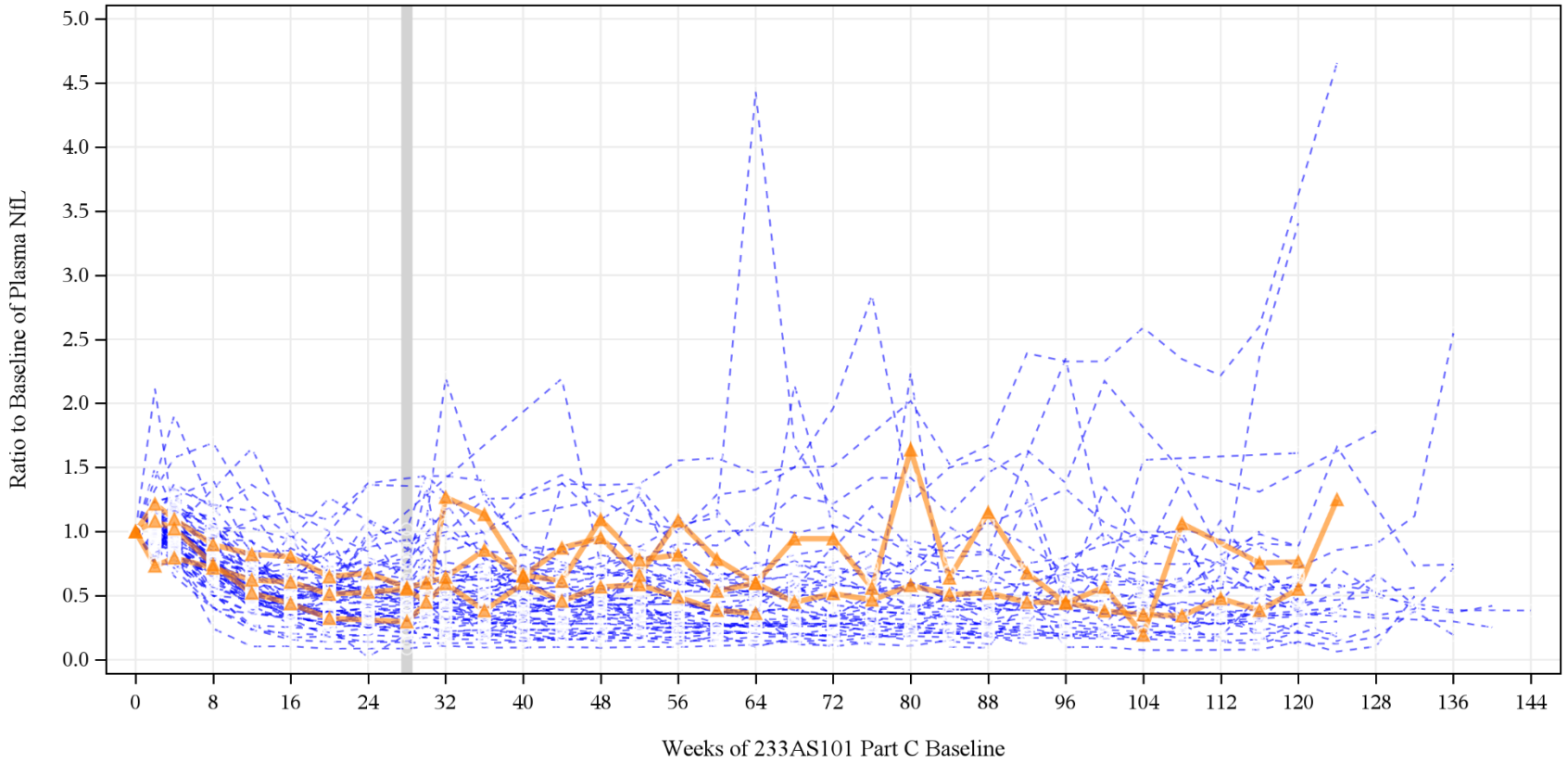
Figure 33　233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti Plot of Plasma NfL Ratio to 233AS101 Part C Baseline by Visit - ITT Population

Page: 1 of 3

Early-start tofersen 100 mg (N=72 including 3 Japanese participants)



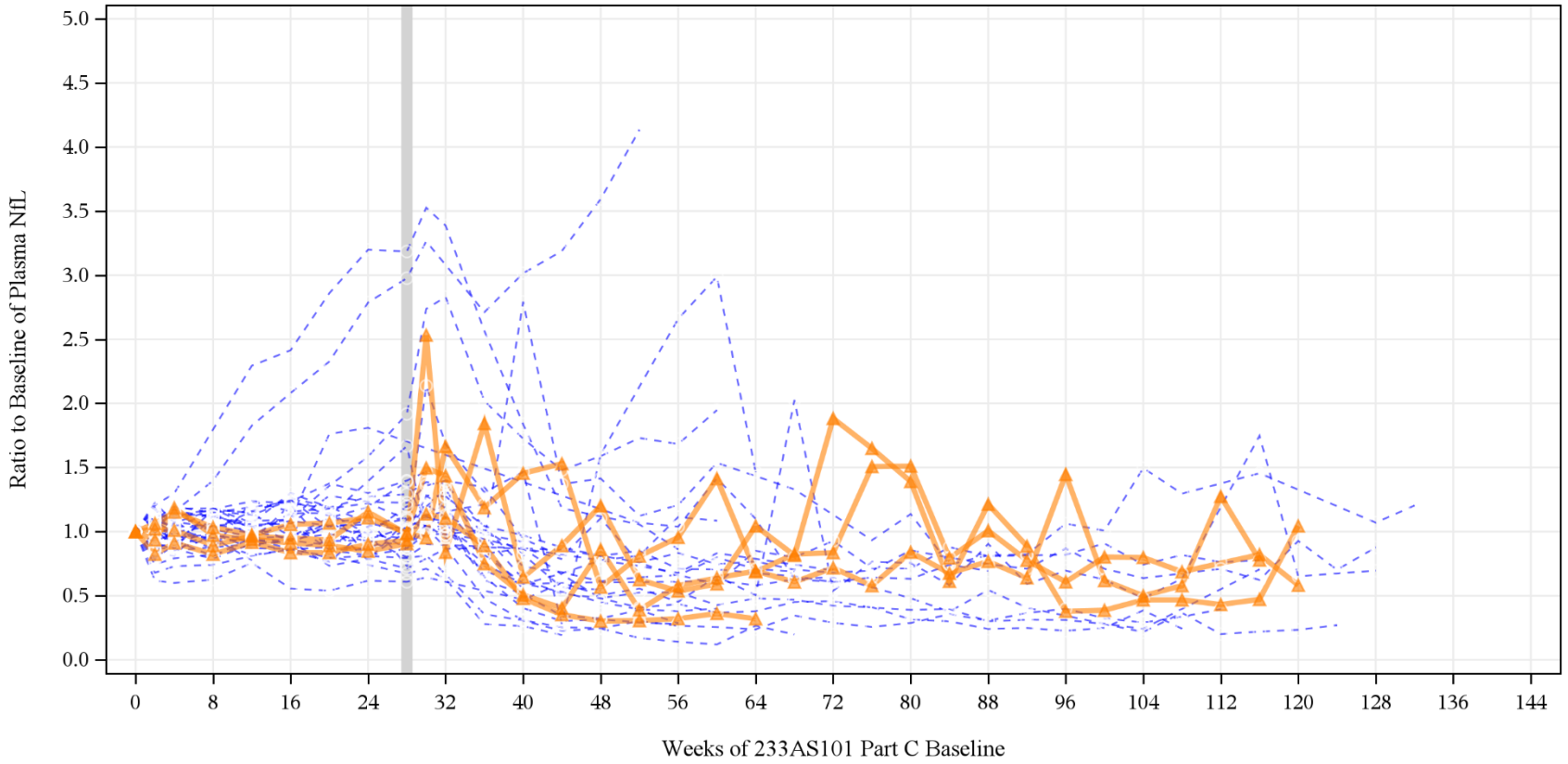
Footnotes are displayed on last page.

Source: biib067/japan/ia2/f-pkpd-pnfl-ratio-pcb-itt.sas **Data Cutoff:** 16JAN2022 **Run Date:** 20JUN2022

233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti plot of Plasma NfL ratio to 233AS101 Part C baseline by visit - ITT population

Page: 2 of 3

Placebo + delayed-start tofersen 100 mg (N=36 including 4 Japanese participants)



Footnotes are displayed on last page.

Source: biib067/japan/ia2/f-pkpd-pnfl-ratio-pcb-itt.sas **Data Cutoff:** 16JAN2022 **Run Date:** 20JUN2022

233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti plot of Plasma NfL ratio to 233AS101 Part C baseline by visit - ITT population
Page: 3 of 3

NOTE 1: Baseline is defined as day 1 of 233AS101 Part C 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: Lower limit of quantitation (LLOQ) is 4.9 pg/mL.
NOTE 3: An extreme value of 477 pg/mL is set to missing.
NOTE 4: If subjects had a gap between 233AS101 end of study and 233AS102 baseline, then the data are excluded from visits between 233AS101 and 233AS102 where they have no follow-up.
NOTE 5: Observed values at all visits are used.
NOTE 6: Japanese subjects are colored orange and non-Japanese subjects are colored blue.
Abbreviations: NfL = neurofilament light chain
Source: biib067/japan/ia2/f-pkpd-pnfl-ratio-pcb-itt.sas **Data Cutoff:** 16JAN2022 **Run Date:** 20JUN2022

Table 20 Pooled Group CL – Summary of Adjusted Geometric Mean Ratio to Baseline in Plasma NfL at Week 52 - ITT Population

	ISE Based on 16 January 2022 Data Cutoff	
	Placebo→ delayed-start tofersen (N=36)	Early-start tofersen (N=72)
Adjusted geometric mean ratio Tof:Placebo GMR (95% CI) p-value (ANCOVA+MI)	0.59	0.49 0.83 (0.65, 1.06) 0.1389

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: Lower limit of quantitation (LLOQ) was 4.9 pg/mL. Values below limit of quantitation (BLQ) were 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 was used for missing data. An extreme value of 477 pg/mL was set to missing and was imputed with multiple imputation in the ANCOVA analysis.
NOTE 4: The analysis was based on ANCOVA model with natural log transformed data. The model included covariates for the corresponding baseline value i.e. log value, and use of riluzole or edaravone.
Source: ISE Appendix 3.3.2 NfL and NfH, Output 8.

Table 21 Plasma and CSF pNfH (pg/mL) Ratio to Baseline at Week 104 in Pooled Group ABL – Long Term Tofersen 100 mg

	ISE Based on 16 January data cutoff
Plasma pNfH N Geometric mean ratio to baseline (Geometric mean ratio± SE)	 27 0.7 (0.6, 0.9)
CSF pNfH N Geometric mean ratio to baseline (Geometric mean ratio± SE)	 27 0.6 (0.5, 0.7)

NOTE 1: Baseline was defined as the last assessment prior to the first dose of tofersen 100 mg. For those with no data at Week 104 but had measurements taken at visit greater than 741 days from baseline, the first non-missing value of the corresponding endpoint taken after Day 741 was used.
NOTE 2: Lower limit of quantitation (LLOQ) was 14.92 pg/mL for plasma pNfH and 29.84 pg/mL for CSF pNfH.
NOTE 3: If participants had a gap > 169 days between 233AS101 end of study and 233AS102 baseline, then the data from 233AS102 only was presented. If subjects had a gap <= 169 days between 233AS101 end of study and 233AS102 baseline, then the data were excluded from visits between 233AS101 and 233AS102 where they had no follow-up.
Source: ISE Appendix 3.3.2 NfL and NfH, Output 5 and Output 8.

3.4.3 追加のデータカット（2023 年 2 月）での薬力学の結果

3.4.3.1 背景と外観

トフェルセンの PD の評価の一環として、101 試験パート C での CSF 中総 SOD1 タンパク質並びに血漿中及び CSF 中 NfL 濃度の最終データを、実施中の非盲検継続投与試験である 102 試験（プール CL 群）での 2 回の中間データカット（すなわち、2021 年 7 月 16 日［Week 28］及び 2022 年 1 月 16 日［Week 52］）での中間データと前向きに統合した。

欧州医薬品庁での初回申請の審査中、CHMP は、CSF 中総 SOD1 タンパク質、並びに血漿中及び CSF 中 NfL に関して、102 試験の追加のデータカットを要請した。

そのため、102 試験の 2023 年 2 月 28 日のデータカットに基づいてこれらの評価に関する 101 試験パート C 及び 102 試験の最新の統合解析を実施し、その結果を本項に示す。このデータカットでは、最新のデータカット（すなわち、Week 104 まで）での 12 ヵ月を超える追跡データが得られ、長期のトフェルセン投与による持続的な標的特異作用（Target Engagement ; CSF 中総 SOD1 タンパク質の減少）及び神経変性プロセスの緩徐化（NfL の低下によって証明される）を示す機会があった。今回のデータカット時点で、101 試験パート C に登録されたすべての被験者における追跡期間の中央値は 3.4 年であり、その範囲は 2.2～3.9 年であった（ISE Addendum, Appendix 2.1、Output 10）。

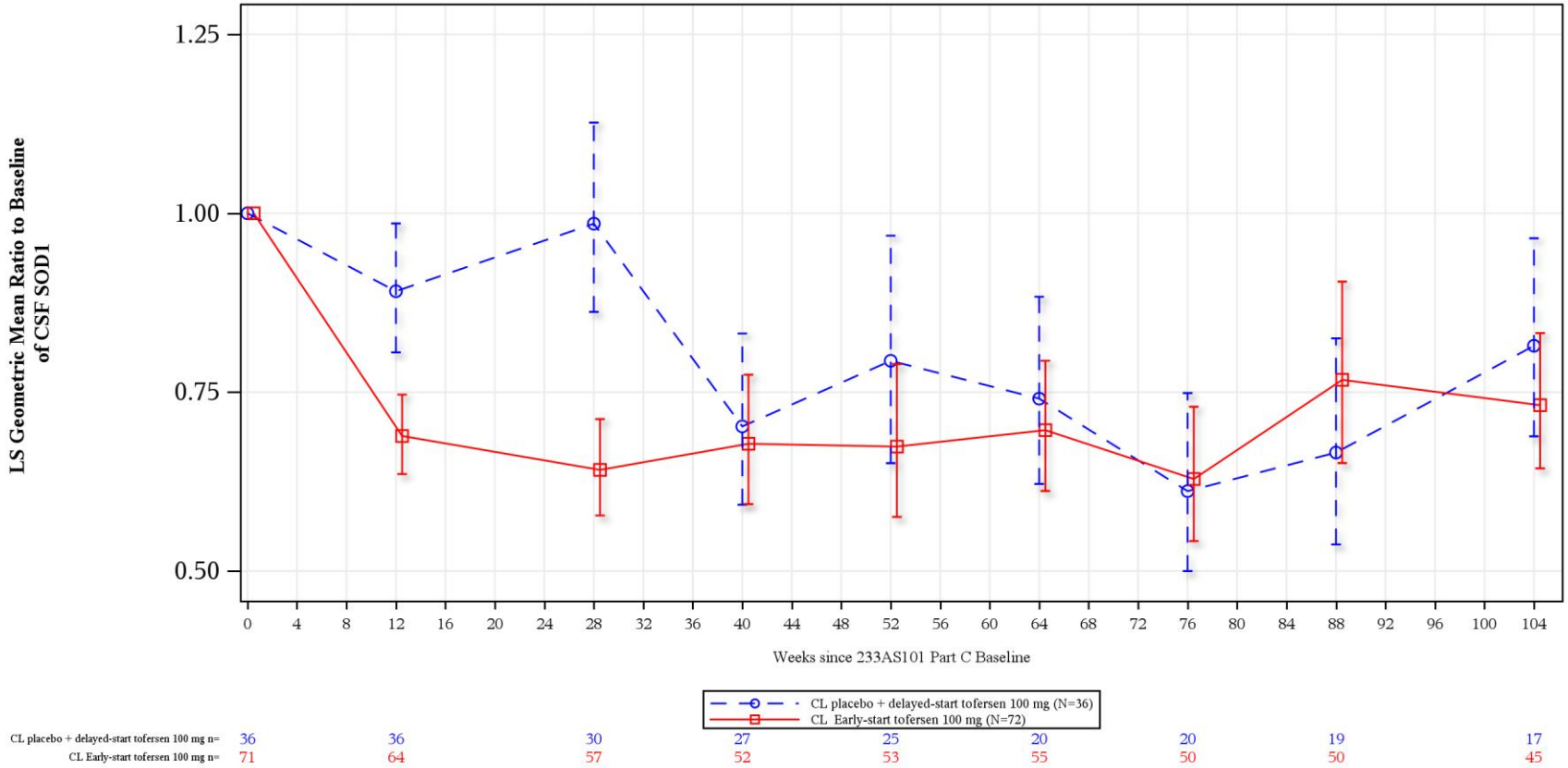
この追跡期間の最初の 6 ヵ月はプラセボ対照期間（101 試験パート C）であり、それ以降はすべての被験者に非盲検でのトフェルセン投与の機会があった（102 試験）こと、及びトフェルセンの投与開始後に多くの被験者で有効性評価項目の安定化及び改善が認められたことを考慮すると、早期開始群（101 試験のパート C でのトフェルセンの投与開始）と投与開始遅延群（102 試験でのトフェルセンの投与開始）の差がある程度小さくなっていくことが想定された。このため、Week 104 に加えて Week 76 においても解析を実施した。

3.4.3.2 CSF 中総 SOD1 タンパク質

プール CL 群では、前回のデータカットから 12 ヵ月を超える追跡データが得られた後でも、CSF 中総 SOD1 タンパク質の減少が持続した（Figure 34。CSF 中総 SOD1 タンパク質の減少は、Week 76 でプラセボ／投与開始遅延群で 39%及び早期開始群で 37%であった。Week 104 では、プラセボ／投与開始遅延群で 19%及び早期開始群で 27%であった（Table 22）。ITT 集団において、日本人集団における CSF 中総 SOD1 タンパク質濃度（オレンジ色の線）の経時的な変化は、おおむね全体集団の変動範囲内であった（Figure 35；上図：早期開始群、下図：プラセボ／投与開始遅延群）。

Figure 34 Line Plot of Total CSF SOD1 Protein Adjusted Geometric Mean Ratio to Study 101 Part C Baseline (95% CI) By Visit to Week 104 From ANCOVA Using MI - ITT Population

Page: 1 of 2



Footnotes are displayed on last page.
Source: biib067/ise/ise-bla4/f-pkpd-sod-anc-clitt.sas **Data Cutoff:** 28FEB2023 **Run Date:** 12JUN2023

233AS101 and 233AS102 ISE: Line plot of total CSF SOD1 protein 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: Lower limit of quantitation (LLOQ) is 15.6 ng/mL. 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.
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 = cerebrospinal fluid; SOD1 = superoxide dismutase 1; ANCOVA = analysis of covariance; MI = multiple imputation; LS = least square.
Source: biib067/ise/ise-bla4/f-pkpd-sod-anc-clitt.sas **Data Cutoff:** 28FEB2023 **Run Date:** 12JUN2023

Table 22 Pooled Group CL: Summary of Adjusted Geometric Mean Ratio to Study 101 Part C Baseline in Total CSF SOD1 Protein at Week 76 and Week 104 (ANCOVA + MI) – ITT Population

	Placebo/Delayed-Start Tofersen (N=36)	**Early-Start Tofersen (N=72)**
Week 76 Adjusted GMR (95% CI) Tofersen:Placebo GMR (95% CI) p-value (ANCOVA+MI)	 0.61 (0.50, 0.75) 	 0.63 (0.54, 0.73) 1.03 (0.82, 1.29) 0.8149
Week 104 Adjusted GMR (95% CI) Tofersen:Placebo GMR (95% CI) p-value (ANCOVA+MI)	 0.81 (0.69, 0.97) 	 0.73 (0.64, 0.83) 0.90 (0.74, 1.08) 0.2611

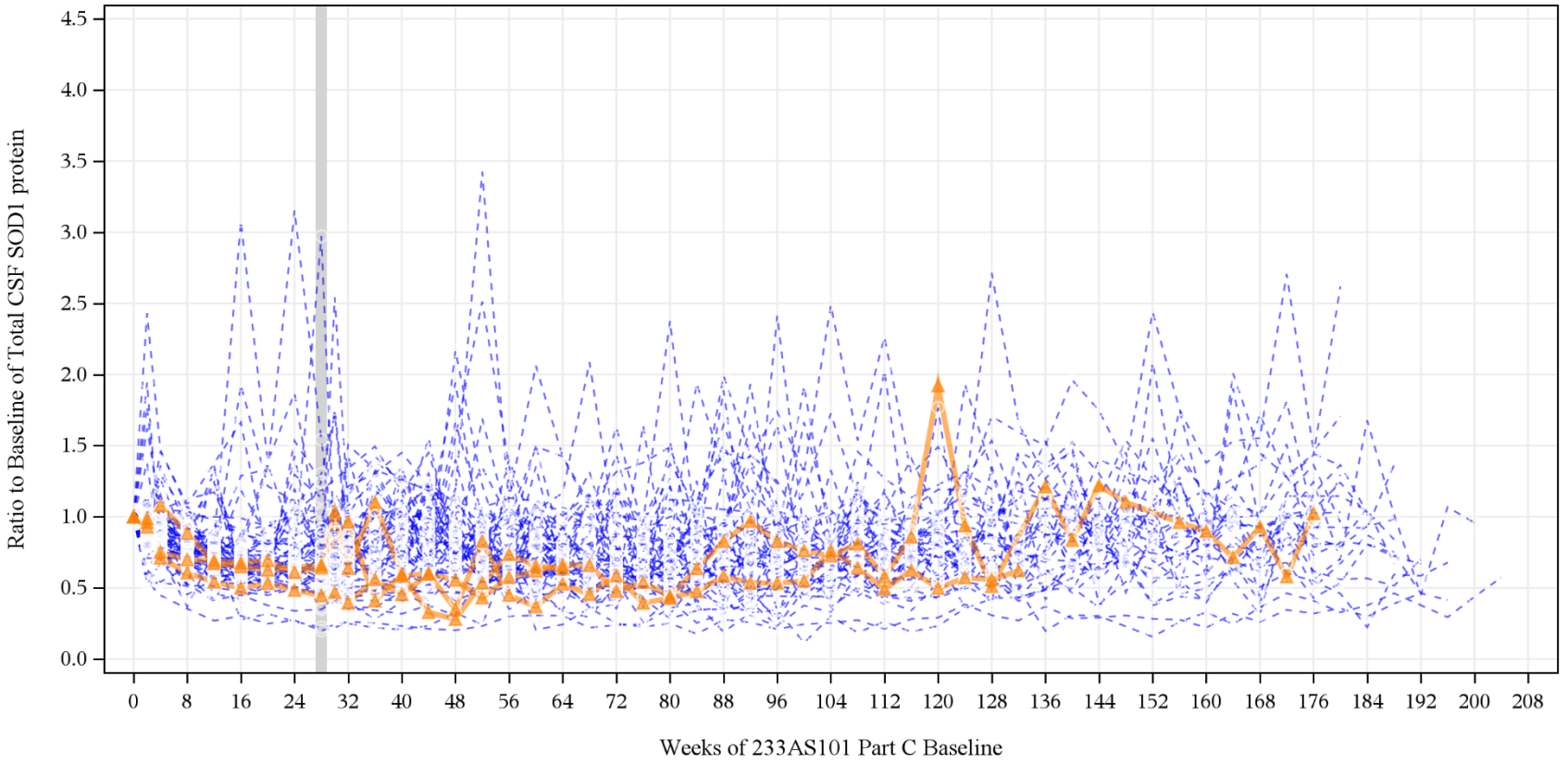
NOTE 1: Baseline is defined as day 1 value prior to the study drug. If day 1 value is missing, the non-missing value (including screening visit) closest to and prior to the first dose was used as the baseline value.
NOTE 2: Lower limit of quantitation (LLOQ) is 15.6 ng/mL. Values below limit of quantitation (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.
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.
Source: ISE Addendum, Appendix 2.2, Output 2.

Figure 35 233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti Plot of Total CSF SOD1 Protein Ratio to 233AS101 Part C Baseline by Visit - ITT Population

233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti plot of Total CSF SOD1 protein ratio to 233AS101 Part C baseline by visit - ITT population

Page: 1 of 3

Early-start tofersen 100 mg (N=72 including 3 Japanese participants)



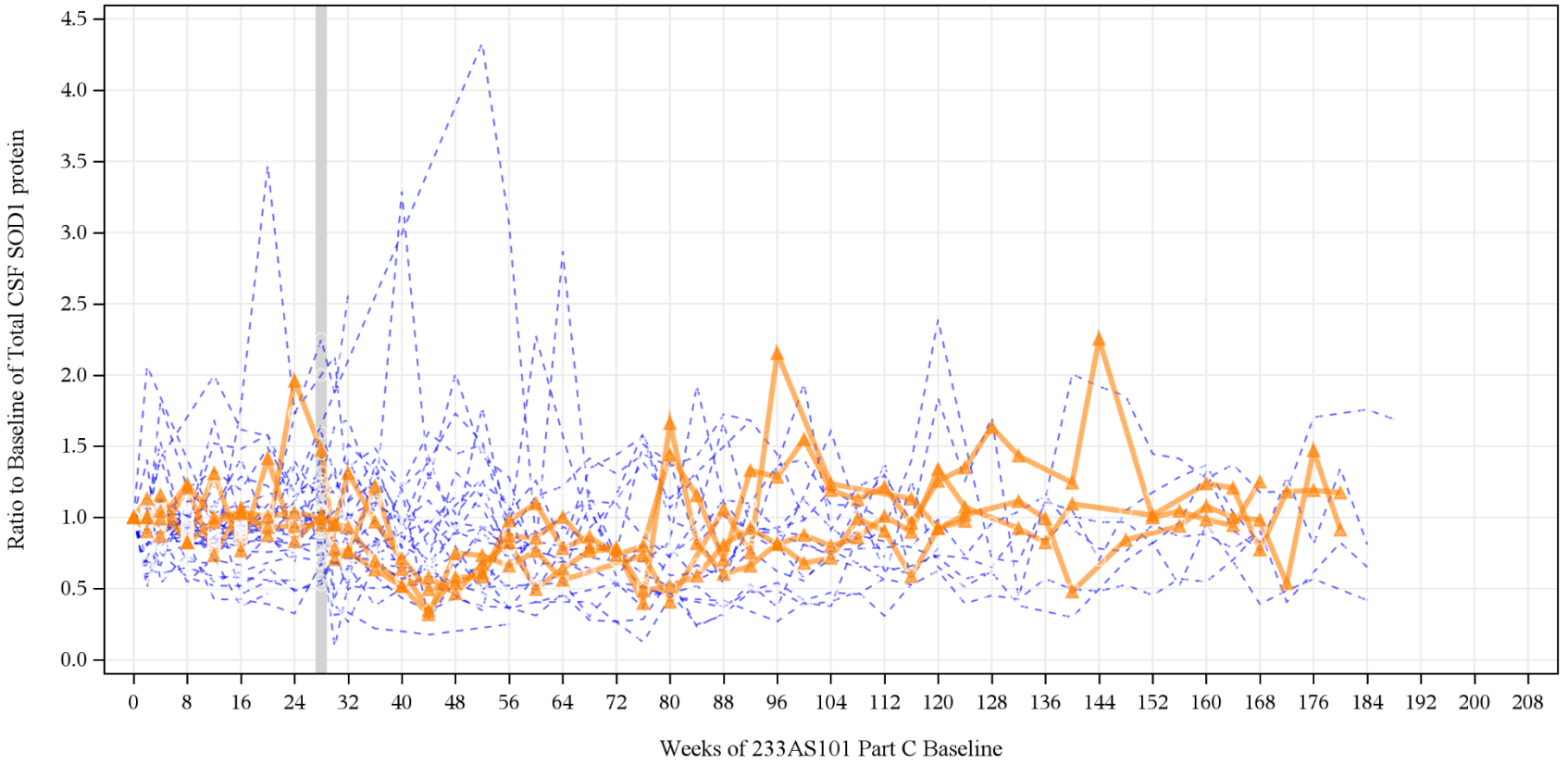
Footnotes are displayed on last page.

Source: biib067/japan/ia4/f-pkpd-sod-ratio-pcb-itt.sas **Data Cutoff:** 28FEB2023 **Run Date:** 02FEB2024

233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti plot of Total CSF SOD1 protein ratio to 233AS101 Part C baseline by visit - ITT population

Page: 2 of 3

Placebo + delayed-start tofersen 100 mg (N=36 including 4 Japanese participants)



Footnotes are displayed on last page.

Source: biib067/japan/ia4/f-pkpd-sod-ratio-pcb-itt.sas **Data Cutoff:** 28FEB2023 **Run Date:** 02FEB2024

233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti plot of Total CSF SOD1 protein ratio to 233AS101 Part C baseline by visit - ITT population

NOTE 1: Baseline is defined as day 1 of 233AS101 Part C 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: Lower limit of quantitation (LLOQ) is 15.6 ng/mL.
NOTE 3: If subjects had a gap between 233AS101 end of study and 233AS102 baseline, then the data are excluded from visits between 233AS101 and 233AS102 where they have no follow-up.
NOTE 4: Observed values at all visits are used.
NOTE 5: Japanese subjects are colored orange and non-Japanese subjects are colored blue.
Abbreviations: CSF = cerebrospinal fluid; SOD1 = superoxide dismutase 1
Source: biib067/japan/ia4/f-pkpd-sod-ratio-pcb-itt.sas **Data Cutoff:** 28FEB2023 **Run Date:** 02FEB2024

3.4.3.3 血漿中及び CSF 中ニューロフィラメント軽鎖

プール CL 群（101 試験パート C 及び 102 試験の統合）では、前回のデータカットから 12 ヵ月超の追跡データが得られた後も、血漿中 NfL 濃度の低下が持続した。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%及び 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%及び Week 104 で 66%であった（Figure 36 及び Table 23）。ITT 集団において、日本人集団における血漿中 NfL 濃度（オレンジ色の線）の経時的な変化は、おおむね全体集団の変動範囲内であった（Figure 37；上図：早期開始群、下図：プラセボ／投与開始遅延群）。血漿中 NfL 濃度と同様に、いずれの時点でも CSF 中 NfL 濃度の低下が認められた（Figure 38 及び Table 23）。

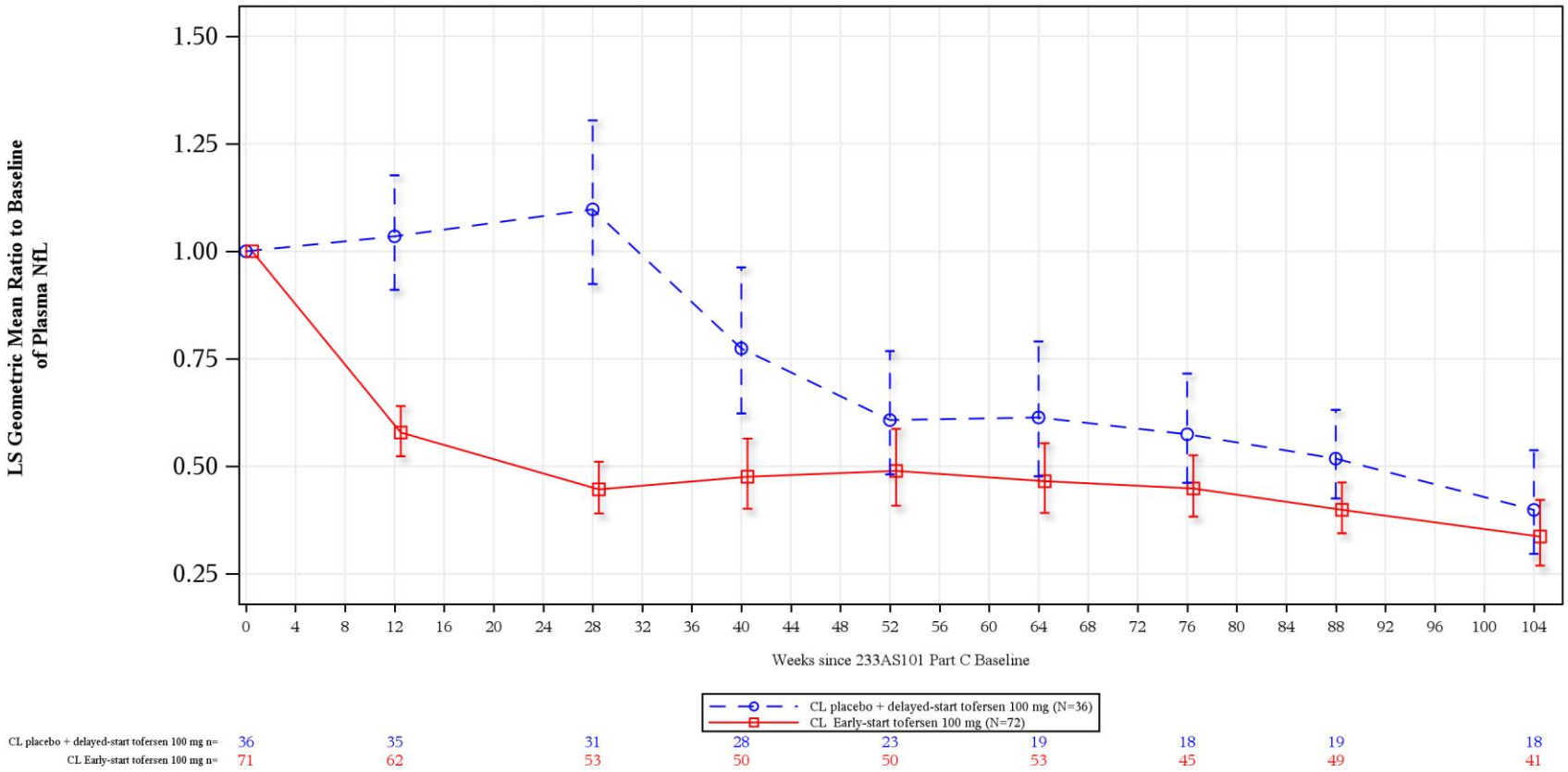
Table 23 Pooled Group CL: Summary of Plasma and CSF NfL Ratio to Study 101 Part C Baseline (95% CI) at Week 76 and Week 104 (ANCOVA + MI) - ITT Population

Plasma NfL - Adjusted Geometric Mean Ratio (95% CI)				**CSF NfL- Adjusted Geometric Mean Ratio (95% CI)**			
Week 76		**Week 104**		**Week 76**		**Week 104**	
Placebo/ Delayed-Start (n=36)	**Early-Start (n=72)**	**Placebo/ Delayed-Start (n=36)**	**Early-Start (n=72)**	**Placebo/ Delayed-Start (n=36)**	**Early-Start (n=72)**	**Placebo/ Delayed-Start (n=36)**	**Early-Start (n=72)**
0.57 (0.46, 0.72)	0.45 (0.38, 0.53)	0.40 (0.30, 0.54)	0.34 (0.27, 0.42)	0.48 (0.36, 0.64)	0.34 (0.28, 0.41)	0.42 (0.31, 0.57)	0.31 (0.25, 0.39)

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 was used as the baseline value.
NOTE 2: For plasma NfL analysis, lower limit of quantitation (LLOQ) is 4.9 pg/mL. For CSF NfL analysis, LLOQ is 85.5 pg/mL., and values of > 25700 are set to 25700 in calculations. 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. For plasma NfL analysis, an extreme value of >477 pg/mL 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.
Source: ISE Addendum, Appendix 2.2, Output 5 and 8

Figure 36 Line Plot of Plasma NfL Adjusted Geometric Mean Ratio to Study 101 Part C Baseline (95% CI) by Visit to Week 104 From ANCOVA Using MI – ITT Population

Page: 1 of 2



Footnotes are displayed on last page.

