目次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 4
2.6.4.1 まとめ 4
2.6.4.2 分析法 6
2.6.4.3 吸収 7
2.6.4.4 分布 13
2.6.4.5 代謝 14
2.6.4.6 排泄 17
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 18
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 20
2.6.4.9 考察及び結論 20
2.6.4.10 図表 22
2.6.4.11 参考文献 22

略語一覧表

語句略語	語句略語内容
ADA	anti-drug antibody：抗薬物抗体
AUC	area under plasma concentration-time curve：血漿中濃度-時間曲線下面積 $AUC_{0\text{-last}}$：時間 0 から検出可能時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積 $AUC_{0\text{-}\infty}$：時間 0 から無限大までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUCR	AUC ratio：AUC 比
BA	bioavailability：バイオアベイラビリティ
BCRP	breast cancer resistance protein：乳癌耐性タンパク
BSA	bovine serum albumin：ウシ血清アルブミン
BSEP	bile salt export pump：胆汁酸トランスポーター
C_{max}	maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
C_{5min}	plasma concentration at 5 minutes：投与 5 分後の血漿中濃度
CL	total clearance：全身クリアランス
CYP	cytochrome P450：シトクロム P450
DNase	deoxyribonuclease：デオキシリボヌクレアーゼ
EC_{50}	50% effective concentration：50%効果濃度
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay：酵素免疫測定法
E_{max}	maximal effect：最大効果
eq.	equivalent：等量
HEK	human embryonic kidney：ヒト胎児由来腎臓
HPLC	high performance liquid chromatography：高速液体クロマトグラフィー
IC_{50}	50% inhibition concentration：50%阻害濃度
IgG	immunoglobulin G：免疫グロブリン G
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）
LSC	liquid scintillation counter：液体シンチレーションカウンター
MATE	multidrug and toxin extrusion：多剤排出輸送体
MSPK	mechanistic static pharmacokinetics：メカニズムに基づく静的薬物速度論
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
OCT	organic cation transporter：有機カチオントランスポーター
P_{app}	apparent permeability coefficient：見かけの透過係数
PDE	phosphodiesterase：ホスホジエステラーゼ
P-gp	P-glycoprotein：P 糖タンパク
QWBA	quantitative whole body autoradiography：定量的全身オートラジオグラフィー
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

語句略語	語句略語内容
RLG	radioluminography：ラジオルミノグラフィー
$t_{1/2}$	elimination half-life：消失半減期
TK	toxicokinetics：トキシコキネティクス
t_{max}	time to maximum plasma concentration：最高血漿中濃度到達時間
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

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

マウス、ラット及びカニクイザルを用いてビルトラルセンの吸収、分布、代謝、排泄及び薬物相互作用を評価した。*in vitro* 試験の一部についてはヒト試料も使用した。動物の系統として、マウスは CD-1、C57BL/10ScSn-Dmd^{mdx}J（*mdx*）及び C57BL/10ScSnJ（野生型）を、ラットは SD を使用した。投与経路は臨床投与経路と同じ静脈内とし、一部の試験では筋肉内投与でも実施した。反復投与試験では、ビルトラルセンは週 1 回間歇投与した。試験では ^{14}C-標識体及び非標識のビルトラルセンを使用した。

（1） 吸収

ラット及びカニクイザルに、ビルトラルセン又は ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与すると、投与量に比例した曝露量の増加が認められた。また、カニクイザルにビルトラルセンを筋肉内投与したときの吸収は良好であり、バイオアベイラビリティは 113%であった。

マウス（静脈内で 26 週間）、カニクイザル（静脈内で 5 及び 39 週間、筋肉内で 12 週間）に、ビルトラルセンを週 1 回間歇投与したとき、投与初日と投与最終日との曝露量に差はなく、反復投与（週 1 回の間歇投与）による蓄積はないと考えられた。

（2） 分布

筋ジストロフィーモデルマウスである *mdx* マウス及びその野生型マウスに ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与した後の放射能は、脳、脊髄、眼球及び精嚢を除く多くの組織に速やかに分布し、腎臓に最も高濃度で分布した。脳及び脊髄の放射能濃度は低いことから、ビルトラルセンは血液脳関門をほとんど通過しないと考えられた。血漿中及び血液中放射能濃度は速やかに低下したが、大部分の組織では放射能の消失は遅かった。*mdx* マウスの方が野生型マウスと比較して筋組織中放射能濃度は高く、筋細胞膜が脆弱となっている *mdx* マウスにおいて筋細胞への移行性が高くなっていると考えられた。

カニクイザルに ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与した後の放射能は、大脳、小脳、脊髄及び眼球を除く多くの組織に速やかに分布し、腎臓に最も高濃度で分布した。大脳及び小脳の放射能濃度は低いことから、ビルトラルセンは血液脳関門をほとんど通過しないと考えられた。血漿中及び血液中放射能濃度は速やかに低下したが、大部分の組織では放射能の消失は遅かった。

カニクイザルに ^{14}C-ビルトラルセンを 8 週間反復静脈内投与（週 1 回の間歇投与）した後の放射能は、単回投与時と同様に分布し、週 1 回の間歇投与による蓄積性はないと考えられた。

ビルトラルセンの血清タンパク結合率はヒトを含め検討したすべての動物種で低く、40.3%以下であった。

ラット、カニクイザル及びヒト血液におけるビルトラルセンの血球移行率は 0.4%～6.7%であり、いずれの動物種においても血球移行性は低かった。

（3） 代謝

ビルトラルセンの代謝について、マウス、ラット、カニクイザル及びヒトの血清、肝臓由来試料（ミクロソーム又は S9）並びに deoxyribonuclease I（DNase I）及び phosphodiesterase 1（PDE 1）を用いて検討した。いずれにおいてもビルトラルセンはほとんど代謝を受けなかった。^{14}C-ビルトラルセンを静脈内投与した後のラット腎臓中、カニクイザル血漿中及び尿中には、^{14}C-ビルトラルセンは主に未変化体として存在した。

各シトクロム P450（CYP）分子種（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及びCYP3A4）及びウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT）分子種（UGT1A1 及びUGT2B7）に対するビルトラルセンの阻害作用について、ヒト肝ミクロソームを用いて検討したところ、CYP3A4（基質：テストステロン）及び UGT2B7 を除く各分子種に対しては、3 mmol/L まで阻害作用を示さなかった。CYP3A4（基質：テストステロン）に対する Ki 値は 1.09 mmol/L、UGT1A1 に対する Ki 値は 0.642 mmol/L であった。CYP3A4 及び UGT1A1 に関して、阻害作用リスクを検討した結果、ビルトラルセンは臨床でこれらの分子種を阻害しないと考えられた。また、誘導作用に関しては、ヒト CYP1A2 及び CYP2B6 に対して、3 mmol/L まで酵素誘導作用を示さなかった。CYP3A4 に対しては高濃度（3 mmol/L）でのみ誘導作用が認められたが、その程度は低く、臨床において誘導作用を示す可能性は低いと考えられた。以上より、ビルトラルセンは臨床においてこれらの分子種の誘導や阻害に基づく薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

（4） 排泄

ラットに ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与した後、投与した放射能の 89.60%が尿中に、7.74%が糞中に排泄された。また、投与後 24 時間までに投与された放射能の大部分が排泄されており、排泄は速やかであった。

カニクイザルに ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与した後、投与した放射能の 28.40%が尿中に、1.20%が糞中に排泄された。また、ケージ洗液及びケージ堆積物中からは、投与した放射能のそれぞれ 27.32%及び 20.06%が回収された。これらは尿由来であり、投与された放射能は主に尿中排泄されると考えられた。

（5） 薬物動態学的薬物相互作用

ビルトラルセンは、有機アニオントランスポーター（OAT）1、OAT3、有機カチオントランスポーター（OCT）2、多剤排出輸送体（MATE）1、MATE2-K、P 糖タンパク（P-gp）及び乳癌耐性タンパク（BCRP）の基質にはならなかった。

ビルトラルセンは、P-gp、OAT1、OCT1、OCT2、MATE1、MATE2-K 及び胆汁酸トランスポーター（BSEP）に対して 3 mmol/L まで阻害作用を示さなかった。有機アニオン輸送ポリペプチド（OATP）1B1、OATP1B3、OAT3 及び BCRP に対しては阻害作用を示し、IC_{50} 値はそれぞれ 485、448、176 及び 1970 μmol/L であった。臨床試験における血漿中濃度との比較から、ビルトラルセンは臨床用量においてこれらの分子種の阻害に基づく薬物相互作用を引き起こす可能性は低いと考えられた。

2.6.4.2 分析法

2.6.4.2.1 標識化合物

試験に用いた標識体（^{14}C-ビルトラルセン）は自社又は[redacted]社（韓国）で合成した。標識位置を図 2.6.4.2.1-1 に示す。比放射能は 0.291 及び 0.300 MBq/mg であり、試験に使用した際の放射化学的純度は 85%以上であった。

各種生体試料中放射能は液体シンチレーション計測（LSC）法で測定した。各種代謝物プロファイルは、生体試料を除タンパク処理後、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）で測定した。定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）は、ラジオルミノグラフィー（RLG）で測定した。

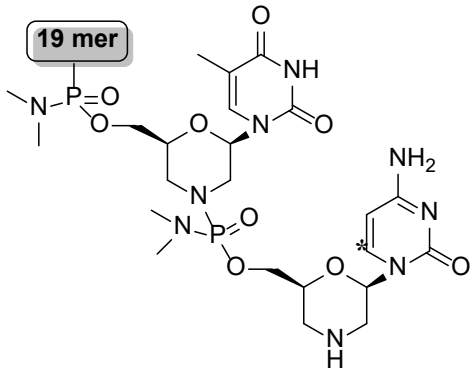


図 2.6.4.2.1-1 ^{14}C-ビルトラルセンの化学構造と標識位置

*：標識位置、19 mer の塩基配列：5’-CCTCCGGTTCTGAAGGTGT-

2.6.4.2.2 非標識化合物

試験に用いたビルトラルセンは自社で合成した。血漿中ビルトラルセン濃度は、各種血漿を固相抽出の処理後、高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析計（LC-MS/MS）により測定した。また、一部の TK 試験においては、ビルトラルセンの製造過程において混入する主な 5 不純物（IM1～IM5）を高速液体クロマトグラフ法（HPLC 法）により測定した。これらの 5 不純物は、各種血漿にビルトラルセンを添加し、除タンパク処理後の試料において、クロマトグラム上に認められた各不純物（IM1～IM5）のピークから、ビルトラルセンを基にした相対的な濃度として算出した。

非臨床試験で用いられた測定法のバリデーション試験における定量範囲及び測定対象を表 2.6.4.2.2-1 に示す。

表 2.6.4.2.2-1 血漿中ビルトラルセン及び不純物濃度測定法バリデーション試験の一覧

測定法	マトリックス	定量範囲（測定対象）	試験番号	CTD 記載箇所
LC-MS/MS	マウス血漿	0.5～50 µg/mL（ビルトラルセン）	TX10748	4.2.2.1-1（評価資料）
HPLC	マウス血漿	1000～5000 µg/mL[a]（不純物）	TX10748	4.2.2.1-1（評価資料）
LC-MS/MS	マウス血漿	0.5～50 µg/mL（ビルトラルセン）	TX10885	4.2.2.1-2（評価資料）
LC-MS/MS	ラット血漿	0.5～50 µg/mL（ビルトラルセン）	TX10763	4.2.2.1-5（評価資料）
HPLC	ラット血漿	1000～5000 µg/mL[a]（不純物）	TX10763	4.2.2.1-5（評価資料）
LC-MS/MS	ラット血漿	0.5～50 µg/mL（ビルトラルセン）	TX10868	4.2.2.1-6（評価資料）
LC-MS/MS	カニクイザル血漿	0.04～1.25 µg/mL 又は 0.5～50 µg/mL（ビルトラルセン）	BP-065-011	4.2.2.1-8（評価資料）
LC-MS/MS	カニクイザル血漿	0.5～50 µg/mL（ビルトラルセン）	TX10742	4.2.2.1-9（評価資料）
HPLC	カニクイザル血漿	1000～5000 µg/mL[a]（不純物）	TX10742	4.2.2.1-9（評価資料）

a：標準品がないため、ビルトラルセンを基にした相対的な濃度として算出

2.6.4.2.3 抗薬物抗体（ADA）測定法

マウス、ラット及びカニクイザルを用いた毒性試験における抗ビルトラルセン抗体の発現を評価するため、ウシ血清アルブミン（BSA）を結合したビルトラルセンを用いて血清中抗ビルトラルセン抗体を捕捉し、ペルオキシダーゼ標識プロテイン A/G を二次抗体とし、酵素免疫測定法（ELISA）で検出する方法を開発した。抗ビルトラルセン抗体の陽性対照として、全ての動物種で抗ビルトラルセンウサギ免疫グロブリン G（IgG）を用いた。測定の際は、まずスクリーニング試験を実施し、陽性を示した試料についてビルトラルセン共存下にて確認試験を実施した。

表 2.6.4.2.3-1 血清中抗ビルトラルセン抗体測定法バリデーション試験の一覧

測定法	マトリックス	試験番号	CTD 記載箇所
ELISA	マウス血清	TX10799	4.2.2.1-3（評価資料）
ELISA	マウス血清	TX10886	4.2.2.1-4（評価資料）
ELISA	ラット血清	TX10871	4.2.2.1-7（評価資料）
ELISA	カニクイザル血清	TX10758	4.2.2.1-10（評価資料）

2.6.4.3 吸収

ラット及びカニクイザルにビルトラルセン又は ^{14}C-ビルトラルセンを単回投与したとき、並びにマウス及びカニクイザルにビルトラルセンを反復投与したときの薬物動態を検討した。反復投与試験では、ビルトラルセンを週 1 回間歇投与した。特に記載のない限り、薬物動態パラメータは平均値±標準偏差で示した。

2.6.4.3.1 血漿中動態：単回投与

2.6.4.3.1.1 ラットに ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与したときの薬物動態（試験番号 BP-065-019、資料番号 4.2.2.2-1、評価資料）

雄性 SD ラットに ^{14}C-ビルトラルセンを 6、20 及び 60 mg/kg で単回静脈内投与したときの血漿中の総放射能を測定した（n=3）。薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.1.1-1 に示す。

各投与量における C_{5min} はそれぞれ 32.4 ± 10.2、115 ± 4 及び 339 ± 83 μg eq./mL、$AUC_{0-\infty}$はそれぞれ 17.5 ± 4.0、61.4 ± 6.4 及び 207 ± 44 μg eq.·hr/mL であり、C_{5min} 及び $AUC_{0-\infty}$は投与量に比例して増加した。CL 及び Vd_{ss} に投与量間で有意な差はなかった（4.2.2.2-1 Table 3）。各投与量における $t_{1/2}$ はそれぞれ 1.19 ± 0.74、1.19 ± 0.13 及び 10.5 ± 3.0 hr であった。60 mg/kg 投与時の $t_{1/2}$ はその他の投与量に比べて延長したが、これは採血時間点の違い（60 mg/kg のみ投与後 24 時間での採血を実施）によるものと考えられた。

表 2.6.4.3.1.1-1 ラットに ^{14}C-ビルトラルセンを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.·hr/mL)	$t_{1/2}$ (hr)	CL (mL/hr/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（n=3）

［4.2.2.2-1 Table 1 を引用］

2.6.4.3.1.2 カニクイザルにビルトラルセンを単回静脈内及び筋肉内投与又は ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与したときの薬物動態（試験番号 BP-065-008、資料番号 4.2.2.2-2、評価資料）

雄性カニクイザルにビルトラルセンを 6、20 及び 60 mg/kg で単回静脈内投与又は 20 mg/kg で単回筋肉内投与したときの血漿中ビルトラルセン濃度を測定した（n=3）。

ビルトラルセンを静脈内投与したときの各投与量における C_{5min} はそれぞれ 67.5 ± 14.9、220 ± 44 及び 643 ± 303 μg/mL、$AUC_{0-\infty}$はそれぞれ 38.3 ± 6.8、124 ± 19 及び 430 μg·hr/mL（60 mg/kg 投与時は 2 例の平均値）であり、C_{5min} 及び $AUC_{0-\infty}$は投与量に比例して増加した。また、本薬 20 mg/kg を筋肉内投与したとき、投与 1 時間後に血漿中濃度は最大となり、24.3 ± 6.9 μg/mL であった。$AUC_{0-\infty}$は 140 ± 21 μg·hr/mL、$t_{1/2}$ は 2.7 ± 0.4 時間であった。静脈内投与（20 mg/kg）時の $AUC_{0-\infty}$との比より求めたバイオアベイラビリティ（BA）の平均値は 113%であり、筋肉内投与後の吸収は良好であった。

^{14}C-ビルトラルセンを 20 mg/kg で単回静脈内投与したときの血漿中の総放射能を測定した（n=3）。C_{5min} は 300 ± 83 μg eq./mL、$AUC_{0-\infty}$は 163 ± 38 μg eq.·hr/mL、$t_{1/2}$ は 1.7± 0.1 時間であり、非標識体投与時と標識体投与時の血漿中濃度推移は同様と考えられ（図 2.6.4.3.1.2-1）、静脈内投与されたビルトラルセンは生体内ではほとんど代謝を受けないものと推察された。各投与群における薬物動態パラメータを表 2.6.4.3.1.2-1 に示す。

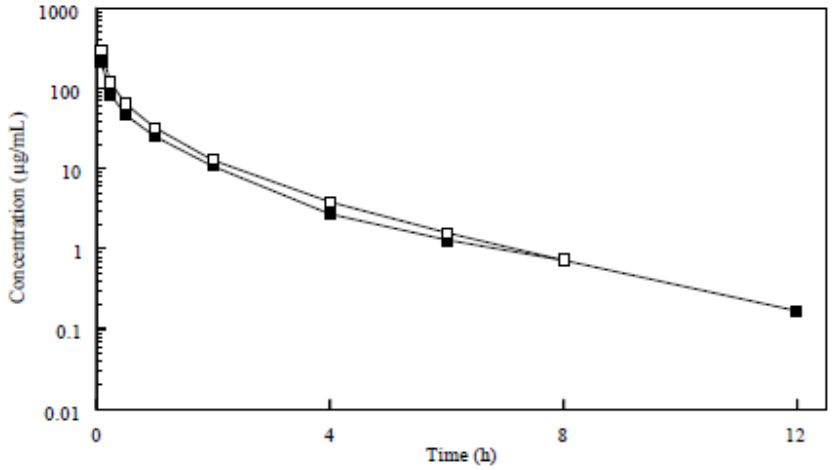


図 2.6.4.3.1.2-1　カニクイザルにビルトラルセン又は ^{14}C-ビルトラルセンを 20 mg/kg で静脈内投与したときの血漿中濃度

縦軸は対数軸であり、ビルトラルセン濃度（μg/mL）もしくは総放射能（μg eq./mL）を示す。平均値（n=3）。
■：ビルトラルセン、□：^{14}C-ビルトラルセン

［4.2.2.2-2 Figure 3 を引用］

表 2.6.4.3.1.2-1　カニクイザルにビルトラルセンを単回静脈内及び筋肉内投与又は ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与したときの薬物動態パラメータ

投与物質	投与経路	投与量 (mg/kg)	C_{5min} 又は C_{max}[a] (μg/mL)[b]	$AUC_{0-\infty}$ (μg·hr/mL)[c]	$t_{1/2}$ (hr)	CL (mL/hr/kg)	Vd_{ss} (mL/kg)	BA (%)
ビルトラルセン	静脈内	6	67.5 ± 14.9	38.3 ± 6.8	2.1 ± 0.2[e]	160 ± 32	185 ± 44	NC
		20	220 ± 44	124 ± 19	2.0 ± 0.3[e]	164 ± 28	179 ± 39	NC
		60	643 ± 303	430[d]	3.4[d]	157[d]	196[d]	NC
	筋肉内	20	24.3 ± 6.9	140 ± 21	2.7 ± 0.4[e]	NC	NC	113
^{14}C-ビルトラルセン	静脈内	20	300 ± 83	163 ± 38	1.7 ± 0.1[e]	NC	NC	NC

平均値 ± 標準偏差（n=3）、NC：not calculated（算出せず）
a：静脈内投与は C_{5min}、筋肉内投与は C_{max}
b：^{14}C-ビルトラルセン投与時は μg eq./mL
c：^{14}C-ビルトラルセン投与時は μg eq.·hr /mL
d：平均値（n=2）
e：標準偏差は個体値（n=3）を用いて別途算出

［4.2.2.2-2 Table 3、Table 5、Table 7、Table 9、Table 11 を改変］

2.6.4.3.1.3　トキシコキネティクス試験における薬物動態（試験番号 TX10764, TX10762、資料番号 4.2.1.3-1, 4.2.3.1-2、評価資料）

雄性ラット（静脈内）及び雄性カニクイザル（筋肉内）にビルトラルセンを単回投与したときのトキシコキネティクス（TK）を評価した。薬物動態パラメータ及び不純物の有無（試験番号 TX10764 で測定）を表 2.6.4.3.1.3-1 に示す。

ラットにビルトラルセンを 0（媒体：生理食塩液）、125、250 及び 500 mg/kg で単回静脈内投与（n=3）したとき、C_{max} （平均値）は、641.8、1077 及び 1862 μg/mL、AUC_{0-24hr}（平均値）は 273.1、604.8 及び 2361　μg·hr/mL であり、投与量に伴って増加した。C_{max} は投与量に伴って増加したが、

$AUC_{0\text{-}24hr}$ は高用量（500 mg/kg）では投与量比以上の増加が認められた。t_{max} の平均値はいずれも 0.1 hr で、投与量に依存した変化は認められなかった。不純物の曝露は 250 mg/kg 以上の投与群で認められた。

カニクイザルにビルトラルセンを 0（媒体：生理食塩液）、1、10 及び 100 mg/kg で単回筋肉内投与（n=3）したとき、C_{max} は、1.943 ± 0.228、11.42 ± 1.07 及び 66.15 ± 21.06 µg/mL、$AUC_{0\text{-}24hr}$ は 3.914 ± 0.189、41.45 ± 6.52 及び 319.7 ± 81.2 µg·hr/mL であり、投与量に伴って増加した。t_{max} は 0.8 ± 0.3、1.0 ± 0.0 及び 2.7 ± 1.2 hr と高用量では延長した。

