目次

2.6.4 薬物動態試験の概要文 5
2.6.4.1 まとめ 5
2.6.4.2 分析法 7
2.6.4.2.1 定量法 8
2.6.4.2.2 抗薬物抗体測定法 11
2.6.4.2.3 その他の分析法 12
2.6.4.3 吸収 13
2.6.4.3.1 ラットにおけるブトリシランの薬物動態 16
2.6.4.3.2 サルにおけるブトリシランの薬物動態 20
2.6.4.3.3 非臨床毒性試験におけるブトリシランの TK 23
2.6.4.3.4 サルにおける薬物動態と薬力学の関係 37
2.6.4.4 分布 39
2.6.4.4.1 血漿たん白結合 42
2.6.4.4.2 血球移行性 42
2.6.4.4.3 マウスにおける分布 43
2.6.4.4.4 ラットにおける分布 44
2.6.4.4.5 ウサギにおける分布 54
2.6.4.4.6 サルにおける分布 55
2.6.4.4.7 ヒトで予測される肝臓の分布 58
2.6.4.5 代謝 58
2.6.4.5.1 ブトリシランの *in vitro* における代謝安定性 59
2.6.4.5.2 ブトリシランの代謝 60
2.6.4.5.3 *In vitro* におけるシトクロム P450 相互作用試験 62
2.6.4.6 排泄 64
2.6.4.6.1 ラットにおける排泄 64
2.6.4.6.2 サルにおける排泄 65
2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用 66
2.6.4.8 その他の薬物動態試験 66
2.6.4.9 考察及び結論 66
2.6.4.10 図表 69
2.6.4.11 参考文献一覧 69

略号一覧

略号・用語	定義	
	英語	日本語
AD-59206	pharmacologically active mouse/rat surrogate	マウス／ラットで薬理活性を示す revusiran 及びブトリシランのサロゲート
ADA	anti-drug antibody	抗薬物抗体
ADME	absorption, distribution, metabolism, and excretion	吸収、分布、代謝及び排泄
ALN-65492	vutrisiran drug substance	原薬ブトリシラン
ALN-TTRSC02	vutrisiran drug product containing ALN-65492	ALN-65492 を含有するブトリシラン製剤
AS(N-1)3′	loss of one nucleotide from the 3′ end of the antisense strand	アンチセンス鎖 3′末端からヌクレオチド 1 個が失われた（代謝物）
AS(N-3)3′	loss of three nucleotides from the 3′ end of the antisense strand	アンチセンス鎖 3′末端からヌクレオチド 3 個が失われた（代謝物）
ASGPR	asialoglycoprotein receptor	アシアロ糖たん白質受容体
ATTR amyloidosis	transthyretin-mediated amyloidosis	トランスサイレチン型アミロイドーシス
AUEC	area under the effect curve	効果曲線下面積
AUC	area under the (plasma) concentration-time curve	（血漿中）濃度－時間曲線下面積
AUC_{0-24}	AUC from hour 0 to 24	投与から投与 24 時間後までの AUC
$AUC_{0-t(last)}$	area under the concentration-time curve from the time of dosing to the last measurable concentration	投与後から最終濃度測定時点までの AUC
BDC	bile duct cannulated	胆管カニューレ
BLQ	below the limit of quantitation	定量限界未満
C_0	initial concentration	投与 0 時間の濃度
cDNA	complementary DNA	相補的 DNA
CL	clearance	クリアランス
C_{max}	maximum observed (plasma) concentration occurring at T_{max}	T_{max} における最高（血漿中）濃度の実測値
CTD	common technical document	コモンテクニカルドキュメント
CYP	cytochrome P450	シトクロム P450
DDI	drug-drug interaction	薬物相互作用

略号一覧（続き）

略号・用語	定義	
	英語	日本語
DRF	dose range-finding	用量設定
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay	酵素結合免疫吸着測定
EMA	European Medicines Agency	欧州医薬品庁
EMSA	electrophoretic mobility shift assay	ゲルシフトアッセイ
FDA	United States Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
GalNAc	*N*-acetylgalactosamine	*N*-アセチルガラクトサミン
GD	gestation day	妊娠日齢
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準
HLM	human liver microsomes	ヒト肝ミクロソーム
HPLC	high-performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
ISR	incurred sample reanalysis	実試料再分析
IV	intravenous(ly)	静脈内
LC/MS-HRAM	liquid chromatography/mass spectrometry-high resolution accurate mass	液体クロマトグラフィー／高分解能精密質量分析
LD	lactation day	授乳日
LLOQ	lower limit of quantitation	定量下限
mRNA	messenger RNA	メッセンジャーRNA
NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate reduced	還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸
NF	normalization factor	補正係数
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
PBS	phosphate-buffered saline	リン酸緩衝生理食塩水
PCR	polymerase chain reaction	ポリメラーゼ連鎖反応
PD	pharmacodynamic(s)	薬力学
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
q3M	once every 3 months	3 ヵ月に 1 回
qM	once monthly	月 1 回
qw	once weekly	週 1 回
QWBA	quantitative whole-body autoradiography	定量的全身オートラジオグラフィー

略号一覧（続き）

略号・用語	定義	
	英語	日本語
RT-qPCR	quantitative reverse transcription polymerase chain reaction	定量逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応
SC	subcutaneous(ly)	皮下
SD	Sprague Dawley	-
siRNA	small interfering RNA	低分子干渉 RNA
$t_{1/2}$	elimination half-life	半減期
TK	Toxicokinetic(s)	トキシコキネティクス
T_{max}	time to reach maximum (plasma) concentration	最高（血漿中）濃度到達時間
TNF	titration normalization factor	抗体価補正係数
TTR	transthyretin	トランスサイレチン
V_{ss}	volume of distribution at steady state	定常状態における分布容積
WT	wild type	野生型

2.6.4 薬物動態試験の概要文

2.6.4.1 まとめ

主要な毒性試験、またトランスサイレチン（TTR）型アミロイドーシス（ATTR アミロイドーシス）の治療を目的とするブトリシランナトリウムの臨床開発をサポートするため種々の *in vitro* 及び *in vivo* 試験でブトリシランの薬物動態（PK）並びに吸収、分布、代謝及び排泄（ADME）を評価した。

非臨床試験報告書では AD-65492、ALN-65492 又は ALN-TTRSC02 と表記されていることもあるブトリシランは、溶液中の活性薬物の名称である。ブトリシランはカニクイザル（以下、サルと表記）において薬理活性を示すが、TTR ゲノムの種差により、マウス、ラット及びウサギでは活性を示さない。動物試験における表示投与量は、ブトリシランのナトリウム塩（以下、ブトリシランと表記）を示し、遊離酸ではない。ナトリウム塩と遊離酸間の分子量の違いは、約 6%であり、本コモンテクニカルドキュメント（CTD）中に示された PK 及びトキシコキネティクス（TK）データの解釈に影響を与えない。ブトリシランは、TTR を標的とする低分子干渉 RNA（siRNA）で構成される合成された二本鎖オリゴヌクレオチドである。センス鎖及びアンチセンス鎖は、それぞれ 21 及び 23 のヌクレオチドを含んでいる。ブトリシランの分子量は、ナトリウム塩と遊離酸でそれぞれ 17289.77 Da 及び 16344.55 Da である。ブトリシランは 3 価糖鎖リガンド（*N*-アセチルガラクトサミン、GalNAc）と siRNA が結合し肝細胞表面に主に発現しているアシアロ糖たん白質受容体（ASGPR）で siRNA の直接肝細胞特異的な取り込みにより、肝臓に分布するように特にデザインされている。

液体クロマトグラフィー／高分解能精密質量分析（LC/MS-HRAM）を用いた主な定量法を開発し、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（GLP）に準拠した試験における血漿試料中のブトリシラン（センス鎖及びアンチセンス鎖の両方）を測定のためのバリデーションガイダンスに基づいてバリデートした。非臨床 *in vivo* 試験の PK 及び毒性試験に用いた測定方法は必要に応じて適格化又はバリデートした。他の測定方法は探索目的で使用した。

Sprague Dawley（SD）ラット（以下、ラットと表記）及びサルに皮下（SC）投与したとき、ブトリシランは迅速かつ特異的に肝臓に分布する。3 mg/kg を超える SC 投与において、ブトリシランの最高血漿中濃度到達時間（T_{max}）における最高血漿中濃度の実測値（C_{max}）及び投与後から最終濃度測定時点までの血漿中濃度－時間曲線下面積（$AUC_{0\text{-}t(last)}$）において、投与量比例性を上回る増加を示す傾向があり、受容体を介する肝臓取込みの一過性飽和の可能性を示している。ブトリシランの PK に性差は認められなかった。投与頻度と比較して半減期（$t_{1/2}$）が短いため、試験した PK での投与量で月に 1 回反復投与したときに血漿中のブトリシランの蓄積がごくわずか認められた。

ラットに 1 mg/kg、サルに 0.3 及び 3 mg/kg を月に 1 回 4 回 SC 投与したときの反復投与時の血漿中 PK パラメータは、単回投与時の PK パラメータと類似していた。全体として、ラット及びサルにおけるブトリシランの PK は、反復 SC 投与後に時間依存性又は投与量依存性を示さないことを示している。

血漿たん白結合率は、非臨床で使用した動物種及びヒトで同程度であった。血漿たん白結合率は濃度依存的（0.5～50 µg/mL で検討）であり、ブトリシラン濃度の上昇に伴い結合率は低下した。ヒ

トを対象とした単回漸増投与試験で認められた C_{max} の平均値は、25 及び 50 mg 投与でそれぞれ 0.0984 及び 0.191 µg/mL であったこと（試験番号[ALN-TTRSC02-001]）を考慮すると、臨床における血漿中濃度では、血漿たん白結合率は約 80%と比較的一定であることが予想される。なお、ブトリシランは特異的に血球に分布しない。

ラットとサルの両方で血漿と比較すると一貫して高い肝臓中濃度が得られ、ブトリシランの標的とする肝臓への分布が確認された。ブトリシラン濃度は、ラット及びサルの肝臓でそれぞれ 7 時間及び 24 時間までにピークに達し、肝臓では血漿と比較して有意に遅い速度で低下し、肝臓の $t_{1/2}$ はラットで約 5 日、サルで約 30 日であった。雄ラットを用いた定量的全身オートラジオグラフィー（QWBA）試験では、[^{3}H]-ブトリシラン由来の放射能は速やかに吸収され、主に肝臓に、他の組織にわずかに分布した。高い放射能濃度を示した組織は肝臓、リンパ節、腎臓、胸管であり、それぞれ 37,700、8910、2110、1560 ng [^{3}H]-ブトリシラン当量／g であった。

SC 投与後に無処置ラットでは尿中（約 53%）、胆管カニューレ（BDC）を施したラットでは胆汁中（約 24%）に大量の放射能が排泄され、腎及び胆汁中排泄が[^{3}H]-ブトリシラン由来の放射能の主要な消失経路であることが示された。排泄された放射能は、放射能を含むブトリシランの代謝物が主であると考えられる。ラットに 3 mg/kg を単回 SC 投与したときのブトリシラン未変化体の腎排泄は、総投与量の約 9%であり、腎排泄は未変化体のマイナーな排泄経路であることが示された。サルに 1 又は 30 mg/kg を単回 SC 投与したとき、尿中に総投与量の 11～24%が未変化体として排泄された。いずれの動物種においても、未変化体の糞中排泄はほとんどみられなかった。これらのデータは、吸収された薬物の大部分が肝臓に分布し、排泄前に代謝（ヌクレアーゼによる開裂）されたことを示唆している。

ラット及びサルに SC 投与後の血漿及び肝臓試料の代謝物の検討から、ブトリシランの主な代謝物は、アンチセンス鎖の 3′末端の N-1（1 個のヌクレオチドが失われたもの）及び N-3（3 個のヌクレオチドが失われたもの）であること（それぞれ AS(N-1)3′ブトリシラン及び AS(N-3)3′ブトリシラン）が示された。ヒト血漿試料中の代謝物の検討から、体循環中に検出可能なブトリシランの代謝物がないことが示された。ブトリシランは主成分であり、AS(N-3)3′ブトリシランのみがヒト尿中に低濃度で観察された。このマイナーな循環血中に存在しないヒトでの代謝物は、ラット及びサルの肝臓試料で高濃度に存在することから、毒性試験において十分に評価されていると考えられる。ブトリシランは、シトクロム P450（CYP）1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6 又は 3A の直接的又は時間依存的阻害剤、又は基質ではない。CYP の誘導及びトランスポーターの基質／阻害はブトリシランでは検討しなかった。しかし、ブトリシランと同様の物理化学的特性を有する GalNAc-siRNA についての *in vitro* における薬物相互作用（DDI）のデータから、これらの分子が主要な CYP 又はトランスポーターの基質、阻害剤、又は誘導剤でないと考えられることが示されている。以上から、ブトリシランが CYP 又はトランスポーターを介した DDI を受ける又は起こすリスクは低く、臨床において相互作用試験は必要ないと考えられる。

ブトリシランの TK を、GLP に準拠した毒性試験中に検討した。ブトリシランの血漿中及び肝臓中における TK を、マウス、ラット、ウサギ、サルを用いた毒性試験中に検討した。ラット 6 ヵ月間反復投与試験における無毒性量（NOAEL）は 150 mg/kg（試験最高投与量）であり、雌雄を合わせた Day 197 の血漿中平均 C_{max} は 29.1 µg/mL、$AUC_{0\text{-}t(last)}$は 331 µg·h/mL であった。肝臓での TK パ

ラメータは、C_{max} が 819 µg/g、$AUC_{0\text{-}t(last)}$が 159,000 µg·h/g であった。サル 9 ヵ月間反復投与試験における NOAEL は 300 mg/kg（試験最高投与量）であり、Day 253 の平均 C_{max} は 71.7 µg/mL、$AUC_{0\text{-}t\ (last)}$ は 1170 µg·h/mL であった。そのときの最終投与後 24 時間における肝臓での平均 C_{max} は、3432 µg/g であった。ブトリシランはラット及びサルのいずれにおいても月 1 回投与後に血漿中に蓄積せず、いずれの動物種の血漿中 TK にも性差は認められなかった。

雌ラット及び雌ウサギにおける胚・胎児発生に関する用量設定（DRF）試験において、母動物の血漿、肝臓、腎臓及び胎盤からブトリシランが検出されたが、胎児及び胎児の肝臓からはブトリシランは検出されなかった。ラットにおける受胎能及び着床までの初期胚発生に関する主試験における NOAEL は雌雄ラットで 70 mg/kg であり、そのときの Day 14 の $AUC_{0\text{-}t\ (last)}$ は雄で 135 µg·h/mL、妊娠日齢 6 日（GD 6）の $AUC_{0\text{-}t\ (last)}$ は雌で 75.7 µg·h/mL であった。F_0 雌を用いたラット胚・胎児発生に関する主試験における NOAEL は 10 mg/kg であり、そのときの GD 17 の平均 C_{max} は 0.883 µg/mL、$AUC_{0\text{-}t\ (last)}$ は 4.82 µg·h/mL であった。ウサギ胚・胎児発生に関する主試験における NOAEL は、F_0 雌及び F_1 同腹児で 30 mg/kg であり、対応する GD 19 の平均 C_{max} は 12.9 µg/mL、$AUC_{0\text{-}t\ (last)}$ は 67.4 µg·h/mL であった。

ブトリシランの *in vitro* 及び *in vivo* における PK 及び ADME の検討を要約すると、ブトリシランは非臨床の *in vivo* で試験した動物種及び *in vitro* 試験でのヒト及び動物を通して類似の PK 及び ADME の性質を示した。データ全体からブトリシランの SC 投与により、標的臓器（肝臓）への適切な siRNA の曝露が示された。総じて、PK 及び ADME 試験は、毒性試験の解釈のサポート及び 25 mg/kg の 3 ヵ月に 1 回の投与計画でのヒトにおけるブトリシランの性質の特徴付けを助け、ATTR アミロイドーシスの治療におけるブトリシランの臨床使用をサポートすると考えられる。

2.6.4.2 分析法

複数の生体試料中薬物濃度分析法を用いて、PK、TK、薬力学（PD）及び免疫原性（抗薬物抗体〔ADA〕）を評価した。バリデーションした測定方法及び ADA 分析法を以下にまとめた。その他の分析法は、探索目的に使用し簡潔に述べる。

種々の動物種の血漿中ブトリシランを定量するため、LC/MS-HRAM を用いた生体試料中薬物濃度分析法をバリデーションした。GLP 試験用のバリデーション試験は、米国食品医薬品局（FDA）及び欧州医薬品庁（EMA）の生体試料中薬物濃度分析法バリデーションガイダンスに基づいて実施した。実試料再分析（ISR：incurred sample reanalysis）は、試料分析時に実施した。種々の動物種のマトリックスにおけるブトリシランを定量するため、LC/MS-HRAM 法によるその他の分析法を用いた。探索的な LC/MS-HRAM 法を、代謝安定性試験及び代謝プロフィリングにも使用した。

ラット及びサル血清における ADA の酵素結合免疫吸着測定（ELISA）法を用いた生体試料中薬物濃度分析法は、FDA 及び EMA のガイダンスに従ってバリデーションした。本 ADA 分析法は、ブトリシランの特異抗体測定のために計画した。試料分析には、カットポイント値に基づく ADA 陽性のスクリーニング及び確認試験を行った後、ADA 抗体価を測定する段階的アプローチを実施した。

さらに、バリデーションしたその他の分析法及び探索的方法も使用した。GLP に準拠したサル試験をサポートするため、ELISA 法を用いてサル（及びヒト）血清中の総 TTR たん白質を定量する PD バイオマーカー測定法をバリデーションした。適切な ELISA キットを用いて、他の動物種の総血清 TTR 濃度を測定した。サル血漿中のサイトカインを *in vitro* での分析のために市販の Milliplex® キットと BioRad Bio-Plex Pro アッセイキットを用いて測定した。市販試薬を用いた定量逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応（RT-qPCR）により、肝臓におけるウサギ *TTR* メッセンジャーRNA（mRNA）発現を測定した。また、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）を用いて、ラット及びサル血清中のビタミン A レチノールを測定した。

2.6.4.2.1 定量法

2.6.4.2.1.1 バリデートした分析法

バリデートした生体試料中薬物濃度分析法の一覧表を表 2.6.4.2-1 に示す。

表 2.6.4.2-1 非臨床試験に用いたバリデートした生体試料中薬物濃度分析法の概要

Validation Report No.	Species	Matrix (Anti-coagulant)	Assay Linear Range (ng/mL)	Inter-Assay		Studies in Which Method was Used
				Accuracy (%Diff)	Precision (%CV)	
LC/MS-HRAM for Vutrisiran						
TSLR16-109	Mouse	Plasma (K_2EDTA)	20.0 to 2000	≤15% (≤20% for LLOQ)	≤15% (≤20% for LLOQ)	TTRSC02-DSM18-031 TTRSC02-DSM19-009
TSLR15-206	Rat	Plasma (K_2EDTA)	20.0 to 2000	≤15% (≤20% for LLOQ)	≤15% (≤20% for LLOQ)	TTRSC02-DSM15-033 TTRSC02-GLP15-026 TTRSC02-GLP15-028 TTRSC02-GLP15-040 TTRSC02-GLP16-013 TTRSC02-GLP18-003 TTRSC02-GLP18-005 TTRSC02-GLP18-013 TTRSC02-GLP19-007
TSLR16-110	Rabbit	Plasma (K_2EDTA)	20.0 to 2000	≤15% (≤20% for LLOQ)	≤15% (≤20% for LLOQ)	TTRSC02-GLP16-012 TTRSC02-GLP18-014

表 2.6.4.2-1　非臨床試験に用いたバリデートした生体試料中薬物濃度分析法の概要（続き）

Validation Report No.	Species	Matrix (Anti-coagulant)	Assay Linear Range (ng/mL)	Inter-Assay		Studies in Which Method was Used
				Accuracy (%Diff)	Precision (%CV)	
TSLR15-207	Monkey	Plasma (K_2EDTA)	20.0 to 2000	≤15% (≤20% for LLOQ)	≤15% (≤20% for LLOQ)	TTRSC02-GLP-037 TTRSC02-GLP15-025 TTRSC02-GLP15-039 TTRSC02-DSM15-035
LC/MS-HRAM for AD-59206						
TSLR15-205	Rat	Plasma (K_2EDTA)	20.0 to 1000	≤15% (≤20% for LLOQ)	≤15% (≤20% for LLOQ)	TTRSC02-GLP16-013
ELISA for TTR Protein						
302417, 302834	Monkey	Serum (none)	1.19 to 38.00[a]	≤20%	≤20%	TTRSC02-GLP15-025 TTRSC02-GLP15-039

略語：AD-59206＝マウス／ラットで薬理活性を示す revusiran 及びブトリシランのサロゲート；CV＝変動係数；Diff＝差異；EDTA＝エチレンジアミン四酢酸；ELISA＝酵素結合免疫吸着測定；K_2＝二カリウム；LC/MS-HRAM＝液体クロマトグラフィー／高分解能精密質量分析；LLOQ＝定量下限；No.＝番号；TTR＝トランスサイレチン

注：詳細については表 2.6.5-3 参照。

a 出典：302834

2.6.4.2.1.1.1.　低分子干渉 RNA の定量

（CTD: 4.2.2.1-5、[TSLR16-109]；CTD: 4.2.2.1-6、[TSLR15-206]）
（CTD: 4.2.2.1-7、[TSLR16-110]；CTD: 4.2.2.1-8、[TSLR15-207]）
（CTD: 4.2.2.1-9、[TSLR15-205]）

ブトリシラン及び AD-59206（マウス／ラットで薬理活性を示す revusiran 及びブトリシランのサロゲート）を測定した LC/MS-HRAM 法では、全長アンチセンス及びセンス鎖を同時に特異的に定量し、それぞれを二本鎖濃度として報告した。GalNAc-siRNA は体循環中に二本鎖として存在し、どちらかの鎖の濃度は二本鎖と同様にもう一方の鎖の濃度をも示す。バリデーションの評価項目は、真度及び精度（分析単位内及び分析単位間）、選択性/特異性、標準物質及び内標準物質の回収率、定量範囲及び感度（定量下限〔LLOQ〕）、キャリーオーバー、再注入再現性、希釈の妥当性／直線性並びに安定性（凍結融解、ベンチトップ、長期保存、原液及び前処理後試料）とした。

ラット、ウサギ、及びサルの血漿におけるブトリシランのセンス鎖及びアンチセンス鎖の分析再現性を評価するために、ISR を実施した。ISR の結果は、表 2.6.4.2-2 に示すように適合となった。ISR の結果に基づき、バリデーションした分析法は適切な再現性を示すことが判明した。

表 2.6.4.2-2　　ISR の概要

Validation Report No.	Species/Matrix (Anti-coagulant)	Analyte	Samples Passed/ Samples Tested	Passing Rate (%)	Study Number
LC/MS-HRAM for Vutrisiran					
TSLR15-206	Rat plasma (K_2EDTA)	A-131359 (AS)	39/39	100	TTRSC02-GLP15-026
TSLR15-206	Rat plasma (K_2EDTA)	A-131354 (S)	38/38	100	TTRSC02-GLP15-026
TSLR15-206	Rat plasma (K_2EDTA)	A-131359 (AS)	18/23	78.3	TTRSC02-GLP15-028
TSLR15-206	Rat plasma (K_2EDTA)	A-131354 (S)	16/23	69.6	TTRSC02-GLP15-028
TSLR16-110	Rabbit plasma (K_2EDTA)	A-131359 (AS)	24/25	96.0	TTRSC02-GLP16-012
TSLR16-110	Rabbit plasma (K_2EDTA)	A-131354 (S)	22/25	88.0	TTRSC02-GLP16-012
TSLR15-207	Monkey plasma (K_2EDTA)	A-131359 (AS)	62/73	84.9	TTRSC02-GLP15-025
TSLR15-207	Monkey plasma (K_2EDTA)	A-131354 (S)	64/73	87.7	TTRSC02-GLP15-025
LC/MS-HRAM for AD-59206					
TSLR15-205	Rat plasma (K_2EDTA)	A-101892 (AS)	21/22	95.5	TTRSC02-GLP16-013
TSLR15-205	Rat plasma (K_2EDTA)	A-120146 (S)	22/22	100	TTRSC02-GLP16-013

略語：AD-59206＝マウス／ラットで薬理活性を示す revusiran 及びブトリシランのサロゲート；AS＝アンチセンス；EDTA＝エチレンジアミン四酢酸；K_2＝二カリウム；LC/MS-HRAM＝液体クロマトグラフィー／高分解能精密質量分析；No.＝番号；S＝センス

注：以下の基準を用いて、ISR を評価した：測定試料の 67%が±20%以内。

2.6.4.2.1.1.2.　　薬力学的バイオマーカーの定量

（CTD: 4.2.2.1-1、[302417]；CTD: 4.2.2.1-2、[302834]）

GLP に準拠したサルを用いた試験をサポートするため、ELISA 法を用いたサル（及びヒト）血清中の薬力学的バイオマーカーである総 TTR たん白質の定量法を、可能な限り PK の分析法バリデーションガイダンスの概念に従いバリデーションした。検量線範囲、LLOQ、真度及び精度（分析単位内及び分析単位間）、希釈再現性及び直線性並びに試料の安定性（ベンチトップ、凍結／融解、並びに短期及び長期安定性）について検討した。

2.6.4.2.1.2 探索的定量法

ブトリシラン、*TTR* mRNA、TTR たん白質測定には探索的方法を用いた。これらの方法の詳細は、個々の試験報告書に記載している。

2.6.4.2.1.2.1. 定量的逆転写ポリメラーゼ連鎖反応

肝臓におけるウサギ *TTR* mRNA 発現を市販試薬を用いた RT-qPCR により測定した。これはステム-ループプライマーに基づく結合法であり、標的アンチセンス鎖のポリメラーゼ連鎖反応（PCR）増幅を行う。本法は完全長ブトリシラン及び代謝物を検出する。

2.6.4.2.1.2.2. ELISA 法

アミノ酸 30 位のバリンがメチオニンに置換した遺伝子変異（V30M）を有するヒト *TTR* V30M 変異体を発現するトランスジェニックマウス、ラット及びサルの血清中総 TTR 濃度を ELISA キットを用いて測定した。また、サルにおける血漿中 TTR 濃度を ELISA キットを用いて測定した。

2.6.4.2.1.2.3. 質量分析法

複数の動物種及びマトリックスにおけるブトリシランの分析を、適切な LC/MS-HRAM 法を用いて行った。これらの方法を用いた試験の一覧を、[表 2.6.5-2]に示した。

2.6.4.2.2 抗薬物抗体測定法

（CTD: 4.2.2.1-3、[3001203]；CTD: 4.2.2.1-4、[3001205]）

ラット及びサル血清におけるブトリシランに特異的な ADA 用 ELISA 法をバリデーションした（[2.6.6.8.1]項「抗原性試験」参照）。バリデーション試験で、カットポイント（スクリーニング試験及び抗体価のための補正係数及び測定プレート特異的カットポイント）及び確認試験におけるパーセント阻害のカットポイントの決定も行った。抗体価及び感度の精度（分析単位内及び分析単位間）は、陽性対照 ADA を用いて測定した。分析法の特異性／選択性、薬剤耐性、プロゾーン効果、安定性（凍結融解、室温、長期）も評価した。この分析法は、ADA のスクリーニング試験、確認試験及び抗体価測定のための段階的アプローチでの試料分析のためのバリデーション基準を満たしていた（表 2.6.4.2-3 参照）。

表 2.6.4.2-3 抗ブトリシラン抗体測定法

Validation Report No.	Species	Matrix (Anti-coagulant)	Normalization Factors	Sensitivity (ng/mL)	Precision (%CV)	Studies in Which Method was Used
3001203	Rat	Serum (none)	NF=1.262 TNF=1.325 CCP=16.1% signal inhibition (A450 nm)	86	≤25%	TTRSC02-GLP15-040
3001205	Monkey	Serum (none)	NF=1.198 TNF=1.807 CCP=25.8% signal inhibition (A450 nm)	159	≤25%	TTRSC02-GLP15-039

略語：CCP=確認試験カットポイント；CV＝変動係数；NF＝補正係数；No.＝番号；TNF＝抗体価補正係数

2.6.4.2.3 その他の分析法

LC/MS-HRAM 法を *in vitro* 代謝安定性と *in vitro* 及び *in vivo* 代謝物検討試験に用いた。非 GLP サル DRF 毒性試験において、サル血漿中のサイトカインを、*in vitro* での分析のために市販の Milliplex®キットと BioRad Bio-Plex Pro 測定キットを用いて測定した。

HPLC 法を用いてラット及びサル血清中のビタミン A を測定した。

マウス、ラット、サル及びヒト血漿におけるブトリシランのたん白結合率を、条件を満たすゲルシフトアッセイ（EMSA）法を用いて定量した。

2.6.4.3 吸収

ブトリシランの PK 試験及び TK 試験の概要を表 2.6.4.3-1 に示す。可能な限り、PK パラメータ及び TK パラメータは有効数字 3 桁とした。したがって、これらの数字は、丸めたことにより、それぞれの試験報告書の数字とわずかに異なる可能性がある。

表 2.6.4.3-1 ブトリシランの PK 及び TK 試験

Species and Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Type of Study	Study Number (Tabulated Summary) CTD Location
Single- and Repeat-Dose Pharmacokinetic Studies					
Rat/Sprague Dawley	IV bolus; SC	Single dose or qM×4	5 IV (single dose); 0.3, 1, 3, 10 SC (single dose); 1, 40 SC (qM×4)	Non-GLP PK	TTRSC02-DSM15-033 (表 2.6.5-5; 表 2.6.5-7) CTD: 4.2.2.2-1
Monkey/ Cynomolgus	IV bolus; SC	Single dose or qM×4	10 IV (single dose); 0.3, 1, 3, 30 SC (single dose): 0.3, 1 SC (qM×4)	Non-GLP PK	TTRSC02-DSM15-035 (表 2.6.5-6; 表 2.6.5-8) CTD: 4.2.2.2-2
Single- and Repeat-Dose Toxicokinetic Studies					
Mouse/ Tg-rasH2 WT	SC	8 weeks (qM×3)	0, 500, 1000, 1500	Non-GLP DRF repeat-dose toxicity and TK	TTRSC02-DSM18-031 (表 2.6.7-17) CTD: 4.2.3.4.2-1
Mouse/ Tg-rasH2 WT Mouse/ C57BL/6NTac	SC	12 weeks (qM×4)	Tg-rasH2 WT: 30, 300 C57BL/6NTac: 0, 30, 100, 300	Non-GLP DRF repeat-dose toxicity and TK	TTRSC02-DSM16-032 (表 2.6.7-18) CTD: 4.2.3.4.2-2
Mouse/CD-1	SC	13 weeks (qM×4)	0, 10, 25, 50	Non-GLP DRF repeat-dose toxicity and TK	TTRSC02-DSM19-009 (表 2.6.7-19) CTD: 4.2.3.4.2-3
Rat/Sprague Dawley	SC	13 weeks (qM×4)	0, 40, 120	Non-GLP DRF repeat-dose toxicity and TK	TTRSC02-DSM15-028 (表 2.6.7-8) CTD: 4.2.3.2-1

表 2.6.4.3-1 ブトリシランの PK 及び TK 試験（続き）

Species and Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Type of Study	Study Number (Tabulated Summary) CTD Location
Rat/Sprague Dawley	SC	13 weeks (qM×4)	0, 12, 40, 120	GLP repeat-dose toxicity and TK	TTRSC02-GLP15-026 (表 2.6.7-9) CTD: 4.2.3.2-2
Rat/Sprague Dawley	SC	6 months (qM×8)	0, 15, 50, 150	GLP repeat-dose toxicity and TK	TTRSC02-GLP15-040 (表 2.6.7-10) CTD: 4.2.3.2-3
Rat/Sprague Dawley	SC	6 months (qM×7 or q3M×3)	0, 5, 50 (qM×7); 10, 50 (q3M×3)	Non-GLP investigative repeat-dose toxicity and TK	TTRSC02-DSM17-011 (表 2.6.7-11) CTD: 4.2.3.2-4
Rat/Sprague Dawley	SC	Single dose	0, 500, 1000, 2000	GLP micronucleus bone marrow toxicity	TTRSC02-GLP15-028 (表 2.6.7-16) CTD: 4.2.3.3.2-1
Rat/Sprague Dawley	SC	2 years (qM or q3M)	M: 0, 4.0, 7.5, 15 (qM); 15 (q3M) F: 0, 6.0, 12.5, 25 (qM); 25 (q3M)	GLP carcinogenicity and TK	TTRSC02-GLP18-003 (表 2.6.7-20) CTD: 4.2.3.4.1-1
Rat/Sprague Dawley	SC	Vutrisiran: PM (qw×3) and GD 6-17 AD-59206: PM (qw×3) and GD 6, 12, 17	Vutrisiran: PM: 0, 15, 50, 150 GD 6-17: 0, 3, 10, 30 AD-59206: PM: 30 GD 6, 12, 17: 30	GLP DRF reproductive and developmental toxicity and TK	TTRSC02-GLP16-013 (表 2.6.7-21) CTD: 4.2.3.5.1-1

表 2.6.4.3-1 ブトリシランの PK 及び TK 試験（続き）

Species and Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Type of Study	Study Number (Tabulated Summary) CTD Location
Rat/Sprague Dawley	SC	Prior to and during pairing M: qw (7 doses) F: qw and on GD 6 if pairing confirmed (4-5 doses)	0, 15, 30, 70	GLP FEED with TK	TTRSC02-GLP18-005 (表 2.6.7-24) CTD: 4.2.3.5.1-2
Rat/Sprague Dawley	SC	GD 6-17	0, 3, 10, 30	GLP EFD and TK	TTRSC02-GLP18-013 (表 2.6.7-25) CTD: 4.2.3.5.2-2
Rat/Sprague Dawley	SC	GD 7, 13, 19; LD 6, 12	0, 5, 10, 20	GLP PPND and TK	TTRSC02-GLP19-007 (表 2.6.5-13; 表 2.6.7-27) CTD: 4.2.3.5.3-1
New Zealand White Rabbits	SC	GD 7-19	0, 3, 10, 30	GLP DRF reproductive and developmental toxicity and TK	TTRSC02-GLP16-012 (表 2.6.7-23) CTD: 4.2.3.5.2-3
New Zealand White Rabbits	SC	GD 7-19	0, 3, 10, 30	GLP EFD and TK	TTRSC02-GLP18-014 (表 2.6.7-26) CTD: 4.2.3.5.2-4
Monkey/ Cynomolgus	SC	Single dose	0, 30, 300	GLP safety pharmacology	TTRSC02-GLP-037 (表 2.6.3-4) CTD: 4.2.1.3-1
Monkey/ Cynomolgus	SC	13 weeks (qM×4)	0, 100, 300	Non-GLP DRF repeat-dose toxicity and TK	TTRSC02-DSM15-027 (表 2.6.7-8) CTD: 4.2.3.2-5