Source: biib067/ise/ise-bla4/f-pkpd-pnfl-anc-clitt.sas **Data Cutoff:** 28FEB2023 **Run Date:** 12JUN2023

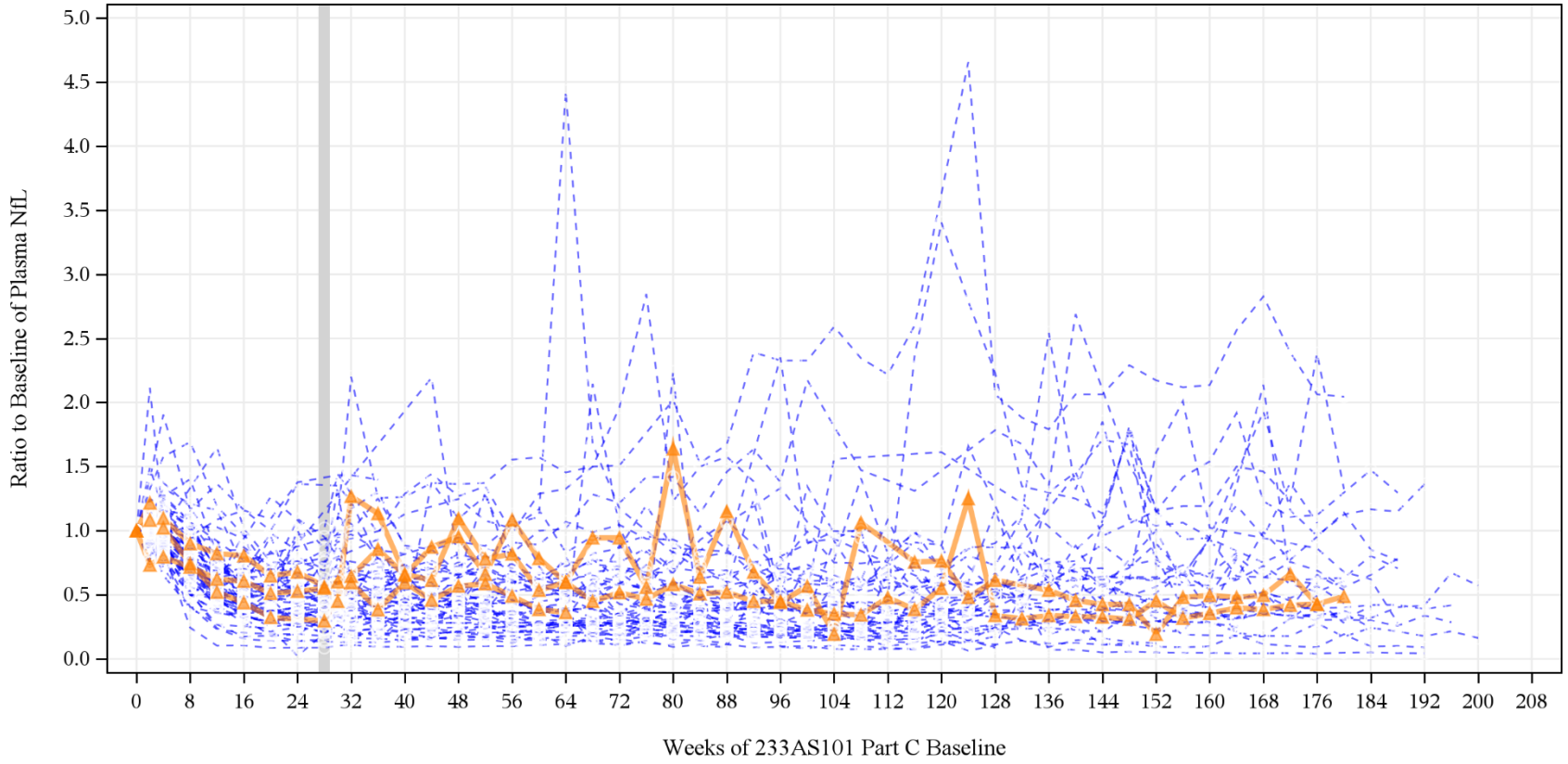
NOTE 1: Baseline is defined as day 1 value prior to the study drug. If day 1 value is missing, the non-missing value (including screening visit) closest to and prior to the first dose will be used as the baseline value.
NOTE 2: Lower limit of quantitation (LLOQ) is 4.9 pg/mL. Values below limit of quantitation (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 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: NfL = neurofilament light chain; ANCOVA = analysis of covariance; MI = multiple imputation; LS = least square.
Source: biib067/ise/ise-bla4/f-pkpd-pnfl-anc-clitt.sas **Data Cutoff:** 28FEB2023 **Run Date:** 12JUN2023

Figure 37: 233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti Plot of Plasma NfL Ratio to 233AS101 Part C Baseline by Visit - ITT Population

233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti plot of Plasma NfL ratio to 233AS101 Part C baseline by visit - ITT population

Page: 1 of 3

Early-start tofersen 100 mg (N=72 including 3 Japanese participants)



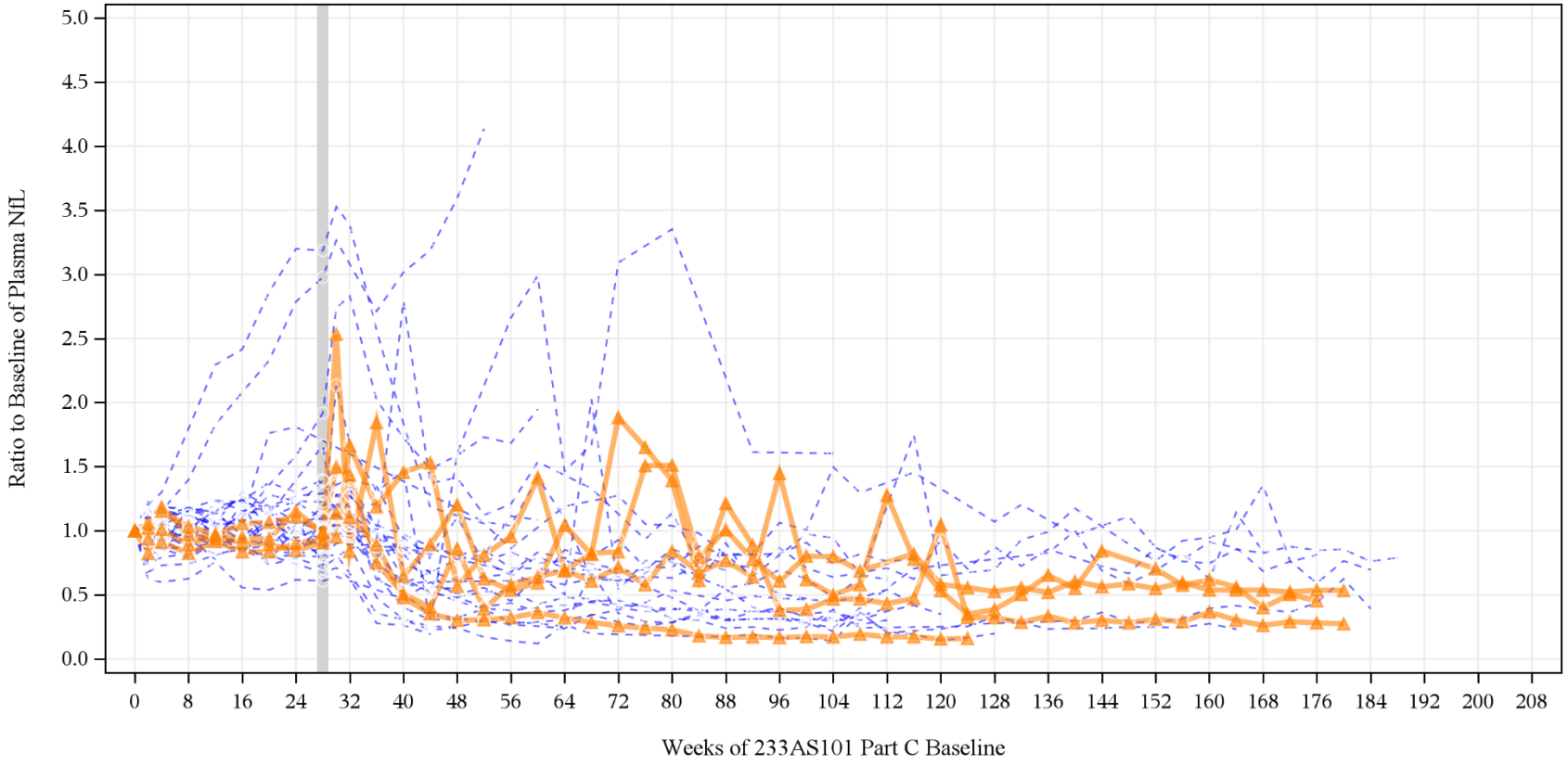
Footnotes are displayed on last page.

Source: biib067/japan/ia4/f-pkpd-pnfl-ratio-pcb-itt.sas **Data Cutoff:** 28FEB2023 **Run Date:** 09JAN2024

233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti plot of Plasma NfL ratio to 233AS101 Part C baseline by visit - ITT population

Page: 2 of 3

Placebo + delayed-start tofersen 100 mg (N=36 including 4 Japanese participants)



Footnotes are displayed on last page.

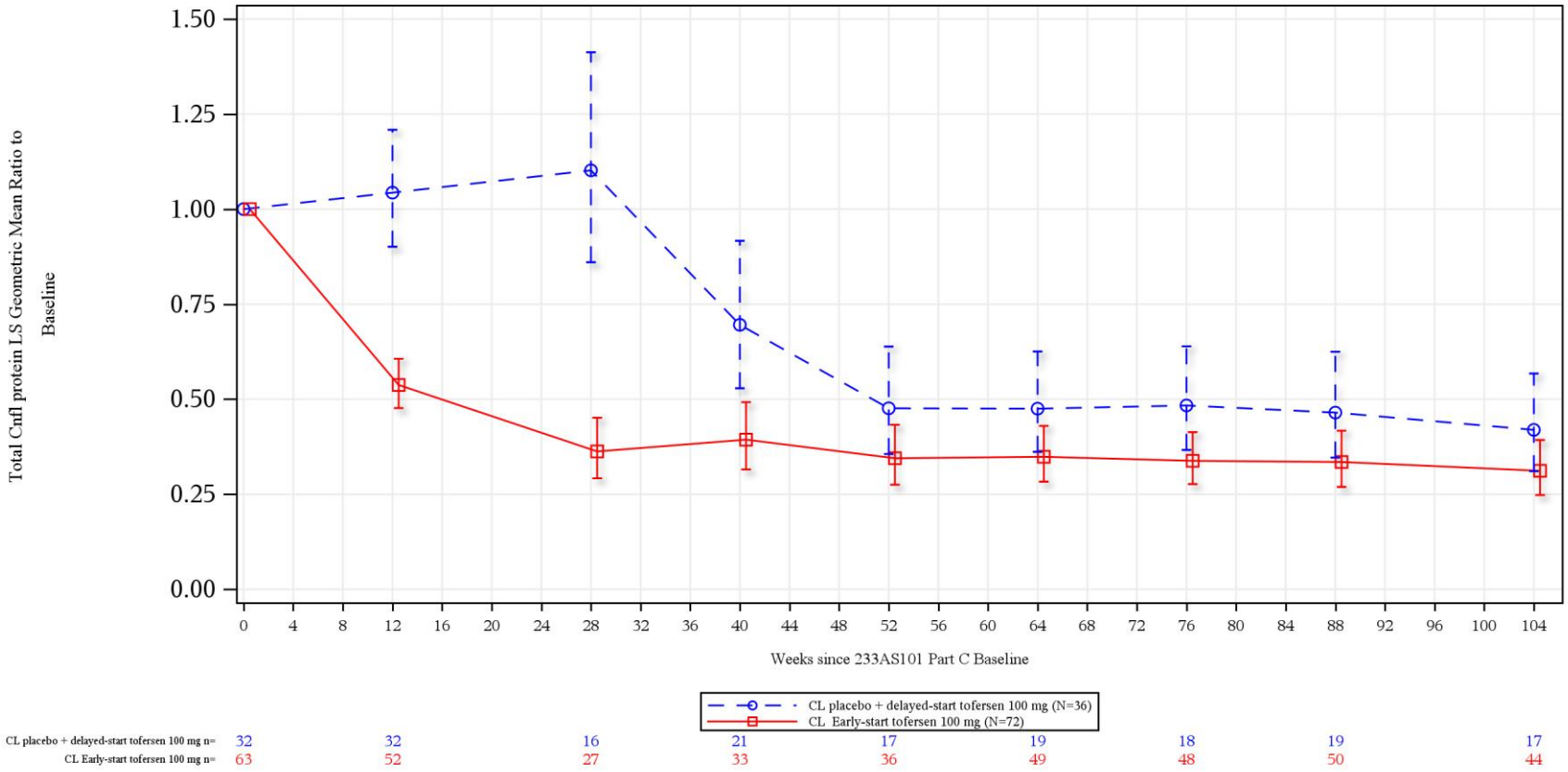
Source: biib067/japan/ia4/f-pkpd-pnfl-ratio-pcb-itt.sas **Data Cutoff:** 28FEB2023 **Run Date:** 09JAN2024

233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti plot of Plasma NfL ratio to 233AS101 Part C baseline by visit - ITT population
Page: 3 of 3

NOTE 1: Baseline is defined as day 1 of 233AS101 Part C 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: Lower limit of quantitation (LLOQ) is 4.9 pg/mL.
NOTE 3: An extreme value of 477 pg/mL is set to missing.
NOTE 4: If subjects had a gap between 233AS101 end of study and 233AS102 baseline, then the data are excluded from visits between 233AS101 and 233AS102 where they have no follow-up.
NOTE 5: Observed values at all visits are used.
NOTE 6: Japanese subjects are colored orange and non-Japanese subjects are colored blue.
Abbreviations: NfL = neurofilament light chain
Source: biib067/japan/ia4/f-pkpd-pnfl-ratio-pcb-itt.sas **Data Cutoff:** 28FEB2023 **Run Date:** 09JAN2024

Figure 38 Line Plot of CSF NfL Adjusted Geometric Mean Ratio to Study 101 Part C Baseline (95% CI) by Visit to Week 104 From ANCOVA Using MI – ITT Population

Page: 1 of 2



Footnotes are displayed on last page.

Source: biib067/ise/ise-bla4/f-pkpd-cnfl-anc-bpnfl-md-clitt.sas **Data Cutoff:** 28FEB2023 **Run Date:** 12JUN2023

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: Lower limit of quantitation (LLOQ) is 85.5 pg/mL. Values below limit of quantitation (BLQ) are set to half of LLOQ in calculations. Values of > 25700 are set to 25700 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.
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 = cerebrospinal fluid; NfL = neurofilament light chain; ANCOVA = analysis of covariance; MI = multiple imputation; LS = least square.
Source: biib067/ise/ise-bla4/f-pkpd-cnfl-anc-bpnfl-md-clitt.sas **Data Cutoff:** 28FEB2023 **Run Date:** 12JUN2023

3.4.3.4 結論

トフェルセンの投与により、CSF 中総 SOD1 タンパク質の持続的かつ頑健な減少が認められ、標的特異作用（Target Engagement）を示唆する間接的エビデンスが得られた。この減少は Week 104（2023 年 2 月 28 日のデータカット時点）まで持続した。

また、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、その低下は Week 104 まで持続した。

3.5 曝露－反応解析

母集団 PK モデル、SOD1 タンパク質の母集団曝露－反応モデル、及び NfL の母集団曝露－反応モデルを組み込み、トフェルセンの母集団 PK/PD 解析を実施した。これらの解析には 101 試験及び 102 試験のデータを用いた。

モデリングのプロセス及び結果の詳細な記述は、6 章の Appendix 2「Population Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Analysis of BIIB067」に示す。

3.5.1 目的

母集団 PK/PD 解析の目的は以下のとおりであった。

- トフェルセンの 101 試験及び 102 試験での血漿及び CSF 中 PK、SOD1 タンパク質、並びに血漿中 NfL 濃度のデータに基づき、母集団 PK 及び母集団 PK/PD モデルを構築すること。モデルでは、トフェルセン曝露量とその結果生じる SOD1 及び NfL の反応との関係の特性を示し、定量化する。
- トフェルセンの PK 及び PD における変動の有意な決定因子となる可能性がある内因性及び外因性の要因（共変量）を特定すること。
- 構築したモデルを実行して注目するシナリオのシミュレーションを行い、用量－反応及び本剤の治療活性への影響について理解を深めること。

非線形混合効果モデリングのソフトウェアパッケージ（[redacted]、Version [redacted]）を用いてモデルを構築し、高性能クラウドコンピューティングプラットフォーム [redacted]（[redacted]）上でプログラムを実行した。[redacted] の計算には、被験者間及び被験者内ランダム効果交互作用を考慮した一次条件付き推定法を用いた。探索的解析及び [redacted] の後処理（適合度の評価など）には、[redacted]、Version [redacted] 及び [redacted]（[redacted]）、さらに [redacted]（[redacted], Version [redacted], [redacted], [redacted], [redacted], Sweden）を用いた。

3.5.2 母集団 PK モデリング

母集団 PK 解析には、101 試験及び 102 試験の投与群から得た 166 例のデータを含めた。使用した 102 試験のデータは、2021 年 7 月 16 日のカット日の時点で利用可能なデータであった。

最初に、［Luu 2017; MacCannell 2021］に示された先例に従い、CSF コンパートメントと血漿コ

ンパートメントの両方を組み込んだ母集団 PK モデルの構築を試みた。しかし、CSF コンパートメントのサンプリングが極めて少なく（トラフ値のみ）、それにより CSF プロファイルの形状の確実性が極めて低かったため、この試みは成功しなかった。そこで、血漿中及び CSF 中の PK 曝露の特性を示すため、2 つの母集団 PK モデルを別々に構築した。

最終的な血漿中の母集団 PK モデルは、デポコンパートメントを含む 2 コンパートメントモデルで記述された。トフェルセンの血漿中 PK に影響を及ぼす共変量は、CL に対する被験者レベルの ADA の有無、CL に対するベースラインの BSA、及び V2 に対する性別であった。このモデルのパラメータ推定値を Table 24 に示す。

Table 24 Parameter Estimates of the Final Plasma PK Model

Parameter	Plasma PK Final Covariate Model, run 1935	
	Estimate (RSE)	**95% CI[1]**
Model Parameters		
CL (L/h)	8.32 (0.0613)	(7.32 - 9.32)
KA (/h)	0.141 (0.0818)	(0.118 - 0.163)
V2 (L)	56.6 (0.230)	(31.1 - 82.2)
V3 (L)	4710 (0.196)	(2900 - 6530)
Q (L/h)	2.42 (0.142)	(1.74 - 3.09)
Random Effects (IIV)		
CV on CL	0.643 (0.102)	(0.515 - 0.771)
CV on KA	0.500 (0.153)	(0.350 - 0.649)
CV on V2	1.30 (0.116)	(1.00 - 1.60)
CV on V3	1.25 (0.0756)	(1.07 - 1.44)
CV on Q	0.632 (0.135)	(0.465 - 0.800)
ADA inter-occasion variability on CL	0.505 (0.201)	(0.306 - 0.703)
Covariate Effects		
ADA status on CL	-0.323 (0.195)	(-0.446 - -0.199)
BSA baseline on CL	1.33 (0.231)	(0.730 - 1.93)
Sex on V2	-0.577 (0.219)	(-0.826 - -0.329)
Residual Variability		
Additive error	0.395 (0.0473)	(0.359 - 0.432)
Proportional error	0.454 (0.0361)	(0.422 - 0.486)

[1]CI was calculated based on standard error.
Source: CPP-21-004_PKPD_report_V2.1, Table 8.

共変量を検討したところ、2 つの興味深い事実が示された。BSA を共変量として含めると、人種自体は血漿中曝露量の共変量ではないことが示された。データでは、人種（カテゴリー因子）と BSA（連続因子）との間に強い関連性があることが示されており、したがって、共変量の選択では、より情報量の多い連続因子が望ましい。一方、血漿中 PK の共変量である ADA の有無では、予想外の関係が明らかになった。原理的には、抗体は薬剤の CL を上昇させると予想されるが、本剤の場合は関係が逆であり、ADA の存在により CL が低下した。その理由は不明であるが、被験者数がかなり少なく、スパースサンプリングであったことから、おそらく数の問題と考えられる。

CSF 中の母集団 PK は、消失速度（K）が 0.000876/h（被験者間変動［IIV］: 0.841）及び分布容積（V）が 8730 L（IIV : 1.05）の 1 コンパートメント線形モデルで記述された。事後に個別の CSF 中 PK パラメータを抽出し、PK/PD モデルに統合した。このモデリングの主な目的は、SOD1 及び NfL の反応データに基づく母集団 PK/PD モデルに曝露データを提供することであった。

母集団 PK モデルの構築から、以下のように結論付けることができる。

- 血漿及び CSF 中のトフェルセンの PK の特性は、それぞれデポコンパートメント及び一次消失を含む 2 コンパートメントモデルと 1 コンパートメントボーラスモデルによって示された。
- 血漿中 PK では、以下に示す 3 つの有意な共変量が特定された：CL に対する ADA の有無、CL に対するベースラインの BSA、V2 に対する性別。人種の効果は BSA の共変量効果に吸収された可能性が高く、有意な共変量ではなかった。
- PK モデルとしては IIV がかなり大きいが、これは本剤が本来有する変動性に加え、被験者数が限られていたこと及び PK データがかなり散発的であったことを反映している。
- 血漿及び CSF コンパートメントは共に、トフェルセンの作用部位である CNS の下流にあることに注意する必要がある。したがって、母集団 PK モデリングの知見を過大に解釈すべきではない。

3.5.3 母集団 PK－SOD1 反応モデル

母集団 PK－SOD1 反応モデルは当初、101 試験のデータのみを用いて構築された。完成の前に 102 試験のデータが追加され、基本モデルのパラメータ推定値が更新された。両試験の統合モデルでは、101 試験及び 102 試験のデータ記録について別々に、2 つの比例残差が割り当てられている。

CSF 中 PK 曝露と CSF 中の SOD1 減少との関係は、SOD1 生成を阻害する CSF コンパートメント中の曝露量と合成速度定数（Kin）を含む間接的反応モデルにより最も適切に記述された。

共変量の検討では、SOD1 の反応に対して追加の共変量は認められなかった。

最終的な母集団 PK－SOD1 反応モデルのパラメータ推定値を Table 25 に示す。統合した試験データを用いると、最大の SOD1 減少（効果モデルにおける最大効果［E_{max}］）は 0.393 と推定されたが、IIV が比較的大きかった（CV が 1.38）。50%有効濃度（EC_{50}）は 8.91 ng/mL と推定され、これはおおむね 60 mg 群のトラフ濃度の範囲であった。

試験によって層別化した、最終的な PK－SOD1 モデルに関する予測補正後の視覚的事後予測性能評価（pcVPC）の結果を Figure 39 に示す。本モデルが経時的な CSF 中 SOD1 プロファイルの中心傾向を適切に記述していることが示された。

母集団 PK－SOD1 反応モデルの構築から、以下のように結論付けることができる。

- SOD1 の薬力学的特性は、CSF 中に入る SOD1 タンパク質の合成を阻害する CSF コンパートメント中の曝露量を含む間接的反応モデルによって示された。
- モデルはデータを適切に記述しており、SOD1 反応のシグナルを捉えることができた。最大規模の反応はベースラインの約 40%と推定される。EC_{50} は 60 mg 投与により得られる曝露量の範囲内である。
- PK－SOD1 反応モデルでは共変量効果は認められなかった（特に人種の効果はなかった）。

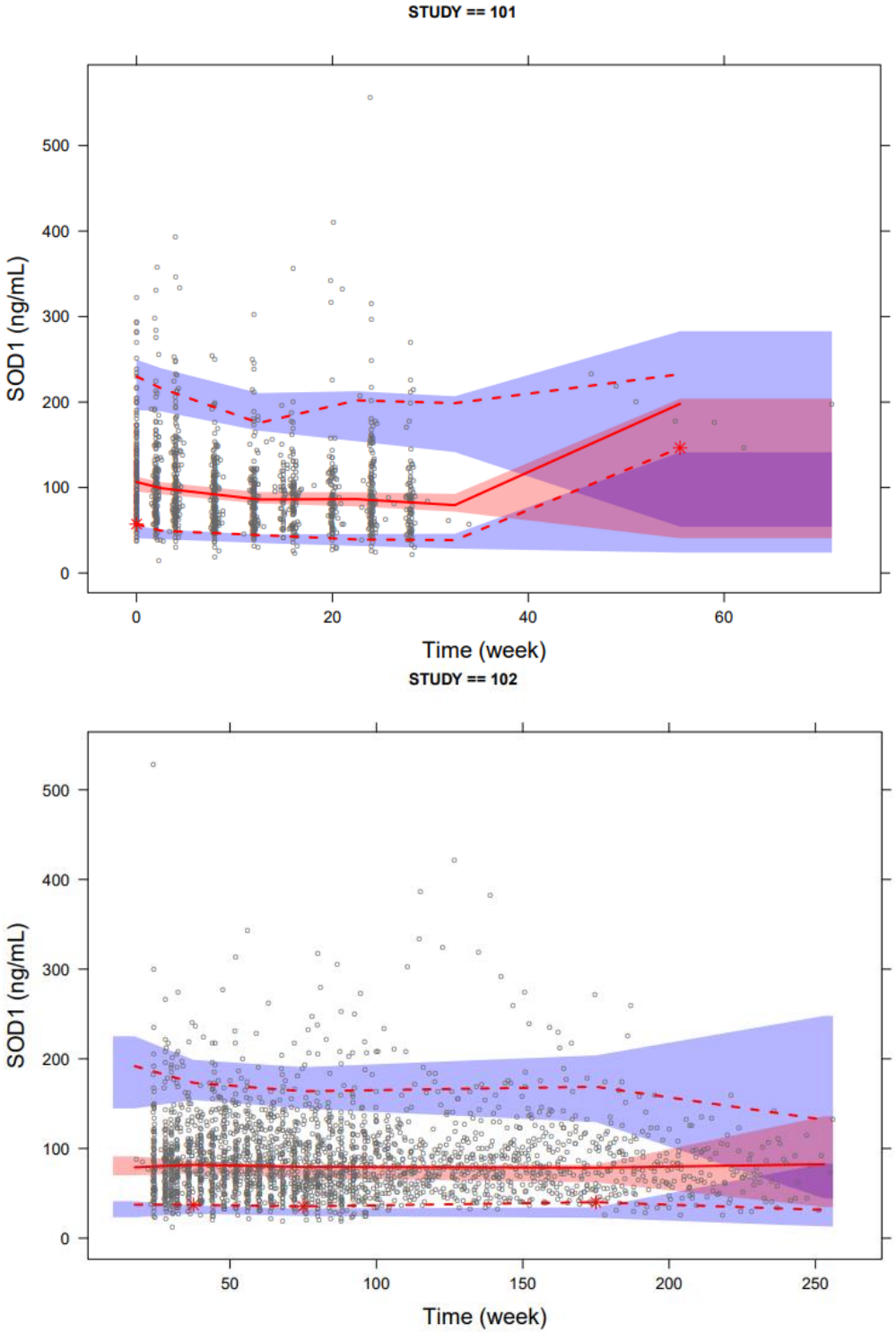
- 被験者間変動は比較的大きかったが、これは PD 反応の本来的な変動性と、データの散発的な性質ものである可能性が高い。

Table 25 Parameter Estimates of the Final Population PK – SOD1 Response Model

Parameter	**CSF- SOD1 Final Base Model, run 202037 (combined Study 101+102)**	
	Estimate (RSE)	**95% CI[1]**
Model Parameters		
K_{out}	0.000974 (0.106)	(0.000772 – 0.00118)
EC_{50}	8.91 (0.479)	(0.539 – 17.3)
Logit Emax	-0.436 (0.616)	(-0.962 - 0.0906)
Emax	0.393 (0.616)	NA
Base	106 (0.0310)	(100 – 113)
Random Effects (IIV)		
CV on Emax[2]	1.38 (0.139)	(1.000 - 1.75)
CV on Baseline	0.415 (0.0545)	(0.370 - 0.459)
CV on K_{out}	0.258*0.415=0.107	NA
CV on EC_{50}	NA	NA
Corr (Base, Emax)	0.314 (0.324)	(0.115 - 0.514)
Corr (K_{out}, Baseline)	-1 fixed	NA
Corr factor	-0.258 (0.570)	(-0.545 – 0.0302)
Residual Variability		
Proportional error (Study 101)	0.223 (0.0422)	(0.205 – 0.241)
Proportional error (Study 102)	0.295 (0.0314)	(0.277 – 0.313)
Condition number	35.2	

[1]CI of parameter estimates were calculated based on SE.
[2]CV on Emax was additive in logit scale.
Source files: CPP-21-004_PKPD_report_V2.1, Table 11.

Figure 39 pcVPC of Final CSF PK- SOD1 Model Stratified by Study



The red solid and dashed lines represent the median, 5th, and 95th percentile of observed data; shaded areas represent the 95% prediction intervals of the simulated 50th (red), 5th, and 95th (blue) percentiles
Source: CPP-21-004_PKPD_report_V2.1, Figure 19

3.5.4 母集団 PK－NfL 反応モデル

母集団 PK－NfL 反応モデルは当初、101 試験のデータのみを用いて構築された。完成の前に 102 試験のデータが追加され、基本モデルのパラメータ推定値が更新された。両試験の統合モデルでは、101 試験及び 102 試験のデータ記録について別々に、2 つの比例残差が割り当てられている。

CSF 中 PK 曝露と血漿で測定された NfL 濃度の低下との関係を検討するために、同じ間接的反応構造モデルが適用された。実測した血漿中 NfL は、CSF 中で測定された PK/PD の下流とみなされた。したがって、CSF 中の PK は、トフェルセンの PK 曝露と血漿中 NfL 濃度の減少との関係の記述における PK メトリクスとして表された。ロジット変換した E_{max} を用いて、0～1（100%）の間で最大阻害効果を確認した。

共変量の検討において、NfL の反応に対して追加の共変量は認められなかった。

最終的な母集団 PK－NfL 反応モデルのパラメータ推定値を Table 26 に示す。統合した試験データを用いると、最大の NfL 低下（E_{max}）は 0.597 と推定されたが、IIV が比較的大きかった（CV が 1.94）。統合した試験データセットの EC_{50}（2.53 ng/mL）は、おおむね 40 mg 群のトラフ濃度の範囲であった。

試験によって層別化した、最終的な CSF 中 PK－血漿中 NfL モデルに関する pcVPC の結果（適合したことを示す）を Figure 40 に示す。

母集団 PK－NfL 反応モデルの構築から、以下のように結論付けることができる。

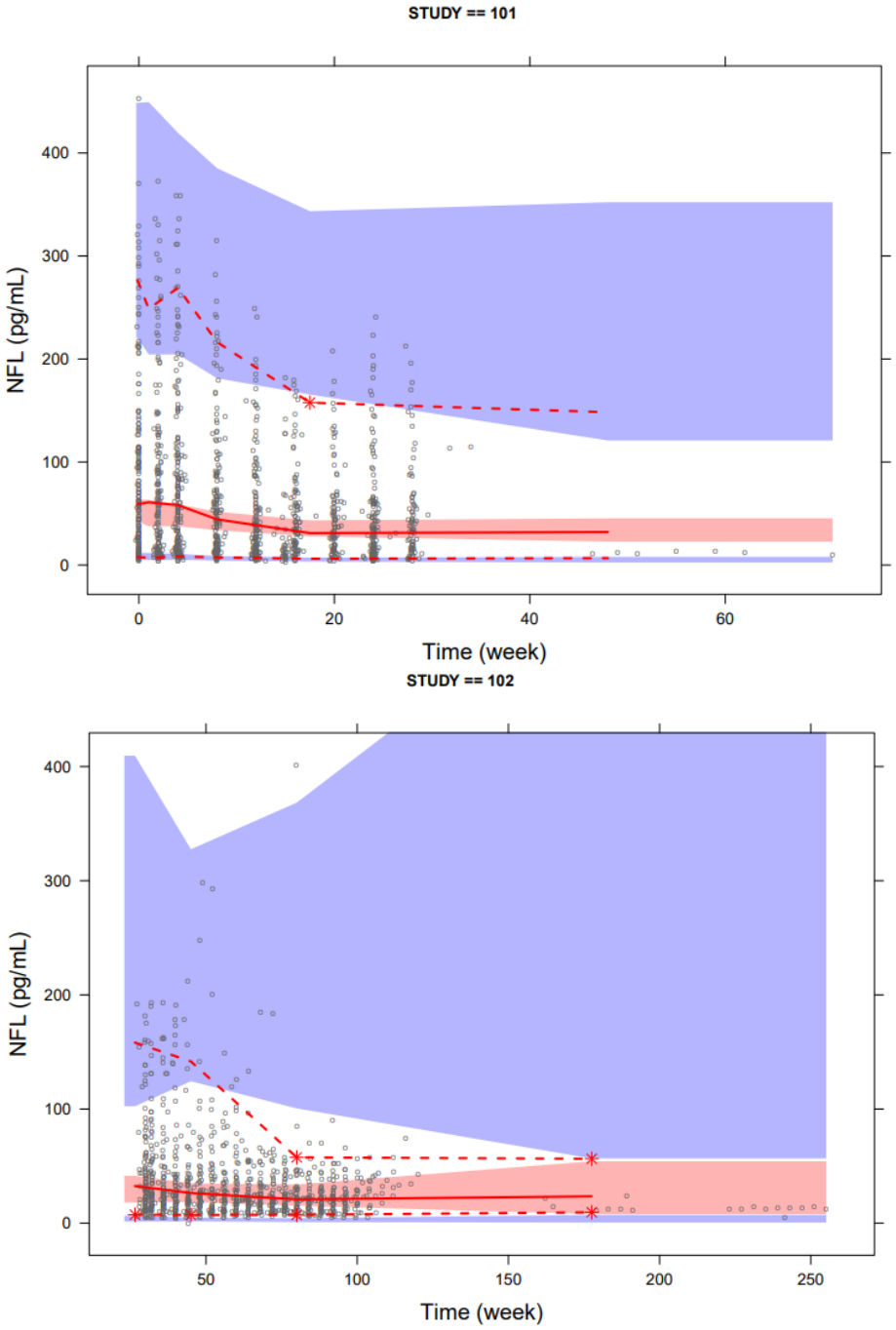
- NfL の薬力学的特性は、血漿コンパートメントでの NfL タンパク質の合成を阻害する CSF コンパートメント中の曝露量を含む間接的反応モデルによって示された。
- モデルはデータを適切に記述しており、NfL 反応のシグナルを捉えることができた。最大規模の反応はベースラインの約 60%と推定される。EC_{50} は 40 mg 投与により得られる曝露量の範囲内である。
- PK－NfL 反応モデルでは共変量効果は認められなかった（特に人種の効果はなかった）。
- 被験者間変動は比較的大きかったが、これは PD 反応の本来的な変動性と、データの散発的な性質によるものである可能性が高い。
- シミュレーションに基づくと、現在の最大用量（100 mg）と比較して、用量を 150 mg 又は 200 mg に増量した場合の NfL の低下の利点は、ごくわずかであることが示された。

Table 26 Parameter Estimates of the Final Population PK – NfL Response Model

Parameter	CSF PK – plasma NfL final Model, run 3020340 (combined Study 101+102)	
	Estimate (RSE)	**95% CI[1]**
Model Parameters		
K_{out}	0.000579 (0.0872)	(0.000481 – 0.000679)
EC_{50}	2.53 (0.329)	(0.900 – 4.16)
Logit Emax	0.394 (0.702)	(-0.148 – 0.936)
Emax	0.597	NA
Base	53.6 (0.0854)	(44.6 – 62.5)
Random Effects (IIV)		
CV on K_{out}	0.427 (0.166)	(0.288 - 0.567)
CV on EC_{50}	1.02 (0.158)	(0.706 - 1.34)
CV on Emax	1.94 (0.158)	(1.34 - 2.54)
CV on Baseline	1.11 (0.0382)	(1.03 – 1.19)
Residual Variability		
Proportional error (Study 101)	0.192 (0.0676)	(0.167 – 0.218)
Proportional error (Study 102)	0.327 (0.124)	(0.248 – 0.407)
Condition number	46.0	

[1]CIs of parameter estimates were calculated based on SE.
Source: CPP-21-004_PKPD_report_V2.1, Table 13

Figure 40 pcVPC of Final CSF PK- Plasma NfL Model Stratified by Study



The red solid and dashed lines represent the median, 5th, and 95th percentile of observed data; shaded areas represent the 95% prediction intervals of the simulated 50th (red), 5th, and 95th (blue) percentiles.
Source: CPP-21-004_PKPD_report_V2.1, Figure 27.