表 2.6.4.3.1.3-1 ラット（静脈内）及びカニクイザル（筋肉内）にビルトラルセンを単回投与したときのビルトラルセンの薬物動態パラメータ及び不純物の有無（TK 試験）

動物種	投与経路	例数	投与量 (mg/kg)	t_{max} (hr)	C_{max} (µg/mL)	$AUC_{0\text{–}24hr}$ (µg·hr/mL)	不純物	試験番号
ラット	静脈内	3	125	0.1	641.8	273.1	250mg/kg 以上で検出	TX10764
			250	0.1	1077	604.8		
			500	0.1	1862	2361		
カニクイザル	筋肉内	3	1	0.8 ± 0.3	1.943 ± 0.228	3.914 ± 0.189	測定せず	TX10762
			10	1.0 ± 0.0	11.42 ± 1.07	41.45 ± 6.52		
			100	2.7 ± 1.2	66.15 ± 21.06	319.7 ± 81.2		

平均値（n=3）又は平均値±標準偏差（n=3）

［4.2.1.3-1 table 2, 3-1～5-5、4.2.3.1-2 table 1-2 を改変］

2.6.4.3.2 血漿中動態：反復投与（試験番号 TX10827, TX10818, X10747, TX10832, TX10837、資料番号 4.2.3.2-2, 4.2.3.2-4, 4.2.3.2-5, 4.2.3.7.6-1, 4.2.3.7.6-2、評価資料）

雄性のマウス（静脈内）及びカニクイザル（静脈内及び筋肉内）に、ビルトラルセンを反復投与したときの薬物動態を検討した。ビルトラルセンは週 1 回の間歇投与とし、マウスに 26 週間、カニクイザルに静脈内投与で 5 及び 39 週間、筋肉内投与で 12 週間投与した。薬物動態パラメータ及び不純物の有無を表 2.6.4.3.2-1 に示す。

静脈内投与では、いずれの動物においても、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ は投与量に伴って増加した。t_{max} は投与終了後の最初の採血時点であり、投与量に依存した変化は認められなかった。投与初日と最終日（最終測定日）の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}24hr}$ に大きな違いはなく、週 1 回の間歇投与による蓄積はないと考えられた。

筋肉内投与では、反復投与（12 回）後の C_{max} は初回投与（1 回目）後に比べて低値であり、t_{max} は遅延したが、$AUC_{0\text{-}24hr}$ に大きな違いはなく、曝露量に差はないと考えられた。

表 2.6.4.3.2-1　ビルトラルセンを週 1 回、間歇反復投与したときの薬物動態パラメータ及び不純物の有無（1/2）

動物種	投与経路	投与期間	例数	投与量 (mg/kg)	測定日 測定時点	t_{max} (hr)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-24hr} (μg·hr/mL)	不純物	試験番号
マウス	静脈内	26 週間	3	15	day 0	0.1	57.7	20.34	240mg/kg 以上で検出	TX10827
					day 175	0.1	47.11	17.64		
				60	day 0	0.1	229.7	75.84		
					day 175	0.1	210.2	67.47		
				240	day 0	0.1	981.1	654.9		
					day 175	0.1	682.4	500.6		
				1000	day 0	0.1	4660	7458		
					day 175	0.1	4352	17280		
カニクイザル	静脈内	5 週間	3	200	1 回目（lot 57）	0.0 ± 0.0	1974 ± 156	715.1 ± 50.6	lot 57：全て検出 lot 59：IM4 を除く 4 種類を検出	TX10832
					5 回目（lot 57）	0.0 ± 0.0	2536 ± 122	909.7 ± 21.6		
					1 回目（lot 59）	0.0 ± 0.0	2443 ± 126	903.7 ± 150.7		
					5 回目（lot 59）	0.0 ± 0.0	2319 ± 298	1035 ± 226		
				600	1 回目（lot 57）	0.0 ± 0.0	6822 ± 202	4151 ± 849		
					5 回目（lot 57）	0.0 ± 0.0	6897 ± 173	3796 ± 549		
					1 回目（lot 59）	0.0 ± 0.0	6723 ± 622	4670 ± 1253		
					5 回目（lot 59）	0.0 ± 0.0	7346 ± 1138	4777 ± 490		
カニクイザル	静脈内	5 週間	3	200	1 回目（lot 57）	0.0 ± 0.0	2440 ± 235	1156 ± 410	両ロットで検出	TX10837
					5 回目（lot 57）	0.0 ± 0.0	2324 ± 453	1070 ± 176		
					1 回目（lot 63）	0.0 ± 0.0	2460 ± 19	1092 ± 47		
					5 回目（lot 63）	0.0 ± 0.0	2348 ± 363	1018 ± 87		
				600	1 回目（lot 57）	0.0 ± 0.0	7317 ± 833	5147 ± 660		
					5 回目（lot 57）	0.0 ± 0.0	7200 ± 963	4623 ± 1390		
					1 回目（lot 63）	0.0 ± 0.0	6063 ± 268	4482 ± 1752		
					5 回目（lot 63）	0.0 ± 0.0	7507 ± 513	4347 ± 799		

平均値又は平均値±標準偏差

表 2.6.4.3.2-1　ビルトラルセンを週 1 回、間歇反復投与したときの薬物動態パラメータ及び不純物の有無（2/2）

動物種	投与経路	投与期間	例数	投与量 (mg/kg)	測定日 測定時点	t_{max} (hr)	C_{max} (μg/mL)	AUC_{0-24hr} (μg·hr/mL)	不純物	試験番号
カニクイザル	静脈内	39 週間	3	10	1 回目	0.0 ± 0.0	137.6 ± 6.0	50.25 ± 7.91	360mg/kg で検出	TX10818
					13 回目	0.0 ± 0.0	134.6 ± 9.3	59.77 ± 18.54		
					26 回目	0.0 ± 0.0	115.1 ± 14.9	43.00 ± 6.76		
					38 回目	0.0 ± 0.0	122.8 ± 19.6	54.69 ± 15.21		
				60	1 回目	0.0 ± 0.0	805.9 ± 56.5	269.3 ± 31.1		
					13 回目	0.0 ± 0.0	700.3 ± 113.9	274.4 ± 18.2		
					26 回目	0.0 ± 0.0	598.6 ± 106.2	251.9 ± 23.3		
					38 回目	0.0 ± 0.0	613.9 ± 106.8	261.1 ± 24.4		
				360	1 回目	0.0 ± 0.0	3665 ± 672	2452 ± 1160		
					13 回目	0.0 ± 0.0	3522 ± 179	2081 ± 426		
					26 回目	0.0 ± 0.0	4198 ± 265	2501 ± 720		
					38 回目	0.0 ± 0.0	3711 ± 63	2294 ± 554		
カニクイザル	筋肉内	12 週間	5	100	1 回目	2.4 ± 0.9	85.93 ± 21.29	621.4 ± 120.6	検出されず	TX10747
					12 回目	4.2 ± 2.5	49.28 ± 11.12	540.0 ± 85.2		

平均値又は平均値±標準偏差

[4.2.3.2-2 table3, 4, 15-1～16-5、4.2.3.2-4 table 1-2, 2-2, 3-2, 4-2, 5-1～8-5、4.2.3.2-5 table 1-2, 2-2, 3-1～4-5、4.2.3.7.6-1 table 1-2, 2-2, 3-1～4-5、4.2.3.7.6-2 table 1-2, 2-2, 3-1～4-5 を改変]

2.6.4.4 分布

2.6.4.4.1 *In vitro* タンパク結合及び血球移行率（試験番号 BP-065-006、BP-065-039、BP-065-020 資料番号 5.3.2.1-1、4.2.2.3-1、5.3.2.3-1、評価資料）

CD-1 マウス、SD ラット、カニクイザル及びヒト血清と ^{14}C-ビルトラルセン（1000 及び 10000 ng/mL）を用いて、ビルトラルセンの血清タンパク結合率を超遠心法で算出した。タンパク結合率の平均値は、マウスで 23.0%～25.7%、ラットで 29.7%～32.2%、カニクイザルで 36.1%～36.2%、ヒトで 39.4%～40.3%であった。いずれの種においてもタンパク結合率は低く、種差は認められなかった。

SD ラット、カニクイザル及びヒト血液と ^{14}C-ビルトラルセン（1000 及び 10000 ng/mL）を用いて、ビルトラルセンの血球移行を検討した。血球移行率の平均値は、ラットで 0.4%～2.5%、カニクイザルで 4.1%～6.7%、ヒトで 2.1%～3.5%であり、いずれの種においても血球移行率は低かった。

2.6.4.4.2 マウスの組織分布（試験番号 BP-065-002、資料番号 4.2.2.3-2、評価資料）

雄性 C57BL/10ScSnJ マウス（野生型マウス）及び雄性 C57BL/10ScSn-Dmd^{mdx}J マウス（*mdx* マウス、筋ジストロフィーモデルマウス）に ^{14}C-ビルトラルセンを 20 mg/kg の用量で単回静脈内投与したときの組織分布試験を実施した。

野生型マウス及び *mdx* マウスのどちらにおいても、放射能は脳、脊髄、眼球、精嚢及び胆汁を除く多くの組織に速やかに分布し、投与後 5 分（最初の測定時点）又は 15 分の放射能濃度が最も高かった。最も高濃度で分布した組織は腎臓で、大動脈、血液、血漿及び皮膚などでも高かった。血漿中及び血液中の放射能は投与後 5 分（最初の測定時点）の放射能濃度が最も高く、その後は速やかに低下したが、多くの組織では放射能の消失は遅く、最終測定時点である投与後 168 時間においても放射能が検出された。投与後 1 時間までは、腎臓や皮膚など一部を除いて組織中の放射能濃度は血液に比べて低かったが、投与後 4 時間以降では、ほとんどの組織において放射能濃度は血漿に比べて高くなった。

野生型マウス及び *mdx* マウスの放射能の分布パターンは同様であったが、投与後 24 時間までは *mdx* マウスの組織中放射能濃度は野生型マウスに比べて高く、特に投与 1 時間後の筋肉組織において顕著であった（野生型マウス：0.329～2.46 μg eq./g、*mdx* マウス：3.53～11.7 μg eq./g）。筋ジストロフィーモデルマウスである *mdx* マウスでは筋細胞膜が脆弱であり、^{14}C-ビルトラルセンの筋細胞中への移行性が高くなっていると考えられた。

2.6.4.4.3 カニクイザルの組織分布（試験番号 BP-065-009, BP-065-037、資料番号 4.2.2.3-3, 4.2.2.3-4、評価資料）

カニクイザルに ^{14}C-ビルトラルセンを 20 mg/kg の用量で単回静脈内投与（試験番号 BP-065-009）及び 8 週間反復静脈内投与（試験番号 BP-065-037）したときの組織分布試験を実施した。

単回静脈内投与（試験番号 BP-065-009）したとき、放射能は大脳、小脳、脊髄及び眼球を除く多くの組織に速やかに分布し、大部分の組織では投与後 15 分（最初の測定時点）の放射能濃度が最も高かった。最も高濃度で分布した組織は腎皮質（t_{max} は 24 時間）であり、副腎、甲状腺、肝

臓及び脾臓などでも高かった。血漿中及び血液中濃度は投与後 15 分（最初の測定時点）に最高濃度に達した後は速やかに低下し、投与後 24 時間では定量下限未満もしくは定量下限付近となったが、多くの組織では放射能の消失は遅く、投与後 504 時間において約 1/3 の組織で放射能が検出された。大部分の組織では、投与後 1 時間までは組織中濃度は血液中濃度に比べて低かったが、投与後 24 時間以降は組織中濃度の方が血漿中濃度に比べて高くなった。最も高濃度で推移した腎皮質における消失半減期は 366.9 時間であり、放射能濃度の低かった他の組織の消失半減期と同程度であった。各筋肉組織中の放射能はほぼ同様の分布を示し、多くは投与後 24 時間から 504 時間の間に定量下限未満もしくは定量下限付近となった。心筋では投与後 168 時間においても放射能が検出された。また、投与後 504 時間（最終測定時点）のブドウ膜／網膜及び皮膚（濃色部）において放射能の残存が認められていないことから、ビルトラルセンはメラニンへの結合親和性はないと考えられた。

8 週間反復静脈内投与試験（試験番号 BP-065-037）では、^{14}C-ビルトラルセンを週 1 回間歇投与した。単回投与時（試験番号 BP-065-009）と同様に、^{14}C-ビルトラルセンは大脳、小脳、脊髄及び眼球への組織移行性は低く、腎臓に最も高濃度で分布した。また、大部分の組織では反復投与時の組織中放射能濃度は単回投与時と比べて高かったが、その差は顕著なものでなく、投与後 504 時間の放射能濃度が定量下限付近まで低下していることから、反復投与による蓄積性はないと判断した。

2.6.4.5 代謝

2.6.4.5.1 *In vitro* 代謝：血清、肝臓由来試料（肝ミクロソーム及び S9）、DNase I 及び PDE 1 を用いた検討（試験番号 BP-065-039, BP-065-010, BP-065-012、資料番号 4.2.2.3-1, 5.3.2.2-1, 5.3.2.2-2、評価資料）

CD-1 マウス、SD ラット、カニクイザル及びヒトの血清並びに肝臓由来試料（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 Radio-HPLC により評価した（マウス：試験番号 BP-065-039、マウス以外：試験番号 BP-065-010、BP-065-012）。また、DNase I 及び PDE 1 に対する代謝安定性についても同様に評価した（試験番号 BP-065-012）。

マウス試料を用いた試験では、^{14}C-ビルトラルセン（0.1 mg/mL）を各試料中でインキュベーションし、^{14}C-ビルトラルセン、不純物及びその他のピークの総放射能に対する面積比率を反応前後で比較することにより評価した。

マウス以外の試料については、^{14}C-ビルトラルセン（0.1 mg/mL）を各試料中でインキュベーションし、各試料中の ^{14}C-ビルトラルセン、不純物及びその他のピークの総放射能に対する面積比率を未反応コントロールと比較することで評価した。また、ピーク面積を用いて、^{14}C-ビルトラルセンの未反応コントロールに対する比率についても算出した。

いずれの試料を用いた場合も、^{14}C-ビルトラルセンは減少しなかった。また、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。

以上より、^{14}C-ビルトラルセンはマウス、ラット、カニクイザル及びヒトの血清、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。

2.6.4.5.2 *In vivo* 代謝

2.6.4.5.2.1 ラットにおける代謝（試験番号 BP-065-023、資料番号 4.2.2.4-1、評価資料）

雄性 SD ラットに ^{14}C-ビルトラルセンを 20 mg/kg で単回静脈内投与したときの、投与後 2 時間及び 24 時間における腎臓中の代謝物プロファイルを Radio-HPLC により評価した。ラジオクロマトグラムにおいて、総放射能に対する未変化体の割合は、投与後 2 時間で約 76%、24 時間で約 58%であり、腎臓中には主に未変化体として存在していた。

2.6.4.5.2.2 カニクイザルの血漿及び尿中代謝物（試験番号 BP-065-013、資料番号 4.2.2.4-2、評価資料）

雄性カニクイザルに ^{14}C-ビルトラルセンを 20 mg/kg で単回静脈内投与したときの、投与後 5 分、15 分、30 分及び 1 時間における血漿と、投与直後～投与後 6 時間及び投与後 6～24 時間にわたり回収した尿を用いて、^{14}C-ビルトラルセンの代謝を Radio-HPLC により評価した。各測定時点において、総放射能に対する ^{14}C-ビルトラルセンのピーク面積比率を算出し、未変化体の割合を比較した。

血漿中ではいずれの測定時点においても未変化体が最も多く認められ、未変化体の割合（平均値）は 90%以上であった。

尿においては、投与後 0～6 時間の 1 例のサンプルを除き、血漿と同様に未変化体が最も多く認められ、未変化体の割合（平均値、0～6 時間は個体値）は約 85%以上であった。投与後 0～6 時間の 1 例の尿サンプルでは未変化体の割合が約 1%と低値であったが、当該試料が HPLC 分析に影響（尿サンプル中に含まれる生体成分や高濃度の塩、サンプル pH がイオンペアクロマトグラフィーの分離能に及ぼす影響など）を与え、クロマトグラムの乱れにより未変化体として尿中に排泄された割合が低く見積もられたことが原因と考えられた（4.2.2.4-2 Figure 4）。

以上、^{14}C-ビルトラルセンはカニクイザルの血漿中及び尿中では主として未変化体として存在していたことから、カニクイザルの生体内において、^{14}C-ビルトラルセンは代謝／分解を受けずに全身循環し、尿中にそのまま未変化体として排泄されると考えられた。

2.6.4.5.3 ビルトラルセンの代謝経路

In vitro 及び *in vivo* における代謝検討で、ビルトラルセンは安定であること、ヒトに本薬を投与した際にそのほとんどが未変化体として尿中に排泄される（2.7.2.3.1.1 項参照）ことから、代謝経路の検討は実施していない。

2.6.4.5.4 薬物代謝酵素の阻害又は誘導

2.6.4.5.4.1 ヒト肝ミクロソームを用いた CYP 阻害試験（*In vitro*）（試験番号 BP-065-021, BP-065-041、資料番号 5.3.2.2-3, 5.3.2.2-4、評価資料）

ヒト肝ミクロソームを用いて、ビルトラルセンの CYP 阻害作用について検討した。

まず、ビルトラルセン（1、10 及び 100 µmol/L）の *in vitro* におけるヒト CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1 及び CYP3A4/5 阻害作用について評価した（試験番号 BP-065-021）。時間依存的阻害の評価については、ヒト肝ミクロソームとビルトラルセンを 30 分間プレインキュベーションした後の各 CYP 分子種に対する阻害作用を検討した。ビルトラルセンは、CYP1A2 を除いて、プレインキュベーションの有無にかかわらず、100 µmol/L の濃度まで阻害作用を示さなかった。CYP1A2 に対しては 100 µmol/L で阻害作用を示し、その阻害率は溶媒対照の 47%（プレインキュベーションなし）及び 50%（プレインキュベーションあり）であり、時間依存的阻害は認められなかった。CYP1A2 に対する Ki 値（競合阻害）は 661 µmol/L であり、CYP1A2 に対する阻害作用は弱いものと考えられた。

次に、より高濃度のビルトラルセン（0.1、0.3、1 及び 3 mmol/L）の *in vitro* におけるヒト CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 及び CYP3A4 阻害作用について評価した（試験番号 BP-065-041）。上記と同様に、時間依存的阻害も合わせて評価した。ビルトラルセンは、CYP3A4（基質：テストステロン）を除いて、プレインキュベーションの有無にかかわらず、3 mmol/L の濃度まで阻害作用を示さなかった。CYP3A4（基質：テストステロン）に対しては 3 mmol/L で阻害作用を示し、活性残存率は溶媒対照の 30.6%（プレインキュベーションなし）及び 28.5%（プレインキュベーションあり）、IC_{50} 値は 1.48 mmol/L（プレインキュベーションなし）及び 1.44 mmol/L（プレインキュベーションあり）であり、時間依存的阻害は認められなかった。CYP3A4 に対する Ki 値は 1.09 mmol/L であり、ビルトラルセンは CYP3A4 に対する阻害作用を有すると考えられた。

2.6.4.5.4.2 ヒト肝ミクロソームを用いた UGT 阻害試験（*In vitro*）（試験番号 BP-065-043、資料番号 5.3.2.2-5、評価資料）

ヒト肝ミクロソームを用いて、ビルトラルセン（0.1、0.3、1 及び 3 mmol/L）の *in vitro* におけるヒト UGT1A1 及び UGT2B7 阻害作用について評価した。ビルトラルセンは UGT2B7 に対して 3 mmol/L の濃度まで阻害作用を示さなかった。一方、UGT1A1 に対しては 1 mmol/L から阻害作用を示し、活性残存率は溶媒対照の 33.5%以下、IC_{50} 値は 0.519 mmol/L であった。UGT1A1 に対する Ki 値は 0.642 mmol/L であり、ビルトラルセンは UGT1A1 に対する阻害作用を有すると考えられた。

2.6.4.5.4.3 ヒト肝細胞を用いた CYP 誘導作用（*In vitro*）（試験番号 BP-065-004, BP-065-032, BP-065-042、資料番号 5.3.2.2-6, 5.3.2.2-7, 5.3.2.2-8、評価資料）

ヒト肝細胞を用いて、ビルトラルセンの CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4（試験番号 BP-065-004 では CYP3A4/5）に対する誘導作用について評価した。

試験番号 BP-065-004 では、ビルトラルセンの適用濃度は 0.1、1 及び 10 µmol/L とし、各 CYP 分子種の酵素活性を指標として評価した。ビルトラルセンはいずれの酵素活性に対しても誘導作用を示さなかった。

試験番号 BP-065-032 では、ビルトラルセンの適用濃度は 1、10 及び 100 µmol/L とし、各 CYP 分子種の mRNA 発現量を指標として評価した。ビルトラルセンはいずれの mRNA 発現量に対しても誘導作用を示さなかった。

試験番号 BP-065-042 では、ビルトラルセンの適用濃度は 0.03、0.1、0.3、0.5、1 及び 3 mmol/L とし、各 CYP 分子種の mRNA 発現量を指標として評価した。ビルトラルセンは CYP1A2 及び CYP2B6 の mRNA 発現量に対して誘導作用を示さなかった。一方、CYP3A4 に対しては、検討したヒト肝細胞の 3 ロット中 2 ロットではビルトラルセンによる mRNA 発現量の誘導作用は認められなかったが、1 ロットにおいて、ビルトラルセンは 3 mmol/L の濃度で mRNA 発現量を溶媒対照の 2.33 倍に増加させた。E_{max} モデルにおける EC_{50} 値及び E_{max} 値の算出を試みたものの、mRNA 発現量の上昇が小さく、これらの値を算出することは出来なかった。

2.6.4.6 排泄

2.6.4.6.1 ラットに ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与した後の尿糞呼気中排泄（試験番号 BP-065-007、資料番号 4.2.2.5-1、評価資料）

