目次

2.7.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法 3
2.7.1.1 背景及び概観 3
2.7.1.2 個々の試験結果の要約 17
2.7.1.3 全試験を通しての結果の比較と解析 17
2.7.1.4 付録 17

略語一覧表

語句略語	語句略語内容
CV	coefficient of variation：変動係数
DMD	Duchenne muscular dystrophy：デュシェンヌ型筋ジストロフィー
[redacted]	[redacted]：[redacted]
D/S 比	ratio of dystrophin signal intensity to spectrin signal intensity：ジストロフィン/スペクトリン比
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
IS	internal standard：内部標準物質
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）
mRNA	messenger ribonucleic acid：メッセンジャーリボ核酸
RT-PCR	reverse transcription polymerase chain reaction：逆転写ポリメラーゼ連鎖反応
SILAC	stable isotope labelling by amino acid in cell culture

2.7.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法

2.7.1.1 背景及び概観

2.7.1.1.1 製剤開発の経緯

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。

国内及び海外の臨床試験で使用した製剤の概要を表 2.7.1.1.1-1 に示す。

国内第 I 相臨床試験（NCNP/DMT01：以下、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。しかしながら、DMT01 試験以降の原薬の製造方法においては、[redacted]に比べて[redacted]が容易である[redacted]に変更し（2.3.S.2.6 項参照）、容器をアンプルからゴム栓付きのバイアルに変更した。国内第 I/II 相臨床試験（NS065/NCNP01-P1/2：以下、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。海外第 II 相臨床試験（NS-065/NCNP-01-201：以下、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。海外第 II 相臨床試験（NS-065/NCNP-01-202：以下、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の比較は 2.3.S.2.6 項に示す。これら原薬について、製造方法の違いによる化学構造の差異は認められず、また、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。

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。

表 2.7.1.1.1-1 国内及び海外の臨床試験で使用した製剤の概要

国内/海外	相	試験番号	製剤ロット番号（原薬ロット番号）	原薬製造方法	剤形及び容量	製剤の組成（1アンプル又はバイアル中の含量）				
						有効成分	等張化剤	pH調整剤		溶剤
						ビルトラルセン	塩化ナトリウム	塩酸	水酸化ナトリウム	注射用水
国内	I	NCNP/DMT01	S-125-(1)（38）	[redacted]	注射剤（アンプル）5 mL	125 mg	45 mg	適量[a]	適量[a]	適量
	I/II	NS065/NCNP01-P1/2	S-250-(3)（67）	[redacted]	注射剤（バイアル）10 mL	250 mg	90 mg	適量[a]	適量[a]	適量
海外	II	NS-065/NCNP-01-201 NS-065/NCNP-01-202	S-250-(1)（61） S-250-(2)（65）	[redacted]	注射剤（バイアル）10 mL	250 mg	90 mg	適量[a]	適量[a]	適量
		NS-065/NCNP-01-202	S-250-(4)（82）							
			SH-250-(2)（81） SH-250-(3)（93）	[redacted]	注射剤（バイアル）5 mL	250 mg	45 mg	適量[a]	適量[a]	適量

a：pH7.0～7.5 に調整

2.7.1.1.2 生体試料分析法

DMT01 試験、P1/2 試験、201 試験及び 202 試験で用いた分析法の概要を表 2.7.1.1.2-1 に示す。

血漿中及び尿中ビルトラルセンは高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析（LC-MS/MS）により測定した。

筋肉中ジストロフィンはウェスタンブロット、免疫蛍光染色及び LC-MS/MS により測定し、エクソン 53 スキッピング効率は逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）及びシークエンス解析により評価した。

P1/2 試験でのウェスタンブロットは、2 つの方法［旧法及び新法（旧法よりも感度及び定量性を向上させた方法）］で測定を行い、ウェスタンブロット（新法）のバリデーション試験（資料番号：5.3.1.4-8）では、正常ヒト骨格筋組織及びライセートの凍結保存安定性について現在も継続して測定中である。

血清中抗ビルトラルセン抗体は酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）、血清中抗ジストロフィン抗体はウェスタンブロットにより測定した。

DMT01 試験の筋肉中ジストロフィン測定で用いたウェスタンブロット及び免疫蛍光染色、エクソン 53 スキッピング効率の評価で用いた RT-PCR、血清中抗ジストロフィン抗体測定で用いたウェスタンブロットについては、バリデーション試験を実施していない。

表 2.7.1.1.2-1 臨床試験で用いた分析法の概要

測定対象	分析法	該当する臨床試験	試験番号	資料番号	評価/参考
血漿中ビルトラルセン	LC-MS/MS	NCNP/DMT01 NS065/NCNP01-P1/2 NS-065/NCNP-01-201	BP-065-015	5.3.1.4-1	評価
			BP-065-016	5.3.1.4-2	評価
尿中ビルトラルセン	LC-MS/MS	NCNP/DMT01	BP-065-017	5.3.1.4-3	評価
		NS065/NCNP01-P1/2 NS-065/NCNP-01-201	BP-065-025	5.3.1.4-4	評価
		NCNP/DMT01	BP-065-018	5.3.1.4-5	評価
		NS065/NCNP01-P1/2 NS-065/NCNP-01-201	BP-065-026	5.3.1.4-6	評価
筋肉中ジストロフィン	ウェスタンブロット	NS065/NCNP01-P1/2	CL-065-005	5.3.1.4-7	評価
			CL-065-009	5.3.1.4-8	評価
		NS-065/NCNP-01-201	－	5.3.1.4-9	評価
			010-[redacted]-081	5.3.1.4-18	評価
	免疫蛍光染色	NS065/NCNP01-P1/2	CL-065-008	5.3.1.4-10	評価
		NS-065/NCNP-01-201	－	5.3.1.4-11	評価
			－	5.3.1.4-12	評価
	LC-MS/MS	NS-065/NCNP-01-201	[redacted]6-779	5.3.1.4-13	評価
筋肉中ジストロフィン mRNA	RT-PCR	NS065/NCNP01-P1/2	CL-065-002	5.3.1.4-14	評価
		NS-065/NCNP-01-201	－	5.3.1.4-15	評価
血清中抗ビルトラルセン抗体	ELISA	NCNP/DMT01 NS065/NCNP01-P1/2 NS-065/NCNP-01-201 NS-065/NCNP-01-202	[redacted]119-036	5.3.1.4-16	評価
血清中抗ジストロフィン抗体	ウェスタンブロット	NS065/NCNP01-P1/2 NS-065/NCNP-01-201 NS-065/NCNP-01-202	CL-065-104	5.3.1.4-17	評価

2.7.1.1.2.1 血漿中ビルトラルセンの測定

DMT01 試験、P1/2 試験及び 201 試験では、LC-MS/MS により血漿中ビルトラルセン濃度を測定した。内部標準物質（IS）としてプロプラノロールを用い、血漿を固相抽出処理した後に測定した。また、幅広い濃度範囲の定量を可能とするため、検量線は低濃度域と高濃度域の 2 つの濃度域で作成した。

LC-MS/MS による血漿中ビルトラルセン濃度測定のバリデーションの概要を表 2.7.1.1.2.1-1 に示す。

血漿中ビルトラルセン濃度の定量下限は低濃度域で 20.0 ng/mL、高濃度域で 500 ng/mL であり、それぞれ 20.0～1000 ng/mL 及び 500～50000 ng/mL まで直線性が認められた（5.3.1.4-1 参照）。なお、ブランクサンプルのクロマトグラム上にビルトラルセン及び IS と重なるピークは認められなかった。また、血漿中ビルトラルセン濃度は 10 倍希釈で 500000 ng/mL まで測定可能であったが、P1/2 試験の濃度測定時に測定上限を超える検体が存在したため、100 倍希釈で 5000000 ng/mL まで測定可能とした（5.3.5.1-2 16.1.9 BP-065-027 試験報告書参照）。

血漿中のビルトラルセンは、濃度域によらず−20 ± 5°C で 180 日間安定であった（5.3.1.4-2 参照）。

表 2.7.1.1.2.1-1 LC-MS/MS による血漿中ビルトラルセン濃度測定のバリデーションの概要

低濃度域（検量線範囲 20.0～1000 ng/mL）				高濃度域（検量線範囲 500～50000 ng/mL）			
日内変動		日間変動		日内変動		日間変動	
真度（%）	精度（%）	真度（%）	精度（%）	真度（%）	精度（%）	真度（%）	精度（%）
−13.0～11.0	1.7～9.8	0.5～3.0	4.7～12.2	−6.4～5.4	1.9～9.1	−2.0～1.8	4.8～6.7

資料番号：5.3.1.4-1

2.7.1.1.2.2 尿中ビルトラルセンの測定

DMT01 試験、P1/2 試験及び 201 試験では、LC-MS/MS により尿中ビルトラルセン濃度を測定した。DMT01 試験では[redacted]の尿で測定し、P1/2 試験及び 201 試験では、ビルトラルセンが[redacted]へ[redacted]のを[redacted]ため、測定時に[redacted]の[redacted]を[redacted]尿で測定した。IS としてプロプラノロールを用い、それぞれの尿を固相抽出処理した後に測定した。

LC-MS/MS による尿中ビルトラルセン濃度測定のバリデーションの概要を表 2.7.1.1.2.2-1 に示す。

[redacted]の尿で測定した場合、尿中ビルトラルセン濃度の定量下限は 500 ng/mL であり、500～20000 ng/mL まで直線性が認められた（5.3.1.4-3 参照）。また、尿中ビルトラルセン濃度は 100 倍希釈で 2000000 ng/mL まで測定可能であった。

[redacted]の[redacted]を[redacted]尿で測定した場合、尿中ビルトラルセン濃度の定量下限は 2500 ng/mL であり、2500～250000 ng/mL まで直線性が認められた（5.3.1.4-4 参照）。なお、いずれの測定でもブランクサンプルのクロマトグラム上にビルトラルセン及び IS と重なるピークは認められなかった。また、尿中ビルトラルセン濃度は 10 倍希釈で 2500000 ng/mL まで測定可能であったが、P1/2 試験の濃度測定時に測定上限を超える検体が存在したため、100 倍希釈で 25000000 ng/mL まで測定可能とした（5.3.5.1-2 16.1.9 BP-065-028 試験報告書参照）。

[redacted]の尿中のビルトラルセンは、−20±5°C で 68 日間安定であった（5.3.1.4-5 参照）。また、[redacted]の[redacted]を[redacted]尿中のビルトラルセンは、−20 ± 5°C で 186 日間安定であった（5.3.1.4-6 参照）。

表 2.7.1.1.2.2-1 LC-MS/MS による尿中ビルトラルセン濃度測定のバリデーションの概要

尿に[redacted] [redacted] [a]				尿に[redacted]の[redacted]を[redacted] [b]			
検量線範囲 500～20000 ng/mL				検量線範囲 2500～250000 ng/mL			
日内変動		日間変動		日内変動		日間変動	
真度（%）	精度（%）	真度（%）	精度（%）	真度（%）	精度（%）	真度（%）	精度（%）
−15.8 [c]～3.2	1.9～7.3	−4.8～−0.4	4.1～9.5	−4.5～11.0	1.7～6.1	−0.4～8.8	2.8～7.7

a：資料番号 5.3.1.4-3
b：資料番号 5.3.1.4-4
c：定量下限における結果を示す

2.7.1.1.2.3 筋肉中ジストロフィンの測定

（1） ウェスタンブロット

1） 国内

ジストロフィンを定量するためには標準となる精製された完全長ジストロフィンが必要であるが、高分子量（427 kDa）及び低発現のために現在のところ利用可能ではない [1]。そのため、正常ヒト骨格筋組織を標準品として使用し、その発現量を 100%とし、臨床検体のジストロフィン発現

量を算出した。また、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）は希少疾患で臨床検体の入手が困難であるため、バリデーション試験では DMD 患者検体ではなく、正常ヒト骨格筋組織を使用した。

P1/2 試験でのウェスタンブロットは、2 つの方法（旧法及び新法）で測定を行った。旧法は前相の DMT01 試験を参考に、スペクトリンをリファレンスタンパク質として測定し、正常対照（正常ヒト骨格筋組織）のジストロフィン/スペクトリン比（D/S 比）を基準として評価を行った。正常ヒト骨格筋組織ライセートを電気泳動で分離したタンパク質をポリフッ化ビニリデン膜に転写した後、抗ジストロフィン抗体及び抗スペクトリン抗体を用いて、ジストロフィン及びスペクトリンを化学発光により検出した。しかしながら、ウェスタンブロット（旧法）では、定量下限が[redacted]%（正常対照を 100%とした場合）であり、より低い定量下限の測定法でジストロフィンを測定する必要があった。また、ジストロフィン発現量の定量性が重視されることを考慮し、ゲルごとに検量線を作成することとした。これらを踏まえ、感度及び定量性を向上させた新たなウェスタンブロット（新法）（定量下限：1%）を構築した。

a) ウェスタンブロット（旧法）

ウェスタンブロット（旧法）による筋肉中ジストロフィン測定のバリデーション試験（5.3.1.4-7 参照）では、特異性、同時再現性、日差再現性、定量下限及び半定量性について評価した（表 2.7.1.1.2.3-1）。

特異性において、一次抗体に抗ジストロフィン抗体のみを用いた際、ジストロフィン以外のバンドが検出された。このバンドは、ジストロフィンバンドと分子量で区別することが可能であり、再現性及び半定量性の評価において適合基準を満たしたことから、このバンドが分析法に与える影響は許容可能であると判断された。特異性以外のバリデーション項目は、適合基準を満たした。

定量下限及び半定量性の結果から、ジストロフィンは正常ヒト骨格筋組織ライセートの総タンパク量として、[redacted]～[redacted]µg の範囲で定量可能であることが確認できた。DMD 患者検体で泳動する総タンパク量が[redacted] µg であることから、定量下限は正常対照を 100%とした場合 [redacted]%([redacted] µg/[redacted] µg）と算出された。

表 2.7.1.1.2.3-1 ウェスタンブロット（旧法）による筋肉中ジストロフィン測定のバリデーションの概要

特異性	総タンパク質量 4 µg 1 次抗体（抗ジストロフィン抗体及び抗スペクトリン抗体）あり：ジストロフィン及びスペクトリンバンドが検出されたため、適合基準を満たした。 1 次抗体（抗ジストロフィン抗体のみ）あり：ジストロフィンバンドは検出されたが、ジストロフィン以外のバンドがスペクトリンバンド付近に検出された。 1 次抗体（抗スペクトリン抗体のみ）あり：スペクトリンバンドが検出され、ジストロフィンバンドは検出されなかったため、適合基準を満たした。 1 次抗体なし：ジストロフィン及びスペクトリンバンドは検出されなかったため、適合基準を満たした。
同時再現性	総タンパク質量 4 µg 全試料（n=3）でジストロフィン及びスペクトリンバンドが検出され、D/S 比の CV は[redacted]%であり、適合基準（CV：[redacted]%以下）を満たした。
日差再現性	総タンパク質量 4 µg 異なる 3 日間（n=1）でジストロフィン及びスペクトリンバンドが検出され、D/S 比の CV は[redacted]%であり、適合基準（CV：[redacted]%以下）を満たした。
定量下限及び半定量性	総タンパク質量[redacted]～[redacted] µg ジストロフィンバンドのシグナル強度はバックグラウンドよりも高く、適合基準を満たした。 総タンパク質量[redacted]～[redacted]µg の試料の逆算値の真度は[redacted]%～[redacted]%であり、適合基準（[redacted]±[redacted]%以内）を満たした。適合基準を満たした最も希釈倍率の高い試料（[redacted]µg）の D/S 比[a]である[redacted]を定量下限とした。

資料番号：5.3.1.4-7
CV：変動係数
a：総タンパク質量[redacted]µg を電気泳動した際のジストロフィンバンド及び総タンパク質量[redacted]µg を電気泳動した際のスペクトリンバンドのシグナル強度比

b) ウェスタンブロット（新法）

ウェスタンブロット（新法）による筋肉中ジストロフィン測定のバリデーション試験（5.3.1.4-8 参照）では、特異性、同時再現性、日差再現性及び検量線を評価した（表 2.7.1.1.2.3-2）。正常対照（正常ヒト骨格筋組織）を陰性対照（DMD 患者[redacted]例の筋検体を混合）で希釈することで、検量線の基準点（正常対照の[redacted]、[redacted]、[redacted]、[redacted]及び[redacted]%）を作成した。特異性、同時再現性、日差再現性及び検量線において、いずれも適合基準を満たした。

なお、正常ヒト骨格筋組織切片及びライセートの凍結保存安定性については、現在も継続して測定中である。

表 2.7.1.1.2.3-2 ウェスタンブロット（新法）による筋肉中ジストロフィン測定のバリデーションの概要

特異性	1 次抗体（抗ジストロフィン抗体及び抗 α-アクチニン抗体）は特異性の適合基準を満たした。 4 例[a]の DMD 患者検体の各ライセートは適合基準（[redacted]%未満）を満たした。
同時再現性	同一ライセート（n=3、各濃度 1 回）を同時に測定した際、各試料（n=3）の正常ヒト骨格筋組織相当量（%）の平均値の真度は[redacted]%～[redacted]%、CV は[redacted]%～[redacted]%であり、適合基準（平均値の真度：[redacted]±[redacted]%以内、CV：[redacted]%以下）を満たした。
日差再現性	同一ライセート（n=1）を異なる 3 日間で測定した際、各試料（3 回）の正常ヒト骨格筋組織相当量（%）の平均値の真度は[redacted]%～[redacted]%、CV は[redacted]%～[redacted]%であり、適合基準（平均値の真度：[redacted]±[redacted]%以内、CV：[redacted]%以下）を満たした。
検量線	検量線の決定係数は[redacted]～[redacted]であり、適合基準（決定係数：＞[redacted]）を満たした。

資料番号：5.3.1.4-8
a：[redacted]例のうち、[redacted]例は適合基準（[redacted]%未満）を満たしたが、ジストロフィンのシグナル強度が正常対照の[redacted]%に近似していたため、陰性対照はこの[redacted]例を除いた DMD 患者[redacted]例の筋検体を混合して作製した。

2） 海外

201 試験でのウェスタンブロットでは、2 種類（ミオシン重鎖及びα-アクチニン）のリファレンスタンパク質を用いて内部標準化し、ゲルごとに検量曲線を作成し評価を行った。ミオシン重鎖は転写後ゲルを使用したクマシーブルー染色により測定し、α-アクチニンは同じニトロセルロース膜を使用したウェスタンブロットにより測定した。正常対照は非 DMD 患者 5 例の筋検体を混合し、陰性対照である DMD 患者検体で希釈することで、当初の検量曲線の基準点（正常対照の 0%、2%、10%、25%及び 100%）を作成した（5.3.1.4-9 Attachment 参照）。ウェスタンブロットを de novo のジストロフィンの主要測定系とすることに Food and Drug Administration（FDA）と合意し、治療効果が期待される範囲に検量曲線の基準点を設定すべきことを指摘された。検量曲線の基準点（正常対照の[redacted]%、[redacted]%、[redacted]%、[redacted]%、[redacted]%、[redacted]%及び[redacted]%）を作成し、再度バリデーション試験を行った。

ウェスタンブロットによる筋肉中ジストロフィン測定のバリデーション試験（5.3.1.4-9 参照）では、真度、測定者間再現性、同時再現性、特異性、選択性、検量曲線、検出限界及び定量限界を評価した。実験者 2 名が異なる日に、ウェスタンブロットを 3 回実施した。本試験では[redacted]%より低い濃度を評価するため、基準点として[redacted]%及び[redacted]%の評価を行った。その結果、検出限界は[redacted]%未満となる基準を満たしたが、より低い検出限界の設定により低い濃度範囲において CV が高くなり、多くのバリデーション項目で適合基準を満たさなかった。検量曲線内のばらつきを低減し、検量曲線から実験試料濃度を正確に反映するため、201 試験の臨床検体の測定では[redacted]%及び[redacted]%を削除し、[redacted]%、[redacted]%、[redacted]%、[redacted]%及び[redacted]%の基準点で検量曲線を作成した。この検量曲線における基準点の変更は、FDA に了承された。

また、米国での承認申請後（2019 年 9 月）、FDA からの要請に従い、臨床試験と同じ[redacted]%、[redacted]%、[redacted]%、[redacted]%及び[redacted]%の基準点でウェスタンブロットによる筋肉中ジストロフィン測定の再バリデーション試験（5.3.1.4-18 参照）を実施した。その結果、検量曲線、選択性、同時再現性、定量限界、真度及び測定者間再現性において、ミオシン重鎖による標準化ではいずれも適合基準を満たし、α-アクチニンによる標準化では定量限界及び測定者間再現性を除き、適合基準を満たした（表 2.7.1.1.2.3-3）。

表 2.7.1.1.2.3-3 ウェスタンブロットによる筋肉中ジストロフィン測定の再バリデーションの概要

	ミオシン重鎖による標準化	α-アクチニンによる標準化
検量曲線	検量線の決定係数は[redacted]～[redacted]であり、適合基準（決定係数：≧[redacted]）を満たした。	検量線の決定係数は[redacted]～[redacted]であり、適合基準（決定係数：≧[redacted]）を満たした。
選択性	[redacted]%試料は[redacted]%試料よりもシグナル強度が高く、適合基準を満たした。	[redacted]%試料は[redacted]%試料よりもシグナル強度が高く、適合基準を満たした。
同時再現性	各実験者の 3 回の分析において、分析間の CV が[redacted]%～[redacted]%であり、適合基準（CV：[redacted]%未満）を満たした。	各実験者の 3 回の分析において、分析間の CV が[redacted]%～[redacted]%であり、適合基準（CV：[redacted]%未満）を満たした。
定量限界	CV は[redacted]%～[redacted]%であり、適合基準（CV：[redacted]%以下）を満たした。	CV は[redacted]%を超え（実験者 1：[redacted]%～[redacted]%、実験者 2:[redacted]%～[redacted]%）、適合基準（CV：[redacted]%以下）を満たさなかった。
真度	適合基準（平均値の真度：理論値の[redacted]%以内）を満たした。	実験者 2 は適合基準（平均値の真度：理論値の[redacted]%以内）を満たしたが、実験者 1 は[redacted]%QC 試料のみ適合基準の平均値の真度を[redacted]%下回った。
測定者間再現性	実験者 2 名の分析において、全ての QC 試料で実験者間の誤差は[redacted]%～[redacted]%とわずかな逸脱であり、適合基準（誤差：[redacted]%以内）を満たした。	実験者 2 名の分析において、[redacted]%QC 試料のみ実験者間の誤差が[redacted]%を超え（[redacted]%）、適合基準（誤差：[redacted]%以内）を満たさなかった。

資料番号：5.3.1.4-18

（2） 免疫蛍光染色

1） 国内

P1/2 試験の免疫蛍光染色では、筋線維膜上でジストロフィンと共局在するスペクトリンをリファレンスタンパク質として定め、両者を二重免疫蛍光染色後、画像解析ソフトウェアを用いて筋線維の同定及び輝度の計測を行い、正常検体（正常ヒト骨格筋組織）の D/S 比が約 1 となる条件下での、被験者検体におけるジストロフィンの発現量を相対的に定量した。

評価項目は、「撮像領域ごとの正常組織に対する割合」（以下、「撮像領域ごと」）、「筋線維ごとの正常組織に対する割合」（以下、「筋線維ごと」）及び「ジストロフィン陽性筋線維の割合」の 3 種類であり、「撮像領域ごと」の評価では、全ての筋線維を対象とした包括的な評価を行ったのに対し、「筋線維ごと」及び「ジストロフィン陽性筋線維の割合」の評価は、組織切片上で正常な形の筋線維を選択し評価を行った。

「筋線維ごと」の解析では、解析したスライド上の正常対照筋線維の D/S 比の分布を計算し、同分布の 1 パーセンタイル値：$P1_{NC}$ を求めた。同一スライド上の正常対照における筋線維で D/S 比が $P1_{NC}$ を超える場合、当該筋線維はジストロフィン陽性であると定義し、下記式に従い、「ジストロフィン陽性筋線維の割合」（%）を算出した。

$$\text{ジストロフィン陽性筋線維の割合}(\%) = \frac{\text{D/S 比}(\text{筋線維ごと}) > P1_{NC}\text{である筋線維数}}{\text{計測した筋線維数}} \times 100$$

$P1_{NC}$：正常対照の D/S 比（筋線維ごと）の 1 パーセンタイル値

免疫蛍光染色による筋肉中ジストロフィン測定のバリデーション試験（5.3.1.4-10 参照）では、定量性、特異性、同時再現性、日差再現性、蛍光輝度の退色性及び安定性を評価した（表 2.7.1.1.2.3-4）。

「撮像領域ごと」及び「筋線維ごと」については D/S 比で評価を行った。DMD は希少疾患で臨床検体の入手が困難であり、バリデーション試験では DMD 患者検体ではなく正常検体を使用したため、「ジストロフィン陽性筋線維の割合」に関する評価を行うことができなかった。

全てのバリデーション項目において、適合基準を満たした。また、正常検体のジストロフィン及びスペクトリンは、[redacted]℃ 以下で[redacted]週間（[redacted]日間）安定であった。

表 2.7.1.1.2.3-4 免疫蛍光染色による筋肉中ジストロフィン測定のバリデーションの概要

定量性	1 次抗体（抗ジストロフィン抗体）：[redacted]倍希釈では D/S 比が飽和したものの、[redacted]～[redacted]倍の希釈倍率では濃度減少に伴い、D/S 比の減少が認められた。 2 次抗体（抗ウサギ IgG）：撮像領域ごとでは、[redacted]倍希釈が[redacted]倍希釈よりも高い D/S 比を示したものの、それ以外では濃度減少に伴い、D/S 比の減少が認められた。
特異性	陽性対照試料［1 次抗体（抗ジストロフィン抗体又は抗スペクトリン抗体）あり］で蛍光輝度が認められ、陰性対照試料（1 次抗体なし）において蛍光輝度が認められなかったため、適合基準を満たした。
同時再現性	二重免疫蛍光染色を同時に実施し（n=3）、D/S 比の CV が[redacted]%（撮像領域ごと）及び[redacted]%（筋線維ごと）であり、適合基準（CV：[redacted]%以下）を満たした。
日差再現性	二重免疫蛍光染色を異なる 3 日間で実施し（各 n=1）、D/S 比の CV が[redacted]%（撮像領域ごと）及び[redacted]%（筋線維ごと）であり、適合基準（CV：[redacted]%以下）を満たした。
蛍光輝度の退色性	撮像後（n=3 のうち 1 枚）、3 日後に再撮像を行い、D/S 比の CV が[redacted]%（撮像領域ごと）及び[redacted]%（筋線維ごと）であり、適合基準（CV：[redacted]%以下）を満たした。
安定性	初回標本作製日を 0 日目とし、0、[redacted]及び[redacted]日後（短期安定性）、[redacted]、[redacted]、[redacted]及び[redacted]週後（長期安定性）に免疫蛍光染色を実施し、筋ブロックは[redacted]℃ 以下で凍結保存し、0 日目と保存後の D/S 比が[redacted]%～[redacted]%（短期）及び[redacted]%～[redacted]%（長期）であり、適合基準（D/S 比：[redacted]±[redacted]%以内）を満たした。 [redacted]℃ 以下で[redacted]週間（[redacted]日間）安定

資料番号：5.3.1.4-10

2） 海外

201 試験の免疫蛍光染色では、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することで評価を行った。ラミニン α2 は、筋線維のタイプ、再生状態及びジストロフィン発現に影響を受けず、染色することで筋線維膜を特定することができる。ジストロフィン陽性筋線維の割合は、ジストロフィンとラミニン α2 の同時染色により染色された筋線維を計測した。α-サルコグリカンは、筋線維原形質膜においてジストロフィンと共局在するジストロフィン関連タンパク質であり、ジストロフィン及び α-サルコグリカンの同時染色によって、筋線維原形質膜におけるジストロフィンの適切な局在を確認した。

免疫蛍光染色による筋肉中ジストロフィン測定のバリデーション試験（5.3.1.4-11 参照）では、実験者 2 名が免疫蛍光染色を 3 回実施し、定性及び定量を評価した。

正常検体（非 DMD 患者検体）では、筋線維膜上でジストロフィンとラミニン α2 染色の共局在を示し、ジストロフィン復帰変異筋線維を有しない DMD 患者検体では、筋線維膜はラミニン α2 で染色されたが、ジストロフィンは陰性であった。ジストロフィン復帰変異筋線維を有する DMD 患者検体では、筋線維膜はラミニン α2 で染色され、少数のジストロフィン陽性筋線維が認められた。女性保因者の検体では、同じ切片内でジストロフィン陽性及び陰性の筋線維がモザイク状に観察された。正常検体、ジストロフィン復帰変異筋線維を有しない及び有する DMD 患者検体並びに女性保因者の検体において、α-サルコグリカン染色の蛍光輝度はジストロフィン染色と同程度の蛍光輝度を示した。使用した抗体は目的の各タンパク質（ジストロフィン、ラミニン α2 及び

α-サルコグリカン）に対して特異的であった。実験者 2 名が測定した正常検体のジストロフィン陽性筋線維数は 99.38%及び 97.84%であり、いずれも 100%に近い値を示した。

バリデーション試験では、レーザーの強度（Gain）を主観的な視認性で決定し、閾値が実験者により異なっていたため、Gain の値の決定を目的とした追加試験（5.3.1.4-12 参照）を行った。BMD 患者の典型的なジストロフィン陽性筋線維は 80%と予測されたため、BMD 患者検体が約 80%のジストロフィン陽性筋線維を示すように Gain を設定した。

（3） LC-MS/MS

LC-MS/MS によるタンパク質の絶対定量では、同じアミノ酸配列のペプチドを IS とし、測定試料に混合して解析を行う。IS と目的ペプチドの各々についてクロマトグラムを取得し、これらの面積比を求めることで IS の絶対量から目的ペプチドの絶対量を求めることができる。また、IS 及び目的ペプチドに質量差を持たせるため、安定同位体元素が用いられる。

201 試験での LC-MS/MS では、^{13}C、^{15}N で標識したアミノ酸（$^{13}C_6$, $^{15}N_2$-リジン及び $^{13}C_6$-アルギニン）を含む培地で筋管細胞の培養を行い、stable isotope labelling by amino acid in cell culture（SILAC）を作製し使用した。SILAC を添加した骨格筋ライセートを電気泳動した後、分子量に従い該当部分のゲルを切り出し、ゲル内でトリプシン消化を行い、ジストロフィンをペプチド断片に分解した。SILAC 由来及び臨床検体由来のジストロフィンペプチド断片を LC-MS/MS により測定した（図 2.7.1.1.2.3-1）。

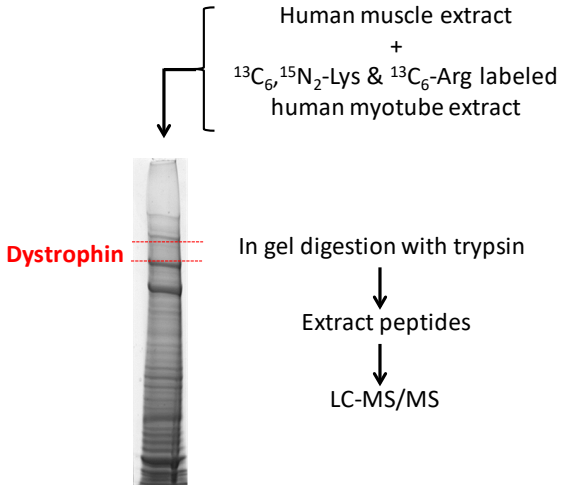


図 2.7.1.1.2.3-1 ゲル電気泳動及び LC-MS/MS を用いた ジストロフィン定量解析のワークフロー

LC-MS/MS による筋肉中ジストロフィン測定のバリデーション試験（5.3.1.4-13 参照）では、特異性、キャリーオーバー、定量下限、同時再現性、日差再現性及び溶解液中の安定性を評価した（表 2.7.1.1.2.3-5）。

SILAC 添加ジストロフィンペプチド作製では、正常対照は非 DMD 患者 5 例の筋検体を混合し、陰性対照は DMD 患者 2 例の筋検体を混合して作製した。正常対照を陰性対照で希釈することで検量曲線の基準点（正常対照の 0%、1%、3%、10%及び 25%）及び QC 試料（2%、7%及び 15%）

を作製した。全ての試料（総タンパク量：50 μg）に SILAC 12.5 μg を添加し、電気泳動後、分子量に従い該当部分のゲルを切り出し、ゲル内でトリプシン消化によりジストロフィンをペプチド断片に分解し、ペプチドを抽出・乾燥した。異なる日に同様の操作を行い、2 セット（ゲル 1 及びゲル 2）の試料を作製した。

筋組織に特異的に発現するフィラミン C をリファレンスタンパク質として定め、3 つのジストロフィンペプチド断片（DYST_1、DYST_2 及び DYST_3）を定量した。DYST_3 ペプチドは溶解液中で経時的に減少したため、また、201 試験の臨床検体を測定した際、検量曲線作成に十分な DYST_1/DYST_1_IS の反応が得られなかったため、DYST_2 ペプチドのみを臨床検体の定量に使用することとした。

ジストロフィン[redacted]%～[redacted]%の範囲で、特異性、再現性及び溶解液中の安定性に関する適合基準を満たした。また、溶解液中のジストロフィンペプチド（DYST_2 ペプチド）は、[redacted]℃で[redacted]時間安定であり、10℃で 20.4 時間及び 4℃で 14 日間安定であった。

表 2.7.1.1.2.3-5 LC-MS/MS による筋肉中ジストロフィン測定のバリデーションの概要

パラメータ処理	ジストロフィンの補正比：DYST_2 の比/フィラミン C の平均比 検量曲線の回帰式及び重み付け条件：重み付け 1/x 線形回帰 検量体及び QC 試料からのみ 0%検量体を減算（測定対象検体から 0%検量体は減算されない）
特異性	溶解液中のジストロフィン又はフィラミン C ペプチドの検出に他の成分の影響はなく、交差反応もなかった。
キャリーオーバー	定量上限濃度の試料を測定後、最初のブランク試料の注入で、キャリーオーバー（ジストロフィン：～7.0%、フィラミン C：～9.6%）が認められた。キャリーオーバーを最小化するため、測定対象検体の間にブランク試料又は SILAC 試料を注入し、一定の順序で注入する必要がある。
定量下限	[redacted]%ジストロフィン（DYST_2 のみ [a]） 真度 [b]：ゲル 1[redacted]%、ゲル 2[redacted]%
同時再現性	真度 [b]（DYST_2 のみ [a]）： 低濃度 QC 試料（2.0%）：ゲル 1[redacted]%、ゲル 2[redacted]% 中濃度 QC 試料（7.0%）：ゲル 1[redacted]%、ゲル 2[redacted]% 高濃度 QC 試料（15.0%）：ゲル 1[redacted]%、ゲル 2[redacted]%
日差再現性	真度 [b]（DYST_2 のみ [a]）： 低濃度 QC 試料（2.0%）：[redacted]% 中濃度 QC 試料（7.0%）：[redacted]% 高濃度 QC 試料（15.0%）：[redacted]%
溶解液中の安定性	[redacted]°C（オートサンプラー）で[redacted]時間安定（DYST_2 のみ [a]） 真度 [b]（DYST_2 のみ [a]）： 低濃度 QC 試料（2.0%）：[redacted]% 中濃度 QC 試料（7.0%）：[redacted]% 高濃度 QC 試料（15.0%）：[redacted]% 10°C（オートサンプラー）で 20.4 時間及び 4°C で 14 日間安定（DYST_2 のみ [a]） 真度 [b]（DYST_2 のみ [a]）： 低濃度 QC 試料（2.0%）：[redacted]% 中濃度 QC 試料（7.0%）：[redacted]% 高濃度 QC 試料（15.0%）：[redacted]%

資料番号：5.3.1.4-13

a：DYST_3 ペプチドは溶解液中で経時的に減少したため、また、201 試験の臨床検体を測定した際、検量曲線作成に十分な DYST_1/DYST_1_IS の反応が得られなかったため、DYST_2 ペプチドのみを臨床検体の定量に使用することとした。

b：適合基準は理論値の±[redacted]%以内

2.7.1.1.2.4 エクソン 53 スキッピング効率の測定

P1/2 試験及び 201 試験では、スキッピング標的エクソン（エクソン 53）を挟んだプライマーによる RT-PCR を行い、生成されたエクソン 53 を含む増幅産物と含まない増幅産物の比率により、RT-PCR によるエクソン 53 スキッピング効率を評価した。また、特異的エクソン 53 スキッピングを確認するため、単離した増幅産物のシークエンス解析を行った。

＜RT-PCR によるエクソン 53 スキッピング効率の計算式＞

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

エクソン 53 スキッピング対象の DMD 患者検体を入手することは困難であり、バリデーション試験は DMD 患者検体ではなく、正常検体（正常ヒト骨格筋組織）を使用したため、スキッピング

効率の算出に関する評価を行うことができなかった。

（1） 国内

RT-PCR による筋肉中ジストロフィン mRNA 測定のバリデーション試験（5.3.1.4-14 参照）では、選択性、シークエンスの照合、凍結保存安定性及び凍結融解安定性を評価した（表 2.7.1.1.2.4-1）。正常ヒト骨格筋組織の凍結切片から抽出した RNA を用いて、選択性及びシークエンスの照合を評価した結果、いずれも適合基準を満たした。凍結切片中の RNA（ジストロフィン遺伝子領域）は、[redacted]℃以下で[redacted]日間安定であった。また、抽出した RNA 中のジストロフィン遺伝子 mRNA は、[redacted]℃以下で[redacted]日間安定であり、[redacted]℃以下/氷上での凍結融解は[redacted]回まで安定であった。

表 2.7.1.1.2.4-1 RT-PCR による筋肉中ジストロフィン mRNA 測定及びシークエンス解析のバリデーションの概要

選択性	6 種類のプライマーセットで、目的増幅産物のサイズが予測の±[redacted]%以内であり、適合基準を満たした。なお、2 種類のプライマーセットはサイズ超過のため評価しなかった。
シークエンスの照合	8 種類のプライマーセットで、目的増幅産物のシークエンスを同定し、プライマーから 150 bp（シークエンス不可能領域）以降のシークエンス 200 bp のうち、参照配列と 200 bp が一致し、適合基準を満たした。
凍結保存安定性	1 種類のプライマーセットで、保存後の凍結切片から抽出した RNA シークエンスの配列が、初回同定シークエンスと[redacted]%合致し、適合基準を満たした。 凍結切片中の RNA（ジストロフィン遺伝子領域）：[redacted]℃以下で[redacted]日間安定 抽出した RNA 中のジストロフィン遺伝子 mRNA：[redacted]℃以下で[redacted]日間安定
凍結融解安定性	1 種類のプライマーセットで、1、3 及び 5 回凍結融解した RNA シークエンスの配列が、初回同定シークエンスと[redacted]%合致し、適合基準を満たした。 抽出した RNA 中のジストロフィン遺伝子 mRNA：[redacted]℃以下/氷上で[redacted]回まで安定

資料番号：5.3.1.4-14

（2） 海外

RT-PCR による筋肉中ジストロフィン mRNA 測定のバリデーション試験（5.3.1.4-15 参照）では、RNA の定量及び品質、特異性並びに再現性を評価した（表 2.7.1.1.2.4-2）。実験者 2 名が異なる日に、3 例の正常ヒト骨格筋組織切片から RNA を抽出し RT-PCR を行い、全てのバリデーション項目において適合基準を満たした。

表 2.7.1.1.2.4-2 RT-PCR による筋肉中ジストロフィン mRNA 測定のバリデーションの概要

RNA の定量及び品質	全ての試料において、RNA 濃度> 100 ng/μL、RQI 値 [a]>[redacted]であり、適合基準を満たした。
特異性	実験者 2 名の全ての反応において、目的増幅産物のサイズが予測の±[redacted]%以内、バンドのシグナル強度が RT-PCR 増幅産物全体の[redacted]%を超え、陰性対照（RNA なし）で増幅産物が検出されなかったため、適合基準を満たした。
再現性	実験者 2 名が異なる日に実施した全ての反応において、目的増幅産物のサイズが算出サイズと一致し、バンドのシグナル強度が RT-PCR 増幅産物全体の[redacted]%を超え、適合基準を満たした。

資料番号：5.3.1.4-15

a：1（最も分解）から 10（最も損なわれていない）までの数値で RNA 品質を評価した。

2.7.1.1.2.5 血清中抗ビルトラルセン抗体の測定

P1/2 試験、201 試験、202 試験及び DMT01 試験では、本剤の免疫原性を評価するため、ウシ血清アルブミン結合ビルトラルセンを固相化したプレート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 で検出する ELISA 法を開発した。陽性対照として抗ビルトラルセンウサギ IgG を用いた。

抗ビルトラルセン抗体の陽性/陰性の判定は、スクリーニング試験及び吸収試験の 2 段階の試験結果に基づいて行った。スクリーニング試験で陽性を示した検体に対し、吸収試験（ビルトラルセンを血清に添加して ELISA を行う試験）を実施した。吸収試験で陽性を示した検体を抗ビルトラルセン抗体陽性と最終判定し、抗体価を算出することとした。

ELISA による血清中抗ビルトラルセン抗体測定のバリデーション試験（5.3.1.4-16 参照）では、再現性、特異性、カットポイント、標準化係数、試験特異的カットポイント、抗体価、薬物許容限界濃度、室温安定性、凍結融解安定性及び凍結保存安定性を評価した（表 2.7.1.1.2.5-1）。再現性及び特異性において、いずれも適合基準を満たした。標準化係数は [redacted]、試験特異的カットポイントは [redacted]%であった。最小抗体価に対する最大抗体価の比率は [redacted] であり、抗体価測定の再現性が確認された。ビルトラルセンの薬物許容限界濃度は [redacted]μg/mL であった。血清中抗ビルトラルセン抗体は、室温で [redacted] 時間、凍結融解は [redacted] 回まで、[redacted]℃～[redacted]℃及び[redacted]℃以下で [redacted] 日間安定であった。

表 2.7.1.1.2.5-1 ELISA による血清中抗ビルトラルセン抗体測定のバリデーションの概要

再現性	ヒトプールブランク血清[a]に陽性対照を添加した試料[b]（3 濃度、6 日間、各 n=3）の測定値の CV は [redacted]%～[redacted]%であり、適合基準（CV：[redacted]%以下）を満たした。
特異性	ヒト個体別ブランク血清（n=25）に陽性対照を添加した試料[b]の全測定値が、ブランク血清の測定値を超え、また、ビルトラルセンによって吸収させた陽性対照添加試料[b]の測定値を超えたため、適合基準を満たした。
カットポイント及び標準化係数	カットポイント：1 回目 [redacted]、2 回目 [redacted]、3 回目 [redacted] 標準化係数：[redacted] 陽性対照添加試料[a]の CV は [redacted]%～[redacted]%であり、適合基準（CV：[redacted]%以下）を満たした。
試験特異的カットポイント	試験特異的カットポイント：[redacted]% 陽性対照添加試料[a]の CV は [redacted]%～[redacted]%であり、適合基準（CV：[redacted]%以下）を満たした。
抗体価	抗体価：1 日目 [redacted]、2 日目 [redacted]、3 日目 [redacted] 最小抗体価に対する最大抗体価の比率：[redacted] 3 日間の最小抗体価に対する最大抗体価の比率が [redacted] であり、抗体価測定の再現性が確認された。
薬物許容限界濃度	[redacted]μg/mL
室温安定性	室温で [redacted] 時間安定
凍結融解安定性	[redacted] 回まで安定
凍結保存安定性	[redacted]℃～[redacted]℃及び[redacted]℃以下で [redacted] 日間安定

資料番号：5.3.1.4-16
a：カットポイントより測定値が低いヒト個体別ブランク血清をプールして調製
b：抗ビルトラルセンウサギ IgG を添加した試料

2.7.1.1.2.6 血清中抗ジストロフィン抗体の測定

DMD 患者はジストロフィンが欠損しているため、ジストロフィンが産生することにより免疫反応が誘発される可能性がある。P1/2 試験、201 試験及び 202 試験では、本剤投与により発現したジストロフィンに対する免疫原性を評価するため、正常ヒト骨格筋組織ライセートを電気泳動した後、ポリフッ化ビニリデン膜に転写し、被験物質である血清中に含まれる抗ジストロフィン抗体と、骨格筋ライセート中に含まれるジストロフィンを結合させ、ペルオキシダーゼ標識プロテイン A/G で検出するウェスタンブロットを開発した。陽性対照としてウサギポリクローナル抗ジストロフィン抗体を用いた。

抗ジストロフィン抗体の陽性/陰性判定は、陽性対照でジストロフィンバンドが検出され、かつ陰性対照でジストロフィンバンドが検出されない場合において結果を採用とし、測定試料でジストロフィンバンドが検出された場合、抗ジストロフィン抗体陽性と判定し、ジストロフィンバンドが検出されない場合、陰性と判定した。

ウェスタンブロットによる血清中抗ジストロフィン抗体測定のバリデーション試験（5.3.1.4-17 参照）では、特異性、選択性、同時再現性及び日差再現性を評価し、全てのバリデーション項目において適合基準を満たした（表 2.7.1.1.2.6-1）。

表 2.7.1.1.2.6-1 ウェスタンブロットによる血清中抗ジストロフィン抗体測定のバリデーションの概要

特異性	ヒトプールブランク血清 [a] に陽性対照 [b] を添加した試料（n=1）で、ジストロフィンバンドが検出され、非添加試料（n=1）でジストロフィンバンドが検出されなかったため、適合基準を満たした。
選択性	10 例のヒト個体別ブランク血清に陽性対照 [b] を添加した試料で、ジストロフィンバンドが検出され、非添加試料でジストロフィンバンドが検出されなかったため、適合基準を満たした。
同時再現性	ヒトプールブランク血清 [a] に陽性対照 [b] を添加した試料で、同時に測定した試料（n=3）のいずれもジストロフィンバンドが検出され、非添加試料（n=1）でジストロフィンバンドが検出されなかったため、適合基準を満たした。
日差再現性	ヒトプールブランク血清 [a] に陽性対照 [b] を添加した試料（n=1）で、異なる 3 日間のいずれもジストロフィンバンドが検出され、非添加試料（n=1）でジストロフィンバンドが検出されなかったため、適合基準を満たした。

資料番号：5.3.1.4-17
a：ヒト個体別ブランク血清（男性 16 例）をプールして調製
b：ウサギポリクローナル抗ジストロフィン抗体

2.7.1.2 個々の試験結果の要約

該当なし

2.7.1.3 全試験を通しての結果の比較と解析

該当なし

2.7.1.4 付録

該当なし

目次

2.7.2 臨床薬理試験 3
2.7.2.1 背景及び概観 3
2.7.2.2 個々の試験結果の要約 5
2.7.2.3 全試験を通しての結果の比較と解析 16
2.7.2.4 特別な試験 27
2.7.2.5 付録 28

略語一覧表

語句略語	語句略語内容
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
AUCR	AUC ratio：AUC 比
BCRP	breast cancer resistance protein：乳癌耐性タンパク
BSEP	bile salt export pump：胆汁酸トランスポーター
CHO	chinese hamster ovary：チャイニーズハムスター卵巣
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
[redacted]	[redacted]：[redacted]
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：酵素結合免疫吸着測定法
E_{max}	maximal effect：最大効果
HEK	human embryonic kidney：ヒト胎児由来腎臓
hERG	human ether-a-go-go related gene：ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子
IC_{50}	50% inhibition concentration：50%阻害濃度
Ki	inhibition constant：阻害定数
MATE	multidrug and toxin extrusion：多剤排出輸送体
MedDRA	medical dictionary for regulatory activities terminology：国際医薬規制用語集
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
QTcF	QT interval corrected with Fridericia’s formula：Fridericia 補正 QT 間隔
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
SMQ	standardized MedDRA query：MedDRA 標準検索式
$t_{1/2}$	elimination half-life：消失半減期
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

2.7.2 臨床薬理試験

2.7.2.1 背景及び概観

2.7.2.1.1 ヒト生体試料を用いた *in vitro* 試験の構成と概観

ヒト生体試料を用いてビルトラルセンの分布、代謝及び薬物相互作用を検討した *in vitro* 試験の一覧を表 2.7.2.1.1-1 に示す。

表 2.7.2.1.1-1 ヒト生体試料を用いた *in vitro* 試験

試験の種類	試験番号（実施国）	試験の目的	資料番号 評価/参考
分布	BP-065-006（日本）	ビルトラルセンのラット、カニクイザル及びヒトにおける *in vitro* 血清タンパク結合を検討する	5.3.2.1-1 評価
	BP-065-020（日本）	ビルトラルセンのラット、カニクイザル及びヒトにおける *in vitro* 血球移行性を検討する	5.3.2.3-1 評価
代謝	BP-065-010（日本）	ラット、サル及びヒト肝画分（ミクロソーム及び S9）を用いて ^{14}C-ビルトラルセンの *in vitro* 代謝プロファイルを検討する	5.3.2.2-1 評価
	BP-065-012（日本）	ラット、サル及びヒト血清を用いて ^{14}C-ビルトラルセンの *in vitro* 代謝プロファイルを検討する	5.3.2.2-2 評価
薬物相互作用	BP-065-021（英国）	ヒト肝ミクロソームを用いてビルトラルセンのシトクロム P450（CYP）に対する阻害作用を検討する	5.3.2.2-3 評価
	BP-065-041（日本）	ヒト肝ミクロソームを用いてビルトラルセンの CYP に対する阻害作用を検討する	5.3.2.2-4 評価
	BP-065-043（日本）	ヒト肝ミクロソームを用いてビルトラルセンのウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素（UGT）に対する阻害作用を検討する	5.3.2.2-5 評価
	BP-065-004（英国）	凍結ヒト肝細胞を用いてビルトラルセンの CYP に対する誘導作用を検討する	5.3.2.2-6 評価
	BP-065-032（日本）	凍結ヒト肝細胞を用いてビルトラルセンの CYP に対する誘導作用を検討する	5.3.2.2-7 評価
	BP-065-042（日本）	凍結ヒト肝細胞を用いてビルトラルセンの CYP に対する誘導作用を検討する	5.3.2.2-8 評価
	BP-065-038（日本）	ビルトラルセンのヒト薬物トランスポーターに対する基質認識性を検討する	5.3.2.2-9 評価
	BP-065-033（日本）	ビルトラルセンのヒト薬物トランスポーターに対する阻害作用を検討する	5.3.2.2-10 評価
	BP-065-044（日本）	ビルトラルセンのヒト薬物トランスポーターに対する阻害作用を検討する	5.3.2.2-11 評価

2.7.2.1.2 臨床薬理試験の構成と概観

本剤の薬物動態及び薬力学を検討した臨床試験の概要を表 2.7.2.1.2-1 に示す。

国内第 I/II 相臨床試験（試験番号 NS065/NCNP01-P1/2：以下、P1/2 試験）では、日本人デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）患者 16 例に本剤 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した際の薬物動態及び薬力学を検討した。

海外第 II 相臨床試験（試験番号 NS-065/NCNP-01-201：以下、201 試験）では、外国人 DMD 患者 16 例に、本剤 40 及び 80 mg/kg 並びにプラセボを 1 時間かけて、週 1 回、4 週間反復静脈内投与し、さらに、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した際の薬物動態及び薬力学を検討した。

早期探索的試験の国内第 I 相臨床試験（試験番号 NCNP/DMT01：以下、DMT01 試験）では、日本人 DMD 患者 10 例に本剤 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した際の薬物動態を検討した。

また、P1/2 試験、201 試験、202 試験（試験番号 NS-065/NCNP-01-202：201 試験の継続試験）及び DMT01 試験において、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酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）により測定し、本剤投与により発現したジストロフィン及び本剤の免疫原性を検討した。

表 2.7.2.1.2-1 薬物動態及び薬力学を検討した臨床試験の概要

試験番号 相 （実施国）	試験の目的	試験デザイン	対象被験者 薬物動態解析対象例数 （男/女） 年齢の範囲	剤形、用法、用量	試験報告書 添付場所 （m2.7.6） 評価/参考
NS065/NCNP01-P1/2 第 I/II 相 （日本）	日本人 DMD 患者における薬物動態、薬力学、有効性及び安全性	オープンラベル 並行群間比較	日本人 DMD 患者 16 例 （16/0） 40 mg/kg 群：8 例 80 mg/kg 群：8 例 5～12 歳	注射剤 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	5.3.5.1-2 （2.7.6.2） 評価
NS-065/NCNP-01-201 第 II 相 （米国、カナダ）	外国人 DMD 患者における薬物動態、薬力学、有効性及び安全性	自然歴対照 Period 1 ランダム化 プラセボ対照 二重盲検 Period 2 オープンラベル	外国人 DMD 患者 16 例 （16/0） Period 1（1～4 週目） 40 mg/kg 群：6 例 80 mg/kg 群：5 例 プラセボ群：5 例 Period 2（5～24 週目） 40 mg/kg 群：8 例 80 mg/kg 群：8 例 4.3～9.8 歳	注射剤 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	5.3.5.1-1 （2.7.6.1） 評価
NS-065/NCNP-01-202 第 II 相 （米国、カナダ）	外国人 DMD 患者における有効性及び安全性	オープンラベル （NS-065/NCNP-01-201 試験の継続試験）	外国人 DMD 患者 16 例 （16/0） 40 mg/kg 群：8 例 80 mg/kg 群：8 例	本剤 40 及び 80 mg/kg を 1 時間かけて、週 1 回、144 週間（又は承認まで）反復静脈内投与	－
NCNP/DMT01 第 I 相 （日本）	日本人 DMD 患者における薬物動態、有効性及び安全性	オープンラベル 医師主導治験	日本人 DMD 患者 10 例 （10/0） 1.25 mg/kg 群：3 例 5 mg/kg 群：3 例 20 mg/kg 群：4 例 6～16 歳	注射剤 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	5.3.5.2-1 （2.7.6.3） 評価

2.7.2.2 個々の試験結果の要約

2.7.2.2.1 ヒト生体試料を用いた *in vitro* 試験の要約

2.7.2.2.1.1 分布

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

超遠心法を用いて算出した ^{14}C-ビルトラルセン（1000 及び 10000 ng/mL）のヒト血清タンパク結合率の平均値は 39.4%～40.3%であった。

^{14}C-ビルトラルセン（1000 及び 10000 ng/mL）のヒト血球移行率の平均値は 2.1%～3.5%であった。

2.7.2.2.1.2 代謝

（1） *In vitro* 代謝（試験番号 BP-065-010, BP-065-012、資料番号 5.3.2.2-1, 5.3.2.2-2、評価資料）

ヒトの血清及び肝臓由来試料（ミクロソーム及び S9）を用いた ^{14}C-ビルトラルセンの代謝安定性は、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）により評価した。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。

^{14}C-ビルトラルセン（0.1 mg/mL）をヒト血清、肝ミクロソーム、S9、DNase I 又は PDE 1 中でインキュベーションし、試料中の ^{14}C-ビルトラルセン、その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。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。

以上より、^{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。

2.7.2.2.1.3 薬物相互作用

（1） CYP 阻害作用（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。時間依存的阻害の評価については、ヒト肝ミクロソーム及びビルトラルセンを 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。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） UGT 阻害作用（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。

（3） CYP 誘導作用（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 に対する誘導作用について評価した。

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結果、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。

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結果、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。

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結果、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できなかった。

（4） 各種薬物トランスポーターに対する基質認識性（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 又は 100 μmol/L）の基質認識性について検討した。P 糖タンパク（P-gp）及び乳癌耐性タンパク（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。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 及び多剤排出輸送体（MATE）1 の評価には、各トランスポーターを安定的に発現させたヒト胎児由来腎臓（HEK）293 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 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、各トランスポーターの典型阻害薬存在下においても 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及び典型阻害薬を用いた。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及び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。

（5） 各種薬物トランスポーターに対する阻害作用（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。OATP（有機アニオン輸送ポリペプチド）1B1、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。胆汁酸トランスポーター（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。

（6） 各種薬物トランスポーターに対する阻害作用（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薬の 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 であった。

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。また、IC_{50} 値はそれぞれ 485、448 及び 176 μmol/L であった。

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。

2.7.2.2.2 個々の臨床薬理試験の要約

2.7.2.2.2.1 国内第 I/II 相：デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者を対象とした用量設定試験（試験番号 NS065/NCNP01-P1/2）

（資料番号 5.3.5.1-2、評価資料）

日本人 DMD 患者 16 例（各用量群 8 例）に本剤 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した際の薬物動態をオープンラベル、並行群間比較試験で検討した。

初回投与時及び 24 週投与時の血漿中濃度推移を図 2.7.2.2.2.1-1 に、薬物動態パラメータを表 2.7.2.2.2.1-1 に示す。

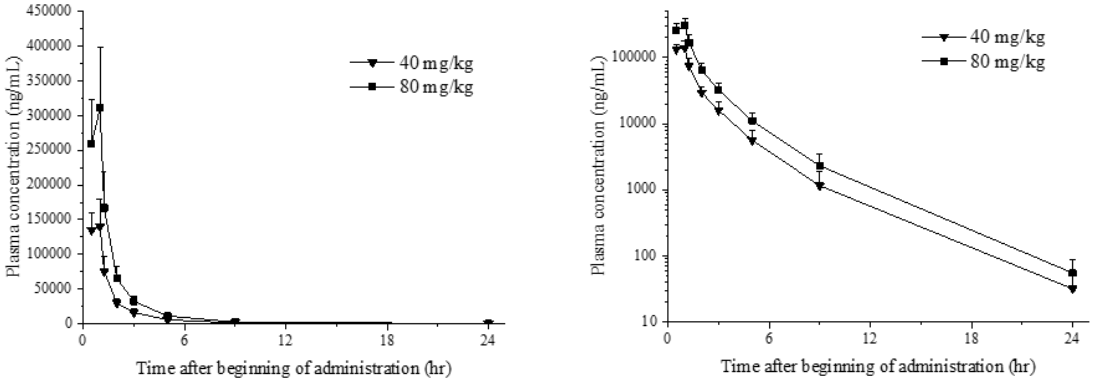
初回投与時の 40 及び 80 mg/kg 群の C_{max}（平均値±標準偏差）は 147000 ± 34500 及び 321000 ± 74800 ng/mL、AUC_{0-last}（平均値±標準偏差）は 235000 ± 60000 及び 490000 ± 125000 ng·hr/mL、$AUC_{0-\infty}$（平均値±標準偏差）は 235000 ± 60100 及び 491000 ± 125000 ng·hr/mL であり、用量の増加に伴い C_{max} 及び AUC は増加した。t_{max}［中央値（最小値, 最大値）］は 0.75（0.50, 1.00）及び 1.00（0.50, 1.00）時間、$t_{1/2}$（平均値±標準偏差）は 2.43 ± 0.527 及び 2.49 ± 0.163 時間であり、用量間で大きな差は認められなかった。CL_{tot}（平均値±標準偏差）は 179 ± 37.7 及び 164 ± 51.5 mL/hr/kg、Vd_{ss}（平均値±標準偏差）は 238 ± 39.2 及び 223 ± 69.4 mL/kg であった。

24 週投与時の 40 及び 80 mg/kg 群の C_{max}（平均値±標準偏差）は 165000 ± 79000 及び 329000 ± 91000 ng/mL、AUC_{0-last}（平均値±標準偏差）は 240000 ± 93500 及び 508000 ± 111000 ng·hr/mL、$AUC_{0-\infty}$（平均値±標準偏差）は 241000 ± 93200 及び 508000 ± 111000 ng·hr/mL であり、用量の増加に伴い C_{max} 及び AUC は増加した。t_{max}［中央値（最小値, 最大値）］はいずれも 1.00（0.50, 1.00）時間、$t_{1/2}$（平均値±標準偏差）は 2.00 ± 0.700 及び 2.45 ± 0.0799 時間であり、用量間で大きな差は認められなかった。CL_{tot}（平均値±標準偏差）は 185 ± 58.0 及び 165 ± 38.1 mL/hr/kg、Vd_{ss}（平均値±標準偏差）は 224 ± 55.4 及び 234 ± 50.4 mL/kg であった。

初回投与時及び 24 週投与時の投与後 24 時間までの尿中排泄率を表 2.7.2.2.2.1-2 に示す。

初回投与時の投与後 24 時間までの尿中排泄率（平均値±標準偏差）は、40 mg/kg 群で 92.8 ± 9.8%、80 mg/kg 群で 92.0 ± 12.5%であり、24 週投与時の投与後 24 時間までの尿中排泄率（平均値±標準偏差）は、40 mg/kg 群で 95.6 ± 8.7%、80 mg/kg 群で 93.1 ± 8.0%であった。投与された本剤の大部分が投与後 24 時間以内に尿中へ未変化体として排泄された。