表 2.6.4.3-1　ブトリシランの PK 及び TK 試験（続き）

Species and Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)	Type of Study	Study Number (Tabulated Summary) CTD Location
Monkey/ Cynomolgus	SC	13 weeks (qM×4)	0, 30, 100, 300	GLP repeat-dose toxicity and TK	TTRSC02-GLP15-025 (表 2.6.7-12) CTD: 4.2.3.2-6
Monkey/ Cynomolgus	SC	9 months (qM×11)	0, 30, 100, 300	GLP repeat-dose toxicity and TK	TTRSC02-GLP15-039 (表 2.6.7-13) CTD: 4.2.3.2-7

略語：AD-59206＝マウス／ラットで薬理活性を示す revusiran 及びブトリシランのサロゲート；Admin.＝投与；CTD=コモンテクニカルドキュメント；DRF＝用量設定；EFD＝胚・胎児発生；F＝雌；FEED＝受胎能及び初期胚発生；GD＝妊娠日齢；GLP＝医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；IV＝静脈内；LD＝授乳日；M＝雄；PK＝薬物動態；PM＝交配前；PPND＝出生前及び出生後の発生；q3M＝3 ヵ月に 1 回；qM＝月 1 回；qw＝週 1 回；SC＝皮下；TK＝トキシコキネティクス；WT＝野生型

2.6.4.3.1　ラットにおけるブトリシランの薬物動態

ラットにブトリシランを単回静脈内（IV）投与又は単回及び反復 SC 投与し、ブトリシランの血漿中 PK を評価した。PK パラメータに明らかな性差は認められなかったことから、特に記載のない限り PK パラメータは雌雄を合わせた平均値を示している。ラット PK 試験（試験番号 TTRSC02-DSM15-033）においては、ブトリシランの分布（2.6.4.4.4.1 項参照）、代謝（2.6.4.5.2.1 項参照）及び排泄（2.6.4.6.1 項参照）も検討した。

2.6.4.3.1.1　ラットにおけるブトリシランの単回投与薬物動態

（CTD: 4.2.2.2-1、[TTRSC02-DSM15-033]）

ラットにブトリシランを単回 IV 投与し血漿中 PK を検討した（試験番号 TTRSC02-DSM15-033；[表 2.6.5-5]参照）。ラットに単回 IV 又は SC 投与したときのブトリシラン血漿中 PK パラメータを表 2.6.4.3-2 に、血漿中濃度推移を図 2.6.4.3-1 に示した。

ラットにブトリシランの 5 mg/kg を急速 IV 投与したとき、外挿して求めたブトリシランの投与 0 時間の濃度（C_0）の平均値は 91.5 µg/mL であり、投与後から最終濃度測定時点までの AUC（$AUC_{0\text{-}t(last)}$）の平均値は 13.3 µg·h/mL であった。血漿中ブトリシラン濃度は、投与後 3 時間までに LLOQ（< 20.0 ng/mL）を下回った。そのため、$t_{1/2}$ は、明確な消失相がなく推定できなかった。クリアランス（CL）と定常状態における分布容積（V_{ss}）は、それぞれ投与量と $AUC_{0\text{-}t(last)}$又は C_0 から算出した。

ブトリシランの 0.3、1、3 及び 10 mg/kg を単回 SC 投与したとき、ブトリシランは速やかに吸収され、T_{max} は 0.5～1.0 時間であった。$t_{1/2}$ は明確な消失相がないため推定できなかった。血漿中ブトリシラン曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$に基づく）は、3 mg/kg まではほぼ用量に比例して増加し、3 mg/kg を超えると投与用量比を上回って増加した。

ブトリシランの血漿中曝露は、主に肝臓への取込みと IV 投与後の高い循環血中濃度によって引き起こされ、肝細胞上の ASGPR の一過性の飽和をもたらす可能性が高い。このことは、SC 投与後のピーク濃度がはるかに低いことから ASGPR が飽和せず、血漿中濃度－時間曲線下面積（AUC）が大幅に低くなるため、SC 投与したときのバイオアベイラビリティが過小評価されることにつながる。したがって、IV と SC の AUC で求めた見かけ上のバイオアベイラビリティは、信頼性が低いと考えられるため示していない。

表 2.6.4.3-2 ラットにブトリシランの 5 mg/kg を単回 IV 投与又は 0.3、1、3 又は 10 mg/kg を単回 SC 投与したときの血漿における平均 PK パラメータ

Route	**IV**	**SC**			
Dose (mg/kg)	**5**	**0.3**	**1**	**3**	**10**
T_{max} (h)	0.083	0.5	0.5	0.5	1.0
C_0 (µg/mL)	91.5	NR	NR	NR	NR
C_{max} (µg/mL)	37.2	0.0582	0.298	0.542	1.92
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	13.3	0.0407	0.423	0.823	4.93
$t_{1/2}$ (h)	NR	NR	NR	NR	NR
V_{ss} (mL/kg)[a]	55	NR	NR	NR	NR
CL (mL/h/kg)[a]	376	NR	NR	NR	NR

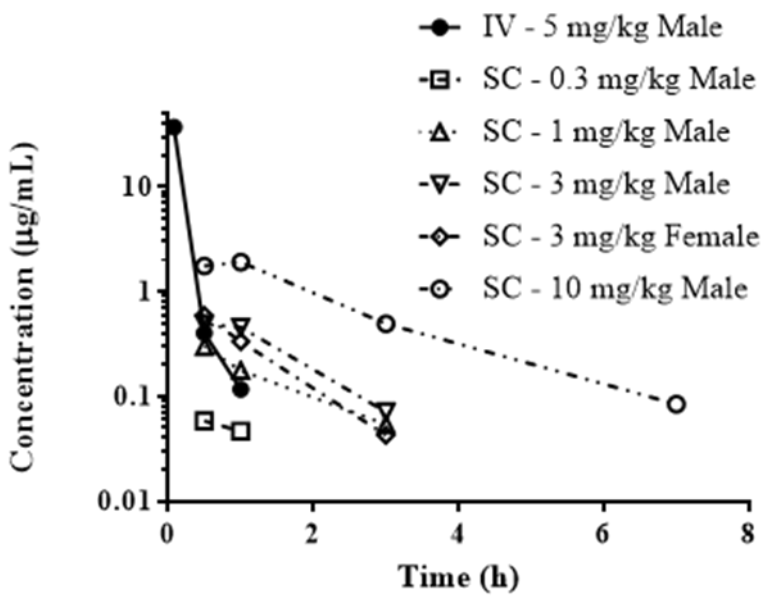
略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_0＝投与 0 時間の濃度；CL＝クリアランス；C_{max}＝T_{max}における最高血漿中濃度の実測値；IV＝静脈内；LLOQ＝定量下限；NR＝報告不可；SC＝皮下；$t_{1/2}$＝半減期；T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間；V_{ss}＝定常状態における分布容積

注：IV（5 mg/kg）及び SC（0.3、1、10 mg/kg）の値は雄のみ；3 mg/kg は雌雄を合わせた値。LLOQ＝20.0 ng/mL。3 mg/kg の SC 群（n=2／性／時点）を除き、n=雄 2／時点。

a CL 及び V_{ss} は IV 群の値、CL は $Dose/AUC_{0\text{-}t(last)}$で計算；$V_{ss}$ は $Dose/C_0$ で計算。

出典：試験番号 TTRSC02-DSM15-033

図 2.6.4.3-1 ラットにブトリシランの 5 mg/kg を単回 IV 投与又は 0.3、1、3 又は 10 mg/kg を単回 SC 投与したときのブトリシランの平均血漿中濃度推移



略語：IV=静脈内；SC=皮下

注：3 mg/kg の SC 群（n＝2／性／時点）を除き、n＝雄 2／時点。

出典：試験番号 TTRSC02-DSM15-033

2.6.4.3.1.2 ラットにおけるブトリシランの反復投与薬物動態

（CTD: 4.2.2.2-1、[TTRSC02-DSM15-033]）

ラットに反復 SC 投与した後のブトリシランの血漿中 PK を検討した（試験番号 TTRSC02-DSM15-033；[表 2.6.5-7]参照）。ラットに反復 SC 投与したときのブトリシランの血漿中 PK パラメータを表 2.6.4.3-3 に、血漿中濃度推移を図 2.6.4.3-2 に示した。

雄ラットにブトリシランの 1 又は 40 mg/kg を月 1 回計 4 回 SC 投与し、反復投与したときの PK を評価した。投与前の血漿検体はいずれも定量限界未満（BLQ）であった。1 及び 40 mg/kg の SC 投与後、Day 1、57 及び 85（すなわち、SC 投与 1、3 及び 4 回目）に血漿中 PK を評価した。Day 29（SC 投与 2 回目）の PK は、誤操作により Day 29 に誤った投与液を使用したため、この評価から除外した。1 又は 40 mg/kg を反復 SC 投与したときの T_{max} は、Day 1、57 及び 85 で 0.5～3.0 時間であった。$t_{1/2}$ は、Day 85 の 40mg/kg 投与群についてのみ推定でき 2.0 時間であった。消失相が明確でないため、他のどの群についても $t_{1/2}$ は推定できなかった。血漿中ブトリシランの曝露量は、Day 1、57 及び 85 において 1 mg/kg 投与群に対して 40 mg/kg 投与で用量比を上回る増加が認められた。ブトリシランの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$の比（Day 85：Day 1）を検討した結果、ブトリシランの 1 又は 40 mg/kg を月 1 回 4 回 SC 投与したとき、蓄積性及び時間依存性は認められなかった。平均血漿中曝露量は、単回 SC 投与後の値と類似していた。

表 2.6.4.3-3　　ラットにブトリシランの 1 又は 40 mg/kg を反復 SC 投与したときの血漿における平均 PK パラメータ

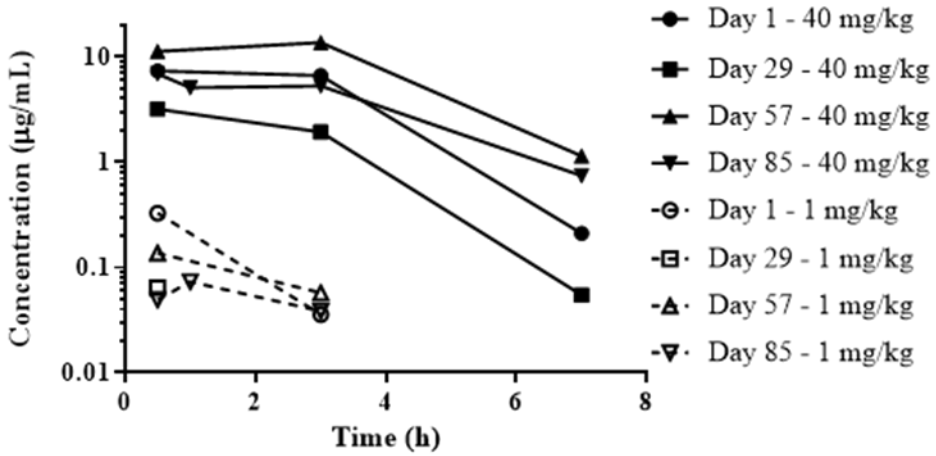
Parameter	Day	Dose (mg/kg); qM×4	
		1	40
T_{max} (h)	1	0.5	0.5
	57	0.5	3.0
	85	1.0	0.5
C_{max} (µg/mL)	1	0.329	7.40
	57	0.138	13.8
	85	0.0735	6.92
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	1	0.538	33.2
	57	0.293	64.2
	85	0.165	27.4
$t_{1/2}$ (h)	1	NR	NR
	57	NR	NR
	85	NR	2.0

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；LLOQ＝定量下限；NR＝報告不可；qM＝月 1 回；$t_{1/2}$＝半減期；T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間

注：LLOQ=20.0 ng/mL。1 mg/kg 群（Day 85 の投与 336 時間後の雄 1 例）を除き、n=雄 2／時点。29 日目の薬物動態評価は、誤操作により誤った投与液を使用したためこの評価から除外した。

出典：試験番号 TTRSC02-DSM15-033

図 2.6.4.3-2　　ラットにブトリシランの 1 又は 40 mg/kg を反復 SC 投与したときのブトリシランの平均血漿中濃度推移



注：n＝雄 2／時点

出典：試験番号 TTRSC02-DSM15-033

2.6.4.3.2　サルにおけるブトリシランの薬物動態

サルにブトリシランを単回 IV 投与又は単回及び反復 SC 投与したときの血漿中薬物濃度推移を検討した。サルの PK／PD 試験（試験番号 TTRSC02-DSM15-035）においても、ブトリシランの分布（2.6.4.4.6.1 項参照）、代謝（2.6.4.5.2.1 項参照）及び排泄（2.6.4.6.2 項参照）を検討した。

2.6.4.3.2.1　サルにおける単回投与ブトリシラン薬物動態

（CTD: 4.2.2.2-2、[TTRSC02-DSM15-035]）

サルにブトリシランを単回 IV 又は SC 投与したときの血漿中薬物濃度推移を検討した（試験番号 TTRSC02-DSM15-035；[表 2.6.5-6]参照）。サルに単回 IV 又は SC 投与したときの血漿中ブトリシランの PK パラメータを表 2.6.4.3-4 に、血漿中濃度推移を図 2.6.4.3-3 に示した。

サルにブトリシランを単回 IV（10 mg/kg）又は SC（0.3、1、3 又は 30 mg/kg）投与したときの血漿中 PK を検討した。単回 IV 投与後、全身循環からの消失は速やかであり、$t_{1/2}$ は 0.45 時間と推定された。平均 CL は 130 mL/h/kg、V_{ss} は 86.0 mL/kg であった。SC 投与後、ブトリシランの血漿中曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$）は、0.3～3 mg/kg ではほぼ用量に比例して増加し、30 mg/kg では投与量比を上回って増加した。見かけの血漿 $t_{1/2}$ は約 3～5 時間であった。単回 IV 又は SC 投与後の PK パラメータには、明らかな性差は認められなかった。

表 2.6.4.3-4　サルにブトリシランの 10 mg/kg を単回 IV 投与又は 0.3、1、3 又は 30 mg/kg を単回 SC 投与したときの血漿における平均 PK パラメータ

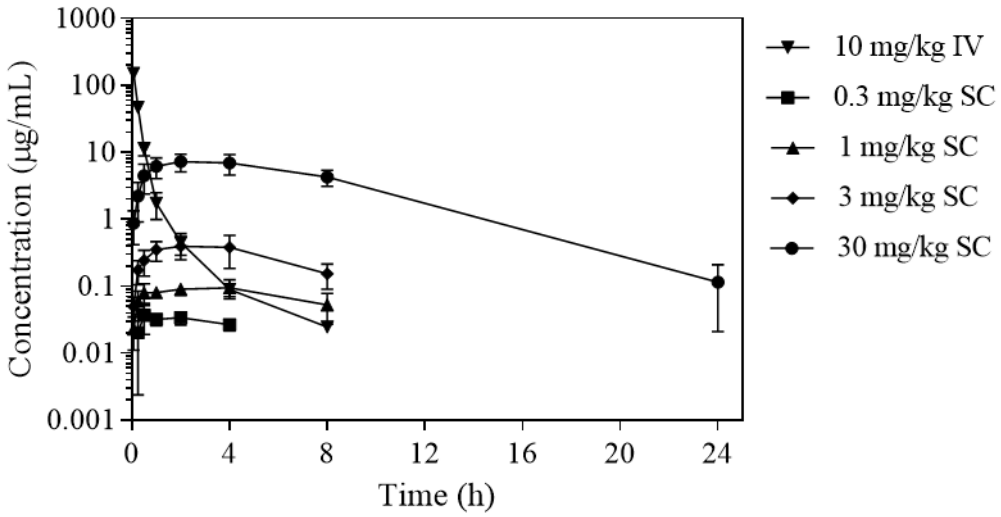
Route	**IV**	**SC**			
Dose (mg/kg)	**10**	**0.3**	**1**	**3**	**30**
C_0 (µg/mL)	272	N/A	N/A	N/A	N/A
C_{max} (µg/mL)	152	0.0384	0.109	0.428	7.46
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	82.1	0.105	0.632	2.44	55.0
T_{max} (h)	NR	1.9	2.6	2.5	2.8
CL (mL/h/kg)	130	N/A	N/A	N/A	N/A
V_{ss} (mL/kg)	86.0	N/A	N/A	N/A	N/A
$t_{1/2}$ (h)	0.45	3.3	3.9	4.7	3.6

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_0＝投与 0 時間の濃度；CL＝クリアランス；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；IV＝静脈内；LLOQ＝定量下限；N/A＝適用不可；NR＝報告不可；SC＝皮下；$t_{1/2}$＝半減期；T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間；V_{ss}＝定常状態における分布容積

注：LLOQ＝20.0 ng/mL。雌雄合計で、特に断りのない限り n＝3／性／時点。

出典：試験番号 TTRSC02-DSM15-035

図 2.6.4.3-3 サルにブトリシランの 10 mg/kg を単回 IV 投与又は 0.3、1、3、30 mg/kg を単回 SC 投与したときのブトリシランの平均血漿中濃度推移（±SD）



略語：IV＝静脈内；SC＝皮下；SD＝標準偏差

注：雌雄合計；n＝6／時点

出典：試験番号 TTRSC02-DSM15-035 より改変

2.6.4.3.2.2 サルにおける反復投与ブトリシランの薬物動態

（CTD: 4.2.2.2-2、[TTRSC02-DSM15-035]）

サルにブトリシランを反復 SC 投与したときの血漿中薬物濃度推移を検討した（試験番号 TTRSC02-DSM15-035；[表 2.6.5-8]参照）。サルに反復 SC 投与したときのブトリシランの血漿中 PK パラメータを表 2.6.4.3-5 に、血漿中濃度推移を図 2.6.4.3-4 に示した。ブトリシランの 0.3 及び 1 mg/kg を 4 ヵ月間 SC 投与したときの反復投与時の血漿中 PK パラメータは、単回投与時の PK パラメータと類似しており、反復投与後に PK が変化する証左は認められなかった。

表 2.6.4.3-5 サルにブトリシランの 0.3 又は 1 mg/kg を反復 SC 投与したときの血漿における平均 PK パラメータ

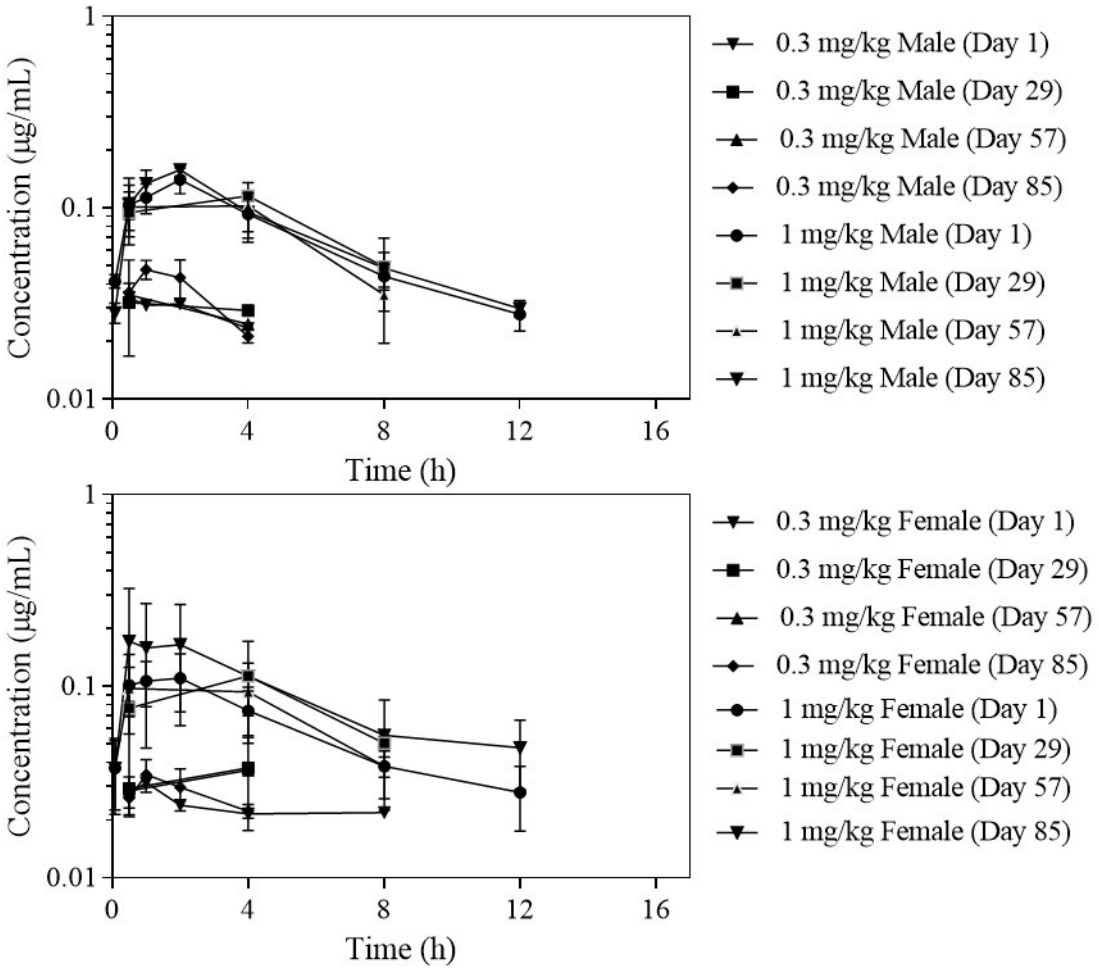
Parameter	Dose Schedule (qM×4)		Dose (mg/kg)	
	Sex	Day	0.3	1
T_{max} (h)	Combined Sexes	1	1.4	1.6
		29	2.8	4.0
		57	2.8	2.3
		85	1.2	1.4
C_{max} (µg/mL)	Combined Sexes	1	0.0312	0.130
		29	0.0354	0.114
		57	0.0362	0.110
		85	0.0420	0.199
$AUC_{0\text{-}t(last)}$(µg·h/mL)	Combined Sexes (AR)	1	0.104 (NC)	0.773 (NC)
		29	0.111 (1.07)	0.652 (0.843)
		57	0.0701 (0.674)	0.640 (0.828)
		85	0.114 (1.10)	0.997 (1.29)

略語：AR＝蓄積率；$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max}における最高血漿中濃度の実測値；LLOQ＝定量下限；NC＝計算不可；qM＝月 1 回；T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間

注：LLOQ＝20.0 ng/mL。雌雄合計で、特に断りのない限り n＝3／性／時点。AR は、0.3 及び 1 mg/kg 投与群の反復投与 $AUC_{0\text{-}t(last)}$（Day 29、57 又は 85）を単回投与（Day 1）の対応する $AUC_{0\text{-}t(last)}$で除して算出した。

出典：試験番号 TTRSC02-DSM15-035

図 2.6.4.3-4　サルにブトリシランの 0.3 又は 1 mg/kg を月に 1 回反復 SC 投与したときのブトリシランの平均血漿中濃度推移（±SD）　雄（上）及び雌（下）



略語：SD＝標準偏差

注：n＝3／性

出典：試験番号 TTRSC02-DSM15-035 より改変

2.6.4.3.3　非臨床毒性試験におけるブトリシランの TK

マウス、ラット、ウサギ及びサルを用いた反復投与毒性試験の一環として、ブトリシランの血漿中 TK を検討した。

2.6.4.3.3.1　マウスにおけるブトリシランの TK

2.6.4.3.3.1.1.　Tg-rasH2 WT マウスにおけるブトリシランの反復投与 TK

（CTD: 4.2.3.4.2-1、[TTRSC02-DSM18-031]）

CByB6F1-Tg（HRAS）2Jic：野生型マウス（001178-W〔野生型〕RasH2 マウスともいう。以下、「Tg-rasH2 WT マウス」）を用いた非 GLP 反復投与 DRF 試験（試験番号 TTRSC02-DSM18-031；

[表 2.6.7-17]参照）において、ブトリシランの 500、1000 又は 1500 mg/kg を月 1 回 SC 投与（計 3 回）し、血漿中 TK 及び組織内分布（2.6.4.4.3.1 項参照）を検討した。

概して、雄マウスの曝露量が高い傾向がみられたが、ブトリシランの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$の性差は 2 倍未満であった。ブトリシランの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$で評価した曝露量は、500 から 1000 mg/kg では投与量の増加に伴い増加したが、1000 から 1500 mg/kg では投与量比を下回る増加を示した。Day 57 の雌雄を合わせた血漿中 TK データを表 2.6.4.3-6 に示した。

表 2.6.4.3-6　Tg-rasH2 WT マウスにブトリシランの 500、1000 又は 1500 mg/kg を反復 SC 投与したときの血漿における平均 TK パラメータ

Day	**57**		
Dose (mg/kg)	**500**	**1000**	**1500**
T_{max} (h)	1.0	1.0	1.0
C_{max} (µg/mL)	103	165	207
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	435	1040	1060

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間

注：数値は雌雄合計の平均値を示す。n＝3／性／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-DSM18-031

2.6.4.3.3.1.2.　Tg-rasH2 WT 及び C57BL/6NTac マウスにおけるブトリシランの反復投与 TK

（CTD: 4.2.3.4.2-2、[TTRSC02-DSM16-032]）

Tg-rasH2 WT マウス及び C57BL/6NTac マウスを用いた非 GLP 反復投与 DRF 試験（試験番号 TTRSC02-DSM16-032；[表 2.6.7-18]参照）において、ブトリシランの 30、100（C57BL/6NTac マウスのみ）又は 300 mg/kg を月 1 回 SC 投与（計 4 回）し、血漿中 TK 及び組織内分布（2.6.4.4.3.2 項参照）を検討した。

C57BL/6NTac マウスで十分な試料採取時間を設定した TK を検討し、Tg-rasH2 WT マウスで対応する時間で試料を採取して系統間の比較を行った。概して、Day 1 又は Day 85 の全投与量群を通じて血漿におけるブトリシランの TK に明らかな性差は認められなかった（表 2.6.4.3-7 参照）。C57BL/6NTac マウス及び Tg-rasH2 WT マウスにおいて、ブトリシランの 30～300 mg/kg で、ブトリシランの血漿中曝露量は Day 1（初回 SC 投与）及び Day 85（最終 SC 投与）でほぼ用量比例的な増加が認められた。雌雄を合計した AUC 値から、C57BL/6NTac 又は Tg-rasH2 WT マウスのいずれにおいても、ブトリシランの月 1 回反復投与で血漿中における明らかな蓄積性は認められなかった。概して Tg-rasH2 WT マウスについて収集された限られたデータポイントからは、Tg-rasH2 WT マウスにおいてブトリシラン 300 mg/kg 投与群で Day 85 の投与後 336 時間で血漿中濃度が低かったのを除いて、30 及び 300 mg/kg における Day 1 又は Day 85 の投与前（Day 85 のみ）、投与後 0.5、24 又は 336 時間でマウスの血漿中ブトリシラン濃度にマウスの系統差は認められなかった。

表 2.6.4.3-7　ブトリシランの 30、100 又は 300 mg/kg を単回又は反復 SC 投与後の Tg-rasH2 WT 及び C57BL/6NTac マウスの血漿における平均 TK パラメータ

Day	1					85				
Strain	Tg-rasH2 WT		C57BL/6NTac			Tg-rasH2 WT		C57BL/6NTac		
Dose (mg/kg)	30	300	30	100	300	30	300	30	100	300
T_{max} (h)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	2.0	0.5	1.3
C_{max} (µg/mL)	8.15	94.3	8.05	29.1	117	11.3	109	9.96	47.9	133
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	98.0	1150	21.5	89.6	386	135	1330	36.1	157	609

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間

注：数値は雌雄合計の平均値を示す。n＝2／性／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-DSM16-032

2.6.4.3.3.1.3.　CD-1 マウスにおけるブトリシランの反復投与 TK

（CTD: 4.2.3.4.2-3、[TTRSC02-DSM19-009]）

CD-1 マウスを用いた非 GLP 反復投与 DRF 試験（試験番号 TTRSC02-DSM19-009；[表 2.6.7-19]参照）において、ブトリシランの 10、25 又は 50 mg/kg を月 1 回 SC 投与（計 4 回）し、血漿中ブトリシランの TK を検討した。

雌雄マウス共に、血漿中曝露量は投与量の増加に伴い増加した（表 2.6.4.3-8 参照）。雌雄マウス間の TK パラメータの差は 2 倍未満であり、雌で低い傾向であったが、用量比例性及び反復投与の影響に関する結論はすべて雌雄マウスから別々に得ている。Day 1 において、雌雄マウスにおけるブトリシランの C_{max} は、10～25 mg/kg ではほぼ投与量比例性を示し、25～50 mg/kg では投与量比を上回る増加を示した。同様に、Day 1 の $AUC_{0\text{-}t(last)}$は雌雄共に 10～50 mg/kg で投与量比を上回る増加を示した。雌雄とも、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$でみたとき、反復投与によるブトリシランの蓄積性は認められなかった。一般に、雄マウスでは曝露量が高い傾向がみられたにもかかわらず、ブトリシラン曝露量の性差は 2 倍未満であった。

表 2.6.4.3-8　CD-1 マウスにブトリシランの 10、25、50 mg/kg を単回又は反復 SC 投与後の血漿における平均 TK パラメータ

Day	1			85		
Dose (mg/kg)	10	25	50	10	25	50
T_{max} (h)	0.5	1.0	1.0	0.5	1.0	1.0
C_{max} (µg/mL)	2.49	7.70	21.0	2.12	7.52	24.4
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h /mL)	4.52	15.8	39.3	4.35	17.8	55.4

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間

注：数値は雌雄合計の平均値を示す。n＝3／性／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-DSM19-009

2.6.4.3.3.2 ブトリシランのラットにおける TK

ラットにブトリシランを単回及び反復 SC 投与し、血漿中の TK を検討した。TK パラメータに有意な性差は認められなかった。したがって、示した TK パラメータは、特に断りのない限り雌雄を合わせた平均値に基づいている。

2.6.4.3.3.2.1. 用量設定試験での雄ラットにおけるブトリシランの反復投与 TK

（CTD: 4.2.3.2-1、[TTRSC02-DSM15-028]）

雄ラットを用いた非 GLP 反復投与 DRF 試験（試験番号 TTRSC02-DSM15-028；[表 2.6.7-8]参照）において、ブトリシランの 40 又は 120 mg/kg を月 1 回 SC 投与（計 4 回）したときの血漿における TK 及び組織内分布（2.6.4.4.4.2 項参照）を検討した。ブトリシランは投与後 24 時間まで血漿中に検出可能であった。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$は、40～120 mg/kg（表 2.6.4.3-9 参照）でほぼ投与量に比例して増加した。

表 2.6.4.3-9 雄ラットにブトリシランの 40 又は 120 mg/kg を反復 SC 投与後の血漿における平均 TK パラメータ

Day	**85**	
Dose (mg/kg)	**40**	**120**
T_{max} (h)	2.0	2.0
C_{max} (µg/mL)	10.5	24.1
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h /mL)	75.7	235

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間

注：n＝3／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-DSM15-028

2.6.4.3.3.2.2. 13 週間反復投与毒性試験でのラットにおけるブトリシランの反復投与 TK

（CTD: 4.2.3.2-2、[TTRSC02-GLP15-026]）

GLP に準拠したラットにおける 13 週間反復投与毒性並びに 12 週間回復性試験（試験番号 TTRSC02-GLP15-026；[表 2.6.7-9]参照）において、ブトリシランの 12、40 又は 120 mg/kg を月に 1 回 SC 投与（計 4 回）したときの血漿における TK 及び組織内分布（2.6.4.4.4.3 項参照）を検討した。

C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$で評価したブトリシランの曝露量は、12～120 mg/kg では投与量比を上回る増加を示した（表 2.6.4.3-10 参照）。曝露量は、投与 85 日目の 120 mg/kg 投与で $AUC_{0\text{-}t(last)}$が雌と比較して雄で 3.8 倍高かったのを除き、雌雄で同程度（≦2.2 倍）であった（[表 2.6.7-9]参照）。ラッ

トに 12、40 又は 120 mg/kg を月に 1 回反復投与したとき、ブトリシランの蓄積性は認められなかった。

表 2.6.4.3-10　　ラットにブトリシランの 12、40 又は 120 mg/kg を単回又は反復 SC 投与後の血漿における平均 TK パラメータ

Day	**1**			**85**		
Dose (mg/kg)	**12**	**40**	**120**	**12**	**40**	**120**
T_{max} (h)	0.5	0.5	2.0	0.5	2.0	2.0
C_{max} (µg/mL)	1.83	8.73	29.0	1.64	5.00	23.8
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	4.37	26.2	96.5	4.07	15.7	240

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間

注：数値は雌雄合計の平均値を示す。n＝3／性／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-GLP15-026

2.6.4.3.3.2.3.　　6 ヵ月間反復投与毒性試験でのラットにおけるブトリシランの反復投与 TK

（CTD: 4.2.3.2-3、[TTRSC02-GLP15-040]）

GLP に準拠したラット 6 ヵ月間反復投与毒性試験（試験番号 TTRSC02-GLP15-040；[表 2.6.7-10] 参照）において、ブトリシランの 15、50 又は 150 mg/kg を月 1 回 SC 投与（計 8 回）したときの血漿中 TK 及び組織内分布（2.6.4.4.4.4 項参照）を検討した。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$で評価したブトリシランの曝露量は、15～150 mg/kg（表 2.6.4.3-11 参照）において投与量比例性を上回る増加を示した。ブトリシランの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$における性差は 2 倍未満であった。ラットに月 1 回反復 SC 投与したとき、ブトリシランの蓄積性は認められなかった。

表 2.6.4.3-11　　ラットにブトリシランの 15、50 又は 150 mg/kg を単回又は反復 SC 投与後の血漿にける平均 TK パラメータ

Day	**1**			**197**		
Dose (mg/kg)	**15**	**50**	**150**	**15**	**50**	**150**
T_{max} (h)	2.0	0.5	2.0	2.0	2.0	2.0
C_{max} (µg/mL)	2.24	13.2	42.4	1.53	7.33	29.1
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	7.26	46.4	194	8.91	43.8	331

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間

注：数値は雌雄合計の平均値を示す。n＝3／性／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-GLP15-040

2.6.4.3.3.2.4.　探索的 6 ヵ月間反復投与毒性試験での雌ラットにおけるブトリシランの反復投与 TK

（CTD: 4.2.3.2-4、[TTRSC02-DSM17-011]）

投与スケジュールが肝臓の病巣形成に及ぼす影響を検討する雌ラットを用いた非 GLP 6 ヵ月探索反復投与毒性試験及び 3 ヵ月間回復性試験において、ブトリシランの 5 又は 50 mg/kg を月 1 回 SC 投与（計 7 回）若しくは 10 又は 50 mg/kg を 3 ヵ月に 1 回 SC 投与（計 3 回）し、血漿における TK 及び組織内分布（2.6.4.4.4.5 項参照）を検討した（試験番号 TTRSC02-DSM17-011；[表 2.6.7-11]参照）。