雄性 SD ラットに ^{14}C-ビルトラルセンを 20 mg/kg の用量で単回静脈内投与（n=3）したときの尿、糞、呼気、ケージ洗液及び腎臓中放射能を測定した。

投与後 168 時間までに、投与した放射能の 99.02%が回収された。投与後 24 時間までに投与した放射能の 93.24%が尿中及び糞中に排泄されており、体内からの排泄は速やかであった。投与後 168 時間までに投与した放射能の 89.60%が尿中に、7.74%が糞中に排泄され、呼気中に放射能は検出されなかったことより、ラットにおける主要排泄経路は尿中であると考えられた。なお、投与後 168 時間後の腎臓には投与した放射能の 1.20%が残存していた。

2.6.4.6.2 カニクイザルに ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与した後の尿糞中排泄（試験番号 BP-065-008、資料番号 4.2.2.2-2、評価資料）

雄性カニクイザルに ^{14}C-ビルトラルセンを 20 mg/kg の用量で単回静脈内投与（n=3）したときの尿、糞、ケージ洗液及びケージ堆積物中の放射能を測定し、排泄挙動を検討した。

投与後 168 時間までに、投与した放射能の 76.99%が排泄され、その大部分が投与後 24 時間までに排泄された。投与した放射能の 28.40%が尿中に、27.32%がケージ洗液、20.06%がケージ堆積物に排泄された。糞中への排泄は 1.20%と低く、ケージ洗液及びケージ堆積物中の放射能は尿由来であると推察されたことから、カニクイザルの主要排泄経路は尿中であると考えられた。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.7.1 各種薬物トランスポーターに対する基質認識性（*In vitro*）（試験番号 BP-065-038、資料番号 5.3.2.2-9、評価資料）

ヒトの主要なトランスポーターに対する ^{14}C-ビルトラルセン（10 µmol/L 又は 100 µmol/L）の基質認識性について検討した。P-gp 及び BCRP の評価には、各トランスポーターを安定的に発現させた LLC-PK1 細胞を用いた。OAT1、OAT3、OCT2 及び MATE1 の評価には、各トランスポーターを安定的に発現させた HEK293 細胞を用いた。MATE2-K の評価には、MATE2-K を一過性に発現させた HEK293 細胞を用いた。

P-gp 及び BCRP 発現細胞における単層膜形成の確認には、各トランスポーターの典型基質（P-gp：^{3}H-ジゴキシン、BCRP：^{3}H-プラゾシン）及び ^{14}C-マンニトールを用いた。P-gp 及び BCRP の基質認識性の評価は、LLC-PK1 細胞の頂端膜側→基底膜側（A→B）及び基底膜側→頂端膜側（B→A）への見かけの膜透過係数の比より算出した P_{app} 比（B→A / A→B）を用いて求めた Corrected P_{app} ratio（トランスポーター発現細胞における P_{app} 比（B→A / A→B）／コントロール細胞における P_{app} 比（B→A / A→B））を指標とした。^{14}C-ビルトラルセンの P-gp 及び BCRP の Corrected P_{app} ratio はそれぞれ 1.0 及び 0.9 と低く、典型阻害薬（P-gp：ベラパミル、BCRP：Ko143）存在下においても Corrected P_{app} ratio が変化しなかったことから、ビルトラルセンはこれらのトランスポーターの基質ではないと考えられた。

OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K の試験系の確認には、各トランスポーターの典型基質（OAT1：^{3}H-p-アミノ馬尿酸、OAT3：^{3}H-エストロン-3-硫酸、OCT2、MATE1、MATE2-K：^{14}C-メトホルミン）及び典型阻害薬（OAT1、OAT3：プロベネシド、OCT2：キニジン、MATE1 及び MATE2-K：シメチジン）を用いた。これらのトランスポーター（OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K）の基質認識性の評価は、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（Cleared volume）の比を指標とした。^{14}C-ビルトラルセンの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 Cleared volume の比はいずれも 2 未満と低く、典型阻害薬存在下においてもほとんど変化しなかったことから、ビルトラルセンはこれらのトランスポーターの基質ではないと考えられた。

以上より、ビルトラルセンはヒトの主要なトランスポーター（P-gp、BCRP、OAT1、OAT3、OCT2、MATE1 及び MATE2-K）の基質ではないと考えられた。

2.6.4.7.2 各種薬物トランスポーターに対する阻害作用（*In vitro*）（1）（試験番号 BP-065-033、資料番号 5.3.2.2-10、評価資料）

ヒトの主要なトランスポーターに対するビルトラルセン（1～100 µmol/L）の阻害作用について検討した。

P-gp 及び BCRP の評価には、各トランスポーターを安定的に発現させた LLC-PK1 細胞を用いた。OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2 及び MATE1 の評価には、各トランスポーターを安定的に発現させた HEK293 細胞を用いた。MATE2-K の評価には、MATE2-K を一過性に発現させた HEK293 細胞を用いた。BSEP については、BSEP 発現細胞から調製した膜小胞を用いた。

ビルトラルセン（1～100 μmol/L）存在下での P-gp 及び BCRP の典型基質（P-gp：^{3}H-ジゴキシン、BCRP：^{3}H-プラゾシン）の Corrected P_{app} ratio はそれぞれ溶媒対照の 86.4%～103.6%及び 81.6%～96.1%であり、ビルトラルセンはこれらのトランスポーターを阻害しないことが示された。なお、典型阻害薬存在下における典型基質の Corrected P_{app} ratio は、いずれのトランスポーターも溶媒対照群の 13.6%以下であった。

また、ビルトラルセン（0.1～50 μmol/L）存在下での OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、MATE1、MATE2-K 及び BSEP の典型基質（OATP1B1 及び OATP1B3：^{3}H-エストラジオール-17β-D-グルクロナイド、OAT1：^{14}C-p-アミノ馬尿酸、OAT3：^{3}H-エストロン-3-硫酸、OCT1、OCT2、MATE1 及び MATE2-K：^{14}C-メトホルミン、BSEP：^{3}H-タウロコール酸）の Cleared volume の溶媒対照に対する比率（%）を算出した。OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、MATE1、MATE2-K 及び BSEP における Cleared volume の溶媒対照に対する比率はそれぞれ 92.5%～102.6%、88.0%～103.2%、99.4%～106.2%、89.9%～102.9%、85.0%～99.8%、84.2%～101.6%、88.0%～110.6%、87.8%～101.4%及び 97.2%～111.9%であった。なお、典型阻害薬存在下における Cleared volume の溶媒対照に対する比率は、いずれのトランスポーターも 19.7%以下であった。

以上より、ビルトラルセン（1～100 μmol/L 又は 0.1～50 μmol/L）はヒトの主要なトランスポーター（P-gp、BCRP、OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、MATE1、MATE2-K 及び BSEP）に対して阻害作用を示さなかった。

2.6.4.7.3 各種薬物トランスポーターに対する阻害作用（*In vitro*）（2）（試験番号 BP-065-044、資料番号 5.3.2.2-11、評価資料）

ヒトの主要なトランスポーターに対するビルトラルセン（30～3000 μmol/L）の阻害作用について検討した。

P-gp 及び BCRP の評価には、各トランスポーターを安定的に発現させた LLC-PK1 細胞を用いた。BCRP では 1000 及び 3000 μmol/L の濃度で、コントロール細胞の膜透過係数がビルトラルセンの濃度依存的に減少しており、評価が困難であったことから、BCRP 発現細胞から調製した膜小胞も用いた。OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2 及び MATE1 の評価については、各トランスポーターを安定的に発現させた HEK293 細胞を用いた。MATE2-K については、MATE2-K を一過性に発現させた HEK293 細胞を用いた。BSEP については、BSEP 発現細胞から調製した膜小胞を用いた。

ビルトラルセン（P-gp：30～3000 μmol/L、BCRP：30～300 μmol/L）存在下での P-gp 及び BCRP の典型基質（P-gp：^{3}H-ジゴキシン、BCRP：^{3}H-プラゾシン）の Corrected P_{app} ratio はそれぞれ溶媒対照の 88.5%～113.4%及び 88.1%～104.6%であった。なお、典型阻害薬存在下における典型基質の Corrected P_{app} ratio は、いずれのトランスポーターも溶媒対照群の 8.3%以下であった。BCRP の膜小胞を用いた実験において、典型基質（^{3}H-メトトレキサート）の Cleared volume の溶媒対照に対する比率はビルトラルセンの濃度依存的に減少しており、3000 μmol/L では 35.3%であった。また、IC_{50} 値は 1970 μmol/L と算出された。

ビルトラルセン（30～3000 μmol/L）存在下での OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、MATE1、MATE2-K 及び BSEP の典型基質薬（OATP1B1 及び OATP1B3：^{3}H-エストラジオ

ール-17β-D-グルクロナイド、OAT1：^{14}C-p-アミノ馬尿酸、OAT3：^{3}H-エストロン-3-硫酸、OCT1、OCT2、MATE1 及び MATE2-K：^{14}C-メトホルミン、BSEP：^{3}H-タウロコール酸）の Cleared volume の溶媒対照に対する比率（%）を算出した。OATP1B1、OATP1B3 及び OAT3 においては、典型基質の Cleared volume の溶媒対照に対する比率はビルトラルセンの濃度依存的に減少しており、3000 μmol/L ではそれぞれ 14.1%、7.0%及び 6.0%であった。IC_{50} 値はそれぞれ 485、448 及び 176 μmol/L と算出された。

OAT1、OCT1、OCT2、MATE1、MATE2-K 及び BSEP における Cleared volume の溶媒対照に対する比率はそれぞれ 70.4%～105.3%、87.0%～109.1%、84.1%～114.1%、98.0%～112.4%、71.8%～105.5%及び 95.4%～115.0%であった。なお、典型阻害薬存在下における Cleared volume の溶媒対照に対する比率は、いずれのトランスポーターも 14.9%以下であった。

以上より、ビルトラルセン（30～3000 μmol/L）は BCRP、OATP1B1、OATP1B3 及び OAT3 に阻害作用を示し、P-gp、OAT1、OCT1、OCT2、MATE1、MATE2-K 及び BSEP に阻害作用を示さなかった。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

該当試験なし。

2.6.4.9 考察及び結論

ビルトラルセンの吸収、分布、代謝、排泄及び薬物動態学的薬物相互作用について検討した。

ラット及びカニクイザルに ^{14}C-ビルトラルセン又はビルトラルセンを静脈内投与したとき、投与量の増加に伴って血漿中のビルトラルセン濃度は上昇し、血漿中から速やかに消失した。また、反復静脈内投与試験（TK 試験）においてビルトラルセンを週 1 回間歇投与したとき、投与初日と間歇投与後の曝露量の比較より、反復投与（週 1 回の間歇投与）による蓄積性はないと考えられた。

mdx マウス及び野生型マウスに ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与した後の放射能は脳、脊髄、眼球及び精嚢を除く多くの組織に速やかに分布し、腎臓に最も高濃度で分布した。*mdx* マウスでは野生型マウスと比較して筋肉組織中の放射能濃度は高く、筋細胞膜が脆弱となっているために筋細胞への ^{14}C-ビルトラルセンの移行性が高くなったと考えられた。

カニクイザルに ^{14}C-ビルトラルセンを単回又は反復静脈内投与した後の放射能は、大脳、小脳、脊髄及び眼球を除く多くの組織に速やかに分布し、マウスと同じく腎臓に最も高濃度で分布した。メラニンへの結合親和性はなかった。大部分の組織で単回投与時に比べて反復投与時における放射能濃度は高かったが、その差は顕著なものではなく、反復投与による蓄積はないと判断した。

マウス、ラット、カニクイザル及びヒトの血清、肝臓由来試料並びに DNase I 及び PDE 1 を用いて ^{14}C-ビルトラルセンの *in vitro* 代謝について検討した。いずれにおいてもほとんど代謝を受けなかった。^{14}C-ビルトラルセンを静脈内投与後のラット腎臓中、カニクイザル血漿及び尿中には主に未変化体として存在し、ビルトラルセンは *in vivo* においてもほとんど代謝を受けないと考えられた。

ラット及びカニクイザルに ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与した後の放射能は主に尿中へ排泄された。投与後 24 時間までに回収された放射能の大部分が排泄されており、排泄は速やかであると考えられた。

ヒトにビルトラルセンを静脈内投与したとき、血漿中ビルトラルセン濃度は投与終了時点で最も高く、その後速やかに低下した（2.7.2.3.1.2 項参照）。また、主な排泄経路は尿中であった（2.7.2.3.1.1 項参照）。

このように、非臨床試験（動物）におけるビルトラルセンの薬物動態は、臨床試験（ヒト）の薬物動態の結果と類似しており、これらの動物種での試験データを用いてヒトでの薬物動態を評価することは可能であると考えられた。

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。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。国内第 I/II 相臨床試験（NS065/NCNP01-P1/2 試験、2.7.6.2 項参照）において、デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者にビルトラルセンを 80 mg/kg の用量で週 1 回、1 時間かけて静脈内投与したときの最終投与時（Visit 24）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、臨床使用にあたりビルトラルセンが CYP3A4 誘導作用を示す可能性はないと考えられた。以上より、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、並びに国内第 I/II 相臨床試験（NS065/NCNP01-P1/2 試験、2.7.6.2 項参照）での 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、以下、ガイドライン）に基づき、ビルトラルセンの阻害作用を評価した。

CYP3A4 及び UGT1A1 に対する阻害作用リスクを検討した結果を表 2.6.4.9-1 に示した。どちらの代謝酵素分子に対しても、R 値がガイドラインのカットオフ値である 1.02 を超えたため、メカニズムに基づく静的薬物速度論（MSPK）モデルにおける AUCR 値を算出したところ、それぞれ 1.05 及び 1.10 となり、ガイドラインのカットオフ値である 1.25 を下回った。

表 2.6.4.9-1 CYP3A4 及び UGT1A1 の活性に対するビルトラルセンの阻害作用リスク

代謝酵素分子種	Ki（μmol/L）	R 値 [a]	AUCR[b]
CYP3A4	1090	1.03	1.05
UGT1A1	642［577.8］[c]	1.05	1.10

a：R＝1+[I]/Ki で算出した。[I]は C_{max} の非結合型濃度であり、国内第 I/II 相試験における最終投与時の C_{max} の平均値（47.5 μmol/L）に、非結合型分率として 60.6%を乗じて算出した（28.8 μmol/L）。非結合型分率については、分布試験（BP-065-006）における ^{14}C-ビルトラルセン 1000 ng/mL でのヒト血清タンパク結合率の平均値（39.4%、5.3.2.1-1 Table 1 参照）から 60.6%とした。

b：MSPK モデルに基づき、AUCR=[1/{Ch × fm+(1-fm)}] × [1/{Cg × (1-Fg)+Fg}] で算出。Ch=1/(1+[I]h/Ki)、Cg=1/(1+[I]g/Ki)であり、[I]g=[I]h=[I]、fm=1、Fg=0 として、影響を最大限に見積もった。C_{max} の非結合型濃度[I]は、28.8 μmol/L を用いた（注釈 a 参照）。

c：［ ］内は UGT1A1 の代謝阻害試験（BP-065-043）における反応系中の非結合型分率である 0.9（5.3.2.2-5 Table 8 参照）を乗じて補正した Ki 値。UGT1A1 の R 値の算出には、この補正 Ki 値を用いた。

トランスポーター分子種に対する阻害作用リスクについて検討した結果を表 2.6.4.9-2 に示した。BCRP では、[I]/IC_{50} は、ガイドラインのカットオフ値である 10 を下回った。また、OATP1B1 及び OATP1B3 に関しても、1+[I]/IC_{50} は、ガイドラインのカットオフ値である 1.1 を下回った。OAT3 に関しては、1+[I]/IC_{50} がガイドラインのカットオフ値である 1.1 を上回った。ビルトラルセンは投与終了時に血漿中濃度が最も高く、投与後速やかに血中から消失し、蓄積性を示さないことから、ビルトラルセンによる OAT 基質薬の AUC 上昇の程度は最大 1.16 倍と予測された。ガイドラインでは AUC を 1.25 倍以上に上昇させるものを阻害薬と見なすことから、臨床においてビルトラルセンによる OAT3 阻害作用のリスクは低いと考えられた。

表 2.6.4.9-2 トランスポーター分子種の活性に対するビルトラルセンの阻害作用リスク

トランスポーター分子種	IC_{50}（μmol/L）	阻害作用リスク評価 [a]
BCRP	1970	[I]/IC_{50}=0.01
OATP1B1	485	1+[I]/IC_{50}=1.06
OATP1B3	448	1+[I]/IC_{50}=1.06
OAT3	176	1+[I]/IC_{50}=1.16

a：C_{max} の非結合型濃度[I]は、28.8 μmol/L を用いた（表 2.6.4.9-1 の注釈 a 参照）

以上より、ビルトラルセンは *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）により、臨床での阻害作用のリスクは低いことから、臨床薬物相互作用試験は不要と判断した。

2.6.4.10 図表

図表は、本文中の適切な場所に記載した。

2.6.4.11 参考文献

なし。

目次

2.6.5 薬物動態試験概要表 2
2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表 2
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 6
2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与 15
2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与 20
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 25
2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合及び血球移行 37
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 40
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 40
2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In Vivo* 41
2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro* 43
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 46
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 47
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 53
2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中 55
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 56
2.6.5.16 薬物動態試験：その他 64
2.6.5.17 参考文献 64

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験：一覧表

一覧表（1/4）

被験物質：Viltolarsen

試験の種類		試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD 記載箇所
分析法 / バリデーション		LC-MS/MS HPLC		[redacted]	TX10748	4.2.2.1-1 （評価資料）
		LC-MS/MS		[redacted]（英国）[a]	TX10885	4.2.2.1-2 （評価資料）
		ELISA		[redacted]	TX10799	4.2.2.1-3 （評価資料）
		ELISA		[redacted]	TX10886	4.2.2.1-4 （評価資料）
		LC-MS/MS HPLC		[redacted]	TX10763	4.2.2.1-5 （評価資料）
		LC-MS/MS		[redacted]（英国）[a]	TX10868	4.2.2.1-6 （評価資料）
		ELISA		[redacted]	TX10871	4.2.2.1-7 （評価資料）
		LC-MS/MS		日本新薬	BP-065-011	4.2.2.1-8 （評価資料）
		LC-MS/MS HPLC		[redacted]	TX10742	4.2.2.1-9 （評価資料）
		ELISA		[redacted]	TX10758	4.2.2.1-10 （評価資料）
吸収	血漿中濃度（単回）	ラット	静脈内	日本新薬	BP-065-019	4.2.2.2-1 （評価資料）
		ラット	静脈内	[redacted]	TX10764	4.2.1.3-1 （評価資料）

LC-MS/MS：liquid chromatography coupled to tandem mass spetrometry、HPLC：high performance liquid chromatography、ELISA：enzyme-linked immonosorbent assay

a：現在の [redacted]

一覧表（2/4）

試験の種類		試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD 記載箇所
吸収（続き）	血漿中濃度（単回）	カニクイザル	静脈内、筋肉内	[redacted]（英国）[a]	BP-065-008	4.2.2.2-2（評価資料）
		カニクイザル	筋肉内	[redacted]	TX10762	4.2.3.1-2（評価資料）
	血漿中濃度（反復）	マウス	静脈内	[redacted]	TX10827	4.2.3.2-2（評価資料）
	血漿中濃度（反復）	カニクイザル	静脈内	[redacted]	TX10818	4.2.3.2-4（評価資料）
	血漿中濃度（反復）	カニクイザル	静脈内	[redacted]	TX10832	4.2.3.7.6-1（評価資料）
	血漿中濃度（反復）	カニクイザル	静脈内	[redacted]	TX10837	4.2.3.7.6-2（評価資料）
	血漿中濃度（反復）	カニクイザル	筋肉内	[redacted]	TX10747	4.2.3.2-5（評価資料）
分布	タンパク結合	マウス血清	*in vitro*	日本新薬	BP-065-039	4.2.2.3-1（評価資料）
	タンパク結合	ラット、カニクイザル及びヒト血清	*in vitro*	日本新薬	BP-065-006	5.3.2.1-1（評価資料）
	血球移行	ラット、カニクイザル及びヒト血液	*in vitro*	日本新薬	BP-065-020	5.3.2.3-1（評価資料）
	分布（単回）	マウス	静脈内	[redacted]（英国）[a]	BP-065-002	4.2.2.3-2（評価資料）
	分布（単回）	カニクイザル	静脈内	[redacted]（英国）[a]	BP-065-009	4.2.2.3-3（評価資料）
	分布（反復）	カニクイザル	静脈内	[redacted]（英国）[a]	BP-065-037	4.2.2.3-4（評価資料）

a：現在の[redacted]

一覧表（3/4）

試験の種類		試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD 記載箇所
代謝	代謝	マウス血清、肝 S9 及び肝ミクロソーム	*in vitro*	日本新薬	BP-065-039	4.2.2.3-1（評価資料）
	代謝	ラット、カニクイザル及びヒト肝 S9 ラット、カニクイザル及びヒト肝ミクロソーム	*in vitro*	日本新薬	BP-065-010	5.3.2.2-1（評価資料）
	代謝	DNase I、PDE 1 ラット、カニクイザル及びヒト血清	*in vitro*	日本新薬	BP-065-012	5.3.2.2-2（評価資料）
	代謝	ラット腎臓	静脈内	日本新薬	BP-065-023	4.2.2.4-1（評価資料）
	代謝	カニクイザル血漿及び尿	静脈内	日本新薬	BP-065-013	4.2.2.4-2（評価資料）
	酵素阻害	ヒト肝ミクロソーム	*in vitro*	[redacted]（英国）[a]	BP-065-021	5.3.2.2-3（評価資料）
	酵素阻害	ヒト肝ミクロソーム	*in vitro*	[redacted]	BP-065-041	5.3.2.2-4（評価資料）
	酵素阻害	ヒト肝ミクロソーム	*in vitro*	[redacted]	BP-065-043	5.3.2.2-5（評価資料）
	酵素誘導	ヒト肝細胞	*in vitro*	[redacted]（英国）[a]	BP-065-004	5.3.2.2-6（評価資料）
	酵素誘導	ヒト肝細胞	*in vitro*	[redacted]	BP-065-032	5.3.2.2-7（評価資料）
	酵素誘導	ヒト肝細胞	*in vitro*	[redacted]	BP-065-042	5.3.2.2-8（評価資料）
排泄	排泄	ラット	静脈内	日本新薬	BP-065-007	4.2.2.5-1（評価資料）
	排泄	カニクイザル	静脈内	[redacted]（英国）[a]	BP-065-008	4.2.2.2-2（評価資料）

