒性学的情報を踏まえた安全性評価

毒性試験の一部において発現が認められた抗ビルトラルセン抗体、並びにエクソンスキッピングにより後天的に発現する変異型ジストロフィンタンパク質に対して発現する可能性がある抗ジストロフィン抗体の発現を評価するため、免疫学的検査を実施した（2.5.3.9 項参照）。

毒性試験で腎臓の近位尿細管の好塩基性変化及び空胞化が認められていたことから、尿中の β-N アセチル D グルコサミニダーゼ、α1 ミクログロブリン及び β2 ミクログロブリンの推移を観察した。

2.5.5.1.2 薬理学的分類に特徴的な安全性評価

核酸医薬品では、一般的にサイトカイン誘導などの免疫活性化作用が認められているため、臨床検査の測定項目としてサイトカイン（IL-6、TNF-α、MCP-1）の推移を観察した。

2.5.5.1.3 対象患者集団の特徴を踏まえた安全性評価

DMD 患者では、感染、骨折、低栄養、心機能低下、腎機能低下、血栓症など種々の問題が起こりうることから、経時的に状態を把握するため定期的な臨床検査が必要とされる。特徴的な推移を示すのは血清クレアチンキナーゼ（CK）で、発症初期には異常高値を示すが、疾患進行に伴い低下することが知られている。また、肝酵素であるアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT）、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）、乳酸脱水素酵素（LDH）等の値も CK とともに上昇することが知られており、肝機能障害の有無は他の臨床検査値もあわせて総合的に判断する必要がある。

また、DMD 進行に伴う筋量減少で、血清クレアチニン値が異常低値を示し、腎機能評価の指標とならない場合があるため、臨床試験においては、骨格筋量の影響を受けずに腎機能評価を行えるシスタチン C の推移を観察した。さらに、尿中クレアチニン低値により、随時尿検査時に適切なクレアチニン補正ができないことが考えられるため、随時尿検査に加えて 24 時間蓄尿検査も実施した。その他、心機能を検査するため、DMD に伴う拡張型心筋症の進行例で上昇することが知られている脳性ナトリウム利尿ペプチドの推移を観察した。

2.5.5.2 曝露の程度

P1/2 試験では、本剤 40 mg/kg、80 mg/kg を各 8 例に、週 1 回、24 週（24 回）静脈内投与した。40 mg/kg 群の 8 例のうち 2 例のみ有害事象発現のために 1 回ずつ休薬したが、それ以外の被験者は投与の中止や休薬、用量変更はなかった。

201 試験では、最初の 4 週間は本剤 40 mg/kg を 6 例に、80 mg/kg を 5 例に、プラセボを 5 例に週 1 回、4 週（4 回）静脈内投与した。引き続き、本剤 40 mg/kg、80 mg/kg を各 8 例に週 1 回、20

週（20 回）静脈内投与した。投与の中止や休薬、用量変更はなかった。

202 試験では、201 試験の投与終了後、本剤 40 mg/kg 又は 80 mg/kg の週 1 回投与を継続した。202 試験開始からデータカットオフまでの本剤の投与回数平均値（標準偏差）は、40 mg/kg 群 73.9（6.0）回、80 mg/kg 群 50.9（2.9）回であった。投与中止、用量変更はなかった。201 試験の本剤投与開始からデータカットオフまでの最長投与回数は 40 mg/kg で 107 回、80 mg/kg で 77 回であった。

DMT01 試験では、本剤 1.25 mg/kg を 3 例に、5 mg/kg を 3 例に、20 mg/kg を 4 例に、週 1 回、12 週（12 回）投与した。いずれも投与の中止や休薬、用量変更はなかった。

2.5.5.3 安全性に関する結果

2.5.5.3.1 比較的よくみられる有害事象

（1） P1/2 試験

P1/2 試験全体で 10%以上に認められた有害事象を表 2.5.5.3.1-1 に示す。

P1/2 試験では、有害事象発現率は全体で 87.5%（14/16 例）、副作用発現率は 56.3%（9/16 例）で、投与群ごとの有害事象発現率は両群共に 87.5%（7/8 例）、副作用発現率は 40 mg/kg 群 37.5%（3/8 例）、80 mg/kg 群 75.0%（6/8 例）であった。

全体で高頻度に認められた有害事象は、上咽頭炎、上気道感染 各 25%、β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加、挫傷 各 18.8%であった。全体で 10%以上に認められた副作用は、β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加、発熱、駆出率減少、脳性ナトリウム利尿ペプチド増加、インターロイキン濃度増加、蕁麻疹 各 12.5%であった。いずれの有害事象も Grade 2 以下であった。

表 2.5.5.3.1-1 比較的よく見られる有害事象（P1/2 試験：全体で 10%以上）

有害事象名（MedDRA/J ver 20.1）PT	有害事象						副作用					
	40 mg/kg (N=8)		80 mg/kg (N=8)		全体 (N=16)		40 mg/kg (N=8)		80 mg/kg (N=8)		全体 (N=16)	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
有害事象発現例数（%）	7	87.5	7	87.5	14	87.5	3	37.5	6	75.0	9	56.3
上咽頭炎	1	12.5	3	37.5	4	25.0						
上気道感染	1	12.5	3	37.5	4	25.0						
β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	1	12.5	2	25.0	3	18.8			2	25.0	2	12.5
挫傷	3	37.5			3	18.8						
発熱			2	25.0	2	12.5			2	25.0	2	12.5
駆出率減少			2	25.0	2	12.5			2	25.0	2	12.5
脳性ナトリウム利尿ペプチド増加	1	12.5	1	12.5	2	12.5	1	12.5	1	12.5	2	12.5
インターロイキン濃度増加	1	12.5	1	12.5	2	12.5	1	12.5	1	12.5	2	12.5
蕁麻疹			2	25.0	2	12.5			2	25.0	2	12.5
発疹	1	12.5	1	12.5	2	12.5			1	12.5	1	6.3
湿疹	1	12.5	1	12.5	2	12.5	1	12.5			1	6.3
インフルエンザ	2	25.0			2	12.5						
四肢痛	1	12.5	1	12.5	2	12.5						

［5.3.5.1-2 表 12.2.2.1-1 を引用］

（2） 201 試験

201 試験全期間の全体で 10%以上に認められた有害事象を表 2.5.5.3.1-2 に示す。

Period 1（4 週投与）での有害事象発現率は、プラセボ群 60.0%（3/5 例）、40 mg/kg 群 66.7%（4/6 例）及び 80 mg/kg 群 80.0%（4/5 例）であった。いずれの群においても 2 例以上に発現した有害事象は認められず、プラセボ群と比較して本剤投与群で明らかに発現傾向が高まる事象は認められなかった。

