トフェルセン

第 2 部 CTD の概要

2.5 臨床に関する概括評価

バイオジェン・ジャパン株式会社

目次

頁

略語・略号一覧表 6
1 製品開発の根拠 10
1.1 トフェルセンの薬理クラス 10
1.2 対象疾患領域に関する背景 10
1.2.1 ALS の概要 10
1.2.1.1 疾病負担 11
1.2.1.2 疫学 11
1.2.2 SOD1-ALS 11
1.2.2.1 自然歴 12
1.2.2.2 疫学 12
1.3 ALS に現在使用されている主な治療薬の概略 13
1.4 SOD1-ALS 治療薬としてのトフェルセンの研究の妥当性を裏付ける科学的背景 14
1.4.1 疾患の病態生理学 14
1.4.2 作用機序 14
1.4.3 標的特異作用（Target Engagement）のエビデンス 14
1.5 臨床開発プログラム 15
1.5.1 個々の試験 17
1.5.1.1 233AS101 試験 17
1.5.1.1.1 パート A 及び B 17
1.5.1.1.2 パート C 18
1.5.1.2 233AS102 試験 18
1.5.1.3 233HV101 試験 19
1.5.1.4 233AS303 試験 19
1.5.1.5 Expanded Access Program 20
1.5.2 統合解析 20
1.5.2.1 有効性の統合解析 20
1.5.2.2 安全性の統合解析 20
1.5.2.3 免疫原性の統合解析 21
1.6 規制当局との相談及び承認状況 21
1.6.1 海外における相談及び承認状況 21
1.6.2 国内における相談状況 21
2 生物薬剤学に関する概括評価 23
3 臨床薬理に関する概括評価 25
3.1 薬物動態の要約 25
3.1.1 内因性要因 25
3.1.2 相互作用の可能性 26
3.2 臨床試験の用量設定及び承認申請用法及び用量 27

3.2.1 臨床試験の用量設定 27
3.3 薬力学の要約 27
3.3.1 SOD1 タンパク質 28
3.3.2 ニューロフィラメント 29
3.3.2.1 ALS におけるニューロフィラメントの背景 29
3.3.2.2 症状発現前の高リスク変異キャリアにおける疾患活動性バイオマーカーとしてのニューロフィラメント 33
3.3.2.3 疾患進行及び生存の予後マーカーとしてのニューロフィラメント 33
3.3.2.4 潜在的な治療反応マーカーとしてのニューロフィラメント 35
3.3.2.5 ニューロフィラメントに対するトフェルセンの影響 36
3.3.2.5.1 非臨床試験及び臨床試験でのトフェルセン投与と NfL の低下 36
3.3.2.5.2 曝露及びニューロフィラメント反応の関連性 44
3.4 免疫原性 44
4 有効性の概括評価 46
4.1 試験デザインの主要要素 46
4.1.1 症例数及び試験期間 47
4.1.2 疾患不均一性の制御メカニズム 48
4.1.3 主な有効性評価項目の根拠 50
4.1.3.1 ALSFRS-R 50
4.1.3.2 SVC 51
4.1.3.3 HHD メガスコア 51
4.1.3.4 生存期間 52
4.1.3.5 生活の質 52
4.1.4 盲検化及びデータの完全性 53
4.1.4.1 盲検化 53
4.1.4.2 データの完全性 54
4.1.5 統計解析手法 54
4.1.6 2023 年 2 月データカットにおける有効性の評価項目及び統計解析手法の設定根拠 59
4.2 結果の概要 61
4.2.1 2021 年 7 月及び 2022 年 1 月の中間解析での有効性の結果 61
4.2.1.1 被験者集団 61
4.2.1.2 臨床的有効性の結果 63
4.2.1.2.1 臨床機能及び生活の質に対するトフェルセンの有効性 63
4.2.1.2.2 生存期間に対するトフェルセンの有効性 89
4.2.1.2.3 日本人集団の有効性 96
4.2.1.3 NfL と臨床機能及び生存の関連性 97
4.2.1.3.1 臨床症状の悪化の緩徐化及び生存の延長に先行して認められ、緩徐化を予測したニューロフィラメントの減少 97
4.2.1.3.2 臨床的ベネフィットに先行して認められ、臨床的ベネフィットを予測したニューロフィラメントの減少 99

4.2.2 2023 年 2 月の中間解析での有効性の結果 99
4.2.2.1 被験者集団 99
4.2.2.2 臨床的有効性の結果 100
4.2.2.2.1 臨床機能、筋力及び生活の質に対するトフェルセンの有効性 100
4.2.2.2.2 無イベント生存に対するトフェルセンの有効性 114
4.2.2.2.3 日本人集団の有効性 119
4.2.3 有効性に関する結論 119
5 安全性の概括評価 122
5.1 非臨床試験での安全性及びヒトへの外挿性 122
5.2 曝露状況 123
5.3 有害事象 123
5.3.1 比較的よくみられる有害事象 123
5.3.2 経時的な有害事象の解析 124
5.3.3 重症度別の有害事象の解析 124
5.3.4 治験薬との因果関係別の有害事象 124
5.4 重篤な有害事象及びその他の重要な有害事象 125
5.4.1 死亡 125
5.4.2 重篤な有害事象 125
5.4.3 治験薬投与中止及び試験中止に至った有害事象 126
5.4.4 ADR 126
5.4.4.1 非重篤な ADR 126
5.4.4.2 重篤な ADR 127
5.4.4.2.1 脊髄炎及び神経根炎 127
5.4.4.2.2 視神経乳頭浮腫 128
5.4.4.2.3 無菌性髄膜炎 129
5.5 臨床検査値の評価、バイタルサイン及び心電図 130
5.6 その他の注目すべき安全性 131
5.6.1 腰椎穿刺関連事象 131
5.6.2 血小板減少症及び凝固異常 131
5.6.3 腎毒性 132
5.6.4 SOD1 欠乏の可能性 132
5.7 免疫原性 132
5.8 特別な患者集団における安全性 133
5.8.1 疾患進行性の部分集団 133
5.8.2 妊娠、生殖能、及び授乳 133
5.8.3 小児及び高齢患者 134
5.8.4 肝機能及び腎機能障害 134
5.8.5 自動車運転及び機械操作に対する影響 134
5.8.6 日本人集団 134
5.9 過量投与 136
5.10 薬物乱用 136

5.11 Expanded Access Program での使用経験 136
5.12 市販後使用経験 137
5.13 ファーマコヴィジランス計画 137
5.14 安全性に関する結論 138
6 ベネフィットとリスクに関する結論 139
7 継続的なエビデンス創出の計画 143
8 参考文献 146

略語・略号一覧表

注：以下に本書で初出の略語・略号とその定義を示す。本書で使用されている略語・略号については、本一覧表を参照されたい。

略語・略号	略していない表現	
	英語	日本語
101 試験パート A	Study 233AS101 Part A SAD	233AS101 試験パート A（単回投与用量漸増）
101 試験パート B	Study 233AS101 Part B MAD	233AS101 試験パート B（反復投与用量漸増）
101 試験パート C	Study 233AS101 Part C Phase 3	233AS101 試験パート C（第 III 相）
102 試験	Study 233AS102 OLE	233AS102 試験（非盲検継続）
2′-MOE	2′-*O*-(2-methoxyethyl)	2′-O-（2-メトキシエチル）
ACMG	American College of Medical Genetics	米国臨床遺伝・ゲノム学会
ADA	Anti-drug antibody	抗薬物抗体
ADL	activity of daily living	日常生活動作
ADR	adverse drug reaction	－
ALS	amyotrophic lateral sclerosis	筋萎縮性側索硬化症
ALSAQ-5	ALS Assessment Questionnaire	筋萎縮性側索硬化症評価質問票
ALSFRS-R	ALS Functional Rating Scale-Revised	筋萎縮性側索硬化症機能評価尺度改訂版
ANCOVA	analysis of covariance	共分散分析
ASO	antisense oligonucleotide	アンチセンスオリゴヌクレオチド
ATS	American Thoracic Society	米国胸部疾患学会
CDISC	Clinical Data Interchange Standards Consortium	－
CGI-C	Clinician Global Impression of Change	－
CGI-S	Clinician Global Impression of Status	－
CHMP	Committee for Medicinal Products for Human Use	－
CI	confidence interval	信頼区間
CIR	copy increment from reference	－
CL	Clearance	クリアランス
CNS	central nervous system	中枢神経系

略語・略号	略していない表現	
	英語	日本語
CR	copy reference	－
CSF	cerebrospinal fluid	脳脊髄液
CSR	clinical study report	治験総括報告書
CTCAE	Common Terminology Criteria for Adverse Events	有害事象共通用語規準
CYP450	cytochrome P450	チトクローム P450
DNA	deoxyribonucleic acid	デオキシリボ核酸
DS	delayed-start (delayed initiation of tofersen)	投与開始遅延（トフェルセンの遅らせての投与開始）
EAP	expanded access program	－
EC_{50}	half maximal effective concentration	50%有効濃度
EMA	European Medicines Agency	欧州医薬品庁
EOS	end of study	試験終了時
EQ-5D	EuroQol 5 Dimension	－
EQ-5D-5L	EuroQol 5 Dimension, 5 Level Questionnaire	－
ES	early start (early initiation of tofersen)	早期開始（トフェルセン投与の早期開始）
fALS	familial ALS	家族性 ALS
FDA	United States Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FPS	faster-progressing subgroup	急速進行性の部分集団
FSS	Fatigue Severity Scale	－
GMR	geometric mean ratio	幾何平均比
GoF	gain of function	異常機能獲得
hERG	human ether-à-go-go related gene	ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子
HHD	handheld dynamometry	ハンドヘルドダイナモメーター測定
IDMC	Independent Data Monitoring Committee	独立データモニタリング委員会
ISE	Integrated Summary of Efficacy	－
ISS	Integrated Summary of Safety	－
IT	intrathecal	髄腔内
ITT	intent-to-treat	－
JRT	joint rank test	－
J2R	jump to reference	－
KM	Kaplan-Meier	－

略語・略号	略していない表現	
	英語	日本語
LLOQ	lower limit of quantitation	定量下限
LMN	lower motor neuron	下位運動ニューロン
LS	least squares	最小二乗
MAD	multiple-ascending dose	反復投与用量漸増
MAR	missing at random	－
MCID	minimally clinically important difference	臨床上重要な最小限の差異
MI	multiple imputation	多重補完
mITT	modified intent-to-treat	－
MND	motor neuron disease	運動ニューロン疾患
MRI	magnetic resonance imaging	磁気共鳴画像（法）
mRNA	messenger ribonucleic acid	メッセンジャーリボ核酸
Nf	neurofilament	ニューロフィラメント
NfH	neurofilament heavy chain	ニューロフィラメント重鎖
NfL	neurofilament light chain	ニューロフィラメント軽鎖
NOAEL	no observed adverse effect level	無毒性量
non-mITT	non-modified intent-to-treat	－
OLE	open-label extension	非盲検継続
PBPK	physiological-based PK	生理学的薬物速度論
PD	pharmacodynamic(s)	薬力学
PGI-C	Patient Global Impression of Change	－
PK	pharmacokinetic(s)	薬物動態
pNfH	phosphorylated neurofilament heavy chain	リン酸化ニューロフィラメント重鎖
PNS	peripheral nervous system	末梢神経系
PV	permanent ventilation	永続的換気
QoL	quality of life	生活の質
RPSFTM	rank preserving structural failure time model	－
SAD	single-ascending dose	単回投与用量漸増
sALS	sporadic ALS	孤発性 ALS
SAP	statistical analysis plan	統計解析計画書
SD	standard deviation	標準偏差
SF-36	36-Item Short Form Health Survey	－
[redacted]	[redacted]	－

略語・略号	略していない表現	
	英語	日本語
SMA	spinal muscular atrophy	脊髄性筋萎縮症
SMQ	Standardized Medical Dictionary for Regulatory Activities Query	MedDRA 標準検索式
SOC	system organ class	器官別大分類
SOD1	superoxide dismutase-1	スーパーオキサイドジスムターゼ 1
SOD1-ALS	ALS associated with a mutation in the *SOD1* gene	*SOD1* 遺伝子の変異を伴う ALS
SPS	slower-progressing subgroup	緩徐進行性の部分集団
SVC	slow vital capacity	静的肺活量
UK	United Kingdom	英国
VC	vital capacity	肺活量
WPAI	Work Productivity and Activity Impairment	仕事の生産性及び活動障害
ZBI	Zarit Burden Interview	Zarit 介護負担尺度

1 製品開発の根拠

1.1 トフェルセンの薬理クラス

トフェルセンは 20 塩基残基（20-mer）アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）であり、15 個のホスホロチオエートジエステル結合と 4 個のリン酸ジエステル結合を有する。20 個の糖残基のうち 10 個は 2-デオキシ-D-リボース（2′-デオキシヌクレオチド、DNA）であり、残りは 2′-*O*-（2-メトキシエチル［2'-MOE］）-D-リボースである。10 個の DNA ヌクレオチドに隣接する分子の 5' 末端及び 3'末端に 5 個の 2'-MOE ヌクレオチドを有するように残基が配列されている。シトシン残基はすべて 5′位がメチル化されている。

トフェルセンの化学式は以下のように表記できる。

5′ -^{Me}CAP=OGGP=OATA^{Me}CATTT^{Me}CTA^{Me}CP=OAGP=O^{Me}C^{Me}U- 3′

下線を付けた残基は 2′-MOE ヌクレオチドである。P=O はリン酸ジエステル結合の位置を示している。なお、2′-MOE ^{Me}U ヌクレオチドは 2′-MOE T とも称される。

1.2 対象疾患領域に関する背景

トフェルセンは、スーパーオキサイドジスムターゼ 1（*SOD1*）遺伝子の変異を伴う筋萎縮性側索硬化症（ALS）（以下、SOD1-ALS）の根底にある病態生理を標的とする治療薬として開発された。

1.2.1 ALS の概要

ALS は、大脳皮質、脳幹、脊髄、及び末梢神経系の上位運動ニューロン及び下位運動ニューロン（LMN）とその軸索の喪失を引き起こす、まれで進行性の神経変性疾患であり、最終的に死に至る［Bunton-Stasyshyn 2015; Wijesekera and Leigh 2009］。運動ニューロンの喪失は、筋肉量、筋力並びに球機能、呼吸筋、及び四肢筋の機能の進行性の喪失をもたらし、通常、症状発現後約 3 年以内（種々の研究で示されている中央値は 1.6～5.2 年）に麻痺及び呼吸不全により死亡に至る［Brown and Al-Chalabi 2017; Bunton-Stasyshyn 2015; Lechtzin 2018］。ALS は、あらゆる解剖学的領域に発症し、患者によって様々な速度やパターンで全身に広がる。

ALS は治療選択肢の限られた疾患である。生命維持のために気管切開及び機械的換気を選択しなければ、機能低下及び死亡は避けられないが、これらの介入によって身体的自立の低下を止めたり遅らせたりすることはできない［Turner 2019］。症状管理には、疼痛、痙攣、唾液過多、痙縮、疲労、情動調節障害、不安、及び不眠に対する治療選択肢、理学療法、作業療法、言語療法、並びに換気補助が含まれる。栄養管理には、食事の硬さを変えたり、栄養補給剤の投与などの方法がある［Miller 2009］。進行期には、栄養摂取を維持するために経皮的内視鏡下胃瘻造設術が用いられることもある。呼吸の管理は患者介護の大きな部分を占めており、予防介護（肺炎球菌ワクチン及びインフルエンザワクチン）、流涎（唾液分泌過多又はよだれ）に対する抗コリン薬投与、徒手的咳嗽介助、分泌過剰に対する吸引、急性感染症の管理、呼吸不全に対する非侵襲的換気又は気管切開、ケアの中止の計画などがある。

1.2.1.1 疾病負担

疾患が進行するにつれ、歩行や食事及び会話を含む日常生活動作（ADL）に影響が生じる。

さらに、うつ病の発症は、ALS に伴う二次症状の中でも特に高頻度にみられるものの 1 つである。過去の研究では、うつ病の有病率は、評価方法によって異なるが 4%～56%と報告されている［Zarei 2015］。一般集団に比べ、ALS 患者は自殺傾向の割合が高い［Verschueren 2019］。ALS 患者 71 例を対象とした研究では、受動的又は能動的自殺念慮が 39%に認められ、うつ症状があって障害の程度が重い患者では自殺傾向のリスクがより高かった［Verschueren 2019］。機能低下及び自立性の喪失は、患者及び介護者の生活の質（QoL）に多大な影響を及ぼし、ALS 患者の介護者は 48%が介護に伴う高度の負担（身体的負担、うつ病、不安、及びストレス）を報告している［de Wit 2018; Lillo 2012］。また、負担の大部分は介護者が担っており、ALS 患者の 63%は正規の介護を受けていない。

ALS に伴う経済的負担は大きく、米国の医療制度が負担する総国民費用は約 3 億 5900 万ドル～6 億 700 万ドル／年（2021 年の物価上昇率で補正［単位：米ドル］）、患者年あたり 89356 ドル（2021 年の物価上昇率で補正［単位：米ドル］）と推定された［Larkindale 2014］。

ALS の総費用の半分以上は介護費用で占められており、通常、介護の時間数は、病期にもよるが 130 時間／週にも達する［López-Bastida 2009; Nonoyama 2018］。これには、患者の就業により得られる収入が失われることによる金銭的負担は含まれていない。疾患により退職を余儀なくされたと報告した患者は 12.1%である［Athanasakis 2015］。ALS 患者 1 例あたりの総費用は、他のほとんどの神経疾患（認知症、脳卒中、及びパーキンソン病を含む）の費用よりも高額である［Gladman and Zinman 2015］。

1.2.1.2 疫学

ALS は希少疾患である。ALS の世界的な有病率は 10 万人あたり約 4.42 人と推定されている［Xu 2020］。

ALS は家族歴の有無に基づいて家族性 ALS（fALS、ALS 患者のうち 5%～10%）又は孤発性 ALS（sALS、ALS 患者のうち約 90%～95%）に分類されている［Byrne 2011; Zarei 2015］。しかし、fALS（約 70%）及び sALS（約 10%）はいずれも遺伝子突然変異によって発症する可能性がある［Shepheard 2021; Volk 2018］。これは、家族歴について標準化された定義がないこと、完全で正確な家族歴の入手が困難なこと、ALS の家族歴が診断中に見逃される理由（少人数の家族構成や浸透率の低下など）が複数あることなどの一定の限界に、少なくともある程度は起因すると考えられる［Al-Chalabi and Lewis 2011; Salmon 2022］。

1.2.2 SOD1-ALS

ALS 患者の約 2%は、SOD1 酵素をコードする遺伝子の突然変異によって発病する［Zou 2017; Byrne 2011; Ranganathan 2020; Shepheard 2021; Brown 2021］。ALS にみられる変性が *SOD1* 遺伝子上のどのような変異に起因するかという機序は完全には解明されていないが、*SOD1* 遺伝子の変異によって異常機能獲得メカニズムを介した有害なタンパク質の蓄積を引き起こすと考えられて

いる。

ALS に関連する *SOD1* 変異は、現在までに 200 超特定されている［ALSoD 2021］。これらの変異は主に常染色体の顕性遺伝であるが、スカンジナビア人の患者集団で最も多く認められる p.Asp91Ala（D91A; D90A）変異は潜性遺伝である［Robberecht and Philips 2013; Rosen 1993］。

1.2.2.1 自然歴

SOD1-ALS の自然歴は極めて多様であり、疾患の希少性からその特性は十分に解明されていない。2 つの最大規模の自然歴コホートには、1）北米の 15 施設で SOD1-ALS 患者 175 例の後ろ向きコホート研究［Bali 2017］、2) SOD1-ALS 患者 1383 例を対象とした国際的後向き観察研究［Opie-Martin 2022］がある。これらの研究では、患者の SOD1 変異の種類によって大きく異なる可能性があるにもかかわらず、SOD1-ALS の平均発症年齢は、広範な患者集団での年齢（約 49～50 歳）と一致することが示されている［Bali 2017］。広範な SOD1-ALS の患者集団において、生存期間の中央値は 2.7 年［Bali 2017］及び罹病期間の中央値は 2.3 年であった［Opie-Martin 2022］。しかし、疾患進行の速度は SOD1 変異の種類によって大きく異なり、罹病期間は 1 年未満から 20 年を超える［Bali 2017; Opie-Martin 2022］。例えば、p.Ala5Val（A5V; A4V）は、北米で多く認められる変異であり、生存期間の中央値は 1.2 年以下であった［Bali 2017; Opie-Martin 2022］。一方、p.Gly42Asp（G42D ; G41D）の平均罹病期間は 23.5 ± 14.0 年であった［Bali 2017］。

疾患進行の不均一性にもかかわらず、本疾患の根底にある病態生理（有害な SOD1 タンパク質の蓄積に起因すると考えられる）は、*SOD1* の GoF 変異型全体で一貫していると考えられている。したがって、遺伝子型に関係なく、SOD1 タンパク質を効果的に抑制することにより、SOD1-ALS 患者の疾病経過が変化する可能性がある。

1.2.2.2 疫学

最近の系統的な文献レビューとメタアナリシス研究で、欧州、北米、中南米、及びアジアの 22 ヵ国全体における ALS 症例の推定有病数及び発症数が報告された［Brown 2021］。ALS に関しては、統合した有病率（人口 10 万人あたり）及び発現率（10 万人年あたり）は、それぞれ欧州で 6.22 及び 2.31、北米で 5.20 及び 2.35、中南米で 3.41 及び 1.25、日本以外のアジア諸国で 3.01 及び 0.93、並びに日本で 7.96 及び 1.76 であった。SOD1-ALS に限れば、2020 年の欧州 11 ヵ国における SOD1-ALS の新規発症例数は 228 例、有病例数は 607 例と報告されている。

SOD1-ALS の 2020 年の有病率は以下のように推定された。

- 北米（米国及びカナダ）: 366 例
- 欧州（37 ヵ国）: 844 例
- ラテンアメリカ（16 ヵ国）: 378 例
- アジア（7 ヵ国）: 1672 例

日本の ALS 患者の大規模コホート研究によると、日本の ALS 患者の原因遺伝子として、SOD1 変異が最も多く、fALS 患者の 35.9%及び sALS 患者の 2.3%に報告された［Nakamura 2016］。一方、欧州では C9orf72 のリピート伸長が多く認められている（fALS : 33.7%、sALS : 5.1%）。日本

の SOD1-ALS の正確な患者数は不明であるが、申請者等による疫学研究及び調査から 2022 年の SOD1-ALS 患者数は約 300 人と推定されている［Brown 2021; Zou 2017］。

1.3 ALS に現在使用されている主な治療薬の概略

ALS 患者の機能を温存及び／又は寿命を引き延ばすための有効な治療には、大きなアンメット・メディカル・ニーズが存在する。現在利用可能な ALS の治療薬は、リルゾール、エダラボン、フェニル酪酸ナトリウム／ursodoxicoltaurine（別名：taurusodiol）、及びメコバラミンで、地域によって異なる。各薬剤は疾患進行に対して多少の効果があることが示されている。

リルゾールは最も広く承認されている ALS 治療薬であり、プラセボを投与した被験者に比べてリルゾールを投与した被験者で気管切開又は死亡までの期間が約 3 ヵ月延長したことを示した 2 つの試験に基づき、1995 年に米国で ALS の治療薬として世界で初めて承認された。リルゾールはこの 2 つの試験で生存期間を延長したが、運動機能、肺機能、又は筋力に対する効果は認められなかった［Miller 2002］。リルゾールの作用機序は不明だが、グルタミン酸遊離阻害、電位依存性ナトリウムチャネルの遮断、及び神経伝達物質の興奮性アミノ酸受容体との結合に続く細胞内事象への干渉が含まれる。日本ではリルゾールは 1998 年に承認された。日本では生存期間を含む主要評価項目が達成されていない［Yanagisawa 1997］。

エダラボンは、日本の ALS 重症度分類でグレード 1 又は 2 の日本人 ALS 患者を対象とした 1 つの試験に基づき、2015 年に日本で ALS の治療薬として世界で初めて承認された。24 週間投与した結果、エダラボンを投与した被験者はプラセボを投与した被験者に比べて筋萎縮性側索硬化症機能評価尺度改訂版（ALSFRS-R）スコアの平均低下幅が 2.49 ポイント少なかった。生存期間に対する効果は認められなかった。ALS 患者のうち、疾患がさらに進行した患者集団を対象に実施された 1 つの試験では、エダラボンの投与による統計学的に有意な効果は再現されなかった［Writing Group and Edaravone (MCI-186) ALS 19 Study Group 2017］。ALS におけるエダラボンの作用機序は不明である。

フェニル酪酸ナトリウム／ursodoxicoltaurine（AMX0035、商品名：Albrioza 又は Relyvrio）は、ALS の治療薬としてカナダ及び米国で承認されている。米国で実施された 6 ヵ月無作為化第 II 相試験では、フェニル酪酸ナトリウムと ursodoxicoltaurine の併用療法を行った被験者はプラセボを投与した被験者に比べて、24 週間の ALSFRS-R スコアが 2.32 ポイント減少した［Paganoni 2020］。ALS におけるフェニル酪酸ナトリウムの作用機序は不明であるが、その薬理活性には、ヒストン脱アセチル化酵素阻害及び熱ショックタンパク質のアップレギュレーションが含まれる。また ALS における ursodoxicoltaurine の作用機序も不明だが、その薬理活性にはミトコンドリア透過性の抑制が含まれる。第 III 相 PHOENIX 試験は、より大規模かつ長期の（48 週間）試験においてフェニル酪酸ナトリウム／ursodoxicoltaurine のベネフィット／リスクを評価するためにデザインされた（EudraCT : 2021-000250-26）。日本ではフェニル酪酸ナトリウム／ursodoxicoltaurine は承認されていない。

メコバラミンは 2024 年 9 月に日本で ALS の治療薬として承認された。第 III 相試験では、16 週目に ALSFRS-R に対するメチルコバラミンの中程度の影響が認められた（プラセボ投与群と比較してメコバラミン投与群を支持する 1.97 の有意差）。しかし、努力性肺活量、Norris スケール総

スコア、徒手筋力テスト総スコアでは、メコバラミン投与群とプラセボ投与群間に有意差は認められなかった［Oki 2022］。2023 年 4 月、トフェルセンは米国食品医薬品局（FDA）により迅速承認に基づいて承認された。トフェルセンは、SOD1-ALS の根底にある病態生理を標的とする、唯一承認された薬剤である。また、EU では、2024 年 5 月にトフェルセンの Exceptional Circumstances で承認された。欧州神経学会（European Academy of Neurology）のガイドラインにおいて、トフェルセンは SOD1-ALS に対する第一選択治療として推奨されている［Van Damme 2024］。

1.4 SOD1-ALS 治療薬としてのトフェルセンの研究の妥当性を裏付ける科学的背景

1.4.1 疾患の病態生理学

SOD1 遺伝子は、豊富に存在する二量体酵素の銅／亜鉛スーパーオキサイドジスムターゼ（Cu/Zn SOD 又は SOD1）をコードし、スーパーオキサイド（$O2^-$）から酸素（O_2）と過酸化水素（H_2O_2）への変換を触媒する［McCord and Fridovich 1969］。

ALS に関連する *SOD1* 変異は、病原性エビデンスの大小に差はあるものの、これまでに 200 超特定されている。ALS に関連する SOD1 変異（現在までに 200 超特定［ALSoD 2021］）はいずれも SOD1 の新たな異常機能獲得につながると考えられ、その結果、SOD1-ALS の病原性の根底にあると推定される変異型 SOD1 タンパク質が蓄積される［Johnston 2000; Kato 2000］。

非臨床試験では、マウス又はラットで変異型 SOD1 タンパク質を過剰発現させると、神経筋接合部神経支配の喪失及び運動ニューロンの細胞死など、ヒトでの ALS の重要な特徴が再現されている［Bruijn and Cleveland 1996; Gurney 1994］。野生型 SOD1 活性の消失によって最終的に運動ニューロンの機能不全には至るものの、細胞死には至らない［Fischer 2012; Reaume 1996］。さらに、SOD1-ALS のマウスモデルでは、SOD1 活性の消失と亢進はいずれも生存時間には影響を与えることはなかった［Bruijn 1998］。

1.4.2 作用機序

トフェルセンはヒト SOD1 タンパク質のメッセンジャーリボ核酸（mRNA）の 3′非翻訳領域の一部と相補的であり、Watson-Crick 塩基対形成し結合する（ハイブリダイゼーション）。同種 mRNA に対するトフェルセンのこのハイブリダイゼーションにより、SOD1 タンパク質の mRNA は RNase-H を介して分解されて、SOD1 タンパク質の合成量と蓄積量が減少する。

SOD1-ALS は、運動ニューロンに有害な SOD1 タンパク質が蓄積し、運動ニューロンの細胞死及び変性により引き起こされる。トフェルセンは SOD1 の mRNA に結合して分解し、SOD1 タンパク質の産生を減少させ、運動ニューロンにおける有害な SOD1 の蓄積を防ぐ。新たな有害な SOD1 の形成を阻害し、有害な SOD1 を除去する自然除去機構との組み合わせで、運動ニューロンの構造統合性を維持（又は運動ニューロン変性を阻止）し、最終的に脳脊髄液（CSF）及び血液中に放出されるニューロフィラメントの濃度を低下させ、疾患進行の緩徐化が期待される。

トフェルセンは、SOD1-ALS に関与するすべての病理学的機序（翻訳後の段階で発生するすべての事象）の上流に位置する事象であるタンパク質翻訳用の基質濃度を低下させるため、変異タ

イプに関係なくすべての SOD1-ALS 患者に治療上のベネフィットをもたらすと期待される。

1.4.3 標的特異作用（Target Engagement）のエビデンス

SOD1-ALS の根底にある病態生理及びトフェルセンの作用機序を考慮し、非臨床試験及び臨床試験では、CSF 中総 SOD1 タンパク質の標的特異作用（Target Engagement）を示唆する間接的指標として評価した。特に、トフェルセンの開発プログラムで使用した免疫アッセイ（[redacted]）などの測定法は、有害な SOD1 タンパク質に特異的な測定法ではなく、主に天然の SOD1 タンパク質を測定している可能性がある。このことから、CSF 中総 SOD1 タンパク質濃度は SOD1-ALS を有する人と健康対照者との間で区別されず、疾患進行と相関しない［Winer 2013］。したがって、CSF 中総 SOD1 タンパク質の減少は標的特異作用（Target Engagement）を示唆する間接的指標として適しているが、トフェルセンの臨床効果を予測する（例：ニューロフィラメント軽鎖［NfL］の低下又は臨床評価項目での低下の緩徐化）ものではないと考えられる。

G93A 変異マウスでは、発症後に SOD1 を低下させる ASO を投与すると、血清中リン酸化ニューロフィラメント重鎖（pNfH）濃度が低下し、複合筋活動電位低下が回復した［McCampbell 2018］。発症前にトフェルセンを投与した場合、G93A 変異マウスは体重及び運動能力を維持し、生存率が上昇した［McCampbell 2018］。

臨床試験では、トフェルセンの投与により CSF 中総 SOD1 タンパク質の明らかで持続的な減少が認められた。101 試験パート C では、CSF 中総 SOD1 タンパク質が Week 8 頃までに明らかに減少し、トフェルセンの薬物動態（PK）及び SOD1 タンパク質の推定半減期と一致した（それぞれ約 1 ヵ月）。Intent-to-treat（ITT）集団の Week 28 で、CSF 中総 SOD1 タンパク質がトフェルセン群で約 35%減少し（ベースラインに対する幾何平均比）、プラセボ群で約 2%減少した（トフェルセン群とプラセボ群の幾何平均比の差：約 34%；nominal $p < 0.0001$）（「2.7.2 臨床薬理の概要」Table 8）。

トフェルセンの曝露と SOD1 の応答は、臨床でのデータに基づく母集団 PK／薬力学（PD）モデルにより定量的に特性を評価した。非ヒト霊長類でのデータに基づくモデル［Monine 2021］により、この CSF 中濃度の減少の程度は、SOD1-ALS が主に LMN の疾患であることから最も重要な組織である皮質で約 30%、脊髄で 90%超の総 SOD1 タンパク質の減少を反映していることが示唆される［Millecamps 2010］。

1.5 臨床開発プログラム

トフェルセンの臨床開発プログラムは、以下の完了した 2 つの臨床試験及び実施中の 2 つの臨床試験で構成される。SOD1-ALS 患者を対象とした 233AS101 試験パート A、B、C（完了）、及び 233AS102 試験（実施中）並びに健康被験者を対象とした 233HV101 試験（完了）及び発症前の SOD1 変異キャリアを対象とした 233AS303 試験（実施中）（Table 1）である。いずれの臨床試験も、医薬品の臨床試験の実施に関する基準（GCP）、ヘルシンキ宣言、及び各国要件に従い、関連当局からのガイダンスを考慮しながら実施した。これら臨床試験の要約は「5.2 全臨床試験一覧表」に示す。また、臨床開発プログラムとは別に、Expanded Access Program（EAP）も実施中であ

る（1.5.1.5 項）。

本申請での臨床データパッケージは 233HV101 試験、233AS101 試験、及び 233AS102 試験であり、233AS101 試験、及び 233AS102 試験を評価資料、並びに 233HV101 試験を参考資料とした。

本概括評価では、233AS101 試験を 101 試験、233AS102 試験を 102 試験と記載する。

臨床試験で、ALS 患者 176 例、健康被験者 8 例、及び症状発症前の ALS キャリア 3 例が、アジア太平洋、欧州、及び北米の実施医療機関にて登録された。2022 年 1 月 16 日時点で合計 175 例（ALS 患者 166 例、うち 162 例が SOD1-ALS）に少なくとも 1 回トフェルセンが投与された。これらの被験者のトフェルセン投与開始時の年齢は 21～78 歳であった。

Table 1 Tofersen Clinical Development Program

Study ID Phase Status	Study Design	Primary Objective	Number of Participants Enrolled
Studies in Participants With SOD1-ALS (weakness attributable to ALS and a confirmed SOD1 mutation)			
Study 101 Part A Phase 1/2 Complete	Randomized, double-blind, placebo-controlled SAD study in participants with ALS[a].	Safety, tolerability, and PK	Tofersen: 15 Placebo: 5
Study 101 Part B Phase 1/2 Complete	Randomized, double-blind, placebo-controlled MAD study in participants with SOD1-ALS.	Safety, tolerability, and PK	Tofersen: 38 Placebo: 12
Study 101 Part C Phase 3 (pivotal) Complete	Randomized, double-blind, placebo-controlled study in participants with SOD1-ALS.	Efficacy	Tofersen: 72 (Japanese: 3)Placebo: 36 (Japanese: 4)
Study 102 Phase 3 Ongoing	Open-label[b] extension for participants who completed Study 101.	Long-term safety and tolerability	Tofersen: 139 (Japanese: 7)
Study in Healthy Volunteers			
Study 233HV101 Phase 1 (radiolabeled tofersen) Complete	Open-label, 4-cohort, single-dose radiolabeled tofersen (^{99m}Tc-MAG3-BIIB067) co-administered with unlabeled tofersen in healthy participants.	ASO distribution in CNS	Tofersen: 8[c]
Study in Presymptomatic SOD1 Mutation Carriers			
Study 233AS303 Phase 3 Ongoing	Randomized, placebo-controlled trial with a longitudinal natural history run-in and OLE, for clinically presymptomatic adults with a confirmed SOD1 mutation.	Efficacy	150 (planned)[d]

[a] A total of 6 participants in Study 101 Part A did not have a SOD1 mutation, since this was not required prior to Protocol Version [redacted]. None of these 6 participants enrolled in Study 102; 2 only received placebo while 4 received a single dose of tofersen.

[b] A blinded loading dose period was incorporated in Study 102 for participants who enrolled after completing Part C of Study 101; blinded placebo or tofersen was administered at Day 15 for those who received tofersen or placebo in Study 101 Part C, respectively.
[c] Five of the 8 participants were enrolled at a site that was ultimately discontinued due to GCP noncompliance; data from these participants were reported but not analyzed.
[d] Study 233AS303 will enroll n = 150 participants in the observational run-in period (Part A) of the study, of whom ~34 participants (~28 in Part B/C and ~6 in Part D) will enter the interventional study period.

Integrated Summary of Efficacy（ISE）の解析計画に基づき、101 試験から 102 試験でのトフェルセンへの投与の切替えについての評価を前向きに計画した。101 試験パート C の被験者については、この統合によりトフェルセン／早期開始群（101 試験パート C でトフェルセン群に割付けられ、102 試験でトフェルセンの投与を継続した被験者）とプラセボ／投与開始遅延群（101 試験パート C でプラセボ群に割付けられ、約 6 ヵ月後に 102 試験でトフェルセンの投与を開始する機会があった被験者）との比較が可能となった。

101 試験パート C のデータ並びに 101 試験パート C 及び 102 試験の統合解析のデータを、トフェルセンのベネフィット／リスク評価の主な根拠として用いた。非盲検継続（OLE）での継続的なデータ収集の完全性を確保するため、被験者、実施医療機関の担当者、及びデータへのアクセスが制限された試験チームに対して、101 試験から OLE の完了まで（予想では 2024 年中期）、各被験者の割付けに対する盲検性を維持する。本承認申請データには、101 試験（2021 年 7 月 16 日）及び 233HV101 試験（試験中止）の最終データ、102 試験の有効性中間データ（データカット : 2022 年 1 月 16 日）及び安全性中間データ（安全性データカット : 2022 年 7 月 15 日、Integrated Summary of Safety［ISS］3）、並びに EAP データが含まれる。また、トフェルセンの長期ベネフィット／リスクの検討や、本申請の主要な根拠として用いるために、101 試験と 102 試験からのデータを統合した。本承認申請資料には、2022 年 1 月 16 日時点で入手可能なすべての PK、PD、及び有効性データを示している。2022 年 7 月 15 日データカットの安全性及び免疫原性データを示し、さらに 2023 年 2 月 28 日データカットの有効性及び安全性のデータを示す。

1.5.1 個々の試験

1.5.1.1 233AS101 試験

101 試験は、SOD1-ALS 患者にトフェルセンを投与して、有効性、安全性、忍容性、PK、及び PD を検討した無作為化二重盲検プラセボ対照試験であった。当初は第 I 相の単回投与用量漸増（SAD、パート A）及び反復投与用量漸増（MAD、パート B）試験としてデザインされ、101 試験パート B から得たデータのレビュー後に治験実施計画書を改訂し、第 III 相の部分（パート C）を加えた。第 III 相臨床試験は、*SOD1* 変異と確定された ALS 患者にトフェルセン 100 mg を投与し、ベネフィット／リスクプロファイルを確立するためにデザインされた。

1.5.1.1.1 パート A 及び B

101 試験パート A（SAD）は、SOD1-ALS 患者にトフェルセンを 4 段階の用量（10、20、40、及び 60 mg）で投与する無作為化二重盲検プラセボ対照試験であった。15 例にトフェルセンを単回投与し、5 例にプラセボを投与した。試験では被験者を約 8 週間追跡し、その後のパート B（MAD）のスクリーニングを受けることができるとした。パート B の適格性基準を満たさなかった被験者

には、実施中の OLE 試験である 102 試験に組み入れる機会を提供した。

101 試験パート B（MAD）は、SOD1-ALS 患者にトフェルセンを 4 段階の用量（20、40、60、及び 100 mg）で約 12 週間（Day 1、15、29 に 3 回の負荷投与＋Day 57 及び Day 85 に 2 回の維持投与）投与する無作為化二重盲検プラセボ対照試験であった。50 例がトフェルセン投与（38 例）又はプラセボ投与（12 例）に無作為化され、約 24 週間追跡調査した後に、102 試験に登録する機会が与えられた。

当初、101 試験パート B は、トフェルセンの 3 段階の用量（20、40、及び 60 mg）について検討するためにデザインされた。非ヒト霊長類を用いた 39 週間反復投与毒性試験から得た PK データによると、トフェルセンの曝露量が大きいほど CSF 中 SOD1 を効果的に減少させることが示された。トフェルセンの 4 段階目の用量（100 mg）を追加した。

101 試験パート A 及び B の最終データは、233AS101 試験パート A/B の治験総括報告書に記載する。

1.5.1.1.2 パート C

101 試験パート C は、トフェルセン 100 mg の有効性及び安全性をプラセボと比較して 6 ヵ月間で評価するためにデザインされた第 III 相無作為化二重盲検プラセボ対照試験であった。当初の登録被験者数は 60 例であったが、[redacted]により 99 例に変更し、ALS による筋力低下を示し *SOD1* 変異が確認された 108 例が、トフェルセン群又はプラセボ群に 2:1 の割合で無作為割り付けされ、約 24 週間投与（3 回の負荷投与後に 5 回の維持投与）された。

事前に規定した主要解析対象集団（modified intent-to-treat［mITT］集団）は、*SOD1* 変異型及び無作為化前の ALSFRS-R の傾きに基づいた急速な疾患進行に関する予後エンリッチメント基準に該当する被験者の部分集団（60 例）で構成された（「エンリッチ」又は急速進行性／急速進行例の部分集団）。その他の被験者（48 例）はすべて non-mITT 集団に分類された（「その他」又は緩徐進行性／緩徐進行例の部分集団）。

主要評価項目は、ベースラインから Week 28 までの ALSFRS-R 合計スコアの変化量であり、主な副次評価項目は階層的検定手順の順に、CSF 中総 SOD1 タンパク質、血漿中 NfL、静的肺活量（SVC）（%予測値）、ハンドヘルドダイナモメーター測定（HHD）メガスコア、死亡又は永続的換気までの期間、及び死亡までの期間であった。

試験デザインの主な特徴は 4.1 項で詳述する。

101 試験パート C からの最終データは、233AS101 試験パート C の治験総括報告書に示す。

1.5.1.2 233AS102 試験

102 試験は、101 試験（パート A、B、又は C）を完了した被験者を対象にトフェルセンの長期的な効果を評価するための実施中の OLE 試験である。被験者は 102 試験において約 3～7 年間（組入れ時期により異なる）、追跡を受ける機会がある。101 試験パート A 及び B から移行した被験者には、101 試験から 102 試験の間にウォッシュアウト期間を設け、102 試験に移行した時

期に応じて様々な用量を投与したが、パート C の被験者には、101 試験から 102 試験へと投与が連続して行われた。101 試験パート C の Week 28 の来院は、102 試験の Day 1 の来院とした。101 試験パート C の盲検性を維持するために 102 試験では盲検下での負荷投与期間を設け、その後はトフェルセンを非盲検下で投与した。

102 試験の中間データカットは、101 試験パート C が完了した 2021 年 7 月 16 日、及び 101 試験パート C から移行したすべての被験者に関して 12 ヵ月以上の追跡の機会が得られた 2022 年 1 月 16 日に行われた。2021 年 7 月 16 日のデータカットに基づく 1 回目の結果開示のために少人数のチームの盲検を解除し、一方で独立した盲検チームが実施中の 102 試験の管理業務に継続して従事した。盲検性の維持方法を 4.1.4.1 項に示す。実施中の試験ではこれらの制約事項が維持されている。FDA の要件に従い、すべての被験者に関して 18 ヵ月以上の追跡の機会が得られた 2022 年 7 月 15 日に、102 試験の安全性データについてデータカットが行われた。また、EMA への承認申請の審査中に Committee for Medicinal Products for Human Use（CHMP）から 102 試験の有効性及び安全性データについて追加のデータカットの要請があり、2023 年 2 月 28 日に 102 試験の中間データカットが行われた。2021 年 7 月 16 日をデータカットとした 102 試験中間データは 233AS102 試験の治験総括報告書（中間 1）に、2022 年 1 月 16 日をデータカットとした 102 試験中間データは 233AS102 試験の治験総括報告書（中間 2）にて詳述する。また、2022 年 7 月 15 日データカットの安全性中間データは「2.7.4 臨床的安全性」に示す。2023 年 2 月 28 日データカットのバイオマーカー、有効性、及び安全性データは「2.7.2 臨床薬理の概要」、「2.7.3 臨床的有効性」、及び「2.7.4 臨床的安全性」に示す。

1.5.1.3 233HV101 試験

233HV101 試験は、健康被験者に微量の放射能標識トフェルセン（^{99m}Tc-MAG3-BIIB067）と非標識トフェルセンを同時に単回投与した際の安全性、忍容性、及び分布を評価する第 I 相試験であり、髄腔内（IT）投与後の中枢神経系（CNS）組織へのトフェルセン分布データを収集した。本試験のデータは、試験対象集団（健康被験者）並びに試験デザイン及び目的を考慮し、101 試験及び 102 試験から得たデータとは統合されていない。

233HV101 試験からの最終（試験中止）データは、233HV101 試験の治験総括報告書に示す。

1.5.1.4 233AS303 試験

233AS303 試験は、疾患活動性のバイオマーカーのエビデンス（血漿中 NfL 濃度の上昇）を有する発症前の SOD1 変異キャリアを対象として、トフェルセンが ALS の臨床症状の発症を止める若しくは遅らせることができるか否か、及び／又は ALS の臨床症状の発症時若しくは発症後にトフェルセンを開始した場合に比べて、症状が現れてからの機能低下を遅らせることができるか否かを評価するためにデザインされた、4 パートで構成される実施中の第 III 相無作為化二重盲検プラセボ対照試験である。高浸透性又は完全浸透性で急速進行性の SOD1 変異リスクがある発症前のキャリア約 150 例を本試験の自然経過観察期間（パート A）に組み入れる。治験実施計画書で規定した閾値（44 pg/mL 以上、かつベースラインから 10 pg/mL 以上の増加）を上回る血漿中 NfL 濃度の上昇が認められ、臨床症状を発症していないパート A の被験者には、無作為化二重盲検プラセボ対照期間（パート B ; 28 例）に組み入れられる機会がある。パート B では、ALS の臨床症

状を発症した被験者をスクリーニングし、OLE 試験（パート C）の適格性を判断する。パート B 及び／又はパート C の参加期間は最長 2 年である。パート B に無作為化される前に ALS の臨床症状を発症した被験者をスクリーニングし、最長 2 年の非盲検投与期間期間（パート D）の適格性を判断する。

本試験のパート B の登録の進捗にもよるものの、データが得られるのは早くても 2028 年と想定されている。

試験はまだ盲検下にあるため、本承認申請には 233AS303 試験の有効性データは含まれていない。安全性データカット（2022 年 7 月 15 日）の時点の盲検化された安全性データのレビューで新たな重要な安全性情報は特定されなかった。233AS303 試験データにおいて、トフェルセンの最適な投与開始時期について情報が得られると期待している（7 項）。

1.5.1.5 Expanded Access Program

2021 年 7 月に、急速進行性の SOD1-ALS 患者向けに、正式な臨床試験又は市販承認の枠外でトフェルセンを使用することができる EAP が導入された。2021 年 10 月 17 日には、参加基準をすべての SOD1-ALS 患者に拡大した。

本承認申請のための安全性データカット（2022 年 7 月 15 日及び 2023 年 2 月 28 日）時点で EAP 参加者から得られた安全性データを「2.7.4 臨床的安全性」6 項及び 10.6 項に示し、本概括評価では 5.11 項に示す。EAP は臨床試験ではないため、有効性データが日常的に又は一貫して収集されることはない。したがって、本承認申請には EAP から得られた有効性データは含まれていない。

1.5.2 統合解析

1.5.2.1 有効性の統合解析

トフェルセン開発プログラムでは、有効性の統合解析計画を通して、101 試験でプラセボ群の被験者が 102 試験でのトフェルセン投与への切替えについて評価ができるように事前に計画された。この統合解析によって、101 試験パート C の被験者を、トフェルセン早期開始群（トフェルセン投与を 101 試験パート C で開始し 102 試験でも継続した被験者）とトフェルセン投与開始遅延群（101 試験パート C ではプラセボを投与され、約 6 ヵ月後に 102 試験でのトフェルセン投与開始機会が与えられた被験者）に分けて比較評価することが可能となった。

パート A 及びパート B 被験者からのデータについても統合解析を行ったが、ウォッシュアウト期間及び投与歴のばらつきやといった限界のため、解析結果の解釈には限界がある。

これらの統合有効性解析は、当初 2 回のデータカット時点（2021 年 7 月 16 日、2022 年 1 月 16 日）に基づいて実施した。

EMA への申請の承認審査中に、CHMP から、有効性及び安全性データについて実施中の 102 試験の追加のデータカットの要請があった。102 試験の中間データカットが 2023 年 2 月 28 日（データベースロック：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日）に実施され、本試験の直近の中間データカットから得られた有効性及びバイオマーカーデータについては 1 年以上の追加の追跡データ（以前のデータカ

ット：2022 年 1 月）が得られた。追加の 101 試験及び 102 試験のデータは、ISE 統計解析計画書（SAP）第 [redacted] 版（20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日作成）に従い統合した。

1.5.2.2 安全性の統合解析

101 試験の安全性最終データと 102 試験の安全性中間データ（2022 年 7 月 15 日データカット）を統合して本承認申請データに含め、本概括評価の 5 章及び「2.7.4 臨床的安全性」1.1.6 項に示す。102 試験の中間データカットが 2023 年 2 月 28 日（データベースロック：20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日）に実施され、本試験の直近の中間データカットから得られた安全性データについては 7 ヵ月の追加の追跡データ（以前のデータカット：2022 年 7 月）が得られた。追加の 101 試験及び 102 試験のデータは、ISS SAP 第 [redacted] 版（20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日作成）に従い統合した。

1.5.2.3 免疫原性の統合解析

101 試験からの免疫原性最終データと 102 試験からの免疫原性中間データ（2022 年 7 月 15 日データカット）を統合して本承認申請データに含め、Module 5.3.5.3 Integrated Summary of Immunogenicity に示した。有効性と免疫原性の関係性を探索する解析には、2022 年 1 月 16 日カットのデータを用いた（「2.7.3 臨床的有効性」4.3 項）。

1.6 規制当局との相談及び承認状況

1.6.1 海外における相談及び承認状況

101 試験パート C の終了後、米国、欧州を初めとする各国の規制当局と[redacted]相談を行った。その後、米国では 2022 年 5 月に承認申請を行い、2023 年 4 月に迅速承認された。EU では 2022 年 10 月に承認申請を行い、2024 年 5 月にトフェルセンの Exceptional Circumstances で承認された。また、中国では 20[redacted] 年 [redacted] 月に承認申請を行い、2024 年 9 月に条件付き承認された。

1.6.2 国内における相談状況

トフェルセンは 2020 年 11 月 25 日に ALS を予定される効能又は効果として希少疾病用医薬品に指定されている。20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日に[redacted]相談（[redacted]）を実施し、[redacted]について相談を行った。続いて[redacted]相談における[redacted]として、20[redacted] 年 [redacted] 月に[redacted]相談を実施した（[redacted]）。[redacted]相談における医薬品医療機器総合機構（機構）からのすべての指摘事項に対する相談者の回答は機構に[redacted]された。

101 試験パート C の終了後、20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日に[redacted]相談（[redacted]）を実施し、[redacted]について相談を行った。機構からは以下の助言を得た。

- [redacted]こと。
- [redacted]こと。

- [redacted]こと。[redacted]こと。
- [redacted]こと。
- [redacted]こと。

20[redacted]年[redacted]月[redacted]日までに[redacted]相談（[redacted]）を実施し、[redacted]について相談を行った。機構からは以下の助言を得た。

- [redacted]と考える。

2 生物薬剤学に関する概括評価

トフェルセン製剤は、注射用水にトフェルセン 6.7 mg/mL、リン酸二水素ナトリウム二水和物 0.03 mg/mL、リン酸一ナトリウム二水和物 0.11 mg/mL、塩化ナトリウム 8.77 mg/mL、塩化カリウム 0.22 mg/mL、塩化カルシウム二水和物 0.21 mg/mL、及び塩化マグネシウム六水和物 0.16 mg/mL を含有する液剤である。

臨床試験では、単一の原薬及び処方を使用し、2 つの異なる製剤で供給された（2.7.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法、1.2 項）。

製剤及び投与経路（IT 投与）を考慮して、バイオアベイラビリティ、生物薬剤学、及び食事の影響に関する試験は実施しなかった（そのため、Module 5.3.1.2 や Module 5.3.1.3 に関連試験の記載はない）。

血漿中、血清中、及び CSF 中のトフェルセン濃度を測定するため、また、免疫原性を評価するために特異的な分析法が開発され、開発プログラムを通して使用された（2.7.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法を参照）。さらに、CNS 組織試料中のトフェルセン濃度の測定には fit-for-purpose アッセイが用いられた。

CSF 中総 SOD1 タンパク質と CSF 中脱アミド化 SOD1 ペプチドは、解析目的に応じてバリデートされた（Fit-for-purpose）アッセイを用いて定量した（「2.7.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法」1.3.4 項）。総 SOD1 タンパク質濃度を測定するために、ヒト CSF 試料を [redacted] で適格性が確認された市販の免疫アッセイを用いて分析した。このアッセイには、ヒト CSF 中 Cu/Zn SOD を定量するヒト Cu/Zn SOD Platinum 酵素免疫測定法キット（[redacted] 製）を利用した。このアッセイでは CSF 中総 SOD1 タンパク質を測定し、未変性の SOD1 タンパク質並びに変異 SOD1 タンパク質又はミスフォールドを起こした SOD1 タンパク質を区別しない。現時点では、ヒト体液（CSF 又は血液）試料中の変異 SOD1 タンパク質やミスフォールドを起こした SOD1 タンパク質を特異的に測定できる、バリデートされたアッセイは存在しない。SOD1 タンパク質濃度のアッセイ間の変動は最大で 15.6%である（SOD1 アッセイで報告された定量下限でのアッセイの変動係数の最大値）［バリデーション報告書 TS067−008VR］。

また、脱アミド化 SOD1 ペプチド濃度を測定するため、ヒト CSF 試料を用いて、申請者が開発した液体クロマトグラフ質量分析法の新規手法による分析を実施した。この脱アミド化 SOD1 アッセイは、*SOD1* 変異キャリアのみに存在し、患者固有の標的特異作用（Target Engagement）マーカーと考えられている SOD1 ペプチド種を定量する。

また、血漿中及び CSF 中の NfL 及び pNfH を fit-for-purpose のバイオマーカーアッセイを用いて評価した（2.7.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法、1.3.4 項）。pNfH 濃度を測定するために、ヒト血漿及び CSF 試料を [redacted] 社の酵素結合レクチンアッセイプラットフォーム上で統合型免疫アッセイを用いて分析した。また、NfL 濃度を測定するために、ヒト血漿及び CSF 試料により [redacted] で適格性が確認された免疫アッセイである [redacted] を用いて分析した。101 試験パート A 及び B では、[redacted] プラットフォーム上で NfL データが得られた。ただし、101 試験パート C より前に、申請者は [redacted]（[redacted]）が CSF と血漿の両方で良好な分析性能を示す NfL アッセイであることを確認しており、この [redacted] アッセ

イの優れた分析性能から、101 試験パート C では本アッセイの採用が決定した。[redacted] アッセイは、試料間の変動が低減され、プレートバイアスを最小限にする完全自動化ランダムアクセス型装置を利用している。

バイオマーカーアッセイは、バイオマーカーの取扱いに基づき fit-for-purpose の手法で科学的かつ分析的にバリデートされる。多くの場合、バイオマーカーアッセイは抗体に基づく免疫測定法であり、免疫測定法では、標準曲線又は較正曲線を使用し、観察されたシグナル反応を用いた相対的定量によって、生体試料中の分析対象物の未知濃度を補完する。大半のタンパク質バイオマーカーアッセイでは、分析対象物の絶対定量に必要な真の標準物質や認証標準物質が入手できない。試料間の固有の生物学的変動性に加えて、使用した分析プラットフォームの種類により、分析上の変動性の程度が変化する限界も存在する可能性がある。CSF 中総 SOD1 タンパク質アッセイの場合、CSF 中 SOD1 タンパク質の測定は、96 ウェルプレートと共に使用する較正／標準曲線のパフォーマンスに左右される相対的なタンパク質定量である。しかし、[redacted] アッセイでの NfL の分析は、内部較正された完全自動化ランダムアクセス型の化学発光酵素免疫測定法装置を用いて行った。血漿中 NfL 濃度は、測定時に特異的な較正曲線に依存せず、その代わりに適切な品質管理試料を用いてアッセイの性能がモニタリングされる。

3 臨床薬理に関する概括評価

3.1 薬物動態の要約

10～100 mg の用量を、101 試験パート A（10～60 mg）とパート B（20～100 mg）で評価した。101 試験パート C では、トフェルセン 100 mg（又はプラセボ）を 14 日間隔で 3 回（Day 1、15、及び 29）負荷投与した後、Week 24 まで 28 日に 1 回の維持投与を行った。その曝露プロファイルから、101 試験パート C で検討した同じ用量、頻度、及び投与経路でトフェルセンを SOD1-ALS の治療薬として投与することが支持されている。

CSF 中のトフェルセン濃度は、IT 投与後速やかに最高濃度に達する。4 週間の負荷投与期間の直後に、CSF 中濃度は定常状態となった。負荷投与期間後の CSF 中のトフェルセン蓄積はわずかであった。CSF 中トフェルセンの有効半減期は約 1 ヵ月であった。ヒトの CNS 組織における半減期を測定することはできないが、アカゲザルの CNS 組織中での終末相消失半減期が 31～40 日であり、CSF 及び CNS 組織中のトフェルセン濃度は、臓器・組織への分布後に平衡状態に達する可能性が高いことが示唆される。トフェルセンの作用部位が CNS 内であることから、これらの結果は本剤の承認申請の投与頻度と投与経路を支持している。

トフェルセンは CSF から全身循環に速やかに移行し、最高血中濃度到達時間の中央値は 2～6 時間である。トフェルセンの血漿中濃度は、最高濃度に達すると急激に減少した。この減少は全身組織に広範に分布したためと考えられた。