【初回投与時】



【24 週投与時】

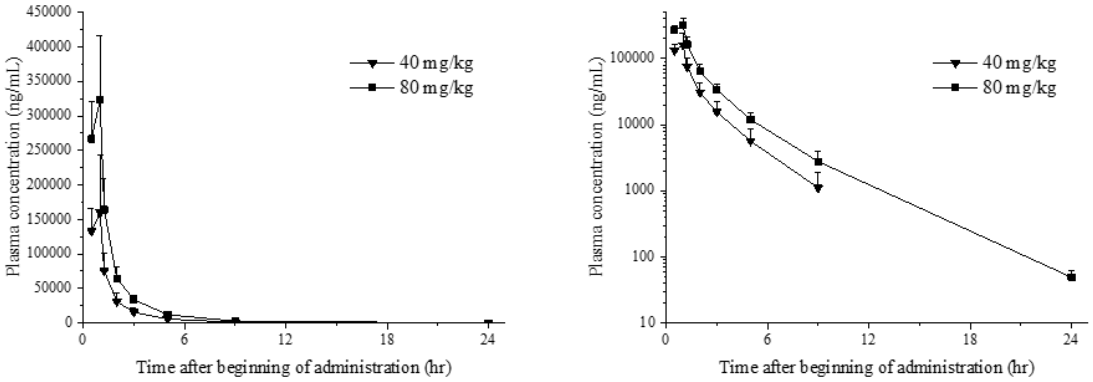


図 2.7.2.2.2.1-1 日本人 DMD 患者に本剤 40 及び 80 mg/kg を 1 時間かけて静脈内投与した際の血漿中濃度推移（P1/2 試験：初回投与時及び 24 週投与時）

左図：線形目盛、右図：片対数目盛

Mean+SD（n=8）

［5.3.5.1-2 図 11.2-1 を引用］

表 2.7.2.2.2.1-1 日本人 DMD 患者に本剤 40 及び 80 mg/kg を 1 時間かけて静脈内投与した際の薬物動態パラメータ（P1/2 試験：初回投与時及び 24 週投与時）

	初回投与時		24 週投与時	
	40 mg/kg 群（n=8）	80 mg/kg 群（n=8）	40 mg/kg 群（n=8）	80 mg/kg 群（n=8）
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
C_{max} (ng/mL)	147000 ± 34500	321000 ± 74800	165000 ± 79000	329000 ± 91000
t_{max} (hr) [a]	0.75 (0.50, 1.00)	1.00 (0.50, 1.00)	1.00 (0.50, 1.00)	1.00 (0.50, 1.00)
AUC_{0-last} (ng·hr/mL)	235000 ± 60000	490000 ± 125000	240000 ± 93500	508000 ± 111000
$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	235000 ± 60100	491000 ± 125000	241000 ± 93200	508000 ± 111000
$t_{1/2}$ (hr)	2.43 ± 0.527	2.49 ± 0.163	2.00 ± 0.700	2.45 ± 0.0799
CL_{tot} (mL/hr/kg)	179 ± 37.7	164 ± 51.5	185 ± 58.0	165 ± 38.1
Vd_{ss} (mL/kg)	238 ± 39.2	223 ± 69.4	224± 55.4	234 ± 50.4

a：Median（Min, Max）

［5.3.5.1-2 表 11.2-1 を引用］

表 2.7.2.2.2.1-2 日本人 DMD 患者に本剤 40 及び 80 mg/kg を 1 時間かけて静脈内投与した際の投与後 24 時間までの尿中排泄率（P1/2 試験：初回投与時及び 24 週投与時）

	初回投与時		24 週投与時	
	40 mg/kg 群（n=8）	80 mg/kg 群（n=8）	40 mg/kg 群（n=7）	80 mg/kg 群（n=8）
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
投与後 24 時間までの尿中排泄率（%）	92.8 ± 9.8	92.0 ± 12.5	95.6 ± 8.7	93.1 ± 8.0

［5.3.5.1-2 表 11.2-2 を引用］

2.7.2.2.2.2 海外第 II 相：デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者を対象とした用量設定試験（試験番号 NS-065/NCNP-01-201）

（資料番号 5.3.5.1-1、評価資料）

外国人 DMD 患者 16 例に、本剤 40 及び 80 mg/kg 並びにプラセボを 1 時間かけて、週 1 回、4 週間反復静脈内投与し（ランダム化、プラセボ対照、二重盲検）、さらに、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（オープンラベル）した際の薬物動態を検討した。

初回投与時及び 24 週投与時の血漿中濃度推移を図 2.7.2.2.2.2-1 に、薬物動態パラメータを表 2.7.2.2.2.2-1 に示す。

初回投与時の 40 mg/kg 群（6 例）及び 80 mg/kg 群（5 例）の C_{max}（平均値±標準偏差）は 105000 ± 9610 及び 239000 ± 37000 ng/mL、AUC_{0-24hr}（平均値±標準偏差）は 176000 ± 29900 及び 437000 ± 134000 ng·hr/mL、AUC_{0-last}（平均値±標準偏差）は 175000 ± 31400 及び 436000 ± 136000 ng·hr/mL、$AUC_{0-\infty}$（平均値±標準偏差）は 175000 ± 31200 及び 436000 ± 135000 ng·hr/mL であり、用量の増加に伴い C_{max} 及び AUC は増加した。t_{max}［中央値（最小値, 最大値）］は 0.75（0.50, 1.00）及び 1.00（0.42, 1.08）時間、$t_{1/2}$（平均値±標準偏差）は 1.89 ± 0.728 及び 2.21 ± 0.496 時間であり、用量間で大きな差は認められなかった。CL_{tot}（平均値±標準偏差）は 234 ± 41.4 及び 195 ± 50.1 mL/hr/kg、Vd_{ss}（平均値±標準偏差）は 297 ± 17.9 及び 283 ± 41.9 mL/kg であった。

24 週投与時の 40 及び 80 mg/kg 群（各用量群 8 例）の C_{max}（平均値±標準偏差）は 122000 ± 7010 及び 228000 ± 35800 ng/mL、AUC_{0-24hr}（平均値±標準偏差）は 198000 ± 20600 及び 387000 ± 106000 ng·hr/mL、AUC_{0-last}（平均値±標準偏差）は 197000 ± 20400 及び 387000 ± 106000 ng·hr/mL、$AUC_{0-\infty}$（平均値±標準偏差）は 198000 ± 20500 及び 387000 ± 106000 ng·hr/mL であり、用量の増加に伴い C_{max} 及び AUC は増加した。t_{max}［中央値（最小値, 最大値）］は 1.00（0.50, 1.25）及び 0.73（0.50, 1.00）時間、$t_{1/2}$（平均値±標準偏差）は 2.15 ± 0.729 及び 2.53 ± 0.202 時間であり、用量間で大きな差は認められなかった。CL_{tot}（平均値±標準偏差）は 205 ± 22.6 及び 217 ± 48.0 mL/hr/kg、Vd_{ss}（平均値±標準偏差）は 258 ± 33.4 及び 301 ± 43.5 mL/kg であった。

投与後 24 時間までの尿中排泄率及び腎クリアランスを表 2.7.2.2.2.2-2 に示す。

初回投与時の投与後 24 時間までの尿中排泄率（平均値±標準偏差）は、40 mg/kg 群で 72.5 ± 28.2%、80 mg/kg 群で 75.4 ± 36.6%であった。24 週投与時の投与後 24 時間までの尿中排泄率（平均値±標準偏差）は、40 mg/kg 群で 65.7 ± 28.3%、80 mg/kg 群で 71.1 ± 24.3%であった。

初回投与時の腎クリアランス（平均値±標準偏差）は、40 mg/kg 群で 3950 ± 1730 mL/hr、80 mg/kg 群で 3040 ± 1570 mL/hr であった。24 週投与時の腎クリアランス（平均値±標準偏差）は、40 mg/kg 群で 3280 ± 1610 mL/hr、80 mg/kg 群で 3380 ± 1490 mL/hr であった。

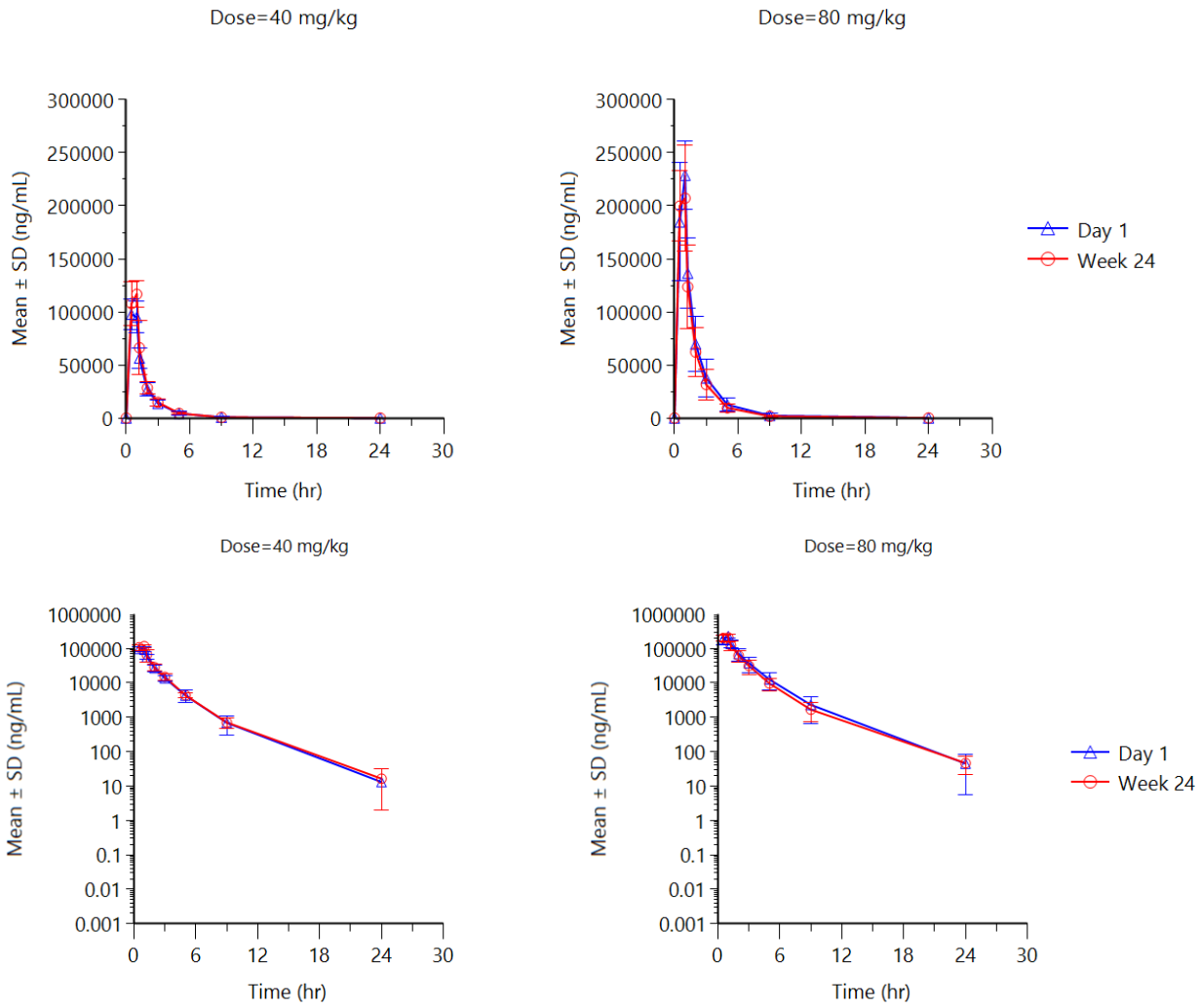


図 2.7.2.2.2.2-1　外国人 DMD 患者に本剤 40 及び 80 mg/kg を 1 時間かけて静脈内投与した際の血漿中濃度推移（201 試験：初回投与時及び 24 週投与時）

上図：線形目盛、下図：片対数目盛
Mean ± SD
初回投与時（Day 1）40 mg/kg 群：n=6、80 mg/kg 群：n=5
24 週投与時（Week 24）40 mg/kg 群：n=8、80 mg/kg 群：n=8

［5.3.5.1-1 Figure 7 を引用］

表 2.7.2.2.2.2-1　外国人 DMD 患者に本剤 40 及び 80 mg/kg を 1 時間かけて静脈内投与した際の薬物動態パラメータ（201 試験：初回投与時及び 24 週投与時）

	初回投与時		24 週投与時	
	40 mg/kg 群（n=6）	80 mg/kg 群（n=5）	40 mg/kg 群（n=8）	80 mg/kg 群（n=8）
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
C_{max} (ng/mL)	105183 ± 9608.4	238800 ± 36995.9	121750 ± 7005.1	227500 ± 35785.1
t_{max} (hr) [a]	0.75 (0.50, 1.00)	1.00 (0.42, 1.08)	1.00 (0.50, 1.25)	0.73 (0.50, 1.00)
$AUC_{0\text{-}24hr}$ (ng·hr/mL)	176000 ± 29913.2	437200 ± 134287.8	198250 ± 20617.3	387375± 105807.0
$AUC_{0\text{-}last}$ (ng·hr/mL)	174500 ± 31418.1	435800 ± 135700.8	197125 ± 20427.1	387375 ± 105807.0
$AUC_{0\text{-}\infty}$ (ng·hr/mL)	175333 ± 31181.2	436400 ± 135252.7	197625 ± 20521.3	387375 ± 105807.0
$t_{1/2}$ (hr)	1.888 ± 0.728	2.210 ± 0.496	2.153 ± 0.729	2.528 ± 0.202
CL_{tot} (mL/hr/kg)	234.333 ± 41.438	195.400 ± 50.133	204.500 ± 22.564	217.250 ± 48.008
Vd_{ss} (mL/kg)	296.500 ± 17.908	283.400 ± 41.872	257.500 ± 33.389	301.375 ± 43.454

a：Median (Min, Max)

［5.3.5.1-1 Table 40 を引用］

表 2.7.2.2.2.2-2　外国人 DMD 患者に本剤 40 及び 80 mg/kg を 1 時間かけて静脈内投与した際の投与後 24 時間までの尿中排泄率及び腎クリアランス（201 試験：初回投与時及び 24 週投与時）

	初回投与時		24 週投与時	
	40 mg/kg 群（n=6）	80 mg/kg 群（n=5）	40 mg/kg 群（n=8）	80 mg/kg 群（n=8）
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
投与後 24 時間までの尿中排泄率 (%)	72.533 ± 28.165	75.420 ± 36.635	65.713 ± 28.307	71.063 ± 24.340
腎クリアランス (mL/hr)	3952.667 ±1730.124	3044.400 ± 1574.632	3282.500 ± 1605.382	3384.750 ± 1494.505

［5.3.5.1-1 Table 14.5.3a を引用］

2.7.2.2.2.3　国内第 I 相：デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者を対象とした早期探索的試験（試験番号 NCNP/DMT01）

（資料番号 5.3.5.2-1、評価資料）

日本人 DMD 患者 10 例（1.25 mg/kg 群 : 3 例、5 mg/kg 群 : 3 例、20 mg/kg 群 : 4 例）に本剤 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した際の薬物動態をオープンラベル試験で検討した。

初回投与時及び 12 週投与時の血漿中濃度推移を図 2.7.2.2.2.3-1 に、薬物動態パラメータを表 2.7.2.2.2.3-1 に示す。

初回投与時の 1.25、5 及び 20 mg/kg 群の C_{max}（平均値±標準偏差）は 6040 ± 300、21800 ± 4400 及び 70200 ± 44900 ng/mL、$AUC_{0\text{-}last}$（平均値±標準偏差）は 8410 ± 1310、28700 ± 3900 及び 98900 ± 54100 ng·hr/mL であり、用量の増加に伴い C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}last}$ は増加した。t_{max}（平均値±標準偏差）は 1.00 ± 0.00、0.833 ± 0.289 及び 0.750 ± 0.289 時間、$t_{1/2}$（平均値±標準偏差）は 1.66 ± 0.17、1.65 ± 0.20 及び 1.84 ± 0.76 時間であり、用量間で大きな差は認められなかった。CL_{tot}（平均値±標準偏差）は 149 ± 21、175 ± 26 及び 239 ± 97 mL/hr/kg、Vd_{ss}（平均値±標準偏差）は 183 ± 14、200 ± 27 及び 264 ± 68 mL/kg であった。

12 週投与時の 1.25、5 及び 20 mg/kg 群の C_{max}（平均値±標準偏差）は 5640 ± 2440、19500 ± 1400 及び 72800 ± 26400 ng/mL、$AUC_{0\text{-}last}$（平均値±標準偏差）は 8410 ± 3520、27700 ± 8800 及び 115000 ± 56000 ng·hr/mL であり、用量の増加に伴い C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}last}$ は増加した。t_{max}（平均値±標準偏差）は 0.833 ± 0.289、0.667 ± 0.289 及び 0.875 ± 0.250 時間、$t_{1/2}$（平均値±標準偏差）は 1.78 ± 0.05、1.52 ± 0.06 及び 1.73 ± 0.76 時間であり、用量間で大きな差は認められなかった。CL_{tot}（平均値±標

準偏差）は 162 ± 58、190 ± 52 及び 203 ± 87 mL/hr/kg、Vd_{ss}（平均値±標準偏差）は 232 ± 79、219 ± 24 及び 224 ± 41 mL/kg であった。

初回投与時及び 12 週投与時の投与後 24 時間までの尿中排泄率を表 2.7.2.2.2.3-2 に示す。

初回投与時の投与後 24 時間までの尿中排泄率（平均値±標準偏差）は、1.25 mg/kg 群が 0.0 ± 0.0%、5 mg/kg 群が 43.8 ± 39.4%、20 mg/kg 群が 73.4 ± 17.2%であった。12 週投与時の投与後 24 時間までの尿中排泄率（平均値±標準偏差）は、1.25 mg/kg 群が 5.7 ± 9.8%、5 mg/kg 群が 68.4 ± 7.4%、20 mg/kg 群が 73.2 ± 12.6%であった。

尿中排泄率の低値が 1.25 mg/kg 群の 3 例（被験者番号：NS-[redacted]、NS-[redacted]、NS-[redacted]）及び 5 mg/kg 群の 1 例（被験者番号：NS-[redacted]）で認められた。尿中ビルトラルセンの挙動について確認した結果[1)]、尿中排泄率が低値を示した全被験者の尿サンプルにおいて、ビルトラルセンの[redacted]への[redacted]が[redacted]、[redacted]を[redacted]、ビルトラルセンが[redacted]ことにより尿中排泄率が低値を示した可能性が示唆された。また、[redacted]に[redacted]尿に、[redacted]の[redacted]を[redacted]測定することで尿中排泄率の値が改善した。この結果を踏まえ、P1/2 試験及び 201 試験の尿中薬物濃度測定では、この[redacted]を[redacted]定量法を用いた。

【初回投与時】 【24 週投与時】

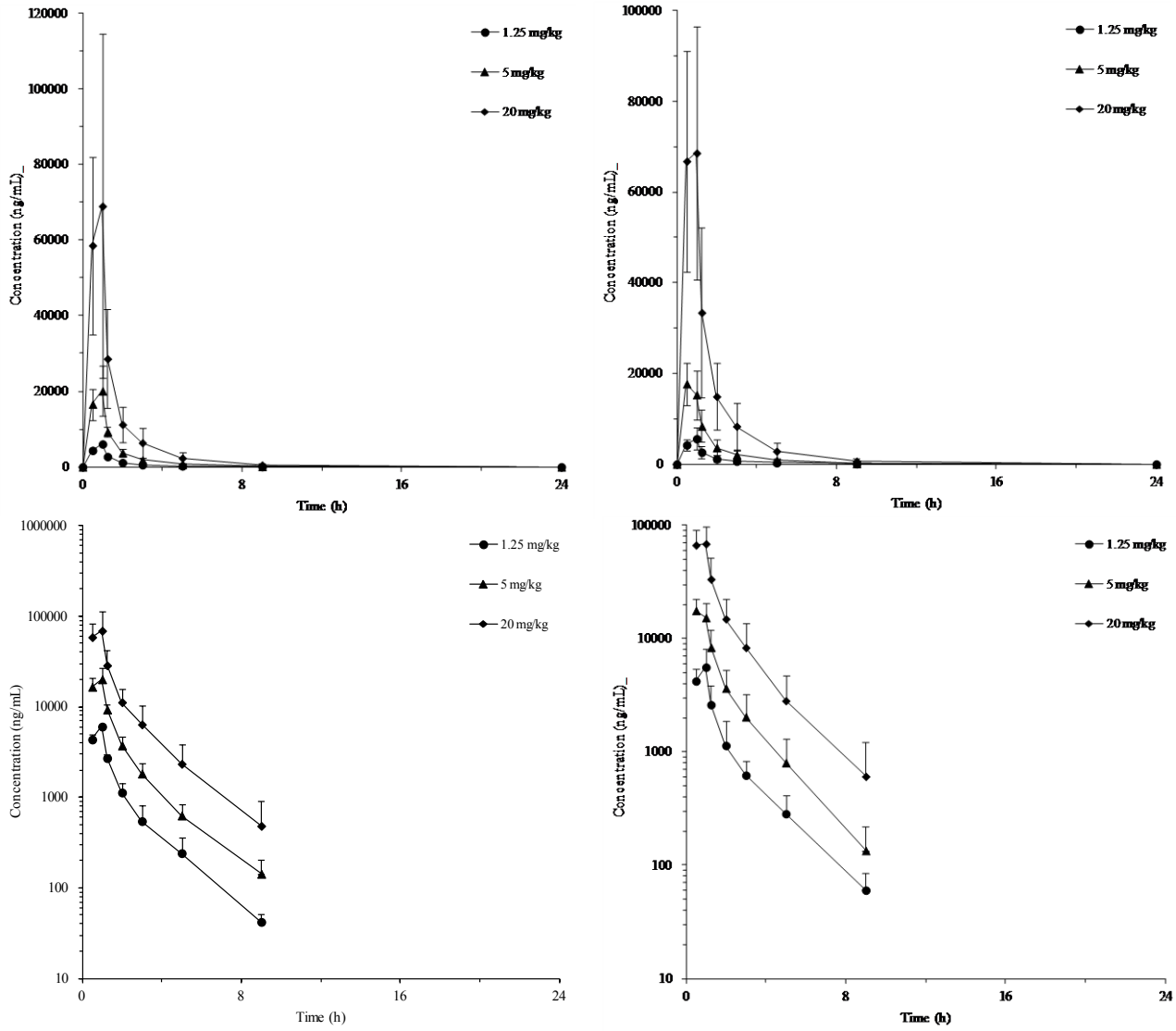


図 2.7.2.2.2.3-1 日本人 DMD 患者に本剤 1.25、5 及び 20 mg/kg を 1 時間かけて静脈内投与した際の血漿中濃度推移（DMT01 試験：初回投与時及び 12 週投与時）

上図：線形目盛（Mean ± SD）、下図：片対数目盛（Mean + SD）

1.25 mg/kg 群：n=3、5 mg/kg 群：n=3、20 mg/kg 群：n=4

［5.3.5.2-1 図 11.4-1、図 11.4-2、図 11.4-3、図 11.4-4 を改変］

表 2.7.2.2.2.3-1 日本人 DMD 患者に本剤 1.25、5 及び 20 mg/kg を 1 時間かけて静脈内投与した際の薬物動態パラメータ（DMT01 試験：初回投与時及び 12 週投与時）

	初回投与時			12 週投与時		
	1.25 mg/kg 群（n=3）	5 mg/kg 群（n=3）	20 mg/kg 群（n=4）	1.25 mg/kg 群（n=3）	5 mg/kg 群（n=3）	20 mg/kg 群（n=4）
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
C_{max} (ng/mL)	6040 ±300	21800 ± 4400	70200 ± 44900	5640 ± 2440	19500 ±1400	72800 ± 26400
t_{max} (hr)	1.00 ± 0.00	0.833 ± 0.289	0.750 ± 0.289	0.833 ± 0.289	0.667 ± 0.289	0.875 ± 0.250
$AUC_{0\text{-last}}$ (ng·hr/mL)	8410 ±1310	28700 ± 3900	98900 ± 54100	8410 ± 3520	27700 ± 8800	115000 ± 56000
$t_{1/2}$ (hr)	1.66 ± 0.17	1.65 ± 0.20	1.84 ± 0.76	1.78 ± 0.05	1.52 ± 0.06	1.73 ± 0.76
CL_{tot} (mL/hr/kg)	149 ± 21	175 ± 26	239 ± 97	162 ± 58	190 ± 52	203 ± 87
Vd_{ss} (mL/kg)	183 ± 14	200 ± 27	264 ± 68	232± 79	219 ± 24	224 ± 41

［5.3.5.2-1 表 11.4-3、表 11.4-4、表 11.4-5 を改変］

表 2.7.2.2.2.3-2 日本人 DMD 患者に本剤 1.25、5 及び 20 mg/kg を 1 時間かけて静脈内投与した際の投与後 24 時間までの尿中排泄率（DMT01 試験：初回投与時及び 12 週投与時）

	初回投与時			12 週投与時		
	1.25 mg/kg 群（n=3）	5 mg/kg 群（n=3）	20 mg/kg 群（n=4）	1.25 mg/kg 群（n=3）	5 mg/kg 群（n=3）	20 mg/kg 群（n=4）
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
投与後 24 時間までの尿中排泄率 (%)	0.0 ± 0.0	43.8 ± 39.4	73.4 ± 17.2	5.7 ± 9.8	68.4 ± 7.4	73.2 ± 12.6

［5.3.5.2-1 表 11.4-6、表 11.4-7、表 11.4-8 を改変］

2.7.2.3 全試験を通しての結果の比較と解析

2.7.2.3.1 薬物動態特性

2.7.2.3.1.1 分布、代謝及び排泄

（1） 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（2.7.2.2.1.1（1）項参照）。

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（2.7.2.2.2.1 項参照）。

（2） 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評価した。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（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。

（3） 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。

2.7.2.3.1.2 単回投与時の薬物動態

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。

2.7.2.3.1.3 反復投与時の薬物動態

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} 及び尿中排泄率を対応のある t 検定で比較した結果を表 2.7.2.3.1.3-1 に示す。

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。

表 2.7.2.3.1.3-1 C_{max}、AUC_{0-last}、$t_{1/2}$、CL_{tot}、Vd_{ss}、t_{max} 及び尿中排泄率における初回投与時と投与 24 週時の比較（P1/2 試験）

	40 mg/kg 群（n=8）			80 mg/kg 群（n=8）		
	初回投与時	投与 24 週時	P 値 [a]	初回投与時	投与 24 週時	P 値 [a]
	Mean ± SD	Mean ± SD		Mean ± SD	Mean ± SD	
C_{max} (ng/mL)	147000 ± 34500	165000 ± 79000	0.5288	321000 ± 74800	329000 ± 91000	0.9209
t_{max} (hr) [b]	0.75 (0.50, 1.00)	1.00 (0.50, 1.00)	0.4512	1.00 (0.50, 1.00)	1.00 (0.50, 1.00)	0.3506
AUC_{0-last} (ng·hr/mL)	235000 ± 60000	240000 ± 93500	0.8654	490000 ± 125000	508000 ± 111000	0.5539
$t_{1/2}$ (hr)	2.43 ± 0.527	2.00 ± 0.700	0.0823	2.49 ± 0.163	2.45 ± 0.0799	0.6328
CL_{tot} (mL/hr/kg)	179 ± 37.7	185 ± 58.0	0.9061	164 ± 51.5	165 ± 38.1	0.7147
Vd_{ss} (mL/kg)	238 ± 39.2	224± 55.4	0.2382	223 ± 69.4	234 ± 50.4	0.5629
尿中排泄率 (%) [c]	92.8 ± 9.8	95.6 ± 8.7 [d]	0.5279	92.0 ± 12.5	93.1 ± 8.0	0.8021

a：C_{max}、AUC_{0-last}、$t_{1/2}$、CL_{tot} 及び Vd_{ss} は対数変換した値を、t_{max} 及び尿中排泄率は対数変換しない値を用いた対応のある t 検定（有意水準：5%）

b：Median (Min, Max)

c：投与後 24 時間までの尿中排泄率

d：n=7

［5.3.5.1-2 表 11.2-1、表 11.2-2、表 11.2-5 を改変］

2.7.2.3.1.4 薬物動態の用量比例性

DMT01 試験及び P1/2 試験で得られた結果を合わせて、初回投与時における C_{max} 及び AUC_{0-last} を用量に対して両対数変換してプロットしたグラフを図 2.7.2.3.1.4-1 に、パワーモデルによる C_{max} 及び AUC_{0-last} の用量比例性の解析結果を表 2.7.2.3.1.4-1 に示す。また、Tukey 多重比較検定による $t_{1/2}$、CL_{tot} 及び Vd_{ss} に対する用量間の比較を表 2.7.2.3.1.4-2 に示す。なお、DMT01 試験の薬物動態解析（2.7.2.2.2.3 項参照）では、検量線作成時に使用した標品の水分補正済みの濃度値を用いて評価したが、P1/2 試験と条件を統一するために、本解析ではさらに純度補正を行った後の濃度値を用いて評価した。

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、回帰直線の傾きはそれぞれ 0.9791 及び 1.0153 であり、傾きの 95%信頼区間に 1 を含むことから、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、$t_{1/2}$、CL_{tot} 及び Vd_{ss} について、用量間で差は認められなかった。

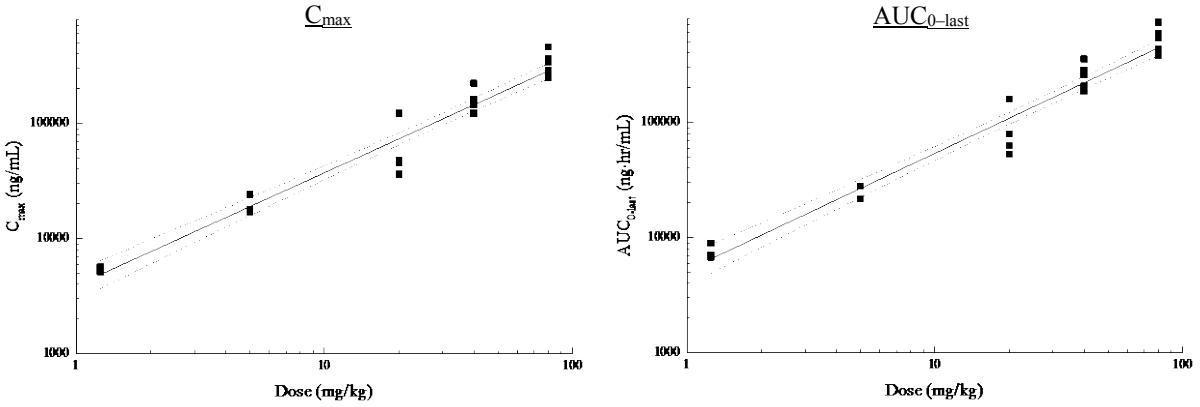


図 2.7.2.3.1.4-1 日本人 DMD 患者に本剤を 1 時間かけて静脈内投与した際の C_{max} 及び AUC_{0-last} と用量の関係（DMT01 試験及び P1/2 試験：初回投与時）

両対数変換、直線：対数変換した各値の回帰直線、点線：回帰直線の 95%信頼区間
1.25 mg/kg 群：n=3、5 mg/kg 群：n=3、20 mg/kg 群：n=4、40 mg/kg 群：n=8、80 mg/kg 群：n=8

［5.3.5.1-2 図 11.2-2 を引用］

表 2.7.2.3.1.4-1 パワーモデルによる C_{max} 及び AUC_{0-last} の用量比例性の解析結果（DMT01 試験及び P1/2 試験：初回投与時）

	回帰直線の傾き	95%信頼区間	
		下限	上限
C_{max}	0.9791	0.8918	1.0665
AUC_{0-last}	1.0153	0.9280	1.1027

［5.3.5.1-2 表 11.2-3 を引用］

表 2.7.2.3.1.4-2 $t_{1/2}$、CL_{tot} 及び Vd_{ss} に対する用量間の比較
（DMT01 試験及び P1/2 試験：初回投与時）

	用量	1.25 mg/kg	5 mg/kg	20 mg/kg	40 mg/kg
$t_{1/2}$ (hr)	5 mg/kg	1.0000	－	－	－
	20 mg/kg	0.9979	0.9960	－	－
	40 mg/kg	0.1591	0.1421	0.1997	－
	80 mg/kg	0.0859	0.0759	0.1035	0.9913
CL_{tot} (mL/hr/kg)	5 mg/kg	0.9799	－	－	－
	20 mg/kg	0.5670	0.8874	－	－
	40 mg/kg	0.9990	0.9932	0.5114	－
	80 mg/kg	0.9982	0.8665	0.2137	0.9430
Vd_{ss} (mL/kg)	5 mg/kg	0.9972	－	－	－
	20 mg/kg	0.5852	0.7909	－	－
	40 mg/kg	0.9550	0.9982	0.8161	－
	80 mg/kg	1.0000	0.9984	0.4434	0.9312

各値は Tukey 多重比較検定における P 値
1.25 mg/kg 群：n=3、5 mg/kg 群：n=3、20 mg/kg 群：n=4、40 mg/kg 群：n=8、80 mg/kg 群：n=8

［5.3.5.1-2 表 11.2-4 を引用］

2.7.2.3.2 内因性要因

2.7.2.3.2.1 人種差

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並びに投与後 24 時間までの尿中排泄率を表 2.7.2.3.2.1-1 に示す。

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 患者の間で血漿中濃度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）。

表 2.7.2.3.2.1-1 日本人及び外国人 DMD 患者に本剤 80 mg/kg を 1 時間かけて静脈内投与した際の薬物動態パラメータ及び尿中排泄率（P1/2 試験及び 201 試験）

	日本人 DMD 患者（P1/2 試験）		外国人 DMD 患者（201 試験）	
	初回投与時（n=8）	24 週投与時（n=8）	初回投与時（n=5）	24 週投与時（n=8）
	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD	Mean ± SD
C_{max} (ng/mL)	321000 ± 74800	329000 ± 91000	238800 ± 36995.9	227500 ± 35785.1
t_{max} (hr) [a]	1.00 (0.50, 1.00)	1.00 (0.50, 1.00)	1.00 (0.42, 1.08)	0.73 (0.50, 1.00)
AUC_{0-last} (ng·hr/mL)	490000 ± 125000	508000 ± 111000	435800 ± 135700.8	387375 ± 105807.0
$AUC_{0-\infty}$ (ng·hr/mL)	491000 ± 125000	508000 ± 111000	436400 ± 135252.7	387375 ± 105807.0
$t_{1/2}$ (hr)	2.49 ± 0.163	2.45 ± 0.0799	2.210 ± 0.496	2.528 ± 0.202
尿中排泄率 (%) [b]	92.0 ± 12.5	93.1 ± 8.0	75.420 ± 36.635	71.063 ± 24.340

a：Median (Min, Max)
b：投与後 24 時間までの尿中排泄率

［5.3.5.1-2 表 11.2-1、表 11.2-2、5.3.5.1-1 Table 40、Table 14.5.3a を改変］

2.7.2.3.3 外因性要因

2.7.2.3.3.1 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。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、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 2.7.2.3.3.1-1 に示す。いずれ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 を算出したところ、それぞれ 1.05 及び 1.10 であり、ガイドラインのカットオフ値である 1.25 を下回った。

表 2.7.2.3.3.1-1 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 値（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、P1/2 試験における 24 週投与時の 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（試験番号 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%）から 60.6%とした。

b：MSPK モデルに基づき、$AUCR=[1/\{C_h \times f_m+(1-f_m)\}] \times [1/\{C_g \times (1-F_g)+F_g\}]$ で算出した。$C_h=1/(1+[I]_h/Ki)$、$C_g=1/(1+[I]_g/K_i)$であり、$[I]_g=[I]_h=[I]$、$f_m=1$、$F_g=0$ 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（脚注 a 参照）。

c：（ ）内は UGT1A1 の代謝阻害試験（試験番号 BP-065-043）における反応系中の非結合型分率である 0.9 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 2.7.2.3.3.1-2 に示す。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みなすことから、臨床においてビルトラルセンによる OAT3 阻害作用は低いと考えられた。

表 2.7.2.3.3.1-2 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 2.7.2.3.3.1-1 の脚注 a 参照）。

以上より、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。

2.7.2.3.4 薬力学的特性

2.7.2.3.4.1 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 $AUC_{0\text{-}last}$）の関係

（1） P1/2 試験

12 及び 24 週投与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。

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、いずれも相関は低かった（図 2.7.2.3.4.1-1）。

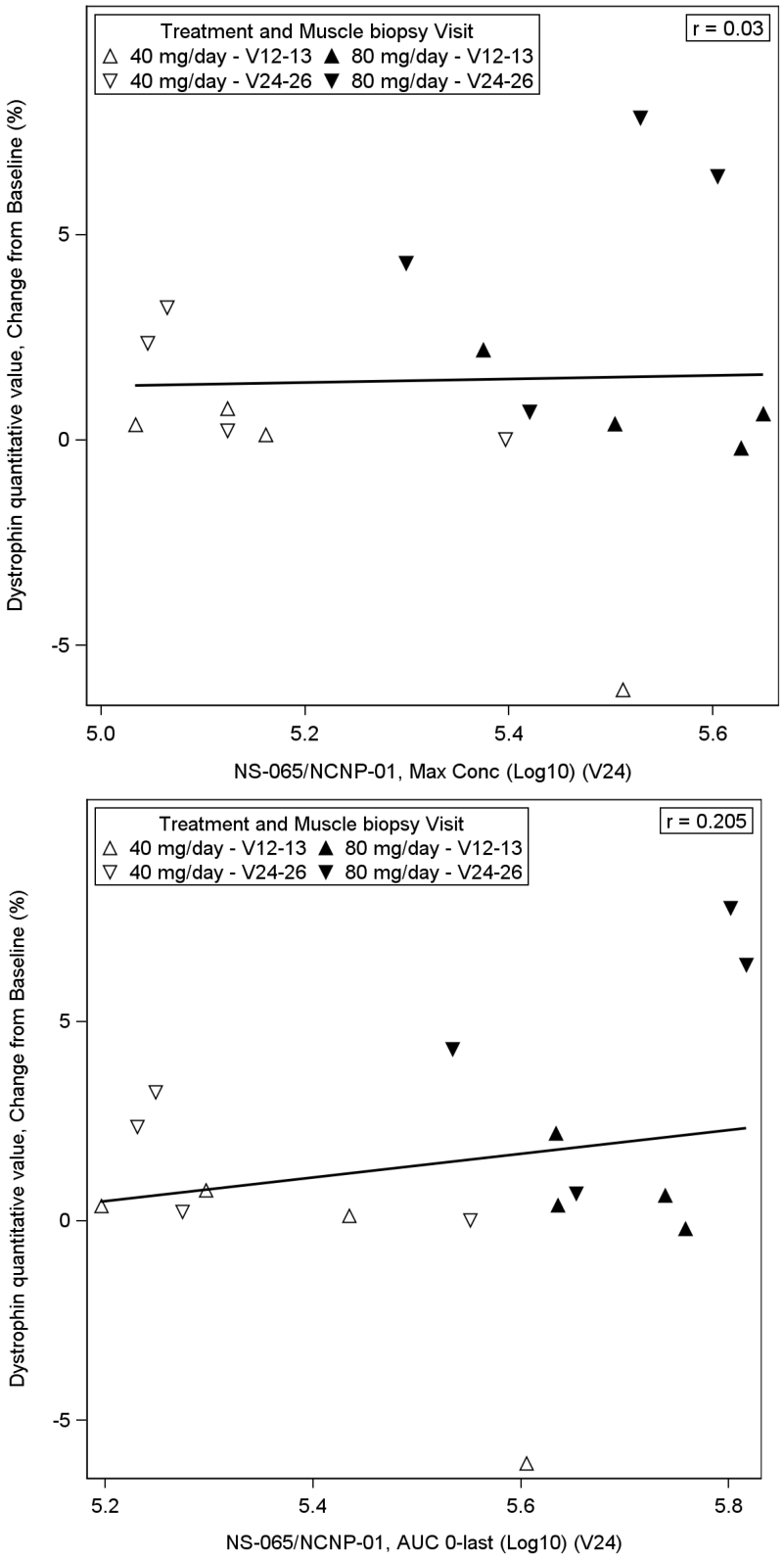


図 2.7.2.3.4.1-1　12 及び 24 週投与時のウェスタンブロット（新法）によるジストロフィン定量値のベースラインからの変化量と 24 週投与時の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}last}$ の関係（P1/2 試験）

上図：C_{max}、下図：$AUC_{0\text{-}last}$

［5.3.5.1-2 14.2.4-7 を引用］

（2） 201 試験

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。

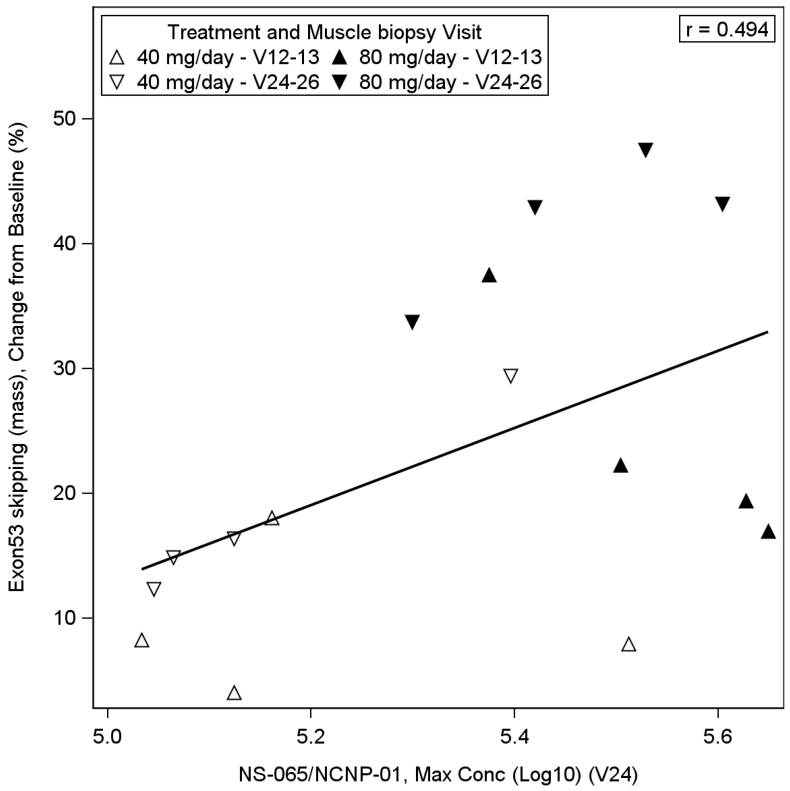
ウェスタンブロット（ミオシン重鎖及び α-アクチニンによる標準化）及び免疫蛍光染色（ラミニン α2 及び α-サルコグリカンを染色）によるジストロフィン定量値のベースラインからの変化量と血漿中濃度（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}last}$）の相関は低かったが、免疫蛍光染色（ジストロフィンを染色）及び LC-MS/MS によるジストロフィン定量値は、血漿中濃度（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}last}$）が高いほど増加する傾向が認められた（付録 図 2.7.2.5-1～図 2.7.2.5-6）。

2.7.2.3.4.2 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血漿中濃度（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}last}$）の関係

（1） P1/2 試験

12 及び 24 週投与時のエクソン 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。

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（図 2.7.2.3.4.2-1）。



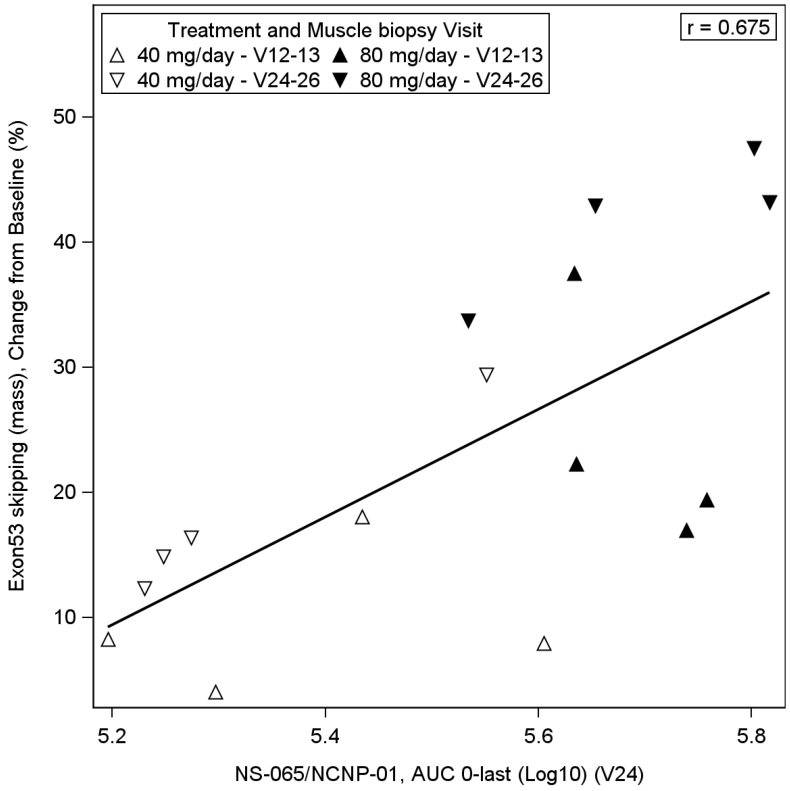


図 2.7.2.3.4.2-1　12 及び 24 週投与時のエクソン 53 スキッピング効率のベースラインからの変化量と 24 週投与時の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-last}}$ の関係（P1/2 試験）

上図：C_{max}、下図：$AUC_{0\text{-last}}$

［5.3.5.1-2 14.2.4-14 を引用］

（2） 201 試験

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。

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（付録 図 2.7.2.5-7 及び図 2.7.2.5-8）。

2.7.2.3.4.3 QTc 間隔への影響

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。以下に示したとおり、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。

（1） 非臨床試験

安全性薬理試験として、human ether-a-go-go related gene（hERG）によりコードされたチャネルタンパク質を安定発現させたチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞を用いた *in vitro* hERG 試験を実施した結果、ビルトラルセンは 3 mg/mL まで hERG 電流に影響を及ぼさなかった（2.6.2.4.2.1 項参照）。また、サルを用いて血圧、心拍数及び心電図に及ぼす影響を検討した結果、ビルトラルセンは 600 mg/kg（静脈内投与）又は 100 mg/kg（筋肉内投与）まで、血圧、心拍数及び心電図パラメータに影響は認められなかった（2.6.2.4.2.2 項、2.6.2.4.2.3 項及び 2.6.2.4.2.4 項参照）。

（2） P1/2 試験

初回投与時及び 24 週投与時のいずれも、Fridericia 補正による QTc（QTcF）間隔のベースラインからの変化量と血漿中ビルトラルセン濃度の関係にヒステリシス効果は認められなかった（5.3.5.1-2 14.3.5-18）。また、QTcF 間隔のベースラインからの変化量と血漿中ビルトラルセン濃度の相関係数は低く（r=0.22）、回帰直線の傾きも小さかった（図 2.7.2.3.4.3-1）。

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。また、投与後最悪値の QTcF 間隔は 450 msec 以下であり、ベースラインからの変化量は 30 msec 以下であった（2.7.4.4.3 項参照）。

心機能に関連する有害事象として、Grade 1 の脳性ナトリウム利尿ペプチド増加が 2 例、Grade 2 の駆出率減少が 2 例認められたが、QT/QTc 間隔の延長及び催不整脈に関連した有害事象（MedDRA SMQ：「トルサード ド ポアント/QT 延長」及び「不整脈」）は認められなかった（2.7.4.4.3 項参照）。

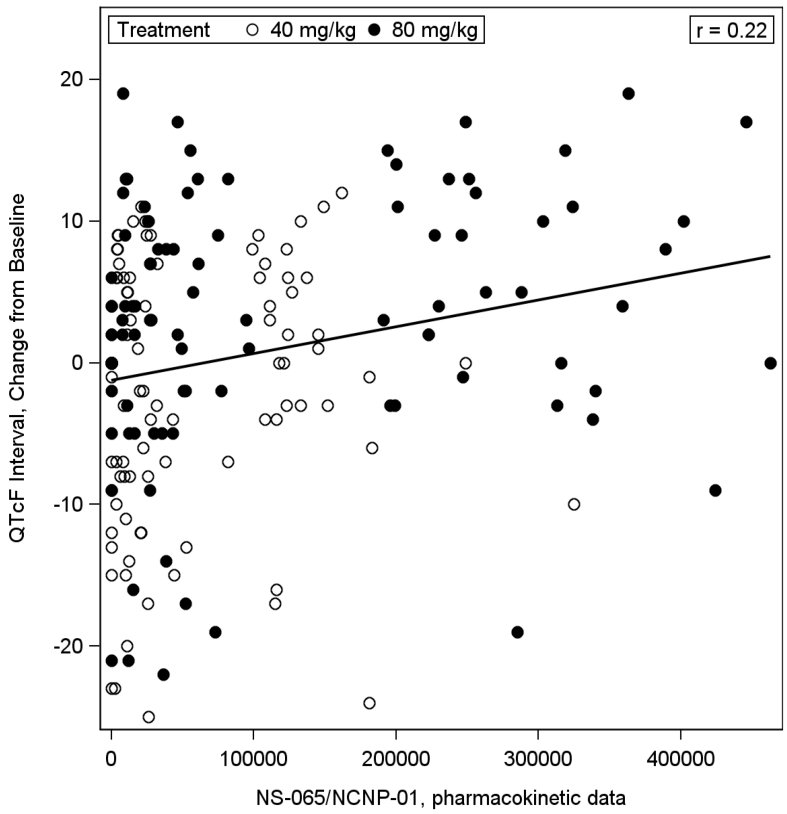


図 2.7.2.3.4.3-1 QTcF 間隔のベースラインからの変化量と血漿中ビルトラルセン濃度の関係（P1/2 試験：初回投与時及び 24 週投与時）

横軸：血漿中ビルトラルセン濃度（ng/mL）、縦軸：QTcF 間隔のベースラインからの変化量（msec）
40 mg/kg 群：n=8、80 mg/kg 群：n=8

［5.3.5.1-2 14.3.5-17 を引用］

（3） 201 試験及び 202 試験

201 試験の 13 及び 25 週投与時、並びに NS-065/NCNP-01-202 試験（201 試験の継続試験）の 25、37、49 及び 73 週投与時において、投与後最悪値の QTcF は 450 msec 以下であり、ベースラインからの変化量は 60 msec 以下であった。また、13 及び 25 週投与時の心電図において、各施設の心臓専門医により、心リズム又は解析値が異常値及び臨床的に重要と判断された被験者はいなかった（2.7.4.4.3 項参照）。

202 試験の 40 mg/kg 群で Grade 1 の洞性不整脈 1 例が認められたが、1 日で回復し、本剤との因果関係は否定された。これ以外の QT/QTc 間隔の延長及び催不整脈に関連した有害事象（MedDRA SMQ：「トルサード　ド　ポアント/QT 延長」及び「不整脈」）は認められなかった（2.7.4.4.3 項参照）。

（4） DMT01 試験

持続心電図モニタリングにおいて、臨床的に意義のある変動は認められなかった。また、投与後最悪値の ECAPS 補正による QTc 間隔は 450 msec 以下であり、ベースラインからの変化量は 60 msec 以下であった（2.7.4.4.3 項参照）。

心機能に関連する有害事象として、Grade 1 の脳性ナトリウム利尿ペプチド増加が 4 例、Grade 2 の駆出率減少が 1 例認められたが、QT/QTc 間隔の延長及び催不整脈に関連した有害事象（MedDRA SMQ：「トルサード　ド　ポアント/QT 延長」及び「不整脈」）は認められなかった（2.7.4.4.3 項参照）。

2.7.2.4 特別な試験

2.7.2.4.1 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（2.7.1.1.2.5 項及び 2.7.1.1.2.6 項参照）。

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 週（抗ビルトラルセン抗体のみ）、13 週及び 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（被験者番号：[redacted]）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。

2.7.2.5 付録

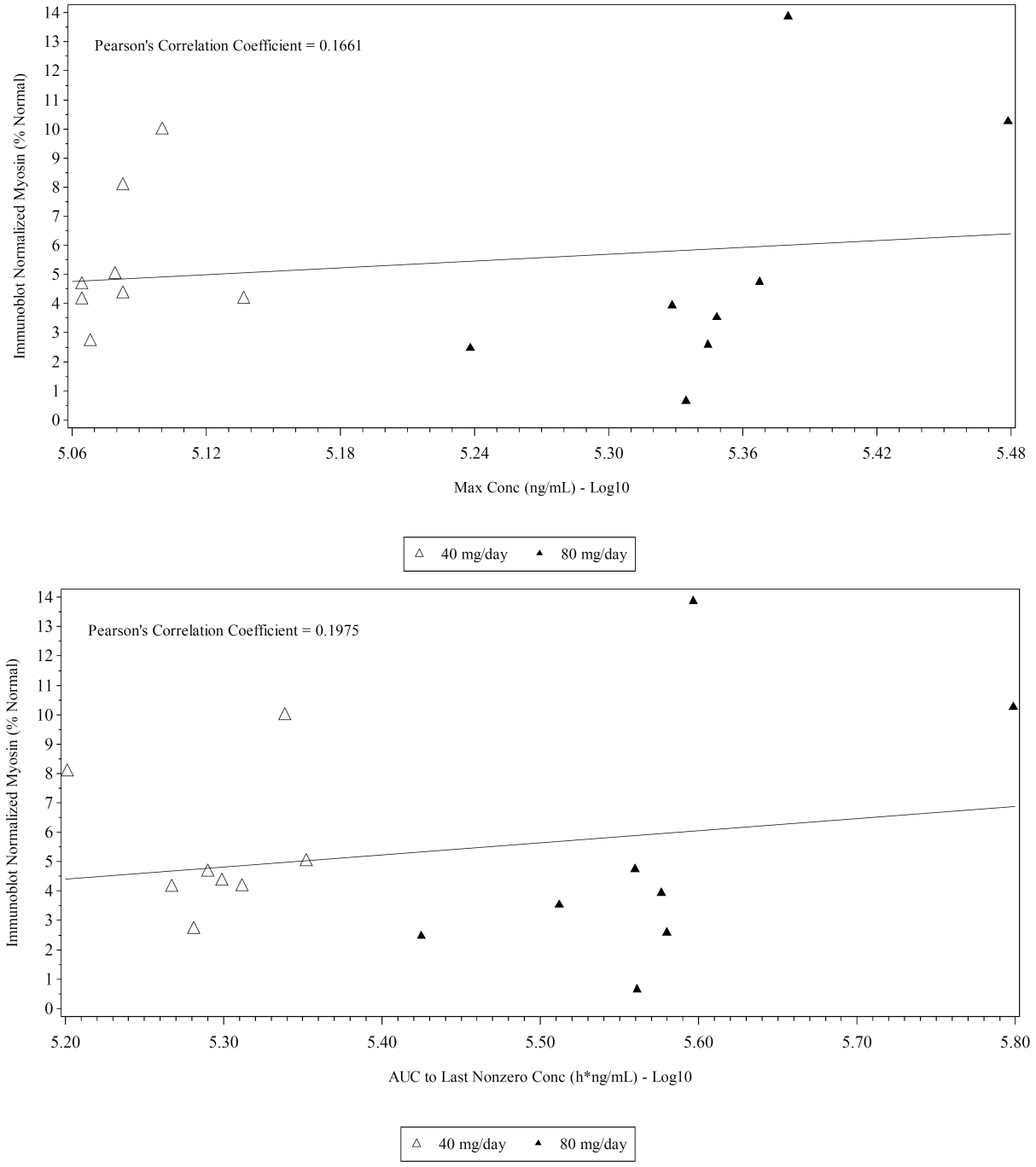
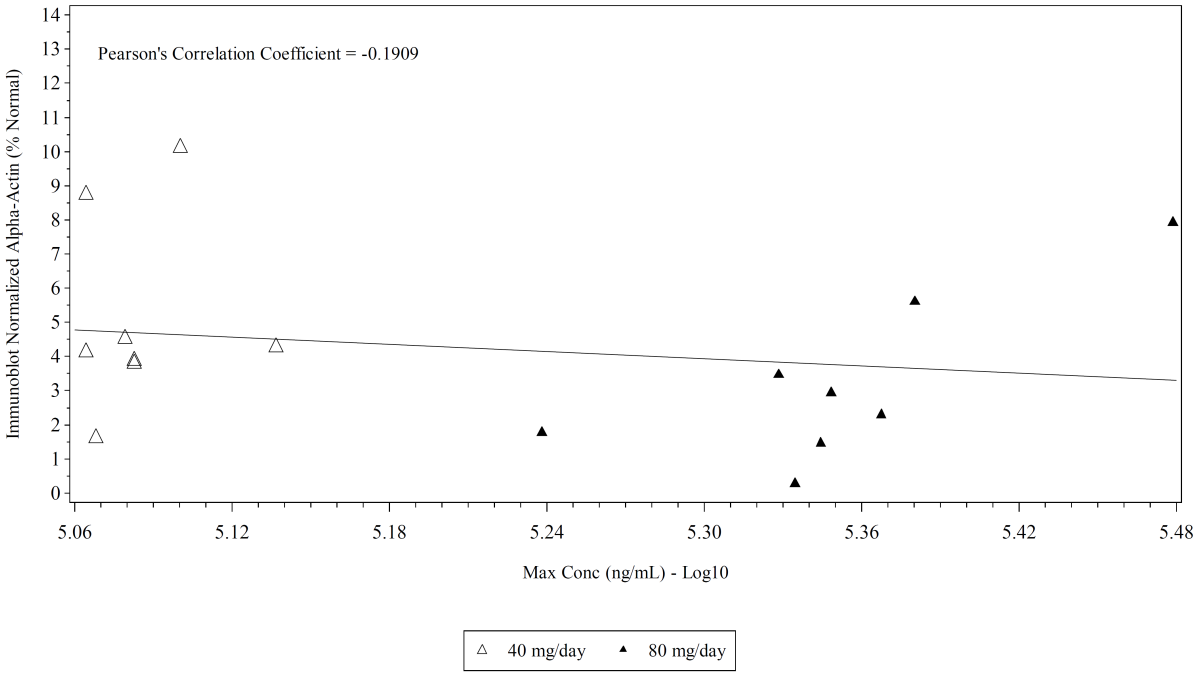


図 2.7.2.5-1 25 週投与時のウェスタンブロット（ミオシン重鎖による標準化）による ジストロフィン定量値のベースラインからの変化量と 24 週投与時の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}last}$ の関係（201 試験）