DNase I：Deoxyribonuclease I、PDE 1：Phosphodiesterase 1

a：現在の [redacted]

一覧表（4/4）

試験の種類		試験系	投与方法	実施施設	試験番号	CTD 記載箇所
薬物相互作用	トランスポーター基質認識性	P-gp 及び BCRP 発現 LLC-PK1 細胞 OCT2、OAT1、OAT3、MATE1 及び MATE2-K 発現 HEK293 細胞	*in vitro*	[redacted]	BP-065-038	5.3.2.2-9 （評価資料）
	トランスポーター阻害	P-gp 及び BCRP 発現 LLC-PK1 細胞 OATP1B1、OATP1B3、OCT1、 OCT2、OAT1、OAT3、MATE1 及び MATE2-K 発現 HEK293 細胞 BSEP 発現膜小胞	*in vitro*	[redacted]	BP-065-033	5.3.2.2-10 （評価資料）
	トランスポーター阻害	P-gp 及び BCRP 発現 LLC-PK1 細胞 OATP1B1、OATP1B3、OCT1、 OCT2、OAT1、OAT3、MATE1 及び MATE2-K 発現 HEK293 細胞 BSEP 及び BCRP 発現膜小胞	*in vitro*	[redacted]	BP-065-044	5.3.2.2-11 （評価資料）

P-gp：P-glycoprotein、BCRP：Breast cancer related protein、OCT：organic cation transporter、OAT：organic anion transporter、MATE：multidrug and toxin extrusion、HEK：human embryonic kidney、OATP：organic anion transporting polypeptide、BSEP：bile salt export pump

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

分析方法（1/3）

被験物質：Viltolarsen

測定試料	測定対象	測定法	試験番号	CTD 記載箇所
マウス血漿	ビルトラルセン	LC-MS/MS	TX10884 TX10958 TX10843 TX10896 TX10844	4.2.3.4.2-1 4.2.3.5.1-1 4.2.3.5.4-1 4.2.3.5.4-2 4.2.3.5.4-3
マウス血漿	ビルトラルセン、不純物（IM1、IM2、IM3、IM4 及び IM5）	LC-MS/MS（ビルトラルセン） HPLC（不純物）	TX10800 TX10827 TX10753	4.2.3.2-1 4.2.3.2-2 4.2.3.3.2-1
マウス血清	抗ビルトラルセン抗体	ELISA	TX10800 TX10827 TX10884 TX10958 TX10844	4.2.3.2-1 4.2.3.2-2 4.2.3.4.2-1 4.2.3.5.1-1 4.2.3.5.4-3
ラット血漿	放射能	LSC	BP-065-019	4.2.2.2-1
ラット血漿	ビルトラルセン、不純物（IM1、IM2、IM3、IM4 及び IM5）	LC-MS/MS（ビルトラルセン） HPLC（不純物）	TX10764	4.2.1.3-1
ラット血漿	ビルトラルセン	LC-MS/MS	TX10883	4.2.3.4.1-2
ラット血清	抗ビルトラルセン抗体	ELISA		
カニクイザル血漿	ビルトラルセン	LC-MS/MS	BP-065-008 TX10762	4.2.2.2-2 4.2.3.1-2
カニクイザル血漿／血清	血漿：ビルトラルセン、不純物（IM1、IM2、IM3、IM4 及び IM5）	LC-MS/MS（ビルトラルセン） HPLC（不純物）	TX10746 TX10818 TX10747	4.2.3.2-3 4.2.3.2-4 4.2.3.2-5
	血清：抗ビルトラルセン抗体	ELISA	TX10832 TX10837	4.2.3.7.6-1 4.2.3.7.6-2

LC-MS/MS：liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry、HPLC：high performance liquid chromatography、LSC：liquid scintillation counter、ELISA：enzyme-linked immonosorbent assay

分析方法（2/3）

測定試料	測定対象	測定法	試験番号	CTD 記載箇所
マウス血清	放射能	LSC	BP-065-039	4.2.2.3-1
ラット、カニクイザル及びヒト血清	放射能	LSC	BP-065-006	5.3.2.1-1
ラット、カニクイザル及びヒト血液並びに血漿	放射能	LSC	BP-065-020	5.3.2.3-1
マウス	放射能	QWBA	BP-065-002	4.2.2.3-2
カニクイザル	放射能	QWBA	BP-065-009 BP-065-037	4.2.2.3-3 4.2.2.3-4
マウス血清、肝 S9 及び肝ミクロソーム反応物	^{14}C-ビルトラルセン及びその他の化合物の放射能比率	Radio-HPLC	BP-065-039	4.2.2.3-1
ラット、カニクイザル及びヒト肝 S9 反応物 ラット、カニクイザル及びヒト肝ミクロソーム反応物	^{14}C-ビルトラルセン及びその他の化合物の放射能比率	Radio-HPLC	BP-065-010	5.3.2.2-1
ラット、カニクイザル及びヒト血清反応物、DNase I 及び PDE 1 反応物	^{14}C-ビルトラルセン及びその他の化合物の放射能比率	Radio-HPLC	BP-065-012	5.3.2.2-2
ラット腎臓	^{14}C-ビルトラルセン及びその他の化合物の放射能比率	Radio-HPLC	BP-065-023	4.2.2.4-1
カニクイザル血漿及び尿	^{14}C-ビルトラルセン及びその他の化合物の放射能比率	Radio-HPLC	BP-065-013	4.2.2.4-2
ヒト肝ミクロソーム反応物	アセトアミノフェン、7-ヒドロキシクマリン、ヒドロキシブプロピオン、6α-ヒドロキシパクリタキセル、4'-ヒドロキシジクロフェナク、4'-ヒドロキシメフェニトイン、1'-ヒドロキシブフラロール、11-ヒドロキシラウリル酸、1'-ヒドロキシミダゾラム、6β-ヒドロキシテストステロン	LC-MS/MS 蛍光光度計 Radio-HPLC 蛍光 HPLC	BP-065-021	5.3.2.2-3
ヒト肝ミクロソーム反応物	アセトアミノフェン、ヒドロキシブプロピオン、N-デスエチルアモジアキン、4'-ヒドロキシジクロフェナク、4'-ヒドロキシメフェニトイン、1'-ヒドロキシブフラロール、1'-ヒドロキシミダゾラム、6β-ヒドロキシテストステロン	LC-MS/MS	BP-065-041	5.3.2.2-4
ヒト肝ミクロソーム反応物	β-エストラジオール-3β-D-グルクロナイド、3'-アジド-3'-デオキシチミジン-β-D-グルクロナイド	LC-MS/MS	BP-065-043	5.3.2.2-5

QWBA：quantitative whole body autoradiography、Radio-HPLC：liquid chromatography coupled to radiation detector、LC-MS/MS：liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry、HPLC：high performance liquid chromatography、PCR：polymerase chain reaction、LSC：liquid scintillation counter、DNase I：Deoxyribonuclease I、PDE 1：Phosphodiesterase 1

分析方法（3/3）

測定試料	測定対象	測定法	試験番号	CTD 記載箇所
ヒト肝細胞反応物	アセトアミノフェン、ヒドロキシブプロピオン、1'-ヒドロキシミダゾラム	LC-MS/MS	BP-065-004	5.3.2.2-6
ヒト肝細胞反応物	mRNA 量	リアルタイム PCR	BP-065-032	5.3.2.2-7
ヒト肝細胞反応物	mRNA 量	リアルタイム PCR	BP-065-042	5.3.2.2-8
ラット尿、糞、呼気、ケージ洗液及び腎臓	放射能	LSC	BP-065-007	4.2.2.5-1
カニクイザル血漿、尿、糞、ケージ洗液及びケージ内残存物	放射能	LSC	BP-065-008	4.2.2.2-2
0.2%DMSO 及び 1%BSA 含有 HBSS、ヒトトランスポーター発現細胞溶解液及びヒトトランスポーター発現細胞膜ベシクル溶液	放射能	LSC	BP-065-038	5.3.2.2-9
0.1%DMSO 含有 HBSS、ヒトトランスポーター発現細胞溶解液及びヒトトランスポーター発現細胞膜ベシクル溶液	放射能	LSC	BP-065-033	5.3.2.2-10
0.2%DMSO 含有 HBSS 及びヒトトランスポーター発現細胞溶解液及びヒトトランスポーター発現細胞膜ベシクル溶液	放射能	LSC	BP-065-044	5.3.2.2-11

LC-MS/MS：liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry、PCR：polymerase chain reaction、LSC：liquid scintillation counter

バリデーション試験（1/6）

被験物質：Viltolarsen

測定試料	測定対象	測定法	検量線範囲	バリデーション結果	試験番号	CTD 記載箇所
マウス血漿	ビルトラルセン	LC-MS/MS	0.5～50 μg/mL	特異性：6 個体（雌雄各 3 個体）のブランク血漿で確認 直線性：相関係数 0.99 以上、真度±15%以内（定量下限は±20%以内） キャリーオーバー：定量下限のピーク面積の 20%未満（ビルトラルセン）、ピーク面積の 5%未満（内標準物質） マトリックス効果：真度±20%以内、精度 20%以下 定量下限：0.5 μg/mL 日内及び日間変動：真度±15%以内（定量下限は±20%以内）、精度 15%以下（定量下限は 20%以下） 回収率：86.6～101.8%（ビルトラルセン）、66.7%（内標準物質） 希釈：100 及び 1000 倍希釈で影響なし 血漿中安定性確認：室温 24 時間、凍結（−20 及び−80℃）・融解（室温）5 回繰り返し、凍結（−20 及び−80℃）98 日間 測定試料調製後安定性確認：オートサンプラ内 20℃設定 84 時間	TX10748	4.2.2.1-1
	不純物（IM1、IM2、IM3、IM4 及び IM5）[a]	HPLC	1000～5000 μg/mL（ビルトラルセン濃度として）	特異性：6 個体（雌雄各 3 個体）のブランク血漿で確認 直線性：相関係数 0.99 以上、真度±15%以内（定量下限は±20%以内） 定量下限：1000 μg/mL 日内及び日間変動：真度±15%以内（定量下限は±20%以内）、精度 15%以下（定量下限は 20%以下） 希釈：10 倍希釈で影響なし 血漿中安定性確認：室温 24 時間、凍結（−20 及び−80℃）・融解（室温）5 回繰り返し、凍結（−20 及び−80℃）92 日間 測定試料調製後安定性確認：オートサンプラ内 20℃設定 73 時間		

真度：相対誤差%＝（実測値－理論値）／理論値×100
精度：CV%=標準偏差／平均値×100
a：標準品がないため、ビルトラルセンを基にした相対的な濃度として算出

バリデーション試験（2/6）

測定試料	測定対象	測定法	検量線範囲	バリデーション結果	試験番号	CTD 記載箇所
マウス血漿	ビルトラルセン	LC-MS/MS	0.5～50 μg/mL	特異性：6 個体（雌雄各 3 個体）のブランク血漿で確認 直線性：真度±15%以内（定量下限は±20%以内） キャリーオーバー：定量下限のピーク面積の 20%未満（ビルトラルセン）、ピーク面積の 5%未満（内標準物質） マトリックス効果：精度 15%以下 定量下限：0.5 μg/mL 日内及び日間変動：真度±15%以内（定量下限は±20%以内）、精度 15%以下（定量下限は±20%以内） 回収率：99.5～139.6%（ビルトラルセン）、91.5～96.0%（内標準物質） 希釈：500 倍希釈で影響なし 血漿中安定性確認：室温 6 時間（−20℃保存後融解）、室温 24 時間（−70℃保存後融解）、凍結（−20℃）・融解（室温）3 回繰り返し、凍結（−70℃）・融解（室温）5 回繰り返し、凍結（−20 及び−70℃）33 日間（CD-1 マウス）、凍結（−20℃）45 日間（野生型 Tg マウス）、凍結（−70℃）109 日間（野生型 Tg マウス） 血液中安定性確認：室温 1 時間 測定試料調製後安定性確認：4℃14 日間	TX10885	4.2.2.1-2
マウス血清	抗ビルトラルセン抗体	ELISA	定性的	特異性：20 個体（雌雄各 10 個体）のブランク血清で確認 精度：20%以内 Normalization Factor：1.7 Specificity cut point：43.2% Drug tolerance limit：1 μg/mL 未満	TX10799	4.2.2.1-3
マウス血清	抗ビルトラルセン抗体	ELISA	定性的	特異性：20 個体（雌雄各 10 個体）のブランク血清で確認 精度：20%以内 Normalization Factor：0.076 Specificity cut point：15.0% Drug tolerance limit：25.0 μg/mL	TX10886	4.2.2.1-4

真度：相対誤差%＝（実測値－理論値）／理論値×100
精度：CV%=標準偏差／平均値×100

バリデーション試験（3/6）

測定試料	測定対象	測定法	検量線範囲	バリデーション結果	試験番号	CTD 記載箇所
ラット血漿	ビルトラルセン	LC-MS/MS	0.5～50 μg/mL	特異性：6 個体（雌雄各 3 個体）のブランク血漿で確認 直線性：相関係数 0.99 以上、真度±15%以内（定量下限は±20%以内） キャリーオーバー：定量下限のピーク面積の 20%未満（ビルトラルセン）、ピーク面積の 5%未満（内標準物質） マトリックス効果：真度±20%以内、精度 20%以下 定量下限：0.5 μg/mL 日内及び日間変動：真度±15%以内（定量下限は±20%以内）、精度 15%以下（定量下限は 20%以下） 回収率：80.6～81.5%（ビルトラルセン）、57.4%（内標準物質） 希釈：100 及び 1000 倍希釈で影響なし 血漿中安定性確認：室温 26 時間、凍結（−20 及び−80℃）・融解（室温）5 回繰り返し、凍結（−20 及び−80℃）118 日間 測定試料調製後安定性確認：オートサンプラ内 20℃設定 77 時間	TX10763	4.2.2.1-5
	不純物（IM1、IM2、IM3、IM4 及び IM5）[a]	HPLC	1000～5000 μg/mL（ビルトラルセン濃度として）	特異性：6 個体（雌雄各 3 個体）のブランク血漿で確認 直線性：相関係数 0.99 以上、真度±15%以内（定量下限は±20%以内） 定量下限：1000 μg/mL 日内及び日間変動：真度±15%以内（定量下限は±20%以内）、精度 15%以下（定量下限は 20%以下） 希釈：10 倍希釈で影響なし 血漿中安定性確認：室温 25 時間、凍結（−20 及び−80℃）・融解（室温）5 回繰り返し、凍結（−20 及び−80℃）114 日間 測定試料調製後安定性確認：オートサンプラ内 20℃設定 73 時間		

精度：CV%=標準偏差／平均値×100
真度：相対誤差%＝（実測値－理論値）／理論値×100
a：標準品がないため、ビルトラルセンを基にした相対的な濃度として算出

バリデーション試験（4/6）

測定試料	測定対象	測定法	検量線範囲	バリデーション結果	試験番号	CTD 記載箇所
ラット血漿	ビルトラルセン	LC-MS/MS	0.5～50 μg/mL	特異性：6 個体（雌雄各 3 個体）のブランク血漿で確認 直線性：真度±15%以内（定量下限は±20%以内） キャリーオーバー：定量下限のピーク面積の 20%未満（ビルトラルセン）、ピーク面積の 5%未満（内標準物質） マトリックス効果：精度 15%以下 定量下限：0.5 μg/mL 日内及び日間変動：真度±15%以内（定量下限は±20%以内）、精度 15%以下（定量下限は±20%以下） 回収率：105.2～113.3%（ビルトラルセン）、58.1～78.5%（内標準物質） 希釈：500 倍希釈で影響なし 血漿中安定性確認：室温 24 時間、凍結（−20 及び−70℃）・融解（室温）5 回繰り返し、凍結（−20 及び−70℃）92 日間 血液中安定性確認：室温 1 時間 測定試料調製後安定性確認：4℃4 日間 標準原液安定性：室温 24 時間、4℃97 日間 内標準原液安定性：室温 24 時間 内標準溶液安定性：室温 24 時間	TX10868	4.2.2.1-6
ラット血清	抗ビルトラルセン抗体	ELISA	定性的	特異性：10 個体（雌雄各 5 個体）のブランク血清で確認 精度：20%以内 Normalization Factor：0.008 Specificity cut point：9.9% Drug tolerance limit：320 μg/mL	TX10871	4.2.2.1-7

真度：相対誤差%＝（実測値－理論値）／理論値×100
精度：CV%=標準偏差／平均値×100

バリデーション試験（5/6）

測定試料	測定対象	測定法	検量線範囲	バリデーション結果	試験番号	CTD 記載箇所
カニクイザル血漿	ビルトラルセン	LC-MS/MS	0.04～1.25 μg/mL（低濃度範囲） 0.5～50 μg/mL（高濃度範囲）	特異性：4 個体（雄性）のブランク血漿で確認 直線性：相関係数 0.99 以上、真度±15%以内（定量下限は±20%以内） キャリーオーバー：定量下限のピーク面積の 20%未満（ビルトラルセン）、ピーク面積の 5%未満（内標準物質） マトリックス効果：真度±15%以内、精度 15%以下 定量下限：0.04 μg/mL（低濃度範囲）、0.5 μg/mL（高濃度範囲） 日内及び日間変動：真度±15%以内（定量下限は±20%以内）、精度 15%以下（定量下限は 20%以下） 回収率：43.9%～69.8%（ビルトラルセン）、51.6%～77.9%（内標準物質） 希釈：10 及び 100 倍希釈で影響なし 血漿中安定性確認：室温 4 時間（低濃度範囲）、凍結（−20℃）・融解（室温）3 回繰り返し、凍結（−20℃）63 日間（低濃度範囲） 測定試料調製後安定性確認：オートサンプラ内 20℃設定 72 時間（低濃度範囲） 標準物質溶液安定性確認：室温 23 日間 内標準物質溶液安定性確認：冷蔵（2～8℃）23 日間	BP-065-011	4.2.2.1-8

精度：CV%=標準偏差／平均値×100
真度：相対誤差%＝（実測値－理論値）／理論値×100

バリデーション試験（6/6）

測定試料	測定対象	測定法	検量線範囲	バリデーション結果	試験番号	CTD 記載箇所
カニクイザル血漿	ビルトラルセン	LC-MS/MS	0.5～50 μg/mL	特異性：6 個体（雌雄各 3 個体）のブランク血漿で確認 直線性：相関係数 0.99 以上、真度±15%以内（定量下限は±20%以内）、精度 15%以下（定量下限は 20%以下） キャリーオーバー：定量下限のピーク面積の 20%未満（ビルトラルセン）、ピーク面積の 5%未満（内標準物質） マトリックス効果：真度±20%以内、精度 20%以下 定量下限：0.5 μg/mL 日内及び日間変動：真度±15%以内（定量下限は±20%以内）、精度 15%以下（定量下限は 20%以下） 回収率：72.1～78.8%（ビルトラルセン）、84.3%（内標準物質） 希釈：10、100 及び 1000 倍希釈で影響なし 血漿中安定性確認：室温 6 時間、凍結（−20 及び−80℃）・融解（室温）5 回繰り返し、凍結（−20 及び−80℃）97 日間 測定試料調製後安定性確認：オートサンプラ内 20℃設定 75 時間 標準溶液安定性確認：室温 94 日間 内標準原液及び溶液安定性：室温 24 時間、冷蔵（1～8℃）95 日間	TX10742	4.2.2.1-9
	不純物（IM1、IM2、IM3、IM4 及び IM5）[a]	HPLC	1000～5000 μg/mL（ビルトラルセン濃度として）	特異性：6 個体（雌雄各 3 個体）のブランク血漿で確認 直線性：相関係数 0.99 以上、真度±15%以内（定量下限は±20%以内）、精度 15%以下（定量下限は 20%以下） 定量下限：1000 μg/mL 日内及び日間変動：真度±15%以内（定量下限は±20%以内）、精度 15%以下（定量下限は 20%以下） 希釈：5 倍希釈で影響なし 血漿中安定性確認：室温 6 時間、凍結（−20 及び−80℃）・融解（室温）5 回繰り返し、凍結（−20 及び−80℃）105 日間 測定試料調製後安定性確認：オートサンプラ内 20℃設定 74 時間		
カニクイザル血清	抗ビルトラルセン抗体	ELISA	定性的	特異性：20 個体（雌雄各 10 個体）のブランク血清で確認 精度：20%以内 Normalization Factor：1.2 Specificity cut point：43.2% Drug tolerance limit：1 μg/mL 未満	TX10758	4.2.2.1-10

真度：相対誤差%＝（実測値－理論値）／理論値×100
精度：CV%=標準偏差／平均値×100
a：標準品がないため、ビルトラルセンを基にした相対的な濃度として算出

2.6.5.3 薬物動態試験：吸収：単回投与

2.6.5.3.1 ラットに ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与した後の薬物動態

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：4.2.2.2-1
試験番号：BP-065-019

動物種（系統）	ラット（SD）		
性別（雄/雌）/ 動物数	雄 / 3		
摂餌条件	非絶食		
溶媒/投与形態	生理食塩液		
投与方法	静脈内投与		
投与量	6 mg/kg	20 mg/kg	60 mg/kg
比放射能	0.300 MBq/mg		
試料	血漿		
測定（対象）物質	放射能		
測定法	LSC		
測定時点	投与終了後 5、15、30 分、1、2、4、6、8. 10、24 時間 （24 時間時点は 60 mg/kg 投与群のみ実施）		
薬物動態パラメータ [a]			
C_{5min} (μg eq./mL)	32.4 ± 10.2	115 ± 4	339 ± 83
$AUC_{0-\infty}$ (μg eq.·hr/mL)	17.5 ± 4.0	61.4 ± 6.4	207 ± 44
$t_{1/2}$ (hr)	1.19 ± 0.74	1.19 ± 0.13	10.5 ± 3.0
CL (mL/hr/kg)	358 ± 95	328 ± 33	298 ± 60
Vd_{ss} (mL/kg)	201 ± 61	184 ± 1	217 ± 54