少数例ではあるが剖検（n=3）を行ったデータを、非臨床生理学的薬物速度論（PBPK）モデル（非ヒト霊長類と他の動物データを基に開発）を用いた動物－ヒト間の CNS 曝露量スケーリング手法の適格性を確認するために用いた。この PBPK モデルを用いたシミュレーション値と実測値の間には良好な一致が示され、データ数は限定的であるが、トフェルセン濃度を 2～3 倍の範囲内で予測するにあたり現行モデルが十分適切であることが示されている（「2.7.2 臨床薬理の概要」2.1.4.5 項）。

Module 5.3.3.3 及び Module 5.3.3.4 に別途掲載する試験はない。PK や PD（SOD1 反応、NfL 反応）に対する内因性要因と外因性要因の特定は母集団 PK/PD 解析の一環として行い、解析結果を Module 5.3.3.5 に掲載する。別途試験の実施は必要ない。

3.1.1 内因性要因

血漿中 PK に対する重要な共変量として、抗薬物抗体（ADA）の有無、クリアランス（CL）に対するベースラインの体表面積、及び中心コンパートメントの分布容積に対する性別の 3 つが特定された。ADA の有無と CL の詳細は 3.4 項に示す。

体重及び体表面積

ベースラインの体重は、CSF 中分布容積、血漿中分布容積、及び血漿中 CL などの PK パラメータの有意な共変量ではなかった。しかし、身体サイズを表す代替指標であるベースラインの体表面積は、血漿 CL に対する共変量として特定された（「2.7.2 臨床薬理の概要」3.5.2 項参照）。

年齢

臨床試験でトフェルセンを投与した ALS 患者 166 例のうち、4 例を除きすべて SOD1-ALS 患者（本承認申請の適応疾患）であった。65 歳以上は 22 例で、そのうち 2 例が 75 歳以上であった。データ数が限られているが、これらの高齢被験者と 65 歳未満の被験者の臨床 PK には全般的な差異は認められなかった。

性別及び人種

母集団 PK 解析では、性別は中心コンパートメントの分布容積に影響する共変量であった（「2.7.2 臨床薬理の概要」3.5.2 項を参照）。

人種の報告のあった被験者の大半は白人（全体の 61%）であり、30%の被験者は守秘義務規則により人種は報告されなかった。母集団 PK 解析結果から、人種がトフェルセンの PK に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる（「2.7.2 臨床薬理の概要」3.5.2 項を参照）。

101 試験パート C には日本人被験者 7 例（全体の 6.5%）が組み入れられ、3 例にトフェルセン 100 mg が投与された。101 試験パート C 及び 102 試験の統合解析で CSF 中及び血漿中でのトフェルセンの PK を比較したところ、CSF 及び血漿中の PK は 101 試験パート B 及びパート C、並びに 102 試験で同程度であることが示された。全体として、日本人集団の CSF 中及び血漿中のトフェルセンの曝露量は、外国人集団の曝露量の範囲と重複していた（「2.7.2 臨床薬理の概要」2.1.3 項及び 3.1 項）。

腎機能障害及び肝機能障害

腎機能障害や肝機能障害を有する被験者を対象としたトフェルセンの試験は実施していない。2′-MOE ASO クラスの薬剤やトフェルセンの既知の PK（薬剤の消失にチトクローム P450［CYP450］は関与しない）、IT 投与経路の性質（全身循環が末梢コンパートメントに相当するため、全身循環への過剰曝露は発生しない）、対象患者集団の患者背景（腎機能障害や肝機能障害を有する被験者が一般集団よりも高い割合でみられるとは考えられない）、並びにこれまでの臨床試験や非臨床試験の結果より、肝機能や腎機能への影響は予測されない。

3.1.2 相互作用の可能性

他剤との薬物相互作用を評価する臨床試験は実施していない。2′-MOE 修飾 ASO は、遍在するヌクレアーゼによって代謝されることが知られている。トフェルセンは、マウスやラット、霊長類、及びヒトの血漿タンパクに高い割合で結合する。ただし、このクラスの ASO では血漿タンパク結合の強さは比較的弱く（解離定数がマイクロモルの範囲）、本剤のような親水性薬剤の結合部位は疎水性低分子医薬品の結合部位とは異なる［Watanabe 2006］。したがって、血漿タンパク結合との競合による薬物相互作用の可能性は低いと考えられる。また、一般的なトランスポーター又は CYP450 介在性代謝との相互作用もなく、薬物相互作用の可能性が低いことから、トフェルセンと他剤併用時の用量調節は規定していない。

3.2 臨床試験の用量設定及び承認申請用法及び用量

3.2.1 臨床試験の用量設定

臨床試験で検討した用量は、非臨床毒性試験、トランスレーショナルモデルを用いた反復予測、及び臨床試験に基づいて決定した。

101 試験パート B ではトフェルセン 100 mg IT 投与によって、最大のトフェルセン曝露量、及び最大の CSF 中総 SOD1 タンパク質減少が得られ、低用量群と比べて明らかな疾患進行の緩徐化が複数の探索的評価項目で認められた。非ヒト霊長類での非臨床試験データに基づく PBPK モデリング［Monine 2021］では、トフェルセン 100 mg により、脊髄で 90%超及び皮質で約 30%の SOD1 が減少する可能性のある CNS 中曝露量に到達することが示唆されている。

ヒトにおけるトフェルセンの曝露量を予測するための非ヒト霊長類を用いたトランスレーショナルモデルは、異なる用法及び用量（用量レベル／投与回数／ウォッシュアウト期間）でのトフェルセン投与歴を有する 3 例の剖検試料の結果から裏付けられた。CSF 領域の試料から得られたトフェルセンの組織中濃度は、試料を採取した CNS 領域のほとんどで測定可能であり、標的とする脊髄領域の濃度が 200 µg/g 超であり、SOD1 阻害の 50%有効濃度（EC_{50}）推定値（約 1 µg/g）と同程度であった。ヒトのトランスレーショナル PBPK モデルを使用し、剖検した被験者での投与シナリオを被験者別にシミュレーションした。このモデルから予測される CNS 組織中濃度は、測定値の 2 倍以内（頸髄では 3 倍以内）であり、*in vitro-in vivo* 及び他のトランスレーショナル PBPK モデルを成功と評価できる閾値である（「2.7.2 臨床薬理の概要」3.7 項）。

SOD1-ALS は大部分が LMN 病変と考えられる［Li and Wu 2016; Millecamps 2010］こと、並びに大脳皮質において意味のある SOD1 減少を達成するには、かなり高用量が必要であると考えられることから、第 III 相試験（101 試験パート C）での用量を 100 mg に決定した。具体的には、トフェルセン 100 mg を 14 日間隔で Day 1、15、及び 29 の 3 回負荷投与し、その後は 28 日ごとに維持投与した。

承認申請資料に含めた各種結果から、101 試験パート C で検討した用法・用量（トフェルセン 100 mg の IT ボーラス投与を 2 週間ごと 3 回の負荷投与に続けて 4 週間ごとに維持投与;233AS101 試験パート C の治験総括報告書）を用法・用量（案）とする。

日本人の被験者数は少数であり評価に限界はあるものの、全体集団と比較して PK、PD、及び有効性に明らかな差異は認められなかった。日本人集団の安全性プロファイルは全体集団と同様であり、日本人集団では重篤な神経学的事象は認められなかった。

日本人集団におけるトフェルセンの PK は全体集団と同様であり、異なる傾向は認められなかった。したがって、日本人患者における有効性は期待できると考えられ、用法・用量（案）は日本人にも適用可能と考えられた。

3.3 薬力学の要約

想定される PD 作用は健康被験者では明らかとならないことから、健康被験者を対象とした PD 試験は実施していない。

患者における PD は 101 試験の一環として評価・解析し、それらの結果は治験総括報告書及び母集団 PK/PD 解析報告書（Module 5.3.3.5）の双方に掲載しているため、Module 5.3.4.1 及び Module 5.3.4.2 に別途掲載する試験はない。

3.3.1 SOD1 タンパク質

総 SOD1 タンパク質

SOD1-ALS の根底にある病態生理とトフェルセンの作用機序から、トフェルセンの臨床試験では標的特異作用（Target Engagement）を示唆する間接的指標として CSF 中総 SOD1 タンパク質を評価した。

トフェルセン投与によって CSF 中総 SOD1 タンパク質が確実かつ持続的に減少し、標的特異作用（Target Engagement）が確認された。101 試験パート C では、CSF 中総 SOD1 の減少は Week 8 頃までに明確となり、トフェルセンが定常状態に達するまでの時間や SOD1 タンパク質の推定半減期（それぞれ約 1 ヵ月）とも合致していた。ITT 集団では、Week 28 の CSF 中総 SOD1 タンパク質の減少はトフェルセン群が 35%（ベースラインに対する幾何平均比）減少し、プラセボ群が 2%であった（トフェルセン群とプラセボ群の幾何平均比の差 34%、形式上の $p < 0.0001$）。減少の程度や時間経過は、101 試験パート B でみられた結果と類似していた。また、mITT 集団と non-mITT 集団で同様の減少がみられた（「2.7.2 臨床薬理の概要」Table 8）。さらに、101 試験と 102 試験の統合解析では、トフェルセン早期開始群の CSF 中総 SOD1 減少は 52 週間の追跡でも維持されており、トフェルセン投与開始が遅いプラセボ／トフェルセン投与開始遅延群でも同様の減少が認められた（「2.7.2 臨床薬理の概要」Table 18）。

ITT 集団を対象とした 101 試験パート C 及び 102 試験統合解析での 52 週間の追跡では、日本人集団における CSF 中総 SOD1 タンパク質の減少の推移は、全体集団における変動の範囲内であった（「2.7.2 臨床薬理の概要」3.4.1 項）。

2023 年 2 月のデータカットにおいてトフェルセンによる CSF 中総 SOD1 タンパク質濃度の低下は持続した（「2.7.2 臨床薬理の概要」Figure 34）。Week 76 では、プラセボ／投与開始遅延群で 39%、及び早期開始群で 37%減少した。Week 104 では、プラセボ／投与開始遅延群で 19%、早期開始群で 27%減少した（「2.7.2 臨床薬理の概要」Table 22）。日本人集団においてもおおむね全体集団における変動の範囲内であった（「2.7.2 臨床薬理の概要」Figure 35）。

母集団 PKPD モデルを用いて、トフェルセン曝露量と SOD1 反応の関係を明らかにし、その特性を定量的に確認した（「2.7.2 臨床薬理の概要」3.5.2 項）。非ヒト霊長類データに基づく PKPD モデリング［Monine 2021］では、観察された CSF 中 SOD1 減少の程度は、脊髄（SOD1-ALS は LMN 病変が多いこと［Li and Wu 2016; Millecamps 2010］から、最も関連のある組織である）で 90%超及び大脳皮質で 30%超の総 SOD1 タンパク質が減少する可能性が示唆される。トフェルセンは、SOD1-ALS において考えられるすべての病理学的機序（いずれも翻訳後に生じる）の上流のタンパク質翻訳用の基質（mRNA）濃度を低下させるため、すべての SOD1-ALS 患者に治療上のベネフィットが期待できる。PK、PD、及び曝露－反応解析の結果は、いずれも用法・用量（案）（通常、トフェルセンとして 1 回 100 mg/15 mL を IT 投与する。初回投与後、2 週、4 週に投与

し、以降は 4 週間隔で投与を行うこと）を支持している。

トフェルセン開発プログラムで利用した測定及び免疫アッセイ（[redacted]）は、野生型と変異型の SOD1 を区別せず、測定値は CSF 中の総 SOD1（野生型及び変異型）を反映したものとなる。SOD1-ALS 患者における CSF 中総 SOD1 タンパク質濃度は経時的に安定しており、広義の ALS 患者や ALS に罹患していない者にみられる濃度と変わらない。重要な点は、CSF 中総 SOD1 濃度は疾患の病期（ベースライン時の ALSFRS-R スコア）や進行（ALSFRS-R スコアの毎月の変化量）とは相関しないということである［Winer 2013］。したがって、CSF 中総 SOD1 の減少は標的特異作用（Target Engagement）を示唆する間接的指標としては適しているが、トフェルセンの臨床効果を予測するものではないと考えられる。CSF 中総 SOD1 減少に関する治療閾値は確立されていないが、20%以上の減少を、標的特異作用（Target Engagement）を示唆する間接的指標の根拠とした（このレベルの減少は、アッセイの乖離度や生物学的変動を上回るため）。経時的に観察される変動は、アッセイの変動の影響を受ける可能性がある。プレート間で SOD1 タンパク質の絶対濃度を決定するための認証標準物質がないため、被験者内の各時点での SOD1 タンパク質濃度は最大で 15.6%変動する可能性がある（SOD1 のアッセイで報告されたアッセイ間で最も高い変動係数［バリデーション報告書：TS067-008VR］）。そのため、CSF 中総 SOD1 タンパク質の測定により、ASO が標的に到達していることは確認できるが、ALS の病態生理の中心である神経変性過程に対するトフェルセンの影響を定量的に評価するため、ニューロフィラメント濃度を測定した。

脱アミド化 SOD1 ペプチド

患者固有の標的特異作用（Target Engagement）を示唆する間接的マーカーとして、*SOD1* 変異キャリアのみに存在する脱アミド化（例：修飾）SOD1 ペプチド［Gertsman 2019］を探索的に定量する新しい質量分析法も開発した。

総 SOD1 に対する作用と同様に、CSF 中の脱アミド化 SOD1 ペプチドの減少も確認された。ITT 集団では、Week 16（適切な試料が得られた最も遅い時点）までにトフェルセン群で 37%の減少（ベースラインに対する幾何平均比）、プラセボ群では 2%の増加が認められた（「2.7.2 臨床薬理の概要」2.1.3.4 項）。

3.3.2 ニューロフィラメント

3.3.2.1 ALS におけるニューロフィラメントの背景

ニューロフィラメントは、ニューロンのみに発現する中間径フィラメントであり、CNS 及び末梢神経系（PNS）ニューロンの細胞骨格の足場の主要構成成分の 1 つである。ニューロフィラメントは、軽鎖（NfL）、中鎖（NfM）、及び重鎖（NfH）に加え、CNS では α-インターネキシン、PNS ではペリフェリンから成るヘテロ重合体である［Yuan 2017］。

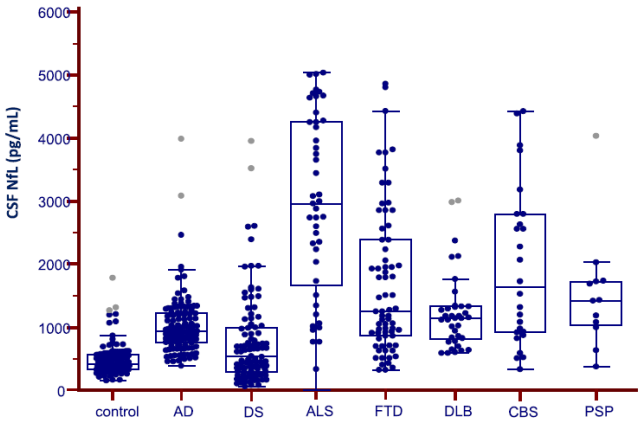
軸索の損傷又は変性が生じると、ニューロフィラメントは間質液中に漏出する。そこから CSF 及び血液中に移行し、濃度測定が可能になる［Gaetani 2019; Khalil 2018］。

ニューロフィラメント濃度の増加は、神経変性疾患や他の病態生理学的プロセスを伴う疾患を

含め、神経軸索損傷を特徴とする様々な神経疾患にて確認されている。このように非特異的であるにもかかわらず、ALS におけるニューロフィラメント濃度は神経変性疾患の中で特に高く、その濃度は神経学的に健康な対照群の 7～10 倍である（Figure 1）［Bridel 2019; Delaby 2020; Falzone 2020; Skillbäck 2017］。このことは、ALS が運動ニューロンの比較的急速な変性を特徴としており、その運動ニューロンが体内で最も長い軸索を有し、比較的大量のニューロフィラメントを含んでいるためと考えられる［Olsson 2019］。

このような濃度上昇は血中でも CSF 中でも観察され、両者に高い相関性がみられる［Benatar 2018b; Gaiottino 2013; Lu 2015; Steinacker 2017］。例えば、ALS 患者、ALS と誤診されやすい病態の患者、及び対照群を用いた研究では、ALS 患者は血漿中 NfL 濃度が他のすべての比較対照、すなわち、他の運動ニューロン疾患（MND）患者（$p < 0.05$）、神経障害及び脊髄症患者（$p < 0.01$）、ミオパチー患者（$p < 0.01$）、並びに神経疾患のない対照群（$p < 0.01$）に比べて有意に高かった［Behzadi 2021］。過去 20 年間に蓄積されてきた文献では、とりわけ高いニューロフィラメント濃度により、ALS 患者と健康対照群及び他の多くの神経変性疾患患者が区別されることが一貫して確認されている［Benatar 2018b; Delaby 2020; Feneberg 2018; Gaiottino 2013; Gille 2019; Halbgebauer 2022; Olsson 2019; Poesen 2017; Thompson 2022］。

Figure 1　CSF Neurofilament Levels in ALS Compared to Other Neurodegenerative Diseases and Healthy Controls



Note: AD: Alzheimer Disease; DS: Down Syndrome; DLB: Dementia with Lewy Bodies; FTD: Frontotemporal Dementia; CBS: Corticobasal Syndrome; PSP: Progressive Supranuclear Palsy. From [Delaby 2020]

ニューロフィラメントは、ALS の臨床症状が現れる前から上昇が認められる［Benatar 2019; De Schaepdryver 2019a］。ニューロフィラメント濃度は症状発現後約 6～20 ヵ月にわたって増加し続け、その後安定化すると考えられる［Benatar 2018b; Brodovitch 2021; De Schaepdryver 2019b; Feneberg 2018; Gaiottino 2013; Gille 2019; Poesen 2017; Thompson 2022］。介入が行われなければ、時間の経過と共にニューロフィラメント濃度が著しく減少することはないと予想される。健康対照群では加齢（並びに脳容積低下の減少と体格指数の減少）と共にニューロフィラメント濃度が上昇し、次第にばらつきが大きくなることが示されている［Khalil 2020; Manouchehrinia 2020; Vågberg 2015］。これに対し、ALS 患者を対象としたほとんどの研究では、NfL 濃度と年齢との間に関連性は認められていない。これは恐らく ALS における軸索変性による増加の程度が、通常の

加齢に伴う軸索喪失及び不顕性の併存疾患による軽度の増加を上回っているためと考えられる［Feneberg 2018; Rossi 2018; Thompson 2022; Verde 2019］。

ALS の学会は、特に過去 10 年間に ALS におけるニューロフィラメントの特徴の解明に取り組んできた（Figure 2）。ALS 臨床試験におけるニューロフィラメントの使用には以下のような複数の側面が存在することが、各種文献（各項で詳述）で示されている。

- 発症前の高リスク変異キャリアにおける疾患活動性を特定するための潜在的な感受性／リスクバイオマーカーとしての利用（3.3.2.2 項）
- 被験者集団の不均一性を制御するための疾患進行及び生存の予後バイオマーカーとしての利用（例：層別因子又は共変量としてベースライン時のニューロフィラメントを使用する）（3.3.2.3 項）
- 治療薬の治療効果を評価するための潜在的な治療反応バイオマーカーとしての利用（3.3.2.4 項）

Figure 2 Timeline of Neurofilament Behavior Characterization in ALS Literature



日本では、Kasai らのグループが、病院ベースの症例対照研究で、ALS 患者の CSF 及び血漿中の NfL を測定し、診断的および予後的意義について検討して報告している［Kasai 2019］。結果として、CSF 中及び血漿中 NfL 濃度は対照群と比較して ALS 群で有意に上昇した。さらに、CSF 中と血漿中の NfL の高値は生存期間の短縮と関連していた。以上より、CSF と血漿中の NfL は診断バイオマーカーとしての役割を果たすだけでなく、疾患の進行の指標となる可能性があると結論づけられている。現時点で、日本における ALS のバイオマーカー又は疾患の予後を予測するサロゲートマーカーとしての論文はこの一報だけであるが、これまでの海外での報告と矛盾しない。

3.3.2.2 症状発現前の高リスク変異キャリアにおける疾患活動性バイオマーカーとしてのニューロフィラメント

McComas らのデータから、ALS 患者では筋力低下の症状が発現する前に多くの運動ニューロンの喪失（70%超）が示されている［McComas 1971］。同様に、ニューロフィラメント濃度の上昇は ALS の発症前に認められている［Benatar 2019; De Schaepdryver 2019a］。リスクを有する発症前の SOD1-ALS キャリアを対象とした長期の自然歴及びバイオマーカーの試験において、急速な疾患進行と関連する SOD1 変異を有する被験者及び明らかな臨床症状が認められた一部の被験者で、血清中及び CSF 中ニューロフィラメント濃度の上昇が認められた［Benatar 2018b］。特に、急速進行性の SOD1 変異を有する被験者では、ALS の徴候又は症状が発現する 6～12 ヵ月前に血清中 NfL 濃度が上昇した。広範な ALS の患者集団（変異の確認の有無を問わない）においても同様の所見が認められ、後向きの検査では、血清中 pNfH 濃度が症状発現前に長期にわたり上昇することが示された［De Schaepdryver 2019a］。

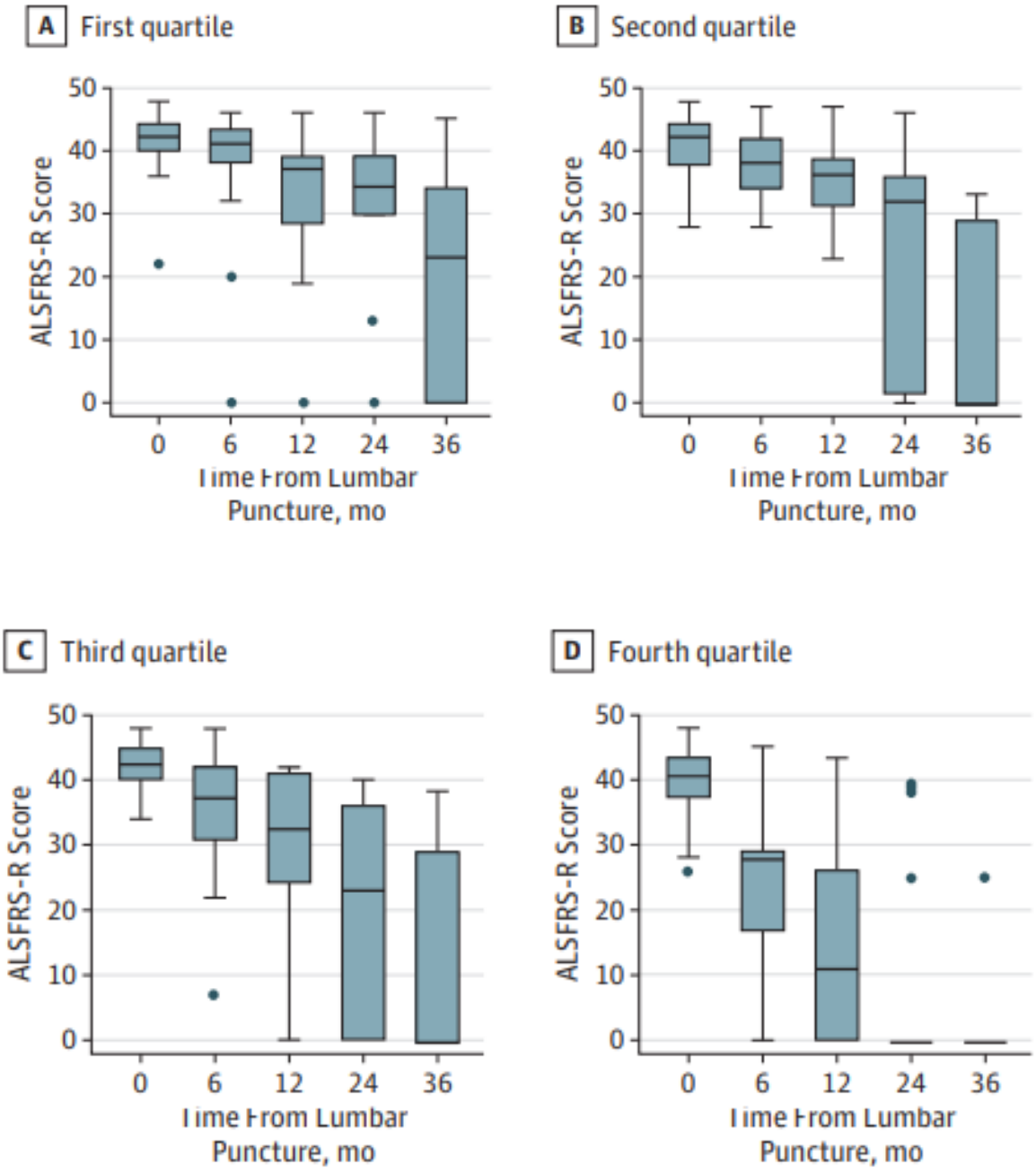
3.3.2.3 疾患進行及び生存の予後マーカーとしてのニューロフィラメント

ニューロフィラメント濃度は、疾患進行の速さ（症状発現からニューロフィラメント測定時までの ALSFRS-R スコアの低下率）と相関する［Brodovitch 2021; De Schaepdryver 2020; Gille 2019］。

また、ニューロフィラメントは、ALS における疾患進行及び生存の予後マーカーとしても詳細な特性分析が行われている［Abu-Rumeileh 2020; De Schaepdryver 2020; Lu 2015; Rossi 2018; Thompson 2022; Thouvenot 2020］。具体的には、ニューロフィラメント濃度が高いほど ALSFRS-R スコアの経時的低下が大きい予測が示されている。

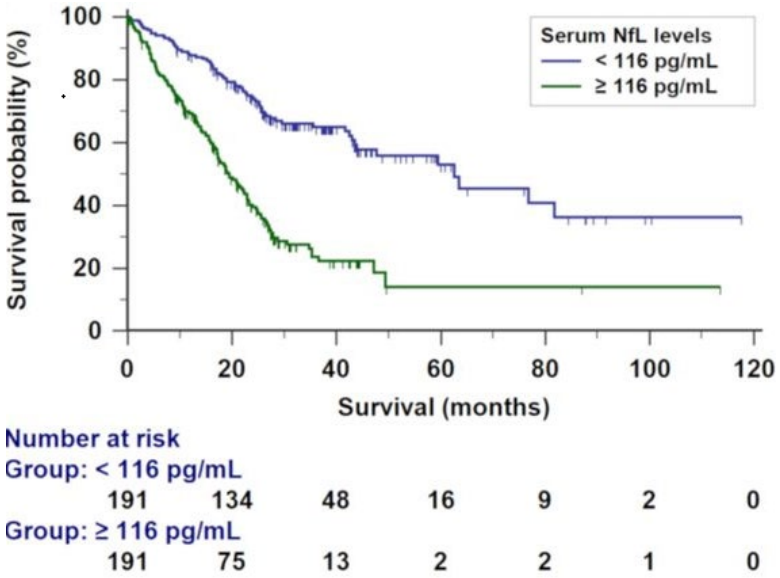
ニューロフィラメントが ALS 患者の生存期間の強い予測因子であることも一貫して示されている［Abu-Rumeileh 2020; De Schaepdryver 2020; Lu 2015; Rossi 2018; Thompson 2022; Thouvenot 2020］。例えば、英国で行われた大規模な多施設共同試験の 1 つでは、初回来院時の血漿中 NfL 濃度が、他の予後因子とは独立して、生存期間（対数［$\log_{10}$］変換した血漿中 NfL 濃度が標準偏差［SD］1 つ分増加するハザード比 2.99［95%信頼区間（CI）：1.65～5.41］、p = 0.016）や障害の進行速度と強い相関性を示した［Thompson 2022］。特に、これまで生存期間と関連があると考えられていた臨床変数（努力肺活量、ALSFRS-R、進行速度、発症からの時間など）と複数の血中分析対象物を組み込んだ Cox 比例ハザードモデルにおいて、血漿中 NfL 濃度が生存期間短縮に独立して相関する唯一の変数であった［Thompson 2022］。

Figure 3 Individuals With Lower Neurofilament Levels at Baseline Lost Fewer Points on ALSFRS-R Over Time



From [Gaiani 2017]

Figure 4　Individuals With Lower Neurofilament Levels Survived Longer



From [De Schaepdryver 2020]

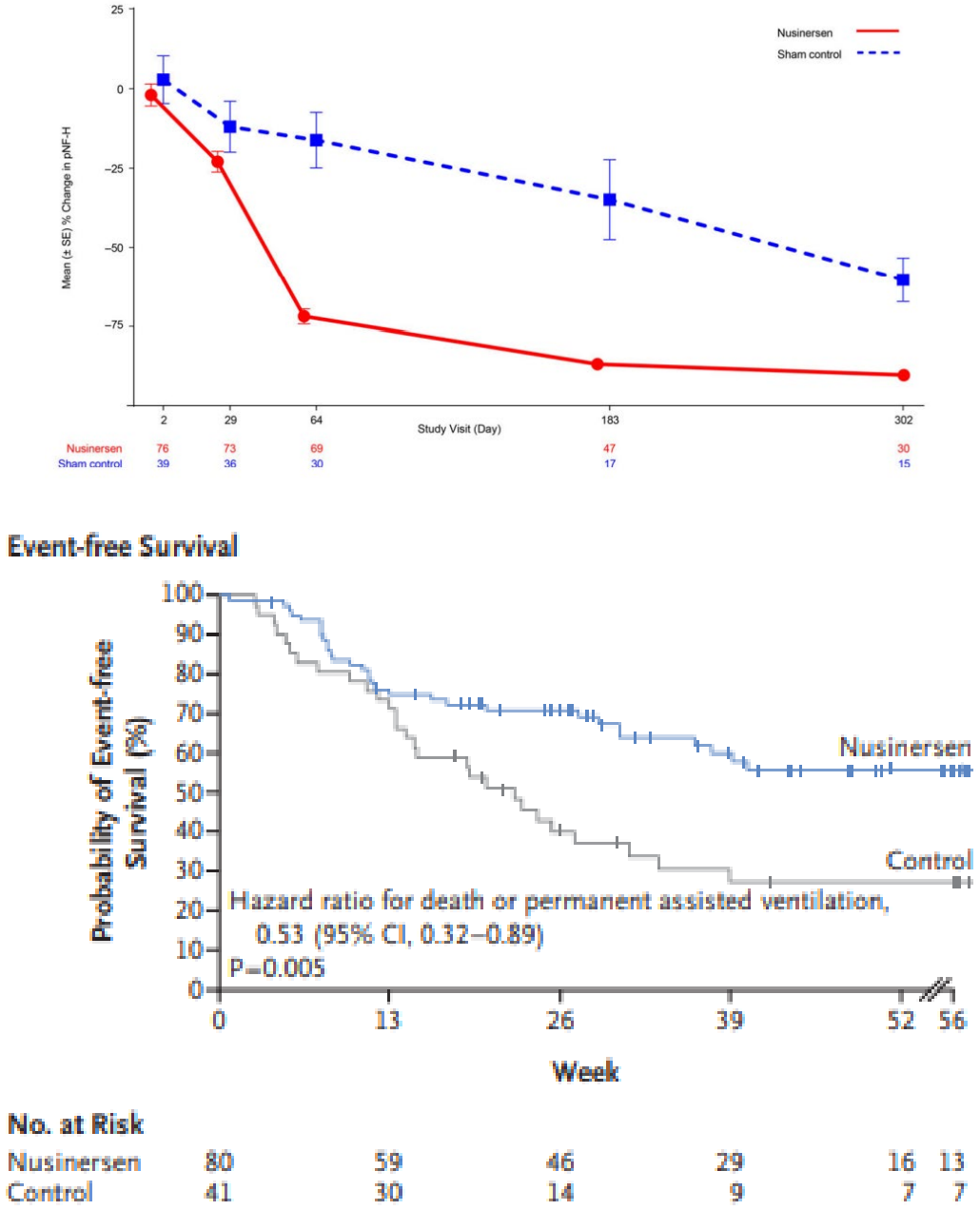
3.3.2.4　潜在的な治療反応マーカーとしてのニューロフィラメント

脊髄性筋萎縮症（SMA）や再発性の多発性硬化症を含む他の神経疾患では、疾患修飾作用を有する治療薬に反応してニューロフィラメント濃度が減少する（Figure 5）［Darras 2019; De Vivo 2019; Disanto 2017; Gunnarsson 2011; Kuhle 2019; Sejbaek 2019］。SMA では、無イベント期間の延長などの臨床的ベネフィットが認識できるようになる前にニューロフィラメント濃度の減少が確認されている（Figure 5）［Finkel 2017］。

一方、C9orf72-ALS では、BIIB078 投与によるニューロフィラメントの上昇が臨床機能の悪化と関連していた。C9orf72-ALS の成人患者を対象に BIIB078 を評価した第 I/II 相試験では、CSF 中 poly-GA 及び poly-GP 濃度の低下から、ASO である BIIB078 は標的特異作用（Target Engagement）が確認された。しかし、6 ヵ月間の投与後に最高用量（90 mg）で、プラセボ群と比較して CSF 中 NfL 濃度が統計的に有意に上昇した。この NfL 上昇に伴って機能、筋力、及び QoL の臨床評価項目で悪化する傾向が認められた［Van den Berg 2022］。

トフェルセンの非臨床試験及び臨床試験では、SOD1-ALS 患者の SOD1 タンパク合成が低下すると軸索損傷や神経変性が減少するという仮説のもとで、ニューロフィラメント濃度を評価した。トフェルセン投与後のニューロフィラメント減少と臨床評価項目の関連性は 4.2.1.3 項で詳述する。

Figure 5 Change in pNfH and Probability of Event-Free Survival With Nusinersen Treatment versus Sham Control in Infantile Onset SMA



From [Darras 2019; Finkel 2017].

3.3.2.5 ニューロフィラメントに対するトフェルセンの影響

3.3.2.5.1 非臨床試験及び臨床試験でのトフェルセン投与と NfL の低下

G93A 変異マウスにトフェルセンを投与するとニューロフィラメントが減少し、併せて運動能力や体重減少の改善、筋活動電位低下の回復、並びに生存期間の延長がみられた［McCampbell 2018］。

非臨床試験と同様に、101 試験パート B のトフェルセン 100 mg 群でも血漿中 NfL 濃度が 34%

（ベースラインに対する幾何平均比）低下したが、プラセボ群では 12%上昇した（トフェルセン群とプラセボ群の幾何平均比の差 41%、p = 0.0176）［Miller 2020］。トフェルセン 100 mg 投与により、異なるニューロフィラメントアイソフォーム（NfL、pNfH）やマトリックス（血漿、CSF）でも同様な減少が認められた。

101 試験パート C 及び 102 試験では、トフェルセン投与後、トフェルセンの臨床効果が発現していない Week 12 までにニューロフィラメント減少が持続的に認められた。101 試験パート C の ITT 集団では、Week 28 時点の血漿中 NfL 濃度がトフェルセン群では 55%（ベースラインに対する幾何平均比）低下し、プラセボ群では 12%増加した（トフェルセン群とプラセボ群の幾何平均比の差 60%、事後解析による形式上の $p < 0.0001$）（Table 2、Figure 6）。101 試験パート C のトフェルセン群の被験者ほぼ全員にニューロフィラメントの減少が認められた（Figure 7）。急速進行性部分集団と緩徐進行性部分集団で同様の減少がみられた他、異なるマトリックス（CSF、血漿）やニューロフィラメントのアイソフォーム（NfL、pNfH）でも一貫した低下が観察された（Figure 8）。101 試験パート C と 102 試験の統合解析では、トフェルセン投与開始遅延群でも（時間及び程度の双方の観点から）同様なニューロフィラメント減少が認められた。

日本人集団では、ITT 集団での 101 試験パート C 及び 102 試験の統合解析において 52 週間の追跡で、血漿中 NfL 濃度の低下の推移は、全体集団の変動の範囲内であった（「2.7.2 臨床薬理の概要」3.4.2 項）。

2023 年 2 月のデータカットにおいてトフェルセンの投与開始後に血漿中及び CSF 中 NfL 濃度の頑健な低下が認められ、この低下は持続した。プラセボ／投与開始遅延群では、血漿中 NfL 濃度の低下は Week 76 で 43%、Week 104 で 60%であった。早期開始群では、血漿中 NfL 濃度の低下は Week 76 で 55%、Week 104 で 66%であった（「2.7.2 臨床薬理の概要」Table 23 及び Figure 36）。日本人集団においても血漿中 NfL 濃度はおおむね全体集団における変動の範囲内であった（「2.7.2 臨床薬理の概要」Figure 37）。CSF 中 NfL 濃度の低下が Week 76 及び Week 104 の両時点で同様に認められた（「2.7.2 臨床薬理の概要」Table 23 及び Figure 38）。

これらのデータから、トフェルセンの有効性が時間の経過とともに減弱することがなく、トフェルセンによる軸索損傷及び神経変性の頑健な減少が示された。

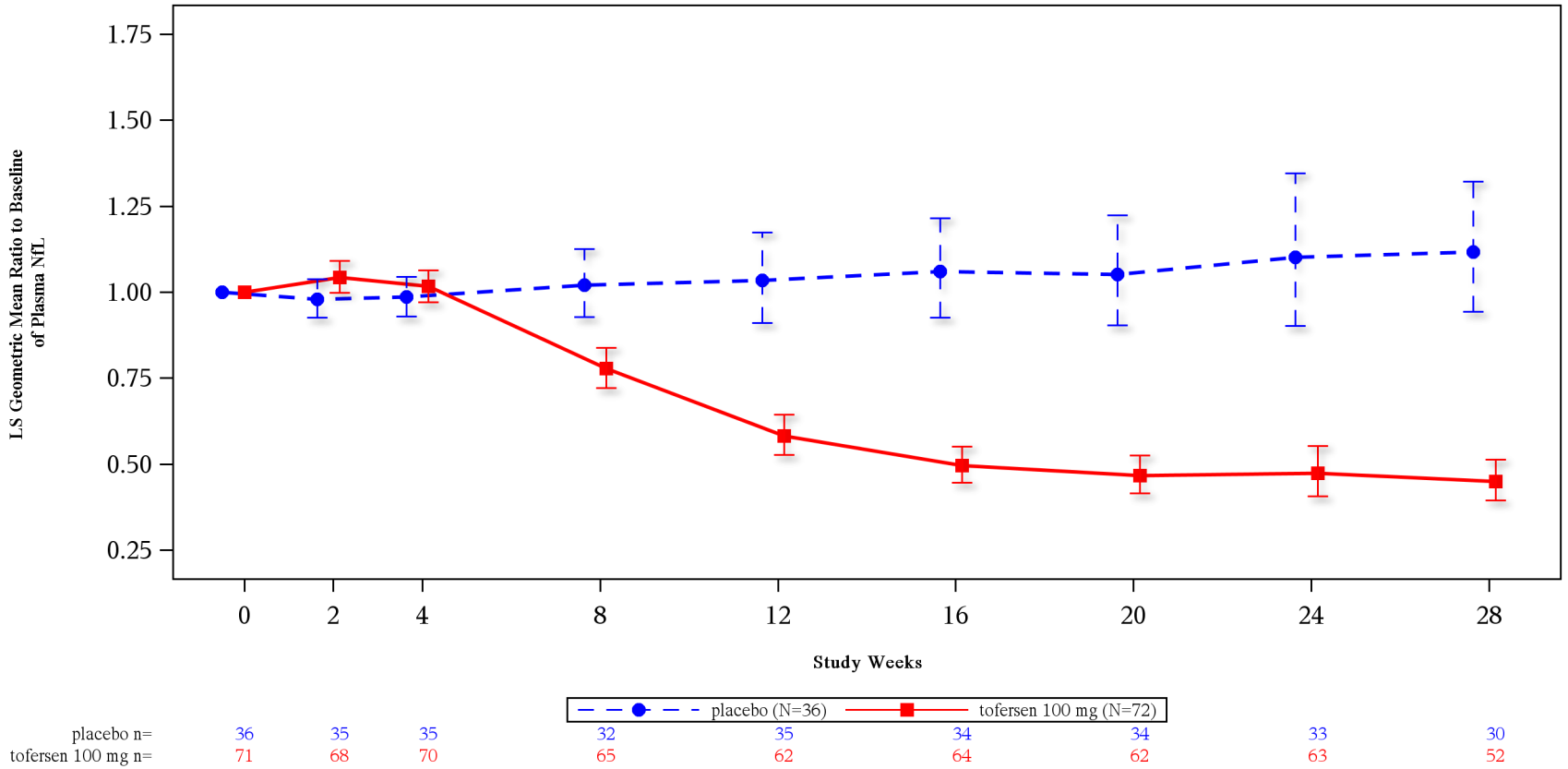
Table 2 Study 233AS101 Part C: Summary of Adjusted Geometric Mean Ratio to Baseline in Plasma NfL at Week 28

Population		Placebo	Tofersen
ITT	N	36	72
	Adjusted GMR to baseline	1.12	0.45
	Tof:plac difference in GMR (95% CI)		0.40 (0.33, 0.49)
	Nominal p-value (ANCOVA+MI)		<0.0001
mITT	N	21	39
	Adjusted GMR to baseline	1.20	0.40
	Tof:plac difference in GMR (95% CI)		0.33 (0.25, 0.45)
	Nominal p-value (ANCOVA+MI)		<0.0001
Non-mITT	N	15	33
	Adjusted GMR to baseline	0.95	0.50
	Tof:plac difference in GMR (95% CI)		0.52 (0.43, 0.63)
	Nominal p-value (ANCOVA + MI)		<0.0001

GMR = geometric mean ratio
NOTE 1: Baseline was defined as day 1 value prior to the study drug. If day 1 value was missing, the non-missing value (including screening visit) closest to and prior to the first dose was used as the baseline value.
NOTE 2: Values below limit of quantitation (BLQ) were set to half of lower limit of quantitation (LLOQ, 4.9 pg/mL) in calculations.
NOTE 3: MI was used for missing data. Model included treatment, use of riluzole or edaravone, relevant baseline score and postbaseline values (natural log transformed data). Separate imputation models for mITT and non-mITT were used and then stacked prior to conducting ITT analyses.
NOTE 4: Adjusted geometric mean ratios to baseline, treatment differences in adjusted geometric mean ratios to baseline and corresponding 95% CIs and nominal p-values were obtained from the ANCOVA model for change from baseline including treatment as a fixed effect and adjusting for the following covariates: baseline disease duration since symptom onset, relevant baseline score, and use of riluzole or edaravone. The analysis was based on natural log transformed data.
NOTE 5: Tof:plac difference in GMR was a ratio of the geometric mean ratio to baseline for tofersen over the geometric mean ratio to baseline for placebo.
Sources: CSR 233AS101 Part C Table 23 and Section 14.3.4.2, Output 3

Figure 6 233AS101 Part C: Secondary Endpoint Exploratory Analysis: Line Plot of Plasma NfL Adjusted Geometric Mean Ratio to Baseline Values (95% CI) by Visit From ANCOVA Analysis Using MI - ITT Population

Page: 1 of 2

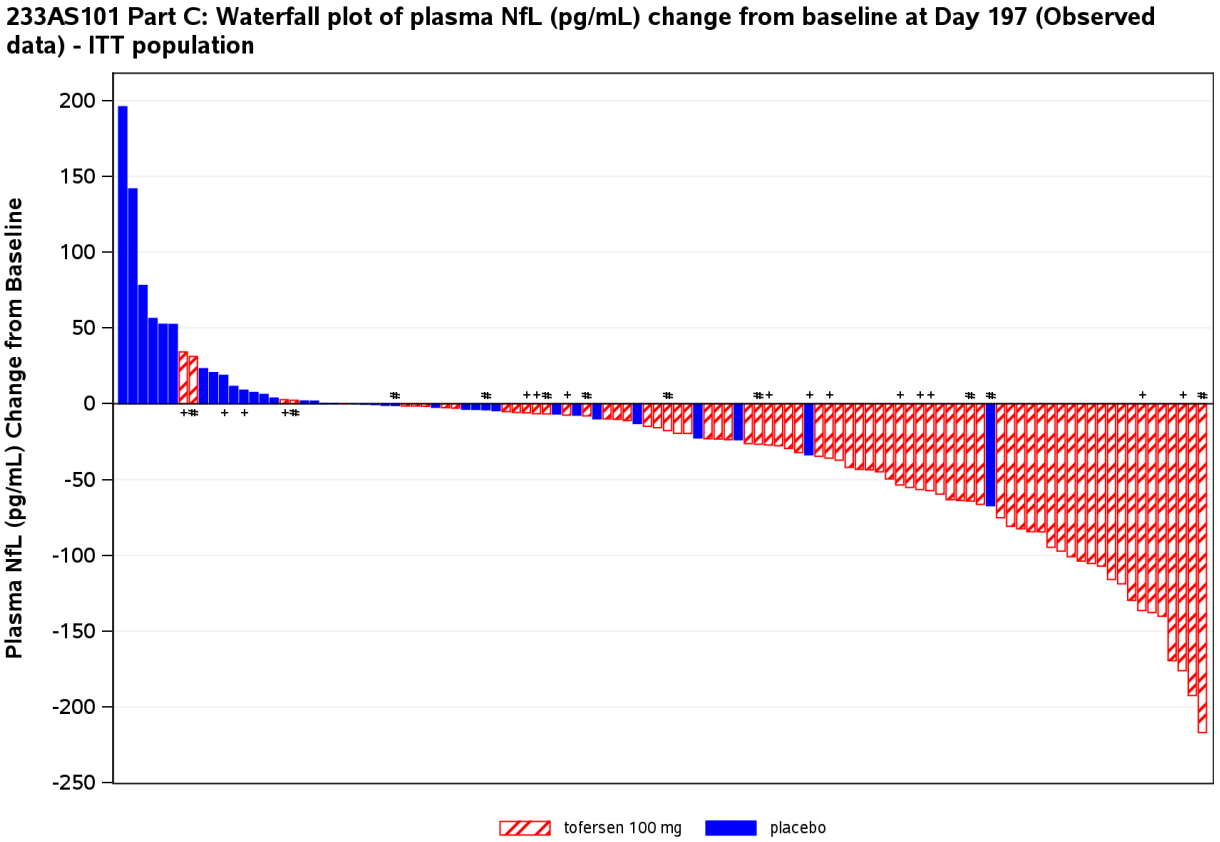


Footnotes are displayed on last page.
Source: biib067/233as101-partc/csr/f-pkpd-pnfl-ancmi-itt-byvis.sas Run Date: 11NOV2021

233AS101 Part C: Secondary endpoint exploratory analysis: Line plot of plasma NfL LS geometric mean ratio to baseline values (95% CI) by visit from ANCOVA analysis using MI - ITT population

NOTE 1: Baseline is defined as day 1 value prior to the study drug. If day 1 value is missing, the non-missing value (including screening visit) closest to and prior to the first dose will be used as the baseline value.
NOTE 2: Values below limit of quantitation (BLQ) are set to half of lower limit of quantitation (LLOQ, 4.9 pg/mL) in calculations. Multiple imputation is used for missing data.
NOTE 3: The analysis is based on ANCOVA model with natural log transformed data. The model includes covariates for the corresponding baseline value i.e. log value, baseline disease duration since symptom onset, and use of riluzole or edaravone. The analysis is based on the combined MI datasets from the mITT and non mITT populations.
NOTE 4: The table at the bottom presents the number of subjects with observed non-missing data at each visit.
Abbreviations: NfL = neurofilament light chain; ANCOVA = analysis of covariance; MI = multiple imputation; LS = least square.
Source: biib067/233as101-partc/csr/f-pkpd-pnfl-ancmi-itt-byvis.sas Run Date: 11NOV2021

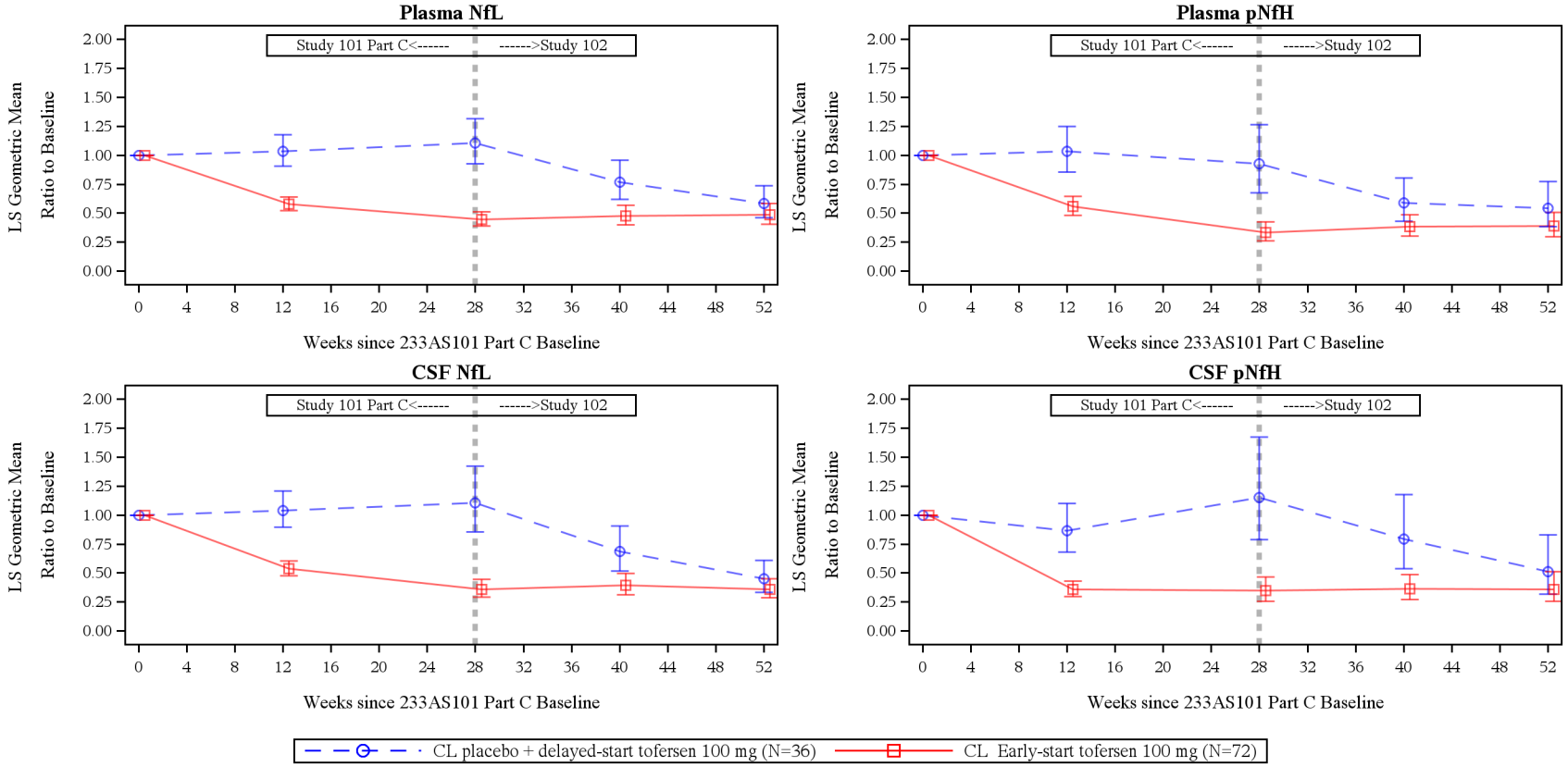
Figure 7 Study 233AS101 Part C: Waterfall Plot of Plasma NfL Absolute Change from Baseline at Week 28 (Observed Data) - ITT Population



NOTE 1: Observed data are presented. For the subject (120-501) without baseline plasma NfL, the Day 15 value is used as baseline to calculate the change from baseline. For completers with Day 197 data available, change from baseline at Day 197 is presented. For completers with missing Day 197 data, the last available plasma NfL assessment is presented with +. For deaths and withdrawals, the last available plasma NfL assessment is presented with #.
NOTE 2: Values below limit of quantitation (BLQ) are set to half of lower limit of quantitation (LLOQ, 4.9 pg/mL) in calculations.
Abbreviations: NfL = neurofilament light chain.
SOURCE: BIIB067/ISE/ISE-BLA2-GLOBAL/F-PKPD-PNFL-CHG-WFALL.SAS Run date: 30SEP2022

Figure 8 233AS101 Part C and 233AS102 ISE: Line Plot of Plasma NfL, CSF NfL, Plasma pNfH, CSF pNfH LS Geometric Mean Ratio to Baseline Values (95% CI) Over 52 Weeks From 233AS101 Baseline: ANCOVA Analysis Using MI - ITT Population

Page: 1 of 2



Footnotes are displayed on last page.
Source: biib067/ise/ise-bla2-global/f-pkpd-anc-panel-clitt.sas Data cut: 16JAN2022 Run Date: 04OCT2022

233AS101 and 233AS102 ISE: Line plot of plasma NfL, CSF NfL, plasma pNfH, CSF pNfH LS geometric mean ratio to baseline values (95% CI) by time point from ANCOVA analysis using MI - ITT population

NOTE 1: Baseline is defined as day 1 value prior to the study drug. If day 1 value is missing, the non-missing value (including screening visit) closest to and prior to the first dose will be used as the baseline value.
NOTE 2: Values below limit of quantitation (BLQ) are set to half of LLOQ in calculations.
NOTE 3: Multiple imputation including treatment group, use of riluzole or edaravone, and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. An extreme value of 477 pg/mL in plasma NfL is set to missing and is imputed with multiple imputation in the ANCOVA analysis.
NOTE 4: The analysis is based on ANCOVA model with natural log transformed data. The model includes covariates for the corresponding baseline value i.e. log value, and use of riluzole or edaravone.
Abbreviations: CSF = Cerebral spinal fluid; NfL = Neurofilament light chain; pNfH = Phosphorylated neurofilament heavy chain
Source: biib067/ise/ise-bla2-global/f-pkpd-anc-panel-clitt.sas Data cut: 16JAN2022 Run Date: 04OCT2022

3.3.2.5.2 曝露及びニューロフィラメント反応の関連性

母集団曝露モデルを用いた解析の結果、CSF 中の曝露量と NfL の反応との間には関連性が確認された。特に、PD としての NfL は、CSF コンパートメント中の曝露が血漿コンパートメントの NfL タンパク質の合成速度を抑制するという間接的反応モデルによって示された。被験者間変動は比較的大きかったが、これは PD 反応の本来的な変動性と、データの散発的な性質による可能性が高い。最大の NfL 反応はベースラインの約 60%と推定され、EC_{50} は 40 mg 投与時の曝露範囲内である。

3.4 免疫原性

ADA 評価用にベースライン後の血漿試料を採取した 101 試験及び 102 試験のトフェルセン投与 166 例（統合データ）を対象に、血漿中のトフェルセンに対する免疫原性反応を評価した。

トフェルセンの初回投与直前に ADA が陰性であった被験者が、投与後に 1 回以上陽性を示した場合は、治験薬投与後に発現した ADA 陽性と判定した。トフェルセンの初回投与直前に ADA 陽性であった被験者で、投与後に 2 倍以上の抗体価上昇が 1 回以上認められた場合は、治験薬投与後に発現した ADA 陽性と判定した。持続性 ADA 反応とは、ベースライン後に 112 日以上経過してから 2 回以上 ADA 陽性が確認された場合、又は最初の陽性結果以降の評価可能データが 112 日未満の場合 1 回以上陽性が確認された場合と定義した。一過性の ADA 反応とは、1 回以上陽性結果が得られたが持続性が確認されていないもの（ベースライン後のある時点で陽性が 1 回確認された後、すべて陰性のまま 112 日以上経過した場合、又はベースライン後に 112 日未満の間隔で 2 回以上陽性となったが、最初の陽性から 112 日以上経過して得られた試料が陰性であった場合）と定義した。2022 年 1 月 16 日データカット時点での評価結果を「2.7.3 臨床的有効性」4.3 項に示す。

一般的にみられる ADA の影響とは異なり、トフェルセンの場合は、抗体の存在によって血漿中 CL が 32%低下した。これに関して考えられる理由として、データセットが小規模であること、散発的なサンプリング、データのノイズ／シグナル比が高いことが挙げられる。トフェルセンの CSF 中母集団 PK モデルは、CSF 中 PK に対する共変量の検討を目的に構築したものではなく、以後の PK/PD モデルの構築に利用できるよう CSF 中 PK を比較的現実的に適合させることを目的としたものである。CSF 採取はトフェルセン投与前に行い、濃度はトラフ濃度のみを測定した。その他の時点における CSF 中濃度の連続測定は行わなかったため、推論には誤差及び無作為性の影響を受けると考えられる。特にトラフ濃度の測定値はこれらの影響を受けやすい。さらに、ADA などの大きな分子の場合、血液脳関門を通過した CSF コンパートメントへの移行は限定的であるため、ADA の発現が CSF 中 PK に著明な影響を及ぼすことはないと予想される。SOD1 タンパク質及び NfL を対象とした PK/PD モデルで ADA の影響を評価したが、いずれのモデルでも、ADA は有意な共変量として特定されなかった（「2.7.2 臨床薬理の概要」6 章 Appendix 2）。

日本人集団では、トフェルセンの初回投与前に 7 例すべてが ADA 陰性であった。トフェルセンの投与された日本人被験者 7 例全例に持続性の ADA 陽性反応が認められた（「2.7.2 臨床薬理の概要」3.8 項）。

上述のとおり、SOD1 タンパク質及び NfL のいずれの PK/PD モデルでも ADA は有意な共変量ではなかったため、臨床機能に対する ADA の真の影響はないと予想される。臨床効果に対する ADA の真の影響は予測されなかった。同様に試験全体で、トフェルセンを投与された ADA 陽性の被験者と ADA 陰性の被験者との間で、CSF 中総 SOD1 タンパク質及び血漿中 NfL 濃度の低下に明らかな差は認められなかった（Appendix 3.3.1, Output 37 及び Appendix 3.3.2, Output 28）。