上図：C_{max}、下図：$AUC_{0\text{-}last}$

［5.3.5.1-1 Figure 14.2.4.7 を引用］



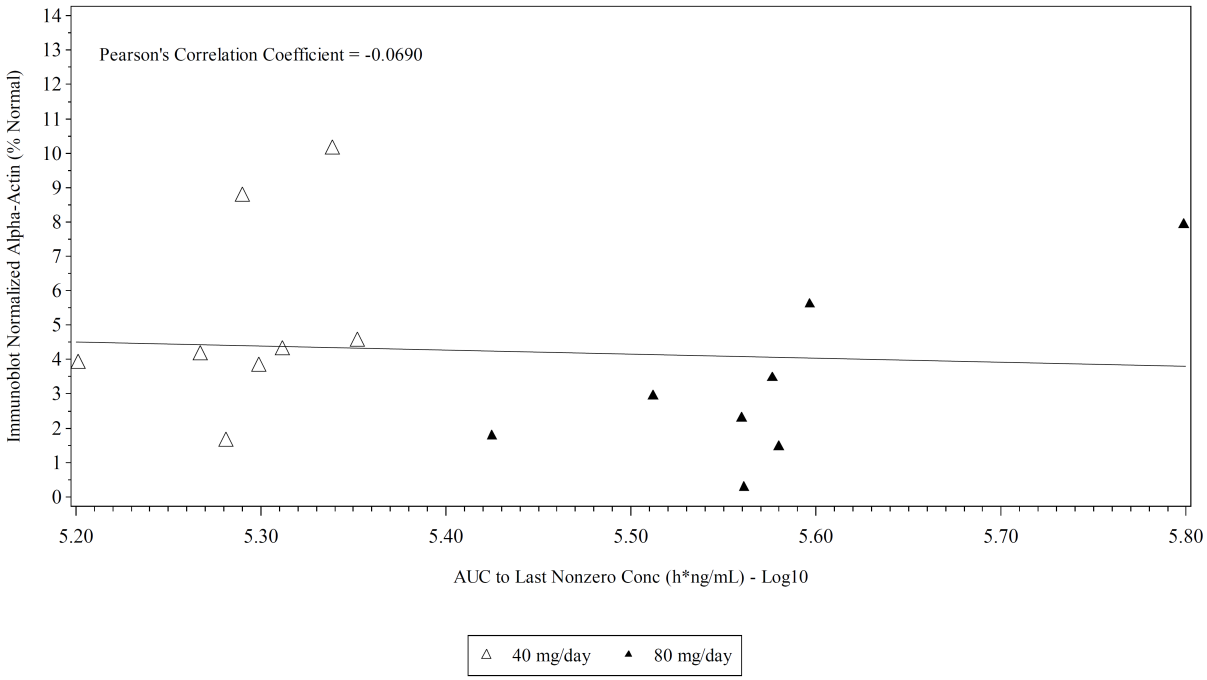


図 2.7.2.5-2 25 週投与時のウェスタンブロット（α-アクチニンによる標準化）による
ジストロフィン定量値のベースラインからの変化量と
24 週投与時の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-last}}$ の関係（201 試験）

上図：C_{max}、下図：$AUC_{0\text{-last}}$

［5.3.5.1-1 Figure 14.2.4.7 を引用］

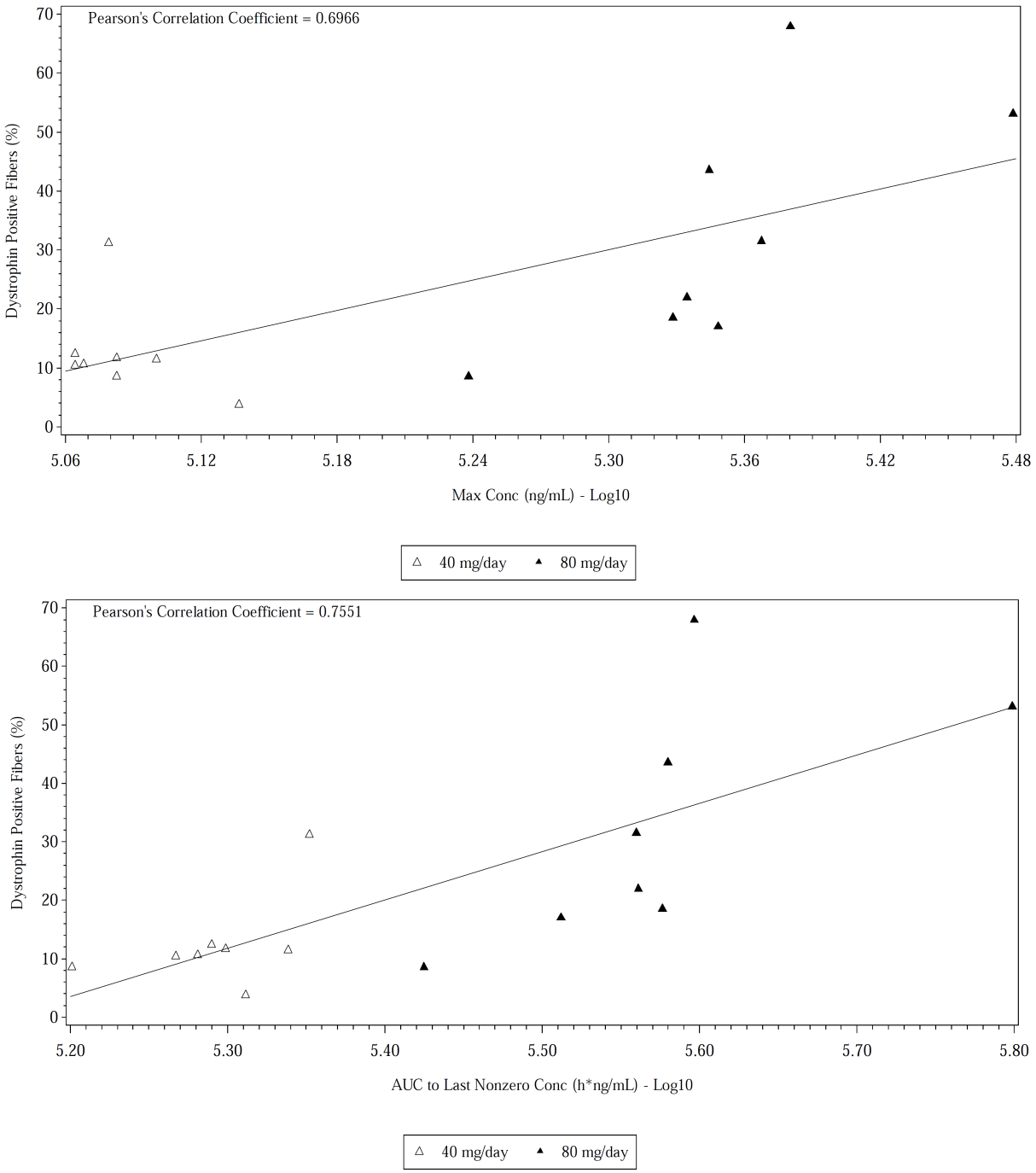


図 2.7.2.5-3　25 週投与時の免疫蛍光染色（ジストロフィンを染色）による
ジストロフィン定量値のベースラインからの変化量と
24 週投与時の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-last}}$ の関係（201 試験）

上図：C_{max}、下図：$AUC_{0\text{-last}}$

［5.3.5.1-1 Figure 14.2.4.8 を引用］

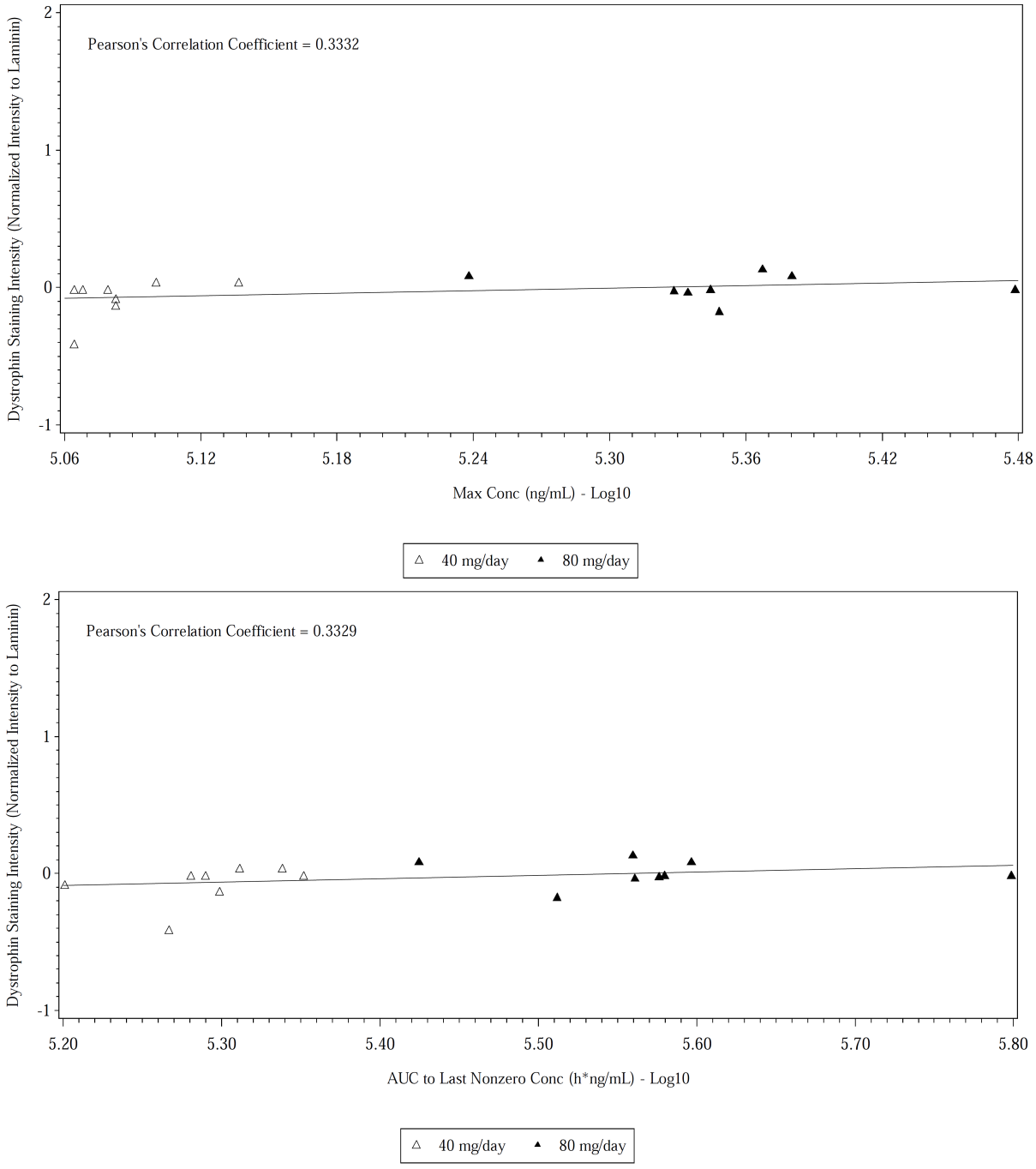


図 2.7.2.5-4　25 週投与時の免疫蛍光染色（ラミニン α2 を染色）による
ジストロフィン定量値のベースラインからの変化量と
24 週投与時の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}last}$ の関係（201 試験）

上図：C_{max}、下図：$AUC_{0\text{-}last}$

［5.3.5.1-1 Figure 14.2.4.8 を引用］

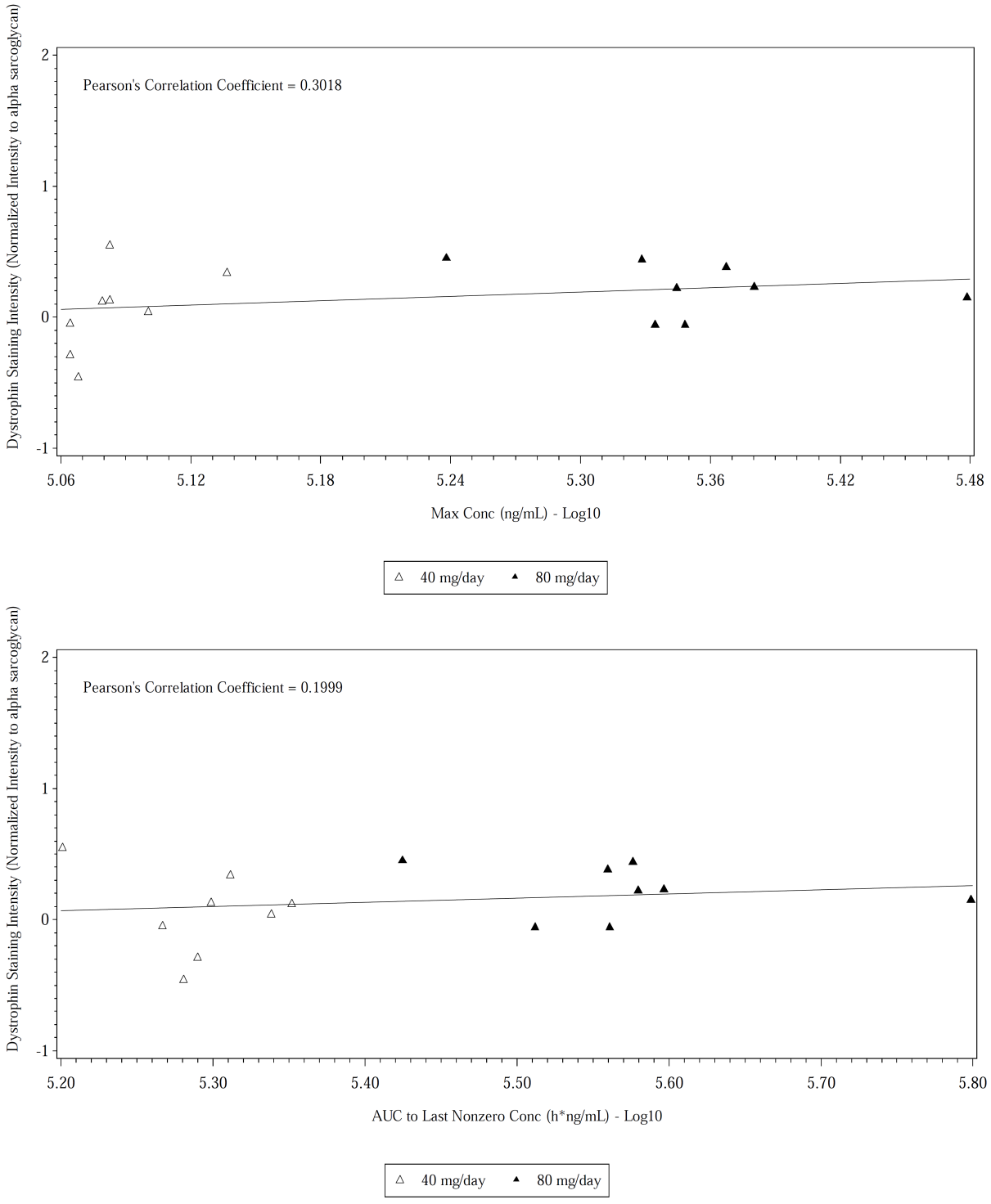
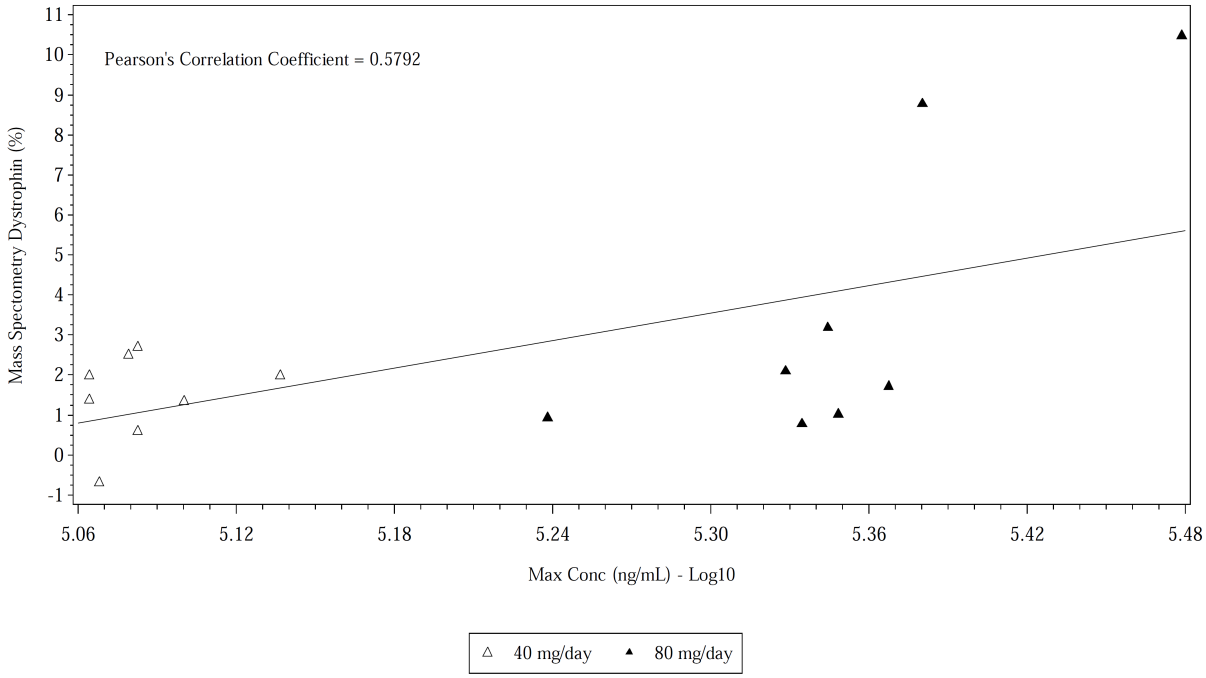


図 2.7.2.5-5　25 週投与時の免疫蛍光染色（α-サルコグリカンを染色）による
ジストロフィン定量値のベースラインからの変化量と
24 週投与時の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-last}}$ の関係（201 試験）

上図：C_{max}、下図：$AUC_{0\text{-last}}$

［5.3.5.1-1 Figure 14.2.4.8 を引用］



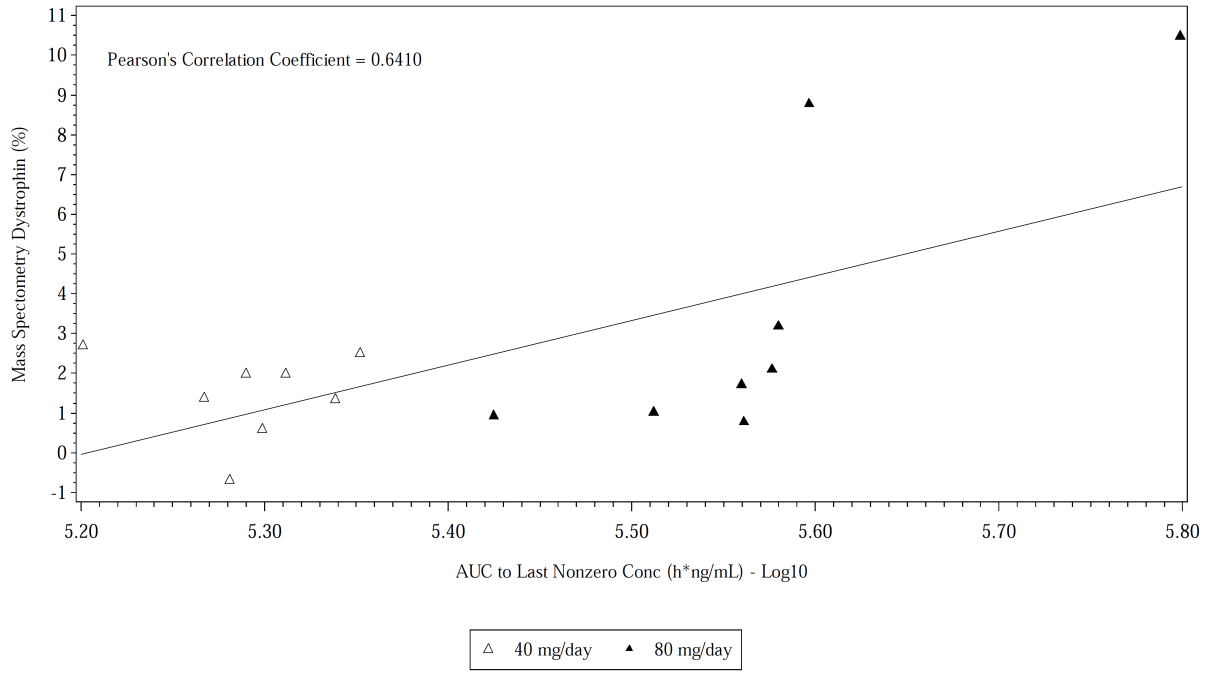
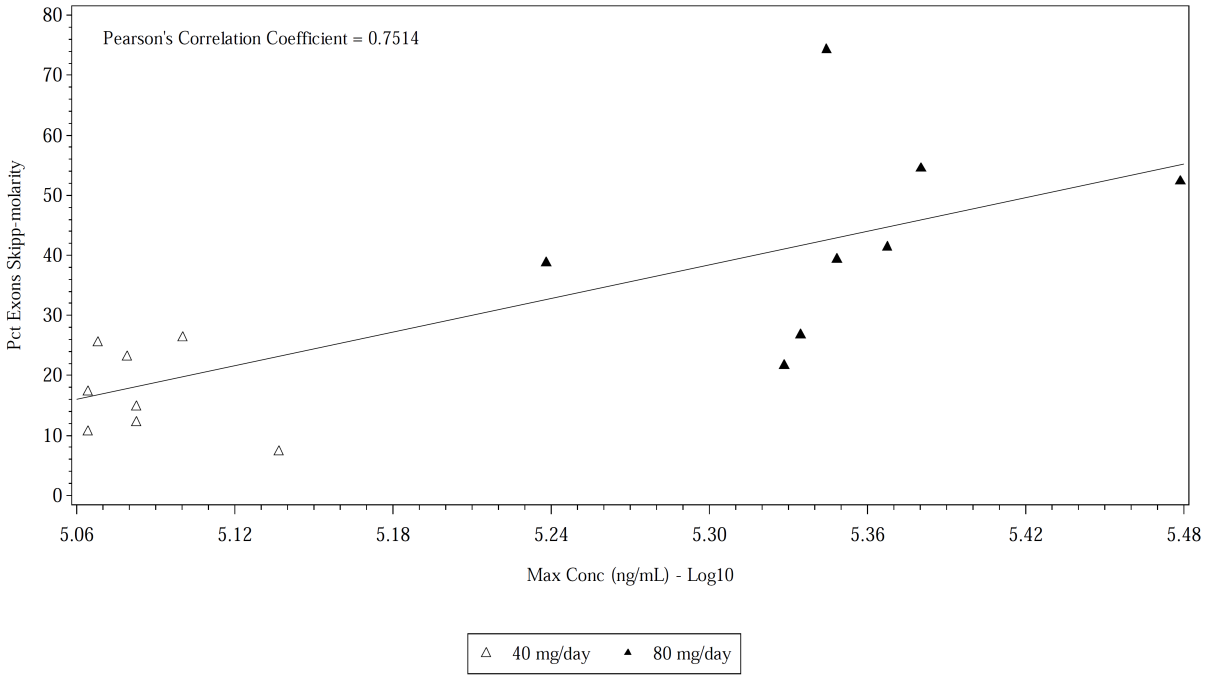


図 2.7.2.5-6　25 週投与時の LC-MS/MS によるジストロフィン定量値の
ベースラインからの変化量と 24 週投与時の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-last}}$ の関係（201 試験）

上図：C_{max}、下図：$AUC_{0\text{-last}}$

［5.3.5.1-1 Figure F14_2_4_10 を引用］



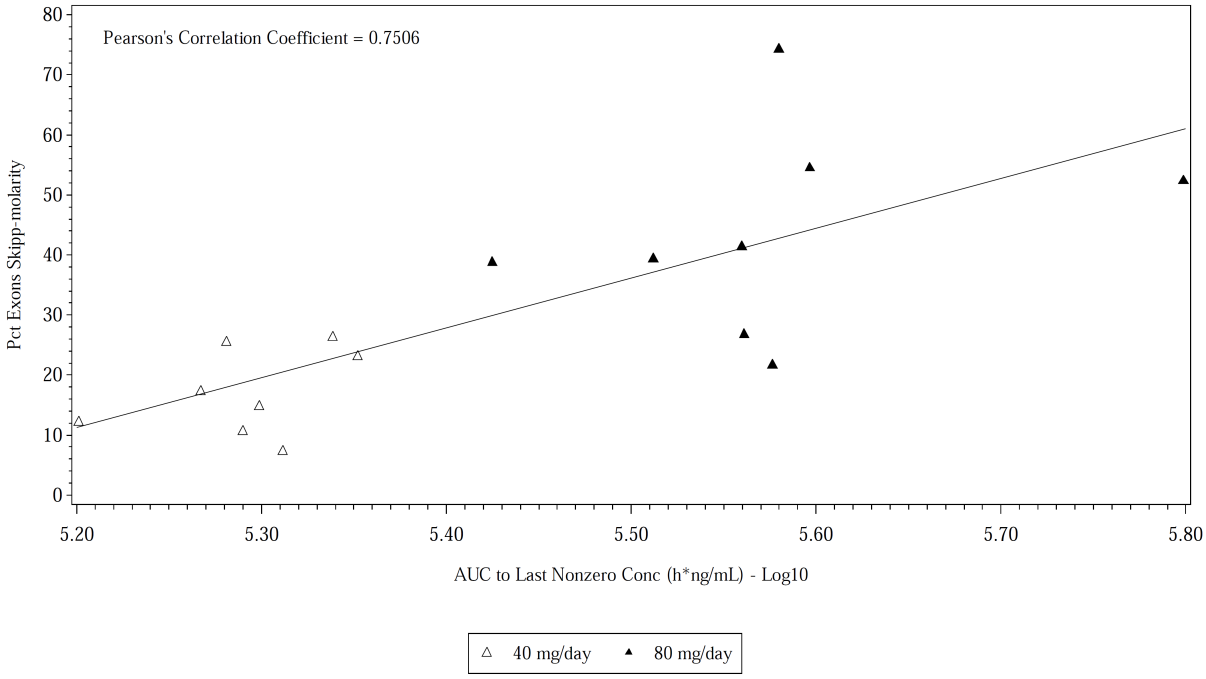


図 2.7.2.5-7　25 週投与時のエクソン 53 スキッピング効率（モル濃度比）のベースラインからの変化量と 24 週投与時の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-last}}$ の関係（201 試験）

上図：C_{max}、下図：$AUC_{0\text{-last}}$

［5.3.5.1-1 Figure 14.2.4.9 を引用］

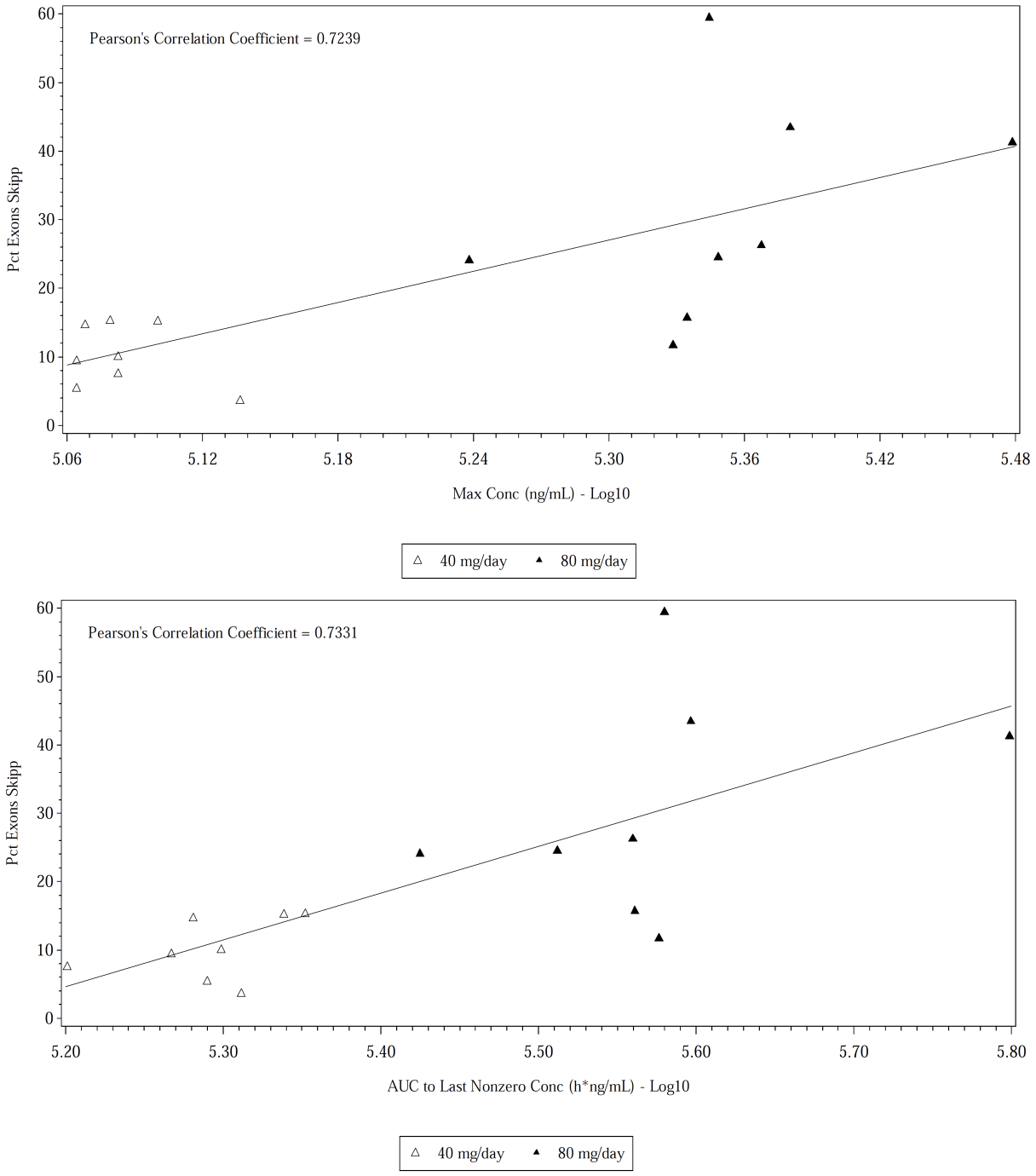


図 2.7.2.5-8　25 週投与時のエクソン 53 スキッピング効率（質量濃度比）のベースラインからの変化量と 24 週投与時の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-last}}$ の関係（201 試験）

上図：C_{max}、下図：$AUC_{0\text{-last}}$

［5.3.5.1-1 Figure 14.2.4.9 を引用］

目次

2.7.3 臨床的有効性 4
2.7.3.1 背景及び概観 4
2.7.3.1.1 各試験のデザイン概要 4
2.7.3.1.1.1 海外第 II 相試験（NS-065/NCNP-01-201 試験） 4
2.7.3.1.1.2 国内第 I/II 相試験（NS065/NCNP01-P1/2 試験） 7
2.7.3.1.1.3 国内第 I 相試験（NCNP/DMT01 試験） 8
2.7.3.1.2 対象患者の選択 9
2.7.3.1.3 有効性評価項目 13
2.7.3.1.3.1 ウェスタンブロットによるジストロフィン測定 15
2.7.3.1.3.2 免疫蛍光染色によるジストロフィン測定 15
2.7.3.1.3.3 質量分析によるジストロフィン測定 16
2.7.3.1.4 統計解析方法 16
2.7.3.1.4.1 海外第 II 相試験（NS-065/NCNP-01-201 試験） 16
2.7.3.1.4.2 国内第 I/II 相試験（NS065/NCNP01-P1/2 試験） 18
2.7.3.1.4.3 国内第 I 相試験（NCNP/DMT01 試験） 20
2.7.3.2 個々の試験結果の要約 21
2.7.3.2.1 海外第 II 相試験（試験番号 NS-065/NCNP-01-201、資料番号 5.3.5.1-1、評価資料） 21
2.7.3.2.2 国内第 I/II 相試験（試験番号 NS065/NCNP01-P1/2、資料番号 5.3.5.1-2、評価資料） 29
2.7.3.2.3 国内第 I 相試験（試験番号 NCNP/DMT01、資料番号 5.3.5.2-1、評価資料） 36
2.7.3.3 全試験を通しての結果の比較と解析 37
2.7.3.3.1 試験対象集団 37
2.7.3.3.1.1 被験者の内訳 37
2.7.3.3.1.2 人口統計学的及びベースライン時特性 38
2.7.3.3.2 全有効性試験の結果の比較検討 40
2.7.3.3.2.1 ジストロフィンの発現 40
2.7.3.3.2.2 運動機能評価 43
2.7.3.3.2.3 ジストロフィン発現と時間機能検査との関連 46
2.7.3.3.2.4 血清 CK 値 48
2.7.3.3.3 部分集団における結果の比較 49
2.7.3.4 推奨用法・用量に関する臨床情報の解析 53
2.7.3.4.1 推奨用法・用量 53
2.7.3.4.2 推奨用法・用量の設定根拠 53
2.7.3.5 効果の持続・耐薬性 54
2.7.3.6 付録 56

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
AUC	area under the plasma concentration-time curve：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
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
CGH	comparative genomic hybridization：比較ゲノムハイブリダイゼーション
CI	confidence interval：信頼区間
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
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
DNHS	Duchenne Natural History Study：デュシェンヌ自然歴研究
FAS	full analysis set：最大の解析対象集団
FDA	Food and Drug Administration：米国食品医薬局
FVC	forced vital capacity：努力性肺活量
FS	fractional shortening：左室内径短縮率
GC	glucocorticoid：グルココルチコイド
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
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）
LVEF	left ventricular ejection fraction：左室駆出率
LSM	least squares means：最小二乗平均
mITT	modified intention to treat
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
NSAA	North Star Ambulatory Assessment：ノース・スター歩行能力評価
PDE5	phosphodiesterase type 5：ホスホジエステラーゼ 5
PPS	per protocol set：治験実施計画書に適合した対象集団
QMT	quantitative muscle testing：定量的筋力検査
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

語句略語	語句略語内容
SILAC	stable isotope labelling by amino acids in cell culture：培養細胞内のアミノ酸を使用した安定同位体標識
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

2.7.3 臨床的有効性

本剤のデュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）に対する有効性は、海外第 II 相試験（NS-065/NCNP-01-201；201 試験）、国内第 I/II 相試験（NS065/NCNP01-P1/2；P1/2 試験）及び早期探索的試験である国内第 I 相試験（NCNP/DMT01；DMT01 試験）で評価した。これらの試験の概略を表 2.7.3.6-1 に示す。

2.7.3.1 背景及び概観

2.7.3.1.1 各試験のデザイン概要

2.7.3.1.1.1 海外第 II 相試験（NS-065/NCNP-01-201 試験）

201 試験は、DMD 患者に、NS-065/NCNP-01 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の検討を目的とした、2 期、用量設定第 II 相試験であり、海外 6 施設（米国及びカナダ）で実施した。

対象は、エクソン 53 スキッピングにより治療可能なジストロフィン遺伝子の欠失が確認されている、4 歳以上 10 歳未満の自立歩行可能な DMD 患者であった。

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（Period 1）と、それに続く 20 週間のオープンラベル期（Period 2）の計 24 週間で構成された（図 2.7.3.1.1.1-1）。目標被験者数は 16 例（40 mg/kg 群：8 例、80 mg/kg 群：8 例）であり、Period 1 では、低用量コホート（40 mg/kg）及び高用量コホート（80 mg/kg）の被験者がそれぞれ実薬又はプラセボに 3:1 でランダムに割り付けられることとしていたが、実際には、低用量コホートでは本剤 40 mg/kg に 6 例及びプラセボに 2 例、高用量コホートでは本剤 80 mg/kg に 5 例及びプラセボに 3 例が割り付けられ、最初の 4 週間投与された（5.3.5.1-1 Section 9.1.1.3 参照）。Period 2 では、全ての被験者に各コホートの用量の実薬が 20 週間投与された（40 mg/kg : 8 例、80 mg/kg : 8 例）。

割り付けられた治験薬（プラセボ、NS-065/NCNP-01 40 又は 80 mg/kg）を生理食塩液と混和して総量 100 mL とし、混和液を 1 時間かけて、週 1 回、24 週間静脈内に投与した。なお、80 mg/kg 群の 1 例においては治験薬量が 100 mL をわずかに超えたため、生理食塩液は加えず 1 時間かけて静脈内投与した。高用量コホートの投与は、低用量コホートの全被験者が Period 1 を終了し、安全性が確認されたのちに開始した。Period 2 終了後、希望する被験者は継続試験（NS-065/NCNP-01-202；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。

主要評価項目は本剤を 20 週又は 24 週間投与した後のウェスタンブロットによるジストロフィンの発現であり、副次評価項目は同様に本剤を 20 週又は 24 週間投与した後の免疫蛍光染色及び質量分析によるジストロフィンの発現、reverse transcription polymerase chain reaction（RT-PCR）によるエクソン 53 スキッピング効率及び運動機能評価［時間機能検査、定量的筋力検査（QMT）］であった。ジストロフィン評価のための筋生検を治療前と投与 24 週後に、運動機能評価の測定は治療前、投与 12 週及び 24 週後に実施した。

なお、本試験では、試験期間中に主要評価項目を質量分析によるジストロフィン発現から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た（2.7.3.1.3 項参照）。

また、試験組み入れの 3 ヵ月前からグルココルチコイド（GC）の使用を必須としており、治験期間中も用量の変更をしないこととした。

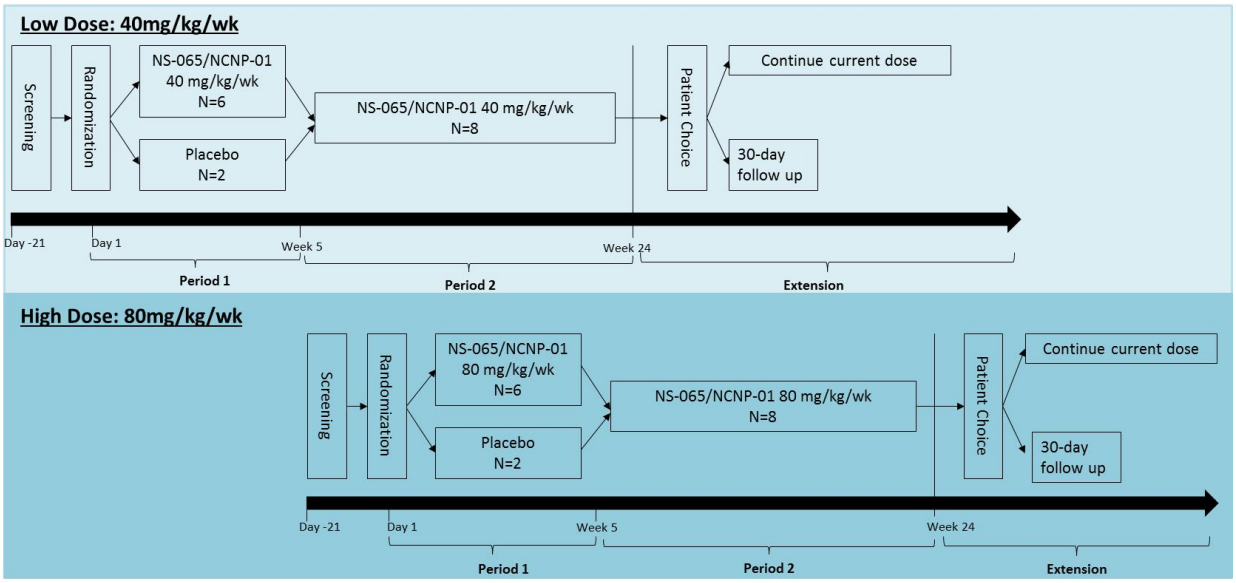


図 2.7.3.1.1.1-1　試験デザイン図（201 試験）

［5.3.5.1-1 Figure 1 を引用］

副次評価項目の運動機能評価では、本剤群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。本試験のプラセボ群の設定について、Food and Drug Administration （FDA）は、短期間での安全性と忍容性を確認し、薬剤関連有害事象を検出できるデザインとするため、安全性に関するコントロールとしてプラセボ群の設定を推奨した。しかしながら、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ため、24 週間のプラセボコントロール群を設定した場合、IRB にて承認が得られない可能性があった。そこで、試験開始後 4 週間を安全性の確認を目的としたプラセボ対照二重盲検とし、それに続く 20 週間は実薬投与群のみのオープンラベル試験としてデザインした。

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 [1,2,3]、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。201 試験は CINRG に所属する施設によって実施され、SOP 及び臨床評価者訓練手順書は両試験間で一致させた。

本試験の自然歴群（DNHS）として、CINRG DNHS から 201 試験の年齢、ステロイド使用状況及び地域等の主要な登録基準を含む以下の基準を満たす患者を選択した。データの抽出は SOP に従い実施した。

- 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[4,5]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[5]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[4]、あるいは病状の進行が早い[6]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。

201 試験の主な選択・除外基準と DNHS の選択基準の比較を表 2.7.3.1.1.1-1 に示す。

表 2.7.3.1.1.1-1 201 試験の主な選択・除外基準及び DNHS の基準の比較

	201 試験	DNHS
実施国	米国、カナダ	米国、カナダ
性別	男	男
年齢	同意取得時 4 歳以上かつ投与開始時 10 歳未満	ベースライン時に 4 歳以上 10 歳未満
歩行可否	補助機器なしで独立歩行可能	－
対象疾患	DMD	DMD
DMD 診断	以下に定義される DMD の確定診断を受けた患者 ・エクソン 53 スキッピングによりジストロフィン mRNA リーディングフレームを修復可能な DMD 変異（明確に定義されたエクソン境界の決定を含む）がジストロフィン遺伝子で確認されている［multiplex ligation-dependent probe amplification（MLPA）法、comparative genomic hybridization（CGH）法など］。 ・DMD の臨床的徴候が認められる。	遺伝子検査の結果、重複変異、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を対象とした。 プロモーターからエクソン 8 の間に変異がある患者、エクソン 44 スキッピング治療の対象となる患者は除外した。 また、イン・フレーム変異を持つ患者、及びリーディングフレームかどうか判断できない変異をもつ患者も除外した。
運動機能	スクリーニング時に評価者により、TTSTAND、TTRW 及び TTCLIMB を実施可能であることが確認されている。	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 TTRW、TTSTAND 及び TTCLIMB が必要）。
臨床検査	スクリーニング時の臨床検査値が標準範囲内であるか、異常の場合は治験責任医師により臨床的に意義のない異常であると評価されている。	－
ステロイド使用	少なくとも試験組み入れの 3 ヵ月前から GC を用量変更せずに使用している。また、試験期間中も用量変更の予定がないこと。	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こと。
他の治験	治験開始前 3 ヵ月以内に他の治験薬を服用している患者は除外	他のエクソンスキッピング薬の臨床試験に登録していないこと。

2.7.3.1.1.2 国内第 I/II 相試験（NS065/NCNP01-P1/2 試験）

P1/2 試験は、日本人 DMD 患者を対象に、NS-065/NCNP-01 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た第 I/II 相試験であり、国内 5 施設で実施した。

対象は、エクソン 53 スキッピングにより治療可能なジストロフィン遺伝子の欠失が確認されており、NS-065/NCNP-01 の標的配列に DNA 多型が存在しない 5 歳以上 18 歳未満の DMD 患者であり、自立歩行の可否は問わなかった。

本試験は、多施設共同、オープンラベル、並行群間比較の用量設定試験であり、目標被験者数は 16 例（40 mg/kg 群 8 例、80 mg/kg 群 8 例）であった（図 2.7.3.1.1.2-1）。割り付けられた治験薬（NS-065/NCNP-01 40 又は 80 mg/kg）を生理食塩液と混和して総量 100～300 mL とし、混和液を 1 時間かけて、週 1 回、24 週間静脈内に投与した。有害事象等の発現により安全性に問題があると治験責任（分担）医師が判断した場合は、適宜減量又は休薬することとした。なお、本試験では 40 mg/kg 群から投与を開始し、最初の 3 例分の Day28 までの安全性データが得られた後で、安全性評価委員の意見を参考に治験依頼者が 80 mg/kg 群開始の可否を決定した。

主要評価項目として本剤を 12 週又は 24 週間投与した後の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の発現、RT-PCR によるエクソン 53 スキッピング効率を評価した。また、副次評価項目として運動機能評価（時間機能検査、QMT）及び血清クレアチンキナーゼ（CK）値を評価した。

本試験では、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 群に優先的に割り付けた。

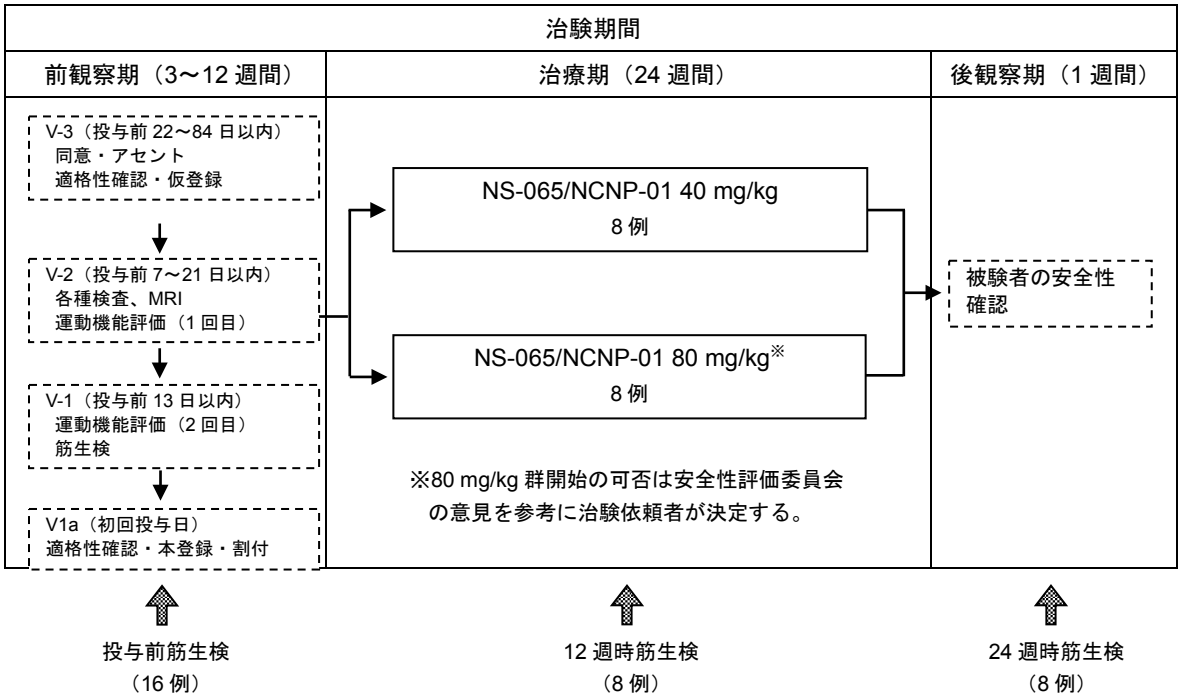


図 2.7.3.1.1.2-1 試験デザイン図（P1/2 試験）

［5.3.5.1-2 図 9.1.1-1 を引用］

2.7.3.1.1.3 国内第 I 相試験（NCNP/DMT01 試験）

DMT01 試験は、日本人の DMD 患者に対する本剤の安全性、薬物動態及び有効性の検討を目的として国内 1 施設で実施した、オープンラベルの医師主導治験である。本試験の対象は、エクソン 53 スキッピングにより治療可能なジストロフィン遺伝子の欠失が確認されており、NS-065/NCNP-01 の標的配列に DNA 多型が存在しない 5 歳以上 18 歳未満の DMD 患者であり、原則、自立歩行不能な患者とした。

本試験は 3 つのコホートにより構成されており、コホート 1 から開始し、前コホートでの安全性を確認した後、次コホートを開始した。各コホートで規定された投与量（コホート 1：1.25 mg/kg、コホート 2：5 mg/kg、コホート 3：20 mg/kg）を生理食塩液と混和して総量 100 mL とし、混和液を 1 時間かけて、週 1 回、12 週間静脈内に投与した。原則、同一被験者内での投与量の増減は行わないこととした。

主要評価項目は安全性であり、有効性は副次評価項目として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の発現、RT-PCR によるエクソン 53 スキッピング効率、血清 CK 値を評価した。本試験では運動機能評価は実施しなかった。

2.7.3.1.2 対象患者の選択

（1） 選択基準の比較

201 試験、P1/2 試験及び DMT01 試験の主な選択基準を表 2.7.3.1.2-1 に示す。

3 試験共に、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。201 試験では、DMD の臨床的徴候が認められることも DMD 確定診断のための条件とした。一方、P1/2 試験及び DMT01 試験では、ジストロフィン遺伝子のエクソン 53 に NS-065/NCNP-01 との二重鎖形成を損なう可能性がある DNA 多型が存在しないこととしており、さらに DMT01 試験では、被験者由来細胞での NS-065/NCNP-01 の *in vitro* アッセイの結果、ジストロフィン mRNA でのエクソン 53 スキッピング及びジストロフィンタンパクの発現が確認されていることとした。

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。その結果、DMT01 試験には自立歩行可能な患者が 10 例中 3 例組み入れられた。

その他の選択基準は、201 試験ではスクリーニング時に臨床検査値が臨床的に問題ない値であること及び運動機能（TTSTAND、TTRW 及び TTCLIMB）を実施可能であることが確認されていること、P1/2 試験及び DMT01 試験では心電図に異常がないこと（標準 12 誘導心電図において QTc が 450 msec 未満）であった。

表 2.7.3.1.2-1 主な選択基準

	201 試験	P1/2 試験	DMT01 試験
性別	男	男	男
年齢	同意取得時 4 歳以上かつ投与開始時 10 歳未満	5 歳以上 18 歳未満 （同意取得時）	5 歳以上 18 歳未満 （同意取得時）
歩行可否	補助機器なしで独立歩行可能	問わない	原則、自力歩行が不可能な患者（被験者の組み入れ状況により、自力歩行が可能な患者の組み入れも可）
対象疾患	DMD	DMD	DMD
DMD 診断	以下に定義される DMD の確定診断を受けた患者 エクソン 53 スキッピングによりジストロフィン mRNA リーディングフレームを修復可能な DMD 変異（明確に定義されたエクソン境界の決定を含む）がジストロフィン遺伝子で確認されている（MLPA 法、CGH 法など）。	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患者（エクソン 43-52、45-52、47-52、48-52、49-52、50-52、52 欠失等）。 変異の確認は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による（MLPA 法）。	ジストロフィン遺伝子のエクソン 53 スキッピングによって、イン・フレーム欠失に修正可能なアウト・オブ・フレーム欠失が確認されている患者（仮登録時）。ただし当該変異の確認が、ジストロフィン遺伝子の全エクソンコピー数変化を検出できる検査に基づかない場合、本登録時までにこれらの検査で再確認されていること（MLPA 法、CGH 法など）。
	DMD の臨床的徴候が認められる	－	－
	－	ジストロフィン遺伝子のエクソン 53 に、NS-065/NCNP-01 との二重鎖形成を損なう可能性がある DNA 多型が存在しない患者	ジストロフィン遺伝子エクソン 53 の DNA シーケンスにより、NS-065/NCNP-01 との二重鎖形成を損なう可能性がある DNA 多型性が存在しない患者
	－	－	被験者由来細胞における NS-065/NCNP-01 の *in vitro* アッセイの結果、ジストロフィン mRNA でのエクソン 53 スキッピング及びジストロフィンタンパク質の発現が確認されている患者
臨床検査	スクリーニング時の臨床検査値が標準範囲内であるか、異常の場合は治験責任医師により臨床的に意義のない異常であると評価されている	－	－
運動機能	スクリーニング時に臨床評価者により、TTSTAND、TTRW 及び TTCLIMB を実施可能であることが確認されている	－	－
心機能	－	標準 12 誘導心電図において QTc が 450 msec 未満（Fridericia の補正に基づく） （なお、脚ブロックが認められる場合は QTc が 480 msec 未満）	標準 12 誘導心電図において QTc が 450 msec 未満 （なお、脚ブロックが認められる場合は QTc が 480 msec 未満）
ステロイド使用	少なくとも試験組み入れの 3 ヵ月前から GC を用量変更せずに使用している。また、試験期間中も用量変更の予定がないこと	－	ステロイドを併用している患者においては、仮登録以降、ステロイドの用法･用量に著しい変更がないと予想される患者

（2） 除外基準の比較

201 試験、P1/2 試験及び DMT01 試験の主な除外基準を表 2.7.3.1.2-2 に示す。

P1/2 試験及び DMT01 試験は、過去にジストロフィン又は類縁物質の発現回復を目的とした治験へ参加した患者を除外した。

いずれの試験も心肺機能が低下している患者は除外しており、除外基準は、201 試験では心筋症の徴候が認められた患者、P1/2 試験及び DMT01 試験では努力性肺活量（FVC）が予想値の 50%未満、心エコー検査による左室駆出率（LVEF）が 40%未満あるいは左室内径短縮率（FS）が 25%未満の患者、重度の心筋症の患者とした。

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、DMT01 試験ではさらに重度の感染症の患者を除外した。3 試験共に B 型肝炎ウイルス表面（HBs）抗原、C 型肝炎ウイルス（HCV）抗体、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。

201 試験は投与開始前 4 週間以内に急性疾患に罹患している患者、P1/2 試験及び DMT01 試験は免疫不全又は自己免疫疾患を有する患者を除外した。

表 2.7.3.1.2-2 主な除外基準

201 試験 [a]	P1/2 試験	DMT01 試験
－	過去にリードスルー、エクソンスキッピング療法、ユートロフィン過剰発現療法、遺伝子治療等のジストロフィン又は類縁物質の発現回復を目的とした治験への参加歴のある患者	過去にリードスルー、エクソンスキッピング療法、ユートロフィン過剰発現療法等のジストロフィンタンパク又は類縁物質の発現回復を目的とした治験への参加歴のある患者
－	FVC が予想値の 50%未満の患者	FVC が予測値の 50%未満の患者
－	心エコー検査による LVEF が 40%未満あるいは FS が 25%未満の患者	心エコー検査による LVEF が 40%未満あるいは FS が 25%未満の患者
心筋症の徴候が認められる患者（調査時に、無症候性の心臓異常の場合は除く）	重度の心筋症を有し、治験責任医師が本治験の対象として適切でないと判断した患者	活動性又はコントロール不能な感染症、心筋症、肝疾患及び腎疾患を有する患者
	重度の肝又は腎疾患を有し、治験責任医師が本治験の対象として適切でないと判断した患者	
HBs 抗原、HCV 抗体又は HIV 抗体が陽性である患者	HBs 抗原、HCV 抗体又は HIV 抗体が陽性である患者	HBs 抗原、HCV 抗体、HIV 抗体が陽性である患者
投与開始前 4 週間以内に急性疾患に罹患している患者（治験責任医師の判断）	－	－
－	免疫不全又は自己免疫疾患を有する患者	免疫不全又は自己免疫疾患を有する患者
治験薬に対して重度のアレルギー又は過敏症を有する患者	重篤な薬剤過敏症の既往歴のある患者	重篤な薬剤過敏症の既往歴のある患者

a：スクリーニング及び/又は Day1 の期間であれば、治験責任医師の判断により、持続性及び再現性を判定するためいずれのパラメータ/試験も繰り返すことができた。また、上気道炎のような一過性の症状により不適格となった場合は、再スクリーニングが可能であった。

（3） 前治療及び併用療法に関する規定の比較

前治療及び併用療法に関する規定を表 2.7.3.1.2-3 に示す。

201 試験は、医療上必要な場合を除き、併用薬の使用を必要最低限に抑えることとした。P1/2 試験では、有効性評価に影響を及ぼす可能性がある、ホスホジエステラーゼ（PDE）5 阻害剤、イデベノン、コエンザイム Q10 製剤、レスベラトロール製剤、筋肉増強ステロイド及びアデノシン三

リン酸二ナトリウム水和物製剤の併用を禁止し、DMT01 試験では、イデベノン、コエンザイム Q10 製剤及びシトクロム P450（CYP）1A2 で代謝される薬剤の併用を禁止した。

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 GC 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･用量を著しく変更する予定がある患者の組み入れを禁止した。

また、3 試験共に、治験開始 3 ヵ月前から治験終了までの手術を禁止した。理学療法等については、201 試験及び P1/2 試験では治験中の新たな開始を禁止し、P1/2 試験ではさらに治験開始 3 ヵ月前から理学療法等の内容や頻度を変えないこととした。

表 2.7.3.1.2-3 前治療及び併用療法に関する規定

	201 試験	P1/2 試験	DMT01 試験
併用薬	医療上必要な場合を除き、併用薬の使用の変更を必要最低限に抑えることを推奨した。	治験薬の薬効評価に影響を及ぼすと考えられる下記の薬剤は同意取得時から後観察期終了時まで併用禁止とした。 ・PDE5 阻害剤 ・イデベノン ・コエンザイム Q10 製剤 ・レスベラトロール製剤 ・筋肉増強ステロイド（オキセンドロン） ・アデノシン三リン酸二ナトリウム水和物製剤	仮登録後から最終観察（投与後筋生検の 1 週間後）まで、下記の薬剤及び治療を禁止した。 ・イデベノン ・コエンザイム Q10 製剤 ・テオフィリン等の CYP1A2 で代謝される薬剤
ステロイド	医療上必要な場合を除き、GC の変更を必要最低限に抑えることを推奨した。 〈選択基準〉 少なくとも試験組み入れの 3 ヵ月前から GC を用量変更せずに使用している。また、試験期間中も用量変更の予定がないこととした。	全身性コルチコステロイド剤は、治療期開始 90 日前から後観察期終了時までは用法・用量を変更せずに使用することとした。ただし、体重の変動による増減、全身性コルチコステロイド剤による副作用の発現等、臨床上必要な場合には用法・用量の変更を可能とした。 治験期間中に全身性コルチコステロイド剤による新たな治療は開始しないこととした。また、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。	仮登録後から最投与後筋生検までステロイドの用法・用量の変更はしないこととした。
手術	〈除外基準〉 治験薬投与前 3 ヵ月以内に手術歴がある、又は治験期間中に手術を予定している患者。	本試験の評価に影響を及ぼす手術等の治療法は、治療期開始 90 日前から後観察期終了時までは禁止とした。	仮登録後から最終観察（投与後筋生検の 1 週間後）まで手術等の有効性、安全性の評価に影響を与える治療を禁止した。 〈除外基準〉 治験薬の投与開始前 3 ヵ月以内に手術を受けた患者及び仮登録後から最終観察（投与後筋生検の 1 週間後）までに手術を受ける予定の患者。

表 2.7.3.1.2-3 前治療及び併用療法に関する規定（続き）

	201 試験	P1/2 試験	DMT01 試験
理学療法等	試験期間中の新たな理学療法の開始、及びスケジュールの変更は禁止した。	本試験の評価に影響を及ぼす理学療法、運動療法等の治療法は、治療期開始 90 日前から後観察期終了時までは内容・頻度を変更せずに実施した。 治験期間中に新たに理学療法、運動療法は開始しないこととした。	－
他の治験薬	治験薬投与開始 3 ヵ月前から他の治験薬の使用を禁止した。	治験薬の薬効評価に影響を及ぼすと考えられる他の治験薬は、治療期開始 90 日前から後観察期終了時まで併用禁止とした。	仮登録後から最終観察（投与後筋生検の 1 週間後）まで他の治験薬の使用を禁止した。 〈除外基準〉 治験薬の投与開始前 3 ヵ月以内に他の治験薬又は試験薬の投与を受けた患者。
NS-065/NCNP-01 の治験	〈除外基準〉 過去に NS-065/NCNP-01 の治験に参加したことがある患者。	〈除外基準〉 過去に NS-065/NCNP-01 の治験に参加したことがある患者。	－

2.7.3.1.3 有効性評価項目

本申請の有効性評価に用いた 3 試験の有効性評価項目を表 2.7.3.1.3-1 に示す。

表 2.7.3.1.3-1 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

本剤の有効性には、ジストロフィンの発現、運動機能評価及び血清 CK 値の 3 種類の評価法があり、3 試験共に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 TTRW 及び 6 分間歩行試験（6MWT）を評価した。また、201 試験では TTSTAND（速度及び秒）、P1/2 試験では床上起き上がり時間（TTRF 速度）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。

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。201 試験では握力、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 試験では膝関節伸展、膝関節屈曲、股関節屈曲、股関節伸展、足関節背屈、足関節底屈を測定した。

運動機能評価の測定時期は、201 試験では 12 週後（Week13）と 24 週後（Week 25）、P1/2 試験では 12 週後（V12-13）と 24 週後（V24-26）と同様であった。

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。

201 試験の主要評価項目は、最初のプロトコール（2016 年 3 月 24 日）（5.3.5.1-1 16.1.1 Protocol and Protocol Amendments）では「質量分析によるジストロフィン発現」であったが、プロトコール Amendment 5（2017 年 10 月 30 日）（5.3.5.1-1 16.1.1 Protocol and Protocol Amendments）で「ウェスタンブロットによるジストロフィン発現」に変更した。

[redacted] meeting（[redacted] 年 [redacted] 月）において、[redacted] ことは、[redacted] こと、また、[redacted] ことに FDA と合意しており、最初のプロトコールでは主要評価項目を質量分析によるジストロフィン発現とした。

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、治験依頼者は、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い旨を FDA に申し出、[redacted] meeting（[redacted] 年 [redacted] 月）により FDA の合意を得た。