Period 2（20 週投与）の有害事象の発現率は、40 mg/kg 群 62.5%（5/8 例）及び 80 mg/kg 群 87.5%（7/8 例）であった。2 例以上に発現した有害事象は、40 mg/kg 群で咳嗽（2 例）、80 mg/kg 群で上咽頭炎（4 例）、咳嗽及び嘔吐（各 2 例）であった。

全期間（20～24 週投与）の有害事象発現率は、全体で 93.8%（15/16 例）であった。全体で 10%以上に発現した有害事象は、咳嗽 31.3%、上咽頭炎 25.0%、鼻閉、下痢、嘔吐、挫傷が各 12.5%であった。いずれの有害事象も Grade 2 以下で、治験薬との因果関係は否定された。

表 2.5.5.3.1-2 比較的よく見られる有害事象（201 試験：全期間の全体で 10%以上）

有害事象名（MedDRA ver.21.0）PT	Period 1 [a]			Period 2 [a]		全期間 [a]
	プラセボ (N=5)	40 mg/kg (N=6)	80 mg/kg (N=5)	40 mg/kg (N=8)	80 mg/kg (N=8)	全体 (N=16)
TEAE 発現例数（%）	3 (60.0)	4 (66.7)	4 (80.0)	5 (62.5)	7 (87.5)	15 (93.8)
咳嗽	0	0	1 (20.0)	2 (25.0)	2 (25.0)	5 (31.3)
上咽頭炎	1 (20.0)	0	1 (20.0)	0	4 (50.0)	4 (25.0)
鼻閉	0	1 (16.7)	0	1 (12.5)	0	2 (12.5)
下痢	0	0	0	1 (12.5)	1 (12.5)	2 (12.5)
嘔吐	0	0	0	0	2 (25.0)	2 (12.5)
挫傷	0	0	1 (20.0)	0	1 (12.5)	2 (12.5)

a：Period 1 は Week 5 投与より前に発現した有害事象、Period 2 は Week 5 投与から 202 試験の投与開始より前に発現した有害事象、全期間は本剤投与開始から 202 試験の投与開始より前に発現した有害事象（プラセボ投与時に発現した事象は含まない）

［5.3.5.3-2 表 2-4、表 2-5、表 2-6 を引用］

（3） 202 試験及び 201+202 試験

202 試験（202 試験の投与開始からデータカットオフまで）及び 201+202 試験（201 試験の本剤投与開始からデータカットオフまで、プラセボ投与時を除く）において 10%以上発現した有害事象一覧を表 2.5.5.3.1-3 に示す。

202 試験の有害事象発現率は 40 mg/kg 群、80 mg/kg 群ともに 100%であり、80 mg/kg 群の注射部位漏出 1 例を除き、治験薬との因果関係は全て否定された。

202 試験の全体で 10%以上に発現したのは、咳嗽 50.0%、上咽頭炎、節足動物咬傷、発疹が各 31.3%、発熱 25.0%、鼻閉、インフルエンザ、嘔吐、下痢が各 18.8%、気道うっ血、体部白癬、副鼻腔炎、頭痛、便秘、血便排泄、四肢損傷が各 12.5%であった。80 mg/kg 群で認められた下肢骨折 1 例は Grade 3 であったが、それ以外の有害事象はいずれも Grade 2 以下であった。

201+202 試験で 10%以上に発現したのは、咳嗽 68.8%、上咽頭炎 43.8%、節足動物咬傷、発疹 各 37.5%、発熱 31.3%、鼻閉、インフルエンザ、嘔吐、下痢 各 25.0%、気道うっ血、挫傷 各 18.8%、体部白癬、副鼻腔炎、頭痛、便秘、血便排泄、四肢損傷、悪心、上気道感染 各 12.5%であった。

表 2.5.5.3.1-3 比較的よく見られる有害事象（202 試験、201+202 試験：全体で 10%以上）

有害事象名 (MedDRA ver.21.0) PT	202 試験			201+202 試験		
	40 mg/kg (N=8)	80 mg/kg (N=8)	全体 (N=16)	40 mg/kg (N=8)	80 mg/kg (N=8)	全体 (N=16)
TEAE 発現例数 (%)	8 (100.0)	8 (100.0)	16 (100.0)	8 (100.0)	8 (100.0)	16 (100.0)
咳嗽	5 (62.5)	3 (37.5)	8 (50.0)	5 (62.5)	6 (75.0)	11 (68.8)
上咽頭炎	3 (37.5)	2 (25.0)	5 (31.3)	3 (37.5)	4 (50.0)	7 (43.8)
節足動物咬傷	3 (37.5)	2 (25.0)	5 (31.3)	4 (50.0)	2 (25.0)	6 (37.5)
発疹	2 (25.0)	3 (37.5)	5 (31.3)	3 (37.5)	3 (37.5)	6 (37.5)
発熱	2 (25.0)	2 (25.0)	4 (25.0)	2 (25.0)	3 (37.5)	5 (31.3)
鼻閉	2 (25.0)	1 (12.5)	3 (18.8)	3 (37.5)	1 (12.5)	4 (25.0)
インフルエンザ	2 (25.0)	1 (12.5)	3 (18.8)	2 (25.0)	2 (25.0)	4 (25.0)
嘔吐	2 (25.0)	1 (12.5)	3 (18.8)	2 (25.0)	2 (25.0)	4 (25.0)
下痢	1 (12.5)	2 (25.0)	3 (18.8)	2 (25.0)	2 (25.0)	4 (25.0)
気道うっ血	2 (25.0)	0	2 (12.5)	2 (25.0)	1 (12.5)	3 (18.8)
挫傷	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	2 (25.0)	3 (18.8)
体部白癬	2 (25.0)	0	2 (12.5)	2 (25.0)	0	2 (12.5)
副鼻腔炎	2 (25.0)	0	2 (12.5)	2 (25.0)	0	2 (12.5)
頭痛	1 (12.5)	1 (12.5)	2 (12.5)	1 (12.5)	1 (12.5)	2 (12.5)
便秘	1 (12.5)	1 (12.5)	2 (12.5)	1 (12.5)	1 (12.5)	2 (12.5)
血便排泄	1 (12.5)	1 (12.5)	2 (12.5)	1 (12.5)	1 (12.5)	2 (12.5)
四肢損傷	0	2 (25.0)	2 (12.5)	0	2 (25.0)	2 (12.5)
悪心	1 (12.5)	0	1 (6.3)	2 (25.0)	0	2 (12.5)
上気道感染	0	1 (12.5)	1 (6.3)	1 (12.5)	1 (12.5)	2 (12.5)

202 試験：202 試験の投与開始後からデータカットオフまでに発現又は悪化した有害事象
201+202 試験：201 試験の本剤投与開始後から 202 試験のデータカットオフまでに発現又は悪化した有害事象