血漿での曝露量は、5 mg/kg の月 1 回投与群を除いて、各投与量で C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$共に投与量の増加に伴って増加し、月 1 回投与と 3 ヵ月に 1 回投与の頻度で同程度であった（表 2.6.4.3-12 参照）。Day 1 ではブトリシランの C_{max} は 5～10 mg/kg で投与量にほぼ比例して増加し、10～50 mg/kg では投与量比を上回って増加した。同様に、10～50 mg/kg を 3 ヵ月に 1 回投与の Day 1 の $AUC_{0\text{-}t(last)}$は投与量比を上回る増加を示した。Day 169 では、C_{max} は 5～50 mg/kg の月 1 回投与で投与量にほぼ比例して増加したが、10～50 mg/kg を 3 ヵ月に 1 回投与では投与量比を上回って増加した。Day 169 には、5～50 mg/kg を月 1 回投与で投与量比例性を下回る $AUC_{0\text{-}t(last)}$の増加が認められ、10～50 mg/kg を 3 ヵ月に 1 回投与では投与量比例性を上回る増加が認められた。反復投与による曝露量への影響は、5 mg/kg を月 1 回投与及び 10 又は 50 mg/kg を 3 ヵ月に 1 回投与では認められなかった。月 1 回投与後の Day 169 の曝露量は、3 ヵ月に 1 回投与と比較して低く、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$でみた月 1 回投与の曝露量は、3 ヵ月に 1 回投与のそれぞれ 0.32 倍及び 0.51 倍であった。

表 2.6.4.3-12　雌ラットにブトリシランの 5 又は 50 mg/kg（qM）若しくは 10 又は 50 mg/kg（q3M）を単回又は反復 SC 投与後の血漿における平均 TK パラメータ

Day	**1**				**169**			
Regimen	**qM×7**		**q3M×3**		**qM×7**		**q3M×3**	
Dose (mg/kg)	**5**	**50**	**10**	**50**	**5**	**50**	**10**	**50**
T_{max}(h)	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
C_{max} (µg/mL)	0.292	6.20	0.681	7.23	0.259	2.56	0.828	7.90
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	NC[a]	27.1	2.83	29.4	3.26	18.0	4.33	35.6

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；NC＝計算不能；qM＝月 1 回；q3M＝3 ヵ月に 1 回；T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間

注：n＝3／群／時点

a 定量下限（10 ng/mL）を超えたタイムポイントが 1 時点のみであったため、$AUC_{0\text{-}t(last)}$を正確に測定することはできなかった。

出典：試験番号 TTRSC02-DSM17-011

2.6.4.3.3.2.5.　小核試験におけるラットでのブトリシランの単回投与 TK

（CTD: 4.2.3.3.2-1、[TTRSC02-GLP15-028]）

GLP に準拠した小核試験（試験番号 TTRSC02-GLP15-028；[表 2.6.7-16]参照）において、500、1000 又は 2000 mg/kg を単回 SC 投与したときの血漿における TK を検討した。雄ラットでは、ブトリシランの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$は投与量にほぼ比例して増加した（表 2.6.4.3-13 参照）。C_{max} は 102～293 µg/mL、$AUC_{0\text{-}t(last)}$は 1220～5240 µg·h/mL であった。雌ラットのブトリシランの全身曝露は、2000 mg/kg のみ評価し、ブトリシランの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$はそれぞれ 241 µg/mL 及び 3230 µg·h/mL であった。曝露量は雌よりも雄でやや高かったが、その差は 2 倍未満であった。

表 2.6.4.3-13　小核試験でラットにブトリシランの 500、1000 又は 2000 mg/kg を単回投与後の血漿における平均 TK パラメータ

Day	**1**				
Sex	**Male**			**Female**	**Overall**
Dose (mg/kg)	**500**	**1000**	**2000**	**2000**	**2000**
T_{max} (h)	2.0	1.0	1.0	1.0	1.0
C_{max} (µg/mL)	102	173	293	241	267
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	1220	2150	5240	3230	4370

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間

注：n＝3／性／群／時点。雌の TK 用の採血は高投与量群のみで行った。

出典：試験番号 TTRSC02-GLP15-028

2.6.4.3.3.2.6.　ラットにおける 2 年間投与がん原性試験でのブトリシランの反復投与 TK

（CTD: 4.2.3.4.1-1、[TTRSC02-GLP18-003]）

GLP に準拠した 2 年間投与がん原性試験において、雄ラットにブトリシランの 4.0、7.5 又は 15 mg/kg を月 1 回及び 15 mg/kg を 3 ヵ月に 1 回 SC 投与、並びに雌ラットにブトリシランの 6.0、12.5 又は 25 mg/kg を月 1 回及び 25 mg/kg を 3 ヵ月に 1 回 SC 投与して血漿における TK を検討した（試験番号 TTRSC02-GLP18-003；[表 2.6.7-20]参照）。

ブトリシランを月 1 回投与した動物では、C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$で評価した曝露は、雄で 4.0～15 mg/kg、雌で 6.0～25 mg/kg において投与量増加と共に増加した。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$はほぼ投与量に比例して増加した。月 1 回ブトリシランを 15 mg/kg（雄）及び 25 mg/kg（雌）投与した動物の曝露量はブトリシランを 3 ヵ月に 1 回投与した動物の曝露量と類似していた。C_{max} は反復投与したとき、類似又は少し低い値を示した。Day 1 に比べて Day 169 において投与後期の時間で測定可能な濃度が多いため、$AUC_{0\text{-}t(last)}$は反復投与したとき明らかに大きかった。

表 2.6.4.3-14　ブトリシランの 4.0／6.0、7.5／12.5 又は 15/25 mg/kg（qM）又は 15／25 mg/kg（q3M）を単回又は反復 SC 投与後のラットの血漿における平均 TK パラメータ

Sex	**Male**				**Female**			
Regimen	**qM**			**q3M**	**qM**			**q3M**
Dose (mg/kg)	**4.0**	**7.5**	**15**	**15**	**6.0**	**12.5**	**25**	**25**
Day	**1**							
T_{max} (h)	0.5	0.5	1.0	1.0	0.5	0.5	1.0	1.0
C_{max} (µg/mL)	0.642	0.833	3.08	3.07	0.598	1.57	4.81	5.04
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	1.13	2.27	7.82	8.46	1.42	5.08	12.8	12.4
Day	**169**							
T_{max} (h)	0.5	2.0	0.5	2.0	0.5	2.0	1.0	1.0
C_{max} (µg/mL)	0.419	0.847	1.77	2.01	0.876	1.60	2.21	2.54
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	2.39	7.89	17.4	16.6	2.29	7.62	15.8	26.9

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；qM＝月 1 回；q3M＝3 ヵ月に 1 回；T_{max}＝最高濃度到達時間

注：n＝3／性／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-GLP18-003

2.6.4.3.3.2.7.　用量設定試験での妊娠ラットにおけるブトリシランの反復投与 TK

（CTD: 4.2.3.5.1-1、[TTRSC02-GLP16-013]）

GLP に準拠した生殖発生毒性 DRF 試験（試験番号 TTRSC02-GLP16-013；[表 2.6.7-21]参照）において、無処置の雄性ラットとの交配前に、雌性ラットにブトリシランの 15、50 又は 150 mg/kg を週 1 回（計 3 回）SC 投与、また交配後にブトリシランの 3、10 又は 30 mg/kg を 1 日 1 回（計 12 回）SC 投与し、血漿における TK 及び組織内分布（2.6.4.4.4.6 項参照）を検討した。さらに雌ラットに AD-59206 の 30 mg/kg（計 3 回）を、無処置の雄ラットと交配前、また交配後の GD 6、GD 12、GD 17 に SC 投与した。

GD 17 での C_{max} は 3～30 mg/kg でほぼ投与量に比例、又は投与量比を上回って増加した（表 2.6.4.3-15 参照）。なお、ブトリシラン及び AD-59206 を投与したラットはいずれも交配前に週 1 回（計 3 回）投与されていたが、GD 6～GD 17 で蓄積性は認められなかった。

表 2.6.4.3-15　ブトリシランの 15/3、50/10、150/30 mg/kg 又は AD-59206 の 30 mg/kg を単回又は反復 SC 投与後の妊娠ラットの血漿における平均 TK パラメータ

Day	**GD 6**				**GD 17**			
Test Article	**Vutrisiran**			**AD-59206**	**Vutrisiran**			**AD-59206**
Dose (mg/kg)	**15/3**	**50/10**	**150/30**	**30**	**15/3**	**50/10**	**150/30**	**30**
T_{max} (h)	1.0	1.0	1.0	1.0	2.0	1.0	2.0	1.0
C_{max} (µg/mL)	0.266	0.792	7.10	3.86	0.253	0.640	7.44	1.79
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	0.458	1.26	25.4	10.7	1.33	2.87	34.7	6.58

略語：AD-59206＝マウス／ラットで薬理活性を示す revusiran 及びブトリシランのサロゲート；$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；GD＝妊娠日齢；T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間

注：ブトリシランの 15、50 又は 150 mg/kg を交配前に週 1 回（3 回）、3、10 又は 30 mg/kg を GD 6 から GD 17 まで 1 日 1 回投与した。AD-59206 を交配前 30 mg/kg を週 1 回（3 回）、30 mg/kg を GD 6、GD 12 及び GD 17 に投与した。n＝3／投与群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-GLP16-013

2.6.4.3.3.2.8.　受胎能及び着床までの初期胚発生試験でのラットにおけるブトリシランの反復投与 TK

（CTD: 4.2.3.5.1-2、[TTRSC02-GLP18-005]）

GLP に準拠した雌雄ラットの反復投与受胎能及び着床までの初期胚発生試験（試験番号 TTRSC02-GLP18-005；[表 2.6.7-24]参照）において、雌雄成熟ラットにブトリシランの 15、30 又は 70 mg/kg を交配前（雄 5 回；雌 3 回）、交配中（雄 2 回；雌 1 回）及び交配後（交配が確認された場合は GD 6 の雌 1 回）に週 1 回 SC 投与し血漿における TK を検討した。

SC 投与後、ブトリシランは、すべての群について、交配 14 日及び GD 6 の投与 24 時間後まで測定可能であった。ブトリシラン濃度は投与量増加（15 mg/kg から 70 mg/kg）と共に増加した（表 2.6.4.3-16 参照）。ブトリシラン濃度は雌ラットよりも雄ラットで一貫して高かったが、その差は 2 倍を超えなかった。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$は投与量比を上回る増加を示した。

表 2.6.4.3-16　ラットにブトリシランの 15、30 又は 70 mg/kg を反復 SC 投与後の血漿における平均 TK パラメータ

Sex	**Male**			**Female**		
Day	**14**			**GD 6**		
Dose (mg/kg)	**15**	**30**	**70**	**15**	**30**	**70**
T_{max} (h)	1.0	2.0	0.3	1.0	1.0	1.0
C_{max} (µg/mL)	2.51	8.11	19.6	2.49	7.55	17.6
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	9.81	42.4	135	7.76	30.1	75.7

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；GD＝妊娠日齢；T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間

注：n＝3／性／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-GLP18-005

2.6.4.3.3.2.9. 胚・胎児発生に関する試験での妊娠ラットにおけるブトリシランの反復投与 TK

（CTD: 4.2.3.5.2-2、[TTRSC02-GLP18-013]）

GLP に準拠した交配雌ラットを用いた反復投与胚・胎児発生毒性試験及び TK 試験（試験番号 TTRSC02-GLP18-013；[表 2.6.7-25]参照）において、ブトリシランの 3、10 又は 30 mg/kg を投与（GD 6～GD 17 まで計 12 回）したときの血漿における TK を検討した。

C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$で評価した曝露量は、投与量の増加（3～30 mg/kg）に伴い増加した（表 2.6.4.3-17 参照）。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$は 3～10 mg/kg ではほぼ投与量比例性を示し、10～30 mg/kg では投与量比を上回る増加を示した。妊娠ラットに反復投与したとき、ブトリシランの蓄積性は認められなかった。3 mg/kg 群の $AUC_{0\text{-}t(last)}$で GD 6 より GD 17 が 2 倍であったのを除いて、ブトリシランの C_{max} と $AUC_{0\text{-}t(last)}$は、GD 6 と GD 17 で類似していた。3 mg/kg での血漿中濃度は GD 17 の 8 時間と 24 時間で定量可能であったが、GD 6 のこれらの時点では BLQ であった。

表 2.6.4.3-17 妊娠ラットにブトリシランの 3、10 又は 30 mg/kg を単回又は反復 SC 投与後の血漿における平均 TK パラメータ

Day	**GD 6**			**GD 17**		
Dose (mg/kg)	**3**	**10**	**30**	**3**	**10**	**30**
T_{max} (h)	1.0	1.0	1.0	0.3	1.0	1.0
C_{max} (µg/mL)	0.312	1.00	7.43	0.264	0.883	6.13
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	0.509	3.18	28.2	1.27	4.82	29.1

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；GD＝妊娠日齢；T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間

注：n＝3／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-GLP18-013

2.6.4.3.3.2.10. 出生前及び出生後の発生に関する試験でのラットにおけるブトリシランの反復投与 TK

（CTD: 4.2.3.5.3-1、[TTRSC02-GLP19-007]）

交配した雌ラットにおける GLP に準拠した反復投与出生前及び出生後の発生毒性試験（試験番号 TTRSC02-GLP19-007；[表 2.6.5-13]参照；[表 2.6.7-27]参照）において、ブトリシランの 5、10 又は 20 mg/kg を投与（計 5 回投与；GD 7、GD 13 及び GD 19 並びに授乳日〔LD〕 6 及び LD 12）し、血漿における TK を検討した。

C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$で評価した曝露量は、母動物では投与量の増加（5～20 mg/kg）に伴い増加した（表 2.6.4.3-18 参照）。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$はほぼ投与量比例性を示したが、$AUC_{0\text{-}t(last)}$は 5～10 mg/kg では投与量比を明らかに上回る増加を示し、10～20 mg/kg ではほぼ投与量比例性を示し

た。5 mg/kg 投与群の血漿中濃度は、投与後 2 時間以降測定不能であった。すべての仔動物血漿中のブトリシラン濃度は LLOQ（＜20.0 ng/mL）であった。

表 2.6.4.3-18　授乳中のラットにブトリシランの 5、10、又は 20 mg/kg を反復 SC 投与後の血漿における平均 TK パラメータ

Day	**LD 12**		
Dose (mg/kg)	**5**	**10**	**20**
T_{max} (h)	0.3	1.0	1.0
C_{max} (µg/mL)	0.452	1.10	2.59
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	0.766	4.08	8.61

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；LD＝授乳日；T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間

注：n＝3／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-GLP19-007

2.6.4.3.3.3　ウサギにおけるブトリシランの TK

2.6.4.3.3.3.1.　用量設定試験での妊娠ウサギにおけるブトリシランの反復投与 TK

（CTD: 4.2.3.5.2-3、[TTRSC02-GLP16-012]）

GLP に準拠した妊娠雌ウサギを用いた DRF 反復投与生殖発生毒性試験（試験番号 TTRSC02-GLP16-012；[表 2.6.7-23]参照）において、ブトリシランの 3、10 又は 30 mg/kg を SC 投与（計 13 回；GD 7～GD 19）し、血漿における TK 及び組織内分布（2.6.4.4.5.1 項参照）を検討した。C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$で評価した曝露量は、GD 19 において投与量比を上回る増加を示した（表 2.6.4.3-19 参照）。妊娠ウサギに反復投与したとき、ブトリシランの蓄積性は認められなかった。

表 2.6.4.3-19　妊娠ウサギにブトリシランの 3、10 又は 30 mg/kg を単回又は反復 SC 投与後の血漿における平均 TK パラメータ

Day	**GD 7**			**GD 19**		
Dose (mg/kg)	**3.41[a]**	**10**	**30**	**3**	**10**	**30**
T_{max} (h)	1.3	1.0	1.3	1.0	1.3	1.7
C_{max} (µg/mL)	0.620	3.43	17.4	0.629	2.26	13.8
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	2.04	11.2	76.7	1.47	9.27	60.2

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；GD＝妊娠日齢；T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間

注：n＝3／群／時点

a 実際に投与した濃度は予定した濃度ではなく、予定濃度の平均値 113.8%であった。TK の算出には、実投与量（3.41 mg/kg）を用いた。

出典：試験番号 TTRSC02-GLP16-012

2.6.4.3.3.3.2.　胚・胎児発生に関する試験での妊娠ウサギにおけるブトリシランの反復投与 TK

（CTD: 4.2.3.5.2-4、[TTRSC02-GLP18-014]）

GLP に準拠した妊娠雌ウサギを用いた胚・胎児発生毒性試験（試験番号 TTRSC02-GLP18-014；[表 2.6.7-26]参照）において、ブトリシランの 3、10 又は 30 mg/kg を SC 投与（計 13 回；GD 7～GD 19）したときの血漿における TK を検討した。

C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$で評価した曝露量は、3～30 mg/kg の投与量の増加に伴い増加した（表 2.6.4.3-20 参照）。平均 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$は投与量比を上回る増加を示した。3 mg/kg の反復投与による蓄積性は認められなかった。10 及び 30 mg/kg の反復投与により、GD 7 と比較して GD 19 の平均 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$がわずかに高くなったが、これらの差は概して 2 倍以下であった。

表 2.6.4.3-20　妊娠ウサギにブトリシランの 3、10 又は 30 mg/kg の単回又は反復 SC 投与後の血漿における平均 TK パラメータ

Day	**GD 7**			**GD 19**		
Dose (mg/kg)	**3**	**10**	**30**	**3**	**10**	**30**
T_{max} (h)	1.4	1.7	1.7	1.0	1.3	2.0
C_{max} (µg/mL)	0.318	1.84	9.78	0.508	3.34	12.9
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	1.55	7.28	37.3	1.61	14.5	67.4

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；GD＝妊娠日齢； T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間

注：n＝3／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-GLP18-014

2.6.4.3.3.4　サルにおけるブトリシランの TK

サルにブトリシラン（全長二本鎖として定量）を単回及び反復 SC 投与したときの血漿における TK を評価した。TK 試験を行った毒性試験の要約を表 2.6.4.3-1 に示す。

2.6.4.3.3.4.1.　安全性薬理試験での雄サルにおけるブトリシランの単回投与血漿中濃度

（CTD: 4.2.1.3-1、[TTRSC02-GLP-037]）

GLP に準拠した雄サルを用いた単回投与心血管系及び呼吸器系安全性薬理試験（試験番号 TTRSC02-GLP-037；[表 2.6.3-4]参照）で、ブトリシランの 30 又は 300 mg/kg を単回 SC 投与後、2 時点（テレメトリーモニタリングを妨げない時点）で血漿中ブトリシラン濃度を測定した。投与後 6 及び 25 時間の血漿中ブトリシラン濃度（表 2.6.4.3-21 参照）から、安全性薬理試験中にサルがブトリシランに曝露されたことが確認された。

表 2.6.4.3-21　雄サルにブトリシランの 30 又は 300 mg/kg を単回 SC 投与後のブトリシランの平均血漿中濃度

Dose (mg/kg)	**30**		**300**	
Time Postdose (h)	**6**	**25**	**6**	**25**
Plasma concentration (µg/mL)	5.49	0.058	49.1	12.6

注：n＝4／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-GLP-037

2.6.4.3.3.4.2.　用量設定試験でのサルにおけるブトリシランの反復投与 TK

（CTD: 4.2.3.2-5、[TTRSC02-DSM15-027]）

非 GLP 雌サルを用いた反復投与 DRF 毒性試験（試験番号 TTRSC02-DSM15-027；[表 2.6.7-8]参照）において、ブトリシランの 100 又は 300 mg/kg（計 4 回）を月に 1 回 SC 投与したときの血漿における TK 及び組織内分布（2.6.4.4.6.2 項参照）を検討した。C_{max} 後の試料採取時間におけるデータが不十分なため、Day 85 の正確な $t_{1/2}$ を得られなかった。そのため、投与から投与 24 時間後までの AUC（AUC_{0-24}）を用いて、投与量比例性の検討を行った。ブトリシランの血漿中 C_{max} 及び AUC_{0-24} はほぼ投与量に比例して上昇した（表 2.6.4.3-22 参照）。4 ヵ月間投与で血漿中のブトリシランの蓄積は認められなかった。

表 2.6.4.3-22　雌サルにブトリシランの 100 又は 300 mg/kg を単回又は反復 SC 投与後の血漿における平均 TK パラメータ

Day	**1**		**85**	
Dose (mg/kg)	**100**	**300**	**100**	**300**
T_{max} (h)	1.0	5.5	1.7	4.3
C_{max} (µg/mL)	34.6	107	47.4	82.8
$AUC_{0-t(last)}$ (µg·h/mL)	533	3320	425	1570
AUC_{0-24} (µg·h/mL)	447	1760	425	1570

略語：AUC_{0-24}＝投与から投与 24 時間後までの AUC；$AUC_{0-t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間

注：n＝3／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-DSM15-027

2.6.4.3.3.4.3.　13 週間反復投与毒性試験でのサルにおけるブトリシランの反復投与 TK

（CTD: 4.2.3.2-6、[TTRSC02-GLP15-025]）

GLP に準拠したサルを用いた 12 週間の回復期間を伴う 13 週間反復投与毒性試験（試験番号 TTRSC02-GLP15-025；[表 2.6.7-12]参照）において、ブトリシランの 30、100 又は 300 mg/kg を月 1 回（計 4 回）SC 投与し、血漿における TK 及び組織内分布（2.6.4.4.6.3 項参照）を検討した。血漿における C_{max} 及び $AUC_{0-t(last)}$は、30～300 mg/kg でほぼ投与量に比例して増加した（表 2.6.4.3-23 参

照）。サルに 30、100 及び 300 mg/kg を月 1 回反復投与したときの平均 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$の性差は 2 倍未満であり、血漿中のブトリシランの蓄積は認められなかった。

表 2.6.4.3-23　サルにブトリシランの 30、100 又は 300 mg/kg を単回又は反復 SC 投与後の血漿における平均 TK パラメータ

Day	**1**			**85**		
Dose (mg/kg)	**30**	**100**	**300**	**30**	**100**	**300**
T_{max} (h)	2.3	3.0	2.6	3.3	2.8	4.2
C_{max} (µg/mL)	10.9	25.1	67.4	6.88	28.4	60.1
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	64.0	312	1010	77.8	345	1360

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間

注：数値は雌雄合計の平均値を示す。n＝5／性／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-GLP15-025

2.6.4.3.3.4.4.　9 ヵ月反復投与毒性試験でのサルにおけるブトリシランの反復投与 TK

（CTD: 4.2.3.2-7、[TTRSC02-GLP15-039]）

GLP に準拠したサルを用いた 9 ヵ月間反復投与毒性試験（試験番号 TTRSC02-GLP15-039；[表 2.6.7-13]参照）において、ブトリシランの 30、100 又は 300 mg/kg を月 1 回（計 11 回）SC 投与し、血漿における TK 及び組織内分布（2.6.4.4.6.4 項参照）を検討した。ブトリシランの血漿における C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$は 30～300 mg/kg でほぼ投与量に比例して増加した（表 2.6.4.3-24 参照）。Day 253 の雌雄合計の平均 C_{max} は 8.53～71.7 µg/mL、Day 253 の $AUC_{0\text{-}t(last)}$は 86～1170 µg·h/mL であった。ブトリシランの平均 C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$の性差は 2 倍未満であり、サルに反復投与した場合、血漿中のブトリシランの蓄積は認められなかった。血漿曝露量は ADA の存在に影響されなかった。

表 2.6.4.3-24　サルにブトリシランの 30、100 又は 300 mg/kg を単回又は反復 SC 投与後の血漿における平均 TK パラメータ

Day	**1**			**253**		
Dose (mg/kg)	**30**	**100**	**300**	**30**	**100**	**300**
T_{max} (h)	1.4	2.3	1.1	3.5	3.5	5.1
C_{max} (µg/mL)	13.2	42.8	90.9	8.53	29.1	71.7
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	66.5	433	1140	86.0	479	1170

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；T_{max}＝最高血漿中濃度到達時間

注：数値は雌雄合計の平均値を示す。n＝4／性／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-GLP15-039

2.6.4.3.4 サルにおける薬物動態と薬力学の関係

（CTD: 4.2.2.2-2、[TTRSC02-DSM15-035]）

IV（10 mg/kg）及び SC（0.3、1、3 又は 30 mg/kg）投与後の、TTR の最大の低下に対するブトリシラン投与量及び肝臓での曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$）の PK/PD を評価した（試験番号 TTRSC02-DSM15-035；表 2.6.4.3-25 参照）。ブトリシランの 10 mg/kg を急速 IV 投与した後、肝臓での C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$はそれぞれ 10.5 µg/g 及び 7450 µg·h/g であり、ほぼ Day 30 に血漿中 TTR たん白質が約 84%減少した。

SC 投与したとき、ブトリシランの曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$）と血漿中 TTR たん白質濃度との PK/PD は、用量依存的であった（図 2.6.4.3-5 参照）。ブトリシランの肝臓における曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$）は投与量にほぼ比例した。

ブトリシランは、0.3、1、3 又は 30 mg/kg の単回 SC 投与後、雌雄共に用量依存的にベースラインと比較して血漿中 TTR たん白質を減少させた。TTR の最大の低下に、すべての群で投与後 504～840 時間（Day 21～Day 35）までに到達し、ベースライン値に対する割合は 44～95%であった。0.3 mg/kg では、血漿中 TTR たん白質の最大減少率は、ベースラインに比較してそれぞれ雄で 49%、雌で 44%であった。血漿中 TTR たん白質濃度は、雌雄とも投与後 1344 時間（Day 56）までベースラインと比較して 27～36%以内に低下したままであった。1 及び 3 mg/kg の雌雄共に、血漿中 TTR たん白質のベースラインに対する 80%以上の最大減少となり、投与 1344 時間後（Day 56）までにベースラインに対する約 65～90%の TTR 減少が維持された。ブトリシランの 30 mg/kg 投与により、雌雄の TTR たん白質はベースラインと比較して最大で約 90～95%減少し、この減少レベルは投与 1344 時間後（Day 56）まで維持された。

1 mg/kg を反復 SC 投与（月 1 回、4 ヵ月間）したとき血漿中 TTR は、最終投与から 2 週間後（初回投与から Day 99）に 90%を超える最大低下を示し、75%を超える血漿中 TTR の低下が初回投与から Day 141 まで維持された。要約すると、本試験の SC 単回投与群及び反復投与群のすべてにおいて、ブトリシランの薬理活性が認められ、TTR の血漿中濃度は、単回投与後及び最終投与後それぞれ 1344 時間及び 1368 時間（Day 56 及び Day 57）の観察期間を通じて低下したままであった。注目すべきこととして、1 mg/kg を SC 投与したとき、10 mg/kg の IV と比較して同様の TTR 減少を生じた。さらに、1 mg/kg を SC 投与したときの肝臓曝露量は 10 mg/kg を IV 投与したときと同程度であり、SC 投与後のブトリシランのより効率的な肝臓への取り込みが示された。

表 2.6.4.3-25 サルにブトリシランの 10 mg/kg を単回 IV 投与若しくは 0.3、1、3 又は 30 mg/kg を単回 SC 投与したときの血漿及び肝臓における平均曝露量及び最大 TTR 減少量

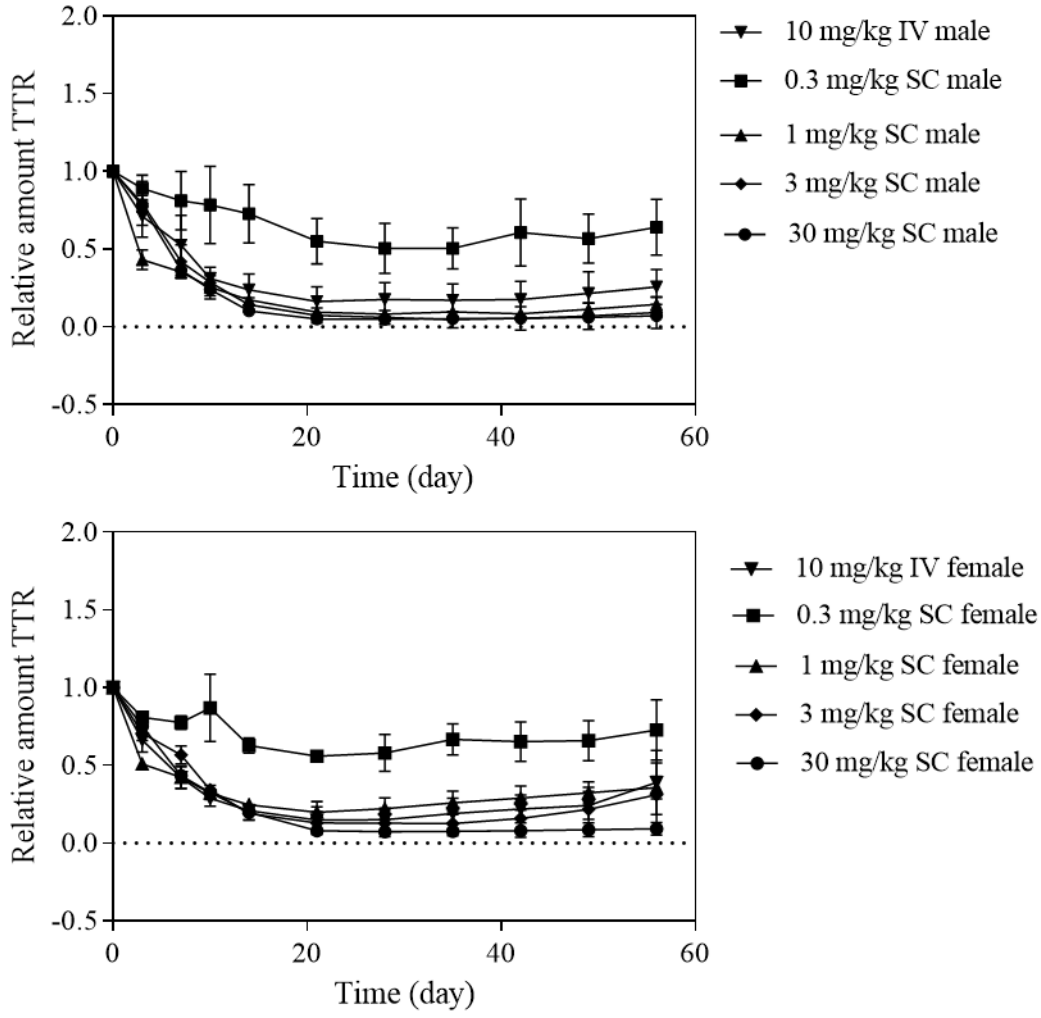
Dose (mg/kg) (Route)	Sex	Plasma		Liver		PD (Plasma TTR)	
		C_{max} (µg/mL)	$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	C_{max} (µg/g)	$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/g)	%Maximum TTR Reduction[a]	AUEC (µg·day/mL)
10 (IV)	Male	145	77.6	8.07	7880	84	2963
	Female	158	86.6	16.1	7030	85	4022
	Combined	152	82.1	10.5	7450	84	3493
0.3 (SC)	Male	0.0384	0.0894	6.82	2540	49	7513
	Female	0.0384	0.121	5.74	1820	44	8747
	Combined	0.0384	0.105	6.28	2210	46	8130
1 (SC)	Male	0.116	0.596	17.0	7150	92	5734
	Female	0.101	0.669	20.2	4530	80	10,340
	Combined	0.109	0.632	18.6	6140	85	8037
3 (SC)	Male	0.552	3.26	49.1	21,200	95	1888
	Female	0.303	1.62	44.0	11,400	87	3165
	Combined	0.428	2.44	46.4	16,300	91	2527
30 (SC)	Male	7.80	56.6	304	154,000	95	2316
	Female	7.11	53.4	428	129,000	93	2865
	Combined	7.46	55.0	330	142,000	94	2591

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；AUEC＝効果曲線下面積；C_{max}＝T_{max} における最高血漿中濃度の実測値；IV＝静脈内；PD＝薬力学；SC＝皮下；TTR＝トランスサイレチン

a ベースラインとの比較。特に断りのない限り n＝3／性／時点。

出典：試験番号 TTRSC02-DSM15-035

図 2.6.4.3-5 サルにブトリシランの 10 mg/kg を単回 IV 投与若しくは 0.3、1、3 又は 30 mg/kg を単回 SC 投与したときの血漿中トランスサイレチンたん白質濃度のベースラインに対する平均値（±SD）



略語：IV＝静脈内；LLOQ＝定量下限；SC＝皮下；SD＝標準偏差；TTR＝トランスサイレチン

注：LLOQ＝1.13 ng/mL。n=3／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-DSM15-035 より改変。

2.6.4.4 分布

ブトリシランの生体内分布を明らかにするため、*in vitro* 及び *in vivo* 試験を実施した。

これらの試験の一覧を表 2.6.4.4-1 に示す。構造的に類似した GalNAc-siRNA に関するデータから、全身に循環する薬物は主に肝臓に（ASGPR を介した肝細胞への取込みを介して）取り込まれ、また二次的に腎臓に取り込まれ、他の組織への分布は無視できることが示されているため、肝臓と腎臓を主な検討対象とした。

表 2.6.4.4-1 ブトリシランの分布試験

Species and Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	Type of Study	Study Number (Tabulated Summary) CTD Location
Plasma Protein Binding					
Mouse, Rat, Monkey, and Human plasma	*In vitro*	1 hour incubation	0.5, 1, 5, 10, 25, 50 µg/mL	Non-GLP plasma protein binding	BA18007 (表 2.6.5-12) CTD: 4.2.2.3-1
Single- and Multiple-Dose Organ Distribution					
Mouse/ Tg-rasH2 WT	SC	8 weeks (qM×3)	0, 500, 1000, 1500	Non-GLP DRF repeat-dose toxicity and TK	TTRSC02-DSM18-031 (表 2.6.7-17) CTD: 4.2.3.4.2-1
Mouse/ Tg-rasH2 WT Mouse/ C57BL/6NTac	SC	12 weeks (qM×4)	Tg-rasH2 WT: 30, 300 C57BL/6NTac: 0, 30, 100, 300	Non-GLP DRF repeat-dose toxicity and TK	TTRSC02-DSM16-032 (表 2.6.7-18) CTD: 4.2.3.4.2-2
Rat/Sprague Dawley	SC	Single dose or qM×4	0.3, 1, 3 (single dose); 1, 40 (qM×4)	Non-GLP PK	TTRSC02-DSM15-033 (表 2.6.5-9) CTD: 4.2.2.2-1
Rat/Sprague Dawley	SC	13 weeks (qM×4)	0, 40, 120	Non-GLP DRF repeat-dose toxicity and TK	TTRSC02-DSM15-028 (表 2.6.7-8) CTD: 4.2.3.2-1
Rat/Sprague Dawley	SC	13 weeks (qM×4)	0, 12, 40, 120	GLP repeat-dose toxicity and TK	TTRSC02-GLP15-026 (表 2.6.7-9) CTD: 4.2.3.2-2
Rat/Sprague Dawley	SC	6 months (qM×8)	0, 15, 50, 150	GLP repeat-dose toxicity and TK	TTRSC02-GLP15-040 (表 2.6.7-10) CTD: 4.2.3.2-3
Rat/Sprague Dawley	SC	6 months (qM×7 or q3M×3)	0, 5, 50 (qM×7): 10, 50 (q3M×3)	Non-GLP investigative repeat-dose toxicity and TK	TTRSC02-DSM17-011 (表 2.6.7-11) CTD: 4.2.3.2-4
Rat/Sprague Dawley	SC	Single dose	[^{3}H]-vutrisiran: 3	Radiolabeled mass balance and tissue distribution by QWBA	TTRSC02-DSM17-009 (表 2.6.5-10) CTD: 4.2.2.3-2