安全性（MedDRA 標準検索式［SMQ］により選択した有害事象［過敏症、アナフィラキシー反応、及び血管浮腫］の発現率を含む）に対する ADA の明らかな影響は認められていない。個々の重篤な神経学的事象をそれぞれ医学的にレビューした結果からも、ADA の有無との関連性は確認されなかった。したがって、免疫原性に関する定期モニタリング要件は規定していない。

詳細は「2.7.2 臨床薬理の概要」3.8 項、及び「2.7.4 臨床的安全性」4.6 項に示す。

4 有効性の概括評価

トフェルセンの有効性に関する主要根拠は、101 試験パート C の解析並びに 101 試験パート C と 102 試験の統合解析に基づく。

4.1 試験デザインの主要要素

101 試験パート C は、SOD1-ALS 患者を対象とした第 III 相、無作為化、二重盲検、プラセボ対照試験であった。101 試験完了後に、被験者は 102 試験に組み入れられ、非盲検でトフェルセンを投与される機会があった。データの完全性を確保するため、101 試験で個々の被験者に割り当てられた投与群に関する盲検性は維持し、個々の被験者の投与群割付け内容にアクセスできない（情報遮断化された）チームが 102 試験の実施を管理する他、盲検解除されたチームも中間データベースロックまで収集中のデータに対するアクセスは許可されていない。

トフェルセン開発プログラムでは、後々の時点（Week 52 など）で実施する有効性の統合解析計画を通して、101 試験でプラセボ群の被験者の 102 試験でのトフェルセン投与への切替えに関して評価ができるように事前にデザインされていた。この統合解析によって、101 試験パート C の被験者を、トフェルセン早期開始群（トフェルセン投与を 101 試験パート C で開始し 102 試験でも継続した被験者）とトフェルセン投与開始遅延群（101 試験パート C ではプラセボを投与され、約 6 ヵ月後に 102 試験でのトフェルセン投与開始機会が与えられた被験者）に分けて比較評価することが可能となった。

SOD1-ALS の根底にある病態生理とトフェルセンの作用機序を考えると、*SOD1* 変異を有さない ALS 患者にはトフェルセン投与によるベネフィットが期待できないことから、101 試験パート A の初期コホートに組み入れた少数（6 例：トフェルセン群 4 例、プラセボ群 2 例）以外は、*SOD1* 変異を有さない被験者を臨床開発プログラムに登録しなかった。101 試験パート A 及び B では、治験実施計画書の改訂（第 [redacted] 版）以降は、適格性要件として *SOD1* 変異の記録を必要とした。101 試験パート C では、すべての被験者は中央検査機関での遺伝子検査を受け、米国臨床遺伝・ゲノム学会（ACMG：American College of Medical Genetics）ガイドライン［Richards 2015］に従い、「Pathogenic」又は「Likely Pathogenic」と中央検査機関（[redacted]）で分類された *SOD1* 変異を選択基準とした。申請者とは別に、変異（重要性が不明［variants of uncertain significance］として分類される変異など）を ACMG 変異体分類ガイドラインに従って（例えば、追加の文献や家族内の分離のエビデンスなどに基づき）[redacted] 社が再分類することが可能であった。

101 試験パート C におけるリルゾール及びエダラボンの併用は、Day 1 より前にそれぞれ 30 日以上又は 60 日以上にわたって用量が安定しており、試験終了までその用量を継続できる場合に限り認められた。無作為化時には、ベースライン時のエダラボンの使用及びリルゾールの使用に基づいて疾患進行の各部分集団で層別し、投与群間のバランスがとれるようにした。

疾患後期の合併症が結果の解釈に及ぼす影響（例えば、試験開始早々の負荷投与期間中に死亡するなど、死亡による欠測データが生じる可能性）を最小限にするために、101 試験パート C の適格性基準には SVC 基準も併せて設定した。特に座位での SVC を、スクリーニング時の性別、年齢、及び身長で調節した推定値の 50%以上（主要解析対象集団では 65%以上）であることとし

た。

4.1.1 症例数及び試験期間

SOD1-ALS の自然歴やアンメット・メディカル・ニーズの大きさを考慮して、トフェルセン開発プログラムでは、臨床的意義のあるベネフィットを最も早く検出できる機会を特定することを目的としていた。

101 試験パート C の試験期間（6 ヵ月）と症例数（主要解析対象集団 60 例）は、101 試験パート B［Miller 2020］と arimoclomol の無作為化比較対照試験［Benatar 2018a］（これらの試験では、プラセボを投与された急性進行性の SOD1 変異キャリアは、6 ヵ月以内に ALSFRS-R スコアが急速に低下）を基に決定した。具体的には、これらのデータセットのうち、mITT 基準（*SOD1* 変異型と無作為化前の ALSFRS-R の傾きに基づく）を満たした 12 例のデータに基づいて、プラセボ群における 6 ヵ月間の ALSFRS-R スコア低下量を推定し（プラセボ群での低下が 24.7 ポイント、すなわち 1 ヵ月あたり 3.83 ポイントの低下［SD：20.39、1 ヵ月あたり 3.166 ポイント］）、症例数の算出に使用した。また、症例数の推定に用いた生存率（プラセボ群 82%、トフェルセン群 90%）は、登録被験者に最も多い急速進行性変異型である A5V 変異キャリアに関する推定生存率（Kaplan-Meier 法に基づく生存期間中央値は一貫して 1.2 年以下）を用いた［Bali 2017; Opie-Martin 2022］。上記の仮定に基づき、有意水準 0.05 の両側検定での検出力は 84%であった。

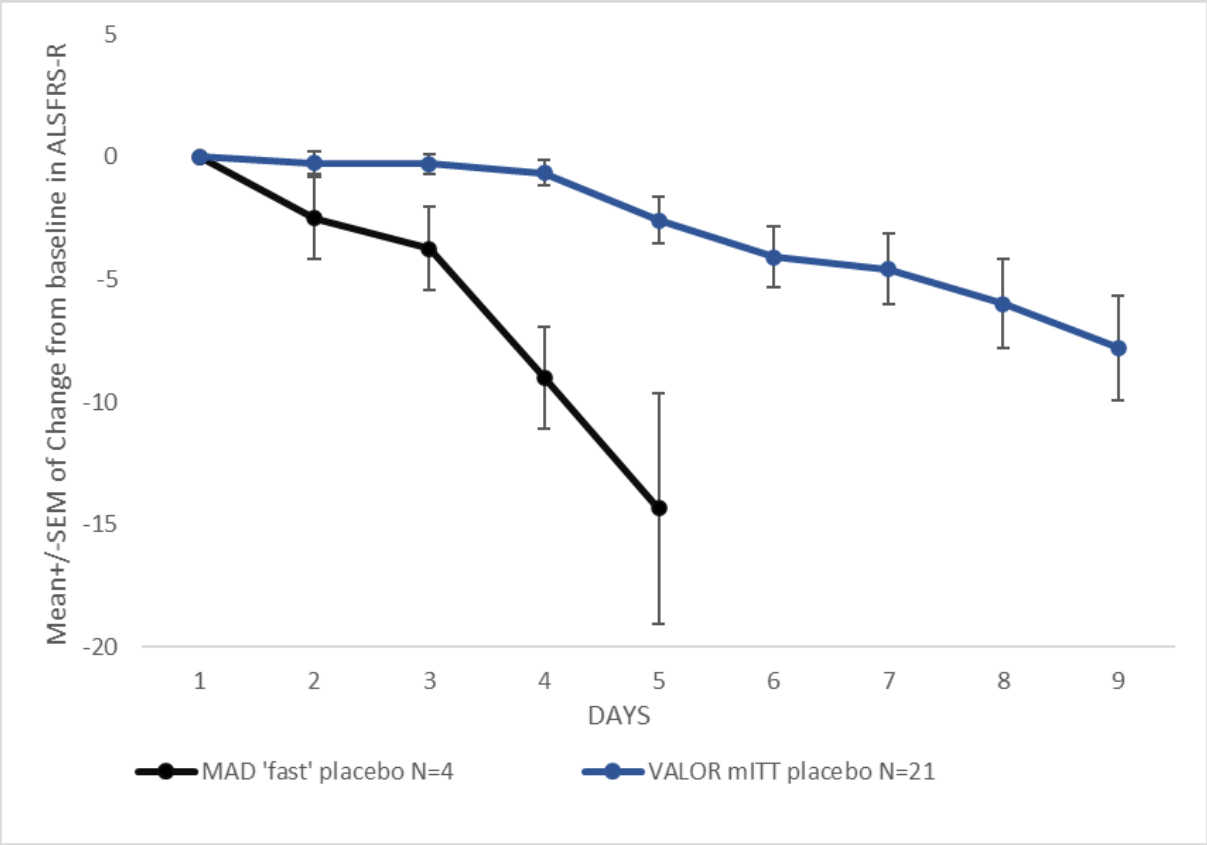
しかし、プラセボ群での 6 ヵ月の低下は、予想した 24.7 ポイントに対して、実際に観察されたのは 8.1 ポイントであり、比較的短期間の試験のために当該患者集団の疾患の不均一性に対応できるだけの期間が十分でなかった可能性が示唆された（Figure 9）。重要な点として、101 試験パート B で急速なスコア低下を示した被験者のベースライン時のニューロフィラメント濃度は、101 試験パート C の mITT プラセボ群よりも高かったことが判明している（平均値［SD］：それぞれ 186.3［56.0］pg/mL、127.3［94.40］pg/mL）。

試験期間が短いと、疾患又は治療とは無関係に、偶然による死亡の不均衡が生じやすくなる。これは joint rank test（JRT）を介して ALSFRS-R 合計スコアを解析する場合に特に影響する。101 試験パート C では、死亡はトフェルセン群の 1 例のみに認められ、ALS 疾患進行及び治験薬との関連がないと評価された。

6 ヵ月間の試験期間は、生物学的活性が最大になる期間（CSF 中 SOD1 タンパク質の減少が認められるまでの約 8 週間及びニューロフィラメントの低下が最低値になるまでの約 16 週間）及び生物学的活性の最大化後に臨床的ベネフィットが認められるまでの期間を過小評価していた。

比較的短期かつ小規模となる試験デザインに伴うリスクを軽減するために、101 試験と 102 試験のデータを統合し、遅い時点（Week 52 など）での投与開始遅延に関する解析を計画した。

Figure 9 Change in ALSFRS-R in Study 101 Part B “Fast Progressor” Placebo Participants (n = 4) versus Study 101 Part C mITT Placebo Participants (n = 21)



4.1.2 疾患不均一性の制御メカニズム

SOD1-ALS における著しい疾患不均一性及び 101 試験パート C の比較的短い試験期間に対応するために、治験実施計画書において mITT 集団の予後エンリッチメント基準を規定した（Table 3）。試験デザインの時点で、無作為化前の ALSFRS-R の傾き及び SOD1 変異型は、ベースライン時の疾患の不均一性を制御するための適切な手法であると考えられた。これらの基準は、試験期間中に疾患が急速に進行する可能性が高い被験者の部分集団を特定することを目的とした。このエンリッチ mITT 集団の情報に基づいて症例数を算出し、この集団を主要解析対象集団として 101 試験パート C の主要評価項目及び主な副次評価項目の正式な検定を行った。

その他の被験者はすべて non-mITT 集団（「その他」又は緩徐進行性／緩徐進行例の部分集団）に分類した。non-mITT 集団は、試験期間中の悪化が緩徐であることが見込まれ、したがって、群間差が認められる機会が少ないと予想された。そのため、CSF 中総 SOD1 タンパク質以外は記述的解析のみを実施した。CSF 中総 SOD1 タンパク質は non-mITT 集団の主要評価項目として、正式な検定を行った。

ITT 集団（無作為化され治験薬を投与された被験者）を対象に、記述的解析も実施した。

Table 3 Protocol-Defined Disease Progression Subgroups

	Faster-Progressing Subgroup ("enriched"; mITT)	Slower-Progressing Subgroup ("other"; non-mITT)
Mutation type and prerandomization ALSFRS-R slope	Protocol-defined *SOD1* mutation historically associated with shorter survival [a] and ≥ 0.2 points/month prerandomization slope OR Another *SOD1* mutation and ≥ 0.9 points/month prerandomization slope	Another *SOD1* mutation and < 0.9 points/month prerandomization slope
SVC cutoff	≥ 65% predicted	≥ 50% predicted

[a] p.Ala5Val, p.Ala5Thr, p.Leu39Val, p.Gly42Ser, p.His44Arg, p.Leu85Val, p.Gly94Ala, p.Leu107Val, and p.Val149Gly

ただし、以下に示すように、ALSFRS-R スコアにおける非線形の進行及び変異型内のばらつきは、これらの基準の予測因子としての有用性を低下させている。

- *SOD1* 変異型：単一の変異型内でも、個々の変異キャリアによって疾患進行には顕著なばらつきがある。さらに、個々の *SOD1* 変異キャリア内でも、病期によって疾患進行の速度にばらつきがある。このようなばらつきをもたらす要因があるため、短い試験期間では *SOD1* 変異型の予後因子としての有用性は限定される。例えば、A5V 変異キャリアは、どの患者も約 0.1～4 年間の疾患経過のある段階で急速な疾患進行が認められるが、急速な疾患進行が生じる時点は患者によって異なる。
- 無作為化前の ALSFRS-R の傾き：dexpramipexole の EMPOWER 試験の知見に基づき、無作為化前の ALSFRS-R の傾きをエンリッチメント基準として用いた。この試験で、無作為化前の ALSFRS-R 低下の傾きが 0.9 ポイント／月以上であった被験者は、投与後 6、9、及び 12 ヵ月時点の無作為化後の低下の傾きの平均が 0.9 ポイント／月以上を維持したことが示された［Cudkowicz 2013］。ただし、ALSFRS-R スコアの変化は非線形であり、先行する安定期又はその後の急速な減少期を伴うため［Proudfoot 2016; Ramamoorthy 2022］、無作為化前の ALSFRS-R の傾きの特定の時点（ベースラインなど）における活動的な疾患進行のマーカーとしての有用性、並びに経時的な予後予測因子としての利用は限定される場合がある。

101 試験パート C がデザインされた時点では、不均一性を制御するための手法としてのニューロフィラメントの有用性は十分認識されていなかったが、ニューロフィラメントが疾患進行の予後マーカーであることを裏付ける文献が蓄積されたことにより、101 試験パート C の最終のデータベースロックの前に、SAP の一部に、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度により定義される疾患進行性の部分集団を事前に規定した。これにより、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度が中央値超の被験者は「急速進行性」の部分集団、中央値未満の被験者は「緩徐進行性」の部分集団とした。

ベースライン時の NfL を連続共変量として調整すれば、中央値による部分集団を用いるよりも、推定される治療差の精度は高くなる。そこで、101 試験パート C の最終のデータベースロックの前に、SAP の一部として、mITT 集団及び non-mITT 集団を対象に、共分散分析（ANCOVA）モデ

ルの共変量としてベースライン時の血漿中 NfL 濃度を用いた ALSFRS-R の感度分析も事前に規定した。

2022 年 1 月 16 日のデータカット時の解析前に、101 試験パート C 及び 102 試験の有効性の統合解析計画書を改訂し、共変量としてベースライン時の NfL 濃度による調整を追加した（第 [redacted] 版、20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日）。これにより、疾患進行性の部分集団のみの解析に比べ、より多くの症例数（最大の ITT 集団）でより広範な SOD1-ALS を対象とする解析が可能になった（4.1.5 項）。SAP は、2021 年 7 月 16 日のデータカット以降のデータへのアクセスが制限された盲検解除チームによって改訂された。

データの完全性を確保するため、実施医療機関の治験担当者、被験者、及び開発業務受託機関には、101 試験パート C での個々の被験者の投与群割付けに対する盲検性を維持している。

4.1.3 主な有効性評価項目の根拠

101 試験パート C 及び 102 試験では、トフェルセンの臨床的効果を評価する一連の評価項目を用いた。これには、臨床機能（ALSFRS-R）、呼吸機能（SVC）、筋力（HHD）、無イベント期間（死亡又は永続的換気までの期間及び死亡までの期間）、並びに QoL（筋萎縮性側索硬化症評価質問票［ALSAQ-5］、EuroQol 5 Dimension, 5 Level Questionnaire［EQ-5D-5L］、Fatigue Severity Scale［FSS］、36-Item Short Form Health Survey［SF-36］、仕事の生産性及び活動障害［WPAI］、Zarit 介護負担尺度［ZBI］、Clinician Global Impression of Change［CGI-C］、Clinician Global Impression of Status［CGI-S］、Patient Global Impression of Change［PGI-C］、Patient Global Impression of Status［PGI-S］）の評価項目を含めた。

4.1.3.1 ALSFRS-R

101 試験パート C の主要有効性評価項目として、ALSFRS-R 合計スコアのベースラインからの変化量を評価した。ALSFRS-R は 12 項目の評価尺度で構成され、球機能、微細運動、粗大運動、及び呼吸の 4 つの領域における機能を評価する。各項目は 0～4 の尺度で評価され、総スコアは 0（障害の程度が最大）～48（障害なし）となる。ALSFRS-R は、QoL、介護者の負担、及び生存期間と相関している［Cedarbaum 1999］。

ALSFRS-R は、実臨床における使用に加えて、ALS の臨床試験でも日常生活機能を評価する主要評価項目として広く利用されている［Gordon 2010; Gordon 2013; Kaufmann 2005; Lou 2010］。FDA［FDA 2019］及び EMA［EMA 2015］が公表した ALS 治療薬の開発に関するガイドラインでは、有効性を評価するのに適した主要評価項目の 1 つとして ALSFRS-R が挙げられている。

「2.7.3 臨床的有効性」の 1.5.1 項に示したとおり、ALSFRS-R の長所は、使用が容易で、生存期間との相関があることである。しかし、同時に限界もあり、評価方法を国際的に標準化する必要があるが、被験者内のばらつきが大きく、評価尺度が非線形性である点である。重要な点は、被験者数が比較的少なく期間も短い試験においては治療効果の評価を不明瞭にする可能性があることである［Bakers 2021; Bedlack 2016; Fournier 2020; Franchignoni 2013; Proudfoot 2016; van Eijk 2021］。

本評価項目の臨床上重要な最小限の差異（MCID）の閾値は確立されていない。少なくともその理由の一部は、順序尺度の性質にある。他の順序尺度と同様に、ALSFRS-R スコアの変化は通常、非線形的な S 字形曲線に従い、1 ポイント分の変化は項目間で整合していない。しかし、患者の ALSFRS-R スコアがわずかに低下するだけでも、機能的能力が著しく阻害される可能性があることがよく知られている。例えば、1 ポイントの低下が、補助があれば歩行可能な状態と歩行不能な状態の差を反映していることもある。また、1 ポイント低下すると、死亡又は気管切開のリスクが 7%上昇することも示されている［Kaufmann 2005］。

4.1.3.2 SVC

呼吸不全は ALS の最も多い死因であるため、ALS 患者の呼吸状態はモニタリングすべき重要なパラメータと考えられる。ALSFRS-R の呼吸領域の質問は変化に対する感度が比較的低いため、肺活量などの呼吸機能の直接測定を採用することの重要性が示されている［Andrews 2018; Cudkowicz 2011; Pinto and de Carvalho 2017b］。

肺活量は呼吸機能の測定法であり、呼吸筋の強度を反映することが可能である。肺活量は息を最大限に吸い込んだ後に肺から吐き出すことができる最大空気量を測定する［Paganoni 2014］。

SVC の変化から ALS 患者の呼吸不全、気管切開、又は死亡が予測可能であることが示されている［Andrews 2018; Baumann 2010; Chiò 2009; Pinto and de Carvalho 2017a; Traynor 2004］。具体的には、Pinto らの報告では、SVC の%予測値が 1%低下すると死亡の確率が 1.02 倍になる［Pinto and de Carvalho 2017a］。Andrews らは Cox 比例ハザード回帰モデルを用いて主要イベントまでの時間を評価した結果、SVC の%予測値の低下が 1.5%／月減少すると、6 ヵ月以降のいずれかの時点における呼吸不全の最初の発現又は死亡、初回の気管切開又は死亡、及び死亡のリスクは、それぞれ 22%、23%、及び 23%低下すると結論した（$p < 0.001$）［Andrews 2018］。

4.1.3.3 HHD メガスコア

ALS 患者は時間の経過と共に徐々に筋力が低下し、筋力の喪失は機能低下と直接関連していることから、筋力の喪失は ALS の特徴である。ALS における筋力低下は絶えず進行し、筋力の増大は本疾患の自然歴とは一致しない（「2.7.3 臨床的有効性」Figure 4 及び Figure 5）［Cudkowicz 2013; Shefner 2016］。

101 試験パート C では、HHD を用いた定量的な筋力検査を主な副次評価項目とした。HHD メガスコアは、上肢及び下肢の 16 の筋群（左右の肩の屈曲、肘屈曲、手首の伸展、示指の外転、母指の外転、小指の外転、膝の伸展、足首の背屈）の Z スコア平均値を求めて算出した。

筋力の評価は臨床的に重要だが、ALS では、筋力低下の部位、重症度、及び進行が患者ごとに大きく異なっている。ALS の筋力低下の発現は非対称性であることが多く、限局性の場合もある。複合 HHD メガスコアは、筋肉全体を網羅した単一のスコアであるため、特に短期間では、限局性及び非対称性の筋力低下に対する治療効果の検出能力を低下させる可能性がある。

筋力喪失は、SOD1-ALS における運動ニューロン喪失の直接的な結果だが、ある筋肉又は筋群を支配する運動ニューロンの約 50%～80%が変性するまで、臨床的に明らかな筋力喪失は認めら

れないと推定されている［McComas 1971］。生存している運動ニューロンが軸索突起を伸ばし、本来神経支配していた運動ニューロンとの接続を失った近傍の筋線維を機能的に再支配するため、初期の段階では筋力は保持される［Bruneteau 2015; Fischer 2004］。このように、生存している運動ニューロンが筋線維に再接続する能力を運動ニューロンの喪失が上回ったときにのみ筋力低下が顕現する。比較的重症度の低いポリオなど、時間的に限定された中等度の運動ニューロン喪失の場合は、生存している運動ニューロンが神経支配を失った筋線維に再接続するこの能力が、筋力の漸進的回復の機序にもなる［Halstead 1998］。したがって、機能的な神経筋接合部の形成及び成熟は直ちに生じるものではないため、筋力の回復は、軸索損傷又は神経変性の抑制を示すエビデンスよりも遅れて現れると考えられる。

4.1.3.4 生存期間

SOD1-ALS が進行性で致死的であることを踏まえ、101 試験パート C では死亡又は永続的換気までの期間及び死亡までの期間を主な副次評価項目として評価した。永続的換気とは、1 日 22 時間以上の機械的換気（侵襲的又は非侵襲的）を 21 日以上連続して行うものと定義した。この 21 日以上の連続使用という永続的換気の閾値は、一時的な補助換気を必要とする急性の可逆的疾患（肺炎など）と永続的換気を区別するために、過去の試験で用いられた期間（7～10 日以上）より延長した［Benatar 2018a; Cudkowicz 2013］。この定義は換気の使用期間のみに基づいており、侵襲的換気と非侵襲的換気を区別しない。気管切開における世界の標準治療が様々であることを踏まえ、換気補助の閾値に該当する場合を除き、気管切開チューブの留置はイベントと判断しなかった。

生存期間は有効性を示す標準的な基準と考えられているが、十分な症例数と試験期間を設定した試験を必要とする。本試験をデザインする際に、短い試験期間（101 試験パート C の試験期間は 6 ヵ月）並びに SOD1 変異型間及び変異型内における罹患期間の不均一性が、生存期間に対する効果の検出を困難にすることが予想された。そのため、101 試験及び 102 試験のデータを統合することにより、トフェルセンの早期開始と投与開始遅延における生存期間を比較し、また、トフェルセンを投与した集団と予想される変異特有の自然歴とを比較した。これらの解析を補足するため、101 試験又は 102 試験で死亡以外の理由で試験を中止した被験者について本承認申請のデータカット日時点（2022 年 1 月 16 日）の生存状況のデータを収集した。これらのデータは、盲検性を維持されたチームによってレトロスペクティブに収集され、独立したデータベースに格納された。

換気データ及びその他の関連データ（重篤な有害事象、非薬剤併用療法、入院など）を収集し、盲検下で中央独立評価項目判定委員会がレビューし、パート C の被験者が 101 試験又は 102 試験で評価項目である永続的換気又は死亡に至ったか否か及びその時期を判断した。パート A 及び B の被験者は、換気データが正式に収集されたには 102 試験の途中からであったため、判定を行わなかった。

4.1.3.5 生活の質

QoL について複数の評価尺度を 101 試験パート C の探索的評価項目とし、従来の ALS の評価尺度では定量化されない疾患側面に対するトフェルセンの効果を評価した。

- ALSAQ-5 は、疾患特異的な健康状態について患者本人が回答する質問票で、ALS や他の MND 患者に対する使用を目的としている。ALSAQ-5 では、5 つの質問を使って身体的可動性、ADL 及び自立性、飲食、コミュニケーション、及び情緒機能を評価する［Gołąb-Janowska 2010］。各質問に 0（「なし」）～4（「いつも」又は「まったくできない」）で回答し、スコアが低いほど健康状態が良好であることを示す。
- EQ-5D-5L は一般的な健康状態の評価尺度であり、移動の程度、身の回りの管理、普段の生活、痛み／不快感、及び不安／ふさぎ込みを含む 5 項目を測定する。5 ポイント尺度で評価されたスコアが高いほど QoL は良好である。来院時に 5 項目すべての質問に回答が得られた被験者には、summary utility index を算出した。EQ-5D-5L の換算表は開発中であるため、「crosswalk」法（EuroQol Group）を用いて EQ-5D-5L から EQ-5D-3L UK に換算した。EQ-5D 視覚アナログ尺度は、回答者の自己評価による健康状態を 0 から 100 までの範囲の縦軸に記録する。100 は「考え得る最良の健康状態」、0 は「考え得る最悪の健康状態」と判断する。EQ-5D では、ALS 患者において疾患重症度が上昇すると QoL が低下することが示されている［Kiebert 2001］。
- 疲労は ALS に関連する最も厄介で治療不十分の症状の 1 つとして報告されている［Nicholson 2018］。FSS は ALS を含めた様々な状態における疲労を測定するために使用されている［Krupp 1989; McElhiney 2009; Rabkin 2009; Ramirez 2008］。FSS は 9 項目からなる自己報告による質問票で、生活への参加、睡眠、及び日常生活を含めた 3 つの領域にわたる疲労を評価するためにデザインされている。スコアが高いほど日常生活での疲労が大きいことを示す。

4.1.4 盲検化及びデータの完全性

4.1.4.1 盲検化

101 試験では、申請者、開発業務受託機関、被験者、介護者、並びに有効性及び安全性の評価を行う実施医療機関の治験担当者に治験薬投与の割付け内容を知らせなかった。この 101 試験の盲検性を維持するため、102 試験に盲検下負荷投与期間を設けて、101 試験でトフェルセンを投与されていた被験者には Day 15 にプラセボが投与され、101 試験でプラセボ群に割り付けられた被験者には Day 15 にトフェルセンが投与された。

独立データモニタリング委員会（IDMC）は、年に 4 回、盲検解除された安全性データを評価した。独立した生物統計担当者及び統計プログラム担当者が、盲検解除された結果を作成し、情報が守秘された方法で授受を行った。

プラセボ群及びトフェルセン群の被験者のいずれにも CSF 中の白血球数の上昇が認められているが、この上昇はトフェルセン投与の方が多く認められ、その程度も大きいことが確認されている。さらに、盲検下の試験チームのメンバーが臨床データベースの被験者の CSF 検査データにアクセスすることを制限した。本試験の盲検解除計画書に詳述するように、医学モニタリングや、IDMC の審議で実施する盲検チームによるデータのレビューには、ダミーの被験者 ID を付けた CSF 検査データを用意した。また、指名された ALSFRS-R 評価者は、本試験の他の業務に一切関わらないものとし、CSF 検査データや有害事象など、他のすべての試験評価結果に対して盲検性

を維持した。

本試験が終了し 101 試験パート C のデータベースロックの後に、申請者で本承認申請の準備を行う少人数の申請チームについて治験薬投与の割付けの盲検を解除した。その一方で、盲検下で実施中の 102 試験の管理業務を試験チームが継続した。102 試験を管理する試験チームには引き続き治験薬投与の割付け内容を知らせず、開発業務受託機関、被験者、介護者、並びに実施医療機関の治験担当者も同様であった。2021 年 7 月のデータカットに基づく中間のデータロック以降は、盲検を解除された申請チームは、本試験の管理及び実施中の 102 試験のデータ収集には関与しなかった。2 回目の中間解析の実施にあたっては、盲検を解除された試験チームは、中間解析のデータロックまで、2021 年 7 月のデータカットから 2022 年 1 月のデータカットまでに収集されたデータにアクセスできず、2 回目の中間のデータベースロック後に、2022 年 1 月のデータカットまでのすべてのデータへのアクセスが許可された。FDA の要件に従い、すべての被験者に関して 18 ヵ月以上の追跡の機会が得られた 2022 年 7 月 15 日に、102 試験の安全性データについてデータカットが行われた。チームは、2022 年 1 月 16 日のデータカット以降のすべての有効性データからアクセスが制限され、現在も完全なデータセットからアクセスが制限された状態にある。上記の措置はすべて継続して維持されている。101 試験又は 102 試験を中止した被験者の生存状況データは、盲検試験チームが、盲検性を維持したままレトロスペクティブに収集した。

投与群割付けに対する盲検を解除されたチームが、ISE の SAP 第 [redacted] 版（20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日）を作成し、対応する解析及び追加の CTD の作成を行った。2023 年 2 月 28 日のデータカットに基づく中間解析についても以前のデータカットと同様の措置を講じた。

4.1.4.2 データの完全性

データの完全性を確保するために、試験全体を通して複数の手順を実施した。

実施医療機関の治験担当者は、被験者を組み入れる前に、治験実施計画書及び試験の評価に関して標準化されたトレーニングを受けた。

主要評価項目の完全性を守るため、実施医療機関には、ALSFRS-R 評価に関するトレーニングを受けた適格な担当者及び予備の担当者（主たる評価者の不在時用）を指名した。ALSFRS-R 評価内及び評価間でバイアスが生じる可能性を抑えるため、101 試験パート C 及び 102 試験の負荷投与期間を通して ALSFRS-R 評価者には、本評価以外のいかなる試験業務に関与することも、他の評価の結果へのアクセスをも認めなかった。

4.1.5 統計解析手法

101 試験は 2021 年 7 月に完了しており、102 試験は実施中である。実施医療機関の治験担当者、被験者及び開発業務受託機関には、101 試験パート C での個々の被験者の投与群割付け内容に対する盲検性を維持している。102 試験の 1 回目の中間データカットは、101 試験の最後の被験者が 101 試験を終了して 102 試験に移行する機会が与えられた 2021 年 7 月に行われた。それ以降の中間データカットについては後述する。101 試験パート C は試験期間が比較的短いことから、本開発プログラムには 101 試験パート C と 102 試験のデータを統合し、101 試験でプラセボ群の被験者の 102 試験でのトフェルセン投与への切替えに関しての評価が事前に規定されていた。101

試験パート C と 102 試験からのデータを統合することで、早期開始群と投与開始遅延群を比較した。

最初の結果の開示には、101 試験パート C のみの結果、102 試験のみの結果、並びに 101 試験と 102 試験からの統合データが含まれ、事前に規定した疾患進行性の部分集団に焦点をあてた解析を行った。

不均一性制御メカニズムとしてのベースライン時のニューロフィラメントの利用

101 試験パート C の計画時点では、無作為化前の ALSFRS-R の傾きと *SOD1* 変異型が疾患の不均一性を制御するための適切な手法であると考えられていたことから、両者を主要解析対象集団のエンリッチメント基準に採用した。

しかし、これらのエンリッチメント基準のみではベースライン時の主要な疾患特性に投与群間で不均衡が生じ、ベースライン時点でトフェルセン群の方がプラセボ群よりも疾患が急速に進行していたことを示唆するものであった（「2.7.3 臨床的有効性」Table 7）。

不均一性を制御するためのニューロフィラメントの有用性は、試験がデザインされた時点では十分認識されていなかったが、ニューロフィラメントが ALS の疾患進行や生存に対する予後因子であることを示した文献が公表され、新たにベースライン時の血漿中 NfL 濃度を基にした別の疾患進行性の部分集団を有効性統合解析の SAP [redacted]版に規定した。101 試験パート C では、治験実施計画書に規定した前述の基準（変異型＋ALSFRS-R の傾き）よりも、NfL を基にした部分集団の方が、ベースラインの疾患特性にみられた重大な不均衡を調整した（233AS101 試験パート C の治験総括報告書、Section 10.4）。さらに、文献に記されていたとおり、ベースライン時の NfL の方が無作為化前の ALSFRS-R 低下の傾きよりも 101 試験パート C のプラセボ群における疾患進行をより強力に予測していた（4.1.1 項）。

統計学的手法の追加詳細は、ISE SAP 第[redacted]版及び ISS SAP 第[redacted]版（20[redacted]年[redacted]月[redacted]日データカット）、233 SCE ISE SAP 第[redacted]版及び ISS SAP 第[redacted]版（2022 年 1 月 16 日データカット）に記載し、2023 年 2 月 28 日のデータカットについては 233 SCE ISE SAP 第[redacted]版及び 233 SCS ISS SAP 第[redacted]版に記載する。

Table 4 に、101 試験パート C 及び 102 試験に関する主な進捗状況（マイルストーン）を示す。

Table 4 Summary of Study 101 Part C and Study 102 Data Cuts and SAP Revisions

Date	**Milestone/Activities**
[redacted] 20[redacted]	Version [redacted] of Study 101 Part C, Study 102, ISE, and ISS SAPs finalized
16 July 2021	Completion of Study 101 Part C (last patient last visit) Interim data cut 1 of Study 102
[redacted] 20[redacted]	Version [redacted] of Study 101 Part C, Study 102, ISE, and ISS SAPs finalized *In Version [redacted], Study 101 Part C and ISE analyses were prespecified in disease progression subgroups, defined according to the following:* *1. SOD1 mutation type and ALSFRS-R prerandomization slope* *2. Baseline plasma NfL—above or below the median* *3. Run-in ALSFRS-R slope (rate of decline from Screening Visit to Day 15 visit)*
[redacted] 20[redacted]	Final database lock and unblinding (small team of key personnel unblinded) for Study 101 Part C Interim database lock 1 for Study 102 (16 July 2021 data cut)
[redacted] 20[redacted] to [redacted] February 2022	Initial readout of Study 101 Part C and ISE/ISS analyses Only key personnel involved in preparation and interpretation were unblinded to individual data; this team remained firewalled from study conduct and ongoing data collection/cleaning activities. Blinded team was set up to manage ongoing data activities (no access to individual treatment assignments from Study 101 Part C). Site staff, study participants, and vendors remained blinded to individual treatment assignments from Study 101 Part C.
[redacted] 20[redacted]	Version [redacted] of ISE and ISS SAPs finalized (prepared and finalized by unblinded team who were firewalled from all ongoing data in Study 102 since July 2021 data cut. Analyses were specified based on learnings on neurofilament following the initial readout but without knowledge of ongoing data.) *Key changes in ISE SAP Version [redacted]:* • *Prespecification of analyses:* ○ in the ITT population ○ with adjustment for baseline (Study 101 Part C) plasma NfL as a continuous covariate • *Prespecification of integrated analyses of Study 101 Part C and interim data cut 2 of Study 102*

Date	Milestone/Activities
[redacted] 20[redacted]	Interim database lock 2 for Study 102 (16 January 2022 data cut)
[redacted] 20[redacted] to [redacted] 20[redacted]	Second readout for integrated analyses (ISS/ISE) based on final data from Study 101 Part C and interim data cut of January 2022 for Study 102 Analyses were conducted by the unblinded team, who were given access to the full dataset to 16 January 2022 following the interim lock and were involved in all submission activities and engagement with regulatory agencies; this team remained firewalled from study conduct and ongoing data collection/cleaning activities following the interim lock. The blinded team continued to manage ongoing data activities with no access to individual treatment assignments.
[redacted] 20[redacted]	Interim database lock for safety data pertaining to Safety Update (15 July 2022 data cut); based on ISS SAP Version [redacted] Analyses were conducted by the unblinded team, who were given access to safety data to 15 July 2022 following the interim lock and without access to the full data set; this team remained firewalled from study conduct and ongoing data collection/cleaning activities following the interim lock. The blinded team continued to manage ongoing data activities with no access to individual treatment assignments. Site staff, study participants, and vendors remained blinded to individual treatment assignments from Study 101 Part C.
[redacted] 20[redacted]	Version 4.0 of ISE SAP finalised Analyses as specified under Version 3.0, but based on a new data cut after participants have had the opportunity to be followed up for at least 2 years (104 weeks). Main focus on ITT population adjusted for baseline plasma NfL and some supportive analyses based on disease progression subgroups. Key changes in ISE SAP Version 4.0: Included responder analyses for clinical function and QoL Included RPSFTM Included joint rank analyses Included reference based imputation analyses for ALSFRS-R
[redacted] 20[redacted]	Interim database lock for Study 102 (28 Feb 2023 data cut)

Joint Rank 法

101 試験パート C の主要有効性解析では、mITT 集団における ALSFRS-R 合計スコアのベースラインから Week 28 までの変化量を JRT を用いて解析した。JRT には、死亡以外の理由による試験中止データを補完する多重補完法（MI）と併用した。JRT では、死亡による中途打切りを考慮に入れて ALSFRS-R 合計スコアに及ぼす治療効果の統計学的検定が可能になる。

試験期間（6.5 ヵ月）及び mITT 集団の被験者のスクリーニング時の SVC を 65%以上とした選択基準を考慮すると、両群全体で死亡が少なかったことは生存プロファイルに関する情報が得られる可能性が低いことを示す。一方、JRT は、死亡を最悪の転帰として取扱い、死亡した被験者を最低順位に割り当てる。結果として、JRT は死亡が少ない場合（mITT 集団 60 例のうち死亡が 5%未満又は 2 例以下）でも死亡の分布のわずかな変化に対して感度が高く、死亡の分布は、下部にある生存転帰を反映していない可能性がある。結果として、1 例の死亡が全体としての治療効果を遮蔽する可能性がある

さらに、機能スコアのベースラインからの変化量と生存期間を組み合わせた順位スコアに基づくと、101 試験で使用した当初の JRT 解析には、上記の他に考慮すべき側面がいくつかある。

当初の JRT 解析のように、ベースラインからの変化量に基づいた順位付けを応答変数に使用すると、回帰モデルに求められる応答と共変量との間の単調な関係を逸脱する可能性があり、反応の連続性にも逸脱する可能性がある（「2.7.3 臨床的有効性」1.6.6.1 項）。例えば、ベースラインの ALSFRS-R 合計スコアが低い被験者は、当該評価尺度のフロア効果によって、ベースラインのスコアが高い被験者のような大きなスコア低下がみられない可能性がある（すなわち、単調関係を逸脱する）。また、このベースライン時の合計スコアが低い被験者が ALSFRS-R スコアが大きく低下しないまま生存した場合、順位が高くなり、死亡した場合には低い順位となる（死亡直前と直後の応答に大きなずれが生じ、すなわち応答の連続性が逸脱する）。

事後解析を行い、ITT 集団における Week 28（101 試験パート C）及び Week 52（2022 年 1 月データカットの統合データセット）の ALSFRS-R 合計スコアに対する JRT の使用を評価した。また、「rank ANCOVA」モデルとして知られている別の JRT 手法も採用した。この代替の手法は有効性の主要解析に用いた当初の方法と概念が似ているが、ベースラインからの変化量の代わりに、実際の最終的な合計スコアに基づいて順位付けする点と、ベースライン時の連続する共変量も順位スコアに変換して ANCOVA モデルに組み込む点で異なる。この ANCOVA モデルでは、応答変数として、投与前後における順位の変化、すなわち、Week 28（統合データセットの場合は Week 52）での生存状況と機能スコアを基にした順位からベースラインの機能スコアの順位を引いたものを使用する。この代替の JRT 手法は、連続共変量を順位スコアに変換した rank ANCOVA モデルを基にしている［Conover and Iman 1982; Knoke 1991］。

また、2022 年 1 月にデータカットした統合されたデータセットについて、ITT 集団を対象とした代替の JRT 法及び Week 52 の ALSFRS-R の MI を用いた ANCOVA 解析のいずれにも tipping point 解析が行われた。

中間事象を考慮に入れた場合の影響を示すため、統合データセットの ITT 集団における Week 52 の ALSFRS-R データを対象に MI を併用した JRT による事後解析を行った（当初の JRT ともう 1

つの JRT を使用)。101 試験パート C の Week 28 時点の ALSFRS-R 合計スコアに関する JRT と、2022 年 1 月 16 日のデータカットに基づく Week 52 時点の統合データセットでの JRT に基づき、感度分析における中間事象の取扱いを Table 5 に要約する。これらの解析ではいずれも複合ストラテジーが用いられている［ICH 2017］。

Table 5 Summary of Study 101 Part C and Study 101 Part C/Study 102 Handling of Intercurrent Events Based on JRT Sensitivity Analyses

Population	Variable	Intercurrent Events	Handling of Intercurrent Events
ITT (tofersen vs. placebo)	Change from baseline to Week 28	Deaths and withdrawals	Deaths ranked lowest based on time to death; withdrawals use imputed score from MI
ITT (early-start vs. delayed-start)	Change from baseline to Week 52	Deaths and withdrawals	
ITT (tofersen vs. placebo)	Change from baseline to Week 28	Deaths, withdrawals, and PV	Deaths ranked lowest based on time to death; participants with PV are ranked higher than deaths but lower than all other subjects using their time to reaching first day of PV (protocol-defined criteria); withdrawals use imputed score from MI
ITT (early-start vs. delayed-start)	Change from baseline to Week 52	Deaths, withdrawals, and PV	
ITT (tofersen vs. placebo)	Change from baseline to Week 28	Deaths, PV, and withdrawal due to disease progression	Deaths ranked lowest based on time to death; participants with PV are ranked higher than deaths but lower than all other subjects using their time to reaching first day of PV (protocol-defined criteria); withdrawals due to disease progression are ranked higher than deaths and PV but lower than completers and other withdrawals, based on the time to withdrawal; all other withdrawals use imputed score from MI
ITT (early-start vs. delayed-start)	Change from baseline to Week 52	Deaths, PV, and withdrawal due to disease progression	

4.1.6 2023 年 2 月データカットにおける有効性の評価項目及び統計解析手法の設定根拠

バイアスのリスクを最小限に抑え、101 試験パート C での無作為化を保持するため、統合解析は ITT の原則に基づいた。投与のアドヒアランス、試験の中止、又はプラセボ群の被験者が 102 試験でトフェルセン投与への切替えを問わず、101 試験パート C で無作為割り付けられたすべての被験者は、割付けどおりに解析に含めた。ニューロフィラメント濃度の予後因子としての強さ

［Thompson 2022］及び試験開始時にトフェルセン群でのより急速な進行を示唆するベースライン時のニューロフィラメント濃度の投与群間の不均衡を考慮し、試験対象集団内の疾患の不均一性を制御する共変量としてベースライン時の血漿中 NfL 濃度を含めた（ISE SAP 第 [redacted] 版［20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日］）。

2023 年 2 月のデータカット時点で、101 試験パート C から移行した被験者には 2 年以上の追跡の機会があったため、2 年以上の機能、筋力、及び QoL に関する評価項目の解析を実施した（機能及び筋力の評価項目は Week 104、並びに QoL の評価項目は Week 100）。生存の評価項目の解析においては、データカット時点で得られていたすべてのデータを含めた。2 年以上の追跡期間の最初の 6 ヵ月間のみがプラセボ対照期間であり、それ以降はすべての被験者に非盲検でトフェルセン投与の機会があったこと、及びトフェルセンの投与開始後に多くの被験者で安定化及び改善が認められたことを考慮すると、追跡期間が長くなるに従って早期開始群と投与開始遅延群の差はある程度まで小さくなっていくことが想定された。このような群間の差がある程度小さくなる可能性を考慮して、Week 76 においても解析を実施した。

解析は、以下の 2 つの主要な評価項目で行った。

- 機能、筋力、及び QoL
- 無イベント期間

SOD1-ALS は不均一な疾患であるが、本疾患は疾患進行に伴う機能及び筋力の低下と一様に関連している［Cudkowicz 2013; Shefner 2016］。そのため、治療効果を評価する別の方法として、自然歴で認められる進行性の低下とは異なることを示すために、筋力及び機能の持続的な安定化又は改善について検討を行った。安定化又は改善を評価するため、トフェルセンの投与開始以降、Week 76、及び Week 100/104 に機能及び筋力（ALSFRS-R 合計スコア、SVC%予測値、及び HHD メガスコア）並びに QoL（ALSAQ-5、FSS 合計スコア、及び EQ-5D-5L utility index）の改善又は安定化若しくは改善した被験者の割合を定量化する解析を実施した。

また、101 試験の第 I/II 相（パート A 及び B）の被験者のうち、102 試験でトフェルセン 100 mg を 1 回以上投与された被験者（40 例）及び 100 mg 長期投与集団の被験者（31 例）を対象に、Week 168 までの解析を実施した。

詳細は、「2.7.3 臨床的有効性」の 1.5.4 項及び 1.5.6 項に示した。

無イベント期間は、以前に実施した生存解析（「2.7.3 臨床的有効性」1.5.4 項）に加えて、生存の評価項目（死亡、死亡又は永続的換気、死亡、永続的換気、又は疾患進行による試験中止）について、早期開始群で観察された結果と投与開始遅延群が 102 試験でトフェルセン投与に切り替えなかったとした場合の予測を比較するため、生存関連イベントに Rank Preserving Structural Failure Time Model（RPSFTM）を実施した。RPSFTM は、生存を評価指標とする試験で治療の切替えを調整する手法である。この解析では、反事実的な生存期間（プラセボのみが使用されたとする生存期間）を用いており、無作為化の時点で被験薬群とプラセボ群の生存期間の分布は同一であると仮定している［White 1999］。本試験のプラセボ対照期間は 6 ヵ月であること、及び自然歴データで 101 試験パート C の被験者と類似した対象者を適切に特定し対照とするには限界があることを考慮すると、本解析はトフェルセン投与例での生存期間について、長期での対照を用い

て比較する手段を与える。

死亡までの期間の解析は、101 試験の第 I/II 相期（パート A 及び B）に参加し、101 試験パート B 又は 102 試験でトフェルセン 100 mg を 1 回以上投与された被験者（43 例）についても実施した。

詳細は、「2.7.3 臨床的有効性」の 1.5 項及び 1.6 項に示す。

4.2 結果の概要

4.2.1 2021 年 7 月及び 2022 年 1 月の中間解析での有効性の結果

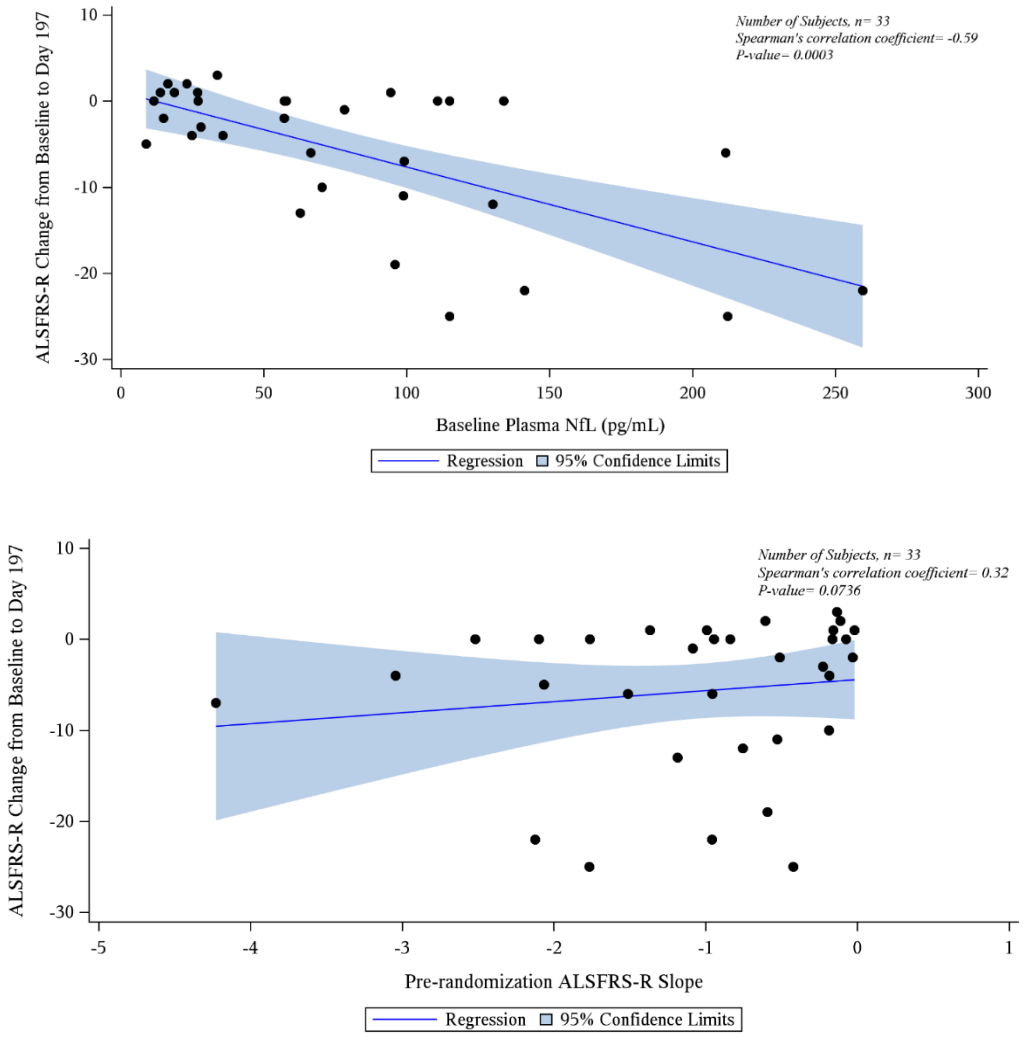
4.2.1.1 被験者集団

101 試験パート C では、ALS による筋力低下があり *SOD1* 変異が確認された成人患者を組み入れた。被験者はベルギー、カナダ、デンマーク、フランス、ドイツ、イタリア、日本、英国、及び米国の実施医療機関で組み入れた。本試験で 42 種の *SOD1* 変異を評価したところ（233AS101 試験パート C の治験総括報告書 Section 14.2、Output 9）、多く認められた変異は p.Ile114Thr（20 例）、p.Ala5Val（17 例）、p.Gly94Cys（6 例）、及び p.His47Arg（5 例）であった。101 試験パート C に組み入れられた被験者又はスクリーニング不適格となった被験者の変異とその変異分類に関する包括的な一覧は、233AS101 試験パート C の治験総括報告書の Appendix 16.2.4 に示す。リルゾール及び／又はエダラボンの併用投与は、それぞれ試験のベースライン前 30 日以上又は 60 日以上にわたって用量が安定している被験者について許可された。ITT 集団全体では、ベースライン時に被験者の約 62%がリルゾールを、8%がエダラボンを投与されていた。

リルゾール及びエダラボンの使用や、病期を反映する各種指標（疾患発現からの罹病期間、ALSFRS-R 合計スコア、SVC など）に関するベースライン特性や疾患特性は、投与群間で均衡がとれていた（「2.7.3 臨床的有効性」2.2 項）。しかし、疾患進行の速度を反映した疾患特性は、トフェルセン群の被験者の方がベースライン時の疾患進行が急速であったことを示唆している。特に、疾患進行と相関することが認められているベースラインの NfL 濃度（3.3.2 項）は、プラセボ群よりもトフェルセン群の方が約 15%～25%高かった。この結果を裏付けるように、スクリーニング時から Day 15（つまり、トフェルセンが定常状態に達する前）までの期間（約 42 日間）における ALSFRS-R 低下速度も、トフェルセン群の方がプラセボ群より大きかった。このような不均衡は ITT 集団だけでなく治験実施計画書で規定された部分集団でも明らかであった。ベースライン時の血漿中 NfL 濃度によって部分集団に分けることで不均衡を最小限に抑えられた（「2.7.3 臨床的有効性」2.2 項）。

文献での報告［Thompson 2022］と同様に、101 試験パート C のプラセボ群において、ベースライン時のニューロフィラメント濃度の方が、無作為化前の ALSFRS-R 低下の傾きより長期的な ALSFRS-R スコア変化に強く相関していた（Spearman 相関係数はそれぞれ-0.59［p = 0.0003］及び 0.32［p = 0.07］（Figure 10）。

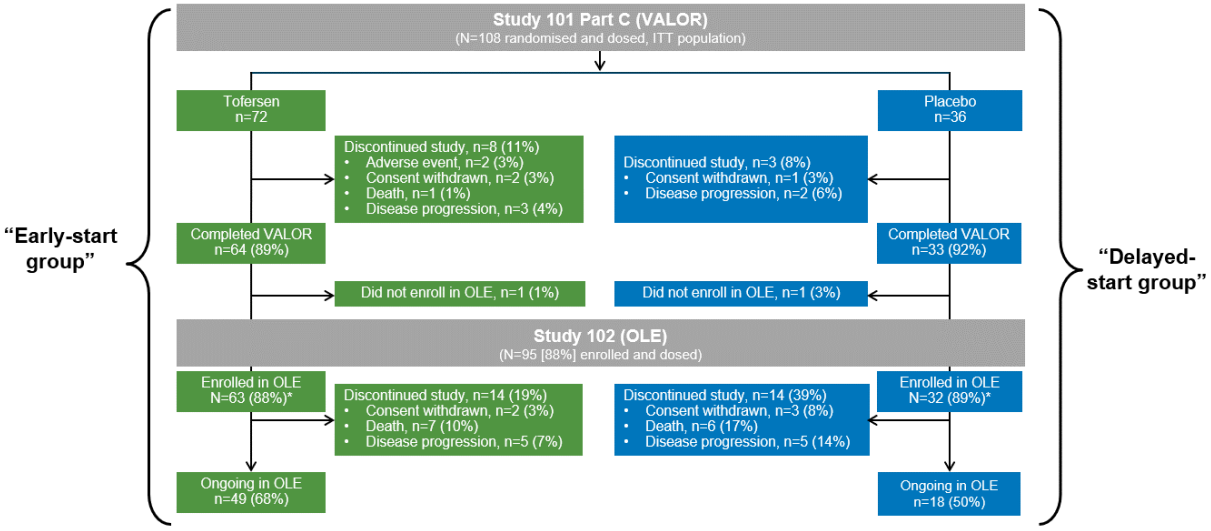
Figure 10 Baseline Plasma NfL Outperformed Prerandomization ALSFRS-R Decline as a Predictor of 6-Month Change in ALSFRS-R in Study 101 Part C Placebo Participants



NOTE 1: Baseline is defined as day 1 value prior to the study drug. If day 1 value is missing, the non-missing value (including screening visit) closest to and prior to the first dose will be used as the baseline value.
NOTE 2: For non-Japanese participants, the Global ALSFRS-R is used. For Japanese participants, the Japanese (Ohashi) ALSFRS-R is used except for Q5a and Q11 where the Japanese translated Global ALSFRS-R is used.