［5.3.5.3-2 表 3-5、表 4-4 を引用］

（4） DMT01 試験

DMT01 試験全体で 20%以上に認められた有害事象を表 2.5.5.3.1-4 に示す。

1.25 mg/kg 群、5 mg/kg 群、20 mg/kg 群のいずれにおいても有害事象及び副作用発現率は 100.0%であった。全体で 2 例以上に発現した有害事象は、β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加 9 例、尿中蛋白陽性 8 例、貧血、尿中アルブミン陽性が各 7 例、インターロイキン濃度増加 6 例、脳性ナトリウム利尿ペプチド増加 4 例、白血球数増加 3 例、鼻咽頭炎、湿疹、補体成分 C3 増加、拡張期血圧上昇、β2 ミクログロブリン増加、シスタチン C 増加が各 2 例であった。

また、全体で 2 例以上に発現した副作用は、β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加 9 例、尿中蛋白陽性 8 例、貧血、尿中アルブミン陽性が各 7 例、インターロイキン濃度増加 5 例、脳性ナトリウム利尿ペプチド増加、補体成分 C3 増加、拡張期血圧上昇、β2 ミクログロブリン増加が各 2 例であった。2 例以上に発現した副作用のうち、20 mg/kg 群で最も発現率が高かった事象は、尿中蛋白陽性、尿中アルブミン陽性、β2 ミクログロブリン増加であった。いずれの有害事象も Grade 2 以下であった。

なお、尿中蛋白陽性は尿蛋白の測定法による影響が考えられ（2.7.4.3.3（1）3）項参照）、貧血は、いずれも投与開始後 7 日以内に発現していることから、7 日間毎日採血を実施したことによる影響が考えられた（2.7.4.2.1.5（5）項参照）。

表 2.5.5.3.1-4 比較的よく見られる有害事象（DMT01 試験：全体で 20%以上）

有害事象名（MedDRA/J ver.17.1）PT	有害事象				副作用			
	1.25 mg/kg 群 (N=3)	5 mg/kg 群 (N=3)	20 mg/kg 群 (N=4)	全体 (N=10)	1.25 mg/kg 群 (N=3)	5 mg/kg 群 (N=3)	20 mg/kg 群 (N=4)	全体 (N=10)
発現例数(%)	3 (100)	3 (100)	4 (100)	10 (100)	3 (100)	3 (100)	4 (100)	10 (100)
β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	3 (100)	3 (100)	3 (75.0)	9 (90.0)	3 (100)	3 (100)	3 (75.0)	9 (90.0)
尿中蛋白陽性	1 (33.3)	3 (100)	4 (100)	8 (80.0)	1 (33.3)	3 (100)	4 (100)	8 (80.0)
貧血	1 (33.3)	3 (100)	3 (75.0)	7 (70.0)	1 (33.3)	3 (100)	3 (75.0)	7 (70.0)
尿中アルブミン陽性	2 (66.7)	2 (66.7)	3 (75.0)	7 (70.0)	2 (66.7)	2 (66.7)	3 (75.0)	7 (70.0)
インターロイキン濃度増加	2 (66.7)	1 (33.3)	3 (75.0)	6 (60.0)	2 (66.7)	1 (33.3)	2 (50.0)	5 (50.0)
脳性ナトリウム利尿ペプチド増加	1 (33.3)	1 (33.3)	2 (50.0)	4 (40.0)	1 (33.3)	1 (33.3)	0	2 (20.0)
白血球数増加	1 (33.3)	0	2 (50.0)	3 (30.0)	1 (33.3)	0	0	1 (10.0)
補体成分 C3 増加	2 (66.7)	0	0	2 (20.0)	2 (66.7)	0	0	2 (20.0)
拡張期血圧上昇	0	2 (66.7)	0	2 (20.0)	0	2 (66.7)	0	2 (20.0)
β2 ミクログロブリン増加	0	0	2 (50.0)	2 (20.0)	0	0	2 (50.0)	2 (20.0)
シスタチン C 増加	1 (33.3)	1 (33.3)	0	2 (20.0)	0	1 (33.3)	0	1 (10.0)
湿疹	1 (33.3)	0	1 (25.0)	2 (20.0)	0	0	1 (25.0)	1 (10.0)
鼻咽頭炎	2 (66.7)	0	0	2 (20.0)	0	0	0	0

［5.3.5.2-1 表 12.2-2、表 12.2-3 を引用］

2.5.5.3.2 重篤な有害事象

（1） 死亡

いずれの試験においても死亡に至った有害事象は認められなかった。

（2） 死亡以外の重篤な有害事象

重篤な有害事象は、P1/2 試験の 80 mg/kg 群で上気道感染 1 例、202 試験の 80 mg/kg 群で下肢骨折 1 例が認められたが、いずれも治験薬との因果関係は否定され、治験薬投与を継続したままで、回復した。

（3） 中止、減量、休薬に至った有害事象

いずれの試験においても、中止又は減量に至った有害事象は認められなかった。

休薬に至った有害事象が、P1/2 試験の 40 mg/kg 群で 2 例（湿疹、インフルエンザ）、202 試験で 2 例（発熱・ウイルス感染、注射部位漏出）認められた。注射部位漏出は投与を 15 分間中断後に再開し、それ以外は 1 回分の投与を休薬した後、投与を再開した。

（4） 注目すべき有害事象

1） 腎機能関連の有害事象

腎機能に関連する有害事象として、β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加が P1/2 試験では、40 mg/kg 群 1 例、80 mg/kg 群 2 例に認められ、DMT01 試験では 9 例に認められたが、201 試験及び 202 試験では、認められなかった。

P1/2 試験や DMT01 試験で発現した β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加は、本剤の継続投与による腎臓への負荷の可能性が考えられたが、いずれも Grade 1 であり、臨床的に問題となる腎

障害は示されなかった。その他の尿中蛋白陽性、尿中血陽性、血尿、尿中アルブミン陽性、α1 ミクログロブリン増加、尿中 β2 ミクログロブリン増加、シスタチン C 増加についても、ほとんどが Grade 1 で、無処置で回復しており、臨床上問題にはならないと考えられた。

以上から、非臨床毒性試験では腎臓の近位尿細管への影響が認められたが、臨床試験においては本剤投与により臨床的に問題となる腎機能へ影響は認められなかった。

2） 薬剤過敏症

いずれの臨床試験においても、重篤な薬剤過敏症の既往歴をもつ患者は除外していた。また、臨床試験において、本剤と因果関係のある薬剤過敏症は認められなかった。

3） 皮膚障害

湿疹、発疹、蕁麻疹などの皮膚障害に関連する有害事象が、P1/2 試験で 7 例、201 試験で 2 例、202 試験で 8 例認められた。

その中には、毛髪変色 1 例（P1/2 試験）が含まれていた。ビルトラルセンのオフターゲット作用検討試験で、毛幹の脱色又は低色素化を伴うことのある先天性貧毛症に関連する遺伝子が検出されているが（2.6.2.6 項参照）、臨床試験では貧毛等の有害事象は認められておらず、これらの有害事象とオフターゲット作用との関連性は明らかにはなっていない。