3.5.5 トフェルセンの母集団 PK 及び PK/PD モデリングから得られる全般的な結論

構築されたトフェルセンの母集団 PK 及び PD モデルに基づき、以下のように結論付けることができる。

- 血漿及び CSF 中のトフェルセンの薬物動態学的特性はそれぞれ、デポコンパートメント及び一次消失を含む 2 コンパートメントモデルと 1 コンパートメントボーラスモデルによって適切に示された。PK モデルとしては IIV がかなり大きいが、これは本剤が本来有する変動性に加え、被験者数が限られていたこと及び PK データがかなり散発的であったことを反映している。
- 血漿中 PK では、以下に示す 3 つの有意な共変量が特定された：CL に対する ADA の有無、CL に対するベースラインの BSA、V2 に対する性別。人種の効果は BSA の共変量効果に吸収された可能性が高く、有意な共変量ではなかった。
- 血漿及び CSF コンパートメントは共に、トフェルセンの作用部位である CNS の下流にあることに注意する必要がある。したがって、母集団 PK 構築による知見を過大に解釈すべきではない。
- 母集団曝露－SOD1 タンパク質反応モデルにより、CSF 中の曝露量と SOD1 タンパク質の反応との関係が示され、その特性が定量的に示された。
- SOD1 タンパク質の薬力学的特性は、想定されるトフェルセンの作用機序と一致して、CSF コンパートメントに入る SOD1 タンパク質の合成を阻害する CSF コンパートメント中の曝露量を含む間接的反応モデルによって適切に示された。SOD1 反応の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ものである可能性が高い。
- モデルにより SOD1 反応のシグナルを捉えることができた。最大規模の反応はベースラインの約 40%と推定される。EC_{50} は 60 mg 投与により得られる曝露量の範囲内である。
- PK－SOD1 反応モデルでは共変量効果は認められなかった（特に人種の効果はなかった）。
- 母集団曝露－NfL 反応モデルにより、CSF 中の曝露量と NfL の反応（疾患に関連したマーカー、ニューロンの健康状態の指標）との関係が示され、その特性が定量的に示された。
- NfL の薬力学的特性は、血漿コンパートメントでの NfL タンパク質の合成速度を抑制する CSF コンパートメント中の曝露量を含む間接的反応モデルによって適切に示された。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ものである可能性が高い。
- モデルにより NfL 反応のシグナルを捉えることができた。最大規模の反応はベースラインの約 60%と推定される。EC_{50} は 40 mg 投与により得られる曝露量の範囲内である。
- PK－NfL 反応モデルでは共変量効果は認められなかった（特に人種の効果はなかった）。

3.5.6 QTc 分析

トフェルセン濃度と Fridericia の補正式による QTc（QTcF）との関係について定量的評価を実施した結果、濃度依存的な QTcF 延長はないことが示唆された。分析及び結果の詳細は、報告書 CPP-[redacted]-006-BIIB067「Regulatory Concentration-QTc Analysis of Tofersen for Treatment of Amyotrophic Lateral Sclerosis」に記載されている（6 章、Appendix 3）。

データは、SOD1 変異を有する ALS の成人患者を含む 101 試験パート C の被験者から収集した。測定時間に対応する濃度データのない QTcF 値、BLQ の濃度、既知の QT 延長作用のある併用薬の存在下で収集された QTcF 値、ベースラインの測定結果のない被験者、及びベースライン後の測定結果のない被験者を除外した結果、解析データセットは、75 例（プラセボ群 34 例及びトフェルセン群 41 例）から収集した QTcF 測定結果、445 件となった。全体として、被験者の年齢は 23～78 歳（平均年齢は約 49 歳）、ベースラインの体重は 43～147 kg（平均体重は約 78 kg）であった。被験者の約 51%は男性で、白人が 66.7%、アジア人が 11.5%、報告なし／その他が 21.8%であった。分布に基づき、人種を共変量として評価した結果、白人対その他（「報告なし及びその他」と再定義）の比較が採用された。ベースラインの QTcF は 355～450 ms で、平均値は約 401 ms であった。

IT ボーラス投与により、トフェルセン 100 mg 又はプラセボを反復投与した。反復投与は、約 2 週間間隔で 3 回負荷投与した後、約 4 週間間隔の維持投与を 5 回行った。計画された全投与期間は約 24 週間であった。

患者を仰臥位で 10 分以上安静にさせた後、12 誘導心電図を 3 回測定した。心電図はすべて収集時に治験責任医師が読影した後、さらに詳細な評価及びスクリーニング時の適格性を確認するために中央の心電図読影担当者に送付した。初回の心電図を読影し、後の 2 回で心電図の一貫性及び質を確認した。

トフェルセン測定用の PK 試料採取及び心電図測定は、Day 1、Week 12、及び Week 24 の投与前に行った。投与前の PK 用試料は、投与前 2 日以内に採取することが可能であった。本分析には、心電図測定と同時に行う PK 用試料のみを使用した。ベースラインの QT 値は、Day 1（初回投与日）の投与前測定値と定義した。

検討する関連性は最初にグラフ上で検討し、その後、濃度反応モデル（線形又は非線形混合効果モデルを使用）を構築してトフェルセンと ΔQTcF との関係を記述した。濃度－ΔQTcF モデルの構築プロセスには、探索的データ解析、ベースとなる構造モデルの構築、共変量効果の評価、モデルの改良、及びモデルの評価を含む多くのステップがあり、これらは偏りのない精度の高いモデルでデータ及び結果を適正に評価するためにデザインされ、入手可能なデータの質及び量に合致していた。

プロットから、トフェルセンは心拍数に影響を及ぼさないこと、QTcF は心拍数（RR により表される）とは無関係であること、QTcF の変化とトフェルセン濃度の間に遅延はないこと、及び ΔQTcF とトフェルセン濃度との関係は線形であり、計画されたトフェルセン濃度－ΔQTcF モデルの前提に合致していると考えられる。

Garnett ら［Garnett 2018; Garnett 2011］が推奨しているように、実薬投与を行う被験者での切片のシフト、線形時間効果による日内変動の調整、トフェルセンの線形濃度効果、母集団のベースライン QTcF の平均値と比較した任意の患者のベースライン QTcF の差の線形補正、QTcF の収集日（Day 57 又は Day 85、Day 113 又は Day 141、Day 169 又は Day 197）に基づく追加の時間シフトに関して、濃度－QTcF の基本モデルをパラメータ化した。1 日（day）の定義は試験デザインに基づき、すべての day 効果について患者 1 例につき複数の観察が存在するようにした。時間区間は、時刻の概算での五分位数と定義し、これにはほぼ等しい数の観察が含まれていた。

規定したモデルは、当初はデータに適合した。しかし、モデル診断プロットで観察された不適合のパターンに基づき、ΔQTcF の代わりに QTcF を従属変数として用い、再度モデルに適合させた。改良したモデルの診断で偏りなく適合していることが示されたため、これを基本モデルとして選択した。

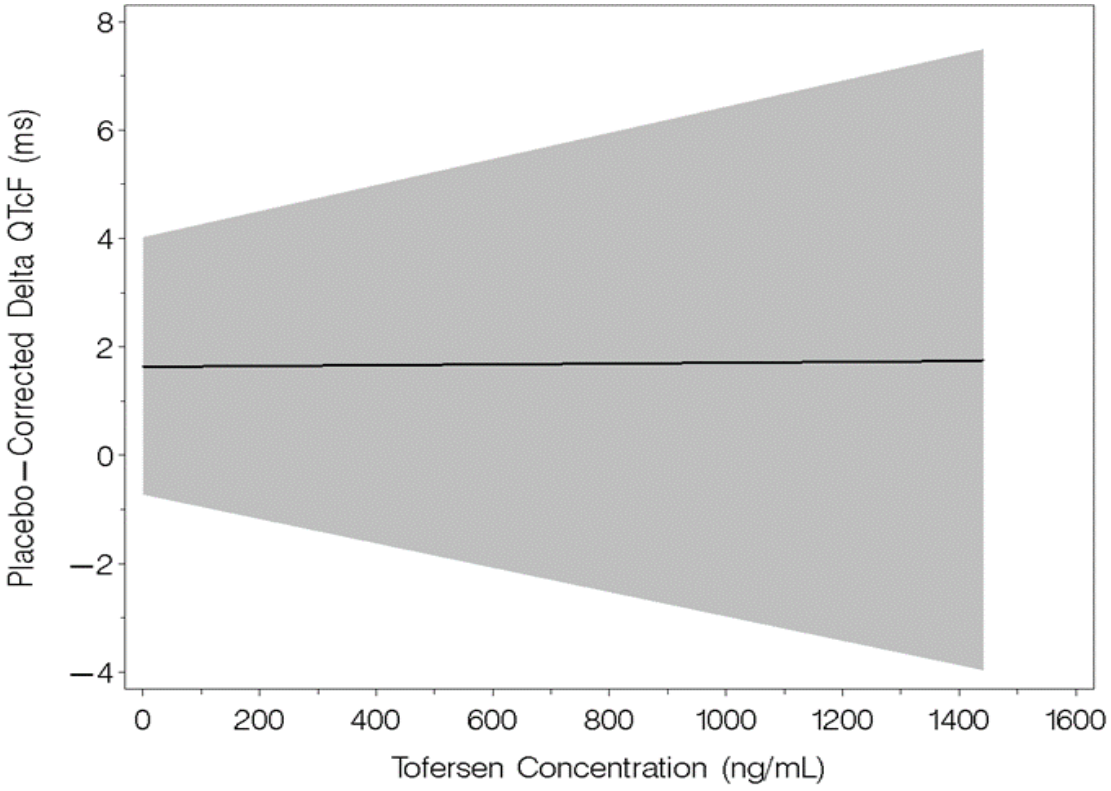
年齢、体重、性別、及び人種を含め、評価した共変量効果はいずれも、この患者集団の切片パラメータ及び濃度効果パラメータの傾きに統計的に有意な影響を及ぼさなかった。したがって、この基本モデルを最終モデルとして選択した。

pcVPC のプロットでは、最初の QTcF 測定後の時間の関数として評価した場合、及びトフェルセン濃度の関数として評価した場合に、実測データと最終モデルからのシミュレーションしたデータの間に良好な対応が示された。

最終モデルでは、未補正のモデルから予測したプラセボ群のベースライン（切片）は 399 ms であった。トフェルセン群のベースラインは、約 1.64 ms 高く予測された。午前 7:30～午前 9:30 の測定値と比較すると、QTcF のモデル予測値は午前 9:30 から午前 11:30 までは減少し、午前 11:30 から午後 8:00 までの間に QTcF は約 3.1～4.6 ms 増加した（午後 8:00 から真夜中までの観察は収集しなかった）。さらに、QTcF のモデル予測値は、初回投与日後（予定された Day 57～Day 141）は平均して 0.7～1.3 ms 増加し、その後、平均して 1.1 ms 減少した。最終モデルでは、予測される濃度効果の傾きは 8.18×10^{-5}（ほぼ 0）であり、トフェルセン濃度単独では臨床的に意味のある QTcF の予測因子とはならず、QT 延長との関連はないと予想された。

ΔΔQTcF の平均値及び両側 90%信頼区間の臨床評価から、ΔΔQTcF の平均値とトフェルセン濃度上昇との関係は、傾きがおおよそ 0 であった。したがって、ΔΔQTcF の平均値及び信頼区間上限は、観察されたトフェルセン濃度の 5～95 パーセンタイルで 10 ms 未満となる（Figure 41）。

Figure 41　Model Predicted Placebo-Corrected ΔQTcF Versus Tofersen Concentration



The shaded area is the predicted 5-95% confidence region of placebo corrected ΔQTcF.
Source: CPP-[redacted]-006-BIIB067

以上のことから、観察されたトフェルセン濃度範囲（1.14～1440 ng/mL）の 5～95 パーセンタイルで QTcF 延長は認められないことが示され、濃度依存的な QTcF 延長はないことが示唆された。

トフェルセン濃度効果の傾きは 0 に近いと推定された。これは、トフェルセン濃度が臨床的に意味のある QTcF の予測因子ではなく、QTcF を延長するとは考えられないことを示している。本評価の目的は、QT 評価試験の代替として情報を提供することであった。

3.6　薬物動態に影響を及ぼす要因及び特殊な集団

3.6.1　内因性要因の影響

母集団 PK 解析により、体重、年齢、性別、人種、及び肝／腎機能障害を含む共変量がトフェルセンの PK に及ぼす影響を検討した（3.2 項）。

3.6.1.1　体重

ベースラインの体重は、CSF 中分布容積、血漿中分布容積、及び血漿中クリアランスなどの PK パラメータの有意な共変量ではなかった。しかし、体格の代用指標である BSA は、トフェルセンの血漿中クリアランスの共変量と特定された。

BSA はトフェルセンの血漿中分布容積及び血漿中クリアランスに影響を及ぼすが、血漿中曝露量は比較的低い。体重範囲全体で CSF 中の曝露量が同程度であること、標的組織が CNS 内にあることを考えると、BSA による用量調節は不要である。

3.6.1.2 年齢（小児／高齢者）

臨床試験でトフェルセンを投与した ALS 患者 166 例（4 例を除く全患者が SOD1 変異を有する ALS［本承認申請の効能又は効果］患者）のうち、75 歳以上の 2 例を含め、22 例が 65 歳以上であった［ISS, Appendix 2.1, Accountability, Demographics and Exposure、Output 2］。データは限られているが、65 歳以上と 65 歳未満の被験者間で臨床的 PK に全般的な違いは認められなかった。

本疾患の疫学的背景から、小児試験は計画していない。

3.6.1.3 性別

母集団 PK 解析では、性別はトフェルセンの PK パラメータ（CSF 中クリアランス、CSF 中分布容積、血漿中クリアランス、及び血漿中分布容積）に影響を及ぼさないことが示されている（6 章、Appendix 2）。トフェルセンの CSF 中濃度又は血漿中総曝露量の指標に関して、男性被験者と女性被験者の間に明らかな差は認められなかった。

3.6.1.4 人種

被験者の大半は白人であり（全体の 61%）、人種の効果は BSA の共変量効果に吸収された可能性が高く、有意な共変量ではなかった（6 章、Appendix 2）。

7 例の日本人被験者（試験パート全体の 6.5%）は 101 試験パート C に登録され、3 例にトフェルセン 100 mg が投与された。日本人被験者におけるトフェルセン 100 mg の初回投与後の平均（最小値、最大値）$AUC_{0\text{-}24}$は 6992.0（4242、15040）h*ng/mL、C_{max}は 462.3（227、1435）ng/mL であった［233AS101 試験パート C の CSR、Section 14.3.5.1、Output 2］（Day 1 に PK データが得られた「その他」の部分集団の被験者はいずれも日本人であった）。これらの値は全体集団の値の範囲内であった（2.1.3.1 項及び 2.1.3.2 項）。

3.6.1.5 肝機能及び腎機能障害

対象集団、代謝及び消失経路、PK、並びにこれまでの臨床試験及び非臨床試験の結果に基づき、肝機能及び腎機能障害を有する被験者を対象としたトフェルセンの臨床試験は実施されなかった。

肝臓及び腎臓は、オリゴヌクレオチドの既知の分布部位であるが［Geary 2003; Yu 2007］、サルでの反復 IT 投与後の濃度は、すべての用量レベルで、典型的な ASO をより高用量で全身投与したときの濃度に比べて非常に低かった。

2′-MOE 修飾を有する第二世代の ASO は通常、臨床的に意味のある又はそれ以上の血漿中濃度で高いヒト血漿タンパク結合率を示す。このことは、別の ASO（ヌシネルセン［結合率 94%超］）及びトフェルセンの *in vitro* 試験（666853-IS03 試験）で確認されており、マウスでの全血漿タン

パク結合率は 96%超、ヒト及び非ヒト霊長類では 0.1 µg/mL 及び 3 µg/mL の薬物濃度で 98%超であった。高いタンパク結合性は糸球体濾過を制限（未変化体の腎クリアランスを抑制）するため、全身組織への分布を促進する。例えば、ヌシネルセンは遅発型 SMA 被験者で、最初の 24 時間に投与量の 0.5%未満が尿中に排泄された。このような状況と遍在するヌクレアーゼ（2′-MOE 修飾を有する第二世代の ASO を代謝することが知られている）の高い代謝能力から、腎機能障害により未変化の薬物が過剰に蓄積するリスクは低い。

さらに、この化学物質クラスの ASO はチトクローム P450 酵素（CYP450）では代謝されず、ほとんどの組織で遍在的に発現しているヌクレアーゼにより代謝される。したがって、肝機能障害を有する患者でトフェルセンの PK が変化する可能性は低いと考えられる（トフェルセン代謝試験の概要は 3.6.2 項を参照のこと）。

3.6.2 薬物相互作用の可能性

トフェルセンとの薬物相互作用の可能性は低い。トフェルセンを用いた臨床薬物相互作用試験は実施していない。

代謝

トフェルセンの代謝は、CD-1 マウス（666853-AS02 試験）及びカニクイザル（P067-[redacted]-06 試験及び DMPK-20[redacted]-003BT 試験）で評価されている。肝臓及び腎臓試料での結果は、類縁クラスの ASO（2′-MOE 修飾 ASO など）でのこれまでに得られた結果と同様である［Geary 2003; Yu 2007］。未変化体に加え、ヌクレアーゼによる代謝と一致する推定オリゴヌクレオチド代謝物も腎臓及び肝臓試料中に認められた。類縁クラスの ASO でこれまでに得られた結果に基づくと、トフェルセンの主要な循環血中代謝物又は予想されない代謝物はヒトでは存在しないと考えられる。

冷凍保存したヒト初代培養肝細胞を用いた *in vitro* 試験では、トフェルセンは CYP450 を介した酸化的代謝の誘導剤（DMPK-20[redacted]-0020IV 試験）でも阻害剤（DMPK-20[redacted]-0015-C 試験）でもないことが示されていることから、この代謝経路に関して他の薬剤と競合しないと考えられる。

トランスポーター

トフェルセンは、*in vitro* では BCRP 及び MDR1 排出、MATE1、MATE2-K、OAT1、OAT3、OATP1B1、OATP1B3、OCT1、OCT2 SLC トランスポーターの基質ではない（DMPK-20[redacted]-0015-B 試験）。また、トフェルセンは、*in vitro* では MATE1、MATE2-K、OAT1、OAT3、OATP1B1、OATP1B3、OCT1、OCT2 SLC、BCRP、BSEP、及び MDR1 トランスポーターの阻害剤ではない（DMPK-20[redacted]-0015-A 試験）。したがって、これらトランスポーターとの競合又はトランスポーターの阻害による薬物相互作用の可能性は非常に低いと考えられる。

血漿タンパク結合

トフェルセンは、臨床的に意味のある血漿中濃度以上（0.1 及び 30 µg/mL）で高いヒト血漿タンパク結合率（95%以上）を示し［666853-IS03 試験］、糸球体濾過量を制限し、尿中排泄量を減少させる。しかし、このクラスの ASO の血漿タンパク結合は比較的弱く、この種の親水性薬剤

の結合部位は低分子量の疎水性薬剤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非常に低いと考えられる。

3.7 用法・用量の選択の薬物動態・薬力学的裏付け

用法・用量（案）は、「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」である。SOD1 変異を有する ALS 被験者で観察された安全性は、CSF 中のトフェルセン曝露量、標的特異作用（Target Engagement）、及び機能的臨床転帰の間の明確な関係と共に、用法・用量を裏付けている（2.7.4 臨床的安全性、2〜5 章、「2.7.3 臨床的有効性」6 章）。

非ヒト霊長類での非臨床試験データに基づいた 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 が減少すると考えられる CNS 中曝露量に達することが示唆されている。

非ヒト霊長類に基づくトランスレーショナルモデルを用いたヒトでのトフェルセン曝露量の予測は、101 試験及び／又は 102 試験でトフェルセンを投与した被験者 3 例の剖検試料から得た所見によって実証された（2.1.4.5 項）。剖検を行った被験者の CNS 領域の試料から得た組織中のトフェルセン濃度から、採取したほぼすべての CNS 領域で測定可能な濃度が認められ、投与部位近く（腰椎）で最も高い濃度値が認められ、脳ではこれよりも低い濃度であった。ヒトのトランスレーショナル PBPK モデルを用い、剖検を行った被験者の投与シナリオをシミュレーションした。CNS 組織中のモデル予測濃度は、実測値の 2〜3 倍以内であった。これは、*in vitro*－*in vivo* 及び他のトランスレーショナル PBPK モデルでの予測を成功と評価できる閾値である。この結果は、非ヒト霊長類に基づくトランスレーショナルモデルを用いたヒトでのトフェルセン曝露量の予測の適切性を裏付けている。

SOD1-ALS は主に下位運動ニューロンの疾患であると考えられており、大脳皮質において意味のある SOD1 減少を達成するには、かなり高用量の投与が必要であると考えられることから、トフェルセンの臨床開発プログラムでの評価の最大用量として、100 mg の用量を選択した。

101 試験パート A（SAD）及び B（MAD）での臨床用量は、非臨床 PK 及び薬理試験に基づいて選択され、トフェルセン 12 mg 以下の用量（ヒト換算量：120 mg、サルからヒトへの CSF 量のスケーリングに基づく）で良好な忍容性を示した毒性試験で適切性が裏付けられた［2.6.4 薬物動態試験の概要文、2.6.6 毒性試験の概要文］。101 試験パート A ではトフェルセン 10〜60 mg の単回投与及び 101 試験パート B では 20〜100 mg の月 1 回反復投与を評価した。パート B でのトフェルセン 100 mg 投与によって、トフェルセン曝露量は最大になり、CSF 中総 SOD1 タンパク質が最も大きく減少し、より低用量の投与に比べて多くの探索的臨床評価項目で進行が明らかに緩徐になった［233AS101 試験パート A 及び B の CSR］。

101 試験パート C 及び継続試験である 102 試験では、長期のトフェルセン 100 mg 月 1 回投与はおおむね安全であり、忍容性も良好であることが示された。大半の有害事象は ALS の性質及び重症度と一致していた（「2.7.4 臨床的安全性」2.1 項）。トフェルセン投与により、CSF 中総 SOD1 及び血漿中 NfL が急速かつ持続的に減少し、臨床機能、呼吸機能、筋力、及び QoL の評価項目における進行が明らかに緩徐になり、生存期間が延長した（「2.7.3 臨床的有効性」6 章及び

「2.5 臨床に関する概括評価」5 章)。曝露－反応解析では、CSF 及び血漿中のトフェルセン曝露量と SOD1 及び NfL タンパク質合成阻害との間に意味のある関係が示された（3.5.3 項及び 3.5.4 項)。

標的とする CNS 組織（脊髄）でのトフェルセンの推定有効 $t_{1/2}$（約 1 ヵ月）及び投与終了後に観察された SOD1 の安定化に基づき、月 1 回の投与頻度が選択された［233AS101 試験パート A 及び B の CSR］。これにより、定常状態でのトフェルセンの組織中の目標濃度が達成され、推定した薬理学的に活性な濃度範囲が維持されると考えられる。

全体として、本用法・用量（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。）では、SOD1 変異を有する ALS 患者の治療において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を示した。

3.8 免疫原性

Table 1 に示したように、101 試験及び 102 試験では抗トフェルセン抗体評価用の試料を採取した。採取した試料は、「2.7.1 生物薬剤学試験及び関連する分析法」の 1.3.3 項に記載するバリデートされた免疫アッセイを用いて分析し、抗トフェルセン抗体の有無を調べた。

免疫原性の解析のために、101 試験でトフェルセンを 1 回以上投与した被験者から得たデータを、2022 年 7 月 15 日の中間データカット時点の 102 試験のデータと統合した。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 例を対象に、血漿中のトフェルセンに対する免疫原性の反応を評価した［ISS3, Appendix 2.5 Other Safety and Immunogenicity、Output 15］。

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、ベースライン後に 1 回以上陽性結果を示した場合は、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 が陽性であった被験者で、ベースライン後に 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。

持続性の ADA 反応は、初回の陽性判定時点後の評価可能なデータのうち、112 日以上経過してから 2 回以上又は 112 日未満のうちに 1 回以上、ベースライン後の陽性判定があることと定義した。一過性の ADA 反応は、陽性判定が 1 回以上あり、持続性の ADA 反応が確認されないこと（ベースライン後に陽性判定の時点が 1 回あり、その後 112 日以上、すべての結果が陰性であること、又はベースライン後 112 日未満のうちに 2 回以上陽性判定の時点があり、その後、初回の陽性判定から 112 日以上経過して得られた試料が陰性であること）と定義した。

102 試験で得られた 2022 年 7 月 15 日の中間データカットを含め、全体で、5 例（3.0%）がトフェルセンの初回投与前に ADA 陽性と判定された。トフェルセンを投与した被験者のうち 97 例（58.4%）で治験薬投与後に ADA の発現が認められ、このうち 14 例は一過性、83 例は持続性であった［ISS3, Appendix 2.5, Other Safety and Immunogenicity、Output 15］。

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。101 試験パート C 及び 102 試験でトフェルセンを投与した日本人被験者の全 7 例に治験薬投与後に ADA が発現し、このうち 7 例が持続性であった（233AS101 Part C and 233AS102: Immunogenicity - safety

population/Japan subgroup_Japan Analysis IA3 Output 36）。

血漿中データの母集団 PK 解析の一部として（データカット日：2021 年 7 月 16 日）、ADA の有無を血漿中曝露量の共変量（時間変動及び非時間変動共変量）として検討した。母集団モデリングの詳細は、母集団 PK/PD モデリング報告書（6 章、Appendix 2）に示す。ADA は中心コンパートメントからの CL に対する共変量（非時間変動共変量）であった。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、抗体の存在により血漿 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、スパースサンプリング、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、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、推論は誤差及び無作為化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 のような大きな分子の場合、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 に顕著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（Appendix 2、Population Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Analysis of BIIB067 [Study No: CPP-21-004_PKPD_Report_V2.1]）。

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いことから、臨床効果に対する ADA の真の影響はないと予想される。持続性の ADA 反応が認められる被験者と他の被験者を比較した分析では、持続性陽性反応の被験者は、ALSFRS-R の経時的な変化で進行が小さいことが示唆された。ただし、これには、各群の被験者数が比較的少なかったことと個々の疾患の不均質性が交絡している可能性が高く、結論を導き出すのは困難である。

抗トフェルセン抗体がトフェルセンの有効性に及ぼす影響についてさらに検討するため、CSF 中総 SOD1 タンパク質及び血漿中 NfL 濃度について、各来院時のベースラインに対する比の記述的要約を来院時の ADA の有無別（陰性、陽性）に Appendix 3.3.1、Output 37 及び Appendix 3.3.2、Output 28 に示した。試験全体で、トフェルセン投与された ADA 陽性被験者及び ADA 陰性被験者との間で、各来院での 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。

安全性（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。重篤な神経学的 ADR（脊髄炎、神経根炎、視神経乳頭浮腫、及び無菌性髄膜炎）の発現率に対する ADA の影響は認められなかった（「2.7.4 臨床的安全性」4.6 項）。

4 結論

トフェルセンは、ヒト SOD1 の mRNA の 3′非翻訳領域の一部と相補的であり、Watson-Crick 塩基対形成によって結合する（ハイブリダイゼーション）ASO である。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の結果、SOD1 タンパク質の mRNA はリボヌクレアーゼ 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。

トフェルセンの臨床薬理学的特性は、2 つの完了した臨床試験（101 試験及び 233HV101 試験）、1 つの実施中の臨床試験（102 試験）、並びに 101 試験パート C 及び 102 試験の統合解析において示された。これらの試験で得られた結果、並びに母集団 PK、曝露－反応モデリング、PBPK モデリング、ニューロフィラメントモデリング、及びヒトの剖検組織から得られた CNS 曝露データにより、トフェルセンの臨床薬理学的特性が包括的に示されている。

4 週間の負荷投与期間の直後に CSF 中濃度は定常状態に達し、負荷投与期間後のトフェルセンの CSF 中への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 ヵ月であり、28 日ごとの維持投与間隔が裏付けられた。トフェルセンは CNS 組織中に広範に分布し、投与部位の近く（脊髄組織）が最も濃度が高かった。日本人被験者の CSF 中トフェルセン濃度推移は外国人被験者の濃度推移の範囲と重複していた。

トフェルセンは CSF から全身循環に速やかに移行し、T_{max} の中央値は 2～6 時間である。最高濃度に達した後、トフェルセンの血漿中濃度は急速に低下する。トフェルセンはエキソヌクレアーゼによる加水分解により緩徐に代謝され、肝機能に依存しない。主要な消失経路は尿中排泄であると考えられる。

母集団 PK 解析によると、トフェルセンの PK は、性別、年齢、及び人種の影響を受ける可能性は低い。ベースラインの体重は血漿又は CSF 中 PK の共変量として特定されなかった。しかし、BSA は血漿中クリアランスの共変量であると特定された。人種は血漿中 PK の共変量ではなく、その影響は、クリアランスに対する BSA の共変量効果に吸収された可能性が高かった。

トフェルセン投与により、CSF 中総 SOD1 タンパク質が確実に減少し、標的特異作用（Target Engagement）の間接的証拠が得られた。減少は Week 8 頃までに明確となり、トフェルセンの PK 及び SOD1 タンパク質の推定半減期（それぞれ約 1 ヵ月）と合致しており、長期間持続した。同様に、CSF 中の脱アミド化 SOD1 ペプチドの減少も認められた。ITT 集団において、日本人集団における CSF 中総 SOD1 タンパク質濃度の経時的な変化は、おおむね全体集団の変動範囲内であった。

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 及び血液中に移行するため、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、治療効果を示す証拠である。トフェルセン投与は、その標的作用機序が示すとおり、一貫したニューロフィラメント減少をもた

らし、その効果は持続した。ITT 集団において、日本人集団における血漿中 NfL 濃度の経時的な変化は、おおむね全体集団の変動範囲内であった。臨床機能、呼吸機能、筋力、及び QoL の悪化の緩徐化は Week 52 まで明確には認められなかったが、ニューロフィラメント減少はその前の Week 12～16 までには認められた。

さらに、101 試験パート C で得られたデータに基づき構築された統計的モデリングでは、トフェルセンによる早期（Week 16）の血漿中 NfL 濃度の低下が、その後の時点（Week 28）における臨床機能低下の有意に少ない低下並びに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ことが裏付けられている。トフェルセンの CSF 中 PK と 2 つの PD マーカー（CSF 中総 SOD1 タンパク質及び血漿中 NfL）との間には曝露－反応関係が認められ、母集団 PK/PD モデルにより、その特性が定量的に示された。想定される作用機序の仮説と一致して、PD 反応の特性は、総 SOD1 及び NfL タンパク質の合成を阻害するトフェルセンの曝露量を含む間接的反応モデルによって示された。

トフェルセン濃度と QTc との関係の分析から、濃度依存的な QTcF 延長はないことが示唆された。トフェルセン濃度効果の傾きは 0 に近いと推定され、トフェルセン濃度が臨床的に意味のある QTcF の予測因子ではなく、QTcF を延長するとは考えられないことが示された。

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 例を対象に、血漿中のトフェルセンに対する免疫原性の反応を評価した。102 試験で得られた 2022 年 7 月 15 日の中間データカットを含め、全体として、トフェルセンを投与した被験者の 97 例（58.4%）で治験薬投与後に ADA の発現が認められ、このうち 14 例は一過性、83 例は持続性であった。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、抗体の存在により血漿中 CL が低下したが、CSF 中薬物濃度への影響は認められなかった。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、スパースサンプリング、データのノイズ/シグナル比が高いことが挙げられる。有効性及び安全性（選択した有害事象である過敏症、アナフィラキシー反応、及び血管浮腫の発現率、並びに重篤な神経学的 ADR［脊髄炎、神経根炎、視神経乳頭浮腫、無菌性髄膜炎］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。

全体として、日本人集団の PK 及び PD はおおむね全体集団の変動範囲内であった。

5 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.

Allen S, Heath PR, Kirby J, et al. Analysis of the Cytosolic Proteome in a Cell Culture Model of Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis Reveals Alterations to the Proteasome, Antioxidant Defenses, and Nitric Oxide Synthetic Pathways. J Biol Chem. 2003;278(8):6371-83. Epub 20021209.

Andersen PM, Nilsson P, Ala-Hurula V, et al. Amyotrophic Lateral Sclerosis Associated with Homozygosity for an Asp90Ala Mutation in CuZn-Superoxide Dismutase. Nat Genet. 1995;10(1):61-6.

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.

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. Neurofilament light: A candidate biomarker of presymptomatic amyotrophic lateral sclerosis and phenoconversion. Ann Neurol. 2018;84(1):130-139. Epub 2018/08/16.

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.