表 2.6.4.4-1 ブトリシランの分布試験（続き）

Species and Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	Type of Study	Study Number (Tabulated Summary) CTD Location
Monkey/ Cynomolgus	IV bolus; SC	Single dose or qM×4	10 IV (single dose); 0.3, 1, 3, 30 SC (single dose); 0.3, 1 SC (qM×4)	Non-GLP PK	TTRSC02-DSM15-035 (表 2.6.5-11) CTD: 4.2.2.2-2
Monkey/ Cynomolgus	SC	13 weeks (qM×4)	0, 100, 300	Non-GLP DRF repeat-dose toxicity and TK	TTRSC02-DSM15-027 (表 2.6.7-8) CTD: 4.2.3.2-5
Monkey/ Cynomolgus	SC	13 weeks (qM×4)	0, 30, 100, 300	GLP repeat-dose toxicity and TK	TTRSC02-GLP15-025 (表 2.6.7-12) CTD: 4.2.3.2-6
Monkey/ Cynomolgus	SC	9 months (qM×11)	0, 30, 100, 300	GLP repeat-dose toxicity and TK	TTRSC02-GLP15-039 (表 2.6.7-13) CTD: 4.2.3.2-7
Studies in Pregnant or Nursing Animals					
Rat/Sprague Dawley	SC	Vutrisiran: PM (qw×3) and GD 6-17 AD-59206: PM (qw×3) and GD 6, 12, 17	Vutrisiran: PM: 0, 15, 50, 150 GD 6-17: 0, 3, 10, 30 AD-59206: PM: 30 GD 6, 12, 17: 30	GLP DRF reproductive and developmental toxicity and TK	TTRSC02-GLP16-013 (表 2.6.7-21) CTD: 4.2.3.5.1-1
New Zealand White Rabbits	SC	GD 7-19	0, 3, 10, 30	GLP DRF reproductive and developmental toxicity and TK	TTRSC02-GLP16-012 (表 2.6.7-23) CTD: 4.2.3.5.2-3

略語：AD-59206＝マウス／ラットで薬理活性を示す revusiran 及びブトリシランのサロゲート；Admin.＝投与；CTD＝コモンテクニカルドキュメント；DRF＝用量設定；EFD＝胚・胎児発生；GD＝妊娠日齢；GLP＝医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；IV＝静脈内；PK＝薬物動態；PM＝交配前；q3M＝3 ヵ月に 1 回；qM＝月 1 回；qw＝週 1 回；QWBA＝定量的全身オートラジオグラフィー；SC＝皮下；TK＝トキシコキネティクス；WT＝野生型

a 特に記載のない場合

2.6.4.4.1　　血漿たん白結合

（CTD: 4.2.2.3-1、[BA18007]）

ブトリシランのマウス、ラット、サル及びヒト血漿たん白結合率を EMSA を用いて測定した（試験番号 BA18007；[表 2.6.5-12]参照）。ブトリシランの 0.5、1、5、10、25 又は 50 µg/mL を血漿又はリン酸緩衝生理食塩水（PBS）と共に 37°C、1 時間インキュベート後 EMSA で測定した。この測定では、ブトリシランをゲルの核酸染色によって検出した。PBS とインキュベーションすると、バンドは最も遠くまで動く（遊離薬物 100%とした）。血漿蛋白に結合したブトリシランは、結合していない薬物よりもゲルを移動する距離が短くなる。血漿とインキュベーションした試料について、薬物及び PBS（血漿なし、100%遊離薬物）を含むバンドと同様の距離に移動するバンドの強度を PBS コントロールバンドの強度と比較し、その試料中の遊離ブトリシランの割合を測定した。

結合率はブトリシラン濃度の増加に伴い低下し、血漿たん白結合率は濃度依存的であった。血漿たん白結合の程度は、非臨床で検討した動物種及びヒトで同程度であった（表 2.6.4.4-2 参照）。ヒト単回漸増投与試験で認められた C_{max} の平均値が、25 及び 50 mg 投与でそれぞれ 0.0984 及び 0.191 µg/mL であったこと（試験番号[ALN-TTRSC02-001]）を考慮すると、血漿たん白結合率は臨床での血漿中濃度では約 80%程度で一定であることが予想される。

表 2.6.4.4-2　　ブトリシランの血漿たん白結合率

Concentration (µg/mL)	Plasma Protein Binding (Mean % Bound; n=2)			
	Mice	Rats	Monkeys	Humans
0.5	75.0	84.3	86.8	77.9
1	75.6	87.0	86.3	82.0
5	61.7	81.6	75.4	70.3
10	36.6	71.9	62.1	53.8
25	20.5	43.2	39.5	27.3
50	11.7	26.0	15.9	19.0

略語：n＝例数

出典：試験番号 BA18007

2.6.4.4.2　　血球移行性

（CTD: 4.2.2.3-2、[TTRSC02-DSM17-009]）

[^{3}H]-ブトリシランの血球移行性を、ラットにおける ADME 試験（試験番号 TTRSC02-DSM17-009；[表 2.6.5-14]参照）で検討した。試験を通じて血球／血漿中濃度比（C_{bc}／C_p）は≦1 であり、[^{3}H]-ブトリシラン由来の放射能は血球に選択的に分布しないことが示された。

2.6.4.4.3　マウスにおける分布

2.6.4.4.3.1　Tg-rasH2 WT マウスを用いた 8 週間反復投与用量設定毒性試験でのマウス肝臓におけるブトリシランの TK

（CTD: 4.2.3.4.2-1、[TTRSC02-DSM18-031]）

非 GLP 反復投与 DRF 試験（試験番号 TTRSC02-DSM18-031；[表 2.6.7-17]参照；表 2.6.4.4-3 参照）において、Tg-rasH2 WT マウスの Day 57 での肝臓における平均 TK を検討した。Tg-rasH2 WT マウスにブトリシランの 500、1000 又は 1500 mg/kg を月 1 回 3 回 SC 投与（計 3 回）した。肝臓における曝露量は投与量比例性を下回る増加を示したことから、肝臓への取込みは 500 mg/kg 以上では飽和することが示唆された。検討した肝臓における TK パラメータに性差はみられなかった。

表 2.6.4.4-3　ブトリシランの 500、1000 又は 1500 mg/kg を反復 SC 投与後の Tg-rasH2 WT マウスの肝臓における平均 TK パラメータ

Day	**57**		
Dose (mg/kg)	**500**	**1000**	**1500**
T_{max} (h)	8.0	24.0	24.0
C_{max} (µg/g)	660	787	817
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/g)	11,800	14,000	15,600

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高濃度の実測値；T_{max}＝最高濃度到達時間

注：数値は雌雄合計の平均値を示す。n＝3／性／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-DSM18-031

2.6.4.4.3.2　マウス 12 週間反復用量設定毒性試験でのマウス肝臓及び腎臓におけるブトリシランの TK

（CTD: 4.2.3.4.2-2、[TTRSC02-DSM16-032]）

非 GLP 反復投与 DRF 試験（試験番号 TTRSC02-DSM16-032；[表 2.6.7-18]参照；表 2.6.4.4-4 参照）において、C57BL/6NTac マウスの Day 1 及び Day 85 の肝臓及び腎臓における平均 TK を検討した。Tg-rasH2 WT 及び C57BL/6NTac マウスに、ブトリシランの 30、100（C57BL/6NTac マウスのみ）、又は 300 mg/kg を月 1 回 SC 投与（計 4 回）した。C57BL/6NTac マウスと比較するために、Tg-rasH2 WT マウスの肝臓と腎臓からスパースサンプリングした。

ブトリシランの肝臓における曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$）は、すべての投与量で投与量比を下回る増加を示した。いずれのマウス種においても、肝臓におけるブトリシランの明確な蓄積性は観察されなかった。C57BL/6NTac マウスでは、ブトリシランの腎臓への曝露量は 30～300 mg/kg でほぼ投与量比例性を示した。Tg-rasH2 WT マウスでは、腎臓におけるブトリシランの明確な蓄積性は認められなかった。C57BL/6NTac マウスの腎臓では軽微なブトリシランの蓄積性が認められた。C57BL/6NTac マウスの 30、100 及び 300 mg/kg のおける Day 1 に対する Day 85 の蓄積率は、C_{max} で 1.59～2.38、$AUC_{0\text{-}t(last)}$で 2.30～3.23 であった。Tg-rasH2 WT マウスでは、Day 1 の 300 mg/kg 投与後 336 時間及び Day 85 の 30 及び 300 mg/kg 投与前及び投与後 336 時間で肝臓中濃度が低かったことを

除き、30 及び 300 mg/kg では肝臓中ブトリシラン濃度にマウスの系統差は認められなかった。Tg-rasH2 WT マウスの 30 及び 300 mg/kg 投与前及び Day 85 の投与後 336 時間の腎臓中濃度が低かったことを除き、30 及び 300 mg/kg の腎臓中ブトリシラン濃度にマウス系統差は認められなかった。

表 2.6.4.4-4　Tg-rasH2 WT 及び C57BL/6NTac マウスにブトリシランの 30、100 又は 300 mg/kg を単回又は反復 SC 投与後の肝臓及び腎臓における平均 TK パラメータ

Day	**1**					**85**				
Strain	**Tg-rasH2 WT**		**C57BL/6Tac**			**Tg-rasH2 WT**		**C57BL/6Tac**		
Dose (mg/kg)	**30**	**300**	**30**	**100**	**300**	**30**	**300**	**30**	**100**	**300**
Liver										
T_{max} (h)	24.0	24.0	8.0	8.0	8.0	24.0	24.0	8.0	8.0	8.0
C_{max} (µg/g)	128	346	129	301	258	143	287	221	201	449
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/g)	24,000	63,500	17,400	32,500	46,500	26,300	51,800	23,800	35,000	63,700
Kidney										
T_{max} (h)	12.3	12.3	3.0	3.0	8.0	0.5	12.3	3.0	3.0	6.0
C_{max} (µg/g)	5.78	81.3	8.00	37.2	133	8.37	114	19.0	69.1	212
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/g)	810	13,900	708	3520	11,400	1580	20,500	2290	8080	27,500

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高濃度の実測値；T_{max}＝最高濃度到達時間

注：数値は雌雄合計の平均値を示す。n＝2／性／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-DSM16-032

2.6.4.4.4　ラットにおける分布

単回及び反復 SC 投与後の肝臓及び腎臓へのブトリシランの分布をラットで検討した。

構造的に類似した GalNAc-siRNA に関するデータから、全身に循環する薬物は主に肝臓に（ASGPR を介した肝細胞への取込みを介して）取り込まれ、また二次的に腎臓に取り込まれ、他の組織への分布は無視できることが示されているため、肝臓と腎臓を主な検討対象とした。ラットにおける ADME 及び QWBA 試験で、放射性標識[^{3}H]-ブトリシランの組織内分布も検討した（2.6.4.4.4.7 項参照）。

2.6.4.4.4.1　　単回又は反復 SC 投与後のラット肝臓及び腎臓におけるブトリシラン PK

（CTD: 4.2.2.2-1、[TTRSC02-DSM15-033]）

ブトリシランの 0.3、1 又は 3 mg/kg を単回 SC 投与、1 又は 40 mg/kg を月 1 回反復 SC 投与（4 回）したときのラットにおける肝臓及び腎臓への分布を検討した（試験番号 TTRSC02-DSM15-033；[表 2.6.5-9]参照）。結果を表 2.6.4.4-5 及び図 2.6.4.4-1 に示す。

ブトリシランの肝臓における曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$）は、0.3、1 又は 3 mg/kg のブトリシランの単回 SC 投与後、及び 1 又は 40 mg/kg の 4 ヵ月間 SC 投与後、ほぼ投与量に比例して増加した。ブトリシランの腎臓曝露量は 0.3、1 又は 3 mg/kg の単回 SC 投与後、及び 1 又は 40 mg/kg の 4 ヵ月間 SC 投与後に、投与量比を上回る増加を示した。また、1 mg/kg の 4 ヵ月間 SC 投与では、肝臓及び腎臓にブトリシランの蓄積性は認められなかった。組織のサイズを考慮すると、ブトリシランの 0.3～3 mg/kg を単回又は反復 SC 投与したとき、腎臓濃度と比較すると主に肝臓に分布すると考えられた。

表 2.6.4.4-5　　ラットにブトリシランの 0.3、1 又は 3 mg/kg を単回 SC 投与若しくは 1 又は 40 mg/kg を反復 SC 投与後の肝及び腎における PK パラメータ

Dose (mg/kg)	Single Dose			qM×4	
	0.3	1	3	1	40
Liver					
T_{max} (h)	3.0	3.0	7.0	7.0	7.0
C_{max} (µg/g)	5.31	24.8	39.5	15.7	362
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/g)	465	1840	3890	1460	31,400
$t_{1/2}$ (h)	151.5	114.1	84.5	NR	NR
Kidney					
T_{max} (h)	7.0	3.0	5.0	3.0	3.0
C_{max} (µg/g)	0.214	1.42	1.90	1.28	106
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/g)	4.48	141	375	330	32,800
$t_{1/2}$ (h)	NR	NR	156.3	230.4	213.9

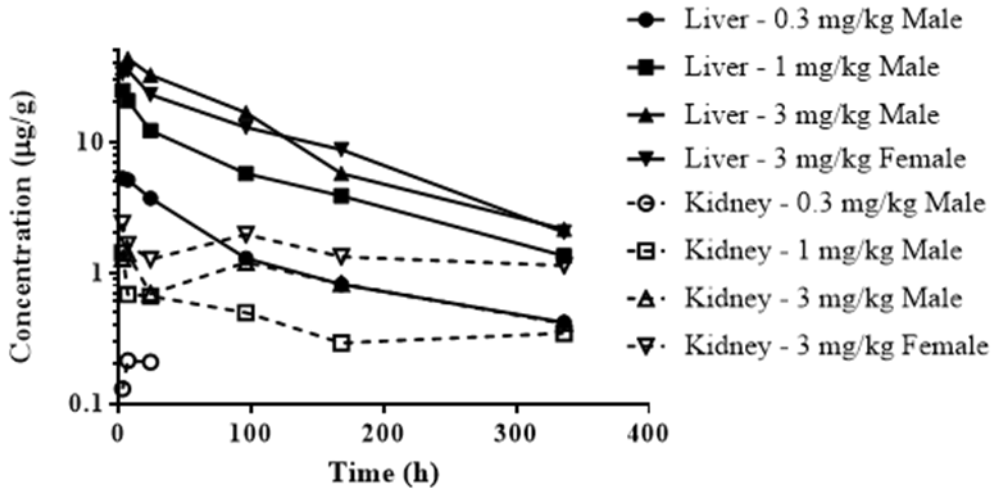
略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高濃度の実測値；NR＝報告不可；qM＝月 1 回；$t_{1/2}$＝半減期；T_{max}＝最高濃度到達時間

注：値は、3 mg/kg 群（雌雄合計）を除き、雄のみである。3 mg/kg 群（雌雄各 2 例／時点）を除き、雄 2 例／時点。

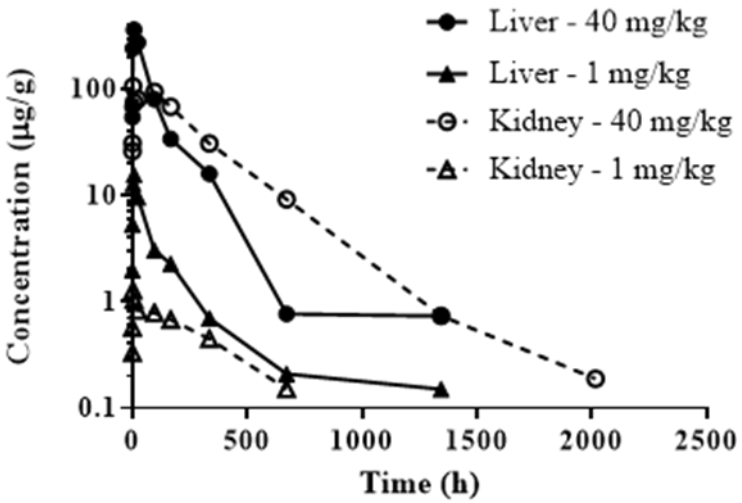
出典：TTRSC02-DSM15-033

図 2.6.4.4-1　　ラットにブトリシランの 0.3、1 又は 3 mg/kg の単回 SC 投与（A）若しくは 1 又は 40 mg/kg の反復 SC 投与（B）したときの肝臓・腎臓における平均ブトリシラン濃度推移

A. Single Dose



B. Multiple Doses



注：n＝雄 2／時点、3 mg/kg 群（n＝2／性／時点）を除く。

出典：試験番号 TTRSC02-DSM15-033

2.6.4.4.4.2　　4 ヵ月間 SC 投与後のラット肝臓及び腎臓中のブトリシラン濃度

（CTD: 4.2.3.2-1、[TTRSC02-DSM15-028]）

ブトリシランの 40 又は 120 mg/kg を 4 ヵ月間 SC 投与した雄ラットの肝臓及び腎臓におけるブトリシランの平均濃度を測定した（試験番号 TTRSC02-DSM15-028；[表 2.6.7-8]参照；表 2.6.4.4-6 参照）。投与量を 3 倍にした結果、肝臓及び腎臓中の平均濃度がそれぞれ 1.6 倍及び 3.7 倍に増加した。

表 2.6.4.4-6　ブトリシランの 40 又は 120 mg/kg を反復 SC 投与後の雄ラットにおける肝臓中及び腎臓中平均ブトリシラン濃度

Dose (mg/kg)	**40**	**120**
Liver Concentration (µg/g)	427	700
Kidney Concentration (µg/g)	116	433

注：n＝6／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-DSM15-028

2.6.4.4.4.3　4 ヵ月間 SC 投与後のラット肝臓及び腎臓におけるブトリシランの TK

（CTD: 4.2.3.2-2、[TTRSC02-GLP15-026]）

ラットにブトリシランの 12、40 又は 120 mg/kg を月 1 回反復 SC 投与（4 回）後の肝臓及び腎臓への分布を検討した（試験番号 TTRSC02-GLP15-026；[表 2.6.7-9]参照；表 2.6.4.4-7 参照）。ブトリシランの肝臓及び腎臓への曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$）は、12～120 mg/kg を SC 投与したとき、投与量にほぼ比例して増加した。

表 2.6.4.4-7　ブトリシランの 12、40 又は 120 mg/kg を反復 SC 投与後のラットにおける肝臓及び腎臓平均における TK パラメータ

Tissue	**Liver**			**Kidney**		
Dose (mg/kg)	**12**	**40**	**120**	**12**	**40**	**120**
T_{max} (h)	4.0	24.0	24.0	168.0	24.0	24.0
C_{max} (µg/g)	130	386	963	11.1	53.9	288
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/g)	14,900	60,800	147,000	7570	25,600	125,000

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高濃度の実測値；T_{max}＝最高濃度到達時間

注：数値は雌雄合計の平均値を示す。n＝3／性／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-GLP15-026

2.6.4.4.4.4　8 ヵ月間皮下投与後のラット肝臓及び腎臓におけるブトリシランの TK

（CTD: 4.2.3.2-3、[TTRSC02-GLP15-040]）

ラットにブトリシランの 15、50 又は 150 mg/kg を月 1 回反復 SC 投与（8 回）し、肝臓及び腎臓への分布を評価した（試験番号 TTRSC02-GLP15-040；[表 2.6.7-10]参照；表 2.6.4.4-8 参照）。概して、Day 1 及び Day 197 における肝臓及び腎臓のブトリシランの C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$に、すべての投与群で性差は認められなかった。ブトリシランの肝臓における曝露量（C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$）は投与量にほぼ比例して増加した。月 1 回反復投与による肝臓へのブトリシランの蓄積性は認められなかった。ブトリシランの腎臓における曝露量は用量にほぼ比例して増加、又は投与量比を上回って増加した。ブトリシランは 6 ヵ月間の試験期間中、腎臓で蓄積性を示した。Day 197 の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$は Day 1 よりも約 3～4 倍大きかった。

表 2.6.4.4-8　ラットにブトリシランの 15、50 又は 150 mg/kg を単回又は反復 SC 投与後の肝臓及び腎臓における平均 TK パラメータ

Day	**1**			**197**		
Dose (mg/kg)	**15**	**50**	**150**	**15**	**50**	**150**
Liver						
T_{max} (h)	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	24.0
C_{max} (µg/g)	173	417	776	229	589	819
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/g)	24,800	58,600	165,000	26,200	68,800	159,000
Kidney						
T_{max} (h)	16.0	16.0	16.0	72.0	72.0	48.0
C_{max} (µg/g)	9.45	71.4	218	29.8	177	730
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/g)	3920	22,700	80,200	12,000	80,200	306,000

略語：$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max} における最高濃度の実測値；T_{max}＝最高濃度到達時間

注：数値は雌雄合計の平均値を示す。n＝3／性／群／時点

出典：試験番号 TTRSC02-GLP15-040

2.6.4.4.4.5　月 1 回又は 3 ヵ月に 1 回 SC 投与後のラット肝臓及び腎臓中のブトリシラン濃度

（CTD: 4.2.3.2-4、[TTRSC02-DSM17-011]）

ラットにおける肝細胞の病巣形成に対する投与スケジュールの影響を検討する試験（試験番号 TTRSC02-DSM17-011；[表 2.6.7-11]参照；表 2.6.4.4-9 参照）で、Day 170 における肝臓及び腎臓中平均ブトリシラン濃度を測定した。Day 170 における肝臓中のブトリシランの平均濃度は、月 1 回投与では 5～50 mg/kg で投与量にほぼ比例した。同様に、肝臓ブトリシランの平均濃度は、3 ヵ月に 1 回投与でも 10～50 mg/kg でほぼ投与量比例的であった。50 mg/kg を月 1 回投与 Day 170 の肝臓におけるブトリシラン濃度は、50 mg/kg を 3 ヵ月に 1 回投与した濃度の 1.6 倍であった。回復期間（Day 254）後の同じ投与量での濃度は、月 1 回投与後の方が 3 ヵ月に 1 回投与よりも約 13 倍高かった。累積投与量でみたとき 35 mg/kg（5 mg/kg を月 1 回、計 7 回投与）では、30 mg/kg（10 mg/kg を 3 ヵ月に 1 回、計 3 回投与）よりも Day 170 の肝臓中濃度がわずかに低かった（0.73 倍）。腎臓中平均ブトリシラン濃度は、月 1 回投与では 5～50 mg/kg、また、3 ヵ月に 1 回投与では 10～50 mg/kg で、投与量比を上回る増加を示した。50 mg/kg を月 1 回投与したときの腎臓における平均濃度は、50 mg/kg を 3 ヵ月に 1 回投与したときの 1.2 倍であった。累積投与量でみたとき、35 mg/kg（5 mg/kg を月 1 回、計 7 回投与）では、30 mg/kg（10 mg/kg を 3 ヵ月に 1 回、計 3 回投与）よりも Day 170 の腎臓における濃度がわずかに低かった（0.65 倍）。肝臓では腎臓よりも高いブトリシラン濃度が、月 1 回投与では 5 mg/kg で 7.6 倍及び 50 mg/kg で 3.9 倍と認められ、3 ヵ月に 1 回投与では 10 mg/kg で 6.6 倍及び 50 mg/kg で 2.7 倍と認められた。回復用の動物、特に 50 mg/kg では、肝臓及び腎臓にブトリシランが残存した。Day 254 には、検出可能な濃度が 19 匹のラットのうち 14 匹でみられ、濃度は肝臓よりも腎臓が高かった。

表 2.6.4.4-9　雌ラットにブトリシランの 5 又は 50 mg/kg（qM）若しくは 10 又は 50 mg/kg（q3M）を反復 SC 投与後の肝臓及び腎臓における平均ブトリシラン濃度

Day	**170**				**254**			
Regimen	**qM×7**		**q3M×3**		**qM×7**		**q3M×3**	
Dose (mg/kg)	**5**	**50**	**10**	**50**	**5**	**50**	**10**	**50**
Liver Concentration (µg/g)	32.6	302	44.5	187	<LLOQ	3.95	0.153	0.311
Kidney Concentration (µg/g)	4.34	82.6	6.71	69.4	0.168	0.728	0.181	1.17

略語：LLOQ＝定量下限；q3M＝3 ヵ月に 1 回；qM＝月 1 回

注：LLOQ＝100 ng/g、n＝10／Day 170 の投与群、n＝6／Day 254 の投与群

出典：試験番号 TTRSC02-DSM17-011

2.6.4.4.4.6　母動物の肝臓、腎臓及び胎盤並びにラット胎児組織における分布

（CTD: 4.2.3.5.1-1、[TTRSC02-GLP16-013]）

ラット胚・胎児 DRF 試験（試験番号 TTRSC02-GLP16-013；[表 2.6.7-21]参照）において、妊娠ラットに反復 SC 投与したときの母動物の肝臓、腎臓、胎盤及び各母動物から最大 5 匹（及び対応する胎児の肝臓）の生存胎児におけるブトリシランの分布を検討した。結果を表 2.6.4.4-10 に示す。

ラットを無処置の雄ラットと交配する前に、ブトリシランの 15、50 又は 150 mg/kg 若しくは溶媒対照を週 1 回、計 3 回 SC 投与した。交配後、雌に溶媒対照若しくはブトリシランの 3、10 又は 30 mg/kg を GD 6～GD 17 に 1 日 1 回 SC 投与した。GD 18 に、すべてのブトリシラン投与量において母体の肝臓及び腎臓でブトリシランが定量可能であった。低濃度のブトリシランが胎盤において定量可能であった。ブトリシラン濃度は、母体の肝臓、腎臓、胎盤で用量にほぼ比例して増加した。胎盤中濃度は、3、10、30 mg/kg で、それぞれ母体肝臓の約 0.182%、0.0413%、0.0149%、母体血漿中ブトリシラン最高濃度の 48.6%、67.3%、30.8%であった。母体組織及び胎盤にブトリシランが存在するにもかかわらず、胎児肝臓又は胎児屠体では定量できず（＜LLOQ）、母体ブトリシランはどの投与量においてもラット胎児に移行しないことが示された。

表 2.6.4.4-10 ラットにおける GD 18 の母動物の肝臓及び腎臓、胎盤、胎児の肝臓並びに胎児における平均ブトリシラン濃度（±SD）

Tissue	**Mean[a] Tissue Concentration (µg/g)±SD**		
Dose (mg/kg/day)	**15/3**	**50/10**	**150/30**
Maternal liver	67.5±16.9	298±44.0	825±277
Maternal kidney	25.3±8.22	101±35.9	445±76.7
Placenta	0.123±0.0144[b]	0.431±0.133	2.29±0.576
Fetal tissue (without liver)	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ
Fetal liver	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ

略語：GD＝妊娠日齢；LLOQ＝定量下限；SD＝標準偏差

注：ブトリシランの 15、50 又は 150 mg/kg を交配前に週 1 回、計 3 回、3、10 又は 30 mg/kg を GD 6 から GD 17 まで 1 日 1 回投与した。LLOQ は全組織で 100 ng/g であった。母動物の肝臓及び腎臓について n＝6／群、胎盤、胎児の肝臓及び胎児の屠体（肝臓無し）について n＝30／群、ただし 10 mg/kg（n＝20／群）は除く。

a 平均値は定量可能な濃度の試料のみから算出した。n 個の組織のみが定量可能な濃度であった場合、その n を脚注に記載する。

b n=26

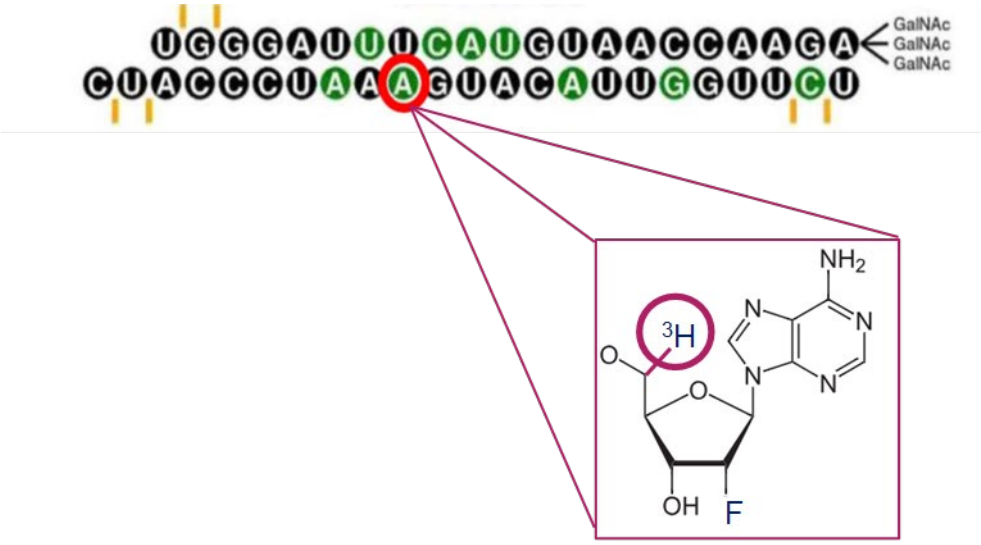
出典：試験番号 TTRSC02-GLP16-013

2.6.4.4.4.7　　[^{3}H]-ブトリシランを用いた定量的全身オートラジオグラフィー

（CTD: 4.2.2.3-2、[TTRSC02-DSM17-009]）

雄ラットに[^{3}H]-ブトリシランの 3 mg/kg を単回 SC 投与したときの[^{3}H]-ブトリシランの組織内分布を検討した（試験番号 TTRSC02-DSM17-009；[表 2.6.5-10]参照）。[^{3}H]-ブトリシランは、アンチセンス鎖の 3′末端から 10 番目の塩基（アデノシン）に放射能標識した（図 2.6.4.4-2 参照）。

図 2.6.4.4-2　　[^{3}H]-ブトリシランの標識位置



略語：A＝アデノシン；C＝シチジン；G＝グアノシン；GalNAc＝*N*-アセチルガラクトサミン；U＝ウリジン

注：黒丸は 2′-*O*-メチル修飾ヌクレオチド、緑丸は 2′-フルオロ修飾ヌクレオチド、赤丸は[^{3}H]-アデノシン、橙色の線はホスホロチオエート結合を示す。

出典：試験番号 TTRSC02-DSM17-009 より改変。

[^{3}H]-ブトリシラン由来放射能は、すべての検討した時間を通して限られた組織に分布した。定量可能な放射能が検出された組織の要約を表 2.6.4.4-11 に、評価した全組織の表を[表 2.6.5-10]に示す。定量可能な放射能が認められた組織のほとんどは、投与後 168 時間までに最高濃度に達した。高い放射能濃度を示した組織は、肝臓、リンパ節、腎皮質、腎臓、胸管であり、それぞれ 37,700、8910、2900、2110、1560 ng [^{3}H]-ブトリシラン当量／g であった。腎皮質、リンパ節、投与部位を除き、投与後 1344 時間（56 日）までに全組織から放射能が消失した。QWBA では、組織／血漿濃度比の最高値は肝臓及び腎臓皮質で認められ、投与後 24 時間の値は 1000 及び 99.6 であり、他の組織／血漿濃度比の大部分は、算出可能な試験期間を通じておおむね 1 未満であった。ブトリシランは、脳又は中枢神経系のいずれの部位にも放射能が検出されなかったことから、血液脳関門を通過しないと考えられた。

表 2.6.4.4-11 雄性ラットに[^{3}H]-ブトリシラン（3 mg/kg）を単回 SC 投与後の QWBA により測定した血中及び組織中放射能濃度

Animal	**R0201**	**R0202**	**R0203**	**R0204**	**R0205**	**R0206**	**R0207**	**R0208**	**R0209**	**R0210**
Sacrifice Time	**0.5 h**	**1 h**	**4 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**	**168 h**	**336 h**	**672 h**	**1344 h**
Tissue	**Concentration (ng Equivalents [^{3}H]-vutrisiran/g)**									
Blood	BLQ	369	231	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bone	BLQ	325	215	792	432	ND	ND	ND	186	ND
Bone marrow	BLQ	BLQ	220	186	285	293	BLQ	ND	BLQ	ND
Cecum	ND	ND	425	351	ND	ND	526	204	ND	ND
Contents, cecum	ND	ND	1240	350	1660	607	626	ND	ND	ND
Contents, esophageal	1720	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Contents, large intestine	ND	ND	ND	248	597	310	167	ND	ND	ND
Contents, small intestine	1550	ND	5230	273	980	234	872	ND	ND	ND
Contents, stomach	3940	1460	28,300[a]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Dose site	438,000[a]	64,400[a]	NR	NR	49,200[a]	828	68,000[a]	11,800	17,900	4050
Exorbital lacrimal gland	ND	ND	ND	ND	175	ND	ND	ND	ND	ND
Fat (brown)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	259	ND	ND	ND
Kidney cortex	252	947	2510	2690	2280	2900	1420	864	1010	208
Kidney medulla	180	349	526	300	484	370	234	178	BLQ	ND
Kidney(s)	216	647	2040	2110	1540	1580	804	430	533	ND
Large intestine	ND	ND	ND	266	BLQ	347	220	ND	ND	ND
Liver	3270	7110	37,700	27,000	20,900	13,600	8500	3540	368	BLQ
Lung(s)	ND	222	ND	ND	BLQ	178	ND	ND	ND	ND
Lymph node(s)	2510	805	446	807	3300	582	8910	445	264	477
Pancreas	ND	ND	263	ND	538	351	BLQ	240	ND	ND

表 2.6.4.4-11 雄性ラットに[^{3}H]-ブトリシラン（3 mg/kg）を単回 SC 投与後の QWBA により測定した血中及び組織中放射能濃度（続き）