4） 注射部位反応

注射部位疼痛、注射部位反応等の注射部位に関連する有害事象は、P1/2 試験 4 例、201 試験 3 例、202 試験 3 例、DMT01 試験 1 例認められたが、いずれも Grade 1 で回復しており、臨床上問題となる注射部位反応は認められなかった。

（5） サイトカイン検査

P1/2 試験では、サイトカインに関連する有害事象として、Grade 1 のインターロイキン濃度増加が 2 例（IL-6 高値）認められた。201 試験、202 試験では、サイトカインに関連する有害事象は認められなかった。

（6） 心電図検査

いずれの試験においても標準 12 誘導心電図において、臨床上問題となる異常は認められなかった。また、P1/2 試験の集中心電図測定では、いずれの測定時点でも、臨床上問題となる異常は認められなかった。

心機能に関連する有害事象としては、P1/2 試験において、DMD の病態進行に伴うと考えられる脳性ナトリウム利尿ペプチド増加、駆出率減少が各 2 例認められた。202 試験では洞性不整脈 1 例が認められたが、因果関係は否定された。201 試験では、心機能に関連する有害事象は認められなかった。

2.5.5.3.3 各試験結果の類似性及び相違点

P1/2 試験と 201 試験ともに、上咽頭炎又は上気道感染の発現率が高かった。一方、P1/2 試験では、β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加が高頻度に発現したが、201 試験では認められず、201 試験では咳嗽が高頻度に発現したが、P1/2 試験では認められなかった。これらの相違点の原因は不明である。

また、DMT01 試験で高頻度に認められた貧血は、他の試験では認められず、DMT01 試験で実施した大量採血に起因していると考えられた。なお、P1/2 試験で実施した鉄に関する血液生化学的検査（Fe、フェリチン及び TIBC）の測定値に本剤投与による影響は認められなかった。

尿中蛋白陽性は、DMT01 試験でのみ高頻度に認められた。これは、DMT01 試験の尿蛋白測定に用いたピロガロールレッドがビルトラルセンと交差反応し偽陽性を示したためであり、coomassie brilliant blue（CBB）法を用いた再測定では 24 時間蓄尿における尿蛋白の定量値はいずれも基準値上限を超えなかった。なお、P1/2 試験（CBB 法）、201 試験（塩化ベンゼトニウム法）では、問題となる尿中蛋白増加は認められなかった。

2.5.5.4 部分集団における有害事象発現率の差異

いずれの試験の被験者も男性で小児であった。

P1/2 試験及び 201 試験の被験者 32 例の年齢中央値（7.8 歳）で区分したサブグループ解析では、有害事象、副作用、重篤な有害事象の発現率に大きな違いはなかった。P1/2 試験では年齢中央値以上の群でのみ駆出率減少が認められており、年齢とともに DMD 患者の病態が進行し、心機能低下関連の有害事象が発現したと考えられた。

2.5.5.5 投与量、投与方法、投与期間と有害事象

P1/2 試験、201 試験及び 201+202 試験の 40 mg/kg 群及び 80 mg/kg 群の有害事象発現率は、表 2.5.5.5-1 に示すように、いずれも同程度であった。P1/2 試験では、副作用発現率は 40 mg/kg 群よりも 80 mg/kg 群の方が若干高かった。40 mg/kg 群よりも 80 mg/kg 群で 2 例以上多く発現した副作用は、発熱、β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加、駆出率減少及び蕁麻疹であった。201+202 試験では、80 mg/kg 群でのみ副作用として注射部位漏出 1 例が認められた。

重篤な有害事象は P1/2 試験、201+202 試験の 80 mg/kg 群で 1 例ずつ認められたが、いずれも投与を継続したまま、回復し、本剤との因果関係は否定された。

以上から、40 mg/kg 群及び 80 mg/kg 群のいずれの用量においても、忍容性が確認された。

表 2.5.5.5-1 用量別有害事象発現率（P1/2、201、201+202 試験）

	P1/2 試験		201 試験 [a]		201+202 試験 [a]	
本剤の投与期間	24 週		20 又は 24 週		90～107 週	66～77 週
群	40 mg/kg 群	80 mg/kg 群	40 mg/kg 群	80 mg/kg 群	40 mg/kg 群	80 mg/kg 群
安全性解析対象例数	8	8	8	8	8	8
有害事象	7 (87.5)	7 (87.5)	8 (100.0)	7 (87.5)	8 (100.0)	8 (100.0)
副作用	3 (37.5)	6 (75.0)	0	0	0	1 (12.5)
Grade 3 以上の有害事象	0	0	0	0	0	1 (12.5)
Grade 3 以上の副作用	0	0	0	0	0	0
死亡に至った有害事象	0	0	0	0	0	0
死亡に至った副作用	0	0	0	0	0	0
重篤な有害事象	0	1 (12.5)	0	0	0	1 (12.5)
重篤な副作用	0	0	0	0	0	0
中止に至った有害事象	0	0	0	0	0	0
中止に至った副作用	0	0	0	0	0	0
休薬に至った有害事象	2 (25.0)	0	0	0	0	2 (25.0)
休薬に至った副作用	1 (12.5)	0	0	0	0	1 (12.5)

a：Period 1 のプラセボ投与期間は含まない

［5.3.5.1-2 表 12.2.1-1、5.3.5.3-2 表 1-2、表 2-3、表 3-1、表 4-3 を改変］

投与期間に関しては、P1/2 試験で日本人 DMD 患者に対し、24 週までの忍容性が確認されている。また、201 試験及び 202 試験において、外国人 DMD 患者に対し、73 週以上、最長 107 週までの投与した場合の本剤の忍容性が確認されている。

2.5.5.6 長期投与時の安全性

201 試験及び 202 試験において、本剤を最長 107 週投与した結果、201 試験では認められず、202 試験開始以降に 2 例以上発現した有害事象は、副鼻腔炎、体部白癬、頭痛、便秘、血便排泄、四肢損傷であった。また、202 試験で 201 試験よりも 3 例以上多く発現したのは、インフルエンザ、上咽頭炎、咳嗽、発疹、発熱、節足動物咬傷であった（表 2.7.4.2.1.1-7 参照）。いずれも本剤との因果関係は否定されており、本剤の長期投与により問題となる影響は認められなかった。