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.

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.

Crisp MJ, Mawuenyega KG, Patterson BW, et al. In vivo kinetic approach reveals slow SOD1 turnover in the CNS. J Clin Invest. 2015;125(7):2772-80. Epub 2015/06/15.

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, 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 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.

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.

Ekhtiari Bidhendi E, Bergh J, Zetterström P, et al. Mutant Superoxide Dismutase Aggregates from Human Spinal Cord Transmit Amyotrophic Lateral Sclerosis. Acta Neuropathol. 2018;136(6):939-953. Epub 20181003.

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.

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.

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.

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.

Garnett C, Bonate PL, Dang Q, et al. Scientific white paper on concentration-QTc modeling. J Pharmacokinet Pharmacodyn. 2018;45(3):383-397. Epub 2017/12/05.

Garnett CE, Lee JY, Gobburu JVS. Contribution of Modeling and Simulation in the Regulatory Review and Decision-Making: U.S. FDA Perspective. Clinical Trial Simulations. AAPS Advances in the Pharmaceutical Sciences Series. Volume 1. New York: Springer; 2011. p 37-57.

Geary RS, Yu RZ, Watanabe T, et al. Pharmacokinetics of a tumor necrosis factor-alpha phosphorothioate 2'-O-(2-methoxyethyl) modified antisense oligonucleotide: comparison across species. Drug Metab Dispos. 2003;31(11):1419-28.

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.

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.

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.

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.

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.

Ilieva H, Polymenidou M, Cleveland DW. Non-cell autonomous toxicity in neurodegenerative disorders: ALS and beyond. J Cell Biol. 2009;187(6):761-72.

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.

Koel-Simmelink MJ, Vennegoor A, Killestein J, et al. The impact of pre-analytical variables on the stability of neurofilament proteins in CSF, determined by a novel validated SinglePlex Luminex assay and ELISA. J Immunol Methods. 2014;402(1-2):43-9. Epub 20131122.

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.

Kuhle J, Malmeström C, Axelsson M, et al. Neurofilament light and heavy subunits compared as therapeutic biomarkers in multiple sclerosis. Acta Neurol Scand. 2013;128(6):e33-6. Epub 20130613.

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.

Luu KT, Norris DA, Gunawan R, et al. Population Pharmacokinetics of Nusinersen in the Cerebral Spinal Fluid and Plasma of Pediatric Patients With Spinal Muscular Atrophy Following Intrathecal Administrations. J Clin Pharmacol. 2017;57(8):1031-1041. Epub 2017/03/29.

MacCannell D, Berger Z, East L, et al. Population pharmacokinetics-based recommendations for a single delayed or missed dose of nusinersen. Neuromuscul Disord. 2021;31(4):310-318. Epub 2021/02/20.

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.

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.

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.

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.

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.

Ranganathan R, Haque S, Coley K, et al. Multifaceted Genes in Amyotrophic Lateral Sclerosis-Frontotemporal Dementia. Front Neurosci. 2020;14:684. Epub 20200707.

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.

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.

Saccon RA, Bunton-Stasyshyn RK, Fisher EM, et al. Is SOD1 loss of function involved in amyotrophic lateral sclerosis? Brain. 2013;136(Pt 8):2342-58.

Sau D, De Biasi S, Vitellaro-Zuccarello L, et al. Mutation of SOD1 in ALS: a gain of a loss of function. Hum Mol Genet. 2007;16(13):1604-18. Epub 2007/05/15.

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.

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.

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, 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.

Thebault S, Booth RA, Freedman MS. Blood Neurofilament Light Chain: The Neurologist's Troponin? Biomedicines. 2020;8(11) Epub 20201121.

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.

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.

Verde F, Silani V, Otto M. Neurochemical biomarkers in amyotrophic lateral sclerosis. Curr Opin Neurol. 2019;32(5):747-757.

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.

Wagner L, Rechtman L, al. e. State and metropolitan area-based amyotrophic lateral sclerosis (ALS) surveillance. Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener. 2016;17:128-34.

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.

Wijesekera LC, Leigh PN. Amyotrophic lateral sclerosis. Orphanet J Rare Dis. 2009;4:3. Epub 2009/02/03.

Yu RZ, Kim TW, Hong A, et al. Cross-species pharmacokinetic comparison from mouse to man of a second-generation antisense oligonucleotide, ISIS 301012, targeting human apolipoprotein B-100. Drug Metab Dispos. 2007;35(3):460-8.

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.

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.

6 付録

Appendix 1: Neurofilament Statistical Modeling Framework Technical Report（5.3.5.3.2.3）

Appendix 2: Population Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Analysis of BIIB067 (Study No: CPP-21-004_PKPD_Report_V2.1)（5.3.3.5.1）

Appendix 3: Regulatory Concentration-QTc Analysis of Tofersen for Treatment of Amyotrophic Lateral Sclerosis (CPP Report No: CPP-[redacted]-006-BIIB067_Concerntration-QTc)（5.3.5.3.5）

Appendix 4: ALS Autopsy Tissue Collection Protocol（5.3.5.2.1.3）

Appendix 5: Aggregate Autopsy Report（5.3.5.2.1.4）

トフェルセン

第 2 部 CTD の概要

2.7 臨床概要

2.7.3 臨床的有効性

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 背景および概観 10
1.1 背景 10
1.1.1 筋萎縮性側索硬化症 10
1.1.1.1 疾病負担 10
1.1.1.2 疫学 11
1.1.2 ALS の診断 11
1.1.3 SOD1-ALS 12
1.1.3.1 疾患の病態生理学 12
1.1.3.2 自然歴 14
1.1.3.3 疫学 15
1.1.4 アンメットニーズ 16
1.1.5 トフェルセン 16
1.1.5.1 作用機序 16
1.1.6 標的特異作用（Target Engagement）のエビデンス 17
1.2 トフェルセンの臨床開発プログラム 18
1.3 試験デザイン 19
1.3.1 個々の試験 20
1.3.1.1 233AS101 試験 20
1.3.1.1.1 パート A 及び B 20
1.3.1.1.2 パート C 20
1.3.1.2 233AS102 試験 21
1.3.1.3 233HV101 試験 22
1.3.1.4 233AS303 試験 22
1.3.1.5 Expanded Access Program 22
1.3.1.6 トフェルセンの有効性を裏付ける試験 23
1.3.2 101 試験及び 102 試験のデータの統合 23
1.4 試験対象集団 24
1.4.1 101 試験パート B におけるエンリッチメント 25
1.4.2 101 試験パート C におけるエンリッチメント 25
1.5 主な有効性評価項目の根拠 27
1.5.1 ALSFRS-R 27
1.5.2 SVC 30
1.5.3 HHD メガスコア 30
1.5.4 生存期間 32
1.5.5 生活の質 33
1.5.6 Responder Analysis 34

1.5.7 Exit Interview 34
1.6 統計学的考察 34
1.6.1 症例数の検討 35
1.6.2 対照群の選択 36
1.6.3 盲検化及びデータの完全性を確保するその他の方法 36
1.6.3.1 盲検化 36
1.6.3.2 データの完全性 37
1.6.4 各試験の統計解析 38
1.6.4.1 101 試験パート A 及び B 38
1.6.4.2 101 試験パート C 39
1.6.4.3 102 試験 41
1.6.5 有効性の統合データの統計解析 42
1.6.5.1 2021 年 7 月をデータカットとした中間解析 42
1.6.5.2 2022 年 1 月をデータカットとした中間解析 44
1.6.5.3 2023 年 2 月をデータカットとした中間解析 52
1.6.5.3.1 生存 52
1.6.5.3.2 臨床機能及び筋力 53
1.6.5.3.3 生活の質 55
1.6.6 その他の統計学的考察 56
1.6.6.1 Joint Rank 法 56
1.6.6.2 統計モデルに基づく NfL 濃度及び臨床機能との関係 59
1.6.7 部分集団解析 59
2 個々の試験結果の要約 60
2.1 101 試験パート B（MAD）の結果の概要 65
2.2 101 試験パート C の結果の概要 66
2.2.1 解析対象集団 66
2.2.2 101 試験パート C を対象とした有効性解析 70
2.2.2.1 ALSFRS-R 70
2.2.2.2 SVC 77
2.2.2.3 HHD メガスコア 82
2.2.2.4 体重 86
2.2.2.5 イベント発現までの期間 88
2.2.2.6 患者報告アウトカムの測定 88
2.2.2.6.1 ALSAQ-5 88
2.2.2.6.2 FSS 90
2.2.2.6.3 EQ-5D-5L 91
2.2.2.7 Exit Interview サブスタディ 93
2.3 102 試験の結果の概要 97
2.3.1 被験者集団 97
2.3.2 102 試験における有効性解析 99
2.3.2.1 ALSFRS-R 99

2.3.2.1.1 パート C の被験者 99
2.3.2.1.2 パート A 及び B の被験者 99
2.3.2.2 SVC 100
2.3.2.2.1 パート C の被験者 100
2.3.2.2.2 パート A 及び B の被験者 100
2.3.2.3 HHD メガスコア 100
2.3.2.3.1 パート C の被験者 100
2.3.2.3.2 パート A 及び B の被験者 100
2.3.2.4 イベント発現までの期間 101
2.3.2.4.1 パート C の被験者 101
2.3.2.4.2 パート A 及び B の被験者 101
2.3.2.5 患者報告アウトカムの測定 102
3 全試験を通しての結果の比較と解析 103
3.1 2021 年 7 月及び 2022 年 1 月データカットの有効性の結果 103
3.1.1 試験対象集団 103
3.1.2 全有効性試験の結果の比較検討 105
3.1.2.1 101 試験パート C 及び 102 試験：有効性に関する主な解析 105
3.1.2.1.1 ALSFRS-R 106
3.1.2.1.2 SVC 118
3.1.2.1.3 HHD メガスコア 125
3.1.2.1.4 生存期間 134
3.1.2.1.5 患者報告アウトカムの測定 142
3.1.2.2 101 試験パート A 及び B 並びに 102 試験：有効性に関する主な結果 143
3.1.2.3 日本人集団の有効性 145
3.1.2.3.1 日本人集団の被験者集団 146
3.1.2.3.2 日本人集団の有効性 146
3.2 2023 年 2 月データカットの追加の有効性の結果 161
3.2.1 試験対象集団 161
3.2.2 全有効性試験の結果の比較検討 161
3.2.2.1 101 試験パート C 及び非盲検継続投与試験：主な有効性の解析 161
3.2.2.1.1 無イベント期間 161
3.2.2.1.2 臨床機能、筋力、及び生活の質 172
3.2.2.2 101 試験パート A 及び B 並びに非盲検継続投与試験：主な有効性の解析 204
3.2.2.3 日本人集団の有効性 210
3.2.2.3.1 ALSFRS-R 210
3.2.2.3.2 SVC 210
3.2.2.3.3 HHD メガスコア 210
3.2.2.3.4 死亡及び永続的換気に関連するイベント 211
4 推奨用法・用量に関する臨床情報の解析 221
4.1 臨床試験で使用したトフェルセンの用法・用量の設定の根拠 221

4.2 用法・用量（案） 221
4.3 有効性に対する免疫原性の影響 222
4.4 投与の中断及び変更 223
5 効果の持続、耐薬性 224
6 有効性の結論 229
7 付録 232
7.1 Exit Interview Qualitative Report（5.3.5.1.1.2） 232
7.2 Exit Interview Transcripts（5.3.5.1.1.2） 232
7.3 Exit Interview Qualitative Analysis Plan（5.3.5.1.1.2） 232
7.4 Exit Interview Procedures （5.3.5.1.1.2） 232
7.5 Qualitative Analysis Codebook（5.3.5.1.1.2） 233
7.6 Exit Interview Outreach Letters（5.3.5.1.1.2） 233
7.7 Exit Interview Guides（5.3.5.1.1.2） 233
7.8 図 233
8 参考文献 266

略語・略号一覧表

注：以下の略語・略号及び略していない表現は、本書で最初に使用される表現と考えられる。本書で使用される略語・略号については、この一覧表に戻って参照されたい。

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（SAD）
101 試験パート B	Study 233AS101 Part B MAD	233AS101 試験パート B（MAD）
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（OLE）
A5V	p.Ala5Val	－
ABL	pooled group from Study 101 Part A and B and Study 102	101 試験パート A 及び B 並びに 102 試験の統合データ
ACMG	American College of Medical Genetics	米国臨床遺伝・ゲノム学会
ADA	antidrug antibody	抗薬物抗体
AE	adverse event	有害事象
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
Alter.	alternative	－
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
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	－
CR	copy reference	－
CSF	cerebrospinal fluid	脳脊髄液
CSR	Clinical Study Report	治験総括報告書
DLT	dose-limiting toxicity	用量制限毒性

略語・略号	略していない表現	
	英語	日本語
DP	disease progression	疾患進行
DS	delayed start (delayed initiation of tofersen)	投与開始遅延（トフェルセンの投与を遅らせて開始）
EAP	expanded access program	－
EOS	end of study	試験終了時
EQ-5D-3L	EuroQol 5 Dimension, 3 Level Questionnaire	－
EQ-5D-5L	EuroQol 5 Dimension, 5 Level Questionnaire	－
ES	early start (early initiation of tofersen)	早期開始（トフェルセンの投与の早期開始）
fALS	familial ALS	家族性 ALS
FDA	Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FP	fast progressor	急速進行性
FPS	faster-progressing group	急速進行性の部分集団
FSS	Fatigue Severity Scale	－
FVC	forced vital capacity	努力肺活量
HHD	handheld dynamometry	ハンドヘルドダイナモメーター測定
HR	hazard ratio	ハザード比
IDMC	independent data monitoring committee	独立データモニタリング委員会
ISE	Integrated Summary of Effectiveness	－
IT	intrathecal(ly)	髄腔内
J2R	jump to reference	－
ITT	intent-to-treat	－
JRT	joint rank test	－
LDL	low density lipoprotein	低比重リポタンパク質
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
LMN	lower motor neurons	下位運動ニューロン
LOCF	last observation carried forward	－
LS	least square	最小二乗
MAD	multiple ascending dose	反復投与用量漸増
MAR	missing at random	－
MI	multiple imputation	多重補完
mITT	modified intent-to-treat	－
MMRM	mixed model for repeated measures	反復測定値の混合効果モデル

略語・略号	略していない表現	
	英語	日本語
mRNA	messenger ribonucleic acid	メッセンジャーリボ核酸
MUNIX	motor unit number index	運動単位数指数
NE	not estimable	推定不能
Nf	neurofilament	ニューロフィラメント
NfL	neurofilament light chain	ニューロフィラメント軽鎖
NR	not reported	報告なし
OLE	open-label extension	非盲検継続
PALS	person living with ALS	ALS と共存する患者
PBPK	physiologically-based PK	生理学的薬物速度論
Pcb.	placebo	プラセボ
P/DS	placebo/delayed-start (delayed initiation of tofersen)	プラセボ／投与開始遅延（トフェルセンの投与開始遅延）
PD	pharmacodynamic(s)	薬力学
PGI-C	Patient Global Impression of Change	－
PGI-S	Patient Global Impression of Status	－
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
PRO-ACT	Pooled Resource Open-Access ALS Clinical Trials	－
PV	permanent ventilation	永続的換気
QoL	quality of life	生活の質
RPSFTM	Rank Preserving Structural Failure Time Model	－
sALS	sporadic ALS	孤発性 ALS
SAD	single ascending dose	単回投与用量漸増試験
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	－
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 遺伝子変異を有する ALS
SPS	slower-progressing group	緩徐進行性の部分集団
SVC	slow vital capacity	静的肺活量
Tof.	tofersen	トフェルセン
UMN	upper motor neurons	上位運動ニューロン

略語・略号	略していない表現	
	英語	日本語
US	United States	米国
VAS	visual analog scale	視覚的アナログスケール
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 背景および概観

1.1 背景

1.1.1 筋萎縮性側索硬化症

筋萎縮性側索硬化症（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（UMN）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、稀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、麻痺を生じ、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）に呼吸不全により死亡する［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、患者によって異なる様々な速度やパターンで全身に広がる疾患である。

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］。症状の管理には、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の選択肢、並びに理学療法、作業療法、言語療法、及び換気補助がある。栄養の管理には、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、介護の中止の計画などがある。

1.1.1.1 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活動に影響が生じる。

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 患者は自殺傾向の確率が高い［Verschueren 2019］。ALS 患者 71 例を対象にした研究では、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、介護者の最大 48%が ALS 患者の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 89,356 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］。ドイツでは、平均年

間総費用は患者年あたり 78,256 ユーロ（2018 年［単位：ユーロ］）（2021 年の物価上昇率で補正すると 82,325 ユーロ［単位：ユーロ］）であり、年間総負担額は 5 億ユーロ（2021 年の物価上昇率で補正すると 5 億 2600 万ユーロ［単位：ユーロ］）を上回っていた［Schönfelder 2020］。

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］。

1.1.1.2 疫学

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

ALS は、既知の家族歴の有無に基づき家族性 ALS（fALS、ALS 患者の 5%～10%）又は孤発性 ALS（sALS、ALS 患者の約 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、少なくとも部分的には、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、診断時に ALS の家族歴を見逃される理由（例えば、小人数の家族や不完全浸透など）が複数あることなど一定の限界に起因すると考えられる［Al-Chalabi and Lewis 2011; Salmon 2022］。

1.1.2 ALS の診断

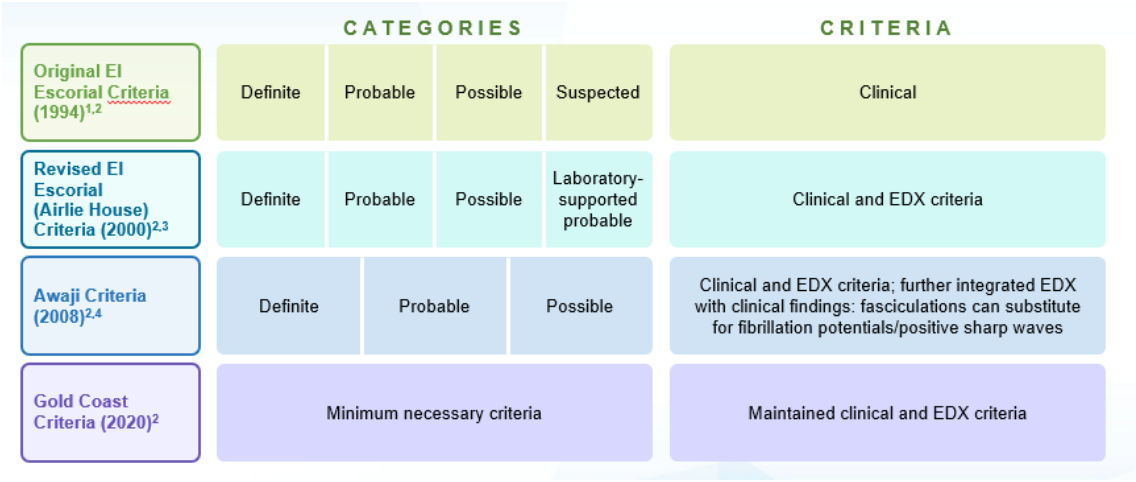
ALS に特異的な検査はないため、ALS の診断は臨床判断に基づいている。診断では、時間の経過と共に進行し拡大する UMN 及び LMN の徴候及び症状を特定し、患者の神経学的所見を説明しうる他の疾患過程を除外する。その結果、ALS 症状の発症から診断までに大幅な遅延がしばしば生じる。受診した患者は専門医に紹介され、UMN/LMN の徴候及び症状の進行性を長い期間観察されることが多い。ALS は他の疾患を除外するために診断が行われるため、専門医は ALS に類似した疾患についても診断する。発症から診断までの期間の中央値は 9.5 ヵ月～2.5 年である［Galvin 2017; Nzwalo 2014; Williams 2013］。さらに、ALS の診断に至るまでのプロセスには、評価の初期段階にある程度の診断の不確実性を伴うことが多い。

臨床研究を目的として ALS の診断過程を標準化するため、1994 年に神経専門医グループは合意に基づく最初の ALS の診断基準を作成した。El Escorial 基準として知られるこの診断基準では、ALS の症候群を「Suspected」、「Possible」、「Probable」、及び「Definite」に定義した。この定義によって、UMN 及び LMN の臨床徴候を伴う身体領域の数に基づいて ALS の診断確実度を名目的に分類した［Brooks 1994］。これ以降、ALS 診断基準は ALS に関する情報の蓄積及び臨床診療の変化を背景に改訂された。El Escorial 基準は 2000 年に改訂され［Brooks 2000］、2008 年には改良を加えた基準（Awaji 基準）が提唱され［de Carvalho 2008］、臨床所見の代わりに電気診断データを用いることにより診断感度が改善した（Figure 1）。改訂 El Escorial 基準は、検査所見で確認さ

れる臨床的に確実な家族性 ALS（Clinically Definite Familial ALS - Laboratory-supported）の新たなサブカテゴリーを加え、ALS の原因となる遺伝子変異を有する患者では一肢領域の UMN 又は LMN の徴候に基づいた診断を可能にすることにより、ALS の遺伝学に関する情報にも対応した［Brooks 2000］。改訂 El Escorial 基準又は Awaji 基準で定義されたカテゴリーでは ALS 診断に対する臨床医の信頼度を正確に把握していないことが広く受け入れられるようになったため、2019 年には、臨床研究を目的に診断を簡素化する新たな診断基準（Gold Coast 基準）が提唱された。Gold Coast 基準による ALS 診断には診断確実性のカテゴリーはなく、その代わりに進行性の運動障害の有無、一肢領域の UMN/LMN の徴候又は二肢領域の LMN の徴候の有無、及び他の疾患過程を除外できることのみを必要とする［Shefner 2020］。

診断基準は今後も改訂されてゆく可能性がある。例えば、Gold Coast 基準の著者らは、現時点では遺伝的変異の有無が ALS 診断の基準に取り入れられていないことを認識しているが、「遺伝子治療が開発されるにつれて、特定の遺伝子変異を考慮に入れることができるように、この基準を改良することが必要になるかもしれない」と述べている［Shefner 2020］。ALS に対する遺伝的標的治療が可能となった場合、ALS の原因となる遺伝子変異が明らかになっている患者に対し、医師は ALS を疑う高度な指標を得る可能性がある。たとえ患者が疾患の早期で、一肢領域で UMN/LMN のいずれでも徴候を認める又は二肢領域で LMN の徴候を認めるとする Gold Coast 研究基準を満たさない場合であっても、他に説明できる原因がない新たな進行性の運動障害を発症した患者を ALS と診断することができると考えられる。今後の ALS 診断基準の改訂版がこのような診療上の発展を反映する可能性がある。

Figure 1: ALS Diagnostic Criteria



1.1.3 SOD1-ALS

1.1.3.1 疾患の病態生理学

ALS 患者の約 2%は、スーパーオキサイドジスムターゼ 1（SOD1）をコードする遺伝子の突然変異によって発病する。

SOD1 遺伝子は、豊富に存在する二量体酵素である銅／亜鉛スーパーオキサイドジスムターゼ

（Cu/Zn SOD 又は SOD1）をコードする。SOD1 はスーパーオキサイド（O_2^-）の酸素（O_2）及び過酸化水素（H_2O_2）への変換を触媒する［McCord and Fridovich 1969］。酵母では、この変換には総 SOD1 の 1%未満しか必要としないため、SOD1 が豊富に存在することを説明する他の重要な役割を有する可能性がある［Corson 1998; Reddi and Culotta 2013］。

SOD1 の変異が ALS において変性を引き起こすメカニズムは十分に解明されていないが、SOD1 遺伝子の膨大な数の変異が異常機能獲得機序を介して毒性の高い構造の SOD1 タンパク質を産生することが広く知られている。この神経毒性は様々な主原因によって生じる可能性があるが、これらのすべてが SOD1 タンパク質の凝集を起こしやすくする［Allen 2003; Andersen 1995; Bruijn 1998; Ekhtiari Bidhendi 2018; Ilieva 2009; McCampbell 2018; Saccon 2013; Sau 2007］。

SOD1 遺伝子には 500 種類以上の変異体が認められているが、病原性に関するエビデンスの程度は様々である。ALS に関連するすべての SOD1 変異体によって SOD1 の異常機能獲得が生じる、すなわち変異型 SOD1 タンパク質が過剰発現すると推定される［Johnston 2000; Kato 2000］。利用可能なデータベースで、200 を超える固有の SOD1 アレルが病原性アレル又は病原性の可能性があるアレルとして報告されているが［ALSoD 2021］、この分類には利用できる機能検査がないため、現時点で結論に至っていないアレルもある。米国臨床遺伝・ゲノム学会（ACMG）ガイダンスに従って、病原性に対するエビデンスの量及び質に基づいて、変異体を良性（benign）、おそらく良性（likely benign）、不明（uncertain）、おそらく病原性（likely pathogenic）、病原性（pathogenic）に分類することができる［Richards 2015］。変異のキャリアがさらに特定され機能的結果が解明されれば、変異が今後再分類される可能性がある。病原性及びおそらく病原性と分類された変異体のほとんどが不完全浸透を示し、これはキャリアでは ALS のリスクが増大することを意味するが、すべてのキャリアが ALS を発症するわけではない。したがって、病原性又はおそらく病原性に分類される変異体を有しているが罹患していない者が多い。病原性及びおそらく病原性に分類されるそれぞれの変異の全体的な有病率は極めて低いが、浸透率の低い変異体は家族内で特定することができるものの、発症するキャリアもいれば発症しないキャリアもいる。

ALS に関連する SOD1 変異は主に常染色体の優性遺伝の形式に従うが、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）変異は劣性遺伝形式を示す［Robberecht and Philips 2013; Rosen 1993］。

ごく一部の例外を除き［Bruijn 1998; Liu 2004; Valdmanis 2009; Zu 1997］、現在までに明確に病原性と分類された SOD1 変異はミスセンス変異である。Online Mendelian Inheritance in Man（omim.org）では、SOD1 遺伝子変異を有する ALS（SOD1-ALS）患者で特定された未成熟終止（ナンセンス）に由来する 1 種類の変異［Zu 1997］及び未成熟終止に由来する変異を産生する 1 種類のスプライス部位変異［Valdmanis 2009］が報告されている。後者の公表文献では機能的特徴の解析は報告されなかった。前者では、患者から採取した赤血球細胞及びリンパ芽球細胞株に SOD1 タンパク質が検出されなかったことから、変異型メッセンジャーリボ核酸（mRNA）はナンセンス変異依存 mRNA 分解機構により分解された可能性が高いことが示された。本来の SOD1 の活性の減少が報告された。

In vitro で酵素活性のない SOD1 変異のホモ接合性が、進行性の痙性四肢麻痺及び体軸性筋緊張低下（生後 1 年以内の重度かつ進行性の運動機能障害の発現を特徴とする常染色体劣性神経障害）

を有する患者 2 例（いずれも近親結婚したアフガニスタン人の両親をもつ）で報告され、ALS とは異なると考えられ、これら以外の症例は報告されていない［Andersen 2019; Park 2019］。ゲノムワイド関連試験を通して、いくつかの一般的な複合表現型が SOD1 の領域の変異と関連付けられている。これらには、学業成績［Lee 2018; Neale 2018］、喫煙［Liu 2019］、身長［Kichaev 2019］、低比重リポタンパク質（LDL）コレステロール値［Hoffmann 2018; Klarin 2018］、関節リウマチでの関節障害［de Rooy 2015］、近視と診断されたときの年齢［Tedja 2018］、及び加齢による DNA メチル化の変化［Zhang 2018］がある。学業成績及び LDL コレステロール値を除き、表現型との関連性は独立して再現されておらず、いずれも SOD1 遺伝子と明らかに関連していない。

非臨床試験では、マウス又はラットに変異型 SOD1 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］。ただし、野生型 SOD1 タンパク質の消失によって最終的には運動ニューロンの機能不全に至るものの、運動ニューロンの細胞死には至らない［Fischer 2012; Reaume 1996］。さらに、SOD1 遺伝子の変異を伴う ALS（SOD1-ALS）のマウスモデルでは、SOD1 活性の消失及び亢進のいずれも生存期間に影響を与えることはなかった［Bruijn 1998］。SOD1 のミスフォールド状態が細胞間及び動物の間で伝播され、病態が誘導される可能性があると推測されており［Ayers 2014; Grad 2014］、さらに SOD1-ALS における変異型 SOD1 の病理学的役割が裏付けられている。ヒトでは、個々の病因性変異は様々なレベルの SOD1 活性と関連する。疾患誘導性突然変異を有する患者の中には明らかに SOD1 活性が正常な患者も存在する［Saccon 2013］。このように、疾患重篤度と正常な SOD1 活性との間に相関性は認められていない［Andersen 1997; Ratovitski 1999; Saccon 2013］。非臨床試験では、SOD1-ALS のげっ歯類モデルにおいて、脳室内投与した SOD1 アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）による SOD1 タンパク質の減少により生存期間が延長した［McCampbell 2018; Smith 2006］。さらに、SOD1-G93A マウスモデル（G93A 変異型を有するヒト SOD1 タンパク質を、ヒト SOD1 プロモーターによって遺伝子導入し発現させたモデル）にトフェルセンを投与したところ、生存期間、運動能力、疾患の発現、体重減少、及び電気生理学的機能のすべてが改善した。これらの知見から、SOD1-ALS は変異型 SOD1 タンパク質の毒性が原因であることが強く示唆される。

1.1.3.2 自然歴

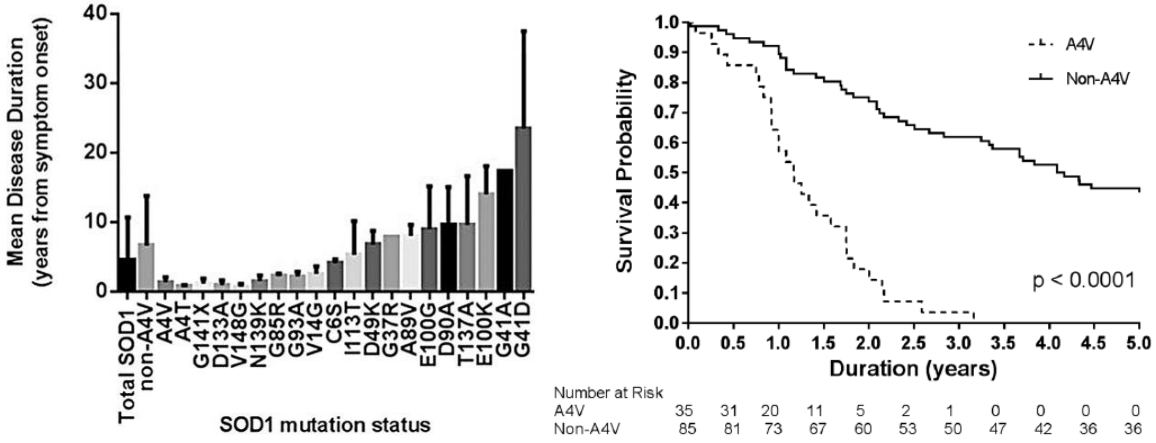
SOD1-ALS の自然歴は極めて多様であり、疾患の希少性からその特性は十分に解明されていない。2 つの最大規模の自然歴コホートには、1）北米の 15 施設の SOD1-ALS 患者 175 例の後ろ向きコホート研究［Bali 2017］2）SOD1-ALS 患者 1383 例を対象とした国際的後向き観察研究［Opie-Martin 2022］がある。これらの研究では、患者の SOD1 変異の種類によって大きく異なる可能性がある（Figure 2）にもかかわらず、SOD1-ALS の平均発症年齢は、広範な患者集団での年齢（約 49～50 歳）と一致することが示されている［Bali 2017］。若年発症型の稀な症例として、SOD1 変異のキャリアにおける筋力の低下及び萎縮が報告されている［De La Torre 2019; Hayward 1998; Ikeda 1995; Rezania 2003］。

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（Figure 2）［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］。これとは対照的に、p.Gly42Asp（G42D; G41D）変異では、平均罹病期間は 23.5 ± 14.0 年である［Bali 2017］。入手可能なデータから、SOD1 遺伝子の変異は SOD1 タンパク質が凝集しやすくなり、高い凝集傾向を示す変異がより短い罹病期間と関連していると考えられる［Prudencio 2009］。

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（有毒な SOD1 タンパク質の蓄積に起因すると考えられる）は、異常機能獲得した *SOD1* の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。

Figure 2: Natural History of SOD1-ALS



Left: Average disease duration varied with different mutations, with SOD1 A4T and SOD1 G41D mutations associated, respectively, with the shortest and longest disease durations.
Right: Plot for survival probability for SOD1 A4V (35 patients) versus SOD1 non-A4V mutation patients (85).
Source: Figure 1B and Figure 2B in [Bali 2017].

1.1.3.3 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病数が報告された［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 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

1.1.4 アンメットニーズ

ALS 患者の機能を温存及び余命を延長する効果的な治療法には、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 の治療は、リルゾール、エダラボン、及び／又はフェニル酪酸ナトリウム／ursodoxicoltaurine（別名：taurusodiol）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、及び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阻害、及び神経伝達物質の興奮性アミノ酸受容体との非競合的な阻害で生じる細胞内事象の干渉が含まれる。

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 患者のうち疾患がより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認められなかった［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た。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 ポイント低かった［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の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）。

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。

1.1.5 トフェルセン

1.1.5.1 作用機序

トフェルセンは、ヒト SOD1 遺伝子の mRNA の 3′非翻訳領域の一部と相補的であり、Watson-Crick 塩基対を形成し結合（ハイブリダイゼーション）する。同種 mRNA に対するトフェ

ルセンのハイブリダイゼーションにより、SOD1 の mRNA はリボヌクレアーゼ-H を介して分解され、SOD1 タンパク質の合成量及び蓄積量が減少する。

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、新たな 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 のさらなる蓄積を防ぐ。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態形成機序（これらのすべては翻訳後の段階で起こる）の上流の事象であるタンパク質翻訳の基質濃度を減少させるため、変異タイプに関係なくすべての SOD1-ALS 患者に治療効果をもたらすと期待される。

1.1.6 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], [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）を間接的に示唆する指標として適しているが、トフェルセンの臨床効果（例：血漿中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）を予測する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 7）。

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 PKPD 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］。

1.2 トフェルセンの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 試験のパート A パート、パート 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。臨床開発プログラムとは別に、実施中の Expanded Access Program（EAP）がある（1.3.1.5 項を参照）。

本概要では、233AS101 試験を 101 試験、233AS102 試験を 102 試験と記載する。各試験の結果を補足することを目的として 101 試験及び 102 試験のデータを統合し、トフェルセンの長期のベネフィット／リスクの評価を行った。

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 Placebo: 36
Study 102 Phase 3 Ongoing	Open-label[b] extension for participants who completed Study 101.	Long-term safety and tolerability	Tofersen: 139
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 2.0. 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.

