目次

2.2 緒言 2
2.2.1 薬効分類 2
2.2.2 予定される臨床使用 2
2.2.3 遺伝性トランスサイレチン型アミロイドーシス 2
2.2.4 ブトリシラン製剤処方 3
2.2.4.1 ブトリシランの遊離酸とナトリウム塩 4
2.2.5 RNA 干渉のメカニズムと治療仮説 4
2.2.6 参考文献 6

図

図 2.2-1 ASGPR を介したブトリシランの肝臓への取り込み及び RNA 干渉の機序 5
図 2.2-2 siRNA による mRNA 干渉の機序 6

2.2 緒言

2.2.1 薬効分類

低分子干渉 RNA（siRNA）

2.2.2 予定される臨床使用

トランスサイレチン型家族性アミロイドポリニューロパチー

2.2.3 遺伝性トランスサイレチン型アミロイドーシス

トランスサイレチン（TTR）はプレアルブミンとしても知られるホモ四量体タンパク質であり、主に肝細胞で産生され、ごく一部が脈絡叢と網膜で産生される[1, 2]。循環血中 TTR の 95%超が肝臓由来である。TTR の主要な生理学的役割はレチノール（ビタミン A）の担体として機能することであり、これにはレチノール結合タンパク質－ビタミン A 複合体への TTR の結合が関与している。TTR はサイロキシン（T4）の非主要担体としても機能する。

遺伝性 TTR 型（hATTR）アミロイドーシスでは、*TTR* 遺伝子の突然変異により四量体タンパク質が不安定化し、TTR サブユニットが解離して二量体や変異型又は野生型単量体となり、その後ミスフォールドする。ミスフォールドした TTR 単量体は自己集合して多量体となり、種々の組織の細胞外間隙にアミロイド線維及びプラークを形成する[3]。ほぼすべての患者がヘテロ接合型の変異 *TTR* 対立遺伝子を有するため、通常、アミロイド繊維は変異型 TTR と野生型（wt）TTR で構成される。末梢神経系、消化管、心臓などの複数の組織に肝臓由来の TTR が持続的に沈着してアミロイド繊維が形成されると、それぞれ衰弱性のポリニューロパチー、栄養障害や心筋症を来す。疾患に関する現時点での理解では、ほぼすべての hATTR アミロイドーシス患者でこれらの症状が組み合わさって生じ、症状の発現の強弱は特異的な変異や他の因子によって変動するとみなされている。

hATTR アミロイドーシスの診断は、ポリニューロパチーや心筋症の特徴的な徴候及び症状に加え、変異型 TTR の遺伝子型の同定、及び他に末梢性ニューロパチーや心筋症の既知の原因（慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチーや免疫グロブリン軽鎖アミロイドーシス）がないことを確認する[4]。診断の裏付けとして、組織生検（腹部脂肪体、唾液腺、皮膚、直腸など）でアミロイド沈着を確認する[5, 6, 7]。さらに、末梢性ニューロパチー、アミロイド生成性の TTR 変異、及び肥大型心筋症を有する患者では、ジホスホノ-1,2-プロパノジカルボン酸（DPD）、ヒドロキシメチレンジホスホン酸（HMDP）又はピロリン酸（PYP）を用いた骨シンチグラフィーにより心臓のアミロイドを検出でき、組織生検が不要となることがある[8, 9]。hATTR アミロイドーシス患者は、ニューロパチーの重症度が中等度以上になり、感覚運動系及び自律神経系の異常が歩行に影響を及ぼし始めるまで診断されないことが多い。

hATTR アミロイドーシス患者では、アミロイドによって大径及び小径の末梢神経線維が損傷した結果、神経長に依存した対称性ポリニューロパチーが臨床症状として現れる[10, 11, 12]。感覚異常として、手足の痛みを伴う知覚異常や、手足の熱傷及び下肢の関節障害に至る感覚喪失が発現する。下肢及び上肢の進行性の筋萎縮及び運動麻痺によって、歩行及び日常生活動作に支障を来す。通常、患者は発症から数年で、補助がなくても歩行可能な状態から歩行時に杖が必要な状態になり、その