2.5.5.7 過量投与、依存性、反跳現象及び乱用

いずれの臨床試験においても、過量投与、依存性、反跳現象又は乱用に関連する有害事象は認められていない。

2.5.5.8 世界における市販後使用経験

本剤は、どの地域でも市販されていない。

2.5.6 ベネフィットとリスクに関する結論

2.5.6.1 治療の背景

2.5.6.1.1 疾患又は症状

DMD の発症機序、病態、患者数等についての説明は 2.5.1.1 項に示した。

DMD の診断は、ジストロフィンタンパク質の異常あるいはジストロフィン遺伝子変異を同定することにより行われる。ジストロフィン遺伝子は 79 個のエクソンからなる巨大遺伝子であり、国内の調査によると遺伝子変異の内訳は単一又は複数の欠失が 61%、重複が 9%、残りがナンセンス変異、スプライシング変異、1 又は数塩基の欠失・挿入変異などの微小変異である [45]。本剤の治療対象となる DMD はジストロフィン遺伝子の単一又は複数のエクソンの欠失により発症する。ジストロフィン遺伝子変異の同定は、保険適用されている MLPA 法により解析する。MLPA 法では、各エクソンに対応する特異プローブを標的遺伝子にハイブリダイゼーションさせた後に、PCR により増幅し対照 DNA と被検 DNA のシグナル強度を比較することで、欠失や重複を確認することができる。この方法により、全 79 エクソンの欠失・重複を迅速かつ高精度に診断することが可能であり、ジストロフィン遺伝子に欠失変異又は重複変異のある約 7 割の症例の変異を同定することができる。本剤の治療対象となる DMD はジストロフィン遺伝子の欠失は MLPA 法により同定可能であるが、単一エクソンのみの欠失と判定された場合は、点変異などにより結果が修飾された可能性があるため、PCR やシークエンス解析で、更に欠失あるいは点変異を確認する必要がある。国内では、Remudy への登録時に MLPA 法で単一エクソン欠失と判定された DMD 患者に対してはシークエンス解析が行われている。

患者の予後については、DMD の自然歴では未介入の状態で寿命が約 18 歳であるが、呼吸管理などの医療技術の向上によって予後は改善し、平均寿命は 30 歳を超えるようになっている。現在、DMD の死因の過半数以上は心不全である。DMD の心筋障害は心筋細胞のジストロフィンタンパク質の欠損が原因であり、患者の多くは 10 歳代に左室収縮能の低下を認め、慢性心不全の経過をたどる。心電図や心エコー等による定期的な心機能評価とともに、ACE 阻害薬、β 遮断薬などの心筋保護薬による治療が主体となっている。

また、歩行不能となった患者のほとんどが側弯症を発症する。歩行喪失と同時期に発症することが多く、側弯症の悪化は呼吸機能、QOL や日常生活動作の低下の原因となる。側弯症が進行した場合は、外科的手術（矯正固定術）により変形を矯正し進行を防止することになるが、侵襲が大きく、呼吸不全等の手術合併症が発生する場合もあり、リスクの高い治療法である。

2.5.6.1.2 現行の治療

国内での DMD の治療の現状についての説明は 2.5.1.1.4 項に示した。

ステロイドの有効性については、複数のプラセボ対照無作為化比較試験において、筋力及び運動機能の有意な改善が認められたことが報告されており [46]、国内外のガイドラインにおいて DMD に対する標準的な治療法として推奨されている。なお、米国では 2017 年に DMD を適応症とするステロイドとして deflazacort が承認されているが、日本では未承認である。

ステロイドによる効果持続期間について、国内ガイドラインでは、海外の文献報告等から、時間機能検査による運動機能及び筋力検査による評価では、ステロイド治療により少なくとも 6 ヵ

月から 2 年間は改善することが確立しているが、より長期の投与の有効性、歩行可能期間の延長については、エビデンスが十分ではないとしている。国内の DMD 患者のレジストリーである Remudy のデータベースの調査では、自立歩行喪失時期をプレドニゾロン服用患者とプレドニゾロン非服用患者で比較した結果、プレドニゾロン服用患者で自立歩行喪失時期が有意に延長していた（11 ヵ月）ことが報告されている[47)]。

ステロイドによる治療開始時期について、国内ガイドラインには運動機能の発達が止まった時期あるいは低下し始めた時期から開始すること、及び 2 歳以下の患者への投与は勧められないことが記載されている。米国ガイドラインでは、身体機能が著しく低下する前とし、歩行不能後も投与を継続すべきであることや、ステロイドの長期投与によるベネフィットとして、歩行喪失時期の延長、上肢機能及び呼吸機能の保持、及び側彎の外科的手術の必要性を減じることが示されている。

用法・用量については、国内ガイドラインでは、有効性のエビデンスが最も高い投与方法は、プレドニゾロン 0.75 mg/kg 連日投与であり、副作用のため低用量で治療する場合、有効性のエビデンスがある最低投与量は 0.3 mg/kg 連日投与と記載されている。米国ガイドラインではプレドニゾン又はプレドニゾロン 0.75 mg/kg 連日投与又は deflazacort 0.9 mg/kg 連日投与を推奨開始用量としている。

ステロイドの安全性に関しては、国内ガイドラインでは、ステロイド治療による副作用として、肥満、行動異常、骨折リスク増加、骨粗鬆症、成長障害、免疫機能低下、ステロイド痤そう（ニキビ）、満月様顔貌、高血圧、耐糖能低下、消化管潰瘍、白内障などがあり、副作用予防のため、定期的なモニタリングが必要であるとともに、予防的な処置を講ずる必要があると記載されている。現在、国内で DMD の適応を有する薬剤はステロイドのみであるが、DMD 治療において、ステロイドは短期間（6 ヵ月から 2 年間）での有効性は確立しているものの、長期間の有効性に関するエビデンスは十分でなく、安全性に関しても用量の減量が必要な副作用も発生する。

本剤の国内外臨床試験においては、ステロイドの併用を可能としており、P1/2 試験では 14 例、201 試験では 16 例全例（うち 12 例は deflazacort）がステロイドを併用していた。これまでに併用投与によると考えられる安全性上の問題は発生していない。

以上より、本剤はステロイドとともに DMD 治療に貢献できると考えられる。

2.5.6.2 ベネフィット

DMD 患者に本剤を投与した時の治療効果は、P1/2 試験及び 201 試験において、適切にバリデートされた測定法によりジストロフィン発現及びエクソン 53 スキッピングが確認されたことで示された。

これまでにエクソンスキッピング治療により臨床効果が期待できるジストロフィン発現量に関する報告はない。しかしながら、BMD 患者、女性保因者及びエクソン 44 スキッピング治療対象患者において、ジストロフィン発現量と臨床症状に関する以下の報告がある。

- Hoffman らは、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（車椅子年齢）の関連性について、4 つの臨床カテゴリー（DMD、Severe BMD、Moderate

BMD、Mild BMD）に分類し、3%～10%のジストロフィンを発現する Severe BMD は典型的な BMD 患者（Moderate/Mild BMD）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している[7,8]。