C_{5min}：投与 5 分後の血漿中濃度
a：各値は平均値 ± 標準偏差（n=3）

2.6.5.3.2 カニクイザルにビルトラルセンを単回静脈内投与又は筋肉内投与した後の薬物動態

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：4.2.2.2-2
試験番号：BP-065-008

動物種	カニクイザル			
性別（雄/雌）/ 動物数	雄 / 3			
摂餌条件	絶食（投与後 2 時間で摂餌）			
溶媒/投与形態	生理食塩液			
投与方法	静脈内投与			筋肉内投与
投与量	6 mg/kg	20 mg/kg	60 mg/kg	20 mg/kg
試料	血漿			
測定（対象）物質 / 測定法	ビルトラルセン/ LC-MS/MS			
測定時点	投与前、投与終了後 5、15、30 分、1、2、4、6、8、12、24、48 時間 （筋肉内投与は投与終了後 5 分の採血は実施せず）			
薬物動態パラメータ [a]				
C_{5min} 又は C_{max} (μg/mL)[b]	67.5 ± 14.9	220 ± 44	643 ± 303	24.3 ± 6.9
t_{max} (hr)	0.083	0.083	0.083	1.0
AUC_{0-last} (μg·hr/mL)	38.1 ± 6.7	123 ± 19	437 ± 143	139 ± 21
$AUC_{0-\infty}$ (μg·hr/mL)	38.3 ± 6.8	124 ± 19	430[c]	140 ± 21
λ_z (1/hr)	0.3295 ± 0.0246	0.3494 ± 0.0402	0.2021[c]	0.2555 ± 0.0322
$t_{1/2}$ (hr)	2.1 ± 0.2[d]	2.0 ± 0.3[d]	3.4[c]	2.7 ± 0.4[d]
Vd_{ss} (mL/kg)	185 ± 44	179 ± 39	196[c]	NC
CL (mL/hr/kg)	160 ± 32	164 ± 28	157[c]	NC
BA (%)	NC	NC	NC	113 (108-116) [e]

C_{5min}：投与 5 分後の血漿中濃度、NC：not calculated（算出せず）
a：各値は平均値 ± 標準偏差（n=3）、但し、t_{max} は中央値
b：静脈内投与は C_{5min}、筋肉内投与は C_{max}
c：平均値（n=2）。λ_z 算出時の回帰直線につき、採用基準を満たさなかった 1 例を除いた。
d：標準偏差は個体値（n=3）を用いて別途算出した
e：静脈内投与（20 mg/kg）時の $AUC_{0-\infty}$ を用いて算出した。(　)内は範囲。

2.6.5.3.3 カニクイザルに ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与した後の薬物動態

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：4.2.2.2-2
試験番号：BP-065-008

動物種	カニクイザル
性別（雄/雌）/ 動物数	雄 / 3
摂餌条件	絶食（投与後 2 時間で摂餌）
溶媒/投与形態	生理食塩液
投与方法	静脈内投与
投与量	20 mg/kg
比放射能	0.300 MBq/mg
試料	血漿
測定（対象）物質	放射能
測定法	LSC
測定時点	投与終了後 5、15、30 分、1、2、4、6、8、24、48、168 時間
薬物動態パラメータ [a]	
C_{5min} (μg eq./mL)	300 ± 83
t_{max} (hr)	0.083
AUC_{0-last} (μg eq.·hr/mL)	161 ± 39
$AUC_{0-\infty}$ (μg eq.·hr/mL)	163 ± 38
λ_z (1/hr)	0.4142 ± 0.0133
$t_{1/2}$ (hr)	1.7 ± 0.1[b]

a：各値は平均値 ± 標準偏差（n=3）、ただし t_{max} は中央値
b：標準偏差は個体値（n=3）を用いて別途算出した

2.6.5.3.4　ラットを用いたトキシコキネティクス試験（単回静脈内投与）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：4.2.1.3-1
試験番号：TX10764

動物種		ラット（SD）		
性別（雄/雌）/ 動物数		雄 / 3		
摂餌条件		非絶食		
溶媒/投与形態		生理食塩液		
投与方法		静脈内投与		
投与量		125 mg/kg	250 mg/kg	500 mg/kg
試料		血漿		
測定（対象）物質 / 測定法		ビルトラルセン：LC-MS/MS、不純物（IM1～IM5）：HPLC		
測定時点		投与終了後 5、15、30 分、1、2、6、24 時間		
薬物動態パラメータ [a]				
C_{max} (μg/mL)		641.88	1077	1862
t_{max} (hr)		0.1	0.1	0.1
$AUC_{0–24hr}$ (μg·hr/mL)		273.1	604.8	2361
不純物の血漿中濃度 (μg/mL)[b]	IM1	BLQ	829.7 ± 757.7	2100 ± 324
	IM2		469.7 ± 813.5	2011 ± 289
	IM3		488.7 ± 846.4	2105 ± 336
	IM4		1441 ± 560	2764 ± 620
	IM5		530.7 ± 919.1	2272 ± 347

BLQ：定量下限（1000 μg/mL）未満
不純物（IM1～IM5）の標準品がないため、相対的な量を対照ビルトラルセン濃度として定量し、検出の有無を記載した
a：各値は平均値（n=3）
b：標準品がないため、相対的な量をビルトラルセン濃度として定量した。投与終了 5 分後の平均値 ± 標準偏差（n=3）。これ以降速やかに低下し、最終測定時点（投与終了後 24 時間）では全て BLQ であった。

2.6.5.3.5 カニクイザルを用いたトキシコキネティクス試験（単回筋肉内投与）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：4.2.3.1-2
試験番号：TX10762

動物種	カニクイザル		
性別（雄/雌）/ 動物数	雄 / 3		
摂餌条件	非絶食		
溶媒/投与形態	生理食塩液		
投与方法	筋肉内投与		
投与量	1 mg/kg	10 mg/kg	100 mg/kg
試料	血漿		
測定（対象）物質	ビルトラルセン		
測定法	LC-MS/MS		
薬物動態パラメータ [a]			
C_{max} (μg/mL)	1.943 ± 0.228	11.42 ± 1.07	66.15 ± 21.06
t_{max} (hr)	0.8 ± 0.3	1.0 ± 0.0	2.7 ± 1.2
AUC_{0-24hr} (μg·hr/mL)	3.914 ± 0.189	41.45 ± 6.52	319.7 ± 81.2

a：各値は平均値 ± 標準偏差（n=3）

2.6.5.4 薬物動態試験：吸収：反復投与

2.6.5.4.1 マウス反復静脈内投与試験（26 週間間歇投与）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：4.2.3.2-2
試験番号：TX10827

動物種		マウス（CD-1）						
性別（雄/雌）/ 動物数		雄 / 3						
摂餌条件		非絶食						
溶媒/投与形態		生理食塩液						
投与方法		静脈内投与、週 1 回、26 週間						
投与量		15 mg/kg		60 mg/kg		240 mg/kg		1000 mg/kg
試料		血漿						
測定（対象）物質 / 測定法		ビルトラルセン / LC-MS/MS、不純物（IM1～IM5） / HPLC						
測定時点		day 0：投与終了後 5, 15 分、1, 4, 24 時間 day 175：投与前、投与終了後 5, 15 分、1, 4, 24 時間						
薬物動態パラメータ [a]		day 0	day 175	day 0	day 175	day 0	day 175	day 0	day 175
C_{max} (μg/mL)		57.7	47.11	229.7	210.2	981.1	682.4	4660	4352
t_{max} (hr)		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
AUC_{0-24hr} (μg·hr/mL)		20.34	17.64	75.84	67.47	654.9	500.6	7458	17280
不純物の血漿中濃度 (μg/mL)[b]	IM1	BLQ		BLQ		412.3 ± 714.2	375.3 ± 650.1	4737 ± 150	4325 ± 773
	IM2					399.0 ± 691.1	366.7 ± 635.1	4638 ± 145	4272 ± 757
	IM3					419.0 ± 725.7	378.3 ± 655.3	4720 ± 126	4339 ± 799
	IM4					435.7 ± 754.6	349.3 ± 605.1	4702 ± 175	4388 ± 701
	IM5					775.7 ± 685.7	372.0 ± 644.3	4728 ± 117	4510 ± 859

BLQ：定量下限（1000 μg/mL）未満
a：各値は平均値（n=3）
b：標準品がないため、相対的な量をビルトラルセン濃度として定量した。投与終了 5 分後の平均値 ± 標準偏差（n=3）。これ以降速やかに低下し、最終測定時点（投与 s 終了後 24 時間）では全て BLQ であった。

2.6.5.4.2 カニクイザル反復静脈内投与試験（5 週間間歇投与）（1）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：4.2.3.7.6-1
試験番号：TX10832

動物種		カニクイザル						
性別（雄/雌）/ 動物数		雄 / 3						
摂餌条件		非絶食						
溶媒/投与形態		生理食塩液						
投与方法		静脈内投与、週 1 回、5 週間						
投与量		200 mg/kg				600 mg/kg		
試料		血漿						
測定（対象）物質 / 測定法		ビルトラルセン / LC-MS/MS、不純物（IM1～IM5） / HPLC						
測定ポイント		1 回目（day0）：投与終了直後、終了後 15、30 分、1、2、6、24 時間 5 回目（day 28）：投与前、投与終了直後、終了後 15、30 分、1、2、6、24 時間						
薬物動態パラメータ [a]		1 回目		5 回目		1 回目		5 回目	
		Lot 57	Lot 59	Lot 57	Lot 59	Lot 57	Lot 59	Lot 57	Lot 59
C_{max} (μg/mL)		1974 ± 156	2443 ± 126	2536 ± 122	2319 ± 298	6822 ± 202	6723 ± 622	6897 ± 173	7346 ± 1138
t_{max} (hr)		0.0 ± 0.0 [c]		0.0 ± 0.0 [c]		0.0 ± 0.0 [c]		0.0 ± 0.0 [c]	
AUC_{0-24hr} (μg·hr/mL)		715.1 ± 50.6	903.7 ± 150.7	909.7 ± 21.6	1035 ± 226	4151 ± 849	4670 ± 1253	3796 ± 549	4777 ± 490
不純物の血漿中濃度 (μg/mL)[b]	IM1	2560 ± 85	2490 ± 99	2644 ± 116	2594 ± 279	6784 ± 215	7298 ± 400	6998 ± 583	7064 ± 973
	IM2	2487 ± 96	2993 ± 17	2547 ± 127	2648 ± 410	6522 ± 214	7734 ± 91	6799 ± 506	7254 ± 1062
	IM3	2516 ± 98	2556 ± 186	2635 ± 105	2691 ± 416	6649 ± 278	7857 ± 982	6813 ± 533	7080 ± 976
	IM4	2447 ± 34	定量せず [d]	2428 ± 199	定量せず [d]	6589 ± 556	定量せず [d]	7180 ± 788	定量せず [d]
	IM5	2556 ± 99	2419 ± 130	2734 ± 73	2709 ± 302	6939 ± 259	7541 ± 419	7268 ± 498	7217 ± 1098

a：各値は平均値 ± 標準偏差（n=3）を示す
b：標準品がないため、相対的な量をビルトラルセン濃度として定量した。投与終了直後の平均値 ± 標準偏差（n=3）。これ以降速やかに低下し、最終測定時点（投与終了後 24 時間）では全て定量下限（1000 μg/mL）未満であった。
c：投与終了直後
d：定量下限（1000 μg/mL）において IM4 が検出されなかったため、算出せず

2.6.5.4.3 カニクイザル反復静脈内投与試験（5 週間間歇投与）（2）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：4.2.3.7.6-2
試験番号：TX10837

動物種		カニクイザル						
性別（雄/雌）/ 動物数		雄 / 3						
摂餌条件		非絶食						
溶媒/投与形態		生理食塩液						
投与方法		静脈内投与、週 1 回、5 週間						
投与量		200 mg/kg				600 mg/kg		
試料		血漿						
測定（対象）物質 / 測定法		ビルトラルセン / LC-MS/MS、不純物（IM1～IM5） / HPLC						
測定ポイント		1 回目（day0）：投与終了直後、終了後 15、30 分、1、2、6、24 時間 5 回目（day 28）：投与前、投与終了直後、終了後 15、30 分、1、2、6、24 時間						
薬物動態パラメータ [a]		1 回目		5 回目		1 回目		5 回目	
		Lot 57	Lot 63	Lot 57	Lot 63	Lot 57	Lot 63	Lot 57	Lot 63
C_{max} (μg/mL)		2440 ± 235	2460 ± 19	2324 ± 453	2348 ± 363	7317 ± 833	6063 ± 268	7200 ± 963	7507 ± 513
t_{max} (hr)		0.0 ± 0.0 [c]		0.0 ± 0.0 [c]		0.0 ± 0.0 [c]		0.0 ± 0.0 [c]	
AUC_{0-24hr} (μg·hr/mL)		1156 ± 410	1092 ± 47	1070 ± 176	1018 ± 87	5147 ± 660	4482 ± 1752	4623 ± 1390	4347 ± 799
不純物の血漿中濃度 (μg/mL)[b]	IM1	2784 ± 292	2750 ± 166	3020 ± 456	3008 ± 251	8427 ± 1128	7653 ± 709	8460 ± 960	9044 ± 281
	IM2	2779 ± 315	2701 ± 173	2968 ± 444	2854 ± 176	8376 ± 1135	7456 ± 666	8286 ± 929	8807 ± 288
	IM3	2833 ± 249	2758 ± 121	3069 ± 432	3049 ± 325	8552 ± 1110	7754 ± 741	8540 ± 955	9036 ± 394
	IM4	2860 ± 251	2935 ± 270	2918 ± 442	2849 ± 328	8443 ± 1174	7775 ± 674	8525 ± 1044	8799 ± 202
	IM5	2904 ± 254	2900 ± 90	3180 ± 454	3037 ± 267	8631 ± 1138	7281 ± 607	8654 ± 1010	9357 ± 408

a：各値は平均値 ± 標準偏差（n=3）
b：標準品がないため、相対的な量をビルトラルセン濃度として定量した。投与終了直後の平均値 ± 標準偏差（n=3）。これ以降速やかに低下し、最終測定時点（投与終了後 24 時間）では全て定量下限（1000 μg/mL）未満であった。
c：投与終了直後

2.6.5.4.4 カニクイザル反復静脈内投与試験（39 週間間歇投与）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：4.2.3.2-4
試験番号：TX10818

動物種		カニクイザル											
性別（雄/雌）/ 動物数		雄 / 3											
摂餌条件		非絶食											
溶媒/投与形態		生理食塩液											
投与方法		静脈内投与、週 1 回、39 週間											
投与量		10 mg/kg				60 mg/kg				360 mg/kg			
試料		血漿											
測定（対象）物質 / 測定法		ビルトラルセン / LC-MS/MS、不純物（IM1～IM5） / HPLC											
測定時点		1 回目（day 1）：投与終了直後、投与終了後 15、30 分、1、2、6、24 時間 13、26、38 回目（それぞれ day 84、175、259）：投与前、投与終了直後、投与終了後 15、30 分、1、2、6、24 時間											
薬物動態パラメータ [a]		1 回目	13 回目	26 回目	38 回目	1 回目	13 回目	26 回目	38 回目	1 回目	13 回目	26 回目	38 回目
C_{max} (μg/mL)		137.6 ± 6.0	134.6 ± 9.3	115.1 ± 14.9	122.8 ± 19.6	805.9 ± 56.5	700.3 ± 113.9	598.6 ± 106.2	613.9 ± 106.8	3665 ± 672	3522 ± 179	4198 ± 265	3711 ± 63
t_{max} (hr)		0.0 ± 0.0[c]				0.0 ± 0.0 [c]				0.0 ± 0.0 [c]			
AUC_{0-24hr} (μg·hr/mL)		50.25 ± 7.91	59.77 ± 18.54	43.00 ± 6.76	54.69 ± 15.21	269.3 ± 31.1	274.4 ± 18.2	251.9 ± 23.3	261.1 ± 24.4	2452 ± 1160	2081 ± 426	2501 ± 720	2294 ± 554
不純物の血漿中濃度 (μg/mL)[b]	IM1	BLQ				BLQ				2889 ± 499	3714 ± 81	4114 ± 271	4313 ± 218
	IM2									2819 ±507	3305 ± 96	3919 ± 261	4220 ± 219
	IM3									2873 ± 521	3482 ± 138	4064 ± 248	4267 ± 217
	IM4									2832 ± 617	3192 ± 252	4010 ± 293	4072 ± 325
	IM5									2902 ± 501	3534 ± 116	4015 ± 273	4358 ± 244

BLQ：定量下限（1000 μg/mL）未満
a：各値は平均値 ± 標準偏差（n=3）
b：標準品がないため、相対的な量をビルトラルセン濃度として定量した。投与終了直後の平均値 ± 標準偏差（n=3）。これ以降速やかに低下し、最終測定時点（投与終了後 24 時間）では全て BLQ であった。
c：投与終了直後

2.6.5.4.5 カニクイザル反復筋肉内投与試験（12 週間間歇投与）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：4.2.3.2-5
試験番号：TX10747

動物種	カニクイザル	
性別（雄/雌）/ 動物数	雄 / 5	
摂餌条件	非絶食	
溶媒/投与形態	生理食塩液	
投与方法	筋肉内投与、週 1 回、12 週間	
投与量	100 mg/kg	
試料	血漿	
測定（対象）物質 / 測定法	ビルトラルセン / LC-MS/MS、不純物（IM1～IM5） / HPLC	
測定ポイント	1 回目：投与終了直後、投与終了後約 30 分、1、2、4、8、24 時間 12 回目：投与前、投与終了直後、投与終了後約 30 分、1、2、4、8、24 時間	
薬物動態パラメータ [a]	1 回目	12 回目
C_{max} (μg/mL)	85.93 ± 21.29	49.28 ± 11.12
t_{max} (hr)	2.4 ± 0.9	4.2 ± 2.5
AUC_{0-24hr} (μg·hr/mL)	621.4 ± 120.6	540.0 ± 85.2
不純物 [b]	全ての測定ポイントで定量下限（1000 μg/mL）未満（全ての個体）	

a：各値は平均値 ± 標準偏差（n=5）
b：標準品がないため、相対的な量をビルトラルセン濃度として定量した

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

2.6.5.5.1 野生型マウスに ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与した場合の組織分布（QWBA 法）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：4.2.2.3-2
試験番号：BP-065-002

(1/3)

動物種（系統）	野生型マウス（C57BL/10ScSnJ）					
性別（雄/雌） / 動物数	雄 / 各時間点 1					
摂餌条件	非絶食					
被験物質 /比放射能	^{14}C-ビルトラルセン / 0.300 MBq/mg					
測定（対象）物質	放射能					
測定法	血漿及び血液：LSC、その他の組織：QWBA					
投与経路 / 投与量	静脈内投与 / 20 mg/kg					
投与媒体	生理食塩液					
組織中濃度（μg eq./g）						
計測時間	0.08 hr	0.25 hr	1 hr	4 hr	24 hr	168 hr
大動脈	66.5	35.3	1.97	BLQ	BLQ	BLQ
血漿	63.6	29.8	2.31	0.049	0.020	0.015
血液	70.7	46.4	2.61	0.135	0.048	BLQ
血球	10.6	6.12	0.465	BLQ	BLQ	BLQ
大静脈	NS	17.4	NS	BLQ	NS	NS
脳	1.01	0.780	0.111	0.048	BLQ	BLQ
脊髄	1.52	0.981	0.103	0.070	BLQ	BLQ
眼球	0.281	0.163	0.183	0.089	BLQ	BLQ
ブドウ膜/網膜	18.5	6.45	1.38	0.371	0.184	0.082
腎皮質	313	296	286	248	57.5	18.3
腎髄質	436	197	26.6	7.09	2.32	2.14
肝臓	13.7	9.12	2.15	2.20	1.87	2.48
肺	31.5	39.3	1.64	0.357	0.116	0.056
心筋	19.8	12.4	2.29	0.182	0.146	0.243
脾臓	16.5	9.70	0.828	0.573	0.427	0.465

BLQ:定量下限（QWBA；0.047 μg eq./g）未満、NS:該当する組織を分離できず

(2/3)

組織中濃度（μg eq./g）						
計測時間	0.08 hr	0.25 hr	1 hr	4 hr	24 hr	168 hr
副腎皮質	22.3	19.1	1.43	1.20	0.927	NS
副腎髄質	23.4	19.7	1.19	0.842	0.851	NS
眼窩外涙腺	31.5	19.2	1.28	0.350	0.296	0.388
ハーダー腺	13.8	10.7	1.04	0.237	0.264	0.300
眼窩内涙腺	36.5	14.1	2.55	0.797	0.224	0.481
腸間膜リンパ節	21.1	12.6	2.02	1.41	0.575	0.596
鼻粘膜	12.5	8.36	0.473	0.197	0.106	0.198
膵臓	11.7	7.47	0.520	0.274	0.163	0.241
脳下垂体	17.3	11.3	0.856	0.339	0.282	0.199
唾液腺	21.9	11.3	1.19	0.553	0.510	0.629
胸腺	13.1	7.29	0.572	0.243	0.202	0.286
甲状腺	22.2	13.7	1.39	0.129	0.083	BLQ
尿道球腺	48.3	32.1	3.46	0.364	0.191	0.163
精巣上体	24.6	12.9	1.82	0.309	0.206	0.235
包皮腺	39.1	46.8	11.6	0.427	0.302	0.234
前立腺	23.1	14.9	8.94	6.16	0.133	NS
精嚢	0.476	0.619	0.166	0.075	0.068	BLQ
精巣	6.11	7.71	1.06	0.252	0.179	0.205
骨髄	15.5	8.14	0.764	0.801	0.483	0.693
骨表面	11.0	2.99	0.999	0.608	0.401	BLQ
横隔膜	34.3	22.2	2.46	0.694	0.306	0.180
白色脂肪	10.8	3.96	0.412	0.236	0.226	0.163
褐色脂肪	39.2	13.7	0.831	0.100	0.104	0.165
筋肉（骨盤部）	10.9	4.82	0.329	0.098	0.084	0.122
筋肉（前肢上部）	24.8	11.1	0.852	0.214	0.114	0.180
筋肉（前肢下部）	25.1	12.1	0.863	0.145	0.142	0.185
筋肉（後肢上部）	19.8	8.60	1.48	0.214	0.147	0.206
筋肉（後肢下部）	22.5	9.11	0.831	0.174	0.112	0.139
皮膚	30.9	32.7	2.71	0.876	0.308	0.784