ジストロフィンの測定について詳細を以下に記載する。なお、各試験の測定法バリデーションについては、2.7.1 項に記載した。

2.7.3.1.3.1 ウェスタンブロットによるジストロフィン測定

ウェスタンブロットは、201 試験では[redacted]年[redacted]月に実施した FDA との[redacted] meeting において測定方法等に関して議論を行った上で、測定系を構築した。2 種類（ミオシン重鎖及び α-アクチニン）のリファレンスタンパク質を用いて内部標準化し、ゲルごとに検量曲線を作成して評価した。

P1/2 試験では、2 つの方法（旧法及び新法）で測定を行った。旧法は前相の DMT01 試験を参考に、免疫蛍光染色と同様、スペクトリンをリファレンスタンパク質として測定し、正常対照のジストロフィン/スペクトリン比を基準として評価した。旧法では定量下限が[redacted]%（正常対照を 100%とした場合）であり、より低い定量下限の測定法で測定する必要があった。また、ジストロフィン発現量の定量性が重視されることを考慮し、ゲルごとに検量線を作成することとした。これらを踏まえ、感度及び定量性を向上させた新たなウェスタンブロット（新法）（定量下限：1%）を構築した。

201 試験及び P1/2 試験（旧法、新法）の評価に使用されたウェスタンブロットについて表 2.7.3.1.3.1-1 に示す。

表 2.7.3.1.3.1-1 201 試験及び P1/2 試験のウェスタンブロットの比較

	201 試験	P1/2 試験	
		旧法	新法
希釈液､ネガティブコントロール	DMD 患者の筋肉ライセート	サンプルバッファー	DMD 患者の筋肉ライセート（投与前の 3 症例混合）
正常対照	5 例分の DMD/BMD でない正常対照（3、8、13、14、32 歳）を混合	61 歳 男性 前脛骨筋	61 歳 男性 前脛骨筋
標準サンプル	正常対照の[redacted]%ゲルごとに作成	正常対照：4 µg	正常対照の[redacted]%ゲルごとに作成
定量下限	1%	0.5 µg（12µg を 100%とした場合、[redacted]%）（バリデーション試験の結果）	1%
標準曲線	2 次曲線	-	[redacted]
主な適合基準	正常対照の 1%のシグナルが DMD のみ（0%）よりも高い	デフォルト設定でのバンド自動検出 ジストロフィン/スペクトリン比の CV（n=3）が[redacted]%以内	回帰直線：R^2>0.95 正常対照の 1%のシグナルがネガティブコントロール(0%)よりも高い
泳動した総タンパク量	50 µg	正常対照：4 µg DMD：12 µg	12 µg
検体の盲検化	実施	未実施	実施
ローディングコントロール	α-アクチニン ミオシン重鎖	スペクトリン	α-アクチニン
標準化	ジストロフィン/α-アクチニン ジストロフィン/ミオシン重鎖	ジストロフィン/スペクトリン	なし
抗ジストロフィン抗体	ab15277（C 末端領域を認識）	ab15277（C 末端領域を認識）	ab15277（C 末端領域を認識）

2.7.3.1.3.2 免疫蛍光染色によるジストロフィン測定

免疫蛍光染色は、201 試験ではジストロフィン、ラミニン α2 及び α-サルコグリカンを染色することで評価を行った。ジストロフィンとラミニン α2 の同時染色により染色された筋線維を計測し、ジストロフィン陽性筋線維の割合を評価した。α-サルコグリカンは、筋線維膜においてジスト

ロフィンと共局在するジストロフィン関連タンパク質であり、ジストロフィンの局在の確認に用いた。

P1/2 試験では、筋線維膜上でジストロフィンと共局在するスペクトリンをリファレンスタンパク質として定め、両者を二重免疫蛍光染色後、画像解析ソフトウェアを用いて筋線維の同定及び輝度の計測を行い、正常検体（正常ヒト骨格筋組織）のジストロフィン/スペクトリン比が約 1 となる条件下での被験者検体におけるジストロフィンの発現量を相対的に定量した。

2.7.3.1.3.3 質量分析によるジストロフィン測定

高速液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析（LC-MS/MS）は 201 試験のみで実施し、^{13}C、^{15}N で標識したアミノ酸（$^{13}C_6$, $^{15}N_2$-リジン及び $^{13}C_6$-アルギニン）を含む培地で筋管細胞の培養を行い、stable isotope labelling by amino acids in cell culture（SILAC）を作製し使用した。SILAC を添加した筋ライセートを電気泳動した後、分子量に従い該当部分のゲルを切り出し、ゲル内でトリプシン消化を行い、ジストロフィンをペプチド断片に分解した。SILAC 由来及び臨床検体由来のジストロフィンペプチド断片を LC-MS/MS により測定し、フィラミン C で標準化して値を算出した。

2.7.3.1.4 統計解析方法

2.7.3.1.4.1 海外第 II 相試験（NS-065/NCNP-01-201 試験）

ランダム化された被験者のうち、治験薬を 1 回以上投与され、ベースライン及びベースライン後に 1 つ以上の有効性評価を有する被験者を modified intention to treat（mITT）とした。mITT は割り付けられた投与群で解析され、有効性の主要な解析対象集団とした。ベースラインは Day1 の治験薬投与前の最終の測定値とした。

なお、本試験では以下のグループについて評価を行っており、有効性に関してはグループ B 又は mITT 全体で評価した。

グループ A：
グループ A はプラセボを最初に 4 週間投与される被験者 4 例（グループ 1：プラセボ投与後に 40 mg/kg を投与される被験者 2 例、グループ 3：プラセボ投与後に 80 mg/kg を投与される被験者 2 例）、40 mg/kg を 24 週間投与される被験者 6 例（グループ 2）及び 80 mg/kg を 24 週間投与される被験者 6 例（グループ 4）の比較として計画したが、実際はプラセボ群 5 例（グループ 1 : 2 例、グループ 3 : 3 例）、40 mg/kg 群（グループ 2）6 例、80 mg/kg 群（グループ 4）5 例であった。グループ A は、最初の 4 週間での安全性パラメータの変化を要約することを目的とした。グループ A の解析では Period 1（+ ベースライン）に収集したデータのみが含まれた。

グループ B：
グループ B は 2 つの用量群（グループ 1+2、グループ 3+4）でグループ化し、最初の 4 週間を除く全ての安全性評価及び全ての期間の有効性評価に適用された。グループ B の解析では Period 2（+ ベースライン）に収集したデータのみが含まれた。

（1） 欠測値及び外れ値の取扱い

全ての欠測又は一部のみのデータは、eCRF の記録の通り被験者ごとの一覧表に示した。特に記載がない場合、欠測値の補填は行わなかった。

運動機能評価において TTSTAND、TTCLIMB、TTRW は速度で示されるが、疾患の進行により評価を行うことができなかった場合、最初の visit のみ 0 として取り扱い、その後の visit でも評価を行うことができなかった場合は欠測とした。QMT について、Visit ごとに利き手、非利き手及び両側の高値で解析した。

（2） 主要評価項目

ベースライン及び投与 24 週間後の筋生検におけるジストロフィンタンパクの正常対照に対する発現割合をウェスタンブロットの測定結果から算出した。

連続値について記述的にデータを要約し、初回投与前、全 24 週間の投与後（本剤投与 24 回又はプラセボ投与 4 回+ 本剤投与 20 回）である 25 週完了時に収集したデータについて提示した。ベースラインから投与 24 週間後までの変化量を要約した。

ウェスタンブロット法によるジストロフィンタンパクの正常対照に対する発現割合について、グループ B の各用量群の被験者内変化を対応のある t 検定で検定し、次に 2 標本 t 検定を用いて 2 用量群間の変化量を比較した。さらにグループ B の全被験者について、被験者内変化を対応のある t 検定を用いて検定した。検定ごとに P 値と両側 95%信頼区間（CI）を示した。

（3） 副次評価項目

ウェスタンブロット法のデータと同様の解析方法を副次的評価項目である、RT-PCR 法によるジストロフィン mRNA のエクソンスキッピング効率（質量濃度比、モル濃度比）、免疫蛍光染色法によるジストロフィンタンパクの発現［陽性筋線維、染色強度（ラミニン α-2 及び α サルコグリカンで標準化）］、質量分析によるジストロフィンタンパクの正常対照に対する発現割合に適用した。

時間機能検査については、TTSTAND、TTCLIMB、及び TTRW の時間の結果を速度に変換し、時間及び速度の結果を記述的に提示した。各 Visit における実測値及びベースライン値からの変化量をグループ B の用量群別及び全被験者で記述的に要約した。NSAA については、合計スコア（すべてのサブスコアが利用可能な場合）と各サブスコアの両方を記述的に要約した。QMT では、各筋肉群について Visit ごとに利き手、非利き手及び両側の高値で解析した。時間機能検査及び筋力検査（速度を含む）の変化量について、グループ B の各用量群の被験者内変化を対応のある t 検定で検定し、2 標本 t 検定を用いて 2 用量群間の変化量を比較した。さらにグループ B の全被験者について、被験者内変化を対応のある t 検定を用いて検定した。TTSTAND、TTRW、及び TTCLIMB 検査では、時間から速度に変換した値は正規分布により近似すると想定した。なお、速度への変換においては、変換前の値が疾患進行に伴って欠測した場合、最初に生じた来院時のみ 0 とし、それ以降は欠測とした。検定ごとに P 値と両側 95%信頼区間を示した。NSAA については、合計スコアのみを推定統計量の算出に使用した。

《自然歴との比較》

時間機能検査及び筋力検査の結果を、ベースライン時の背景因子及び評価項目が同程度であった CINRG DNHS の患者集団（N=65）の結果と比較した。CINRG DNHS 患者を選択し、統計解析計画を最終化した後、ベースライン後のデータを解析に利用できるようにした。

TTSTAND、TTCLIMB、6MWT、NSAA 及び QMT の結果について、NS-065/NCNP-01-201 試験用量群と CINRG DNHS 患者群との間で、治療群、来院週、来院週と治療の交互作用を因子とし、NS-065/NCNP-01-201 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 mixed model for repeated measures（MMRM）解析により、ベースラインからの変化量を比較した。

実測値及びベースラインからの変化量について、NS-065/NCNP-01-201 試験のグループ B の各用量群及び全患者ならびに、CINRG DNHS のエクソン 53 スキッピング治療対象患者（N=9）、CINRG DNHS エクソン 53 スキッピング治療対象でない患者（N=56）及び全患者（N=65）で、記述統計量を算出した。これらの有効性評価指標は、NS-065/NCNP-01-201 試験のグループ B の各用量群及び全患者と CINRG DNHS の 3 つのコホートを比較し、線形混合効果モデルによる最小二乗平均（LSM）、95%CI 及び P 値を用いて検討された。上記 NS-065/NCNP-01-201 試験と同様のエンドポイントを示した。

被験者内分散共分散行列には、無構造（UN）を用いた。この解析が収束しなかった場合、赤池の情報基準（AIC）を用いて、複合対称構造（CS）及び 1 次自己回帰構造［AR（1）］から最良の共分散構造を選択した。分母の自由度は Kenward-Roger 近似を用いて推定した。最も注目する治療比較は、25 週時の NS-065/NCNP-01-201 試験用量群と CINRG DNHS 患者間の LSM の比較であった。

検定はいずれも両側とし、P 値が≦0.05 となる差を統計学的に有意であるとみなした。

多重性の調整は行わず、多重検定法も実施しなかった。

2.7.3.1.4.2 国内第 I/II 相試験（NS065/NCNP01-P1/2 試験）

有効性の主解析集団は full analysis set（FAS）とした。主要評価項目については、参考までに per protocol set（PPS）でも同様の解析を実施することとしていたが、本試験では解析から除外された被験者はおらず、FAS と PPS は同じであった。

有意水準は両側 5%、信頼係数は両側 95%とした。

（1） ベースライン（投与前値）及び時期の取扱い

ジストロフィンの発現、エクソン 53 スキッピング効率、運動機能評価については V-1 を血清 CK 値については V1a をベースライン値とした。当該時点にデータが存在しない場合は、投与開始時点に一番近いデータをベースライン値とした。

各測定値の時点（Visit）については、収集された通りの時点として取り扱った。特定の測定値について、1 つの時点に複数のデータが存在する場合、基準日に近い方のデータを採用した。基準日からの期間が同一の場合は前値を採用した。

Visit	V-3	V-2	V-1	V1a	V1b	V1c	V2	V3	V4	V5	V6
基準日	-22	-14	-7	1	2	3	8	15	22	29	36

Visit（続き）	V7	V8	V9	V10	V11	V12	V13	V14	V15	V16
基準日（続き）	43	50	57	64	71	78	85	92	99	106

Visit（続き）	V17	V18	V19	V20	V21	V22	V23	V24	V25	V26
基準日（続き）	113	120	127	134	141	148	155	162	169	176

V1a：初回投与日

（2） 欠測値及び外れ値の取扱い

- 欠測による値の補填は行わなかった。ただし、投与開始以降に疾患進行のために被験者が有効性評価を行うことができなかった場合（副次評価項目　筋力検査において、該当する対象筋のデータが全て除外された場合も含む）、当該評価における最初の Visit の値を 0 として取り扱い（副次評価項目　Timed Up & Go test、TTRF、TTRW は、速度の値を 0 として取り扱った）、その後の Visit における欠測は補填しないこととした。
- 定量下限値未満を示した測定値については、定量下限値の 1/2 として取り扱った。定量上限値以上を示した測定値については、定量上限値として取り扱った。ただし、ウェスタンブロット（新法）による測定値が定量下限値未満であった場合については、外挿値を用いた参考値を用いて集計を行った。

（3） 主要評価項目

以下のジストロフィンの発現及びエクソン 53 スキッピング効率の各項目について、投与前と投与後（V12-13、V24-26）の変化量を評価した。

・免疫蛍光染色

①ジストロフィン/スペクトリン蛍光輝度比（撮像領域ごと及び筋線維ごと）

②ジストロフィン陽性筋線維数の割合

・ウェスタンブロット

③ジストロフィン/スペクトリン定量値の比（旧法）

④ジストロフィン定量値（新法）

・RT-PCR

⑤エクソン 53 スキッピング効率（質量濃度比）

⑥エクソン 53 スキッピング効率（モル濃度比）

- 被験者別及び投与群別に時点ごとの記述統計量を求め、被験者別並びに投与群別の平均値±標準偏差を図示した。投与前後の差について投与群別に時点ごとの記述統計量を求めた。
- 投与前後の比較として、被験者ごとに対応のない t 検定を、投与群ごとに対応のある t 検定を行った（ただし、②については、被験者ごとの前後比較を行わなかった）。
- 投与群間の比較として、対応のない t 検定及び投与群に加えて筋生検実施時期（V12-13、V24-26）を因子とした二元配置分散分析を行った。

- ③及び④については、正常対照で標準化した値を使用した。なお、③と④は測定方法が異なるため、呼称を「旧法」及び「新法」と区別して、集計・解析を行った。
- ③について、測定値が NC（not calculated）となった場合でも、参考値が存在する場合は、参考値を用いて集計を行った。
- ④については、参考値となった値を用いた解析を行った［5.3.5.1-2 16.1.9 ウェスタンブロッティング（新法）最終報告書（CL-065-109）別添 2、8 項 10）及び 11.1 項 2）参照］。
- ②の算出においては、以下の計算式を用いて導出した。

$$\text{ジストロフィン陽性筋線維の割合}(\%) = \frac{\text{①D/S 比(筋線維ごと)} > P1_{NC}\text{である筋線維数}}{\text{計測した筋線維数}} \times 100$$

D/S 比：ジストロフィン/スペクトリン蛍光輝度比
$P1_{NC}$：正常対照の D/S 比（筋線維ごと）の 1 パーセンタイル値（※）
※ SAS 9.4 の UNIVARIATE プロシジャ PCTLDEF=4 オプションにより算出した

（4） 副次評価項目

以下の運動機能評価及び血清 CK 値の各項目について、投与前から投与終了後までの推移を評価した。

① 6MWT
②Timed Up & Go test
③TTRF
④TTRW
⑤筋力検査
膝関節伸展・屈曲、股関節屈曲・伸展、足関節背屈・底屈
⑥筋力検査（代償あり含む）
膝関節伸展・屈曲、股関節屈曲・伸展、足関節背屈・底屈
⑦血清 CK 値

- ②～④については、時間（秒）を速度（1/秒）に変換して解析を行った。
- ⑤及び⑥については、対象筋ごと、時点ごとに左右の最大値を当該時点の値として取り扱った。なお、最大値の算出の際、⑤は採用可能な測定値（「代償あり」及びコメントに評価に影響を及ぼす説明が記載されていたデータを除外した）を対象とし、⑥は全ての測定値を対象とした。
- 運動機能評価の各項目について、投与群別に時点ごとの記述統計量を求め、各個体値並びに投与群別の平均値±標準偏差を図示した。投与前後の差について投与群別に時点ごとの記述統計量を求めた。

2.7.3.1.4.3 国内第 I 相試験（NCNP/DMT01 試験）

有効性解析対象集団は、登録例のうち、本治験薬を未投与、重大な治験実施計画書違反及び有効性を解析すべきデータのない被験者を除く集団とした。

免疫蛍光染色におけるジストロフィン陽性筋線維数（%）及びジストロフィン／スペクトリン蛍光輝度の比、ウェスタンブロットにおけるジストロフィン／スペクトリン定量値の比、RT-PCR におけるジストロフィン mRNA のスキッピング効率について、被験者ごと及び用量ごとに、投与前及び投与後の筋生検時の記述統計量を算出し、（1）被験者ごとの投与前後の Welch の t 検定、（2）各被験者で得られた算術平均について用量ごとの投与前後の対応のある t 検定を行った（ジストロフィン陽性筋線維数については（2）のみ実施した）。また、投与前及び投与後筋生検の変化量については、用量間における傾向検定を Jonckheere-Terpstra 検定により行った。

血清 CK 値について、用量ごとに各被験者の検査時点ごとに推移図を作成した。本登録時、Day42 及び Day84 の血液生化学検査で得られた血清 CK 値について、本登録時と Day42、本登録時と Day84 及び Day42 と Day84 のそれぞれの時点間で対応のある t 検定を用量ごとに行った。

なお、有効性解析に用いた各検定の有意水準は 0.05 とした。

2.7.3.2 個々の試験結果の要約

2.7.3.2.1 海外第 II 相試験（試験番号 NS-065/NCNP-01-201、資料番号 5.3.5.1-1、評価資料）

DMD 患者を対象に、本剤 40 又は 80 mg/kg を投与した際の有効性、安全性及び薬物動態の検討を目的とした用量設定試験を海外 6 施設で実施した。対象は、エクソン 53 スキッピングにより治療可能なジストロフィン遺伝子の欠失が確認されている、4 歳以上 10 歳未満の自立歩行可能な DMD 患者とした。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（Period 1）と、それに続く 20 週間のオープンラベル期（Period 2）の計 24 週で構成された。また、有効性の運動機能評価を比較するために CINRG DNHS から自然歴群（DNHS）を比較対照群として設定した。

割り付けられた治験薬（プラセボ、NS-065/NCNP-01 40 又は 80 mg/kg）を 1 時間かけて、週 1 回、24 週間静脈内に投与した。Period 2 終了後、希望する被験者は延長試験（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。

本試験では、16 例（低用量コホート 8 例、高用量コホート 8 例）が登録された。低用量コホートでは本剤 40 mg/kg に 6 例及びプラセボに 2 例が、高用量コホートでは本剤 80 mg/kg に 5 例及びプラセボに 3 例がランダムに割り付けられ、最初の 4 週間投与された。その後、低用量コホート及び高用量コホート共に、全ての被験者にそれぞれの用量の実薬が 20 週間投与された（40 mg/kg：8 例、80 mg/kg：8 例）。

治験薬が投与された 16 例（40 mg/kg 群 8 例、80 mg/kg 群 8 例）が有効性解析対象集団である mITT であり、中止例はなく、全ての被験者が治験を完了した。DNHS は、65 例（エクソン 53 スキッピング群 9 例、非エクソン 53 スキッピング群 56 例）の患者が選択された。

主要評価項目はジストロフィンの発現（ウェスタンブロット）であり、副次評価項目はジストロフィンの発現（免疫蛍光染色、質量分析）、エクソン 53 スキッピング効率（RT-PCR）及び運動機能評価（時間機能検査、QMT）であった。

人口統計学的特性は、エクソン 53 スキッピング治療対象の DMD であるかどうか以外は、201 試験及び DNHS で概ね類似していた（表 2.7.6.1.3-1）。

本試験の有効性に関する結果の詳細は、2.7.6.1.4 項に示した。

（1） ジストロフィン測定

1） ウェスタンブロット

ウェスタンブロットによりジストロフィン（正常対照に対する割合）を測定した結果、ベースライン時と比較して 24 週投与後（25 週時）で、ジストロフィン発現量が高いことが示された（表 2.7.3.2.1-1）。

ベースライン時のジストロフィンの平均値は、ミオシン重鎖で標準化した場合、40 及び 80 mg/kg 群で 0.3%及び 0.6%であり、α-アクチニンで標準化した場合は、それぞれ 0.2%及び 0.4%であった。

25 週時でのベースラインからの変化量は、ミオシン重鎖で標準化した場合、40 及び 80 mg/kg 群で 5.4%及び 5.3%、α-アクチニンで標準化した場合は、それぞれ 5.2%及び 3.3%であった。いずれのリファレンスタンパクで標準化した場合も、全体及び両群において、投与前後のジストロフィン発現は統計学的に有意に増加した［ミオシン重鎖 : P=0.0004（40 mg/kg 群）、P=0.0123（80 mg/kg 群）、P<0.0001（全体）、α-アクチニン : P=0.0012（40 mg/kg 群）、P=0.0074（80 mg/kg 群）、P<0.0001（全体）、対応のある t 検定］。

用量群間では、投与前後のジストロフィン発現の変化量に差は認められなかった（ミオシン重鎖：P=0.9384、α-アクチニン：P=0.1658、対応のない t 検定）。

表 2.7.3.2.1-1 ウェスタンブロットによるジストロフィン発現－mITT－（P201 試験）

	標準化：ミオシン重鎖						標準化：α-アクチニン					
	グループ B 40 mg/kg (N=8)		グループ B 80 mg/kg (N=8)		合計 (N=16)		グループ B 40 mg/kg (N=8)		グループ B 80 mg/kg (N=8)		合計 (N=16)	
	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化
ベースライン												
平均値(SD)	0.3 (0.10)	－	0.6 (0.82)	－	0.4 (0.60)	－	0.2 (0.22)	－	0.4 (0.67)	－	0.3 (0.50)	－
中央値	0.3	－	0.4	－	0.3	－	0.1	－	0.2	－	0.2	－
最小、最大	0.1,0.4	－	0.1,2.6	－	0.1,2.6	－	0.0,0.6	－	0.0,2.1	－	0.0,2.1	－
Week 25												
平均値(SD)	5.7 (2.37)	5.4 (2.40)	5.9 (4.50)	5.3 (4.48)	5.8 (3.47)	5.4 (3.47)	5.4 (2.79)	5.2 (2.83)	3.7 (2.37)	3.3 (2.47)	4.5 (2.64)	4.2 (2.75)
中央値	4.9	4.6	4.0	3.8	4.6	4.3	4.5	4.3	3.3	2.7	4.3	3.9
最小、最大	3.2,10.3	2.8,10.0	1.1,14.4	0.7,13.9	1.1,14.4	0.7,13.9	2.0,10.4	1.7,10.2	0.7,8.0	0.3,8.0	0.7,10.4	0.3,10.2
95%CI	－	(3.44, 7.44)	－	(1.55, 9.04)	－	(3.52, 7.22)	－	(2.84, 7.56)	－	(1.19, 5.33)	－	(2.76, 5.70)
P 値 [a]	－	0.0004	－	0.0123	－	<0.0001	－	0.0012	－	0.0074	－	<0.0001
95%CI(80 mg - 40 mg)[b]	(-3.99,3.71)				－	－	(-4.79,0.91)				－	－
P 値 [b]	0.9384				－	－	0.1658				－	－

%、SD：標準偏差、CI：信頼区間
筋生検が実施された visit ごとに、3 回の測定結果を平均した。結果は正常対照に対する割合を示す。
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：用量群ごとに、ベースラインからの変化を確認するため、対応のある t 検定を用いた。
b：80 mg/kg 群と 40 mg/kg 群各々のベースラインからの変化が異なるかどうかを検討するため、対応のない t 検定を用いた。

［5.3.5.1-1 Table 21 を引用］

2） 免疫蛍光染色

免疫蛍光染色した筋生検スライド標本を用い、ジストロフィンを発現している筋線維の割合を解析した結果、ジストロフィン発現の割合は、16 例全例でベースライン時と比較して 25 週時で増加していた（表 2.7.3.2.1-2）。

ベースライン時のジストロフィン陽性筋線維の平均値は、40 及び 80 mg/kg 群でそれぞれ 1.5%及び 1.8%であった。

25 週時でのベースラインからの変化量の平均値は、40 mg/kg 群で 12.8%、80 mg/kg 群で 33.0%であり、両群共にジストロフィン発現は統計学的に有意に増加した［P=0.0028（40 mg/kg 群）、P=0.0026（80 mg/kg 群）、P=0.0002（全体）、対応のある t 検定］。用量群間では、投与前後のジストロフィン発現の変化量に統計学的な有意差が認められた（P=0.0282、対応のない t 検定）。

表 2.7.3.2.1-2 免疫蛍光染色によるジストロフィン陽性筋線維－mITT－（P201 試験）

	グループ B 40 mg/kg (N=8)		グループ B 80 mg/kg (N=8)		合計 (N=16)	
	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化
ベースライン						
平均値(SD)	1.5 (0.98)	--	1.8 (2.36)	--	1.7 (1.75)	--
中央値	1.8	--	0.9	--	1.1	--
最小、最大	0.2, 2.5	--	0.1, 6.8	--	0.1, 6.8	--
Week 25						
平均値(SD)	14.2 (7.77)	12.8 (8.05)	34.8 (20.42)	33.0 (20.43)	24.5 (18.32)	22.9 (18.28)
中央値	13.1	11.3	27.9	26.9	16.8	15.0
最小、最大	6.2, 32.2	4.0, 31.5	15.5, 72.2	8.8, 68.1	6.2, 72.2	4.0, 68.1
95%CI	--	(6.04,19.49)	--	(15.91,50.06)	--	(13.14,32.61)
P 値 [a]	--	0.0028	--	0.0026	--	0.0002
95%CI (80 mg–40 mg)[b]	(2.69, 37.74)				--	--
P 値 [b]	0.0282				--	--

%、SD：標準偏差、CI：信頼区間
筋生検が実施された visit ごとに、2 回の測定結果を平均した。結果は BMD 1 サンプルのジストロフィン陽性筋線維をおよそ 80%と設定した際の数値を示す。正常対照はおよそ 100%を示す。
a：用量群ごとに、ベースラインからの変化を確認するため、対応のある t 検定を用いた。
b：80 mg/kg 群と 40 mg/kg 群各々のベースラインからの変化が異なるかどうかを検討するため、対応のない t 検定を用いた。

［5.3.5.1-1 Table 23 を引用］

3） 質量分析

LC-MS/MS によりジストロフィン（正常対照に対する割合）を定量したところ、ベースライン時と比較して投与開始 24 週後で、ジストロフィン蛋白の発現量が高いことが示された（表 2.7.3.2.1-3）。25 週時でのベースラインからの変化量の平均値は、フィラミン C で標準化した場合、40 及び 80 mg/kg 群で 1.5%及び 3.7%あり、両群共に投与前後のジストロフィン発現は統計学的に有意に増加した［P=0.0061（40 mg/kg 群）、P=0.0300（80 mg/kg 群）、P=0.0030（全体）、対応のある t 検定］。用量群間では、投与前後のジストロフィン発現の変化量に差は認められなかった（P=0.1649、対応のない t 検定）。

表 2.7.3.2.1-3　LC-MS/MS によるジストロフィン発現－mITT－（P201 試験）

	グループ B 40 mg/kg (N=8)		グループ B 80 mg/kg (N=8)		合計 (N=16)	
	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化
ベースライン						
平均値(SD)	0.5 (0.15)	－	0.6 (0.19)	－	0.6 (0.17)	－
中央値	0.6	－	0.6	－	0.6	－
最小、最大	0.2, 0.8	－	0.2, 0.9	－	0.2, 0.9	－
Week 25						
平均値(SD)	2.1 (1.09)	1.5 (1.11)	4.2 (3.73)	3.7 (3.81)	3.1 (2.88)	2.6 (2.93)
中央値	2.1	1.7	2.6	1.9	2.3	1.9
最小、最大	0.0, 3.3	-0.7, 2.7	1.3, 10.8	0.8, 10.5	0.0, 10.8	-0.7, 10.5
95%CI	－	(0.59, 2.44)	－	(0.47, 6.84)	－	(1.02, 4.14)
P 値 [a]	－	0.0061	－	0.0300	－	0.0030
95%CI (80 mg–40 mg)[b]	(-1.08, 5.37)				－	－
P 値 [b]	0.1649				－	－

%、SD：標準偏差、CI：信頼区間

a：用量群ごとに、ベースラインからの変化を確認するため、対応のある t 検定を用いた。

b：80 mg/kg 群と 40 mg/kg 群各々のベースラインからの変化が異なるかどうかを検討するため、対応のない t 検定を用いた。

［5.3.5.1-1 Table 22 を引用］

4）　RT-PCR

RT-PCR によるエクソンスキッピング効率（質量濃度比）において、NS-065/NCNP-01 の 40 及び 80 mg/kg 群と全体の 24 週投与後のベースラインからの変化量はいずれも増加し、統計学的に有意であった［P=0.0004（40 mg/kg 群）、P=0.0009（80 mg/kg 群）、P< 0.0001（全体）、対応のある t 検定］（表 2.7.3.2.1-4）。また、40 mg/kg 群と比較して 80 mg/kg 群で増加していた（ベースラインからの変化量：40 mg/kg 群 10.3%、80 mg/kg 群 31.0%、P=0.0077、対応のない t 検定）。

モル濃度（mmol/L）比で換算した場合も、24 週投与後のエクソン 53 スキッピング効率のベースラインからの変化量は、いずれの群においても統計学的に有意に増加した［P=0.0002（40 mg/kg 群）、P=0.0001（80mg/kg 群）、P<0.0001（全体）、対応のある t 検定］。また、40 mg/kg 群と比較して 80 mg/kg 群で増加していた（ベースラインからの変化量：40 mg/kg 群 17.4%、80 mg/kg 群 43.9%、P=0.0023、対応のない t 検定）。

表 2.7.3.2.1-4 RT-PCR によるエクソン 53 スキッピング効率－mITT－（P201 試験）

	質量濃度比						モル濃度比					
	グループ B 40 mg/kg (N=8)		グループ B 80 mg/kg (N=8)		合計 (N=16)		グループ B 40 mg/kg (N=8)		グループ B 80 mg/kg (N=8)		合計 (N=16)	
	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化
ベースライン												
平均値(SD)	0.0 (0.00)	--	0.0 (0.00)	--	0.0 (0.00)	--	0.0 (0.00)	--	0.0 (0.00)	--	0.0 (0.00)	--
中央値	0.0	--	0.0	--	0.0	--	0.0	--	0.0	--	0.0	--
最小、最大	0, 0	--	0, 0	--	0, 0	--	0, 0	--	0, 0	--	0, 0	--
Week 25												
平均値(SD)	10.3 (4.55)	10.3 (4.55)	31.0 (15.98)	31.0 (15.98)	20.7 (15.58)	20.7 (15.58)	17.4 (7.17)	17.4 (7.17)	43.9 (16.68)	43.9 (16.68)	30.6 (18.45)	30.6 (18.45)
中央値	9.9	9.9	25.6	25.6	15.4	15.4	16.3	16.3	40.6	40.6	26.2	26.2
最小、最大	3.8, 15.5	3.8, 15.5	11.9, 59.6	11.9, 59.6	3.8, 59.6	3.8, 59.6	7.5, 26.6	7.5, 26.6	21.9, 74.5	21.9, 74.5	7.5, 74.5	7.5, 74.5
95%CI	--	(6.52, 14.13)	--	(17.62, 44.35)	--	(12.35, 28.96)	--	(11.41, 23.40)	--	(29.91, 57.81)	--	(20.80, 40.46)
P 値 [a]	--	0.0004	--	0.0009	--	<0.0001	--	0.0002	--	0.0001	--	<0.0001
95%CI(80 mg –40 mg)[b]	(7.15,34.17)				--	--	(12.05,40.86)				--	--
P 値 [b]	0.0077				--	--	0.0023				--	--

%、SD：標準偏差、CI：信頼区間

a：用量群ごとに、ベースラインからの変化を確認するため、対応のある t 検定を用いた。

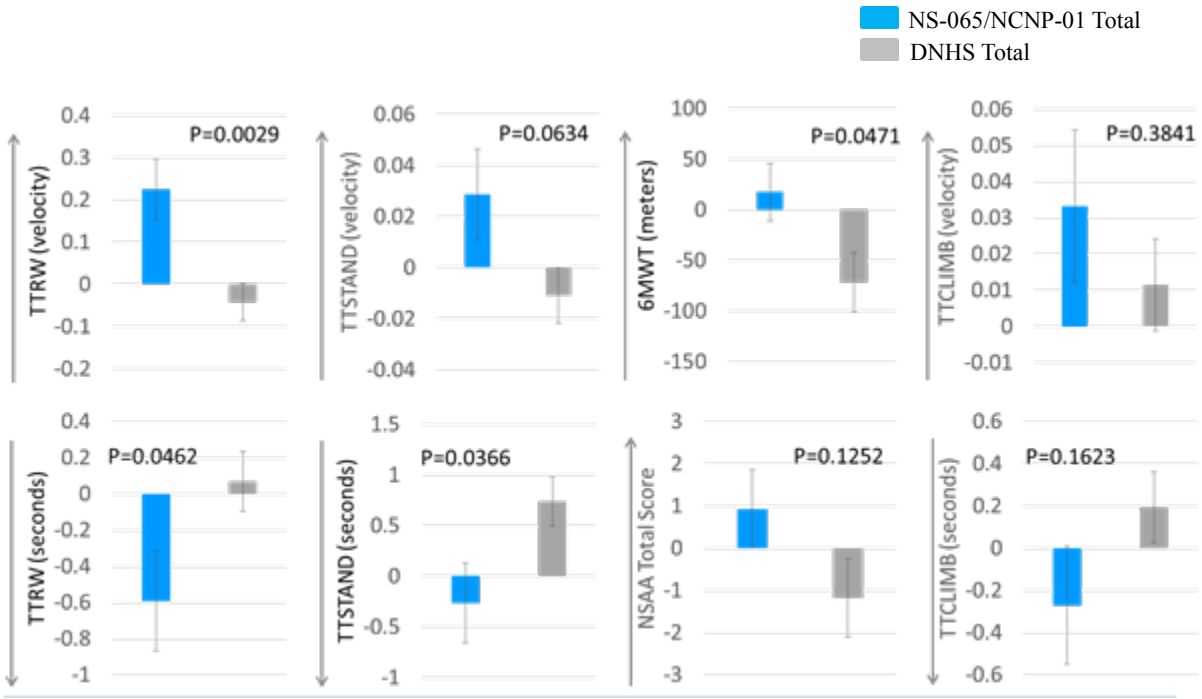
b：80 mg/kg 群と 40 mg/kg 群各々のベースラインからの変化が異なるかどうかを検討するため、対応のない t 検定を用いた。

［5.3.5.1-1 Table 25 を引用］

（2） 時間機能検査

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 2.7.3.2.1-1）。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ていた（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 2.7.3.2.1-1 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］

1） TTRW（速度）

NS-065/NCNP-01 群及び DNHS 群における、ベースライン及び 25 週時の TTRW（速度）の記述統計量を表 2.7.6.1.4.2-5 に示した。

ベースライン時の TTRW（速度）の平均値は、NS-065/NCNP-01 の 40、80mg/kg 群及び全体でそれぞれ 1.67 m/秒、1.88 m/秒及び 1.77 m/秒であった。ベースラインから 25 週時までの TTRW（速度）の変化量の平均値は、NS-065/NCNP-01 群では順に 0.21 m/秒、0.24 m/秒及び 0.23 m/秒であり、80 mg/kg 群及び全体では統計学的に有意な改善が認められた（80 mg/kg 群：P=0.0177、全体：P=0.0025、対応のある t 検定）。40 及び 80mg/kg 群の投与群間では、統計学的に有意な差は認められなかった。また、13 週時点でも同様な傾向が認められ、ベースラインからの変化量の平均値は順に 0.21 m/秒、0.26 m/秒及び 0.23 m/秒であり、80 mg/kg 群及び全体では統計学的に有意な改善が認められた（80 mg/kg 群：P=0.0263、全体：P=0.0028、対応のある t 検定）（5.3.5.1-1 Table14.2.8.2）。

DNHS では、ベースライン時の TTRW（速度）の平均値は、エクソン 53 スキッピング群、非エクソン 53 スキッピング群及び全体でそれぞれ 1.92 m/秒、1.90 m/秒及び 1.91 m/秒であった。ベー

スラインから 25 週時までの TTRW（速度）の変化量の平均値は順に 0.08 m/秒、-0.05 m/秒及び-0.04 m/秒であった。

NS-065/NCNP-01 群と DNHS 全体を比較した結果、25 週時点の TTRW（速度）において、NS-065/NCNP-01 のいずれの群においても統計学的に有意な改善が認められた（40mg/kg 群：P=0.0365、80mg/kg 群：P=0.0132、全体：P=0.0029、MMRM）。

2） TTSTAND（速度）

NS-065/NCNP-01 群及び DNHS 群における、ベースライン及び 25 週時の TTSTAND（速度）の記述統計量を表 2.7.6.1.4.2-7 に示した。

ベースライン時の TTSTAND（速度）の平均値は、NS-065/NCNP-01 の 40、80 mg/kg 群及び全体でそれぞれ 0.26 rise/秒、0.25 rise/秒及び 0.25 rise/秒であった。ベースラインから 25 週時までの TTSTAND（速度）の変化量の平均値は、NS-065/NCNP-01 群ではいずれも 0.02 rise/秒であり、ベースライン時から有意な増加は認められなかった（40 mg/kg 群：P=0.4742、80 mg/kg 群：P=0.2926、全体：P=0.2140、対応のある t 検定）。

DNHS では、ベースライン時の TTSTAND（速度）の平均値は、エクソン 53 スキッピング群、非エクソン 53 スキッピング群及び全体でそれぞれ 0.23 rise/秒、0.21 rise/秒及び 0.22 rise/秒であった。ベースラインから 25 週時までの TTSTAND（速度）の変化量の平均値は順に 0.10 rise/秒、-0.02 rise/秒及び-0.01 rise/秒であった。

NS-065/NCNP-01 群と DNHS 全体を比較した結果、25 週時点の TSTAND（速度）において、いずれの群においても統計学的に有意な差は認められなかった。

3） 6MWT

NS-065/NCNP-01 群及び DNHS 群における、ベースライン及び 25 週時の 6MWT の記述統計量を表 2.7.6.1.4.2-9 に示した。

ベースライン時の 6MWT の平均値は、NS-065/NCNP-01 の 40、80 mg/kg 群及び全体でそれぞれ 391.4 m、353.4 m 及び 372.4 m であった。ベースラインから 25 週時までの 6MWT の変化量の平均値は、NS-065/NCNP-01 群では順に 15.6 m、44.0 m 及び 28.9 m であり、80 mg/kg 群及び全体では統計学的に有意な改善が認められた（80 mg/kg 群：P=0.0323、全体：P=0.0082、対応のある t 検定）。40 及び 80 mg/kg 群の投与群間では、統計学的に有意な差は認められなかった。また、13 週時点でのベースラインからの変化量の平均値は順に 9.3 m、18.7 m 及び 13.7 m であり、改善傾向は認められたものの、いずれの投与群においても統計学的に有意ではなかった（5.3.5.1-1 Table14.2.9）。

DNHS では、ベースライン時の 6MWT の平均値は、エクソン 53 スキッピング群、非エクソン 53 スキッピング群及び全体でそれぞれ 428.4 m、403.2 m 及び 408.0 m であった。ベースラインから 25 週時までの 6MWT の変化量の平均値は順に 70.7 m、-90.0 m 及び-65.3 m であった。

NS-065/NCNP-01 群と DNHS 全体を比較した結果、25 週時点の 6MWT において、NS-065/NCNP-01 の全体で統計学的に有意な改善が認められた（P=0.0471、MMRM）。

4） TTCLIMB（速度）

NS-065/NCNP-01 群及び DNHS 群における、ベースライン及び 25 週時の TTCLIMB（速度）の記述統計量を表 2.7.6.1.4.2-10 に示した。

ベースライン時の TTCLIMB（速度）の平均値は、NS-065/NCNP-01 の 40、80 mg/kg 群及び全体でそれぞれ 0.27 task/秒、0.32 task/秒及び 0.30 task/秒であった。ベースラインから 25 週時までの TTCLIMB（速度）の変化量の平均値は、NS-065/NCNP-01 群では順に 0.07 task/秒、-0.00 task/秒及び 0.03 task/秒であり、いずれの群においても統計学的に有意な改善は認められなかった。

DNHS では、ベースライン時の TTCLIMB（速度）の平均値は、エクソン 53 スキッピング群、非エクソン 53 スキッピング群及び全体でそれぞれ 0.30 task/秒、0.27 task/秒及び 0.28 task/秒であった。ベースラインから 25 週時までの TTCLIMB（速度）の変化量の平均値は順に 0.17 task/秒、0.00 task/秒及び 0.01 task/秒であった。

NS-065/NCNP-01 群と DNHS 全体を比較した結果、25 週時点の TTCLIMB（速度）において、いずれの群においても統計学的に有意な差は認められなかった。

5） NSAA

NS-065/NCNP-01 群及び DNHS 群における、ベースライン及び 25 週時の NSAA 総スコアの記述統計量を表 2.7.6.1.4.2-12 に示した。

ベースライン時の NSAA の平均値は、NS-065/NCNP-01 の 40、80 mg/kg 群及び全体でそれぞれ 24.8、23.8 及び 24.3 であった。ベースラインから 25 週時までの NSAA の変化量の平均値は、NS-065/NCNP-01 群では順に 0.5、1.1 及び 0.8 であり、いずれも統計学的に有意な改善は認められず、用量群間の差もなかった。

DNHS では、ベースライン時の NSAA の平均値は、エクソン 53 スキッピング群、非エクソン 53 スキッピング群及び全体でそれぞれ 28.0、25.2 及び 25.7 であった。ベースラインから 25 週時までの NSAA の変化量の平均値は順に 1.5、-1.6 及び-1.1 であった。

NS-065/NCNP-01 群と DNHS 全体を比較した結果、25 週時点の NSAA において、いずれの群においても統計学的に有意な差は認められなかった。

（3） QMT

25 週時におけるベースラインからの QMT 変化の記述統計量を表 2.7.6.1.4.2-14 に示した。

NS-065/NCNP-01 群及び DNHS 群いずれも、ベースラインから 25 週時までの変化量は統計学的に有意ではなかった。また、NS-065/NCNP-01 群と DNHS 群を比較した結果、優位側膝関節屈曲において NS-065/NCNP-01 の全体で統計学的に有意な改善が認められた（P=0.0414、MMRM）。

（4） 被験者ごとの結果

被験者ごとの有効性の要約を表 2.7.3.6-2 に示す。

2.7.3.2.2 国内第 I/II 相試験（試験番号 NS065/NCNP01-P1/2、資料番号 5.3.5.1-2、評価資料）

DMD 患者を対象に、本剤 40 又は 80 mg/kg を投与した際の有効性、安全性及び薬物動態の検討を目的として、オープンラベルの用量設定試験を国内 5 施設で実施した。本試験の対象は、エクソン 53 スキッピングにより治療可能なジストロフィン遺伝子の欠失が確認されており、NS-065/NCNP-01 の標的配列に DNA 多型が存在しない 5 歳以上 18 歳未満の DMD 患者であり、自立歩行の可否は問わなかった。

割り付けられた治験薬（NS-065/NCNP-01 40 又は 80 mg/kg）を 1 時間かけて、週 1 回、24 週間静脈内に投与した。有害事象等の発現により安全性に問題があると治験責任（分担）医師が判断した場合は、適宜減量又は休薬することとした。

治験薬が投与された 16 例（40 mg/kg 群 8 例、80 mg/kg 群 8 例）が有効性解析対象集団である FAS 及び PPS であり、中止例はなく、全ての被験者が治験を完了した。

主要評価項目はジストロフィンの発現（ウェスタンブロット、免疫蛍光染色）及びエクソン 53 スキッピング効率（RT-PCR）、副次評価項目は運動機能評価（時間機能検査、QMT）、血清 CK 値であった。本試験の有効性に関する結果の詳細は、2.7.6.2.4 項に示した。

（1） ジストロフィン測定

被験者ごと及び投与群ごとのジストロフィン発現及びエクソン 53 スキッピング効率の要約を表 2.7.3.2.2-1 及び表 2.7.3.2.2-2 に示す。また、筋生検実施時期別の投与群ごとの結果を表 2.7.3.2.2-3 に示す。

表 2.7.3.2.2-1 被験者ごとのジストロフィンの発現及びエクソン 53 スキッピング効率の要約 －FAS－（P1/2 試験）

投与群	筋生検実施時期	被験者	免疫蛍光染色				ウェスタンブロット[a]		RT-PCR	
			ジストロフィン/スペクトリン蛍光輝度比(%)［撮像領域ごと］		ジストロフィン陽性筋線維数の割合(%)		ジストロフィン定量値(%)［新法］		エクソン 53 スキッピング効率(%)［モル濃度比］	
			変化量	P 値[b]	変化量	P 値	変化量	P 値[b]	変化量	P 値[b]
40 mg/kg	V12-13	[redacted]	-0.5	P=0.0013	0.2	－	0.759	P=0.0177	7.69	P=0.0041
			6.4	P<0.0001	1.1	－	0.136	P=0.2201	25.42	P=0.0098
			-3.9	P<0.0001	-0.0	－	0.368	P=0.0005	14.50	P=0.0213
			3.5	P=0.0085	-0.6	－	-6.083	P=0.0220	14.63	P=0.0153
	V24-26		-0.4	P=0.2238	0.6	－	3.231	P=0.0163	23.66	P<0.0001
			-2.8	P<0.0001	-0.4	－	0.225	P=0.0258	26.76	P=0.0002
			-1.2	P<0.0001	-0.2	－	0.014	P=0.8607	43.41	P<0.0001
			-1.1	P<0.0001	-0.0	－	2.364	P=0.0017	18.04	P=0.0001
80 mg/kg	V12-13		-3.6	P=0.0007	0.6	－	-0.201	P=0.2656	30.81	P=0.0007
			0.6	P=0.0034	0.3	－	2.195	P=0.1774	47.05	P=0.0003
			0.2	P=0.0007	-0.0	－	0.634	P=0.0022	27.56	P=0.0021
			-0.1	P=0.9025	0.5	－	0.385	P=0.0003	34.94	P<0.0001
	V24-26		12.1	P<0.0001	6.5	－	7.851	P=0.0026	61.36	P<0.0001
			2.2	P<0.0001	-0.0	－	6.421	P=0.0300	49.05	P=0.0005
			1.1	P=0.0379	2.1	－	0.687	P=0.0011	48.96	P<0.0001
			-0.4	P=0.1652	0.3	－	4.297	P=0.0029	39.41	P=0.0005

ウェスタンブロット（新法）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：正常対照に対する割合
b：対応のない t 検定

［5.3.5.1-2 表 11.1.1.1-1 を改変］

表 2.7.3.2.2-2 投与群ごとのジストロフィンの発現及びエクソン 53 スキッピング効率の要約 －FAS－（P1/2 試験）

投与群	免疫蛍光染色				ウェスタンブロット[a]		RT-PCR	
	ジストロフィン/スペクトリン蛍光輝度比(%)［撮像領域ごと］		ジストロフィン陽性筋線維数の割合(%)		ジストロフィン定量値(%)［新法］		エクソン 53 スキッピング効率(%)［モル濃度比］	
	変化量(SD)	P 値[b]	変化量(SD)	P 値[b]	変化量(SD)	P 値[b]	変化量(SD)	P 値[b]
全例	0.8 (4.0)	P=0.4510	0.7 (1.7)	P=0.1221	1.456 (3.132)	P=0.0827	32.08 (15.09)	P<0.0001
40 mg/kg	0.0 (3.4)	P=0.9949	0.1 (0.6)	P=0.6668	0.126 (2.769)	P=0.9009	21.77 (10.86)	P=0.0008
80 mg/kg	1.5 (4.6)	P=0.3770	1.3 (2.2)	P=0.1445	2.785 (3.051)	P=0.0364	42.40 (11.26)	P<0.0001
群間比較								
変化量	-1.5		-1.2		-2.658		-20.63	
95%CI	-5.9,2.8		-3.1,0.8		-5.785,0.469		-32.50,-8.76	
P 値[c]	P=0.4639		P=0.2051		P=0.0896		P=0.0022	

全例：N=16、40 mg/kg 群：N=8、80 mg/kg 群：N=8、SD：標準偏差
筋生検は、各投与群 4 例が V12-13、4 例が V24-26 に採取しており、これらを合わせた各投与群 8 例ずつの結果を示した。
ウェスタンブロット（新法）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：正常対照に対する割合
b：対応のある t 検定
c：対応のない t 検定

［5.3.5.1-2 表 11.1.1.1-2 を改変］

表 2.7.3.2.2-3 筋生検実施時期別のジストロフィンの発現及びエクソン 53 スキッピング効率の要約（P1/2 試験）

筋生検時期 投与群	免疫蛍光染色				ウェスタンブロット[a]		RT-PCR	
	ジストロフィン/スペクトリン蛍光輝度比(%)［撮像領域ごと］		ジストロフィン陽性筋線維数の割合(%)		ジストロフィン定量値(%)［新法］		エクソン 53 スキッピング効率(%)［モル濃度比］	
	変化量(SD)	P 値[b]	変化量(SD)	P 値[b]	変化量(SD)	P 値[b]	変化量(SD)	P 値[b]
V12-13								
全例	0.3 (3.4)	P=0.7819	0.3 (0.5)	P=0.2001	-0.225 (2.471)	P=0.8043	25.33 (12.77)	P=0.0008
40 mg/kg	1.4 (4.5)	P=0.5826	0.2 (0.7)	P=0.6633	-1.205 (3.262)	P=0.5136	15.56 (7.33)	P=0.0239
80 mg/kg	-0.7 (1.9)	P=0.5247	0.3 (0.3)	P=0.0976	0.755 (1.024)	P=0.2367	35.10 (8.52)	P=0.0038
V24-26								
全例	1.2 (4.7)	P=0.4939	1.1 (2.3)	P=0.2148	3.136 (2.907	P=0.0186	38.84 (14.85)	P=0.0002
40 mg/kg	-1.4 (1.1)	P=0.0796	0.0 (0.4)	P=0.9834	1.458 (1.587)	P=0.1636	27.97 (10.91)	P=0.0144
80 mg/kg	3.7 (5.6)	P=0.2768	2.2 (3.0)	P=0.2344	4.814 (3.113)	P=0.0536	49.70 (9.00)	P=0.0016

V12-13：全例；N=8、40 mg/kg 群；N=4、80 mg/kg 群；N=4
V24-26：全例；N=8、40 mg/kg 群；N=4、80 mg/kg 群；N=4
SD：標準偏差
ウェスタンブロット（新法）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：正常対照に対する割合
b：対応のある t 検定

［5.3.5.1-2 表 11.1.2.8-1 を改変］

1） ウェスタンブロット

P1/2 試験では、2 つのウェスタンブロットの方法（旧法及び新法）でジストロフィン発現量の測定を行った。

ウェスタンブロット（旧法）による測定の結果、80 mg/kg 群 3 例の V24-26 時点のみでジストロフィン発現が認められた（被験者識別コード：[redacted]、[redacted]、[redacted]）。これら被験者の正常対照に対するジストロフィン/スペクトリン比は、22.0%、7.5%及び 3.8%であった（5.3.5.1-2 表 11.1.1.1-1）。なお、被験者識別コード：[redacted]の値は、初回測定時には予想分子量位置に目視でバンドが認められたが自動検出はされず、手動でバンドのシグナル強度を再測定した結果であり、参考値とした。

感度及び定量性を向上させた新たなウェスタンブロット法（新法）（定量下限：1%）による測定の結果、ジストロフィン発現量の増加は 40 mg/kg 群では 8 例中 7 例、80 mg/kg 群では 8 例中 7 例で認められた。ジストロフィン定量値の投与前後の変化量の平均値（SD）は、全例で 1.456%（3.132%）、40 mg/kg 群で 0.126%（2.769%）、80 mg/kg 群で 2.785%（3.051%）であり、80 mg/kg 群においてベースラインと比較して投与後で有意に増加した（P=0.0364、対応のある t 検定）。特に 80 mg/kg 群で V24-26 時に筋生検を行った 4 例中 3 例でジストロフィン定量値の投与前後の変化量は 7.851%、6.421%、4.297%であり、顕著な増加を示した。

なお、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は 6.390%と他の被験者（0.211%～0.682%）と比較して高かった。そこで、初回測定と異なる筋ブロックで再測定を行ったところベースラインのジストロフィン定量値は 0.508%であり、初回測定とは異なる結果となった。DMD 患者では revertant fiber（ジストロフィン免疫染色において正常筋線維と同等の蛍光輝度を示す筋線維）及び trace dystrophin（正常筋線維よりも弱いわずかなジストロフィン蛍光輝度を示す筋線維）が出現することがあり、[redacted]（投与前）の結果は、revertant fiber 又は trace dystrophin が含まれる筋切片を測定した可能性も考えられた。ジストロフィン定量値の投与前後の変化量における群間比較を行った結果、群間で統計学的に有意な差は認められなかった。投与群及び筋生検実施時期を因子とした分散分析（新法）では、投与群、筋生検実施時期共に統計学的に有意な差が認められた（投与群：P=0.0437、筋生検実施時期：P=0.0144、二元配置分散分析）（5.3.5.1-2 表 14.2.1-17）。

筋生検実施時期（V12-13、V24-26）ごとでは、V24-26 の全例群において投与前後で統計学的に有意な増加が認められた（対応のある t 検定、P=0.0186）。また、40 及び 80 mg/kg 群共に V12-13 と比較して V24-26 で投与前後の増加が大きい傾向が認められた。

以上より、ウェスタンブロット（新法）では 80 mg/kg 群において、ベースラインと比較して投与後で有意なジストロフィン発現量の増加が認められ、ジストロフィン発現量は用量及び投与期間に依存して増加する可能性が示唆された。

2） 免疫蛍光染色

免疫蛍光染色によるジストロフィン/スペクトリン蛍光輝度比（撮像領域ごと、筋線維ごと）及びジストロフィン陽性筋線維数の割合は、全例、40 mg/kg 群及び 80 mg/kg 群のいずれにおいても投与前後で統計学的に有意な変化は認められなかった。

しかしながら、被験者ごとでみると、ジストロフィン/スペクトリン蛍光輝度比は、撮像領域ごとでは 40 mg/kg 群では 8 例中 2 例、80 mg/kg 群では 8 例中 5 例、筋線維ごとでは 40 mg/kg 群で 3 例、80 mg/kg 群で 7 例がベースライン（V-1）と比較して有意に増加していた（対応のない t 検定）（5.3.5.1-2 表 11.1.1.1-1）。また、80 mg/kg 群の 1 例（被験者識別コード：[redacted]）では、ジストロフィン/スペクトリン蛍光輝度比及びジストロフィン陽性筋線維数の変化量において、他の症例と比較して、顕著な増加が認められた（撮像領域ごと：12.1%、筋線維ごと：14.6%、ジストロフィン陽性筋線維数の割合：6.5%）。1 例を除き、明確なジストロフィン発現の増加が認められなかった原因の一つとして、切片の全領域を撮像したため、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。

筋生検実施時期（V12-13、V24-26）ごとでは、ジストロフィン/スペクトリン蛍光輝度比及びジストロフィン陽性筋線維数の割合のいずれにおいても、投与前後で統計学的に有意な差が認められた群はなかったが、V24-26 の 80 mg/kg 群で投与前後の増加が大きい傾向が認められた。

3） RT-PCR

RT-PCR による測定の結果、エクソン 53 スキッピング効率の投与前後（V1 から V12-13 又は V24-26）の変化量の平均値（SD）は、モル濃度比では全例で 32.08%（15.09%）、40 mg/kg 群で 21.77%（10.86%）、80 mg/kg 群で 42.40%（11.26%）であり、ベースラインと比較して投与後で有意に増加していた（P<0.0001、P=0.0008、P<0.0001、対応のある t 検定）。

群間で比較すると、エクソン 53 スキッピング効率は、40 mg/kg 群と比較して 80 mg/kg 群で有意に増加していた（P=0.0022、対応のない t 検定）。さらに、投与群及び筋生検実施時期を因子とした分散分析を行った結果、統計学的に有意な差が認められた（投与群：P=0.0004、筋生検実施時期：P=0.0084、二元配置分散分析）（5.3.5.1-2 表 14.2.1-25）。エクソン 53 スキッピング効率の投与前後の変化量は、40 mg/kg 群と比較して 80 mg/kg 群で、V12-13 と比較して V24-26 に筋生検を実施した被験者群で、それぞれ大きかった。

これらの結果は、質量濃度比でも同様であった（5.3.5.1-2 表 11.1.1.1-2）。

筋生検実施時期（V12-13、V24-26）ごとでは、質量濃度比及びモル濃度比共に、いずれの筋生検実施時期においても投与前後で統計学的に有意な増加が認められた。また、40 及び 80 mg/kg 群共に V12-13 と比較して V24-26 で投与前後の増加が大きい傾向が認められた。

以上より、全例、40 mg/kg 群及び 80 mg/kg 群において、ベースラインと比較して投与後で有意なエクソン 53 スキッピング効率の上昇が認められ、エクソン 53 スキッピング効率は用量及び投与期間に依存する可能性が示唆された。

（2） 時間機能検査

ベースライン値（V-1）から各時点の時間機能検査の記述統計量の推移を表 2.7.3.2.2-4 に示す。時間機能検査については歩行可能な被験者のみで実施した。いずれの評価項目においても運動機能が経時的に低下していく傾向であったが、V24-26 時点では、40 mg/kg 群と比べて 80 mg/kg 群で低下の程度が小さい傾向が認められた。

6MWT の変化量の平均値（SD）は、V12-13 時点で-12.8 m（23.3 m）、V24-26 時点で-26.9 m（37.8 m）であった。群間では、V12-13 時点の 40 mg/kg 群で-13.3 m、80 mg/kg 群で-12.4 m、V24-26 時点では-29.2 m 及び-25.0 m であった。

Timed Up & Go の変化量の平均値（SD）は、V12-13 時点で-0.0113 tasks/秒（0.0082 tasks/秒）、V24-26 時点で-0.0136 tasks/秒（0.0080 tasks/秒）であった。群間では、V12-13 時点で-0.0076 tasks/秒及び-0.0143 tasks/秒、V24-26 時点で-0.0154 tasks/秒及び-0.0120 tasks/秒であった。

TTRF の変化量の平均値（SD）は、V12-13 時点で-0.0166 rise/秒（0.0439 rise/秒）、V24-26 時点で-0.0362 rise/秒（0.0521 rise/秒）であった。群間では、V12-13 時点で-0.0173 rise/秒及び-0.0161 rise/秒、V24-26 時点で-0.0496 rise/秒及び-0.0251 rise/秒であった。

TTRW の変化量の平均値（SD）は、V12-13 時点で-0.017 m/秒（0.134 m/秒）、V24-26 時点で-0.131 m/秒（0.136 m/秒）であった。群間では、V12-13 時点で-0.033 m/秒及び-0.004 m/秒、V24-26 時点で-0.192 m/秒及び-0.080 m/秒であった。