101 試験パート C への組入れから 102 試験での Week 52 のデータ読出しまでの被験者の流れを、Figure 11 に示す。

Figure 11　Flow of Participants From Study 101 Part C to Week 52 in Study 102



4.2.1.2　臨床的有効性の結果

4.2.1.2.1　臨床機能及び生活の質に対するトフェルセンの有効性

4.2.1.2.1.1　ALSFRS-R 合計スコア

主要有効性解析：101 試験パート C

主要解析対象（mITT）集団を対象として ALSFRS-R のベースラインから Week 28 までの変化量を評価したところ、統計学的有意差は認められなかった（ただし、1.2 ポイント［95% CI：–3.2～5.5、MI を併用した JRT 解析による p = 0.97］の差でトフェルセンを支持）。

ベースライン時の NfL で調整した ITT 集団の解析

101 試験パート C の ITT 集団を対象として、解析モデルと MI モデルの双方で罹病期間の代わりにベースライン時の血漿中 NfL 濃度を共変量として調整した解析を実施したところ、事前に規定した主要有効性解析よりも群間差が大きく、トフェルセンを支持するものであった（Table 6）。

ITT 集団を対象とした長期追跡評価では、ALSFRS-R の 101 試験パート C のベースラインから Week 52 までの低下は、101 試験パート C でプラセボ群であった被験者が Week 28 でトフェルセンの投与を開始したにもかかわらず、プラセボ／投与開始遅延群の方が早期開始群よりも大きく、形式上統計学的に有意であった（Figure 12）。トフェルセン早期開始を支持する群間差は、ALSFRS-R の 4 種のサブドメインすべてに確認された（Table 7）。

4.1.3.1 項で述べたように順序性により、ALSFRS-R の MCID 閾値は確立されていないが、ポイントが低下するごとに重要な機能喪失があったことを意味している。例えば、1 ポイントの低下が、補助があれば歩行可能な状態と歩行不能な状態の差を反映していることもある。また、1 ポ

イント低下すると、死亡又は気管切開のリスクが 7%上昇することも示されている［Kaufmann 2005］。

主要評価項目に統計学的有意性が認められなかったことを認識しているものの、Week 52 にて認められた群間差は、後述の他の評価項目にも一貫した効果が認められていることから臨床的意義があると考えられる。

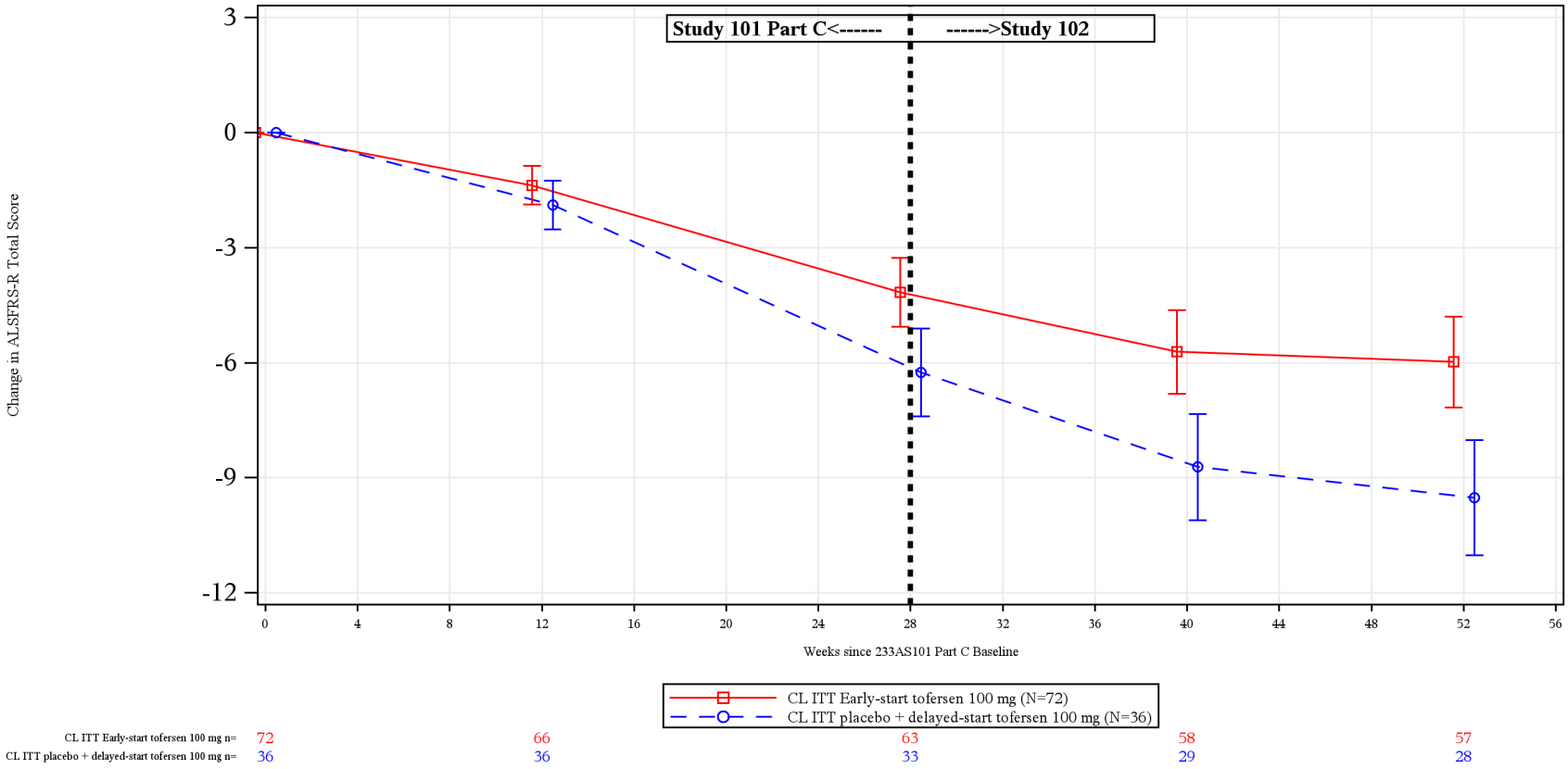
Table 6 Change in ALSFRS-R Total Score From Study 101 Part C Baseline - ITT Population

Endpoint	**Study 101 Part C** Tofersen (n=72) vs. placebo (n=36) Change from baseline to Week 28	**Studies 101 Part C and 102 (ISE SAP V[redacted])** Early-start tofersen (n=72) vs. placebo/delayed-start tofersen (n=36) Change from baseline to Week 52
Change from Baseline on ALSFRS-R Total Score		
Adjusted means: Tof, Placebo	-4.1, -6.2	-6.0, -9.5
Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	2.1 (-0.33, 4.54)	3.5 (0.4, 6.7)
p-value (ANCOVA+MI)	0.0904	0.0272

NOTE 1: Lower scores depicted a worsening in function. Post hoc analyses were presented for Study 101 Part C; analysis for Studies 101 Part C and 102 was based on January 2022 data cut and was prespecified in ISE SAP Version [redacted]. All p-values were nominal.
NOTE 2: The multiple imputation model was based on all participants in the ITT population and includes baseline plasma NfL, treatment, use of riluzole or edaravone, relevant baseline score, and postbaseline values.
NOTE 3: Adjusted means, treatment difference and corresponding 95% CIs and nominal p-values were obtained from the ANCOVA model for change from baseline in conjunction with MI. Joint rank p-values were obtained from the ANCOVA model for ranked scores where deaths were ranked the lowest in conjunction with MI for handling missing data due to withdrawals other than death. The original joint rank method was based on the ANCOVA for ranked score for the change from baseline and includes original scale values for continuous covariates; the alternative joint rank method was based on the ANCOVA for change of ranked score pre- and post-treatment and includes ranked covariates for continuous variables. The ANCOVA models included treatment as a fixed effect and adjust for the following covariates: baseline plasma NfL, relevant baseline score, and use of riluzole or edaravone.
Sources: 2.7.3 Summary of Clinical Efficacy, Table 9 and Table 22.

Figure 12 233AS101 and 233AS102 ISE: Line Plot of ALSFRS-R Total Score Adjusted Mean Change From Baseline Values ± SE by Timepoint From ANCOVA Analysis Using MI for Pooled Group CL - ITT Population

Page: 1 of 2



Footnotes are displayed on last page.
Source: biib067/ise/ise-bla2-global/f-cf-alsf-ancmi-cl12-itt.sas Data cut: 16JAN2022 Run Date: 03OCT2022

233AS101 and 233AS102 ISE: Line plot of ALSFRS-R total score LS mean change from baseline values +/- SE by time point from ANCOVA analysis using MI for pooled group CL - ITT population

NOTE 1: Baseline is defined as day 1 value prior to the study drug and presented as Day 1. If day 1 value is missing, the non-missing value (including screening visit) closest to and prior to the first dose will be used as the baseline value.
NOTE 2: Multiple imputation including treatment group, use of riluzole or edaravone, baseline plasma NfL, and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data.
NOTE 3: For non-Japanese subjects, the Global ALSFRS-R is used. For Japanese subjects, the Japanese (Ohashi) ALSFRS-R is used except for Q5a and Q11 where the Japanese translated Global ALSFRS-R is used. A positive change indicates an improvement.
NOTE 4: LS means are obtained from the ANCOVA model with treatment included as a fixed effect and adjusted for the following covariates: baseline plasma NfL, baseline ALSFRS-R total score, and use of riluzole or edaravone.
Abbreviations: ALSFRS-R = Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised; NfL = neurofilament light chain; ANCOVA = analysis of covariance; MI = multiple imputation; LS = least square.
Source: biib067/ise/ise-bla2-global/f-cf-alsf-ancmi-cl12-itt.sas Data cut: 16JAN2022 Run Date: 03OCT2022

Table 7 Summary of Integrated Data From Study 101 Part C and Study 102: Change in ALSFRS-R Subdomain Scores From Study 101 Part C Baseline to Week 52 - ITT Population

Endpoint	**Early-start tofersen (n=72)**	**Placebo/delayed-start tofersen (n=36)**
Change From Baseline on ALSFRS-R Gross Motor Skills Subdomain		
Adjusted mean	-1.1	-2.1
Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)		1.0 (0.1, 1.8)
p-value (ANCOVA+MI)		0.0227
Change From Baseline on ALSFRS-R Fine Motor Skills Subdomain		
Adjusted mean	-1.6	-2.6
Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)		1.0 (0.1, 2.0)
p-value (ANCOVA+MI)		0.0374
Change from Baseline on ALSFRS-R Bulbar Subdomain		
Adjusted mean		
Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	-1.4	-1.7
p-value (ANCOVA+MI)		0.3 (-0.7, 1.3)
		0.5889
Change from baseline on ALSFRS-R Respiratory Subdomain		
Adjusted mean	-1.9	-3.1
Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)		1.2 (-0.1, 2.6)
p-value (ANCOVA+MI)		0.0623

NOTE 1: Lower scores depicted a worsening in function. Analysis for Studies 101 Part C and 102 was based on January 2022 data cut and was prespecified. All p-values were nominal.
NOTE 2: The MI model was based on all participants in the ITT population and included baseline plasma NfL, treatment, use of riluzole or edaravone, relevant baseline score, and postbaseline values.
NOTE 3: Adjusted means, treatment difference and corresponding 95% CIs and nominal p-values were obtained from the ANCOVA model for change from baseline in conjunction with MI. The ANCOVA models included treatment as a fixed effect and adjust for the following covariates: baseline plasma NfL, relevant baseline score, and use of riluzole or edaravone.
NOTE 4: For non-Japanese subjects, the Global ALSFRS-R was used. For Japanese subjects, the Japanese (Ohashi) ALSFRS-R is used except for Q5a and Q11 where the Japanese translated Global ALSFRS-R was used. Four domain scores included bulbar function (Q1-Q3), fine motor skills (Q4-Q6), gross motor skills (Q7-Q9), and respiratory function (Q10-Q12). A positive change indicates an improvement.
Sources: ISE Appendix 3.4.1 ALSFRS-R,Output 11.

共変量を用いた調整及び Joint Rank 法による解析

連続共変量としてベースライン時のニューロフィラメントを用いたモデル調整の重要性と影響を詳細に検証するために、ALSFRS-R 合計スコアのベースラインから Week 52 までの変化量について、MI モデル及び解析モデルをベースラインの血漿中 NfL 濃度で調整した ITT 集団及び疾患進行による部分集団を対象とした有効性の統合解析（ISE SAP 第 ■ 版に事前規定）と、ベースライン時の疾患状態に基づいた他の共変量で調整した様々な事後解析（MI を併用した ANCOVA 及び MI を併用した JRT）を Figure 13 にまとめて比較する。種々の患者集団及び疾患進行の部分

集団（mITT 集団と non-mITT 集団、及び NfL 中央値以上又は未満）の解析のいずれも、種々の共変量の組合せで調整した解析でも、一貫してトフェルセンを支持する傾向が認められた。また、この傾向は 101 試験パート C の Week 28 時点の解析結果とも一致している（「2.7.3 臨床的有効性」3.1.2.1.1 項）。

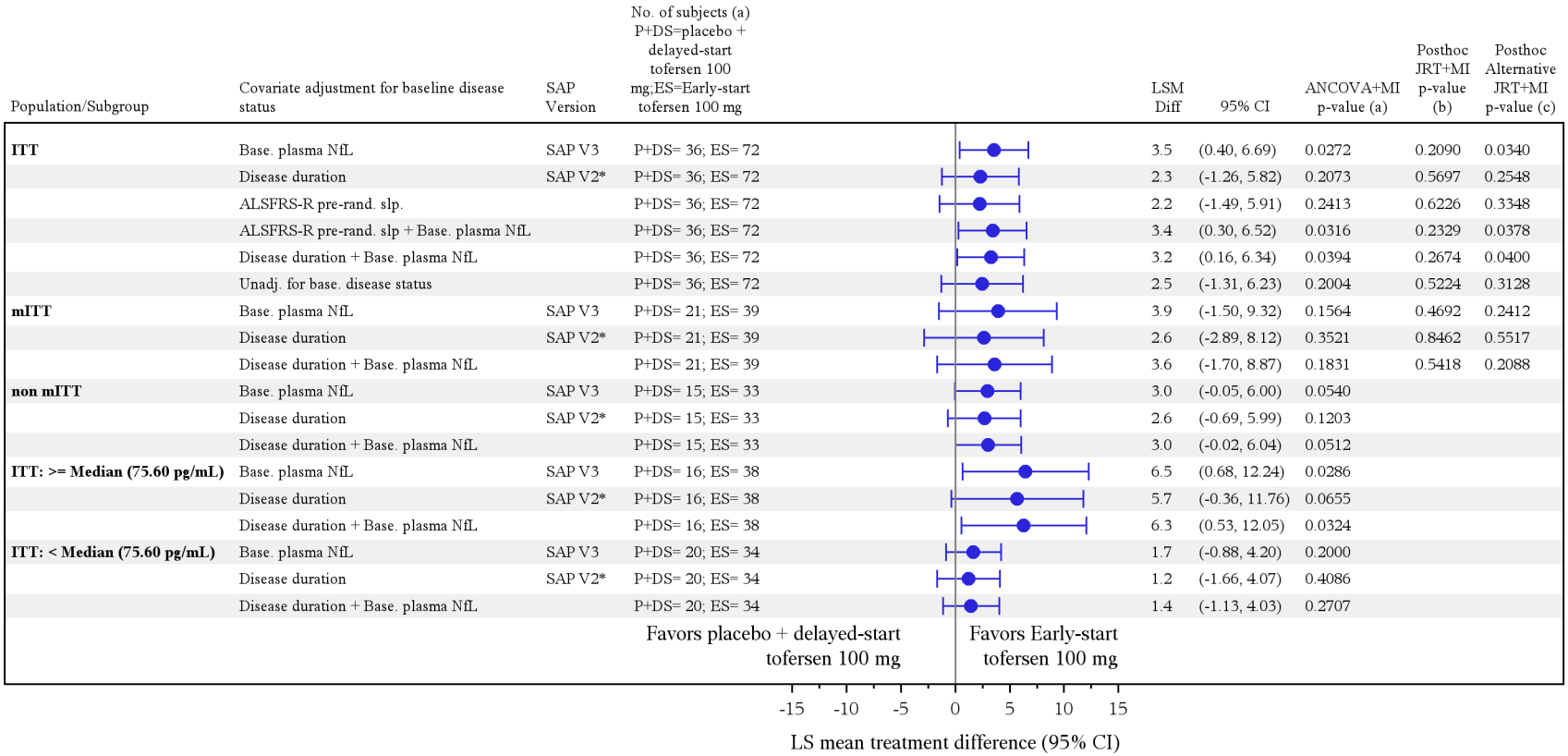
ベースライン時の NfL 濃度は予後因子として有用であることから、ITT 集団を対象とするベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整した解析は、ベースライン時の疾患の不均一性を考慮に入れた、最も頑健性のある適切な解析であると考えられる。事前に規定した疾患進行性の部分集団（mITT 集団と non-mITT 集団、NfL 中央値以上又は未満）でもベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整したときに Week 28 及び Week 52 時点で同様の傾向が認められた。予後因子として有用であり、ベースライン時の疾患の不均一性を考慮できることから、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整すると推定の精度が向上する。これは文献とも整合性があり、28 週間に観察された ALSFRS-R スコアの変化とこれら各共変量との相関とも整合性がある（4.1.3.1 項）。

代替の JRT 法の設定目的は、101 試験パート C の主要有効性解析に用いた当初の JRT 法に伴う限界を一部緩和させることにあった。MI を併用した代替の JRT 解析の結果は、Week 28 及び Week 52 のいずれも MI を併用した ANCOVA 解析の結果とおおむね一致している。

Figure 13　233AS101 and 233AS102 ISE: Forest Plot of ALSFRS-R Total Score Change From Baseline to Week 52

Page: 1 of 2

Population/Subgroup	Covariate adjustment for baseline disease status	SAP Version	No. of subjects (a) P+DS=placebo + delayed-start tofersen 100 mg;ES=Early-start tofersen 100 mg	LSM Diff	95% CI	ANCOVA+MI p-value (a)	Posthoc JRT+MI p-value (b)	Posthoc Alternative JRT+MI p-value (c)
ITT	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 36; ES= 72	3.5	(0.40, 6.69)	0.0272	0.2090	0.0340
	Disease duration	SAP V2*	P+DS= 36; ES= 72	2.3	(-1.26, 5.82)	0.2073	0.5697	0.2548
	ALSFRS-R pre-rand. slp.		P+DS= 36; ES= 72	2.2	(-1.49, 5.91)	0.2413	0.6226	0.3348
	ALSFRS-R pre-rand. slp + Base. plasma NfL		P+DS= 36; ES= 72	3.4	(0.30, 6.52)	0.0316	0.2329	0.0378
	Disease duration + Base. plasma NfL		P+DS= 36; ES= 72	3.2	(0.16, 6.34)	0.0394	0.2674	0.0400
	Unadj. for base. disease status		P+DS= 36; ES= 72	2.5	(-1.31, 6.23)	0.2004	0.5224	0.3128
mITT	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 21; ES= 39	3.9	(-1.50, 9.32)	0.1564	0.4692	0.2412
	Disease duration	SAP V2*	P+DS= 21; ES= 39	2.6	(-2.89, 8.12)	0.3521	0.8462	0.5517
	Disease duration + Base. plasma NfL		P+DS= 21; ES= 39	3.6	(-1.70, 8.87)	0.1831	0.5418	0.2088
non mITT	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 15; ES= 33	3.0	(-0.05, 6.00)	0.0540		
	Disease duration	SAP V2*	P+DS= 15; ES= 33	2.6	(-0.69, 5.99)	0.1203		
	Disease duration + Base. plasma NfL		P+DS= 15; ES= 33	3.0	(-0.02, 6.04)	0.0512		
ITT: >= Median (75.60 pg/mL)	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 16; ES= 38	6.5	(0.68, 12.24)	0.0286		
	Disease duration	SAP V2*	P+DS= 16; ES= 38	5.7	(-0.36, 11.76)	0.0655		
	Disease duration + Base. plasma NfL		P+DS= 16; ES= 38	6.3	(0.53, 12.05)	0.0324		
ITT: < Median (75.60 pg/mL)	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 20; ES= 34	1.7	(-0.88, 4.20)	0.2000		
	Disease duration	SAP V2*	P+DS= 20; ES= 34	1.2	(-1.66, 4.07)	0.4086		
	Disease duration + Base. plasma NfL		P+DS= 20; ES= 34	1.4	(-1.13, 4.03)	0.2707		



Footnotes are displayed on last page.
Source: biib067/ise/ise-bla2-global/f-cf-alsf-forest.sas　Data cut: 16JAN2022　Run Date: 29SEP2022

233AS101 and 233AS102 ISE: Forest plot of ALSFRS-R total score change from baseline to Week 52

NOTE 1: SAP V[redacted] is the integrated efficacy SAP that was finalized prior to the final database lock for 233AS101 and interim lock for 233AS102 based on 16 July 2021 data cut; prespecified analyses were primarily based on disease progression subgroups and adjusted for disease duration since symptom onset. SAP V[redacted] was an amendment to the integrated efficacy SAP following the initial data readout and incorporated plasma NfL as a covariate with the focus on the ITT population. SAP V[redacted] was finalized prior the interim lock for 233AS102 based on 16 January 2022 data cut.
NOTE 2: For ITT population, multiple imputation including the specified covariate(s), use of riluzole or edaravone, and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The corresponding ANCOVA models include the specified covariate(s), baseline ALSFRS-R, and use of riluzole oor edaravone.
NOTE 3: For the analyses including disease duration since symptom onset in mITT and non mITT population, multiple imputation including use of riluzole or edaravone and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The corresponding ANCOVA models include covariates for baseline disease duration since symptom onset, baseline ALSFRS-R and use of riluzole or edaravone. For the other analyses in mITT and non mITT population, multiple imputation including baseline plasma NfL, use of riluzole or edaravone and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The corresponding ANCOVA models include covariates for the specified covariate(s), baseline plasma NfL, baseline ALSFRS-R and use of riluzole or edaravone.
* No statistical testing was prespecified in SAP Version [redacted]; all p-values are post hoc for SAP V[redacted] analyses.
(a) From the listed ANCOVA analysis based on change from baseline.
(b) From the ANCOVA on ranked scores; deaths are ranked the lowest; MI is used for handling missing data due to withdrawals other than death.
(c) From the ANCOVA on change of ranked scores pre- and post-treatment; deaths are ranked the lowest; MI is used for handling missing data due to withdrawals other than death.
Abbreviations: ALSFRS-R = Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised; ANCOVA = analysis of covariance; MI = multiple imputation; LS = least square; P+DS = placebo + delayed-start tofersen 100 mg; ES = Early-start tofersen 100 mg.
Source: biib067/ise/ise-bla2-global/f-cf-alsf-forest.sas Data cut: 16JAN2022 Run Date: 29SEP2022

Tipping Point 解析

Tipping point 解析を行い、脱落による欠測データが治療効果の信頼性に及ぼす影響を評価した。これらの tipping point 解析は、死亡によるデータの打切りを考慮に入れた代替 JRT+MI を用いたベースラインから Week 52 までの ALSFRS-R 合計スコアの変化に関する統合解析（2022 年 1 月 16 日の中間解析のデータカット時点）とそれに対応する ANCOVA+MI に対して得られたものである。MI データセットのなかの（死亡以外の理由による）脱落による欠測の補完値に対して、トフェルセン群では負のシフトを、プラセボ群ではゼロシフトを適用した。代替 JRT では、3 ポイントの負のシフトにより、結果が統計学的に「有意」から「有意でない」に変化する。ANCOVA では、2 ポイントの負のシフトにより、結果が統計学的に「有意」から「有意でない」に変化する。他の順序尺度と同様に、ALSFRS-R スコアの変化は通常、非線形的な S 字曲線となり、1 ポイント分の変化は項目間で整合していない。しかし、患者の ALSFRS-R スコアがわずかに低下するだけでも、機能的能力が著しく低下する可能性があることがよく知られている。例えば、1 ポイントの低下が､補助があれば歩行可能な状態と歩行不能な状態の差を反映していることもある。tipping point の大きさは、ITT 集団を対象とした Week 52 時点の解析結果をさらに裏付けている。

Joint Rank 法を用いた中間事象の取扱い

死亡、永続的換気、及び疾患進行による脱落といった中間事象に対応するため（4.1.5 項）、当初の JRT と代替の JRT を用いて、ITT 集団を対象に ALSFRS-R 合計スコアのベースラインから Week 28（101 試験パート C）及び Week 52（有効性統合データ）までの変化量に対する解析を実施した。いずれの方法でも MI を併用した。ベースラインからの変化に関する MI を併用した ANCOVA で得られた p 値に加え、実施した各解析で得られた p 値を Table 8 に要約する。代替の JRT の結果は、MI を併用した ANCOVA の結果と一致している。101 試験パート C のベースラインから Week 52 までに、異なる中間事象を組み込んだ代替の JRT 解析にて形式上統計学的に有意差が認められ、その p 値は MI を併用した ANCOVA で得られた p 値と一貫性があった。

Table 8 Summary of p-Values for Change in ALSFRS-R Total Score From Study 101 Part C Baseline (ITT population; adjusted for baseline plasma NfL)

Statistical Methodology	**Week 28 (Tofersen vs. Placebo)**	**Week 52* (Early-Start vs. Delayed-Start)**
ANCOVA + MI	p=0.0904	p=0.0272
Original JRT+MI accounting for deaths	p=0.5015	p=0.2090
Original JRT+MI accounting for deaths + PV	p=0.5694	p=0.2640
Original JRT+MI accounting for deaths + PV + withdrawal due to disease progression	p=0.5397	p=0.2412
Alternative JRT+MI accounting for deaths	p=0.0595	p=0.0340
Alternative JRT+MI accounting for deaths + PV	p=0.0635	p=0.0394
Alternative JRT+MI accounting for deaths + PV + withdrawal due to disease progression	p=0.0595	p=0.0267

* Based on integrated data from Study 101 Part C and Study 102. Interim data cut for Study 102 (data cut date: 16 January 2022)
NOTE 1: All analyses were post hoc, with the exception of the ANCOVA+MI integrated data analysis for Studies 101 Part C and 102 based on January 2022 data cut which was prespecified in ISE SAP Version [redacted]. All p-values were nominal.
NOTE 2: The multiple imputation model was based on all participants in the ITT population and included baseline plasma NfL, treatment, use of riluzole or edaravone, relevant baseline score, and postbaseline values.
NOTE 3: The original JRT was based on the ANCOVA for ranked score for the change from baseline and included original scale values for continuous covariates; the alternative JRT was based on the ANCOVA for change of ranked score pre- and post-treatment and included ranked covariates for continuous variables. The ANCOVA models included treatment as a fixed effect and adjusted for the following covariates: baseline plasma NfL, relevant baseline score, and use of riluzole or edaravone.
Sources: 233AS101 Part C CSR, Table 20, ISE Appendix 3.4.1 ALSFRS-R, Output 6 and ISE Appendix 3.4.2 ALSFRS-R, Outputs 18, 20, 21, 55, 56, 58, and 59.

Reference-Based Multiple Imputation

感度分析として reference-based MI を用いた。Reference-based MI は、欠測に対して、missing at random（MAR）の仮定ではなく、プラセボ／投与開始遅延群を参照した仮定をおくことにより感度分析を実行する方法である。この解析では治療効果が過小評価される可能性があるが、推定された効果の大きさは実行した様々な方法（jump to reference［J2R］、copy reference［CR］、及び copy increment from reference［CIR］）で臨床的に重要であり、ANCOVA + MI の妥当性が裏付けられた（「2.7.3 臨床的有効性」Table 23 及び Table 24）。

4.2.1.2.1.2 SVC の%予測値

主な副次有効性解析：101 試験パート C

101 試験パート C の主な副次評価項目として、SVC の%予測値の 28 週間にわたるベースラインからの変化量を、mITT 部分集団を対象に評価した。この部分集団では、SVC の%予測値にトフェルセンを支持する 7.9%（95% CI：-3.5～19.3、MI を併用した JRT による形式上の p = 0.323）の差がみられた。

ベースライン時の NfL で調整した ITT 集団の解析

罹病期間及びベースライン時の ALSFRS-R スコアの代わりにベースライン時の NfL を共変量としてモデルを調整した解析を 101 試験パート C の ITT 集団を対象に実施したところ、トフェル

センを支持する群間差（Week 28 で 8.5%）が認められ、形式上統計学的に有意であった（トフェルセンはプラセボよりも SVC 低下を約 54%緩徐化）（Table 9）。

ITT 集団を対象とした長期追跡評価では、プラセボ／トフェルセン投与開始遅延群の方が、早期開始群よりも SVC の%予測値のベースラインから Week 52 までの低下量が大きく、形式上統計学的に有意であった（群間差 9.2%、95% CI：1.7～16.6、Table 9）。なお、プラセボ／トフェルセン投与開始遅延群にみられた低下は、トフェルセンの生物学的活性が最大となる Week 40（投与開始から約 12 週後）以降は安定化していると考えられた。

4.1.3.2 項で述べたように、SVC の%予測値が 1.5%／月低下して低下率が緩やかになると、6 ヵ月以降のいずれかの時点における呼吸不全の最初の発現又は死亡、気管切開の初回発生又は死亡、及び死亡のリスクが、それぞれ 22%、23%、及び 23%低下する（p＜0.001）［Andrews 2018］。つまり、Week 28 や Week 52 に観察された 8.5%及び 9.2%といった群間差は臨床的意義が大きい。

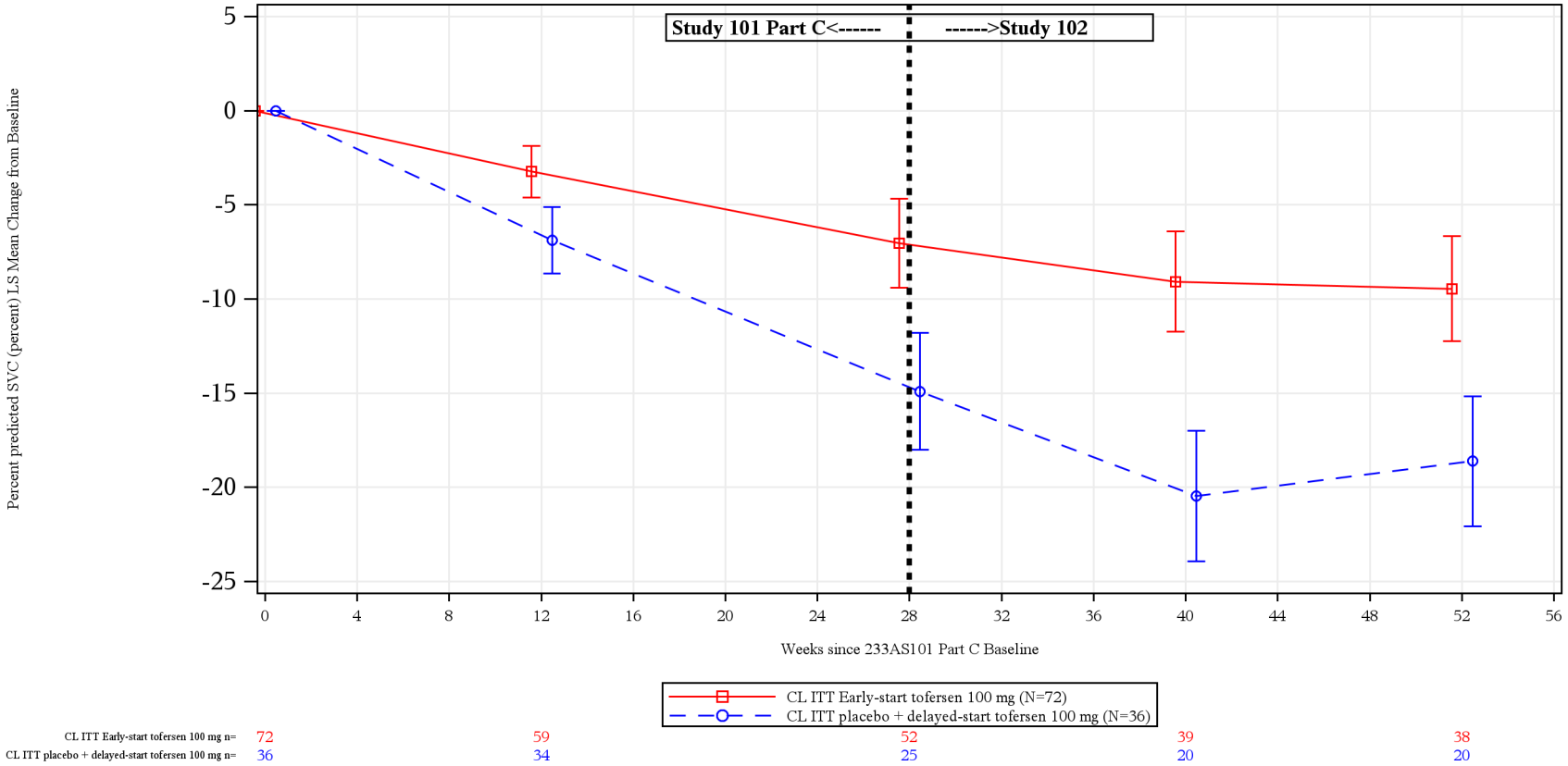
Table 9　Change in SVC Percent Predicted From Study 101 Part C Baseline - ITT Population

Endpoint	**Study 101 Part C** Tofersen (n=72) vs. placebo (n=36) Change from baseline to Week 28	**Studies 101 Part C and 102 (ISE SAP V[redacted])** Early-start tofersen (n=72) vs. placebo/delayed-start tofersen (n=36) Change from baseline to Week 52
Change from baseline in percent-predicted SVC		
Adjusted means: Tof, Placebo	-7.3, -15.8	-9.4, -18.6
Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	8.5 (1.8, 15.2)	9.2 (1.7, 16.6)
p-value (ANCOVA+MI)	0.0128	0.0159

NOTE 1: Lower percent-predicted SVC depicted a worsening. Post hoc analyses were conducted for Study 101 Part C; analysis for Studies 101 Part C and 102 was based on January 2022 data cut and was prespecified. All p-values were nominal. The maximum (best effort) acceptable reading was used for analysis. Readings with ATS Best Criteria F (failed) were considered as missing.
NOTE 2: The multiple imputation model was based on all participants in the ITT population and included baseline plasma NfL, treatment, use of riluzole or edaravone, relevant baseline score and postbaseline values.
NOTE 3: Adjusted means, treatment difference and corresponding 95% CIs and nominal p-values were obtained from the ANCOVA model for change from baseline in conjunction with multiple imputation. The ANCOVA models included treatment as a fixed effect and adjusted for the following covariates: baseline plasma NfL, relevant baseline score, and use of riluzole or edaravone.
Sources: 2.7.3 Summary of Clinical Efficacy, Table 11 and Table 27.

Figure 14 233AS101 and 233AS102 ISE: Line Plot of Percent-Predicted SVC (Percent) Adjusted Mean Change From Baseline Values ± SE by Timepoint From ANCOVA Using MI for Pooled Group CL - ITT Population

Page: 1 of 2



Footnotes are displayed on last page.
Source: biib067/ise/ise-bla2-global/f-cf-svc-ancmi-cl12-itt.sas Data cut: 16JAN2022 Run Date: 11OCT2022

233AS101 and 233AS102 ISE: Line plot of percent predicted SVC (percent) LS mean change from baseline values +/- SE by time point from ANCOVA analysis using MI for pooled group CL - ITT population

NOTE 1: Baseline is defined as day 1 value prior to the study drug and presented as Day 1. If day 1 value is missing, the non-missing value (including screening visit) closest to and prior to the first dose will be used as the baseline value.
NOTE 2: Multiple imputation including treatment group, use of riluzole or edaravone, baseline plasma NfL, and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. Readings with ATS Best criteria F (failed) are considered as missing and imputed using MI.
NOTE 3: The maximum (best effort) acceptable reading is used for analysis. A positive change indicates an improvement.
NOTE 4: LS means are obtained from the ANCOVA model with treatment included as a fixed effect and adjusted for the following covariates: baseline plasma NfL, baseline percent predicted SVC, and use of riluzole or edaravone.
Abbreviations: SVC = slow vital capacity; NfL = neurofilament light chain; ANCOVA = analysis of covariance; MI = multiple imputation; LS = least square; ATS = the American Thoracic Society.
Source: biib067/ise/ise-bla2-global/f-cf-svc-ancmi-cl12-itt.sas Data cut: 16JAN2022 Run Date: 11OCT2022

共変量を用いた調整による解析

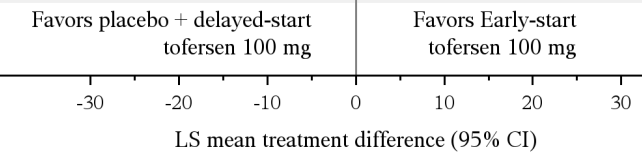
SVC の%予測値のベースラインから Week 52 までの変化量（統合有効性データ）について、異なる共変量を用いてモデルを調整した様々な事前規定の解析や事後解析の結果を Figure 15 に示す。本図は、MI モデルと解析モデルをベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整した ITT 集団及び疾患進行性の部分集団を対象とした各種解析（ISE SAP 第 [redacted] 版に事前規定）の他に、ベースライン時の疾患状態に基づいた他の共変量で調整した様々な事後解析で比較したものである。種々の集団や疾患進行性の部分集団（mITT 集団と non-mITT 集団、NfL 中央値以上又は未満）の解析でも、異なる共変量の組合せで調整した解析でも、一貫してトフェルセンを支持する傾向が示されている。また、この傾向は 101 試験パート C の Week 28 時点の解析結果とも一貫性があった（「2.7.3 臨床的有効性」3.1.2.1.2 項）。

ベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整した Week 28 及び Week 52 時点の両解析はいずれも、事前に規定した疾患進行性の部分集団（mITT 集団と non-mITT 集団、NfL 中央値以上又は未満）にて同様の傾向が認められる。

Figure 15 233AS101 and 233AS102 ISE: Forest Plot of Percent Predicted SVC Change From Baseline to Week 52

Page: 1 of 2

Population/Subgroup	Covariate adjustment for baseline disease status	SAP Version	No. of subjects (a) P+DS=placebo + delayed-start tofersen 100 mg;ES=Early-start tofersen 100 mg	LSM Diff	95% CI	ANCOVA+MI p-value (a)
ITT	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 36; ES= 72	9.2	(1.72, 16.60)	0.0159
	Disease duration#	SAP V2*	P+DS= 36; ES= 72	6.7	(-1.21, 14.55)	0.0971
	ALSFRS-R pre-rand. slp.		P+DS= 36; ES= 72	6.0	(-2.14, 14.19)	0.1483
	ALSFRS-R pre-rand. slp + Base. plasma NfL		P+DS= 36; ES= 72	8.6	(1.36, 15.94)	0.0201
	Disease duration + Base. plasma NfL#		P+DS= 36; ES= 72	8.7	(1.52, 15.91)	0.0176
	Unadj. for base. disease status		P+DS= 36; ES= 72	6.9	(-1.23, 14.96)	0.0965
mITT	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 21; ES= 39	10.8	(-2.59, 24.10)	0.1139
	Disease duration#	SAP V2*	P+DS= 21; ES= 39	5.8	(-8.57, 20.11)	0.4297
	Disease duration + Base. plasma NfL#		P+DS= 21; ES= 39	10.7	(-2.99, 24.31)	0.1257
non mITT	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 15; ES= 33	4.2	(-2.73, 11.08)	0.2354
	Disease duration#	SAP V2*	P+DS= 15; ES= 33	4.7	(-2.38, 11.71)	0.1940
	Disease duration + Base. plasma NfL#		P+DS= 15; ES= 33	4.2	(-2.58, 10.91)	0.2256
ITT: >= Median (75.60 pg/mL)	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 16; ES= 38	10.7	(-2.13, 23.56)	0.1019
	Disease duration#	SAP V2*	P+DS= 16; ES= 38	8.4	(-5.10, 21.90)	0.2223
	Disease duration + Base. plasma NfL#		P+DS= 16; ES= 38	9.9	(-2.81, 22.58)	0.1269
ITT: < Median (75.60 pg/mL)	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 20; ES= 34	7.6	(-0.08, 15.23)	0.0525
	Disease duration#	SAP V2*	P+DS= 20; ES= 34	6.2	(-1.60, 14.02)	0.1192
	Disease duration + Base. plasma NfL#		P+DS= 20; ES= 34	7.1	(-0.45, 14.60)	0.0652



Footnotes are displayed on last page.
Source: biib067/ise/ise-bla2-global/f-cf-svc-forest.sas Data cut: 16JAN2022 Run Date: 29SEP2022

233AS101 and 233AS102 ISE: Forest plot of percent predicted SVC change from baseline to Week 52

NOTE 1: SAP V[redacted] is the integrated efficacy SAP that was finalized prior to the final database lock for 233AS101 and interim lock for 233AS102 based on 16 July 2021 data cut; prespecified analyses were primarily based on disease progression subgroups and adjusted for disease duration since symptom onset. SAP V[redacted] was an amendment to the integrated efficacy SAP following the initial data readout and incorporated plasma NfL as a covariate with the focus on the ITT population. SAP V[redacted] was finalized prior the interim lock for 233AS102 based on 16 January 2022 data cut.
NOTE 2: For ITT population, multiple imputation including the specified covariate(s), use of riluzole or edaravone, and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The corresponding ANCOVA models include the specified covariate(s), baseline percent predicted SVC, and use of riluzole oor edaravone.
NOTE 3: For the analyses including disease duration since symptom onset in mITT and non mITT population, multiple imputation including use of riluzole or edaravone and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The corresponding ANCOVA models include covariates for baseline disease duration since symptom onset, baseline percent predicted SVC, and use of riluzole or edaravone. For the other analyses in mITT and non mITT population, multiple imputation including baseline plasma NfL, use of riluzole or edaravone and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The corresponding ANCOVA models include covariates for the specified covariate(s), baseline plasma NfL, baseline percent predicted SVC and use of riluzole or edaravone.
#The baseline ALSFRS-R is included as an additional covariate in ANCOVA.
* No statistical testing was prespecified in SAP Version [redacted]; all p-values are post hoc for SAP V[redacted] analyses.
(a) From the listed ANCOVA analysis based on change from baseline.
Abbreviations: SVC = slow vital capacity; ALSFRS-R = Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised; ANCOVA = analysis of covariance; MI = multiple imputation; LS = least square; P+DS = placebo + delayed-start tofersen 100 mg; ES = Early-start tofersen 100 mg.
Source: biib067/ise/ise-bla2-global/f-cf-svc-forest.sas Data cut: 16JAN2022 Run Date: 29SEP2022

4.2.1.2.1.3 HHD メガスコア

主な副次有効性解析：101 試験パート C

101 試験パート C の主な副次評価項目として、HHD メガスコアの 28 週間における変化量を、mITT 集団を対象に評価した。この部分集団では、トフェルセンを支持するわずかな群間差（0.02）が認められた（95% CI：-0.21～0.26、MI を併用した ANCOVA による形式上の p = 0.8390）。

ベースライン時の NfL で調整した ITT 集団の解析

罹病期間の代わりにベースライン時の NfL を共変量としてモデルを調整した解析を 101 試験パート C の ITT 集団のすべての被験者を対象に実施したところ、トフェルセンを支持する 0.10 の群間差が Week 28 で認められた（トフェルセンはプラセボよりも HHD メガスコア低下を約 31% 緩徐化）（Table 10）。

ITT 集団を対象とした長期追跡評価では、プラセボ／トフェルセン投与開始遅延群の方が、早期開始群よりも HHD メガスコアのベースラインから Week 52 までの低下が大きかった（群間差 0.28、95% CI：0.05～0.52、Table 10）。

4.1.3.3 項で述べたように、ALS 患者では徐々に筋力が失われる。これに対し、早期開始群では Week 28 後に明らかな筋力の安定化が認められた。プラセボ／投与開始遅延群では、Week 40 後に筋力が安定化したと考えられた。これはトフェルセン開始から約 12 週間後であり、この時点で生物学的活性が最大になると予想される。ベースラインから Week 52 までに、早期開始群の 26.9% 及び投与開始遅延群の 8.1% で HHD メガスコアが上昇した（反応割合の推定値とその差：18.8%、95% CI：1.4～36.2）［ISE Appendix 3.4.3, Percent SVC and HHD、Output 84］。

筋力の回復は、4.1.3.3 項でも述べたように、軸索損傷や神経変性の緩徐化を示唆する徴候よりも遅れて現れる所見であると考えられており、神経支配を失った筋肉が筋力を回復するには、複数の過程を経る必要がある。まず、筋力生成に寄与していない損傷又は変性した運動ニューロンが安定化し、それが支配する本来の筋線維との神経筋伝達が再度確立しなければならない。次に、こうしたニューロンが側枝を伸ばし、新しい神経筋接合部を形成することにより、神経支配を失った他の筋線維の再生に寄与することが可能になると考えられる。これら発生期の神経筋接合部が成熟するにつれて、神経筋伝達効率が改善する。最後に、筋収縮力が強化されるためには、度神経支配を得た筋線維が筋原線維を増やす必要がある。

Week 52 までは明らかではなかったものの、トフェルセン投与に伴う筋力の安定化及び一部の被験者でみられた筋力の改善は、ALS の自然歴とは完全に相反するものである。

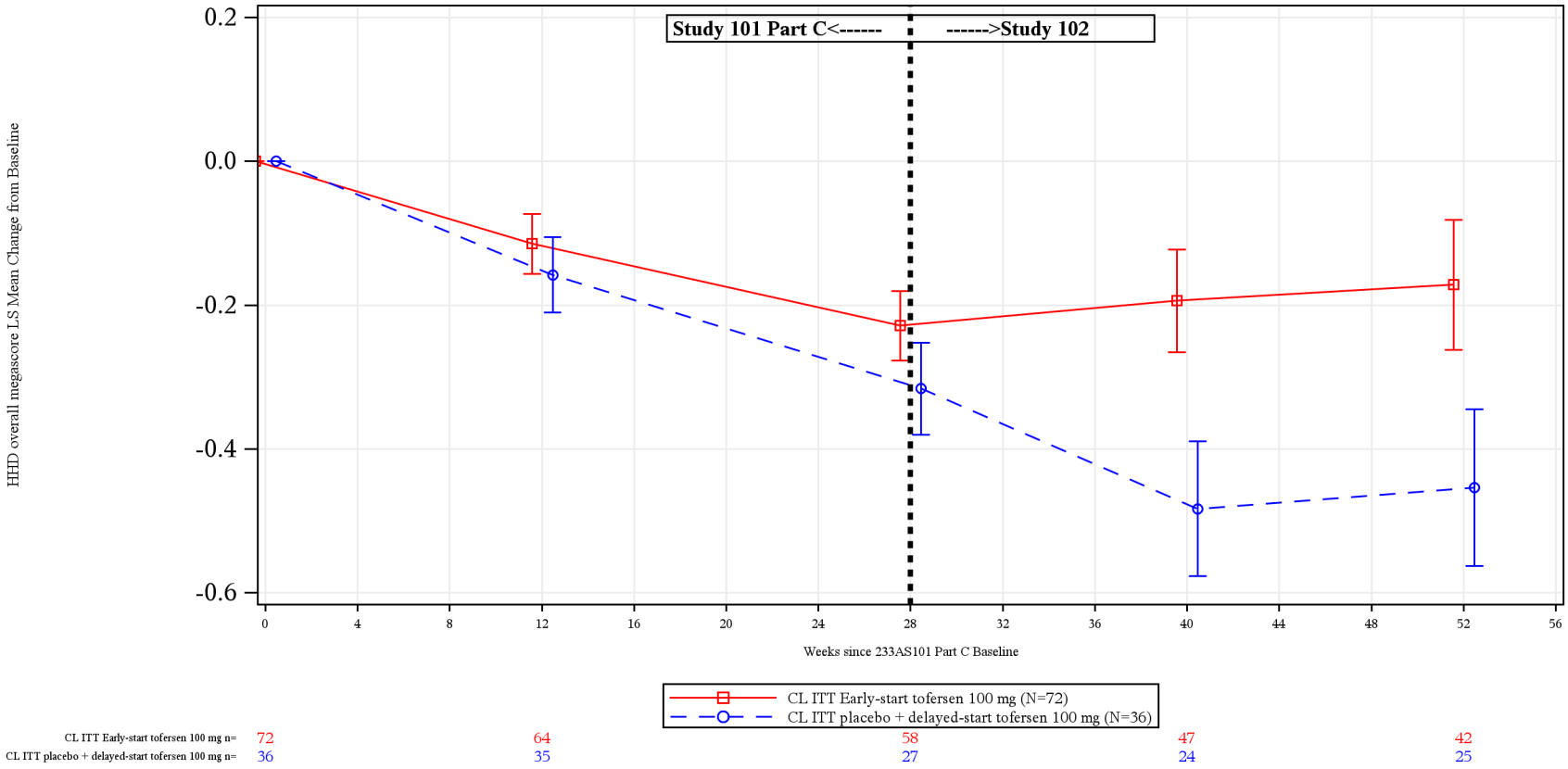
Table 10 Change in HHD Megascore From Study 101 Part C Baseline - ITT Population

Endpoint	Study 101 Part C Tofersen (n=72) vs. placebo (n=36) Change from baseline to Week 28	Studies 101 Part C and 102 (ISE SAP V[redacted]) Early-start tofersen (n=72) vs. placebo/delayed-start tofersen (n=36) Change from baseline to Week 52
Change from Baseline on HHD Megascore		
Adjusted means: Tof, Placebo	-0.23, -0.32	-0.17, -0.45
Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	0.10 (-0.04, 0.23)	0.28 (0.05, 0.52)
p-value (ANCOVA+MI)	0.1547	0.0186

NOTE 1: A lower megascore depicted a worsening. Post hoc analyses were conducted for Study 101 Part C; analysis for Studies 101 Part C and 102 was based on the January 2022 data cut and was prespecified. All p-values were nominal.
NOTE 2: The multiple imputation model was based on all participants in the ITT population and included baseline plasma NfL, treatment, use of riluzole or edaravone, relevant baseline score and postbaseline values.
NOTE 3: Adjusted means, treatment difference and corresponding 95% CIs and nominal p-values were obtained from the ANCOVA model for change from baseline in conjunction with multiple imputation. The ANCOVA model included treatment as a fixed effect and adjusted for the following covariates: baseline plasma NfL, relevant baseline score, and use of riluzole or edaravone.
Sources: 2.7.3 Summary of Clinical Efficacy, Table 12 and Table 28.

Figure 16 233AS101 and 233AS102 ISE: Line Plot of HHD Overall Megascore Adjusted Mean Change From Baseline Values ± SE by Timepoint From ANCOVA Using MI for Pooled Group CL - ITT Population

Page: 1 of 2



Footnotes are displayed on last page.
Source: biib067/ise/ise-bla2-global/f-cf-mega-ancmi-cl12-itt.sas Data cut: 16JAN2022 Run Date: 11OCT2022

233AS101 and 233AS102 ISE: Line plot of HHD overall megascore LS mean change from baseline values +/- SE by time point from ANCOVA analysis using MI for pooled group CL - ITT population

NOTE 1: Baseline is defined as day 1 value prior to the study drug and presented as Day 1. If day 1 value is missing, the non-missing value (including screening visit) closest to and prior to the first dose will be used as the baseline value.
NOTE 2: Multiple imputation including treatment group, use of riluzole or edaravone, baseline plasma NfL, and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data.
NOTE 3: The overall megascore calculated as an average normalized Z scores across the 16 muscles. A positive change indicates an improvement.
NOTE 4: LS means are obtained from the ANCOVA model with treatment included as a fixed effect and adjusted for the following covariates: baseline plasma NfL, baseline HHD overall megascore, and use of riluzole or edaravone.
Abbreviations: HHD = handheld dynamometry; NfL = neurofilament light chain; ANCOVA = analysis of covariance; MI = multiple imputation; LS = least square.
Source: biib067/ise/ise-bla2-global/f-cf-mega-ancmi-cl12-itt.sas Data cut: 16JAN2022 Run Date: 11OCT2022

共変量を用いた調整による解析

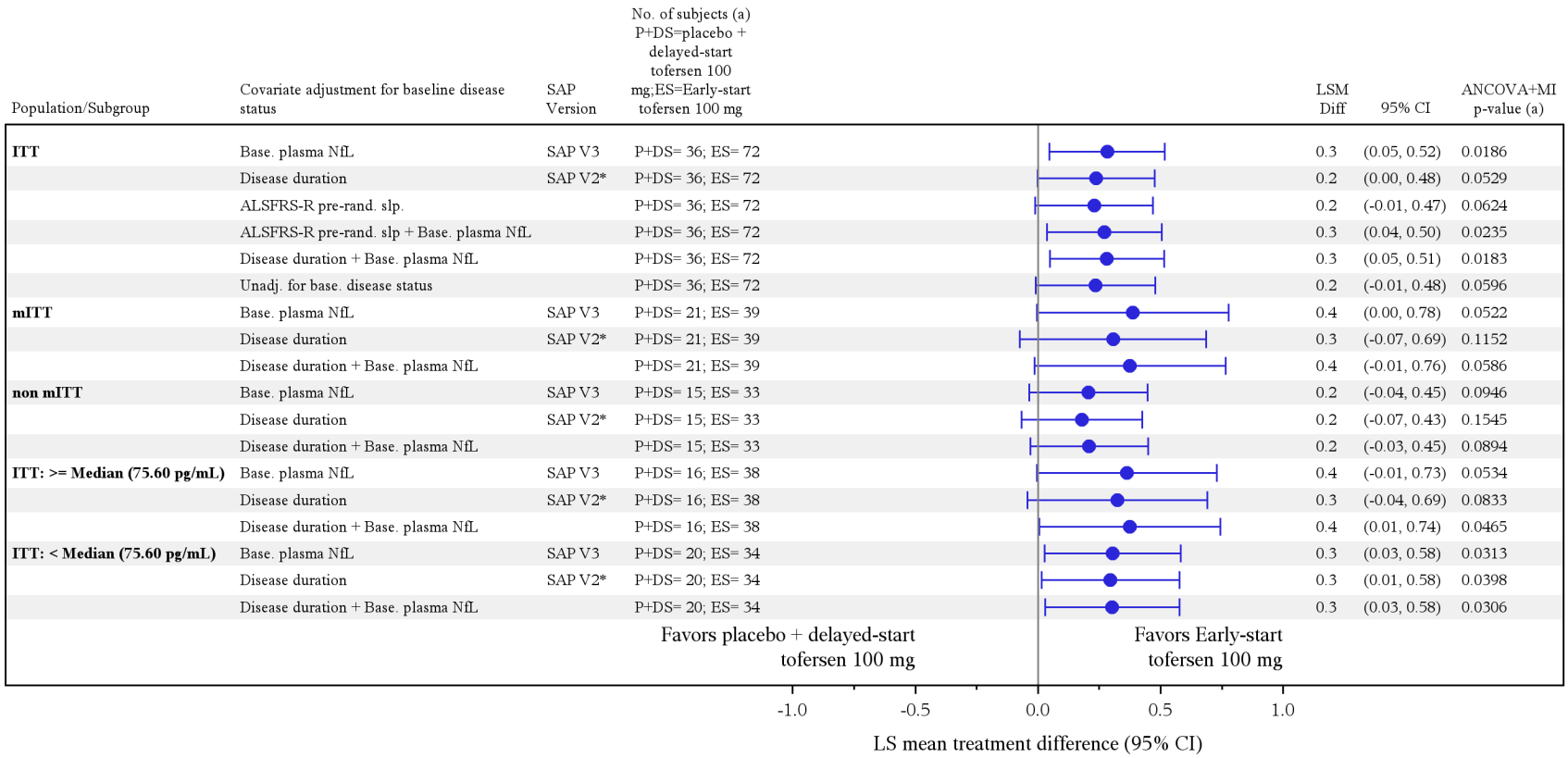
HHD メガスコアのベースラインから Week 52 までの変化量（統合有効性データ）について、異なる共変量を用いてモデルを調整した種々の事前規定の解析や事後解析の結果を Figure 17 に示す。本図は、MI モデルと解析モデルをベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整した ITT 集団及び疾患進行性の部分集団を対象とした各種解析（ISE SAP 第 [redacted] 版に事前規定）の他に、ベースライン時の疾患状態に基づいた他の共変量で調整した様々な事後解析で比較したものである。種々の集団や疾患進行性の部分集団（mITT 集団と non-mITT 集団、NfL 中央値以上又は未満）の解析でも、異なる共変量の組合せで調整した解析でも、一貫してトフェルセンを支持する傾向が示されている。また、この傾向は 101 試験パート C の Week 28 時点の解析結果とも一貫性があった（「2.7.3 臨床的有効性」3.1.2.1.3 項）。

ベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整した Week 28 及び Week 52 の両解析はいずれも、事前に規定した疾患進行性の部分集団（mITT 集団と non-mITT 集団、NfL 中央値以上又は未満）にて同様の傾向が認められる。

Figure 17　233AS101 and 233AS102 ISE: Forest Plot of HHD Megascore Change From Baseline to Week 52

Page: 1 of 2

Population/Subgroup	Covariate adjustment for baseline disease status	SAP Version	No. of subjects (a) P+DS=placebo + delayed-start tofersen 100 mg;ES=Early-start tofersen 100 mg	LSM Diff	95% CI	ANCOVA+MI p-value (a)
ITT	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 36; ES= 72	0.3	(0.05, 0.52)	0.0186
	Disease duration	SAP V2*	P+DS= 36; ES= 72	0.2	(0.00, 0.48)	0.0529
	ALSFRS-R pre-rand. slp.		P+DS= 36; ES= 72	0.2	(-0.01, 0.47)	0.0624
	ALSFRS-R pre-rand. slp + Base. plasma NfL		P+DS= 36; ES= 72	0.3	(0.04, 0.50)	0.0235
	Disease duration + Base. plasma NfL		P+DS= 36; ES= 72	0.3	(0.05, 0.51)	0.0183
	Unadj. for base. disease status		P+DS= 36; ES= 72	0.2	(-0.01, 0.48)	0.0596
mITT	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 21; ES= 39	0.4	(0.00, 0.78)	0.0522
	Disease duration	SAP V2*	P+DS= 21; ES= 39	0.3	(-0.07, 0.69)	0.1152
	Disease duration + Base. plasma NfL		P+DS= 21; ES= 39	0.4	(-0.01, 0.76)	0.0586
non mITT	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 15; ES= 33	0.2	(-0.04, 0.45)	0.0946
	Disease duration	SAP V2*	P+DS= 15; ES= 33	0.2	(-0.07, 0.43)	0.1545
	Disease duration + Base. plasma NfL		P+DS= 15; ES= 33	0.2	(-0.03, 0.45)	0.0894
ITT: >= Median (75.60 pg/mL)	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 16; ES= 38	0.4	(-0.01, 0.73)	0.0534
	Disease duration	SAP V2*	P+DS= 16; ES= 38	0.3	(-0.04, 0.69)	0.0833
	Disease duration + Base. plasma NfL		P+DS= 16; ES= 38	0.4	(0.01, 0.74)	0.0465
ITT: < Median (75.60 pg/mL)	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 20; ES= 34	0.3	(0.03, 0.58)	0.0313
	Disease duration	SAP V2*	P+DS= 20; ES= 34	0.3	(0.01, 0.58)	0.0398
	Disease duration + Base. plasma NfL		P+DS= 20; ES= 34	0.3	(0.03, 0.58)	0.0306



Footnotes are displayed on last page.
Source: biib067/ise/ise-bla2-global/f-cf-hhd-forest.sas　Data cut: 16JAN2022　Run Date: 29SEP2022

233AS101 and 233AS102 ISE: Forest plot of HHD overall megascore change from baseline to Week 52

NOTE 1: SAP V[redacted] is the integrated efficacy SAP that was finalized prior to the final database lock for 233AS101 and interim lock for 233AS102 based on 16 July 2021 data cut; prespecified analyses were primarily based on disease progression subgroups and adjusted for disease duration since symptom onset. SAP V[redacted] was an amendment to the integrated efficacy SAP following the initial data readout and incorporated plasma NfL as a covariate with the focus on the ITT population. SAP V[redacted] was finalized prior the interim lock for 233AS102 based on 16 January 2022 data cut.
NOTE 2: For ITT population, multiple imputation including the specified covariate(s), use of riluzole or edaravone, and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The corresponding ANCOVA models include the specified covariate(s), baseline HHD overall megascore, and use of riluzole or edaravone.
NOTE 3: For the analyses including baseline disease duration since symptom onset in mITT and non mITT population, multiple imputation including use of riluzole or edaravone and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The corresponding ANCOVA models include covariates for baseline disease duration since symptom onset, baseline HHD overall megascore and use of riluzole or edaravone. For the other analyses in mITT and non mITT population, multiple imputation including baseline plasma NfL, use of riluzole or edaravone and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The corresponding ANCOVA models include covariates for the specified covariate(s), baseline plasma NfL, baseline HHD overall megascore and use of riluzole or edaravone.
* No statistical testing was prespecified in SAP Version [redacted]; all p-values are post hoc for SAP V[redacted] analyses.
(a) From the listed ANCOVA analysis based on change from baseline.
Abbreviations: HHD = handheld dynamometry; ALSFRS-R = Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised; ANCOVA = analysis of covariance; MI = multiple imputation; LS = least square; P+DS = placebo + delayed-start tofersen 100 mg; ES = Early-start tofersen 100 mg.
Source: biib067/ise/ise-bla2-global/f-cf-hhd-forest.sas Data cut: 16JAN2022 Run Date: 29SEP2022

4.2.1.2.1.4 患者報告 QoL

探索的に評価した各種患者報告 QoL 評価尺度（ALSAQ-5、FSS、及び EQ-5D）において効果が観察されており、客観的な臨床評価項目でさらに効果が裏付けられた（4.2.1.2.1 項）。

Table 11 Change in QoL Measures From Study 101 Part C Baseline - ITT Population

Endpoint	Study 101 Part C Tofersen (n=72) vs. placebo (n=36) Change from baseline to Week 28	Studies 101 Part C and 102 (ISE SAP V[redacted]) Early-start tofersen (n=72) vs. placebo/delayed-start tofersen (n=36) Change from baseline to Week 52
Change from Baseline on ALSAQ-5		
Adjusted means: Tof, placebo	6.9, 12.6	9.6, 19.9
Tofersen-placebo: adjusted mean (95% CI)	-5.7 (-11.8, 0.4)	-10.3 (-17.33, -3.20)
p-value (ANCOVA/MI)	0.0668	0.0044
Change from Baseline on FSS		
Adjusted means: Tof, placebo	3.9, 6.3	1.3, 5.1
Tofersen-placebo: adjusted mean (95% CI)	-2.4 (-7.5, 2.6)	-3.8 (-9.03, 1.38)
p-value (ANCOVA/MI)	0.3365	0.1493
Change from Baseline on EQ-5D-5L Utility Score		
Adjusted means: Tof, placebo	-0.08, -0.21	-0.1, -0.3
Tofersen-placebo: adjusted mean (95% CI)	0.14 (0.05, 0.23)	0.2 (0.13, 0.32)
p-value (ANCOVA/MI)	0.0029	<0.0001
Change from Baseline on EQ-5D-VAS		
Adjusted means: Tof, placebo	-7.6, -13.6.	-7.0, -12.9
Tofersen-placebo: adjusted mean (95% CI)	6.0 (-0.7, 12.8)	5.9 (-1.54, 13.25)
p-value (ANCOVA/MI)	0.0803	0.1209

NOTE 1: Higher scores on ALSAQ-5 and FSS and lower scores on EQ-5D indicated worsening. Post hoc analyses were conducted for Study 101 Part C; analysis for Studies 101 Part C and 102 was based on the January 2022 data cut and was prespecified. All p-values were nominal.
NOTE 2: The multiple imputation model was based on all participants in the ITT population and included baseline plasma NfL, treatment, use of riluzole or edaravone, relevant baseline score, and postbaseline values.
NOTE 3: Adjusted means, treatment difference and corresponding 95% CIs and nominal p-values were obtained from the ANCOVA model for change from baseline in conjunction with multiple imputation. The ANCOVA models included treatment as a fixed effect and adjusted for the following covariates: baseline plasma NfL, relevant baseline score, and use of riluzole or edaravone.
Sources: 2.7.3 Summary of Clinical Efficacy, Sections 2.2.2.6 and 3.1.2.1.5.