BLQ：定量下限（0.047 μg eq./g）未満、NS：該当する組織を分離できず

(3/3)

組織中濃度（μg eq./g）						
計測時間	0.08 hr	0.25 hr	1 hr	4 hr	24 hr	168 hr
舌	39.2	18.6	1.80	0.197	0.173	0.164
気管	41.6	16.2	0.649	0.580	BLQ	BLQ
胆汁（胆嚢内容物）	5.35	4.42	0.667	1.18	0.286	0.103
胃壁	19.8	10.7	1.74	0.400	0.382	0.151
小腸壁	11.9	8.86	1.30	0.328	0.131	0.281
盲腸壁	25.8	15.4	1.74	1.26	0.527	0.356
大腸壁	13.4	7.70	1.80	0.467	0.653	0.153
膀胱壁	77.5	93.8	76.2	23.3	2.52	0.121

BLQ: 定量下限（0.047 μg eq./g）未満

2.6.5.5.2 *mdx* マウスに ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与した場合の組織分布（QWBA 法）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：4.2.2.3-2
試験番号：BP-065-002

(1/2)

動物種（系統）	*mdx* マウス（C57BL/10ScSn-Dmd^{mdx}J）					
性別（雄/雌） / 動物数	雄/ 各時間点 1					
摂餌条件	非絶食					
被験物質 /比放射能	^{14}C-ビルトラルセン / 0.300 MBq/mg					
測定（対象）物質	放射能					
測定法	血漿及び血液：LSC、その他の組織：QWBA					
投与経路 / 投与量	静脈内投与 / 20 mg/kg					
投与媒体	生理食塩液					
組織中濃度（μg eq./g）						
計測時間	0.08 hr	0.25 hr	1 hr	4 hr	24 hr	168 hr
大動脈	64.7	68.6	5.08	0.453	0.434	BLQ
血漿	172	79.9	5.33	0.118	0.065	0.015
血液	86.2	80.4	7.19	0.142	0.093	0.076
血球	32.4	21.8	1.18	0.028	0.018	BLQ
大静脈	39.3	70.8	NS	0.365	0.452	BLQ
脳	2.19	1.17	0.206	0.079	0.072	BLQ
脊髄	2.03	1.56	0.128	0.088	0.085	BLQ
眼球	2.35	2.13	0.323	0.099	0.049	0.068
ブドウ膜/網膜	39.3	35.7	1.73	0.602	0.345	0.094
腎皮質	71.5	457	174	178	102	8.24
腎髄質	52.0	435	130	165	8.03	3.28
肝臓	15.8	14.1	3.18	1.60	3.16	1.19
肺	20.4	16.9	2.04	0.238	0.173	0.050
心筋	41.0	26.6	2.69	0.166	0.449	0.106
脾臓	20.8	22.9	1.60	1.05	1.26	0.406

BLQ：定量下限（QWBA；0.047 μg eq./g）未満、NS：該当する組織を分離できず

(2/2)

組織中濃度（μg eq./g）						
計測時間	0.08 hr	0.25 hr	1 hr	4 hr	24 hr	168 hr
副腎皮質	28.3	37.8	18.3	1.14	2.13	0.700
副腎髄質	NS	46.6	20.9	0.419	1.76	0.612
眼窩外涙腺	28.7	26.2	2.61	0.567	1.02	0.637
ハーダー腺	17.6	20.7	1.85	0.323	0.593	0.189
眼窩内涙腺	31.3	27.4	3.02	2.08	0.906	0.523
腸間膜リンパ節	45.8	29.5	3.18	1.11	1.42	NS
鼻粘膜	13.9	9.25	1.47	0.161	0.189	0.153
膵臓	16.5	16.0	1.27	0.473	0.405	0.219
脳下垂体	19.4	27.7	2.40	0.493	0.533	BLQ
唾液腺	34.6	24.8	2.99	0.380	1.12	0.750
胸腺	18.0	12.9	1.61	0.505	0.717	0.286
甲状腺	33.7	43.1	3.76	0.618	0.645	0.274
尿道球腺	59.2	35.5	6.60	0.983	0.599	0.198
精巣上体	36.8	31.4	3.89	0.446	0.757	0.295
包皮腺	22.4	18.8	5.43	0.586	0.703	0.862
前立腺	42.0	31.0	4.21	0.264	0.510	0.259
精嚢	2.71	3.20	0.405	0.124	0.103	0.053
精巣	5.34	6.75	1.33	0.371	0.671	0.347
骨髄	19.1	15.6	2.42	0.729	1.81	0.707
骨表面	36.0	10.9	1.42	0.893	2.15	BLQ
横隔膜	38.2	33.2	8.49	0.524	0.880	0.299
白色脂肪	11.1	14.1	2.36	0.182	0.282	0.128
褐色脂肪	20.9	29.7	2.83	0.280	2.10	0.433
筋肉（骨盤部）	24.5	38.1	8.89	0.744	1.12	0.690
筋肉（前肢上部）	26.8	23.7	4.40	0.527	1.01	0.496
筋肉（前肢下部）	32.7	47.3	3.53	0.436	1.00	0.285
筋肉（後肢上部）	29.5	33.1	9.85	1.15	1.32	0.710
筋肉（後肢下部）	27.8	40.7	11.7	0.474	1.11	0.670
皮膚	26.8	90.8	14.7	1.15	1.77	0.547

BLQ:定量下限（QWBA；0.047 μg eq./g tissue）未満、NS:該当する組織を分離できず

(3/3)

組織中濃度（μg eq./g）						
計測時間	0.08 hr	0.25 hr	1 hr	4 hr	24 hr	168 hr
舌	35.1	4.15	3.54	0.298	0.528	0.159
気管	45.8	46.4	NS	1.23	0.790	0.146
胆汁（胆嚢内容物）	3.64	2.78	2.39	1.03	NS	0.182
胃壁	30.7	27.9	2.42	0.302	0.908	0.077
小腸壁	15.9	20.5	3.03	0.395	0.977	0.199
盲腸壁	24.6	41.0	2.88	1.25	1.21	0.235
大腸壁	25.2	2.86	3.40	2.84	1.05	0.415
膀胱壁	52.7	56.2	38.6	19.2	0.737	0.179

NS:該当する組織を分離できず

2.6.5.5.3 カニクイザルに ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与した場合の組織分布（QWBA 法）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：4.2.2.3-3
試験番号：BP-065-009

(1/3)

動物種	カニクイザル						
性別（雄/雌） / 動物数	雄 / 各時間点 1						
摂餌条件	絶食（投与後 2 時間で摂餌）						
被験物質 /比放射能	^{14}C-ビルトラルセン / 0.300 MBq/mg						
測定（対象）物質	放射能						
測定法	血漿及び血液：LSC、その他の組織：QWBA						
投与経路 / 投与量	静脈内投与 / 20 mg/kg						
投与媒体	生理食塩液						
組織中濃度（μg eq./g）							$t_{1/2}$（hr）
計測時間	0.25 hr	1 hr	6 hr	24 hr	168 hr	504 hr	
大動脈	25.2	18.9	1.35	BLQ	BLQ	BLQ	1.3
血漿	142	22.2	0.796	0.026	BLQ	BLQ	2.6
血液	52.4	11.3	0.405	BLQ	BLQ	BLQ	0.9
血球	11.2	2.56	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	－
大静脈	11.9	11.7	0.528	BLQ	BLQ	BLQ	1.2
脳	0.480	0.223	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	－
小脳	0.676	0.212	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	－
大脳	0.584	0.194	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	－
脊髄	0.350	0.120	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	－
眼球	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	－
ブドウ膜/網膜	5.78	9.07	1.97	0.175	BLQ	BLQ	4.3
腎皮質	220	276	455	461	270	175	366.9
腎髄質	119	329	6.84	3.57	4.10	23.6	NR
肝臓	26.6	8.15	1.09	1.03	1.88	0.514	NR
肺	17.6	9.83	0.470	BLQ	BLQ	BLQ	1.1
心筋	20.2	5.06	0.284	0.179	0.151	BLQ	242.6
脾臓	24.2	8.84	0.986	0.840	0.764	0.225	241.0

BLQ：定量下限（QWBA；0.119 μg eq./g、血漿；0.018 μg eq./g、血球；0.0023 μg eq./g）未満
－：半減期算出不可、NR：半減期算出せず

(2/3)

組織中濃度（μg eq./g）							$t_{1/2}$（hr）
計測時間	0.25 hr	1 hr	6 hr	24 hr	168 hr	504 hr	
副腎皮質	16.2	5.88	0.748	0.485	0.328	0.195	377.5
副腎髄質	24.7	14.0	0.509	0.293	0.263	0.125	374.2
眼窩内涙腺	17.2	9.80	1.65	0.295	0.245	BLQ	NR
腸間膜リンパ節	15.5	3.06	5.75	5.66	5.27	3.34	630.9
鼻甲介	7.78	5.92	0.440	0.197	0.218	0.151	1067.2
膵臓	13.8	3.99	0.308	0.181	0.272	0.121	490.8
耳下腺	18.6	5.33	0.315	0.165	0.159	BLQ	NR
下垂体	5.28	1.76	0.409	0.273	BLQ	BLQ	10.6
顎下腺	16.1	5.07	0.533	0.178	0.202	0.122	355.9
胸腺	14.4	2.88	0.473	0.341	0.455	0.311	NR
甲状腺	31.6	5.65	0.527	0.195	NS	BLQ	5.7
精巣上体	8.67	15.5	1.28	0.186	0.134	BLQ	NR
陰茎	NS	16.6	10.0	0.332	0.277	0.134	357.6
前立腺	12.0	14.2	1.36	NS	NS	0.164	104.9
精嚢	17.5	17.2	2.74	NS	0.127	0.187	NR
精巣	15.7	5.91	0.513	BLQ	0.299	0.269	603.7
骨髄	6.64	1.92	0.500	0.232	0.209	0.136	606.9
骨表面	3.03	1.62	BLQ	BLQ	BLQ	BLQ	－
横隔膜	14.9	4.18	0.258	BLQ	BLQ	BLQ	1.1
白色脂肪	8.45	5.21	0.457	0.174	BLQ	BLQ	5.6
褐色脂肪	18.1	7.08	0.524	0.452	0.299	0.129	267.3
筋肉（骨盤部）	6.50	2.08	0.119	BLQ	BLQ	BLQ	1.1
筋肉（大腿四頭筋）	7.41	3.47	0.199	0.139	BLQ	BLQ	6.4
筋肉（大腿二頭筋）	6.74	2.53	0.164	0.119	BLQ	BLQ	6.8
筋肉（上腕三頭筋）	5.81	2.72	0.179	0.121	BLQ	BLQ	6.6
筋肉（腓腹筋）	6.95	2.01	0.227	0.126	0.133	0.120	NR
筋肉（前脛骨筋）	6.68	1.71	0.230	0.155	BLQ	BLQ	8.4
皮膚（濃色部）	17.5	15.4	0.497	0.225	0.196	BLQ	NR
皮膚（淡色部）	12.7	11.5	0.973	0.168	0.216	0.413	NR

BLQ:定量下限（0.119 μg eq./g）未満、NS:該当する組織を分離できず、
－：半減期算出不可、NR：半減期算出せず

(3/3)

組織中濃度（μg eq./g）							$t_{1/2}$（hr）
計測時間	0.25 hr	1 hr	6 hr	24 hr	168 hr	504 hr	
舌	14.2	5.25	0.313	0.156	BLQ	BLQ	4.3
気管	12.5	9.38	0.497	0.292	0.185	BLQ	139.3
胆汁（胆嚢内容物）	6.23	1.58	0.458	BLQ	0.148	BLQ	64.2
胃壁	27.1	14.0	0.741	0.459	0.363	BLQ	207.5
小腸壁	23.4	10.5	0.594	0.197	0.378	0.160	NR
盲腸壁	28.7	8.88	0.949	0.550	0.437	BLQ	194.5
大腸壁	24.3	9.49	0.958	0.564	0.285	BLQ	107.8
膀胱壁	15.1	12.6	2.23	0.267	0.212	0.717	NR

BLQ：定量下限（0.119 μg eq./g）未満、NR：半減期算出せず

2.6.5.5.4 カニクイザルに ^{14}C-ビルトラルセンを反復静脈内投与した場合の組織分布（QWBA 法）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：4.2.2.3-4
試験番号：BP-065-037

(1/3)

動物種	カニクイザル			
性別（雄/雌） / 動物数	雄 / 各時間点 1			
摂餌条件	絶食（投与後 2 時間で摂餌）			
被験物質 /比放射能	^{14}C-ビルトラルセン / 0.291 MBq/mg			
測定（対象）物質	放射能			
測定法	血漿、血液及び腎臓：LSC、その他の組織：QWBA			
投与経路 / 投与量	静脈内投与（1 回/週、8 週間） / 20 mg/kg			
投与媒体	生理食塩液			
	組織中濃度（μg eq./g）			$t_{1/2}$（hr）
計測時間	24 hr	168 hr	504 hr	
血漿	0.062	0.024	BLQ	－
血球	0.050	0.035	0.029	671
大動脈	2.45	1.90	0.908	332
血液	0.315	0.182	0.151	510
大静脈	0.848	1.66	0.521	NR
脳	BLQ	0.158	0.156	－
小脳	BLQ	0.142	0.136	－
大脳	BLQ	0.148	0.174	－
脊髄	BLQ	0.174	0.168	－
眼球	0.301	0.141	0.168	NR
水晶体	0.150	0.194	0.171	NR
ブドウ膜 / 網膜	2.14	2.01	0.862	346
腎皮質	819	255	66.9	139
腎髄質	500	310	62.5	157
肝臓	8.51	3.20	3.37	444
肺	0.919	0.523	0.447	526
心筋	1.44	0.552	0.517	387
脾臓	4.22	2.30	1.14	265

BLQ: 定量下限（QWBA；0.114 μg eq./g）未満、－：半減期算出不可、NR：半減期算出せず

(2/3)

組織中濃度（μg eq./g）				$t_{1/2}$（hr）
計測時間	24 hr	168 hr	504 hr	
副腎皮質	4.51	2.68	1.44	303
副腎髄質	2.47	1.49	2.24	NR
眼窩内涙腺	0.832	0.801	0.647	1275
腸間膜リンパ節	1.22	0.731	0.288	234
鼻甲介	1.27	0.728	0.473	361
膵臓	1.65	0.778	0.639	401
下垂体	0.127	1.17	1.05	NR
耳下腺	1.11	0.659	0.362	310
下顎腺	1.61	0.910	1.14	NR
胸腺	3.42	2.13	1.68	516
甲状腺	1.56	0.957	1.48	NR
尿道球腺	1.85	0.914	0.265	174
精巣上体	2.34	1.41	1.97	NR
陰茎	0.851	0.647	0.204	227
前立腺	1.84	0.841	0.658	366
精嚢	2.10	0.831	0.504	256
精巣	5.15	2.13	3.58	NR
骨髄	1.96	1.22	1.02	571
骨表面	2.20	0.840	0.508	250
横隔膜	0.560	0.371	0.446	NR
白色脂肪	2.33	0.843	0.446	219
褐色脂肪	2.71	0.783	0.227	141
筋肉（骨盤部）	0.415	0.269	0.282	NR
筋肉（大腿四頭筋）	0.357	0.228	0.233	963
筋肉（大腿二頭筋）	0.331	0.211	0.208	862
筋肉（上腕三頭筋）	0.479	0.233	0.241	598
筋肉（腓腹筋）	0.386	0.202	0.219	NR
筋肉（前脛骨筋）	0.385	0.196	0.213	NR
皮膚（濃色部）	2.03	1.79	0.368	184
皮膚（淡色部）	1.90	1.21	0.295	176

NR：半減期算出せず

(3/3)

組織中濃度（μg eq./g）				$t_{1/2}$（hr）
計測時間	24 hr	168 hr	504 hr	
舌	1.20	0.572	0.505	447
気管	1.71	1.29	0.512	271
胆汁（胆嚢内容物）	0.435	0.303	0.452	NR
胃壁	4.23	1.39	0.764	213
小腸壁	2.86	0.929	1.68	NR
盲腸壁	3.59	1.97	1.30	354
大腸壁	3.77	1.42	0.990	279
膀胱壁	1.39	0.733	8.36	NR

NR：半減期算出せず

2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合及び血球移行

2.6.5.6.1 血清タンパク結合（*In vitro*）

（1） マウスにおけるタンパク結合

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：4.2.2.3-1
試験番号：BP-065-039

試験方法	超遠心法
動物種（系統）	マウス（CD-1）
被験物質	^{14}C-ビルトラルセン
試料	血清
測定（対象）物質 / 測定法	放射能 / LSC
濃度（ng/mL）	タンパク結合率（%）[a]
1000	23.0 ± 0.8
10000	25.7 ± 1.9

a：各値は平均値 ± 標準偏差(n=3)

（2） ラット、カニクイザル、ヒトにおけるタンパク結合

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：5.3.2.1-1
試験番号：BP-065-006

試験方法	超遠心法		
動物種（系統）	ラット（SD）、カニクイザル、ヒト		
被験物質	^{14}C-ビルトラルセン		
試料	血清		
測定（対象）物質 / 測定法	放射能 / LSC		
濃度（ng/mL）	タンパク結合率（%）[a]		
	ラット	カニクイザル	ヒト
1000	29.7 ± 3.1	36.1 ± 5.3	39.4 ± 0.7
10000	32.2 ± 2.1	36.2 ± 2.1	40.3 ± 2.6

a：各値は平均値 ± 標準偏差(n=3)

2.6.5.6.2 ビルトラルセンの血球移行（*In vitro*）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：5.3.2.3-1
試験番号：BP-065-020

試験方法	血液サンプルを被験物質と混合後、室温で 30 分間放置し、血液及び血漿中放射能を測定した。		
動物種（系統）	ラット（SD）、カニクイザル、ヒト		
被験物質	^{14}C-ビルトラルセン		
試料	血液及び血漿		
測定（対象）物質 / 測定法	放射能 / LSC		
濃度（ng/mL）	血球移行率（%）[a]		
	ラット	サル	ヒト
1000	2.5 ± 3.6	6.7 ± 6.0	2.1 ± 3.6
10000	0.4 ± 0.7	4.1 ± 2.4	3.5 ± 3.7

a：各値は平均値 ± 標準偏差(n=3)

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

該当試験なし。

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

該当試験なし。

2.6.5.9 薬物動態試験：代謝：*In Vivo*

2.6.5.9.1 ラットに ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与後の腎臓中代謝物

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：4.2.2.4-1
試験番号：BP-065-023

動物種（系統）	ラット（SD）
性別（雄/雌）/ 動物数	雄 / 各時間点 1
摂餌条件	非絶食
投与方法 / 投与経路	静脈内投与
投与薬物	^{14}C-ビルトラルセン
投与量/ 投与媒体	20 mg/kg / 生理食塩液
比放射能	0.300 MBq/mg
試料	腎臓ホモジネート
測定（対象）物質	^{14}C-ビルトラルセン
測定法	Radio-HPLC
試験方法	腎臓ホモジネートを前処理後に Radio-HPLC で分析し、総放射能に対する ^{14}C-ビルトラルセンのピーク面積比率（未変化体の割合）を算出し、代謝プロファイルを評価した。
採取時間	^{14}C-ビルトラルセンのピーク面積比率（%）
投与後 2 時間	76.42
投与後 24 時間	57.84

2.6.5.9.2 カニクイザルに ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与後の血漿及び尿中代謝物

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：4.2.2.4-2
試験番号：BP-065-013

動物種（系統）	カニクイザル					
性別（雄/雌）/ 動物数	雄 / 3					
摂餌条件	絶食（投与 2 時間後に摂餌）					
投与方法 / 投与経路	静脈内投与					
投与薬物	^{14}C-ビルトラルセン					
投与量/ 投与媒体	20 mg/kg / 生理食塩液					
比放射能	0.300 MBq/mg					
試料	血漿及び尿					
測定（対象）物質	^{14}C-ビルトラルセン					
測定法	Radio-HPLC					
試料	採取時間	^{14}C-ビルトラルセンのピーク面積比率（%）[a]		採取時間	^{4}C-ビルトラルセンのピーク面積比率（%）[a]	
		個別値	平均値±SD		個別値	平均値±SD
血漿	投与後 5 分	92.96	92.12 ± 1.03	投与後 30 分	89.15	96.38 ± 6.26
		90.98			100.00	
		92.43			100.00	
	投与後 15 分	96.49	98.33 ± 1.76	投与後 1 時間	100.00	98.44 ± 2.70
		98.49			100.00	
		100.00			95.33	
尿	投与直後～6 時間 [b]	84.82	算出せず	投与後 6～24 時間	95.80	94.33 ± 2.66
		0.80[c]			91.26	
					95.93	

a：保持時間 [redacted] 分におけるピークを ^{14}C-ビルトラルセンの未変化体のピークとし、総放射能に占める ^{14}C-ビルトラルセンのピーク面積比率（%）を算出
b：1 例は採取時間中に尿排泄しなかった
c：当該試料が HPLC 分析に影響（尿サンプル中に含まれる生体成分や高濃度の塩、サンプル pH がイオンペアクロマトグラフィーの分離能に及ぼす影響など）を与え、クロマトグラムの乱れにより未変化体として尿中に排泄された割合が低く見積もられたことが原因と考えられた