Animal	**R0201**	**R0202**	**R0203**	**R0204**	**R0205**	**R0206**	**R0207**	**R0208**	**R0209**	**R0210**
Sacrifice Time	**0.5 h**	**1 h**	**4 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**	**168 h**	**336 h**	**672 h**	**1344 h**
Tissue	**Concentration (ng Equivalents [^{3}H]-vutrisiran/g)**									
Salivary gland(s)	ND	ND	ND	227	288	243	221	BLQ	ND	ND
Skin (nonpigmented)	ND	ND	BLQ	171	197	ND	BLQ	BLQ	ND	ND
Small intestine	ND	ND	ND	ND	355	ND	ND	ND	ND	ND
Spleen	ND	ND	ND	ND	247	271	BLQ	ND	ND	ND
Stomach	ND	ND	209	ND	262	248	ND	ND	ND	ND
Thoracic duct	1560	708	211	ND	ND	206	BLQ	BLQ	274	ND
Thyroid	ND	ND	ND	ND	ND	ND	292	ND	ND	ND
Urine	8900	8510	13,700	1000	2800	2670	923	199	181	ND

略語：BLQ＝定量限界未満（＜166 ng [^{3}H]-ブトリシラン当量/g）；ND＝検出不能（背景又は周辺組織から形が識別不能）は、サンプリングしなかった場合と同等である；NR＝非表示（セクションで表示しない組織）

a 1 検体以上が定量上限値を超えていた（＞57,600 ng [^{3}H]-ブトリシラン当量／g）。

出典：試験番号 TTRSC02-DSM17-009

2.6.4.4.4.8 [^{3}H]-ブトリシランを用いたラットにおけるミクロオートラジオグラフィー

（CTD: 4.2.2.3-2、[TTRSC02-DSM17-009]）

雄性ラットに[^{3}H]-ブトリシランの 3 mg/kg を単回 SC 投与したときの投与部位、肝臓及び腎臓における放射能の分布を、投与後 1、4 及び 24 時間にミクロオートラジオグラフィーで評価した（試験番号 TTRSC02-DSM17-009；[表 2.6.5-15]参照）。

投与 1 時間後の動物の皮膚／投与部位では、表皮の全領域（角質層、淡明層、顆粒層、有棘層、基底層）に高レベルの銀粒子（放射能）が認められた。全般に真皮乳頭及び真皮に中等度の放射能が認められた。皮膚のエックリン（汗）腺及び皮脂腺では、それぞれ高レベル及び低レベルの放射能が認められた。

投与 4 時間後の動物の肝臓では、放射能は試料の全領域でみられた。特に興味深いのは、組織内での分布の違いであった。各小葉の中心静脈に関連する肝細胞は中程度のレベルの放射能を含んでいたが、門脈により近い小葉の外縁に位置する肝細胞はより高いレベルの放射能を含んでいた。門脈三管周囲の結合組織及び血管壁と内容物には、低レベルの放射能しか認められなかった。投与後 24 時間に採取した腎臓では、腎皮質内外層に低レベルの放射能が認められた。腎髄質及び血管の内容物と血管壁では、放射能のバックグラウンドレベルがみられたのみであった。

2.6.4.4.5 ウサギにおける分布

2.6.4.4.5.1 母動物の肝臓、腎臓及び胎盤並びにウサギ胎児組織における分布

（CTD: 4.2.3.5.2-3、[TTRSC02-GLP16-012]）

ウサギを用いた DRF 胚・胎児発生に関する試験（試験番号 TTRSC02-GLP16-012；[表 2.6.7-23]参照）において、妊娠ウサギに反復 SC 投与（3、10 又は 30 mg/kg）したときの母動物の肝臓、腎臓、胎盤及び各母動物から最大 5 匹（及び対応する胎児の肝臓）の生存胎児におけるブトリシランの分布を検討した。

妊娠ウサギにブトリシランの 3、10、30 mg/kg 又は溶媒対照を GD 7～GD 19 に 1 日 1 回 SC 投与した。結果を表 2.6.4.4-12 に示す。GD 20 において、ブトリシランはすべての投与量で母体の肝臓及び腎臓で定量可能であった。10 又は 30 mg/kg（3 mg/kg を除く）を投与した雌では、低レベルのブトリシランが胎盤において定量可能であった。ブトリシラン量はすべての胎児組織（肝臓以外）及び胎児肝臓で LLOQ 以下であり、ブトリシランへの母体への曝露で胎児へのブトリシランの移行が起きないことが示された。

表 2.6.4.4-12　ウサギの GD 20 における母動物の肝臓及び腎臓、胎盤、胎児の肝臓並びに胎児での平均ブトリシラン濃度（±SD）

Tissue	Mean[a] Tissue Concentration (µg/g)±SD		
Dose (mg/kg/day)	**3**	**10**	**30**
Maternal liver	287±97.7	1120±219	2160±395
Maternal kidney	20.6±7.85	59.0±24.1	339±116
Placenta	<LLOQ	0.315±0.0725	1.65±0.266
Fetal tissue (without liver)	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ
Fetal liver	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ

略語：LLOQ＝定量下限；SD＝標準偏差

注：胎盤で LLOQ は 200 ng/g、他の組織で LLOQ は 100 ng/g。母動物の肝臓及び腎臓について n＝3／群、胎盤、胎児の肝臓及び胎児組織について n＝15／群（5／動物、3 例／群）。

a 平均値は定量可能な濃度の試料のみから算出した。

出典：試験番号 TTRSC02-GLP16-012

2.6.4.4.6　サルにおける分布

サルにブトリシランを単回又は反復 SC 投与したときの肝臓における分布を検討した。肝臓及び腎臓におけるブトリシラン濃度も毒性試験中に評価した。構造的に類似した GalNAc-siRNA に関するデータから、全身に循環する薬物は主に肝臓に（ASGPR を介した肝細胞への取込みを介して）取り込まれ、また二次的に腎臓に取り込まれ、他の組織への分布は無視できることが示されているため、肝臓と腎臓を主な検討対象とした。

2.6.4.4.6.1　単回 IV、単回 SC、又は反復 SC 投与後のサル肝臓におけるブトリシランの PK

（CTD: 4.2.2.2-2、[TTRSC02-DSM15-035]）

サル肝臓におけるブトリシランの分布を、ブトリシランの 10 mg/kg を IV 投与、0.3、1、3 又は 30 mg/kg を単回 SC 投与、及び 0.3 又は 1 mg/kg を月 1 回反復 SC 投与（4 回）後に検討した（試験番号 TTRSC02-DSM15-035；[表 2.6.5-11]参照）。結果を表 2.6.4.4-13 に示す。

ブトリシランの分布に有意な性差はみられなかった。ブトリシランの単回 SC 投与後、肝臓における $AUC_{0\text{-}t(last)}$及び C_{max} は投与量比を下回る増加を示した。0.3 mg/kg の反復投与では蓄積性は認められず、1 mg/kg で軽微な蓄積性（2.6 倍）が認められた。10 mg/kg を単回 IV 投与したときの肝臓の曝露量は、血漿中曝露量の 91 倍であった。同様に、SC の投与量範囲では、肝臓の曝露量は血漿中曝露量の約 2600～21,000 倍であった。注目すべきこととして、1 mg/kg を SC 投与した群の肝臓曝露量は 10 mg/kg を IV 投与した群と同程度であり、SC 投与後のブトリシランのより効率的な取り込みが示された。

表 2.6.4.4-13　サルにブトリシランの 10 mg/kg を単回 IV 投与、0.3、1、3 又は 30 mg/kg を単回 SC 投与若しくは 0.3 又は 1 mg/kg を反復 SC 投与したときのブトリシランの肝臓における PK パラメータ

Vutrisiran	Single Dose					qM×4	
Dose (mg/kg)	**10 IV**	**0.3 SC**	**1 SC**	**3 SC**	**30 SC**	**0.3 SC**	**1 SC**
T_{max} (h)	24	24	24	8	24	2064	2064
C_{max} (µg/g) (AR)	10.5	6.28	18.6	46.4	330	3.83 (0.61)	20.1 (1.1)
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/g) (AR)	7450	2210	6140	16,300	142,000	3470 (1.6)	15,800 (2.6)
$t_{1/2}$ (day)	27.3	30.8	30.1	20.8	17.9	28.6	34.8

略語：AR=蓄積率；$AUC_{0\text{-}t(last)}$＝投与後から最終濃度測定時点までの AUC；C_{max}＝T_{max}における最高濃度の実測値；IV＝静脈内：qM＝月 1 回；SC＝皮下；T_{max}＝最高濃度到達時間；$t_{1/2}$＝半減期

注：AR は、反復投与（qM×4）の C_{max} 又は $AUC_{0\text{-}t(last)}$を、0.3 及び 1 mg/kg 群の対応する単回投与量で除して算出した。n＝1／性／群／時点（雌雄合計）

出典：試験番号 TTRSC02-DSM15-035

2.6.4.4.6.2　サルに 4 ヵ月間 SC 投与したときの肝臓及び腎臓中のブトリシラン濃度

（CTD: 4.2.3.2-5、[TTRSC02-DSM15-027]）

サルにブトリシランの 100 又は 300 mg/kg を月 1 回反復 SC 投与し、Day 85 に肝臓及び腎臓へのブトリシランの分布を検討した（試験番号 TTRSC02-DSM15-027；[表 2.6.7-8]参照；表 2.6.4.4-14 参照）。ブトリシラン投与量が 3 倍のとき、肝臓及び腎臓におけるブトリシラン濃度はそれぞれ 1.8 倍及び 4.4 倍に増加した。平均肝臓／腎臓ブトリシラン濃度比は 100 mg/kg で 13.8、300 mg/kg で 5.6 であった。

表 2.6.4.4-14　雌サルにブトリシランの 100 又は 300 mg/kg を月 1 回反復 SC 投与後の肝臓及び腎臓における平均ブトリシラン濃度

Dose (mg/kg)	**100**	**300**
Liver Concentration (µg/g)	1344	2404
Kidney Concentration (µg/g)	97.4	430

注：n＝3／群

出典：試験番号 TTRSC02-DSM15-027

2.6.4.4.6.3　サル肝臓及び腎臓における 4 ヵ月間 SC 投与後及び回復期後のブトリシラン濃度

（CTD: 4.2.3.2-6、[TTRSC02-GLP15-025]）

サルにブトリシランの 30、100 又は 300 mg/kg を月 1 回 SC 投与し、Day 86 及び回復期後の Day 169 に肝臓及び腎臓におけるブトリシラン濃度を検討した（試験番号 TTRSC02-GLP15-025；[表 2.6.7-12]参照；表 2.6.4.4-15 参照）。試験終了時の肝臓及び腎臓におけるブトリシラン濃度に性差は認められなかった。組織内濃度は、肝臓、腎臓共に投与量にほぼ比例して増加した。回復期後（Day 169）も測定可能なブトリシラン濃度が観察された。肝臓におけるブトリシラン濃度は腎臓中濃度よりもかなり高かった。

表 2.6.4.4-15 サルにブトリシランの 30、100 又は 300 mg/kg を月 1 回 4 ヵ月間反復 SC 投与後の肝臓及び腎臓における平均ブトリシラン濃度

Day	**86**			**169**		
Dose (mg/kg)	**30**	**100**	**300**	**30**	**100**	**300**
Liver Concentration (µg/g)	550	1250	1940	98.0	273	352
Kidney Concentration (µg/g)	16.6	83.4	210	1.47	1.18	4.11

注：数値は雌雄合計の平均値を示す。n＝3／性／Day 86 の投与群；n＝2／性／Day 169 の投与群（ただし、30 mg/kg の雌 n＝1、100 mg/kg の雄 n＝1）。

出典：試験番号 TTRSC02-GLP15-025

2.6.4.4.6.4 サルに 11 ヵ月間 SC 投与したときの肝臓及び腎臓中のブトリシラン濃度

（CTD: 4.2.3.2-7、[TTRSC02-GLP15-039]）

サルにブトリシランの 30、100 又は 300 mg/kg を月 1 回 11 ヵ月間反復 SC 投与し、最終投与後 24 時間に採取した Day 282 の肝臓及び腎臓におけるブトリシラン平均濃度を測定した（試験番号 TTRSC02-GLP15-039；[表 2.6.7-13]参照；表 2.6.4.4-16 参照）。試験終了時の肝臓及び腎臓中濃度に性差は認められなかった。肝臓における濃度は 30～100 mg/kg で投与量にほぼ比例して増加したが、100～300 mg/kg では投与量比を下回る増加を示した。腎臓では、ブトリシラン濃度は 30～100 mg/kg では投与量比を上回って増加し、100～300 mg/kg では用量にほぼ比例して増加した。肝臓における平均ブトリシラン濃度は、全投与群にわたって腎臓濃度よりもかなり高かった。

表 2.6.4.4-16 サルにブトリシランの 30、100 又は 300 mg/kg を月 1 回 11 ヵ月間反復 SC 投与後の肝臓及び腎臓における平均ブトリシラン濃度

Day	**282**		
Dose (mg/kg)	**30**	**100**	**300**
Liver Concentration (µg/g)	984	2150	3430
Kidney Concentration (µg/g)	13.2	87.4	302

注：数値は雌雄合計の平均値を示す。n＝4／性／群

出典：試験番号 TTRSC02-GLP15-039

2.6.4.4.7 ヒトで予測される肝臓の分布

ASGPR を介したブトリシランの肝臓を標的とした分布が、ラットとサルの肝臓で一貫して高い濃度で確認された。このことからヒトにおける肝臓への同様の標的とした分布が期待される。ヒト肝臓におけるブトリシランの蓄積の可能性を評価するために、サルの肝臓における PK データを用い、分布容積については指数 1.0、CL については指数 0.75 のアロメトリックスケーリングを行った。この手法を用いて、ヒト肝臓におけるブトリシランの $t_{1/2}$ は約 53 日（体重 70 kg の患者：[5.3.4.2-2]項「Population Pharmacokinetic/Pharmacodynamic (PK/PD) Analysis of Vutrisiran (ALN-TTRSC02) in Healthy Subjects and hATTR Amyloidosis Patients with Polyneuropathy」）と推定された。この $t_{1/2}$ と計画された 3 ヵ月に 1 回の投与法を考慮すると、ヒト肝臓におけるブトリシランの定常状態での有意な蓄積はないと考えられる。

2.6.4.5 代謝

ブトリシランの代謝を検討するため、*in vitro* 及び *in vivo* 試験を実施した。これらの試験の一覧を表 2.6.4.5-1 に示す。ブトリシランはアンチセンス鎖とセンス鎖からなる二重鎖 siRNA である。アンチセンス鎖及びセンス鎖の代謝物プロファイルを *in vitro*（血清及び肝 S9）及びラット及びサルの血漿及び肝臓、並びにヒトの血漿及び尿（試験番号[BA16004]）で検討した。

表 2.6.4.5-1 ブトリシランの代謝試験

Species and Strain	**Method of Admin.**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg)[a]**	**Type of Study**	**Study Number (Tabulated Summary) CTD Location**
Mouse, rat, monkey, and human serum and liver S9 fractions (*in vitro*); human urine and plasma; rat and monkey plasma and liver (*in vivo*)	*In vitro* incubation; SC for *in vivo* samples	24 hours (*in vitro*); single dose (*in vivo*)	5 µmol/L (*in vitro*) ; 10, 30 (*in vivo*)	Non-GLP *in vitro* metabolic stability and *in vitro* and *in vivo* metabolite profiling of vutrisiran	BA16004 (表 2.6.5-16; 表 2.6.5-18; 2.6.5.11) CTD: 4.2.2.4-1

表 2.6.4.5-1　　ブトリシランの代謝試験（続き）

Species and Strain	Method of Admin.	Duration of Dosing	Doses (mg/kg)[a]	Type of Study	Study Number (Tabulated Summary) CTD Location
Rat/Sprague Dawley	SC	Single dose	[^{3}H]-vutrisiran: 3	Radiolabeled mass balance and tissue distribution by QWBA	TTRSC02-DSM17-009 (表 2.6.5-17) CTD: 4.2.2.3-2
cDNA expressed enzymes	*In vitro* incubation	45 min (vutrisiran); 30 min (PC)	800, 8000 ng/mL	Non-GLP CYP substrate	319N-1527 (表 2.6.5-19) CTD: 4.2.2.4-2
Human liver microsomes	*In vitro* incubation	5-40 min (direct); 30 min pre-incubation followed by 5-40 min (time-dependent)	0, 0.01, 1, 10, 50, 100, 500, 1000, 5000, 10,000 µg/mL	CYP direct and time-dependent inhibitory potential	319N-1528 (表 2.6.5-20) CTD: 4.2.2.4-3

略語：Admin.＝投与；cDNA＝相補的 DNA；CTD＝コモンテクニカルドキュメント；CYP＝シトクロム P450；GLP＝医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；PC＝陽性コントロール；QWBA＝定量的全身オートラジオグラフィー；SC＝皮下

a 特に記載のない場合

2.6.4.5.1　　ブトリシランの *in vitro* における代謝安定性

（CTD: 4.2.2.4-1、[BA16004]）

ブトリシランの *in vitro* における代謝安定性を、マウス、ラット、サル及びヒトから得られたプールした血清及び肝 S9 画分で評価した（試験番号 BA16004；[表 2.6.5-18]参照）。試料をマトリックス中でインキュベーションし、固相抽出により処理後、LC/MS-HRAM により分析した。LC/MS-HRAM データは、1 Da 未満のモノアイソトピック質量差を有する 2 つの可能性のある代謝物の配列の区別が可能である。*In vitro* 及び *in vivo* で生成した代謝物について、未変化体との比較を行った。

マウス、ラット、サル又はヒトの血清中でブトリシランを 24 時間インキュベーションした結果、未変化のアンチセンス鎖及びセンス鎖の残存率は 95～101%であり、ブトリシランは試験したすべての動物種において血清中で安定であることが示された。マウス、ラット、サル、又はヒトの肝 S9 画分とブトリシランを 24 時間インキュベーションしたところ、未変化のアンチセンス鎖の残存率は 83%、86%、70%、又は 90%であったが、未変化のセンス鎖の残存率はそれぞれ 72%、89%、59%、又は 89%であり、ブトリシランは肝 S9 画分においても種差が最小限であり比較的安定であることが示された。

2.6.4.5.2 ブトリシランの代謝

ブトリシランはアンチセンス鎖とセンス鎖からなる二重鎖 siRNA である。代謝物は、センス鎖又はアンチセンス鎖のいずれか又鎖の 3′末端又は 5′末端のいずれかからのヌクレオチドが失われて生成する可能性がある。ここでは、ヌクレオチドが失われた代謝物は次のように示す。すなわち A(N-X)B、ここで A は鎖（AS＝アンチセンス；S＝センス）を表し、X は失われたヌクレオチドの数を表し、B は鎖の末端（3′か 5′かのどちらか）を示す。アンチセンス鎖及びセンス鎖の代謝プロファイルは、*in vitro* 及び *in vivo*（ラット及びサル）非臨床試験（試験番号 BA16004；[表 2.6.5-16]〔*in vivo*〕及び [表 2.6.5-18]〔*in vitro*〕参照）の両方から得られた試料を用いて検討した。さらに、第 1 相臨床試験（試験番号[ALN-TTRSC02-001]）の代表的なヒト患者の血漿及び尿検体を分析し、全身循環又は腎排泄されたブトリシラン（試験番号 BA16004；[表 2.6.5-16]参照）の代謝物を特定した。

2.6.4.5.2.1 マウス、ラット、サル及びヒトの血清及び肝 S9 画分における *in vitro* での代謝物の検討

（CTD: 4.2.2.4-1、[BA16004]）

In vitro における代謝物の検討を、マウス、ラット、サル、ヒトの血清及び肝 S9 画分を用いて行った（試験番号 BA16004；[表 2.6.5-18]参照）。マウス、ラット、サル、ヒトの血清中でブトリシランを 37℃で 24 時間インキュベーションした結果、センス鎖とアンチセンス鎖の両方の分解はごくわずかであったことから、ブトリシランは血清中で安定性が高いことが示された。未変化の二本鎖由来の全長センス鎖及びアンチセンス鎖が、血清中のすべてのインキュベーション後の主要成分として観察された。代謝物として可能性のあるアンチセンス鎖代謝物 AS(N-1)3′ブトリシランの小分画（＜2%）とセンス鎖からの GalNAc の 3′末端の糖の消失を検出した。しかし、これらの分子が真の代謝物か不純物かについては結論が出ていない。

マウス、ラット、サル、ヒトの肝 S9 画分とブトリシランを 37℃で 24 時間インキュベーションしたところ、4 種の動物とも同様の代謝パターンが得られ、未変化体の二本鎖由来の全長センス鎖及びアンチセンス鎖が主要成分であった。センス鎖とアンチセンス鎖の両方の分解が最小限であったことから、ブトリシランは肝 S9 画分で安定性が高いことが示された。代謝物として可能性のあるアンチセンス鎖代謝物 AS(N-1)3′ブトリシランの小画分（＜1%）が検出された。しかし、これらの分子が真の代謝物か不純物かについては結論が出ていない。センス鎖の GalNAc の 3′末端の糖の消失を検出した。

2.6.4.5.2.2 ラット及びサルの血漿及び肝臓における *in vivo* での代謝物の検討

（CTD: 4.2.2.4-1、[BA16004]）

ブトリシランの SC 投与後の血漿及び肝臓試料の *in vivo* におけるラット及びサル代謝物の検討で、2 種の動物種とも血漿及び肝臓サンプル中で同様のセンス及びアンチセンス鎖代謝物が生成することが示された（試験番号 BA16004；[表 2.6.5-16]参照）。

ラット（10 mg/kg）及びサル（30 mg/kg）の両方の *in vivo* での血漿試料において、ブトリシランのアンチセンス鎖は、アンチセンス鎖の 3′末端から 1 ヌクレオチドが脱落（AS(N-1)3′ブトリシラン）する最小限の二本鎖代謝物への代謝を受けた。センス鎖は、3′末端 3 分岐型 GalNAc 分子からの GalNAc 基の連続的な脱落によって主に代謝された。

ラット（3 mg/kg）及びサル（30 mg/kg）の *in vivo* での肝臓試料においては、ブトリシランのアンチセンス鎖は AS(N-1)3′ブトリシラン及びアンチセンス鎖の 3′末端から 3 ヌクレオチドの脱落した二本鎖代謝物（AS(N-3)3′ブトリシラン）に最小限の代謝を受けた。ラットでは投与後 14 日、サルでは投与後 15 日においても、アンチセンス鎖の未変化体が薬物関連物質の大部分を占めていた。これらのデータは、ブトリシランの高い代謝安定性を示している。センス鎖は、3′末端 3 分岐型 GalNAc 分子からの GalNAc 基の連続的な脱落とそれに続くリンカーの欠損によって代謝された。センス鎖及びアンチセンス鎖の 3′末端からの連続的なエキソヌクレアーゼによる開裂代謝物も、投与の後ろの時点でサル肝臓試料で観察された。

ブトリシランの *in vivo* 代謝物プロファイルを図 2.6.4.5-1 に要約した。これらのデータから、ブトリシランの *in vitro* 代謝プロファイルは、全体として *in vivo* 試験での試料から示されたプロファイルと類似していることが示された。

2.6.4.5.2.3 ラットにおける代謝物の同定と検討

（CTD: 4.2.2.3-2、[TTRSC02-DSM17-009]）

無処置及び BDC を施したラットに[^{3}H]-ブトリシランを単回 SC 投与（3 mg/kg）後にブトリシランの *in vivo* における代謝物を測定した。代謝物の同定のため、血漿、胆汁、尿及び糞を採取し分析した（試験番号 TTRSC02-DSM17-009；[表 2.6.5-17]参照）。AS(N-1)3′ブトリシランの構造確認には標準物質を使用した。

血漿中では、未変化体は $AUC_{0\text{-}96}$ で見たとき投与後 96 時間までの総放射能曝露量の約 75%を占めた。AS(N-1)3′ブトリシラン（M6）は総放射能曝露量の 6.86%であった。無処置及び BDC ラットにおける尿試料を放射能でみたとき、ブトリシラン未変化体はそれぞれ投与の 3.71%及び 5.75%であった。AS(N-1)3′ブトリシラン（M6）は無処置ラットの尿中で投与量の 0.213%であった。無処置及び BDC ラットでは、それぞれ投与量の約 22.9%及び約 14.0%がボイドボリュームに溶出した。このピークの成分を同定する試みは不成功であったが、そのピークは放射性標識を含む複数の二量体又は短鎖体から成り、単一の代謝物ではない可能性が高いと考えられた。胆汁では投与量の約 9%がブトリシランの未変化体として回収された。AS(N-1)3′ブトリシラン（M6）は胆汁中に多く含まれ、投与量の約 3%であった。糞中に回収された放射能はいずれも未知の成分であった。無処置ラットの糞中には未変化のブトリシランはみられなかった。

SC 投与後に[^{3}H]-ブトリシランは加水分解を受けて代謝された。AS(N-1)3′ブトリシラン及び未変化体ブトリシランに加えて、1 種類の代謝物、AS(N-3)3′ブトリシラン（ブトリシランのアンチセンス鎖の 3′末端から 3 ヌクレオチドが脱落）が暫定的に同定された。

代謝物プロファイリング及び同定結果から、ラットではブトリシランは未変化体の代謝並びに腎臓及び胆汁からの排泄により消失することが示された。

2.6.4.5.2.4　　ヒト血漿及び尿中の *in vivo* における代謝物の検討

（CTD: 4.2.2.4-1、[BA16004]）

ブトリシランはホスホロチオエート及び 2′-*O*-メチル（2′-OMe）ヌクレオチド修飾をすることで代謝安定性を高めている[1]。健康成人にブトリシランの 50 mg を単回投与したとき（試験番号[ALN-TTRSC02-001]）、体循環中に主要な代謝物は確認されなかった。血漿中では、完全長ブトリシランが唯一観察された薬物関連物質であった。尿中では、完全長ブトリシランが回収された全薬物の 98%を占めており、AS(N-3)3′ブトリシランが少量の代謝物（全投与量の 2%）として尿中に排泄された（試験番号 BA16004；[2.6.5.11]項参照）。この代謝物はラットとサルの肝臓の両方でみられた。センス鎖は 3′末端 3 分岐型 GalNAc 分子からの GalNAc 基の連続的な脱落により代謝された。ブトリシランの推定代謝経路を図 2.6.4.5-1 に示す。

図 2.6.4.5-1　　ブトリシランの推定代謝経路



略語：A＝アデノシン；C＝シチジン；G＝グアノシン；GalNAc＝*N*-アセチルガラクトサミン；L96＝3 分岐型 GalNAc 分子；s＝ホスホロチオエート；U＝ウリジン

注：小文字の a、c、g、u は 2′-*O*-メチル修飾ヌクレオチドを表す；Af、Cf、Gf、Uf は 2'-フルオロ修飾ヌクレオチドを表す。L96 は原資料（試験番号 BA16004）で使用されているが、本新薬承認申請書の別の箇所では R1 とも示している。

出典：試験番号 BA16004

2.6.4.5.3　　*In vitro* におけるシトクロム P450 相互作用試験

ブトリシランが CYP を介した DDI を受ける又は起こす可能性を、*in vitro*（試験番号[319N-1527]及び試験番号[319N-1528]）で評価した。

2.6.4.5.3.1 *In vitro* における CYP 基質の検討

（CTD: 4.2.2.4-2、[319N-1527]）

ブトリシランが主要 CYP アイソフォームの基質として作用する可能性を、相補的 DNA（cDNA）発現酵素を用いて評価した（試験番号 319N-1527；[表 2.6.5-19]参照）。*In vitro* におけるインキュベーションを、2 濃度のブトリシラン（800 ng/mL〔0.0490 µmol/L〕及び 8000 ng/mL〔0.490 µmol/L〕）で n＝3 で実施した。CYP アイソフォームの活性は、還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸（NADPH）の存在下及び非存在下で特異的 CYP 基質も使用して確認した。試験終了時にブトリシランの消失はごくわずかであった（＞88%、ブトリシランは種々の CYP において両濃度で残存した）。観察された最小限の消失から、ブトリシランは CYP1A2、2B6、2C8、2C9、2C19、2D6、3A4 又は 3A5 の基質ではないと考えられ、CYP 酵素の阻害剤及び誘導剤との臨床的相互作用の可能性は低いと考えられる。

2.6.4.5.3.2 *in vitro* における CYP 誘導の検討

In vitro でブトリシランが CYP 酵素の誘導剤かの検討は行わなかった。ブトリシランと同様の物理化学的特性を共有する GalNAc-siRNA 分子に関する公表された *in vitro* での DDI データは既に評価されており、主要な CYP の誘導物質ではなかったことが報告されている（2.6.4.7 項参照）[2]。

2.6.4.5.3.3 CYP の直接的及び時間依存的阻害

（CTD: 4.2.2.4-3、[319N-1528]）

ブトリシランが主要な CYP アイソフォーム（すなわち、CYP1A2、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A）を阻害する可能性を、プールしたヒト肝ミクロソーム（HLM）（200 名の男女ドナー）と CYP アイソフォームごとの標準プローブ基質を用いて、*in vitro* で評価した（試験番号 319N-1528；[表 2.6.5-20]参照）。

ブトリシランの直接的及び時間依存的阻害能を、CYP アイソフォーム特異的基質の存在下で、様々な濃度のブトリシラン（0.0006 µmol/L〔0.01 µg/mL〕～612 µmol/L〔10,000 µg/mL〕）と共に n＝3 でインキュベーションすることにより評価した。時間依存性の評価のために、HLM を様々な濃度のブトリシラン（NADPH の存在下及び非存在下）でプレインキュベーションした。両試験系には、阻害を確認するための適切な陽性及び陰性対照を含めた。ブトリシランは、612 µmol/L までの濃度で検討したいずれのアイソフォームに対しても、直接的又は時間依存的な阻害を示さなかった。*In vitro* データと規制ガイダンス文書（FDA 2017；EMA 2012）における勧告を勘案し、阻害による臨床的 DDI のリスクはなく、したがって臨床的 DDI 試験は必要ないと考えた。

2.6.4.6 排泄

ラット及びサルにおけるブトリシランの排泄を検討する *in vivo* 試験を実施した。これらの試験の一覧を表 2.6.4.6-1 に示す。

表 2.6.4.6-1 ブトリシランの排泄試験

Species and Strain	**Method of Admin.**	**Duration of Dosing**	**Doses (mg/kg)**	**Type of Study**	**Study Number (Tabulated Summary) CTD Location**
Rat/Sprague Dawley	SC	Single dose	3	Non-GLP PK	TTRSC02-DSM15-033 (表 2.6.5-21) CTD: 4.2.2.2-1
Rat/Sprague Dawley	SC	Single dose	[^{3}H]-vutrisiran: 3	Radiolabeled mass balance and tissue distribution by QWBA	TTRSC02-DSM17-009 (表 2.6.5-22; 表 2.6.5-24) CTD: 4.2.2.3-2
Monkey/ Cynomolgus	SC	Single dose	1, 30	Non-GLP PK	TTRSC02-DSM15-035 (表 2.6.5-23) CTD: 4.2.2.2-2

略語：Admin.＝投与；CTD＝コモンテクニカルドキュメント；GLP＝医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準；PK＝薬物動態；QWBA＝定量的全身オートラジオグラフィー；SC＝皮下

2.6.4.6.1 ラットにおける排泄

（CTD: 4.2.2.2-1、[TTRSC02-DSM15-033]）

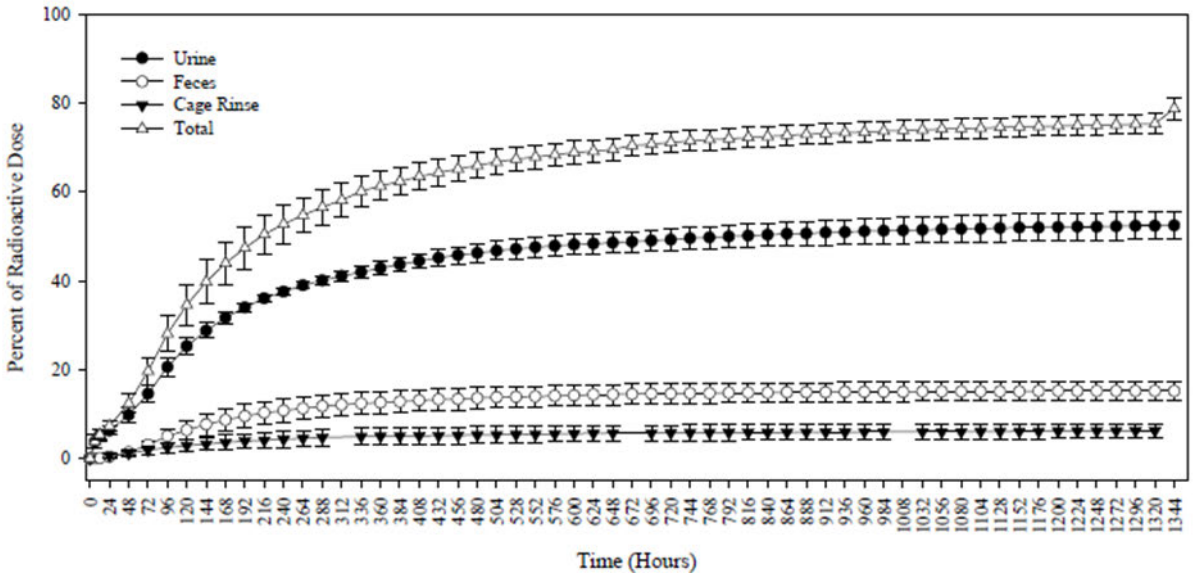
ラットにブトリシランの 3 mg/kg を単回 SC 投与したときの尿及び糞中へのブトリシランの排泄を検討した（試験番号 TTRSC02-DSM15-033；[表 2.6.5-21]参照）。総投与量の約 9%が未変化体として尿中に回収され、大部分は投与後 24 時間に排泄された。ブトリシラン投与量の一部（1%未満）が糞中に排泄された。

2.6.4.6.1.1 ラットにおける排泄（放射能標識[^{3}H]-ブトリシランによるマスバランス試験）

（CTD: 4.2.2.3-2、[TTRSC02-DSM17-009]）

無処置ラットに[^{3}H]-ブトリシランを SC 投与したとき、[^{3}H]-ブトリシラン由来の放射能の大部分は投与後 336 時間に尿中に排泄された（試験番号 TTRSC02-DSM17-009；[表 2.6.5-22]参照）。図 2.6.4.6-1 に無処置ラットにおける排泄を示した。無処置ラットでは投与後 1344 時間までに投与放射能の平均 52.5%が尿中に、15.2%が糞中に排泄された。

図 2.6.4.6-1 雄ラットに[^{3}H]-ブトリシランを単回 SC 投与（3 mg/kg）したときの尿中、糞中及びケージ洗浄液中放射能濃度の平均累積パーセント