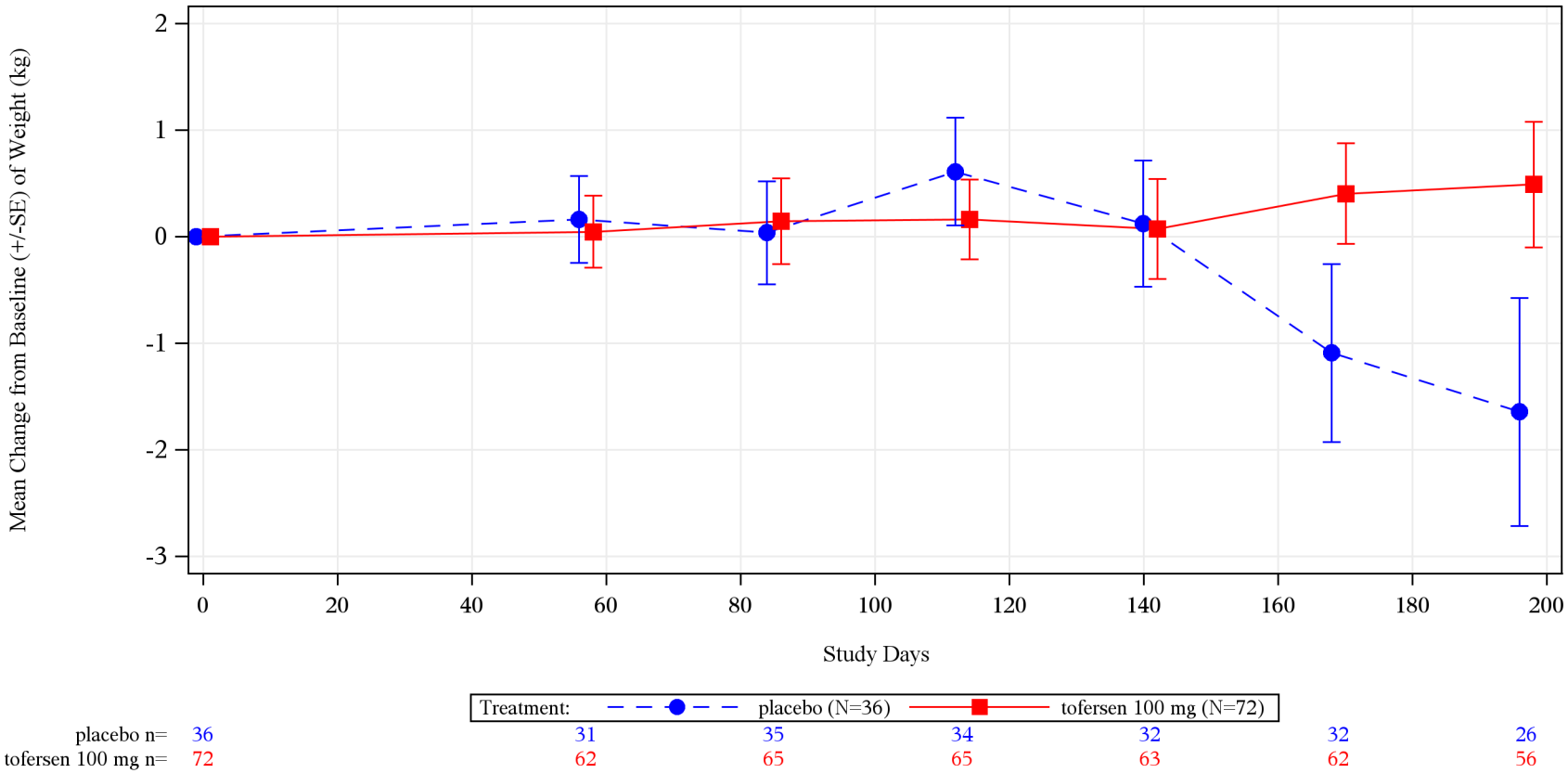
4.2.1.2.1.5 体重

101 試験パート C の安全性評価の一環として、体重を測定した。体重減少は、ALS における生存を単独で予測することが示されている。2420 例の患者集団を対象とした大規模研究では、体重の減少（単位 : kg）の調整ハザード比は 1.03（95% CI : 1.02～1.04、$p < 0.001$）であり、体重が 1 kg 減少するごとに、追跡期間中の死亡リスクが 3%上昇することが示されている［Janse van Mantgem 2020］。

上記の関係を踏まえ、体重の経時的変化に関する探索的有効性解析を実施した。トフェルセン群（平均 77.9 kg）はプラセボ群（平均 80.0 kg）に比べて、ベースラインの体重が低かった。トフェルセン群では平均体重が経時的に増加し（Week 28 時点のベースラインからの平均変化量［±SD］: 0.5 kg［±4.4］）、プラセボ群では減少した（Week 28 時点のベースラインからの平均変化量［±SD］: -1.6 kg［±5.4］）［Figure 18、ISE Appendix 3.1, Accountability and Exposure、Output 16］。

Figure 18 Study 101 Part C: Line Plot of Mean Change From Baseline in Weight ±SE by Visit

Page: 1 of 1



NOTE 1: Baseline is defined as day 1 value prior to the study drug and presented as Day 1. If day 1 value is missing, the non-missing value (including screening visit) closest to and prior to the first dose will be used as the baseline value.
Source: biib067/ise/ise-bla2-global/f-vs-wt-chg-byvis-pc-itt.sas Run Date: 04OCT2022

4.2.1.2.2 生存期間に対するトフェルセンの有効性

4.2.1.2.2.1 イベント発現までの期間

主な副次有効性解析：101 試験パート C

101 試験パート C では試験期間が比較的短く、試験期間中のイベント数が少なかったことから、死亡又は永続的換気までの期間の中央値、並びに死亡までの期間の中央値を推定できなかった。死亡又は永続的換気が必要となった被験者の割合に、トフェルセン群（10%）とプラセボ群（10%）で差はみられなかった（ハザード比 1.39［95% CI：0.22～8.80］）。死亡イベントはトフェルセン群の 1 件（3%）のみであり（プラセボ群 0 件）、死亡までの期間の中央値は推定できなかった。

長期追跡：統合有効性解析

101 試験パート C と 102 試験のデータセットを統合してもイベント数は少なく、死亡又は永続的換気までの期間の中央値、並びに死亡までの期間の中央値を推定できなかった。

しかし、ITT 集団を対象とした（Week 52 以降を含めた）長期追跡では、トフェルセン早期開始によって死亡や永続的換気のリスク及び死亡リスクが明らかに低下した（Figure 19）。試験中止後に収集した生存状況情報を含めた死亡までの期間、並びに死亡、永続的換気、又は疾患進行による試験中止（治験責任医師の判断）までの期間の解析からも、一貫した裏付けとなるエビデンスが示されている。（Table 12）。

また、NfL 中央値による部分集団での time-to-event 解析において、死亡又は永続的換気までの期間は、投与開始遅延群での中央値は約 1.5 年であった。早期開始群ではデータカット時点で中央値を推定できなかったが、無イベント期間が 1 年以上延長した（「2.7.3 臨床的有効性」Table 30 及び Figure 20）。

死亡又は永続的換気までの期間については、感度分析の RPSFTM で re-censoring した結果としない結果を「2.7.3 臨床的有効性」Table 31 に示す。RPSFTM は、生存転帰を伴う試験における治療切替えを調整するために使用される方法である。早期開始群で観察された結果と投与開始遅延群が 102 試験でトフェルセンに切り替えなかったとした場合の予測を比較した。RPSFTM で推定したハザード比及び p 値（log rank 検定及び Cox 回帰）は、実際の生存期間から推定したハザード比及び p 値よりはるかに小さかった（Table 12）。Cox 回帰による p 値は統計学的に有意であり、トフェルセンの治療効果がさらに裏付けられた。RPSFTM での投与開始遅延群（緑色）は、トフェルセンを投与しなかったとした場合、実際の生存期間よりもはるかに早くイベントが発現する傾向を示している（Figure 21）。

Table 12 Time-to-Event Analyses - ITT Population

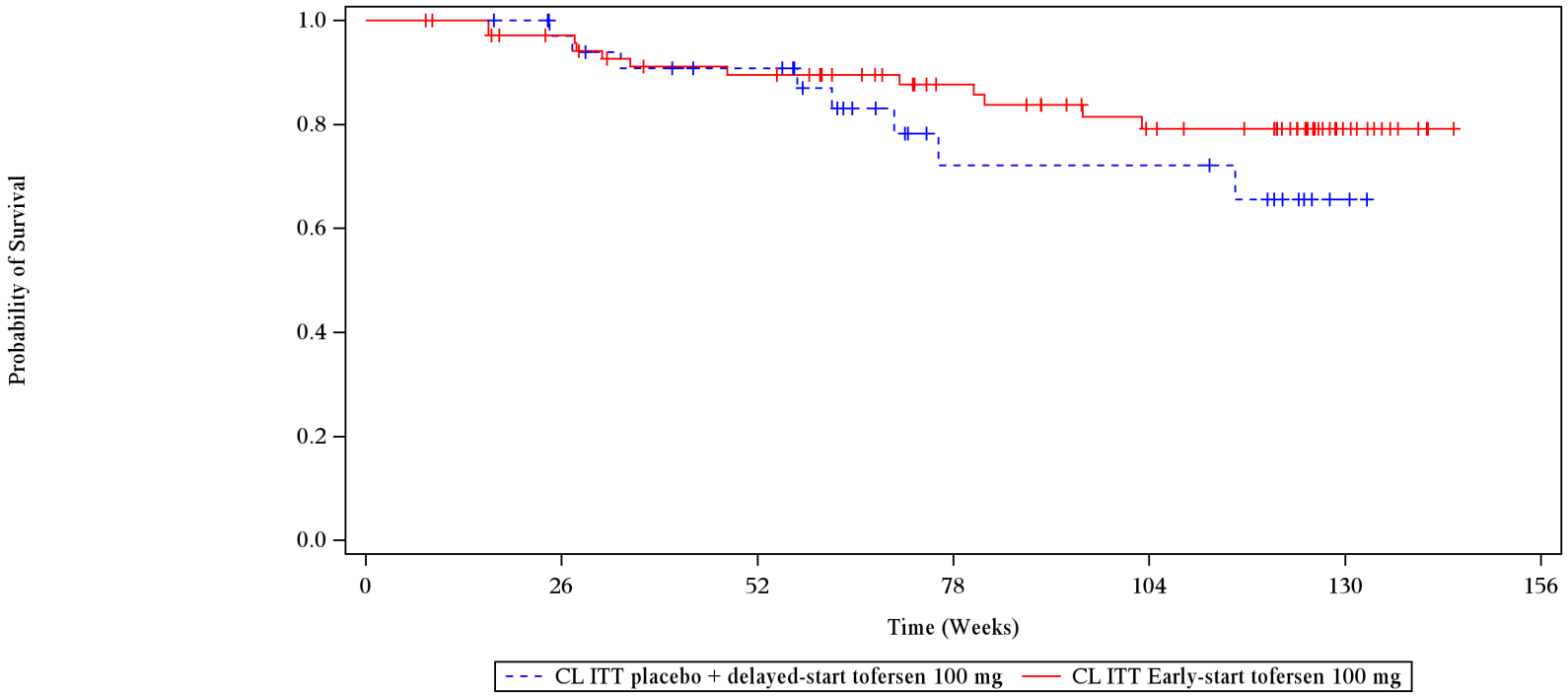
	Studies 101 Part C and 102 (ITT population)	
Endpoint	**Early-start tofersen 100 mg (n=72)**	**Placebo/delayed-start tofersen 100 mg (n=36)**
Time to Death or PV		
Number of events/Total number participants (%)	12/72 (16.7%)	8/36 (22.2%)
Hazard ratio (95% CI)*		0.36 (0.137, 0.941)
Cox regression p-value*		0.0373
Log-rank test p-value**		0.0687
Time to Death		
Number of events/Total number participants (%)	8/72 (11.1%)	6/36 (16.7%)
Hazard ratio (95% CI)*		0.27 (0.084, 0.890)
Cox regression p-value*		0.0313
Log-rank test p-value**		0.0879
Time to Death with Additional Postwithdrawal Vital Status Data* **		
Number of events/Total number participants (%)	12/72 (16.7%)	11/36 (30.6%)
Hazard ratio (95% CI)*		0.24 (0.096, 0.602)
Cox regression p-value*		0.0023
Log-rank test p-value**		0.0096
Time to Death, PV, or Withdrawal Due to Disease Progression		
Number of events/Total number participants (%)	18/72 (25.0%)	13/36 (36.1%)
Hazard ratio (95% CI)*		0.38 (0.180, 0.821)
Cox regression p-value*		0.0135
Log-rank test p-value**		0.0217

NOTE 1: Analysis for Studies 101 Part C & 102 was based on January 2022 data cut and was prespecified. All p-values were nominal.
NOTE 2: Median time was not estimable.
NOTE 3: Time to death or permanent ventilation was defined as the time from first dose to death or permanent ventilation (≥ 22 hours of mechanical ventilation [invasive or noninvasive] per day for ≥ 21 consecutive days), whichever comes first. Participants who did not meet the endpoint definition were censored at the participant's last known alive date. Similarly, time to death, permanent ventilation or withdrawal due to disease progression was defined from first dose to first of these events. Only events that were adjudicated by the Endpoint Adjudication Committee were included for these analyses. Withdrawal due to disease progression was based on the investigator assessment reported on the EOS CRF. For time to death with additional postwithdrawal vital status data, the analysis incorporated vital status data obtained after discontinuation from Studies 101 Part C or 102 for participants who discontinued for reasons other than death.
*Based on a Cox proportional hazards model adjusted for baseline plasma NfL, and riluzole or edaravone use.
**Based on a log rank test stratified by median baseline plasma NfL.
Source: 2.7.3 Summary of Clinical Efficacy Section 3.1.2.1.4.1.
.

Figure 19 233AS101 and 233AS102 ISE: Kaplan-Meier Plot of Time to Death or Permanent Ventilation for Pooled Group CL - ITT Population

233AS101 and 233AS102 ISE: Kaplan-Meier plot of time to death or permanent ventilation for pooled group CL - ITT population

Page: 1 of 1

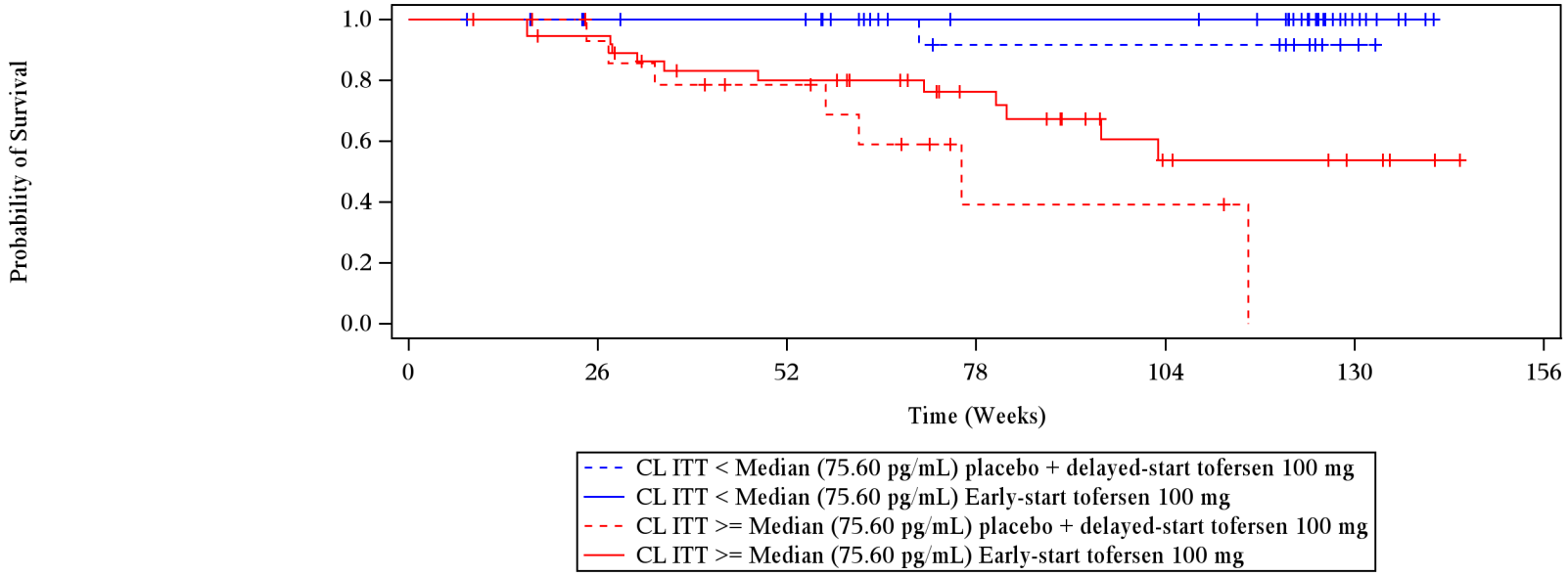


NOTE 1: Time to death or permanent ventilation is defined as the time from first dose to death or permanent ventilation (>= 22 hours of mechanical ventilation [invasive or noninvasive] per day for >= 21 consecutive days), whichever comes first. Subjects who do not meet the endpoint definition are censored at the subject's last known alive date. Only events that were adjudicated by the Endpoint Adjudication Committee are included.
NOTE 2: + indicates censored data.
Source: biib067/ise/ise-bla2/f-vafs-km-clitt.sas Data cut: 16JAN2022 Run Date: 15MAR2022

Figure 20 Kaplan-Meier Plot of Time to Death or Permanent Ventilation by Median Baseline Plasma NfL - ITT Population

233AS101 and 233AS102 ISE: Kaplan-Meier plot of time to death or permanent ventilation by median baseline plasma NfL level for pooled group CL - ITT population

Page: 1 of 1



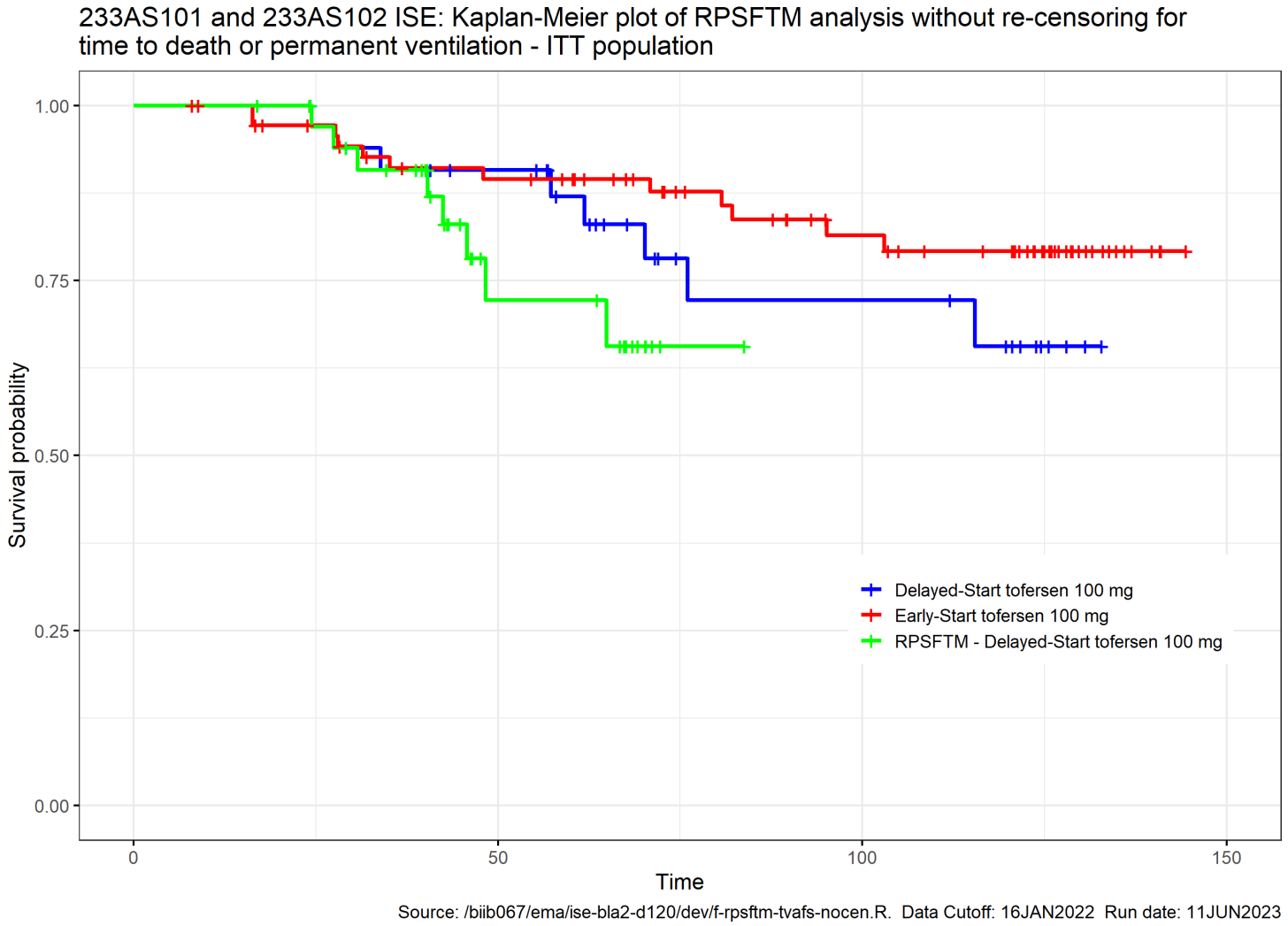
At Risk:

CL ITT < Median (75.60 pg/mL) placebo + delayed-start tofersen 100 mg	20	19	18	10	10	2	0
CL ITT < Median (75.60 pg/mL) Early-start tofersen 100 mg	34	31	31	27	27	7	0
CL ITT >= Median (75.60 pg/mL) placebo + delayed-start tofersen 100 mg	16	13	9	2	2	0	
CL ITT >= Median (75.60 pg/mL) Early-start tofersen 100 mg	38	34	26	17	7	4	0

NOTE 1: Time to event is defined as the time from first dose to death or permanent ventilation (>= 22 hours of mechanical ventilation [invasive or noninvasive] per day for >= 21 consecutive days), whichever comes first. Subjects who do not meet the endpoint definition are censored at the subject's last known alive date. Only events that were adjudicated by the Endpoint Adjudication Committee are included.
NOTE 2: + indicates censored data.

Source: biib067/ise/ise-bla2/f-phoc-vafs-km-pnfl-clitt.sas **Run Date:** 14MAR2022

Figure 21 Kaplan-Meier Plot of RPSFTM Analysis Without Recensoring for Time to Death or Permanent Ventilation - ITT Population

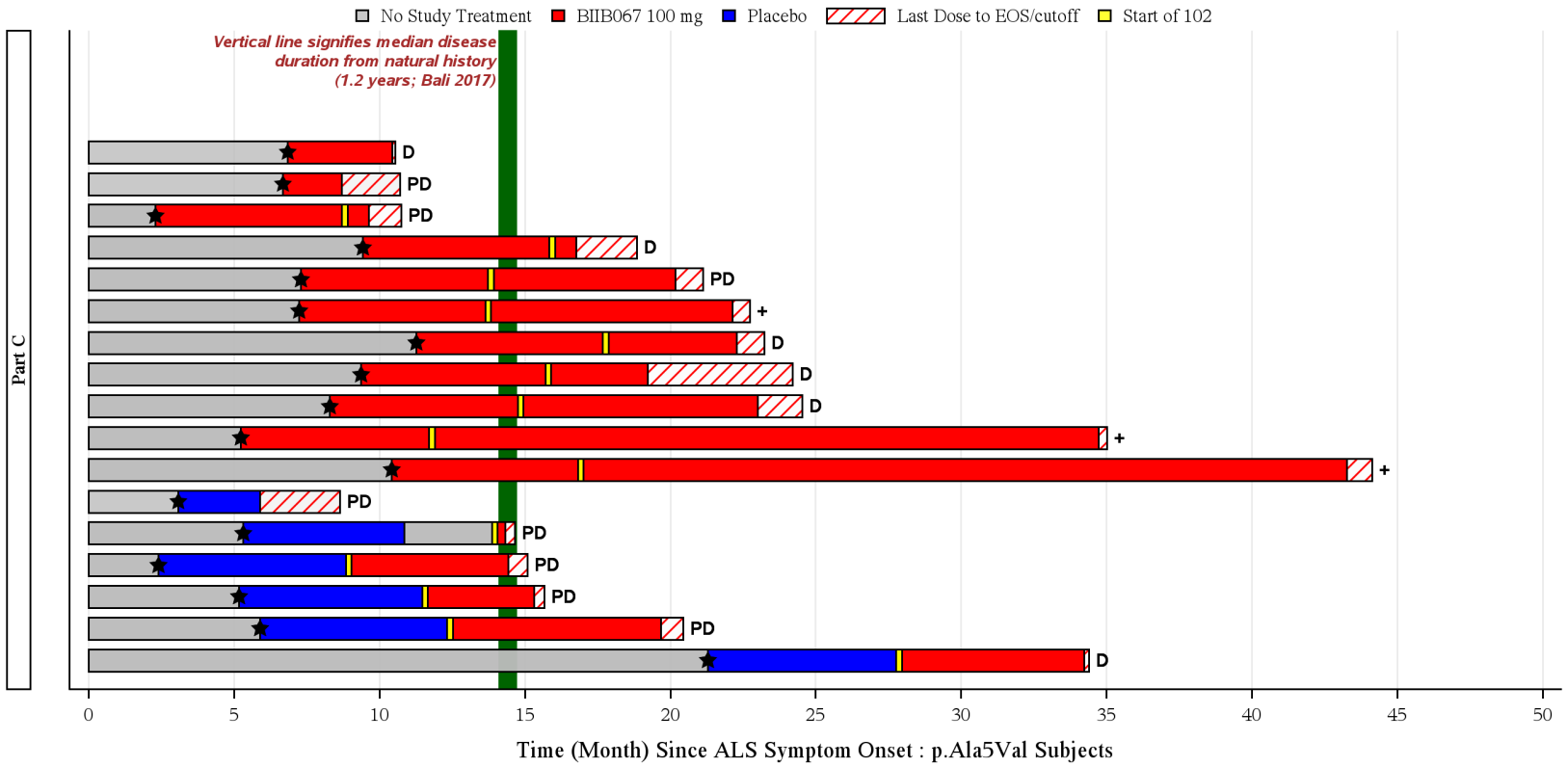


4.2.1.2.2.2 変異に特化した罹病期間（トフェルセンを投与された A5V 変異キャリア）

投与開始遅延に関する解析結果は、自然歴を有する *SOD1* 変異の罹病期間の記述的解析により裏付けられており、その変異は文献等でも特徴が示されている。このような変異の 1 つが p.Ala5Val（A5V、A4V）で、この SOD1 変異は急速に疾患が進行することが一貫して示されている［Bali 2017; Cudkowicz 1997］。比較のため、2022 年 1 月 16 日のデータカット時点で、トフェルセンを 1 回以上投与された A5V 変異を有する被験者（16 例）における症状発現から死亡、又は中途打ち切り（試験中止、又はデータカット）までの期間（中央値）を記述的に算出したところ（Kaplan-Meier 法に基づく正式な統計推定ではない）、1.73 年であった（Figure 22）。この値は、データカット時点で試験を継続中の被験者（3 例［19%］、罹病期間 1.89～3.68 年）や試験中止した被験者（7 例［43.8%］）の中途打切りにより、生存期間の中央値としては保守的になっている。

Figure 22 233AS101 and 233AS102 ISE: Stacked Bar Chart of Disease Duration Since Symptom Onset for p.Ala5Val Subjects From 233AS101 Part C

Page: 1 of 1



NOTE 1: The star sign presents the time when the study treatment initiated. The plus sign indicates the subject is still ongoing.
Abbreviations: PD = progressive disease; D = death; O = other; LTF = lost to follow up; WBS = withdrawal by subject; EOS = end of study (not enrolled in 233AS102).
Source: biib067/ise/ise-bla2-global/f-cf-disdur-sb-a4v-pc.sas Data cut: 16JAN2022 Run Date: 11OCT2022

4.2.1.2.3 日本人集団の有効性

4.2.1.2.3.1 患者集団

日本人集団を対象とした 101 試験パート C では、7 例が無作為化された（プラセボ群：4 例、トフェルセン群：3 例）。日本人集団では、mITT 集団が 1 例（プラセボ群）、及び non-mITT 集団が 6 例（プラセボ群：3 例、トフェルセン群：3 例）であった。7 例全例が 101 試験パート C を完了し、102 試験に移行した（早期開始群：3 例、投与開始遅延群：4 例）。102 試験では、早期開始群の被験者 1 例が疾患進行のため試験を中止した。102 試験の 2022 年 1 月 16 日のデータカット時点で 6 例が継続中であった（早期開始群：2 例、投与開始遅延群：4 例）。

日本人集団では、年齢は 35～58 歳であり、男性が 3 例及び女性が 4 例であった。ベースライン時にリルゾールの投与を 6 例、及びエダラボンの投与を 4 例が受けていた。日本人集団での SOD1 の変異型は p.Gly94Ser（3 例）、p.His47Arg（3 例）、及び p.Leu127Ser（1 例）であった。日本人集団におけるベースライン時の血漿中 NfL 濃度は 12.7～110.8 pg/mL であった。

4.2.1.2.3.2 有効性

少数での日本人被験者の結果を評価するために、統合解析での mITT 集団／/non-mITT 集団、NfL による部分集団、及び ITT 集団における各評価項目のベースラインからの推移を示す。なお、ITT 集団の解析では、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度を共変量として組み入れていない。日本人集団の被験者数が少なかったことから、正式な解析は実施しなかった。

ALSFRS-R

mITT/non-mITT 集団、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度の中央値未満／以上の部分集団及び ITT 集団において、日本人集団での ALSFRS-R のベースラインからの経時的な変化（オレンジ色の線）は、おおむね全体集団（早期開始群及びプラセボ／投与開始遅延群）の変動の範囲内であった（「2.7.3 臨床的有効性」3.1.2.3.2.1 項）。

SVC

mITT/non-mITT 集団、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度の中央値未満／以上の部分集団、及び ITT 集団において、日本人集団での SVC%予測値のベースラインからの経時的な変化は、おおむね全体集団（早期開始群及びプラセボ／投与開始遅延群）の変動の範囲内であった（「2.7.3 臨床的有効性」3.1.2.3.2.2 項）。

HHD メガスコア

mITT/non-mITT 集団、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度の中央値未満／以上の部分集団、及び ITT 集団において、日本人集団における HHD メガスコアのベースラインからの経時的な変化は、おおむね全体集団（早期開始群及びプラセボ／投与開始遅延群）の変動の範囲内であった（「2.7.3 臨床的有効性」3.1.2.3.2.3 項）。

死亡及び永続的換気に関するイベント

日本人集団での死亡及び永続的換気は報告されなかった(「2.7.3 臨床的有効性」3.1.2.3.2.4 項)。

4.2.1.3 NfL と臨床機能及び生存の関連性

4.2.1.3.1 臨床症状の悪化の緩徐化及び生存の延長に先行して認められ、緩徐化を予測したニューロフィラメントの減少

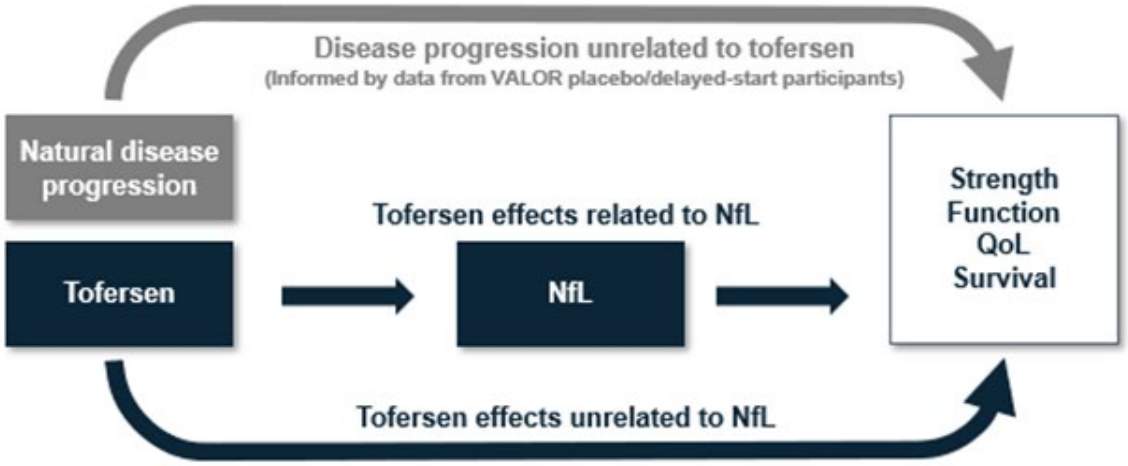
Figure 6 に示すように、トフェルセン投与によるニューロフィラメントの減少は、SOD1 タンパク質の発現の抑制後、Week 16 頃までに減少が最下点となった。このようなニューロフィラメントの減少は、臨床機能、呼吸機能、筋力、及び QoL の低下に緩徐化が認められる前に生じている(これらの緩徐化は Week 52 までは明らかではなかった)(4.2.1.2 項)。

ニューロフィラメントの減少は、101 試験パート C のトフェルセン群のほぼすべての被験者にみられた(Figure 7)。そこで、トフェルセン投与によるニューロフィラメントの減少と臨床的ベネフィットの関連性をさらに評価する目的で、統計学的因果推論モデルを開発した。特に本モデルは ITT 集団を対象として、Week 16 時点でのトフェルセン投与による血漿中 NfL 濃度の減少と、Week 28 時点での各種臨床評価項目(ALSFRS-R、SVC、HHD、ALSAQ-5、EQ-5D-5L utility score)の進行緩徐化及び生存の評価項目との関連性を明らかにしている。統計学的モデルの重要な構成要素の 1 つとして、プラセボ群の被験者のデータを用い、トフェルセンを投与した被験者での反実仮想的な自然疾患進行を推定した。このことから、本モデルを用いることにより、被験者間で異なる自然疾患進行速度を説明することができた(例:ベースラインのニューロフィラメント濃度が高い被験者はベースラインの濃度が低い被験者に比べて、試験期間中の機能喪失が大きいと予想される)。統計モデルの詳細を「2.7.2 臨床薬理の概要」Appendix 1 に示す。

統計学的モデルの基礎にある概念を Figure 23 に示す。仮にトフェルセン群の被験者にプラセボが投与されていたとすると、それらの被験者は、プラセボのデータから推定可能な自然疾患進行の経過を辿っていたと考えられる。トフェルセン群の被験者の疾患進行の経過は、潜在的な薬物の影響によって変化することが考えられる。こうして、本モデルでは、トフェルセン群の被験者で観察された治療効果を以下の 3 つの要素で構成される。

1. 反実仮想的な自然疾患進行による変化
   101 試験パート C の投与開始遅延群のデータを用いて以下のとおり推定した。
   a. Week 28 の機能/筋力/QoL の評価項目の解析では、101 試験パート C のプラセボ群の被験者のデータを用いて、自然な疾患進行によるこれら評価項目の低下を推定した。
   b. 生存関連イベントの解析では、投与開始遅延群のデータを用いて、自然な疾患進行によるイベントが発現するリスクを保守的に推定した。
2. NfL 経路を介したトフェルセンの効果による変化
3. バイオマーカー以外の経路/因子を介したトフェルセンの効果による変化

Figure 23　Statistical Model Framework



本モデルは、早期（Week 16）のトフェルセンによるニューロフィラメントの低下と、Week 28 におけるすべての臨床評価項目の悪化の減少との関連を示す（Table 13）。

ALSFRS-R については、モデルからベースライン時の血漿中 NfL 濃度の平均が約 97 pg/mL の被験者が Week 16 で血漿中 NfL 濃度が 10 pg/mL 低下すると、Week 28 に ALSFRS-R の低下が平均で約 0.8 ポイント減少することが示唆された。NfL 濃度が 60%低下すると、トフェルセンを投与しない場合と比較して Week 28 の ALSFRS-R の低下が約 4.5 ポイント減少する。本解析の p 値（0.0038）は、自然な疾患進行及びニューロフィラメント以外の経路を介した本剤の効果を調整した場合の関連の強さを反映している。

この関係は動的であり、ベースライン時の NfL 濃度が高く、疾患進行が速い被験者では、差が大きくなり、自然な疾患進行との違いを示す機会が多くなると考えられる。

また、トフェルセンを投与された被験者の臨床機能の低下は、トフェルセンを投与されていない被験者における本モデルから推定した低下よりも小さかった（「2.7.2 臨床薬理の概要」Table 11）。

Table 13　Study 233AS101 Part C: Relationship Between Reduction in Plasma NfL due to Tofersen and Reduction in Worsening in Clinical Function

Clinical Outcome Measure	Reduction in Worsening With Tofersen (vs. untreated) per 1 Unit of NfL Lowering at Sample Mean Baseline NfL (96.78 pg/mL)
ALSFRS-R total score	0.0772 (p=0.0038)
SVC (percent-predicted)	0.1451 (p=0.0706)
HHD overall megascore	0.0029 (p=0.1303)
ALSAQ-5 total score	0.2194 (p=0.0056)
EQ-5D-5L utility score	0.0017 (p=0.0894)

Sources: ISE Appendix 3.3.3 NfL Modeling, Outputs 6 to 10

この統計モデルは、トフェルセンによる早期（Week 16）での血漿中 NfL 濃度の低下が、死亡相当イベントのリスクの低下と直接的な関連についても裏付けている（Table 14）。

Table 14 Relationship Between Reduction in Plasma NfL and Reduction in Event Risk Due to Tofersen Treatment

Survival Endpoints	Tofersen Effect Through Biomarker	Percent Reduction in Event Risk With Tofersen Relative To 10 Unit Of NfL Lowering [a]
Time To Death	0.0175 (p = 0.3690)	16.1
Time To Death Or PV	0.0224 (p = 0.1119)	20.1
Time To Death, PV, Or Withdrawal Due To Disease Progression	0.0287 (p = 0.0100)	24.9
Time To Death With Additional Vital Status	0.0284 (p = 0.0318)	24.7

Sources: ISE Appendix 3.3.3 NfL Modeling, Outputs 36 to 39.

4.2.1.3.2 臨床的ベネフィットに先行して認められ、臨床的ベネフィットを予測したニューロフィラメントの減少

軸索の損傷又は変性が生じると、ニューロフィラメントは間質液中に漏出した後、CSF 及び血液中に侵入するため、濃度測定が可能になる。ALS では、ニューロフィラメントの増加が、他のほぼすべての神経変性疾患で観察される増加を上回っている。ALS の文献では、ニューロフィラメント濃度が疾患進行及び生存の予後因子であり、高濃度ほど進行が速く、生存期間が短いことが一貫して示されている。すべての ALS 治療でニューロフィラメント減少が認められるわけではない（作用機序の違いなどによる）が、総じてニューロフィラメント濃度減少は軸索損傷及び神経変性の緩徐化を表していると考えられており、したがって、治療効果を示すエビデンスである。

トフェルセン投与は、その標的作用機序と一致して、一貫してニューロフィラメントを減少させ、長期にわたりその効果は持続した。これらの減少は Week 12～16 までに観察されており、臨床機能、呼吸機能、筋力、及び QoL の進行緩徐化に先行していた（これらの緩徐化は Week 52 までは明らかではなかった）。

また、101 試験パート C からのデータを基に構築した統計モデルによると、トフェルセン投与による早期（Week 16）の血漿中 NfL 濃度の減少は、より後の時点（Week 28）にみられる臨床機能の有意に少ない低下及び無イベント期間及び生存期間の延長と直接関連している（4.2.1.3.1 項）。

4.2.2 2023 年 2 月の中間解析での有効性の結果

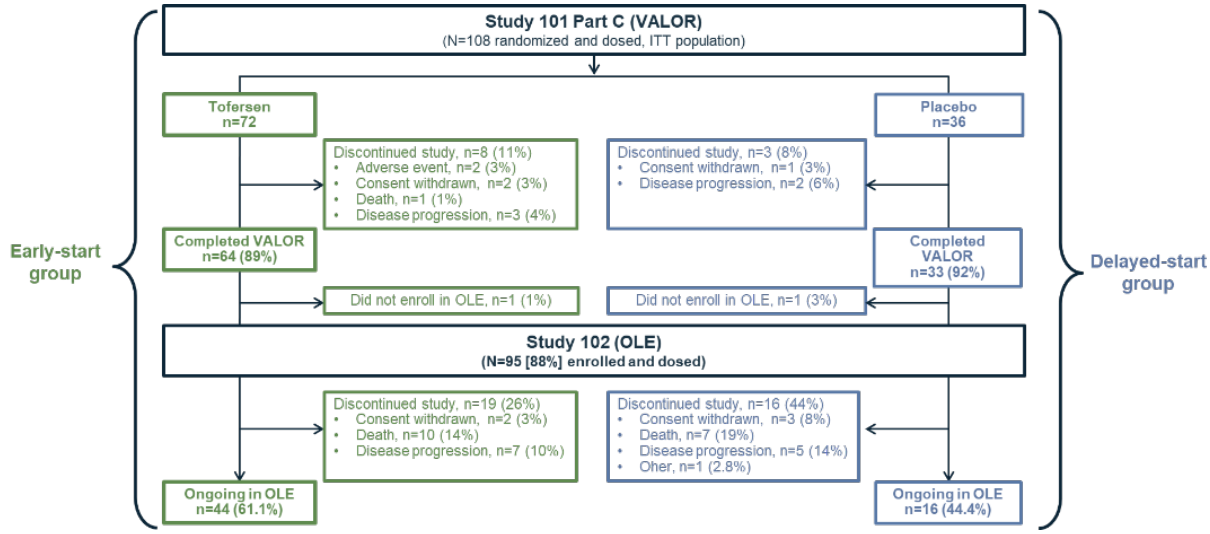
4.2.2.1 被験者集団

101 試験パート C で無作為化された 108 例中 95 例（88%）が 102 試験でトフェルセン 100 mg を投与された。2023 年 2 月 28 日の中間データカット時点で、プラセボ／投与開始遅延群の 16 例（44.4%）及び早期開始群の 44 例（61.1%）が 102 試験を継続中であった（ISE Addendum Appendix 2.1、Output 1）。

101 試験パート A 及び B の 68 例中 44 例（65%）が 102 試験に移行し、トフェルセンが投与さ

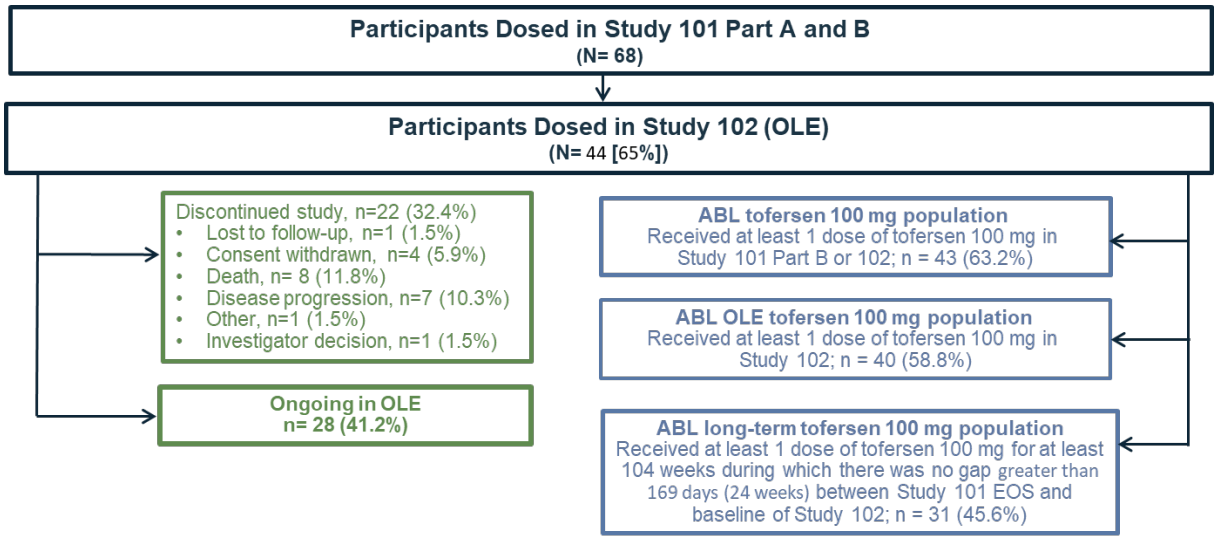
れた。2023 年 2 月 28 日の中間データカット時点で、68 例中 28 例（41.2%）が 102 試験を継続中であった。101 試験パート B 又は 102 試験では、計 43 例がトフェルセン 100 mg を 1 回以上投与され、102 試験では 40 例がトフェルセン 100 mg の投与を 1 回以上された。計 31 例が ABL トフェルセン 100 mg 長期投与集団であった（ISE Addendum Appendix 2.1、Output 2）。

Figure 24: Flow of Participants From Study 101 Part C to Week 104 in Study 102



Sources: 2.5 Clinical Overview, Figure 11; 2.7.3, ISE Addendum Appendix 2.1, Output 1

Figure 25: Flow of Participants From Study 101 Parts A and B to Week 104 in Study 102



Note: Participant disposition at the data cut is based on the total number of participants who were initially dosed in Study 101 Part A and B.
Source: ISE Addendum Appendix 2.1, Output 2.

4.2.2.2 臨床的有効性の結果

4.2.2.2.1 臨床機能、筋力及び生活の質に対するトフェルセンの有効性

トフェルセンの長期投与が有効性に及ぼす影響についてさらに検討するため、実施中の継続試

験である 102 試験の追加のデータカットを行った。

以前のデータカットから約 1 年間経過した今回の追加の観察（データカット：2023 年 2 月 28 日）では、早期開始群で投与開始遅延群と比較して、機能、筋力、及び QoL の低下の緩徐化が継続して認められた。データカット時点（2023 年 2 月 28 日）で、ITT 集団（108 例）を対象にベースライン時の血漿中 NfL 濃度を共変量として調整し、特定の評価項目について Week 104 のベースラインからの変化量について解析を行った。投与開始遅延群と早期開始群の両投与群で、Week 28 以降にトフェルセン投与を受ける機会があることから、予想されたとおり、追跡期間が長くなるにしたがって投与群の差はある程度まで小さくなった。しかし、機能、筋力、及び QoL の評価項目全体で、早期開始群を支持する差が認められた（Table 15）。

保守的な解析にもかかわらず、投与群間の差は臨床的に重要であった。

- ALSFRS-R 合計スコア：投与群の差はある程度小さくなったものの、これまでの評価時点と同様に、早期開始群を支持する差が継続して認められ、その差は 3.7 ポイントであった。1 ポイントのスコアの低下は、補助があれば歩行可能な状態と歩行不能な状態の差を示し、死亡又は気管切開のリスクが 7%上昇する関連性も示されている［Kaufmann 2005］。低下は必ずしも線形ではない［Cudkowicz 2013; McElhiney 2014; Ramamoorthy 2022］が、ALS 患者では平均約 1 ポイント／月の低下が推定されている［Cudkowicz 2013］。SOD1-ALS 患者での機能に関する自然歴のデータは少ないものの、SOD1-ALS の治療薬として Arimoclomol を評価するためにデザインされた 12 ヵ月間の試験［Benatar 2018］に着目すると、この試験では急速進行性の A5V キャリア（36 例中 26 例）が多かったが、プラセボ群（19 例）及び Arimoclomol 群（17 例）で、ALSFRS-R がそれぞれ平均 3 及び 2.5 ポイント／月低下した。一方、101 試験パート C 及び 102 試験では、トフェルセンの早期開始群及び投与開始遅延群において、24 ヵ月間でそれぞれ 9.5 ポイント及び 13.2 ポイント（ANCOVA＋MI の調整済み平均）のみの低下であった。この解釈の限界として、一般に、SOD1-ALS 集団における希少性及び不均一性を考慮すると、異なる研究報告で得られた自然歴との比較は注意すべきであると考える。McElhiney が指摘したように、ALSFRS-R は臨床試験で広く使用されているが、臨床的に意味のある変化との関連性は明確ではなく、6 ヵ月間よりも長い期間を設定する必要がある［McElhiney 2014］。そのため、トフェルセンの有効性を解釈する際には、101 試験及び 102 試験の長期のデータ（2 年間）並びに ALSFRS-R とその他の評価項目での一貫した有効性を考慮することが重要である。
- SVC%予測値：早い評価時点で認められた呼吸筋力での効果は Week 104 まで持続し、SVC%予測値で早期開始群を支持する 9.7%の差が認められた。SVC%予測値の減少の速度が 1.5%／月減少すると、6 ヵ月後のいずれかの時点での最初の呼吸不全又は死亡、最初の気管切開、又は死亡、及び死亡のリスクはそれぞれ 22%、23%、及び 23%低下することから（$p<0.001$）［Andrews 2018］、SVC%予測値での早期開始群を支持する 9.7%の差は患者に対して臨床的に影響のある結果である。
- HHD メガスコア：投与群の差はある程度小さくなったものの、これまでの評価時点と同様に、早期開始群を支持する結果（0.19 ポイントの差）が継続して認められ、筋力低下の緩徐化は ALS の自然歴で一般的に認められる進行性の低下とは異なると考えられた［Cudkowicz 2013; Shefner 2016］。

ALSFRS-R 合計スコア、SVC%予測値、及び HHD メガスコアにおいて、解析集団（ITT 集団又は部分集団）及びモデルに含めた共変量によらず、早期開始群を支持する差が認められた（それぞれ Figure 26、Figure 27、及び Figure 28）。また、感度分析として ALSFRS-R に reference-based multiple imputation（MI）を実行した。Reference-based MI は、欠測に対して「MAR」の仮定ではなく、プラセボ／投与開始遅延群を参照した仮定をおくことにより感度分析を実施する手法である。これらの解析は保守的であり、治療効果を過小評価する可能性があるが、推定された効果の大きさは実施した様々な方法（MAR、J2R、CR、及び CIR）で臨床的に重要であり、MI を併用した ANCOVA の妥当性が裏付けられた（Table 15）。

Table 15 Summary of Clinical Function, Strength, and QoL Analyses on Change From Study 101 Part C Baseline to Week 100/104 – ITT Population Adjusted for Baseline Plasma NfL

Endpoint		**Placebo/ delayed-start (n=36)**	**Early-start (n=72)**	**Adjusted mean difference (95%CI) p-value**	**Reference-based imputation on missing data after intercurrent events using RConjPlus Adjusted mean difference (95%CI); p-value**	**Reference-based imputation on missing data after intercurrent events using FiveMacros Adjusted mean difference (95%CI); p-value**
ALSFRS-R	Original MI approach	-13.2	-9.5	3.7 (-0.7, 8.2) ANCOVA+MI: p=0.1004 Original JRT: p=0.0835 Alternative JRT: p=0.0335	MAR: 4.3 (-0.52, 9.10); p=0.0835 J2R: 3.3 (-1.69, 8.27); p=0.1986 CR: 4.0 (-0.84, 8.75); p=0.1093 CIR: 3.7 (-1.15, 8.54); p=0.1381	MAR: 4.4 (-0.45, 9.35); p=0.0754 J2R: 3.6 (-1.35, 8.64); p=0.1523 CR: 4.2 (-0.65, 9.03); p=0.0896 CIR: 4.0 (-0.90, 8.89); p=0.1098
	MI with imputation to 0 after death	-16.2	-10.6	5.6 (0.06, 10.5) p=0.0280	MAR: 4.8 (-0.26, 9.87); p=0.0662 J2R: 4.1 (-1.09, 9.22); p=0.1255 CR: 4.5 (-0.56, 9.53); p=0.0845 CIR: 4.3 (-0.75, 9.41); p=0.0981	MAR: 5.4 (0.15, 10.63); p=0.0437 J2R: 4.9 (-0.35, 10.22); p=0.0671 CR: 5.3 (0.05, 10.50); p=0.0480 CIR: 5.2 (-0.07, 10.42); p=0.0530
Percent-predicted SVC		-24.2	-14.5	9.7 (-0.8, 20.2) p=0.0702	N/A	N/A
HHD megascore		-0.58	-0.39	0.19 (-0.097, 0.474) p=0.1946	N/A	N/A
ALSAQ-5*		22.5	15.9	-6.6 (-16.34, 3.15) p=0.1845	N/A	N/A
FSS*		1.5	4.2	2.7 (-2.64, 8.13) p=0.3174	N/A	N/A
EQ-5D-5L		-0.3	-0.1	0.2 (0.03, 0.29) p=0.0131	N/A	N/A

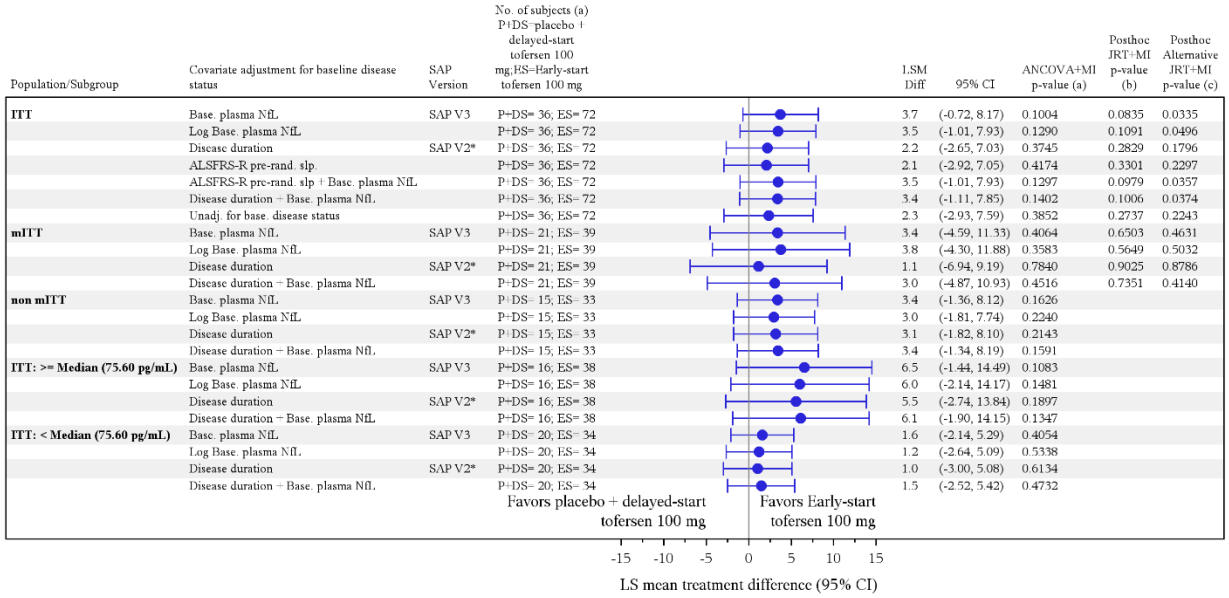
*Higher scores indicate worsening.