後、車椅子が必要な状態となり、最終的に寝たきりの状態になる。自律神経障害によって、意識喪失に至る消耗性の起立性低血圧、重度の消化管症状（早期満腹、慢性の悪心／嘔吐、栄養障害／体重減少、下痢と便秘の併発など）、反復性尿路感染を伴う膀胱機能障害、不整脈が生じる。ニューロパチーの進行速度は、*TTR* 遺伝子型、発症年齢及び診断時の神経障害の程度によって異なる。

hATTR アミロイドーシス患者に認められるアミロイド蓄積からの一連の進行性の病態は、重度の身体障害、消化管吸収不良による消耗、栄養障害及び心臓悪液質をもたらす[13]。患者は複数の症状を発現するが、通常、死亡は心不全（心室性不整脈又は電気収縮解離による突然死を含む）又は感染に起因する[12]。診断後の生存期間の中央値は 4.7 年であり[14]、心筋症を発症した患者の生存期間は更に短く、3.4 年である[13, 15, 16]。

hATTR アミロイドーシスの治療には、主に神経、心臓、及び消化器の専門領域にわたる集学的アプローチが必要である。これまでは、疼痛、悪心／嘔吐及び下痢などの特定の症状に対する緩和療法／対症療法が主な治療法であった。

現在、日本では、ポリニューロパチーを有する hATTR アミロイドーシス成人患者に対する治療薬として、TTR サイレンサーのオンパットロ®（一般名：パチシランナトリウム）及び TTR 四量体安定化剤のビンダケル®（一般名：タファミジスメグルミン）の 2 製剤が承認されており、利用可能である。パチシランは RNA 干渉（RNAi）によってメッセンジャーRNA（mRNA）に作用し、肝臓での TTR 産生を減少させる。タファミジスは TTR の T4 結合部位に結合し、単量体への解離を抑制することでミスフォールドによるアミロイド形成を抑制する。オンパットロ®（一般名：パチシランナトリウム）は、TTR アミロイドーシス成人患者のポリニューロパチーの治療薬として欧州及び米国でも承認されている。ビンダケル®（一般名：タファミジスメグルミン）は、TTR アミロイドーシス成人患者のポリニューロパチーの治療薬として欧州で承認されているが、米国では当該適応症で承認されていない。別の TTR 四量体安定化剤であるジフルニサル（日本では現在製造・販売されていない）及び循環血中から変異型 TTR を除去する同所性肝移植も治療選択肢として使用されるが、日本での使用頻度は低い。同所性肝移植によって変異型 TTR は循環血中から除去されるが、肝臓での wtTTR 産生は消失しない。

2.2.4 ブトリシラン製剤処方

ブトリシランは、化学修飾された合成二本鎖 siRNA を含む RNAi 治療薬であり、変異型 TTR 及び wtTTR の mRNA を特異的に標的とする。ブトリシランによって hATTR アミロイドーシスの根本的な病因となるタンパク質である変異型 TTR 及び wtTTR の肝臓での産生が減少すると、進行性のアミロイド沈着が抑制され、その結果、疾患進行が抑制されると考えられる。

ブトリシランには N-アセチルガラクトサミン（GalNAc）リガンドが含まれているため、肝細胞へ迅速かつ特異的に送達される。ブトリシランは第二世代の GalNAc 結合 siRNA であり、二本鎖オリゴヌクレオチドに GalNAc 残基 3 個を含むリガンドが共有結合している。すべてのヌクレオシドは 2’位が OMe 又は F で修飾され、3'-5'ホスホジエステル結合を介して結合している。アンチセンス鎖（A-131359）は 4 本のホスホロチオエート結合、センス鎖（A-131354）は 2 本のホスホロチオエート結合を含む。この生化学的特性から代謝安定性が向上し、肝臓での滞留時間が延長される。

ブトリシラン皮下注液は、ブトリシラン（ALN-65492）50 mg/mL（遊離酸、ブトリシランナトリウムとして 53 mg/mL）を含有し、緩衝液（110 mM 塩化ナトリウムを含む 10 mM リン酸緩衝液）で製剤化した溶液である。本剤の臨床用法・用量として、固定用量 25 mg を 3 ヵ月に 1 回皮下注射する。