表 2.7.3.2.2-4 時間機能検査の記述統計量の推移－FAS－（P1/2 試験）

項目	群	時点	N	Mean(SD)	Median	Min, Max	前後差 Mean (SD)
6MWT（m）	全例	V-1	13	330.5 (93.4)	331	163 ,450	－
		V12-13	13	317.6 (100.3)	331	119 ,432	-12.8 (23.3)
		V24-26	13	303.5 (99.6)	333	94 ,448	-26.9 (37.8)
	40 mg/kg	V-1	6	346.5 (102.7)	376.5	163 ,450	－
		V12-13	6	333.2 (113.8)	358.5	122 ,432	-13.3 (24.9)
		V24-26	6	317.3 (118.1)	341	94 ,448	-29.2 (37.3)
	80 mg/kg	V-1	7	316.7 (90.5)	325	164 ,430	－
		V12-13	7	304.3 (94.3)	331	119 ,402	-12.4 (23.8)
		V24-26	7	291.7 (88.7)	327	171 ,385	-25.0 (41.1)
Timed Up & Go [a]（tasks/秒）	全例	V-1	11	0.1240 (0.0282)	0.1115	0.0778 ,0.1675	－
		V12-13	11	0.1128 (0.0310)	0.1062	0.0635 ,0.1639	-0.0113 (0.0082)
		V24-26	11	0.1105 (0.0305)	0.0966	0.0698 ,0.165	-0.0136 (0.0080)
	40 mg/kg	V-1	5	0.1360 (0.0286)	0.1304	0.1066 ,0.1675	－
		V12-13	5	0.1283 (0.0341)	0.133	0.0902 ,0.1639	-0.0076 (0.0080)
		V24-26	5	0.1206 (0.0356)	0.1253	0.0758 ,0.165	-0.0154 (0.0119)
	80 mg/kg	V-1	6	0.1141 (0.0261)	0.1075	0.0778 ,0.1517	－
		V12-13	6	0.0998 (0.0233)	0.1015	0.0635 ,0.1312	-0.0143 (0.0076)
		V24-26	6	0.1021 (0.0258)	0.0946	0.0698 ,0.1387	-0.0120 (0.0030)
TTRF [a]（rise/秒）	全例	V-1	11	0.1841 (0.0954)	0.1669	0.0842 ,0.3731	－
		V12-13	11	0.1674 (0.1004)	0.1312	0.0551 ,0.4149	-0.0166 (0.0439)
		V24-26	11	0.1478 (0.0950)	0.1534	0 ,0.3817	-0.0362 (0.0521)
	40 mg/kg	V-1	5	0.2219 (0.0981)	0.2066	0.0992 ,0.3731	－
		V12-13	5	0.2046 (0.1351)	0.1887	0.0551 ,0.4149	-0.0173 (0.0552)
		V24-26	5	0.1724 (0.1362)	0.1555	0 ,0.3817	-0.0496 (0.0408)
	80 mg/kg	V-1	6	0.1525 (0.0888)	0.1193	0.0842 ,0.3247	－
		V12-13	6	0.1364 (0.0547)	0.1164	0.0862 ,0.2331	-0.0161 (0.0378)
		V24-26	6	0.1274 (0.0461)	0.1184	0.0775 ,0.188	-0.0251 (0.0615)
TTRW（m/秒）	全例	V-1	13	1.555 (0.529)	1.451	0.818 ,2.564	－
		V12-13	13	1.538 (0.603)	1.397	0.649 ,2.71	-0.017 (0.134)
		V24-26	13	1.423 (0.530)	1.34	0.545 ,2.392	-0.131 (0.136)
	40 mg/kg	V-1	6	1.659 (0.541)	1.675	0.818 ,2.439	－
		V12-13	6	1.626 (0.645)	1.66	0.649 ,2.646	-0.033 (0.143)
		V24-26	6	1.467 (0.625)	1.411	0.545 ,2.392	-0.192 (0.101)
	80 mg/kg	V-1	7	1.466 (0.544)	1.391	0.928 ,2.564	－
		V12-13	7	1.461 (0.604)	1.372	0.912 ,2.71	-0.004 (0.137)
		V24-26	7	1.386 (0.482)	1.340	0.753 ,2.237	-0.080 (0.148)

a：被験者識別コード[redacted] 及び[redacted]は、立ち上がることができなかったため評価することができなかった。

［5.3.5.1-2 表 11.1.1.2.1-1 を改変］

（3） QMT

ベースライン値（V-1）から各時点の QMT（代償なし）の記述統計量の推移を表 2.7.3.2.2-4 に示す。いずれの評価項目においても、40 mg/kg 群では投与前後で改善は認められなかったが、80 mg/kg 群では改善が認められた。

表 2.7.3.2.2-5 QMT（代償なし）の記述統計量の推移－FAS－（P1/2 試験）

項目	群	時点	N	Mean (SD)	Median	Min , Max	前後差 Mean (SD)
膝関節伸展（N）	全例	V-1	16	36.27 (18.26)	37.3	12 ,73.4	－
		V12-13	16	33.96 (16.10)	33.75	11.5 ,65.4	-2.31 (9.23)
		V24-26	16	35.03 (19.34)	28.65	11.5 ,84.9	-1.24 (10.41)
	40 mg/kg	V-1	8	38.55 (18.93)	38.65	16 ,73.4	－
		V12-13	8	32.31 (15.59)	31.3	11.5 ,56	-6.24 (8.85)
		V24-26	8	30.26 (15.06)	25.95	11.5 ,59.6	-8.29 (6.80)
	80 mg/kg	V-1	8	33.99 (18.55)	30.65	12 ,60	－
		V12-13	8	35.60 (17.51)	34.45	13.3 ,65.4	1.61 (8.31)
		V24-26	8	39.79 (22.86)	35.35	13.3 ,84.9	5.80 (8.51)
膝関節屈曲（N）	全例	V-1	16	39.37 (13.48)	38.15	12.4 ,57.3	－
		V12-13	16	41.68 (16.54)	32.65	19.5 ,69.4	2.31 (9.66)
		V24-26	16	48.14 (21.16)	41.1	20.4 ,93.4	8.78 (16.13)
	40 mg/kg	V-1	8	39.96 (15.28)	41.25	12.4 ,57.3	－
		V12-13	8	37.31 (14.69)	31.5	19.5 ,56.9	-2.65 (6.70)
		V24-26	8	40.23 (14.38)	38.9	20.4 ,62.7	0.26 (9.60)
	80 mg/kg	V-1	8	38.78 (12.44)	36.45	23.5 ,54.7	－
		V12-13	8	46.05 (18.07)	44.45	26.6 ,69.4	7.28 (9.93)
		V24-26	8	56.06 (24.69)	50.2	24.9 ,93.4	17.29 (17.31)
股関節屈曲（N）	全例	V-1	16	46.25 (15.37)	46.2	13.7 ,82.7	－
		V12-13	16	49.59 (23.52)	45.3	12 ,95.2	3.34 (15.37)
		V24-26	16	49.16 (18.20)	48.45	12 ,82.4	2.91 (11.62)
	40 mg/kg	V-1	8	47.55 (20.37)	44	13.7 ,82.7	－
		V12-13	8	44.00 (26.44)	35.95	12 ,95.2	-3.55 (9.26)
		V24-26	8	43.85 (19.14)	40.9	12 ,71.6	-3.70 (5.46)
	80 mg/kg	V-1	8	44.95 (9.35)	46.65	29.3 ,54.7	－
		V12-13	8	55.18 (20.36)	50.45	29.8 ,85.8	10.23 (17.66)
		V24-26	8	54.46 (16.71)	52	27.1 ,82.4	9.51 (12.63)
股関節伸展（N）	全例	V-1	16	57.48 (22.38)	59.1	24.4 , 93.8	－
		V12-13	16	58.28 (25.21)	57.6	16.2 ,109	0.80 (18.29)
		V24-26	16	55.46 (21.96)	49	20 , 90.3	-2.02 (18.02)
	40 mg/kg	V-1	8	62.30 (22.35)	62.45	24.4 , 89.9	－
		V12-13	8	51.78 (20.59)	52.7	16.2 , 86.3	-10.53 (15.51)
		V24-26	8	49.38 (20.25)	43.3	20 , 84.9	-12.93 (15.45)
	80 mg/kg	V-1	8	52.66 (22.82)	49.8	26.6 , 93.8	－
		V12-13	8	64.79 (29.00)	57.7	31.1 ,109	12.13 (13.55)
		V24-26	8	61.55 (23.21)	60.65	24.9 , 90.3	8.89 (13.60)
足関節背屈（N）	全例	V-1	16	30.46 (12.01)	29.8	12.4 ,51.1	－
		V12-13	16	30.06 (11.48)	31.3	14.2 ,50.7	-0.40 (9.40)
		V24-26	16	28.31 (11.40)	27.1	9.7 ,48.9	-2.16 (10.55)
	40 mg/kg	V-1	8	33.10 (13.98)	34	12.4 ,51.1	－
		V12-13	8	30.71 (12.06)	27.1	16.9 ,50.7	-2.39 (11.44)
		V24-26	8	26.69 (11.09)	26.2	9.7 ,40.4	-6.41 (12.91)
	80 mg/kg	V-1	8	27.83 (9.89)	28	12.4 ,39.1	－
		V12-13	8	29.41 (11.67)	32.4	14.2 ,48.9	1.59 (7.02)
		V24-26	8	29.93 (12.22)	27.55	13.3 ,48.9	2.10 (5.53)
足関節底屈（N）	全例	V-1	16	86.23 (24.07)	82.35	54.2 ,133	－
		V12-13	16	88.27 (30.09)	86.7	41.3 ,139.2	2.04 (19.90)
		V24-26	16	83.30 (27.51)	88.95	39.1 ,141.9	-2.93 (17.94)
	40 mg/kg	V-1	8	87.19 (23.83)	87.5	54.2 ,117.9	－
		V12-13	8	77.59 (29.04)	73.35	41.3 ,117.9	-9.60 (13.38)
		V24-26	8	79.81 (23.67)	83.35	39.1 ,112.1	-7.38 (16.29)
	80 mg/kg	V-1	8	85.26 (25.91)	78	56.5 ,133	－
		V12-13	8	98.95 (28.92)	96.3	56 ,139.2	13.69 (18.97)
		V24-26	8	86.79 (32.15)	94.75	45.3 ,141.9	1.53 (19.47)

［5.3.5.1-2 表 11.1.1.2.1-2 を改変］

（4） 血清 CK 値

血清 CK 値は、本剤投与開始後、経時的に低下する傾向が認められた。しかしながら、両群ともにベースライン値である V1a の値が同様に投与前である V-2 の値と比較しても低く、ベースライン値（V1a）から V25 時点までの血清 CK 値の変化量の平均値（SD）は、80 mg/kg 群では-417.5 U/L（4006.4 U/L）と減少したが、40 mg/kg 群では 916.8 U/L（2573.4 U/L）と増加していた（表 2.7.6.2.4.2-3）。V1a の値が低かった原因としては、前日からの入院に伴い安静が必要とされたためと考えられる。

（5） 被験者ごとの結果

被験者ごとの有効性の要約を表 2.7.3.6-3 に示す。

2.7.3.2.3 国内第 I 相試験（試験番号 NCNP/DMT01、資料番号 5.3.5.2-1、評価資料）

DMD 患者を対象に、本剤の安全性、薬物動態及び有効性の検討を目的として、オープンラベルの医師主導治験を国内 1 施設で実施した。本試験の対象は、エクソン 53 スキッピングにより治療可能なジストロフィン遺伝子の欠失が確認されており、NS-065/NCNP-01 の標的配列に DNA 多型が存在しない 5 歳以上 18 歳未満の DMD 患者であり、原則、自立歩行不能な患者とした。

本試験は 3 つのコホートにより構成されており、コホート 1 から開始し、前コホートでの安全性を確認した後、次コホートを開始した。各コホートで規定された投与量（コホート 1：1.25 mg/kg、コホート 2：5 mg/kg、コホート 3：20 mg/kg）を 1 時間かけて、週 1 回、12 週間静脈内に投与した。原則、同一被験者内での投与量の増減は行わないこととした。

治験薬が投与された 10 例（1.25 mg/kg 群：3 例、5 mg/kg 群：3 例、20 mg/kg 群：4 例）が有効性解析対象集団であり、中止例はなく、全ての被験者が治験を完了した。

主要評価項目は安全性であり、有効性は副次評価項目であるジストロフィンの発現（ウェスタンブロット、免疫蛍光染色）及びエクソン 53 スキッピング効率（RT-PCR）、血清 CK 値で評価した。本試験の有効性に関する結果の詳細は、2.7.6.3.4 項に示した。

ジストロフィン mRNA のスキッピング効率の投与前後の変化量は、1.25 mg/kg 群が 0.8%、5 mg/kg 群が 2.6%、20 mg/kg 群が 14.8%であり、用量依存的に増加する傾向が認められた（Jonckheere-Terpstra 検定、P=0.0166）。また、20 mg/kg 群の 1 例（被験者識別コード：NS-[redacted]）の変化量が 47.5%であり、顕著な増加が認められた（表 2.7.3.2.3-1）。

免疫蛍光染色におけるジストロフィン/スペクトリン蛍光輝度比の投与前後の変化量（%）は、撮像領域ごと及び筋線維ごとの測定において、1.25 mg/kg 群が 0.1%及び 0.0%、5 mg/kg 群が 1.3%及び 1.4%、20 mg/kg 群が 4.8%及び 5.1%であった。20 mg/kg 群の 1 例（被験者識別コード：NS-[redacted]）の変化量は 16.9%及び 18.0%であり、顕著な増加が認められた。

ジストロフィン陽性筋線維数（%）の投与前後の変化量は、1.25 mg/kg 群が-0.1%、5 mg/kg 群が 0.0%、20 mg/kg 群が 1.8%であり、用量依存的に増加する傾向が認められた（Jonckheere-Terpstra 検

定、P=0.0443）。また、20 mg/kg 群の 1 例（被験者識別コード：NS-[redacted]）の変化量が 6.3%であり、顕著な増加が認められた。

ウェスタンブロットにおけるジストロフィンの発現は 20 mg/kg 群の 1 例（被験者識別コード：NS-[redacted]）においてのみ認められ、その正常対照に対する割合は 8.1%であった。

Day0 から Day84 までの血清 CK 値の変化量（平均値）は、1.25 mg/kg 群が 728 U/L、5 mg/kg 群が 65 U/L 及び 20 mg/kg 群が-429 U/L であり、いずれの投与群においても血清 CK 値の変化量に有意差は認められなかった（順に P=0.4893、P=0.6763、P=0.6346、対応のある t 検定）（表 2.7.6.3.4-2）。

表 2.7.3.2.3-1 ジストロフィンの発現及びエクソン 53 スキッピング効率の要約（DMT01 試験）

コホート			1.25 mg/kg 群			5 mg/kg 群			20 mg/kg 群			
被験者識別コード			NS-[redacted]	NS-[redacted]	NS-[redacted]	NS-[redacted]	NS-[redacted]	NS-[redacted]	NS-[redacted]	NS-[redacted]	NS-[redacted]	NS-[redacted]
RT-PCR	mRNA スキッピング効率(%)の変化	被験者ごと	0.7%	1.5%	0.3%	3.6%	2.7%	1.6%	47.5%	1.8%	7.3%	2.6%
		P 値 [a]	0.1189	0.0550	0.4226	0.0111	0.0335	0.0363	0.0027	0.0026	0.0060	0.0222
		コホートごと	0.8%			2.6%			14.8%			
		P 値 [b]	0.1508			0.0440			0.2703			
		傾向検定 [c]	JT = 29.0, P = 0.0166									
免疫蛍光染色	撮像領域ごとの Dys/Spec 比の変化(%)	被験者ごと	-0.2%	0.4%	0.0%	1.9%	2.0%	0.2%	16.9%	1.7%	0.6%	0.0%
		P 値 [a]	0.1015	<0.0001	0.7335	<0.0001	<0.0001	0.0033	<0.0001	0.0021	<0.0001	0.1816
		コホートごと	0.1%			1.3%			4.8%			
		P 値 [b]	0.6439			0.1461			0.3189			
		傾向検定 [c]	JT = 24.0, P = 0.1508									
	筋線維ごとの Dys/Spec 比の変化(%)	被験者ごと	-0.3%	0.3%	0.1%	2.0%	1.9%	0.2%	18.0%	1.7%	0.6%	0.1%
		P 値 [a]	0.1088	<0.0001	0.0681	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0010	<0.0001	0.0480
		コホートごと	0.0%			1.4%			5.1%			
		P 値 [b]	0.8686			0.1494			0.3238			
		傾向検定 [c]	JT = 23.0, P = 0.2131									
	Dys 陽性筋線維数(%)の変化	被験者ごと	-0.4%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%	6.3%	0.9%	0.0%	0.0%
		コホートごと	-0.1%			0.0%			1.8%			
		P 値 [b]	0.4226			-			0.3203			
		傾向検定 [c]	JT = 25.0, P = 0.0443									
ウェスタンブロット	正常対照に対する Dys/Spec 比	被験者ごと	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.081102	N.D.	N.D.	N.D.

a：被験者ごとの投与前後のWelchのt検定（両側）
b：各被験者で得られた算術平均について用量ごとの投与前後の対応のあるt検定
c：投与前後の筋生検の変化量について用量間の傾向検定（Jonckheere-Terpstra 検定）（両側）
Dys：ジストロフィン、Spec：スペクトリン、N.D.：検出感度未満、JT：Jonckheere-Terpstra検定統計量、-：検定できず

［5.3.5.2-1 表 11.4-1 を引用］

2.7.3.3 全試験を通しての結果の比較と解析

本項では、有効性の評価資料であり、用量設定の根拠となる用量で実施した、201 試験及び P1/2 試験の結果を示す。

2.7.3.3.1 試験対象集団

2.7.3.3.1.1 被験者の内訳

201 試験及び P1/2 試験の被験者の内訳を表 2.7.3.3.1.1-1 に示す。

201 試験では、16 例（40 mg/kg 群：8 例、80 mg/kg 群：8 例）に治験薬が投与された。両群共に中止例はなく、全ての被験者が治験を完了した。また、全ての被験者が 202 試験に移行した。治験薬が投与された 16 例全例が有効性解析対象集団である mITT であり、除外された被験者はいなかった。

P1/2 試験では、16 例（40 mg/kg 群：8 例、80 mg/kg 群：8 例）に治験薬が投与された。両群共に中止例はなく、全ての被験者が治験を完了した。治験薬が投与された 16 例全例が有効性解析対象集団である FAS 及び PPS であり、除外された被験者はいなかった。

DMT01 試験では、10 例（1.25 mg/kg 群：3 例、5 mg/kg 群：3 例、20 mg/kg 群：4 例）が本登録されて治験薬が投与された。中止例はなく、全ての被験者は治験を完了した。登録された 10 例全例が、有効性解析対象集団であり、除外された被験者はいなかった。

表 2.7.3.3.1.1-1　被験者の内訳（201 試験、P1/2 試験）

	201 試験（グループ B）			P1/2 試験		
	40 mg/kg	80 mg/kg	合計	40 mg/kg	80 mg/kg	合計
登録例数	8 (100)	8 (100)	16 (100)	8 (100)	8 (100)	16 (100)
完了例数	8 (100)	8 (100)	16 (100)	8 (100)	8 (100)	16 (100)
中止例数	0	0	0	0	0	0

n (%)

［5.3.5.1-1 Table 12、5.3.5.1-2 図 10.1-1 を改変］

2.7.3.3.1.2　人口統計学的及びベースライン時特性

201 試験及び P1/2 試験の人口統計学的特性及びベースライン時の特性を表 2.7.3.3.1.2-1 に示す。

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。同様に、実際に組み入れられた被験者の年齢の平均値（最小、最大）も、201 試験で 7.4 歳（4.3 歳、9.8 歳）、P1/2 試験で 8.4 歳（5 歳、12 歳）と P1/2 試験の方が若干高かった。両試験共に、群間で年齢に差はなかった。なお、DMT01 試験の年齢に関する選択基準は P1/2 試験と同じであり、組み入れられた被験者の年齢の平均値（最小、最大）は 11 歳（6 歳、16 歳）であった（5.3.5.2-1 表 11.2-1）。

人種は、201 試験では大部分が白人、P1/2 試験では全員がアジア人であった。

体重、身長及びボディマス指数（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。体重、身長及び BMI についても両試験共に群間で大きな違いはなかった。

発症時期の平均値は、201 試験で 35.6 ヵ月（約 3 歳）、P1/2 試験で 34.5 ヵ月（約 3 歳）であった。

エクソン欠失部位は、両試験共に 45-52 欠失の被験者が一番多かった。

自立歩行の可否については、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。

ステロイドは、201 試験では全例、P1/2 試験では 16 例中 14 例が使用していた。201 試験ではデフラザコートを 12 例、プレドニゾロン及びプレドニゾンを各 2 例が使用していたのに対し、P1/2 試験ではプレドニゾロンを 14 例が使用していた（表 2.7.3.3.1.2-2）。

表 2.7.3.3.1.2-1　人口統計学的特性及びベースライン時の特性（201 試験、P1/2 試験）

	201 試験（グループ B）			P1/2 試験		
	40 mg/kg (N=8)	80 mg/kg (N=8)	合計 (N=16)	40 mg/kg (N=8)	80 mg/kg (N=8)	合計 (N=16)
年齢 [a] (歳)						
平均値 (SD)	7.5 (1.75)	7.2 (2.03)	7.4 (1.84)	8.4 (1.9)	8.4 (2.3)	8.4 (2.0)
中央値	7.7	7.4	7.7	9	8	9
最小、最大	4.3, 9.8	4.8, 9.8	4.3, 9.8	5, 11	5, 12	5, 12
人種 n (%)						
白人	8 (100)	7 (87.5)	15 (93.8)	0	0	0
黒人/アフリカ系アメリカ人	0	0	0	0	0	0
アジア系	0	1 (12.5)	1 (6.3)	8 (100)	8 (100)	16 (100)
その他	0	0	0	0	0	0
体重 (kg)						
平均値(SD)	23.7 (4.70)	22.3 (6.16)	23.0 (5.34)	26.8 (10.1)	29.8 (11.3)	28.3 (10.5)
中央値	24.2	21.8	22.7	23	25.7	25
最小、最大	14.9, 30.4	15.5, 35.4	14.9, 35.4	16, 41.7	16, 52.1	16, 52.1
身長 (cm)						
平均値(SD)	114.6 (6.50)	112.2 (9.97)	113.4 (8.22)	119.7 (14.5)	120.8 (10.9)	120.3 (12.4)
中央値	114.8	112.3	114.1	120.0	119.6	119.6
最小、最大	102.5,123.4	99.4, 127.1	99.4, 127.1	98, 140.7	100.3, 134	98, 140.7
BMI (kg/m^2)						
平均値(SD)	17.9 (2.28)	17.4 (2.02)	17.7 (2.10)	18.0 (2.8)	19.9 (5.0)	19.0 (4.0)
中央値	19.20	16.74	17.26	17.1	18.8	17.5
最小、最大	14.2, 20.0	15.4, 21.9	14.2, 21.9	15.6, 23.6	15.3, 30.2	15.3, 30.2
発症時期 (月)						
平均値(SD)	33.6 (17.2)	37.5 (22.9)	35.6 (19.7)	35.9(19.0)	33.1(21.3)	34.5 (19.6)
中央値	32.5	36.0	36.0	36	32	36
最小、最大	6, 60	12, 84	6, 84	10, 61	0, 70	0, 70
エクソンの欠失部位 n(%)						
43-52	0	0	0	0	0	0
45-52	2 (25.0)	5 (62.5)	7 (43.8)	3 (37.5)	3 (37.5)	6 (37.5)
47-52	1 (12.5)	0	1 (6.3)	0	0	0
48-52	1 (12.5)	2 (25.0)	3 (18.8)	2 (25.0)	1 (12.5)	3 (18.8)
49-52	2 (25.0)	1 (12.5)	3 (18.8)	2 (25.0)	0	2 (12.5)
50-52	2 (25.0)	0	2 (12.5)	1 (12.5)	1 (12.5)	2 (12.5)
52	0	0	0	0	3 (37.5)	3 (18.8)
歩行可能 [b] n(%)	8 (100)	8 (100)	16 (100)	6 (75.0)	7 (87.5)	13 (81.3)
ステロイド使用 [c] n(%)	8 (100)	8 (100)	16 (100)	7 (87.5)	7 (87.5)	14 (87.5)

SD：標準偏差

a：201 試験は同意取得時、P1/2 試験は初回投与開始日の年齢

b：201 試験では、治験実施計画書の規定により全ての被験者が歩行可能であった。

c：201 試験では GC、P1/2 試験では全身性コルチコステロイド

［5.3.5.1-1 Table 14、Table 15、5.3.5.1-2 表 14.1-1、5.3.5.3-2 表 1-4、表 2-1 を改変］

表 2.7.3.3.1.2-2 ステロイドの併用（201 試験、P1/2 試験）

	201 試験（グループ A）				P1/2 試験		
	プラセボ (N=5)	40 mg/kg (N=6)	80 mg/kg (N=5)	合計 (N=16)	40 mg/kg (N=8)	80 mg/kg (N=8)	合計 (N=16)
ステロイド併用 [a]	5 (100)	6 (100)	5 (100)	16 (100)	7 (87.5)	7 (87.5)	14 (87.5)
デフラザコート [b]							
連日投与	4 (80.0)	5 (83.3)	3 (60.0)	12 (75.0)			
12 mg		2 (33.3)	1 (20.0)	3 (18.8)			
15 mg		1 (16.7)		1 (6.3)			
18 mg	3 (60.0)	1 (16.7)	2 (40.0)	6 (37.5)			
22.5 mg	1 (20.0)	1 (16.7)		2 (12.5)			
24 mg		1 (16.7)		1 (6.3)			
プレドニゾロン							
連日投与		1 (16.7)	1 (20.0)	2 (12.5)			
5 mg						1 (6.3)	1 (6.3)
8 mg					1 (6.3)		1 (6.3)
9 mg			1 (20.0)	1 (6.3)			
10 mg						1 (6.3)	1 (6.3)
12 mg					1 (6.3)	1 (6.3)	2 (12.5)
13 mg						1 (6.3)	1 (6.3)
15 mg		1 (16.7)		1 (6.3)	1 (6.3)	1 (6.3)	2 (12.5)
隔日投与							
10 mg					1 (6.3)		1 (6.3)
12 mg					1 (6.3)		1 (6.3)
15 mg					2 (12.5)	1 (6.3)	3 (18.8)
20 mg						1 (6.3)	1 (6.3)
プレドニゾン							
連日投与	1 (20.0)		1 (20.0)	2 (12.5)			
10 mg	1 (20.0)			1 (6.3)			
15 mg			1 (20.0)	1 (6.3)			

n (%)

注：併用薬は、202 試験に参加しない被験者では、治験薬への初回投与から Week24 来院又は中止後 30 日目まで、202 試験に参加する被験者では、治験薬への初回投与から Week 25 来院までに服用していた薬剤と定義した。

a：201 試験では GC、P1/2 試験では全身性コルチコステロイド

b：国内未承認。試験期間中、12 例がデフラザコートを服用していた。患者 273102 は 99 日目に 12 mg から 18 mg に増量されたため 2 用量に重複して集計した。

［5.3.5.1-1 Table18、5.3.5.3-2 表 1-1 を改変］

2.7.3.3.2 全有効性試験の結果の比較検討

本項では、201 試験及び P1/2 試験の有効性評価の結果を比較する。

2.7.3.3.2.1 ジストロフィンの発現

ジストロフィンに関する評価項目の投与後のデータは、201 試験では 16 例全例が 24 週後（Week 25）の筋生検を用いて測定していたが、P1/2 試験では 8 例が 12 週後（V12-13）、8 例が 24 週後（V24-26）の筋生検を用いて測定した。本項では両試験を比較するため、P1/2 試験では 24 週後（V24-26）のデータ（8 例）のみの集計結果を示した。

（1） ジストロフィンの発現：ウェスタンブロット

ウェスタンブロットにより測定したジストロフィン発現量は、201 試験及び P1/2 試験共に本剤 24 週投与（201 試験のプラセボ群 5 例は 20 週投与）により増加した（表 2.7.3.3.2.1-1）。24 週後に測定した両試験の被験者 24 例全例でジストロフィン発現量は増加した。

201 試験では、投与前後のジストロフィン変化量の平均値（SD）は、40 mg/kg 群で 5.4%（2.40%）、80 mg/kg 群で 5.3%（4.48%）、全体で 5.4（3.47%）であり、いずれもベースラインと比較して統計学的に有意に増加しており（40 mg/kg 群：p=0.0004、80 mg/kg 群：p=0.0123、全体：p <0.0001、対応のある t 検定）、群間で差はなかった。

P1/2 試験では、投与前後のジストロフィン変化量の平均値は、40 mg/kg 群で 1.458%（1.587%）、80 mg/kg 群で 4.814%（3.113%）、全体で 3.136（2.907%）であり、全体のみベースラインと比較して投与後で有意に増加した（P=0.0186、対応のある t 検定）。

なお、P1/2 試験において、ジストロフィンの平均発現量は V12-13 よりも V24-26 の方が多く、経時的に増加する傾向が認められた（表 2.7.3.2.2-3）。

表 2.7.3.3.2.1-1 201 試験及び P1/2 試験におけるウェスタンブロットによるジストロフィン発現の比較

試験	201 試験 正常対照に対する割合 (%) （標準化：ミオシン重鎖）						P1/2 試験［新法］ 正常対照に対する割合 (%)					
群	40 mg/kg (N=8)		80 mg/kg (N=8)		合計 (N=16)		40 mg/kg (N=4)		80 mg/kg (N=4)		合計 (N=8)	
	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化
ベースライン												
平均値 (SD)	0.3 (0.10)	—	0.6 (0.82)	—	0.4 (0.60)	—	0.459 (0.150)	—	0.394 (0.167)	—	0.426 (0.151)	—
中央値	0.3	—	0.4	—	0.3	—	0.393	—	0.356	—	0.376	—
最小、最大	0.1, 0.4	—	0.1, 2.6	—	0.1, 2.6	—	0.366, 0.682	—	0.233, 0.629	—	0.233, 0.682	—
24 週後 [a]												
平均値 (SD)	5.7 (2.37)	5.4 (2.40)	5.9 (4.50)	5.3 (4.48)	5.8 (3.47)	5.4 (3.47)	1.916 (1.701)	1.458 (1.587)	5.208 (3.122)	4.814 (3.113)	3.562 (2.918)	3.136 (2.907)
中央値	4.9	4.6	4.0	3.8	4.6	4.3	1.671	1.295	5.85	5.361	3.33	2.796
最小、最大	3.2, 10.3	2.8, 10.0	1.1, 14.4	0.7, 13.9	1.1, 14.4	0.7, 13.9	0.414, 3.91	0.014, 3.228	1.05, 8.08	0.687, 7.847	0.414, 8.08	0.014, 7.847
95%CI	—	3.44, 7.44	—	1.55, 9.04	—	3.52, 7.22	—	-1.068, 3.984	—	-0.140, 9.768	—	0.705, 5.566
P 値 [b]	—	0.0004	—	0.0123	—	<0.0001	—	0.1636	—	0.0536	—	0.0186
95%CI [c]	-3.99, 3.71				—	—	-8.016, 1.303				—	—
P 値 [c]	0.9384				—	—	0.1198				—	—

SD：標準偏差、CI：信頼区間
測定値が定量下限である 1%未満の場合は参考値とし、集計は参考値を含めて行った。
a：201 試験では Week 25、P1/2 試験では V24-26 に測定
b：対応のある t 検定
c：対応のない t 検定

［5.3.5.1-1 Table 21、Table 14.2.2、5.3.5.3-2 表 1-7、表 1-8 を改変］

（2） ジストロフィンの発現：免疫蛍光染色

免疫蛍光染色により測定したジストロフィン陽性筋線維数の割合は、201 試験では本剤 24 週間投与（201 試験のプラセボ群 5 例は 20 週投与）により 16 例全例で増加し、P1/2 試験では 4 例で増加した。

201 試験の投与前後のジストロフィン陽性筋線維数の変化量の平均値は、40 mg/kg 群で 12.8%、80 mg/kg 群で 33.0%であり、いずれもベースラインと比較して統計学的に有意に増加した（40 mg/kg 群：p=0.0028、80 mg/kg 群：p=0.0026、対応のある t 検定）。また、用量群間では統計学的に有意な差が認められた（P=0.0282、対応のない t 検定）。

（2.7.3.3.2.1-2）。

P1/2 試験では、いずれの用量群でも 24 週後に有意な増加は認められなかったが、80 mg/kg 群の 1 例（被験者[redacted]）で顕著な増加が認められた。他の被験者で大きな増加が認められなかった原因としては、切片の全領域を撮像したため、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。

表 2.7.3.3.2.1-2 201 試験及び P1/2 試験における免疫蛍光染色による陽性筋線維数の割合の比較

試験	201 試験 陽性筋線維数の割合(%)						P1/2 試験 陽性筋線維数の割合(%)					
群	40 mg/kg (N=8)		80 mg/kg (N=8)		合計 (N=16)		40 mg/kg (N=4)		80 mg/kg (N=4)		合計 (N=8)	
	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化
ベースライン												
平均値 (SD)	1.5 (0.98)	－	1.8 (2.36)	－	1.7 (1.75)	－	0.2 (0.2)	－	0.4 (0.3)	－	0.3 (0.3)	－
中央値	1.8	－	0.9	－	1.1	－	0.1	－	0.2	－	0.2	－
最小、最大	0.2, 2.5	－	0.1, 6.8	－	0.1, 6.8	－	0.1, 0.6	－	0.1, 0.9	－	0.1, 0.9	－
24 週後 [a]												
平均値 (SD)	14.2 (7.77)	12.8 (8.05)	34.8 (20.42)	33.0 (20.43)	24.5 (18.32)	22.9 (18.28)	0.2 (0.3)	0.0 (0.4)	2.6 (3.0)	2.2 (3.0)	1.4 (2.4)	1.1 (2.3)
中央値	13.1	11.3	27.9	26.9	16.8	15.0	0.1	- 0.1	1.8	1.2	0.3	0.1
最小、最大	6.2,32.2	4.0,31.5	15.5,72.2	8.8,68.1	6.2,72.2	4.0,68.1	0, 0.7	-0.4, 0.6	0.1, 6.7	0, 6.5	0, 6.7	-0.4,6.5
95%CI	－	6.04, 19.49	－	15.91, 50.06	－	13.14, 32.61	－	-0.7, 0.7	－	-2.6, 7.0	－	-0.8,3.1
P 値 [b]	－	0.0028	－	0.0026	－	0.0002	－	0.9834	－	0.2344	－	0.2148
95%CI[c]	2.69, 37.74				－	－	-7.2, 2.4				－	－
P 値 [c]	0.0282				－	－	0.2167				－	－

SD：標準偏差、CI：信頼区間
a：201 試験では Week 25、P1/2 試験では V24-26 に測定
b：対応のある t 検定
c：対応のない t 検定

［5.3.5.1-1 Table 14.2.5、5.3.5.3-2 表 1-5、表 1-6 を改変］

（3） エクソン 53 スキッピング効率：RT-PCR（モル濃度比）

RT-PCR により測定したエクソン 53 スキッピング効率は、201 試験及び P1/2 試験共に本剤 24 週投与（201 試験のプラセボ群 5 例は 20 週投与）により増加が認められ（表 2.7.3.3.2.1-3）、24 週後に測定した両試験の被験者 24 例全例で増加した。

201 試験では、投与前後のエクソン 53 スキッピング効率の変化量の平均値（SD）は、40 mg/kg 群で 17.4%（7.17%）、80 mg/kg 群で 43.9%（16.68%）であり、いずれもベースラインと比較して統計学的に有意に増加した（40 mg/kg 群：p=0.0002、80 mg/kg 群：p=0.0001、対応のある t 検定）。

P1/2 試験では、投与前後のエクソン 53 スキッピング効率の変化量の平均値（SD）は、40 mg/kg 群で 27.97%（10.91%）、80 mg/kg 群で 49.70%（9.00%）であり、いずれもベースラインと比較して投与後で有意に増加した（40 mg/kg 群 : P=0.0144、80 mg/kg 群 : P=0.0016、対応のある t 検定）。

また、両試験共に用量群間に統計学的な有意差が認められた。

なお、P1/2 試験において、エクソン 53 スキッピング効率の平均値は V12-13 よりも V24-26 の方が多く、経時的に増加する傾向が認められた（表 2.7.3.2.2-3）。

表 2.7.3.3.2.1-3　201 試験及び P1/2 試験における RT-PCR によるエクソン 53 スキッピング効率（モル濃度比）の比較

試験	201 試験						P1/2 試験					
群	40 mg/kg (N=8)		80 mg/kg (N=8)		合計 (N=16)		40 mg/kg (N=4)		80 mg/kg (N=4)		合計 (N=8)	
	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化
ベースライン												
平均値 (SD)	0.0 (0.00)	—	0.0 (0.00)	—	0.0 (0.00)	—	1.74 (0.74)	—	2.63 (1.34)	—	2.18 (1.11)	—
中央値	0.0	—	0.0	—	0.0	—	1.65	—	2.66	—	2.05	—
最小、最大	0, 0	—	0, 0	—	0, 0	—	1.04, 2.62	—	1.09, 4.09	—	1.04, 4.09	—
24 週後 [a]												
平均値 (SD)	17.4 (7.17)	17.4 (7.17)	43.9 (16.68)	43.9 (16.68)	30.6 (18.45)	30.6 (18.45)	29.71 (11.57)	27.97 (10.91)	52.33 (8.61)	49.70 (9.00)	41.02 (15.34)	38.84 (14.85)
中央値	16.3	16.3	40.6	40.6	26.2	26.2	26.78	25.22	52.71	49.01	43.73	41.42
最小、最大	7.5, 26.6	7.5, 26.6	21.9, 74.5	21.9, 74.5	7.5, 74.5	7.5, 74.5	19.25, 46.04	18.04, 43.42	41.42, 62.46	39.41, 61.37	19.25, 62.46	18.04, 61.37
95%CI	—	11.41, 23.40	—	29.91, 57.81	—	20.80, 40.46	—	10.61, 45.34	—	35.38, 64.02	—	26.42, 51.25
P 値 [b]	—	0.0002	—	0.0001	—	<0.0001	—	0.0144	—	0.0016	—	0.0002
95%CI[c]	12.05, 40.86				—	—	-39.19, -4.27				—	—
P 値 [c]	0.0023				—	—	0.0229				—	—

SD：標準偏差、CI：信頼区間
a：201 試験では Week 25、P1/2 試験では V24-26 に測定
b：対応のある t 検定
c：対応のない t 検定

［5.3.5.1-1 Table 14.2.4、5.3.5.3-2 表 1-9、表 1-10 を改変］

2.7.3.3.2.2　運動機能評価

運動機能評価に関しては、201 試験及び P1/2 試験の両方で評価した TTRW、TTSTAND/TTRF 及び 6MWT について記載する。

（1）　TTRW（速度）

TTRW（速度）は、201 試験及び P1/2 試験共に 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 2.7.3.3.2.2-1）。

201 試験では、Week 25 の TTRW（速度）は、40 mg/kg 群では 8 例中 7 例、80 mg/kg 群では 8 例中 6 例で上昇（改善）した。ベースラインからの変化量の平均値（SD）は、40 mg/kg 群で 0.21 m/秒（0.291 m/秒）、80 mg/kg 群で 0.24 m/秒（0.222 m/秒）であり、80 mg/kg 群でベースラインと比

較して統計学的に有意に増加しており（80 mg/kg 群：p=0.0177、対応のある t 検定）、40 mg/kg 群でも上昇（改善）傾向が見られた。2 群間に差は認められなかった。

一方、P1/2 試験では、投与後（V24-26）の TTRW（速度）は 40 mg/kg 群、80 mg/kg 群共に投与前からわずかに低下していた。ベースラインからの変化量はいずれも小さかったが、80 mg/kg 群の低下は 40 mg/kg 群の半分以下であった。2 群間に差は認められなかった。

表 2.7.3.3.2.2-1　201 試験及び P1/2 試験における TTRW の比較

試験	201 試験						P1/2 試験					
群	40 mg/kg (N=8)		80 mg/kg (N=8)		合計 (N=16)		40 mg/kg (N=6)		80 mg/kg (N=7)		合計 (N=13)	
	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化
ベースライン												
平均値 (SD)	1.67 (0.385)	－	1.88 (0.357)	－	1.77 (0.374)	－	1.659 (0.541)	－	1.466 (0.544)	－	1.555 (0.529)	－
中央値	1.68	－	2.00	－	1.85	－	1.675	－	1.391	－	1.451	－
最小、最大	1.08, 2.27	－	1.21, 2.22	－	1.08, 2.27	－	0.818, 2.439	－	0.928, 2.564	－	0.818, 2.564	－
24 週後 [a]												
平均値 (SD)	1.88 (0.484)	0.21 (0.291)	2.12 (0.394)	0.24 (0.222)	2.00 (0.443)	0.23 (0.251)	1.467 (0.625)	-0.192 (0.101)	1.386 (0.482)	-0.080 (0.148)	1.423 (0.530)	-0.131 (0.136)
中央値	1.94	0.28	2.08	0.19	2.08	0.24	1.411	-0.223	1.340	-0.106	1.340	-0.111
最小、最大	1.30, 2.50	-0.32, 0.59	1.41, 2.63	-0.04, 0.61	1.30, 2.63	-0.32, 0.61	0.545, 2.392	-0.294, -0.047	0.753, 2.237	-0.327, 0.117	0.545, 2.392	-0.327, 0.117
95%CI	－	-0.03, 0.46	－	0.06, 0.43	－	0.09, 0.36	－	-0.297, -0.086	－	-0.217, 0.057	－	-0.214, -0.049
P 値 [b]	－	0.0784	－	0.0177	－	0.0025	－	0.0055	－	0.2023	－	0.0045
95%CI[c]	-0.25, 0.31				－	－	-0.265, 0.042				－	－
P 値 [c]	0.8196				－	－	0.1371				－	－

m/秒
SD：標準偏差、CI：信頼区間
a：201 試験では Week 25、P1/2 試験では V24-26 に測定
b：対応のある t 検定
c：対応のない t 検定

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

（2）　TTSTAND/TTRF

TTSTAND（速度）は、201 試験及び P1/2 試験共にベースラインからの変化量は小さく、統計学的な有意差は認められなかった（表 2.7.3.3.2.2-2）。

201 試験では、Week 25 の TTSTAND（速度）は、40 mg/kg 群では 8 例中 5 例、80 mg/kg 群では 8 例中 5 例で上昇（改善）した。ベースラインからの変化量の平均値（SD）は、40 mg/kg 群で 0.02 rise/秒（0.093 rise/秒）、80 mg/kg 群で 0.02 rise/秒（0.060 rise/秒）であり、いずれも統計学的に有意ではなかった。2 群間に差は認められなかった。

一方、P1/2 試験では、投与後（V24-26）の TTRF（速度）は 40 mg/kg 群、80 mg/kg 群共に投与前からわずかに低下した。ベースラインからの変化量はいずれも小さく、統計学的に有意ではなかった。2 群間に差は認められなかった。

表 2.7.3.3.2.2-2 201 試験及び P1/2 試験における TTSTAND/TTRF の比較

試験	201 試験 TTSTAND						P1/2 試験 TTRF					
群	40 mg/kg (N=8)		80 mg/kg (N=8)		合計 (N=16)		40 mg/kg (N=5)		80 mg/kg (N=6)		合計 (N=11)	
	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化
ベースライン												
平均値 (SD)	0.26 (0.058)	—	0.25 (0.090)	—	0.25 (0.074)	—	0.2219 (0.0981)	—	0.1525 (0.0888)	—	0.1841 (0.0954)	—
中央値	0.26	—	0.24	—	0.25	—	0.2066	—	0.1193	—	0.1669	—
最小、最大	0.15, 0.36	—	0.09, 0.40	—	0.09, 0.40	—	0.0992, 0.3731	—	0.0842, 0.3247	—	0.0842, 0.3731	—
24 週後 [a]												
平均値 (SD)	0.28 (0.128)	0.02 (0.093)	0.27 (0.078)	0.02 (0.060)	0.28 (0.102)	0.02 (0.075)	0.1724 (0.1362)	-0.0496 (0.0408)	0.1274 (0.0461)	-0.0251 (0.0615)	0.1478 (0.0950)	-0.0362 (0.0521)
中央値	0.23	0.03	0.29	0.04	0.27	0.03	0.1555	-0.0511	0.1184	-0.0061	0.1534	-0.0150
最小、最大	0.14, 0.53	-0.10, 0.17	0.09, 0.33	-0.10, 0.08	0.09, 0.53	-0.10, 0.17	0, 0.3817	-0.0992, 0.0085	0.0775, 0.188	-0.148, 0.021	0, 0.3817	-0.148, 0.021
95%CI	—	-0.05, 0.10	—	-0.03, 0.07	—	-0.02, 0.06	—	-0.1002, 0.0011	—	-0.0896, 0.0394	—	-0.0712, -0.0012
P 値 [b]	—	0.4742	—	0.2926	—	0.2140	—	0.0531	—	0.3635	—	0.0440
95%CI[c]	-0.08, 0.08				—	—	-0.0951, 0.0461				—	—
P 値 [c]	0.9884				—	—	0.4507				—	—

rise/秒
SD：標準偏差、CI：信頼区間
P1/2 試験では、立ち上がることができなかった 2 例は評価できなかった。
a：201 試験では Week 25、P1/2 試験では V24-26 に測定
b：対応のある t 検定
c：対応のない t 検定

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

（3） 6MWT

6MWT は、201 試験において 40 mg/kg 群に比べ 80 mg/kg 群で改善傾向が認められた（表 2.7.3.3.2.2-3）。

201 試験では、Week 25 の 6MWT は、40 mg/kg 群では 8 例中 5 例、80 mg/kg 群では 8 例中 5 例で上昇（改善）した。ベースラインからの変化量の平均値（SD）は、40 mg/kg 群で 15.6 m（26.40 m）、80 mg/kg 群で 44.0 m（41.98 m）であり、80 mg/kg 群でベースラインと比較して統計学的に有意に増加しており（80 mg/kg 群：p=0.0323、対応のある t 検定）、40 mg/kg 群でも上昇（改善）傾向が見られた。2 群間に差は認められなかった。

一方、P1/2 試験では、投与後（V24-26）の 6MWT は 40 mg/kg 群、80 mg/kg 群共に投与前から低下した。ベースラインからの変化量はいずれも小さく、統計学的に有意ではなかった。2 群間に差は認められなかった。

表 2.7.3.3.2.2-3　201 試験及び P1/2 試験における 6MWT の比較

試験	201 試験						P1/2 試験					
群	40 mg/kg (N=8)		80 mg/kg (N=8)		合計 (N=16)		40 mg/kg (N=6)		80 mg/kg (N=7)		合計 (N=13)	
	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化	測定値	変化
ベースライン												
平均値 (SD)	391.4 (33.27)	—	353.4 (106.32)	—	372.4 (78.59)	—	346.5 (102.7)	—	316.7 (90.5)	—	330.5 (93.4)	—
中央値	390.5	—	347.0	—	380.0	—	376.5	—	325	—	331	—
最小、最大	342,458	—	201, 569	—	201,569	—	163,450	—	164,430	—	163,450	—
24 週後 [a]	n=8		n=7		n=15							
平均値 (SD)	407.0 (38.24)	15.6 (26.40)	407.6 (120.07)	44.0 (41.98)	407.3 (83.12)	28.9 (36.31)	317.3 (118.1)	-29.2 (37.3)	291.7 (88.7)	-25.0 (41.1)	303.5 (99.6)	-26.9 (37.8)
中央値	402.5	9.0	365.0	41.0	400.0	24.0	341	-36.5	327	-37	333	-37
最小、最大	359,453	-11, 56	297, 642	-10, 96	297,642	-11, 96	94, 448	-69, 30	171,385	-80, 33	94, 448	-80, 33
95%CI	—	-6.45, 37.70	—	5.17, 82.83	—	8.76, 48.98	—	-68.3, 10.0	—	-63.0, 13.0	—	-49.7, -4.1
P 値 [b]	—	0.1381	—	0.0323	—	0.0082	—	0.1135	—	0.1583	—	0.0245
95%CI[c]	-10.18, 66.93				—	—	-52.0, 43.7				—	—
P 値 [c]	0.1358				—	—	0.8515				—	—

m、
SD：標準偏差、CI：信頼区間
a：201 試験では Week 25、P1/2 試験では V24-26 に測定
b：対応のある t 検定
c：対応のない t 検定

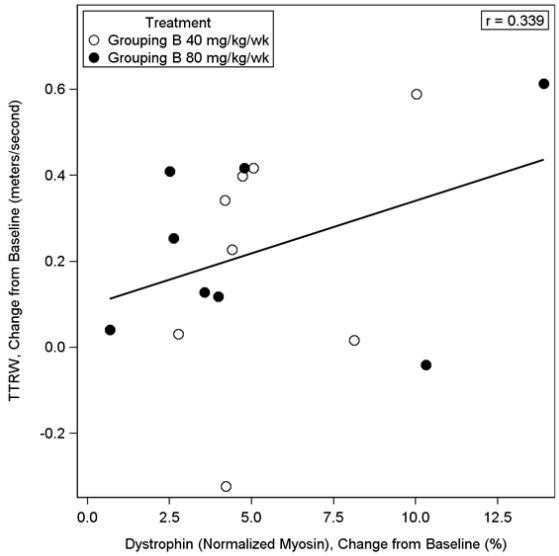
［5.3.5.1-1 Table 14.2.9、5.3.5.1-2 表 14.2.2-1 改変］

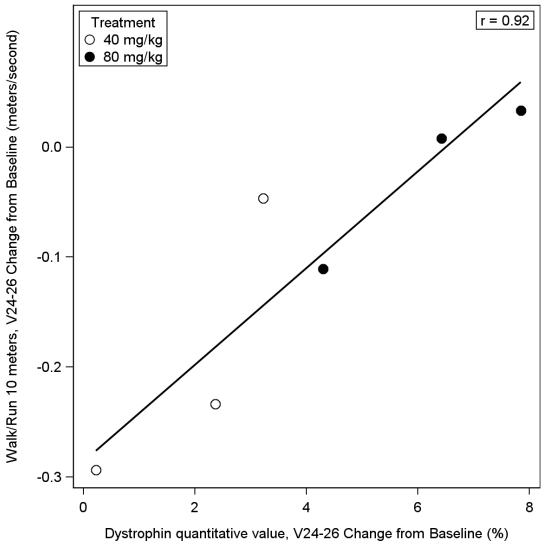
2.7.3.3.2.3　ジストロフィン発現と時間機能検査との関連

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）。

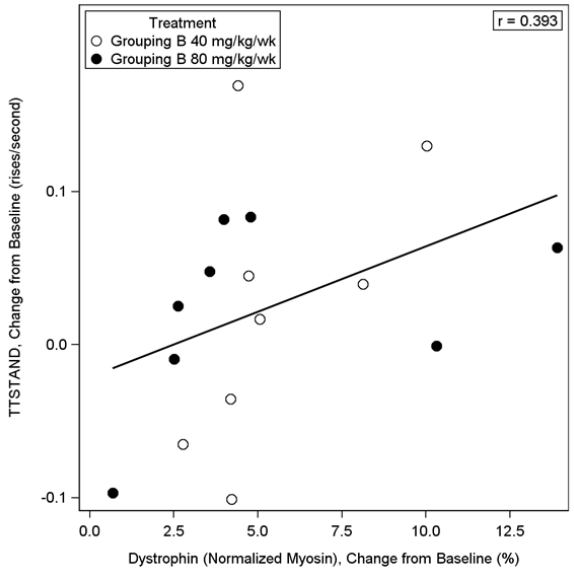
201 試験では、TTSTAND 及び TTRW において、相関係数は低いものの回帰直線の傾きは正の値となった。P1/2 試験では、TTRF 及び TTRW の相関係数(r)はそれぞれ 0.64 及び 0.92 で、回帰直線の傾きは正の値となり、ジストロフィン発現量の増加に伴い運動機能の減少が低下する傾向が見られた。

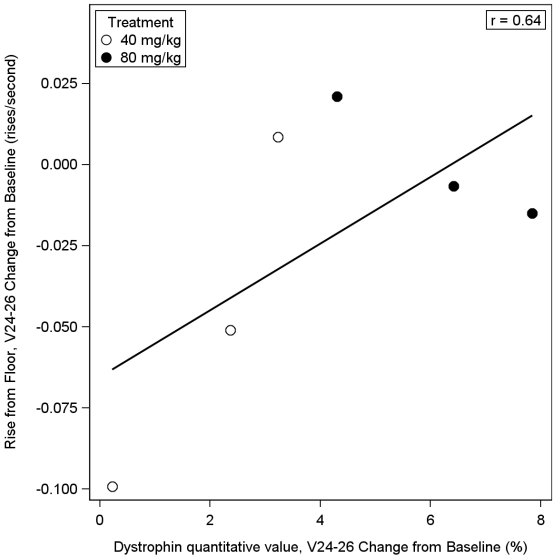
【TTRW】



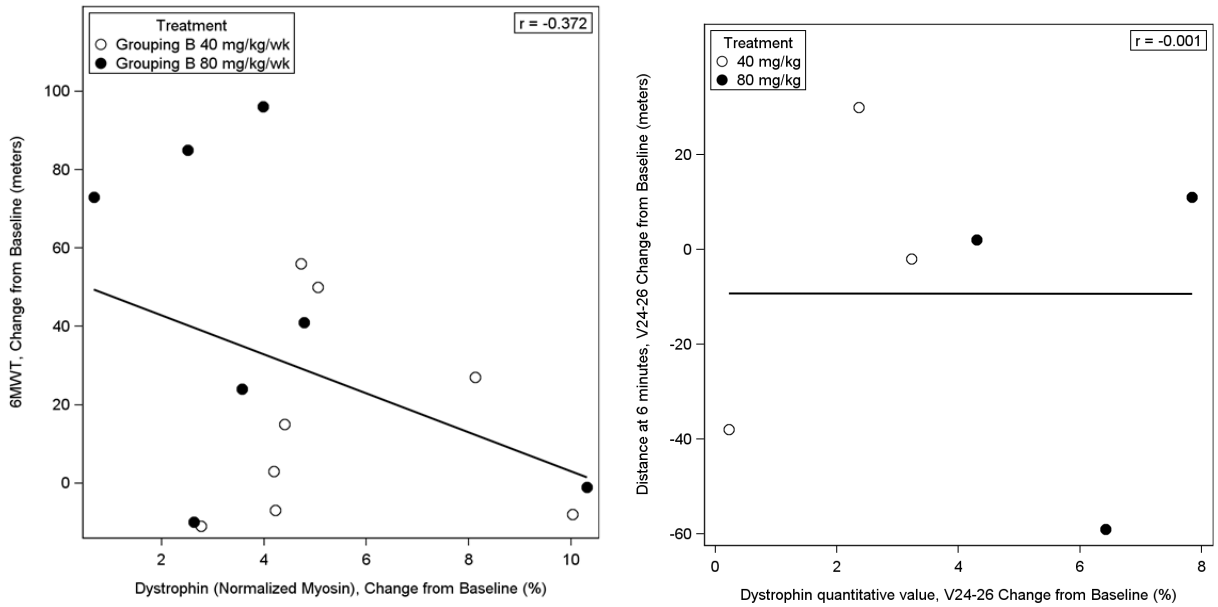


【TTSTAND/TTRF】





【6MWT】



左：201 試験、右：P1/2 試験（ウェスタンブロット新法、25 週時のみの結果）

図 2.7.3.3.2-1 ジストロフィン定量値の変化量と時間機能検査の変化量との散布図（P201 試験、P1/2 試験）

［5.3.5.1-2 図 14.2.4-10、5.3.5.3-2 図 2-1 を改変］

2.7.3.3.2.4 血清 CK 値

201 試験及び P1/2 試験における血清 CK 値の推移を表 2.7.3.3.2.4-1 に示す。

いずれの試験でも、治験薬投与後、経時的に血清 CK 値が低下した。また、201 試験及び P1/2 試験の 80 mg/kg 群では、ベースラインと比較して week 25 で血清 CK 値の低下が認められた。なお、P1/2 試験ではベースラインの値がそれ以前の V-2 と比較しても低かった。これは、前日からの入院に伴いベースライン（V1a）時では安静が必要とされたためと考えられる。

表 2.7.3.3.2.4-1 血清 CK 値の推移（U/L）（201 試験、P1/2 試験）

時点	201 試験			P1/2 試験		
	40 mg/kg (N=8)	80 mg/kg (N=8)	合計 (N=16)	40 mg/kg (N=8)	80 mg/kg (N=8)	合計 (N=16)
V-2	—	—	—	8829.4 (2753.2)	9989.4 (3369.7)	9409.4 (3032.3)
ベースライン	16270.1 (6133.28)	18674.9 (10895.41)	17472.5 (8631.03)	6578.1 (2348.1)	7554.4 (2448.4)	7066.3 (2371.6)
Week 5[a]	12076.5 (6626.5)	16874.0 (7006.27)	13174.5 (6376.20)	10689.4 (4296.2)	9125.6 (3046.1)	9907.5 (3687.2)
Week 7	11915.5 (6095.42)	12334.4 (3757.23)	12124.9 (4896.25)	10651.4 (5555.1)	10126.3(4107.5)	10388.8(4727.3)
Week 9	9055.0 (3380.26)	12674.0 (5205.54)	10864.5 (4633.61)	9979.4 (5942.9)	7375.6 (3506.6)	8677.5 (4901.8)
Week 13	11933.3 (6318.85)	12382.9 (5578.89)	12158.1 (5762.94)	9145.0 (3673.3)	7815.6 (2859.5)	8480.3 (3253.3)
Week 17	11788.3 (5077.60)	10527.8 (4086.20)	11158.0 (4499.69)	7906.3 (3935.9)	8908.0 (6853.0)	8407.1 (5423.4)
Week 21	9526.4 (4616.11)	13686.4 (11928.00)	11745.1 (9213.34)	8044.4 (4062.4)	7770.0 (3696.8)	7907.2 (3754.9)
Week 25	10921.4 (3368.63)	11443.0 (4240.86)	11182.2 (3709.59)	7494.9 (4374.7)	7136.9 (3713.9)	7315.9 (3924.5)

平均値（SD）
V-2 は P1/2 試験のみ測定した。

a：201 試験では、血清 CK 値は安全性として解析されたため、Week 5 のデータはグループ A 群（40 mg/kg 群、80 mg/kg 群、プラセボ群）を用いて解析された。Week 5 での 40 mg/kg 群及び 80 mg/kg 群の例数は、N=5 及び N=6 であった。合計は、プラセボ群 5 例を含めた N=16 の値である。

［5.3.5.1-1 Table14.3.3.3、5.3.5.1-2 表 14.2.2-4、14.3.6-1　改変］

2.7.3.3.3　部分集団における結果の比較

201 試験及び P1/2 試験でのエクソン欠失部位、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。歩行可否及び年齢についてはウェスタンブロットによるジストロフィン発現（表 2.7.3.3.3-5、表 2.7.3.3.3-7）、エクソン欠失部位についてはウェスタンブロットに加えて RT-PCR によるエクソン 53 スキッピング効率の結果を示す（表 2.7.3.3.3-1、表 2.7.3.3.3-3）。P1/2 試験では 8 例が 12 週後（V12-13）、8 例が 24 週後（V24-26）の筋生検を用いて測定しているため、各サブグループに関して測定時期別の結果も示した（表 2.7.3.3.3-2、表 2.7.3.3.3-4、表 2.7.3.3.3-6、表 2.7.3.3.3-8）。

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。

（1）　エクソン欠失部位別

両試験共に、45-52 欠失の被験者が一番多かった。

ウェスタンブロットによりジストロフィン発現量を測定した結果、いずれの試験においても 45-52 欠失及び 49-52 欠失の被験者で、投与終了後のジストロフィン発現量が低い傾向が認められた（表 2.7.3.3.3-1）。また、RT-PCR によるエクソン 53 スキッピング効率では、49-52 欠失の被験者で、投与終了後のスキッピング効率が低い傾向が認められた（表 2.7.3.3.3-3）。