Note 1: For ALSFRS-R, SVC, and HHD, results are presented at Week 104. For ALSAQ-5, FSS, and EQ-5D-5L, results are presented at Week 100. The difference in assessment week is due to assessments been performed at different visits.

Sources: 2.7.3 Summary of Clinical Efficacy, Table 36, Table 37, Table 38, Table 41, Table 44 and Table 47.

Figure 26: Forest Plot of ALSFRS-R Total Score Change From Baseline to Week 104

Page: 1 of 2



Population/Subgroup	Covariate adjustment for baseline disease status	SAP Version	No. of subjects (a) P+DS−placebo + delayed-start tofersen 100 mg;ES=Early-start tofersen 100 mg	LSM Diff	95% CI	ANCOVA+MI p-value (a)	Posthoc JRT+MI p-value (b)	Posthoc Alternative JRT+MI p-value (c)
ITT	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 36; ES= 72	3.7	(-0.72, 8.17)	0.1004	0.0835	0.0335
	Log Base. plasma NfL		P+DS= 36; ES= 72	3.5	(-1.01, 7.93)	0.1290	0.1091	0.0496
	Disease duration	SAP V2*	P+DS= 36; ES= 72	2.2	(-2.65, 7.03)	0.3745	0.2829	0.1796
	ALSFRS-R pre-rand. slp.		P+DS= 36; ES= 72	2.1	(-2.92, 7.05)	0.4174	0.3301	0.2297
	ALSFRS-R pre-rand. slp + Base. plasma NfL		P+DS= 36; ES= 72	3.5	(-1.01, 7.93)	0.1297	0.0979	0.0357
	Disease duration + Base. plasma NfL		P+DS= 36; ES= 72	3.4	(-1.11, 7.85)	0.1402	0.1006	0.0374
	Unadj. for base. disease status		P+DS= 36; ES= 72	2.3	(-2.93, 7.59)	0.3852	0.2737	0.2243
mITT	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 21; ES= 39	3.4	(-4.59, 11.33)	0.4064	0.6503	0.4631
	Log Base. plasma NfL		P+DS= 21; ES= 39	3.8	(-4.30, 11.88)	0.3583	0.5649	0.5032
	Disease duration	SAP V2*	P+DS= 21; ES= 39	1.1	(-6.94, 9.19)	0.7840	0.9025	0.8786
	Disease duration + Base. plasma NfL		P+DS= 21; ES= 39	3.0	(-4.87, 10.93)	0.4516	0.7351	0.4140
non mITT	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 15; ES= 33	3.4	(-1.36, 8.12)	0.1626		
	Log Base. plasma NfL		P+DS= 15; ES= 33	3.0	(-1.81, 7.74)	0.2240		
	Disease duration	SAP V2*	P+DS= 15; ES= 33	3.1	(-1.82, 8.10)	0.2143		
	Disease duration + Base. plasma NfL		P+DS= 15; ES= 33	3.4	(-1.34, 8.19)	0.1591		
ITT: >= Median (75.60 pg/mL)	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 16; ES= 38	6.5	(-1.44, 14.49)	0.1083		
	Log Base. plasma NfL		P+DS= 16; ES= 38	6.0	(-2.14, 14.17)	0.1481		
	Disease duration	SAP V2*	P+DS= 16; ES= 38	5.5	(-2.74, 13.84)	0.1897		
	Disease duration + Base. plasma NfL		P+DS= 16; ES= 38	6.1	(-1.90, 14.15)	0.1347		
ITT: < Median (75.60 pg/mL)	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 20; ES= 34	1.6	(-2.14, 5.29)	0.4054		
	Log Base. plasma NfL		P+DS= 20; ES= 34	1.2	(-2.64, 5.09)	0.5338		
	Disease duration	SAP V2*	P+DS= 20; ES= 34	1.0	(-3.00, 5.08)	0.6134		
	Disease duration + Base. plasma NfL		P+DS= 20; ES= 34	1.5	(-2.52, 5.42)	0.4732		

Footnotes are displayed on last page.
Source: biib067/ise/ise-bla4/f-cf-alsf-forest-w104.sas **Data Cutoff:** 28FEB2023 **Run Date:** 31MAY2023

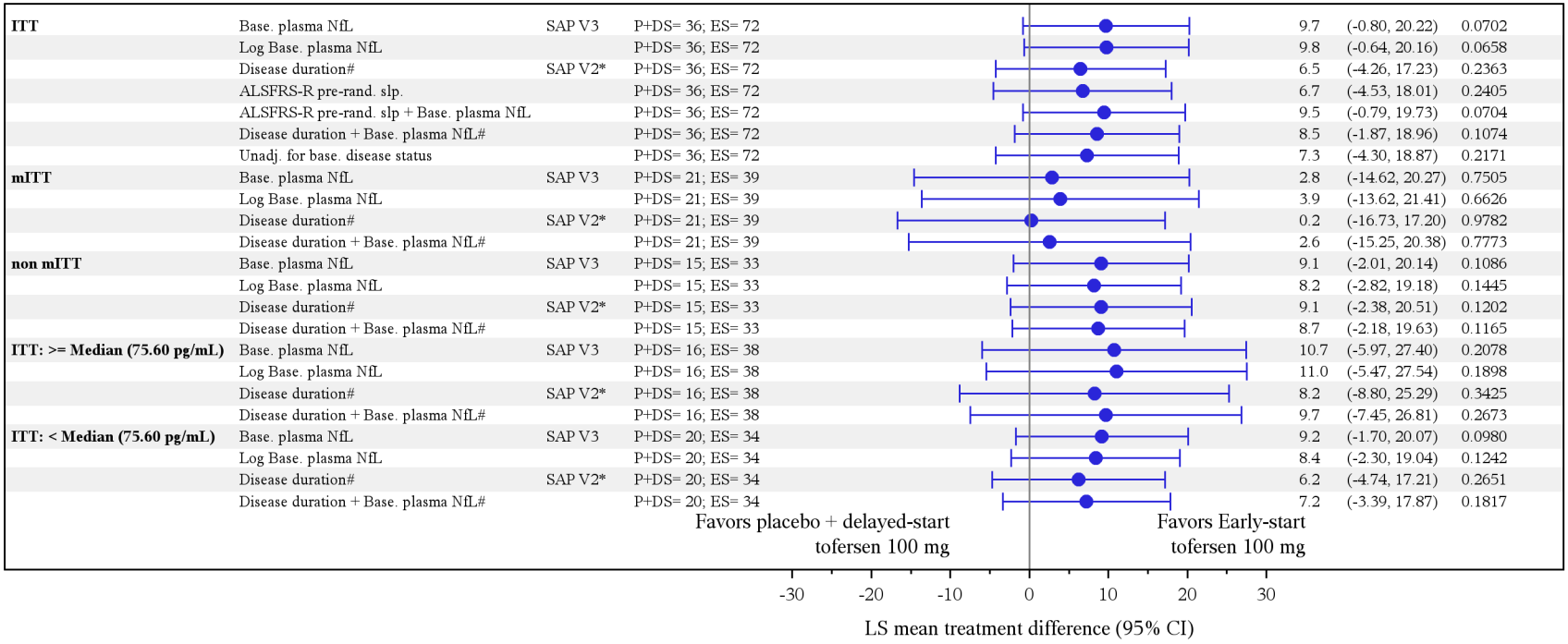
233AS101 and 233AS102 ISE: Forest plot of ALSFRS-R total score change from baseline to Week 104

NOTE 1: SAP V[redacted] is the integrated efficacy SAP that was finalized prior to the final database lock for 233AS101 and interim lock for 233AS102 based on 16 July 2021 data cut; prespecified analyses were primarily based on disease progression subgroups and adjusted for disease duration since symptom onset. SAP V[redacted] was an amendment to the integrated efficacy SAP following the initial data readout and incorporated plasma NfL as a covariate with the focus on the ITT population. SAP V[redacted] was finalized prior the interim lock for 233AS102 based on 16 January 2022 data cut.
NOTE 2: For ITT population, multiple imputation including the specified covariate(s), use of riluzole or edaravone, and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The corresponding ANCOVA models include the specified covariate(s), baseline ALSFRS-R, and use of riluzole or edaravone.
NOTE 3: For the analyses including disease duration since symptom onset in mITT and non mITT population, multiple imputation including use of riluzole or edaravone and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The corresponding ANCOVA models include covariates for baseline disease duration since symptom onset, baseline ALSFRS-R and use of riluzole or edaravone. For the other analyses in mITT and non mITT population, multiple imputation including baseline plasma NfL, use of riluzole or edaravone and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The corresponding ANCOVA models include covariates for the specified covariate(s), baseline plasma NfL, baseline ALSFRS-R and use of riluzole or edaravone.
* No statistical testing was prespecified in SAP Version [redacted]; all p-values are post-hoc for SAP V[redacted] analyses.
(a) From the listed ANCOVA analysis based on change from baseline.
(b) From the ANCOVA on ranked scores; deaths are ranked the lowest; MI is used for handling missing data due to withdrawals other than death.
(c) From the ANCOVA on change of ranked scores pre- and post- treatment; deaths are ranked the lowest; MI is used for handling missing data due to withdrawals other than death.
Abbreviations: ALSFRS-R = Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised; ANCOVA = analysis of covariance; MI = multiple imputation; LS = least square; P+DS = placebo + delayed-start tofersen 100 mg; ES = Early-start tofersen 100 mg.
Source: biib067/ise/ise-bla4/f-cf-alsf-forest-w104.sas **Data Cutoff:** 28FEB2023 **Run Date:** 31MAY2023

Figure 27: Forest Plot of Percent-Predicted SVC Change From Baseline to Week 104

Page: 1 of 2

Population/Subgroup	Covariate adjustment for baseline disease status	SAP Version	No. of subjects (a) P+DS=placebo + delayed-start tofersen 100 mg;ES=Early-start tofersen 100 mg	LSM Diff	95% CI	ANCOVA+MI p-value (a)
ITT	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 36; ES= 72	9.7	(-0.80, 20.22)	0.0702
	Log Base. plasma NfL		P+DS= 36; ES= 72	9.8	(-0.64, 20.16)	0.0658
	Disease duration#	SAP V2*	P+DS= 36; ES= 72	6.5	(-4.26, 17.23)	0.2363
	ALSFRS-R pre-rand. slp.		P+DS= 36; ES= 72	6.7	(-4.53, 18.01)	0.2405
	ALSFRS-R pre-rand. slp + Base. plasma NfL		P+DS= 36; ES= 72	9.5	(-0.79, 19.73)	0.0704
	Disease duration + Base. plasma NfL#		P+DS= 36; ES= 72	8.5	(-1.87, 18.96)	0.1074
	Unadj. for base. disease status		P+DS= 36; ES= 72	7.3	(-4.30, 18.87)	0.2171
mITT	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 21; ES= 39	2.8	(-14.62, 20.27)	0.7505
	Log Base. plasma NfL		P+DS= 21; ES= 39	3.9	(-13.62, 21.41)	0.6626
	Disease duration#	SAP V2*	P+DS= 21; ES= 39	0.2	(-16.73, 17.20)	0.9782
	Disease duration + Base. plasma NfL#		P+DS= 21; ES= 39	2.6	(-15.25, 20.38)	0.7773
non mITT	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 15; ES= 33	9.1	(-2.01, 20.14)	0.1086
	Log Base. plasma NfL		P+DS= 15; ES= 33	8.2	(-2.82, 19.18)	0.1445
	Disease duration#	SAP V2*	P+DS= 15; ES= 33	9.1	(-2.38, 20.51)	0.1202
	Disease duration + Base. plasma NfL#		P+DS= 15; ES= 33	8.7	(-2.18, 19.63)	0.1165
ITT: >= Median (75.60 pg/mL)	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 16; ES= 38	10.7	(-5.97, 27.40)	0.2078
	Log Base. plasma NfL		P+DS= 16; ES= 38	11.0	(-5.47, 27.54)	0.1898
	Disease duration#	SAP V2*	P+DS= 16; ES= 38	8.2	(-8.80, 25.29)	0.3425
	Disease duration + Base. plasma NfL#		P+DS= 16; ES= 38	9.7	(-7.45, 26.81)	0.2673
ITT: < Median (75.60 pg/mL)	Base. plasma NfL	SAP V3	P+DS= 20; ES= 34	9.2	(-1.70, 20.07)	0.0980
	Log Base. plasma NfL		P+DS= 20; ES= 34	8.4	(-2.30, 19.04)	0.1242
	Disease duration#	SAP V2*	P+DS= 20; ES= 34	6.2	(-4.74, 17.21)	0.2651
	Disease duration + Base. plasma NfL#		P+DS= 20; ES= 34	7.2	(-3.39, 17.87)	0.1817



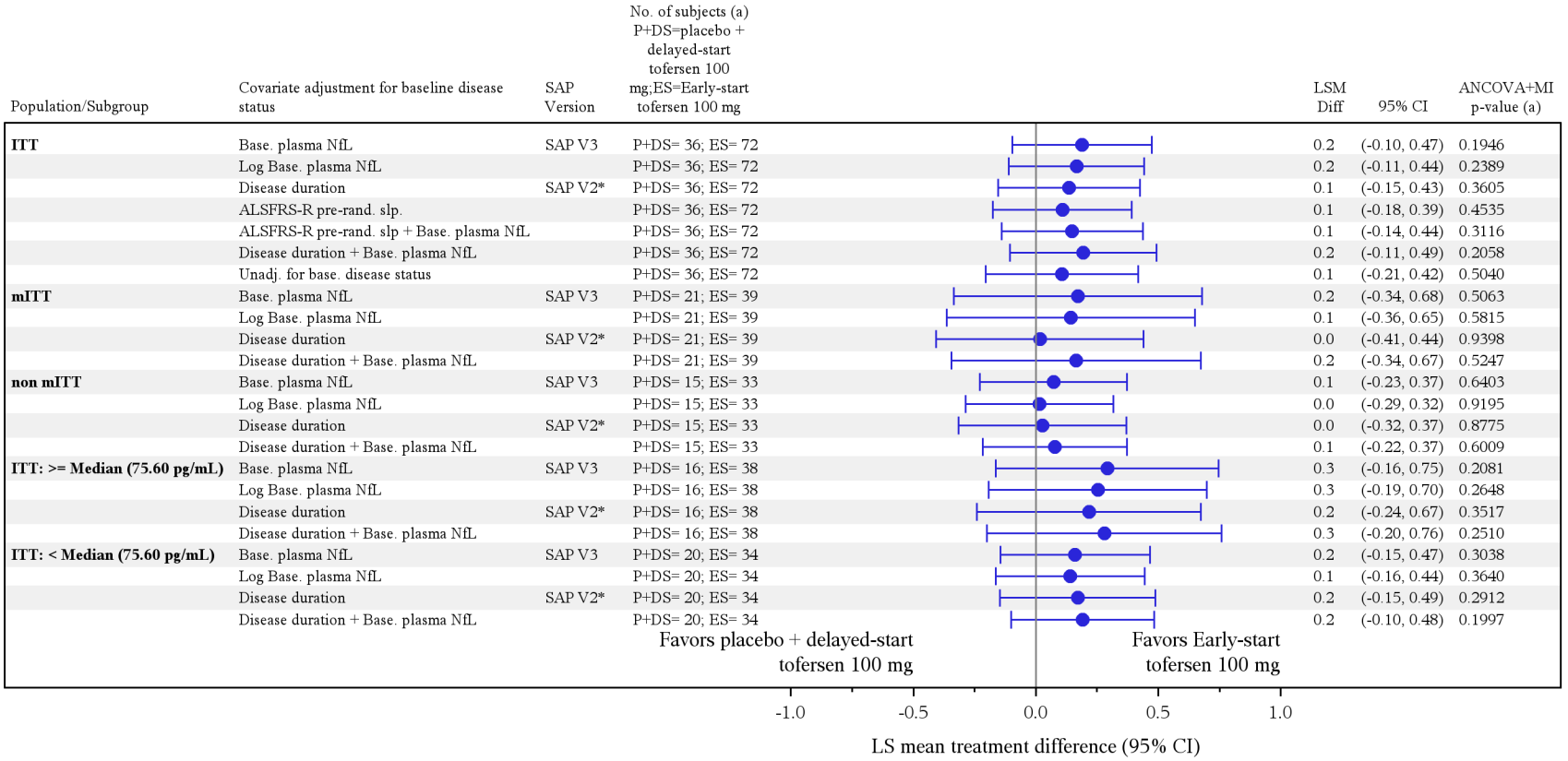
Footnotes are displayed on last page.
Source: biib067/ise/ise-bla4/f-cf-svc-forest-w104.sas **Data Cutoff:** 28FEB2023 **Run Date:** 31MAY2023

233AS101 and 233AS102 ISE: Forest plot of percent predicted SVC change from baseline to Week 104

NOTE 1: SAP V[redacted] is the integrated efficacy SAP that was finalized prior to the final database lock for 233AS101 and interim lock for 233AS102 based on 16 July 2021 data cut; prespecified analyses were primarily based on disease progression subgroups and adjusted for disease duration since symptom onset. SAP V[redacted] was an amendment to the integrated efficacy SAP following the initial data readout and incorporated plasma NfL as a covariate with the focus on the ITT population. SAP V[redacted] was finalized prior the interim lock for 233AS102 based on 16 January 2022 data cut.
NOTE 2: For ITT population, multiple imputation including the specified covariate(s), use of riluzole or edaravone, and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The corresponding ANCOVA models include the specified covariate(s), baseline percent predicted SVC, and use of riluzole or edaravone.
NOTE 3: For the analyses including disease duration since symptom onset in mITT and non mITT population, multiple imputation including use of riluzole or edaravone and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The corresponding ANCOVA models include covariates for baseline disease duration since symptom onset, baseline percent predicted SVC, and use of riluzole or edaravone. For the other analyses in mITT and non mITT population, multiple imputation including baseline plasma NfL, use of riluzole or edaravone and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The corresponding ANCOVA models include covariates for the specified covariate(s), baseline plasma NfL, baseline percent predicted SVC and use of riluzole or edaravone. Due to changes of scheduled visits in later protocol amendment, Week 100 is analyzed for mITT population.
#The baseline ALSFRS-R is included as an additional covariate in ANCOVA.
* No statistical testing was prespecified in SAP Version [redacted]; all p-values are post-hoc for SAP V[redacted] analyses.
(a) From the listed ANCOVA analysis based on change from baseline.
Abbreviations: SVC = slow vital capacity; ALSFRS-R = Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised; ANCOVA = analysis of covariance; MI = multiple imputation; LS = least square; P+DS = placebo + delayed-start tofersen 100 mg; ES = Early-start tofersen 100 mg.
Source: biib067/ise/ise-bla4/f-cf-svc-forest-w104.sas **Data Cutoff:** 28FEB2023 **Run Date:** 31MAY2023

Figure 28: Forest Plot of HHD Megascore Change From Baseline to Week 104

Page: 1 of 2



Footnotes are displayed on last page.

Source: biib067/ise/ise-bla4/f-cf-hhd-forest-w104.sas **Data Cutoff:** 28FEB2023 **Run Date:** 31MAY2023

233AS101 and 233AS102 ISE: Forest plot of HHD overall megascore change from baseline to Week 104

NOTE 1: SAP V[redacted] is the integrated efficacy SAP that was finalized prior to the final database lock for 233AS101 and interim lock for 233AS102 based on 16 July 2021 data cut; prespecified analyses were primarily based on disease progression subgroups and adjusted for disease duration since symptom onset. SAP V[redacted] was an amendment to the integrated efficacy SAP following the initial data readout and incorporated plasma NfL as a covariate with the focus on the ITT population. SAP V[redacted] was finalized prior the interim lock for 233AS102 based on 16 January 2022 data cut.
NOTE 2: For ITT population, multiple imputation including the specified covariate(s), use of riluzole or edaravone, and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The corresponding ANCOVA models include the specified covariate(s), baseline HHD overall megascore, and use of riluzole or edaravone.
NOTE 3: For the analyses including baseline disease duration since symptom onset in mITT and non mITT population, multiple imputation including use of riluzole or edaravone and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The corresponding ANCOVA models include covariates for baseline disease duration since symptom onset, baseline HHD overall megascore and use of riluzole or edaravone. For the other analyses in mITT and non mITT population, multiple imputation including baseline plasma NfL, use of riluzole or edaravone and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The corresponding ANCOVA models include covariates for the specified covariate(s), baseline plasma NfL, baseline HHD overall megascore and use of riluzole or edaravone. Due to changes of scheduled visits in later protocol amendment, Week 100 is analyzed for mITT population.
* No statistical testing was prespecified in SAP Version [redacted]; all p-values are post-hoc for SAP V[redacted] analyses.
(a) From the listed ANCOVA analysis based on change from baseline.
Abbreviations: HHD = handheld dynamometry; ALSFRS-R = Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised; ANCOVA = analysis of covariance; MI = multiple imputation; LS = least square; P+DS = placebo + delayed-start tofersen 100 mg; ES = Early-start tofersen 100 mg.
Source: biib067/ise/ise-bla4/f-cf-hhd-forest-w104.sas **Data Cutoff:** 28FEB2023 **Run Date:** 31MAY2023

SOD1-ALS は不均一な疾患であるが、本疾患は疾患進行に伴う機能及び筋力の低下と一様に関連している［Cudkowicz 2013; Ramamoorthy 2022; Shefner 2016］。そのため、治療効果を評価する別の方法として、自然歴で認められる進行性の低下とは異なることを示すために、筋力及び機能の持続的な安定化又は改善について検討を行った。

トフェルセンを投与した一部の被験者では、機能及び筋力の持続した改善が認められ、疾患進行の自然歴とは明らかに一致しなかった（Table 16）。例えば、ロジスティック回帰分析では、早期開始群での Week 104 における改善が、ALSFRS-R で 16.0%、SVC%予測値で 21.1%、及び HHD メガスコアで 20.2%の被験者に認められた。トフェルセンを投与した被験者では 104 週間で安定化又は改善（機能／筋力の喪失なし）の割合が ALSFRS-R で高かった（Table 16）。

事後的な感度分析として実施したロジスティック回帰を用いない responder analysis の結果は、ITT 集団での共変量により調整したロジスティック回帰分析の結果と同様であった。緩徐進行性の部分集団（SPS［NfL に基づく］）において、104 週間で機能及び筋力が改善した被験者の割合は、早期開始群で高かった（約 27%～40%）。緩徐進行性の部分集団は、急速進行性の部分集団（FPS［NfL に基づく］）と比べて、トフェルセンの生物学的活性が最大となり、神経変性過程に作用するまでの時間が長い可能性が示された（Table 17 及び Table 18）。

これらのデータは、101 試験パート A 及び B において、102 試験でトフェルセンを 1 回以上投与されたコホート（40 例）で、3 年超の追跡期間で疾患進行が安定していた結果と同様であった。これらの被験者では、102 試験のベースラインから Week 168（約 3.2 年）までの平均変化量は、ALSFRS-R が-2.3 ポイント、SVC%予測値が-2.4%、及び HHD が-0.1 ポイントであった（「2.7.3 臨床的有効性」3.2.2.2 項）。

SOD1-ALS 患者における自然歴データが限られることから、単に生物学的変動及び評価の変動による ALS 集団における筋力及び機能の「改善」又は「回復」を観察する可能性を示すために、Biogen が実施した Dexpramipexole の臨床試験である 223AS302 試験（EMPOWER）のデータ（942 例）を評価した。追跡期間が限られていたため 52 週に解析を実施したが、追跡期間が 1 年延長されれば改善の割合がさらに小さくなることが予想された（例、トフェルセンの解析での評価は 104 週）。52 週間で、ALSFRS-R がベースラインから増加した試験参加者は全体のわずか 1.3%、SVC は約 6%、及び HHD は約 5%であった。これらのデータは、トフェルセンを投与した被験者における改善が実際に認められることを示したものであり、生物学的活性及び評価のノイズに起因しないことを示唆している。

Table 16: Estimated Proportion of Participants (%) With Improvement or Stabilization/Improvement on Clinical Function, Strength, and QoL Measures From Baseline to Week 100/104 by Logistic Regression Analysis

Endpoint		Week 100/104	
		Placebo/delayed-start (n=36)	Early-start (n=72)
ALSFRS-R	Proportion of participants with **improvement**	9.3	16.0
	Proportion of participants with **stabilization or improvement**	16.6	23.5
Percent-predicted SVC	Proportion of participants with **improvement**	7.8	21.1
	Proportion of participants with **stabilization or improvement**	7.8	21.1
HHD megascore	Proportion of participants with **improvement**	6.9	20.2
	Proportion of participants with **stabilization or improvement**	6.9	20.2
ALSAQ-5	Proportion of participants with **improvement**	9.8	12.8
	Proportion of participants with **stabilization or improvement**	20.8	33.9
FSS	Proportion of participants with **improvement**	21.7	24.0
	Proportion of participants with **stabilization or improvement**	33.4	37.1
EQ-5D-5L	Proportion of participants with **improvement**	15.8	26.2
	Proportion of participants with **stabilization or improvement**	21.5	35.9

Note 1: For ALSFRS-R, SVC, and HHD, results are presented at Week 104. For ALSAQ-5, FSS, and EQ-5D-5L, results are presented at Week 100. The difference in assessment week is due to assessments been performed at different visits.
Sources: 2.7.3 Summary of Clinical Efficacy, Table 39, Table 42, Table 45 and Table 48.

Table 17 Proportion of Participants (%) With Improvement in Clinical Function and Strength From Baseline to Week 52 Without Logistic Regression – by Population

Endpoint		ITT Population		FPS (Nf-based)		SPS (Nf-based)	
		Placebo/Delayed-start (n=36)	**Early-start (n=72)**	**Placebo/Delayed-start (n=16)**	**Early-start (n=38)**	**Placebo/Delayed-start (n=20)**	**Early-start (n=34)**
ALSFRS-R total score	Proportion of participants with **improvement**	20.3	15.3	6.3	7.9	31.6	23.5
	Proportion of participants with **stabilization or improvement**	28.6	33.3	12.5	15.8	41.6	52.9
Percent-predicted SVC	Proportion of participants with **improvement**	16.8	24.6	0.1	14.4	30.2	36.0
HHD megascore	Proportion of participants with **improvement**	11.7	31.7	1.3	19.1	20.1	45.9

Sources: 2.7.3 Summary of Clinical Efficacy, Table 40, Table 43 and Table 46.

Table 18 Proportion of Participants (%) With Improvement in Clinical Function and Strength From Baseline to Week 104 Without Logistic Regression – by Population

Endpoint		ITT Population		FPS (Nf-based)		SPS (Nf-based)	
		Placebo/Delayed-start (n=36)	**Early-start (n=72)**	**Placebo/Delayed-start (n=16)**	**Early-start (n=38)**	**Placebo/Delayed-start (n=20)**	**Early-start (n=34)**
ALSFRS-R total score	Proportion of participants with **improvement**	11.6	19.5	6.3	13.3	15.9	26.5
	Proportion of participants with **stabilization or improvement**	22.7	29.3	18.8	16.0	25.9	44.1
Percent-predicted SVC	Proportion of participants with **improvement**	10.5	21.4	4.9	9.2	15.0	35.0
HHD megascore	Proportion of participants with **improvement**	10.1	25.8	3.6	13.0	15.2	40.0

Sources: 2.7.3 Summary of Clinical Efficacy, Table 40, Table 43 and Table 46.

4.2.2.2.2 無イベント生存に対するトフェルセンの有効性

データカット時点（2023 年 2 月 28 日）で、101 試験パート C に登録されたすべての被験者で 2 年以上の追跡の機会があった（追跡期間の中央値：3.4 年；範囲：2.2～3.9 年）。この追跡期間にもかかわらず、死亡相当イベント数は少なく、ITT 集団における死亡又は永続的換気までの期間、死亡までの期間、並びに死亡、永続的換気、又は疾患進行による試験中止までの期間の中央値を推定することができなかった（Figure 6；「2.7.3 臨床的有効性」Figure 26、Figure 27、Figure 28、及び Figure 29）。

被験者の生存期間を SOD1-ALS の予期される自然歴（罹病期間の中央値：2.3 年［Opie-Martin 2022］）と関連付けるために、ALS 発症から死亡又は中途打ち切り（試験中止時又はデータカット時［2023 年 2 月 28 日］）までの期間を推定することによって、保守的な罹病期間に関する解析を実施した。データカット時点で、ALS 発症から死亡又は中途打ち切りまでの期間の中央値は、プラセボ／投与開始遅延群で 3.3 年（範囲：0.7～12.2 年）、早期開始群で 3.9 年（範囲：0.7～15.7 年）であった。多くの被験者は生存して試験を継続しているため中途打ち切りされており、保守的な解析であるにもかかわらず、これらのデータからトフェルセンを投与された被験者が予想される自然歴を上回ることが示された。

A5V キャリアのサブセット（17 例）でも同様の解析を行った。A5V は、自然歴を含めた特徴が最も明らかになっており、北米で主にみられる変異であり、罹病期間の中央値は約 1～1.2 年である［Bali 2017; Opie-Martin 2022］。また、A5V はトフェルセンの臨床試験で多くみられた変異の 1 つであった。データカット時点で継続中の A5V キャリアは 3 例であり、ALS 発症から死亡又は中途打ち切りまでの期間の中央値は、早期開始群で 1.9 年（範囲：0.9～4.8 年）、投与開始遅延群で 1.3 年（範囲：0.7～2.9 年）であった。他の SOD1 変異の罹病期間の推定値は、ISE Addendum Appendix 2.1、Output 5 及び Output 6 に示す。しかし、これらの変異に特異的な解析の解釈には、変異を有する被験者の数が少ないこと、追跡が十分でないこと、ばらつきが大きいこと（例；I114T）、自然歴の特徴が十分に明らかになっていないことなどから限界がある。

101 試験及び 102 試験に組み入れられた被験者集団（42 種類の SOD1 変異型）は世界での代表的な SOD1-ALS 集団であると考えられるが、変異間及び変異内のばらつきを考慮すると、予想される自然歴との比較の解釈には注意を要する。しかし、早期開始群とプラセボ／投与開始遅延群との比較は以下の点から信頼性があると考えられる。1）101 試験パート C の割付けの盲検性が維持されているため、非盲検試験の性質により生じたバイアスが両群に等しく作用すること。2）101 試験パート C のベースライン時の疾患特性は、SOD1 変異型、リルゾール又はエダラボンの使用、及び疾患の病期を反映する特性（発症からの期間、ALSFRS-R 合計スコア、及び SVC%予測値）により、両群間でおおむね均衡がとれていたこと、である。したがって、早期開始群での延命効果は、投与開始遅延群と比べて疾患進行のより遅い被験者が登録されていたことによるとは考えにくい。実際に、101 試験パート C のベースライン時の血漿中 NfL 濃度は、早期開始群の方がプラセボ／投与開始遅延群よりも約 15%～25%高かった。この違いは、NfL が予後バイオマーカーであることを考慮すると、早期開始群はトフェルセンを投与しない場合は疾患進行が早く、生存期間が短くなることを示唆している。両群のベースラインの不均衡とプラセボ／投与開始遅延群が 6 ヵ月後に実薬（トフェルセン）投与に切り替えられていることを考慮すると、保守的な解析

であり、トフェルセンの治療効果を過小評価する可能性がある。

重要な点として、長期データでは、ITT 集団における早期開始群のリスクは、投与開始遅延群と比較して、死亡又は永続的換気で 53%、死亡で 64%、死亡、永続的換気、又は疾患進行による試験中止で 50%低下することが示された（Table 19）。早期開始群で観察された結果と投与開始遅延群が 102 試験でトフェルセン投与に切り替えなかったとした場合の予測を比較するため、生存関連イベントについて RPSFTM 解析を実施した。これらの解析から投与開始遅延群がプラセボ投与を継続していたとした場合、早期開始群のリスクは投与開始遅延群と比較して死亡又は永続的換気で 78%、死亡で 88%、死亡、永続的換気、又は疾患進行による試験中止で 75%低下することが示された（Table 19 及び Figure 29）。また、re-censoring を考慮した解析の結果も一貫していた（Table 19）。

NfL に基づく FPS では、両群で死亡又は永続的換気までの期間は中央値が推定され、トフェルセンの早期開始に関連する無イベント期間の延長の推定が可能であった（約 1.6 年；Table 19、Figure 30）。同様に NfL に基づく FPS では、死亡、永続的換気又は疾患進行による試験中止までの期間の中央値は、投与開始遅延群と比較して早期開始群で約 0.9 年長かった。101 試験パート C のベースラインから死亡までの期間及び ALS 発症から死亡までの期間の評価では、投与開始遅延群では中央値が推定されたが、早期開始群では中央値が推定できなかった。全体として、追跡期間の早期にプラセボ投与からトフェルセン投与への切替えがあり、解析は保守的であったにもかかわらず、FPS 及び SPS で一貫してトフェルセンの早期開始を支持する結果であった。

Table 19 Summary of Time-to-Event Analyses (Study 101 Part C + 102) - ITT Population

	Time to death or PV	Time to death	Time to death, PV, or withdrawal due to disease progression
ITT			
HR (95% CI)	0.47 (0.20, 1.11)	0.36 (0.13, 1.02)	0.50 (0.25, 0.99)
Log-rank p-value*	0.1685	0.1224	0.0866
Cox p-value	0.0842	0.0538	0.0475
Above median plasma NfL			
HR (95% CI)	0.46 (0.18, 1.15)	0.39 (0.13, 1.17)	0.48 (0.23, 1.00)
Log-rank p-value**	0.2535	0.4232	0.1418
Cox p-value	0.0950	0.0921	0.0502
Below median plasma NfL			
HR (95% CI)	0.47 (0.03, 7.67)	0.47 (0.03, 7.67)	0.23 (0.02, 2.64)
Log-rank p-value**	0.6319	0.6319	0.2160
Cox p-value	0.5972	0.5972	0.2362
ITT RPSFTM (without recensoring)			
HR	0.22	0.12	0.25
(Unadjusted 95% CI)	(0.082, 0.61)	(0.033, 0.43)	(0.11, 0.56)
(Adjusted 95% CI) ***	(0.040, 1.240)	(0.014, 1.035)	(0.063, 0.992)
Log-rank p-value	0.0027	0.0012	0.0005
Cox p-value	0.0035	0.0012	0.0008
ITT RPSFTM (with re-censoring)			
HR	0.24	0.08	0.21
(Unadjusted 95% CI)	(0.083, 0.70)	(0.02, 0.37)	(0.086, 0.51)
(Adjusted 95% CI) ***	(0.047, 1.226)	(0.006, 1.042)	(0.044, 0.991)
Log-rank p-value	0.0110	0.0009	0.0003
Cox p-value	0.0087	0.0012	0.0006

*based on log rank test stratified by median baseline plasma NfL
**based on log rank test stratified by riluzole or edaravone use
***based on distribution of log hazard ratio retaining the Cox regression p-value from the ITT analysis, back transformed to the original scale
Sources: 2.7.3 Summary of Clinical Efficacy, Section 3.2.2.1.1.

Figure 29 Kaplan-Meier Plot of RPSFTM Analysis With Recensoring for Time to Death or Permanent Ventilation – ITT Population

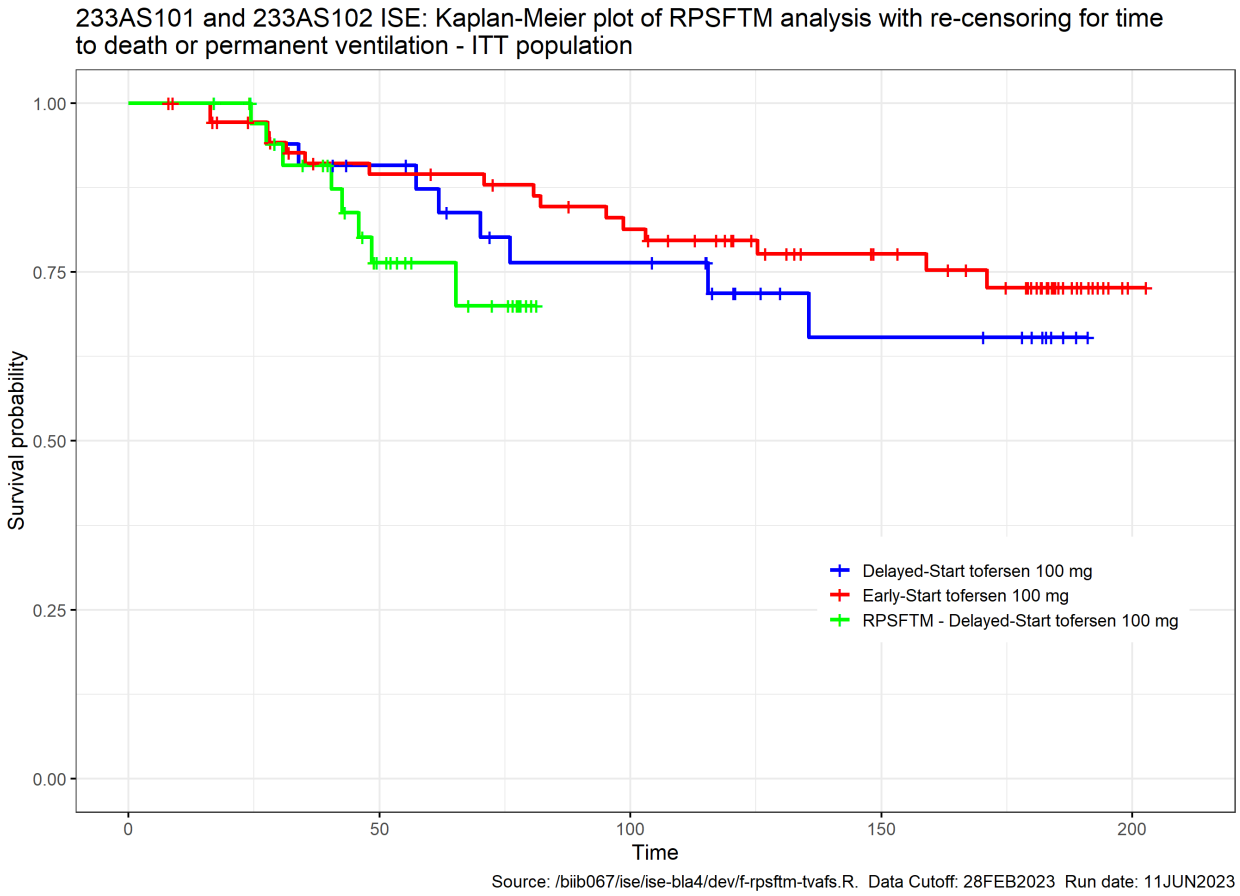
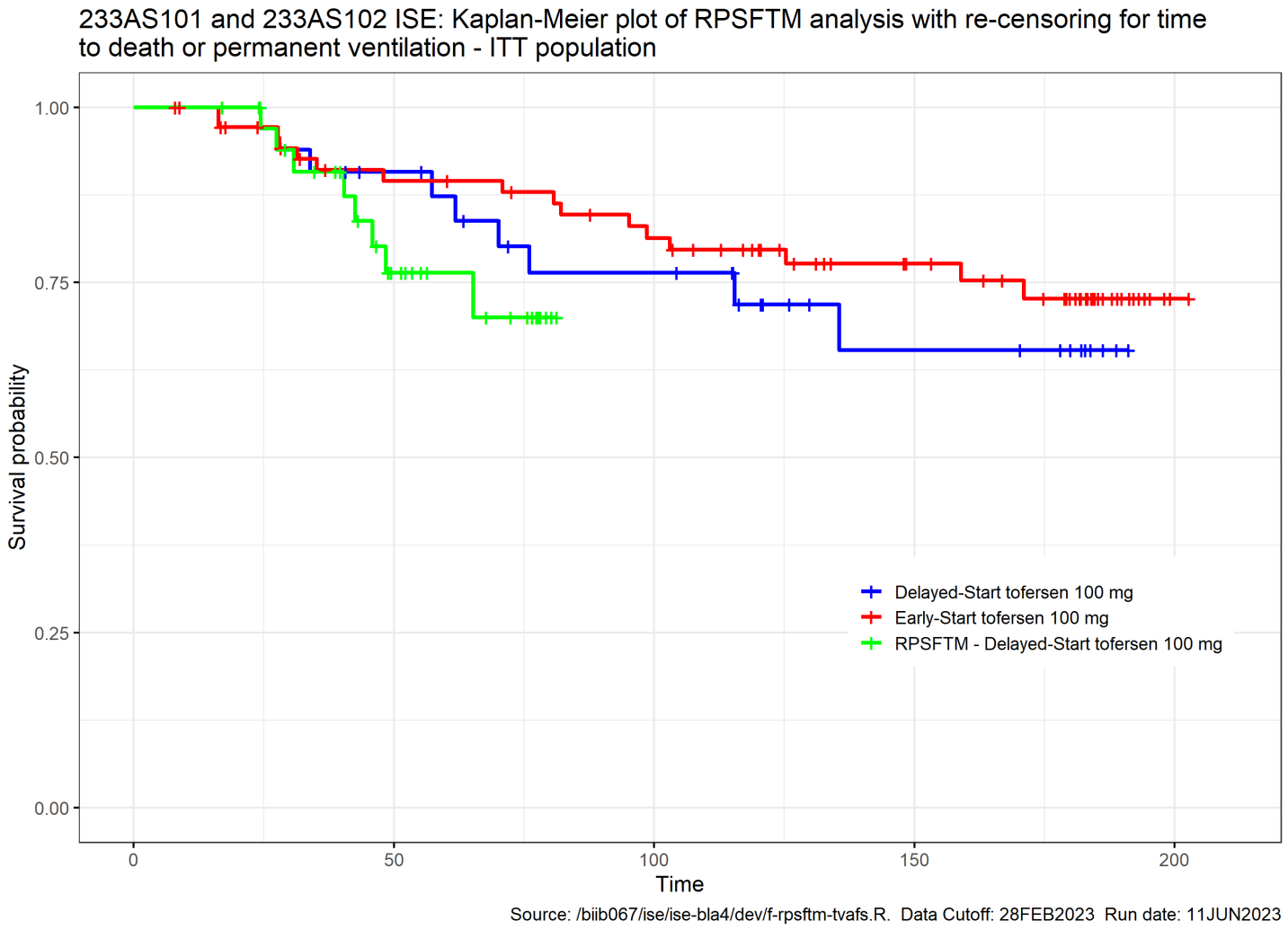


Figure 30 Kaplan-Meier Plot of RPSFTM Analysis With Recensoring for Time to Death or Permanent Ventilation – ITT Population



4.2.2.2.3 日本人集団の有効性

最新のデータカット（2023 年 2 月）での日本人被験者の結果を評価するために、ITT 集団における統合解析での主な有効性の評価項目（ALSFRS-R、SVC%予測値、及び HHD メガスコア）でのベースラインからの推移を示す。

データカットの時点では日本人被験者 7 例中 5 例が 102 試験を継続中であった。

ITT 集団において、日本人集団での ALSFRS-R、SVC%予測値、及び HHD メガスコアのベースラインからの経時的な変化は、おおむね全体集団（早期開始群及びプラセボ／投与開始遅延群）の変動の範囲内であった（「2.7.3 臨床的有効性」3.2.2.3.1 項、3.2.2.3.2 項、及び 3.2.2.3.3 項）

日本人集団での死亡及び永続的換気は報告されなかった（「2.7.3 臨床的有効性」3.2.2.3.4 項）。

4.2.3 有効性に関する結論

SOD1-ALS では、有害な SOD1 タンパク質の蓄積が運動ニューロンの喪失を促進し、その結果、筋肉量、筋力、及び機能の進行性の喪失をもたらし、最終的に死に至る。

トフェルセンを投与すると、CSF 中の SOD1 タンパク質が減少した。これは、標的特異作用（target engagement）を示唆する間接的エビデンスである。この原因タンパク質の減少による軸索損傷及び神経変性の緩徐化が、ニューロフィラメント濃度減少によって示された。

生物学的活性の明確なエビデンスにもかかわらず、101 試験パート C の Week 28 の主要解析では統計学的有意差は認められなかった。101 試験パート C の試験期間を決定した際には、最大の生物学的活性が遅れて出現する（約 12～16 週）ことは十分考慮されていなかった。さらに、プラセボ群の疾患進行が予想したよりも緩徐であったことと、投与群間でベースラインの疾患進行性に重大な不均衡が認められたことが、さらに状況を悪くした。後者は、適切な調整が行われないとバイアスの原因となる可能性があった。

ただし、Week 28 の時点でも、臨床機能、呼吸機能、筋力、及び QoL の評価項目全体で、トフェルセン群を支持する一貫した傾向が認められた。これらの傾向が特に明らかだったのは、プラセボ群と差が観察される十分な低下が認められた急速進行性（ベースライン時の NfL 濃度が高い）の被験者であった。これらの効果は、体重減少の明らかな安定化によってさらに裏付けられた。ALS では、これは臨床的に非常に意味のある効果である。

101 試験パート C でプラセボ群であった被験者が 102 試験でトフェルセンを投与開始したにもかかわらず、Week 52 の時点（データカット：2022 年 1 月 16 日）で臨床機能（ALSFRS-R）、呼吸の強さ（SVC）、筋力（HHD）、並びに患者からの報告による疾患重症度及び QoL の評価項目（ALSAQ-5、EQ-5D-5L）といった臨床転帰評価項目すべてにおいて、トフェルセンの早期開始を支持する群間差が認められ、形式上統計学的に有意であった。トフェルセンの早期開始を支持するこれらの差は、どの部分集団、統計解析手法、及び／又は共変量を用いるかにかかわらず認められた。

Week 52 での長期の観察（データカット：2022 年 1 月 16 日）では、両群のイベント数は限られ

るものの、早期開始群の無イベント期間及び生存期間に明らかな延長が認められた。

臨床評価項目において、トフェルセン早期開始群は投与開始遅延群より臨床機能及び呼吸機能が一貫して高く、筋力の維持又は回復が認められ、QoL を維持し、永続的換気を必要としない生存期間の延長が認められた。このことは、早期投与開始の重要性を示すものである。RPSFTM 解析を実施し、早期開始群で認められた結果と投与開始遅延群で Week 28 にトフェルセンの投与に切り替えなかったとした場合の結果を比較したところ、早期開始群では死亡相当イベントのリスクが 80%低下した。

日本人の被験者数が非常に少なく評価にも限界があるものの、2022 年 1 月 16 日のデータカットでは、主要評価項目（ALSFRS-R）及び主な副次評価項目（SVC 及び HHD メガスコア）において、日本人集団のベースラインからの変化量はおおむね全体集団の変動の範囲内であった。

プラセボ／投与開始遅延群では Week 28 に実薬（トフェルセン）投与に切り替える機会があったため、Week 104 までの追跡期間の延長により、投与群間の差がある程度小さくなった。しかし、両群間の差は依然として臨床的な意味があった。部分集団、統計手法、及び組み込んだ共変量にかかわらず、トフェルセンの早期開始を支持する差が認められた。また、進行性の低下と関連する疾患では、トフェルセンを投与した被験者でみられた筋力及び機能の改善を示す結果は、予想した自然歴と一致せず、トフェルセンによる臨床的なベネフィットが示唆された。これらのデータは、102 試験で 101 試験パート A 及び B から移行した被験者における数年間で明らかな機能及び筋力の安定化によっても裏付けられている。

生物学的効果と臨床効果との時間的な関係性（例えば、CSF 中 SOD1 の減少とそれに続く NfL の低下が認められた後に臨床的ベネフィットが認められる）からも、トフェルセンの疾患修飾作用を確認する強力な生物学的妥当性と関連が示されている。まず、トフェルセンは神経変性の上流の原因である有害な SOD1 タンパク質の蓄積を減少させる。その後、この変化は変性した運動ニューロンを安定化し、NfL の減少によって確認される。これらの筋力の増強に寄与していないニューロンは、元の筋線維との神経筋伝達を再度確立するのに時間を要し、それらが十分に回復すれば、他の除神経筋線維への側枝が伸長できる。その後、神経筋接合部は成熟し神経的な細胞機能が高くなるまでに時間を要し、最終的に神経支配された筋線維が筋原線維の増加を開始し最終的に筋収縮が強くなる。これらがすべて生じた後のみに、筋力測定又は肺活量を指標とする筋力の改善、若しくは ALSFRS-R を指標とする運動機能の改善が示されると考えられる。

データカット時点（2023 年 2 月 28 日）で、101 試験パート C に登録されたすべての被験者ではベースラインから追跡期間の中央値は 3.4 年（範囲：2.2～3.9 年）であり、文献で報告された SOD1-ALS の生存期間の中央値の 2.3 年を上回るものであった［Opie-Martin 2022］。追跡期間が延長されたにもかかわらず、多くの被験者が生存し継続しているため、死亡相当イベントの数が少なく、ITT 集団では死亡相当イベントまでの期間の中央値を推定することはできなかった。しかし、イベントの相対数により解析に適しているデータセットであるベースライン時の血漿中 NfL 濃度に基づく FPS では、早期開始群における死亡又は永続的換気までの期間の中央値は、6 ヵ月後に 102 試験でトフェルセンの投与を開始する機会があったプラセボ／投与開始遅延群と比較して約 1.6 年延長した。重要な点として、死亡相当イベントのリスクが早期開始群では、プラセボ／投与開始遅延群と比較して 50%超低下した。RPSFTM 解析を実施し、早期開始群で認められた

結果と投与開始遅延群で Week 28 にトフェルセンの投与に切り替えなかったと仮定した場合の予想される結果を比較したところ、早期開始群では死亡相当イベントのリスクが 75%超低下した。これらのデータは、トフェルセンが生存に対して臨床的に意味のあるベネフィットを有することを裏付けている。

本概括評価で示した解析に限界があることは認識しているものの、早期開始群と投与開始遅延群での比較は極めて保守的であるにもかかわらず、2 年以上の観察で一貫してトフェルセン（101 試験パート C）／早期開始群（統合解析）を支持する結果であった。早期開始群と投与開始遅延群の比較以外にも、予想される疾患の自然歴と比べると、明らかな生存期間の延長、並びに筋力及び機能の改善の可能性を示している。このような臨床評価項目での効果は、軸索損傷及び神経変性の緩徐化を示す頑健な NfL の低下によって裏付けられており、疾患進行の緩徐化と直接関連している。上記の観察結果が偶然である確率は非常に低く、これらのデータは、トフェルセンが SOD1-ALS 患者の疾患進行に対して臨床的に意味のある影響を及ぼすことを示していることから、トフェルセンの有効性が示唆されたと考えられる。

5 安全性の概括評価

「2.7.4 臨床的安全性」1 章で概説するように、トフェルセンの総曝露量及び統合解析は、SOD1-ALS 治療薬としてのトフェルセンの全般的な安全性の評価を可能にするものである。

安全性に関する概括は、101 試験パート C（プラセボ対照期間）のトフェルセン群に観察された主な安全性要素に加えて、101 試験パート A、B、C、及び 102 試験の統合安全性データベースからトフェルセン全体の安全性を説明する。本概括評価に示す統合安全性データは、2022 年 7 月 15 日を安全性データカットとした ISS 中間 3 を基に説明する。全般的な安全性評価計画は「2.7.4 臨床的安全性」1 章に、統合解析計画は「2.7.4 臨床的安全性」1.1.6 項及び Table 2 に示す。

健康被験者を対象とした単回投与試験（233HV101 試験）からのデータは、101 試験や 102 試験とは被験者集団が異なり、被験者数も少ないことから統合安全性解析には含めず、別途説明する。症状発症前の SOD1 変異キャリアを対象とした試験（303 試験）は実施中の盲検試験であるため、こちらもデータを別途説明し、統合安全性解析には含めていない。同様に、通常の臨床試験や製造販売承認の枠外でトフェルセンを提供する EAP（実施中）からの安全性データも統合解析には含めていない。233HV101 試験からの安全性結果は「2.7.4 臨床的安全性」1.1.9 項に示す。2022 年 7 月 15 日時点における 303 試験からの安全性の結果は「2.7.4 臨床的安全性」1.1.10 項に要約するが、重要な安全性情報は得られていない。2022 年 7 月 15 日時点における EAP からの安全性結果は 5.11 項に要約し、「2.7.4 臨床的安全性」6 章で詳述する。

安全性モニタリングを含むトフェルセンの安全性に関する要約は、「2.7.4 臨床的安全性」、233AS101 試験パート A 及び B の治験総括報告書、233AS101 試験パート C の治験総括報告書、233AS102 試験の治験総括報告書（Interim 1）、及び 233AS102 試験の治験総括報告書（Interim 2）に示す。

また、最新のデータカット日（2023 年 2 月 28 日）で解析した結果、トフェルセンの忍容性はおおむね良好であり、SOD1-ALS の安全性プロファイルは許容可能であった。詳細については「2.7.4 臨床的安全性」の 10 章に示す。本概括評価では、トフェルセンの安全性プロファイルを以下に分けて要約する。

1. プラセボ対照被験者（プール RC）：トフェルセン 100 mg（RC1）又はプラセボ（RC2）を投与された 101 試験パート C の被験者
2. 全トフェルセン投与被験者（プール ABCL）：101 試験パート B、パート C、又は 102 試験でトフェルセン 100 mg を投与された全被験者（ABCL1）、又は 101 試験パート A、パート B、パート C、又は 102 試験でトフェルセン（用量を問わず）を投与された被験者（ABCL2）

5.1 非臨床試験での安全性及びヒトへの外挿性

承認申請臨床用量である 100 mg は、非臨床試験で特定された無毒性量（NOAEL）のヒト等価用量に対して 1.2 倍の安全域が得られており、その妥当性が支持されている。非ヒト霊長類を用いた 9 ヵ月間毒性試験では、35 mg（CSF 容量スケーリングに基づきヒトでは 350 mg に相当）を投与した雌 1 例に一過性の筋痙攣及び間欠性振戦が発現し、複数の投与時にジアゼパムの投与を

必要とした。最終投与後の脳波検査では投与後のシグナルの変化（高周波数帯に対する影響）がみられたが、脳波記録中の筋痙攣は痙攣発作ではないことが確認された。全体として、非ヒト霊長類を用いたトフェルセンの 9 ヵ月間反復 IT 投与の忍容性は、NOAEL とされた 12 mg（CSF 量スケーリングに基づきヒトでは 120 mg に相当）までの用量で良好であった。詳細は「2.6.6 毒性試験の概要文」に示す。

5.2 曝露状況

トフェルセンは半減期が長いため、被験者は本剤の初回投与時点から追跡最終日まで治験薬に曝露されているものとみなされる。

トフェルセン曝露は「2.7.4 臨床的安全性」の 1 章に詳述する。本概括評価の焦点である統合解析に、233HV101 試験、233AS303 試験、及び EAP からの曝露データは含めていない。233HV101 試験の曝露データは「2.7.4 臨床的安全性」1.1.9 項に、303 試験の曝露データは「2.7.4 臨床的安全性」1.1.10 項に、EAP に関する曝露データは「2.7.4 臨床的安全性」6.1 項に示す。

2022 年 7 月 15 日時点で、ALS 患者 166 例（4 例を除き、すべて今回の承認申請の適応疾患である SOD1-ALS 患者）に、352.55 人年にわたりいずれかの用量でトフェルセンが投与されている。101 試験及び 102 試験の ALS 患者計 147 例には、312.56 人年にわたりトフェルセン 100 mg が投与された。トフェルセン 100 mg 群における曝露期間の中央値は 119.4 週であった（ISS3 Appendix 2.3.3 Adverse Events、Output 5）。SOD1 変異を有していなかった 4 例は、101 試験パート A（SAD）でのみトフェルセンを投与された。

2023 年 2 月 28 日時点で、101 試験及び 102 試験の計 166 例が 408.82 人年にわたり、いずれかの用量でトフェルセンが投与された。この群におけるトフェルセンの曝露期間の中央値は 131.7 週間であった。101 試験のパート B 及び C 並びに 102 試験の計 147 例には、368.83 人年にわたりトフェルセン 100 mg が投与された（ISS Addendum 2023 Appendix 2.3、Output 18）。この群の曝露期間の中央値は 148.4 週間であった（「2.7.4 臨床的安全性」10.1.2 項 Table 57）。

5.3 有害事象

5.3.1 比較的よくみられる有害事象

本項には、比較的よくみられる有害事象の発現状況の概要をまとめる。adverse drug reaction（ADR）は 5.4.4 項に、注目すべき有害事象に関する追加詳細は 5.6 項に示す。