2.2.4.1 ブトリシランの遊離酸とナトリウム塩

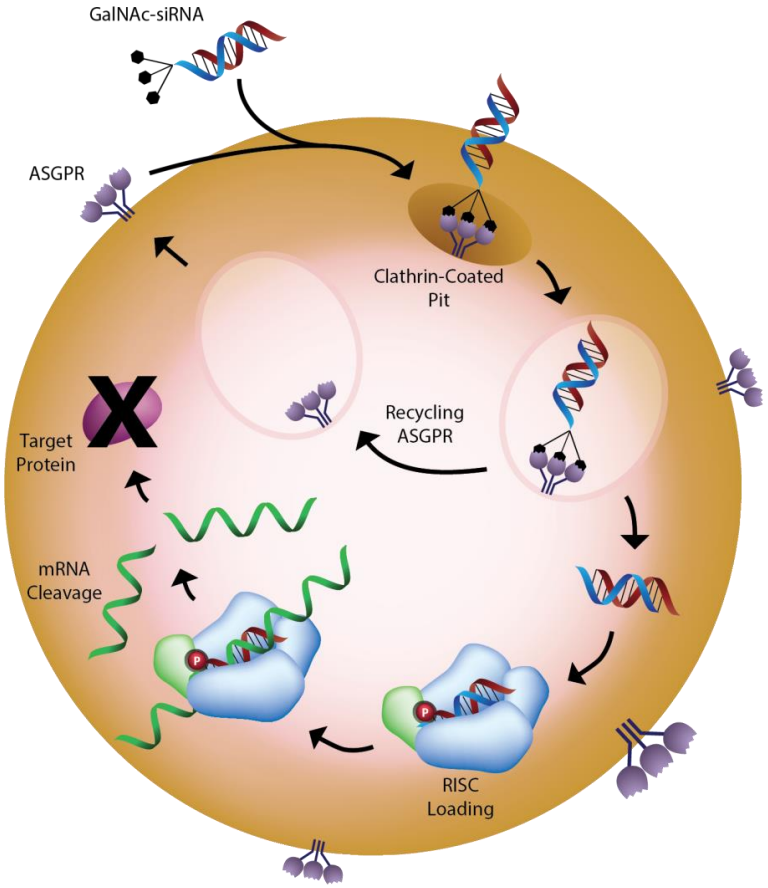
モジュール 2 に記載するブトリシランの投与量と濃度については、以下の概略に示すとおり、モジュール 2.4 及び 2.6 ではナトリウム塩（53 mg/mL）、それ以外のモジュールでは遊離酸（50 mg/mL）で示す。

- モジュール 2.3：濃度又はその他の重量単位など、物理化学分析で使用されるブトリシランの量は、特に明記しない限り、遊離酸を示す。
- モジュール 2.4 及び 2.6：動物試験又は *in vitro* 試験におけるブトリシランの量（用量、濃度、その他の重量単位など）は、特に明記しない限り、ナトリウム塩を示す。ナトリウム塩と遊離酸の分子量差は約 6%であり、トキシコキネティクス（TK）データの解釈に意味のある影響はない。
- モジュール 2.5 及び 2.7：ヒトを対象とした臨床試験で用いた投与量については、遊離酸を示す。

2.2.5 RNA 干渉のメカニズムと治療仮説

ブトリシランは、アシアロ糖タンパク質レセプター（ASGPR）を介して肝細胞特異的に取り込まれ、選択的に肝臓に送達されるように設計されている。ASGPR は主に肝細胞表面に高度に発現し（50～100 万／1 細胞）、末端にガラクトース残基又は GalNAc 残基を有する糖タンパク質と特異的に結合するため、ブトリシランの肝臓以外への分布はわずかである [17, 18, 19]。ASGPR は幅広い動物種に高く保存されており、出生時に発現し機能する。ブトリシランの GalNAc リガンドが ASGPR に結合すると、リガンド（ブトリシラン）－レセプター（ASGPR）複合体がエンドサイトーシスによって肝細胞内に取り込まれ、ブトリシランの siRNA が細胞質内に放出される。その後、ASGPR は速やかにリサイクルされて細胞表面に提示され、循環血中の GalNAc 結合 siRNA（ブトリシラン）の取り込みに連続して再利用される。多くの ASGPR が肝細胞表面に発現し、複数回 GalNAc 結合 siRNA（ブトリシラン）を肝細胞内へ取り込むことができるため、治療用量で飽和しない高効率の取り込み機序となっている。ASGPR を介したブトリシランの肝臓への取り込み機序を図 2.2-1 に示す。