2.6.5.10 薬物動態試験：代謝：*In Vitro*

2.6.5.10.1 ^{14}C-ビルトラルセン安定性：マウス血清及び肝ミクロソーム並びに S9

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：4.2.2.3-1
試験番号：BP-065-039

試験方法		^{14}C-ビルトラルセンをマウスの血清、肝ミクロソーム又は肝 S9 中でインキュベーションしたときの安定性を、反応前後の^{14}C-ビルトラルセンのピーク面積比率の増減を比較することで評価した。				
試料		マウス血清、マウス肝ミクロソーム、マウス肝 S9				
反応条件		37℃、120 分間				
被験薬物（濃度） /比放射能		^{14}C-ビルトラルセン（0.1 mg/mL） / 0.291 MBq/mg				
測定（対象）物質 / 測定法		^{14}C-ビルトラルセン及びその代謝物並びに不純物 / Radio-HPLC				
試料		ピーク面積比率（%）				
		^{14}C-ビルトラルセン（RT：[redacted] 分）	不純物			その他
			（RT：[redacted] 分）	（RT：[redacted] 分）	（RT：[redacted] 分）	
未反応コントロール		90.16	2.45	2.21	2.75	
血清	反応前	89.03	1.08	2.32	1.55	1.08（RT：[redacted] 分）
	反応後	86.83	1.11	0.63	1.11	2.22（RT：[redacted] 分） 1.90（RT：[redacted] 分）
肝ミクロソーム	反応前	93.57	0.71	1.07	1.07	－
	反応後	92.99	－	1.22	1.37	－
肝 S9	反応前	92.61	1.34	－	0.81	－
	反応後	89.08	1.18	1.51	－	1.18（RT：[redacted] 分）

－：検出せず、RT：保持時間

2.6.5.10.2 ^{14}C-ビルトラルセンの安定性：DNase I、PDE 1 及び血清（ラット、カニクイザル及びヒト）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：5.3.2.2-2
試験番号：BP-065-012

試験方法		^{14}C-ビルトラルセンを DNase I 及び PDE 1、又はラット、カニクイザル及びヒトの血清中でインキュベーションしたときの安定性について評価した。 安定性は、^{14}C-ビルトラルセン残存率及び ^{14}C-ビルトラルセンの総放射能に対するピーク面積比率の増減を未反応コントロールと比較することで評価した。					
試料		DNase I、PDE 1 ラット、カニクイザル及びヒトの血清					
反応条件		DNase I、PDE 1／37℃、30 分間 血清：37℃、60 分間					
被験薬物（濃度） /比放射能		^{14}C-ビルトラルセン（0.1 mg/mL） / 0.300 MBq/mg					
測定（対象）物質 / 測定法		^{14}C-ビルトラルセン及びその代謝物並びに不純物 / Radio-HPLC					
試料		^{14}C-ビルトラルセン残存率 [a]（%）	ピーク面積比率 [b]（%）				
			^{14}C-ビルトラルセン（RT：[redacted] 分）	不純物			その他
				（RT：[redacted] 分）	（RT：[redacted] 分）	（RT：[redacted] 分）	
DNase I、PDE 1							
DNase I	未反応コントロール		95.21	1.34	－	2.88	0.58（RT：[redacted] 分）
	反応後	94.0	94.29	－	2.04	2.96	0.71（RT：[redacted] 分）
PDE 1	未反応コントロール		92.42	－	3.52	3.63	0.44（RT：[redacted] 分）
	反応後	102.2	93.36	1.37	2.32	2.11	0.84（RT：[redacted] 分）
血清							
未反応コントロール [c]			89.04	－	3.23	5.57	1.17（RT：[redacted] 分） 0.99（RT：[redacted] 分）
ラット		87.8	92.57	0.42	2.72	3.56	0.73（RT：[redacted] 分）
サル		86.4	90.00	1.65	3.30	4.40	0.66（RT：[redacted] 分）
ヒト		104.4	91.13	2.17	3.83	2.00	0.87（RT：[redacted] 分）

－：検出せず、DNase I：Deoxyribonuclease I、PDE 1：Phosphodiesterase 1、RT：保持時間
a：試料中の ^{14}C-ビルトラルセンのピーク面積を用いて、未反応コントロールに対する比率（%）を算出
b：総放射能に対するそれぞれのピークの面積比率（%）
c：反応前のラット血清を未反応コントロールとした

2.6.5.10.3 ^{14}C-ビルトラルセンの安定性：肝ミクロソーム及び S9（ラット、カニクイザル及びヒト）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：5.3.2.2-1
試験番号：BP-065-010

試験方法		^{14}C-ビルトラルセンをラット、カニクイザル及びヒトの肝ミクロソーム又は肝 S9 中でインキュベーションしたときの安定性について評価した。 安定性は、^{14}C-ビルトラルセンのピーク面積（^{14}C-ビルトラルセン残存率）及び ^{14}C-ビルトラルセンのピーク面積比率の増減を未反応コントロールと比較することで評価した。					
試料		ラット、カニクイザル及びヒトの肝ミクロソーム又は肝 S9					
反応条件		37℃、120 分間					
被験薬物（濃度） /比放射能		^{14}C-ビルトラルセン（0.1 mg/mL） / 0.300 MBq/mg					
測定（対象）物質 / 測定法		^{14}C-ビルトラルセン及びその代謝物並びに不純物 / Radio-HPLC					
試料		^{14}C-ビルトラルセン残存率（%）[a]	ピーク面積比率（%）[b]				
			^{14}C-ビルトラルセン（RT：[redacted] 分）	不純物			その他
				（RT：[redacted] 分）	（RT：[redacted] 分）	（RT：[redacted] 分）	
未反応コントロール			93.69	－	2.26	2.45	0.85（RT：[redacted] 分） 0.75（RT：[redacted] 分）
ラット	肝ミクロソーム	98.8	94.01	1.40	2.15	2.43	－
	肝 S9	99.0	91.42	1.54	2.44	4.61	－
カニクイザル	肝ミクロソーム	100.4	92.82	－	2.68	2.49	0.86（RT：[redacted] 分） 0.57（RT：[redacted] 分） 0.57（RT：[redacted] 分）
	肝 S9	101.0	93.08	1.11	1.94	2.86	1.01（RT：[redacted] 分）
ヒト	肝ミクロソーム	100.4	91.51	2.56	3.20	2.19	0.55（RT：[redacted] 分）
	肝 S9	100.0	93.03	0.73	1.47	4.04	0.73（RT：[redacted] 分）

－：検出せず、RT：保持時間
a：それぞれのピーク面積から算出した未反応コントロールに対する比率（%）
b：総放射能に対するそれぞれのピークの面積比率（%）

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

該当なし。

2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

2.6.5.12.1 ヒト肝ミクロソームを用いた CYP 阻害作用（*In vitro*）（1）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：5.3.2.2-3
試験番号：BP-065-021

試験方法	ヒト肝ミクロソームを用いてビルトラルセンの各 CYP 分子種（CYP1A2、CYP2A6、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP2E1、CYP3A4）活性に対する阻害作用を評価した。							
被験物質（濃度）	ビルトラルセン（1、10、100 µmol/L、Ki 算出時は 3、10、30、100 及び 300 µmol/L）							
基質（濃度）	CYP1A2：フェナセチン（120 µmol/L、Ki 算出時は 15、60、120、600 及び 960 µmol/L）、CYP2A6：クマリン（100 µmol/L） CYP2B6：ブプロピオン（40 µmol/L）、CYP2C8：^{14}C-パクリタキセル（20 µmol/L）、CYP2C9：^{14}C-ジクロフェナク（5 µmol/L） CYP2C19：(S)-メフェニトイン（40 µmol/L）、CYP2D6：ブフラロール（100 µmol/L）、CYP2E1：^{14}C-ラウリン酸（100 µmol/L） CYP3A4：^{14}C-テストステロン（50 µmol/L）、ミダゾラム（3 µmol/L）							
陽性対照阻害薬（濃度）	CYP1A2：フラフィリン（3 µmol/L）、CYP2A6：8-メトキシプソラレン（1 µmol/L）、CYP2B6：チオ-TEPA（50 µmol/L） CYP2C8：トリメトプリム（80 µmol/L）、CYP2C9：スルファフェナゾール（20 µmol/L） CYP2C19：ベンジルニルバノール（5 µmol/L）、CYP2D6：キニジン（5 µmol/L） CYP2E1：ジエチルジチオカルバミン酸（300 µmol/L）、CYP3A4：ケトコナゾール（1 µmol/L）、トロレアンドマイシン（100 µmol/L）							
測定（対象）物質	各基質代謝物、放射能							
測定法	LC-MS/MS：CYP1A2、CYP2B6、CYP2C19、CYP3A4/5（ミダゾラム）、蛍光光度計：CYP2A6 Radio-HPLC：CYP2C8、CYP2C9、CYP2E1、CYP3A4/5（テストステロン）、蛍光 HPLC：CYP2D6							
阻害率（%）[a]	CYP 分子種	基質	プレインキュベーションなし			プレインキュベーションあり（30 分）		
			1 µmol/L	10 µmol/L	100 µmol/L	1 µmol/L	10 µmol/L	100 µmol/L
	CYP1A2	フェナセチン	−14	15	47	12	33	50
	CYP2A6	クマリン	7	9	23	−5	−2	−4
	CYP2B6	ブプロピオン	−7	0	−1	13	16	23
	CYP2C8	^{14}C-パクリタキセル	2	7	−2	−2	4	5
	CYP2C9	^{14}C-ジクロフェナク	6	14	5	−1	4	−3
	CYP2C19	(S)-メフェニトイン	−16	−13	6	−10	−20	3
	CYP2D6	ブフラロール	3	6	24	−2	−2	−20
	CYP2E1	^{14}C-ラウリン酸	5	−4	6	−3	−38	−31
	CYP3A4	^{14}C-テストステロン	−8	5	3	−10	−6	−13
		ミダゾラム	−9	−1	0	5	−22	3
Ki（µmol/L）[b]	CYP1A2	フェナセチン	661 ± 355（競合阻害）、1959 ± 728（非競合阻害）、1878 ± 3073（混合阻害）					

a：各値は平均値（n=2 又は 3）
b：推定値 ± 標準誤差

2.6.5.12.2　ヒト肝ミクロソームを用いた CYP 阻害作用（*In vitro*）（2）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：5.3.2.2-4
試験番号：BP-065-041

試験方法	ヒト肝ミクロソームを用いて、ビルトラルセンの各 CYP 分子種（CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A4）活性に対する阻害作用を評価した。									
被験物質（濃度）	ビルトラルセン（0.1、0.3、1 及び 3 mmol/L、Ki 算出時は 0.75、1.5、3 及び 4.5 mmol/L）									
基質（濃度）	CYP1A2：フェナセチン（30 μmol/L）、CYP2B6：ブプロピオン（100 μmol/L）、CYP2C8：アモジアキン（2.5 μmol/L） CYP2C9：ジクロフェナク（4 μmol/L）、CYP2C19：(S)-メフェニトイン（30 μmol/L）、CYP2D6：(±)-ブフラロール（10 μmol/L） CYP3A4：テストステロン（60 μmol/L、Ki 算出時は 30、60、120 及び 180 μmol/L）、ミダゾラム（1 μmol/L）									
陽性対照阻害薬（濃度）	直接阻害作用	CYP1A2：α-ナフトフラボン（0.5 μmol/L）、CYP2B6：セルトラリン（50 μmol/L）、CYP2C8：ケルセチン（5 μmol/L） CYP2C9：スルファフェナゾール（1 μmol/L）、CYP2C19：*S*-(+)-*N*-3-ベンジルニルバノール（1 μmol/L）、 CYP2D6：キニジン（0.5 μmol/L）、CYP3A4：ケトコナゾール（0.05 μmol/L、Ki 算出時は 0.01、0.02、0.04 及び 0.06 μmol/L）								
	時間依存的阻害作用	CYP1A2：フラフィリン（0.25 μmol/L）、CYP2B6：セルトラリン（5 μmol/L）、CYP2C8：アミオダロン（10 μmol/L）、 CYP2C9：スプロフェン（30 μmol/L）、CYP2C19：チクロピジン（0.3 μmol/L）、CYP2D6：パロキセチン（0.12 μmol/L） CYP3A4（テストステロン）：トロレアンドマイシン（5 μmol/L）、CYP3A4（ミダゾラム）：トロレアンドマイシン（1.5 μmol/L）								
測定（対象）物質	各基質代謝物									
測定法	LC-MS/MS									
活性残存率（%）[a]	CYP 分子種	基質	プレインキュベーションなし[b]				プレインキュベーションあり（30 分）[c, d]			
			0.1 mmol/L	0.3 mmol/L	1 mmol/L	3 mmol/L	0.1 mmol/L	0.3 mmol/L	1 mmol/L	3 mmol/L
	CYP1A2	フェナセチン	106.8	104.5	102.0	90.1	104.0	100.8	98.4	84.8
	CYP2B6	ブプロピオン	104.4	97.1	92.6	66.0	104.4	99.1	95.6	66.5
	CYP2C8	アモジアキン	107.4	100.0	85.3	61.5	100.7	96.4	80.0	61.1
	CYP2C9	ジクロフェナク	100.0	97.9	87.4	72.8	95.7	93.8	83.3	67.3
	CYP2C19	(S)-メフェニトイン	102.4	100.0	90.8	72.9	99.7	100.3	90.8	71.1
	CYP2D6	(±)-ブフラロール	103.8	107.9	97.0	89.0	105.9	110.9	98.7	100.8
	CYP3A4	テストステロン	99.3	89.8	63.2	30.6	96.9	89.5	62.9	28.5
		ミダゾラム	104.3	102.3	86.4	63.0	101.8	98.8	83.2	57.3
IC_{50}（mmol/L）	CYP3A4	テストステロン	1.48				1.44			
Ki（mmol/L）	CYP3A4	テストステロン	1.09（競合阻害）							

a：各値は平均値（n=2）
b：活性残存率が 50%未満の場合に阻害作用ありと判定
c：時間依存的阻害作用の検討
d：プレインキュベーションなし（直接阻害作用）の活性残存率と比較して 20%以上の違いがある場合に阻害作用ありと判定

2.6.5.12.3 ヒト肝ミクロソームを用いた UGT 阻害作用（*In vitro*）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：5.3.2.2-5
試験番号：BP-065-043

試験方法	ヒト肝ミクロソームを用いてビルトラルセンの各 UGT 分子種（UGT1A1 及び UGT2B7）活性に対する阻害作用を評価した。					
被験物質（濃度）	ビルトラルセン（0.1、0.3、1 及び 3 mmol/L、Ki 算出時は 0.25、0.5、1 及び 1.5 mmol/L）					
基質（濃度）	UGT1A1：β-エストラジオール（15 µmol/L、Ki 算出時は 7.5、15、30 及び 45 µmol/L） UGT2B7：3'-アジド-3'-デオキシチミジン（600 µmol/L）					
陽性対照阻害薬（濃度）	UGT1A1：ビリルビン（3 µmol/L）、Ki 算出時はトログリタゾン（30 µmol/L） UGT2B7：メフェナム酸（10 µmol/L）					
測定（対象）物質	各基質代謝物					
測定法	LC-MS/MS					
活性残存率（%）[a, b]	UGT 分子種	基質	0.1 mmol/L	0.3 mmol/L	1 mmol/L	3 mmol/L
	UGT1A1	β-エストラジオール	87.5	66.7	33.5	11.6
	UGT2B7	AZT	109.3	102.5	94.2	85.7
IC_{50}（mmol/L）	UGT1A1	β-エストラジオール	0.519			
Ki（mmol/L）	UGT1A1	β-エストラジオール	0.642（競合阻害）			

AZT：3'-アジド-3'-デオキシチミジン
a：各値は平均値（n=2）
b：活性残存率が 50%未満の場合、阻害作用ありと判定

2.6.5.12.4　ヒト肝細胞を用いた CYP 誘導作用（*In vitro*）（1）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：5.3.2.2-6
試験番号：BP-065-004

試験方法		ヒト肝細胞（3 ロット）を用いて、ビルトラルセンの各 CYP 分子種（CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4/5）に対する誘導作用を評価した。			
被験物質（濃度）		ビルトラルセン（0.1、1、10 µmol/L）			
基質（濃度）		CYP1A2：フェナセチン（100 µmol/L）、CYP2B6：ブプロピオン（500 µmol/L）、CYP3A4/5：ミダゾラム（50 µmol/L）			
陽性対照薬（濃度）		CYP1A2：オメプラゾール（25 µmol/L）、CYP2B6：フェノバルビタール（500 µmol/L）、CYP3A4/5：リファンピシン（20 µmol/L）			
測定（対象）物質		各基質代謝物			
測定法		LC-MS/MS			
CYP 分子種	肝細胞 Lot No.	酵素活性 [a]			
		ビルトラルセン			陽性対照薬 [b]
		0.1 µmol/L	1.0 µmol/L	10 µmol/L	
CYP1A2	Hu8123	1.3	1.3	1.7	56
	Hu8125	1.0	1.0	1.3	20
	Hu4197	1.1	1.1	0.9	10
CYP2B6	Hu8123	1.3	1.1	1.2	6.9
	Hu8125	1.2	1.2	1.3	4.2
	Hu4197	1.2	1.2	1.2	2.3
CYP3A4/5	Hu8123	1.3	1.3	1.3	13
	Hu8125	0.9	0.8	0.7	3.4
	Hu4197	1.0	1.1	1.1	6.6

a：酵素活性の平均値（n=2）を用いて、溶媒対照と比較した（fold induction）
b：溶媒対照と比較して、陽性対照薬による酵素活性誘導が 2 倍を超えており、試験系が妥当であると判断した

2.6.5.12.5　ヒト肝細胞を用いた CYP 誘導作用（*In vitro*）（2）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：5.3.2.2-7
試験番号：BP-065-032

試験方法		ヒト肝細胞（3 ロット）を用いて、ビルトラルセンの各 CYP 分子種（CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4）に対する誘導作用を評価した。			
被験物質（濃度）		ビルトラルセン（1、10、100 µmol/L）			
陽性対照薬（濃度）		CYP1A2：オメプラゾール（50 µmol/L）、CYP2B6：フェノバルビタール（1000 µmol/L）、CYP3A4：リファンピシン（10 µmol/L）			
測定（対象）物質		mRNA			
測定法		リアルタイム PCR			
CYP 分子種	肝細胞 Lot No.	mRNA 発現 [a]			
		ビルトラルセン			陽性対照薬 [b]
		1 µmol/L	10 µmol/L	100 µmol/L	
CYP1A2	HC5-25	1.41	1.35	1.30	33.0
	HC5-29	0.953	0.965	1.17	34.4
	HC10-10	0.989	0.761	1.02	42.6
CYP2B6	HC5-25	0.706	0.821	0.726	6.66
	HC5-29	1.00	1.08	1.10	5.82
	HC10-10	1.09	0.935	1.17	8.16
CYP3A4	HC5-25	0.855	0.811	0.690	15.4
	HC5-29	0.854	0.927	0.871	23.8
	HC10-10	0.991	0.820	0.863	62.0

a：mRNA 発現量の平均値（n=3）を用いて溶媒対照と比較した（fold induction）
b：溶媒対照と比較して、陽性対照薬による mRNA 発現が CYP1A2 では 5 倍、CYP2B6 及び CYP3A4 では 2 倍を超えており、試験系が妥当であると判断した

2.6.5.12.6　ヒト肝細胞を用いた CYP 誘導作用（*In vitro*）（3）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：5.3.2.2-8
試験番号：BP-065-042

試験方法		ヒト肝細胞（3 ロット）を用いて、ビルトラルセンの各 CYP 分子種（CYP1A2、CYP2B6 及び CYP3A4）に対する誘導作用を評価した。						
被験物質（濃度）		ビルトラルセン（0.03、0.1、0.3、0.5、1 及び 3 mmol/L）						
陽性対照薬（濃度）		CYP1A2：オメプラゾール（50 µmol/L）、CYP2B6：フェノバルビタール（1000 µmol/L）、CYP3A4：リファンピシン（10 µmol/L）						
測定（対象）物質		mRNA						
測定法		リアルタイム PCR						
CYP 分子種	肝細胞 Lot No.	mRNA 発現 [a]						
		ビルトラルセン						陽性対照薬 [b]
		0.03 mmol/L	0.1 mmol/L	0.3 mmol/L	0.5 mmol/L	1 mmol/L	3 mmol/L	
CYP1A2	HC5-29	0.848	0.869	0.937	1.30	1.11	1.15	42.8
	HC10-10	0.774	0.767	0.825	0.830	1.03	1.08	69.8
	HC4-25	0.806	0.892	0.687	0.647	0.809	0.791	22.2
CYP2B6	HC5-29	0.777	0.976	0.750	0.660	0.841	1.22	6.79
	HC10-10	0.618	0.765	0.680	0.618	0.578	0.593	6.50
	HC4-25	0.827	0.909	0.837	0.857	0.969	0.905	4.77
CYP3A4	HC5-29	1.05	1.18	0.962	0.994	1.40	2.33	37.4
	HC10-10	0.673	0.718	0.711	0.745	0.737	0.663	61.9
	HC4-25	0.644	0.625	0.478	0.531	0.824	0.659	8.33

a：mRNA 発現量の平均値（n=3）を用いて溶媒対照と比較した（fold induction）
b：溶媒対照と比較して、陽性対照薬による mRNA 発現が CYP1A2 では 5 倍、CYP2B6 及び CYP3A4 では 2 倍を超えており、試験系が妥当であると判断した

2.6.5.13　薬物動態試験：排泄

2.6.5.13.1　ラットに ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与した後の尿糞呼気中排泄