表 2.7.3.3.3-1　エクソン欠失部位別のウェスタンブロットによるジストロフィン発現（201 試験、P1/2 試験）

欠失部位	ベースラインから投与終了後[a]までの変化量					
	201 試験 正常対照（ミオシン重鎖）に対する割合 (%)			P1/2 試験 正常対照に対する割合 (%)		
	40 mg/kg (N=8)	80 mg/kg (N=8)	合計 (N=16)	40 mg/kg (N=8)	80 mg/kg (N=8)	合計 (N=16)
45-52	n=2 3.5 (1.01)	n=5 2.8(1.51)	n=7 3.0(1.34)	n=3 0.202 (0.178)	n=3 0.274 (0.431)	n=6 0.238 (0.297)
47-52	n=1 10.0	n=0 —	n=1 10.0	n=0 —	n=0 —	n=0 —
48-52	n=1 4.4	n=2 12.1(2.55)	n=3 9.5(4.80)	n=2 1.250 (1.575)	n=1 2.198	n=3 1.566 (1.241)
49-52	n=2 4.5(0.35)	n=1 4.0	n=3 4.3(0.38)	n=2 -2.662 (4.838)	n=0 —	n=2 -2.662 (4.838)
50-52	n=2 6.6(2.17)	n=0 —	n=2 6.6(2.17)	n=1 3.228	n=1 7.847	n=2 5.538 (3.266)
52	n=0 —	n=0 —	n=0 —	n=0 —	n=3 3.803 (2.899)	n=3 3.803 (2.899)

平均値（標準偏差）：%
測定値が定量下限である 1%未満の場合は参考値とし、集計は参考値を含めて行った。
a：201 試験は 24 週後、P1/2 試験は 12 週後又は 24 週後

［5.3.5.1-1 Table 14.2.2.3、5.3.5.3-2 表 1-12 を改変］

表 2.7.3.3.3-2 エクソン欠失部位別のウェスタンブロットによるジストロフィン発現（P1/2 試験：測定時期ごと）

欠失部位	正常対照に対する割合 (%)					
	ベースラインから 12 週後までの変化量			ベースラインから 24 週後までの変化量		
	40 mg/kg (N=4)	80 mg/kg (N=4)	合計 (N=8)	40 mg/kg (N=4)	80 mg/kg (N=4)	合計 (N=8)
45-52	n=1 0.368	n=3 0.274 (0.431)	n=4 0.298 (0.355)	n=2 0.120 (0.149)	n=0 —	n=2 0.120 (0.149)
47-52	n=0 —	n=0 —	n=0 —	n=0 —	n=0 —	n=0 —
48-52	n=1 0.136	n=1 2.198	n=2 1.167 (1.458)	n=1 2.364	n=0 —	n=1 2.364
49-52	n=2 -2.662 (4.838)	n=0 —	n=2 -2.662 (4.838)	n=0 —	n=0 —	n=0 —
50-52	n=0 —	n=0 —	n=0 —	n=1 3.228	n=1 7.847	n=2 5.538 (3.266)
52	n=0 —	n=0 —	n=0 —	n=0 —	n=3 3.803 (2.899)	n=3 3.803 (2.899)

平均値（標準偏差）：%
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。

［5.3.5.3-2 表 1-13、表 1-14 を改変］

表 2.7.3.3.3-3 エクソン欠失部位別の RT-PCR によるエクソン 53 スキッピング効率（201 試験、P1/2 試験）

欠失部位	ベースラインから投与終了後[a]までの変化量　モル濃度比(%)					
	201 試験			P1/2 試験		
	40 mg/kg (N=8)	80 mg/kg (N=8)	合計 (N=16)	40 mg/kg (N=8)	80 mg/kg (N=8)	合計 (N=16)
45-52	n=2 21.6 (5.77)	n=5 44.3 (17.82)	n=7 37.9 (18.44)	n=3 28.23 (14.52)	n=3 31.11 (3.70)	n=6 29.67 (9.60)
47-52	n=1 26.6	n=0 —	n=1 26.6	n=0 —	n=0 —	n=0 —
48-52	n=1 15.0	n=2 53.6 (1.52)	n=3 40.8 (22.33)	n=2 21.73 (5.22)	n=1 47.05	n=3 30.17 (15.08)
49-52	n=2 9.2 (2.40)	n=1 21.9	n=3 13.5 (7.50)	n=2 11.17 (4.90)	n=0 —	n=2 11.17 (4.90)
50-52	n=2 17.9 (7.76)	n=0 —	n=2 17.9 (7.76)	n=1 23.66	n=1 61.37	n=2 42.52 (26.66)
52	n=0 —	n=0 —	n=0 —	n=0 —	n=3 45.81 (5.54)	n=3 45.81 (5.54)

平均値（標準偏差）：%
a：201 試験は 24 週後、P1/2 試験は 12 週後又は 24 週後

［5.3.5.1-1Table14.2.4.3、5.3.5.3-2 表 1-12 を改変］

表 2.7.3.3.3-4 エクソン欠失部位別の RT-PCR によるエクソン 53 スキッピング効率
（P1/2 試験：測定時期ごと）

欠失部位	モル濃度比(%)					
	ベースラインから 12 週後までの変化量			ベースラインから 24 週後までの変化量		
	40 mg/kg (N=4)	80 mg/kg (N=4)	合計 (N=8)	40 mg/kg (N=4)	80 mg/kg (N=4)	合計 (N=8)
45-52	n=1 14.50	n=3 31.11 (3.70)	n=4 26.96 (8.84)	n=2 35.10 (11.77)	n=0 —	n=2 35.10 (11.77)
47-52	n=0 —	n=0 —	n=0 —	n=0 —	n=0 —	n=0 —
48-52	n=1 25.42	n=1 47.05	n=2 36.24 (15.29)	n=1 18.04	n=0 —	n=1 18.04
49-52	n=2 11.17 (4.90)	n=0 —	n=2 11.17 (4.90)	n=0 —	n=0 —	n=0 —
50-52	n=0 —	n=0 —	n=0 —	n=1 23.66	n=1 61.37	n=2 42.52 (26.66)
52	n=0 —	n=0 —	n=0 —	n=0 —	n=3 45.81 (5.54)	n=3 45.81 (5.54)

平均値（標準偏差）：%

［5.3.5.3-2 表 1-13、表 1-14 を改変］

（2） 歩行可否別

201 試験では 16 例全例が歩行可能であり、P1/2 試験でも歩行可能が 16 例中 13 例であり、歩行可能な被験者の方が多かった。P1/2 試験では、いずれの投与群においても歩行可能な被験者の方が投与終了後のジストロフィン発現量の変化量が多い傾向が認められた（表 2.7.3.3.3-5）。

表 2.7.3.3.3-5 歩行可否別のウェスタンブロットによるジストロフィン発現
（201 試験、P1/2 試験）

歩行可否	ベースラインから投与終了後[a]までの変化量					
	201 試験 正常対照（ミオシン重鎖）に対する割合 (%)			P1/2 試験 正常対照に対する割合 (%)		
	40 mg/kg (N=8)	80 mg/kg (N=8)	合計 (N=16)	40 mg/kg (N=8)	80 mg/kg (N=8)	合計 (N=16)
可能	n=8 5.4(2.40)	n=8 5.3(4.48)	n=16 5.4(3.47)	n=6 1.180 (1.299)	n=7 3.084 (3.166)	n=13 2.205 (2.587)
不能	n=0 —	n=0 —	n=0 —	n=2 -3.035 (4.311)	n=1 0.687	n=3 -1.794 (3.730)

平均値（標準偏差）：%
測定値が定量下限である 1%未満の場合は参考値とし、集計は参考値を含めて行った。
a：201 試験は 24 週後、P1/2 試験は 12 週後又は 24 週後

［5.3.5.1-1 Table 21、5.3.5.3-2 表 1-12 を改変］

表 2.7.3.3.3-6 歩行可否別のウェスタンブロットによるジストロフィン発現
（P1/2 試験：測定時期ごと）

歩行可否	正常対照に対する割合 (%)					
	ベースラインから 12 週後までの変化量			ベースラインから 24 週後までの変化量		
	40 mg/kg (N=4)	80 mg/kg (N=4)	合計 (N=8)	40 mg/kg (N=4)	80 mg/kg (N=4)	合計 (N=8)
可能	n=3 0.421 (0.315)	n=4 0.755 (1.024)	n=7 0.612 (0.768)	n=3 1.939 (1.546)	n=3 6.190 (1.784)	n=6 4.064 (2.766)
不能	n=1 -6.083	n=0 ―	n=1 -6.083	n=1 0.014	n=1 0.687	n=2 0.351 (0.476)

平均値（標準偏差）：%
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。

［5.3.5.3-2 表 1-13、表 1-14 を改変］

（3） 年齢別

両試験の年齢の中央値である 7.8 歳で区切り、サブグループ解析を実施した。両試験共に 7.8 歳未満と 7.8 歳以上で大きな違いはなかった（表 2.7.3.3.3-7）。

表 2.7.3.3.3-7 年齢別のウェスタンブロットによるジストロフィン発現
（201 試験、P1/2 試験）

年齢	ベースラインから投与終了後 [a] までの変化量					
	201 試験 正常対照（ミオシン重鎖）に対する割合 (%)			P1/2 試験 正常対照に対する割合 (%)		
	40 mg/kg (N=8)	80 mg/kg (N=8)	合計 (N=16)	40 mg/kg (N=8)	80 mg/kg (N=8)	合計 (N=16)
7.8 歳未満	n=5 5.904 (3.041)	n=4 3.173 (0.717)	n=9 4.690 (2.625)	n=3 1.987 (1.467)	n=4 1.881 (1.802)	n=7 1.926 (1.531)
7.8 歳以上	n=3 4.667 (0.423)	n=4 7.423 (5.854)	n=7 6.241 (4.401)	n=5 -0.990 (2.861)	n=4 3.689 (4.037)	n=9 1.089 (4.036)

平均値（標準偏差）：%
測定値が定量下限である 1%未満の場合は参考値とし、集計は参考値を含めて行った。
a：201 試験は 24 週後、P1/2 試験は 12 週後又は 24 週後

［5.3.5.3-2 表 1-12、表 2-2 を改変］

表 2.7.3.3.3-8 年齢別のウェスタンブロットによるジストロフィン発現
（P1/2 試験：測定時期ごと）

年齢	正常対照に対する割合 (%)					
	ベースラインから 12 週後までの変化量			ベースラインから 24 週後までの変化量		
	40 mg/kg (N=4)	80 mg/kg (N=4)	合計 (N=8)	40 mg/kg (N=4)	80 mg/kg (N=4)	合計 (N=8)
7.8 歳未満	n=1 0.368	n=3 1.074 (0.982)	n=4 0.898 (0.876)	n=2 2.796 (0.611)	n=1 4.301	n=3 3.298 (0.970)
7.8 歳以上	n=3 -1.729 (3.783)	n=1 -0.201	n=4 -1.347 (3.182)	n=2 0.120 (0.149)	n=3 4.985 (3.790)	n=5 3.039 (3.780)

平均値（標準偏差）：%
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。

［5.3.5.3-2 表 1-13、表 1-14 を改変］

2.7.3.4 推奨用法・用量に関する臨床情報の解析

2.7.3.4.1 推奨用法・用量

【予定される用法及び用量】

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

2.7.3.4.2 推奨用法・用量の設定根拠

（1） 用法

本剤の $t_{1/2}$ は 2～2.6 時間（24 週投与時）と短いため、頻回投与することが妥当と考えられる。しかしながら、本剤の薬理作用は、エクソンスキッピングによりジストロフィンタンパクを産生させることであり、mdx マウスにアンチセンス核酸を作用させた後、約 1 週間後にはジストロフィンタンパクの産生が認められ、2～4 週後にピークになるという報告[7]がある。また、類薬である eteplirsen の $t_{1/2}$ も同程度であり、投与間隔が 1 週間に 1 回でジストロフィン発現が認めれている[8]ことから、患者の投与上の負担を考慮し、臨床試験ではいずれも 1 週間に 1 回静脈内投与することとした。その結果、安全性に問題はなく、有効性が認められたことから、本剤の用法は 1 週間に 1 回静脈内投与とした。

（2） 用量

本剤の first-in-human 試験である DMT01 試験の投与量は、1.25、5、及び 20 mg/kg であった。カニクイザルでの 12 週間間歇（週 1 回）静脈内投与毒性試験（投与量：0、60、200、600 mg/kg）において無毒性量は 60 mg/kg と判断されたが、200 mg/kg 投与群の所見はいずれも軽微であり忍容量と考えられた。そのため、この用量からサル - ヒト間の体表面積換算係数 12/37 及び安全係数を約 50 として算出した 1.25 mg/kg を初回投与量とした。また、被験者数及び安全性の観点から、公比 4 で用量を漸増するデザインとし、コホート 2 及び 3 の用量をそれぞれ 5 及び 20 mg/kg とした。

DMT01 試験において、DMD 患者 10 例を対象に、安全性を確認しながら本剤 1.25、5 又は 20 mg/kg の週 1 回、12 週間静脈内投与を行った結果、良好な忍容性が確認された。また、20 mg/kg 群の 1 例（NS-07）において、高いジストロフィン発現が確認された。

P1/2 試験及び 201 試験の投与量は、40 及び 80 mg/kg であった。カニクイザル 12 週間間歇静脈内投与毒性試験の忍容量は 200 mg/kg、マウス 12 週間間歇静脈内投与毒性試験の忍容量は 240 mg/kg であることから、DMT01 試験の 10 例の対数変換後の投与量と C_{max}、$AUC_{0\text{-}last}$ を用いた直線回帰分析を行い解析した結果、カニクイザル 200 mg/kg 及びマウス 240 mg/kg の C_{max}、$AUC_{0\text{-}last}$ に到達するために必要な投与量はそれぞれ 216.4～1430 mg/kg 及び 89.3～381.0 mg/kg の範囲であった。したがって、安全性の観点から 89.3 mg/kg までの用量を設定して反復投与試験を実施することは可能と判断し、用量設定試験である 201 試験及び P1/2 試験の最高用量を 80 mg/kg と設定した。これら 2 試験のもう 1 つの用量は、80 mg/kg の半量かつ DMT01 試験の最高用量（20 mg/kg）の 2 倍である 40 mg/kg とした。なお、DMT01 試験で顕著なジストロフィン発現が認められた被験者 NS-07 の C_{max}、$AUC_{0\text{-}last}$ に到達するために必要な投与量を算出するため、DMT01 試験の 10 例の対数変換後の投与量と C_{max}、$AUC_{0\text{-}last}$ を用いて直線回帰分析を行った。その結果、被験者 NS-

[redacted] の C_{max}、$AUC_{0\text{-}last}$ に到達するために必要な投与量は 32.4～50.0 mg/kg の範囲であった。したがって、有効性の観点から、201 試験及び P1/2 試験で有効性を評価する用量として 40 mg/kg は妥当と判断した。

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（2.7.4 項参照）。有効性では、両試験共に、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（2.7.3.3.2.1 項参照）。

なお、DMT01 試験及び P1/2 試験の直線回帰分析により C_{max} 及び $AUC_{0\text{–}last}$ の用量比例性を解析した結果、本剤 1.25～80 mg/kg の範囲において C_{max} 及び $AUC_{0\text{–}last}$ は用量比例性を示した（2.7.2.3.1.4 項参照）。

また、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 NS-065/NCNP-01 濃度に顕著な差は認められなかった（2.7.2.3.2.1 項参照）。

以上より、本剤の用量は 80 mg/kg が適切であると判断した。

2.7.3.5 効果の持続・耐薬性

201 試験及び P1/2 試験では、本剤 40 又は 80 mg/kg を週 1 回 24 週間、静脈内投与した。

P1/2 試験の投与期間の平均値（標準偏差）は、40 mg/kg 群の 2 例が有害事象発現のために各 1 回休薬し、総投与回数平均値（標準偏差）は、40 mg/kg 群で 23.75（0.46）回、80 mg/kg 群で 24.0（0.00）回であった。（表 2.7.4.1.3-1）。

201 試験では、投与の中止や休薬、用量変更はなく、全例が 24 回の投与を受けた（40 mg/kg 群 2 例、80 mg/kg 群 3 例の各プラセボ投与 4 回を含む）（表 2.7.4.1.3-2）。201 試験を終了した被験者は全例が 202 試験に移行し、継続投与を実施中である。本承認申請では、202 試験の有効性のデータは記載していないが、カットオフ時の安全性データ（最終被験者が 73 週の投与を終了した時点）は 2.7.4 項に記載した。カットオフ時点で、201 試験からの総投与回数平均値（標準偏差）は、40 mg/kg 群 96.9（5.8）回、80 mg/kg 群 73.4（3.5）回であり、40 mg/kg では最長 107 回、80 mg/kg では最長 77 回の投与が行われた（表 2.7.4.1.3-3）。

いずれの試験においても、ジストロフィン発現及び運動機能評価によって、24 週までの有効性が認められた（2.7.3.2 項参照）。また、P1/2 試験のジストロフィンの発現を筋生検実施時期別に評価した結果、12 週後よりも 24 週後の方がジストロフィン発現量及びエクソン 53 スキッピング効率が増加する傾向が認められた。

非臨床の反復投与毒性試験において、カニクイザルに 12 週間本剤を投与した結果、静脈内投与及び筋肉内投与の各 1 例で抗 NS-065/NCNP-01 抗体の産生が認められたが、該当するサル筋肉組織において投与終了時にスキッピング活性が認められていること、曝露に反復投与による影響が認められないことから、抗薬物抗体産生は毒性評価及び有効性に影響しないと判断した。また、血清中サイトカイン、血清中補体及び末梢血イムノフェノタイピングに本剤投与に起因した変化は認められなかった（2.6.6.9.1.2 項参照）。

臨床試験においても全ての試験で免疫学的検査を実施し、抗ジストロフィン抗体及び抗 NS-065/NCNP-01 抗体の発現を評価した。その結果、201 試験の 80 mg/kg 群 1 例で、Week 13 及び Week 24 に抗ジストロフィン抗体が検出されたが、202 試験（Week 37、49 及び Week 73）、P1/2 試験及び DMT01 試験では、抗ジストロフィン抗体検査の結果は全て陰性であった。また、抗 NS-065/NCNP-01 抗体は、全ての試験で陰性であった。

以上より、24 週間本剤を投与することにより効果の消失、耐薬性を示すような徴候は認められなかった。また、全例で抗 NS-065/NCNP-01 抗体は検出されず、201 試験の 1 例を除き抗ジストロフィン抗体は検出されなかったことから、抗体発現により本剤の有効性及び安全性に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

2.7.3.6 付録

表 2.7.3.6-1 臨床的有効性試験の要約

試験番号 フェーズ ［資料番号］	施設数 （実施国） 実施年月	デザイン	対象	目的	被験者数	投与期間	用法・用量	有効性評価項目	資料の取扱い 進行状況
NS-065/NCNP-01-201 海外第 II 相 ［5.3.5.1-1］	6 施設 （米、カナダ）	多施設共同、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	DMD 患者 [a] (4-<10 歳) 男性 歩行可能	有効性、安全性、PK/PD 検討	16 例 (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	24週間	下記を1時間かけて、週1回静脈内投与 4 週間：40、80 mg/kg 又はプラセボ 20週間：40又は80 mg/kg	主要：ジストロフィンタンパク(WB) 副次：ジストロフィンタンパク(IF、MS)、ジストロフィン mRNA(RT-PCR)、運動機能評価	評価 完了
NS065/NCNP01-P1/2 国内第 I/II 相 ［5.3.5.1-2］	5 施設 （日本）	多施設共同、用量設定、並行群間比較、オープンラベル	DMD 患者 [a] (5-<18 歳) 男性 歩行の可否問わない	有効性、安全性、PK/PD 検討	16 例 (40 mg/kg 群 8 例、80 mg/kg 群 8 例)	24週間	NS-065/NCNP-01 40又は 80 mg/kgを1時間かけて、週1回静脈内投与	主要：ジストロフィンタンパク(WB、IF)、ジストロフィン mRNA(RT-PCR) 副次：運動機能評価、血清 CK 値	評価 完了
NCNP/DMT01 国内第 I 相 ［5.3.5.2-1］	1 施設 （日本）	単一施設、オープンラベル、用量漸増	DMD 患者 [a] (5-<18 歳) 男性 原則、歩行不能 [b]	安全性、有効性、PK 検討	10 例 (1.25 mg/kg 群：3 例、5 mg/kg 群：3 例、20 mg/kg 群：4 例)	12週間	各コホートで規定された投与量(コホート1：1.25 mg/kg、コホート2：5 mg/kg、コホート3：20 mg/kg)を1時間かけて、週1回静脈内投与	副次 [c]：ジストロフィンタンパク(WB、IF)、ジストロフィン mRNA(RT-PCR)、血清 CK 値	評価 完了

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、MS：質量分析

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

表 2.7.3.6-2　被験者ごとの有効性の要約（201 試験）

患者 ID	投与量 (mg/kg)	年齢 (歳)	エクソン欠失部位	BMI (kg/m^2)	薬物動態 [a]		ジストロフィン [b]					運動機能評価 [b]				
					C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-last}}$ (μg·h/mL)	ウェスタンブロットジストロフィン発現 [c] (%)		IF ジストロフィン陽性筋線維の割合(%)	MS ジストロフィン発現 [c] (%)	RT-PCR エクソン 53 スキッピング効率 [d] (%)	6MWT (m)	TTSTAND (rise/秒)	TTRW (m/秒)	TTCLIMB (task/秒)	NSAA
							M	AA								
[redacted]	40	[redacted]	50-52	14.2	121	159	8.13	3.94	8.82	2.73	12.43	27.00	0.04	0.02	0.01	6
			47-52	19.3	126	218	10.03	10.19	11.70	1.39	26.62	-8.00	0.13	0.59	0.10	3
			49-52	20.0	116	195	4.72	8.81	12.66	2.03	10.93	56.00	0.04	0.40	0.13	-1
			49-52	19.1	137	205	4.22	4.35	4.00	2.02	7.54	-7.00	-0.10	-0.32	-0.09	-4
			50-52	19.5	120	225	5.06	4.58	31.50	2.55	23.41	50.00	0.02	0.42	0.02	1
			45-52	16.9	116	185	4.19	4.19	10.66	1.42	17.56	3.00	-0.04	0.34	0.11	0
			48-52	19.4	121	199	4.41	3.87	11.90	0.63	15.02	15.00	0.17	0.23	0.25	1
			45-52	14.8	117	191	2.76	1.67	10.90	-0.65	25.72	-11.00	-0.07	0.03	-0.02	-2
	80		45-52	16.3	216	364	0.69	0.32	22.17	0.81	27.01	73.00	-0.10	0.04	0.02	-1
			45-52	16.6	223	325	3.57	2.98	17.24	1.05	39.58	24.00	0.05	0.13	0.03	2
			45-52	16.9	173	266	2.51	1.81	8.79	0.97	38.97	85.00	-0.01	0.41	-0.06	-3
			48-52	21.9	301	629	10.31	7.97	53.33	10.51	52.57	-1.00	-0.00	-0.04	-0.00	-1
			48-52	18.3	240	395	13.91	5.65	68.14	8.81	54.72	—	0.06	0.61	0.06	3
			45-52	16.3	233	363	4.79	2.34	31.72	1.75	41.61	41.00	0.08	0.42	0.03	4
			45-52	17.6	221	380	2.63	1.50	43.78	3.22	74.53	-10.00	0.03	0.25	-0.11	0
			49-52	15.4	213	377	3.98	3.51	18.72	2.13	21.89	96.00	0.08	0.12	0.00	5

BMI：ボディマス指数、C_{max}：最高血漿中濃度、$AUC_{0\text{-last}}$：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、WB：ウェスタンブロット、M：ミオシン重鎖、AA：α-アクチニン、IF：免疫蛍光染色、RT-PCR：逆転写ポリメラーゼ連鎖反応、6MWT：6 分間歩行試験、TTSTAND：立ち上がり時間、TTRW：10 m 歩行/走行時間、TTCLIMB：4 段階段昇り時間、NSAA：ノース・スター歩行能力評価

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。

*全ての被験者は GC を使用していた。

a：最終投与時の値

b：ベースラインから Week 25 までの変化量

c：正常対照に対する割合

d：モル濃度比

［5.3.5.1-1 Table 26、Table 36 を改変］

表 2.7.3.6-3　被験者ごとの有効性の要約（P1/2 試験）

被験者識別コード[a]	投与量 (mg/kg)	年齢 (歳)	エクソン欠失部位	BMI (kg/m^2)	歩行可否	薬物動態[b]		ジストロフィン[c]				運動機能評価[f]			
						C_{max} (μg/mL)	$AUC_{0\text{-}last}$ (μg•h/mL)	筋生検時期	IF ジストロフィン陽性筋線維数の割合(%)	WB(新法)[d] ジストロフィン定量値 (%)	RT-PCR[e] エクソン 53 スキッピング効率(%)	6MWT (m)	Time Up &Go[g] (tasks/秒)	TTRF[g] (rise/秒)	TTRW (m/秒)
[redacted]	40	[redacted]	49-52	15.6	可	133	198	V12-13	0.2	0.76	7.7	-61	-0.0051	-0.0333	-0.0896
			48-52	17.9	可	145	272		1.1	0.14	25.4	-69	-	-	-0.2734
			45-52	16.7	可	108	157		-0.0	0.37	14.5	-35	-0.0308	-0.0729	-0.2123
			49-52	23.6	否	325	403		-0.6	-6.08	14.6	-	-	-	-
			50-52	17.5	可	116	177	V24-26	0.6	3.23	23.7	-2	-0.0025	-0.0085	-0.0467
			45-52	16.3	可	133	188		-0.4	0.23	26.8	-38	-0.0161	-0.0992	-0.2937
			45-52	21	否	249	356		-0.2	0.01	43.4	-	-	-	-
			48-52	15.7	可	111	170		-0.0	2.36	18.0	30	-0.0227	-0.0511	-0.2339
	80		45-52	22.4	可	424	573	V12-13	0.6	-0.20	30.8	-80	-	-	-0.1746
			48-52	17.5	可	237	430		0.3	2.20	47.1	33	-0.0133	-0.0055	-0.1056
			45-52	20	可	446	548		-0.0	0.63	27.6	-45	-0.013	-0.148	-0.327
			45-52	15.8	可	319	432		0.5	0.39	34.9	-37	-0.009	0.0037	0.1174
			50-52	30.2	可	338	634	V24-26	6.5	7.85	61.4	11	-0.008	-0.015	0.0332
			52	21.8	可	402	656		-0.0	6.42	49.1	-59	-0.0126	-0.0067	0.0078
			52	15.3	否	263	450		2.1	0.69	49.0	-	-	-	-
			52	15.9	可	199	342		0.3	4.30	39.4	2	-0.0161	0.021	-0.1109

BMI：ボディマス指数、C_{max}：最高血漿中濃度、$AUC_{0\text{-}last}$：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、IF：免疫蛍光染色、RT-PCR：逆転写ポリメラーゼ連鎖反応、WB：ウェスタンブロット、6MWT：6 分間歩行試験、TTRF：起き上がり時間、TTRW：10 m 歩行/走行時間

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。

*[redacted]、[redacted]以外は全身性コルチコステロイドを使用していた。

a：「NS065/NCNP01-P1/2-」を省略した。

b：最終投与時の値

c：ベースライン（V-1）から V12-13 又は V24-26 の変化量

d：正常対照に対する割合

e：モル濃度比

f：ベースライン（V-1）から V24-26 の変化量

g：[redacted]及び[redacted]は立ち上がることができなかったため評価することができなかった。

［5.3.5.1-2 14.2.1-1、16.2.4-1、16.2.5 薬物動態試験報告書 Appendix 4、Appendix 6 を改変］

目次

2.7.4 臨床的安全性 3
2.7.4.1 医薬品への曝露 3
2.7.4.1.1 総括的安全性評価計画及び安全性試験の記述 3
2.7.4.1.2 安全性評価方法 5
2.7.4.1.2.1 安全性解析対象集団 5
2.7.4.1.2.2 有害事象 6
2.7.4.1.2.3 臨床検査 8
2.7.4.1.2.4 バイタルサイン 10
2.7.4.1.2.5 免疫学的検査 10
2.7.4.1.2.6 標準 12 誘導心電図検査 10
2.7.4.1.2.7 その他の検査 10
2.7.4.1.3 全般的な曝露状況 11
2.7.4.1.4 治験対象集団の人口統計学的特性及びその他の特性 13
2.7.4.1.4.1 人口統計学的特性及びその他の特性 13
2.7.4.1.4.2 前治療及び併用薬剤 13
2.7.4.2 有害事象 16
2.7.4.2.1 有害事象の解析 16
2.7.4.2.1.1 比較的よく見られる有害事象 16
2.7.4.2.1.2 死亡 30
2.7.4.2.1.3 重篤な有害事象 30
2.7.4.2.1.4 重要な有害事象 32
2.7.4.2.1.5 注目すべき有害事象 33
2.7.4.2.2 個別有害事象の文章による説明 37
2.7.4.3 臨床検査値の評価 37
2.7.4.3.1 血液学的検査及び血液生化学的検査 37
2.7.4.3.2 サイトカイン検査（補体検査含む） 38
2.7.4.3.3 尿検査 39
2.7.4.4 バイタルサイン、身体的所見及び安全性に関連する他の観察項目 42
2.7.4.4.1 バイタルサイン 42
2.7.4.4.2 免疫学的検査 42
2.7.4.4.3 心電図 43
2.7.4.4.4 その他の検査 45
2.7.4.5 特別な患者集団及び状況下における安全性 45
2.7.4.5.1 内因性要因 45
2.7.4.5.2 外因性要因 48
2.7.4.5.3 薬物相互作用 48
2.7.4.5.4 妊娠及び授乳時の使用 48
2.7.4.5.5 過量投与 48
2.7.4.5.6 薬物乱用 48
2.7.4.5.7 離脱症状及び反跳現象 48
2.7.4.5.8 自動車運転及び機械操作に対する影響又は精神機能の障害 48
2.7.4.6 市販後データ 49
2.7.4.7 付録 50

略語一覧表

語句略語	語句略語内容
ALP	alkaline phosphatase：アルカリホスファターゼ
ALT	alanine aminotransferase：アラニン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
AST	aspartate aminotransaminase：アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
BCRP	breast cancer resistance protein：乳癌耐性タンパク
BMI	body mass index：ボディマス指数
BUN	blood urea nitrogen：血液尿素窒素
CBB	coomassie brilliant blue：クマシーブリリアントブルー
CK	creatine kinase：クレアチンキナーゼ
C_{max}	maximum plasma concentration：最高血漿中濃度
CTCAE	common terminology criteria for adverse events：有害事象共通用語規準
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
GC	glucocorticoid：グルココルチコイド
IL	interleukin：インターロイキン
MCP-1	monocyte chemotactic protein-1：単球走化性促進因子-1
MedDRA	medical dictionary for regulatory activities terminology：国際医薬規制用語集
NAG	N-acetyl-β-D-glucosaminidase：N-アセチル-β-D-グルコサミニダーゼ
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
PT	preferred term：基本語
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
TNF	tumor necrosis factor：腫瘍壊死因子
UGT	uridine diphosphate glucuronosyltransferase：ウリジン二リン酸グルクロン酸転移酵素

2.7.4 臨床的安全性

2.7.4.1 医薬品への曝露

2.7.4.1.1 総括的安全性評価計画及び安全性試験の記述

デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）患者に対する本剤の安全性評価には、国内第 I/II 相臨床試験（NS065/NCNP01-P1/2；P1/2 試験）、海外第 II 相臨床試験（NS-065/NCNP-01-201；201 試験）、201 試験の継続試験である海外第 II 相臨床試験（NS-065/NCNP-01-202；202 試験）及び国内第 I 相臨床試験（NCNP/DMT01；DMT01 試験）の臨床成績を用いた。202 試験は現在進行中であり、本承認申請では最終被験者が Week 73 投与を終了した時点でカットオフしたデータを用いて評価した。

各臨床試験の概要を表 2.7.4.1.1-1 に示し、安全性評価計画及び各臨床試験について以下に概説する。

本剤を初めてヒトに投与したのは、早期探索的臨床試験として国内で医師主導で実施した DMT01 試験である。DMT01 試験では、DMD 患者（計 10 例）を対象に、非盲検、非対照にて、本剤 1.25、5 又は 20 mg/kg の週 1 回、12 週間静脈内投与を行った。低用量群から開始し、安全性を確認した後、次の用量群を開始した。その結果、いずれの用量群においても良好な忍容性が確認された。DMT01 試験の薬物動態結果と毒性試験での無毒性量（カニクイザル 200 mg/kg 及びマウス 240 mg/kg）から、ヒトにおいても 89.3 mg/kg までの反復投与試験は可能と判断したことから、P1/2 試験では、国内 DMD 患者（計 16 例）を対象に、本剤 40 及び 80 mg/kg の 2 用量を用いて、24 週投与時の安全性を検討した。また、201 試験では、海外 DMD 患者（計 16 例）を対象に、本剤 40 及び 80 mg/kg の 2 用量を用いて、4 週間のプラセボ対照二重盲検比較期（Period 1）とそれに続く 20 週間のオープンラベル期（Period 2）からなる試験を実施した。201 試験を終了した 16 例全例は引き続き 202 試験に移行し、本剤 40 及び 80 mg/kg の投与を継続中である（データカットオフ時には全例継続中で、144 週又は承認まで継続予定）。

安全性評価項目としては、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 N-アセチル-β-D-グルコサミニダーゼ（NAG）、α_1 ミクログロブリン及び β_2 ミクログロブリンを測定した。また、DMT01 試験開始前に実施された毒性試験で脾臓重量の高値が認められていたことから、DMT01 試験においては腹部エコーにて脾臓腫大の有無等を評価した。

また、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。さらに、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を設定した。

本剤の QT/QTc 間隔への影響を検討するため、P1/2 試験では集中心電図測定を実施し、血漿中薬物濃度と QTc 間隔の関連性を評価した。

表 2.7.4.1.1-1　安全性評価に用いた臨床試験の概要

試験番号 フェーズ ［資料番号］	施設数 （実施国） 実施年月	デザイン	対象	目的	被験者数	用法・用量 投与期間	安全性評価項目	資料の 取扱い 進行状況
NS065/NCNP01-P1/2 国内第 I/II 相 ［5.3.5.1-2］	5 施設 （日本） 2016/7-2017/11	多施設共同、並行群間比較、オープンラベル	DMD 患者 (5-<18 歳)	有効性、安全性、PK/PD 検討	計 16 例 40 mg/kg 群 8 例 80 mg/kg 群 8 例	NS-065/NCNP-01　40 又は 80 mg/kg を 1 時間かけて、週 1 回を 24 週間静脈内投与	有害事象、副作用、バイタルサイン（血圧、脈拍数、体温）、臨床検査［血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査（随時尿）、24 時間蓄尿検査、サイトカイン］、免疫学的検査（抗ジストロフィン抗体、抗ビルトラルセン抗体）、標準 12 誘導心電図検査（集中心電図測定、一般心電図測定）、心エコー、肺機能検査	評価資料 完了
NS-065/NCNP-01-201 海外第 II 相 ［5.3.5.1-1］	6 施設 （米、カナダ） 2016/12-2018/2	多施設共同、用量設定、自然歴対照 Period 1：ランダム化、プラセボ対照、二重盲検 Period 2：オープンラベル	DMD 患者 (4-<10 歳)	有効性、安全性、PK/PD 検討	計 16 例 Period 1 プラセボ群 5 例 40 mg/kg 群 6 例 80 mg/kg 群 5 例 Period 2 40 mg/kg 群 8 例 80 mg/kg 群 8 例	Period 1 40、80 mg/kg 又はプラセボ（生理食塩水）を 1 時間かけて週 1 回、4 週間静脈内投与 Period 2 40 又は 80 mg/kg を 1 時間かけて週 1 回、20 週間静脈内投与	有害事象、副作用、バイタルサイン 臨床検査[血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、サイトカイン]、免疫学的検査（抗ジストロフィン抗体、抗ビルトラルセン抗体）、標準 12 誘導心電図検査	評価資料 完了
NS-065/NCNP-01-202 海外第 II 相 ［5.3.5.3-1］	6 施設 （米、カナダ）	多施設共同、オープンラベル （201 試験の継続試験）	DMD 患者 201 試験 終了患者	有効性、安全性	計 16 例 40 mg/kg 群 8 例 80 mg/kg 群 8 例	40又は80 mg/kgを1時間かけて週1回、 144 週間（又は承認まで）静脈内投与	201 試験の評価項目を継続	－ 進行中
NCNP/DMT01 国内第 I 相 ［5.3.5.2-1］	1 施設 （日本） 2013/6-2014/9	単一施設、オープンラベル、非対照、用量漸増、PK/PD	DMD 患者 (5-<18 歳)	安全性、有効性、PK 検討	計 10 例 1.25 mg/kg 群 3 例 5 mg/kg 群 3 例 20 mg/kg 群 4 例	コホート1： 1.25 mg/kg コホート2：5 mg/kg コホート3：20 mg/kg 1時間かけて週1回、12週間静脈内投与	有害事象、副作用、理学的検査、バイタルサイン（血圧、脈拍数、体温、呼吸数）、臨床検査［血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査（随時尿）、24 時間蓄尿検査］、免疫学的検査（抗ジストロフィン抗体、抗ビルトラルセン抗体）、標準 12 誘導心電図検査、心エコー、腹部エコー、肺機能検査	評価資料 完了

DMD：デュシェンヌ型筋ジストロフィー

2.7.4.1.2 安全性評価方法

2.7.4.1.2.1 安全性解析対象集団

安全性解析対象集団は、本剤又はプラセボ（生理食塩水）を一度でも投与した被験者とした。各試験の投与群ごとの解析対象例数及び有害事象の評価期間を表 2.7.4.1.2.1-1 に示す。

P1/2 試験では、本剤 40 mg/kg 又は 80 mg/kg を各 8 例に 24 週（週 1 回）静脈内投与した。評価は各投与群及び全体を対象として行った。

201 試験では、コホート 1 として、Period 1 でプラセボを 2 例、本剤 40 mg/kg を 6 例に、二重盲検下で 4 週（週 1 回）静脈内投与したのち、Period 2 で同被験者（8 例）に 40 mg/kg を 20 週（週 1 回）静脈内投与した。コホート 2 では、Period 1 でプラセボを 3 例、本剤 80 mg/kg を 5 例に、二重盲検下で 4 週（週 1 回）静脈内投与したのち、Period 2 で同被験者（8 例）に 80 mg/kg を 20 週（週 1 回）静脈内投与した。評価は Period 1 及び Period 2 ごとに各投与群を対象として行い、Period 1 と Period 2 をあわせた全期間についても各投与群及び全体の集計を行った。

202 試験では、201 試験の投与終了後（Week 25）からカットオフ時までのデータを対象として 40 mg/kg 及び 80 mg/kg の投与群ごと及び全体の集計を行った。また、201 試験と 202 試験を統合した集計も行った。

DMT01 試験では、コホート 1 では本剤 1.25 mg/kg を 3 例に、コホート 2 では 5 mg/kg を 3 例に、コホート 3 では 20 mg/kg を 4 例に、12 週（週 1 回）静脈内投与した。評価は各投与群及び全体を対象として行った。なお、DMT01 試験では、投与前筋生検時から有害事象を収集した。

表 2.7.4.1.2.1-1 各試験の安全性解析対象集団

試験番号	投与期	投与群	解析対象例数	有害事象の評価期間
P1/2 試験		40 mg/kg 群	8	本剤投与開始から後観察期終了時まで
		80 mg/kg 群	8	
		全体	16	
201 試験	Period 1	プラセボ群	5	201 試験のプラセボ又は本剤の投与開始から Week 5（Period 2 初回投与）の投与開始前まで
		40 mg/kg 群	6	
		80 mg/kg 群	5	
	Period 2	40 mg/kg 群	8 [a]	201 試験の Week 5 投与開始後から Week 25（202 試験の初回投与）の投与開始前まで [c]
		80 mg/kg 群	8 [b]	
	全期間	40 mg/kg 群	8	201 試験の本剤投与開始から Week 25（202 試験の初回投与）の投与開始前まで [d]
		80 mg/kg 群	8	
		全体	16	
202 試験		40 mg/kg 群	8	202 試験の投与開始からデータカットオフまで [e]
		80 mg/kg 群	8	
		全体	16	
201＋202 試験		40 mg/kg 群	8	201 試験の本剤投与開始から 202 試験のデータカットオフまで [d,e]
		80 mg/kg 群	8	
		全体	16	
DMT01 試験	コホート 1	1.25 mg/kg 群	3	DMT01 試験の各コホートの投与前筋生検から最終観察まで
	コホート 2	5 mg/kg 群	3	
	コホート 3	20 mg/kg 群	4	
	全コホート	全体	10	

a：Period 1 で 4 週間 40 mg/kg を投与した 6 例とプラセボを投与した 2 例が Period 2 で 20 週間 40 mg/kg を投与
b：Period 1 で 4 週間 80 mg/kg を投与した 5 例とプラセボを投与した 3 例が Period 2 で 20 週間 80 mg/kg を投与
c：プロトコールでは、202 試験に移行しない場合は試験完了の 30 日後までと規定されているが、全例 202 試験に移行した。

d：集計には、Period 1 でプラセボ投与時に発現した有害事象は含まない。
e：データカットオフまでに終了（中止）する場合は、試験終了の 30 日後までと規定されているが、該当例はなかった。

2.7.4.1.2.2 有害事象

（1） 有害事象の定義

いずれの試験も「有害事象」とは、治験薬を投与された被験者に生じたすべての好ましくない又は意図しない疾病又はその徴候（臨床検査値の異常も含む）であり、当該治験薬との因果関係の有無は問わないとした。

各試験の有害事象の詳細な定義を表 2.7.4.1.2.2-1 に示す。概して、投与開始後（DMT01 試験では投与前筋生検後）に新たに発現した事象及び試験期間中に悪化した場合を有害事象として取り扱った。投与前に既存していた徴候、症状、臨床検査値異常は有害事象には含まなかったが、既存の症状から回復した後に再発した場合、又は治験責任医師により臨床的に重大な増悪と判断された場合は有害事象として取り扱った。また、原疾患に伴う身体機能及び病状の悪化（歩行機能の喪失、人工呼吸器の必要、心筋症など）については、予想されうる悪化の程度を上回り、臨床的に重要であると判断される場合のみ有害事象として取り扱った。

202 試験では、Week 25 の投与開始以降に新たに発現した有害事象及び 201 試験で発現した有害事象が悪化した場合を有害事象として取り扱った。なお、201 試験の最終投与後 30 日以内に発現した筋生検に関連する有害事象（例えば、切開部位感染等）は、201 試験の集計に含めることとした。

各試験で発現した有害事象名は、MedDRA（P1/2 試験は ver.20.1、201/202 試験は ver.21.0、DMT01 試験は ver.17.1）で読み替え、器官別大分類（SOC）及び基本語（PT）ごとに集計した。

表 2.7.4.1.2.2-1 有害事象の定義

試験番号	有害事象に含む	有害事象に含まない
P1/2	治験薬投与開始から後観察期終了時までの以下に該当する事象 ・ 新たに発現した事象及び治験薬投与開始時に認められた事象が後観察期終了時までに悪化した場合 ・ 臨床検査値、バイタルサイン等の異常値又は異常所見については、臨床症状を伴うもの、重篤な有害事象の基準に該当するもの、治験薬の減量、休薬あるいは中止を要するもの、治療を要するものあるいは治験責任（分担）医師により臨床的に有意な（好ましくないあるいは意図しない）変動であると判断された場合	・ 原疾患に伴う身体機能及び病状の悪化（ただし予想されうる悪化の程度を上回り、臨床的に重要であると判断された場合は除く）
201/202	治験薬投与開始から試験終了（中止）の 30 日後までの以下に該当する事象 ・ 新たに発現した事象及び既存の疾患の悪化	・ 本剤投与前に既存の疾患の徴候、症状及び/又は臨床検査値異常（ただし、既存の症状から回復した後に再発した場合、又は臨床的に重大な増悪と治験責任医師が判断した場合を除く）

表 2.7.4.1.2.2-1 有害事象の定義（続き）

試験番号	有害事象に含む	有害事象に含まない
DMT01	投与前筋生検から最終観察までの期間の以下に該当する事象 ・ 治験開始前より存在した慢性的又は断続的な症状の増悪 ・ 治験薬投与開始後に新たに検出又は診断された症状 ・ 相互作用が疑われる徴候、症状、又は後遺症 ・ 治験薬又は併用薬の過量投与が疑われる徴候、症状、又は後遺症	・ 「有効性の欠如」又は「期待された薬理学的作用の欠如」 ・ 内科的又は外科的処置（内視鏡検査、虫垂切除等） ・ 好ましくない医療上のできごとが発現しない場合（社会的及び／又は便宜的入院等） ・ 治験開始前より存在が確認又は検出された疾患や状態の変動が、予測される日々の変動の範囲内であるもの、又は悪化していないもの。 ・ 治験の対象となる疾患又は障害、並びに予測される疾患又は障害の進行、徴候又は症状

(2) 有害事象の重篤度

重篤な有害事象は、以下に該当する有害事象とした。

- 死亡
- 死亡につながるおそれのある事象
- 治療のために入院又は入院期間の延長が必要とされる事象
- 障害（永続的又は顕著な障害・機能不全に陥るもの）
- 障害につながるおそれのある症例
- 上記に準じて重篤である症例（その他医学的に重大な状態）
- 後世代における先天性の疾病又は異常

(3) 有害事象の重症度

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

表 2.7.4.1.2.2-2 CTCAE Grade 分類の原則

程度	基準
Grade 1（軽症）	症状がない；軽度の症状がある；臨床所見又は検査所見のみ；治療を要さない
Grade 2（中等症）	最小限／局所的／非侵襲的治療を要する；年齢相応の身の回り以外の日常生活動作の制限
Grade 3（重症又は医学的に重大であるが、ただちに生命を脅かすものではない）	重症又は医学的に重大であるが、ただちに生命を脅かすものではない；入院又は入院期間の延長を要する；活動不能／動作不能；身の回りの日常生活動作の制限
Grade 4（生命を脅かす）	生命を脅かす；緊急処置を要する
Grade 5（有害事象による死亡）	有害事象による死亡

（；）は「又は」を意味する。

（4） 治験薬との因果関係判定

各試験の治験薬との因果関係判定分類と治験薬と関連のある有害事象（副作用）に該当する判定分類を表 2.7.4.1.2.2-3 に示す。

表 2.7.4.1.2.2-3 因果関係判定分類及び副作用

試験番号	因果関係判定分類	副作用に該当する判定分類
P1/2	「関連なし」、「関連あるかもしれない」、「おそらく関連あり」、「関連あり」	「関連なし」以外
201 202	Not Related（関連なし）、Unlikely（おそらく関連なし）、Possible（関連あるかもしれない）、Probable（おそらく関連あり）、Definite（関連あり）	「Not Related」、「Unlikely」以外
DMT01	関連なし、おそらく関連なし、関連あるかもしれない、関連あり	「関連なし」以外

2.7.4.1.2.3 臨床検査

臨床検査の検査項目及び検査時期を表2.7.4.1.2.3-1及び表2.7.4.1.2.3-2に示す。臨床検査は原則、中央測定機関で集中測定した。

血液検査では、いずれの試験においても血液学的検査、血液生化学的検査及びサイトカイン検査を実施した。DMD 患者は筋量が少なく、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、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 も血液生化学的検査にて測定した。サイトカイン検査（補体検査も含む）の検査項目は、DMT01 試験で、インターロイキン-6（IL-6）、腫瘍壊死因子-α（TNF-α）、IL-1β、IL-2、インターフェロン-γ（IFN-γ）、血清補体価（CH50）、補体第 3 成分（C3）及び補体第 4 成分（C4）とし、P1/2 試験及び 201 試験では IL-6、TNF-α 及び単球走化性促進因子-1（MCP-1）とした。

DMT01 試験において、投与初期にヘモグロビン、赤血球数及びヘマトクリット値の低下が認められたことから、原因を考察するため P1/2 試験では鉄に関する血液生化学的検査［Fe、フェリチン及び総鉄結合能（TIBC）］を実施した。

尿検査では、随時尿検査に加え、202 試験以外は 24 時間蓄尿検査を実施した。随時尿検査では尿中 NAG や α_1 ミクログロブリン等の測定時、通常クレアチニン補正が行われるが、DMD 患者はクレアチニン低値を示し適切な補正ができないことから、24 時間蓄尿検査も実施した。

DMT01 試験では、随時尿及び 24 時間蓄尿の尿蛋白測定にピロガロールレッド法を用いたところ、24 時間蓄尿検査においてのみ用量依存的な尿蛋白陽性が認められ、尿蛋白測定に用いたピロガロールレッドと本剤が交差反応を起こすことが示唆された。そのため、P1/2 試験では、24 時間蓄尿を用いた尿蛋白測定に、クマシーブリリアントブルー法（CBB 法）を用いることとした。201 試験の尿蛋白測定では随時尿、24 時間蓄尿ともに塩化ベンゼトニウム法にて測定した。

表 2.7.4.1.2.3-1 臨床検査の検査項目

	検査項目
血液学的検査	赤血球、ヘモグロビン、ヘマトクリット値、網状赤血球、平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球ヘモグロビン量（MCH）、平均赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC）、白血球、白血球分画（好中球、好酸球、好塩基球、リンパ球、単球）、血小板、プロトロンビン時間国際標準比（PT-INR）、活性化部分トロンボプラスチン時間（APTT）、【201、DMT01 のみ】フィブリノゲン
生化学的検査	総蛋白、アルブミン、アルブミン/グロブリン比（A/G 比）、総コレステロール、トリグリセライド、血糖、C 反応性蛋白（CRP）、総ビリルビン（直接/間接）、AST、ALT、γ-GTP、ALP、ハプトグロビン、LDH、BUN、クレアチニン、シスタチン C、Na、K、Ca、Cl、IP、CK、脳性ナトリウム利尿ペプチド、【P1/2 のみ】Fe、フェリチン、総鉄結合能（TIBC）、【DMT01 のみ】心筋トロポニン T、免疫グロブリン E（IgE）
サイトカイン検査（補体検査含む）	IL-6、TNF-α、【P1/2、201のみ】MCP-1、【DMT01のみ】CH50、C3、C4、IL-1β、IL-2、IFN-γ
随時尿検査	尿蛋白 [a]、尿中アルブミン、尿糖、尿潜血、尿ウロビリノゲン、尿比重、尿浸透圧、尿中 NAG、尿中 α_1 ミクログロブリン、尿クレアチニン、尿沈渣（赤血球、白血球、円柱）
24 時間蓄尿検査	尿蛋白 [b]、尿中アルブミン、尿中 NAG、尿中 α_1 ミクログロブリン、尿クレアチニン、尿 Na、尿 K、尿 Cl、尿 IP、尿中尿酸、尿中 β_2 ミクログロブリン、【P1/2、DMT01 のみ】蛋白クレアチニン比

a：DMT01、P1/2 試験ではピロガロールレッド法、201 試験では塩化ベンゼトニウム法を用いて測定
b：DMT01 試験ではピロガロールレッド法、P1/2 試験では CBB 法、201 試験では塩化ベンゼトニウム法を用いて測定

表 2.7.4.1.2.3-2 臨床検査の検査時期

試験番号	血液学的検査、血液生化学的検査 [a]	サイトカイン検査 [b]	随時尿検査 [a]	24 時間蓄尿検査
P1/2	前観察期、治療期（Week 1-5 は毎週、Week 7-23 は隔週）、後観察期（Week 25, 26）	投与開始日、Week 12、24	前観察期、治療期（Week 1-24 に毎週）、後観察期（Week 25, 26）	前観察期、治療期（投与開始日、Week 12、24）、後観察期（Week 25）
201	スクリーニング期、治療期（Week 3-9 は隔週、Week 13-21 は 4 週ごと）、後観察期（Week 25）	投与開始日、Week 13、24	スクリーニング期、治療期（Week 3-9 は隔週、Week 13-21 は 4 週ごと）、後観察期（Week 25）	スクリーニング期、治療期（投与開始日、Week 24）
202	治療期（Week 29- 49 は 4 週ごと、Week 61-157 は 12 週ごと）、後観察期（Week 169）[c]	Week 37、49、73、97、終了時 [c]	治療期（Week 29- 49 は 4 週ごと、Week 61-157 は 12 週ごと）、後観察期（Week 169）[c]	測定なし
DMT01	スクリーニング期、投与期（Week 1-5 は毎週、Week 7-12 は隔週）、後観察期（Week 13, 14-16）、最終観察（Week 15-17）	投与開始日、Week 5、9、12	前観察期、治療期（Week 1-12 に毎週）、後観察期（Week 13）、最終観察（Week 15-17）	スクリーニング期、投与期（投与開始日、Week 5、9、12）、後観察期（Week 13）、最終観察（Week 15-17）

a：投与前に測定
b：P1/2 試験は投与前、投与終了 4、23 時間後、201 試験は投与前、投与開始 9、24 時間後（Week 13 は 24 時間後なし）、202 試験は投与前、投与開始 9 時間後、DMT01 試験は投与前、投与終了直後、投与終了 1、3、23 時間後に測定
c：カットオフデータは最長 Week 97 まで

2.7.4.1.2.4 バイタルサイン

いずれの試験においても、前観察期、治療期（毎週）及び後観察期に、血圧、脈拍数、体温を測定した。測定時点は、P1/2 試験及び DMT01 試験では、投与開始前、投与終了直後、投与終了 2 時間後及び 6 時間後（DMT01 試験の Week 5 以降及び P1/2 試験では投与終了 2 時間後に変動が認められた場合のみ測定）とした。201 試験及び 202 試験では、投与開始前、投与 1 時間後（投与終了直後）及び 2 時間後（投与終了 1 時間後）とし、201 試験では、投与 2 時間後に変動が認められた場合は投与 6 時間後も測定した。

2.7.4.1.2.5 免疫学的検査

いずれの試験においても、血清中の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。P1/2 試験では両抗体を前観察期、Week 13 及び 25 に測定した。201 及び 202 試験では両抗体を投与開始日、Week 13、24、37、49、73、97、121、145、168 及び後観察期（カットオフデータでは最長 Week 73）に、DMT01 試験では両抗体をスクリーニング時、最終観察時に測定し、抗ビルトラルセン抗体は Week 5 にも測定した。測定方法は、抗ジストロフィン抗体はウェスタンブロット、抗ビルトラルセン抗体は酵素結合免疫吸着測定法（ELISA）を用いた。各測定方法は、2.7.1.1.2.5 項及び 2.7.1.1.2.6 項に記載した。

2.7.4.1.2.6 標準 12 誘導心電図検査

いずれの試験においても一般心電図測定として、前観察期、治療期、後観察期に標準 12 誘導心電図検査を実施した。加えて P1/2 試験では初回投与及び Week 24 投与時に集中心電図測定として、投与開始 1 時間前、40 分前、20 分前、投与開始 30 分後、投与終了直後、投与終了 1 時間後、2 時間後、4 時間後に標準 12 誘導心電図を測定した。心電図パラメータの計測は中央測定機関にて実施した。

2.7.4.1.2.7 その他の検査

（1） 心エコー

P1/2 試験及び DMT01 試験において、非侵襲的心エコーを実施し、左室拡張末期／収縮末期壁厚（中隔、後壁）、左室内径短縮率（FS）を求め、量的指標として M モード［傍胸骨長軸像（又は短軸像）］から左室駆出率（LVEF）を求めた。

（2） 肺機能検査

P1/2 試験及び DMT01 試験において、スパイロメーター等を用いた非侵襲的な肺活量測定を行い、努力性肺活量（FVC）、1 秒量（FEV_1）、咳嗽時最大呼気流速（PCF）、最大呼気流速（PF）を評価した。

（3） 腹部エコー

DMT01 試験において、非侵襲的腹部エコーを実施し、脾臓腫大の有無、程度や脾臓内の占拠性病変の有無等を確認した。

2.7.4.1.3 全般的な曝露状況

（1） P1/2 試験

P1/2 試験では、40 mg/kg 群の 2 例が有害事象発現のために各 1 回休薬し、総投与回数の平均値（標準偏差）は、40 mg/kg 群で 23.75（0.46）回、80 mg/kg 群で 24.0（0.00）回であった。また、治験薬の総曝露量の平均値（標準偏差）は、40 mg/kg 群 26392.81（10374.5）mg、80 mg/kg 群 59050（22127.89） mg、全体で 42721.41（23730.27） mg であった。

表 2.7.4.1.3-1 P1/2 試験の曝露状況

	40 mg/kg (N=8)	80 mg/kg (N=8)	全体 (N=16)
総投与回数			
Mean (SD)	23.75 (0.46)	24.0 (0.00)	23.88 (0.34)
Median	24.0	24.0	24.0
Min, Max	23, 24	24, 24	23, 24
未投与回数	2	0	2
総曝露量（mg）			
Mean (SD)	26392.81 (10374.5)	59050 (22127.89)	42721.41 (23730.27)
Median	22277.5	52275	41880
Min, Max	15357.5, 41970	31360, 100440	15357.5, 100440

［5.3.5.3-2 表 1-2 を引用］

（2） 201 試験

201 試験では、投与の中止や休薬、用量変更はなく、全例が 24 回の投与を受けた（40 mg/kg 群 2 例、80 mg/kg 群 3 例の各プラセボ投与 4 回を含む）。

総曝露量の平均値（標準偏差）は、Period 1 で 40 mg/kg 群 3749.17（854.451） mg、80 mg/kg 群 7138.00（2553.520）mg、Period 2 で 40 mg/kg 群 19412.19（3633.272） mg、80 mg/kg 群 36142.19（10363.075）mg であり、全体で 31413.75（13184.370） mg であった。

表 2.7.4.1.3-2 201 試験の曝露状況

	Period 1			Period 2		
	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)
総投与回数						
Mean (SD)	4.0 (0.00)	4.0 (0.00)	4.0 (0.00)	20.0 (0.00)	20.0 (0.00)	24.0 (0.00)
Median	4.0	4.0	4.0	20.0	20.0	24.0
Min, Max	4, 4	4, 4	4, 4	20, 20	20, 20	24, 24
未投与回数	0	0	0	0	0	0
総曝露量（mg）						
Mean (SD)	-	3749.17 (854.451)	7138.00 (2553.520)	19412.19 (3633.272)	36142.19 (10363.075)	31413.75 (13184.370)
Median	-	3790.00	6687.50	19695.00	34207.50	29127.50
Min, Max	-	2390.0, 4780.0	4975.0, 11330.0	12107.5, 23655.0	24845.0, 58447.5	14497.5, 69777.5

［5.3.5.1-1 Table 41 を改変］

（3） 202 試験

202 試験では、80 mg/kg 群の最終被験者が 73 週（Week 73）投与を終了した時点でデータカットオフを行った。202 試験のみの投与回数の平均値（標準偏差）は、40 mg/kg 群 73.9（6.0）回、80 mg/kg 群 50.9（2.9）回、全体で 62.4（12.7）回であった。201 試験での本剤投与開始からの総投与回数の平均値（標準偏差）は、40 mg/kg 群 96.9（5.8）回、80 mg/kg 群 73.4（3.5）回、全体で 85.1（13.0）回であった。

本剤の最長投与回数は 40 mg/kg で 107 回、80 mg/kg で 77 回であった。

表 2.7.4.1.3-3 202 試験及び 201＋202 試験の曝露状況

	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)
総投与回数						
Mean (SD)	73.9 (6.0)	50.9 (2.9)	62.4 (12.7)	96.9 (5.8)	73.4 (3.5)	85.1 (13.0)
Median	73.5	50.5	61.0	96.0	74.0	83.5
Min, Max	66 , 83	46, 56	46, 83	90, 107	66, 77	66, 107
未投与回数 Mean (SD)	0	0.5 (1.1)	0.3 (0.8)	0	0.5 (1.1)	0.3 (0.8)
総曝露量（mg）						
Mean (SD)	80535.6 (19420.5)	99479.1 (28690. 2)	90007.3 (25609.1)	102759.7 (23216.1)	140082.5 (40993.8)	121421.1 (37513.0)
Median	79781.3	96052.5	92651.3	103065.0	135263.8	121151.3
Min, Max	45177.5, 103780.0	71525.0, 163527.5	45177.5, 163527.5	59675.0, 132215.0	101345.0, 233305.0	59675.0, 233305.0

202 試験：202 試験の投与開始からデータカットオフまでの期間
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の期間（プラセボ投与を含まない）

［5.3.5.3-2 表 3-1 を改変］

（4） DMT01 試験

すべての被験者は各コホートで規定された投与量（コホート 1：1.25 mg/kg、コホート 2：5 mg/kg、コホート 3：20 mg/kg）を、週 1 回、計 12 回投与された。

治験薬の総曝露量の平均値（標準偏差）は、1.25 mg/kg 群が 596.7（107.9）mg、5 mg/kg 群が 2330.0（803.2）mg、20 mg/kg 群が 10282.5（6499.2）mg であった。20 mg/kg 群では、1 例のみ体重が 83.4 kg で、曝露量が 19790 mg と高かった（他の患者は体重 23.4～48.8 kg で曝露量 520～9100 mg）。