図 2.2-1 ASGPR を介したブトリシランの肝臓への取り込み及び RNA 干渉の機序

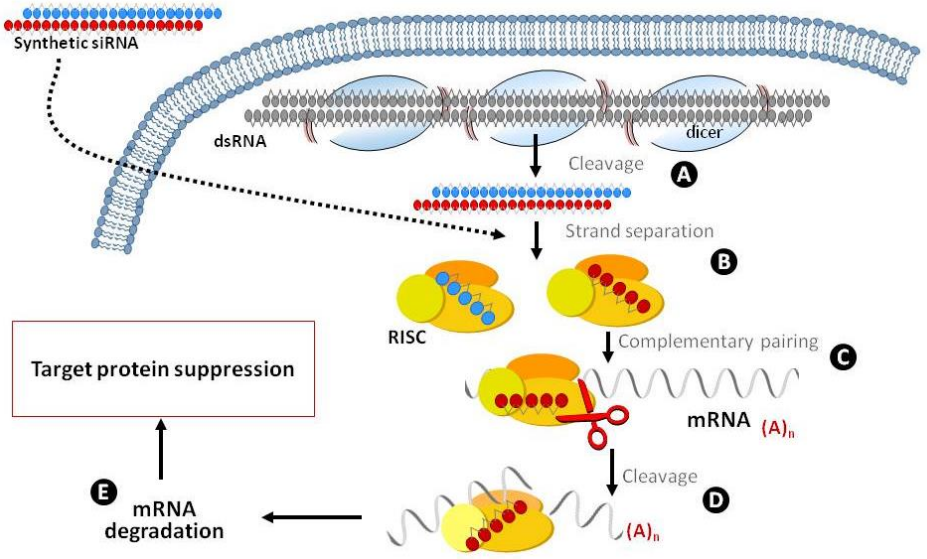


ASGPR：アシアロ糖タンパク質レセプター、GalNAc：*N*-アセチルガラクトサミン、mRNA：メッセンジャーRNA、RISC：RNA 誘導サイレンシング複合体、siRNA：低分子干渉 RNA

肝臓に取り込まれたブトリシランは、自然に生じる RNAi 経路を介して肝臓内の *TTR* mRNA を特異的に抑制する。siRNA であるブトリシランが、複数のタンパク質からなる細胞内の切断酵素複合体（RNA 誘導サイレンシング複合体［RISC］）に取り込まれ、siRNA の二本鎖が分離し、アンチセンス鎖（ガイド鎖）が *TTR* mRNA の相補的な配列に結合する。RISC/siRNA 複合体内で *TTR* mRNA とアンチセンス鎖が対を形成することで *TTR* mRNA が特異的かつ効率的に切断され、TTR タンパク質の生成が阻害される[20, 21, 22, 23]。ブトリシランによる *TTR* mRNA 干渉の機序を図 2.2-2 に示す。

治療仮説として、ブトリシランが RNAi の機序を介して肝臓由来の TTR 産生を抑制することによって、循環血中のアミロイド形成 TTR タンパク質（変異型及び野生型）濃度が減少する結果、TTR アミロイドの沈着が減少し、疾患進行が抑制され、TTR 型アミロイドーシスの臨床症状が改善すると考えられる。

図 2.2-2 siRNA による mRNA 干渉の機序



dsRNA：二本鎖 RNA、mRNA：メッセンジャーRNA、RISC：RNA 誘導サイレンシング複合体、siRNA：低分子干渉 RNA

注）細胞内 dsRNA が「dicer」複合体経路によってプロセシングされて siRNA が生成され（A）、複数サブユニットからなるタンパク質複合体である RISC に取り込まれ（B）、これがガイドとなって siRNA を標的 mRNA 配列に誘導する（C）。siRNA の二本鎖が一本鎖に分離し、RISC 内に留まったアンチセンス鎖（赤色）によって、標的とする相補的 mRNA 配列が部位特異的に切断される（D）。その結果、mRNA が開裂し、標的タンパク質の発現が減少する（E）。

2.2.6 参考文献

1. Liz MA, Mar FM, Franquinho F, Sousa MM. Aboard transthyretin: From transport to cleavage. IUBMB Life. 2010 Jun;62(6):429-35.

2. Sekijima Y. Transthyretin (ATTR) amyloidosis: clinical spectrum, molecular pathogenesis and disease-modifying treatments. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2015 Sep;86(9):1036-43.

3. Hou X, Aguilar MI, Small DH. Transthyretin and familial amyloidotic polyneuropathy. Recent progress in understanding the molecular mechanism of neurodegeneration. FEBS J. 2007 Apr;274(7):1637-50.

4. Adams D, Suhr OB, Hund E, Obici L, Tournev I, Campistol JM, et al. First European consensus for diagnosis, management, and treatment of transthyretin familial amyloid polyneuropathy. Curr Opin Neurol. 2016 Feb;29 Suppl 1:S14-26.