1.3 試験デザイン

すべての臨床試験は、医薬品の臨床試験の実施に関する基準及びヘルシンキ宣言並びに地域の要件に従い、該当する規制ガイダンスを考慮して実施された。

1.3.1 個々の試験

1.3.1.1 233AS101 試験

101 試験は、SOD1-ALS 患者にトフェルセンを投与したときの有効性、安全性、忍容性、PK、及び薬力学（PD）を検討する無作為化二重盲検プラセボ対照試験であった。当初、第 I 相単回投与用量漸増（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たが、第 III 相部分（パート C）を含めるため、本試験のパート B のデータをレビューした後に治験実施計画書が改訂された。第 III 相試験は、*SOD1* 変異が確認された ALS 患者にトフェルセン 100 mg を投与したときのベネフィット／リスクプロファイルを確立するためにデザインされた。

1.3.1.1.1 パート A 及び B

101 試験パート A（SAD）は、SOD1-ALS 患者を対象にトフェルセンの 4 つの用量（10、20、40、及び 60 mg）を評価する無作為化二重盲検プラセボ対照試験であった。15 例がトフェルセンを単回投与され、5 例がプラセボを投与された。本試験では被験者を約 8 週間追跡し、以後のパート B（MAD）のスクリーニングを受けることができた。パート B の適格性基準を満たさなかった被験者には、実施中の非盲検継続試験である 102 試験に組み入れる機会があった。

101 試験パート B（MAD）は、SOD1-ALS 患者にトフェルセンを 4 つの用量（20、40、60、及び 100 mg）で約 12 週間投与する（Day 1、15、及び 29 に 3 回の負荷投与、並びに Day 57 及び 85 に 2 回の維持投与）無作為化二重盲検プラセボ対照試験であった。50 例をトフェルセン群（38 例）又はプラセボ群（12 例）に無作為化し、約 24 週間の追跡を行った後、102 試験に組み入れる機会があった。

当初、101 試験パート B はトフェルセンの 3 つの用量（20、40、及び 60 mg）を検討するためにデザインされた。非ヒト霊長類を対象とした 39 週間毒性試験の PK データから、トフェルセンをさらに高用量で投与すると CSF 中総 SOD1 タンパク質濃度の効果的な減少が期待されることが示されたことから、治験実施計画書では 4 つ目の用量（100 mg）を追加する改訂を行った。

101 試験パート A 及び B の最終データは、233AS101 試験パート A 及び B の治験総括報告書（CSR）に記載する。101 試験パート B では、トフェルセン 100 mg とプラセボとの比較に重点を置き、その結果を 2.1 項に要約する。

1.3.1.1.2 パート C

101 試験パート C は、6 ヵ月間にわたりトフェルセン 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。当初は 60 例を組み入れるデザインであったが、規制当局からの助言により 99 例を組み入れるように変更し、ALS による筋力低下があり *SOD1* 変異が確認された 108 例をトフェルセン群又はプラセボ群に 2：1 の割合で無作為化され、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。

事前に規定され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）で構成されていた（「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。すべての有効性及びバイオマーカーの測定項目の選択は 1.5 項に記載する。統計解析方法については 1.6 項に、結果は 2.2 項に示す。

1.3.1.2 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非盲検継続試験であり、実施中である。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）、追跡調査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あった 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に盲検を解除し、一方で、独立した盲検性が維持された試験チームが実施中の 102 試験の管理業務に従事し続けた。盲検性の維持方法を 1.6.3 項に示す。実施中の試験データではこれらの制約事項が維持されている。FDA の要請により、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。盲検性が維持された試験チームは、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への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ている。試験の完全性を確保するために、試験が完了する（2024 年中期）まで 102 試験の追加の中間解析は計画されていない。

本概要では、2 回の中間解析について記載する。

1. 101 試験の完了日と同日のデータカット（2021 年 7 月 16 日）時点のデータ。このデータカット時点では、101 試験パート C に組み入れられたすべての被験者は 6 ヵ月以上の追跡をする機会を有していた。

2. データカット（2022 年 1 月 16 日）時点のデータ。このデータカット時点では、101 試験パート C に組み入れられたすべての被験者は 12 ヵ月以上の追跡をする機会を有していた。

102 試験の結果は 2.3 項に示す。

1.3.1.3 233HV101 試験

233HV101 試験は、健康成人被験者を対象として ^{99m}Tc-MAG3 で放射能標識された微量のトフェルセンを非標識のトフェルセンと同時投与したときの安全性、忍容性、及び分布を検討するためにデザインされた非盲検単回投与試験であった。本試験のデータは、本試験集団（健康被験者）及び試験のデザイン及び目的を考慮し、101 試験及び 102 試験のデータとは統合されていない。

233HV101 試験の最終（試験中止）データは 233HV101 試験の CSR に示す。

1.3.1.4 233AS303 試験

233AS303 試験は、疾患活性のバイオマーカーのエビデンス（血漿中 NfL 濃度上昇）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、非盲検継続試験（パート C）の適格性を判断する。パート B 及びパート 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（パート D）の適格性を判断する。

303 試験の主要解析は、早ければ 2026 年に実施され、2027 年に結論が示される予定である。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。

1.3.1.5 Expanded Access Program

2021 年 7 月に、急速進行性の SOD1-ALS 患者向けに、臨床試験又は販売承認の範囲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。すべての SOD1-ALS 患者を含めるために、2021 年 10 月に適格性基準を拡大した。

2022 年 7 月 15 日時点で、約 152 例の患者にトフェルセン 100 mg 用量が提供されている。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。

1.3.1.6 トフェルセンの有効性を裏付ける試験

101 試験及び 102 試験の第 III 相（パート C）の被験者から得たデータは、トフェルセンの有効性を裏付ける主要な根拠となる。これらのデータは、101 試験及び 102 試験全体でのパート A 及び B の被験者への長期投与によってさらに裏付けられる。本承認申請のためのデータカット（2022 年 1 月 16 日）時点で入手したこれらの試験の有効性のデータを本項に記載している。この有効性データには、101 試験パート A 及び B の最終データ（233AS101 試験パート A 及び B の CSR）、101 試験パート C の最終データ（233AS101 試験パート C の CSR）、及び 2 回実施された 102 試験の中間データカット時点（2021 年 7 月 16 日及び 2022 年 1 月 16 日）の中間データがある。

以下の試験のデータは本概要には含まれていない。

- 233HV101 試験、有効性を評価しなかったため。
- 233AS303 試験、本承認申請のデータカット時点で有効性のデータが利用可能ではなかったため。
- 101 試験パート A、トフェルセン 100 mg を評価しなかったため。ただし、102 試験のデータと統合したときの長期データを除く。

1.3.2 101 試験及び 102 試験のデータの統合

101 試験及び 102 試験の第 III 相試験（パート C）の被験者から得たデータを統合し、トフェルセンの早期開始（101 試験パート C でトフェルセンの投与を開始した被験者）と投与開始遅延（101 試験パート C でプラセボを投与され、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）とを比較評価できるようにした。101 試験パート C の試験期間が比較的短かったため、プラセボ群での臨床的な低下を観察する時間及びトフェルセンの生物学的効果による臨床機能低下の緩徐化が認められる時間が限られていたことを考慮すると、データの統合は重要であった。

トフェルセンの長期的な効果を理解するために、101 試験及び 102 試験の第 I/II 相パート A 及び B の被験者のデータも統合した。ただし、これらのデータを解釈する際には以下の限界を考慮すべきである。

- 被験者には、101 試験における治験薬の最終投与から 102 試験における初回投与までに 16 週間から 2 年超の長期のウォッシュアウト期間を設けた。
- 101 試験で増量は安全と判断されたことを受けて 102 試験では投与量を漸増したため、被験者全体で用法及び用量がかなり異なっていた。
- 多くの被験者でウォッシュアウト期間中及び低用量コホートでは意味のある疾患進行が認められたため、試験全体で試験中止の割合が高くなった。

当初、これらの有効性の統合解析は、2021 年 7 月 16 日及び 2022 年 1 月 16 日の 2 回のデータカット時点に基づいて実施された。

欧州医薬品庁への承認申請時の審査中に Committee for Medicinal Products for Human Use（CHMP）から、102 試験のデータの追加のデータカット（最新のデータカット：2023 年 2 月 28 日）の要請があった。

したがって、トフェルセンの有効性のさらなる情報を提供するため、102 試験の最新のデータカット（2023 年 2 月 28 日）に基づき、設定した有効性の評価項目について 101 試験及び 102 試験の統合解析を行い、その結果を本書に示す。このデータカットでは、前回のデータカットから約 13 ヵ月の追跡が行われた。101 試験パート C に登録されたすべての被験者は、無作為化から 2 年以上の追跡を受ける機会があった。101 試験パート A 及び B に参加し、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は 3 年以上の追跡の機会があった。

1.4 試験対象集団

トフェルセンの臨床開発プログラムには、変異型、病期、及び疾患進行の速度が広範囲にわたる SOD1-ALS 患者集団を組み入れたため、試験結果の一般化が可能であった。トフェルセンの試験では、ALS 患者 176 例がアジア太平洋、欧州、及び北米の実施医療機関で組み入れられた。このうち ALS 患者 166 例（SOD1-ALS 患者 162 例）が少なくとも 1 回トフェルセンを投与され、トフェルセン投与開始時の年齢は 21～78 歳であった。これらの試験の人口統計学的及びベースラインの特性は、101 試験パート C は 2.2.1 項に、102 試験については 2.3.1 項に示す。

治験責任医師により確認された ALS による筋力低下は、101 試験に組み入れるための重要な適格性基準であった。投与開始の遅延を最小限に抑えるため、正式な診断基準の文書化は必要としなかった。ただし、改訂 El Escorial 基準などの正式な診断基準では、ALS の原因となる変異のキャリアの診断［Brooks 2000］を裏付けているのに一肢領域の UMN 又は LMN の徴候を考慮した。

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すると、SOD1 変異が認められない ALS 患者はトフェルセンからベネフィットを得ることは期待できないと考えられたため、101 試験パート A の初期のコホートの後では、本臨床開発プログラムの対象外とした。101 試験パート A 及び B では（治験実施計画書第 [redacted] 版の改訂以降）、適格性について SOD1 変異の記録が必要であった。101 試験パート C では、全被験者が中央検査機関による遺伝子検査を受け、ACMG ガイドライン［Richards 2015］に従って中央検査機関（[redacted] 社）により「Pathogenic」又は「Likely Pathogenic」に単独で分類される SOD1 変異を有している必要があった。治験依頼者とは別に、変異（重要性が不明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（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）に従って [redacted] 社が再分類することが可能であった。

リルゾール及び／又はエダラボンの併用投与は、それぞれ Day 1 前 30 日以上又は 60 日以上にわたって用量が安定しており、試験終了時までその用量を継続すると予想される場合に認められた。無作為化はベースライン時にエダラボンの使用の有無及びリルゾールの使用の有無に基づいて各疾患進行性の部分集団内で層別し、投与群間で均衡化した。

前回のデータカット（2022 年 1 月）時と同様に、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（Integrated Summary of Effectiveness［ISE］統計解析計画書［SAP］第 [redacted] 版［20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日］）。ITT 集団（108 例）を対象とし、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結果を示す。また、

事前に規定した NfL に基づく部分集団（NfL に基づく急速進行性の部分集団［FPS（ベースライン時の血漿中 NfL 濃度が中央値 75.6 pg/mL 以上の被験者；NfL に基づく緩徐進行性の部分集団［SPS］（ベースライン時の血漿中 NfL 濃度が中央値 75.6 pg/mL 未満の被験者）を対象にイベント発現までの期間の解析も実施した。

追跡期間の最初の 6 ヵ月間のみがプラセボ対照期間（101 試験パート C）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の投与の機会（102 試験）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 での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、追跡期間が長くなるにしたがって早期開始群と投与開始遅延群の差がある程度小さくなると仮定した。そのため、主な解析は、この種の比較の限界を考慮し、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ために実施した。また、投与群間の差がある程度小さくなる可能性を考慮して、Week 100/Week 104 に加えて Week 76 においても臨床機能、筋力、及び QoL の解析を実施し、トフェルセンの早期開始群と投与開始遅延群の有効性を比較した。

1.4.1 101 試験パート B におけるエンリッチメント

急速進行性の被験者は、101 試験パート B の解析のために事後に定義された。SAP に規定した急速進行性の SOD1 変異の 1 つを有し、かつ無作為化前の ALSFRS-R の低下の傾きが 0.2 ポイント／月以上の被験者を「急速進行性」と分類した。急速進行性の被験者の基準を満たさなかった他の被験者はすべて「その他」と分類した。この基準の詳細は 233AS101 試験パート A 及び B の CSR の Section 9.7 に示す。

1.4.2 101 試験パート C におけるエンリッチメント

SOD1-ALS における疾患の不均一性及び 101 試験パート C の比較的短い試験期間を考慮し、治験実施計画書では mITT 集団の予後エンリッチメント基準を規定した（Table 2）。試験のデザインを行った時点では、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、本試験期間に比較的急速な疾患進行となる可能性の高い被験者を特定することを目的とした。エンリッチメント基準に該当する 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）とした。non-mITT 集団は、試験期間中の悪化が緩徐であると想定され、群間差が認められる機会が少ないと考えられた。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。

Table 2: 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 スコアにおける進行の非線形及び変異型内のばらつきは、これらの基準の予後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、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 変異キャリアでは、約 0.1 年から 4 年の疾患経過のある段階で一様に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被験者によって異なる。
- 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。この試験では、無作為化前の低下の傾きが 0.9 ポイント／月以上の被験者は、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、安定期の前又は後に急速な低下期を伴うため［Proudfoot 2016; Ramamoorthy 2021; Ramamoorthy 2022］、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無作為化前の ALSFRS-R の傾きの有用性、並びに経時的な予後因子としての有用性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情報［Abu-Rumeileh 2020; Benatar 2020; De Schaepdryver 2020; Gaiani 2017; Gille 2019; Illán-Gala 2018; Lu 2015; Poesen 2017; Steinacker 2016; Steinacker 2017; Thompson 2022; Thouvenot 2020; Verde 2019］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 の一部として、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度により定義されるもう一つの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 濃度が中央値以上の被験者は「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 濃度を連続共変量として調整すれば、ベースライン時の NfL 濃度の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。

文献［Thompson 2022］と同様に、101 試験パート C では、ニューロフィラメントはプラセボ群において無作為化前及び Run-in 期間の ALSFRS-R の傾きよりも ALSFRS-R の長期的な減少と強い相関を示した（233AS101 試験パート C の CSR、Figure 4、Figure 5、及び Figure 6）。さらに、トフェルセン群はプラセボ群に比べてベースライン時の血漿中 NfL 濃度が約 15%～25%高く、トフェルセン群の被験者の方がベースライン時の進行度が急速であったことが示唆された。

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 ■ 版、20■ 年 ■ 月 ■ 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（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（1.6.5.2 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盲検解除された申請チームによって改訂された。

101 試験パート C の個々の治験薬投与の割付けはデータの完全性を確保するために、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対して盲検性を維持した（1.6.3 項）。

1.5 主な有効性評価項目の根拠

101 試験及び 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。評価項目は、臨床機能（ALSFRS-R）、呼吸機能（SVC）、筋力（HHD）、無イベント生存期間（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］、及び Patient Global Impression of Status［PGI-S］）であった。

1.5.1 ALSFRS-R

101 試験パート C の有効性の主要評価項目として、ベースライン時からの ALSFRS-R の合計スコアの変化を評価した。ALSFRS-R は 12 項目で構成され、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尺度である［Cedarbaum 1999］。各項目は 0～4 の尺度で評価され、ALSFRS-R の合計スコアは 0（障害の程度が最も大きい）から 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［Gordon 2010; Gordon 2013; Kaufmann 2005; Lou 2010］。本評価項目の臨床上重要な最小限の差異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、序列性にある。他の順序尺度と同様に、ALSFRS-R スコアの変化

は通常、非線形の S 字形曲線に従い、1 ポイント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］。

ALSFRS-R は、実臨床における使用に加え、ALS の臨床試験でも主要評価項目として、日常活動における機能の評価に一般的に使用されている［Mitsumoto 2014］。米国 FDA［FDA 2019］及び欧州医薬品庁［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。

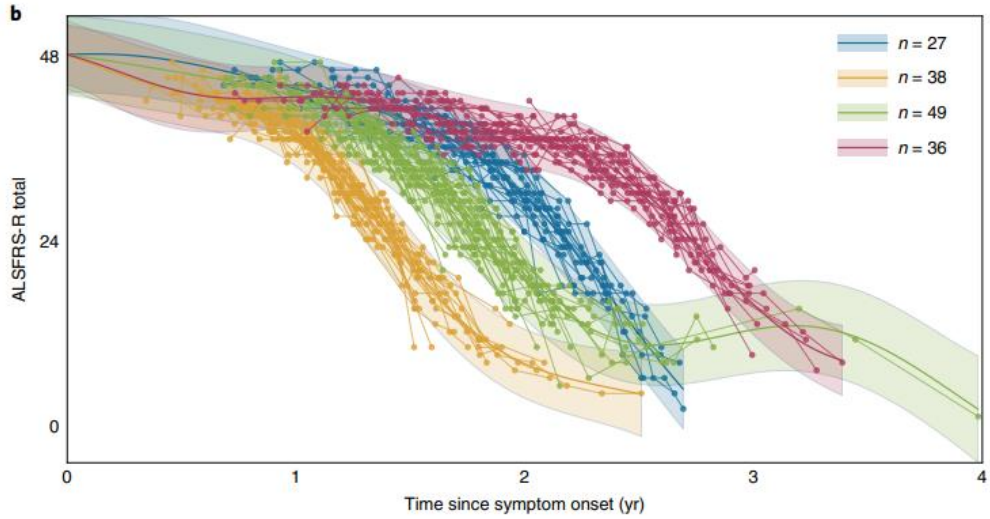
この評価法の長所は、使用が容易であり、生存期間との相関である。しかし、同時に限界もあり、症例数が比較的少なく期間も短い試験においては治療効果の評価を不明瞭にする可能性がある［Bakers 2021; Bedlack 2016; Fournier 2020; Franchignoni 2013; Proudfoot 2016; van Eijk 2021］。重要なのは、被験者内のばらつきが大きく、多くの患者で低下が非線形であるという点である（Figure 3）［Proudfoot 2016; Ramamoorthy 2022］。この評価尺度の主観性により、臨床試験で被験者を適格とするための低いベースラインスコアや潜在的なプラセボ効果への動機づけに影響を受けやすくなっている。

また、評価方法を国際的に標準化する必要があるが、ALSFRS-R は 1991 年に最初に開発され、呼吸機能の評価を取り入れる目的で 1999 年に Cedarbaum らが ALSFRS の改訂版（ALSFRS-R）を公表した。数年にわたり研究者グループは ALSFRS-R の改良を続けたが、その改良版は公表されなかった。Barrow Neurological Institute によって作成された ALSFRS-R の改良版（Global ALSFRS-R）が 101 試験及び 102 試験で日本人被験者を除いた全被験者に対して使用された。この改良版は Northeast Amyotrophic Lateral Sclerosis Consortium と共同で実施された試験全体で使用されており、最初に公表された ALSFRS の質問 4（書字）及び質問 11（起座呼吸）を更新して回答を明確にし、これらの項目のスコアの付け方に関するガイダンスを提供している（233AS101 試験の CSR、Section 9.6.2、Table 5）。101 試験及び 102 試験の日本人の全被験者には ALSFRS-R の初版［Cedarbaum 1999］の日本語翻訳版（ALSFRS-R 日本語版）が使用された。日本人被験者では、追加された 2 つの質問項目（質問 5a 及び質問 11）にも回答した。追加された ALSFRS-R の質問項目は日本に適応するように変更されたものであった（ALSFRS-R の大橋版）［Ohashi 2001］（Table 3）。

Table 3: Modified Questions of ALSFRS-R in Japan

	初版（Cedarbaum）	大橋版
5.a. 摂食動作 食事用具の使い方（胃瘻設置なし）	4 – 正常 3 - 幾分遅く、ぎこちないが、他人の助けを必要としない 2 – 患者自身が多くの食べ物を切ることができるが、遅く、雑。手助けが必要 1 - 誰かに食べ物を切ってもらう必要はあるが、時間をかけて自分で食べられる。 0 – 誰かに食べさせてもらわなくてはいけない	4 – 正常 3 - 幾分遅く、ぎこちないが、他人の助けを必要としない 2 – フォークは使えるが、箸は使えない 1 - 食物は誰かに切ってもらわなくてはならないが、何とかフォークまたはスプーンで食べることができる 0 – 誰かに食べさせてもらわなくてはいけない
11.起座呼吸	4 – なし 3 – 寝る時に息が切れることはあるが、2 つ以上の枕を必要としない 2 – 寝るため枕を 3 つ以上使う必要がある 1 – 座位でないと眠れない 0 – 全くねむることができない	4 – なし 3 – 息切れのため夜間の睡眠がややや困難 2 – 眠るのに支えとする枕が必要 1 – 座位でないと眠れない 0 – 全く眠ることができない

Figure 3: Nonlinear Clusters From PRO-ACT Database (Repository of Merged ALS Clinical Trials Data)



A subset of nonlinear clusters from PRO-ACT visualized; *n* indicates the number of ALS patients per cluster. The clusters were identified based on a mixture of Gaussian processes to identify patients sharing similar disease progression patterns. The shaded area indicates the 0.95 confidence interval. From [Ramamoorthy 2022].

1.5.2 SVC

呼吸不全は ALS による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である。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を直接測定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］。呼気速度により、肺活量が努力肺活量（FVC）又は SVC のどちらで測定するかを決定する。相関性は高いものの、呼吸障害、痙縮、及び／又は著しい球機能障害を伴う患者では変動がより少ないと考えられる［Andrews 2018; Pinto and de Carvalho 2017a; Sanjak 2010］ことから、FVC ではなく、SVC が選択された。

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、SVC 又は FVC の%予測値が 1%減少すると死亡の確率が 1.02 倍になることが報告されている［Pinto and de Carvalho 2017a］。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期間を評価した結果、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%低下すると結論された（$p < 0.001$）［Andrews 2018］。

本試験において適格性評価及び有効性解析のための SVC データの品質を保証するため、米国胸部学会及び欧州呼吸器学会が定めた基準に従って SVC の測定の受容性及び再現性を評価した。

COVID-19 パンデミックの期間に SVC データの収集を継続するために、本試験の在宅医療サービス業者を通じて自宅で評価する機会を設けるなどの試みがなされたが、このような努力にもかかわらず、SVC は COVID-19 パンデミックによる影響を最も大きく受けた有効性の評価項目であった（データの欠測）。

1.5.3 HHD メガスコア

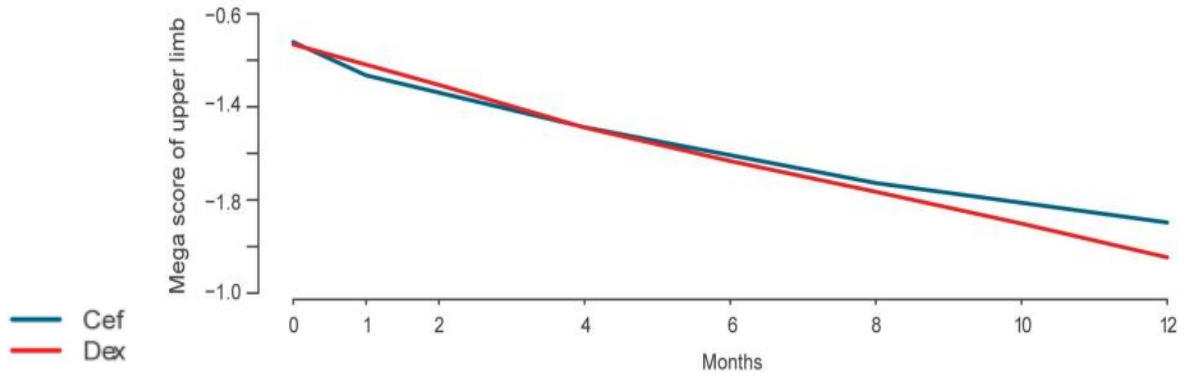
ALS 患者は時間の経過と共に徐々に衰え、筋力の喪失は機能低下と直接関係することから、筋力の喪失は ALS の特徴である。ALS の筋力低下は絶えず進行する。筋力の増大は本疾患の自然歴とは一致しない（Figure 4、Figure 5）［Cudkowicz 2013; Shefner 2016; Thakore 2021］。

101 試験パート C では、HHD を用いた定量的に測定する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、及び足首の背屈）の Z スコアの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。

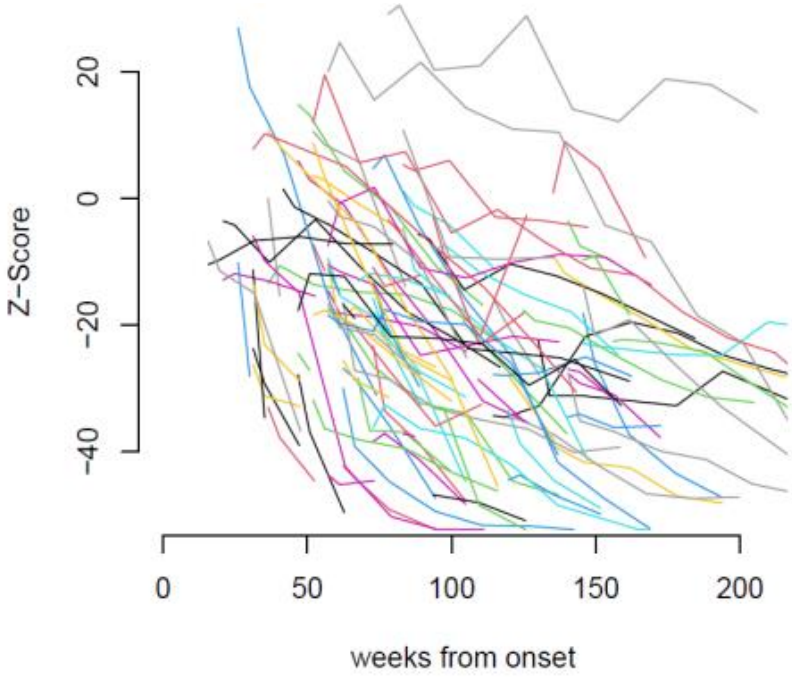
筋力喪失は、SOD1-ALS における運動ニューロン喪失の直接的な結果だが、ある筋肉又は筋群を支配する運動ニューロンの約 50%～80%が変性するまで、臨床的に明らかな筋力喪失は認められないと推定されている［McComas 1971］。生存している運動ニューロンが軸索突起を伸ばし、本来神経支配していた運動ニューロンとの接続を失った近傍の筋線維を機能的に再支配するため、初期の段階では筋力は保持される［Bruneteau 2015; Fischer 2004］。このように、生存している運動ニューロンが筋線維に再接続する能力を運動ニューロンの喪失が上回ったときにのみ筋力低下が顕現する。比較的重症度の低いポリオなど、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。

Figure 4: HHD Megascore in Dexpramipexole (Dex) and Ceftriaxone (Cef) Trials



From [Halstead 1998]

Figure 5: Spaghetti Plots of HHD Z-Megascore (Total of 18 Muscle Groups, Arms and Legs) Trajectories for 100 Patients



From [Thakore 2021]

1.5.4 生存期間

SOD1-ALS が進行性で致死的であることを踏まえ、死亡又は永続的換気までの期間及び死亡までの期間を 101 試験パート C の主な副次評価項目として評価した。永続的換気は、1 日 22 時間以上で 21 日以上連続した機械的換気（侵襲的又は非侵襲的）と定義した。21 日以上連続した永続的換気の閾値は、永続的換気と一時的に換気補助を要する可能性のある可逆性の急性疾患（肺炎など）とを区別するために、これまでの試験で使用した期間（7～10 日間以上）［Benatar 2018; Cudkowicz 2013］よりも延長した。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する必要がある。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経過とを比較した。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時点（2022 年 1 月 16 日）の生存状態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試験チームによってレトロスペクティブに収集し、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、及び入院など）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、正式に収集された換気データが 102 試験から部分的に収集されたデータに追加されたため、判定を行わなかった。

以前に実施した 101 試験パート C 及び 102 試験からなる早期開始群及び投与開始遅延群を比較した生存解析に加えて、1.4 項に示したように追跡期間が長くなるにしたがって投与群間差がある程度小さくなる可能性を考慮し、生存の評価項目（死亡、死亡又は永続的換気、若しくは死亡、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ついて Rank Preserving Structural Failure Time Model（RPSFTM）解析を実施した。RPSFTM は、生存を評価指標とする試験で治療の切り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生存期間を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。

1.5.5 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本疾患の特徴に対するトフェルセンの効果を評価した。以下に、QoL の評価尺度の詳細に示す。

- ALSAQ-5 は、ALS 患者又は他の運動ニューロン疾患（MND）患者での使用を目的とした、被験者からの報告による疾患特異的な健康状態に関する質問票である。ALSAQ-5 では、5 つの質問を使って身体的可動性、日常生活活動及び自立性、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］。各質問に対する回答の範囲は 0（「なし」）～4（「いつも」又は「まったくできない」）であり、スコアが低いほど健康状態は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ついて、summary utility index 値を算出した。EQ-5D-5L は開発中であるため、「crosswalk」法（EuroQol Group）を用いて EQ-5D-5L を EuroQol 5 Dimension, 3 Level Questionnaire（EQ-5D-3L） UK に換算した。EuroQol 5 Dimension（EQ-5D）の視覚的アナログスケール（VAS）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が十分でない症状の 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。

1.5.6 Responder Analysis

2023 年 2 月のデータカットの解析では、以前に実施した 101 試験パート C 及び 102 試験でのベースラインからの変化量の解析に加え、1.4 項に記載したように投与群間の差がある程度小さくなる可能性を認識し、トフェルセンの投与開始以降、臨床機能及び筋力（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（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）及び 100 mg 長期投与集団の被験者（31 例）を対象に解析を実施した。

筋力及び機能が進行的に喪失する疾患において、2 年間での安定化及び改善を示す結果は、予想した SOD1-ALS の自然歴と一致しなかった。

1.5.7 Exit Interview

ALS 患者は ALSFRS-R の一部が患者の機能的能力を正確に反映していないと懸念を示している［Boyce 2021］。臨床評価項目から収集されたデータを補足するため、101 試験パート C を完了した被験者を対象に任意参加のサブスタディである「exit interview」を実施した。被験者及び介護者（治験薬の割付け内容は引き続き知らせていなかった）に対し、ALS が被験者及び介護者の生活にどのように影響を及ぼしているか、本試験に参加以降の状況の変化、割り付けられた投与群（自分がトフェルセン又はプラセボのどちらに割り付けされたと考えているか）及びその理由について話すよう依頼した。面談内容は録音され、定性解析のために音声記録を文書化した。詳細は 7 項の付録に一覧として示す。7 項の付録は、定性的 exit interview プロジェクトの報告書、定性的面談プロジェクトの手順、exit interview の文字起こし記録、定性解析計画書、定性解析のコードブック、案内の手紙及び面談ガイドで構成される。

1.6 統計学的考察

101 試験及び 102 試験でトフェルセンの有効性を解析するために使用した統計解析手法を以下に要約し、詳細は各試験の SAP に示す。101 試験及び 102 試験のデータの統合解析に使用した方法は、別の SAP（ISE SAP、第 [redacted] 版、ISE SAP、第 [redacted] 版、及び ISE SAP 第 [redacted] 版）に記載し、概要を 1.6.5 項に示す。

1.6.1 症例数の検討

101 試験パート A の症例数は、統計学的考察ではなく臨床的考察に基づいた。101 試験パート A では 20～36 例の被験者の組入れを計画したことによって、用量制限毒性（DLT）に基づいた症例数の調整が可能となった。このデザインにより、安全性を適切に評価し、DLT が生じた場合でも治療用量以下の単回投与での被験者への曝露を最小限に抑えることができた。

CSF 中 SOD1 タンパク質濃度の 25%減少は、SOD1 アッセイのばらつき及びヒトで測定された CSF 中 SOD1 の長期での生物学的変動性のいずれをも超えると推定された。101 試験パート B では、各コホート 12 例（実薬 9 例、プラセボ 3 例）で構成される 4 つのコホート全体の症例数を 48 例とすることで、SOD1 タンパク質がトフェルセン群で意味のある減少（25%）を示し、プラセボ群では減少しない場合（コホートを統合）に有意水準 10%で 90%を超える検出力を与える。この症例数では SOD1 タンパク質がトフェルセン群では 12%低下、プラセボ群では低下しない場合に有意水準 10%で検出力は 80%と推定された。併合標準偏差（SD）を 10.5%（自然対数で 0.11）と仮定した。

101 試験パート B で最終追跡来院を完了する前に本試験を中止した被験者は、治験依頼者の判断で交代させることができた。101 試験パート B では交代させる被験者数を 8 例まで認めた（各コホート 2 例）。追加の被験者は、交代させた脱落被験者と同じ治験薬の投与に割り付けることとした。

101 試験パート C の症例数は主に、mITT 集団を対象に Week 28 での ALSFRS-R 合計スコアのベースラインからの変化量と死亡を併せて、joint rank test（JRT）に基づいて選択した。仮定する治療効果及びばらつきは、101 試験パート B の急速進行性の被験者群を対象とした中間解析から得られたデータ及びこれまでのデータセットから得られた同様の急速進行性の SOD1-ALS 集団においてプラセボを投与された被験者で認められた ALSFRS-R スコアの減少［Benatar 2018］に基づいた。両データセットの被験者は、101 試験の治験実施計画書第 [redacted] 版、Table 2 に規定された急速な疾患進行に関する予後エンリッチメント基準と一致させた。予想される ALSFRS-R スコアの減少を決定するための上記の 2 つのデータセット及び SOD1 A5V 変異を有する患者に関する文献から得られた急速進行性の患者の全生存期間の限られたデータに基づき、症例数の算出は、28 週間にプラセボ群では 24.7 ポイントの減少、トフェルセン群では 4.8 ポイントの減少、併合 SD は 3.166／月、予測生存率はプラセボ群で 82%、トフェルセン 100 mg 群で 90%と仮定した。全生存期間の仮定は、SOD1 A5V 変異を有する患者に関する文献から得た急速進行性の患者の全生存期間のデータに基づいた。mITT 集団の被験者を 60 例、両側での有意水準を 0.05 とすると、JRT では検出力が 84%となる。死亡をイベントとして解析対象としていることから、欠測値に備えて症例数を増やす予定はなかった。mITT 集団以外の被験者集団の場合、mITT 集団に比べて臨床機能の低下が緩やかと考えられるため、PD 評価項目である CSF 中総 SOD1 タンパク質濃度に主に焦点を当てた。SD を 0.216（自然対数尺度）と仮定し、mITT 集団以外の被験者集団についてトフェルセン投与群の症例数を 26 例、プラセボ群の症例数を 13 例とすると、プラセボ群と比較してトフェルセン投与群における CSF 中総 SOD1 タンパク質のベースラインからの 25%低下を検出する検出力は 97%となる。CSF 中 SOD1 タンパク質濃度の 25%低下は、SOD1 アッセイのばらつき及びヒトで測定された CSF 中 SOD1 の長期での生物学的変動性のいずれも超えると推定された。このため、パート C では約 99 例の被験者を 2：1 の比でトフェルセン群又はプラセボ群に無作為