- Van den Bergen らは、33 名の 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調査し、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、歩行補助具の使用などのクリニカルマイルストーン年齢との間に、直線的な関連はないと報告している[9]。
- 本剤投与によるものと同じレベルのジストロフィン発現量（3%～7%）で、運動機能が維持されている BMD 又は IMD 患者の文献（症例報告）が複数報告されている[34,35,36,37]。
- 本剤投与により産生される不完全長のジストロフィンと同様に、不完全長のジストロフィンを有する BMD 患者の文献報告からは、いずれの BMD 患者も歩行可能であり、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。本剤投与により産生される不完全長のジストロフィンは生体内において生理機能を有していると考えられた[5,38,39,40,41]。
- Pegorano らは、14 名の女性の発症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。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、ジストロフィン発現量が低い発症保因者が 4 名のジストロフィン発現量は 3～5%であった。この 4 名の表現型は 1 名で Severe であったが、Mild が 1 名、Intermediate は 2 名おり、典型的な DMD と比べ病態が軽度な患者が存在した[42]。
- Beekman らは、BMD（n=25）及び DMD 患者（n=17）の骨格筋中のジストロフィン発現量を、Wes system（capillary Western immunoassay）により評価した[43]。その結果、エクソン 44 に隣り合うエクソン欠失のある DMD 患者において、2%～7%のジストロフィンの発現が認められたことを報告している。

  Wang らは DMD のレジストリーデータから、エクソンスキッピング治療の標的となるエクソン欠失のタイプごとに歩行機能の喪失時期の比較を行った結果、エクソン 44 スキッピングの治療対象となる DMD 患者は歩行機能の喪失時期が有意に遅いことを報告している[30]。

文献報告からは、以下が示唆された。

- BMD 患者、女性保因者において、ジストロフィン発現量が正常の 10%未満の症例で、典型的な DMD 患者と比較して病態が軽度な症例が存在する。
- 本剤投与により産生される不完全長のジストロフィンは生体内において生理機能を有している。
- エクソン 44 スキッピング治療対象の DMD 患者は病態の進行が遅いことが報告されており、正常の 2%～7%のジストロフィンが発現している症例が存在する。

本剤の P1/2 試験の 80 mg/kg 投与群の 24 週間投与後の 4 例では 4.814%（前後差の平均値）（範囲：0.687%～7.851%）、201 試験の 80 mg/kg 投与群の 24 週間投与後の 8 例では 5.3%（前後差の

平均値）（範囲：0.7%～13.9%）（ミオシン重鎖で標準化）のジストロフィン発現が認められた。さらに、P1/2 試験の運動機能評価（床上起き上がり時間及び 10 m 歩行/走行時間）において、ジストロフィン発現量が多いほど運動機能の低下が低い傾向が認められた。201 試験での一部の運動機能評価項目で自然歴と比較して改善が認められた。

以上より、本剤投与によるジストロフィン発現が運動機能の改善又は維持、病態の進行抑制につながる可能性があると考えられた。

なお、BMD 等の患者のジストロフィンは出生前から発現し、機能していると考えられることから、DMD 患者への本剤による臨床効果を得るためには、可能な限り早期に治療を開始し、ジストロフィンが機能する状態とすることが望ましい。さらに、P1/2 試験においてジストロフィン発現量が投与期間に依存して多くなる傾向が認められたことから、投与を継続することで、より高い臨床効果が期待できると考えられる。

2.5.6.3 リスク

本剤投与時に懸念される腎機能関連の有害事象と薬剤過敏症について以下に記載する。

2.5.6.3.1 腎機能関連の有害事象

近年、DMD 患者の死因として腎不全が増加しているとの報告[16]や、DMD 患者の進行例では腎機能障害が多く、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）が認められたとの報告[48]がある。DMD での腎機能に影響を及ぼす原因は現時点では不明であるが、呼吸管理や心不全管理の医療技術の進歩による DMD の生命予後の改善に伴う低心拍出状態の長期化や、水分摂取量不足や利尿剤、下痢などによる循環血漿量低下などが指摘されている[48]。

なお、DMD では進行に伴い筋量が減少するためクレアチニンが減少する。したがって、血清クレアチニンは異常低値を示すため腎機能を評価する指標として適切ではない。国内ガイドラインでは進行した DMD 患者の腎機能指標として、骨格筋量の影響を受けないシスタチン C が推奨されている。

国内外の臨床試験では、シスタチン C の増加は DMT01 試験で 2 例に認められたのみである。一方、近位尿細管障害マーカーである β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加は DMT01 試験において高頻度（10 例中 9 例）に認められたが、P1/2 試験では、40 mg/kg 群 1 例、80 mg/kg 群 2 例のみに認められ、201 試験及び 202 試験の Week 73 においても、β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加は認められなかった。

これまでの臨床試験の結果からは、本剤投与による腎機能への明らかな影響を示すエビデンスは示されていないと考えられる。しかしながら、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を否定できないと考えられる。さらに、現時点で日本人への長期投与時の安全性データはなく、本剤の長期投与による腎機能への影響は明らかでない。以上を踏まえ、添付文書（案）には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し、製造販売後には、重要な不足情報として「腎機能障害」を設定し、監視することを計画している。

2.5.6.3.2 薬剤過敏症

臨床試験では、201 試験 40 mg/kg 群で薬剤過敏症 1 例が認められた。この薬剤過敏症は、テガダームによる接触性のアレルギー反応と判断され、治験薬との因果関係は否定された。

臨床試験では本剤投与による薬剤過敏症は認められていないものの、臨床試験での本剤の投与例が限られていることや、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、本剤の成分に対し過敏症の既往歴のある患者には投与を禁止し、添付文書（案）で禁忌として注意喚起する。さらに、製造販売後には、重要な潜在的リスクとして「過敏症」を設定し、監視することを計画している。

2.5.6.4 ベネフィット・リスク評価

本剤 80 mg/kg を週 1 回、1 時間かけて少なくとも 20～24 週間静脈内投与することで、ジストロフィン発現が確認され、さらに運動機能の改善又は維持につながることを示唆する結果も得られた。今まで根本的な治療薬が存在しなかった DMD において、この臨床的意義は大きいと考える。本剤の安全性に関しては、現時点で死亡及び中止・減量に至った有害事象は認められていない。ただし、本剤の長期投与時の安全性については、少数例の海外データのみであることから、製造販売後調査で継続して調査していく必要がある。

以上、本剤の有効性・安全性成績の評価より、DMD 患者に本剤を投与することで得られるベネフィットはリスクを上回ると考えられ、本剤は国内の DMD に対する治療に有益と判断した。

2.5.7 参考文献

1. Hoffman EP, Brown RH Jr, Kunkel LM. Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. Cell. 1987;51:919-28. ＜資料番号 5.4-1＞