5. Adams D, Ando Y, Beirao JM, Coelho T, Gertz MA, Gillmore JD, et al. Expert consensus recommendations to improve diagnosis of ATTR amyloidosis with polyneuropathy. J Neurol. 2020 Jan 6.

6. Fernandez de Larrea C, Verga L, Morbini P, Klersy C, Lavatelli F, Foli A, et al. A practical approach to the diagnosis of systemic amyloidoses. Blood. 2015 Apr 02;125(14):2239-44.

7. Jamet MP, Gnemmi V, Hachulla E, Dhaenens CM, Bouchindhomme B, Delattre C, et al. Distinctive Patterns of Transthyretin Amyloid in Salivary Tissue: A Clinicopathologic Study of 92 Patients With Amyloid-containing Minor Salivary Gland Biopsies. Am J Surg Pathol. 2015 Aug;39(8):1035-44.

8. Fine NM, Arruda-Olson AM, Dispenzieri A, Zeldenrust SR, Gertz MA, Kyle RA, et al. Yield of noncardiac biopsy for the diagnosis of transthyretin cardiac amyloidosis. Am J Cardiol. 2014 May 15;113(10):1723-7.

9. Gillmore JD, Maurer MS, Falk RH, Merlini G, Damy T, Dispenzieri A, et al. Nonbiopsy Diagnosis of Cardiac Transthyretin Amyloidosis. Circulation. 2016 Jun 14;133(24):2404-12.

10. Ando Y, Coelho T, Berk JL, Cruz MW, Ericzon BG, Ikeda S, et al. Guideline of transthyretin-related hereditary amyloidosis for clinicians. Orphanet J Rare Dis. 2013 Feb 20;8:31.

11. Benson MD, Kincaid JC. The molecular biology and clinical features of amyloid neuropathy. Muscle Nerve. 2007 Oct;36(4):411-23.

12. Plante-Bordeneuve V, Said G. Familial amyloid polyneuropathy. Lancet Neurol. 2011 Dec;10(12):1086-97.

13. Gertz MA. Secondary amyloidosis (AA). J Intern Med. 1992 Dec;232(6):517-8.

14. Swiecicki PL, Zhen DB, Mauermann ML, Kyle RA, Zeldenrust SR, Grogan M, et al. Hereditary ATTR amyloidosis: a single-institution experience with 266 patients. Amyloid. 2015;22(2):123-31.

15. Castano A, Drachman BM, Judge D, Maurer MS. Natural history and therapy of TTR-cardiac amyloidosis: emerging disease-modifying therapies from organ transplantation to stabilizer and silencer drugs. Heart Fail Rev. 2015 Mar;20(2):163-78.

16. Sattianayagam PT, Hahn AF, Whelan CJ, Gibbs SD, Pinney JH, Stangou AJ, et al. Cardiac phenotype and clinical outcome of familial amyloid polyneuropathy associated with transthyretin alanine 60 variant. Eur Heart J. 2012 May;33(9):1120-7

17. Ashwell G, Morell AG. The role of surface carbohydrates in the hepatic recognition and transport of circulating glycoproteins. Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol. 1974;41(0):99-128.

18. Baenziger JU, Fiete D. Galactose and N-acetylgalactosamine-specific endocytosis of glycopeptides by isolated rat hepatocytes. Cell. 1980 Nov;22(2 Pt 2):611-20.

19. Schwartz AL, Rup D, Lodish HF. Difficulties in the quantification of asialoglycoprotein receptors on the rat hepatocyte. J Biol Chem. 1980 Oct 10;255(19):9033-6.

20. Bumcrot D, Manoharan M, Koteliansky V, Sah DW. RNAi therapeutics: a potential new class of pharmaceutical drugs. Nat Chem Biol. 2006 Dec;2(12):711-9.

21. Elbashir SM, Harborth J, Lendeckel W, Yalcin A, Weber K, Tuschl T. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. Nature. 2001 May 24;411(6836):494-8.

22. Soutschek J, Akinc A, Bramlage B, Charisse K, Constien R, Donoghue M, et al. Therapeutic silencing of an endogenous gene by systemic administration of modified siRNAs. Nature. 2004 Nov 11;432(7014):173-8.

23. Vaishnaw AK, Gollob J, Gamba-Vitalo C, Hutabarat R, Sah D, Meyers R, et al. A status report on RNAi therapeutics. Silence. 2010 Jul 8;1(1):14.