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：4.2.2.5-1
試験番号：BP-065-007

動物種		ラット（SD）					
性別（雄/雌）/ 動物数		雄 / 3					
摂餌条件		非絶食					
被験物質		^{14}C-ビルトラルセン					
溶媒/投与形態		生理食塩液					
投与方法		静脈内投与					
投与量		20 mg/kg					
比放射能		0.300 MBq/mg					
試料		尿、糞、呼気、ケージ洗液及び腎臓					
測定（対象）物質		放射能					
測定法		LSC					
累積排泄率（% of dose）[a]		尿	糞	呼気	ケージ洗液	腎臓 [b]	合計
採取時間 (hr)	0～6	71.90 ± 23.17	−	−	−	−	71.90 ± 23.17
	0～24	87.49 ± 9.07	5.75 ± 4.29	ND	−	−	93.24 ± 6.06
	0～48	88.59 ± 8.77	7.01 ± 5.01	ND	−	−	95.60 ± 5.32
	0～72	88.98 ± 8.78	7.37 ± 5.20	−	−	−	96.35 ± 5.21
	0～96	89.21 ± 8.79	7.49 ± 5.25	−	−	−	96.69 ± 5.24
	0～120	89.35 ± 8.77	7.58 ± 5.29	−	−	−	96.93 ± 5.23
	0～144	89.50 ± 8.80	7.66 ± 5.34	−	−	−	97.16 ± 5.25
	0～168	89.60 ± 8.79	7.74 ± 5.37	−	0.48 ± 0.40	1.20 ± 0.23	99.02 ± 5.04

−：サンプル未回収
ND：検出されず
a：各値は平均値 ± 標準偏差（n=3）
b：残存率（% of dose）

2.6.5.13.2　カニクイザルに ^{14}C-ビルトラルセンを単回静脈内投与した後の尿糞中排泄

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：4.2.2.2-2
試験番号：BP-065-008

動物種		カニクイザル				
性別（雄/雌）/ 動物数		雄 / 3				
摂餌条件		絶食（投与 2 時間後に摂餌）				
被験物質		^{14}C-ビルトラルセン				
溶媒/投与形態		生理食塩液				
投与方法		静脈内投与				
投与量		20 mg/kg				
比放射能		0.300 MBq/mg				
試料		尿、糞、呼気、ケージ洗液及びケージ堆積物				
測定（対象）物質		放射能				
測定法		LSC				
累積排泄率（% of dose）[a]		尿	糞	ケージ洗液	ケージ堆積物	合計
採取時間 (hr)	0～6	8.74 ± 10.18	−	−	−	NC
	0～24	23.49 ± 15.16	0.05 ± 0.04	20.82 ± 10.23	14.20 ± 6.19	NC
	0～48	25.14 ± 14.93	0.28 ± 0.40	23.15 ± 10.02	15.68 ± 6.27	NC
	0～72	26.38 ± 14.66	0.54 ± 0.64	24.07 ± 10.07	16.40 ± 6.74	NC
	0～96	27.21 ± 14.41	0.74 ± 0.89	24.69 ± 10.06	16.76 ± 6.89	NC
	0～120	27.76 ± 14.32	0.92 ± 1.06	26.23 ± 9.90	18.32 ± 7.77	NC
	0～144	28.18 ± 14.15	1.09 ± 1.28	26.69 ± 9.88	19.06 ± 8.19	NC
	0～168	28.40 ± 14.00	1.20 ± 1.43	27.32 ± 9.56	20.06 ± 8.68	76.99 ± 16.07

−：サンプル未回収
NC：算出せず
a：各値は平均値 ± 標準偏差（n=3）

2.6.5.14 薬物動態試験：排泄：胆汁中

該当試験なし。

2.6.5.15　薬物動態試験：薬物相互作用

2.6.5.15.1　各種薬物トランスポーターに対する基質認識性（*In vitro*）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：5.3.2.2-9
試験番号：BP-065-038

（1）　P-gp 及び BCRP に対する基質認識性

試験方法			ビルトラルセンのヒトの排出トランスポーターである P-gp 及び BCRP に対する基質認識性について、P-gp 又は BCRP を安定発現した LLC-PK1 細胞を用いて検討した。						
インキュベーション			P-gp：37℃で 4 時間（^{14}C-ビルトラルセン、^{14}C-マンニトール）、37℃で 2 時間（^{3}H-ジゴキシン） BCRP：37℃で 2 時間（^{14}C-ビルトラルセン、^{14}C-マンニトール）、37℃で 1 時間（^{3}H-プラゾシン）						
被験物質（濃度） / 比放射能			^{14}C-ビルトラルセン（10 μmol/L） / 0.291 MBq/mg						
典型基質（濃度）			P-gp：^{3}H-ジゴキシン（1 μmol/L）、BCRP：^{3}H-プラゾシン（0.01 μmol/L）						
典型阻害薬（濃度）			P-gp：ベラパミル（30 μmol/L）、BCRP：Ko143（1 μmol/L）						
測定（対象）物質			放射能						
測定法			LSC						
分子種	基質	典型阻害薬	コントロール細胞			トランスポーター発現細胞			Corrected P_{app} ratio[c]
			P_{app}（×10^{-6} cm/sec）[a]		P_{app} 比 [b]	P_{app}（×10^{-6} cm/sec）[a]		P_{app} 比 [b]	
			A to B	B to A		A to B	B to A		
P-gp	^{14}C-ビルトラルセン	−（溶媒対照）	0.279 ± 0.049	0.223 ± 0.088	0.8	0.116 ± 0.018	0.0965 ± 0.0135	0.8	1.0
		ベラパミル	0.302 ± 0.016	0.272 ± 0.058	0.9	0.199 ± 0.018	0.198 ± 0.017	1.0	1.1
	^{3}H-ジゴキシン	−（溶媒対照）	1.35 ± 0.02	2.45 ± 0.04	1.8	0.201 ± 0.020	5.31 ± 1.04	26.4	14.7
		ベラパミル	2.29 ± 0.24	2.89 ± 0.17	1.3	1.89 ± 0.18	3.29 ± 0.05	1.7	1.3
	^{14}C-マンニトール	−	1.10 ± 0.14	0.947 ± 0.081	0.9	0.765 ± 0.028	0.670 ± 0.071	0.9	1.0
BCRP	^{14}C-ビルトラルセン	−（溶媒対照）	0.0569 ± 0.0114	0.0512 ± 0.0202	0.9	0.490 ± 0.098	0.399 ± 0.017	0.8	0.9
		Ko143	0.0586 ± 0.0132	0.0580 ± 0.0025	1.0	0.464 ± 0.038	0.393 ± 0.010	0.8	0.8
	^{3}H-プラゾシン	−（溶媒対照）	25.5 ± 2.0	41.7 ± 0.3	1.6	6.30 ± 0.55	109 ± 2	17.3	10.8
		Ko143	31.1 ± 3.7	40.2 ± 0.7	1.3	19.2 ± 3.0	51.1 ± 0.8	2.7	2.1
	^{14}C-マンニトール	−	0.355 ± 0.068	0.456 ± 0.028	1.3	2.63 ± 0.21	2.41 ± 0.13	0.9	0.7

P_{app}：見かけの透過係数
A to B：頂端膜側から基底膜側への輸送
B to A：基底膜側から頂端膜側への輸送
a：各値は平均値 ± 標準偏差（n=3）
b：B to A の P_{app}／A to B の P_{app}
c：トランスポーター発現細胞における P_{app} 比／コントロール細胞における P_{app} 比

（2） OAT1、OAT3、OCT2、MATE-1 及び MATE2-K に対する基質認識性

試験方法		ビルトラルセンの各種トランスポーターに対する基質認識性について各種トランスポーターを発現した HEK293 細胞を用いて検討した。MATE2-K 以外は安定発現細胞を、MATE2-K は一過性発現細胞を用いた。			
インキュベーション		OAT1：37℃で 5 分間（^{14}C-ビルトラルセン）、37℃で 0.5 分間（^{3}H-p-アミノ馬尿酸） OAT3：37℃で 10 分間（^{14}C-ビルトラルセン）、37℃で 2 分間（^{3}H-エストロン-3-硫酸） OCT2：37℃で 10 分間（^{14}C-ビルトラルセン）、37℃で 2 分間（^{14}C-メトホルミン） MATE1：37℃で 10 分間（^{14}C-ビルトラルセン）、37℃で 5 分間（^{14}C-メトホルミン） MATE2-K：37℃で 10 分間（^{14}C-ビルトラルセン）、37℃で 5 分間（^{14}C-メトホルミン）			
被験物質（濃度） / 比放射能		^{14}C-ビルトラルセン（100 μmol/L） / 0.291 MBq/mg			
典型基質（濃度）		OAT1：^{3}H-p-アミノ馬尿酸（1 μmol/L）、OAT3：^{3}H-エストロン-3-硫酸（0.05 μmol/L） OCT2、MATE1、MATE2-K：^{14}C-メトホルミン（10 μmol/L）			
典型阻害薬（濃度）		OAT1、OAT3：プロベネシド（300 μmol/L）、OCT2：キニジン（300 μmol/L）、 MATE1：シメチジン（10 μmol/L）、MATE2-K：シメチジン（100 μmol/L）			
測定（対象）物質		放射能			
測定法		LSC			
分子種	典型阻害薬	Cleared volume（μL/mg protein）[a]			
		^{14}C-ビルトラルセン		典型基質	
		コントロール細胞	トランスポーター発現細胞	コントロール細胞	トランスポーター発現細胞
OAT1	−（溶媒対照）	0.560 ± 0.134	0.726 ± 0.087	0.483 ± 0.085	59.7 ± 6.8
	プロベネシド	0.427 ± 0.138	0.598 ± 0.123	0.485 ± 0.050	5.15 ± 0.25
OAT3	−（溶媒対照）	0.897 ± 0.148	0.601 ± 0.136	0.869 ± 0.064	7.94 ± 0.42
	プロベネシド	0.846 ± 0.059	0.703 ± 0.079	0.715 ± 0.097	1.69 ± 0.39
OCT2	−（溶媒対照）	0.771 ± 0.175	0.672 ± 0.226	0.444 ± 0.049	40.5 ± 0.9
	キニジン	0.902 ± 0.188	0.685 ± 0.092	0.144 ± 0.036	0.411 ± 0.011
MATE1	−（溶媒対照）	0.127 ± 0.056	0.0967 ± 0.0838	0.559 ± 0.054	21.8 ± 1.8
	シメチジン	0.130 ± 0.037	0.0691 ± 0.0573	0.315 ± 0.012	3.21 ± 0.08
MATE2-K	−（溶媒対照）	0.208 ± 0.058	0.214 ± 0.068	0.620 ± 0.029	14.6 ± 0.7
	シメチジン	0.186 ± 0.090	0.251 ± 0.011	0.340 ± 0.087	4.43 ± 0.30

a：各値は平均値 ± 標準偏差（n=3）

^{14}C-ビルトラルセンの典型阻害薬非存在下 cleared volume の比（トランスポーター発現細胞／コントロール細胞）は全ての分子種で 2 未満であった

2.6.5.15.2　各種薬物トランスポーターに対する阻害作用（*In vitro*）（1）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：5.3.2.2-10
試験番号：BP-065-033

（1）　P-gp 及び BCRP に対する阻害作用

試験方法			ヒトの排出トランスポーターである P-gp 及び BCRP に対するビルトラルセンの阻害作用について、P-gp 又は BCRP を安定発現した LLC-PK1 細胞を用いて検討した。			
インキュベーション			P-gp：37℃で 2 時間 BCRP：37℃で 1 時間			
被験物質（濃度）			ビルトラルセン（1、3、10、30、100 μmol/L）			
典型基質（濃度）			P-gp：^{3}H-ジゴキシン（1 μmol/L）、BCRP：^{3}H-プラゾシン（0.01 μmol/L）			
典型阻害薬（濃度）			P-gp：ベラパミル（30 μmol/L）、BCRP：Ko143（1 μmol/L）			
測定（対象）物質			放射能			
測定法			LSC			
分子種	薬物		P_{app} 比 [a] コントロール細胞	P_{app} 比 [a] トランスポーター発現細胞	Corrected P_{app} ratio[b]	溶媒対照に対する比率 (%)
P-gp	−（溶媒対照）		1.3	14.3	11.0	100.0
	ビルトラルセン	1 μmol/L	1.5	15.9	10.6	96.4
		3 μmol/L	1.5	16.6	11.1	100.9
		10 μmol/L	1.2	13.7	11.4	103.6
		30 μmol/L	1.4	13.3	9.5	86.4
		100 μmol/L	1.2	11.5	9.6	87.3
	典型阻害薬		1.1	1.7	1.5	13.6
BCRP	−（溶媒対照）		0.8	16.5	20.6	100.0
	ビルトラルセン	1 μmol/L	1.0	16.8	16.8	81.6
		3 μmol/L	1.0	18.0	18.0	87.4
		10 μmol/L	0.9	17.8	19.8	96.1
		30 μmol/L	1.0	18.1	18.1	87.9
		100 μmol/L	1.0	18.0	18.0	87.4
	典型阻害薬		0.9	1.1	1.2	5.8

a：頂端膜側から基底膜側への輸送に対する基底膜側から頂端膜側への輸送における見かけの膜透過係数の比
b：トランスポーター発現細胞における P_{app} 比／コントロール細胞における P_{app} 比

（2） OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、MATE1 及び MATE2-K に対する阻害作用

試験方法		各種トランスポーターに対するビルトラルセンの阻害作用について、各種トランスポーターを発現した HEK293 細胞を用いて検討した。MATE2-K 以外は安定発現細胞を、MATE2-K は一過性発現細胞を用いた。							
インキュベーション		OATP1B1、OATP1B3、OCT2、OAT3：37℃で 2 分間 OAT1：37℃で 0.5 分間 OCT1、MATE1、MATE2-K：37℃で 5 分間							
被験物質（濃度）		ビルトラルセン（0.1、0.4、2、10、50 μmol/L）							
典型基質（濃度）		OATP1B1、OATP1B3：^{3}H-エストラジオール-17β-D-グルクロナイド（0.05 μmol/L） OAT1：^{14}C-p-アミノ馬尿酸（1 μmol/L）、OAT3：^{3}H-エストロン-3-硫酸（0.05 μmol/L）、 OCT1、OCT2、MATE1、MATE2-K：^{14}C-メトホルミン（10 μmol/L）							
典型阻害薬（濃度）		OATP1B1 及び OATP1B3：リファンピシン（10 μmol/L） OAT1 及び OAT3：プロベネシド（100 μmol/L）、OCT1：キニジン（100 μmol/L）、OCT2：キニジン（300 μmol/L）、 MATE1：シメチジン（10 μmol/L）、MATE2-K：シメチジン（100 μmol/L）							
測定（対象）物質		放射能							
測定法		LSC							
		Cleared volume の溶媒対照に対する比率（%）							
薬物		OATP1B1	OATP1B3	OAT1	OAT3	OCT1	OCT2	MATE1	MATE2-K
ビルトラルセン	0.1 μmol/L	94.6	88.2	106.2	91.1	85.0	84.2	88.0	99.2
	0.4 μmol/L	102.6	103.2	105.5	102.9	99.8	96.4	110.6	87.8
	2 μmol/L	96.6	95.8	101.7	96.2	89.4	88.2	100.1	101.4
	10 μmol/L	98.0	95.2	99.4	101.0	97.2	101.6	104.5	95.2
	50 μmol/L	92.5	88.0	101.4	89.9	92.9	89.4	94.2	97.8
典型阻害薬		11.2	2.9	8.3	6.3	3.8	3.2	14.4	19.7

(3) BSEP に対する阻害作用

試験方法		BSEP に対するビルトラルセンの阻害作用について、BSEP 発現細胞より調製した膜小胞を用いて検討した。
インキュベーション		37℃で 5 分間
被験物質（濃度）		ビルトラルセン（0.1、0.4、2、10、50 μmol/L）
典型基質（濃度）		^{3}H-タウロコール酸（2 μmol/L）
典型阻害薬（濃度）		シクロスポリン A（10 μmol/L）
測定（対象）物質		放射能
測定法		LSC
薬物		Cleared volume の溶媒対照に対する比率（%）
ビルトラルセン	0.1 μmol/L	97.7
	0.4 μmol/L	97.2
	2 μmol/L	100.4
	10 μmol/L	104.1
	50 μmol/L	111.9
典型阻害薬		13.5

2.6.5.15.3　各種薬物トランスポーターに対する阻害作用（*In vitro*）（2）

被験物質：Viltolarsen
CTD における記載箇所：5.3.2.2-11
試験番号：BP-065-044

（1）　P-gp 及び BCRP に対する阻害作用

試験方法			ヒトの排出トランスポーターである P-gp 及び BCRP に対するビルトラルセンの阻害作用について、P-gp 又は BCRP を安定発現した LLC-PK1 細胞を用いて検討した。			
インキュベーション			P-gp：37℃で 2 時間 BCRP：37℃で 1 時間			
被験物質（濃度）			ビルトラルセン（30、100、300、1000、3000 μmol/L）			
典型基質（濃度）			P-gp：^{3}H-ジゴキシン（1 μmol/L）、BCRP：^{3}H-プラゾシン（0.01 μmol/L）			
典型阻害薬（濃度）			P-gp：ベラパミル（30 μmol/L）、BCRP：Ko143（1 μmol/L）			
測定（対象）物質			放射能			
測定法			LSC			
分子種	薬物		P_{app} 比 [a] コントロール細胞	P_{app} 比 [a] トランスポーター発現細胞	Corrected P_{app} ratio[b]	溶媒対照に対する比率 (%)
P-gp	−（溶媒対照）		1.8	28.3	15.7	100.0
	ビルトラルセン	30 μmol/L	1.7	28.7	16.9	107.6
		100 μmol/L	1.8	25.9	14.4	91.7
		300 μmol/L	1.7	30.2	17.8	113.4
		1000 μmol/L	1.7	26.0	15.3	97.5
		3000 μmol/L	1.7	23.6	13.9	88.5
	典型阻害薬		1.2	1.5	1.3	8.3
BCRP[c]	−（溶媒対照）		1.0	19.4	19.4	100.0
	ビルトラルセン	30 μmol/L	1.0	17.1	17.1	88.1
		100 μmol/L	1.0	20.3	20.3	104.6
		300 μmol/L	1.0	19.2	19.2	99.0
	典型阻害薬		1.0	1.1	1.1	5.7

a：頂端膜側から基底膜側への輸送に対する基底膜側から頂端膜側への輸送における見かけの膜透過係数の比
b：トランスポーター発現細胞における P_{app} 比／コントロール細胞における P_{app} 比
c：頂端膜側から基底膜側への輸送に対する基底膜側から頂端膜側への輸送における見かけの膜透過係数がそれぞれ被験物質の濃度依存的に低下していたため、1000 及び 3000 μmol/L の結果は記載しなかった。

（2） OATP1B1、OATP1B3、OAT1、OAT3、OCT1、OCT2、MATE1 及び MATE2-K に対する阻害作用

試験方法		各種トランスポーターに対するビルトラルセンの阻害作用について、各種トランスポーターを発現した HEK293 細胞を用いて検討した。MATE2-K 以外には安定発現細胞を、MATE2-K には一過性発現細胞を用いた。							
インキュベーション		OATP1B1、OATP1B3、OCT2、OAT3：37℃で 2 分間 OAT1：37℃で 0.5 分間 OCT1、MATE1、MATE2-K：37℃で 5 分間							
被験物質（濃度）		ビルトラルセン（30、100、300、1000、3000 μmol/L）							
典型基質（濃度）		OATP1B1、OATP1B3：^{3}H-エストラジオール-17β-D-グルクロナイド（0.05 μmol/L） OAT1：^{14}C-p-アミノ馬尿酸（1 μmol/L）、OAT3：^{3}H-エストロン-3-硫酸（0.05 μmol/L）、 OCT1、OCT2、MATE1、MATE2-K：^{14}C-メトホルミン（10 μmol/L）							
典型阻害薬（濃度）		OATP1B1 及び OATP1B3：リファンピシン（10 μmol/L） OAT1 及び OAT3：プロベネシド（100 μmol/L）、OCT1：キニジン（100 μmol/L）、OCT2：キニジン（300 μmol/L）、 MATE1：シメチジン（10 μmol/L）、MATE2-K：シメチジン（100 μmol/L）							
測定（対象）物質		放射能							
測定法		LSC							
		Cleared volume の溶媒対照に対する比率（%）							
薬物		OATP1B1	OATP1B3	OAT1	OAT3	OCT1	OCT2	MATE1	MATE2-K
ビルトラルセン	30 μmol/L	87.2	99.5	101.0	81.3	91.6	84.1	101.1	103.8
	100 μmol/L	79.0	83.7	90.9	58.4	108.2	112.9	112.4	105.5
	300 μmol/L	63.1	60.8	105.3	43.1	101.8	92.2	98.0	95.3
	1000 μmol/L	35.4	30.1	71.1	17.2	109.1	114.1	100.8	86.1
	3000 μmol/L	14.1	7.0	70.4	6.0	87.0	102.5	103.9	71.8
典型阻害薬		4.1	0.4	7.4	2.9	10.2	2.0	8.6	14.9
		IC_{50}（μmol/L）							
		OATP1B1	OATP1B3	OAT1	OAT3	OCT1	OCT2	MATE1	MATE2-K
ビルトラルセン		485	448	>3000	176	>3000	>3000	>3000	>3000

(3) BSEP 及び BCRP に対する阻害作用

試験方法		BCRP 及び BSEP に対するビルトラルセンの阻害作用について、BCRP 及び BSEP 発現ベシクルを用いて検討した。	
インキュベーション		BCRP：37℃で 2 分間、BSEP：37℃で 5 分間	
被験物質（濃度）		ビルトラルセン（BCRP：100、300、500、1000、3000 μmol/L、BSEP：30、100、300、1000、3000 μmol/L）	
典型基質（濃度）		BCRP：^{3}H-メトトレキサート（100 μmol/L）、BSEP：^{3}H-タウロコール酸（2 μmol/L）	
典型阻害薬（濃度）		BCRP：ベンズブロマロン（30 μmol/L）、BSEP：シクロスポリン A（10 μmol/L）	
測定（対象）物質		放射能	
測定法		LSC	
		Cleared volume の溶媒対照に対する比率（%）	
薬物		BCRP	BSEP
ビルトラルセン	30 μmol/L	―	107.4
	100 μmol/L	91.6	108.4
	300 μmol/L	86.4	115.0
	500 μmol/L	81.8	―
	1000 μmol/L	70.6	109.5
	3000 μmol/L	35.3	95.4
典型阻害薬		31.7	14.7
		IC_{50}（μmol/L）	
		BCRP	BSEP
ビルトラルセン		1970	>3000

―：実施せず

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

該当試験なし。

2.6.5.17 参考文献

なし。