2. Quan Gao, Elizabeth M McNally. The Dystrophin complex: structure, function and implications for therapy. Compr Physiol. 2015; 5: 1223-39. ＜資料番号 5.4-2＞

3. Miyatake S, Shimizu-Motohashi Y, Takeda S, Aoki Y. Anti-inflammatory drugs for Duchenne muscular dystrophy: focus on skeletal muscle-releasing factors. Drug Des Devel Ther. 2016;10: 2745-58. ＜資料番号 5.4-3＞

4. Blake DJ, Weir A, Newey SE, Davies KE. Function and genetics of dystrophin and dystrophin-related Proteins in muscle. Physiol Rev. 2002; 82:291-329. ＜資料番号 5.4-4＞

5. Anthony K, Cirak S, Torelli S, Tasca G, Feng L, Arechavala-Gomeza V, et al. Dystrophin quantification and clinical correlations in Becker muscular dystrophy: implications for clinical trials. Brain. 2011;134: 3547-59. ＜資料番号 5.4-5＞

6. Monaco AP, Bertelson CJ, Liechti-Gallati S, Moser H, Kunkel LM. An explanation for the phenotypic differences between patients bearing partial deletions of the DMD locus. Genomics. 1988; 2: 90-5. ＜資料番号 5.4-6＞

7. Hoffman EP, Kunkel LM, Angelini C, Clarke A, Johnson M, Harris JB. Improved diagnosis of Becker muscular dystrophy by dystrophin testing. Neurology. N Engl J Med. 1989;39: 1011-7. ＜資料番号 5.4-7＞

8. Hoffman EP, Fischbeck KH, Brown RH, Johnson M, Medori R, Loike JD, et al. Characterization of dystrophin in muscle-biopsy specimens from patients with Duchenne's or Becker's muscular dystrophy. N Engl J Med. 1988; 318:1363-8. ＜資料番号 5.4-8＞

9. van den Bergen J, Wokke B, Janson A, van Duinen S, Hulsker M, Ginjaar H, et al. Dystrophin levels and clinical severity in Becker muscular dystrophy patients. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2014; 85: 747-53. ＜資料番号 5.4-9＞

10. Emery AE. Population frequencies of inherited neuromuscular diseases- a world survey. Neuromuscul Disord. 1991; 1:19-29. ＜資料番号 5.4-10＞

11. 宮武正太, 青木吉嗣, 武田伸一. デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対するエクソンスキップ治療 有効性と安全性を併せもつモルフォリノ核酸の開発に向けて. 実験医学. 2016;34:3151-8. ＜資料番号 5.4-11＞

12. Aartsma-Rus A, Fokkema I, Verschuuren J, Ginjaar I, van Deutekom J, van Ommen GJ, den Dunnen JT. Theoretic applicability of antisense-mediated exon skipping for Duchenne muscular dystrophy mutations. Hum Mutat. 2009; 30: 293-9. ＜資料番号 5.4-12＞

13. Remudy ジストロフィノパチー患者さま登録サイト [homepage on the Internet]. Remudy; [update 2019 年 11 月末]. 現在の登録状況. Available from: http://www.remudy.jp/dystrophinopathy/news/2019/12/005943.html ＜資料番号 5.4-13＞

14. Okubo M, Goto K, Komaki H, Nakamura H, Mori-Yoshimura M, Hayashi YK, et al. Comprehensive analysis for genetic diagnosis of Dystrophinopathies in Japan. Orphanet J Rare Dis. 2017; 12: 149-55. ＜資料番号 5.4-14＞

15. 一般社団法人 日本神経学会 [homepage on the Internet]. 日本神経学会, 日本小児神経学会, 国立精神・神経医療研究センター監修, 「デュシェンヌ型筋ジストロフィー診療ガイドライン」作成委員会 編集. デュシェンヌ型筋ジストロフィー診療ガイドライン 2014. Available from: https://www.neurology-jp.org/guidelinem/dmd.html ＜資料番号 5.4-15＞

16. 齊藤利雄, 夛田羅勝義, 川井充. 国内筋ジストロフィー専門入院施設における Duchenne 型筋ジストロフィーの病状と死因の経年変化（1999 年～2012 年）. 臨床神経. 2014;54:783-90 ＜資料番号 5.4-16＞

17. Birnkrant DJ, Bushby K, Bann CM, Apkon SD, Blackwell A, Brumbaugh D, et al. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and neuromuscular, rehabilitation, endocrine, and gastrointestinal and nutritional management. Lancet Neurol. 2018;17: 251-67. ＜資料番号 5.4-17＞

18. Birnkrant DJ, Bushby K, Bann CM, Alman BA, Apkon SD, Blackwell A, et al. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 2: respiratory, cardiac, bone health, and orthopaedic management. Lancet Neurol. 2018;17: 347-61. ＜資料番号 5.4-18＞

19. Birnkrant DJ, Bushby K, Bann CM, Apkon SD, Blackwell A, Colvin MK, et al. Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 3: primary care, emergency management, psychosocial care, and transitions of care across the lifespan. Lancet Neurol. 2018;17: 445-55. ＜資料番号 5.4-19＞

20. Bello L, Gordish-Dressman H, Morgenroth LP, Henricson EK, Duong T, Hoffman EP et al. Prednisone/prednisolone and deflazacort regimens in the CINRG Duchenne Natural History Study. Neurology 2015; 85: 1048–55. ＜資料番号 5.4-20＞

21. Griggs RC, Miller JP, Greenberg CR, et al. Efficacy and safety of deflazacort vs prednisone and placebo for Duchenne muscular dystrophy. Neurology 2016; 87: 2123–31. ＜資料番号 5.4-21＞

22. Aartsma-Rus A, van Ommen GJ. Antisense-mediated exon skipping: a versatile tool with therapeutic and research applications. RNA. 2007; 13: 1609-24 ＜資料番号 5.4-22＞

23. Leiden Muscular dystrophy pages [homepage on the Internet]. Center for Human and Clinical Genetics, Available from: http://www.dmd.nl/ ＜資料番号 5.4-23＞

24. Koenig M, Beggs AH, Moyer M, Schepf S, Heindrich K, Bettecken T. The molecular basis for Duchenne versus Becker muscular dystrophy: Correlation of severity with type of deletion. Neurology. 1989;45: 498-506. ＜資料番号 5.4-24＞

25. Duchenne muscular dystrophy and related dystrophinopathies: developing drugs for treatment. Guidance for Industry. FDA CDER. 2018. ＜資料番号 5.4-25＞

26. Henricson EK, Abresch RT, Cnaan A, Hu F, Duong T, Arrieta A, Han J, et al. The cooperative international neuromuscular research group Duchenne natural history study: glucocorticoid treatment preserves clinically meaningful functional milestones and reduces rate of disease progression as measured by manual muscle testing and other commonly used clinical trial outcome measures. Muscle Nerve. 2013;48(1):55-67. ＜資料番号 5.4-26＞