注：合計は尿、糞便、ケージリンス、ケージ洗浄液、ケージ拭き取り分を含む。n=4

出典：試験番号 TTRSC02-DSM17-009

SC 投与後の BDC ラットでは、投与後 168 時間までに投与放射能の平均 25.8%、24.0%及び 1.50%がそれぞれ尿、胆汁及び糞中に排泄された（試験番号 TTRSC02-DSM17-009；[表 2.6.5-24]参照）。SC 投与後に大量の放射能が尿中及び胆汁中に排泄されたことから、腎臓及び胆汁中排泄が[^{3}H]-ブトリシラン由来の放射能の主要な排泄経路であることが示された。無処置及び BDC ラットでの SC 投与後の放射能の平均総回収率は、それぞれ 78.8%及び 81.8%であった。本試験では、回収された総放射能は未変化体とブトリシランの分解／代謝物とを区別していない。血漿、尿、胆汁、糞の代謝物プロファイリングについては 2.6.4.5.2.3 項で述べている。

2.6.4.6.2 サルにおける排泄

（CTD: 4.2.2.2-2、[TTRSC02-DSM15-035]）

サルにブトリシランの 1 又は 30 mg/kg を単回 SC 投与し、尿及び糞中への排泄を検討した（試験番号 TTRSC02-DSM15-035；[表 2.6.5-23]参照）。尿中に排泄されるブトリシランの量に性差は認められなかった。総排泄量（雌雄合算）の未変化体の割合は、1 及び 30 mg/kg でそれぞれ 11%及び 24%であった。

30 mg/kg のプールした糞でのみブトリシランは検出可能であり、総投与量の 0.1%未満であった。少量（5%）のブトリシランが 30 mg/kg におけるケージ洗浄液で回収された。ラットと同様に、サルにおける未変化体のブトリシランの腎排泄はわずかであった。

2.6.4.7 薬物動態学的薬物相互作用

2.6.4.5.3 項で述べたように、ブトリシランは CYP の阻害剤でも基質でもない。CYP の誘導及びトランスポーターの基質／阻害はブトリシランでは検討していない。しかし、siRNA 分子の固有の特性により DDI のリスクは非常に低くなり、GalNAc-siRNA と他の化合物の間で DDI が生じるようなメカニズムは確認されていない。

In vitro における DDI データがブトリシランと同様の物理化学的特性を共有する 10 種類の他の GalNAc-siRNA 分子について分析されている。これらの GalNAc-siRNA を、主要 CYP の基質、阻害剤、又は誘導剤として、またトランスポーターの基質及び阻害剤として評価した。検討した siRNA はいずれも CYP の時間依存的阻害剤、CYP 基質、CYP 誘導剤ではなかった。試験した siRNA のうち 3 種は、弱い直接的 CYP 阻害を示したが、臨床的に問題とならない濃度であった。試験した 4 種類の GalNAc-siRNA のうち、いずれもトランスポーターの基質ではなく、1 種類は臨床的に問題とならない濃度で P 糖たん白質の阻害を引き起こした。

全体として、データは CYP 又はトランスポーターに対する DDI の可能性が低いことを示唆している [2]。

2.6.4.8 その他の薬物動態試験

その他の薬物動態試験は実施していない。

2.6.4.9 考察及び結論

ブトリシランナトリウムの PK 及び ADME を、主要な毒性試験及びブトリシランの臨床開発をサポートするために、様々な *in vitro* 及び非臨床 *in vivo* 試験で検討した。

雌雄のラット及びサルに一連の投与量でブトリシランを単回（IV 及び SC）及び反復（SC）投与し、血漿中の PK を検討した。ブトリシランの体内動態は、ラット及びサルでは CL が高く、肝臓への速やかかつ特異的な分布が特徴であった。ブトリシランの PK に性差は認められなかった。ブトリシランの血漿中 $t_{1/2}$ は投与間隔の長さと比較して短いため、検討した PK の投与量で月 1 回反復投与したときの血漿中への蓄積はごくわずかか全く認められなかった。ラットに 1 mg/kg、サルに 0.3 又は 1 mg/kg を月 1 回 4 ヵ月間 SC 投与したときの反復投与時の血漿中 PK パラメータは、単回投与時の PK パラメータと類似していた。全体的に、反復 SC 投与したとき、ラット及びサルにおけるブトリシランの PK 特性は、時間及び投与量依存的ではないことが示されている。ラット及びサルにおけるブトリシランの血漿中曝露は短時間（一般的に $t_{1/2}$ は 3 時間未満であり、8 時間までに血漿中にブトリシランがほとんど検出されないか、検出されない）であり、これは肝臓で観察された長期曝露とは対照的であった。注目すべきこととして、1 mg/kg を SC 投与の肝臓曝露量は 10 mg/kg を IV 投与と同程度であり、同様の TTR 減少を生じ、SC 投与後のブトリシランのより効率的な取り込みが示された。このことも、IV と SC 曝露量を比較することによりバイオアベイラビリティを推定することはできないが、100%と予想される理由を説明している。これは、先に述べた ASGPR を介した GalNAc 複合体の能動的取込みと一致している。続いて起こる肝臓中のブトリシランの高い肝臓濃度と長い滞留時間は、観察された長期間の PD 効果に寄与している。

ブトリシランの TK を毒性試験中に検討した。ブトリシランの血漿中 TK 及び肝臓中濃度を、毒性試験及び TK 試験においてマウス、ラット、ウサギ及びサルで検討した。ラットにおける 6 ヵ月間反復投与試験における NOAEL は、月 1 回 8 回投与で 150 mg/kg であり、対応する雌雄合わせた Day 197 の平均血漿中 C_{max} は 29.1 μg/mL、$AUC_{0\text{-}t(last)}$は 331 μg·h/mL であった。サルにおける 9 ヵ月間投与試験における NOAEL は、月 1 回 11 回投与で 300 mg/kg であり、対応する C_{max} の Day 253 の平均値は 71.7 μg/mL、$AUC_{0\text{-}t(last)}$は 1170 μg·h/mL であった。ラット受胎能及び初期胚発生に関する主試験における NOAEL は雌雄ラットで 70 mg/kg であり、対応する Day 14 の $AUC_{0\text{-}t(last)}$は雄で 135 μg·h/mL、GD 6 の $AUC_{0\text{-}t(last)}$は雌で 75.7 μg·h/mL であった。F_0 の雌を用いたラット胚・胎児発生に関する主試験における NOAEL は 10 mg/kg であり、対応する GD 17 の平均 C_{max} は 0.883 μg/mL、$AUC_{0\text{-}t(last)}$は 4.82 μg·h/mL であった。ウサギ胚・胎児発生に関する主試験における NOAEL は、F_0 雌及び F_1 同腹児で 30 mg/kg であり、対応する GD 19 の平均 C_{max} は 12.9 μg/mL、$AUC_{0\text{-}t(last)}$は 67.4 μg·h/mL であった。ラット出生前及び出生後の発生に関する試験における母動物の NOAEL は 20 mg/kg であり、対応する LD 12 における母動物の C_{max} 及び $AUC_{0\text{-}t(last)}$はそれぞれ 2.59 μg/mL 及び 8.61 μg·h/mL であった。同試験で F_1 世代の NOAEL は 20 mg/kg であった。ブトリシランは F_1（仔）（出生後 12 日目）の血漿中では検出されなかった。ブトリシランはラット及びサルのいずれにおいても月に 1 回投与後に血漿中に蓄積せず、いずれの動物種においても性差は認められなかった。

血漿たん白結合率は、非臨床で使用した動物種及びヒトで同程度であった。血漿たん白結合率は濃度依存的（0.5～50 μg/mL で検討）であり、ブトリシラン濃度の上昇に伴い結合率は低下した。ヒトを対象とした単回漸増投与試験で認められた C_{max} の平均値は、25 mg 及び 50 mg 投与群でそれぞれ 0.0984 及び 0.191 μg/mL であったこと（試験番号[ALN-TTRSC02-001]）を考慮すると、臨床における血漿中濃度では、血漿たん白結合率は、約 80%程度と比較的一定に保たれることが予想される。なお、ブトリシランは特異的に血球に分布しない。

マウス、ラット、ウサギ、及びサルにおいて血漿と比較して一貫して肝臓で高濃度であることから肝臓を標的としたブトリシランの送達が確認された。

ラットにおいて、[^{3}H]-ブトリシラン由来の放射能は速やかに吸収された。高レベルの放射能が投与部位、肝臓、腎臓、胸管、リンパ節で検出された。ラットにおける単回 SC 投与後に得られた分布データから、肝臓（薬理学的な標的臓器）が主要な分布部位であり、続いて腎臓であるが、薬理学的投与量（0.3 mg/kg）では肝臓の曝露量が腎臓の 100 倍であることが示された。これら 2 器官における曝露量は血漿中曝露量よりも数桁高かった。ブトリシランの分布に明らかな性差は認められなかった。反復投与後にラットとサルの両方で血漿と比較して一貫してブトリシランが高濃度であることにより肝臓へのブトリシランの標的送達が確認された。肝臓中濃度は投与量にほぼ比例して増加した。単回投与後の肝臓中ブトリシランの $t_{1/2}$ は、ラットで 3.5～6.3 日、サルでは全投与量で 18～31 日であった。ラットの反復投与時及びサルの 0.3 mg/kg 反復投与時の肝臓への蓄積性は認められなかった。1 mg/kg を月 1 回反復投与したサル肝臓では、$AUC_{0\text{-}t(last)}$でみると 2.6 倍の蓄積が認められた。サルの肝臓の PK（CL 及び分布容積）からアロメトリックスケーリングをすると、ヒトの肝臓での $t_{1/2}$ は、体重 70 kg の患者で約 53 日と予測された。臨床で予定されている 3 ヵ月に 1 度の投与を考えた場合、蓄積性は無いと考えられる。

雌ラット及び雌ウサギを用いた DRF 胚・胎児試験において、ブトリシランは母動物の肝臓、腎臓及び胎盤で検出されたが、胎児及び胎児の肝臓では検出されなかった。

動物種（マウス、ラット、サル、ヒト）にかかわらず、血清中で最大 24 時間インキュベーションした場合、ブトリシランのセンス鎖又はアンチセンス鎖の分解は無視できる程度であった。肝 S9 画分とインキュベーションした場合、ブトリシランのアンチセンス鎖はすべての動物種で 8 時間まで安定しており（＜10%の消失）、次の時点（24 時間）での残存率はサルの 70%からヒトの 90%であった。センス鎖もすべての動物種で 8 時間まで安定しており（＜10%の消失）、24 時間での残存率は 59%（サル）から 89%（ラット、ヒト）であった。*In vitro* では、ヒトに特有の代謝物は確認されなかった。

ラット及びサルへの SC 投与後の血漿及び肝臓試料の代謝物の検討により、ブトリシランの 1 次代謝物はアンチセンス鎖の 3′末端の N-1 及び N-3 の切断であることが判明した。センス鎖及びアンチセンス鎖の 3′末端からの連続的なエキソヌクレアーゼ由来代謝物も、投与の後ろの時点においてサル肝臓試料で観察された。ラットに[^{3}H]-ブトリシランを SC 投与後の血漿、尿、胆汁、及び糞試料の代謝物を検討した結果、[^{3}H]-ブトリシランがヌクレアーゼを介する加水分解で代謝されたことが示された。AS(N-1)3′ブトリシランが最も多い同定された代謝物であった。ヒト血漿試料中の代謝物の検討で、循環血中にブトリシランの代謝物がないことが示された。ヒト尿中ではブトリシランは主成分であり AS(N-3)3′ブトリシランがわずかに認められるのみである。この少量の循環血中に存在しないヒト代謝物は、ラット及びサルの肝臓試料で高濃度であることから、毒性試験において適切に評価されていることが確認されていると考える。センス鎖は、3′末端 3 分岐型 GalNAc 分子からの GalNAc 基の脱落よって代謝された。

ブトリシランは 612 µmol/L（10,000 µg/mL）までの濃度で主要な CYP の基質ではなく、いずれも阻害しなかった。CYP 誘導試験及びトランスポーター基質／阻害試験はブトリシランでは検討していない。しかし、ブトリシランと同様の物理化学的特性を共有する GalNAc-siRNA は *in vitro* における DDI データにより、主要 CYP の基質、阻害剤、又は誘導剤、またトランスポーターの基質及び阻害剤としての評価がなされている。全体として、データは CYP 又はトランスポーターに対する DDI の可能性が低いことを示唆しており、臨床的相互作用試験は必要ないと考えられる。

SC 投与後に無処置ラットでは大量の放射能が尿中に排泄（約 53%）され、BDC ラットでは胆汁中に排泄（約 24%）されることから、腎排泄及び胆汁排泄が[^{3}H]-ブトリシラン由来放射能の主要な排泄経路であることが示された。排泄された放射能は主にブトリシランの代謝物であり、それは依然として放射性標識物を含んでいると考えられる。ラットに 3 mg/kg を単回 SC 投与したときのブトリシランの腎排泄は、総投与量の約 9%であった。サルに 1 又は 30 mg/kg を単回 SC 投与したとき、尿中に総投与量の 11～24%が未変化体として排泄された。糞中排泄は両種とも無視できる程度であった。これらのデータから、吸収された薬物の大部分が肝臓に分布し、排泄前に代謝（ヌクレアーゼによる開裂）されたことを示唆している。

ブトリシランの *in vitro* 及び *in vivo* における PK、分布、代謝、排泄の検討を要約すると、ブトリシランは、*in vivo* で試験した非臨床の動物種間及び *in vitro* におけるヒトと動物間で分布、代謝、排泄において類似したパターンを示す。いくつかの動物種で実施されたこれらのデータは、ブトリシランの投与により、siRNA が意図した標的臓器（肝臓）に曝露されることを示している。

総じて、これらの試験は毒性試験の解釈をサポートし、25 mg を 3 ヵ月に 1 回の投与計画でのヒトにおけるブトリシランの性質の特徴付けを助け、成人における ATTR アミロイドーシスの治療のためのブトリシランの臨床使用をサポートすると考えられる。

2.6.4.10 図表

図表は本文中に示した。

2.6.4.11 参考文献一覧

1. Janas MM, Jiang Y, Schlegel MK, Waldron S, Kuchimanchi S, Barros SA. Impact of oligonucleotide structure, chemistry, and delivery method on in vitro cytotoxicity. Nucleic Acid Ther. [10.1089/nat.2016.0639]. 2017;27(1):11-22.
2. Ramsden D, Wu JT, Zerler B, Iqbal S, Jiang J, Clausen V, et al. In vitro drug-drug interaction evaluation of GalNAc conjugated siRNAs against CYP450 enzymes and transporters. Drug Metab Dispos. 2019;47(10):1183-94.

目次

2.6.5 薬物動態試験概要表 2
2.6.5.1 薬物動態試験一覧表 2
2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験 5
2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収 16
2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収 18
2.6.5.5 薬物動態試験：分布 20
2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合 27
2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験 28
2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験 30
2.6.5.9 薬物動態試験：*In Vivo* における代謝 34
2.6.5.10 薬物動態試験：*In Vitro* における代謝 39
2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路 44
2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害 45
2.6.5.13 薬物動態試験：排泄 47
2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄 53
2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用 55
2.6.5.16 薬物動態試験：その他 55

2.6.5 薬物動態試験概要表

2.6.5.1 薬物動態試験一覧表

表 2.6.5-1 薬物動態試験一覧表

Overview			**Test Article:** Vutrisiran[a]		
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Study Number**	**Location**
Absorption					
Absorption after a single dose or repeated doses in a single- and multiple-dose PK study	Sprague Dawley rat	Single IV bolus (5 mg/kg); Single SC (0.3, 1, 3, 10 mg/kg); Repeat SC (1 or 40 mg/kg; qM×4)	Alnylam	TTRSC02-DSM15-033	4.2.2.2-1
Absorption after a single dose or repeated doses in a single- and multiple-dose PK/PD study	Cynomolgus monkey	Single IV bolus (10 mg/kg); Single SC (0.3, 1, 3, 30 mg/kg); Single IM (1 mg/kg); Repeat SC (0.3, 1 mg/kg; qM×4)	[redacted]	TTRSC02-DSM15-035	4.2.2.2-2
Distribution					
Plasma protein binding	Mouse, rat, monkey, and human plasma	*In vitro* (0.5, 1, 5, 10, 25, 50 µg/mL)	Alnylam	BA18007	4.2.2.3-1
Tissue distribution via QWBA and MARG, and blood cell partitioning in a radiolabeled excretion mass balance and tissue distribution study in rats	Sprague Dawley rat	Single SC (3 mg/kg) dose of [^{3}H]-vutrisiran	[redacted]	TTRSC02-DSM17-009	4.2.2.3-2
Distribution in a single- and multiple-dose PK study in rats	Sprague Dawley rat	Single SC (0.3, 1, 3 mg/kg); Repeat SC (1 or 40 mg/kg; qM×4)	Alnylam	TTRSC02-DSM15-033	4.2.2.2-1

表 2.6.5-1 薬物動態試験一覧表（続き）

Overview			**Test Article:** Vutrisiran[a]		
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Study Number**	**Location**
Distribution in a single- and multiple-dose PK/PD study in monkeys	Cynomolgus monkey	Single IV (10 mg/kg) bolus; Single SC (0.3, 1, 3, 30 mg/kg); Single IM (1 mg/kg); Repeat SC (0.3, 1 mg/kg; qM×4)	[redacted]	TTRSC02-DSM15-035	4.2.2.2-2
Metabolism					
In vitro metabolic stability and *in vitro* and *in vivo* metabolite profiling	Mouse, rat, monkey, and human serum and liver S9 fractions; Human plasma and urine; Rat and monkey plasma and liver	5 µmol/L (*in vitro*); 10, 30 mg/kg (*in vivo*)	Alnylam	BA16004	4.2.2.4-1
In vivo metabolic profiling and identification of [^{3}H]-vutrisiran in a radiolabeled excretion mass balance and tissue distribution study in rats	Sprague Dawley rat	Single SC (3 mg/kg) dose of [^{3}H]-vutrisiran	[redacted]	TTRSC02-DSM17-009	4.2.2.3-2
In vitro CYP metabolism	Human/recombinant CYP enzymes	*In vitro* incubation	[redacted]	319N-1527	4.2.2.4-2
In vitro direct and time-dependent CYP inhibition	Human liver microsomes	*In vitro* incubation	[redacted]	319N-1528	4.2.2.4-3

表 2.6.5-1 薬物動態試験一覧表（続き）

Overview			Test Article: Vutrisiran[a]		
Type of Study	**Test System**	**Method of Administration**	**Testing Facility**	**Study Number**	**Location**
Excretion					
Renal and fecal excretion in a single- and multiple-dose PK study in rats	Sprague Dawley rat	Single SC (3 mg/kg)	Alnylam	TTRSC02-DSM15-033	4.2.2.2-1
Excretion in intact and BDC rats in a radiolabeled excretion mass balance and tissue distribution study in rats	Sprague Dawley rat	Single SC (3 mg/kg) dose of [^{3}H]-vutrisiran	[redacted]	TTRSC02-DSM17-009	4.2.2.3-2
Renal and fecal excretion in a single- and multiple-dose PK/PD study in monkeys	Cynomolgus monkey	Single SC (1, 30 mg/kg)	[redacted]	TTRSC02-DSM15-035	4.2.2.2-2
Pharmacokinetic Drug Interactions					
No studies conducted.					
Other PK Studies					
No studies conducted.					

Abbreviations: Alnylam=Alnylam Pharmaceuticals, Inc. (Cambridge, MA); BDC=bile duct cannulated; [redacted] (Madison, WI); CYP=cytochrome P450; IM=intramuscular(ly); IV=intravenous(ly); MARG=microautoradiography; PD=pharmacodynamic(s); PK=pharmacokinetic(s); qM=once monthly; [redacted] QWBA=quantitative whole-body autoradiography; SC=subcutaneous(ly).

a Vutrisiran, also referred to as AD-65492, ALN-65492, or ALN-TTRSC02 in original nonclinical source reports, is the name of the active drug substance in solution.

2.6.5.2 分析方法及びバリデーション試験

表 2.6.5-2 バリデーションした／適切な分析方法

Species/ Strain	Study No.	Study Type	Test Article	Analyte(s)	Matrix	Method		
						Report Reference	Platform	GLP Status[a]
Mouse/ Tg-rasH2 WT	TTRSC02-DSM18-031	DRF repeat-dose toxicity (8 weeks)	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma	TSLR16-109	LC/MS-HRAM	GLP
					Liver	TK19003	LC/MS-HRAM	Non-GLP
Mouse/ Tg-rasH2 WT and C57BL/6NTac	TTRSC02-DSM16-032	DRF repeat-dose toxicity (12 weeks)	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma, liver, kidney	BA17012	LC/MS-HRAM	Non-GLP
Mouse/CD-1	TTRSC02-DSM19-009	DRF repeat-dose toxicity (13 weeks)	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma	TSLR16-109	LC/MS-HRAM	GLP
Rat/Sprague Dawley	TTRSC02-DSM15-033	Single- and multiple-dose PK/BD	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma	TSLR15-206	LC/MS-HRAM	GLP
					Liver, kidney, urine, feces	BA16030	LC/MS-HRAM	Non-GLP

表 2.6.5-2 バリデーションした／適切な分析方法（続き）

Species/ Strain	Study No.	Study Type	Test Article	Analyte(s)	Matrix	Method		
						Report Reference	Platform	GLP Status[a]
Rat/Sprague Dawley	TTRSC02-GLP15-028	Single-dose bone marrow micronucleus assay	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma	TSLR15-206	LC/MS-HRAM	GLP
Rat/Sprague Dawley	TTRSC02-DSM15-028	DRF repeat-dose toxicity (13 weeks)	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma	BA16001	LC/MS-HRAM	Non-GLP
					Liver, kidney	BA16002	LC/MS-HRAM	Non-GLP
Rat/Sprague Dawley	TTRSC02-GLP15-026	Repeat-dose toxicity (13 weeks)	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma	TSLR15-206	LC/MS-HRAM	GLP
					Liver, kidney	BA15016	LC/MS-HRAM	Non-GLP
Rat/Sprague Dawley	TTRSC02-DSM17-011	Repeat-dose toxicity (6 months)	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma, liver, kidney	TK18002	LC/MS-HRAM	Non-GLP
Rat/Sprague Dawley	TTRSC02-GLP15-040	Repeat-dose toxicity (6 months)	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma	TSLR15-206	LC/MS-HRAM	GLP
					Liver, kidney	BA16022	LC/MS-HRAM	Non-GLP
				ADA	Serum	3001203	ELISA	GLP
Rat/Sprague Dawley	TTRSC02-GLP18-003	Carcinogenicity (2 years)	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma	TSLR15-206	LC/MS-HRAM	GLP

表 2.6.5-2 バリデーションした／適切な分析方法（続き）

Species/ Strain	Study No.	Study Type	Test Article	Analyte(s)	Matrix	Method		
						Report Reference	Platform	GLP Status[a]
Rat/Sprague Dawley	TTRSC02-GLP16-013	DRF embryo-fetal toxicity	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma	TSLR15-206	LC/MS-HRAM	GLP
					Liver, kidney, placenta, fetus, fetal liver	BA16034	LC/MS-HRAM	Non-GLP
			AD-59206	AD-59206	Plasma	TSLR15-205	LC/MS-HRAM	GLP
					Liver, kidney, placenta, fetus, fetal liver	BA16034	LC/MS-HRAM	Non-GLP
Rat/Sprague Dawley	TTRSC02-GLP18-005	Fertility and early embryonic development to implantation	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma	TSLR15-206	LC/MS-HRAM	GLP
Rat/Sprague Dawley	TTRSC02-GLP18-013	Embryo-fetal toxicity	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma	TSLR15-206	LC/MS-HRAM	GLP

表 2.6.5-2 バリデーションした／適切な分析方法（続き）

Species/ Strain	Study No.	Study Type	Test Article	Analyte(s)	Matrix	Method		
						Report Reference	Platform	GLP Status[a]
Rat/Sprague Dawley	TTRSC02-GLP19-007	Prenatal and postnatal development	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma	TSLR15-206	LC/MS-HRAM	GLP
Rabbit/New Zealand White	TTRSC02-GLP16-012	DRF embryo-fetal toxicity	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma	TSLR16-110	LC/MS-HRAM	GLP
					Liver, kidney, placenta, fetus, fetal liver	BA16029	LC/MS-HRAM	Non-GLP
Rabbit/New Zealand White	TTRSC02-GLP18-014	Embryo-fetal toxicity	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma	TSLR16-110	LC/MS-HRAM	GLP
Monkey/ Cynomolgus	TTRSC02-GLP-037	Cardiovascular safety pharmacology	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma	TSLR15-207	LC/MS-HRAM	GLP
Monkey/ Cynomolgus	TTRSC02-DSM15-035	Single- and multiple-dose PK/PD, tissue distribution, and excretion	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma	TSLR15-207	LC/MS-HRAM	GLP
					Liver, urine, cage rinse, feces	BA16031	LC/MS-HRAM	Non-GLP

表 2.6.5-2 バリデーションした／適切な分析方法（続き）

Species/ Strain	Study No.	Study Type	Test Article	Analyte(s)	Matrix	Method		
						Report Reference	Platform	GLP Status[a]
Monkey/ Cynomolgus	TTRSC02-DSM15-027	DRF repeat-dose toxicity (13 weeks)	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma, liver, kidney	BA15019	LC/MS-HRAM	Non-GLP
Monkey/ Cynomolgus	TTRSC02-GLP15-025	Repeat-dose toxicity (13 weeks)	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma	TSLR15-207	LC/MS-HRAM	GLP
					Liver, kidney	BA15017	LC/MS-HRAM	Non-GLP
				TTR Protein	Serum	302417/ 302834[b]	ELISA	GLP
Monkey/ Cynomolgus	TTRSC02-GLP15-039	Repeat-dose toxicity (9 months)	Vutrisiran	Vutrisiran	Plasma	TSLR15-207	LC/MS-HRAM	GLP
					Liver, kidney	BA15018	LC/MS-HRAM	Non-GLP
				TTR Protein	Serum	302417/ 302834[b]	ELISA	GLP
				ADA	Serum	3001205	ELISA	GLP

Abbreviations: AD-59206=pharmacologically active mouse/rat surrogate; ADA=anti-drug antibody; BD=biodistribution; DRF=dose range-finding; ELISA=enzyme-linked immunosorbent assay; GLP=Good Laboratory Practice; LC/MS-HRAM=liquid chromatography/mass spectrometry-high resolution accurate mass; No.=number; PD=pharmacodynamic(s); PK=pharmacokinetic(s); TTR=transthyretin; WT=wild type.

Note: Vutrisiran, also referred to as AD-64592, ALN-64592, or ALN-TTRSC02 in original nonclinical source reports, is the name of the active drug substance in solution.

a GLP status column refers to the validation status of the method. Methods indicated as Non-GLP were not validated. A brief method description may be found within the listed sample analysis report.

b ELISA method originally validated in Study 302417 was cross-validated in Study 302834 using purified monkey TTR as reference material for the preparation of the standard curve and quality control (QC) samples.

表 2.6.5-3 分析方法及びバリデーション報告書：個々の要約

Validation Report Number: [TSLR16-109]						**Location in CTD: 4.2.2.1-5**
Method	**Species**	**Matrix (Anti-coagulant)**	**Analyte(s)/ Internal Standard**	**Quantification Range**	**QC Levels (ng/mL)**	**Stability**
LC/MS-HRAM	Mouse	Plasma (K_2EDTA)	ALN-TTRSC02/ ALN-57213[a]	20.0 to 2000 ng/mL	LLOQ: 20.0 Low QC: 60.0 Mid QC: 800 High QC: 1600	Bench-top (5°C): 7 hours Bench-top (RT): 24 hours Freeze-thaw (-70°C): 4 cycles Long-term storage (-70°C): 250 days Processed Sample (5°C): 168 hours
Intra-day accuracy and precision (AS: LLOQ, Low, Mid, High QC): -15.5 to 8.5% difference; 2.0 to 10.9% CV						**Dilution Linearity:** 35,000 ng/mL (dilution factor: 100)
Inter-day accuracy and precision (AS: LLOQ, Low, Mid, High QC): -11.9 to -0.7% difference; 3.0 to 13.6% CV						
Additional parameters evaluated: Selectivity, Carryover, Recovery, Matrix effect, Hemolysis, Interference, Whole blood stability, Processed sample viability, Stock Solution Stability						

表 2.6.5-3 分析方法及びバリデーション報告書：個々の要約（続き）

Validation Report Number: [TSLR15-206]						**Location in CTD: 4.2.2.1-6**
Method	**Species**	**Matrix (Anti-coagulant)**	**Analyte(s)/ Internal Standard**	**Quantification Range**	**QC Levels (ng/mL)**	**Stability**
LC/MS-HRAM	Rat	Plasma (K_2EDTA)	ALN-TTRSC02/ ALN-57213[a]	20.0 to 2000 ng/mL	LLOQ: 20.0 Low QC: 60.0 Mid QC: 800 High QC: 1600	Bench-top (5°C): 6 hours Freeze-thaw (-70°C): 6 cycles Long-term storage (-70°C): 722 days Processed Sample (5°C): 362 hours
Intra-day accuracy and precision (AS: LLOQ, Low, Mid, High QC): -8.8 to 10.5% difference; 3.0 to 19.5% CV						**Dilution Linearity:** 307,000 ng/mL (dilution factor: 1000)
Inter-day accuracy and precision (AS: LLOQ, Low, Mid, High QC): -1.9 to 5.0% difference; 0.0 to 7.2% CV						
Additional parameters evaluated: Selectivity, Carryover, Recovery, Matrix effect, Hemolysis, Interference, Whole blood stability, Extract Stability, Stock Solution Stability						
Validation Report Number: [TSLR16-110]						**Location in CTD: 4.2.2.1-7**
Method	**Species**	**Matrix (Anti-coagulant)**	**Analyte(s)/ Internal Standard**	**Quantification Range**	**QC Levels (ng/mL)**	**Stability**
LC/MS-HRAM	Rabbit	Plasma (K_2EDTA)	ALN-TTRSC02/ ALN-57213[a]	20.0 to 2000 ng/mL	LLOQ: 20.0 Low QC: 60.0 Mid QC: 800 High QC: 1600	Bench-top (5°C): 6 hours Bench-top (RT): 24 hours Freeze-thaw (-70°C): 4 cycles Long-term storage (-70°C): 463 days Processed Sample (5°C): 325 hours
Intra-day accuracy and precision (AS: LLOQ, Low, Mid, High QC): -7.7 to 8.1% difference; 2.1 to 14.0% CV						**Dilution Linearity:** 24,000 ng/mL (dilution factor: 20)
Inter-day accuracy and precision (AS: LLOQ, Low, Mid, High QC): -1.8 to 3.1% difference; 4.7 to 10.5% CV						
Additional parameters evaluated: Selectivity, Carryover, Recovery, Matrix effect; Hemolysis, Interference, Whole blood stability, Stock Solution Stability						

表 2.6.5-3 分析方法及びバリデーション報告書：個々の要約（続き）

<table>
<tr><td colspan="6">Validation Report Number: [TSLR15-207]</td><td>Location in CTD: 4.2.2.1-8</td></tr>
<tr><td>Method</td><td>Species</td><td>Matrix
(Anti-coagulant)</td><td>Analyte(s)/
Internal Standard</td><td>Quantification
Range</td><td>QC Levels
(ng/mL)</td><td>Stability</td></tr>
<tr><td>LC/MS-HRAM</td><td>Monkey</td><td>Plasma
(K_2EDTA)</td><td>ALN-TTRSC02/
ALN-57213[a]</td><td>20.0 to
2000 ng/mL</td><td>LLOQ: 20.0
Low QC: 60.0
Mid QC: 800
High QC: 1600</td><td>Bench-top (5°C): 6 hours
Freeze-thaw (-70°C): 6 cycles
Long-term storage (-70°C): 235 days
Processed Sample (5°C): 164 hours</td></tr>
<tr><td colspan="6">Intra-day accuracy and precision (AS: LLOQ, Low, Mid, High QC): -16.5 to 12.3% (outliers deactivated) difference; 2.7 to 17.1% CV (outliers deactivated)</td><td rowspan="2">Dilution Linearity: 100,000 ng/mL (dilution factor: 100)</td></tr>
<tr><td colspan="6">Inter-day accuracy and precision (AS: LLOQ, Low, Mid, High QC): -6.5 to 9.2% difference (outliers deactivated); 0.0 to 14.5% CV (outliers deactivated)</td></tr>
<tr><td colspan="7">Additional parameters evaluated: Selectivity, Carryover, Recovery, Matrix effect, Hemolysis, Interference, Whole blood stability, Stock Solution Stability</td></tr>
<tr><td colspan="6">Validation Report Number: [TSLR15-205]</td><td>Location in CTD: 4.2.2.1-9</td></tr>
<tr><td>Method</td><td>Species</td><td>Matrix
(Anti-coagulant)</td><td>Analyte(s)/
Internal Standard</td><td>Quantification
Range</td><td>QC Levels
(ng/mL)</td><td>Stability</td></tr>
<tr><td>LC/MS-HRAM</td><td>Rat</td><td>Plasma
(K_2EDTA)</td><td>AD-59206/
ALN-60212[b]</td><td>20.0 to
1000 ng/mL</td><td>LLOQ: 20.0
Low QC: 60.0
Mid QC: 400
High QC: 800</td><td>Bench-top (5°C): 6 hours
Freeze-thaw (-70°C): 4 cycles
Long-term storage (-70°C): 139 days
Processed Sample (5°C): 234 hours</td></tr>
<tr><td colspan="6">Intra-day accuracy and precision (AS: LLOQ, Low, Mid, High QC): -19.0 to 11.8% difference; 1.8 to 10.6% CV</td><td rowspan="2">Dilution Linearity: 80,000 ng/mL (dilution factor: 100)</td></tr>
<tr><td colspan="6">Inter-day accuracy and precision (AS: LLOQ, Low, Mid, High QC): -12.5 to 5.0% difference; 5.1 to 5.6% CV</td></tr>
<tr><td colspan="7">Additional parameters evaluated: Selectivity, Carryover, Recovery, Matrix effect, Hemolysis, Interference, Whole blood stability, Extract Stability, Stock Solution Stability</td></tr>
</table>

表 2.6.5-3 分析方法及びバリデーション報告書：個々の要約（続き）

Validation Report Number: [**302417**]						**Location in CTD: 4.2.2.1-1**
Method	**Species**	**Matrix (Anti-coagulant)**	**Analyte(s)/ Internal Standard**	**Quantification Range**	**QC Levels (ng/mL)**	**Stability**
ELISA	Monkey	Serum (none)	TTR Protein	1.13 to 69.44 ng/mL	LLOQ: 1.13 QC1: 3.00 QC2: 11.00 QC3: 28.00 ULOQ: 69.44	Bench-top (4°C): 24 hours Bench-top (RT): 10 hours 21 minutes[c] Freeze-thaw (-80°C): 4 cycles Long-term storage (-80°C): 126 days
Intra-day accuracy and precision (LLOQ, QC1, QC2, QC3, ULOQ): 83.2 to 118.3% theoretical; 0.3 to 16.8% CV						Parallelism (untreated): 8000 to 32,000-fold Parallelism (treated): 500 to 2000-fold
Inter-day accuracy and precision (LLOQ, QC1, QC2, QC3, ULOQ): 94.6 to 104.9% theoretical; 8.2 to 17.7% CV						
Additional parameters evaluated: Selectivity, Specificity, Prozone effect, Drug Interference						
Validation Report Number: [**302834**]						**Location in CTD: 4.2.2.1-2**
Method	**Species**	**Matrix (Anti-coagulant)**	**Analyte(s)/ Internal Standard**	**Quantification Range**	**QC Levels (ng/mL)**	**Stability**
ELISA	Monkey	Serum (none)	TTR Protein	1.19 to 38.00 ng/mL	LLOQ: 1.19 QC1: 3.42 QC2: 11.40 QC3: 22.80 ULOQ: 38.00	Bench-top (RT): 10 hours 21 minutes Long-term storage (-80°C): 126 days[d] Freeze-thaw (-80°C): 4 cycles[d]
Intra-day accuracy and precision (LLOQ, QC1, QC2, QC3, ULOQ): 77.6 to 115.7% theoretical; 0.0 to 16.0% CV						**Parallelism:** 1000 to 128,000-fold
Inter-day accuracy and precision (LLOQ, QC1, QC2, QC3, ULOQ): 95.7 to 103.1% theoretical; 4.1 to 10.8% CV						
Additional parameters evaluated: Selectivity, Specificity, Dilution linearity, Parallelism, Prozone effect, Drug Interference						

Abbreviations: AS=antisense strand; CTD=common technical document; CV=coefficient of variation; EDTA=ethylenediaminetetraacetic acid; ELISA=enzyme-linked immunosorbent assay; K_2=dipotassium; LC/MS-HRAM=liquid chromatography/mass spectrometry-high resolution accurate mass; LLOQ=lower limit of quantitation; QC=quality control; RT=room temperature; TTR=transthyretin; ULOQ=upper limit of quantitation.

a ALN-TTRSC02 (A-131359 [antisense]/A-131354 [sense])/ALN-57213 (A-116861 [antisense]/A-116858 [sense]).

b AD-59206 (A-101892 [antisense]/A-120146 [sense])/ALN-60212 (A-120190 [antisense]/A-122088 [sense]).

c Results were reported in 302834.

d Results were reported in 302417.