表 2.7.4.1.3-4 DMT01 試験の曝露状況

	1.25 mg/kg 群 (N=3)	5 mg/kg 群 (N=3)	20 mg/kg 群 (N=4)	全体 (N=10)
総曝露量(mg)				
Mean (SD)	596.7 (107.9)	2330.0 (803.2)	10282.5 (6499.2)	4991.0 (5955.4)
Median	550.0	2630.0	7795.0	2785.0
Min, Max	520.0, 720.0	1420.0, 2940.0	5750.0, 19790.0	520.0, 19790.0

［5.3.5.2-1 表 12.1-1 を引用］

2.7.4.1.4 治験対象集団の人口統計学的特性及びその他の特性

2.7.4.1.4.1 人口統計学的特性及びその他の特性

各試験の人口統計学的統計及びその他の特性を表 2.7.4.1.4.1-1 に示す。

各試験の選択基準では、年齢を P1/2 試験及び DMT01 試験では 5 歳以上 18 歳未満、201 試験では 4 歳以上 10 歳未満と規定していた。組み入れられた被験者の年齢平均値（最小～最大）は、P1/2 試験で 8.4（5～12）歳、201 試験で 7.4（4.3～9.8）歳、DMT01 試験で 11（6～16）歳であった。被験者はいずれも男性で、P1/2 試験及び DMT01 試験は全例アジア人で、201 試験の被験者の多くはヒスパニック/ラテン系以外の白人であった。被験者の体重平均値（標準偏差）は、P1/2 試験で 28.3（10.5）kg、201 試験で 23.0（5.34）kg、DMT01 試験で 41.3（17.5）kg であった。自立歩行の可否については、選択基準では P1/2 試験では「歩行の可否は問わない」とし、201 試験では「補助機器なしで独立歩行可能な患者」、DMT01 試験では「原則、自立歩行が不可能な患者（被験者の組み入れ状況により、自立歩行が可能な患者の組み入れも可）」と規定していた。組み入れられた被験者は、P1/2 試験では 13 例、201 試験では全例、DMT01 試験では 3 例が歩行可能であった。

表 2.7.4.1.4.1-1 人口統計学的特性及びベースライン時の特性

		P1/2 試験 (N=16)	201/202 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（標準偏差）	8.4 (2.0)	7.4 (1.84)	11 (3)
	中央値	9	7.7	12
	最小、最大	5, 12	4.3, 9.8	6, 16
人種 n (%)	白人	0	15 (93.8)	0
	アジア人	16 (100.0)	1 (6.3)	10 (100.0)
民族 n (%)	ヒスパニック系/ラテン系	0	1 (6.3)	0
	非ヒスパニック系/ラテン系	16 (100.0)	14 (87.5)	10 (100.0)
	不明	0	1 (6.3)	0
体重 (kg)	平均値（標準偏差）	28.3 (10.5)	23.0 (5.34)	41.3 (17.5)
	中央値	25	22.7	38.8
	最小、最大	16, 52.1	14.9, 35.4	23.4, 83.4
身長 (cm)	平均値（標準偏差）	120.3 (12.4)	113.4 (8.22)	135.8 (14.3)
	中央値	119.6	114.1	138.0
	最小、最大	98, 140.7	99.4, 127.1	113.5, 154.0
BMI (kg/m^2)	平均値（標準偏差）	19.0 (4.0)	17.7 (2.10)	22.0 (7.1)
	中央値	17.5	17.26	19.9
	最小、最大	15.3, 30.2	14.2, 21.9	15.3, 36.6
自立歩行の可否 n(%)	可能	13 (81.3)	16 (100.0)	3 (30.0)
	不可能	3 (18.8)	0	7 (70.0)

a：P1/2 試験、DMT01 試験は投与開始日、201/202 試験は 201 試験の同意取得日の年齢

［5.3.5.1-2 表 10.4-1, 5.3.5.1-1 Table 14, 5.3.5.2-1 表 11.2-1 を改変］

2.7.4.1.4.2 前治療及び併用薬剤

（1） グルココルチコイドの併用

いずれの試験においても DMD の治療として、グルココルチコイド（GC）による前治療及び試験中の併用投与を許容していた。各試験の試験期間中の GC 併用状況を表 2.7.4.1.4.2-1 に示す。

試験期間中に主に併用されていた GC は、P1/2 試験及び DMT01 試験ではプレドニゾロン、201 試験及び 202 試験ではデフラザコートであった。

表 2.7.4.1.4.2-1 試験期間中のグルココルチコイド（GC）併用状況

	P1/2 試験	201 試験	202 試験	DMT01 試験
安全性解析対象例数	16	16	16	10
GC 併用例数(%)	14 (87.5)	16 (100.0)	16 (100.0)	6 (60.0)
プレドニゾロン	14 (87.5)	2 (12.5)	2 (12.5)	6 (60.0)
デフラザコート [a]	0	12 (75.0)	13 (81.3)	0
プレドニゾン	0	2 (12.5)	3 (18.8)	0

a：国内未承認

［5.3.5.3-2 表 1-1, 表 4-1, 5.3.5.1-1 Table 18, 5.3.5.2-1 表 16.2.4-2 を改変］

（2） GC 以外の併用薬

1） P1/2 試験

P1/2 試験で試験期間中に 20%以上の患者で併用された GC 以外の併用薬を表 2.7.4.1.4.2-2 に示す。全例で併用薬が使用され、主に筋生検時に使用されたレミフェンタニル塩酸塩、プロポフォール、リドカイン塩酸塩などの麻酔薬やセファゾリンナトリウム等の抗生物質であった。

表 2.7.4.1.4.2-2 試験期間中の GC 以外の併用薬（P1/2 試験）

	P1/2 試験（N=16）
併用患者例数(%)	16 (100.0)
レミフェンタニル塩酸塩	15 (93.8)
プロポフォール	14 (87.5)
セファゾリンナトリウム	12 (75.0)
リドカイン塩酸塩	10 (62.5)
アセトアミノフェン	8 (50.0)
セフカペン ピボキシル塩酸塩水和物	8 (50.0)
フェンタニルクエン酸塩	6 (37.5)
フルルビプロフェン アキセチル	6 (37.5)
リドカイン	6 (37.5)
ロクロニウム臭化物	6 (37.5)
カルボシステイン	5 (31.3)
スガマデクスナトリウム	5 (31.3)
ファモチジン	4 (25.0)
ロピバカイン塩酸塩水和物	4 (25.0)

試験期間中に 20%以上の患者で使用された薬剤を示す。

［5.3.5.3-2 表 1-3 を引用］

2） 201 試験

201 試験で試験期間中に 20%以上の患者で併用された GC 以外の併用薬を表 2.7.4.1.4.2-3 に示す。

全例で併用薬が使用され、201 試験で最も多く使用されたのはビタミン D であった。また、両試験で多く使用されたのは、筋生検で用いるプロポフォール、フェンタニル、パラセタモール、リドカインなどの麻酔薬や鎮痛薬であった。

表 2.7.4.1.4.2-3 試験期間中の GC 以外の併用薬（201 試験）

	201 試験 （N=16）
併用患者例数(%)	16 (100.0)
ビタミン D NOS	12 (75.0)
パラセタモール	9 (56.3)
プロポフォール	7 (43.8)
リドカイン（アミド）	7 (43.8)
ビタミン NOS	5 (31.3)
イブプロフェン	5 (31.3)
塩化カルシウム、カリウム、乳酸ナトリウム	4 (25.0)
フェンタニル	4 (25.0)
リドカイン（局所麻酔用）	4 (25.0)
ミダゾラム	4 (25.0)
インフルエンザワクチン	4 (25.0)

NOS：Not Otherwise Specified（特定されない）
試験期間中に 20%以上の患者で使用された薬剤を示す。

［5.3.5.1-1 Table 14.1.4.2 を引用］

3） DMT01 試験

DMT01 試験で試験期間中に 20%以上の患者で併用された GC 以外の併用薬を表 2.7.4.1.4.2-4 に示す。全例で、レミフェンタニル塩酸塩、プロポフォール、リドカイン塩酸塩、セファゾリンナトリウム、酢酸リンゲル液が使用された。

表 2.7.4.1.4.2-4 試験期間中の GC 以外の併用薬（DMT01 試験）

	DMT01 試験（N=10）
併用患者例数(%)	10 (100.0)
レミフェンタニル塩酸塩	10 (100.0)
プロポフォール	10 (100.0)
リドカイン塩酸塩	10 (100.0)
セファゾリンナトリウム	10 (100.0)
酢酸リンゲル液（ブドウ糖加）	10 (100.0)
セフカペン ピボキシル塩酸塩水和物	9 (90.0)
アトロピン硫酸塩水和物	8 (90.0)
アセトアミノフェン	7 (70.0)
フルルビプロフェン アキセチル	6 (60.0)
カルボシステイン	3 (30.0)
インフルエンザ HA ワクチン	2 (20.0)
オロパタジン塩酸塩	2 (20.0)
クラリスロマイシン	2 (20.0)
チオペンタールナトリウム	2 (20.0)
ファモチジン	2 (20.0)

試験期間中に 20%以上の患者で使用された薬剤を示す。

［5.3.5.2-1 表 16.2.4-2 を改変］

2.7.4.2 有害事象

2.7.4.2.1 有害事象の解析

各試験の有害事象発現率の概要を表 2.7.4.2.1-1 に示す。

本剤投与群の有害事象発現率は、P1/2 試験で 87.5%（14/16 例）、201 試験で 93.8%（15/16 例）、202 試験で 100%（16/16 例）、DMT01 試験で 100%（10/10 例）であった。201 試験の Period 1（4 週投与）のみの発現率は、プラセボ群 60.0%（3/5 例）、40 mg/kg 群 66.7%（4/6 例）、80 mg/kg 群 80.0%（4/5 例）であった。本剤との因果関係が否定されない有害事象（副作用）は、P1/2 試験で 56.3%（9/16 例）、202 試験で 6.3%（1/16 例）、DMT01 試験で 100%（10/10 例）であり、201 試験では認められなかった。死亡及び中止に至った有害事象はいずれの試験においても認められなかった。重篤な有害事象は P1/2 試験及び 202 試験の 80 mg/kg 群で各 1 例認められたが、いずれも治験薬との因果関係は否定された。休薬に至った有害事象は P1/2 試験及び 202 試験で各 2 例認められた。

表 2.7.4.2.1-1 各試験の有害事象発現率の概要

	P1/2 試験	201 試験（Period 1 のみ）			201 試験（全期間）[a]	202 試験 [b]	DMT01 試験
群	全体	プラセボ	40 mg/kg 群	80 mg/kg 群	全体	全体	全体
安全性解析対象例数	16	5	6	5	16	16	10
有害事象	14 (87.5)	3 (60.0)	4 (66.7)	4 (80.0)	15 (93.8)	16 (100)	10 (100)
副作用	9 (56.3)	0	0	0	0	1 (6.3)	10 (100)
Grade 1 の有害事象	1 (6.3)	3 (60.0)	4 (66.7)	4 (80.0)	12 (75.0)	12 (75.0)	5 (50.0)
Grade 2 の有害事象	13 (81.3)	0	0	0	3 (18.8)	3 (18.8)	5 (50.0)
Grade 3 以上の有害事象	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0
Grade 1 の副作用	5 (31.3)	0	0	0	0	1 (6.3)	8 (80.0)
Grade 2 の副作用	4 (25.0)	0	0	0	0	0	2 (20.0)
Grade 3 以上の副作用	0	0	0	0	0	0	0
死亡に至った有害事象	0	0	0	0	0	0	0
死亡に至った副作用	0	0	0	0	0	0	0
重篤な有害事象	1 (6.3)	0	0	0	0	1 (6.3)	0
重篤な副作用	0	0	0	0	0	0	0
中止に至った有害事象	0	0	0	0	0	0	0
中止に至った副作用	0	0	0	0	0	0	0
休薬に至った有害事象	2 (12.5)	0	0	0	0	2 (12.5)	0
休薬に至った副作用	1 (6.3)	0	0	0	0	1 (6.3)	0

a：201 試験の投与開始から 202 試験の投与開始前までの期間（プラセボ投与時を含まない）
b：202 試験の投与開始からデータカットオフまでの期間

［5.3.5.1-2 表 12.2.1-1, 5.3.5.3-2 表 2-3, 表 4-3, 5.3.5.2-1 表 12.2-1, 表 12.2-4, 表 12.2-5 を改変］

2.7.4.2.1.1 比較的よく見られる有害事象

（1） 因果関係別有害事象

1） P1/2 試験

有害事象及び副作用の発現率を表 2.7.4.2.1.1-1 に示す。

有害事象発現率は 40 mg/kg 群、80 mg/kg 群ともに 87.5%（7/8 例）と同程度であったが、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）と 80 mg/kg 群の方が高かった。

全体で 2 例以上発現した有害事象は、上咽頭炎及び上気道感染が各 4 例、β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加、挫傷が各 3 例、インフルエンザ、蕁麻疹、発疹、湿疹、四肢痛、発熱、脳性ナトリウム利尿ペプチド増加、駆出率減少、インターロイキン濃度増加が各 2 例であった。このうち、全体で 2 例以上発現した副作用は、蕁麻疹、発熱、β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加、脳性ナトリウム利尿ペプチド増加、駆出率減少、インターロイキン濃度増加が各 2 例であった。発現した有害事象のうち、40 mg/kg 群よりも 80 mg/kg 群で 2 例以上多く発現した事象は、蕁麻疹、発熱及び駆出率減少（40 mg/kg 群 0 例、80 mg/kg 群 2 例）、上咽頭炎及び上気道感染（1 例、3 例）であった。

表 2.7.4.2.1.1-1　P1/2 試験における因果関係別有害事象一覧

有害事象名（MedDRA/J ver 20.1） SOC 及び 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)
感染症および寄生虫症	4	(50.0)	6	(75.0)	10	(62.5)	0		0		0	
上咽頭炎	1	(12.5)	3	(37.5)	4	(25.0)	0		0		0	
上気道感染	1	(12.5)	3	(37.5)	4	(25.0)	0		0		0	
インフルエンザ	2	(25.0)	0		2	(12.5)	0		0		0	
鼻炎	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
縫合糸膿瘍	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
神経系障害	2	(25.0)	1	(12.5)	3	(18.8)	0		0		0	
頭痛	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
感覚鈍麻	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
浮動性めまい	0		1	(12.5)	1	(6.3)	0		0		0	
眼障害	1	(12.5)	1	(12.5)	2	(12.5)	0		0		0	
角膜炎	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
アレルギー性結膜炎	0		1	(12.5)	1	(6.3)	0		0		0	
呼吸器、胸郭および縦隔障害	1	(12.5)	1	(12.5)	2	(12.5)	0		0		0	
鼻閉	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
鼻漏	0		1	(12.5)	1	(6.3)	0		0		0	
胃腸障害	2	(25.0)	2	(25.0)	4	(25.0)	0		1	(12.5)	1	(6.3)
齲歯	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
嘔吐	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
腹痛	0		1	(12.5)	1	(6.3)	0		1	(12.5)	1	(6.3)
下痢	0		1	(12.5)	1	(6.3)	0		1	(12.5)	1	(6.3)
上腹部痛	0		1	(12.5)	1	(6.3)	0		0		0	
皮膚および皮下組織障害	3	(37.5)	4	(50.0)	7	(43.8)	1	(12.5)	3	(37.5)	4	(25.0)
蕁麻疹	0		2	(25.0)	2	(12.5)	0		2	(25.0)	2	(12.5)
発疹	1	(12.5)	1	(12.5)	2	(12.5)	0		1	(12.5)	1	(6.3)
湿疹	1	(12.5)	1	(12.5)	2	(12.5)	1	(12.5)	0		1	(6.3)
接触皮膚炎	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
皮膚乾燥	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
肥厚性瘢痕	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
毛髪変色	0		1	(12.5)	1	(6.3)	0		1	(12.5)	1	(6.3)
筋骨格系および結合組織障害	1	(12.5)	3	(37.5)	4	(25.0)	0		0		0	
四肢痛	1	(12.5)	1	(12.5)	2	(12.5)	0		0		0	
関節痛	0		1	(12.5)	1	(6.3)	0		0		0	
関節炎	0		1	(12.5)	1	(6.3)	0		0		0	
背部痛	0		1	(12.5)	1	(6.3)	0		0		0	

表 2.7.4.2.1.1-1 P1/2 試験における因果関係別有害事象一覧（続き）

有害事象名（MedDRA/J ver 20.1） SOC 及び 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	(%)
一般・全身障害および投与部位の状態	0		4	(50.0)	4	(25.0)	0		3	(37.5)	3	(18.8)
発熱	0		2	(25.0)	2	(12.5)	0		2	(25.0)	2	(12.5)
注射部位紅斑	0		1	(12.5)	1	(6.3)	0		1	(12.5)	1	(6.3)
注射部位疼痛	0		1	(12.5)	1	(6.3)	0		0		0	
注射部位腫脹	0		1	(12.5)	1	(6.3)	0		0		0	
臨床検査	3	(37.5)	4	(50.0)	7	(43.8)	2	(25.0)	4	(50.0)	6	(37.5)
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)	0		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)
駆出率減少			2	(25.0)	2	(12.5)	0		2	(25.0)	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)
尿中アルブミン陽性	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
ヘマトクリット減少	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
尿中血陽性	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
ヘモグロビン減少	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
血清フェリチン減少	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
尿中蛋白陽性	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
α1 ミクログロブリン増加	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
尿中 β2 ミクログロブリン増加	0		1	(12.5)	1	(6.3)	0		1	(12.5)	1	(6.3)
傷害、中毒および処置合併症	4	(50.0)	1	(12.5)	5	(31.3)	0		0		0	
挫傷	3	(37.5)	0		3	(18.8)	0		0		0	
靱帯捻挫	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
創離開	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
擦過傷	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
口唇損傷	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
歯牙破折	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
切開部位腫脹	1	(12.5)	0		1	(6.3)	0		0		0	
節足動物刺傷	0		1	(12.5)	1	(6.3)	0		0		0	

［5.3.5.1-2 表 12.2.2.1-1 を改変］

2） 201 試験

201 試験の Period 1 で認められた有害事象一覧を表 2.7.4.2.1.1-2 に、Period 2 及び 201 試験の全期間（Period 1+2、プラセボ投与時を除く）で認められた有害事象一覧を表 2.7.4.2.1.1-3 に示す。いずれの有害事象も治験薬との因果関係は否定された。

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、嘔吐が各 2 例であった。発現した有害事象のうち、40 mg/kg 群よりも 80 mg/kg 群で 2 例以上多く発現した事象は、上咽頭炎（40 mg/kg 群 0 例、80 mg/kg 群 4 例）及び嘔吐（0 例、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（2 例以上）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。

表 2.7.4.2.1.1-2　201 試験における有害事象一覧（Period 1）

有害事象名	Period 1		
（MedDRA ver 21.0）	プラセボ	40 mg/kg	80 mg/kg
SOC 及び PT	(N=5)	(N=6)	(N=5)
TEAE 発現例数（%）	3 (60.0)	4 (66.7)	4 (80.0)
感染症および寄生虫症	1 (20.0)	0	1 (20.0)
上咽頭炎	1 (20.0)	0	1 (20.0)
免疫系障害	0	1 (16.7)	0
薬物過敏症	0	1 (16.7)	0
精神障害	1 (20.0)	2 (33.3)	0
不安	0	1 (16.7)	0
注意欠陥多動性障害	0	1 (16.7)	0
異常行動	1 (20.0)	0	0
神経系障害	1 (20.0)	0	0
頭痛	1 (20.0)	0	0
呼吸器、胸郭および縦隔障害	0	1 (16.7)	2 (40.0)
咳嗽	0	0	1 (20.0)
鼻閉	0	1 (16.7)	0
気道うっ血	0	0	1 (20.0)
皮膚および皮下組織障害	0	1 (16.7)	1 (20.0)
発疹	0	1 (16.7)	0
接触皮膚炎	0	0	1 (20.0)
筋骨格系および結合組織障害	1 (20.0)	0	1 (20.0)
関節痛	1 (20.0)	0	1 (20.0)
一般・全身障害および投与部位の状態	0	1 (16.7)	0
注射部位疼痛	0	1 (16.7)	0
傷害、中毒および処置合併症	1 (20.0)	0	1 (20.0)
挫傷	0	0	1 (20.0)
転倒	1 (20.0)	0	0

いずれの有害事象も因果関係は否定された。
Period 1：201 試験の投与開始から Week 5 投与より前に発現した有害事象

［5.3.5.3-2 表 2-4 を引用］

表 2.7.4.2.1.1-3 201 試験における有害事象一覧（Period 2 及び全期間）

有害事象名	Period 2		全期間（Period 1+2）		
（MedDRA ver 21.0）	40 mg/kg	80 mg/kg	40 mg/kg	80 mg/kg	全体
SOC 及び PT	(N=8)	(N=8)	(N=8)	(N=8)	(N=16)
TEAE 発現例数（%）	5 (62.5)	7 (87.5)	8 (100.0)	7 (87.5)	15 (93.8)
感染症および寄生虫症	1 (12.5)	5 (62.5)	1 (12.5)	5 (62.5)	6 (37.5)
上咽頭炎	0	4 (50.0)	0	4 (50.0)	4 (25.0)
上気道感染	1 (12.5)	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
インフルエンザ	0	1 (12.5)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
伝染性軟属腫	0	1 (12.5)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
レンサ球菌性咽頭炎	0	1 (12.5)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
免疫系障害	0	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
薬物過敏症	0	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
精神障害	0	0	2 (25.0)	0	2 (12.5)
不安	0	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
注意欠陥多動性障害	0	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
耳および迷路障害	1 (12.5)	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
耳漏	1 (12.5)	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
血管障害	0	1 (12.5)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
末梢動脈閉塞	0	1 (12.5)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
呼吸器、胸郭および縦隔障害	2 (25.0)	2 (25.0)	3 (37.5)	4 (50.0)	7 (43.8)
咳嗽	2 (25.0)	2 (25.0)	2 (25.0)	3 (37.5)	5 (31.3)
鼻閉	1 (12.5)	0	2 (25.0)	0	2 (12.5)
気道うっ血	0	0	0	1 (12.5)	1 (6.3)
胃腸障害	1 (12.5)	2 (25.0)	1 (12.5)	2 (25.0)	3 (18.8)
下痢	1 (12.5)	1 (12.5)	1 (12.5)	1 (12.5)	2 (12.5)
嘔吐	0	2 (25.0)	0	2 (25.0)	2 (12.5)
悪心	1 (12.5)	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
皮膚および皮下組織障害	0	0	1 (12.5)	1 (12.5)	2 (12.5)
発疹	0	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
接触皮膚炎	0	0	0	1 (12.5)	1 (6.3)
筋骨格系および結合組織障害	2 (25.0)	1 (12.5)	2 (25.0)	2 (25.0)	4 (25.0)
関節痛	0	0	0	1 (12.5)	1 (6.3)
筋肉痛	1 (12.5)	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
四肢痛	1 (12.5)	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
筋痙縮	0	1 (12.5)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
一般・全身障害および投与部位の状態	1 (12.5)	3 (37.5)	2 (25.0)	3 (37.5)	5 (31.3)
注射部位疼痛	0	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
注入部位不快感	1 (12.5)	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
顔面痛	0	1 (12.5)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
注射部位内出血	0	1 (12.5)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
注射部位反応	0	1 (12.5)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
発熱	0	1 (12.5)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
口渇	0	1 (12.5)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
臨床検査	0	1 (12.5)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
血中クレアチニン増加	0	1 (12.5)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
血中カリウム増加	0	1 (12.5)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
血中尿素増加	0	1 (12.5)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
傷害、中毒および処置合併症	2 (25.0)	1 (12.5)	2 (25.0)	2 (25.0)	4 (25.0)
挫傷	0	1 (12.5)	0	2 (25.0)	2 (12.5)
節足動物咬傷	1 (12.5)	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
節足動物刺傷	1 (12.5)	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
関節損傷	1 (12.5)	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)

いずれの有害事象も因果関係は否定された。

Period 2 は 201 試験の 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 Period 1 の本剤投与開始から 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 2-5, 表 2-6 を改変］

3） 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 202 試験のデータカットオフまで、プラセボ投与時を除く）において発現した有害事象一覧を表 2.7.4.2.1.1-4 に示す。

いずれの集積期間でも、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 試験において全体で 10%以上（2 例以上）に発現したのは、咳嗽 50.0%、上咽頭炎、発疹、節足動物咬傷が各 31.3%、発熱 25.0%、インフルエンザ、鼻閉、嘔吐、下痢が各 18.8%、体部白癬、副鼻腔炎、頭痛、気道うっ血、便秘、血便排泄、四肢損傷が各 12.5%であった。このうち、40 mg/kg 群よりも 80 mg/kg 群の方が多く発現した事象は、下痢、発疹、四肢損傷であった。

201+202 試験において全体で 10%以上に発現したのは、咳嗽 68.8%、上咽頭炎 43.8%、発疹、節足動物咬傷が各 37.5%、発熱 31.3%、インフルエンザ、鼻閉、嘔吐、下痢が各 25.0 %、気道うっ血、挫傷が各 18.8%、体部白癬、副鼻腔炎、上気道感染、頭痛、便秘、血便排泄、悪心、四肢損傷が各 12.5%であった。このうち、40 mg/kg 群よりも 80 mg/kg 群の方が多く発現した事象は、上咽頭炎、咳嗽、発熱、挫傷、四肢損傷であった。

表 2.7.4.2.1.1-4 202 試験及び 201+202 試験における有害事象一覧

	202 試験			201+202 試験		
有害事象名（MedDRA ver 21.0） SOC 及び PT	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)
有害事象発現例数（%）	8 (100.0)	8 (100.0)	16 (100.0)	8 (100.0)	8 (100.0)	16 (100.0)
感染症および寄生虫症	6 (75.0)	6 (75.0)	12 (75.0)	7 (87.5)	7 (87.5)	14 (87.5)
上咽頭炎	3 (37.5)	2 (25.0)	5 (31.3)	3 (37.5)	4 (50.0)	7 (43.8)
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)
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)
上気道感染	0	1 (12.5)	1 (6.3)	1 (12.5)	1 (12.5)	2 (12.5)
気管支炎	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	0	1 (6.3)
結膜炎	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	0	1 (6.3)
皮膚真菌感染	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	0	1 (6.3)
肺炎	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	0	1 (6.3)
胃腸炎	0	1 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
麦粒腫	0	1 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
レンサ球菌性咽頭炎	0	1 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
ウイルス感染	0	1 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
伝染性軟属腫	0	0	0	0	1 (12.5)	1 (6.3)
免疫系障害	0	0	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
薬物過敏症	0	0	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
内分泌障害	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	0	1 (6.3)
クッシング様症状	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	0	1 (6.3)
精神障害	0	1 (12.5)	1 (6.3)	2 (25.0)	1 (12.5)	3 (18.8)
感情の平板化	0	1 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
不安	0	0	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
注意欠陥多動性障害	0	0	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
神経系障害	2 (25.0)	1 (12.5)	3 (18.8)	2 (25.0)	1 (12.5)	3 (18.8)
頭痛	1 (12.5)	1 (12.5)	2 (12.5)	1 (12.5)	1 (12.5)	2 (12.5)
浮動性めまい	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	0	1 (6.3)
耳および迷路障害	0	0	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
耳漏	0	0	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
心臓障害	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	0	1 (6.3)
洞性不整脈	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	0	1 (6.3)
血管障害	0	0	0	0	1 (12.5)	1 (6.3)
末梢動脈閉塞	0	0	0	0	1 (12.5)	1 (6.3)
呼吸器、胸郭および縦隔障害	7 (87.5)	4 (50.0)	11 (68.8)	7 (87.5)	6 (75.0)	13 (81.3)
咳嗽	5 (62.5)	3 (37.5)	8 (50.0)	5 (62.5)	6 (75.0)	11 (68.8)
鼻閉	2 (25.0)	1 (12.5)	3 (18.8)	3 (37.5)	1 (12.5)	4 (25.0)
気道うっ血	2 (25.0)	0	2 (12.5)	2 (25.0)	1 (12.5)	3 (18.8)
口腔咽頭痛	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	0	1 (6.3)
胃腸障害	4 (50.0)	3 (37.5)	7 (43.8)	5 (62.5)	3 (37.5)	8 (50.0)
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)
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)
悪心	1 (12.5)	0	1 (6.3)	2 (25.0)	0	2 (12.5)
上腹部痛	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	0	1 (6.3)
歯痛	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	0	1 (6.3)

表 2.7.4.2.1.1-4 202 試験及び 201+202 試験における有害事象一覧（続き）

有害事象名（MedDRA ver 21.0） SOC 及び 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)
皮膚および皮下組織障害	4 (50.0)	4 (50.0)	8 (50.0)	4 (50.0)	5 (62.5)	9 (56.3)
発疹	2 (25.0)	3 (37.5)	5 (31.3)	3 (37.5)	3 (37.5)	6 (37.5)
紅斑	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	0	1 (6.3)
嵌入爪	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	0	1 (6.3)
皮膚炎	0	1 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
皮膚灼熱感	0	1 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
接触皮膚炎	0	0	0	0	1 (12.5)	1 (6.3)
筋骨格系および結合組織障害	1 (12.5)	0	1 (6.3)	2 (25.0)	2 (25.0)	4 (25.0)
関節過伸展	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	0	1 (6.3)
関節痛	0	0	0	0	1 (12.5)	1 (6.3)
筋痙縮	0	0	0	0	1 (12.5)	1 (6.3)
筋肉痛	0	0	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
四肢痛	0	0	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
腎および尿路障害	0	1 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
高カルシウム尿症	0	1 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
一般・全身障害および投与部位の状態	3 (37.5)	5 (62.5)	8 (50.0)	4 (50.0)	6 (75.0)	10 (62.5)
発熱	2 (25.0)	2 (25.0)	4 (25.0)	2 (25.0)	3 (37.5)	5 (31.3)
注入部位疼痛	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	0	1 (6.3)
注射部位漏出	0	1 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
カテーテル留置部位腫脹	0	1 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
疲労	0	1 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
外科手術不成功	0	1 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
顔面痛	0	0	0	0	1 (12.5)	1 (6.3)
注射部位内出血	0	0	0	0	1 (12.5)	1 (6.3)
注射部位反応	0	0	0	0	1 (12.5)	1 (6.3)
口渇	0	0	0	0	1 (12.5)	1 (6.3)
注射部位疼痛	0	0	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
注入部位不快感	0	0	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
臨床検査	0	0	0	0	1 (12.5)	1 (6.3)
血中クレアチニン増加	0	0	0	0	1 (12.5)	1 (6.3)
血中カリウム増加	0	0	0	0	1 (12.5)	1 (6.3)
血中尿素増加	0	0	0	0	1 (12.5)	1 (6.3)
傷害、中毒および処置合併症	6 (75.0)	6 (75.0)	12 (75.0)	6 (75.0)	6 (75.0)	12 (75.0)
節足動物咬傷	3 (37.5)	2 (25.0)	5 (31.3)	4 (50.0)	2 (25.0)	6 (37.5)
挫傷	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	2 (25.0)	3 (18.8)
四肢損傷	0	2 (25.0)	2 (12.5)	0	2 (25.0)	2 (12.5)
転倒	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	0	1 (6.3)
足骨折	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	0	1 (6.3)
靭帯捻挫	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	0	1 (6.3)
脊柱損傷	1 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (12.5)	0	1 (6.3)
気道内異物	0	1 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
切開部位腫脹	0	1 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
切開部位小水疱	0	1 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
下肢骨折	0	1 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
皮膚損傷	0	1 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
サンバーン	0	1 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (12.5)	1 (6.3)
節足動物刺傷	0	0	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)
関節損傷	0	0	0	1 (12.5)	0	1 (6.3)

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 を改変］

4） DMT01 試験

DMT01 試験で発現した有害事象一覧を表 2.7.4.2.1.1-5 に示す。

いずれの群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。

なお、DMT01 試験で発現した尿中蛋白陽性は、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、7 日間毎日採血を実施したことによる影響が考えられる（2.7.4.2.1.5（5）項参照）。

表 2.7.4.2.1.1-5 DMT01 試験における因果関係別有害事象一覧

有害事象名（MedDRA/J ver.17.1）SOC 及び 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)
感染症および寄生虫症	2 (66.7)	2 (66.7)	0	4 (40.0)	0	0	0	0
鼻咽頭炎	2 (66.7)	0	0	2 (20.0)	0	0	0	0
爪真菌症	0	1 (33.3)	0	1 (10.0)	0	0	0	0
咽頭炎	0	1 (33.3)	0	1 (10.0)	0	0	0	0
血液およびリンパ系障害	1 (33.3)	3 (100)	4 (100)	8 (80.0)	1 (33.3)	3 (100)	3 (75.0)	7 (70.0)
貧血	1 (33.3)	3 (100)	3 (75.0)	7 (70.0)	1 (33.3)	3 (100)	3 (75.0)	7 (70.0)
赤血球増加症	0	0	1 (25.0)	1 (10.0)	0	0	0	0
胃腸障害	0	0	1 (25.0)	1 (10.0)	0	0	0	0
便秘	0	0	1 (25.0)	1 (10.0)	0	0	0	0
皮膚および皮下組織障害	1 (33.3)	0	1 (25.0)	2 (20.0)	0	0	1 (25.0)	1 (10.0)
湿疹	1 (33.3)	0	1 (25.0)	2 (20.0)	0	0	1 (25.0)	1 (10.0)
汗疹	1 (33.3)	0	0	1 (10.0)	0	0	0	0
腎および尿路障害	1 (33.3)	0	0	1 (10.0)	1 (33.3)	0	0	1 (10.0)
血尿	1 (33.3)	0	0	1 (10.0)	1 (33.3)	0	0	1 (10.0)
一般・全身障害および投与部位の状態	1 (33.3)	0	0	1 (10.0)	0	0	0	0
医療機器関連損傷	1 (33.3)	0	0	1 (10.0)	0	0	0	0
臨床検査	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)
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)
血中フィブリノゲン増加	1 (33.3)	0	0	1 (10.0)	1 (33.3)	0	0	1 (10.0)
C－反応性蛋白増加	1 (33.3)	0	0	1 (10.0)	1 (33.3)	0	0	1 (10.0)
尿中血陽性	1 (33.3)	0	0	1 (10.0)	1 (33.3)	0	0	1 (10.0)
尿中蛋白／クレアチニン比増加	1 (33.3)	0	0	1 (10.0)	1 (33.3)	0	0	1 (10.0)
尿中ケトン体陽性	1 (33.3)	0	0	1 (10.0)	1 (33.3)	0	0	1 (10.0)
α 腫瘍壊死因子増加	1 (33.3)	0	0	1 (10.0)	1 (33.3)	0	0	1 (10.0)
血中フィブリノゲン減少	0	1 (33.3)	0	1 (10.0)	0	1 (33.3)	0	1 (10.0)
駆出率減少	0	1 (33.3)	0	1 (10.0)	0	1 (33.3)	0	1 (10.0)
血中ブドウ糖増加	0	0	1 (25.0)	1 (10.0)	0	0	1 (25.0)	1 (10.0)
酸素飽和度低下	0	0	1 (25.0)	1 (10.0)	0	0	1 (25.0)	1 (10.0)
呼吸数増加	0	0	1 (25.0)	1 (10.0)	0	0	1 (25.0)	1 (10.0)
血中免疫グロブリン E 増加	0	0	1 (25.0)	1 (10.0)	0	0	0	0
傷害、中毒および処置合併症	0	1 (33.3)	0	1 (10.0)	0	0	0	0
靭帯捻挫	0	1 (33.3)	0	1 (10.0)	0	0	0	0

［5.3.5.2-1 表 12.2-2, 表 12.2-3 を改変］

（2） 程度別の有害事象

程度別の有害事象発現率及び有害事象一覧を、P1/2 試験は表 2.7.6.2.8-2、201 試験は 5.3.5.3-2 表 2-7～表 2-9、202 試験は 5.3.5.3-2 表 4-5、DMT01 試験は 5.3.5.2-1 12.2.3.1 項に示す。

発現した有害事象は、202 試験 80 mg/kg 群で認められた Grade 3 の下肢骨折 1 例以外は、いずれも Grade 1 か Grade 2 の重症度であった。

Grade 2 の有害事象発現率は、P1/2 試験では 40 mg/kg 群 75.0%（6/8 例）、80 mg/kg 群 87.5%（7/8 例）、201 試験では Period 2 の 80 mg/kg 群でのみ 37.5%（3/8 例）、202 試験では 40 mg/kg 群 12.5%（1/8 例）、80 mg/kg 群 25.0%（2/8 例）、DMT01 試験の 1.25 mg/kg 群で 66.7%（2/3 例）、5 mg/kg 群で 66.7%（2/3 例）、20 mg/kg 群で 25.0%（1/4 例）であった。

各試験で 2 例以上に発現した Grade 2 の有害事象は、P1/2 試験で上咽頭炎 4 例（40 mg/kg 群 1 例、80 mg/kg 群 3 例）、上気道感染 3 例（80 mg/kg 群）、インフルエンザ 2 例（40 mg/kg 群）、挫傷 2 例（40 mg/kg 群）、駆出率減少 2 例（80 mg/kg 群）、湿疹 2 例（40 mg/kg 群 1 例、80 mg/kg 群 1 例）、DMT01 試験で鼻咽頭炎 2 例（1.25 mg/kg 群 2 例）、湿疹 2 例（1.25 mg/kg 群 1 例、20 mg/kg 群 1 例）であった。201 試験及び 202 試験では 2 例以上に発現した Grade 2 の有害事象は認められなかった。

（3） 発現時期別の有害事象

1） P1/2 試験

P1/2 試験で発現した有害事象の初発時期別発現率を表 2.7.4.2.1.1-6 に示す。

有害事象の多くは投与開始 4 週以内に発現し、4 週以降に初発の有害事象が 2 例以上発現した事象は、上咽頭炎、インフルエンザ、四肢痛、挫傷、β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加、駆出率減少であった。四肢痛及び β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加は Week 12 以降に、駆出率減少は Week 16 以降に発現した。

表 2.7.4.2.1.1-6 P1/2 試験（全体）における初発時期別有害事象一覧

有害事象名（MedDRA/J ver 20.1） SOC 及び PT	全体						
	全期間	≦4 w	≦8 w	≦12 w	≦16 w	≦20 w	20w<
評価例数	16	16	16	16	16	16	16
発現例数(%)	14 (87.5)	12 (75.0)	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0
感染症および寄生虫症	10 (62.5)	4 (25.0)	4 (25.0)	2 (12.5)	0	0	0
上咽頭炎	4 (25.0)	0	3 (18.8)	1 (6.3)	0	0	0
上気道感染	4 (25.0)	3 (18.8)	1 (6.3)	0	0	0	0
インフルエンザ	2 (12.5)	0	0	2 (12.5)	0	0	0
鼻炎	1 (6.3)	0	1 (6.3)	0	0	0	0
縫合糸膿瘍	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0	0	0
神経系障害	3 (18.8)	0	0	2 (12.5)	1 (6.3)	0	0
頭痛	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)	0	0
感覚鈍麻	1 (6.3)	0	0	1 (6.3)	0	0	0
浮動性めまい	1 (6.3)	0	0	1 (6.3)	0	0	0
眼障害	2 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (6.3)	0	0	0
角膜炎	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0	0	0
アレルギー性結膜炎	1 (6.3)	0	0	1 (6.3)	0	0	0

表 2.7.4.2.1.1-6 P1/2 試験（全体）における初発時期別有害事象一覧（続き）

有害事象名（MedDRA/J ver 20.1） SOC 及び PT	全体						
	全期間	≦4 w	≦8 w	≦12 w	≦16 w	≦20 w	20w<
評価例数	16	16	16	16	16	16	16
呼吸器、胸郭および縦隔障害	2 (12.5)	1 (6.3)	0	0	1 (6.3)	0	0
鼻閉	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0	0	0
鼻漏	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)	0	0
胃腸障害	4 (25.0)	0	1 (6.3)	0	2 (12.5)	0	1 (6.3)
齲歯	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)	0	0
嘔吐	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)	0	0
腹痛	1 (6.3)	0	1 (6.3)	0	0	0	0
下痢	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)	0	0
上腹部痛	1 (6.3)	0	0	0	0	0	1 (6.3)
皮膚および皮下組織障害	7 (43.8)	3 (18.8)	1 (6.3)	2 (12.5)	0	1 (6.3)	0
蕁麻疹	2 (12.5)	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)	0
湿疹	2 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (6.3)	0	0	0
発疹	2 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (6.3)	0	0	0
接触皮膚炎	1 (6.3)	0	0	1 (6.3)	0	0	0
皮膚乾燥	1 (6.3)	0	1 (6.3)		0	0	0
肥厚性瘢痕	1 (6.3)	0	0	1 (6.3)	0	0	0
毛髪変色	1 (6.3)	0	0		1 (6.3)	0	0
筋骨格系および結合組織障害	4 (25.0)	0	0	1 (6.3)	2 (12.5)	0	1 (6.3)
四肢痛	2 (12.5)	0	0	0	1 (6.3)	0	1 (6.3)
関節痛	1 (6.3)	0	0	0	0	1 (6.3)	0
関節炎	1 (6.3)	0	0	1 (6.3)	0	0	0
背部痛	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)	0	0
一般・全身障害および投与部位の状態	4 (25.0)	2 (12.5)	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0
発熱	2 (12.5)	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0	0
注射部位紅斑	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0	0	0
注射部位疼痛	1 (6.3)	0	1 (6.3)	0	0	0	0
注射部位腫脹	1 (6.3)	0	0	1 (6.3)	0	0	0
臨床検査	7 (43.8)	5 (31.3)	0	0	1 (6.3)	0	1 (6.3)
β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	3 (18.8)	0	0	0	2 (12.5)	1 (6.3)	0
駆出率減少	2 (12.5)	0	0	0	0	1 (6.3)	1 (6.3)
脳性ナトリウム利尿ペプチド増加	2 (12.5)	2 (12.5)	0	0	0	0	0
インターロイキン濃度増加	2 (12.5)	2 (12.5)	0	0	0	0	0
尿中アルブミン陽性	1 (6.3)	0	0	0	0	1 (6.3)	0
ヘマトクリット減少	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0	0	0
尿中血陽性	1 (6.3)	0	0	0	0	1 (6.3)	0
ヘモグロビン減少	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0	0	0
血清フェリチン減少	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0	0	0
尿中蛋白陽性	1 (6.3)	0	0	0	0	1 (6.3)	0
α1 ミクログロブリン増加	1 (6.3)	0	0	0	0	1 (6.3)	0
尿中 β2 ミクログロブリン増加	1 (6.3)	0	0	1 (6.3)	0	0	0
傷害、中毒および処置合併症	5 (31.3)	1 (6.3)	1 (6.3)	0	1 (6.3)	1 (6.3)	1 (6.3)
挫傷	3 (18.8)	0	1 (6.3)	0	1 (6.3)	0	1 (6.3)
靱帯捻挫	1 (6.3)	0	1 (6.3)	0	0	0	0
創離開	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0	0	0
擦過傷	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)	0	0
口唇損傷	1 (6.3)	0	0	0	0	0	1 (6.3)
歯牙破折	1 (6.3)	0	0	0	0	1 (6.3)	0
切開部位腫脹	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0	0	0
節足動物刺傷	1 (6.3)	0	0	0	0	1 (6.3)	0

同一被験者に複数の有害事象が発現した場合は、各カテゴリごとに初発の事象をカウントした。

［5.3.5.1-2 表 12.2.2.3-1 を引用］

2） 201 試験・202 試験

201 試験の本剤投与開始から 202 試験のデータカットオフまで（プラセボ投与時を除く）に発現した有害事象の初発時期別発現率を表 2.7.4.2.1.1-7 に示す。

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、上咽頭炎、インフルエンザ、咳嗽、発疹、発熱、節足動物咬傷であった。

表 2.7.4.2.1.1-7 201＋202 試験（全体）における初発時期別有害事象一覧

有害事象名	全期間	≦4 w	≦8 w	≦12 w	≦16 w	≦25 w	≦37 w	≦49 w	≦61 w	≦73 w	73 w<
評価例数	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
発現例数(%)	16 (100)	10(62.5)	2 (12.5)	2 (12.5)	0	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0	0
感染症および寄生虫症	14 (87.5)	2 (12.5)	1 (6.3)	0	2 (12.5)	1 (6.3)	3 (18.8)	0	3 (18.8)	2 (12.5)	0
上咽頭炎	7 (43.8)	2 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (6.3)	0	2 (12.5)	0	0	1 (6.3)	0
インフルエンザ	4 (25.0)	0	0	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)	1 (6.3)	1 (6.3)	0
上気道感染	2 (12.5)	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)	0
副鼻腔炎	2 (12.5)	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)
体部白癬	2 (12.5)	0	0	0	0	0	0	0	2 (12.5)	0	0
ウイルス感染	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0
レンサ球菌性咽頭炎	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0
胃腸炎	1 (6.3)	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0
気管支炎	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)
結膜炎	1 (6.3)	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0
伝染性軟属腫	1 (6.3)	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0
肺炎	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)
麦粒腫	1 (6.3)	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0
皮膚真菌感染	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0
免疫系障害	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
薬物過敏症	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
内分泌障害	1 (6.3)	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0
クッシング様症状	1 (6.3)	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0
精神障害	3 (18.8)	2 (12.5)	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0
感情の平板化	1 (6.3)	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0
注意欠陥多動性障害	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
不安	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
神経系障害	3 (18.8)	0	0	0	0	0	2 (12.5)	0	1 (6.3)	0	0
頭痛	2 (12.5)	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	1 (6.3)	0	0
浮動性めまい	1 (6.3)	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0
耳および迷路障害	1 (6.3)	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0
耳漏	1 (6.3)	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0
心臓障害	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)
洞性不整脈	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)
血管障害	1 (6.3)	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0
末梢動脈閉塞	1 (6.3)	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0
呼吸器、胸郭および縦隔障害	13 (81.3)	3 (18.8)	0	1 (6.3)	1 (6.3)	3 (18.8)	3 (18.8)	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0
咳嗽	11 (68.8)	1 (6.3)	0	0	2 (12.5)	3 (18.8)	2 (12.5)	2 (12.5)	1 (6.3)	0	0
鼻閉	4 (25.0)	1 (6.3)	0	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)	0	0	1 (6.3)
気道うっ血	3 (18.8)	1 (6.3)	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)
口腔咽頭痛	1 (6.3)	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0

表 2.7.4.2.1.1-7 201＋202 試験（全体）における初発時期別有害事象一覧（続き）

有害事象名	全期間	≦4 w	≦8 w	≦12 w	≦16 w	≦25 w	≦37 w	≦49 w	≦61 w	≦73 w	73 w<
評価例数	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
胃腸障害	8 (50.0)	0	2 (12.5)	1 (6.3)	0	0	2 (12.5)	1 (6.3)	0	0	2 (12.5)
下痢	4 (25.0)	0	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0
嘔吐	4 (25.0)	0	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	2 (12.5)	0	0	0	0
便秘	2 (12.5)	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)
血便排泄	2 (12.5)	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0	1 (6.3)
悪心	2 (12.5)	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0	1 (6.3)
歯痛	1 (6.3)	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0
上腹部痛	1 (6.3)	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0
皮膚および皮下組織障害	9 (56.3)	2 (12.5)	0	0	0	0	3 (18.8)	1 (6.3)	2 (12.5)	0	1 (6.3)
発疹	6 (37.5)	1 (6.3)	0	0	0	0	2 (12.5)	1 (6.3)	1 (6.3)	0	1 (6.3)
紅斑	1 (6.3)	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0
接触皮膚炎	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
皮膚炎	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0
皮膚灼熱感	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0
嵌入爪	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0
筋骨格系および結合組織障害	4 (25.0)	2 (12.5)	1 (6.3)	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0
関節過伸展	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0
関節痛	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
筋肉痛	1 (6.3)	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0
筋痙縮	1 (6.3)	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0
四肢痛	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
腎および尿路障害	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0
高カルシウム尿症	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0
一般・全身障害および投与部位の状態	10 (62.5)	1 (6.3)	2 (12.5)	1 (6.3)	0	1 (6.3)	1 (6.3)	2 (12.5)	1 (6.3)	1 (6.3)	0
発熱	5 (31.3)	0	0	1 (6.3)	0	0	1 (6.3)	2 (12.5)	1 (6.3)	0	0
カテーテル留置部位腫脹	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0
外科手術不成功	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0
顔面痛	1 (6.3)	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0
口渇	1 (6.3)	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0
注射部位内出血	1 (6.3)	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0
注射部位反応	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0
注射部位漏出	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0
注射部位疼痛	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0
注入部位不快感	1 (6.3)	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0
注入部位疼痛	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0
疲労	1 (6.3)	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0
臨床検査	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0
血中カリウム増加	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0
血中クレアチニン増加	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0
血中尿素増加	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0
傷害、中毒および処置合併症	12 (75.0)	1 (6.3)	0	1 (6.3)	2 (12.5)	0	2 (12.5)	2 (12.5)	3 (18.8)	0	1 (6.3)
節足動物咬傷	6 (37.5)	0	0	1 (6.3)	0	0	1 (6.3)	1 (6.3)	2 (12.5)	0	1 (6.3)
挫傷	3 (18.8)	1 (6.3)	0	0	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)	0	0
四肢損傷	2 (12.5)	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	1 (6.3)	0
サンバーン	1 (6.3)	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0
下肢骨折	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0
関節損傷	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0
気道内異物	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0

表 2.7.4.2.1.1-7 201＋202 試験（全体）における初発時期別有害事象一覧（続き）

有害事象名	全期間	≦4 w	≦8 w	≦12 w	≦16 w	≦25 w	≦37 w	≦49 w	≦61 w	≦73 w	73 w<
評価例数	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16	16
脊柱損傷	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0
切開部位腫脹	1 (6.3)	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0
切開部位小水疱	1 (6.3)	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0
節足動物刺傷	1 (6.3)	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0
足骨折	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)
転倒	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0
皮膚損傷	1 (6.3)	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0	0	0	0
靭帯捻挫	1 (6.3)	0	0	0	0	0	0	0	1 (6.3)	0	0

MedDRA/SOC, PT ver 21.0

同一被験者に複数の有害事象が発現した場合は、各カテゴリごとに初発の事象をカウントした。

［5.3.5.3-2 表 3-7 を引用］

2.7.4.2.1.2 死亡

いずれの臨床試験においても、死亡に至った有害事象は認められなかった。

2.7.4.2.1.3 重篤な有害事象

重篤な有害事象は、P1/2 試験 80 mg/kg 群で上気道感染 1 例、202 試験 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た。201 試験、DMT01 試験では、重篤な有害事象は認められなかった。重篤な有害事象の一覧表を表 2.7.4.2.1.3-1 に、症例ごとの叙述を表 2.7.4.2.1.3-2 に示す。

P1/2 試験 80 mg/kg 群の被験者[redacted]では、Day 16（3 回目投与の翌日）に発熱、鼻汁、湿性咳嗽が認められ、Grade 2 の上気道感染と診断された。退院予定日を 1 日延長したことから、重篤な有害事象として報告された。治験薬の投与は継続したまま、対症療法実施で経過観察し、発現から 23 日後に回復した。治験責任医師は、家族からの接触感染による症状発現であり本剤との因果関係は関連なしと判断した。

202 試験 80 mg/kg 群の被験者[redacted]では、143 日目（201 試験開始から 310 日目）に[redacted]から飛び降りた際に下肢（左脛骨/腓骨）を骨折し、同日入院した。本剤投与は継続し、63 日後に回復した。治験責任医師は、本剤との因果関係は関連なしと判断した。

表 2.7.4.2.1.3-1 重篤な有害事象一覧表

試験名 投与群	人種	被験者 コード[a]	性別 年齢	有害事象[b]	発現日[c]	持続 期間[d]	因果関係	Grade	重篤/ 非重篤	治験薬 投与	転帰
P1/2 80 mg/kg	アジア人	[redacted]	男[redacted]	上気道感染	16	24	関連なし	2	重篤	継続	回復
202 80 mg/kg	白人	[redacted]	男[redacted]	下肢骨折	143 [310]	63	関連なし	3	重篤	継続	回復

a：P1/2：被験者識別コードの「NS065/NCNP01-P1/2-」は省略

b：P1/2：MedDRA/J ver. 20.1 PT 、202：MedDRA ver. 21.0 PT

c：投与開始日を 1 日目として起算（日目）、[ ]内は 201 試験の本剤投与開始日からの日数

d：発現日を 1 日として転帰までの日数（日）

［5.3.5.1-2 表 12.3.2-1, 5.3.5.3-1 Table 14.3.2.1b を改変］

表 2.7.4.2.1.3-2 重篤な有害事象の叙述

【P1/2 試験 80 mg/kg 群：上気道感染】

投与群	被験者コード[a]	性別	年齢	有害事象[b]	発現日[c]	持続期間[d]	因果関係	Grade	重篤/非重篤	治験薬投与	転帰
80 mg/kg	[redacted]	男	[redacted]	上気道感染	16	24	関連なし	2	重篤	継続	回復
				鼻漏	112	5	関連なし	1	非重篤	継続	回復
				蕁麻疹	126	2	おそらく関連あり	1	非重篤	継続	回復

既往歴	なし
合併症	なし
併用薬[e]	プレドニゾロン
重篤理由	治療のために入院又は入院期間の延長が必要とされるもの
経過・処置	-44 日目：治験参加に同意、スクリーニング検査開始 1 日目：治験薬の初回投与 6 日目：治験薬の 2 回目投与、有害事象なく予定通りに退院 15 日目：治験薬の 3 回目投与 16 日目：早朝の 5 時 20 分に 39.0 度の発熱、鼻汁、湿性咳嗽が出現 インフルエンザ検査、採血、採尿、血培検査実施 内服加療で経過観察 16 日目の午後より自然解熱 17 日目：湿性咳嗽は続いているが増悪ないため、本日退院（治験のための入院は、本来、16 日目までの予定であった。）
治験担当医師の見解	被験者は、治験薬投与の翌日に発熱、鼻汁・湿性咳嗽が出現するが、1 週間前より家族に同じような症状が出現していることから、接触感染による症状出現と考え、治験薬との合理的な因果関係はないと判断する。
因果関係判定根拠に関する治験依頼者の見解	担当医師は治験薬の 3 回目投与開始翌日に発熱、鼻汁、湿性咳嗽の症状が発現したが、1 週間前より被験者家族に同様の症状が発現していることから、接触感染による症状発現であると評価し、治験薬との因果関係を否定している。企業としても、担当医師の評価に異論なく、上気道感染と治験薬との因果関係は「なし」と判断する。

【202 試験 80 mg/kg 群：下肢骨折】

試験名 投与群	被験者コード	性別	年齢	有害事象[b]	発現日[c]	持続期間[d]	因果関係	Grade	重篤/非重篤	治験薬投与	転帰
201 試験 80 mg/kg			[redacted]	接触皮膚炎	10	11	関連なし	1	非重篤	継続	回復
				咳嗽	88	7	関連なし	1	非重篤	継続	回復
				レンサ球菌性咽頭炎	91	12	関連なし	2	非重篤	継続	回復
				伝染性軟属腫	140	210	関連なし	1	非重篤	継続	回復
202 試験 80 mg/kg	[redacted]	男	[redacted]	胃腸炎	10【177】	2	関連なし	2	非重篤	継続	回復
				下肢骨折	143【310】	63	関連なし	3	重篤	継続	回復
				節足動物咬傷	227【394】	3	関連なし	1	非重篤	継続	回復
				四肢損傷	306【473】	11	関連なし	1	非重篤	継続	回復
				レンサ球菌性咽頭炎	337【504】	5	関連なし	2	非重篤	継続	回復
				便秘	346【513】	1	関連なし	1	非重篤	継続	回復

既往歴	薬剤過敏症、便秘、言語障害、中耳炎、季節性アレルギー、節足動物咬傷アレルギー
併用薬[e]	デフラザコート、パラセタモール、セチリジン、インフルエンザワクチン、グアイフェネシン、炭酸カルシウム、セファロスポリン、ジフェンヒドラミン、ヒドロコルチゾン、ロラタジン、マクロゴール 3350、ビタミン D、ヒドロコドン、食物繊維、フェンタニル、イブプロフェン、塩化カルシウム・カリウム・乳酸ナトリウム、リドカイン、オンダンセトロン、オキシコドン、肺炎球菌ワクチン、プロポフォール、ロピバカイン
重篤理由	治療のために入院又は入院期間の延長が必要とされるもの

経過・処置	Day 1：Period 1 の治験薬（80 mg/kg）投与開始 Day 27：Period 2 の治験薬（80 mg/kg）投与開始 Day 168：202 試験の治験薬（80 mg/kg）投与開始 Day 310（202 試験の Day 143）：[redacted]から飛び降り、左脛骨/腓骨を骨折。同日入院し、診断のため X 線検査を実施。骨を再調整するためにピンを置く手術を実施し、歩行ギプス包帯が使用された。 Day 313：発現 3 日後に退院。治療薬には、必要に応じてアセトアミノフェン/酒石酸水素ヒドロコドン 5 mL、イブプロフェン 7.5 mL、アセトアミノフェン 7.5 mL が使用された。併用療法には車椅子を含む。 Day 372（202 試験の Day 205）：約 2 ヵ月後回復
治験担当医師の見解	治験薬とは無関係であると評価

a：被験者識別コードの「NS065/NCNP01-P1/2-」は省略
b：P1/2 試験；MedDRA/J ver. 20.1 PT、202 試験；MedDRA ver. 21.0 PT
c：本剤投与開始日を 1 日目として起算（日目）
d：発現日を 1 日として転帰までの日数（日）、[ ]内は 201 試験の本剤投与開始日からの日数
e：有害事象発現までに使用されていた薬剤

［5.3.5.1-2 12.3.2, 5.3.5.3-1 Listing16.2.7.1, 16.2.9.1.1, 16.2.9.1.2, Narratives を改変］

2.7.4.2.1.4 重要な有害事象

いずれの試験においても、中止、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は、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（表 2.7.4.2.1.4-1）。201 試験、DMT01 試験では、休薬に至った有害事象は認められなかった。以下に詳細を示す。

- P1/2 試験の被験者[redacted]（40 mg/kg 群）は、Day 17（3 回目投与の翌日）に Grade 2 の湿疹を発現したため、4 回目の投与を休薬した。湿疹は対症療法を実施し改善傾向となったことから投与を再開し、投与再開後の悪化は認められなかった。本剤との因果関係は否定されなかった。
- P1/2 試験の被験者[redacted]（40 mg/kg 群）は、Day 77（11 回目投与後 5 日目）に Grade 2 のインフルエンザを発症したため、12 回目の投与を休薬した。インフルエンザは 8 日後に回復し、本剤の投与を再開した。本剤との因果関係は否定された。
- 202 試験の被験者[redacted]（80 mg/kg 群）は、本剤投与開始から Day 446（64 回目投与後 3 日目）に Grade 1 の発熱、翌日にウイルス感染が認められたため、65 回目の投与を休薬した。5 日後に回復し、本剤の投与を再開した。本剤との因果関係は否定された。
- 202 試験の被験者[redacted]（80 mg/kg 群）は、本剤投与開始から Day 321（51 回目投与）の静脈内投与中に注射部位漏出のために投与を中断し、15 分後に再開した。

表 2.7.4.2.1.4-1 休薬に至った有害事象一覧表

試験名 投与群	人種	被験者コード[a]	性別 年齢	有害事象[b]	発現日[c]	持続期間[d]	因果関係	Grade	重篤/ 非重篤	治験薬投与	転帰
P1/2 40 mg/kg	アジア人	[redacted]	男[redacted]	湿疹	17	71	関連あるかもしれない	2	非重篤	休薬	回復
		[redacted]	男[redacted]	インフルエンザ	77	9	関連なし	2	非重篤	休薬	回復
202 80 mg/kg	白人	[redacted]	男[redacted]	発熱	279 [446]	6	関連なし	1	非重篤	休薬	回復
				ウイルス感染	280 [447]	5	関連なし	1	非重篤	休薬	回復
		[redacted]	男[redacted]	注射部位漏出	180 [321]	1	関連あり	1	非重篤	休薬 （中断）	回復

a：P1/2：被験者識別コードの「NS065/NCNP01-P1/2-」は省略
b：P1/2：MedDRA/J ver. 20.1 PT、202 試験：MedDRA ver. 21.0 PT
c：投与開始日を 1 日目として起算（日目）、[ ]内は 201 試験の本剤投与開始日からの日数
d：発現日を 1 日として転帰までの日数（日）