化することが計画された。COVID-19 に対する緩和計画によって投与及び評価の欠落のリスクが低減され、症例数を増やす必要性は回避された。

102 試験の症例数は、統計学的考察に基づくものではなく、101 試験パート A、B、及び C 全体で計画された被験者数を考慮した。

1.6.2 対照群の選択

101 試験では比較のためにプラセボ対照群を設定した。同時対照群の設定により、治療の相対的な有効性を客観的に評価することも可能となる。101 試験パート C では対照群の被験者にプラセボを約 6 ヵ月間髄腔内（IT）投与し、試験の盲検性を維持した。盲検下での負荷投与期間後の継続投与ではプラセボ対照群を設定しなかった（102 試験）。ただし、101 試験パート C 及び 102 試験のデータを統合することによって、投与開始遅延の解析（トフェルセン投与の早期開始と投与開始遅延との比較）及び各変異による罹患期間と既知の自然経過（適切に説明されている場合）との比較が可能となった。

1.6.3 盲検化及びデータの完全性を確保するその他の方法

1.6.3.1 盲検化

101 試験では、Biogen、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。101 試験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、この期間中に、101 試験でトフェルセンが投与された被験者は Day 15 にプラセボを投与され、プラセボを投与された被験者はトフェルセンが投与された。

101 試験パート A 及び B について 2 つの中間解析を非盲検下で実施した。実施医療機関と定期的な連絡及び症例報告書のクエリの解決を行う試験チームのメンバーは、本試験期間を通して盲検下に置かれた。これによってバイアスや試験結果に影響が及ぶ可能性を抑制した。統計解析に用いる PK 及び PD の試料は、中間解析のデータベースロック後に受領した。SAD 及び MAD コホートについては、独立したデータモニタリング委員会を設置しなかった。これは、盲検下での用量漸増のレビューによってすべての安全性のレビューが行われたためである。データのその他のレビューはすべて、本試験期間を通して盲検下で行われ、本試験の質及び実施について評価した。

101 試験パート C 及び 102 試験の安全性の非盲検データは、独立データモニタリング委員会（IDMC）が 3 ヵ月ごとにレビューした。独立した生物統計担当者及び統計プログラム担当者は、盲検解除した出力を作成し、これらを情報が守秘方法で IDMC に送付した。

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 中の白血球数の増加が認められているが、この増加はトフェルセン投与で多く認められ、その程度も大きいことが確認されている。十分な注意の下に、盲検下の試験チームのメンバーには、臨床データベースの被験者の CSF の臨床検査データへのアクセスを制限した。講じた措置の詳細は盲検解除計画書（233AS101 試験パート C の CSR、Appendix 16.1.9、Unblinding Plan Version 3）に記載する。指名された ALSFRS-R

の評価者は本試験の ALSFRS-R 以外の評価のいずれにも関与せず、試験のその他のすべての評価の結果に対し盲検性を維持した。この方法は 101 試験パート C 及び 102 試験のいずれも実施され、実施中の 102 試験でも継続された。

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治験薬投与の割付けの盲検を解除した。その一方で、独立した盲検下で試験チームが実施中の 102 試験の管理業務を継続した。102 試験を管理する試験チームには引き続き治験薬の割付けの内容を知らせず、開発業務受託機関、被験者、介護者、治験責任医師、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 16 日のデータカットに基づく 1 回目の中間データロック以降は、盲検を解除された申請チームは、本試験の管理及び進行中の 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ったては、盲検を解除された申請チームは、2 回目の中間データロックまで、2021 年 7 月 16 日のデータカットから 2022 年 1 月 16 日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 回目の中間データベースロック後に、2022 年 1 月 16 日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。上記の措置はすべて継続して維持されている。101 試験パート C 又は 102 試験を中止した被験者の試験中止後の生存状態に関するデータは、盲検が維持された試験チームが盲検下でレトロスペクティブに収集した（102 試験の CSR、2 回目の中間解析、Appendix 16.1.9、Unblinding Plan Version 2 及び 233AS102 試験、Unblinding Plan Version 3）。

投与群割付けに対する盲検を解除された申請チームが対応する統合解析（ISE SAP 第 ■ 版）及び追加の申請資料作成を行った。試験チームは、申請チームとは独立して盲検下で 102 試験の継続中の試験の管理業務を行った。102 試験を管理する試験チームは、すべての開発業務受託機関、被験者、介護者、及び治験実施医療機関の担当者と同様に、投与群割付けの盲検が維持されている。盲検を解除された申請チームは、実施中の 102 試験のデータカット（2022 年 1 月）に基づいた中間解析のデータベースロック後の 102 試験の試験管理及びデータ収集には関与しなかった。新たな統合解析を実施するにあたり、盲検解除された申請チームは前回（2022 年 1 月）のデータカット以降、最新の中間解析のデータベースロックまで新たに収集されたデータにアクセスすることはできず、データベースロック時点で新たなデータカット（2023 年 2 月 28 日）までのすべてのデータへのアクセスが可能になった。

1.6.3.2 データの完全性

データの完全性を確保するため、試験全体で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ついて標準化されたトレーニングを治験担当者の医療機関で受けた。

主要評価項目の完全性を守るため、実施医療機関は ALSFRS-R 評価のためにトレーニングを受けた適格な実施医療機関の担当者及び予備の担当者（主たる評価者が不在の場合）を指名することとした。101 試験パート C 及び 102 試験の負荷投与期間を通じて、各評価及び評価全体でバイアスが生じる可能性を抑制するため、ALSFRS-R 評価者には試験の ALSFRS-R 以外の評価のいずれかに関与することも、他の評価の結果にアクセスすることも許可しなかった。

101 試験パート A 及び B では、組み入れを終了したコホートについて非盲検下で 2 回の中間解

析を行った。101 試験パート C から得られたデータについて有効性の中間解析は行わなかった。同様に、パート C から移行した 102 試験の被験者から得られたデータについても、本承認申請の目的で 2021 年 7 月 16 日に最初の中間解析を行う前に有効性の中間解析は行わなかった。PK 試料の 70%以上が利用可能で、PK／用量 - 反応モデル及び補正した QT 間隔（QTc）モデルの構築が早期に開始できる場合は、PK データのソフトロックを行った。詳細は 101 試験パート C の盲検解除計画書（233AS101 試験パート C の CSR、Appendix 16.1.9、Unblinding Plan Version 3）に示す。統合解析の SAP は、初回の結果開示及び 102 試験の中間データカット以降に更新された。2021 年 7 月 16 日から 2022 年 1 月 16 日までに収集された試験のデータにアクセスできない盲検解除された申請チームが SAP の改訂を担当した。SAP の改訂は 2022 年 1 月 16 日のデータカットに基づく中間データロックの前に完了した。盲検を解除された申請チームは、2 回目の中間データロック後に解析のためのデータを受け取った。2022 年 1 月 16 日以降の実施中の試験のデータは、盲検維持された試験チームが引き続き管理し、盲検解除された申請チームはこれらのデータにはアクセスできない。

2023 年 2 月 28 日のデータカットに基づいた中間解析のデータベースロックについても、上記と同様の措置を講じた。

1.6.4 各試験の統計解析

1.6.4.1 101 試験パート A 及び B

101 試験パート A 及びパート B は個別に解析した。

101 試験パート A では、臨床機能及び PD のすべての評価項目について記述統計量を示した。欠測データの補完及び評価項目の統計学的な検定は行わなかった。要約ために、パート A のコホート 1 から 4 全体のプラセボ群の被験者を併合した。要約はすべて主に投与群別に示した。

解析のために 101 試験パート B 全体のプラセボ群の被験者を併合した。すべての解析結果は主として投与群ごとに示した。101 試験パート B では、PD 評価項目（ベースラインに対する SOD1 の CSF 中濃度及び血漿中濃度の比）、探索的バイオマーカー（CSF 中及び血漿中 pNfH 濃度及び NfL 濃度）、並びに運動単位数指数（MUNIX）、ALSFRS-R 合計スコア及び機能領域のスコア、SVC（%予測値）、ALSAQ-5 合計スコア、FSS（平均スコア及び合計スコア）、EQ-5D-3L の utility index 及び VAS スコアを含めた大部分の臨床機能の評価項目の欠測データを考慮し、反復測定値の混合効果モデル（MMRM）を主な補完方法として適用した。HHD メガスコアの解析では、スパースデータでこれらのデータを収集した測定時点も少なかったため、last observation carried forward（LOCF）を使用して欠測データを補完した。LOCF は、HHD メガスコア以外の評価項目でも欠測データ補完の補足的な方法であった。Wilcoxon の順位和検定は補完されたデータに基づいた主要な推定方法として使用し、Day 85（又は Day 85 に収集が予定されていなかった評価項目については Day 92）の評価項目を検定した。MMRM からも形式的に p 値を算出した。

MMRM では、投与群、評価時点、投与群と評価時点との交互作用、ベースライン時のスコア、及びベースラインスコアと評価時点の交互作用を含め、疾患進行性の型（急速進行性対その他）で調整した。Day 85（及び ALSFRS-R については Day 92）までの評価時点のみを本モデルに含め

た。無構造共分散行列を被験者内変動のモデル化に用いた。MMRM の詳細は、SAP [redacted]版（233AS101 試験パート A 及び B の CSR、Appendix 16.1.9、233AS101 試験パート A 及び B の SAP 第[redacted]版）に示す。

パート B では、疾患進行性の型（「急速進行性の被験者」、「その他」）の別に部分集団解析を行った。SVC については、米国胸部学会のガイドラインに従って、受容性にかかわらず来院時の最大限努力値を解析した。

パート A 及び B の全被験者から得られたデータについて、非盲検下で 2 回の中間解析が実施された。これらの中間解析は、事前に個別の SAP で規定された（コホート 1～7 については 233AS101 試験パート A 及び B の CSR、Appendix 16.1.9、中間解析の SAP 第[redacted]版［[redacted]版の更新版］を参照、コホート 5～8 については 233AS101 試験パート A 及び B の CSR、Appendix 16.1.9、中間解析の SAP 第[redacted]版を参照）。CSF 中総 SOD1 タンパク質を除き、統計学的有意性について検定したその他の評価項目は、すべて本試験の探索的評価項目であった。要約統計量を示し、正式の統計学的検定は行われなかったため、複数の評価項目や用量間の比較についての多重性は調整せずに、p 値を形式的に示した。

詳細は、233AS101 試験パート A 及び B の CSR 最終版の Appendix 16.1.9、233AS101 試験パート A 及び B の SAP 第[redacted]版に示す。

1.6.4.2 101 試験パート C

101 試験パート C の有効性の主要評価項目は、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 までの変化量であった。有効性の主要解析では、多重補完（MI）法を使用した JRT により死亡以外の理由による試験中止例を取り扱った。mITT 集団の MI モデルには、投与群、リルゾール又はエダラボンの使用の有無、ベースライン時のスコア、及びベースライン後のスコアを含めた。順位付けされたスコアは、投与群を固定効果とし、共変量（ベースライン時の症状発現からの罹患期間、ベースライン時の ALSFRS-R 合計スコア、及びリルゾール又はエダラボンの使用の有無）で調整した ANCOVA モデルを使用して解析した。JRT の詳細を 1.6.6 項に示す。ALSFRS-R のベースラインから Week 28 までの変化量について、MI を併用した ANCOVA により最小二乗推定量及び投与間差を求め、MI を併用した JRT 及び MI を併用した ANCOVA の両方の p 値を示した。投与群の比較では有意水準 0.05 の両側検定とした。ALSFRS-R 合計スコアのベースラインからの変化量の ANCOVA モデルでは、固定効果として投与群を含め、共変量（ベースライン時の症状発現からの罹患期間、ベースライン時のスコア、及びリルゾール又はエダラボンの使用の有無）で調整した。

101 試験パート C の副次評価項目の解析では、以下の副次評価項目の順位に従った逐次検定手順を用いた：CSF 中総 SOD1 タンパク質のベースラインから Week 28 までの変化量、血漿中 NfL のベースラインから Week 28 までの変化量、SVC（%予測値）のベースラインから Week 28 までの変化量、HHD メガスコアのベースラインから Week 28 までの変化量、無換気補助生存期間（死亡又は永続的換気［1 日 22 時間以上で 21 日間以上連続した侵襲的又は非侵襲的な機械的換気］のイベントのうちの 1 つが生じた最も早い時点までの時間と定義）、及び全生存期間。第 1 種の過誤を制御するため、有意水準 0.05 の両側検定で各ステップにおける治療効果を評価した。統計学

的に有意でなかったステップの評価項目より下位のすべての副次評価項目は統計的に有意と判断しなかった。各ステップにおける主要な推測は mITT 集団に基づいた。

最初の有効性の副次評価項目は、SVC（%予測値）のベースラインから Week 28 までの変化量であり、統計的推測には MI を併用した JRT を用いて解析した。推定値を得るために SVC（%予測値）のベースラインからの変化量についての ANCOVA を用いた。この ANCOVA モデルでは、固定効果として投与群を含め、共変量（ベースライン時の症状発現からの罹患期間、ベースライン時の ALSFRS-R 合計スコア、ベースライン時の SVC、及びリルゾール又はエダラボンの使用の有無）で調整した。MI を併用した ANCOVA により、有効性の 2 番目の副次評価項目である HHD メガスコアのベースラインからの変化量を解析した。ANCOVA モデルには、固定効果として投与群を含め、共変量として、ベースライン時の症状発現からの罹患期間、ベースライン時の HHD メガスコア、及びリルゾール又はエダラボンの使用の有無を用いて調整した。3 番目及び 4 番目の有効性の副次評価項目である無換気補助生存期間及び全生存期間は、イベント発現までの期間の評価項目として解析した。イベント発現の累積確率の Kaplan-Meier 推定値を求めた。投与群の比較は、リルゾール又はエダラボンの使用の有無で層別したログランク検定に基づいた。ベースライン時の症状発現からの罹患期間、及びリルゾール又はエダラボンの使用の有無で調整した Cox 回帰モデルを使用して、これらの各評価項目のハザード比及び 95%信頼区間（CI）を求めた。

CSF 中総 SOD1 タンパク質及び血漿中 NfL のいずれも、MI を用いて欠測値を補完した。MI モデルは自然対数変換したデータに基づき、投与群、リルゾール又はエダラボンの使用の有無、関連するベースライン値、及びベースライン後の値を含めた。ベースラインに対する比の対数に対する ANCOVA モデルの解析には、各評価項目の自然対数尺度でのベースライン値からの変化量を使用した。このモデルには投与群及び対応するベースラインの対数変換値、ベースライン時の症状発現からの罹患期間、及びリルゾール又はエダラボンの使用の有無を共変量とした。ベースラインに対する比の幾何平均及びトフェルセンとプラセボの幾何平均比の差を 95% CI 及び p 値と共に示した。同様の解析を探索的バイオマーカー（CSF 中及び血漿中 pNfH 及び CSF 中 NfL）について実施した。CSF 中 NfL のデータは、データベースロック時に入手できなかったため、データベースロック時に解析はしなかったが、後日データを入手し事後解析した。これらの PD 及びバイオマーカーの評価項目の結果は 2.7.2 臨床薬理の概要に示す。ALSAQ-5、FSS、EQ-5D utility score 及び VAS、SF-36、及び ZBI は、HHD メガスコアなどの連続する副次評価項目と同様に探索的評価項目として解析した。WPAI、PGI、及び CGI の評価尺度による記述統計量を示した。

同様の解析を non-mITT 集団を対象に行った。CSF 中総 SOD1 タンパク質を除き、non-mITT 集団を対象とした正式な検定は行わなかった。これは、疾患進行が緩徐である non-mITT 集団では本試験期間に統計学的に有意な低下は認められないと予想されたためであるが、CSF 中総 SOD1 タンパク質以外のすべての評価項目には形式的に p 値を示した。6 ヵ月の期間に本集団で死亡は認められないと予想された。このため、joint rank 法は使用せず、その代わりに ALSFRS-R 合計スコア及び SVC（%予測値）を含めた連続変数の評価項目には MI を併用した ANCOVA を使用した。MI モデル及び ANCOVA モデルは、mITT 集団を対象として使用したモデルと同様であった。non-mITT 集団には別の MI モデルを使用した。ITT 集団を対象に同様の解析を評価項目全体で行った。CSF 中総 SOD1 タンパク質については形式的に p 値を提示することは事前に規定していたが、その他の評価項目についてはすべて事後として示した。ITT 集団に対して事前に規定した解

析では、mITT 集団及び non-mITT 集団のそれぞれに MI で補完したデータセットを併合して本解析に使用した。その他のエンリッチメントの方法は、血漿中 NfL 濃度の中央値（中央値以上、中央値未満）及び Run in 期間の傾き（スクリーニング時から Day 15 までの ALSFRS-R の減少の傾きが 0.9 以上）に基づき、部分集団を対象にこれらの評価項目を解析することによって探索された。

ベースラインからの ALSFRS-R 合計スコアの変化に関して、症状発現からの罹患期間に加え、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整した事前に規定した解析を、mITT 集団及び non-mITT 集団を対象に実施した。臨床機能及び QoL のすべての評価項目については ITT 集団を対象に事後解析を行い、ANCOVA モデルの共変量としてベースライン時の血漿中 NfL 濃度を用いて調整した。これらの解析では、ITT 集団の全被験者を対象に、ITT 集団全体の MI モデルを使用し、投与群、リルゾール又はエダラボンの使用の有無、原尺度でのベースライン時の血漿中 NfL 濃度、及び対応するベースライン時の評価項目を含めた。ANCOVA 解析ではこれらの MI データセットを使用し、固定効果として投与群を含め、共変量（ベースライン値、リルゾール又はエダラボンの使用の有無、原尺度でのベースライン時の血漿中 NfL 濃度）で調整した。共変量は、症状発現からの罹患期間からベースライン時の血漿中 NfL 濃度に置き換えた。調整済みの平均値、群間差の推定値、及び対応する 95% CI 及び形式的に p 値を示した。ALSFRS-R の事後解析の感度解析では、以下についても検討した。

i） 有効性に対する未投与の影響をみるために、ITT 集団の MI モデルを実行する前に連続した不投与の 2 回目以降のデータを除外

ii） 外れ値の影響をみるために、ITT 集団の MI モデルを実行する前に外れ値を有する被験者を除外

JRT による検討は 1.6.6 項で詳細に考察する。

101 試験パート C の中間解析は実施されなかった。詳細は、SAP [redacted]版（233AS101 試験パート C の CSR、Appendix 16.1.9、233AS101 試験パート C の SAP 第[redacted]版）に示す。

1.6.4.3 102 試験

102 試験の中間解析は、101 試験パート C の最後の被験者が 102 試験に組み入れられた 2021 年 7 月 16 日をデータカットとして実施された。ベースラインは 102 試験の開始時と定義した。MI を併用した ANCOVA 解析は、101 試験パート C から移行した被験者を対象に CSF 中 SOD1 タンパク質、血漿中 NfL 並びに CSF 中及び血漿中 pNfH に加え、ALSFRS-R、SVC、及び HHD メガスコアについても実施された。ANCOVA モデルには、101 試験パート C での投与群に加えて関連するベースライン値、ベースライン時の症状発現からの罹患期間を共変量として含めた。SVC については、ベースライン時の ALSFRS-R もこのモデルに含めた。対数変換したデータは、バイオマーカー及び PD の評価項目に使用した。解析結果は 101 試験パート C での投与群別に示した。「エンリッチ」部分集団（mITT 集団、101 試験パート C の無作為化前の ALSFRS-R の傾き及び変異型に基づいたエンリッチメント基準を満たす被験者）及び「その他」部分集団（non-mITT 集団、101 試験パート C のその他の全被験者）を対象に、それぞれ Week 24 及び Week 48 までの解析結果を示した。SVC、CSF 中総 SOD1 タンパク質、血漿中 NfL 並びに CSF 中及び血漿中 pNfH につ

いては、中間解析時点でエンリッチ集団の Week 12 以降のデータが少なかったため、Week 12 までの解析結果を示した。102 試験の初回投与から死亡までの期間の Kaplan-Meier 解析の結果を示した。正式の統計検定は行わず、p 値は示さなかった。101 試験パート A 及び B の被験者の上記の評価項目で観察されたデータの記述統計量を経時的に示した。MUNIX 及び QoL の評価項目は中間解析の一部として示さなかった。

2 回目の中間解析は、データカット（2022 年 1 月 16 日の中間データカットに基づいて実施された。SAP はこの中間データロック時点より前に更新された。有効性及びバイオマーカーについての主な統計的な変更点は以下のとおりである。

- mITT 集団及び ITT 集団は、102 試験のベースラインから Week 24 までの解析結果を、non-mITT 集団は Week 52 までの解析結果を示した。
- CSF 中 NfL のデータは、2022 年 1 月の中間解析のときに初めて利用可能になった。これらのデータは、両部分集団及び ITT 集団のいずれも Week 24 までのデータを示した。これは Week 24 以降のデータが少なかったためである。その他のバイオマーカーと同様の解析を実施した。
- 「エンリッチ」部分集団及び「その他」の部分集団を対象とした部分集団解析に加え、ITT 集団を対象とした解析を含めた。

詳細は、SAP ■■■版（233AS102 試験の CSR、Appendix 16.1.9、233AS102 試験の SAP 第 ■ 版［データカット：2021 年 7 月 16 日］及び 233AS102 試験の CSR 最終版、Appendix 16.1.9、233AS102 試験の SAP 第 ■ 版［データカット：2022 年 1 月 16 日］）に示す。

1.6.5 有効性の統合データの統計解析

1.6.5.1 2021 年 7 月をデータカットとした中間解析

当初、2021 年 7 月 16 日を中間解析のデータカットとして、101 試験及び 102 試験の統合したデータセットを対象に解析が実施された。101 試験パート C で実施された解析と同様の解析が 101 試験パート C 及び 102 試験の統合したデータセットを対象に実施された。「早期開始」群の被験者（101 試験パート C でトフェルセン投与を開始した被験者）をプラセボ／投与開始遅延群の被験者（プラセボを 28 週間投与された後に 102 試験でトフェルセンを投与された被験者）と比較した。ベースラインは 101 試験パート C の Day 1 とした。緩徐進行性の被験者（non-mITT 集団）の組入れが進捗したため、中間解析のデータカット時点の追跡期間は急速進行性の被験者（mITT 集団）よりも緩徐進行性の被験者の方が長くなった。non-mITT 集団を対象とした解析では Week 76 までの結果を示し、mITT 集団及び ITT 集団を対象とした解析並びにベースライン時の血漿中 NfL 濃度の中央値による部分集団の解析では Week 40 までの結果を示した。正式な統計検定は行わなかったため、形式的な p 値も示さなかった。連続評価項目について MI を併用した ANCOVA 解析を行った。生存期間に関する Kaplan-Meier 推定値及び Cox 回帰モデルから推定したハザード比を示した。事前に規定した解析では、ベースライン時の症状発現からの罹患期間、関連するベースライン時のスコア及びリルゾール又はエダラボンの使用の有無により調整した。

統合解析では、無作為化対照期間である 101 試験パート C 及びパート C から 102 試験に移行後

の継続試験の全被験者におけるトフェルセン 100 mg の有効性に主に焦点を当てた。101 試験パート A 及び B から移行した被験者のデータも 102 試験のデータと統合した。この統合解析集団には、トフェルセンを最も長期に投与された被験者がいる。ただし、この統合解析集団の被験者は、いくつかの重要な限界により 101 試験パート C の被験者とは異なる方法で扱われた。限界の 1 つは、101 試験パート B における急速な疾患進行についてのエンリッチ集団の定義がパート C とは異なることである。このため、パート C と統合した解析の解釈に問題が生じる可能性がある。その他の限界については 1.3.2 項に記載する。

ベースラインは、101 試験パート A 及び B より組み入れられ、101 試験パート B 又は 102 試験のいずれかでトフェルセン 100 mg を少なくとも 1 回投与された被験者のトフェルセン 100 mg の初回投与と定義した。101 試験パート B でトフェルセン 100 mg の投与を開始した被験者については、試験の間隔が 169 日間を超えていた場合に 102 試験での初回投与時を本解析のベースラインとした。提示したこの集団は、101 試験パート A 及び B の被験者で、少なくとも 104 週間の間にトフェルセン 100 mg を 1 回以上投与された被験者であった。記述統計量を示し、この集団を対象とした正式な解析は行わなかった。これは、被験者がトフェルセン 100 mg を開始したのが 101 試験パート B、102 試験のベースライン、又は 102 試験期間の用量漸増後の遅い時点なのかで来院スケジュールが異なるためであった。

以下には、SAP で規定された解析の変更及び 2021 年 7 月 16 日のデータカットに基づく中間データロック後に実施された追加の事後解析を含む。

- mITT 集団に関して SAP で規定した関心のある主要な評価時点は Week 12、28、40、及び 52 であったが、本集団の組入れの時期及び進捗状況から、多くの被験者では 101 試験パート C の開始からの期間が 52 週間に達していなかった。そのため、この集団及び ITT 集団全体では Week 40 までのデータを示した。
- 臨床機能の評価項目について、mITT 集団及び non-mITT 集団を対象とした解析と同様に、QoL の評価項目（ALSAQ-5、FSS、EQ-5D utility index 及び VAS、ZBI、並びに SF-36）について MI を併用した ANCOVA 解析が行われた。
- 臨床機能、QoL 及び PD／バイオマーカーの評価項目に対して、ITT 集団のベースライン時の血漿中 NfL 濃度の中央値に基づき、部分集団を対象として MI を併用した ANCOVA 解析を実施した。
- 臨床機能及び QoL の評価項目の解析には、ITT 集団を対象としてベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整した解析を含めた。
- 多くの被験者が疾患進行のため本試験を中止したため、mITT/non-mITT の各集団及び ITT 集団における死亡、永続的換気、及び疾患進行による試験中止までの期間について、Kaplan-Meier 法及び Cox 回帰モデルを使用した事後解析も行った。治験責任医師が電子症例報告書に記録した試験終了の理由を用いて、疾患進行によって試験を中止した被験者を決定した。結果開示後に、全生存期間をより正確に推定するため、101 試験又は 102 試験を中止した被験者、若しくは 101 試験を完了したが 102 試験に組み入れられなかった被験者を対象に、試験中止後の生存状態のデータをレトロスペクティブに収集するように努めた。
- p.Ala5Val の SOD1 変異を有する被験者の死亡又は永続的換気までの期間、死亡までの期

間、及び死亡、永続的換気又は疾患進行による試験中止までの期間のそれぞれについて、Kaplan-Meier 法及び Cox 回帰モデルを用いた解析も行った。これらの解析は、ITT 集団の全被験者を対象にしたベースライン時の血漿中 NfL 濃度の中央値による部分集団ごとにも行われた。

- 患者のプロファイルプロットでは、HHD 測定値及び MUNIX を算出するための複合筋活動電位測定値に基づき、上肢及び下肢の各筋肉の経時的な筋力を示した。
- A5V 変異を有する各被験者の罹患期間を表示する積み上げ棒グラフを示し、自然経過のデータと比較できるようにした。
- 血漿中 NfL 濃度の定量下限（LLOQ）は SAP に正確に規定されていなかった。SAP では 0.696 pg/mL と規定されていたが、解析時に 4.9 pg/mL に修正された。
- 最近では、定量下限未満（BLQ）の値にある数値を割り当てる場合、希釈倍率を有するアッセイでは、ヒトの試料における真の意味での下限値を得るには希釈倍率を乗じた LLOQ を使用する必要があるとされている。CSF 中 SOD1 タンパク質は、SAP に規定した LLOQ はすでに希釈倍率で補正されていた。血漿中 NfL 濃度に希釈倍率はなかった。ただし、CSF 中 pNfH 濃度については、アッセイの LLOQ が 7.46 pg/mL であるため、希釈倍率で補正した LLOQ は 29.84 pg/mL（7.46 pg/mL に 4 を乗じた値）である。血漿中 pNfH 濃度は、アッセイの LLOQ が 7.46 pg/mL であるため、希釈倍率で補正した LLOQ は 14.92 pg/mL（7.46 pg/mL に 2 を乗じた値）である。このため、本解析では CSF 中及び血漿中 pNfH 濃度のいずれも補正し、解析に使用した LLOQ は補正済みの値を示している。

詳細は、2021 年 7 月 16 日のデータカット時点の ISE SAP 第 [redacted] 版に示す。

1.6.5.2 2022 年 1 月をデータカットとした中間解析

2022 年 1 月 16 日を中間データカットとして 2 回目の統合解析が実施された。有効性の統合解析の SAP は、2021 年 7 月をデータカットした 1 回目の中間データロック後、2022 年 1 月でデータカットした中間データロック前までに更新された。この 2 回目の有効性の統合解析の SAP では、ベースライン時の疾患進行の程度を説明するために、ベースライン時の NfL 濃度を調整した ITT 集団全体での統計的検定に重点を置き、トフェルセン／早期開始例とプラセボ／トフェルセン投与開始遅延例とを比較している。バイアスの生じるリスクを最小限に抑え、101 試験パート C における無作為割付けを保持するために、統合解析は ITT の原則に基づいている。それにより、治験薬投与のアドヒアランス、試験の早期終了、又は 102 試験でのトフェルセン投与の開始の如何にかかわりなく、すべての被験者が治験薬投与の割付けに従って解析に含まれている。疾患進行の部分集団（mITT／non-mITT 集団、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度の中央値、及び Run-in 期の傾き別）を対象とした補足的な解析も示す。

ベースラインは 101 試験パート C の Day 1 とした。連続評価項目の Week 52 までのデータを MI により補完し、ANCOVA を実施した（ANCOVA+MI 解析）。MI モデルは ITT 集団の全被験者を対象とし、治療、原尺度でのベースライン時の血漿中 NfL 濃度、リルゾール又はエダラボンの使用の有無、対応するベースライン値及びベースライン後の値を含めた。ANCOVA 解析ではこれらの MI データセットを使用し、治療を固定効果とし、共変量（ベースライン時の血漿中 NfL 濃度、リルゾール又はエダラボンの使用の有無、及び対応するベースライン値）で調整した。

ANCOVA 解析はおよそ 3 ヵ月おきの評価時点で実施された。Week 52 の投与群間差について形式的に p 値を示した。PD 及びバイオマーカーの評価項目には対数変換したデータを用いた。バイオマーカーでの定量限界を超える値については、その上限値を解析に用いた。部分集団の解析では、non-mITT 集団の Week 104 までのデータを示した。

死亡又は永続的換気までの期間及び死亡までの期間の解析は Kaplan-Meier 法を用いて行った。治療の比較は、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度の中央値で層別したログランク検定に基づいた。ベースライン時の血漿中 NfL 濃度、及びリルゾール又はエダラボンの使用の有無で調整した Cox 回帰モデルを使用して、これらの各評価項目に対するハザード比及び 95% CI を算出した。これらの解析では、割り付け時の層別因子（mITT/non-mITT 及びリルゾール／エダラボンの使用の有無）に基づく解析も行われた。さらに、解析を事前に規定し、2022 年 1 月のデータカット時点までに被験者から収集された試験中止後の生存状態のデータを使用した場合の死亡までの期間を評価した。

101 試験パート A 及び B から移行した被験者から得たデータも 2 回の中間解析時にこれらの被験者の長期データを用いて要約した。

2022 年 1 月 16 日のデータカットに基づく中間データベースロック後に、事後解析を実施した。これらの解析のほとんどは、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整した ITT 集団を対象とする解析の頑健性を示すためのものであり、そのために、i）種々の中間事象を採用し、ii）ベースライン時の疾患状態で調整するための種々の共変量の組み合わせを検討した。事後解析では、代替の joint rank 解析法の使用についても検討した。その目的は、101 試験パート C の有効性の主要解析で用いた当初の方法の限界を一部緩和することにある。SAP で規定した解析に加えた変更点及び追加の事後解析を以下に示す。

Week 28 時点の ALSFRS-R 合計スコアの変化に関する事前に規定した解析及び事後解析の結果をフォレストプロットによって示す。これは、種々の共変量の組み合わせで調整したときに、あらゆる異なる集団及び疾患進行性の異なる部分集団においてトフェルセンの治療効果の方が一貫して優れていることを示すためである。示された解析結果は、他のいくつかの重要な点を示すことにも役立つ（1.6.6 項で述べた MI を用いた代替の JRT の使用など）。試験デザインにより non-mITT 集団では死亡例はないと予想された、すなわちこの集団では 28 週間に死亡例は認められなかったため、ITT 集団及び mITT 集団を対象とする解析についてのみ、JRT（当初の方法及び代替の方法の両方）を用いた統計的推論を行った。推定された投与群間差はいずれも、ベースラインからの変化に関する ANCOVA に基づいており、p 値は、MI を併用した ANCOVA 及び MI を併用した JRT の両方について示している。事前に規定した当初の有効性の主要解析と同様に、フォレストプロットで示した代替の JRT 及び当初の JRT も、死亡によるデータの中途打切りを考慮に入れたものであり、死亡以外の理由による試験中止は、両方法ともに MI が併用されている。フォレストプロットで示したベースラインから Week 28 までの ALSFRS-R 合計スコアの変化の解析は以下のとおりである。

- 症状発現からの罹患期間で調整した、mITT 集団を対象とする事前に規定した有効性の主要解析。解析は、ベースラインからの変化の ANCOVA モデル及び順位スコアを用いた場合の ANCOVA（JRT）による。MI モデルでは罹患期間に関する調整は行わなかった。こ

れに対応する代替の事後解析での JRT では、mITT 集団の Week 28 時点の ALSFRS-R 合計スコアに関するベースライン前とベースライン後の順位スコアの変化について ANCOVA を用い、症状発現からの罹患期間の順位スコアで調整を行った。

- 101 試験パート C の SAP から、mITT 集団について罹患期間に加えてベースライン時の血漿中 NfL 濃度でも調整した、事前に規定した感度分析も示す。MI モデルでは、罹患期間、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度のいずれでも調整は行わなかった。ベースラインからの変化に関する ANCOVA 及び順位スコアを用いた場合の ANCOVA（JRT）、さらにベースライン前とベースライン後の順位スコアの変化に関する ANCOVA（代替の事後解析での JRT）では順位スコアとして、両共変量で調整を行った。
- 血漿中 NfL 濃度は予後因子として明らかに有用であり、罹患期間は有用性が低いことから、mITT 集団を対象に事後解析を実施し、MI モデルと ANCOVA 及び JRT（当初の方法及び代替の方法）の解析モデルの両方に血漿中 NfL 濃度を加えることについて、以下の方法でさらに詳しく検討した：i）MI モデルにベースライン時の血漿中 NfL 濃度を加え、解析モデルの共変量として罹患期間及びベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整した。ii）解析モデルの共変量として、罹患期間の代わりにベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整を行った。iii）MI モデルと解析モデルの両方にベースライン時の血漿中 NfL 濃度を加えた。101 試験パート C の 1 回目の結果開示後、2022 年 1 月のデータカット実施前に、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整した Week 28 時点の解析を実施した。ただし、事前に規定した解析では、解析モデルにのみベースライン時の NfL 濃度を加え、MI モデルには加えなかった。