27. McDonald CM, Henricson EK, Abresch RT, Duong T, Joyce NC, Hu F, et al. Long-term effects of glucocorticoids on function, quality of life, and survival in patients with Duchenne muscular dystrophy: a prospective cohort study. Lancet. 2018:451-61. ＜資料番号 5.4-27＞

28. McDonald CM, Henricson EK, Abresch RT, Han JJ, Escolar DM, Florence JM, et al. The cooperative international neuromuscular research group Duchenne natural history study--a longitudinal investigation in the era of glucocorticoid therapy: design of protocol and the methods used. Muscle Nerve. 2013;48:32-54. ＜資料番号 5.4-28＞

29. Kesari A, Pirra LN, Bremadesam L, McIntyre O, Gordon E, Dubrovsky AL, et al. Integrated DNA, cDNA, and protein studies in Becker muscular dystrophy show high exception to the reading frame rule. Hum Mutat. 2008 May;29:728-37. ＜資料番号 5.4-29＞

30. Wang RT, Barthelemy F, Martin AS, Douine ED, Eskin A, Lucas A, et al. DMD genotype correlations from the Duchenne Registry: Endogenous exon skipping is a factor in prolonged ambulation for individuals with a defined mutation subtype. Hum Mutat. 2018; 39: 1193-202. ＜資料番号 5.4-30＞

31. Pane M, Mazzone ES, Sormani MP, Messina S, Vita GL, Fanelli L, et al. 6 Minute walk test in Duchenne MD patients with different mutations: 12 month changes. PLoS One. 2014; 9: e83400. ＜資料番号 5.4-31＞

32. Bello L, Morgenroth LP, Gordish-Dressman H, Hoffman EP, McDonald CM, Cirak S, et al. DMD genotypes and loss of ambulation in the CINRG Duchenne Natural History Study. Neurology. 2016; 87: 401-9. ＜資料番号 5.4-32＞

33. Ricotti V, Ridout DA, Pane M, Main M, Mayhew A, Mercuri E et al. The NorthStar Ambulatory Assessment in Duchenne muscular dystrophy: considerations for the design of clinical trials. J Neurol Neurosurg Psyhiatry. 2016;87:149-55. ＜資料番号 5.4-33＞

34. Witting N, Duno M, Vissing J. Deletion of exon26 of the dystrophin gene is associated with a mild Becker muscular dystrophy phenotype. Acta Myol. 2011 30:182-4. ＜資料番号 5.4-34＞

35. Witting N, Duno M, Vissing J. Becker muscular dystrophy with widespread muscle hypertrophy and a non-sense mutation of exon 2. Neuromuscul Disord. 2013; 23: 25-8. ＜資料番号 5.4-35＞

36. Martone J, Briganti F, Legnini I, Morlando M, Picillo E, Sthandier O, et al. The lack of the Celf2a splicing factor converts a Duchenne genotype into a Becker phenotype. Nat Commun. 2016; 7: 10488. ＜資料番号 5.4-36＞

37. Waldrop MA, Gumienny F, El Husayni S, Frank DE, Weiss RB, Flanigan KM. Low-level dystrophin expression attenuating the dystrophinopathy phenotype. Neuromuscul Disord. 2018; (2): 116-21. ＜資料番号 5.4-37＞

38. Comi GP, Prelle A, Bresolin N, Moggio M, Bardoni A, Gallanti A, et al. Clinical variability in Becker muscular dystrophy. Genetic, biochemical and immunohistochemical correlates. Brain. 1994; 117: 1-14 ＜資料番号 5.4-38＞

39. Beggs AH, Hoffman EP, Snyder JR, Arahata K, Specht L, Shapiro F, et al. Exploring the molecular basis for variability among patients with Becker muscular dystrophy: dystrophin gene and protein studies. Am J Hum Genet. 1991; 49: 54-67. ＜資料番号 5.4-39＞

40. Torelli S, Brown SC, Jimenez-Mallebrera C, Feng L, Muntoni F, Sewry CA. Absence of neuronal nitric oxide synthase (nNOS) as a pathological marker for the diagnosis of Becker muscular dystrophy with rod domain deletions. Neuropathol Appl Neurobiol. 2004; 30: 540-5. ＜資料番号 5.4-40＞

41. Kaspar RW, Allen HD, Ray WC, Alvarez CE, Kissel JT, Pestronk A, et al. Analysis of dystrophin deletion mutations predicts age of cardiomyopathy onset in Becker Muscular Dystrophy. Circ Cardiovasc Genet. 2009; 2: 544-51. ＜資料番号 5.4-41＞

42. Pegoraro E, Schimke RN, Garcia C, Stern H, Cadaldini M, Angelini C, et al. Genetic and biochemical normalization in female carriers of Duchenne muscular dystrophy: evidence for failure of dystrophin production in dystrophin-competent myonuclei. Neurology. 1995;45(4):677-90. ＜資料番号 5.4-42＞

43. Beekman C, Janson AA, Baghat A, van Deutekom JC, Datson NA. Use of capillary Western immunoassay (Wes) for quantification of dystrophin levels in skeletal muscle of healthy controls and individuals with Becker and Duchenne muscular dystrophy. PLoS One. 2018; 13: e0195850. ＜資料番号 5.4-43＞

44. van den Bergen JC, Ginjaar HB, Niks EH, Aartsma-Rus A, Verschuuren JJ. Prolonged ambulation in Duchenne patients with a mutation amenable to Exon 44 skipping. Journal of Neuromuscular Diseases. 2014; 1: 91-4. ＜資料番号 5.4-44＞

45. Takeshima Y, Yagi M, Okizuka Y, Awano H, Zhang Z, Yamauchi Y, et al. Mutation spectrum of the dystrophin gene in 442 Duchenne/Becker muscular dystrophy cases from one Japanese referral center. J Hum Genet. 2010; 55: 379-88. ＜資料番号 5.4-45＞

46. Matthews E, Brassington R, Kuntzer T, Jichi F, Manzur AY. Corticosteroids for the treatment of Duchenne muscular dystrophy. Cochrane Database Syst Rev. 2016; (5): CD003725. ＜資料番号 5.4-46＞

47. Takeuchi F, Yonemoto N, Nakamura H, Shimizu R, Komaki H, Mori-Yoshimura M, et al. Prednisolone improves walking in Japanese Duchenne muscular dystrophy patients. J Neurol. 2013; 260: 3023-9. ＜資料番号 5.4-47＞

48. 松村剛, 齊藤利雄, 藤村晴俊, 佐古田三郎. Duchenne 型筋ジストロフィー進行例では腎機能障害が多い. 臨床神経. 2012;52:211-7. ＜資料番号 5.4-48＞