表 2.6.5-4 抗薬物抗体分析方法及びバリデーション報告書：個々の要約

<table>
<tr><td colspan="7">Validation Report Number: [3001203]</td><td>Location in CTD: 4.2.2.1-3</td></tr>
<tr><td>Method</td><td>Species</td><td>Matrix (Anti-coagulant)</td><td>Analyte(s)</td><td>Normalization Factors and Cut Point</td><td>Sensitivity</td><td>PC Levels (ng/mL)</td><td>Stability</td></tr>
<tr><td rowspan="6">ELISA</td><td rowspan="6">Rat</td><td rowspan="6">Serum
(none)</td><td rowspan="6">ADA</td><td>NF=1.262</td><td rowspan="6">86 ng/mL</td><td>LLPC: 250</td><td>Bench-top (RT): 24 hours</td></tr>
<tr><td>TNF=1.325</td><td>LPC: 500</td><td>Long-term storage (-80°C): 4.6 years</td></tr>
<tr><td rowspan="4">CCP=16.1%
signal inhibition
(A450 nm)</td><td>MPC: 2000</td><td>Freeze-thaw (-80°C): 6 cycles</td></tr>
<tr><td>HPC: 6000</td><td>Stock Solution (-80°C): 243 days</td></tr>
<tr><td></td><td>Minimum Required Dilution: 1/50</td></tr>
<tr><td colspan="7">Intra-day precision (LLPC, LPC, MPC, HPC): 0.7 to 14.0% CV</td><td>Precision of Titers: 3200 to 6400</td></tr>
<tr><td colspan="7">Inter-day precision (LLPC, LPC, MPC, HPC): 5.5 to 9.2% CV</td><td></td></tr>
<tr><td colspan="8">Additional parameters evaluated: Selectivity, Specificity, Drug Tolerance, Prozone</td></tr>
</table>

表 2.6.5-4 抗薬物抗体分析方法及びバリデーション報告書：個々の要約（続き）

<table>
<tr><td colspan="7">Validation Report Number: [3001205]</td><td>Location in CTD: 4.2.2.1-4</td></tr>
<tr><td>Method</td><td>Species</td><td>Matrix (Anti-coagulant)</td><td>Analyte(s)</td><td>Normalization Factors and Cut Point</td><td>Sensitivity</td><td>PC Levels (ng/mL)</td><td>Stability</td></tr>
<tr><td rowspan="6">ELISA</td><td rowspan="6">Monkey</td><td rowspan="6">Serum (none)</td><td rowspan="6">ADA</td><td>NF=1.198</td><td rowspan="6">159 ng/mL</td><td>LLPC: 150</td><td>Bench-top (RT): 26 hours and 37 minutes</td></tr>
<tr><td>TNF=1.807</td><td>LPC: 250</td><td>Long-term storage (-80°C): 4.6 years</td></tr>
<tr><td rowspan="4">CCP=25.8% signal inhibition (A450 nm)</td><td>MPC: 1200</td><td>Freeze-thaw (-80°C): 6 cycles</td></tr>
<tr><td>HPC: 2500</td><td>Stock Solution (-80°C): 227 day</td></tr>
<tr><td></td><td>Minimum Required Dilution: 1/50</td></tr>
<tr><td colspan="7">Intra-day precision (LLPC, LPC, MPC, HPC): 2.0 to 11.8% CV</td><td>Precision of Titers: 1600 to 6400</td></tr>
<tr><td colspan="7">Inter-day precision (LLPC, LPC, MPC, HPC): 6.0 to 16.0% CV</td><td></td></tr>
<tr><td colspan="8">Additional parameters evaluated: Selectivity, Specificity, Drug Tolerance, Prozone</td></tr>
</table>

Abbreviations: A450=absorbance at wavelength of 450 nm; ADA=anti-drug antibody; CCP=confirmatory cut point; CTD=common technical document; CV=coefficient of variation; ELISA=enzyme-linked immunosorbent assay; HPC=high positive control; LLPC=low, low positive control; LPC=low positive control; MPC=medium positive control; NF=normalization factor; PC=positive control; RT=room temperature; TNF=titration normalization factor.

2.6.5.3 薬物動態試験：単回投与後の吸収

表 2.6.5-5 Sprague Dawley ラットにおける単回投与後の薬物動態

Study Title: Pharmacokinetics of ALN-TTRSC02 in Plasma, Liver, Kidney Urine and Feces in Support of Study "ALN-TTRSC02: A Pharmacokinetics and Biodistribution Study of ALN-TTRSC02 or Revusiran (ALN-TTRSC) After a Single or Multiple Subcutaneous or Intravenous Dose in Male and Female Sprague Dawley Rats."				**Test Article:** Vutrisiran **Location in CTD:** 4.2.2.2-1 **Study No.** [TTRSC02-DSM15-033]	
Species/Strain:	Sprague Dawley Rat				
Sex (M/F)/No. of Animals:	M/4	M/16	M/16	M/16; F/16	M/4
Feeding Condition:	Fed				
Vehicle/Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection				
PK Time Points:	**Single IV:** 2/group on Day 1 (0.083, 0.5, 1, 3, 7, and 24 hours postdose) **Single SC:** 2/sex/group on Day 1 (0.5, 1, 3, 7, 24, 96, 168, and 336 hours post dose); additional samples were collected from the 1 mg/kg group at 504, 672, and 1344 hours postdose				
Method of Administration:	IV bolus injection (Single dose on Day 1); SC injection (Single dose on Day 1)				
Sample/Assay:	Plasma/LC/MS-HRAM				
Analyte:	Vutrisiran				
Dose (mg/kg):	**5 (Single IV)**	**0.3 (Single SC)**	**1 (Single SC)**	**3 (Single SC)**	**10 (Single SC)**
PK Parameters:					
T_{max} (h)	0.083	0.5	0.5	0.5	1.0
C_{max} (µg/mL)	37.2	0.0582	0.298	0.542	1.92
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	13.3	0.0407	0.423	0.823	4.93

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}t(last)}$=area under the concentration-time curve from the time of dosing to the last measurable concentration; C_{max}=maximum observed concentration occurring at T_{max}; CTD=common technical document; F=female; IV=intravenous(ly); LC/MS-HRAM=liquid chromatography/mass spectrometry-high resolution accurate mass; M=male; No.=number; PK=pharmacokinetic(s); SC=subcutaneous(ly); T_{max}=time to reach maximum concentration.

Note: Combined sexes values are presented for the 3 mg/kg single SC dose group.

表 2.6.5-6 カニクイザルにおける単回投与後の薬物動態

Study Title: The Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of TTRSC02 siRNA (AD-65492) After a Single Intravenous, Single or Multiple Subcutaneous, or Single Intramuscular Doses to Cynomolgus Monkeys						**Test Article:** Vutrisiran **Location in CTD:** 4.2.2.2-2 **Study No.** [TTRSC02-DSM15-035]
Species/Strain:	Cynomolgus monkey					
Sex (M/F)/No. of Animals:	M/3; F/3	M/3; F/3	M/3; F/3	M/3; F/3	M/3; F/3	M/4
Feeding Condition:	Fasted (≥6 hours) prior to dose administration through 4 hours postdose					
Vehicle/Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection					
PK Time Points:	Day 1: Predose, 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 96, 168, 336, 504, 672, 1008, and 1344 hours postdose					
Method of Administration:	IV bolus injection (Single dose, Day 1); SC injection (Single dose, Day 1); IM injection (Single dose, Day 1)					
Sample/Assay:	Plasma/LCMS-HRAM					
Analyte:	Vutrisiran					
Dose (mg/kg):	**10 (Single IV)**	**0.3 (Single SC)**	**1 (Single SC)**	**3 (Single SC)**	**30 (Single SC)**	**1 (Single IM)**
PK Parameters (Combined Sexes)[a]:						
T_{max} (h)	NR	1.9	2.6	2.5	2.8	NC
C_{max} (µg/mL)	152	0.0384	0.109	0.428	7.46	NC
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	82.1	0.105	0.632	2.44	55.0	NC

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}t(last)}$=area under the concentration-time curve from the time of dosing to the last measurable concentration; C_{max}=maximum observed concentration occurring at T_{max}; CTD=common technical document; F=female; IM=intramuscular(ly); IV=intravenous(ly); LC/MS-HRAM=liquid chromatography/mass spectrometry-high resolution accurate mass; M=male; NC=not calculated; No.=number; NR=not reportable – insufficient values to calculate parameter; PK=pharmacokinetic(s); SC=subcutaneous(ly); siRNA=small interfering RNA; T_{max}=time to reach maximum concentration.

a Combined sex values were calculated from the mean sex combined plasma concentration-time profile and not from the average of the sex specific PK parameters.

2.6.5.4 薬物動態試験：反復投与後の吸収

表 2.6.5-7 Sprague Dawley ラットにおける反復投与（qM×4）後の薬物動態

Study Title: Pharmacokinetics of ALN-TTRSC02 in Plasma, Liver, Kidney Urine and Feces in Support of Study "ALN-TTRSC02: A Pharmacokinetics and Biodistribution Study of ALN-TTRSC02 or Revusiran (ALN-TTRSC) After a Single or Multiple Subcutaneous or Intravenous Dose in Male and Female Sprague Dawley Rats."					**Test Article:** Vutrisiran			
					Location in CTD: 4.2.2.2-1			
					Study No. [TTRSC02-DSM15-033]			
Species/Strain:	Sprague Dawley Rat							
Sex (M/F)/No. of Animals:	M/24/group							
Feeding Condition:	Fed							
Vehicle/Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection							
PK Time Points:	2/group on Days 1, 29, and 57 (Predose and 0.5, 3, 7, and 24 hours postdose); Day 85 (Predose and 0.5, 1, 3, 7, 24, 96, 168, 336, 672, 1344, and 2016 hours postdose)							
Method of Administration:	SC injection on Days 1, 29, 57, 85							
Sample/Assay:	Plasma/LC/MS-HRAM							
Analyte:	Vutrisiran							
Dose (mg/kg):	**1 (qM×4)**				**40 (qM×4)**			
PK Parameters:	**Day 1**	**Day 29**	**Day 57**	**Day 85**	**Day 1**	**Day 29**	**Day 57**	**Day 85**
T_{max} (h)	0.5	NR	0.5	1.0	0.5	0.5	3.0	0.5
C_{max} (µg/mL)	0.329	NR	0.138	0.0735	7.40	3.20	13.8	6.92
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	0.538	NR	0.293	0.165	33.2	11.2	64.2	27.4

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}t(last)}$=area under the concentration-time curve from the time of dosing to the last measurable concentration; C_{max}=maximum observed concentration occurring at T_{max}; CTD=common technical document; F=female; LC/MS-HRAM=liquid chromatography/mass spectrometry-high resolution accurate mass; M=male; No.=number; NR=not reportable – insufficient values to calculate parameter; PK=pharmacokinetic(s); SC=subcutaneous(ly); qM=once monthly; T_{max}=time to reach maximum concentration.

表 2.6.5-8 カニクイザルにおける反復投与（qM×4）後の薬物動態

Study Title: The Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of TTRSC02 siRNA (AD-65492) After a Single Intravenous, Single or Multiple Subcutaneous, or Single Intramuscular Doses to Cynomolgus Monkeys					**Test Article:** Vutrisiran			
					Location in CTD: 4.2.2.2-2			
					Study No. [TTRSC02-DSM15-035]			
Species/Strain:	Cynomolgus monkey							
Sex (M/F)/No. of Animals:	3/sex/group							
Feeding Condition:	Fed							
Vehicle/Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection							
PK Time Points:	Day 1: Predose, 0.083, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 96, and 168 hours postdose; Day 29: Predose, 0.5, 4, 8, 24, and 48 hours postdose; Day 57: Predose, 0.5, 4, 8, 24, and 48 hours postdose; Day 85: Predose, 0.083, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 96, 168, 336, 504, 672, 1008, and 1344 hours postdose							
Method of Administration:	SC injection on Days 1, 29, 57, 85							
Sample/Assay:	Plasma/LC/MS-HRAM							
Analyte:	Vutrisiran							
Dose (mg/kg):	**0.3 (qM×4)**				**1 (qM×4)**			
PK Parameters (Combined Sexes)[a]:	**Day 1**	**Day 29**	**Day 57**	**Day 85**	**Day 1**	**Day 29**	**Day 57**	**Day 85**
T_{max} (h)	1.4	2.8	2.8	1.2	1.6	4.0	2.3	1.4
C_{max} (µg/mL)	0.0312	0.0354	0.0362	0.0420	0.130	0.114	0.110	0.199
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/mL)	0.104	0.111	0.0701	0.114	0.773	0.652	0.640	0.997

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}t(last)}$=area under the concentration-time curve from the time of dosing to the last measurable concentration; C_{max}=maximum observed concentration occurring at T_{max}; CTD=common technical document; F=female; LC/MS-HRAM=liquid chromatography/mass spectrometry-high resolution accurate mass; M=male; No.=number; PK=pharmacokinetic(s); qM=once monthly; SC=subcutaneous(ly); siRNA=small interfering RNA; T_{max}=time to reach maximum concentration.

a Combined sex values were calculated from the mean sex combined plasma concentration-time profile and not from the average of the sex specific PK parameters.

2.6.5.5 薬物動態試験：分布

表 2.6.5-9 ラットに単回及び反復皮下投与（qM×4）後の組織内分布

Study Title: Pharmacokinetics of ALN-TTRSC02 in Plasma, Liver, Kidney Urine and Feces in Support of Study "ALN-TTRSC02: A Pharmacokinetics and Biodistribution Study of ALN-TTRSC02 or Revusiran (ALN-TTRSC) After a Single or Multiple Subcutaneous or Intravenous Dose in Male and Female Sprague Dawley Rats."				**Test Article:** Vutrisiran **Location in CTD:** 4.2.2.2-1 **Study No.** [TTRSC02-DSM15-033]	
Species/Strain:	Sprague Dawley Rat				
Sex (M/F)/No. of Animals:	M/16	M/16	M/16; F/16	M/24	M/24
Vehicle/Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection				
Method of Administration:	SC injection (Single dose, Day 1; qM×4: Days 1, 29, 57, 85)				
Dose (mg/kg):	**0.3 (Single SC)**	**1 (Single SC)**	**3 (Single SC)**	**40 (qM×4)**	**1 (qM×4)**
Sample/Assay:	Liver, Kidney/LC/MS-HRAM				
Analyte:	Vutrisiran				
Sampling Time:	**Single SC:** Day 1 (3, 7, 24, 96, 168, and 336 hours postdose) **qM×4:** Day 85 (predose and 0.5, 1, 3, 7, 24, 96, 168, 336, 672, 1344, and 2016 hours postdose)				
Liver PK Parameters:		**Day 1**		**Day 85**	
T_{max} (h)	3.0	3.0	7.0	7.0	7.0
C_{max} (µg/g)	5.31	24.8	39.5	362	15.7
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/g)	465	1840	3890	31,400	1460
Kidney PK Parameters:		**Day 1**		**Day 85**	
T_{max} (h)	7.0	3.0	5.0	3.0	3.0
C_{max} (µg/g)	0.214	1.42	1.90	106	1.28
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/g)	4.48	141	375	32,800	330

Abbreviations: $AUC_{0\text{-}t(last)}$=area under the concentration-time curve from the time of dosing to the last measurable concentration; C_{max}=maximum observed concentration occurring at T_{max}; CTD=common technical document; F=female; LC/MS-HRAM=liquid chromatography/mass spectrometry-high resolution accurate mass; M=male; No.=number; PK=pharmacokinetic(s); qM=once monthly; SC=subcutaneous(ly); T_{max}=time to reach maximum concentration.

Note: Combined sexes values are presented for the 3 mg/kg (single SC) dose group. n=2 males/time point, except for 3 mg/kg group (2/sex/time point).

表 2.6.5-10　　ラットに単回皮下投与したときの QWBA による放射能の組織内分布

Study Title: [^{3}H]ALN-TTRSC02: Excretion Mass Balance and Tissue Distribution via Quantitative Whole-Body Autoradiography in Male Sprague Dawley Rats Following a Single Subcutaneous Administration	**Test Article:** [^{3}H]-vutrisiran
	Location in CTD: 4.2.2.3-2
	Study No. [TTRSC02-DSM17-009]

Species/Strain:	Sprague Dawley Rat
Sex (M/F)/No. of Animals:	M/1/time point
Feeding Condition:	Fasted overnight before dosing through approximately 4 hours postdose
Vehicle/Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection
Method of Administration:	Single SC injection
Dose (mg/kg):	3 mg/kg
Radionucleotide:	[^{3}H]-vutrisiran
Specific Activity:	392 μCi/mg
Analysis by QWBA:	One animal/time point was prepared for QWBA at 0.5, 1, 4, 24, 48, 96, 168, 336, 672, and 1344 h after nominal dose of 3 mg/kg [^{3}H]-vutrisiran. Carcass immediately frozen prior to embedding and sectioning for QWBA analysis.

Tissue	**Concentration of Radioactivity by QWBA (ng Equivalents [^{3}H]-vutrisiran/g)**									
	0.5 h	**1 h**	**4 h**	**24 h**	**48 h**	**96 h**	**168 h**	**336 h**	**672 h**	**1344 h**
Adrenal gland	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Arterial wall	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bile	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

表 2.6.5-10 ラットに単回皮下投与したときの QWBA による放射能の組織内分布（続き）

Tissue	Concentration of Radioactivity by QWBA (ng Equivalents [^{3}H]-vutrisiran/g)									
	0.5 h	1 h	4 h	24 h	48 h	96 h	168 h	336 h	672 h	1344 h
Blood	BLQ	369	231	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bone	BLQ	325	215	792	432	ND	ND	ND	186	ND
Bone marrow	BLQ	BLQ	220	186	285	293	BLQ	ND	BLQ	ND
Brain cerebellum	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain cerebrum	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain medulla	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Brain olfactory lobe	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Bulbo-urethral gland	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Cecum	ND	ND	425	351	ND	ND	526	204	ND	ND
Contents, cecum	ND	ND	1240	350	1660	607	626	ND	ND	ND
Contents, esophageal	1720	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Contents, large intestine	ND	ND	ND	248	597	310	167	ND	ND	ND
Contents, small intestine	1550	ND	5230	273	980	234	872	ND	ND	ND
Contents, stomach	3940	1460	28,300[a]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Diaphragm	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Dose site	438,000[a]	64,400[a]	NR	NR	49,200[a]	828	68,000[a]	11,800	17,900	4050
Epididymis	ND	ND	ND	ND	ND	ND	BLQ	BLQ	ND	ND
Esophagus	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Exorbital lacrimal gland	ND	ND	ND	ND	175	ND	ND	ND	ND	ND
Eye lens	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Eye uveal tract	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

表 2.6.5-10 ラットに単回皮下投与したときの QWBA による放射能の組織内分布（続き）

Tissue	Concentration of Radioactivity by QWBA (ng Equivalents [^{3}H]-vutrisiran/g)									
	0.5 h	1 h	4 h	24 h	48 h	96 h	168 h	336 h	672 h	1344 h
Eye(s)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fat (abdominal)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fat (brown)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	259	ND	ND	ND
Harderian gland	ND	ND	ND	ND	ND	ND	BLQ	BLQ	ND	ND
Intra-orbital lacrimal gland	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Kidney cortex	252	947	2510	2690	2280	2900	1420	864	1010	208
Kidney medulla	180	349	526	300	484	370	234	178	BLQ	ND
Kidney(s)	216	647	2040	2110	1540	1580	804	430	533	ND
Large intestine	ND	ND	ND	266	BLQ	347	220	ND	ND	ND
Liver	3270	7110	37,700	27,000	20,900	13,600	8500	3540	368	BLQ
Lung(s)	ND	222	ND	ND	BLQ	178	ND	ND	ND	ND
Lymph node(s)	2510	805	446	807	3300	582	8910	445	264	477
Muscle	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Myocardium	ND	ND	ND	ND	ND	ND	BLQ	ND	ND	ND
Nasal turbinates	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pancreas	ND	ND	263	ND	538	351	BLQ	240	ND	ND
Pituitary gland	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Preputial gland	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Prostate gland	ND	ND	ND	ND	ND	ND	BLQ	ND	ND	ND
Salivary gland(s)	ND	ND	ND	227	288	243	221	BLQ	ND	ND

表 2.6.5-10 ラットに単回皮下投与したときの QWBA による放射能の組織内分布（続き）

Tissue	Concentration of Radioactivity by QWBA (ng Equivalents [^{3}H]-vutrisiran/g)									
	0.5 h	1 h	4 h	24 h	48 h	96 h	168 h	336 h	672 h	1344 h
Seminal vesicle(s)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Skin (nonpigmented)	ND	ND	BLQ	171	197	ND	BLQ	BLQ	ND	ND
Small intestine	ND	ND	ND	ND	355	ND	ND	ND	ND	ND
Spinal cord	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Spleen	ND	ND	ND	ND	247	271	BLQ	ND	ND	ND
Stomach	ND	ND	209	ND	262	248	ND	ND	ND	ND
Testis(es)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	BLQ	ND	ND	ND
Thoracic duct	1560	708	211	ND	ND	206	BLQ	BLQ	274	ND
Thymus	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Thyroid	ND	ND	ND	ND	ND	ND	292	ND	ND	ND
Urinary bladder	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Urine	8900	8510	13,700	1000	2800	2670	923	199	181	ND

Abbreviations: BLQ=below the limit of quantitation (<166 ng equivalents [^{3}H]-vutrisiran/g); CTD=common technical document; F=female; M=male; ND=not detectable (sample shape not discernable from background or surrounding tissue) is the equivalent to not sampled; No.=number; NR=not represented (tissue not represented in section); QWBA=quantitative whole body autoradiography; SC=subcutaneous(ly).

a One or more samples were above the upper limit of quantitation (>57,600 ng equivalents [^{3}H]-vutrisiran/g).

表 2.6.5-11 サルに単回静脈内、単回皮下投与、反復皮下投与又は単回筋肉内投与したときの組織内分布

Study Title: The Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of TTRSC02 siRNA (AD-65492) After a Single Intravenous, Single or Multiple Subcutaneous, or Single Intramuscular Doses to Cynomolgus Monkeys						**Test Article:** Vutrisiran		
						Location in CTD: 4.2.2.2-2		
						Study No. [TTRSC02-DSM15-035]		
Species:	Cynomolgus monkey							
Vehicle/Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection							
Method of Administration:	IV bolus injection (Single dose, Day 1); SC injection (Single dose, Day 1; qM×4: Days 1, 29, 57, 85); IM injection (Single dose, Day 1)							
Dose (mg/kg):	**10 Single IV**	**0.3 Single SC**	**1 Single SC**	**3 Single SC**	**30 Single SC**	**0.3 qM×4 SC**	**1 qM×4 SC**	**1 Single IM**
Sex (M/F)/No. of Animals:	M/3; F/3	M/3; F/3	M/3; F/3	M/3; F/3	M/3; F/3	M/3; F/3	M/3; F/3	M/4
Sample/Assay:	Liver/LC/MS-HRAM							
Analyte:	Vutrisiran							
Sampling Time[a]:	**Single IV, SC, IM:** Days 0.33, 2, 4, 8, 15, 22, 29, 43, 57, 71, and 85 (corresponds to 8, 24, 72, 168, 336, 504, 672, 1008, 1344, 1680, and 2016 hours postdose) **qM×4 SC**: Days 30, 37, 44, 51, 58, 72, 87, 100, 133, 168, 175, 182, and 189 (corresponds to 696, 864, 1032, 1200, 1368, 1704, 2064, 2376, 3168, 4008, 4176, 4344, and 4512 hours post initial dose)							
Liver PK Parameters (Combined Sexes)[b]:								
T_{max} (h)	24	24	24	8	24	2064	2064	NC
C_{max} (µg/g)	10.5	6.28	18.6	46.4	330	3.83	20.1	NC
$AUC_{0\text{-}t(last)}$ (µg·h/g)	7450	2210	6140	16,300	142,000	3470	15,800	NC
AR ($AUC_{0\text{-}t(last)}$)	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	1.6	2.6	N/A

Abbreviations: AR=accumulation ratio; $AUC_{0\text{-}t(last)}$=area under the concentration-time curve from the time of dosing to the last measurable concentration; C_{max}=maximum observed concentration occurring at T_{max}; CTD=common technical document; F=female; IM=intramuscular(ly); IV=intravenous(ly); LC/MS-HRAM=liquid chromatography/mass spectrometry-high resolution accurate mass; LLOQ=lower limit of

quantitation; M=male; N/A=not applicable; NC=not calculated; No.=number; PK=pharmacokinetic(s); qM=once monthly; SC=subcutaneous(ly); siRNA=small interfering RNA; T_{max}=time to reach maximum concentration; ULOQ=upper limit of quantitation.

Note: LLOQ was 100 ng/g; ULOQ was 50,000 ng/g.

a Liver samples were collected from 1 animal/sex/group/time point.

b Combined sex values were calculated from the mean sex combined liver concentration time-profile and not from the average of the sex specific PK parameters.

2.6.5.6 薬物動態試験：たん白結合

表 2.6.5-12 マウス、ラット、サル又はヒト血漿におけるブトリシランのたん白結合

Study Title: Binding of ALN-TTRSC02 to Mouse, Rat, Monkey, or Human Plasma Proteins					**Test Article:** Vutrisiran	
					Location in CTD: 4.2.2.3-1	
					Study No. [BA18007]	
Study System:	*In vitro*					
Sample/Assay:	Plasma/Electrophoretic mobility shift assay (EMSA)					
	Mean Percent (%) Bound (n=2)					
Concentration (µg/mL):	**0.5**	**1**	**5**	**10**	**25**	**50**
Mouse Plasma	75.0	75.6	61.7	36.6	20.5	11.7
Rat Plasma	84.3	87.0	81.6	71.9	43.2	26.0
Monkey Plasma	86.8	86.3	75.4	62.1	39.5	15.9
Human Plasma	77.9	82.0	70.3	53.8	27.3	19.0

Abbreviations: CTD=common technical document; No.=number.

2.6.5.7 薬物動態試験：妊娠又は授乳動物における試験

表 2.6.5-13 ラット反復皮下投与による出生前及び出生後の発生に関する試験

Study Title: ALN-TTRSC02: Subcutaneous Injection Study of Effects on Prenatal and Postnatal Development, Including Maternal Function in Rats				**Test Article:** Vutrisiran
				Location in CTD: 4.2.3.5.3-1
				Study No. [TTRSC02-GLP19-007]
Species/Strain:	Rat/Sprague Dawley			
Lactation Day/No. of Animals:	LD 12/Dams: 3 TK females/group/time point; F_1 Pups: 3/sex/litter			
Vehicle/Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection, USP			
Method of Administration:	SC injection on GD 7, 13, 19 and LD 6 and 12			
Dose (mg/kg):	0, 5, 10, 20			
Analyte:	Vutrisiran			
Assay:	LC/MS-HRAM			
Time (h):	2 hours postdose			
	Mean Plasma Concentration (ng/mL)			
Maternal Dose:	**0**	**5**	**10**	**20**
Dam:	<LLOQ	313	766	1350
Pups (F_1 generation):	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ	<LLOQ

Abbreviations: CTD=common technical document; GD=gestation day; LC/MS-HRAM=liquid chromatography/mass spectrometry-high resolution accurate mass; LD=lactation day; LLOQ=lower limit of quantitation; No.=number; PND=postnatal day; SC=subcutaneous(ly); TK=toxicokinetic(s); USP=United States Pharmacopeia.

Note: The plasma concentration of vutrisiran was <LLOQ (20.0 ng/mL) for all control animals (F_0 dams) on LD 12 and for F_1 pups on PND 12. Control animals included 3 females that were administered 0.9% Sodium Chloride for Injection, USP.

Additional Information:

Plasma toxicokinetics and mean tissue concentrations (maternal liver, maternal kidney, placenta, fetal tissue [without liver], and fetal liver) of vutrisiran were evaluated in dose range-finding studies in rats (TTRSC02-GLP16-013; refer to 表 2.6.7-21) and rabbits (TTRSC02-GLP16-012; refer to 表 2.6.7-23). Plasma toxicokinetics were evaluated in a fertility and early embryonic development study in rats

(TTRSC02-GLP18-005; refer to 表 2.6.7-24), embryo-fetal development studies in rats (TTRSC02-GLP18-013; refer to 表 2.6.7-25) and rabbits (TTRSC02-GLP18-014; refer to 表 2.6.7-26), and a prenatal and postnatal development study in rat (TTRSC02-GLP19-007; refer to 表 2.6.7-27).

2.6.5.8 薬物動態試験：その他の分布試験

表 2.6.5-14 血球への移行

Study Title: [^{3}H]ALN-TTRSC02: Excretion Mass Balance and Tissue Distribution via Quantitative Whole-Body Autoradiography in Male Sprague Dawley Rats Following a Single Subcutaneous Administration			**Test Article:** [^{3}H]-vutrisiran **Location in CTD:** 4.2.2.3-2 **Study No.** [TTRSC02-DSM17-009]
Species/Strain:	Rat/Sprague Dawley		
Sex (M/F)/No. of Animals:	M/1-6/time point		
Feeding Condition:	Fasted overnight before dosing through approximately 4 hours postdose		
Vehicle/Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection		
Method of Administration:	Single SC injection		
Dose (mg/kg):	3 mg/kg [^{3}H]-vutrisiran		
Time Point (h)	**Mean Blood:Plasma Concentration Ratios of Radioactivity**		
	Group 1 (3 mg/kg)	**Group 2 (3 mg/kg)**	**Group 3 (3 mg/kg)**
Predose	N/A	N/A	N/A
0.5	N/A	N/A	0.712
1	N/A	N/A	0.774
4	N/A	N/A	0.752
6	N/A	0.981	N/A
24	N/A	1.07	0.929
48	N/A	N/A	0.663
96	N/A	N/A	0.649
168	N/A	0.908	0.653
336	N/A	N/A	0.730

表 2.6.5-14 血球への移行（続き）

Time Point (h)	Mean Blood:Plasma Concentration Ratios of Radioactivity		
	Group 1 (3 mg/kg)	Group 2 (3 mg/kg)	Group 3 (3 mg/kg)
672	N/A	N/A	0.834
1344	1.24	N/A	1.42

Abbreviations: CTD=common technical document; F=female; M=male; N/A=not applicable; No.=number; SC=subcutaneous(ly).

Note: n=4 (Group 1; intact); n=6 (Group 2; bile duct cannulated); n=10 (Group 3; intact).

表 2.6.5-15 ラットに単回皮下投与後のミクロオートラジオグラフィーによる放射能の組織内分布

Study Title: [^{3}H]ALN-TTRSC02: Excretion Mass Balance and Tissue Distribution via Quantitative Whole-Body Autoradiography in Male Sprague Dawley Rats Following a Single Subcutaneous Administration		**Test Article:** [^{3}H]-vutrisiran
		Location in CTD: 4.2.2.3-2
		Study No. [TTRSC02-DSM17-009]
Species/Strain:	Sprague Dawley Rat	
Sex (M/F)/No. of Animals:	M/1/time point	
Feeding Condition:	Fasted overnight before dosing through approximately 4 hours postdose	
Vehicle/Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection	
Method of Administration:	Single SC injection	
Dose (mg/kg):	3 mg/kg [^{3}H]-vutrisiran	
Analysis by MARG:	One animal/time point at 1, 4, 24, 168, and 672 hours postdose. Tissues were harvested and saved (in OCT media and frozen).	
Tissue (Sampling Time)	**Region**	**Qualitative Assessment of Radioactivity**
Dose Site (1 hour postdose)	Stratum corneum	++++
	Stratum lucidum	++++
	Stratum spinosum	++++
	Stratum granulosum	++++
	Stratum basale	++++
	Dermal papillae	+++
	Dermis	+++
	Eccrine (sweat) glands	++++
	Sebaceous glands	++

表 2.6.5-15 ラットに単回皮下投与後のミクロオートラジオグラフィーによる放射能の組織内分布（続き）

Tissue (Sampling Time)	Region	Qualitative Assessment of Radioactivity
Liver (4 hours postdose)	Hepatocytes - centrilobular	+++
	Hepatocytes - peri-portal	++++
	Connective tissue - portal tract	++
	Blood vessel contents	+
Kidney (24 hours postdose)	Outer cortex	++
	Inner cortex	++
	Medulla	+
	Blood vessel contents	+

Abbreviations: ++++=high levels of silver grains present; +++=moderate levels of silver grains present; ++=low levels of silver grains present; +=background levels of silver grains present; CTD=common technical document; F=female; M=male; MARG=microautoradiography; OCT=optimal cutting temperature; SC=subcutaneous(ly).