MI を併用した ANCOVA に基づき、non-mITT 集団についても上記と同じ解析結果を示す。既述のように、JRT はこの集団には不適であった。

101 試験パート C の SAP では、急速進行性のエンリッチ mITT 集団と緩徐進行性の non-mITT 集団に差が予想されることから、ITT 集団全体の統計学的検定は当初の SAP に規定されていなかった。本集団を対象とする事前に規定した当初の解析は、罹患期間で調整した、ベースラインからの変化に関する MI を併用した ANCOVA であった。MI モデルには罹患期間は含めなかった。この解析は、ベースラインからの変化に関する MI を併用した ANCOVA 及び MI を併用した JRT（当初の方法及び代替の方法）から得られた事後解析での p 値を示した。NfL はベースライン時の疾患の不均一性をより良く説明し、予後因子として有用であることから、NfL で調整した方が ITT 集団全体の解析をより適切に行うことができた。種々の共変量による調整について詳細に検証するために、i）ベースライン時の血漿中 NfL 濃度（1 回目の結果開示後、2022 年 1 月のデータカット前に実施）、ii）無作為化前の ALSFRS-R の傾き、iii）無作為化前の ALSFRS-R の傾き及びベースライン時の血漿中 NfL 濃度、iv）罹患期間及びベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整した場合と、v）ベースライン時の疾患特性の共変量で調整しない場合で、ITT 集団について事後解析を行った。治験実施計画書に規定された急速進行性の被験者に関するエンリッチメント基準は、無作為化前の ALSFRS-R の傾きに基づいていた。症状発現からの罹患期間は傾きの計算の構成要素であるため、これらの共変量はモデルに共に含めていない。ベースラインからの変化に関して MI を併用した ANCOVA 及び MI を併用した JRT（当初の方法及び代替の方法）の解析を実施した。i）、iii）、及び iv）で述べた解析を実施する前に、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度を MI モデルに加えた。ITT 集団を対象とする解析は、有効性の主要解析で使用された不十分なエンリッ

チメント戦略に対処する上での一助となる。

101 試験パート C の SAP で事前に規定した、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度の中央値に基づく疾患進行性の部分集団では、ベースラインからの変化に関する MI を併用した ANCOVA において、罹患期間で調整した解析のみを実施した。ベースライン時の疾患の状態に関する種々の共変量で調整したとき、これらの部分集団で治療効果に一貫性がみられることを示すために、i）ベースライン時の血漿中 NfL 濃度、ii）ベースライン時の血漿中 NfL 濃度及び罹患期間で調整した事後解析も実施した。ここでは、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度は MI モデルにも含まれている。これらの部分集団では JRT の解析は実施しない。

さらなる事後解析を以下に示す。

- 2022 年 1 月のデータカットに基づく 101 試験パート C 及び 102 試験の Week 52 時点の統合解析では、統計的検定はいずれも、ベースラインからの変化に関して MI を併用した ANCOVA に基づいていた。MI モデルでも解析モデルでも、重点を置いたのはベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整した ITT 集団であり、疾患進行性の部分集団については補足的解析であった。種々の共変量の組み合わせで調整したときに、Week 52 時点であらゆる集団及び疾患進行性の部分集団に一貫した治療効果が認められることを示すために、フォレストプロットも示す。Week 28 の解析と同様に、ITT 集団及び mITT 集団に関して、死亡例を考慮に入れた MI を併用した JRT（当初の方法及び代替の方法）も事後に実施し、ベースラインから Week 52 までの ALSFRS-R 合計スコアの変化に対するフォレストプロットに示した。疾患進行性の部分集団解析（mITT／non-mITT 集団、ベースライン時の NfL 濃度が中央値以上／未満）及び ITT 集団解析には、i）罹患期間（ISE SAP 第 [redacted] 版の下で当初考えられていた共変量）で調整した事後解析、ii）ISE SAP 第 [redacted] 版に従い、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整した、事前に規定した Week 52 の解析、及び iii）罹患期間及びベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整した事後解析が含まれている。さらに、ITT 集団解析には、iv）無作為化前の ALSFRS-R の傾きで調整した事後解析、v）無作為化前の ALSFRS-R の傾き及びベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整した事後解析、並びに vi）ベースライン時の疾患状態について未調整の事後解析が含まれている。
- 別に、SVC と HHD メガスコアのベースラインから Week 28 までの変化及びベースラインから Week 52 までの変化についても、同様のフォレストプロットを示す。SVC に関しては、両方法による JRT に差は認められない。これらの評価項目では、ANCOVA においてベースライン血漿中 NfL 濃度で調整したすべての ANCOVA+MI 解析にあわせて、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度を MI モデルに含める。101 試験パート C の SAP で事前に規定した、SVC に関する当初の解析では、罹患期間とベースライン時の ALSFRS-R の両方について調整が行われていたため、罹患期間で調整したすべての SVC の解析でも、ベースライン時の ALSFRS-R による調整を行う。
- Week 52 時点の有効性の統合解析は、ベースラインからの変化に関する MI を併用した ANCOVA に基づいていた。種々の estimand の適用及び中間事象を考慮に入れた場合の影響を示すために、統合データセットについて ITT 集団の Week 52 時点の ALSFRS-R のデータに MI を併用した JRT を実施するとともに、1.6.6 項に記載したもう 1 つの MI を併用した JRT も実施した。本項で上述したフォレストプロットでは、死亡例のみを考慮した

JRT に主な重点が置かれている。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統合データセットの Week 52 時点の JRT に基づき、estimand の情報を Table 4 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］。解析はすべて 2022 年 1 月のデータカット後に実施された事後解析であり、共変量であるベースライン時の NfL 濃度で調整した ITT 集団に基づいていた。101 試験パート C における当初の有効性の主要解析では、mITT 集団に関して JRT が用いられた。要約統計量は、MI を併用した ANCOVA（連続変数であるベースライン時の NfL 濃度及びベースライン時の ALSFRS-R 合計スコア、並びにカテゴリー変数であるリルゾール又はエダラボンの使用の有無で調整）から得られた、Week 28（又は Week 52）の時点におけるベースラインからの変化の最小二乗平均の投与群間の差とその標準誤差及び 95% CI である。投与群を固定効果として含め、共変量（ベースライン NfL 濃度、ベースライン ALSFRS-R 合計スコア、及びリルゾール又はエダラボンの使用の有無）で調整した ANCOVA モデルを用い、100 個の完全な MI データセットのそれぞれについて、有効性（当初の方法ではベースラインからの変化の順位スコア、代替の方法では治療前と治療後の順位スコアの変化）の解析を行う。代替の方法では、ベースライン時の NfL 濃度及びベースライン時の ALSFRS-R 合計スコアは順位スコアの共変量である。MI モデルには、投与群、リルゾール又はエダラボンの使用の有無、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度、ベースライン時のスコア、及びベースライン後のスコアを含めた。JRT の p 値は、PROC MIANALYZE を用いた投与群間の差の推定値の併合に基づいている。

Table 4: Summary of Study 101 Part C and Study 101 Part C/Study 102 Estimands Based on JRT

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	

- Tipping point analysis は、ITT 集団を対象とした MI を併用した ANCOVA 解析及び代替の joint rank 解析（死亡例を考慮した）の両解析に基づき、統合データセットの Week 52 時点の解析に対して行われた。
- 解析の中で死亡を中間事象としてさらに説明するために、ITT 集団を対象に、ベースライ

ン時の血漿中 NfL 濃度で調整を行い、ベースラインから Week 52 までの ALSFRS-R 合計スコアの変化について MI を併用した ANCOVA を実施した。死亡した被験者は、死亡後から Week 52 まで、以後のすべての評価でゼロを補完した後、MI モデルを用いた。

- p.Ile114Thr 変異を有する各被験者の罹患期間を積み上げ棒グラフを用いて示し、自然経過のデータと比較できるようにした。
- 101 試験パート C の下で収集され、含められたすべての変異体（variant）について、自然歴に関する文献検索を行った。各変異体の罹患期間について、トフェルセンを投与したすべての被験者（101 試験パート C 又は 102 試験のいずれかでトフェルセンを 1 回以上投与した被験者）の記述統計量と自然歴から得た記述統計量に基づく比較結果をフォレストプロットによって示した。
- 101 試験パート C における 28 週間の体重変化を要約し、プロットした。
- 101 試験パート C において、また、101 試験パート C 及び 102 試験の統合データを用いて、ITT 集団を対象に、HHD メガスコアを用いた反応例の解析も実施した。101 試験パート C のベースラインに比べて Week 28 及び Week 52 の時点のメガスコアがそれぞれ上昇していた被験者を反応例と定義した。Week 28（又は Week 52）以前に試験を中止又は死亡した被験者、及び Week 28（又は Week 52）の HHD メガスコアが欠測値であった被験者は非反応例とした。ベースライン時の血漿中 NfL 濃度、ベースライン時の HHD メガスコア、及びリルゾール／エダラボンの使用の有無で調整したロジスティック回帰分析を用いて、反応割合の推定値とそれらの差を算出した。
- SAP に示したバイオマーカーには、脱アミド化された SOD1 ペプチドとして特定されるべきであった脱アミノ化 SOD1 ペプチドを含めた。さらに結果開示時、101 試験パート C の特定の測定時点（Day 1［ベースライン］並びに Day 29、57、85、113、及び 197）のみの試料を分析した。102 試験の試料は時間内に分析されなかった。このため、統合データについて規定された解析は行われず、その代わりに 101 試験パート C のみに基づいた解析が行われた。Day 197 の試料の多くは、来院が同日の場合には 102 試験のベースラインとして試験を行ったため、Day 197 の値が利用可能であった被験者は 43 例のみであった。解析時に利用可能であった Day 197 のデータがわずかであったため、本解析は Day 113 までで行われた。Day 197 までのすべての来院日に基づく観察データについて記述統計量を示した。
- ベースライン時の脱アミド化 SOD1 ペプチドと NfL（CSF 中及び血漿中）との関係、並びにベースラインから Day 113 までの変化量を探索的に検討するために、スピアマンの相関係数及び散布図を示した。
- ベースライン時の脱アミド化 SOD1 ペプチドと臨床機能の評価項目（ALSFRS-R、SVC、HHD メガスコア、及び ALSAQ-5）のベースラインからの変化量との関係を探索するための散布図も示した。
- 血漿中及び CSF 中の NfL 濃度と pNfH 濃度との関係を探索するために、ベースライン並びにベースラインから Day 113 までの変化量について散布図行列を示した。
- トフェルセンを投与した被験者における NfL 濃度低下を示すために、個々の被験者のベースラインから Week 28 までの NfL 濃度の絶対変化をウォーターフォールプロットで示した。濃度変化は、プラセボを投与した被験者についても示した。
- 血漿中 NfL 濃度の LLOQ 値は SAP に正確に規定されていなかった。SAP では 0.696 pg/mL

と規定されていたが、解析では 4.9 pg/mL に修正された。2021 年 7 月 16 日をデータカットとして実施された中間解析で示したように、本解析では CSF 中及び血漿中 pNfH 濃度について修正されたため、解析で使用する LLOQ では希釈倍率で補正した値が反映された。

- これまでに 101 試験パート C について ITT 集団を対象とした CSF 中及び血漿中 pNfH 濃度の解析は行われなかったため、これらの解析は本統合解析の一環として実施された。
- CSF 中 NfL 濃度のデータは、2 回目の中間解析の実施時に初めて利用可能であった。CSF 中 NfL 濃度の解析は、血漿中 NfL 濃度、CSF 中 pNfH 濃度及び血漿中 pNfH 濃度の解析と同様に行われた。解析で使用された LLOQ 値（85.5 pg/mL）は、希釈倍率で補正された。
- 免疫原性では、結果が POSITIVE-TBC となった試料があった。これらは、まだ陽性であるとは確認されていなかったスクリーニング陽性の試料であった。SAP にこのような試料について取扱い規定はなかったが、陽性が確認されていなかったため、解析では陰性として扱った。これらの試料は、陽性と確認されたが力価が認められない POSITIVE-TND と判定された試料とは異なる。POSITIVE-TND と判定された試料の解析における取扱い方法については SAP にすでに記載されている。「臨床的有効性」で記述される免疫原性のデータは、2022 年 1 月 16 日のデータカットに基づいている。
- ALSFRS-R に対しては感度分析及び探索的な解析として reference-based MI を用いた。これらの解析は、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。
- jump to reference（J2R）、copy reference（CR）、及び copy increment from reference（CIR）を含む reference-based MI の実行には、以下の SAS マクロを使用した。
  - ”Five Macros”
  - “RMConjPlus” macro

  以下の reference-based imputation の方法を用いた。

  - J2R: 早期投与開始群における中間事象後のデータの分布が投与開始遅延群（reference）と同じであるとして欠測値を補完した。死亡以外の中間事象後の欠測は上記のように補完したが、両群とも死亡後の欠測にゼロを補完した別の J2R も感度分析として実施した。
  - CR：中間事象後の欠測がある被験者のデータの分布が中間事象の前後ともに投与開始遅延群と同じであるとして欠測値を補完した。死亡以外の中間事象後の欠測は上記のように補完したが、両群とも死亡後の欠測にゼロを補完した別の CR も感度分析として実施した。
  - CIR : 早期投与開始群における中間事象後のデータの分布の平均が，その時点から投与開始遅延群の平均が平行移動したように推移するとして欠測値を補完した。死亡以外の中間事象後の欠測を上記のように補完したが、両投与群とも死亡後の欠測にゼロを補完した別の CIR も感度分析として実施した。
- 無イベント期間の解析は、トフェルセンが投与された 2 つの被験者集団（101 試験パート C でトフェルセン投与を開始した早期開始群及び 102 試験で 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プラセボ／投与開始遅延群）を比較するため、保守的な解析である。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、無イベント生存関連イベントについて

RPSFTM 解析を実施した。RPSFTM は、生存転帰を伴う試験における治療の切替えを調整する手法である。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生存期間を比較する手段を与えている。これらの解析では、プラセボ／投与開始遅延群でのトフェルセンに切り替えた場合の効果は、102 試験でトフェルセン 100 mg の初回投与からイベント発現又は中途打ち切りまで持続する期間と定義した。Latimer らによる最近の研究に基づき、RPSFTM 解析は re-censoring した場合としない場合で実施した［Latimer 2019］。

詳細は、2022 年 1 月 16 日をデータカットとした ISE SAP 第 [redacted] 版に記載する。

1.6.5.3 2023 年 2 月をデータカットとした中間解析

101 試験及び 102 試験でトフェルセンの有効性をさらに解析するために用いた統計手法を以下に要約し、詳細は ISE SAP 第 [redacted] 版（20[redacted] 年 [redacted] 月 [redacted] 日）に示す。

1.6.5.3.1 生存

生存解析は、プール CL 群（101 試験パート C 及び 102 試験の被験者）において ITT 集団及びベースライン時の血漿中 NfL 濃度別の部分集団で実施し、プール ABL 群ではトフェルセン 100 mg 投与例（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）で死亡までの期間のみについて実施した。

以下の評価項目について解析を行った。

- 死亡又は永続的換気（追跡期間の 1 日 22 時間以上で 21 日以上連続した機械的換気［侵襲的又は非侵襲的］）までの期間
- 死亡までの期間
- 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

死亡又は永続的換気までの期間は、以下のいずれかのイベントが最初に発現するまでの期間と定義した。

- 死亡
- 永続的換気（1 日 22 時間以上で 21 日以上連続した機械的換気［侵襲的又は非侵襲的］）

各評価項目について、以下の解析を行った。

- 主要な解析
  - 101 試験パート C のベースラインから死亡又は永続的換気までの期間について Kaplan-Meier プロットを示した。関心のある主な評価時点での生存率及び生存期間の分位点（イベント数から可能であれば、5%、10%、25%、及び 50%／中央値）の要約

も統合解析での群ごとに示した。ベースライン時の血漿中 NfL 濃度の中央値で層別したログランク検定の結果を示した。比較のため、割付け時の層別因子（リルゾール又はエダラボンの使用の有無及び疾患進行の部分集団［mITT/non-mITT］）に基づいたログランク検定の結果も示した。

- 101 試験パート C のベースラインから死亡又は永続的換気までの期間について、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度により調整した Cox モデルを用いて統合解析での群間のハザード比及び p 値を推定した。
- 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までの期間は、死亡又は永続的換気までの期間と同じ方法で定義して解析した。疾患進行による試験中止は、電子症例報告書の試験終了時のページに記載された中止理由に関する治験責任医師による判断に基づいた。
- A5V を有する被験者の部分集団についても、上記の解析を実施した。
- ALS 発症から死亡までの期間についても解析した。

- 補足的解析

死亡又は永続的換気までの期間に関する補足的解析も、判定されたイベントではなく、臨床データベースの記録及び電子患者日誌の記録に基づく以下のイベントの定義を用いて解析した。

機械的換気のイベントの定義には、機械的換気の連続日数について 3 つの閾値（7 日、10 日、及び 21 日）を設定した。以下のイベントのうち、いずれか 1 つ発現した時点と定義した。

- 死亡
- 機械的換気：1 日 22 時間以上でそれぞれ 7 日間以上、10 日間以上、又は 21 日間以上連続した機械的換気（侵襲的又は非侵襲的）

Kaplan-Meier 法による推定及び Cox モデルによる解析は、主要な解析と同様に実施した。機械的換気のイベントに変更して同じ解析を実施した。

また、ITT 集団での解析で治療効果を比較する際、101 試験パート C においてプラセボ群であり 102 試験で実薬を投与された被験者に起因するバイアスに対応するため、イベント発現までの期間の評価項目には、102 試験で実薬投与への切替えの影響を制御して生存のベネフィットを推定する RPSFTM［White 1999］を用いて解析した。RPSFTM 解析では、プラセボ／投与開始遅延群でのトフェルセンに切り替えた場合の効果は、102 試験でトフェルセン 100 mg の初回投与からイベント発現又は中途打ち切りまで続く期間と定義した。Latimer らによる最近の研究に基づき、RPSFTM 解析は re-censoring した場合としない場合で実施した［Latimer 2019］。RPSFTM は、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に用いた。解析は ITT 集団に基づいている。

1.6.5.3.2 臨床機能及び筋力

プール CL 群では評価項目の観察データ及び補完データを、プール ABL 群では観察データのみを用いて、以下のように要約及び解析した。プール CL 群では、ITT 集団及びベースラインの血漿中 NfL 濃度の中央値に基づく部分集団別に同様の解析を行った。

以下の評価項目について解析を行った。

- ALSFRS-R 合計スコア
- SVC%予測値
- HHD メガスコア

ITT 集団ではプール CL 群の観察データ（最長 104 週間）を用いて実測値及びベースラインからの変化量をすべての評価時点で、プール ABL 群のトフェルセン 100 mg 長期投与集団（104 週間以上トフェルセン 100 mg を投与され、101 試験の試験終了時から 102 試験のベースラインまでの間隔が 169 日（24 週）以内の被験者）ではトフェルセン 100 mg の初回投与から 168 週間で；プール ABL 群のトフェルセン 100 mg を投与された 102 試験の被験者（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）では 102 試験でのトフェルセン 100 mg の初回投与以降 3 ヵ月ごとに記述統計量を提示した。

プール CL 群では各評価項目について以下の解析を実施した。

- ベースラインから Week 76 及び Week 104 までの変化量（血漿中 NfL 濃度を共変量とした ANCOVA＋MI）
- Responder analysis
  - MI データに基づく Week 76 及び Week 104（ベースライン時の血漿中 NfL 濃度を共変量とするロジスティック回帰を用いた responder analysis。Week 76 及び Week 104 に改善又は安定化／改善が認められた被験者は responder とし、Week 76 及び Week 104 よりも前の時点での試験中止及び死亡はすべて nonresponder とした）
  - 事後的な感度分析として、ITT 集団及び疾患進行の部分集団（NfL に基づく）で Week 52 及び Week 104 でのロジスティック回帰を用いない responder analysis を実施した。これらの評価時点で改善（ALSFRS-R、SVC、及び HHD）又は安定化／改善（ALSFRS-R）が認められた被験者を responder とした。これらの時点より前の死亡及び試験中止はすべて nonresponder とし、その他のすべての欠測データには MI を用いた。被験者数が少なく収束計算上の問題があり、疾患進行の部分集団についてはロジスティック回帰を実施しなかった。

また、ALSFRS-R には JRT 及び代替の JRT を実施し、1.6.5.2 項に示した感度分析／探索的解析として reference-based imputation を実行した。

Responder の定義は以下のとおりである。

- ALSFRS-R
  - ALSFRS-R 合計スコアの改善（ベースラインからの変化量＞0）
  - ALSFRS-R 合計スコアの安定化又は改善（ベースラインからの変化量≧0）
- SVC%予測値
  - SVC%予測値の改善（ベースラインからの変化量＞0）
  - SVC%予測値の安定化又は改善（ベースラインからの変化量≧0）
- HHD メガスコア
  - HHD メガスコアの改善（ベースラインからの変化量＞0）

- HHD メガスコアの安定化又は改善（ベースラインからの変化量≧0）

プール ABL 群について、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及び 100 mg 長期投与集団における 102 試験のベースラインから Week 168 までの ALSFRS-R、SVC、及び HHD の変化量（被験者別及び平均）を算出した。

また、Week 76 及び Week 104 での ALSFRS-R 合計スコア、SVC%予測値、及び HHD メガスコアのフォレストプロットは、様々な集団（ITT 集団、変異／傾きで定義した疾患進行の部分集団、及びベースライン時の血漿中 NfL 濃度で定義した疾患進行の部分集団）における種々の共変量（ベースライン時の血漿中 NfL 濃度、対数変換したベースライン時の血漿中 NfL 濃度、罹病期間、及び無作為化前の ALSFRS-R の傾き）で調整したときの影響を説明するのに示した。様々な集団及び種々の共変量での調整に基づく治療効果の一貫性を検討するようにフォレストプロットを示した。

1.6.5.3.3 生活の質

QoL の評価項目については、プール CL 群で ITT 集団における Week 76 及び Week 100 のプラセボ／投与開始遅延群とトフェルセン／早期開始群を比較する解析を実施した。これらの評価の時期が臨床的機能及び筋力と異なるため、Week 104 ではなく Week 100 を設定した。

以下の評価項目について解析を行った。

- ALSAQ-5
- FSS 合計スコア
- EQ-5D-5L utility index score

以下の解析を行った。

- ベースラインから Week 76 及び Week 100 までの変化量（血漿中 NfL 濃度を共変量とした ANCOVA＋MI）
- Responder analysis
  - MI データに基づく Week 76 及び Week 100（ベースライン時の血漿中 NfL を共変量とするロジスティック回帰を用いた responder analysis。これらの評価時点で改善又は安定化／改善が認められた被験者は responder とし、これらの評価時点よりも前の時点での試験中止及び死亡はすべて nonresponder とした）
  - 事後的な感度分析として、ITT 集団及び疾患進行の部分集団（NfL に基づく）で Week 52 及び Week 100 でのロジスティック回帰を用いない responder analysis を実施した。これらの評価時点で改善が認められた被験者を responder とした。これらの時点より前の死亡及び試験中止はすべて nonresponder とし、その他のすべての欠測データには MI を用いた。被験者数が少なく収束計算上の問題があり、疾患進行の部分集団についてはロジスティック回帰を実施しなかった。

Responder の定義は以下のとおりである。

- ALSAQ-5

- ALSAQ-5 合計スコアの改善（ベースラインからの変化量＜0）
- ALSAQ-5 合計スコアの安定化又は改善（ベースラインからの変化量≦0）

- FSS 合計スコア
  - FSS 合計スコアの改善（ベースラインからの変化量＜0）
  - FSS 合計スコアの安定化又は改善（ベースラインからの変化量≦0）
- EQ-5D-5L utility index score
  - EQ-5D-5L utility index score の改善（ベースラインからの変化量＞0）
  - EQ-5D-5L utility index score の安定化又は改善（ベースラインからの変化量≧0）

1.6.6 その他の統計学的考察

1.6.6.1 Joint Rank 法

joint rank 法では、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的検定が可能になる。101 試験パート C では、各被験者を試験の他の全被験者と比較し、転帰が比較した被験者よりも良好であればスコアを+1、悪ければ-1、同じであれば 0 とすることにより、被験者の joint rank スコアを算出した。各被験者のスコアは、試験の他の全被験者と比較した数値を合計して算出した。順位スコアの算出の前に、死亡以外の理由で試験を中止した被験者の Week 28 の ALSFRS-R スコアを、MI を用いて補完した。本試験を完了した被験者又は死亡以外の理由で試験を中止した被験者の Week 28 の ALSFRS-R 合計スコア（試験を中止した被験者については補完したスコア）を比較した。これらの被験者の順位は死亡した被験者よりも高かった。死亡した被験者を死亡までの期間に基づいて相互に比較し、初回投与から最も短い期間で死亡した被験者に最も低い順位を付けた。順位スコアは、治療を固定効果とし、共変量（ベースライン時の症状発現からの罹患期間、ベースライン時の ALSFRS-R 合計スコア、及びリルゾール又はエダラボンの使用の有無）で調整して ANCOVA モデルによって解析された。この解析は 101 試験パート C の有効性の主要解析であった。

本試験期間（6.5 ヵ月）及び mITT 集団の被験者のスクリーニング時の選択基準が 65%以上の SVC であったことを考えると、両群全体の死亡例数が少なかったことは被験者の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 では死亡を最悪の転帰として取り扱い、死亡した被験者に最も低い順位を割り当てる。結果として、死亡例数が少なく（mITT 集団の 60 例のうち死亡率 5%未満、又は死亡例が 2 例以下など）、死亡の分布が潜在する生存転帰を反映しない場合でも、JRT では死亡の分布におけるわずかな変化に対し極めて感度が高い。1 例の死亡が全体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 試験パート C で使用した当初の joint rank 解析には、上記の他に考慮すべき側面がいくつかある。事後解析を行い、2022 年 1 月 16 日のデータカット時点の統合データセットを対象に、101 試験パート C の mITT 集団における Week 28 の ALSFRS-R 合計スコア及び ITT 集団における Week 52 の ALSFRS-R 合計スコアに対する joint rank の使用を評価した。

代替の JRT は有効性の主要解析に使用した当初の方法と概念が似ているが、その順位は合計スコアのベースラインからの変化量の代わりに、ベースライン時の合計スコアと（死亡を考慮した）

最終の合計スコアから別個に算出する点が異なる。さらに、連続量のベースライン共変量の順位スコアを ANCOVA モデルに使用する［Conover and Iman 1982; Knoke 1991］。応答変数と共変量変数のいずれにも順位スコアを使用すること（順位変換による ANCOVA［rank ANCOVA］）は、正規性の仮定が成り立たない状況のために設計された。rank ANCOVA の他の利点は、外れ値に対する感度が低いことである。さらに、rank ANCOVA モデルでは、連続共変量と連続応答変数を順位スコアを用いて同じ尺度に変換することで、本モデルは応答変数と共変量との間の線形的な関係からの逸脱に対しより頑健である。

代替の rank ANCOVA モデルで使用する応答変数は、治療前及び治療後の順位の変化量である。すなわち、Week 28 と死亡時（又は統合解析の Week 52）の実際の機能スコアに基づいた順位からベースライン時の機能スコアの順位を差し引いた。順位の変化量を使用した治療効果に関する仮説検定の問題は、応答としての Week 28 と死亡時の機能スコアに基づいた順位スコアを使用した仮説検定の問題と同値である。これは、ベースライン時の機能スコアの順位が rank ANCOVA モデルにおける共変量の 1 つだからである。

当初の joint rank 解析では、応答としてベースラインからの変化量の順位を使用することにいくつかの問題がある。

1 つ目は、応答と共変量との単調な関係（回帰モデルで求められる特性）を逸脱する可能性があることである。ベースライン時の合計スコアが高い被験者は、機能スコアの低下が大きくなり、これによってベースラインからの変化量も大きくなる可能性が高い。その結果、当初の JRT では、ベースライン時のスコアが低く機能スコアの低下の余地が少ない被験者が試験期間中に生存し続ければ、ベースライン時の合計スコアが高い被験者の順位スコアはこうした被験者よりも低くなる。一方、ベースライン時の合計スコアが極端に低い被験者は死亡する可能性が高くなり、したがって、このような被験者が試験期間に死亡した場合は最も低い順位が付けられる。この観点から考えると、ベースラインからの変化量の順位とベースライン時の合計スコアとの間の単調な関係は維持されない。その代わりに最終の機能スコアと死亡に基づいた順位スコアを使用した方がより適切と考えられる。その他の共変量も同様であることから、ベースライン時の機能スコアが高い被験者は最終の機能スコアが高くなる傾向が予想される。同様に、ベースライン時の機能スコアが低い被験者は最終の機能スコアが低くなる傾向があり、これはベースライン時の機能スコアが低い被験者が死亡する状況とも一致する。

2 つ目は、応答としてベースライン時からの変化量の順位を使用すると、回帰モデルにおける連続性にも逸脱する可能性がある。ベースライン時の機能スコアが極めて低い被験者 1 例について考えてみる。被験者のベースライン時のスコアが低いために機能スコアが低下するのに十分な余地がないため、この被験者のベースラインからの変化量は大きくならず、このため当該被験者が試験終了時まで生存した場合、ベースラインからの変化量に基づく順位スコアが小さくなると考えられる。ただし、試験期間に死亡した場合は、当該被験者は最も低い順位に割り当てられる。以上のことから、死亡前後の応答に大きなずれが存在する可能性があり、そのためにデータのばらつきが大きくなると考えられる。また、生存期間及び最終機能スコアに基づいた順位スコアの使用は、死亡する可能性が高い被験者の最終機能スコアはすでに低いために最終機能スコアに基づいた順位スコアが低くなる状況ではより適切と考えられる。

応答として最終機能スコア及び死亡の順位スコアと併せて rank ANCOVA を使用した場合、ここで提案する代替の JRT は解釈が容易である。最終機能スコア及び死亡の順位スコアの応答変数は、ベースライン時のスコアと共変量の重み付けされた順位としてモデル化されると考えることができる。また、治療前後での順位の変化は、被験者の順位付けに際して比較された他の被験者と比べた疾患進行を評価する観点を有する。一方、ベースラインからの変化量の順位を使用することで解釈の容易さが低下する。ベースラインからの変化量は、特に予後因子で共変量調整する場合に、被験者の疾患進行の順位付け及び評価に直接使用するのに適切な方法ではない可能性がある。順位変換そのものが非線形の操作であるため、順位付けした後の予後因子で共変量調整する上で課題となる。ベースライン時の共変量情報及びベースラインからの変化量の順位を用いても、順位変換が非線形的であるため、被験者の最終機能スコアについて推測することは困難なままである。この観点から、応答として最終機能スコア及び死亡を用いた順位スコアを使用することは、本試験終了時の被験者の臨床状態の推論を容易にし、有益な情報を提供する。

また、2022 年 1 月 16 日をデータカットとした統合データセットについて、ITT 集団を対象とした Week 52 の ALSFRS-R に対する代替の joint rank 法及び MI を併用した ANCOVA 解析のいずれにも tipping point analysis が行われた。tipping point analysis では、中止例の転帰の仮定を変えることによって治療効果の信頼性に対する欠測値の影響を評価する。プラセボ群及びトフェルセン群の脱落例に対して仮定する治療効果を、missing-not-at-random の仮定の空間を探索するために両方向に変化させる。tipping 領域（tipping region）は、治療効果が統計学に有意ではなくなる（p 値が有意水準より大きくなる）シフトパラメータ δ_c 及び δ の組み合わせで定義する。tipping point 領域の前提の臨床的妥当性を考察し、主要な結果の頑健性を評価する。この tipping point analysis は以下のステップに従った。

ステップ 1：プラセボ群及びトフェルセン 100 mg 群の欠測データについて、MI を用いて補完した。

ステップ 2：Week 52 の補完された値にシフトパラメータ δ_c 及び δ_t をプラセボ群及びトフェルセン 100 mg 群にそれぞれ加えた。

ステップ 3：本解析を行い、両群の試験中止例に異なる大きさの治療効果を反映させるそれぞれの補完シナリオについて p 値を算出した。

1.6.6.2 統計モデルに基づく NfL 濃度及び臨床機能との関係

101 試験パート C のデータから得られる因果推論の構成要素を用いて、トフェルセンによる血漿中 NfL 濃度の低下と臨床評価項目の測定値の低下及び生存の延長との関係をさらに裏付ける統計モデルを構築した。本モデル及びその関係性は、モデルの背景にある統計的な詳細を記載した技術付録とともに 2.7.2 臨床薬理の概要の 2.1.3.5.2 項に示す。

1.6.7 部分集団解析

日本人被験者における有効性を評価するため、101 試験のパート C、並びに 101 試験のパート C 及び 102 試験の統合解析において、主要評価項目の ALSFRS-R、主な副次評価項目の SVC、HHD メガスコア、並びに死亡及び永続的換気に関連するイベントについて、日本人集団の記述的な部分集団解析を行った。日本人集団は少数（7 例）であることから、全体集団における日本人集団の分布を確認するため、ALSFRS-R、SVC%予測値、及び HHD メガスコアについて被験者別のベースラインからの推移図を作成した。2022 年 1 月のデータカットに基づく解析では、以下の解析対象集団を対象に、ALSFRS-R、SVC%予測値、及び HHD メガスコアの 101 試験パート C のベースラインからの推移を被験者別に示した。

- 変異型及び無作為化前の ALSFRS-R の傾きに基づく解析集団（mITT 集団／non-mITT 集団）
- ベースライン時の血漿中 NfL 濃度の中央値に基づく部分集団
- ITT 集団（ベースライン時の血漿中 NfL を共変量として考慮せず）

2023 年 2 月のデータカットに基づく解析では、ITT 集団を対象に ALSFRS-R、SVC%予測値、及び HHD メガスコアの 101 試験パート C のベースラインからの推移を被験者別に示した。

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。日本人集団の有効性の結果については 3.1.2.3 項及び 3.2.2.3 項に示す。

2　　個々の試験結果の要約

本承認申請の有効性のデータが得られた試験の要約を Table 5 に示す。本概要の目的のため、主要な試験におけるトフェルセン 100 mg の用量での結果を中心に示す。なお、100 mg 以外の用量での結果を含め、すべての有効性の結果は該当する試験報告書に示す。

Table 5: Clinical Studies in Participants With SOD1-ALS Contributing Efficacy Data on Tofersen 100 mg