［5.3.5.1-2 表 12.3.3-1、5.3.5.3-1 Listing16.2.4.1, 16.2.7.1 を改変］

2.7.4.2.1.5 注目すべき有害事象

（1） 腎障害関連の有害事象

毒性試験において腎臓の近位尿細管への影響が観察されたことから、腎障害に関連する有害事象を評価した。臨床試験において認められた腎障害関連有害事象の概括を表 2.7.4.2.1.5-1 に、発現率を表 2.7.4.2.1.5-2 に、症例ごとの一覧表を付録 表 2.7.4.7-1 に示す。なお、腎障害関連有害事象としては、MedDRA SOC「腎および尿路障害」、HLGT「腎尿路系検査および尿検査」に該当する事象の他、臨床試験の尿検査項目に関連して発現した有害事象（β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加、α1 ミクログロブリン増加、尿中 β2 ミクログロブリン増加、尿中ケトン体陽性）を含めた事象と定義した。

腎障害関連有害事象の発現率は、P1/2 試験 18.8%（3/16 例）、201+202 試験 6.3%（1/16 例）、DMT01 試験 100%（10/10 例）であった。2 例以上に発現したのは、β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加（P1/2 試験 3 例、DMT01 試験 9 例）、尿中蛋白陽性（P1/2 試験 1 例、DMT01 試験 8 例）、尿中アルブミン陽性（P1/2 試験 1 例、DMT01 試験 7 例）、尿中 β2 ミクログロブリン増加（P1/2 試験 1 例、DMT01 試験 3 例）、尿中血陽性（P1/2 試験、DMT01 試験各 1 例）、シスタチン C 増加（DMT01 試験 2 例）であった。いずれの事象も非重篤で、多くは重症度 Grade 1 で投与を継続したまま対症療法なしで回復した。

表 2.7.4.2.1.5-1 腎障害関連有害事象の発現率概括

	P1/2 試験	201+202 試験	DMT01 試験
安全性解析対象例数	16	16	10
有害事象	3 (18.8)	1 (6.3)	10 (100.0)
副作用	2 (12.5)	0	10 (100.0)
Grade 1 の有害事象	2 (12.5)	0	9 (90.0)
Grade 2 の有害事象	1 (6.3)	1 (6.3)	1 (10.0)
Grade 3 以上の有害事象	0	0	0
死亡に至った有害事象	0	0	0
重篤な有害事象	0	0	0
中止に至った有害事象	0	0	0

［5.3.5.3-2 表 1-17, 表 3-9, 表 6-1 を改変］

表 2.7.4.2.1.5-2 腎障害関連有害事象の発現率

MedDRA/PT ver21.0	P1/2 試験 (N=16)		201+202 試験 (N=16)		DMT01 試験 (N=10)	
	有害事象	副作用	有害事象	副作用	有害事象	副作用
腎障害関連有害事象発現例数(%)	3 (18.8)	2 (12.5)	1 (6.3)	0	10 (100.0)	10 (100.0)
β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	3 (18.8)	2 (12.5)	0	0	9 (90.0)	9 (90.0)
尿中蛋白陽性	1 (6.3)	0	0	0	8 (80.0)	8 (80.0)
尿中アルブミン陽性	1 (6.3)	0	0	0	7 (70.0)	7 (70.0)
尿中血陽性	1 (6.3)	0	0	0	1 (10.0)	1 (10.0)
α1 ミクログロブリン増加	1 (6.3)	0	0	0	0	0
尿中 β2 ミクログロブリン増加 [a]	1 (6.3)	1 (6.3)	0	0	2 (20.0)	2 (20.0)
血中クレアチニン増加	0	0	1 (6.3)	0	0	0
血中尿素増加	0	0	1 (6.3)	0	0	0
高カルシウム尿症	0	0	1 (6.3)	0	0	0
シスタチン C 増加	0	0	0	0	2 (20.0)	1 (10.0)
血尿	0	0	0	0	1 (10.0)	1 (10.0)
尿中蛋白／クレアチニン比増加	0	0	0	0	1 (10.0)	1 (10.0)
尿中ケトン体陽性	0	0	0	0	1 (10.0)	1 (10.0)

a：DMT01 試験の MedDRA/PT：β2 ミクログロブリン増加を含む

［5.3.5.3-2 表 1-17, 表 3-9, 表 6-1 を改変］

P1/2 試験では、腎障害関連有害事象は、40 mg/kg 群 1 例、80 mg/kg 群 2 例に認められ、いずれも β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加が認められた。以下に詳細を示す。

- 被験者[redacted]（40 mg/kg 群）：投与 17 週に β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加（観察期 1.5 U/day、最高値 3.8 U/day）、尿中アルブミン陽性、α1 ミクログロブリン増加、尿中血陽性（全て Grade 1）、尿中蛋白陽性（Grade 2）が認められた。いずれも本剤投与を継続したまま、対症療法なしで回復した。これらの事象は全て、被験者が[redacted]m 走を行った影響であり治験薬との因果関係は否定された。
- 被験者[redacted]（80 mg/kg 群）：投与 14 週に Grade 1 の β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加が認められた（観察期 1.9 U/day、最高値 4.0 U/day）。本剤投与を継続したまま、対症療法なしで回復した。治験薬との因果関係は否定されなかった。
- 被験者[redacted]（80 mg/kg 群）：Grade 1 の β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加が投与 16 週、19 週、23 週に計 3 件認められた（観察期 1.1 U/day、最高値 5.1 U/day）。この症例では投与 11 週に Grade 1 の尿中 β2 ミクログロブリン増加も認められた。いずれも本剤投与を継続したまま、対症療法なしで回復した。治験薬との因果関係は否定されなかった。

201 試験及び 202 試験では、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。201 試験 80 mg/kg 群の被験者[redacted]では投与 12 週に Grade 2 の血中クレアチニン増加・血中尿素増加が、投与 72 週に Grade 1 の高カルシウム尿症が認められたが、いずれも本剤との因果関係は否定された。

DMT01 試験では、10 例中 9 例で Grade 1 の β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加が有害事象として認められた。初発時期は 1 週間以内が多く、いずれも治験薬との因果関係は否定されなかった。その他、尿中アルブミン陽性 7 例、β2 ミクログロブリン増加、シスタチン C 増加が各 2 例、血尿、尿中蛋白／クレアチニン比増加、尿ケトン体陽性、血尿が各 1 例認められたが、いずれも Grade 1 で本剤の投与は継続された。尿中蛋白陽性 8 例（うち 1 例は Grade 2）が認められた

が、CBB 法による尿蛋白再測定では問題は認められなかった（2.7.4.3.3（1）3）項参照）。また、CBB 法を用いた P1/2 試験、塩化ベンゼトニウム法を用いた 201 試験及び 202 試験では本剤と関連のある尿蛋白陽性の発現は認められなかった。

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の理由は、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。その他の有害事象についても、ほとんどが Grade 1 であり、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。また、202 試験の長期継続投与により腎機能関連の臨床検査値異常や有害事象発現率が高まることはなかった。

以上より、臨床試験において、本剤投与による腎機能への明らかな影響は認められなかった。

（2） 薬剤過敏症

いずれの試験も重篤な薬剤過敏症の既往歴をもつ患者を除外基準に規定していた。

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。この症例（被験者:[redacted]）は、Day 1 に Grade 1 の薬剤過敏症を発現し、無処置で翌日回復した。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。

（3） 皮膚障害

皮膚障害に関連する有害事象（MedDRA SOC「皮膚及び皮下組織障害」）を発現した症例一覧を付録表 2.7.4.7-2 に示す。

皮膚障害に関連する有害事象は、P1/2 試験で 7 例（蕁麻疹、発疹、湿疹が各 2 例、接触皮膚炎、皮膚乾燥、肥厚性瘢痕、毛髪変色が各 1 例）、201 試験で 2 例（発疹、接触皮膚炎が各 1 例）、202 試験で 8 例（発疹 5 例、紅斑、嵌入爪、皮膚炎、皮膚灼熱感が各 1 例）、DMT01 試験で 2 例（湿疹 2 例、汗疹 1 例）認められた。そのうち、本剤との因果関係が否定されなかったのは、P1/2 試験の蕁麻疹 2 例、湿疹、発疹、毛髪変色が各 1 例、DMT01 試験の湿疹 1 例であり、毛髪変色の 1 例は未回復であったが、それ以外は回復又は軽快した。

毛髪変色が発現した P1/2 試験 80 mg/kg 群の被験者[redacted] では、Day 95（14 回目投与の 4 日後）に Grade 1 の毛髪変色が発現した。本事象は直ちに回復するものではないと判断され、未回復のまま追跡調査は終了された。本剤との因果関係は否定されなかった。治験責任医師は、原因を特定するためアミノ酸検査を実施したが、メラニン前駆体（チロシンとフェニルアラニン）の血中濃度に問題はなく、赤毛を引き起こすことが知られる基礎疾患（フェニルケトン尿症、メンケス病）も認められなかったと報告した。

非臨床試験において、ビルトラルセンのオフターゲット作用を検討した結果、先天性貧毛症と関連性のある遺伝子が検出されている（2.6.2.6 項参照）。この遺伝子の変異による先天性貧毛症は、しばしば毛幹の脱色又は低色素化を伴うことが報告されている[1,2]。臨床試験では貧毛等の有害事象は認められておらず、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

本剤は、週 1 回、1 時間かけて静脈内投与を継続して投与することから、注射部位反応に関連する有害事象を評価した。注射部位反応に関連する有害事象を発現した症例一覧を付録 表 2.7.4.7-3 に示す。

P1/2 試験では、80 mg/kg 群に注射部位紅斑、注射部位疼痛、注射部位腫脹が各 1 例認められた。いずれも、Grade 1 で発現日のうちに回復し、治験薬投与は継続された。このうち注射部位紅斑のみ因果関係が否定されなかった。また、40 mg/kg 群の 1 例で、四肢痛が筋生検もしくは治験薬投与ルートの確保時の刺し加減により発現したが、治験薬との因果関係は否定された。

201 試験では 40 mg/kg 群で注射部位疼痛、注入部位不快感が各 1 例、80 mg/kg 群で 1 例に注射部位反応・注射部位内出血が認められた。いずれも Grade 1 で治験薬投与は継続され、発現日のうちに回復した。いずれも治験薬との因果関係は否定された。

202 試験では 40 mg/kg 群で注入部位疼痛 1 例、80 mg/kg 群で注射部位漏出、カテーテル留置部位腫脹が各 1 例が認められた。いずれも Grade 1 で発現日のうちに回復した。注射部位漏出を発現した後、15 分の中断のあと治験薬投与は継続された。

DMT01 試験では、Grade 1 の医療機器関連損傷（医師記載名：留置針挿入部位における腫脹）が認められた。2 日後に回復し、治験薬との因果関係は否定された。

以上、臨床試験において本剤投与時に臨床上問題となる注射部位の反応は認められなかった。

（5） 貧血

DMT01 試験において、貧血が 10 例中 7 例に認められた。また、ヘモグロビンやヘマトクリット値等の減少が全ての投与群において投与初期に認められた。これらの事象は、薬物動態試験や臨床検査による採血量が多いことに起因している可能性が考えられたため、P1/2 試験以降の試験では採血量を減らした。その結果、201 試験、202 試験では貧血に関連する有害事象の発現は認められず、P1/2 試験で 1 例に Grade 1 のヘモグロビン減少及びヘマトクリット減少が認められたが、本剤との因果関係は否定された。また、P1/2 試験で鉄に関する血液生化学的検査（Fe、フェリチン及び TIBC）を測定した結果、本剤投与による影響は認められなかった（2.7.4.3.1（1）項参照）。

以上より、DMT01 試験で認められた貧血等は大量の採血量に起因しており、本剤投与により貧血が発現する可能性は低いと考えた。

（6） ALT、AST 及び CK

DMD 患者では筋肉損傷を起因として、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）、クレアチンキナーゼ（CK）が高値を示すことが知られている [3,4]。

P1/2 試験、201 試験、DMT01 試験のいずれにおいても、ALT、AST 及び CK のベースライン平均値は、基準値上限を上回っていた。これらの臨床検査値について、本剤投与期間中に臨床的に問題となる異常変動は認められず、関連する有害事象は認められなかった。202 試験において Week 73 以上、最長 Week 97 までの臨床検査値を評価したが、臨床的に問題となる異常変動は認められなかった。

2.7.4.2.2 個別有害事象の文章による説明

いずれの試験においても、死亡及び中止に至った有害事象はなかった。P1/2 試験及び 202 試験で認められた重篤な有害事象の叙述は、表 2.7.4.2.1.3-2 に示した。

2.7.4.3 臨床検査値の評価

2.7.4.3.1 血液学的検査及び血液生化学的検査

（1） 試験期間を通しての臨床検査値の推移

1） P1/2 試験

P1/2 試験の血液学的検査では、試験期間を通して臨床的に意義のある変動は認められなかった。ヘモグロビン、赤血球数、ヘマトクリット値並びに鉄に関する血液生化学的検査（Fe、フェリチン及び TIBC）においても顕著な変動は認められなかった。

血液生化学的検査では、ALT、AST、乳酸脱水素酵素（LDH）及び CK の平均値はベースライン時で基準値上限を上回り、クレアチニンの平均値はベースライン時で基準値下限を下回った。その他の検査項目では試験期間を通して臨床的に意義のある変動は認められなかった。ALT、AST 及び LDH は投与後に顕著な変動は認められなかった。CK はベースライン時の値がそれ以前の測定値（V-2）よりも低く、V-2 測定値と比較すると投与後に CK 平均値の経時的な低下傾向が認められた（2.7.3.3.2.4 項参照）。

2） 201 試験及び 202 試験

血液学的検査では、201 試験のベースラインからの変化量及び 202 試験の Week 25 からの変化量はいずれも小さく、試験期間を通して臨床的に意義のある変動は認められなかった。

血液生化学的検査では、ALT、AST、LDH 及び CK の平均値はベースライン時で基準値上限を上回った。ALT、AST 及び LDH は投与後に顕著な変動は認められなかった。CK は投与後に経時的な低下傾向が認められた（2.7.3.3.2.4 項参照）。202 試験では最長 Week 97 までの評価において、いずれの検査項目においても Week 25 からの変化量は小さく、臨床的に問題となる異常変動は認められなかった。ビリルビン、シスタチン C の異常変動（Low 又は Normal から High）は認められなかった。

3） DMT01 試験

DMT01 試験の血液学的検査では、ヘモグロビンの平均値が、すべての投与群において、Day 1～Day 7 まで低下した。1.25 mg/kg 群及び 5 mg/kg 群では Day 14 以降に回復傾向を示したが、20 mg/kg 群では Day 14 以降も低値が持続した。赤血球数、ヘマトクリット値もヘモグロビンとほぼ同様の傾向を示した。平均赤血球容積（MCV）、平均赤血球ヘモグロビン量（MCH）、平均赤血球ヘモグロビン濃度（MCHC）は Day 21 以降に低下傾向を示した。網赤血球数は、すべての投与群において Day 7 にかけて増加が認められたが、正常範囲内であり、その後投与期間中に回復した。

血液生化学的検査では、血清アルブミン及びアルブミン/グロブリン比は、すべての投与群において、Day 4～Day 5 にかけて一過性の低値を示した。AST、ALT、LDH、ALP 及び CK はベース

ライン時で基準値上限を上回り、投与期間中の変動は認められなかった。クレアチニンはベースライン時で基準値下限を下回り、投与期間中の変動は認められなかった。その他の臨床検査項目に投与期間中の変動は認められなかった。

（2） 個々の臨床的に重要な異常変動

1） P1/2 試験

P1/2 試験で、異常変動（投与後最悪値の Grade が 2 以上かつベースラインの Grade より悪化）が 2 例以上に認められたのは、AST（増加）13 例、リンパ球（増加）7 例、ALT（増加）6 例、クレアチニン（増加）、トリグリセライド（増加）が各 4 例、K（増加）3 例、好中球（減少）、リンパ球（減少）及び血糖（増加）が各 2 例であった。これらの異常変動はいずれも有害事象と判断されなかった。いずれの臨床検査値においても、用量に依存して重要な異常が増加するような傾向は認められなかった。有害事象としては、Grade 1 の血清フェリチン減少が 1 例に認められたが、本剤との因果関係は否定された。

2） 201 試験及び 202 試験

201 試験では、有害事象として 80 mg/kg 群 1 例に Grade 2 の血中クレアチニン増加・血中カリウム増加・血中尿素増加が認められた。いずれも処置なしに回復し、本剤との因果関係は否定された。202 試験では、血液学的検査及び生化学的検査に関する有害事象は認められなかった。

3） DMT01 試験

DMT01 では、有害事象として貧血 7 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、シスタチン C 増加 2 例、血中フィブリノゲン増加、血中フィブリノゲン減少、赤血球増加症、血中ブドウ糖増加、血中免疫グロブリン E 増加、C-反応性蛋白増加が各 1 例認められた。いずれも Grade 1 で、貧血 7 例、脳性ナトリウム利尿ペプチド増加 2 例、白血球数増加、シスタチン C 増加、血中フィブリノゲン増加、血中フィブリノゲン減少、血中ブドウ糖増加、C-反応性蛋白増加の各 1 例は本剤との因果関係は否定されなかった。

2.7.4.3.2 サイトカイン検査（補体検査含む）

（1） 試験期間を通しての臨床検査値の推移

1） P1/2 試験

P1/2 試験では、投与初日、Week 12 及び 24 のそれぞれ投与前、投与終了 4 及び 23 時間後に IL-6、TNF-α、MCP-1 を測定した結果、被験者全体では明らかな変動傾向は認められなかった。

2） 201 試験及び 202 試験

201 試験では、投与初日、Week 13 及び 24 のそれぞれ投与前、投与開始 9 及び 24 時間後（Week 13 は 24 時間後測定なし）に、202 試験では、Week 37、49、73 及び 97 の投与前と 9 時間後に、IL-6、TNF-α、MCP-1 を測定した結果、被験者全体では明らかな変動傾向は認められなかった。

3） DMT01 試験

DMT01 試験では、投与初日、Week 5、9 及び 12 のそれぞれ投与前、投与終了直後、投与終了 1 時間後、3 時間後及び 23 時間後に IL-6、TNF-α、MCP-1 を含むサイトカイン及び補体を測定した結果、被験者全体では明らかな増加傾向は認められなかった。

（2） 個々の臨床的に重要な異常変動

1） P1/2 試験

P1/2 試験では、サイトカインに関連する有害事象として、インターロイキン濃度増加が 2 例（IL-6 高値、各群 1 例ずつ）認められ、いずれも Grade 1 で本剤との因果関係は否定されなかった。

2） 201 試験及び 202 試験

201 試験及び 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。

3） DMT01 試験

DMT01 試験では、サイトカイン及び補体に関連する有害事象として、インターロイキン濃度増加 6 例（IL-6 高値 4 例、IL-2 高値、IL-1β 高値が各 1 例）、補体成分 C3 増加 2 例、α 腫瘍壊死因子増加が各 1 例認められた。いずれも Grade 1 であり、インターロイキン濃度増加 5 例、補体成分 C3 増加 2 例、α 腫瘍壊死因子増加 1 例は、本剤との因果関係は否定されなかった。

2.7.4.3.3 尿検査

（1） 試験期間を通しての臨床検査値の推移

1） P1/2 試験

P1/2 試験の 24 時間蓄尿検査におけるベースライン及び Week 24 の平均値（標準偏差）を表 2.7.4.3.3-1 に示す。いずれのパラメータにおいても顕著な変化は認められなかった。

24 時間蓄尿検査における尿蛋白は、CBB 法にて測定し、ベースライン及び投与終了時のいずれにおいてもほとんどが定量下限値（10 mg/dL）未満であった。

表 2.7.4.3.3-1　P1/2 試験の 24 時間蓄尿における尿検査パラメータ測定値

パラメータ	ベースライン				投与終了時（Week 24）			
	40 mg/kg 群 (N=8)		80 mg/kg 群 (N=8)		40 mg/kg 群 (N=8)		80 mg/kg 群 (N=8)	
	N	Mean（SD）	N	Mean（SD）	N	Mean（SD）	N	Mean（SD）
尿中NAG (U/day)	8	1.46 (0.27)	8	1.14 (0.47)	7	3.49 (1.54)	8	3.63 (1.93)
尿中α_1ミクログロブリン (mg/L)	8	0.675 (0.481)	8	0.663 (0.397)	8	0.956 (0.754)	8	0.688 (0.440)
尿中β_2ミクログロブリン (μg/L)	8	95.8 (38.3)	8	58.3 (25.8)	8	105.4 (71.1)	8	66.8 (34.4)
尿中アルブミン (mg/day)	8	3.78 (3.39)	8	1.89 (0.93)	7	2.49 (0.61)	8	1.86 (0.70)
尿クレアチニン (g/day)	8	0.234 (0.043)	8	0.245 (0.113)	7	0.227 (0.056)	8	0.270 (0.106)
尿Na (g/day)	8	2.03 (1.12)	8	2.20 (0.72)	7	2.27 (1.00)	8	2.20 (0.80)
尿K (g/day)	8	1.048 (0.352)	8	1.109 (0.357)	7	1.153 (0.493)	8	1.031 (0.265)
尿Cl (g/day)	8	3.04 (1.25)	8	3.50 (1.29)	7	3.54 (1.66)	8	3.66 (1.28)
尿P (g/day)	8	0.398 (0.092)	8	0.376 (0.055)	7	0.430 (0.137)	8	0.399 (0.115)
尿中尿酸 (g/day)	8	0.388 (0.104)	8	0.379 (0.115)	7	0.461 (0.113)	8	0.420 (0.102)
尿蛋白 (mg/day)	0	－	0	－	1	11.50	3	77.95 (18.26)

［5.3.5.1-2 表 14.3.6-7 を引用］

2）　201 試験及び 202 試験

201 試験及び 202 試験において、比重及び pH の平均値に顕著な変化は認められなかった。また、Week 13、Week 41 に各 1 例が少量の尿潜血を示した以外は、ベースライン後に尿糖、尿潜血、ウロビリノーゲンについて陽性の被験者はいなかった。尿量及び 1 日あたりの排泄量に大きな変動はなかった。

201 試験の 24 時間蓄尿検査におけるベースライン及び Week 24 の測定値を表 2.7.4.3.3-2 に示す。Week 24 で、尿 Na、尿 Cl、尿蛋白に減少が見られたが、その他のパラメータにおいて顕著な変化は認められなかった。

201 試験及び 202 試験では、随時尿検査を最長 Week 97 まで実施し、Normal から High への異常変動が、α_1 ミクログロブリンで 2 例、シュウ酸カルシウム結晶で 4 例認められた。アルブミン、尿蛋白、NAG は全ての患者で正常範囲内であった。

表 2.7.4.3.3-2　201 試験の 24 時間蓄尿における尿検査パラメータ測定値

パラメータ	ベースライン				投与終了時（Week 24）			
	40 mg/kg 群 (N=8)		80 mg/kg 群 (N=8)		40 mg/kg 群 (N=8)		80 mg/kg 群 (N=8)	
	N	Mean（SD）	N	Mean（SD）	N	Mean（SD）	N	Mean（SD）
尿中NAG (mU/mg)	8	3.19 (1.147)	8	4.81 (2.194)	8	4.94 (1.556)	7	6.86 (5.017)
尿中α_1ミクログロブリン (mg/dL)	8	0.60 (0.000)	8	0.65 (0.141)	8	0.60 (0.000)	7	0.60 (0.000)
尿中β_2ミクログロブリン (μg/L)	8	84.63 (31.039)	8	172.38 (287.543)	8	90.00 (37.068)	7	129.13 (144.296)
尿中アルブミン (mg/day)	8	6.50 (6.866)	8	4.00 (1.069)	6	3.33 (1.366)	8	3.38 (1.408)
尿クレアチニン (mg/day)	8	415.88 (89.56)	8	311.88 (106.799)	6	364.75 (120.731)	8	335.50 (113.773)
尿Na (mg/day)	8	129.63 (58.300)	8	109.75 (60.247)	6	83.17 (58.759)	8	84.75 (33.238)
尿K (mmol/day)	8	45.13 (19.007)	8	30.38 (10.405)	6	27.33 (14.052)	8	35.50 (6.094)
尿Cl (mmol/day)	8	128.88 (57.025)	8	104.13 (58.614)	6	78.17 (45.181)	8	85.88 (30.926)
尿P (mmol/day)	8	15.36 (5.659)	8	12.93 (8.461)	6	10.77 (8.067)	8	14.93 (6.651)
尿中尿酸 (mmol/day)	8	2.33 (0.444)	8	1.90 (0.710)	6	1.63 (0.907)	8	1.93 (0.664)
尿蛋白 (mg/day)	8	111.75 (72.575)	8	66.63 (17.484)	6	65.38 (9.226)	8	64.88 (19.621)

［5.3.5.1-1 Table 44 を引用］

3）　DMT01 試験

DMT01 試験では、24 時間蓄尿検査の尿中 NAG はいずれの投与群においても増加が認められ、その程度は 20 mg/kg 群で最も大きかった。随時尿の尿中 NAG も同様の傾向を示した。

24 時間蓄尿検査の尿蛋白はすべての被験者において Day 1 と Day 77 に一過性に高値を示し、その程度は 20 mg/kg 群で最も大きくなった。いずれも 24 時間蓄尿において認められ、随時尿では認められなかった。また、24 時間蓄尿では尿中アルブミンの変動は認められなかった。尿蛋白測定に用いたピロガロールレッドにビルトラルセンが交差反応し、24 時間蓄尿中の尿蛋白の値が実際の濃度より高い結果が得られた可能性が考えられたため、凍結保存した尿検体を用い CBB 法により尿蛋白の再測定を実施した。その結果、24 時間蓄尿における尿蛋白の定量値は、いずれも基準値（参考値：31.2～120.0 mg/day）の上限を超えなかった（5.3.5.2-1 表 13-1）。

（2）　個々の臨床的に重要な異常変動

1）　P1/2 試験

P1/2 試験では、尿検査所見に関連する有害事象が 3 例で発現し、内訳は β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加 3 例、α1 ミクログロブリン増加、尿中 β2 ミクログロブリン増加、尿中アルブミン陽性、尿中血陽性、尿中蛋白陽性が各 1 例であった。詳細は 2.7.4.2.1.5（1）項に示した。

2） 201 試験及び 202 試験

201 試験では尿検査所見に関連する有害事象は認められなかった。

202 試験では、シュウ酸カルシウム結晶が認められた被験者のうち 1 例が高カルシウム尿症と診断されたが、本剤との因果関係は否定された。

3） DMT01 試験

DMT01 では、尿検査所見に関連する有害事象は、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、尿中アルブミン陽性 7 例、β2 ミクログロブリン増加 2 例、尿中血陽性、尿中蛋白／クレアチニン比増加、尿中ケトン体陽性が各 1 例認められたが、これらの多くは Grade 1 であった。

尿中蛋白陽性は 8 例に発現したが、尿蛋白測定に用いたピロガロールレッドとビルトラルセンが交差反応した可能性が考えられた（2.7.4.3.3（1）3）項参照）。

2.7.4.4 バイタルサイン、身体的所見及び安全性に関連する他の観察項目

2.7.4.4.1 バイタルサイン

1） P1/2 試験

P1/2 試験では、重要な異常を示したバイタルサイン（血圧、脈拍数）の集計では、収縮期血圧低値 10 例、収縮期血圧高値 2 例、拡張期血圧高値 7 例、脈拍数高値 11 例、脈拍数低値 2 例が認められたが、いずれの変動も治験責任医師は臨床上問題となる異常とは判断しなかった。バイタルサインに関連する有害事象としては、80 mg/kg 群で発熱 2 例が認められた。いずれも Grade 1 で無処置で回復した。

2） 201 試験及び 202 試験

201 試験及び 202 試験では、バイタルサイン（血圧、脈拍数、呼吸数、体温）に関して、臨床的に意義のある変動は認められなかった。201 試験の 80 mg/kg 群 1 例、202 試験の 40 mg/kg 群 2 例、80 mg/kg 群 2 例に発熱が認められたが、いずれも Grade 1 で治験薬との因果関係は否定された。

3） DMT01 試験

DMT01 試験では、バイタルサイン（血圧、脈拍数、呼吸数、体温）に関して、臨床的に意義のある変動は認められなかった。バイタルサインに関連した有害事象として、拡張期血圧上昇が 2 例、酸素飽和度低下、呼吸数増加が各 1 例に認められた。いずれも Grade 1 で無処置で回復した。

2.7.4.4.2 免疫学的検査

201 試験の 80 mg/kg 群 1 例（被験者 [redacted] ）で、Week 13 及び Week 24 に抗ジストロフィン抗体が検出された。202 試験（Week 37、49、73 及び Week 97）、P1/2 試験及び DMT01 試験では、全て抗ジストロフィン抗体検査は陰性であった（2.7.2.4.1 項参照）。

また、抗ビルトラルセン抗体は、全ての試験で陰性であった。

2.7.4.4.3 心電図

1） P1/2 試験

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。また、投与後最悪値の QTc 間隔は、全ての被験者で Fridericia 補正（QTcF）では 450 msec 以下、Bazett 補正（QTcB）では 480 msec 以下であった（表 2.7.4.4.3-1）。また、ベースラインから投与後最悪値までの変化量は、いずれの補正においても全ての被験者で 30 msec 以下であった。

QTc 間隔のベースラインからの変化量と血漿中薬物濃度の関係にヒステリシス効果は認められなかった。また、QTc 間隔のベースラインからの変化量と血漿中薬物濃度の相関係数は低く（Bazett 補正：r=0.124、Fridericia 補正：r=0.22）、回帰直線の傾きも小さかった（2.7.2.3.4.3 項参照）。

心機能に関連する有害事象としては、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。いずれも本剤との因果関係は否定されなかった。脳性ナトリウム利尿ペプチド増加は、いずれも Grade 1 で無処置で回復し、駆出率減少は、いずれも Grade 2 で対症療法（カルベジオール／エナラプリル）を実施するも試験終了時には未回復であった。駆出率減少については DMD の病態の進行によるものと考えられた。なお、QT/QTc 間隔の延長及び催不整脈に関連した有害事象（MedDRA SMQ「トルサード ド ポアント/QT 延長」及び「不整脈」に該当する有害事象）は認められなかった。

表 2.7.4.4.3 -1 P1/2 試験における心電図の重要な異常の集計

項目	投与群	N	投与後最悪値（msec）				変化量（投与後最悪値 msec）		
			≦450	450< ≦ 480	480< ≦ 500	500 <	≦30	30 < ≦60	60 <
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
QTcF 間隔	40 mg/kg 群	8	8 (100.0)	0	0	0	8 (100.0)	0	0
	80 mg/kg 群	8	8 (100.0)	0	0	0	8 (100.0)	0	0
	全体	16	16 (100.0)	0	0	0	16 (100.0)	0	0
QTcB 間隔	40 mg/kg 群	8	5 (62.5)	3 (37.5)	0	0	8 (100.0)	0	0
	80 mg/kg 群	8	4 (50.0)	4 (50.0)	0	0	8 (100.0)	0	0
	全体	16	9 (56.3)	7 (43.8)	0	0	16 (100.0)	0	0

［5.3.5.1-2 表 14.3.6-16, 表 14.3.6-17 を改変］

2） 201 試験及び 202 試験

201 試験の Week 13 及び Week 25、並びに 202 試験の Week 37、49、73 及び 97 において、投与後最悪値の QTcF は 450 msec 以下であり、ベースラインからの変化量は 60 msec 以下であった（表 2.7.4.4.3-2）。201 試験では、各施設の心臓専門医により、心リズム又は解析値が異常値及び臨床的に重要と判断された被験者はいなかった。

202 試験では 40 mg/kg 群で Grade 1 の洞性不整脈 1 例が認められたが、1 日で回復し、本剤との因果関係は否定された。洞性不整脈以外の QT/QTc 間隔の延長及び催不整脈に関連した有害事象は認められなかった。

表 2.7.4.4.3 -2 201 及び 202 試験における心電図の重要な異常の集計

試験	項目	投与群	N	投与後最悪値（msec）				変化量（投与後最悪値 msec）		
				≦450	450< ≦480	480< ≦500	500<	≦30	30< ≦60	60<
				n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
201	QTcF 間隔	40 mg/kg 群	8	8 (100.0)	0	0	0	8 (100.0)	0	0
		80 mg/kg 群	8	8 (100.0)	0	0	0	5 (62.5)	3 (37.5)	0
		全体	16	16 (100.0)	0	0	0	13 (81.3)	3 (18.8)	0
	QTcB 間隔	40 mg/kg 群	8	8 (100.0)	0	0	0	8 (100.0)	0	0
		80 mg/kg 群	8	7 (87.5)	1 (12.5)	0	0	6 (75.0)	1 (12.5)	1 (12.5)
		全体	16	15 (93.8)	1 (6.3)	0	0	14 (87.5)	1 (6.3)	1 (6.3)
202	QTcF 間隔	40 mg/kg 群	8	8 (100.0)	0	0	0	6 (75.0)	2 (25.0)	0
		80 mg/kg 群	8	8 (100.0)	0	0	0	5 (62.5)	3 (37.5)	0
		全体	16	16 (100.0)	0	0	0	11 (68.8)	5 (31.3)	0
	QTcB 間隔	40 mg/kg 群	8	5 (62.5)	2 (25.0)	1 (12.5)	0	5 (62.5)	2 (25.0)	1 (12.5)
		80 mg/kg 群	8	7 (87.5)	1 (12.5)	0	0	6 (75.0)	1 (12.5)	1 (12.5)
		全体	16	12 (75.0)	3 (18.8)	1 (6.3)	0	11 (68.8)	3 (18.8)	2 (12.5)

［5.3.5.3-2 表 3-11 を引用］

3） DMT01 試験

持続心電図モニタリングにおいて、臨床的に意義のある変動は認められなかった。心筋トロポニン T の平均値は、原疾患の影響で治験薬投与開始前から基準値上限を超えていたが、投与期間中の変動は認められなかった。また、投与後最悪値の ECAPS 補正による QTc 間隔は 450 msec 以下であり、ベースラインからの変化量は 60 msec 以下であった（表 2.7.4.4.3-3）。

心機能に関連する有害事象としては、脳性ナトリウム利尿ペプチド増加が 4 例（すべて Grade 1）、駆出率減少が 1 例（Grade 2）認められた。5 mg/kg 群の 1 例（被験者識別コード：NS-[redacted]）では、脳性ナトリウム利尿ペプチド増加（Grade 1）、駆出率減少（Grade 2）、拡張期血圧上昇（Grade 1）が発現した。心筋トロポニン T の変動も認められ、心機能低下を反映しているものと考えられた。処置なしで回復又は軽快し、いずれも因果関係は否定されなかった。QT/QTc 間隔の延長及び催不整脈に関連した有害事象は認められなかった。

表 2.7.4.4.3 -3 DMT01 試験における心電図の重要な異常の集計

項目	投与群	N	投与後最悪値（msec）				変化量（msec）		
			≦450	450< ≦480	480< ≦500	500 <	≦30	30 < ≦60	60 <
			n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
QTcE 間隔	1.25 mg/kg 群	3	3 (100.0)	0	0	0	2 (66.7)	1 (33.3)	0
	5 mg/kg 群	3	3 (100.0)	0	0	0	3 (100.0)	0	0
	20 mg/kg 群	4	4 (100.0)	0	0	0	3 (75.0)	1 (25.0)	0
	全体	10	10 (100.0)	0	0	0	8 (80.0)	2 (20.0)	0

QTcE 間隔：ECAPS の式を用いて補正した QT 間隔

［5.3.5.3-2 表 6-2 を引用］

2.7.4.4.4 その他の検査

1） P1/2 試験

P1/2 試験では、心エコー検査の結果、80 mg/kg 群で 1 例に Week 17、21 及び 25 時点で、1 例に Week 21 及び 25 時点で、臨床上問題となる異常、有害事象として駆出率減少が認められ、本剤との因果関係は否定されなかった。いずれも、DMD の病態の進行によるものと考えられた。肺機能検査では、臨床上問題となる異常は認められなかった。

2） DMT01 試験

DMT01 試験では、心エコー、腹部エコー及び肺機能検査において、臨床的意義のある変動又は異常所見は認められなかった。

2.7.4.5 特別な患者集団及び状況下における安全性

2.7.4.5.1 内因性要因

（1） 性別

臨床試験で本剤を投与した患者はいずれも男性であった。

（2） 年齢別

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ごとの有害事象発現率（いずれかの試験で 2 例以上発現）を表 2.7.4.5.1-1 に示す。

いずれの試験も年齢サブグループ別で有害事象発現率に大きな違いはなかった。P1/2 試験で認められた重篤な有害事象 1 例は、年齢中央値未満であった。

P1/2 試験で認められた有害事象のうち、7.8 歳未満及び 7.8 歳以上で発現例数に 2 例以上の差が認められた事象は、駆出率減少及び湿疹（7.8 歳以上のみ各 2 例）、上気道感染（7.8 歳未満のみ 4 例）、発熱及び蕁麻疹（7.8 歳未満のみ各 2 例）であった。このうち駆出率減少は、DMD の病態進行に伴う心機能低下が考えられる。

201 試験で認められた有害事象のうち、7.8 歳未満及び 7.8 歳以上で発現例数に 2 例以上の差が認められた事象は、咳嗽（7.8 歳未満 4 例、7.8 歳以上 1 例）、上咽頭炎（7.8 歳未満 1 例、7.8 歳以上 3 例）、挫傷（7.8 歳以上のみ 2 例）であった。

表 2.7.4.5.1-1 各試験の年齢中央値別の有害事象発現率

	P1/2 試験		201 試験（全期間）	
年齢区分	7.8 歳未満	7.8 歳以上	7.8 歳未満	7.8 歳以上
安全性解析対象例数	7	9	9	7
有害事象発現例数(%)	6 (85.7)	8 (88.9)	9 (100.0)	6 (85.7)
上気道感染	4 (57.1)	0	0	1 (14.3)
上咽頭炎	2 (28.6)	2 (22.2)	1 (11.1)	3 (42.9)
咳嗽	0	0	4 (44.4)	1 (14.3)
挫傷	1 (14.3)	2 (22.2)	0	2 (28.6)
β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	2 (28.6)	1 (11.1)	0	0
発熱	2 (28.6)	0	1 (11.1)	0
蕁麻疹	2 (28.6)	0	0	0
インフルエンザ	1 (14.3)	1 (11.1)	0	1 (14.3)
脳性ナトリウム利尿ペプチド増加	1 (14.3)	1 (11.1)	0	0
インターロイキン濃度増加	1 (14.3)	1 (11.1)	0	0
四肢痛	1 (14.3)	1 (11.1)	0	1 (14.3)
発疹	1 (14.3)	1 (11.1)	0	1 (14.3)
駆出率減少	0	2 (22.2)	0	0
湿疹	0	2 (22.2)	0	0
嘔吐	1 (14.3)	0	1 (11.1)	1 (14.3)
下痢	1 (14.3)	0	1 (11.1)	1 (14.3)
鼻閉	0	1 (11.1)	1 (11.1)	1 (14.3)

有害事象名（MedDRA ver 21.0 PT）、いずれかの試験で 2 例以上発現した有害事象

［5.3.5.3-2 表 1-15、表 2-12 を改変］

（3） 人種別

アジア人 DMD 患者を対象とした P1/2 試験と対象患者の多くが白人 DMD 患者である 201 試験で計 2 例以上発現した有害事象を表 2.7.4.5.1-2 で比較した。

いずれの試験も、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 3 例発現したが、201 試験では認められず、201 試験では咳嗽が 5 例発現したが、P1/2 試験では認められなかった。P1/2 試験のみで β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加が発現した原因は不明であるが、全て Grade 1 であることからアジア人においても特に安全性に問題はなく、人種により安全性に差はないと考えられた。また、201 試験で発現した咳嗽は、全て治験薬との関連性は否定されていることから、本剤以外の要因によるもので人種差によるものではないと考えられた。

表 2.7.4.5.1-2 P1/2 試験と 201 試験で 2 例以上発現した有害事象

有害事象名（MedDRA ver 21.0） SOC 及び PT	P1/2 試験 全体 (N=16)		201 試験 全体 (N=16)	
	n	(%)	n	(%)
有害事象発現例数（%）	14	(87.5)	15	(93.8)
感染症および寄生虫症	10	(62.5)	6	(37.5)
上咽頭炎	4	(25.0)	4	(25.0)
上気道感染	4	(25.0)	1	(6.3)
インフルエンザ	2	(12.5)	1	(6.3)
呼吸器、胸郭および縦隔障害	2	(12.5)	7	(43.8)
咳嗽	0		5	(31.3)
鼻閉	1	(6.3)	2	(12.5)
胃腸障害	4	(25.0)	3	(18.8)
下痢	1	(6.3)	2	(12.5)
嘔吐	1	(6.3)	2	(12.5)
皮膚および皮下組織障害	7	(43.8)	2	(12.5)
蕁麻疹	2	(12.5)	0	
発疹	2	(12.5)	1	(6.3)
湿疹	2	(12.5)	0	
接触皮膚炎	1	(6.3)	1	(6.3)
筋骨格系および結合組織障害	4	(25.0)	4	(25.0)
四肢痛	2	(12.5)	1	(6.3)
関節痛	1	(6.3)	1	(6.3)
一般・全身障害および投与部位の状態	4	(25.0)	5	(31.3)
発熱	2	(12.5)	1	(6.3)
注射部位疼痛	1	(6.3)	1	(6.3)
臨床検査	7	(43.8)	1	(6.3)
β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	3	(18.8)	0	
脳性ナトリウム利尿ペプチド増加	2	(12.5)	0	
駆出率減少	2	(12.5)	0	
インターロイキン濃度増加	2	(12.5)	0	
傷害、中毒および処置合併症	5	(31.3)	4	(25.0)
挫傷	3	(18.8)	2	(12.5)
節足動物刺傷	1	(6.3)	1	(6.3)

［5.3.5.3-2 表 5-1 を引用］

（4） 腎機能障害患者

腎機能障害患者を対象とした臨床試験は行っていない。また、DMD 患者の腎機能評価の指標となるシスタチン C が本剤投与前に基準値上限を超えていた被験者は、DMT01 試験でのみ 2 例認められたが、これらの被験者（被験者 NS-[redacted] 及び NS-[redacted]）で、臨床上問題となる有害事象は認められなかった。

（5） 肝機能障害患者

肝機能障害患者を対象とした臨床試験は行っていない。また、P1/2 試験、201 試験、DMT01 試験においては、全例で投与前に ALT、AST 高値が認められたが、DMD 患者では筋肉損傷に起因する高値を示すことが知られており、肝機能障害を示す異常ではなかった。

2.7.4.5.2 外因性要因

併用薬剤が安全性に及ぼす影響については、2.7.4.5.3 項に示す。

2.7.4.5.3 薬物相互作用

In vitro 試験において、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、*in vitro* 試験で誘導作用が認められた濃度（3 mmol/L）は P1/2 試験 80 mg/kg 群 24 週投与時における C_{max} の平均値（47.5 µmol/L）と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。これらの分子種の阻害定数又は 50%阻害濃度、及び P1/2 試験における C_{max} 平均値を用いて、「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 薬生薬審発 0723 第 4 号）に基づき、これらの分子種に対するビルトラルセンの阻害作用を評価した結果、臨床において本剤の阻害作用のリスクは低いと考えられた（2.7.2.3.3.1 項参照）。

以上より、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と考えられることから、本剤の臨床薬物相互作用試験は実施していない。

2.7.4.5.4 妊娠及び授乳時の使用

臨床試験に組み込まれた DMD 患者は男性に限られていた。

妊婦への影響、母乳産生への影響、母乳中への移行又は母乳児への影響を評価するためのヒト又は動物のデータはない。

また、雄マウスを用いた受胎能に関する毒性試験の結果、生殖能及び胎児の発育状態に本剤による影響は認められなかった（2.6.6.6.1.1 項参照）。

2.7.4.5.5 過量投与

いずれの試験においても過量投与例は認められていない。

2.7.4.5.6 薬物乱用

非臨床試験及び臨床試験において依存に関連する症状や有害事象は認められていない。

2.7.4.5.7 離脱症状及び反跳現象

非臨床試験及び臨床試験においてリバウンドに関連する症状や有害事象は認められていない。

2.7.4.5.8 自動車運転及び機械操作に対する影響又は精神機能の障害

本剤投与による精神機能障害については予測されていない。臨床試験において、浮動性めまいの有害事象を発現した 2 例（P1/2 試験、202 試験で各 1 例）は、いずれも治験責任医師によって

治験薬との関連は否定されており、鎮静、傾眠等に関連する有害事象はこれまでに報告されていない。

2.7.4.6 市販後データ

本剤は、どの地域でも市販されていない。

2.7.4.7 付録

表 2.7.4.7-1 腎障害に関連する有害事象一覧

試験名 投与群	人種	被験者コード[a]	性別 年齢	有害事象[b]	発現日[c]	持続期間[d]	因果関係	Grade	重篤/ 非重篤	治験薬投与	転帰
P1/2 40 mg/kg	アジア人	[redacted]	男[redacted]	β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	119	8	関連なし	1	非重篤	継続	回復
				α1 ミクログロブリン増加	119	8	関連なし	1	非重篤	継続	回復
				尿中アルブミン陽性	119	8	関連なし	1	非重篤	継続	回復
				尿中血陽性	119	8	関連なし	1	非重篤	継続	回復
				尿中蛋白陽性	119	8	関連なし	2	非重篤	継続	回復
P1/2 80 mg/kg	アジア人	[redacted]	男[redacted]	β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	98	9	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
	アジア人	[redacted]	男[redacted]	尿中 β2 ミクログロブリン増加	77	86	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	112	8	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	133	8	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	162	8	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
201 80 mg/kg	白人	[redacted]	男[redacted]	血中クレアチニン増加	85	9	関連なし	2	非重篤	継続	回復
				血中尿素増加	85	9	関連なし	2	非重篤	継続	回復
202 80 mg/kg			[redacted]	高カルシウム尿症	336 [505]	8	関連なし	1	非重篤	継続	回復
DMT01 1.25 mg/kg	アジア人	NS-[redacted]	男[redacted]	血尿	1	2	関連なし	1	非重篤	継続	回復
				尿中アルブミン陽性	3	2	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				血尿	4	3	おそらく関連なし	1	非重篤	継続	回復
				β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	4	83	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				尿中蛋白／クレアチニン比増加	78	9	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
	アジア人	NS-[redacted]	男[redacted]	尿中蛋白陽性	-6	8	関連なし	1	非重篤	非該当	回復
				β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	2	70	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				尿中蛋白陽性	2	2	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				尿中アルブミン陽性	6	66	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				尿中血陽性	29	8	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				尿中蛋白陽性	78	8	関係あり	1	非重篤	継続	回復
				β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	102	12	おそらく関連なし	1	非重篤	非該当	未回復
	アジア人	NS-[redacted]	男[redacted]	シスタチン C 増加	-5	7	関連なし	1	非重篤	継続	回復
				β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	4	33	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				尿中ケトン体陽性	15	22	おそらく関連なし	1	非重篤	継続	回復
				β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	78	32	関連あり	1	非重篤	継続	回復

表 2.7.4.7-1 腎障害に関連する有害事象一覧（続き）

試験名 投与群	人種	被験者コード[a]	性別 年齢	有害事象[b]	発現日[c]	持続期間[d]	因果関係	Grade	重篤/非重篤	治験薬投与	転帰
DMT01 5 mg/kg	アジア人	NS-[redacted]	男[redacted]	シスタチン C 増加	-159	246	おそらく関連なし	1	非重篤	継続	回復
				尿中蛋白陽性	2	8	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	6	2	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	36	8	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				尿中蛋白陽性	78	9	関連あり	1	非重篤	非該当	回復
	アジア人	NS-[redacted]	男[redacted]	尿中蛋白陽性	2	8	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	3	82	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				尿中アルブミン陽性	4	12	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				尿中蛋白陽性	78	7	関連あり	1	非重篤	継続	回復
	アジア人	NS-[redacted]	男[redacted]	尿中蛋白陽性	2	10	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				尿中アルブミン陽性	7	2	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	78	56	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	未回復
				尿中蛋白陽性	78	8	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
DMT01 20 mg/kg	アジア人	NS-[redacted]	男[redacted]	尿中蛋白陽性	2	6	関連あり	2	非重篤	継続	回復
				β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	3	100	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				尿中アルブミン陽性	6	2	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				尿中蛋白陽性	78	8	関連あり	2	非重篤	継続	回復
	アジア人	NS-[redacted]	男[redacted]	尿中蛋白陽性	2	2	関連あり	1	非重篤	継続	回復
				尿中蛋白陽性	78	8	関連あり	1	非重篤	継続	回復
	アジア人	NS-[redacted]	男[redacted]	β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	-159	262	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				β2 ミクログロブリン増加	0	103	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				尿中蛋白陽性	2	3	関連あり	1	非重篤	継続	回復
				尿中アルブミン陽性	15	22	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				尿中蛋白陽性	78	8	関連あり	1	非重篤	継続	回復
	アジア人	NS-[redacted]	男[redacted]	β-N アセチル D グルコサミニダーゼ増加	1	109	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				尿中蛋白陽性	2	2	関連あり	1	非重篤	継続	回復
				尿中アルブミン陽性	8	8	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				β2 ミクログロブリン増加	29	81	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
				尿中蛋白陽性	78	8	関連あり	1	非重篤	継続	回復

a：P1/2：被験者識別コードの「NS065/NCNP01-P1/2-」は省略
b：P1/2：MedDRA/J ver. 20.1 PT、201・202：MedDRA ver. 21.0 PT、DMT01：MedDRA/J ver. 17.1 PT
c：投与開始日を 1 日目として起算（日目）、[ ]内は 201 試験の本剤投与開始日からの日数
d：発現日を 1 日として転帰までの日数（日）を起算

［5.3.5.1-2 表 16.2.7-1, 5.3.5.3-1 Listing16.2.7.1, 5.3.5.2-1 解析報告書 表 3-6 を改変］

表 2.7.4.7-2 皮膚障害に関連する有害事象一覧表

試験名 投与群	人種	被験者コード[a]	性別 年齢	有害事象[b]	発現日[c]	持続期間[d]	因果関係	Grade	重篤/ 非重篤	治験薬投与	転帰
P1/2 40 mg/kg	アジア人	[redacted]	男[redacted]	湿疹	17	71	関連あるかもしれない	2	非重篤	休薬	回復
	アジア人	[redacted]	男[redacted]	皮膚乾燥	45	146	関連なし	2	非重篤	継続	軽快
				肥厚性瘢痕	62	129	関連なし	2	非重篤	継続	軽快
	アジア人	[redacted]	男[redacted]	発疹	1	1	関連なし	1	非重篤	継続	回復
				接触皮膚炎	64	9	関連なし	2	非重篤	継続	回復
				接触皮膚炎	133	30	関連なし	1	非重篤	継続	回復
P1/2 80 mg/kg	アジア人	[redacted]	男[redacted]	湿疹	77	102	関連なし	2	非重篤	継続	未回復
	アジア人	[redacted]	男[redacted]	発疹	79	13	関連なし	1	非重篤	継続	回復
				毛髪変色	95	109	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	未回復
				発疹	114	2	関連あるかもしれない	1	非重篤	継続	回復
	アジア人	[redacted]	男[redacted]	蕁麻疹	20	2	関連あり	2	非重篤	継続	回復
				蕁麻疹	30	3	関連あり	2	非重篤	継続	回復
				蕁麻疹	43	2	関連あるかもしれない	2	非重篤	継続	回復
				蕁麻疹	77	1	関連あるかもしれない	2	非重篤	継続	回復
				蕁麻疹	121	1	関連あるかもしれない	2	非重篤	継続	回復
				蕁麻疹	131	1	関連あるかもしれない	2	非重篤	継続	回復
	アジア人	[redacted]	男[redacted]	蕁麻疹	126	2	おそらく関連あり	1	非重篤	継続	回復
201 40 mg/kg	白人	[redacted]	男[redacted]	発疹	10	2	おそらく関連なし	1	非重篤	継続	回復
201 80 mg/kg	白人	[redacted]	男[redacted]	接触皮膚炎	10	11	関連なし	1	非重篤	継続	回復
202 40 mg/kg	白人	[redacted]	男[redacted]	発疹	356 [524]	5	関連なし	1	非重篤	継続	回復
	白人	[redacted]	男[redacted]	紅斑	69 [237]	4	関連なし	1	非重篤	継続	回復
	白人	[redacted]	男[redacted]	発疹	27 [197]	6	関連なし	1	非重篤	継続	回復
	白人	[redacted]	男[redacted]	嵌入爪	251 [420]	Ongoing	関連なし	1	非重篤	継続	未回復
202 80 mg/kg	白人	[redacted]	男[redacted]	発疹	39 [207]	70	関連なし	1	非重篤	継続	回復
				皮膚灼熱感	267 [435]	1	関連なし	1	非重篤	継続	回復
	白人	[redacted]	男[redacted]	発疹	248 [396]	3	関連なし	2	非重篤	継続	回復
	白人	[redacted]	男[redacted]	皮膚炎	256 [395]	17	関連なし	1	非重篤	継続	回復
	白人	[redacted]	男[redacted]	発疹	140 [281]	1	関連なし	1	非重篤	継続	回復

表 2.7.4.7-2 皮膚障害に関連する有害事象一覧表（続き）

試験名 投与群	人種	被験者コード[a]	性別 年齢	有害事象[b]	発現日[c]	持続期間[d]	因果関係	Grade	重篤/ 非重篤	治験薬投与	転帰
DMT01 1.25 mg/kg	アジア人	NS-[redacted]	男[redacted]	汗疹	5	2	関連なし	2	非重篤	継続	回復
				湿疹	43	2	関連なし	2	非重篤	継続	回復
DMT01 20 mg/kg	アジア人	NS-[redacted]	男[redacted]	湿疹	11	92	関連あるかもしれない	2	非重篤	継続	軽快

a：P1/2：被験者識別コードの「NS065/NCNP01-P1/2-」は省略
b：P1/2：MedDRA/J ver. 20.1 PT、201・202：MedDRA ver. 21.0 PT、DMT01：MedDRA/J ver. 17.1 PT
c：投与開始日を 1 日目として起算（日目）、[ ]内は 201 試験の本剤投与開始日からの日数
d：発現日を 1 日として転帰までの日数（日）を起算

［5.3.5.1-2 表 16.2.7-1, 5.3.5.3-1 Listing16.2.7.1, 5.3.5.2-1 解析報告書 表 3-6 を改変］

表 2.7.4.7-3 注射部位反応に関連する有害事象一覧表

試験名 投与群	人種	被験者コード[a]	性別 年齢	有害事象[b]	発現日[c]	持続期間[d]	因果関係	Grade	重篤/ 非重篤	治験薬投与	転帰
P1/2 40 mg/kg	アジア人	[redacted]	男[redacted]	四肢痛	171	20	関連なし	1	非重篤	継続	回復
P1/2 80 mg/kg	アジア人	[redacted]	男[redacted]	注射部位紅斑	8	1	おそらく関連あり	1	非重篤	継続	回復
	アジア人	[redacted]	男[redacted]	注射部位腫脹	80	2	関連なし	1	非重篤	継続	回復
	アジア人	[redacted]	男[redacted]	注射部位疼痛	37	1	関連なし	1	非重篤	継続	回復
201 40 mg/kg	白人	[redacted]	男[redacted]	注射部位疼痛	8	1	関連なし	1	非重篤	継続	回復
	白人	[redacted]	男[redacted]	注入部位不快感	30	1	関連なし	1	非重篤	継続	回復
201 80 mg/kg	白人	[redacted]	男[redacted]	注射部位反応	98	1	関連なし	1	非重篤	継続	回復
				注射部位内出血	161	1	関連なし	1	非重篤	継続	回復
202 40 mg/kg	白人	[redacted]	男[redacted]	注入部位疼痛	173 [343]	1	関連なし	1	非重篤	継続	回復
202 80 mg/kg	白人	[redacted]	男[redacted]	カテーテル留置部位腫脹	252 [420]	1	関連なし	1	非重篤	継続	回復
	白人	[redacted]	男[redacted]	注射部位漏出	180 [321]	1	関連あり	1	非重篤	休薬 (中断)	回復
DMT01 1.25 mg/kg	アジア人	NS-[redacted]	男[redacted]	医療機器関連損傷	50	2	関連なし	1	非重篤	継続	回復

a：P1/2：被験者識別コードの「NS065/NCNP01-P1/2-」は省略
b：P1/2：MedDRA/J ver. 20.1 PT、201・202：MedDRA ver. 21.0 PT、DMT01：MedDRA/J ver. 17.1 PT
c：投与開始日を 1 日目として起算（日目）、[ ]内は 201 試験の本剤投与開始日からの日数
d：発現日を 1 日として転帰までの日数（日）を起算

［5.3.5.1-2 表 16.2.7-1, 5.3.5.3-1 Listing16.2.7.1, 5.3.5.2-1 解析報告書 表 3-6 を改変］

2.7.5 参考文献

2.7.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法で引用した文献

1. 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＞

2.7.2 臨床薬理試験で引用した文献

1. [redacted]. NS-065/NCNP-01 の医師主導治験（NCNP/DMT01）における患者由来尿サンプルの分析【BP-065-022】. 日本新薬株式会社, [redacted]. 社内資料. ＜資料番号 5.4-49＞

2.7.3 臨床的有効性で引用した文献

1. 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＞

2. 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＞

3. 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(1):32-54. ＜資料番号 5.4-28＞

4. 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(5):728-37. ＜資料番号 5.4-29＞

5. 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＞

6. 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(2):149-55. ＜資料番号 5.4-33＞

7. Lu QL, Mann CJ, Lou F, Bou-Gharios G, Morris GE, Xue SA, et al. Functional amounts of dystrophin produced by skipping the mutated exon in the mdx dystrophic mouse. Nat Med. 2003;9(8):1009-14. ＜資料番号 5.4-50＞

8. Mendell JR, Rodino-Klapac LR, Sahenk Z, Roush K, Bird L, Lowes LP, et al. Eteplirsen for the treatment of Duchenne muscular dystrophy. Ann Neurol. 2013; 74: 637-47. ＜資料番号 5.4-51＞

2.7.4 臨床的安全性で引用した文献

1. Rabbani P, Takeo M, Chou W, Myung P, Bosenberg M, Chin L, et.al. Coordinated activation of Wnt in epithelial and melanocyte stem cells initiates pigmented hair regeneration. Cell. 2011;145:941-55. ＜資料番号 5.4-52＞

2. Shimomura Y, Agalliu D, Vonica A, Luria V, Wajid M, Baumer A, et al. APCDD1 is a novel Wnt inhibitor mutated in hereditary hypotrichosis simplex. Nature. 2010;464:1043-7. ＜資料番号 5.4-53＞

3. Fequiere PR, Wong BL, Horn PS. GP 12.11 Creatine kinase and transaminases in Duchenne muscular dystrophy. Neuromuscul Disord. 2008;18:806-7. ＜資料番号 5.4-54＞

4. Tay SK, Ong HT, Low PS. Transaminitis in Duchenne's muscular dystrophy. Ann Acad Med Singapore. 2000;29:719-22. ＜資料番号 5.4-55＞

2.7.6 個々の試験のまとめで引用した文献

1. Charleston JS, Schnell FJ, Dworzak J, Donoghue C, Lewis S, Chen L, et al. Eteplirsen treatment for Duchenne muscular dystrophy: Exon skipping and dystrophin production.. Neurology. 2018;90:e2146-54. ＜資料番号 5.4-56＞

2. Komaki H, Nagata T, Saito T, Masuda S, Takeshita E, Sasaki M, et al. Systemic administration of the antisense oligonucleotide NS-065/NCNP-01 for skipping of exon 53 in patients with Duchenne muscular dystrophy. Sci Transl Med. 2018; 10(437). ＜資料番号 5.4-57＞

3. [redacted]. NS-065/NCNP-01 の医師主導治験（NCNP/DMT01）における患者由来尿サンプルの分析【BP-065-022】. 日本新薬株式会社, [redacted]. 社内資料. ＜資料番号 5.4-49＞