2.6.5.9 薬物動態試験：*In Vivo* における代謝

表 2.6.5-16 ブトリシランの *in vivo* 代謝の検討

Study Title: *In Vitro* Metabolic Stability of ALN-65492 in Mouse, Rat, Monkey and Human Serum and Liver S9-fractions, and *in Vitro* and *in Vivo* Metabolic Profiling of ALN-65492		**Test Article:** Vutrisiran
		Location in CTD: 4.2.2.4-1
		Study No. [BA16004]
Species:	Rat[a], Monkey[b], Human (3 subjects in Clinical Study ALN-TTRSC02-001)	
Vehicle/Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection	
Matrix:	Pooled human plasma (0.067 to 12 hours postdose) and urine (0-6, 6-12, and 12-24 hours postdose) samples from 3 subjects in clinical study ALN-TTRSC02-001 after a single SC injection of vutrisiran at 50 mg. Rat plasma samples were obtained at 0.5, 1, 3, 7, 24, 96, 168, 336, 504, 672 and 1344 hours postdose (after a single dose of 10 mg/kg). Monkey plasma samples obtained at 0.083, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 96, 168, 336, 504, 672, 1008, and 1344 hours postdose (after a single dose of 30 mg/kg). Rat liver samples were obtained at 3, 7, 24, 96, 168, and 336 hours postdose (after a single dose of 3 mg/kg). Monkey liver samples were obtained at 8, 24, 72, 168, 336, 504, and 672 hours postdose (after a single dose of 30 mg/kg).	
Method:	Samples were lysed and extracted by solid-phase extraction and analyzed by LC/MS-HRAM using a Q Exactive™ Orbitrap™ mass spectrometer.	

表 2.6.5-16 ブトリシランの in *vivo* *代謝*の検討（続き）

Results:	The *in vivo* rat and monkey metabolic profiling of plasma and liver samples following vutrisiran SC administration showed the formation of similar metabolites in plasma and liver samples across species. In the plasma samples, the antisense strand of vutrisiran was minimally metabolized to AS(N-1)3´ vutrisiran and AS(N-3)3´ vutrisiran. The sense strand was metabolized by the sequential loss of GalNAc groups from the 3´-end triantennary GalNAc moiety. In the *in vivo* liver samples, the antisense strand of vutrisiran was metabolized mainly to AS(N-1)3´ vutrisiran and AS(N-3)3´ vutrisiran. The sense strand was mainly metabolized by the loss of GalNAc sugars from the 3´-end triantennary GalNAc moiety. Sequential exonuclease metabolites from the 3´-end of the sense strand and antisense strands were also observed for monkey liver samples at later postdose time points. *In vivo* metabolite profiles from human plasma and urine samples indicate that the vutrisiran antisense strand was stable in human plasma and minimally metabolized to form AS(N-3)3´vutrisiran in urine samples. The vutrisiran sense strand was metabolized by loss of 1, 2, or 3 sugar moieties from GalNAc group.

Abbreviations: AS(N-1)3´=loss of one nucleotide from the 3´ end of the antisense strand; AS(N-3)3´=loss of three nucleotides from the 3´ end of the antisense strand; CTD=common technical document; GalNAc=*N*-acetylgalactosamine; LC/MS-HRAM=liquid chromatography/mass spectrometry-high resolution accurate mass; SC=subcutaneous(ly).

a Rat plasma and liver samples were obtained from Study TTRSC02-DSM15-033.

b Monkey plasma and liver samples were obtained from Study TTRSC02-DSM15-035.

表 2.6.5-17 [^{3}H]-ブトリシランの *in vivo* 代謝及び同定

Study Title: [^{3}H]ALN-TTRSC02: Excretion Mass Balance and Tissue Distribution via Quantitative Whole-Body Autoradiography in Male Sprague Dawley Rats Following a Single Subcutaneous Administration	**Test Article:** [^{3}H]-vutrisiran
	Location in CTD: 4.2.2.3-2
	Study No. [TTRSC02-DSM17-009]
Species/Strain:	Sprague Dawley Rat
Sex (M/F)/No. of Animals:	M/1/time point
Method of Administration:	Single SC injection
Dose (mg/kg):	3 mg/kg [^{3}H]-vutrisiran
Matrix:	Plasma samples were obtained at 0.5, 1, 4, 24, 96, and 168 hours postdose. Urine samples were obtained at 0-6, 6-12, 12-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, and 144-168 hours postdose. Bile samples were obtained at 0-6, 6-12, 12-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, and 144-168 hours postdose. Feces samples obtained at 12-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-120, 120-144, and 144-168 hours postdose.
Method:	Plasma and feces samples were lysed and extracted by solid-phase extraction. All matrices were analyzed by LSC and LC-MS. Radioactivity in each well was determined using TopCount analysis, and radiochemical profiles were generated based on radioactivity counts.

表 2.6.5-17 [^{3H}]-ブトリシランの in *vivo* *代謝及び同定*（続き）

Results:	In plasma, the majority of the radioactivity was associated with unchanged vutrisiran and it accounted for approximately 75% of the total radioactivity exposure, through 96 hours ($AUC_{0\ 5\text{-}96}$). AD-192276 (M6) was a less abundant circulating component, contributing 6.86% of the total radioactivity exposure. Renal elimination was a major route of excretion; approximately 32% and 26% of the dose was recovered in urine from intact and BDC rats, respectively, through 168 hours postdose. Metabolite profiles of radioactivity in urine from intact and BDC rats consisted of three radioactive peaks that were identified as vutrisiran and its metabolites by LC-MS analysis, and four unknown components. The majority of the unknown radioactivity (M1) was eluted at the void volume and accounted for 22.9% and 14.0% of the dose in intact and BDC rats, respectively. Unchanged vutrisiran recovered in urine from both intact and BDC rats and accounted for 3.71% and 5.75% of the dose, respectively. AD-192276 (M6) accounted for 0.213% of the dose in urine from intact rats. The tentatively identified metabolite M4 was a minor metabolite identified in urine from both intact and BDC rats and accounted for <0.3% of the dose. Other unidentified components (M2, M7, and M8) were detected in urine from both intact and BDC rats and each accounted for approximately <0.4% of the dose, where detected. Hepato-biliary excretion was a significant route of elimination of radioactivity, with approximately 24% of the administered dose recovered in bile through 168 hours postdose. Metabolite profiles of radioactivity in bile consisted of three radioactive peaks that were identified as vutrisiran and its metabolites by LC-MS analysis and three minor unknown components. Approximately 9% of the dose was recovered as an unchanged vutrisiran in bile. AD-192276 (M6) was the abundant component in bile and accounted for approximately 3% of the dose. M4 was a minor metabolite identified in bile and accounted for 2.01% of the dose. Unknown components, M1, M5, and M7 each accounted for <0.6% of the dose. Fecal elimination of radioactivity was a minor pathway in intact rats and approximately 9% of the administered dose was recovered in feces through 168 hours postdose. Metabolite profiles of radioactivity in feces showed two unknown radioactive components M1 and M3 and they accounted for 2.30% and 2.64% of the dose, respectively. No unchanged

	vutrisiran was recovered in feces from intact rats. These results indicate that vutrisiran was cleared in rats via combination of metabolism and renal and biliary clearance of parent drug.

Abbreviations: $AUC_{0.5\text{-}96}$=area under the concentration-time curve from 0.5 to 96 hours; BDC=bile duct cannulated; CTD=common technical document; F=female; LC-MS=liquid chromatography-mass spectrometry; LSC=liquid scintillation counting; M=male; No.=number; SC=subcutaneous(ly).

2.6.5.10 薬物動態試験：*In Vitro* における代謝

表 2.6.5-18 ブトリシランの *in vitro* 代謝安定性及び代謝物の検討

Study Title: *In Vitro* Metabolic Stability of ALN-65492 in Mouse, Rat, Monkey and Human Serum and Liver S9-fractions, and *in Vitro* and *in Vivo* Metabolic Profiling of ALN-65492							**Test Article:** Vutrisiran **Location in CTD:** 4.2.2.4-1 **Study No.** [BA16004]	
Species:	C57BL/6 mouse, Sprague Dawley rat, cynomolgus monkey, human							
Matrix:	Pooled serum and liver S9 fractions							
Method:	LC/MS-HRAM							
***In Vitro* Metabolic Stability in Serum**								
Percent (%) of Baseline in Serum								
Species:	**Mouse**		**Rat**		**Monkey**		**Human**	
Time Point (h)	**Antisense**	**Sense**	**Antisense**	**Sense**	**Antisense**	**Sense**	**Antisense**	**Sense**
0	100	100	100	100	100	100	100	100
2	105	106	103	102	103	106	101	101
4	98	101	98	98	94	96	97	94
8	98	103	102	99	97	102	100	98
24	97	101	95	98	95	98	99	98

表 2.6.5-18 ブトリシランの in *vitro* 代謝安定性及び代謝物の検討（続き）

***In Vitro* Metabolic Stability in Liver**								
Percent (%) of Baseline in Liver S9 fractions								
Species:	**Mouse**		**Rat**		**Monkey**		**Human**	
Time Point (h)	**Antisense**	**Sense**	**Antisense**	**Sense**	**Antisense**	**Sense**	**Antisense**	**Sense**
0	100	100	100	100	100	100	100	100
2	100	104	103	109	105	92	98	109
4	95	98	100	109	105	99	112	122
8	101	102	103	105	100	99	104	118
24	83	72	86	89	70	59	90	89
***In Vitro* Metabolic Profiling in Serum**								
Matrix:	Mouse, rat, cynomolgus monkey, and human serum							
Method:	Incubation at 37°C up to 24 hours							
Results:	Minimal degradation of both sense and antisense strands, indicating vutrisiran is highly stable in serum. The metabolites identified by the LC/MS-HRAM were determined based on the mass observed during the analysis and are yet to be confirmed.							

表 2.6.5-18 ブトリシランの in *vitro* 代謝安定性及び代謝物の検討（続き）

***In Vitro* Metabolic Profiling in Liver S9 fractions**	
Matrix:	Mouse, rat, cynomolgus monkey, and human liver S9 fractions
Method:	Incubation at 37°C up to 24 hours
Results:	Similar metabolic profiling patterns were seen across all 4 species. The metabolites identified by the LC/MS-HRAM were determined based on the mass observed during the analysis and are yet to be confirmed. Incubation of vutrisiran with S9 fractions for up to 24 hours revealed full length sense and antisense strands from the parent duplex. Incubation of vutrisiran at 37°C up to 24 hours in mouse, rat, cynomolgus monkey, and human liver S9 fractions revealed minimal degradation of both sense and antisense strands, indicating that vutrisiran is highly stable in liver S9 fractions. A small fraction (<1%) of the potential antisense strand metabolite AS(N-1)3´vutrisiran was detected. However, it is inconclusive as to whether these moieties are true metabolites or impurities. Loss of GalNAc sugars from the 3'-end triantennary GalNAc moiety of the sense strand was detected.

Abbreviations: AS(N-1)3´=loss of one nucleotide from the 3´ end of the antisense strand; CTD=common technical document; GalNAc=*N*-acetylgalactosamine; LC/MS-HRAM=liquid chromatography/mass spectrometry-high resolution accurate mass.

表 2.6.5-19 シトクロム P450 基質の検討

Study Title: Evaluation of Potential Human Cytochrome P450 Isoforms Involved in the Metabolism of ALN-TTRSC-02 using cDNA Expressed Enzymes	**Test Article:** Vutrisiran
	Location in CTD: 4.2.2.4-2
	Study No. [319N-1527]
Method:	Vutrisiran was incubated in triplicate with individual recombinant cytochrome P450 (rCYP) enzymes rCYP1A2, rCYP2B6, rCYP2C8, rCYP2C9, rCYP2C19, rCYP2D6, rCYP3A4 and rCYP3A5. The reaction mixture consisted of 50 pmol/mL of rCYP, 100 mmol/L potassium phosphate buffer, pH=7.4, 1 mmol/L NADPH and the test article vutrisiran at two concentrations, 800 ng/mL (0.0490 µmol/L) and 8,000 ng/mL (0.490 µmol/L). Reaction time was 45 min for the test article (30 min for the positive controls). Reactions with the test article were terminated at 0 and 45 min with ice-cold methanol (1:1 v/v). Reactions with the positive controls were terminated with ice-cold acetonitrile containing internal standard (1:1 v/v). Probe substrates for each of the rCYP enzymes were included in the study as positive controls. The negative control incubations consisted of the test article with rCYPs but without NADPH. Vutrisiran was analyzed by LC-TOF-MS. Positive control substrates were analyzed by UPLC-MS/MS. Peak area ratios were used to calculate the percent parent remaining at 45 or 30 min.
Results:	The percentage of vutrisiran remaining after 45 min ranged from approximately 97% to approximately 108% for all rCYPs tested in the presence of NADPH. Vutrisiran is not a substrate of CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, or CYP3A5. Positive control incubations showed significant metabolism as parent compound was depleted for rCYP2C9, rCYP2D6, and rCYP3A4/5 with 16.2 to74.2% remaining for the other rCYPs tested.

Percent Remaining of Vutrisiran After Incubation With rCYP Enzymes[a]

Incubation	rCYP1A2	rCYP2B6	rCYP2C8	rCYP2C9	rCYP2C19	rCYP2D6	rCYP3A4	rCYP3A5
800 ng/mL (0.0490 µmol/L) Vutrisiran								
45 min -NADPH	110 ± 10	96.9 ± 5.7	104 ± 2	89.4 ± 10.6	101 ± 6	88.4[b]	107 ± 2	103 ± 3
45 min + NADPH	107 ± 6	104 ± 15	107 ± 3	96.9 ± 15.5	106 ± 6	105 ± 5	102 ± 9	102 ± 1

表 2.6.5-19 シトクロム P450 基質の検討（続き）

8,000 ng/mL (0.490 µmol/L) Vutrisiran								
45 min -NADPH	99.5 ± 4.5	101 ± 2	98.7 ± 5.1	104 ± 8	97.6 ± 2.8	108 ± 8	98.7 ± 1.8	99.4 ± 1.1
45 min + NADPH	99.6 ± 0.8	105 ± 4	100 ± 6	97.9 ± 4.6	107 ± 1	98.9 ± 1.3	106 ± 4	108 ± 11
CYP Probe Substrate Controls								
Incubation	rCYP1A2	rCYP2B6	rCYP2C8	rCYP2C9	rCYP2C19	rCYP2D6	rCYP3A4	rCYP3A5
	Phenacetin	Bupropion	Paclitaxel	Diclofenac	(S)-Mephenytoin	Dextromethorphan	Midazolam	Midazolam
30 min	16.2 ± 0.3	68.3 ± 2.6	74.2 ± 7.3	BLQ	41.0 ± 1.7	BLQ	0.0903 ± 0.0183	0.134 ± 0.002

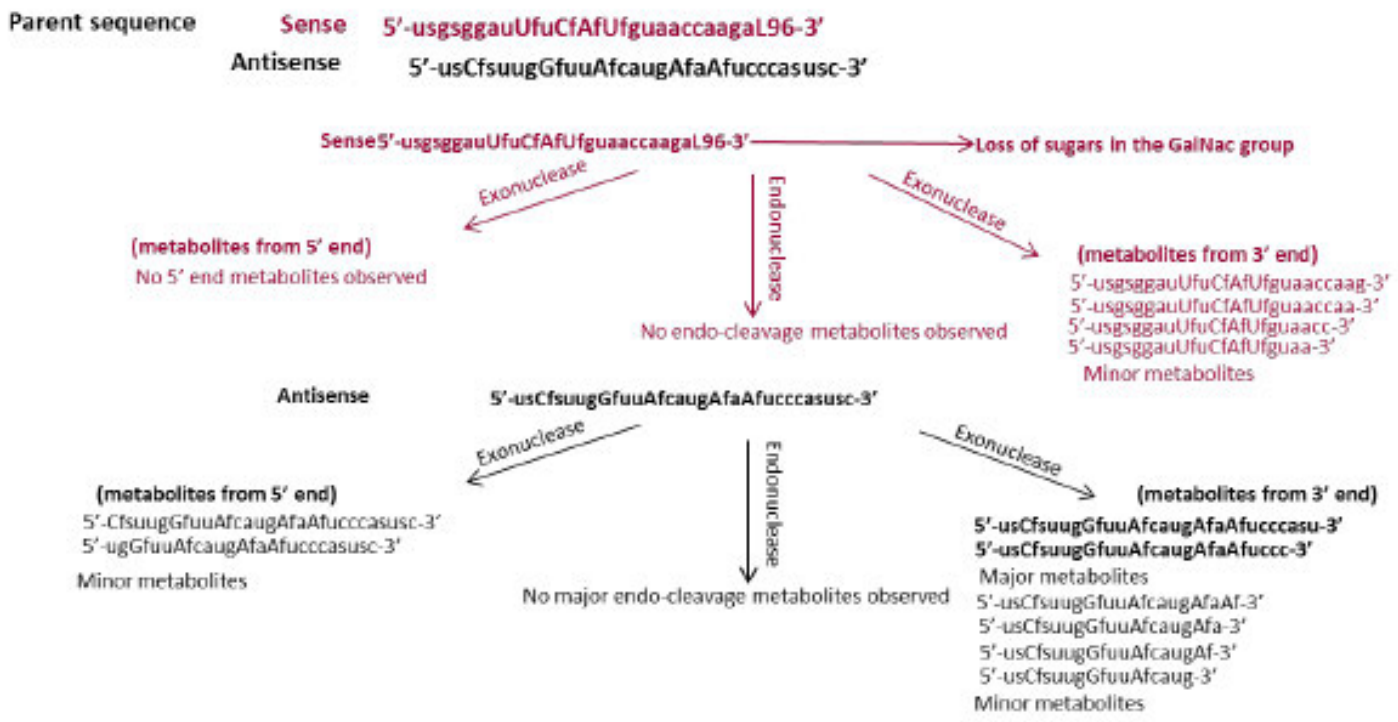
Abbreviations: BLQ=below the limit of quantitation; cDNA=complementary DNA; CTD=common technical document; CYP=cytochrome P450; LC-TOF-MS=liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry; NADPH=nicotinamide adenine dinucleotide phosphate reduced; rCYP=recombinant CYP; UPLC-MS/MS=ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry; v/v=volume to volume.

a Data are presented as mean ± standard deviation (N=3), except where noted.

b Average of two replicates, one replicate was not calculated from the bioanalytical data.

2.6.5.11 薬物動態試験：推定代謝経路

Study Title: *In Vitro* Metabolic Stability of ALN-65492 in Mouse, Rat, Monkey and Human Serum and Liver S9-fractions, and *in Vitro* and *in Vivo* Metabolic Profiling of ALN-65492	**Test Article:** Vutrisiran
	Location in CTD: 4.2.2.4-1
	Study No. [BA16004]
Method: See 表 2.6.5-16 and 表 2.6.5-18	



Abbreviations: A=adenosine; C=cytidine; CTD=common technical document; G=guanosine; GalNAc=*N*-acetylgalactosamine; L96=triantennary GalNAc moiety; s=phosphorothioate; U=uridine

Note: Lowercase letters a, c, g, and u represent 2′-*O*-methyl-modified nucleotides; Af, Cf, Gf, and Uf represent 2′-fluoro-modified nucleotides. L96 is used in the source report (BA16004) but is also referred to as R1 elsewhere in this New Drug Application.

2.6.5.12 薬物動態試験：薬物代謝酵素の誘導／阻害

表 2.6.5-20 シトクロム P450 直接及び時間依存的阻害

Study Title: ALN-TTRSC02: Evaluation of Direct and Time-dependent Inhibitory Potential Against Seven Human Cytochrome P450 Isoforms Using Human Liver Microsomes		**Test Article:** Vutrisiran
		Location in CTD: 4.2.2.4-3
		Study No. [319N-1528]
Method:	Direct inhibition: The direct inhibitory potential of vutrisiran towards CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, and CYP3A4/5 was tested *in vitro* in human liver microsomes (HLM), using CYP-specific marker substrate reactions. For each reaction, CYP activity was assessed by the formation of the marker substrate metabolite in the absence (vehicle controls) and presence of 0, 0.0006, 0.061, 0.61, 3.06, 6.12, 30.6, 61.2, 306 and 612 µmol/L vutrisiran (0, 0.01, 1, 10, 50, 100, 500, 1000, 5000, and 10,000 µg/mL, respectively). Incubations with vutrisiran were conducted in triplicate for IC_{50} determinations. Incubations with a selective inhibitor of the CYP isoform, at or above the reported Ki or IC_{50} values were conducted concurrently in duplicate for confirmation of enzymatic activity and comparison of inhibitory potential (positive controls).	
	Time-dependent inhibition: Time-dependent inhibition potential was assessed by two sets of simultaneous incubations; in one set, HLM was pre-incubated at concentrations of vutrisiran noted above in the presence of NADPH and in the other set, HLM was pre-incubated with the same concentrations of vutrisiran in the absence of NADPH. The residual CYP isoform activity was analyzed by incubation of each pre-incubation mixture with the respective probe substrate. Incubations with a single concentration of selective inhibitor of the CYP isoform were conducted concurrently in triplicate for confirmation of enzymatic activity and comparison of inhibitory potential (positive controls). Each probe substrate forms a metabolite which is CYP isoform selective. The metabolites of the probe substrates were measured using LC-MS/MS in the positive ionization mode. QC samples and internal standards were used in sample analysis.	
Results:	Vutrisiran is not a direct or time-dependent inhibitor of CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 or CYP3A4/5 at concentrations up to 612 µmol/L under conditions utilized in this study.	

表 2.6.5-20 シトクロム P450 直接及び時間依存的阻害（続き）

Direct Inhibition:							
Mean IC_{50} (µmol/L) for Positive Controls							
CYP1A2	**CYP2B6**	**CYP2C8**	**CYP2C9**	**CYP2C19**	**CYP2D6**	**CYP3A4/5[a]**	**CYP3A4/5[b]**
3.9	3.8	0.25	0.30	0.43	0.05	0.26	0.07
Mean IC_{50} (µmol/L) for Vutrisiran							
CYP1A2	**CYP2B6**	**CYP2C8**	**CYP2C9**	**CYP2C19**	**CYP2D6**	**CYP3A4/5[a]**	**CYP3A4/5[b]**
>612	>612	>612	>612	>612	>612	>612	>612
Time-Dependent Inhibition:							
Mean IC_{50} (µmol/L) for Vutrisiran (with NADPH)							
CYP1A2	**CYP2B6**	**CYP2C8**	**CYP2C9**	**CYP2C19**	**CYP2D6**	**CYP3A4/5[a]**	**CYP3A4/5[b]**
NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI
Mean IC_{50} (µmol/L) for Vutrisiran (without NADPH)							
CYP1A2	**CYP2B6**	**CYP2C8**	**CYP2C9**	**CYP2C19**	**CYP2D6**	**CYP3A4/5[a]**	**CYP3A4/5[b]**
NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI	NI

Abbreviations: CTD=common technical document; CYP=cytochrome P450; HLM=human liver microsomes; IC_{50}=concentration for 50% of maximal inhibition; Ki=dissociation constant; LC-MS/MS=liquid chromatography tandem mass spectrometry; NADPH=nicotinamide adenine dinucleotide phosphate reduced; NI=no inhibition; QC=quality control.

a Midazolam was used as the probe substrate.

b Testosterone was used as the probe substrate.

2.6.5.13 薬物動態試験：排泄

表 2.6.5-21 ラットにブトリシランを単回皮下投与後の排泄

Study Title: Pharmacokinetics of ALN-TTRSC02 in Plasma, Liver, Kidney Urine and Feces in Support of Study "ALN-TTRSC02: A Pharmacokinetics and Biodistribution Study of ALN-TTRSC02 or Revusiran (ALN-TTRSC) After a Single or Multiple Subcutaneous or Intravenous Dose in Male and Female Sprague Dawley Rats."				**Test Article:** Vutrisiran **Location in CTD:** 4.2.2.2-1 **Study No.** [TTRSC02-DSM15-033]		
Species/Strain:	Sprague Dawley Rat					
Sex (M/F)/No. of Animals:	5/sex					
Feeding Condition:	Fed					
Vehicle/Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection					
Method of Administration:	SC injection (Single dose on Day 1)					
Dose (mg/kg):	3					
Analyte:	Vutrisiran					
Assay:	LC/MS-HRAM					
Excretion Route:	**Mean Cumulative % Vutrisiran Dose Recovered**					
	Urine			**Feces**		
Time:	**Male**	**Female**	**Combined**	**Male**	**Female**	**Combined**
0-8 h Postdose	1.4	11.1	6.3	0.3	0.6	0.3
8-24 h Postdose	5.2	12.1	8.6	0.7	0.6	0.7
24-48 h Postdose	5.6	12.4	9.0	0.7	0.6	0.7

Abbreviations: CTD=common technical document; F=female; LC/MS-HRAM=liquid chromatography/mass spectrometry-high resolution accurate mass; M=male; No.=number; SC=subcutaneous(ly).

表 2.6.5-22 ラットに[^{3}H]-ブトリシランを単回皮下投与後の排泄

Study Title: [^{3}H]ALN-TTRSC02: Excretion Mass Balance and Tissue Distribution via Quantitative Whole-Body Autoradiography in Male Sprague Dawley Rats Following a Single Subcutaneous Administration	**Test Article:** [^{3}H]-vutrisiran
	Location in CTD: 4.2.2.3-2
	Study No. [TTRSC02-DSM17-009]

Species/Strain:	Sprague Dawley Rat
Sex (M/F)/No. of Animals:	M/4 (intact)
Feeding Condition:	Fasted overnight before dosing through approximately 4 hours postdose
Vehicle/Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection
Method of Administration:	Single SC injection
Dose (mg/kg):	3 mg/kg [^{3}H]-vutrisiran
Analyte:	[^{3}H]-vutrisiran
Assay:	Liquid scintillation counting

	% Radioactive Vutrisiran Dose Recovered				
Time (h):	**Urine**	**Feces**	**Cage Rinse**	**Cage Wash**	**Cage Wipe**
Predose	0.00	0.00	-	-	-
Predose-6	3.82	0.0161	-	-	-
6-12	1.46	0.0508	-	-	-
12-24	1.00	0.324	-	-	-
0-24	-	-	0.639	-	-
24-48	3.52	0.993	0.573	-	-
48-72	4.83	1.71	0.716	-	-
72-96	5.94	1.95	0.543	-	-
96-120	4.70	1.38	0.445	-	-
120-144	3.53	1.27	0.328	-	-

表 2.6.5-22 ラットに[^{3H}]-ブトリシランを単回皮下投与後の排泄（続き）

	% Radioactive Vutrisiran Dose Recovered				
Time (h):	**Urine**	**Feces**	**Cage Rinse**	**Cage Wash**	**Cage Wipe**
144-168	2.90	1.00	0.383	-	-
168-192	2.25	0.848	0.302	-	-
192-216	2.09	0.719	0.202	-	-
216-240	1.56	0.584	0.204	-	-
240-264	1.33	0.468	0.226	-	-
264-288	1.16	0.447	0.202	-	-
288-312	0.964	0.380	0.184	-	-
312-336	0.896	0.286	-	-	-
0-336	-	-	-	0.372	0.466
336-360	0.897	0.220	-	-	-
312-360	-	-	0.0601	-	-
360-384	0.829	0.210	0.0527	-	-
384-408	0.755	0.216	0.0599	-	-
408-432	0.725	0.188	0.0546	-	-
432-456	0.571	0.183	0.0468	-	-
456-480	0.517	0.201	0.0545	-	-
480-504	0.553	0.163	0.0618	-	-
504-528	0.393	0.122	0.0621	-	-
528-552	0.388	0.117	0.0568	-	-
552-576	0.296	0.106	0.0755	-	-
576-600	0.275	0.104	0.0715	-	-

表 2.6.5-22 ラットに[^{3H}]-ブトリシランを単回皮下投与後の排泄（続き）

Time (h):	% Radioactive Vutrisiran Dose Recovered				
	Urine	**Feces**	**Cage Rinse**	**Cage Wash**	**Cage Wipe**
600-624	0.192	0.105	0.0748	-	-
624-648	0.222	0.0952	0.0649	-	-
648-672	0.240	0.0863	-	-	-
336-672	-	-	-	0.0868	0.479
672-696	0.265	0.0487	-	-	-
648-696	-	-	0.0166	-	-
696-720	0.252	0.0497	0.0195	-	-
720-744	0.240	0.0475	0.0180	-	-
744-768	0.220	0.0537	0.0269	-	-
768-792	0.210	0.0402	0.0230	-	-
792-816	0.198	0.0388	0.0239	-	-
816-840	0.195	0.0316	0.0174	-	-
840-864	0.166	0.0290	0.0187	-	-
864-888	0.151	0.0310	0.0217	-	-
888-912	0.155	0.0288	0.0226	-	-
912-936	0.137	0.0322	0.0229	-	-
936-960	0.134	0.0243	0.0209	-	-
960-984	0.117	0.0204	0.0213	-	-
984-1008	0.108	0.0331	-	-	-
672-1008	-	-	-	0.0335	0.0236
1008-1032	0.114	0.0195	-	-	-

表 2.6.5-22 ラットに[^{3H}]-ブトリシランを単回皮下投与後の排泄（続き）

Time (h):	% Radioactive Vutrisiran Dose Recovered				
	Urine	**Feces**	**Cage Rinse**	**Cage Wash**	**Cage Wipe**
984-1032	-	-	0.00798	-	-
1032-1056	0.111	0.0189	0.0114	-	-
1056-1080	0.107	0.0154	0.0146	-	-
1080-1104	0.0819	0.0162	0.0209	-	-
1104-1128	0.0832	0.0147	0.0184	-	-
1128-1152	0.0893	0.0138	0.0187	-	-
1152-1176	0.0755	0.0112	0.0224	-	-
1176-1200	0.0791	0.0151	0.0222	-	-
1200-1224	0.0687	0.0133	0.0211	-	-
1224-1248	0.0603	0.0104	0.0256	-	-
1248-1272	0.0675	0.0139	0.0201	-	-
1272-1296	0.0677	0.0106	0.0170	-	-
1296-1320	0.0566	0.00993	0.0178	-	-
1320-1344	0.0629	0.00969	-	-	-
1008-1344	-	-	-	0.0291	0.0176
Subtotal:	52.5	15.2	6.26	0.521	0.985
Carcass (0-1344 h Postdose):	3.34				
Total Recovery:	78.8				

Abbreviations: CTD=common technical document; F=female; M=male; No.=number; SC=subcutaneous(ly).

表 2.6.5-23　サルにブトリシランを単回皮下投与後の排泄

Study Title: The Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of TTRSC02 siRNA (AD-65492) After a Single Intravenous, Single or Multiple Subcutaneous, or Single Intramuscular Doses to Cynomolgus Monkeys							**Test Article:** Vutrisiran **Location in CTD:** 4.2.2.2-2 **Study No.** [TTRSC02-DSM15-035]					
Species/Strain:	Cynomolgus monkey											
Sex (M/F)/No. of Animals:	3/sex/group											
Feeding Condition:	Fasted (≥6 hours) prior to dose administration through 4 hours postdose											
Vehicle/Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection											
Method of Administration:	Single SC injection											
Dose (mg/kg):	1, 30											
Analyte:	Vutrisiran											
Assay:	LC/MS-HRAM											
Excretion Route:	**Mean Cumulative % Vutrisiran Dose Recovered**											
	Urine						**Feces**					
Dose:	**1 mg/kg**			**30 mg/kg**			**1 mg/kg**			**30 mg/kg**		
Time (h):	**M**	**F**	**Combined**	**M**	**F**	**Combined**	**M**	**F**	**Combined**	**M**	**F**	**Combined**
0-8	5.69	6.43	6.06	17.7	14.8	16.2	BLQ	BLQ	BLQ	0.0009	0.0006	0.0007
8-24	4.36	4.91	4.64	6.73	8.06	7.39	BLQ	BLQ	BLQ	0.0016	BLQ	0.0008
24-48	0.200	0.191	0.195	0.273	0.258	0.266	BLQ	BLQ	BLQ	0.0002	0.0017	0.0010

Abbreviations: BLQ=below the limit of quantitation; CTD=common technical document; F=female; LC/MS-HRAM=liquid chromatography/mass spectrometry-high resolution accurate mass; M=male; No.=number; SC=subcutaneous(ly); siRNA=small interfering RNA.

2.6.5.14 薬物動態試験：胆汁中排泄

表 2.6.5-24 胆管カニューレしたラットに[^{3}H]-ブトリシランを単回皮下投与後の排泄

Study Title: [^{3}H]ALN-TTRSC02: Excretion Mass Balance and Tissue Distribution via Quantitative Whole-Body Autoradiography in Male Sprague Dawley Rats Following a Single Subcutaneous Administration							**Test Article:** [^{3}H]-vutrisiran **Location in CTD:** 4.2.2.3-2 **Study No.** [TTRSC02-DSM17-009]
Species/Strain:	Sprague Dawley Rat						
Sex (M/F)/No. of Animals:	M/6 (bile duct cannulated)						
Feeding Condition:	Fasted overnight before dosing through approximately 4 hours postdose						
Vehicle/Formulation:	0.9% Sodium Chloride for Injection						
Method of Administration:	Single SC injection						
Dose (mg/kg):	3 mg/kg [^{3}H]-vutrisiran						
Analyte:	[^{3}H]-vutrisiran						
Assay:	Liquid Scintillation Counting						
	Cumulative % Radioactive Vutrisiran Dose Recovered						
Excretion Route:	**Bile**	**Urine**	**Feces**	**Cage Rinse**	**Cage Wash**	**Cage Wipe**	**Bile Cannula**	**Jacket Rinse**
Time (h): 0-6	0.111	4.83	0.0000359	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
0-12	0.186	6.30	0.0293	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
0-24	2.29	7.42	0.0957	0.333	N/A	N/A	N/A	N/A
0-48	7.74	10.9	0.230	1.04	N/A	N/A	N/A	N/A
0-72	12.4	15.2	0.517	1.77	N/A	N/A	N/A	N/A
0-96	17.0	18.7	0.735	2.59	N/A	N/A	N/A	N/A
0-120	20.2	21.6	0.953	3.22	N/A	N/A	N/A	N/A
0-144	22.4	24.1	1.21	3.73	N/A	N/A	N/A	N/A

表 2.6.5-24 胆管カニューレしたラットに[^{3H}]-ブトリシランを単回皮下投与後の排泄（続き）

	Cumulative % Radioactive Vutrisiran Dose Recovered							
Excretion Route:	**Bile**	**Urine**	**Feces**	**Cage Rinse**	**Cage Wash**	**Cage Wipe**	**Bile Cannula**	**Jacket Rinse**
0-168	24.0	25.8	1.50	4.32	0.334	0.329	0.00272	0.00271
Carcass (0-168 h):	25.5							
Total Recovery:	81.8							

Abbreviations: CTD=common technical document; F=female; M=male; N/A=not applicable; No.=number; SC=subcutaneous(ly).

2.6.5.15 薬物動態試験：薬物相互作用

In vivo における薬物相互作用試験は実施していない。

2.6.5.16 薬物動態試験：その他

その他の薬物動態試験は実施していない。