臨床プログラムでトフェルセンを投与された被験者によくみられた有害事象の多くが、ALS の自然歴上で生じる事象、一般集団にもよくみられる病態、若しくは腰椎穿刺手技に伴う事象であった。被験者の大部分が、トフェルセン投与の中止や中断に至らない軽度～中等度の有害事象を発現した（ISS3 Appendix 2.3.1 Adverse Events、Output 1）。

101 試験パート A、B、C、及び 102 試験の SOD1-ALS 被験者に比較的よくみられた有害事象の詳細は「2.7.4 臨床的安全性」2 章に示す。

プラセボ対照期間（101 試験パート C）のトフェルセン 100 mg 投与被験者（RC1）で特に発現

頻度が高かった有害事象のうち、被験者の 15%超で報告されたものは、処置による疼痛、頭痛、四肢痛、転倒、背部痛、腰椎穿刺後症候群、及び疲労であった（ISS3 Appendix 2.3.1 Adverse Events、Output 2）。

2022 年 7 月 15 日時点の統合解析では、トフェルセン 100 mg 投与被験者（ABCL1）で特に発現頻度が高かった有害事象（被験者の 15%超で報告されたもの）は、頭痛、浮動性めまい、処置による疼痛、腰椎穿刺後症候群、転倒、挫傷、背部痛、四肢痛、関節痛、筋肉痛、筋痙縮、COVID-19、上咽頭炎、悪心、便秘、疲労、発熱、CSF 蛋白増加、及び CSF 白血球数増加であった（ISS3 Appendix 2.3.1 Adverse Events、Output 2）。

2023 年 2 月 28 日時点で、トフェルセン投与中に報告された有害事象の大部分は、SOD1-ALS 項に示した有害事象の種類及び重症度と一致するか、腰椎穿刺処置中に認められた事象であった。最も多く認められた事象は軽度から中等度であり、これらは投与中止又は投与中断には至らなかった（「2.7.4 臨床的安全性」10.2.1 項）。

5.3.2 経時的な有害事象の解析

治験薬投与期間と非重篤又は重篤な有害事象の発現の間に特定のパターンは観察されなかった（「2.7.4 臨床的安全性」2.1.2 項を参照）。

101 試験又は 102 試験のトフェルセン 100 mg 投与被験者（ABCL1）から得られた限られたデータ（2022 年 7 月 15 日時点で 144 週超にわたりトフェルセン 100 mg に曝露している被験者は 57 例：ISS3 Appendix 2.1 Accountability, Demography and Exposure、Output 12）では、長期のトフェルセン投与における非重篤及び重篤な有害事象の発現パターンは、プラセボ対照試験期間と同様であった。投与後 24 時間以内に報告された事象を解析して潜在的な急性毒性を検証したが、安全上の懸念は特定されなかった。

5.3.3 重症度別の有害事象の解析

トフェルセン臨床試験で観察された有害事象の大部分は軽度若しくは中等度（有害事象共通用語規準［CTCAE］グレード 1 又は 2）の重症度と判定され、投与制限性はなかった。CTCAE グレード 3 以上の有害事象は、トフェルセン 100 mg 投与被験者の方がプラセボ群より多かった。101 試験パート C で、プラセボ群よりもトフェルセン 100 mg 投与被験者に多く発現した（発現率 2%以上）CTCAE グレード 3 以上の有害事象は、肺塞栓症と転倒であった（233AS101 試験パート C の治験総括報告書、Section 12.1.2）。

101 試験又は 102 試験の用量を問わない全トフェルセン投与被験者から頻繁（4%以上）に報告された CTCAE グレード 3 以上の有害事象は、呼吸不全と誤嚥性肺炎であった（「2.7.4 臨床的安全性」2.1.2 項及び ISS3 Appendix 2.3.1 Adverse Events、Output 4）。

これらの事象の大部分は、（5.4.2 項で詳述する）重篤な有害事象でもあった。

5.3.4 治験薬との因果関係別の有害事象

101 試験及び 102 試験の全被験者で観察された有害事象の大部分は、治験責任医師によってト

フェルセン投与と関連なしと評価された。プラセボ対照期間（101 試験パート C）で治験薬と関連ありと評価された有害事象を発現した被験者は、トフェルセン 100 mg 投与被験者（RC1）の方がプラセボ被験者（RC2）より多かった（38.9%対 5.6%）。2022 年 7 月 15 日時点の統合解析では、治験責任医師によってトフェルセン投与と関連ありと評価された有害事象は、トフェルセン 100 mg 投与群（ABCL1）の 63.9%に発現した。治験薬との因果関係別にみた有害事象の詳細は、「2.7.4 臨床的安全性」2.1.3 項に示す。

治験責任医師は、有害事象と腰椎穿刺手技の因果関係も評価した（5.6.1 項）。

5.4 重篤な有害事象及びその他の重要な有害事象

5.4.1 死亡

2022 年 7 月 15 日時点で、トフェルセン臨床開発プログラム（臨床試験で用量を問わずトフェルセンを投与された全被験者）から 22 例の死亡が報告され、このうち 19 例はトフェルセン 100 mg 投与被験者（ABCL1）（トフェルセン 100 mg 投与開始時以降の全データ）であった。ALS に通常みられる死因と変わらず、大部分が実質的に呼吸器関連の死亡であった。大部分が基礎疾患によるもので、治験責任医師が治験薬と関連ありと評価した死亡例はなかった。死亡に関する追加詳細は、「2.7.4 臨床的安全性」2.1.5 項に示す。

2023 年 2 月 28 日時点で、トフェルセン 100 mg を投与した 147 例中 22 例の死亡が報告されており、いずれかの用量のトフェルセンが投与された 166 例中 25 例の死亡が報告されている。トフェルセンと関連ありと判断された死亡はなかった（「2.7.4 臨床的安全性」10.2.1.6 項）。

5.4.2 重篤な有害事象

トフェルセン臨床試験で観察された重篤な有害事象の大部分は、試験対象患者集団によくみられる事象、基礎疾患に伴う併存疾患、又は疾患進行であった。トフェルセン臨床開発プログラムで報告された重篤な有害事象の詳細は、「2.7.4 臨床的安全性」2.1.6 項に示す。

プラセボ対照期間（101 試験パート C）で治験責任医師により治験薬と関連ありと評価された重篤な有害事象は、すべてトフェルセン 100 mg 群（RC1）から報告された CNS 関連事象であった。これらの事象（基本語）には脊髄炎、横断性脊髄炎、腰髄神経根障害、及び化学性髄膜炎が含まれる。

2022 年 7 月 15 日時点の統合データセット（プール ABCL1）では、治験責任医師によりトフェルセンと関連ありと評価された重篤な有害事象の大部分が CNS 関連事象であった。これらの事象（基本語）には脊髄炎、神経根障害、無菌性髄膜炎、頭蓋内圧上昇、及び視神経乳頭浮腫が含まれる。治験責任医師によりトフェルセンと関連ありと評価された重篤な有害事象のうち CNS と関係のない事象は、膵炎と胃炎（同一被験者）であった。他に、CNS 関連の重篤な有害事象が 1 件（基本語：神経サルコイドーシス、医師報告語：neurosarcoid transverse myelitis［神経サルコイド横断性脊髄炎］）報告されたが、治験責任医師は治験薬と関連なしと評価した。

重篤な神経学的事象については、5.4.4.2 項で詳述する。

2023 年 2 月 28 日時点で、重篤な有害事象の大部分は、被験者の基礎疾患である ALS 又は ALS に関連する併存疾患と一致する事象であった。2022 年 7 月 15 日のデータカット以降、新たな重篤な脊髄炎/神経根炎、乳頭浮腫、又は無菌性髄膜炎は報告されていない（「2.7.4 臨床的安全性」10.2.1.7 項）。

5.4.3 治験薬投与中止及び試験中止に至った有害事象

トフェルセン臨床試験で観察された治験薬投与中止及び試験中止に至った有害事象の大部分が、基礎疾患によるものであった（「2.7.4 臨床的安全性」2.1.7.1 項）。

重篤な神経学的事象による中止例は、5.4.4.2 項で説明する。

5.4.4 ADR

トフェルセンの ADR の特定には、無作為化プラセボ対照期間（101 試験パート C）での有害事象発現率の群間差評価に加えて、治験責任医師による治験薬及び腰椎穿刺手技との関連性評価や、ALS の自然経過を踏まえた徹底的な事象の医学的レビューからなる包括的アプローチを用いた。

ADR の特定手法（「2.7.4 臨床的安全性」の 2.2 項）の要約を以下にまとめる。

患者集団サイズを考慮し、ADR の特定閾値は、101 試験パート C のトフェルセン 100 mg 投与被験者の有害事象発現率がプラセボ投与被験者よりも 5%超高いこととした。この 5%超高いという閾値の決定には、試験サイズと無作為割付け比（2:1）も考慮した。この閾値を満たした事象は、観察された高い発現率及び生物学的妥当性を考慮してリスク因子／交絡因子やその他の理由について評価された。

さらに、ADR の特定は、臨床試験でトフェルセンが投与された被験者における治験薬投与と事象発現の時期や投与再開後の再発（リチャレンジ陽性）に基づいて行われた。

最後に、上記評価を補完するものとして、102 試験からの追加有害事象と 101 試験及び 102 試験からの統合安全性データに対して以下の医学的レビューを実施して、他に ADR の特定漏れがないよう確認した。

- 非臨床試験所見と関係があるかもしれない事象－ADR としての妥当性を評価
- 治験責任医師により治験薬と関連ありと評価された事象、又は関連なしと評価された事象
- 腰椎穿刺手技と恐らく関連ありと考えられる事象
- 治験薬への曝露とイベント発生の時間的関係性
- トフェルセン再投与より再発（リチャレンジ陽性）の状況

5.4.4.1 非重篤な ADR

プラセボ対照期間（101 試験パート C）では、トフェルセン 100 mg 群での発現率がプラセボ群より 5%超高かった非重篤な ADR として、四肢痛、背部痛、疲労、関節痛、筋肉痛、CSF 白血球数増加、疼痛、CSF 蛋白増加、筋骨格硬直、及び神経痛が特定された。また、CSF 白血球増加と同一の臨床概念を表す基本語である髄液細胞増加症が 3 例（4.2%）報告された。これらの事象は、

局所的（IT 投与部位若しくはその周辺部位）又は全身性の刺激や炎症のいずれかに関連し得ることから、発現率の違いに加えて、ADR と特定するに値する生物学的妥当性も有している。さらに、トフェルセン投与被験者にて、リチャレンジ陽性が確認された発熱も非重篤な ADR とみなした。

詳細は「2.7.4 臨床的安全性」2.2.1 項に示す。

2023 年 2 月 28 日時点の医学的レビューでは、新たな非重篤な ADR の可能性は特定されなかった。

5.4.4.2 重篤な ADR

重篤な神経学的事象

複数の非臨床試験動物種において、ASO の免疫刺激作用と炎症誘発作用が確認されている。げっ歯類では、ASO によって Toll 様受容体 9 が活性化されると、サイトカイン放出、リンパ過形成、及び様々な器官へのリンパ組織球性細胞浸潤が生じ得る［Frazier 2015］。サルでは、ASO の補体の活性化によって炎症反応が誘発され、げっ歯類同様にリンパ過形成及びリンパ組織球性浸潤を引き起こす。ただし、ヒト細胞株を用いた試験では、トフェルセンは有意なケモカイン誘導（IL-8 及び IP-10）を示さなかった（「2.6.2 薬理試験の概要文」3.1 項）。

臨床診療の場では、ASO の全身（静脈内又は皮下）投与に伴い、インフルエンザ様症状や注射部位反応といった炎症誘発作用が観察されている［Bennett 2019］。サルを用いた試験で一部の ASO にみられた血管炎のように、さらに重篤な炎症症状がヒトでも発生するか否かは依然として不明である［Frazier 2015］。

脊髄炎や神経根炎のような CNS の炎症とみられる事象が、臨床試験でのトフェルセン投与被験者に発現している。炎症プロセスを示唆する CSF 検査異常は高い割合で認められたが、投与中止を必要とする重篤な神経学的事象を発現した被験者は少数であった。このような炎症事象が生じる発生機序や、臨床検査値異常との関係性はいまだ十分に解明されていない。

重篤な ADR の要約

トフェルセン臨床開発プログラムにて特定された重篤な ADR として、以下の各項で詳述する脊髄炎、神経根炎、無菌性髄膜炎、及び視神経乳頭浮腫が報告された。

5.4.4.2.1 脊髄炎及び神経根炎

横断性脊髄炎は一般集団にはまれな事象である。横断性脊髄炎の疫学評価のため、文献検索により関連研究・調査を特定した。横断性脊髄炎の発生率は、低いもので米国ニューメキシコ州アルバカーキの 10 万人年あたり 0.46 例［Jeffery 1993］、高いものでカナダ、マニトバ州の 10 万人年あたり 18.3 例［Klein 2010］と報告されている。ただし、検索した他の研究で報告されている横断性脊髄炎の発生率は 100000 人年あたり 0.46～4 例の範囲内に限定され、カナダの調査結果は外れ値である可能性が否定できない［Li 2021］。

ALS 患者、COVID-19 患者、又は COVID-19 ワクチン接種を受けた患者における脊髄炎の発生

率と有病率は明らかにできなかった。しかし、視神経脊髄炎や視神経脊髄炎スペクトラム障害を伴う ALS の症例報告がある他、COVID-19 による急性横断性脊髄炎が報告されている［Schulte 2021］。

トフェルセンの非臨床毒性試験では脊髄炎を示唆する所見は確認されなかった。ただし、他の 2'-MOE ASO 同様に、脊髄及び神経根への（活動性若しくは回復途上にある炎症過程によくみられる組織傷害の指標とは関係しない）単核細胞浸潤が、トフェルセン毒性試験で確認されている。神経細胞の変性や壊死は伴っていなかった。詳細は「2.6.6 毒性試験の概要文」3.5 項に示す。

101 試験パート C と 102 試験で 6 例（すべてトフェルセン 100 mg 投与被験者）に、重篤な有害事象である脊髄炎（4 例）又は神経根炎（2 例）が発現し、そのうち 5 例は治験責任医師により治験薬と関連ありと評価された。サルコイドーシスと混乱し得る基本語（神経サルコイドーシス）にコード化された事象（医師報告語：neurosarcoid transverse myelitis［神経サルコイド横断性脊髄炎］）が 1 件報告されたが、治験責任医師により治験薬と関連なしと評価されている。当該被験者は、重篤な有害事象が消失したと評価されてから約 6 ヵ月間トフェルセン投与を継続したが、その後トフェルセン投与を中止して試験中止となった。1 件の脊髄炎事象では、免疫調節療法を開始し、トフェルセン投与を中止して試験中止となった。本事象はトフェルセンの最終投与から約 3 ヵ月後に完全に回復し、6 ヵ月後に実施した磁気共鳴画像（MRI）では多巣性の増強効果はすべて消失し、頸椎にわずかな異常を残すのみであった。2 件の脊髄炎事象（基本語：横断性脊髄炎、脊髄炎）はいずれも画像検査や臨床検査所見のみに基づいて報告されたもので、臨床症状や徴候はみられなかった。いずれの被験者も、2022 年 7 月 15 日のデータカット時点で 102 試験への参加を継続中である。

重篤な神経根障害を発現した 1 例は、トフェルセン投与を 24 回受けた後に症状が出現し、MRI で馬尾神経に高信号所見がみられた。本事象は約 9 ヵ月後に後遺症を残して回復した。2 例目の被験者（重篤な腰髄神経根障害）は、トフェルセンの IT 投与後に症状が出現したが、腰仙椎 MRI 画像に異常はみられず、症状は数日以内に消失した。なお、当該被験者はその後 3 件の非重篤な腰髄神経根障害を発現している（いずれも軽度～中等度で数日以内に消失）。上記の神経根炎／神経根障害を発症した 2 例はいずれも、2022 年 7 月 15 日のデータカット時点で 102 試験への参加を継続中である。

脊髄炎は希少疾患を対象とした小規模臨床試験ではまれにしか検出されない事象であることから、これらの事象とトフェルセン投与の間には何らかの因果関係がある可能性が高いと結論付けた。

詳細は「2.7.4 臨床的安全性」2.2.2.1 項に示す。

5.4.4.2.2 視神経乳頭浮腫

視神経乳頭浮腫は、頭蓋内圧上昇によって二次的に生じる視神経乳頭の浮腫である。視神経乳頭浮腫の原因となり得る病態として、頭蓋内腫瘤病変、脳内出血、頭部外傷、髄膜炎、水頭症、及び脊髄病変が挙げられる。その原因にかかわらず、視神経乳頭浮腫に続発する視力喪失が本症最大の懸念である［Rigi 2015］。

視神経乳頭浮腫は、頭蓋内圧亢進をもたらす様々な要因によってあらゆる年齢、性別、人種又は民族に発生し得る。一般集団における視神経乳頭浮腫の発生率は米国で 10 万人あたり 0.9 例、英国で 10 万人あたり 1.56 例と報告されている［Rigi 2015］。

ALS 患者における視神経乳頭浮腫の発生頻度を報告する文献は確認できなかった。視神経乳頭浮腫は、呼吸不全の結果として生じる ALS のまれな症状として報告されている［Leigh 2003; Wijesekera and Leigh 2009］。

本事象に関連するような非臨床データは特定されていない。非ヒト霊長類を用いた 13 週間毒性試験と 9 ヵ月間毒性試験で眼検査を行ったが、異常は確認されなかった（「2.6.6 毒性試験の概要文」4.4 項及び 4.5 項）。

102 試験では、頭蓋内圧上昇及び／又は視神経乳頭浮腫に関連する重篤な有害事象が 4 例（基本語：頭蓋内圧上昇 3 例、視神経乳頭浮腫 1 例）報告されており、いずれも治験責任医師により治験薬と関連ありと評価された。各事象の報告用語は異なるものの、4 件すべてに視神経乳頭浮腫が認められた。

2022 年 7 月 15 日までの臨床試験データのレビューから、非重篤な頭蓋内圧上昇 3 例、非重篤な視神経乳頭浮腫 3 例、非重篤な CSF 圧上昇 1 例が特定されている。これらの非重篤事象の一部は本項に示した重篤な有害事象を発現した被験者に併発しており、1 例に複数の非重篤事象（頭蓋内圧上昇、視神経乳頭浮腫、及び化学性髄膜炎）が報告された（「2.7.4 臨床的安全性」2.2.2.2 項）。

非重篤、重篤いずれの有害事象もトフェルセン投与中止に至らなかった。101 試験のプラセボ群に類似事象は観察されなかった。

視神経乳頭浮腫は想定よりも高頻度で発現しており、トフェルセン投与との時間的な関係性が観察されている。また、CNS の炎症に関連した発生機序が考えられる。以上から、これらの事象とトフェルセン投与の間には何らかの因果関係がある可能性が高いと結論付けた。

詳細は「2.7.4 臨床的安全性」2.2.2.2 項に示す。

5.4.4.2.3 無菌性髄膜炎

無菌性髄膜炎とは、感染プロセスとは無関係の髄膜の炎症（すなわち、5 cells/mm^3 以上の髄液細胞増加）である［Tattevin 2019］。一般集団における無菌性髄膜炎の発生率は、10 万人あたり 2.9～7.6 例である［Mount and Boyle 2017］。ALS 患者における髄膜炎の発生率は報告されていない。

無菌性髄膜炎は、ヌシネルセン（トフェルセンと同じ IT 投与 ASO）の ADR の 1 つである。化学性髄膜炎及び髄液細胞増加症は、シタラビン IT［Chamberlain 2012］、メトトレキサート IT［Jacob 2015］、及び tominersen［Tabrizi 2019］といった他の治療薬の成人 IT 投与でも観察されている。

非臨床データのレビューからも因果関係を支持する追加のエビデンスが得られており、非ヒト霊長類を用いた 9 ヵ月間毒性試験でのトフェルセン投与動物に、CSF 中の総タンパク量や白血球数の変化が観察された。対照群にこのような変化はみられなかった（「2.6.6 毒性試験の概要文」

3.5 項)。

プラセボ対照期間（101 試験パート C）では、1 件の化学性髄膜炎事象が重篤とされ、トフェルセン投与中止に至った。2022 年 7 月 15 日時点の統合解析で、102 試験にてさらに 1 件の重篤な無菌性髄膜炎事象が発現したが、トフェルセンの投与中止に至っていない（「2.7.4 臨床的安全性」2.2.2.3 項)。

プラセボ対照期間（101 試験パート C）では、トフェルセン 100 mg 投与被験者（RC1）に非重篤な髄液細胞増加症（3 例）と CSF 白血球増加（7 例）が観察されたが、プラセボ投与被験者（RC2）にはみられなかった。2022 年 7 月 15 日時点の統合解析では、トフェルセン 100 mg 投与被験者（ABCL1）13 例に髄液細胞増加症、24 例に CSF 白血球増加、5 例に CSF 白血球陽性が発現した（ISS3 Appendix 2.3.3 Adverse Events、Output 2)。いずれの事象もトフェルセン投与中止には至らなかった（「2.7.4 臨床的安全性」2.2.2.3 項)。

無菌性髄膜炎では CSF 中の髄液細胞増加が高頻度にみられる［Jolles 2000］。トフェルセン投与被験者の大半に CSF 白血球及び CSF 蛋白の高値推移（低値若しくは正常値から高値への推移）が観察されたが、これらの異常の多くは治験責任医師から有害事象としての報告はなかった。

トフェルセン曝露と無菌性髄膜炎の時間的関係性、臨床プログラムで髄液細胞増加症が比較的よくみられたこと（トフェルセンの非重篤な ADR として前述［5.4.4.1 項］)、並びに非ヒト霊長類における非臨床試験所見から、これらの事象とトフェルセン投与の間には何らかの因果関係がある可能性が高いと結論付けた。

詳細は「2.7.4 臨床的安全性」2.2.2.3 項に示す。

2023 年 2 月 28 日時点の医学的レビューでは、新たな潜在的な重篤な ADR は特定されなかった。

5.5 臨床検査値の評価、バイタルサイン及び心電図

血液生化学的検査（5.6.3 項も参照)、血液学的検査、尿検査パラメータの異常に特定のパターンや傾向は認められなかった（「2.7.4 臨床的安全性」3 項)。5.4.4.2.3 項に示したように、トフェルセン投与被験者の大半に、髄液細胞増加症及び CSF 蛋白増加を含めた CSF 異常が観察された。詳細は「2.7.4 臨床的安全性」3.5 項に示す。

凝固異常は 5.6.2 項で詳述する。

バイタルサインには、トフェルセン投与と関連ありと評価された有害な変化は認められなかった（「2.7.4 臨床的安全性」4.1.1 項)。

101 試験パート C のプラセボ群と比べてトフェルセン投与群で心電図に QTc 延長などの特定のパターンや傾向は認められなかった。試験全体を通して、投与群に関係なく心有害事象の発現率はおおむね低かった（「2.7.4 臨床的安全性」4.2 項)。ヒト ether-à-go-go 関連遺伝子（hERG）チャネルアッセイでは、他の 2′-MOE ASO と同様、トフェルセンは hERG チャネル電流を阻害しなかった（「2.6.2 薬理試験の概要文」4.1 項)。QTc 解析の追加詳細は、「2.7.2 臨床薬理の概要」3.5.6 項でも詳述する。2′-ASO と同クラスの化合物は、QT 延長をもたらさない［Kim 2014; Yu 2017］。

2023 年 2 月 28 日時点で、血液生化学的検査、血液学的検査、及び凝固検査パラメータに臨床的に重要な傾向は認められなかった（「2.7.4 臨床的安全性」10.3 項）。

5.6 その他の注目すべき安全性

トフェルセンの安全性プロファイルを評価するうえで、以下の領域も注目すべきと考える。

- トフェルセンは腰椎穿刺を介して IT 投与することから、腰椎穿刺に関連ありと評価された事象について検討する（5.6.1 項）。
- 他の投与経路（皮下又は静注）の ASO に血小板減少症や凝固異常並びに腎毒性が観察されていることから、本臨床プログラムで報告されたすべての有害事象の医学的レビューを行って関連事象を特定した（5.6.2 項、5.6.3 項）。
- トフェルセンの作用機序を考慮し、SOD1 酵素活性が低下する可能性について考察する（5.6.4 項）。

5.6.1 腰椎穿刺関連事象

101 試験パート C で腰椎穿刺と関連ありと治験責任医師が評価した有害事象を 1 件以上発現した被験者は、トフェルセン群（RC1）及びプラセボ群（RC2）共に 80.6%であった。101 試験パート C のトフェルセン投与被験者に比較的よくみられた有害事象（被験者の 5%以上）は、処置による疼痛、腰椎穿刺後症候群、頭痛、背部痛、四肢痛、悪心、及び CSF 白血球数増加であった。

2022 年 7 月 15 日時点のトフェルセン 100 mg 投与群（ABCL1）では、被験者の 85.0%から腰椎穿刺と関連ありと治験責任医師が評価した有害事象が報告されている。発現率が 10%以上であった腰椎穿刺関連事象は、処置による疼痛（56.5%）、頭痛（43.5%）、腰椎穿刺後症候群（23.1%）、及び背部痛（29.9%）であった。

腰椎穿刺後症候群の大部分が軽度～中等度に分類され、投与制限性もなかった。これらの事象の発現率や重症度は、腰椎穿刺後に想定される事象と変わらなかった。また、臨床試験からは腰椎穿刺に伴う重篤な合併症（重篤な感染など）は確認されていない（「2.7.4 臨床的安全性」2.1.4 項）。

5.6.2 血小板減少症及び凝固異常

トフェルセン投与被験者には、血小板減少症や、持続的若しくは重度の血小板減少症の有害事象は特定されなかった。経時的な血小板数の推移にプラセボ投与とトフェルセン投与の群間で差異は認められなかった。

試験全体を通し、すべての投与群で凝固検査異常が高い頻度で認められた。複数の実施医療機関の臨床検査室で正常と報告された検査結果が、中央検査機関では正常範囲外と報告されることが多々みられた。この問題を調査した結果、各治験総括報告書（233AS101 試験パート C の治験総括報告書 Section 12.3.2、233AS102 試験の治験総括報告書［中間 1］Section 12.3.2、233AS102 試験の治験総括報告書［中間 2］Section 12.3.2）に詳述する是正措置が講じられた。全般的に、各種凝固パラメータにはトフェルセン投与による臨床的に意味のある経時的変化や発現率の変化はな

く、各測定値はプラセボ群と類似していた。また、凝固検査の異常値は、メディカルモニターによるクエリー対応にて臨床的な意味がないと考えられることが確認された。

これらのデータをまとめると、トフェルセン投与は出血障害や血小板減少症のリスクを増大させないことが示唆される。

5.6.3 腎毒性

トフェルセン投与被験者に糸球体腎炎、ネフローゼ症候群、その他の関連腎毒性の報告はない。各種試験のいずれの投与群においても、総じて腎機能障害関連の有害事象発現率は低かった。器官別大分類（SOC）「腎および尿路障害」に属する関連事象の種類や発現率は、トフェルセン投与被験者とプラセボ投与被験者で本質的に類似していた。プラセボ対照 101 試験から得たデータを根拠に、トフェルセン投与によって腎毒性リスクが増大することはないと考える。

各種臨床検査項目のレビューからも、試験全体を通して治験薬開始後に持続的な腎機能障害が発現するエビデンスは確認されておらず、腎機能関連のいずれの臨床検査項目にもトフェルセン群とプラセボ群で投与開始後に違いは認められなかった。

以上から、トフェルセン投与によって腎毒性リスクが増大する根拠はないと結論付ける。

5.6.4 SOD1 欠乏の可能性

これまで ALS の原因と考えられてきた SOD1 の機能喪失が、実は MND とは大きく異なる別の病態であることを示唆する新たなエビデンスが示されている［Park 2019］。

別々の症例報告から、検出可能な SOD1 活性が認められない短縮型ホモ接合性 *SOD1* 変異 c.335dupG（p.C112Wfs*11）キャリアの小児患者 2 例に、重度かつ進行性の運動機能喪失及び痙性四肢不全麻痺が報告されている［Andersen 2019; Park 2019］。当該小児患者の両親を含めたヘテロ接合キャリアには、酵素活性の低下がみられるが、明らかな神経学的形質（表現型）は発現していない。

トフェルセンの作用機序（「2.6.2 薬理試験の概要文」）を考えると、SOD1 の欠乏に起因する有害事象が発生し得るという仮説も立てられるが、「毒性」といえるレベルの SOD1 タンパク質及び／又は SOD1 酵素活性の低下の閾値は設定されていない。これまでのところ、トフェルセンの非臨床試験や臨床試験から得た所見に、SOD1 欠乏に起因する有害事象は一切認められていない。

5.7 免疫原性

抗体産生と安全性（「2.7.4 臨床的安全性」4.6 項）や有効性（「2.7.3 臨床的有効性」4.3 項）との間に明らかな関係性は認められていない。ADA がもたらす通常の影響と異なり、トフェルセンの PK の場合、抗トフェルセン抗体が存在すると CL が 42.9%低下した。考えられる理由として、データセットのサイズが小さいこと、スパースサンプリングであること、データのノイズ／シグナル比が高いことなど、数的な理由が挙げられる。

101 試験パート C では、ADA 陰性のトフェルセン投与被験者の方が ADA 陽性被験者よりも

SMQ に基づいて選択した有害事象（過敏症、アナフィラキシー反応、血管浮腫）の発現率が高かった（233AS101 試験パート C の治験総括報告書、Section 12.5 及び Section 14.4.3、Output 18）。統合安全性解析集団のトフェルセン 100 mg 投与被験者（ABCL1）では、上記の SMQ に基づいて選択した有害事象の発現頻度は、ADA が陽性と陰性の被験者で同程度であった（ISS Appendix 2.5、Output 22）。また、これらの SMQ に基づく事象の大部分が ALS に多い呼吸器事象であった。

医学的レビューからも、脊髄炎、神経根炎、視神経乳頭浮腫、及び無菌性髄膜炎の個々の事象例と ADA の有無の間に関連性は認められず、事象の発現頻度は ADA の有無に左右されなかった（「2.7.4 臨床的安全性」4.6 項）。

5.8 特別な患者集団における安全性

非重篤及び重篤な有害事象を、年齢、性別、人種、地理的立地、発症部位（球麻痺型、その他）、及び疾患進行ステータスといった内因性要因の部分集団に分けて検証した。これらの部分集団におけるトフェルセンの安全性プロファイルは、「2.7.4 臨床的安全性」の 5 項に詳述する。

5.8.1 疾患進行性の部分集団

SOD1-ALS 被験者の「エンリッチ」部分集団（すなわち、治験実施計画書に規定された当初のエンリッチメント定義に基づき、急速な疾患進行の可能性が高いと考えられる被験者）に比較的よくみられた有害事象は、SOD1-ALS 被験者の「その他」部分集団とおおむね類似していた。グレード 3 以上の有害事象や重篤な有害事象は、「エンリッチ」部分集団の方が高頻度に発現していた。特に、「エンリッチ」部分集団の被験者は、101 試験でトフェルセンとプラセボのどちらを投与されていても、SOC「呼吸器、胸郭および縦隔障害」に属する事象が「その他」部分集団よりも多く報告された。これらの事象は急速な ALS 進行と一致すると考えられるもので、言い換えれば、急速進行性の SOD1-ALS 被験者には想定内といえる。なお、重篤な神経学的事象は「エンリッチ」部分集団にも「その他」部分集団にも発現している。

5.8.2 妊娠、生殖能、及び授乳

妊娠中及び授乳中のトフェルセン 100 mg 投与に関する臨床試験データは存在しない。

非臨床試験では、30 mg/kg（ヒトへのトフェルセン 100 mg 投与後の曝露量［濃度－時間曲線下面積］の 55 倍）のトフェルセンを投与した雄マウスに、軽微～軽度の精細管変性、精細管拡張、精子滞留、上皮細胞アポトーシス、精巣内の細胞残屑増加、及び精巣上体の精子減少が観察された。しかし、交配及び受胎能又は精子パラメータに対するトフェルセンによる影響は認められなかった。雌マウスでは、トフェルセン関連の死亡や早産はなく、交配能や受胎能に対する影響は認められなかった。また、ウサギの胚・胎児発生やマウスの周産／出生後発生にも有害作用を及ぼさなかった。マウスへのトフェルセン投与後、乳汁試料中からトフェルセンが検出された。追加詳細は「2.4 非臨床に関する概括評価」に示す。

なお、7 個の塩基対にミスマッチを有するため、トフェルセンはげっ歯類の SOD1 には結合しない。そのため、SOD1 タンパク質ノックダウンがヒトの生殖機能や胚・胎児発生にどのような影響を及ぼすかは不明である。

5.8.3 小児及び高齢患者

SOD1-ALS は 18 歳未満の若年層では極めてまれである。1.2.2.1 項に記したように、本症発症の平均年齢は 49.7 ± 12.3 歳である［Bali 2017］。急速進行性 SOD1-ALS 患者を対象とした arimoclomol の無作為化二重盲検プラセボ対照試験では、被験者の年齢は 25～75 歳で、25 歳より若い被験者は含まれていない［Benatar 2018a］。*SOD1* 変異キャリアにおける若年発症型の筋力低下及び／又は筋萎縮は、希少症例として報告されている［De La Torre 2019; Hayward 1998; Ikeda 1995; Rezania 2003］。

臨床試験でトフェルセンを投与された ALS 被験者 166 例のうち、4 例以外はすべて SOD1-ALS 患者（承認申請適応疾患）で、65 歳以上は計 22 例であった。データ数が限られているが、トフェルセン臨床開発プログラムにおけるこれらの高齢被験者と 65 歳未満の被験者での安全性や有効性に、全般的な差は認められなかった。

5.8.4 肝機能及び腎機能障害

トフェルセン臨床試験に肝機能障害や腎機能障害を有する被験者は含まれていない（「2.7.4 臨床的安全性」5.2.6 項）。

肝機能障害又は腎機能障害を有する患者におけるトフェルセンの安全性プロファイルは不明である。トフェルセンはヌクレアーゼを介して代謝され、肝 CYP450 による代謝を受けないことから、肝機能障害患者に対する用量調節は必要としない。トフェルセンは腎代謝を受けないが、未変化のトフェルセン及び ASO 断片が腎臓から排泄される。

5.8.5 自動車運転及び機械操作に対する影響

トフェルセン投与期間中の運転や機械操作能力に対する影響を評価する試験は実施していない。

5.8.6 日本人集団

日本人被験者 7 例は、101 試験パート C で、トフェルセン 100 mg 投与群（3 例）とプラセボ群（4 例）に無作為に割り付けられた（「2.7.4 臨床的安全性」5.1 項）。101 試験を完了した被験者 7 例全員は、実施中の 102 試験に移行し、2022 年 7 月 15 日時点で 1 例が試験中止、6 例が非盲検下でトフェルセン 100 mg を継続投与中であった。ベースライン時点での被験者の年齢は 35 歳～58 歳、性別は男性 3 例、女性 4 例であった。なお、日本人集団の安全性解析結果は、101 試験パート C については試験の最終データ（2021 年 7 月 16 日 Japan Analysis IA1）を、101 試験パート C 及び 102 試験の統合解析では、3 回目の中間データ（2022 年 7 月 15 日データカット Japan Analysis IA3）を基にしている。2022 年 7 月 15 日時点で、101 試験パート C 及び 102 試験の日本人被験者 7 例にトフェルセン 100 mg が 9 回以上、最大 32 回、IT 投与された。

101 試験パート C（最終データ：2021 年 7 月 16 日）の日本人被験者 7 例において、全被験者に有害事象が 1 件以上発現したが、いずれの事象も重症度は軽度又は中等度であった（「2.7.4 臨床的安全性」5.1.4 項）。トフェルセン 100 mg を投与された日本人被験者に発現した有害事象は、頭痛（2 例）、異常感覚、神経痛、悪心、発熱、及び CSF 白血球数増加（各 1 例）であり、このうち、

トフェルセン群のみで報告され、プラセボ群では報告されなかった有害事象は、異常感覚、神経痛、悪心、発熱、及び CSF 白血球数増加（各 1 例）であった。トフェルセン 100 mg 群における頭痛の発現率はプラセボ群と同程度（両群とも 2 例）であった。プラセボ群のみで報告された有害事象は、上咽頭炎（3 例）、処置による疼痛（2 例）、並びに胃炎、上気道感染及び腰椎穿刺後症候群（各 1 例）であった。日本人被験者 7 例において、重篤な有害事象及び死亡に至った事象は報告されず、治験薬の投与中止又は投与中断に至った有害事象は認められなかった。

101 試験パート C 及び 102 試験の統合解析（データカット：2022 年 7 月 15 日）では、トフェルセンが投与された日本人被験者 7 例において、2 例以上に報告された有害事象は発熱（6 例）、頭痛（5 例）、背部痛（4 例）、上咽頭炎、及び CSF 蛋白増加（各 3 例）、疲労、足部白癬、上腹部痛、悪心、浮動性めまい、髄液細胞増加症、転倒、頚部痛、及び複視（各 2 例）であった。2 例以上に発現した治験責任医師によりトフェルセンと関連ありと評価された有害事象は、CSF 蛋白増加、頭痛（各 3 例）、髄液細胞増加症、背部痛、複視、及び発熱（各 2 例）であった。腰椎穿刺と関連ありと評価された有害事象は、頭痛、背部痛（各 4 例）、悪心（2 例）、浮動性めまい、異常感覚、神経痛、腰椎穿刺後症候群、及び処置による疼痛（各 1 例）であった。有害事象の大部分は軽度又は中等度であったが、1 例に Grade 3 の重篤な有害事象が 3 件発現し（腎盂腎炎、敗血症性ショック、尿路結石）、入院に至った有害事象として報告されたが、いずれも治験責任医師によりトフェルセンと関連なしと評価された（被験者 ID：904-401）。

全体集団でトフェルセンの重篤な神経学的 ADR として特定された脊髄炎／神経根炎、視神経乳頭浮腫、及び無菌性髄膜炎については、日本人では 102 試験で軽度の神経根障害 1 例のみが報告され、本事象は治験薬投与と関連ありと評価されたが、他の事象は日本人被験者 7 例で認められなかった（「2.7.4 臨床的安全性」5.1.5 項）。

日本人被験者 7 例のいずれにおいても、臨床検査、バイタルサイン、又は心電図の評価で臨床的に重要な異常は認められなかった。

日本人被験者全 7 例においてベースライン時の ADA は陰性であったが、101 試験パート C 及び 102 試験の統合解析において、トフェルセンが投与された日本人被験者全 7 例で持続性の ADA 反応がみられた。SMQ の過敏症、アナフィラキシー反応、血管浮腫を免疫原性に関連する有害事象を ADA の状態別に評価したところ、ADA 抗体価が陽性であった 7 例中 4 例で有害事象（口内炎、手皮膚炎、蕁麻疹、及び季節性アレルギー各 1 例）が報告されたが、いずれも軽度で、治験薬投与と関連なしと評価された。また、重篤な神経学的 ADR（脊髄炎、神経根炎、視神経乳頭浮腫、無菌性髄膜炎）は、日本人被験者 7 例では発現しておらず（軽度な神経根炎 1 例のみ）、日本人被験者においても重篤な神経学的 ADR に対する抗トフェルセン ADA の影響は不明である（「2.7.4 臨床的安全性」5.1.9 項）。

101 試験パート C 及び 102 試験の統合解析（データカット：2023 年 2 月 28 日）では、2 例は投与を中止（1 例は有害事象/血中アルカリホスファターゼ増加、別の 1 例は同意撤回後に疾患進行により試験中止）し、5 例は非盲検下でトフェルセン 100 mg を継続投与中である。日本人被験者は、トフェルセン 100 mg を 16 回以上、最大 45 回 IT 投与された。3 例以上に報告された有害事象は発熱（7 例）、背部痛及び頭痛（各 5 例）、上咽頭炎、上腹部痛、悪心、及び CSF 蛋白増加（各 3 例）であった。この報告期間で、過去に報告された髄膜炎（1 例）が無菌性髄膜炎に再評価され

た。また、重篤な子宮平滑筋腫（Grade 2）が新たに報告されたが、トフェルセンとの因果関係は否定された。（「2.7.4 臨床的安全性」10.5.1 項）。

以上より、101 試験パート C 及び 102 試験の統合解析において、日本人患者に特有の安全性上の懸念は認められておらず、日本人集団の安全性プロファイルは全体集団と同様であると考えられる。

5.9 過量投与

臨床試験においてトフェルセンの過量投与例は報告されていない。過量投与の発生時には、医療従事者による診察、患者の臨床状態の綿密な観察を含めた支持的療法が必要である（「2.7.4 臨床的安全性」5.6 項）。

トフェルセンは、ready-to use 製剤を医療従事者が患者に投与するものとし、投与方法や投与頻度は添付文書に明確に記載する予定である。

5.10 薬物乱用

トフェルセンを含めた当該クラスの ASO 製剤に、乱用・依存性が知られているものや規制物質や特別な使用・取扱い・廃棄要領が必要な成分に指定されているものはない。

標的部位での作用機序や IT 投与経路（来院投与が必要）から、トフェルセンの薬物乱用の可能性はほぼないと考えられる。末梢投与されたトフェルセンは血液脳関門を通過しないため、仮に誤って静脈内や皮下に投与されても薬物依存につながる可能性は排除できる。mRNA への結合特異性からも、トフェルセンが薬物依存性に関与する各種受容体へ結合する可能性はほぼないと考えられる。サルを用いた反復投与毒性試験で実施した神経行動学的評価の結果は正常範囲内で、このことからも乱用・依存性がないことが示唆される。

薬物乱用・依存に一般的な有害事象パターンはトフェルセン臨床プログラムでほとんど観察されていない。以上をまとめると、トフェルセンが乱用につながる可能性は低く、規制物質とみなす必要はない。

5.11 Expanded Access Program での使用経験

2022 年 7 月 15 日時点で、43 例から 109 件の有害事象（非重篤な有害事象 77 件、重篤な有害事象 32 件）が報告されている。最も頻繁に（4 件以上）報告された有害事象は、腰椎穿刺後症候群（8 件）、処置による疼痛（4 件）、及び頭痛（4 件）であった。また、重篤な脊髄炎が 1 件、非重篤な腰髄神経根障害（神経根炎）が 1 件報告された。重篤な神経根炎や、非重篤な視神経乳頭浮腫、頭蓋内圧上昇、無菌性髄膜炎、及び化学性髄膜炎は報告されていない（「2.7.4 臨床的安全性」6.3 項）。

EAP のデータと臨床開発プログラムから得られた結果に大きな違いはなく、SOD1-ALS 患者におけるトフェルセンの安全性プロファイルが引き続き許容可能であることが示されている。

2023 年 2 月 28 日時点で、88 例で計 169 件の有害事象が報告された（「2.7.4 臨床的安全性」

10.6.2 項)。

5.12 市販後使用経験

トフェルセンは、2023 年 4 月 25 日に迅速承認制度の下、FDA により承認された。データカット時点で市販後の安全性データは得られていない。

5.13 ファーマコヴィジランス計画

臨床試験から得た安全性データによると、トフェルセンは、成人の SOD1-ALS 患者に対して許容可能な安全性プロファイルを有しており、治療薬として適している。

トフェルセンの「重要な特定されたリスク」として脊髄炎／神経根炎及び視神経乳頭浮腫が、「特定されたリスク」として無菌性髄膜炎が観察されている。これらのリスクは、添付文書に明記することで軽減可能で､いずれも標準治療による観察と治療により臨床管理することができる。

トフェルセン臨床試験で観察された腰椎穿刺による有害事象は、当該手技に想定される範囲内の事象といえる。トフェルセンの臨床開発プログラムでは、重篤な感染（細菌性髄膜炎など）といった腰椎穿刺に伴う重篤な合併症は観察されていない。

腰椎穿刺に伴う合併症は、添付文書に明記することで軽減可能である。腰椎穿刺の際には、無菌操作を用いて感染リスクを抑えるなど、標準的な予防策を実施することが推奨される。データレビューの結果、腰椎穿刺手技後に敢えて特別なモニタリングを推奨することはせず、標準治療に従うものとする。

安全性データベースのサイズは希少疾患患者集団に適切と考えられるが、長期投与に関する情報は限られている。トフェルセンの長期の安全性は、102 試験と通常のファーマコヴィジランス活動を通して引き続き評価される。妊娠中及び授乳中のトフェルセン投与に関する臨床試験データは存在しない。これまでのところ非臨床安全性試験から懸念事項は特定されていないが、胎児や母乳育児中の乳児に対するトフェルセンの影響は不明である。現時点ではリスクを判断するにはデータが不十分であるため、リスクの軽減策として添付文書に記載する。長期投与並びに妊娠中及び授乳中の使用については、不足情報とした。

ファーマコヴィジランス計画の目的は、特定されたリスクの特性をさらに究明し、臨床試験で確認できなかった新たなリスクを特定し、より大規模な SOD1-ALS 患者集団におけるトフェルセンの安全性情報を入手するために、市販後の使用経験を通してトフェルセンの安全性プロファイルをモニタリングすることにある。日々のファーマコヴィジランス活動と共に、実施中の臨床試験における安全性プロファイルのモニタリングを継続していく予定である。

5.8 項に特定した患者集団は非常にまれであり、SOD1-ALS の治療におけるトフェルセンの使用と関連がないため、特別患者集団を対象とした追加試験の実施は計画していない。

上記に加えて、臨床現場における SOD1-ALS 治療薬としてのトフェルセンの長期安全性プロファイルを評価するために、非介入市販後安全性試験（PASS）を行う予定である。

トフェルセンの良好なベネフィット／リスクプロファイル及び許容可能な安全性プロファイル

に基づき、製品添付文書への記載をもって具体的なリスク軽減策としたいと考えている。リスク軽減策に変更が必要であるか否かは、ファーマコヴィジランス計画を通して入手したデータを基に判断していく予定である。

5.14 安全性に関する結論

トフェルセンの安全性は、計 166 例の ALS 患者（4 例を除き、すべて SOD1-ALS）を対象とした無作為化プラセボ対照試験及び OLE 試験によってその特性が十分に明らかにされてきた（詳細は 5.2 項参照）。EAP 参加患者からも、新たな安全性の懸念は特定されていない。

各種臨床試験を通したトフェルセンの総曝露（352.55 人年）からは、希少疾患である本症に適した安全性評価が可能である。現在は長期曝露データを集積中である。2022 年 7 月 15 日のデータカット時点で、57 例がトフェルセン 100 mg に少なくとも 144 週間曝露されている（ABCL1）。

主な安全性所見は以下のとおりである。

- トフェルセン投与期間中に報告された有害事象のほとんどは、SOD1-ALS 患者にみられる有害事象、又は腰椎穿刺手技に伴い観察される事象の種類と重症度と一致していた。比較的よくみられた事象は軽度～中等度で、投与中止や投与中断には至らなかった。
- 22 例の死亡がトフェルセンを投与した被験者（用量を問わず）で報告された。報告されたほとんどの死亡は実質的には呼吸器関連であり、ALS 患者によくみられる死因と変わらなかった。トフェルセンと関連ありと評価された死亡例はなかった。
- 重篤な ADR として、脊髄炎／神経根炎、視神経乳頭浮腫、及び無菌性髄膜炎がトフェルセンを投与した被験者に認められた。これらの ADR は標準治療で管理可能である。2022 年 7 月 15 日のデータカット以降、新たな重篤な脊髄炎／神経根炎、乳頭浮腫、又は無菌性髄膜炎は報告されていない。
- 非重篤な ADR として、疼痛、疲労、関節痛、筋肉痛、CSF 白血球増加、CSF 蛋白増加、筋骨格硬直、神経痛、及び発熱が特定された。重症度はおおむね軽度～中等度で、投与制限性はなかった。
- 髄液細胞増加症及び CSF 蛋白増加を含む CSF 検査異常が多くみられた。その大部分が無症候性で、投与制限性はなかった。これらの CSF 検査所見と重篤な神経学的事象の関係は十分に明らかになっていない。
- 腰椎穿刺関連事象はプラセボ投与被験者にもトフェルセン投与被験者にもよくみられたが、おおむね軽度～中等度で、標準治療で管理可能なうえに、投与制限性もなかった。
- 日本人患者に特有の安全性懸念は認められておらず、日本人集団の安全性プロファイルは全体集団と同様であると考えられた。

以上から、トフェルセン並びに腰椎穿刺を介したトフェルセンの投与は、SOD1-ALS の治療薬としておおむね良好な忍容性を示し、許容できる安全性プロファイルを有していると結論付ける。

6 ベネフィットとリスクに関する結論

SOD1-ALS は非常にまれな ALS の遺伝的サブセットである。ALS は障害が進行し、最終的には生命を脅かす神経変性疾患であり、患者や家族、介護者に深刻な影響を及ぼす。ALS 患者の機能を維持し、生存を延長する有効な治療薬に対するアンメット・ニーズが依然として存在する。

SOD1-ALS は、SOD1 遺伝子の変異によって有害な SOD1 タンパク質が蓄積して発症する。トフェルセンは SOD1-ALS の根底にあるこの病態生理を標的とする ASO であり、SOD1 の mRNA に特異的に結合して分解し、SOD1 タンパク質の合成を抑制する。

トフェルセンの臨床開発プログラムでは、投与開始時の年齢が 21～78 歳の ALS 患者 166 例（SOD1-ALS 患者 162 例）を対象に、トフェルセンの有効性と安全性を評価した。その結果、トフェルセンの投与（トフェルセン 100 mg の 2 週間ごと 3 回の負荷投与に続けて 4 週間ごとに維持投与）は、SOD1-ALS の治療薬として良好なベネフィット／リスクプロファイルが示されている。

ベネフィット

トフェルセンは、デザインされたとおり、その投与によって SOD1 タンパク質が減少し、本剤の標的特異作用（Target Engagement）が確認された。この原因タンパク質の減少がニューロフィラメントの減少につながり、トフェルセンが本疾患の経過の要となる軸索損傷や神経変性を緩徐化させることが示唆される。トフェルセンの生物学的活性は、下記のように時間の経過と共に臨床的ベネフィットとなって現れ、とりわけ早期投与開始時にその効果が顕著である。

- 非臨床試験及び臨床試験共に、トフェルセン投与によって CSF 中総 SOD1 タンパク質が減少し、標的特異作用（Target Engagement）を示唆する間接的エビデンスが示された。これらの減少は投与開始から約 8～12 週後までに認められ、トフェルセンが定常状態に達するまでの時間や SOD1 タンパク質の推定半減期（いずれも約 1 ヵ月）とも一致している。
- 原因タンパク質の早期減少は軸索損傷や神経変性の抑制をもたらし、Week 12～16 までに観察されたニューロフィラメントの確実かつ持続的な減少により示された。
- 101 試験パート C では、生物学的活性のエビデンスは明らかに認められているにもかかわらず、主要解析（Week 28）では統計学的有意差が認められなかった。しかし、臨床機能、呼吸機能、筋力、及び QoL の臨床評価項目においてトフェルセンを支持する一貫した傾向が認められた。これらの傾向が明らかに認められたのは、プラセボ群と差が観察される十分な低下が認められた急速進行性（ベースライン時の NfL 濃度が高い）の被験者であった。これらの効果は、体重減少の明らかな安定化によってさらに裏付けられた。ALS では、これは臨床的に非常に意味のある効果である。101 試験パート C の試験期間を決定した際には、最大の生物学的活性が遅れて発現する（約 12～16 週）ことは十分考慮されていなかった。さらに、プラセボ群における疾患進行が予想していたよりも緩徐であったことと、適切に調整されない場合にバイアスを生じる可能性がある投与群間でのベースライン時の疾患進行度に重大な不均衡が認められたことが、さらに状況を悪くした。
- Week 52 時点（2022 年 1 月 16 日データカット）では、トフェルセン投与開始遅延群では Week 28 時点で非盲検でのトフェルセンの投与を開始したにもかかわらず、トフェルセンの

早期開始を支持する差が認められ、形式上統計学的に有意であった。重要な点は、トフェルセンの早期開始を支持するこれらの差は、いずれの部分集団、統計解析手法、及び共変量を組み入れたかにかかわらず明確であった。

- 臨床機能（ALSFRS-R）：52 週間の追跡では、早期開始群の臨床機能低下は投与開始遅延群よりも平均で 3.5 ポイント小さく、これまでの ALS 臨床試験で観察された差の中でも最大であった。
- 呼吸機能（SVC）：52 週間の追跡では、早期開始群の呼吸機能（%予測値）低下は投与開始遅延群よりも平均で 9.2%小さく、人工換気なしでの生存期間の延長につながると考えられる差が認められた。
- 筋力（HHD）：52 週間の追跡では、早期開始群の筋力低下は投与開始遅延群よりも平均で 0.28 小さかった。トフェルセン投与による筋力の安定化や一部の被験者でみられた筋力改善は、ALS の自然経過とは完全に一致しない。
- 従来の臨床評価項目に基づくこれらの効果は、患者報告アウトカム（疾患重症度［ALSAQ-5］及び QoL［EQ-5D-5L］）に一貫してみられた明らかな結果からも裏付けが得られた。
- より長期の観察では、両群で発生したイベントは少ないものの、早期開始群の無イベント期間及び生存期間に明らかな延長が認められた。
- 日本人集団の有効性は、おおむね全体集団の変動の範囲内であった。

- 新たな中間データカット（2022 年 1 月 16 日～2023 年 2 月 28 日）では、1 年間の追跡データが追加された。これらのデータの解析により、トフェルセンが SOD1-ALS の疾患進行に対して臨床的に意味のある影響を及ぼし、SOD1-ALS の患者に臨床的ベネフィットを示すエビデンスが得られた。

  - トフェルセンによる SOD1 タンパク質及び NfL の低下が持続したことから、持続的な標的特異作用（Target Engagement）及び神経変性の持続的な緩徐化が示された。

  - Week 76 及び Week 104 までの追跡期間の延長により、臨床機能（ALSFRS-R）、呼吸筋力（SVC）、筋力（HHD）、患者報告アウトカムの疾患重症度、及び QoL の臨床評価項目全般にわたり、投与開始遅延群と比較して早期開始群を支持する明確で意味のある差が認められた。この差は ALS の臨床試験でこれまでに報告された差よりも大きかった。部分集団、統計手法、及び組み込んだ共変量にかかわらず、トフェルセンの早期開始を支持する差が認められた。また、進行性の低下と関連する疾患では、トフェルセンを投与した被験者でみられた筋力及び機能の改善を示す結果は、予想した自然歴と一致しなかった。これらのデータは、102 試験で第 I/II 相試験である 101 試験パート A 及び B から移行した被験者での数年間にわたり認められた機能及び筋力の明らかな安定化によっても裏付けられた。

  - データカット時点（2023 年 2 月 28 日）で、101 試験パート C に登録されたすべての被験者ではベースラインからの観察の中央値は 3.4 年（範囲：2.2～3.9 年）であり、文献で報告された SOD1-ALS の生存期間の中央値の 2.3 年を超えていた［Opie-Martin 2022］。追跡期間が延長されたにもかかわらず、死亡相当イベントの数が少なく、ITT 集団では死亡相当イベントまでの期間の中央値を推定することはできなかった。しかし、無

イベント期間に対するトフェルセンの効果を検討するため、別の手法を用いた。データカット時点で、ALS 発症から死亡又は中途打ち切り（試験中止時又は 2023 年 2 月 28 日のデータカット時）までの期間の中央値は、プラセボ／投与開始遅延群（16 例［44.4%］が試験継続中）で 3.3 年（範囲：0.7～12.2 年）、早期開始群（44 例［61.1%］が試験継続中）で 3.9 年（範囲：0.7～15.7 年）であった。イベントの相対数により解析に適しているデータセットである FPS では、早期開始群における死亡又は永続的換気までの期間の中央値は、6 ヵ月後にトフェルセンの投与を開始する機会があった投与開始遅延群と比較して約 1.6 年延長した。

- 早期開始群では、投与開始遅延群と比較して、死亡相当イベント（死亡又は永続的換気、死亡、疾患進行による試験中止、死亡、又は永続的換気、若しくは ALS 発症から死亡）のリスクが 50%～73%低下した。RPSFTM 解析を実施し、早期開始群で認められた結果と投与開始遅延群で Week 28 にトフェルセンの投与に切り替えなかったと仮定した場合の予想される結果を比較したところ、早期開始群では死亡相当イベントのリスクが 75%～88%低下した。

- 本概括評価で示した解析に限界があることは認識しており、早期開始群と投与開始遅延群での比較は極めて保守的であるにもかかわらず、2 年以上の観察で一貫し 101 試験パート C でのトフェルセン群及び統合解析での早期開始群を支持する結果であった。早期開始群と投与開始遅延群の比較以外にも、予想される疾患の自然歴と比べると、明らかな生存期間の延長、並びに筋力及び機能の改善の可能性を示している。このような臨床評価項目での効果は、軸索損傷及び神経変性の緩徐化を示す頑健な NfL の低下によって裏付けられており、疾患進行の緩徐化と直接関連している。これらのデータから、トフェルセンが SOD1-ALS 患者の疾患進行に対して臨床的に意味のある影響を及ぼすことが示唆された。

リスク

トフェルセンのベネフィットは、トフェルセン及びその投与手技の潜在的なリスクと検討する必要がある。トフェルセン投与期間中に報告された有害事象の大部分が、SOD1-ALS 患者にみられる有害事象、一般的な合併症状、又は腰椎穿刺手技に伴う事象と種類や重症度が同様であった。治験薬投与期間と非重篤又は重篤な有害事象の発現との間には、一定の傾向は確認されなかった。死亡した全 25 例はトフェルセンと関連なしと評価され、多くは ALS 患者の一般的な死因である呼吸不全に続発したものであった。

トフェルセンの臨床プログラムを通して特定されたトフェルセン 100 mg 月 1 回 IT 投与に関連するリスクは以下のとおりである。

- 重篤な ADR として、脊髄炎／神経根炎、視神経乳頭浮腫、及び無菌性髄膜炎がトフェルセンを投与した被験者に認められた。これらの ADR は標準治療で管理可能である。
- 髄液細胞増加症及び CSF 蛋白増加を含む CSF 検査異常がトフェルセン群でよくみられた。その大部分が無症候性で、投与制限性はなかった。これらの CSF 検査所見と重篤な神経学的事象の関係は十分に明らかになっていない。

- 非重篤な ADR として、疼痛、疲労、関節痛、筋肉痛、CSF 白血球増加、CSF 蛋白増加、筋骨格硬直、及び神経痛が特定された。重症度はおおむね軽度～中等度で、投与を制限するものではなかった。
- 腰椎穿刺関連事象はプラセボ群及びトフェルセン群でよくみられたが、おおむね軽度～中等度で、標準治療で管理可能であり、投与を制限するものではなかった。
- 日本人患者に特有の安全性懸念は認められておらず、日本人集団の安全性プロファイルは全集団と同様であると考えられた。

トフェルセンの添付文書（案）には、上記事象の発現率について十分な情報を掲載し、脊髄炎／神経根炎及び視神経乳頭浮腫のリスクに対する警告及び使用上の注意を明記する。

結論

本申請でのデータセットには、主要評価項目に統計学的有意性が認められず、非盲検データや場合によっては事後解析に依存していることなどの限界が存在する。

しかし、過去の ALS 臨床試験では本試験で得られた程度の効果は認められておらず、ALS の自然歴と一致しない。また、生物学的効果と臨床効果との時間的な関係性（例えば、CSF 中 SOD1 タンパク質の減少とそれに続くニューロフィラメントの減少が認められた後に臨床的ベネフィットが認められる）からも、SOD1-ALS 患者の疾患進行に対してトフェルセンが臨床的意義のある効果を示す強いエビデンスが得られている。

トフェルセン群に重篤な神経学的事象が認められたが、これらの事象は標準治療と同様な診断や治療で管理可能である。SOD1-ALS 患者を治療する神経科医は、このような疾患の診断や治療においても経験豊富である。本疾患に対するアンメット・ニーズ及び SOD1-ALS が進行性かつ最終的に生命を脅かす疾患であることを考慮すると、トフェルセンの安全性プロファイルは許容可能と考えられる。

ALS 患者は次第に衰弱し、余命も限られている。SOD1-ALS に特化した治療法は承認されておらず、既存の治療薬では疾患進行を大きく遅らせたり止めたりすることはできない。得られたデータはこのようなアンメット・メディカル・ニーズが高く生命を脅かす疾患である SOD1-ALS に対する重要な新規治療薬として、トフェルセン 100 mg の月 1 回 IT 投与を支持している。

これまでに観察された効果を確認するための長期のデータ創出が行われている。しかし、治療効果に関する強力で総合的なエビデンスや本疾患の希少性を考慮すると、新たなプラセボ対照試験の実施は適切ではなく、代わりに、重要で解釈可能なデータの収集がいくつかの試験で継続中であり、また計画されている。

以上より、トフェルセン投与による治療ベネフィットは肯定的なものであり、かつ安全性データからはアンメット・メディカル・ニーズの高い重篤な疾患に対する許容可能な安全性プロファイルが示された。

7 継続的なエビデンス創出の計画

トフェルセンの長期的なベネフィット／リスクをさらに説明するためには、希少且つ不均一性の高い疾患における継続的なデータの創出が重要である。SOD1-ALS におけるトフェルセンの継続的なエビデンス創出の計画には、発症前の SOD1 変異キャリアを対象とした実施中の臨床試験（303 試験）、長期継続投与試験（102 試験）、及び疾患レジストリによるリアルワールドデータの収集が含まれる。

303 試験

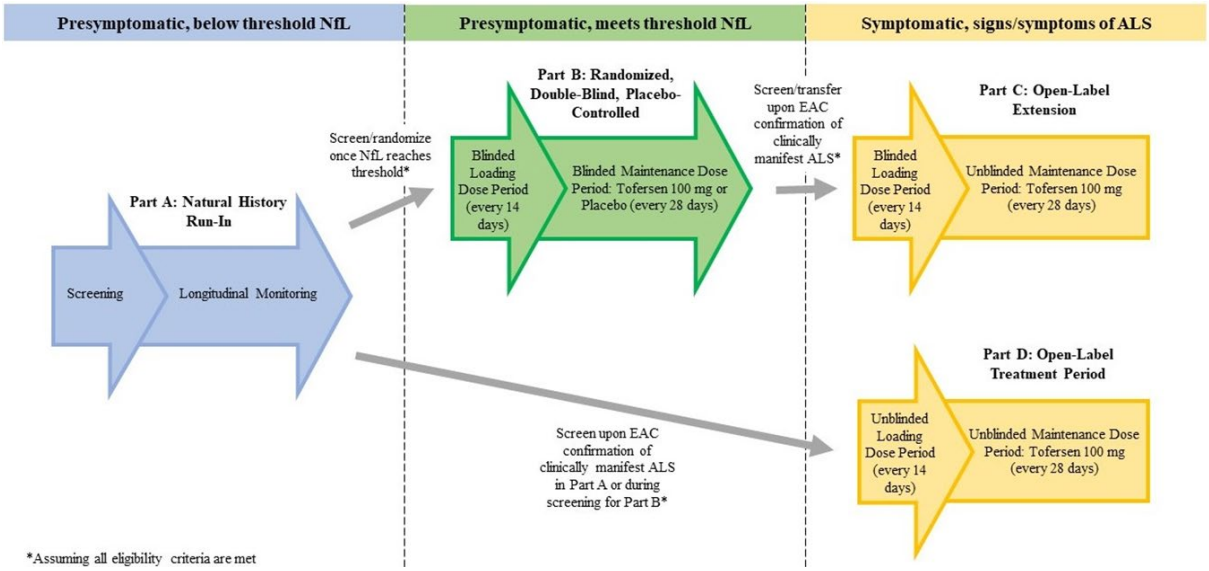
303 試験は、実施中の比較対照試験であり、疾患活動性を示すバイオマーカーのエビデンス（血漿中 NfL 濃度の上昇）に基づいて、SOD1 変異を有する臨床症状発現前の成人を対象にトフェルセン投与の開始後の有効性を評価するようデザインされた［Benatar 2022］。試験デザインを Figure 31 に示す。本試験では、血漿中 NfL 濃度を毎月モニタリングする自然経過観察期間（パート A）において、リスクを有する SOD1 変異キャリア 150 例を追跡する。血漿中 NfL 濃度が閾値を超えた場合、被験者はプラセボ対照期間（パート B：28 例）のスクリーニングを受ける（1：1 の比で無作為化）。ALS の徴候又は症状（ALS の臨床症状）が認められた被験者には、本試験のパート C でトフェルセンの非盲検での投与を受ける機会がある。

主要目的は、疾患活動性を示すバイオマーカーのエビデンス（血漿中 NfL 濃度の上昇）を有する、ALS 発症前の急速進行性の SOD1 変異のキャリアにトフェルセンの投与を開始することで、ALS の臨床症状の発現の遅延又は抑制を評価することである。具体的には、ALS の臨床症状が発現した被験者の割合をトフェルセン群とプラセボ群で比較評価する。副次評価項目では、NfL の上昇が認められた時点でトフェルセンの投与を開始した被験者（パート B）が、ALS の臨床症状の発現後に投与を開始した被験者（パート C）よりも機能が維持され、生存期間が長いかを評価する。また、重要な点として、本試験のデータを 101 試験パート C 及び 102 試験のデータとの比較により、トフェルセンの投与開始時期（NfL 上昇時［303 試験パート B］、ALS の臨床症状の発現時［303 試験パート C］以降の時点［101 試験パート C 及び 102 試験］）の疾患進行及び治療反応への影響を検討する。

本試験は 2021 年半ばに開始され、2024 年 2 月時点でパート A の目標被験者数 150 例のうち 105 例（70%）が登録され、パート B では目標被験者数 28 例のうち 14 例（50%）が登録されている。試験のデザイン及びこの時点での登録の進捗に基づき、303 試験のデータは 2028 年に得られると予想されているが、この時期はパート B の登録の進捗状況による。

303 試験は実施中であり、有効性の中間解析は実施／計画されていないため、本試験のデータは日本における申請の臨床データパッケージには含まれていない。

Figure 31: Study Design of Study 233AS303



101 試験及び 102 試験の最終データとの統合解析

101 試験及び 102 試験の最終データを統合し、追跡期間を延長したときの生存及び機能に対する早期開始群と投与開始遅延群を比較して有効性を評価する。主なバイオマーカー（SOD1 タンパク質及びニューロフィラメント）及び臨床評価項目（ALSFRS-R、SVC、HHD、ALSAQ-5、EQ-5D-5 L、FSS、及び無イベント期間）の解析を実施する。102 試験の終了時点で、101 試験パート C に登録された被験者は約 3.5 年以上の追跡の機会がある。

追跡期間の最初の 6 ヵ月間のみがプラセボ対照期間であり、その後はすべての被験者に非盲検でトフェルセンが投与される機会があった。トフェルセンの投与開始後に多くの被験者で安定化及び改善が認められたことを考慮すると、早期開始群（101 試験パート C でトフェルセンの投与開始）及びプラセボ／投与開始遅延群（102 試験でのトフェルセンの投与開始）では、より長期の追跡で群間の差がある程度まで小さくなると仮定した。そのため、主な解析は、予想される自然歴とトフェルセンを投与された被験者のデータを比較することであり、その詳細を ISE SAP に示す予定である。

例えば、早期開始群と投与開始遅延群を比較する生存関連イベントの解析に加え、生存イベントに関連する評価項目について RPSFTM 解析を用いて、早期開始群で観察された結果とプラセボ／投与開始遅延群が 6 ヵ月後に 102 試験においてトフェルセン投与に切り替えなかったとした場合の予想される結果と比較する。RPSFTM は、生存を評価指標とする試験で治療の切替えを調整する手法である。本手法は反事実モデルに基づく生存（プラセボのみが使用されたとする生存）を用いており、無作為化の時点で実薬群とプラセボ群の反事実モデルでの生存分布は同一であると仮定している［White 1999］。

また、SOD1-ALS 患者において予想される筋力や機能の進行性の低下とは矛盾する、筋力、機能、及び QOL の安定化／改善を示す持続的なエビデンスが得られる可能性を考慮して、筋力、機能、及び QOL の安定化／改善を示す被験者の割合を定量化するための解析も行う。

また、101 試験の第 I/II 相試験の 101 試験パート A 及び B の被験者のうち、102 試験でトフェ

ルセン 100 mg を 1 回以上投与された被験者（40 例）については、要約統計量を示す予定である。

SOD1 変異別での罹病期間（生存）に関する統合解析

SOD1 変異別での生存期間をさらに検討するため、トフェルセンを投与された患者でのすべての情報源（101 試験、102 試験、及びレジストリ）から得られたデータを統合し、これらのトフェルセン投与例と、レジストリ及び自然歴のデータセット／文献からなる未投与例とを比較して、SOD1 変異の種類別での罹病期間（生存期間）の記述的解析を行う予定である。

233AS401 試験

233AS401 試験は、SOD1-ALS 患者におけるトフェルセンの長期安全性を評価するために計画された、レジストリに基づく観察研究である。本試験は Precision-ALS/Treatment Research Initiative to Cure ALS（TRICALS）及び ALS/Motor Neuron Disease Natural History Consortium（MND－NHC）と共同で実施する予定である。このレジストリの詳細については EMA と協議中で最終的な合意を待っているところであり、スケジュールは未定である。

8 参考文献

Abu-Rumeileh S, Vacchiano V, Zenesini C, et al. Diagnostic-prognostic value and electrophysiological correlates of CSF biomarkers of neurodegeneration and neuroinflammation in amyotrophic lateral sclerosis. J Neurol. 2020;267(6):1699-1708. Epub 20200225.

Al-Chalabi A, Lewis CM. Modelling the effects of penetrance and family size on rates of sporadic and familial disease. Hum Hered. 2011;71(4):281-8. Epub 20110812.

ALSoD. Amyotrophic Lateral Sclerosis online Database - ALSoD. Institute of Psychiatry, Psychology and Neuroscience (IoPPN). Published 2021 [Accessed Aug 2021].

Andersen PM, Nordström U, Tsiakas K, et al. Phenotype in an Infant with SOD1 Homozygous Truncating Mutation. N Engl J Med. 2019;381(5):486-488. Epub 2019/07/17.

Andrés-Benito P, Domínguez R, Colomina MJ, et al. YKL40 in sporadic amyotrophic lateral sclerosis: cerebrospinal fluid levels as a prognosis marker of disease progression. Aging (Albany NY). 2018;10(9):2367-2382.

Andrews JA, Meng L, Kulke SF, et al. Association Between Decline in Slow Vital Capacity and Respiratory Insufficiency, Use of Assisted Ventilation, Tracheostomy, or Death in Patients With Amyotrophic Lateral Sclerosis. JAMA Neurol. 2018;75(1):58-64.

Athanasakis K, Kyriopoulos II, Sideris M, et al. Investigating the economic burden of ALS in Greece: a cost-of-illness approach. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2015;16(1-2):63-4. Epub 20140714.

Bakers JNE, de Jongh AD, Bunte TM, et al. Using the ALSFRS-R in multicentre clinical trials for amyotrophic lateral sclerosis: potential limitations in current standard operating procedures. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2021:1-8. Epub 20211224.

Bali T, Self W, Liu J, et al. Defining SOD1 ALS natural history to guide therapeutic clinical trial design. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2017;88(2):99-105. Epub 2016/06/03.

Baumann F, Henderson RD, Morrison SC, et al. Use of respiratory function tests to predict survival in amyotrophic lateral sclerosis. Amyotroph Lateral Scler. 2010;11(1-2):194-202.

Bedlack RS, Vaughan T, Wicks P, et al. How common are ALS plateaus and reversals? Neurology. 2016;86(9):808-12. Epub 20151209.

Behzadi A, Pujol-Calderón F, Tjust AE, et al. Neurofilaments can differentiate ALS subgroups and ALS from common diagnostic mimics. Sci Rep. 2021;11(1):22128. Epub 20211111.

Benatar M, Turner MR, Wuu J. Defining pre-symptomatic amyotrophic lateral sclerosis. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2019;20(5-6):303-309. Epub 2019/03/20.Benatar M, Wuu J, Andersen PM, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of arimoclomol in rapidly progressive SOD1 ALS. Neurology. 2018a;90(7):e565-e574. Epub 2018/01/24.

Benatar M, Wuu J, Andersen PM, et al. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of arimoclomol in rapidly progressive SOD1 ALS. Neurology. 2018a;90(7):e565-e574. Epub 2018/01/24.

Benatar M, Wuu J, Andersen PM, et al. Design of a Randomized, Placebo-Controlled, Phase 3 Trial of Tofersen Initiated in Clinically Presymptomatic SOD1 Variant Carriers: the ATLAS Study. Neurotherapeutics. 2022;19(4):1248-1258. Epub 20220518.

Benatar M, Wuu J, Andersen PM, et al. Neurofilament light: A candidate biomarker of presymptomatic amyotrophic lateral sclerosis and phenoconversion. Ann Neurol. 2018b;84(1):130-139. Epub 2018/08/16.

Benatar M, Zhang L, Wang L, et al. Validation of serum neurofilaments as prognostic and potential pharmacodynamic biomarkers for ALS. Neurology. 2020;95(1):e59-e69. Epub 20200508.
Bennett CF. Therapeutic Antisense Oligonucleotides Are Coming of Age. Annu Rev Med. 2019;70:307-321.
Bjornevik K, O'Reilly EJ, Molsberry S, et al. Prediagnostic Neurofilament Light Chain Levels in Amyotrophic Lateral Sclerosis. Neurology. 2021;97(15):e1466-74. Epub 20210811.
Boylan K, Yang C, Crook J, et al. Immunoreactivity of the phosphorylated axonal neurofilament H subunit (pNF-H) in blood of ALS model rodents and ALS patients: evaluation of blood pNF-H as a potential ALS biomarker. J Neurochem. 2009;111(5):1182-91. Epub 2009/09/18.
Boylan KB, Glass JD, Crook JE, et al. Phosphorylated neurofilament heavy subunit (pNF-H) in peripheral blood and CSF as a potential prognostic biomarker in amyotrophic lateral sclerosis. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2013;84(4):467-72. Epub 20121031.
Brettschneider J, Petzold A, Süssmuth SD, et al. Axonal damage markers in cerebrospinal fluid are increased in ALS. Neurology. 2006;66(6):852-6.
Bridel C, van Wieringen WN, Zetterberg H, et al. Diagnostic Value of Cerebrospinal Fluid Neurofilament Light Protein in Neurology: A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA Neurol. 2019;76(9):1035-1048.
Brodovitch A, Boucraut J, Delmont E, et al. Combination of serum and CSF neurofilament-light and neuroinflammatory biomarkers to evaluate ALS. Sci Rep. 2021;11(1):703. Epub 20210112.
Brousse M, Delaby C, De La Cruz E, et al. Serum neurofilament light chain cut-off definition for clinical diagnosis and prognosis of amyotrophic lateral sclerosis. Eur J Neurol. 2023;30(7):1919-1927. Epub 20230419.
Brown CA, Lally C, Kupelian V, et al. Estimated Prevalence and Incidence of Amyotrophic Lateral Sclerosis and SOD1 and C9orf72 Genetic Variants. Neuroepidemiology. 2021:1-12. Epub 20210709.
Brown RH, Al-Chalabi A. Amyotrophic Lateral Sclerosis. N Engl J Med. 2017;377(2):162-172.
Bruijn LI, Cleveland DW. Mechanisms of selective motor neuron death in ALS: insights from transgenic mouse models of motor neuron disease. Neuropathol Appl Neurobiol. 1996;22(5):373-87.
Bruijn LI, Houseweart MK, Kato S, et al. Aggregation and motor neuron toxicity of an ALS-linked SOD1 mutant independent from wild-type SOD1. Science. 1998;281(5384):1851-4.
Bruneteau G, Bauché S, Gonzalez de Aguilar JL, et al. Endplate denervation correlates with Nogo-A muscle expression in amyotrophic lateral sclerosis patients. Ann Clin Transl Neurol. 2015;2(4):362-72. Epub 20150216.
Bunton-Stasyshyn RK, Saccon RA, Fratta P, et al. SOD1 Function and Its Implications for Amyotrophic Lateral Sclerosis Pathology: New and Renascent Themes. Neuroscientist. 2015;21(5):519-29. Epub 2014/12/09.
Byrne S, Walsh C, Lynch C, et al. Rate of familial amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2011;82(6):623-7. Epub 2010/11/03.
Cedarbaum JM, Stambler N, Malta E, et al. The ALSFRS-R: a revised ALS functional rating scale that incorporates assessments of respiratory function. BDNF ALS Study Group (Phase III). Journal of the neurological sciences. 1999;169(1-2):13-21.
Chamberlain MC. Neurotoxicity of Intra-CSF Liposomal Cytarabine (DepoCyt) Administered for the Treatment of Leptomeningeal Metastases: A Retrospective Case Series. J Neurooncol. 2012;109(1):143-8. Epub 2012/04/27.

Chen X, Chen Y, Wei Q, et al. Assessment of a multiple biomarker panel for diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. BMC Neurol. 2016;16:173. Epub 2016/09/15.

Chiò A, Logroscino G, Hardiman O, et al. Prognostic factors in ALS: A critical review. Amyotroph Lateral Scler. 2009;10(5-6):310-23.

Conover WJ, Iman RL. Analysis of covariance using the rank transformation. Biometrics. 1982;38(3):715-24.

Cudkowicz M, Bozik ME, Ingersoll EW, et al. The effects of dexpramipexole (KNS-760704) in individuals with amyotrophic lateral sclerosis. Nat Med. 2011;17(12):1652-6. Epub 20111120.

Cudkowicz ME, McKenna-Yasek D, Sapp PE, et al. Epidemiology of mutations in superoxide dismutase in amyotrophic lateral sclerosis. Ann Neurol. 1997;41(2):210-21.

Cudkowicz ME, van den Berg LH, Shefner JM, et al. Dexpramipexole versus placebo for patients with amyotrophic lateral sclerosis (EMPOWER): a randomised, double-blind, phase 3 trial. Lancet Neurol. 2013;12(11):1059-67. Epub 2013/09/23.

Darras BT, Crawford TO, Finkel RS, et al. Neurofilament as a potential biomarker for spinal muscular atrophy. Ann Clin Transl Neurol. 2019;6(5):932-944. Epub 2019/04/17.

De La Torre A, Shah S, Rao V. A Case of Rapidly Progressive Juvenile-Onset Amyotrophic Lateral Sclerosis with a rare SOD1 genetic variant (P5.6-067). Neurology. 2019;92(15 Supplement):P5.6-067.

De Schaepdryver M, Goossens J, De Meyer S, et al. Serum neurofilament heavy chains as early marker of motor neuron degeneration. Ann Clin Transl Neurol. 2019a;6(10):1971-1979. Epub 2019/09/13.

De Schaepdryver M, Goossens J, Jeromin A, et al. Analytical performance of a CE-marked immunoassay to quantify phosphorylated neurofilament heavy chains. Clin Chem Lab Med. 2019b;57(8):e199-e202.

De Schaepdryver M, Jeromin A, Gille B, et al. Comparison of elevated phosphorylated neurofilament heavy chains in serum and cerebrospinal fluid of patients with amyotrophic lateral sclerosis. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2018;89(4):367-373. Epub 20171020.

De Schaepdryver M, Lunetta C, Tarlarini C, et al. Neurofilament light chain and C reactive protein explored as predictors of survival in amyotrophic lateral sclerosis. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2020;91(4):436-437. Epub 20200206.

De Schaepdryver M, Masrori P, Van Damme P, et al. Effect of neurofilament analysis on the diagnostic delay in amyotrophic lateral sclerosis. CNS Neurosci Ther. 2023;29(1):70-77. Epub 20220901.

De Vivo DC, Bertini E, Swoboda KJ, et al. Nusinersen initiated in infants during the presymptomatic stage of spinal muscular atrophy: Interim efficacy and safety results from the Phase 2 NURTURE study. Neuromuscul Disord. 2019;29(11):842-856. Epub 2019/09/12.

de Wit J, Bakker LA, van Groenestijn AC, et al. Caregiver Burden in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Systematic Review. Palliat Med. 2018;32(1):231-245. Epub 20170703.

Delaby C, Alcolea D, Carmona-Iragui M, et al. Differential levels of Neurofilament Light protein in cerebrospinal fluid in patients with a wide range of neurodegenerative disorders. Sci Rep. 2020;10(1):9161. Epub 20200608.

Disanto G, Barro C, Benkert P, et al. Serum Neurofilament light: A biomarker of neuronal damage in multiple sclerosis. Ann Neurol. 2017;81(6):857-870.

European Medicines Agency. Guideline on clinical investigation of medicinal products for the treatment of amyotrophic lateral sclerosis (ALS).

Escal J, Fourier A, Formaglio M, et al. Comparative diagnosis interest of NfL and pNfH in CSF and plasma in a context of FTD-ALS spectrum. J Neurol. 2022;269(3):1522-1529. Epub 20210727.

Falzone YM, Domi T, Agosta F, et al. Serum phosphorylated neurofilament heavy-chain levels reflect phenotypic heterogeneity and are an independent predictor of survival in motor neuron disease. J Neurol. 2020;267(8):2272-2280. Epub 20200418.

Falzone YM, Domi T, Mandelli A, et al. Integrated evaluation of a panel of neurochemical biomarkers to optimize diagnosis and prognosis in amyotrophic lateral sclerosis. Eur J Neurol. 2022;29(7):1930-1939. Epub 20220323.

Food and Drug Administration. Amyotrophic Lateral Sclerosis: Developing Drugs for Treatment Guidance for Industry.

Feneberg E, Oeckl P, Steinacker P, et al. Multicenter evaluation of neurofilaments in early symptom onset amyotrophic lateral sclerosis. Neurology. 2018;90(1):e22-e30. Epub 20171206.

Finkel RS, Mercuri E, Darras BT, et al. Nusinersen versus Sham Control in Infantile-Onset Spinal Muscular Atrophy. N Engl J Med. 2017;377(18):1723-1732.

Fischer LR, Culver DG, Tennant P, et al. Amyotrophic lateral sclerosis is a distal axonopathy: evidence in mice and man. Exp Neurol. 2004;185(2):232-40.

Forgrave LM, Ma M, Best JR, et al. The diagnostic performance of neurofilament light chain in CSF and blood for Alzheimer's disease, frontotemporal dementia, and amyotrophic lateral sclerosis: A systematic review and meta-analysis. Alzheimers Dement (Amst). 2019;11:730-743. Epub 20191104.

Fischer LR, Li Y, Asress SA, et al. Absence of SOD1 leads to oxidative stress in peripheral nerve and causes a progressive distal motor axonopathy. Exp Neurol. 2012;233(1):163-71.

Fournier C. ROADS to a better ALS outcome measure - the new Rasch-Built Overall ALS Disability Scale (ROADS). Emory University; 2020. p. 1-33.

Franchignoni F, Mora G, Giordano A, et al. Evidence of multidimensionality in the ALSFRS-R Scale: a critical appraisal on its measurement properties using Rasch analysis. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2013;84(12):1340-5. Epub 20130320.

Frazier KS. Antisense oligonucleotide therapies: the promise and the challenges from a toxicologic pathologist's perspective. Toxicol Pathol. 2015;43(1):78-89. Epub 2014/11/09.

Gaetani L, Blennow K, Calabresi P, et al. Neurofilament light chain as a biomarker in neurological disorders. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2019;90(8):870-881. Epub 2019/04/09.

Gagliardi D, Faravelli I, Meneri M, et al. Diagnostic and prognostic value of CSF neurofilaments in a cohort of patients with motor neuron disease: A cross-sectional study. J Cell Mol Med. 2021;25(8):3765-3771. Epub 20210220.

Gaiani A, Martinelli I, Bello L, et al. Diagnostic and Prognostic Biomarkers in Amyotrophic Lateral Sclerosis: Neurofilament Light Chain Levels in Definite Subtypes of Disease. JAMA Neurol. 2017;74(5):525-532.

Gaiottino J, Norgren N, Dobson R, et al. Increased neurofilament light chain blood levels in neurodegenerative neurological diseases. PLoS One. 2013;8(9):e75091. Epub 2013/09/20.

Ganesalingam J, An J, Bowser R, et al. pNfH is a promising biomarker for ALS. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2013;14(2):146-9. Epub 20121022.

Ganesalingam J, An J, Shaw CE, et al. Combination of neurofilament heavy chain and complement C3 as CSF biomarkers for ALS. J Neurochem. 2011;117(3):528-37.

Gendron TF, Daughrity LM, Heckman MG, et al. Phosphorylated neurofilament heavy chain: A biomarker of survival for C9ORF72-associated amyotrophic lateral sclerosis. Ann Neurol. 2017;82(1):139-146.

Gertsman I, Wuu J, McAlonis-Downes M, et al. An endogenous peptide marker differentiates SOD1 stability and facilitates pharmacodynamic monitoring in SOD1 amyotrophic lateral sclerosis. JCI Insight. 2019;4(10) Epub 20190516.

Gille B, De Schaepdryver M, Goossens J, et al. Serum neurofilament light chain levels as a marker of upper motor neuron degeneration in patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis. Neuropathol Appl Neurobiol. 2019;45(3):291-304. Epub 20180718.

Gladman M, Zinman L. The economic impact of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review. Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res. 2015;15(3):439-50. Epub 20150430.

Gołąb-Janowska M, Honczarenko K, Stankiewicz J. Usefulness of the ALSAQ-5 scale in evaluation of quality of life in amyotrophic lateral sclerosis. Neurol Neurochir Pol. 2010;44(6):560-6.

Gonçalves M, Tillack L, de Carvalho M, et al. Phosphoneurofilament heavy chain and N-glycomics from the cerebrospinal fluid in amyotrophic lateral sclerosis. Clin Chim Acta. 2015;438:342-9. Epub 20140928.

Gong ZY, Lv GP, Gao LN, et al. Neurofilament Subunit L Levels in the Cerebrospinal Fluid and Serum of Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis. Neurodegener Dis. 2018;18(2-3):165-172. Epub 20180613.

Gordon PH, Cheng B, Salachas F, et al. Progression in ALS is not linear but is curvilinear. J Neurol. 2010;257(10):1713-7.

Gordon PH, Salachas F, Lacomblez L, et al. Predicting survival of patients with amyotrophic lateral sclerosis at presentation: a 15-year experience. Neurodegener Dis. 2013;12(2):81-90. Epub 2012/08/21.

Gunnarsson M, Malmeström C, Axelsson M, et al. Axonal damage in relapsing multiple sclerosis is markedly reduced by natalizumab. Ann Neurol. 2011;69(1):83-9.

Gurney ME, Pu H, Chiu AY, et al. Motor neuron degeneration in mice that express a human Cu,Zn superoxide dismutase mutation. Science. 1994;264(5166):1772-5.

Haji S, Sako W, Murakami N, et al. Serum NfL and CHI3L1 for ALS and parkinsonian disorders in the process of diagnosis. J Neural Transm (Vienna). 2022;129(3):301-309. Epub 20220218.

Halbgebauer S, Steinacker P, Verde F, et al. Comparison of CSF and serum neurofilament light and heavy chain as differential diagnostic biomarkers for ALS. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2022;93(1):68-74. Epub 20210820.

Halstead LS. Post-polio syndrome. Sci Am. 1998;278(4):42-7.

Hayward C, Brock DJ, Minns RA, et al. Homozygosity for Asn86Ser mutation in the CuZn-superoxide dismutase gene produces a severe clinical phenotype in a juvenile onset case of familial amyotrophic lateral sclerosis. J Med Genet. 1998;35(2):174.

Heckler I, Venkataraman I. Phosphorylated neurofilament heavy chain: a potential diagnostic biomarker in amyotrophic lateral sclerosis. J Neurophysiol. 2022;127(3):737-745. Epub 20220209.

Huang F, Zhu Y, Hsiao-Nakamoto J, et al. Longitudinal biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis. Ann Clin Transl Neurol. 2020;7(7):1103-1116. Epub 20200609.

International Council For Harmonisation Of Technical Requirements For Pharmaceuticals For Human Use. E9(R1) Statistical Principles for Clinical Trials: Addendum: Estimands and Sensitivity Analysis in Clinical Trials.

Ikeda M, Abe K, Aoki M, et al. Variable clinical symptoms in familial amyotrophic lateral sclerosis with a novel point mutation in the Cu/Zn superoxide dismutase gene. Neurology. 1995;45(11):2038-42.

Illán-Gala I, Alcolea D, Montal V, et al. CSF sAPPβ, YKL-40, and NfL along the ALS-FTD spectrum. Neurology. 2018;91(17):e1619-e1628. Epub 20181005.

Jacob LA, Sreevatsa A, Chinnagiriyappa LK, et al. Methotrexate-induced chemical meningitis in patients with acute lymphoblastic leukemia/lymphoma. Ann Indian Acad Neurol. 2015;18(2):206-9.

Janse van Mantgem MR, van Eijk RPA, van der Burgh HK, et al. Prognostic value of weight loss in patients with amyotrophic lateral sclerosis: a population-based study. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2020;91(8):867-875. Epub 20200623.

Jeffery DR, Mandler RN, Davis LE. Transverse myelitis. Retrospective analysis of 33 cases, with differentiation of cases associated with multiple sclerosis and parainfectious events. Arch Neurol. 1993;50(5):532-5.

Johnston JA, Dalton MJ, Gurney ME, et al. Formation of high molecular weight complexes of mutant Cu, Zn-superoxide dismutase in a mouse model for familial amyotrophic lateral sclerosis. Proc Natl Acad Sci U S A. 2000;97(23):12571-6.

Jolles S, Sewell WA, Leighton C. Drug-induced aseptic meningitis: diagnosis and management. Drug Saf. 2000;22(3):215-26.

Kaiserova M, Grambalova Z, Otruba P, et al. Cerebrospinal fluid levels of chromogranin A and phosphorylated neurofilament heavy chain are elevated in amyotrophic lateral sclerosis. Acta Neurol Scand. 2017;136(4):360-364. Epub 20170210.

Kasai T, Kojima Y, Ohmichi T, et al. Combined use of CSF NfL and CSF TDP-43 improves diagnostic performance in ALS. Ann Clin Transl Neurol. 2019;6(12):2489-2502. Epub 20191119.

Kato S, Takikawa M, Nakashima K, et al. New consensus research on neuropathological aspects of familial amyotrophic lateral sclerosis with superoxide dismutase 1 (SOD1) gene mutations: inclusions containing SOD1 in neurons and astrocytes. Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord. 2000;1(3):163-84.

Kaufmann P, Levy G, Thompson JL, et al. The ALSFRSr predicts survival time in an ALS clinic population. Neurology. 2005;64(1):38-43.

Khalil M, Pirpamer L, Hofer E, et al. Serum neurofilament light levels in normal aging and their association with morphologic brain changes. Nat Commun. 2020;11(1):812. Epub 20200210.

Khalil M, Teunissen CE, Otto M, et al. Neurofilaments as biomarkers in neurological disorders. Nat Rev Neurol. 2018;14(10):577-589.

Kiebert GM, Green C, Murphy C, et al. Patients' Health-related Quality of Life and Utilities Associated with Different Stages of Amyotrophic Lateral Sclerosis. Journal of the neurological sciences. 2001;191(1-2):87-93.

Kim TW, Kim KS, Seo JW, et al. Antisense oligonucleotides on neurobehavior, respiratory, and cardiovascular function, and hERG channel current studies. J Pharmacol Toxicol Methods. 2014;69(1):49-60. Epub 2013/11/08.

Klein NP, Ray P, Carpenter D, et al. Rates of autoimmune diseases in Kaiser Permanente for use in vaccine adverse event safety studies. Vaccine. 2010;28(4):1062-8. Epub 2009/11/05.

Kmezic I, Samuelsson K, Finn A, et al. Neurofilament light chain and total tau in the differential diagnosis and prognostic evaluation of acute and chronic inflammatory polyneuropathies. Eur J Neurol. 2022;29(9):2810-2822. Epub 20220620.

Knoke JD. Nonparametric analysis of covariance for comparing change in randomized studies with baseline values subject to error. Biometrics. 1991;47(2):523-33.

Kojima Y, Kasai T, Noto YI, et al. Amyotrophic lateral sclerosis: Correlations between fluid biomarkers of NfL, TDP-43, and tau, and clinical characteristics. PLoS One. 2021;16(11):e0260323. Epub 20211129.

Krupp LB, LaRocca NG, Muir-Nash J, et al. The fatigue severity scale. Application to patients with multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. Archives of Neurology. 1989;46(10):1121-1123.

Kuhle J, Kropshofer H, Haering DA, et al. Blood neurofilament light chain as a biomarker of MS disease activity and treatment response. Neurology. 2019;92(10):e1007-e1015. Epub 2019/02/08.

Larkindale J, Yang W, Hogan PF, et al. Cost of illness for neuromuscular diseases in the United States. Muscle Nerve. 2014;49(3):431-8. Epub 20140128.

Lechtzin N, Cudkowicz ME, de Carvalho M, et al. Respiratory measures in amyotrophic lateral sclerosis. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2018;19(5-6):321-330. Epub 2018/03/23.

Lehnert S, Costa J, de Carvalho M, et al. Multicentre quality control evaluation of different biomarker candidates for amyotrophic lateral sclerosis. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2014;15(5-6):344-50. Epub 20140228.

Leigh PN, Abrahams S, Al-Chalabi A, et al. The management of motor neurone disease. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2003;74 Suppl 4:iv32-iv47.

Li DW, Ren H, Jeromin A, et al. Diagnostic Performance of Neurofilaments in Chinese Patients With Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Prospective Study. Front Neurol. 2018;9:726. Epub 20180828.

Li HF, Wu ZY. Genotype-phenotype correlations of amyotrophic lateral sclerosis. Transl Neurodegener. 2016;5:3. Epub 20160203.

Li JY, Dai Y, Sun XH, et al. Comparison of neurofilament light and heavy chain in spinal muscular atrophy and amyotrophic lateral sclerosis: A pilot study. Brain Behav. 2023;13(5):e2997. Epub 20230417.

Li X, Ostropolets A, Makadia R, et al. Characterizing the incidence of adverse events of special interest for COVID-19 vaccines across eight countries: a multinational network cohort study. medRxiv. 2021 Epub 20210417.

Lillo P, Mioshi E, Hodges JR. Caregiver burden in amyotrophic lateral sclerosis is more dependent on patients' behavioral changes than physical disability: a comparative study. BMC Neurol. 2012;12:156. Epub 20121207.

López-Bastida J, Perestelo-Pérez L, Montón-Alvarez F, et al. Social economic costs and health-related quality of life in patients with amyotrophic lateral sclerosis in Spain. Amyotroph Lateral Scler. 2009;10(4):237-43.

Lou JS, Moore D, Gordon PH, et al. Correlates of quality of life in ALS: Lessons from the minocycline study. Amyotroph Lateral Scler. 2010;11(1-2):116-21.

Lu CH, Macdonald-Wallis C, Gray E, et al. Neurofilament light chain: A prognostic biomarker in amyotrophic lateral sclerosis. Neurology. 2015;84(22):2247-57. Epub 20150501.

Manouchehrinia A, Piehl F, Hillert J, et al. Confounding effect of blood volume and body mass index on blood neurofilament light chain levels. Ann Clin Transl Neurol. 2020;7(1):139-143. Epub 20200101.

Masrori P, Ospitalieri S, Forsberg K, et al. Respiratory onset of amyotrophic lateral sclerosis in a pregnant woman with a novel SOD1 mutation. Eur J Neurol. 2022;29(4):1279-1283.

McCampbell A, Cole T, Wegener AJ, et al. Antisense oligonucleotides extend survival and reverse decrement in muscle response in ALS models. J Clin Invest. 2018;128(8):3558-3567. Epub 2018/07/16.

McCluskey G, Morrison KE, Donaghy C, et al. Serum Neurofilaments in Motor Neuron Disease and Their Utility in Differentiating ALS, PMA and PLS. Life (Basel). 2023;13(6) Epub 20230531.

McComas AJ, Sica RE, Currie S. An electrophysiological study of Duchenne dystrophy. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 1971;34(4):461-8.

McCombe PA, Pfluger C, Singh P, et al. Serial measurements of phosphorylated neurofilament-heavy in the serum of subjects with amyotrophic lateral sclerosis. J Neurol Sci. 2015;353(1-2):122-9. Epub 2015/04/29.

McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). J Biol Chem. 1969;244(22):6049-55.

McElhiney MC, Rabkin JG, Gordon PH, et al. Prevalence of fatigue and depression in ALS patients and change over time. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2009;80(10):1146-9.

Menke RA, Gray E, Lu CH, et al. CSF neurofilament light chain reflects corticospinal tract degeneration in ALS. Ann Clin Transl Neurol. 2015;2(7):748-55. Epub 20150525.

Meyer T, Salkic E, Grehl T, et al. Performance of serum neurofilament light chain in a wide spectrum of clinical courses of amyotrophic lateral sclerosis-a cross-sectional multicenter study. Eur J Neurol. 2023;30(6):1600-1610. Epub 20230326.

Millecamps S, Salachas F, Cazeneuve C, et al. SOD1, ANG, VAPB, TARDBP, and FUS mutations in familial amyotrophic lateral sclerosis: genotype-phenotype correlations. J Med Genet. 2010;47(8):554-60. Epub 20100624.

Miller RG, Jackson CE, Kasarskis EJ, et al. Practice parameter update: the care of the patient with amyotrophic lateral sclerosis: multidisciplinary care, symptom management, and cognitive/behavioral impairment (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. Neurology. 2009;73(15):1227-33.

Miller RG, Mitchell JD, Lyon M, et al. Riluzole for amyotrophic lateral sclerosis (ALS)/motor neuron disease (MND). Cochrane Database Syst Rev. 2002(2):CD001447.

Miller T, Cudkowicz M, Shaw PJ, et al. Phase 1-2 Trial of Antisense Oligonucleotide Tofersen for *SOD1* ALS. The New England Journal of Medicine. 2020;383(2):109-119.

Monine M, Norris D, Wang Y, et al. A physiologically-based pharmacokinetic model to describe antisense oligonucleotide distribution after intrathecal administration. J Pharmacokinet Pharmacodyn. 2021 Epub 2021/05/15.

Mount HR, Boyle SD. Aseptic and Bacterial Meningitis: Evaluation, Treatment, and Prevention. Am Fam Physician. 2017;96(5):314-322.

Nicholson K, Murphy A, McDonnell E, et al. Improving symptom management for people with amyotrophic lateral sclerosis. Muscle Nerve. 2018;57(1):20-24. Epub 20170701.

Nakamura R, Sone J, Atsuta N, et al. Next-generation sequencing of 28 ALS-related genes in a Japanese ALS cohort. Neurobiol Aging. 2016;39:219.e1-8. Epub 20151207.

Nonoyama ML, McKim DA, Road J, et al. Healthcare utilisation and costs of home mechanical ventilation. Thorax. 2018 Epub 20180126.

Norgren N, Rosengren L, Stigbrand T. Elevated neurofilament levels in neurological diseases. Brain Res. 2003;987(1):25-31.

Oeckl P, Jardel C, Salachas F, et al. Multicenter validation of CSF neurofilaments as diagnostic biomarkers for ALS. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2016;17(5-6):404-13. Epub 20160411.

Oki R, Izumi Y, Fujita K, et al. Efficacy and Safety of Ultrahigh-Dose Methylcobalamin in Early-Stage Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Randomized Clinical Trial. JAMA Neurol. 2022;79(6):575-583.

Olsson B, Alberg L, Cullen NC, et al. NFL is a marker of treatment response in children with SMA treated with nusinersen. J Neurol. 2019 Epub 2019/05/23.

Opie-Martin S, Iacoangeli A, Topp SD, et al. The SOD1-mediated ALS phenotype shows a decoupling between age of symptom onset and disease duration. Nat Commun. 2022;13(1):6901. Epub 20221112.

Paganoni S, Cudkowicz M, Berry JD. Outcome measures in amyotrophic lateral sclerosis clinical trials. Clin Investig (Lond). 2014;4(7):605-618.

Paganoni S, Macklin EA, Hendrix S, et al. Trial of Sodium Phenylbutyrate-Taurursodiol for Amyotrophic Lateral Sclerosis. N Engl J Med. 2020;383(10):919-930.

Park JH, Elpers C, Reunert J, et al. SOD1 deficiency: a novel syndrome distinct from amyotrophic lateral sclerosis. Brain. 2019;142(8):2230-2237.

Pinto S, de Carvalho M. Comparison of slow and forced vital capacities on ability to predict survival in ALS. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2017a;18(7-8):528-533. Epub 2017/07/25.

Pinto S, de Carvalho M. Correlation between Forced Vital Capacity and Slow Vital Capacity for the assessment of respiratory involvement in Amyotrophic Lateral Sclerosis: a prospective study. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2017b;18(1-2):86-91. Epub 20161204.

Poesen K, De Schaepdryver M, Stubendorff B, et al. Neurofilament Markers for ALS Correlate with Extent of Upper and Lower Motor Neuron Disease. Neurology. 2017;88(24):2302-2309. Epub 2017/05/12.

Proudfoot M, Jones A, Talbot K, et al. The ALSFRS as an outcome measure in therapeutic trials and its relationship to symptom onset. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2016;17(5-6):414-25. Epub 2016/02/11.

Rabkin JG, Gordon PH, McElhiney M, et al. Modafinil treatment of fatigue in patients with ALS: a placebo-controlled study. Muscle Nerve. 2009;39(3):297-303.

Ramamoorthy D, Severson K, Ghosh S, et al. Identifying patterns in amyotrophic lateral sclerosis progression from sparse longitudinal data. Nature Computational Science. 2022;2(9):605-616.

Ramirez C, Piemonte ME, Callegaro D, et al. Fatigue in amyotrophic lateral sclerosis: frequency and associated factors. Amyotroph Lateral Scler. 2008;9(2):75-80.

Reaume AG, Elliott JL, Hoffman EK, et al. Motor neurons in Cu/Zn superoxide dismutase-deficient mice develop normally but exhibit enhanced cell death after axonal injury. Nat Genet. 1996;13(1):43-7.

Reijn TS, Abdo WF, Schelhaas HJ, et al. CSF neurofilament protein analysis in the differential diagnosis of ALS. J Neurol. 2009;256(4):615-9.

Rezania K, Yan J, Dellefave L, et al. A rare Cu/Zn superoxide dismutase mutation causing familial amyotrophic lateral sclerosis with variable age of onset, incomplete penetrance and a sensory neuropathy. Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord. 2003;4(3):162-6.

Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. Genet Med. 2015;17(5):405-24. Epub 2015/03/05.

Rigi M, Almarzouqi SJ, Morgan ML, et al. Papilledema: epidemiology, etiology, and clinical management. Eye Brain. 2015;7:47-57. Epub 20150817.

Robberecht W, Philips T. The changing scene of amyotrophic lateral sclerosis. Nat Rev Neurosci. 2013;14(4):248-64. Epub 20130306.

Rosen DR. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. Nature. 1993;364(6435):362.

Rosengren LE, Karlsson JE, Karlsson JO, et al. Patients with amyotrophic lateral sclerosis and other neurodegenerative diseases have increased levels of neurofilament protein in CSF. J Neurochem. 1996;67(5):2013-8.

Rossi D, Volanti P, Brambilla L, et al. CSF neurofilament proteins as diagnostic and prognostic biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis. J Neurol. 2018;265(3):510-521. Epub 20180110.

Salmon K, Anoja N, Breiner A, et al. Genetic testing for amyotrophic lateral sclerosis in Canada - an assessment of current practices. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2022;23(3-4):305-312. Epub 20210927.

Sanchez-Tejerina D, Llaurado A, Sotoca J, et al. Biofluid Biomarkers in the Prognosis of Amyotrophic Lateral Sclerosis: Recent Developments and Therapeutic Applications. Cells. 2023;12(8) Epub 20230418.

Scarafino A, D'Errico E, Introna A, et al. Diagnostic and prognostic power of CSF Tau in amyotrophic lateral sclerosis. J Neurol. 2018;265(10):2353-2362. Epub 20180816.

Schönfelder E, Osmanovic A, Müschen LH, et al. Costs of illness in amyotrophic lateral sclerosis (ALS): a cross-sectional survey in Germany. Orphanet J Rare Dis. 2020;15(1):149. Epub 20200612.

Schreiber S, Spotorno N, Schreiber F, et al. Significance of CSF NfL and tau in ALS. J Neurol. 2018;265(11):2633-2645. Epub 20180905.

Schulte EC, Hauer L, Kunz AB, et al. Systematic review of cases of acute myelitis in individuals with COVID-19. Eur J Neurol. 2021;28(10):3230-3244. Epub 20210712.

Sejbaek T, Nielsen HH, Penner N, et al. Dimethyl fumarate decreases neurofilament light chain in CSF and blood of treatment naïve relapsing MS patients. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2019;90(12):1324-1330. Epub 20191013.

Sferruzza G, Bosco L, Falzone YM, et al. Neurofilament light chain as a biological marker for amyotrophic lateral sclerosis: a meta-analysis study. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2022;23(5-6):446-457. Epub 20211207.

Shefner JM, Liu D, Leitner ML, et al. Quantitative strength testing in ALS clinical trials. Neurology. 2016;87(6):617-24. Epub 2016/07/06.

Shepheard SR, Parker MD, Cooper-Knock J, et al. Value of Systematic Genetic Screening of Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2021;92(5):510-518. Epub 20210214.

Shi J, Qin X, Chang X, et al. Neurofilament markers in serum and cerebrospinal fluid of patients with amyotrophic lateral sclerosis. J Cell Mol Med. 2022;26(2):583-587. Epub 20211206.

Simonini C, Zucchi E, Bedin R, et al. CSF Heavy Neurofilament May Discriminate and Predict Motor Neuron Diseases with Upper Motor Neuron Involvement. Biomedicines. 2021;9(11) Epub 20211105.

Skillbäck T, Mattsson N, Blennow K, et al. Cerebrospinal fluid neurofilament light concentration in motor neuron disease and frontotemporal dementia predicts survival. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2017;18(5-6):397-403. Epub 20170206.

Steinacker P, Fang L, Kuhle J, et al. Soluble beta-amyloid precursor protein is related to disease progression in amyotrophic lateral sclerosis. PLoS One. 2011;6(8):e23600. Epub 20110815.

Steinacker P, Feneberg E, Weishaupt J, et al. Neurofilaments in the diagnosis of motoneuron diseases: a prospective study on 455 patients. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2016;87(1):12-20. Epub 2015/08/21.

Steinacker P, Huss A, Mayer B, et al. Diagnostic and prognostic significance of neurofilament light chain NF-L, but not progranulin and S100B, in the course of amyotrophic lateral sclerosis: Data from the German MND-net. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2017;18(1-2):112-119. Epub 20161105.

Sugimoto K, Han Y, Song Y, et al. Correlational Analysis of ALS Progression and Serum NfL Measured by Simoa Assay in Chinese Patients. Front Neurol. 2020;11:579094. Epub 20201203.

Sun J, Carrero JJ, Zagai U, et al. Blood biomarkers and prognosis of amyotrophic lateral sclerosis. Eur J Neurol. 2020;27(11):2125-2133. Epub 20200712.

Tabrizi SJ, Leavitt BR, Landwehrmeyer GB, et al. Targeting Huntingtin Expression in Patients with Huntington's Disease. N Engl J Med. 2019;380(24):2307-2316. Epub 2019/05/06.

Tattevin P, Tchamgoué S, Belem A, et al. Aseptic meningitis. Rev Neurol (Paris). 2019;175(7-8):475-480. Epub 20190730.

Thompson AG, Gray E, Verber N, et al. Multicentre appraisal of amyotrophic lateral sclerosis biofluid biomarkers shows primacy of blood neurofilament light chain. Brain Commun. 2022;4(1):fcac029. Epub 20220209.

Thouvenot E, Demattei C, Lehmann S, et al. Serum neurofilament light chain at time of diagnosis is an independent prognostic factor of survival in amyotrophic lateral sclerosis. Eur J Neurol. 2020;27(2):251-257. Epub 20190918.

Tortelli R, Copetti M, Ruggieri M, et al. Cerebrospinal fluid neurofilament light chain levels: marker of progression to generalized amyotrophic lateral sclerosis. Eur J Neurol. 2015;22(1):215-8. Epub 20140422.

Tortelli R, Ruggieri M, Cortese R, et al. Elevated cerebrospinal fluid neurofilament light levels in patients with amyotrophic lateral sclerosis: a possible marker of disease severity and progression. Eur J Neurol. 2012;19(12):1561-7. Epub 20120611.

Traynor BJ, Zhang H, Shefner JM, et al. Functional outcome measures as clinical trial endpoints in ALS. Neurology. 2004;63(10):1933-5.

Turner MR, Faull C, McDermott CJ, et al. Tracheostomy in motor neurone disease. Pract Neurol. 2019;19(6):467-475. Epub 20190704.

Vacchiano V, Mastrangelo A, Zenesini C, et al. Plasma and CSF Neurofilament Light Chain in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Cross-Sectional and Longitudinal Study. Front Aging Neurosci. 2021;13:753242. Epub 20211022.

Vågberg M, Norgren N, Dring A, et al. Levels and Age Dependency of Neurofilament Light and Glial Fibrillary Acidic Protein in Healthy Individuals and Their Relation to the Brain Parenchymal Fraction. PLoS One. 2015;10(8):e0135886. Epub 20150828.

Van Damme P, Al-Chalabi A, Andersen PM, et al. European Academy of Neurology (EAN) guideline on the management of amyotrophic lateral sclerosis in collaboration with European Reference Network for Neuromuscular Diseases (ERN EURO-NMD). Eur J Neurol. 2024:e16264. Epub 20240312.

Van den Berg L, Rothstein J, Shaw P, et al. Results From the Phase 1 Trial and Open-Label Extension Evaluating BIIB078 in Adults With C9orf72-ALS. Presented at the European Network for the Cure of Amyotrophic Lateral Sclerosis - 20th Meeting.

van Eijk RPA, de Jongh AD, Nikolakopoulos S, et al. An old friend who has overstayed their welcome: the ALSFRS-R total score as primary endpoint for ALS clinical trials. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2021;22(3-4):300-307. Epub 20210202.

Verde F, Milone I, Colombo E, et al. Phenotypic correlates of serum neurofilament light chain levels in amyotrophic lateral sclerosis. Front Aging Neurosci. 2023;15:1132808. Epub 20230315

Verde F, Silani V, Otto M. Neurochemical biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis. Curr Opin Neurol. 2019a;32(5):747-757.

Verde F, Steinacker P, Weishaupt JH, et al. Neurofilament light chain in serum for the diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2019b;90(2):157-164. Epub 20181011.

Verde F, Zaina G, Bodio C, et al. Cerebrospinal fluid phosphorylated neurofilament heavy chain and chitotriosidase in primary lateral sclerosis. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2021;92(2):221-223. Epub 20200827.

Verschueren A, Kianimehr G, Belingher C, et al. Wish to die and reasons for living among patients with amyotrophic lateral sclerosis. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2019;20(1-2):68-73. Epub 20181115.

Volk AE, Weishaupt JH, Andersen PM, et al. Current knowledge and recent insights into the genetic basis of amyotrophic lateral sclerosis. Med Genet. 2018;30(2):252-258. Epub 2018/07/13.

Watanabe TA, Geary RS, Levin AA. Plasma protein binding of an antisense oligonucleotide targeting human ICAM-1 (ISIS 2302). Oligonucleotides. 2006;16(2):169-80.

Weydt P, Oeckl P, Huss A, et al. Neurofilament levels as biomarkers in asymptomatic and symptomatic familial amyotrophic lateral sclerosis. Ann Neurol. 2016;79(1):152-8. Epub 2015/12/17.

White IR, Babiker AG, Walker S, et al. Randomization-based methods for correcting for treatment changes: examples from the Concorde trial. Stat Med. 1999;18(19):2617-34.

Wijesekera LC, Leigh PN. Amyotrophic lateral sclerosis. Orphanet J Rare Dis. 2009;4:3. Epub 2009/02/03.

Winer L, Srinivasan D, Chun S, et al. SOD1 in cerebral spinal fluid as a pharmacodynamic marker for antisense oligonucleotide therapy. JAMA Neurol. 2013;70(2):201-7.

Wilke C, Preische O, Deuschle C, et al. Neurofilament light chain in FTD is elevated not only in cerebrospinal fluid, but also in serum. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2016;87(11):1270-1272. Epub 20160517.

Writing Group, Edaravone (MCI-186) ALS 19 Study Group. Safety and efficacy of edaravone in well defined patients with amyotrophic lateral sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet Neurol. 2017;16(7):505-512. Epub 2017/05/15.

Xu L, Liu T, Liu L, et al. Global Variation in Prevalence and Incidence of Amyotrophic Lateral Sclerosis: a Systematic Review and Meta-analysis. J Neurol. 2020;267(4):944-953. Epub 2019/12/03.

Xu Z, Henderson RD, David M, et al. Neurofilaments as Biomarkers for Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. PLoS One. 2016;11(10):e0164625. Epub 2016/10/12.

Yang B, Wu Y, Wang Y, et al. Cerebrospinal fluid MFG-E8 as a promising biomarker of amyotrophic lateral sclerosis. Neurol Sci. 2020;41(10):2915-2920. Epub 20200427.

Yanagisawa N, Tashiro K, Tougi H, et al. Comparative test for double blind experiment of Riluzole for patients with amyotrophic lateral sclerosis in Japan. Igaku no Ayumi. 1997;182(11):851-66.

Yildiz O, Schroth J, Lombardi V, et al. The Expression of Active CD11b Monocytes in Blood and Disease Progression in Amyotrophic Lateral Sclerosis. Int J Mol Sci. 2022;23(6) Epub 20220321.

Yu RZ, Gunawan R, Geary RS, et al. Lack of QT Prolongation for 2'-O-Methoxyethyl-Modified Antisense Oligonucleotides Based on Retrospective Exposure/Response Analysis of Ten Phase 1 Dose-Escalation Placebo-Controlled Studies in Healthy Subjects. Nucleic Acid Ther. 2017;27(5):285-294. Epub 2017/08/11.

Yuan A, Rao MV, Veeranna, et al. Neurofilaments and Neurofilament Proteins in Health and Disease. Cold Spring Harb Perspect Biol. 2017;9(4) Epub 20170403.

Zarei S, Carr K, Reiley L, et al. A comprehensive review of amyotrophic lateral sclerosis. Surg Neurol Int. 2015;6:171. Epub 2015/11/16.

Zecca C, Dell'Abate MT, Pasculli G, et al. Role of plasma phosphorylated neurofilament heavy chain (pNfH) in amyotrophic lateral sclerosis. J Cell Mol Med. 2022;26(13):3608-3615. Epub 20220617.

Zetterberg H, Jacobsson J, Rosengren L, et al. Cerebrospinal fluid neurofilament light levels in amyotrophic lateral sclerosis: impact of SOD1 genotype. Eur J Neurol. 2007;14(12):1329-33. Epub 20070926.

Zhang J, Liu X, Liang H, et al. Amyotrophic lateral sclerosis in seven provinces of Chinese mainland: A cross-sectional survey from 2015 to 2016. Front Aging Neurosci. 2022;14:946353. Epub 20220915.

Zhou YN, Chen YH, Dong SQ, et al. Role of Blood Neurofilaments in the Prognosis of Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Meta-Analysis. Front Neurol. 2021;12:712245. Epub 20211006

Zou ZY, Zhou ZR, Che CH, et al. Genetic epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2017;88(7):540-549. Epub 2017/01/05.