Study ID	**Study 101 Part B** (CSR 233AS101 Parts A and B)	**Study 101 Part C** (CSR 233AS101 Part C)	**Study 102** (CSR 233AS102 Interim 1, 16 July 2021 data cut) (CSR 233AS102 Interim 2, 16 January 2022 data cut)
Study Type/Design	Phase 1, randomized, double-blind, placebo-controlled, MAD	Phase 3, randomized, double-blind, placebo-controlled	Phase 3, open-label, long-term extension
Study Population	Participants with SOD1-ALS[a]	Participants with SOD1-ALS	Participants with SOD1-ALS who completed Study 101
Number of Study Centers, Locations	~16 sites, in ~6 countries globally	~41 sites, in ~13 countries globally	Interim 1 CSR, 16 July 2021 cut: ~36 sites, in ~11 countries globally Interim 2 CSR, 16 January 2022 cut: ~37 sites, in ~11 countries globally
Study Start[a] Enrollment Status Total Enrolled as of Data cut Date	[redacted] 20[redacted] Completed 50 participants	27 March 2019 Completed 108 participants	07 March 2017 Completed 139 participants
Study Status	Completed	Completed	Ongoing
Primary Study Objective(s)	Safety, tolerability, and PK	Efficacy	Long-term safety and tolerability
Primary Endpoint	• Incidence of AEs and SAEs • Incidence of abnormalities in clinical laboratory assessments, vital signs, physical and neurological examinations, and ECGs • PK measures, including plasma and CSF levels of BIIB067	Change from baseline to Week 28 in the ALSFRS-R total score	Incidence of AEs and SAEs
Secondary Efficacy/PD/Biomarker Endpoints	• PD: change from baseline in total SOD1 protein concentration in CSF	• PD: change from baseline in total SOD1 protein concentration in CSF • Biomarker: change from baseline in NfL concentration in plasma • Efficacy: change from baseline to Week 28	• PD: change from baseline in total SOD1 protein concentration in CSF • Biomarker: change from baseline in NfL concentration in plasma • Efficacy: changes over time in total

Study ID	**Study 101 Part B** (CSR 233AS101 Parts A and B)	**Study 101 Part C** (CSR 233AS101 Part C)	**Study 102** (CSR 233AS102 Interim 1, 16 July 2021 data cut) (CSR 233AS102 Interim 2, 16 January 2022 data cut)
		in SVC, HHD megascore, time to death or permanent ventilation, time to death	ALSFRS-R scores, SVC, HHD megascores, time to death or permanent ventilation, time to death
Exploratory Endpoints	• Changes from baseline in EIM, MUNIX, and HHD scores. • Changes from baseline in ALSFRS-R scores, SVC, ALSAQ-5 scores, FSS scores, EQ-5D-3L scores, SF-36 scores, and ZBI.	• Change in the MUNIX estimation from baseline to Week 28. • Change from baseline in ALS-related health quality (to include participant QoL and caregiver burden), as measured by ALSAQ-5, FSS, EQ-5D-5L, WPAI, ZBI, SF-36, PGI-C, CGI-C, PGI-S, and CGI-S.	Effects on QoL endpoints (ALSAQ-5 scores, FSS scores, EQ-5D-5L scores, SF-36 scores, WPAI, ZBI, PGI-S, CGI-S), and MUNIX scores. These endpoints were not analyzed in the 102 Interim 1 or Interim 2 CSRs.
Test Product, Route of Administration (RoA) Dosage Regimen Duration of Treatment	RoA: IT bolus injection Tofersen dose levels: 20, 40, 60, and 100 mg Dosage regimen: 3 loading doses administered 2 weeks apart followed by maintenance doses every 4 weeks thereafter Treatment duration: 12 weeks (5 doses)	RoA: IT bolus injection Tofersen dose level: 100 mg Dosage regimen: 3 loading doses administered 2 weeks apart followed by maintenance doses every 4 weeks thereafter Treatment duration: 24 weeks (8 doses)	RoA: IT bolus injection Tofersen dose level: 100 mg (previously 20, 40, or 60 mg depending on when a participant entered the trial) Dosage regimen: 3 loading doses administered 2 weeks apart* followed by maintenance doses every 4 weeks thereafter *Participants who received tofersen in Study 101 Part C receive 2 loading doses of tofersen 100 mg on Days 1 and 29, and placebo on Day 15 to maintain the study blind. Treatment duration: At least 152 weeks and up to 360 weeks
Key Eligibility Criteria	• Weakness attributable to ALS and documented SOD1 mutation[b] • Aged ≥ 18 years at the time of informed consent • FVC ≥ 50%[c]	• Weakness attributable to ALS and a confirmed SOD1 mutation • Aged ≥ 18 years at the time of informed consent • mITT/enriched:	Completion of Study 101 (Parts A, B, or C)

Study ID	**Study 101 Part B** (CSR 233AS101 Parts A and B)	**Study 101 Part C** (CSR 233AS101 Part C)	**Study 102** (CSR 233AS102 Interim 1, 16 July 2021 data cut) (CSR 233AS102 Interim 2, 16 January 2022 data cut)
		○ Protocol-defined SOD1 mutation + prerandomization ALSFRS-R slope decline ≥ 0.2 points/month + SVC ≥ 65% OR ○ Other SOD1 mutation + prerandomization ALSFRS-R slope decline ≥ 0.9 points/month + SVC ≥ 65% • Non-mITT/other: ○ Other SOD1 mutation + prerandomization ALSFRS-R slope decline < 0.9 points/month + SVC ≥ 50%	
Number of Participants Enrolled and Dosed	50 (12 placebo, 38 tofersen; 10/38 received tofersen 100 mg)	108 (36 placebo, 72 tofersen)	139
Mean (median) age at baseline in the ITT	48.5 (47.5) years	49.1 (48.0) years	49.7 (49.0) years
Sex	56% male, 44% female	57.4% male, 42.6% female	58% male, 42% female
Race Distribution	56% White, 2% Asian, 2% Native Hawaiian or Other Pacific Islander, 2% Other, 38% not reported	63.9% White, 8.3% Asian, 0.9% Black or African American, 0.9% Other, 25.9% not reported	59% White, 7% Asian, 1% Black or African American, 1% Native Hawaiian or Other Pacific Islander, 1% Other, 32% not reported
Predominant SOD1 Mutation Types	p.Ala5Val [20%], p.Ile113Thr [10%] and p.Asp91Ala [6%]	p. Ile114Thr [14%], p.Ala5Val [15%], p.gly94Cys [6%], and p.His47Arg [4%]	p.Ile114Thr [17%], p.Ala5Val [12%], p.Asp91Ala [5%], p.Gly94Cys [5%], p.His47Arg [4.5%], and p.Ala90Val [4.5%]
Baseline Disease Characteristics	All participants had limb onset of paresis and carried a SOD1 gene mutation. Baseline disease progression characteristics were most balanced in the tofersen 100 mg and placebo groups,	Baseline and disease characteristics were balanced across treatment groups for use of riluzole and/or edaravone and characteristics related to the stage of disease, including time from onset, total	Baseline ALSFRS-R total score and percent predicted SVC were consistently lower in participants who previously received placebo than participants previously treated with tofersen in

Study ID	Study 101 Part B (CSR 233AS101 Parts A and B)	Study 101 Part C (CSR 233AS101 Part C)	Study 102 (CSR 233AS102 Interim 1, 16 July 2021 data cut) (CSR 233AS102 Interim 2, 16 January 2022 data cut)
	consistent with proportion of fast progressors in each group. These groups had a higher mean prerandomization ALSFRS-R slope, a shorter time since ALS symptom onset and diagnosis, and higher baseline CSF neurofilament levels than the other dose groups.	ALSFRS-R score, and SVC. However, baseline plasma NfL levels were approximately 15% to 25% higher in the tofersen group compared to the placebo group, suggestive that these participants were progressing more quickly at baseline. Consistently, the rate of decline on ALSFRS R from screening to Day 15 (approximate 42-day period) was higher in the tofersen group compared to the placebo group.	Study 101 Part C.
Key Efficacy Results	A consistent trend favoring tofersen was observed across measures of clinical function (total ALSFRS-R score, HHD, ALSAQ-5, FSS, and EQ-5D-3L) and respiratory function (percent predicted SVC), suggesting a slowing of clinical decline; trends were primarily driven by the fast progressor subgroup. SF-36 scores and ZBI results were inconclusive due to limited data collected; analysis of EIM and MUNIX data was inconclusive with no clear differences observed.	The primary endpoint of change from baseline to Week 28 in total ALSFRS-R did not achieve statistical significance. In the faster-progressing subgroups, consistent trends favoring tofersen were observed on the ALSFRS-R, SVC, HHD, and measures of QoL. Post hoc analyses in the ITT population adjusting for baseline plasma NfL to account for individual variability demonstrate greater statistical differentiation favoring tofersen across all clinical measures. Median time to death and permanent ventilation and median time to death were not estimable due to the limited number of events observed. The alternative JRT result was consistent with the result from ANCOVA+MI.	Participants experienced relative maintenance of muscle strength (as measured by HHD megascore) and small declines in clinical function (as measured by ALSFRS-R total score and percent predicted SVC) over 24 weeks of open-label tofersen treatment in Study 102, regardless of prior treatment assignment in Study 101 Part C.

[a] Study start dates provided are the dates of First-Participant-In for each study/part.
[b] The requirement for a documented SOD1 mutation was introduced with Protocol 233AS101 Parts A and B Version 2.
[c] Participants with stable FVC < 50% but ≥ 45%, whose FVC did not decline by more than 5% in the prior 6 months, could have been considered for inclusion, at the discretion of the Investigator.

2.1 101 試験パート B（MAD）の結果の概要

101 試験の MAD のパート（パート B）に 50 例が組み入れられ、このうち 12 例がプラセボを投与され、10 例がトフェルセン 100 mg を投与された。SAP で定義された急速進行性の基準を満たした被験者の割合と同様に、ベースライン時の疾患進行の特徴はトフェルセン 100 mg 群及びプラセボ群で均衡がとれており、比較が可能であった。

プラセボ群と比べ、トフェルセン 100 mg 群では、12 週間にわたり ALSFRS-R、SVC、及び HHD を含めた複数の探索的な臨床評価項目で明らかな進行の緩徐化が認められた（Table 6）。ALSAQ-5、EQ-5D-3L、及び FSS を含めた QoL の評価項目で同様に効果が認められた。投与期間が比較的短かったことから予想されたとおり、これらの効果は主に急速進行性の部分集団によるものであった。

これらの結果の解釈は、被験者数が少ないこと、投与期間及び追跡期間が短いこと、有効性評価項目が探索的であること、及び急速進行性の部分集団を定義する方法により限界があった。

Table 6: Summary of Change in ALSFRS-R Total Score, SVC % Predicted, and HHD Megascore

	Overall		Faster-Progressing Subgroup		Other Subgroup	
	Placebo (N = 12)	**Tofersen 100 mg (N = 10)**	**Placebo (N = 4)**	**Tofersen 100 mg (N = 4)**	**Placebo (N = 8)**	**Tofersen 100 mg (N = 6)**
ALSFRS-R total score Adjusted mean change at Day 85	-5.63	-1.19	-16.73	0.84	-1.56	-0.25
Tof-Plac: Adj. mean difference (95% CI)		4.44 (-0.34, 9.22)		17.57 (8.62, 26.52)		1.31 (-3.55, 6.17)
Nominal p-value		0.2089		0.0433		0.7453
SVC % predicted Adjusted mean change at Day 85	-14.46	-7.08	-30.31	-8.62	-6.79	-6.22
Tof-Plac: Adj. mean difference (95% CI)		7.38 (-3.21, 17.97)		21.68 (3.61, 39.76)		0.57 (-10.31, 11.44)
Nominal p-value		0.0649		0.0433		0.2453
HHD megascore Mean change (SD) at Day 92	-0.26 (0.416)	-0.03 (0.181)	-0.52 (0.424)	0.01 (0.138)	-0.13 (0.372)	-0.05 (0.215)
Nominal p-value		0.4288		0.0433		0.4386

NOTE 1: Baseline was defined as Day 1 value prior to the study drug. If Day 1 value is missing, the nonmissing value (including screening visit) closest to and prior to the first dose was used as the baseline value.
NOTE 2: Lower scores depicted a worsening in function.
NOTE 3: The analyses for ALSFRS-R and SVC were based on MMRM model using an unstructured variance-covariance matrix structure. Dose group, visit, treatment-by-visit interaction, baseline score and baseline score-by-visit interaction terms were included in the model as explanatory variables (adjusting for disease progression type as a covariate in "overall" analysis only). P-values were obtained using a 2-sample Wilcoxon rank sum test based on the dataset after applying MMRM imputation.
NOTE 4: For HHD megascore, missing values up to and including Day 92 were imputed using LOCF; baseline data were not carried forward. P-value was obtained using a 2-sample Wilcoxon rank sum test.
Sources: For ALSFRS-R, refer to CSR Parts A and B, Table 86, Table 90, Table 92, and Table 95.
For SVC, refer to CSR Parts A and B, Table 99, Table 101, Table 102, and Table 103.
For HHD, refer to CSR Parts A and B, Table 105 and Table 107.

2.2 101 試験パート C の結果の概要

2.2.1 解析対象集団

108 例が無作為化され（トフェルセン 100 mg 群：72 例、プラセボ群：36 例）、このうち 60 例が急速な疾患進行に関する予後エンリッチメント基準を満たし、mITT 集団であった（トフェルセン 100 mg 群：39 例、プラセボ群：21 例、Table 7）。

Table 7: Study 101 Part C Participant Disposition

	Faster-Progressing Subgroups; mITT		Slower-Progressing Subgroups; Non-mITT		ITT	
	placebo	**tofersen**	**placebo**	**tofersen**	**placebo**	**tofersen**
Dosed n (%)	21 (100)	39 (100)	15 (100)	33 (100)	36 (100)	72 (100)
Died n (%)	0	1 (3)	0	0	0	1 (1)
Completed study treatment n (%)	19 (91)	33 (85)	14 (93)	30 (91)[a]	33 (92)	63 (88)[a]
Withdrew from study n (%)	2 (10)	6 (15)	1 (7)	2 (6)	3 (8)	8 (11)
- AE	0	1 (3)	0	1 (3)	0	2 (3)
- Consent withdrawn	0	1 (3)	1 (7)	1 (3)	1 (3)	2 (3)
- Death	0	1 (3)	0	0	0	1 (1)
- Disease progression	2 (10)	3 (8)	0	0	2 (6)	3 (4)

[a] One participant discontinued treatment due to pulmonary embolism but continued in the study.
Source: CSR 233AS101 Part C, Table 8.

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られた。本試験で 42 種類の SOD1 変異を評価したところ、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 に組み入れた被験者又はスクリーニング不適格となった被験者の遺伝子変異及び関連する分類の包括的な一覧は、233AS101 試験パート C の CSR の Appendix 16.2.4 の Table 3、Table 4、及び Table 5 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の有無並びに症状発現からの期間、ALSFRS-R 合計スコア、及び SVC を含めた疾患の病期を反映する特性に関して、ベースライン及び疾患の特性は投与群間で均衡がとれていた（Table 8）。

しかし、疾患進行の速度を反映したベースライン時の特性は、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時の NfL 濃度（1.4 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。ALSFRS-R のスクリーニング時から Day 15 まで（約 42 日間）の低下速度は、プラセボ群と比較してトフェルセン群の方が一貫して大きかった。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。集団を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、こうした不均衡が最小限に抑えられた（Table 8）。

Table 8: Key Study 101 Part C Baseline Disease Characteristics

	Faster-Progressing Subgroups				**Slower-Progressing Subgroups**				**ITT**	
	mITT		**≥ median NfL**		**Non-mITT**		**< median NfL**			
	Placebo (n=21)	**Tofersen (n=39)**	**Placebo (n=16)**	**Tofersen (n=38)**	**Placebo (n=15)**	**Tofersen (n=33)**	**Placebo (n=20)**	**Tofersen (n=34)**	**Placebo (n=36)**	**Tofersen (n=72)**
Time from symptom onset (months)										
Median	8.28	8.25	10.25	8.94	39.56	35.48	31.72	28.85	14.59	11.37
(Range)	2.4, 21.3	1.7, 18.5	2.4, 30.3	2.3, 59.9	11.8, 103.2	3.9, 145.7	3.0, 103.2	1.7, 145.7	2.4, 103.2	1.7, 145.7
Riluzole use n(%)	13 (61.9)	25 (64.1)	11 (68.8)	21 (55.3)	9 (60)	20 (60.6)	11 (55)	24 (70.6)	22 (61.1)	45 (62.5)
Edaravone use n(%)	1 (4.8)	2 (5.1)	1 (6.3)	2 (5.3)	2 (13.3)	4 (12.1)	2 (10)	4 (11.8)	3 (8.3)	6 (8.3)
Total CSF SOD1 protein at baseline (ng/mL) Mean (SD)	118.1 (63.09)	117.2 (62.04)	108.6 (46.41)	119.3 (58.30)	135.8 (79.79)	120.4 (49.73)	139.0 (83.02)	118.0 (54.76)	125.5 (70.0)	118.7 (56.28)
Plasma NfL (pg/mL)										
Mean (SD)	127.3 (94.4)	146.2 (82.63)	160.3 (85.51)	159.4 (73.69)	37 (29.51)	47.6 (41.8)	33.1 (20.91)	36.2 (21.93)	89.7 (86.47)	100.4 (82.83)
Geometric Mean	92.7	121.8	N/P	N/P	28.4	33.2	N/P	N/P	56.59	66.56
Range	9, 370	12, 329	78, 370	78, 329	8, 99	5, 211	8, 70	5, 74	8, 370	5, 329

	Faster-Progressing Subgroups				Slower-Progressing Subgroups				ITT	
	mITT		≥ median NfL		Non-mITT		< median NfL			
	Placebo (n=21)	**Tofersen (n=39)**	**Placebo (n=16)**	**Tofersen (n=38)**	**Placebo (n=15)**	**Tofersen (n=33)**	**Placebo (n=20)**	**Tofersen (n=34)**	**Placebo (n=36)**	**Tofersen (n=72)**
% predicted SVC										
Mean (SD)	83.73 (17.87)	80.30 (14.22)	81.76 (19.6)	82.61 (17.16)	87.09 (14.82)	84.20 (19.02)	87.83 (13.52)	81.51 (16.16)	85.13 (16.53)	82.09 (16.59)
ALSFRS-R total score										
Mean (SD)	35.4 (5.66)	36 (6.4)	34.5 (5.76)	36.4 (6.6)	39.9 (5.09)	38.1 (5.13)	39.6 (4.9)	37.5 (5.06)	37.3 (5.81)	36.9 (5.91)
ALSFRS-R prerandomization slope decline										
Median	-1.512	-1.34	-1.440	-1.173	-0.165	-0.30	-0.208	-0.314	-0.892	-0.747
Range	-4.91, -0.42	-8.30, -0.39	-4.91, -0.42	-8.30, -0.17	-0.84, -0.02	-0.77, 0.00	-3.04, -0.02	-6.60, 0.00	-4.91, -0.02	-8.30, 0.00
ALSFRS-R run-in slope decline										
Mean (SD)	-1.3 (3.91)	-1.8 (2.47)	-1.8 (2.71)	-1.7 (2.28)	0.1 (1.87)	-0.1 (1.34)	0.1 (3.48)	-0.3 (1.82)	-0.7 (3.25)	-1.0 (2.19)

N/P = Not presented
NOTE 1: ALSFRS-R run-in slope decline was based on the slope between Screening and postbaseline Day 15.
NOTE 2: All participants who received edaravone also received riluzole.
Sources: Clinical Study Report Part C, Section 14.2, Output 9, Output 10, Output 27 and Output 28.

2.2.2 101 試験パート C を対象とした有効性解析

1.4 項で述べた理由により、以下の項では、該当する場合に各評価項目の有効性解析を 3 つの方法で示した。

- 治験実施計画書に規定されたエンリッチメント戦略による変異型及び無作為化前の ALSFRS-R の傾きに基づく解析（mITT 集団／non-mITT 集団）
- ベースライン時の血漿中 NfL 濃度に基づく解析
  - ITT 集団のベースライン時の血漿中 NfL 濃度の中央値（75.6 pg/mL）を用い、ニューロフィラメントに基づく急速進行性及び緩徐進行性の部分集団を定義した。
- ITT 集団を対象にベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整した事後解析
- 種々の共変量の組み合わせで調整したときに、被験者集団及び疾患進行性の部分集団に一貫した治療効果が認められることを示す各評価項目のフォレストプロット

2.2.2.1 ALSFRS-R

Week 28 の ALSFRS-R 合計スコアの変化量は、mITT 集団を対象に主要評価項目として評価し、この評価には死亡以外の試験中止について MI を併用した JRT を使用した。mITT 集団では、Week 28 の ALSFRS-R のベースラインからの変化量にトフェルセン群を支持する差（1.2）が認められたが、統計学的に有意ではなかった（95% CI：-3.2, 5.5、MI を併用した JRT、p = 0.97）。MI を併用した ANCOVA による感度分析の結果から、MI を併用した JRT の結果が支持された（nominal p = 0.5998）。non-mITT 集団では、6 ヵ月時点に投与群間に明確な差が予想されなかったため、正式な統計学的な検定は行わなかった。本集団では死亡はなかったため、JRT は必要ではなかった。本集団では、トフェルセン群を支持する投与群間差であった（調整された平均値の差［95%CI］：1.4［1.1, 3.9］；ANCOVA + MI nominal p = 0.2726）［Table 9］。

NfL 濃度（ベースライン時の血漿中 NfL 濃度が中央値以上）で層別した急速進行性の部分集団では、Week 28 の ALSFRS-R のベースラインからの変化量の投与群間差は 3.9 ポイント（95%CI：-1.00, 8.86）であり、トフェルセン群が支持された。NfL 濃度（ベースライン時の血漿中 NfL 濃度が中央値未満）で層別された緩徐進行性の部分集団では、Week 28 のベースラインからの変化量にトフェルセン群を支持する傾向が若干認められた（投与群間差：0.6 ポイント；［95% CI：-1.33, 2.58］）［Table 9］。

ITT 集団全体を対象とした事後解析は、共変量として罹患期間の代わりにベースライン時の NfL 濃度で調整して実施され、MI モデルの一環でもあった。本解析では、投与群間差は 2.1 ポイントであり（プラセボ群に対しトフェルセン群は減少を約 34%緩徐化）、トフェルセン群を支持する結果が認められ、統計学的な差は大きかった（95% CI：-0.33, 4.54、JRT + MI nominal p = 0.5015、ANCOVA + MI nominal p = 0.0904）［Table 9］。

様々な理由（投与中断、実施医療機関に来院できないなど）により、一部の被験者で治験薬投与をすることができなかった。2 回以上連続での不投与は有効性に影響を及ぼす可能性がある。ITT 集団を対象に行われた事後感度分析では以下の 2 つの影響が示されている。i）2 回以上連続した不投与、及び ii）症例数の少ない試験における 2 回以上連続した不投与による外れ値である

（233AS101 試験パート C の CSR、Section 11.3.1.2）。この 2 つの解析では、計画された解析と比べて投与群間差が大きくなりトフェルセン群を支持していたことから（それぞれ 2.2［95% CI：-0.23, 4.54］及び 2.4［95% CI：0.15, 4.66］）、症例数が少ない場合は、連続した不投与による 1 つ又は 2 つの外れ値が影響を及ぼす可能性が示された。

1.6.6.1 項で述べた代替の JRT による事後解析は、まず、有効性の当初の主要解析と同様にベースライン時の症状発現からの罹患期間で調整した mITT 集団を対象として示されている。代替の JRT から得た形式上の p 値は 0.6098 であった。これは MI を併用した ANCOVA 解析の結果と一貫性があった。ベースライン時の NfL 濃度の予後因子としての有用性を考慮すると、mITT 集団を対象としたモデルで共変量をベースライン時の症状発現からの罹患期間からベースライン時の血漿中 NfL 濃度に代えることによって、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整したその他の解析と整合して形式上の p 値が小さくなった（nominal p = 0.2716）。ベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整し ITT 集団を対象とした代替の JRT でも、対応する MI を併用した ANCOVA 解析よりもさらに整合性のある p 値が得られた（nominal p = 0.0595）。

Table 9: Summary of Key Analyses for ALSFRS-R Total Score at Week 28

		Study 101 Part C	
		Placebo	**Tofersen**
Faster-progressing subgroup	**mITT**		
	N	21	39
	Adjusted mean	-8.14	-6.98
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		1.2 (-3.2, 5.5)
	p-value (Joint rank+MI)		0.9689
	Nominal p–value (ANCOVA+MI)		0.5998
	Post hoc (alternative Joint Rank + MI):		
	Nominal p-value adjusting for disease duration		0.6098
	Nominal p-value adjusting for baseline plasma NfL		0.2716
	≥median (75.6 pg/mL) baseline plasma NfL		
	N	16	38
	Adjusted mean	-11.3	-7.3
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		3.9 (-1.0, 8.9)
	Nominal p-value ANCOVA+MI		0.1184
Slower-progressing subgroup	**non-mITT**		
	N	15	33
	Adjusted mean	-2.73	-1.33
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		1.4 (-1.1, 3.9)
	Nominal p–value (ANCOVA+MI)		0.2726
	<median (75.6 pg/mL) baseline plasma NfL		
	N	20	34
	Adjusted mean	-1.8	-1.2
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		0.6 (-1.3, 2.6)
	Nominal p-value ANCOVA+MI		0.5281
ITT population	**Prespecified analyses with disease duration as a covariate**		
	N	36	72
	Adjusted mean	-5.8	-4.5
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		1.4 (-1.3, 4.1)
	Post hoc nominal p-value (joint rank + MI)		0.9130
	Post hoc nominal p-value ANCOVA + MI		0.3218
	Post hoc analyses with baseline plasma NfL as a covariate		
	N	36	72
	Adjusted mean	-6.2	-4.1
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		2.1 (-0.3, 4.5)
	Nominal p-value (joint rank + MI)		0.5015
	Nominal p-value (ANCOVA + MI)		0.0904
	Post hoc (alternative Joint Rank + MI):		

		Study 101 Part C	
		Placebo	**Tofersen**
	Nominal p-value adjusting for baseline plasma NfL		0.0595
	Post hoc analyses accounting for ≥2 consecutive missed doses and inclusion of baseline plasma NfL		
	N	36	72
	Adjusted mean	-6.1	-4.0
	Tof - plac: Adj. mean difference (95% CI)		2.2 (-0.23, 4.54)
	Nominal p-value (Joint-rank + MI)		0.5656
	Nominal p-value (ANCOVA + MI)		0.0769
	Post hoc analyses excluding outliers and inclusion of baseline plasma NfL		
	N	36	71
	Adjusted mean	-6.2	-3.8
	Tof - plac: Adj. mean difference (95% CI)		2.4 (0.15, 4.66)
	Nominal p-value (Joint-rank + MI)		0.4359
	Nominal p-value (ANCOVA + MI)		0.0369

NOTE 1: Lower scores depicted a worsening in function. Data were presented at Week 28. Analyses for subgroups defined by median plasma NfL and run-in slope were based on the ITT population. All p-values for the ITT population were post hoc.
NOTE 2: MI was used for missing data. Prespecified model included treatment, use of riluzole or edaravone, relevant baseline score and postbaseline values. Separate models for mITT and non-mITT were used and combined for ITT analyses. In the post hoc analyses adjusting for baseline plasma NfL, this was also included in the MI model.
NOTE 3: Adjusted means, treatment differences and corresponding 95% CIs and nominal p-values for prespecified analyses 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 included 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 included ranked covariates for continuous variables. The ANCOVA models included treatment as a fixed effect and adjusted for the following covariates: baseline disease duration since symptom onset, relevant baseline score, and use of riluzole or edaravone. For analyses adjusting for baseline plasma NfL, this was included in the model instead of baseline disease duration.
Sources: CSR 233AS101 Part C, Section 14.3.1, Outputs 1, 11, 17, 27 to 28 and 31 to 32; Section 14.3.1.1, Outputs 8 and 9. ISE Appendix 3.4.2 ALSFRS-R, Output 18

ベースラインから Week 28 の ALSFRS-R 合計スコアの変化についての事前に規定した解析及び事後解析について Figure 6 に示す。事前に規定した有効性解析では mITT 集団を対象とした、解析対象集団の共変量として罹病期間で調整し、ベースライン時の NfL 濃度で調整することの重要性及び影響を検討するのに様々な事前に規定した解析及び事後解析を実施した。事後解析は、MI を併用した ANCOVA 及び MI を併用した JRT において、ベースラインから Week 28 までの ALSFRS-R 合計スコアの変化に関する解析の連続共変量として、ベースライン時の NfL 濃度で調整することの重要性及びその影響を検討した。フォレストプロットは、種々の集団及び疾患進行性の部分集団（mITT 集団／non-mITT 集団、及び NfL 濃度が中央値未満／以上）のいずれも、また、種々の共変量の組み合わせで調整した場合でも、一貫してトフェルセン群を支持する傾向が示されている。

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

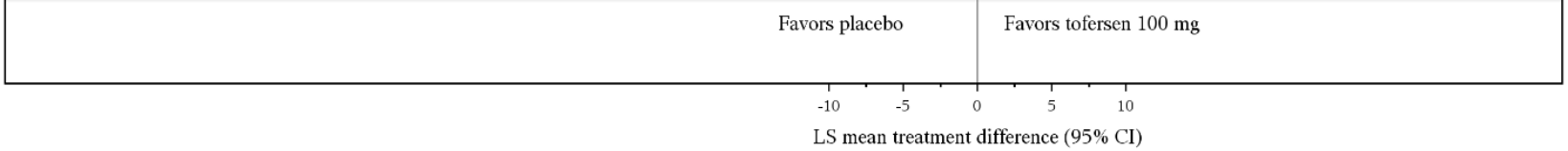
た、最も頑健性のある適切な解析であると考えられる。事前に規定した疾患進行性の部分集団（mITT 集団／non-mITT 集団、及び NfL 濃度が中央値未満／以上）でも、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整すると、同様の一貫した傾向がみられる。予後因子として有用であり、ベースライン時の疾患の不均一性を考慮できることから、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整すると推定の精度が向上する。これは文献とも一貫性があり、28 週間に観察された ALSFRS-R スコアの変化とこれら各共変量との相関とも一貫性がある（233AS101 試験パート C の CSR、Section 11.2）。

本項で上述した解析の裏付けとして、代替の MI を併用した JRT 法でも、MI を併用した ANCOVA と同様の、より一貫した結果が示されている。

Figure 6: 233AS101 Part C: Forest Plot of ALSFRS-R Total Score Change From Baseline to Week 28

Page: 1 of 2

Population /Subgroup	Covariate adjustment for baseline disease status	Include NfL in MI model?	Study 101 Part C SAP prespecified	No. of subjects (a)	LSM Diff	95% CI	ANCOVA+MI p-value (a)	JRT+MI p-value (b)	Posthoc Alternative JRT+MI p-value (c)
ITT	Base. plasma NfL	Y		p= 36; t= 72	2.1	(-0.33, 4.54)	0.0904	0.5015	0.0595
	Disease duration	N/A	Y	p= 36; t= 72	1.4	(-1.34, 4.09)	0.3218*	0.9130*	0.2605
	ALSFRS-R pre-rand. slp.	N/A		p= 36; t= 72	1.3	(-1.53, 4.19)	0.3634	0.9632	0.3678
	ALSFRS-R pre-rand. slp + Base. plasma NfL	Y		p= 36; t= 72	2.1	(-0.39, 4.51)	0.0997	0.5588	0.0751
	Disease duration + Base. plasma NfL	Y		p= 36; t= 72	2.0	(-0.42, 4.44)	0.1052	0.5781	0.0644
	Unadj. for base. disease status	N/A		p= 36; t= 72	1.5	(-1.43, 4.33)	0.3239	0.8743	0.3448
mITT	Base. plasma NfL	Y		p= 21; t= 39	2.2	(-1.82, 6.16)	0.2858	0.5842	0.2122
	Base. plasma NfL	N		p= 21; t= 39	2.0	(-2.22, 6.21)	0.3532	0.6810	0.2716
	Disease duration	N/A	Y	p= 21; t= 39	1.2	(-3.19, 5.53)	0.5998	0.9689	0.6098
	Disease duration + Base. plasma NfL	Y		p= 21; t= 39	2.0	(-1.96, 5.99)	0.3211	0.6217	0.2115
	Disease duration + Base. plasma NfL	N	Y	p= 21; t= 39	1.8	(-2.37, 5.96)	0.3987	0.7310	0.2649
non mITT	Base. plasma NfL	Y		p= 15; t= 33	1.6	(-0.66, 3.93)	0.1615		
	Base. plasma NfL	N		p= 15; t= 33	1.6	(-0.71, 3.95)	0.1733		
	Disease duration	N/A	Y	p= 15; t= 33	1.4	(-1.10, 3.90)	0.2726		
	Disease duration + Base. plasma NfL	Y		p= 15; t= 33	1.7	(-0.59, 3.96)	0.1471		
	Disease duration + Base. plasma NfL	N	Y	p= 15; t= 33	1.7	(-0.64, 3.97)	0.1570		
ITT: >= Median (75.60 pg/mL)	Base. plasma NfL	Y		p= 16; t= 38	4.2	(-0.33, 8.80)	0.0688		
	Disease duration	N/A	Y	p= 16; t= 38	3.9	(-1.00, 8.86)	0.1184*		
	Disease duration + Base. plasma NfL	Y		p= 16; t= 38	4.3	(-0.35, 8.89)	0.0698		
ITT: < Median (75.60 pg/mL)	Base. plasma NfL	Y		p= 20; t= 34	0.8	(-1.22, 2.89)	0.4250		
	Disease duration	N/A	Y	p= 20; t= 34	0.6	(-1.33, 2.58)	0.5281*		
	Disease duration + Base. plasma NfL	Y		p= 20; t= 34	0.7	(-1.36, 2.70)	0.5180		



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

233AS101 Part C: Forest plot of ALSFRS-R total score change from baseline to Week 28

NOTE 1: For the analyses with 'Include NfL in MI model?' = Y, multiple imputation including use of riluzole or edaravone, baseline plasma NfL, and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. For the analyses with 'Include NfL in MI model?' = N or N/A, multiple imputation including use of riluzole or edaravone, and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The multiple imputation is run separately for each population (mITT, non-mITT, ITT) except for the SAP prespecified ITT analysis adjusting for disease duration where the combined MI dataset from the mITT and non-mITT population is used.
NOTE 2: The ANCOVA models include treatment as a fixed effect and adjusting for the following covariates: the specified covariate(s), baseline ALSFRS-R, and use of riluzole or edaravone.
* No statistical testing was prespecified for ITT population in 233AS101 SAP; all p-values are post hoc for ITT prespecified 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 in pre- and post-treatment ranked scores; deaths are ranked the lowest; MI is used for handling missing data due to withdrawals other than death. Continuous covariates are included in the ANCOVA as ranked scores.
Abbreviations: ALSFRS-R = Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised; ANCOVA = analysis of covariance; MI = multiple imputation; LS = least square; p = placebo; t = tofersen 100 mg.
Source: biib067/ise/ise-bla2-global/f-cf-alsf-forest-pc.sas Run Date: 29SEP2022

種々の中間事象を扱うために、ITT 集団を対象に、101 試験パート C の有効性の主要解析で用いられた当初の JRT 及び代替の JRT を用いて、Week 28 時点の事後解析を実施した。両方法は MI を併用した。ベースラインからの変化に関して 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 10 に要約する。代替の MI を併用した JRT の結果は、MI を併用した ANCOVA の結果と一貫性があった。

Table 10: 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)**
ANCOVA + MI	p=0.0904
JRT+MI accounting for deaths	p=0.5015
JRT+MI accounting for deaths + PV	p=0.5694
JRT+MI accounting for deaths + PV + withdrawal due to disease progression	p=0.5397
Alternative JRT+MI accounting for deaths	p=0.0595
Alternative JRT+MI accounting for deaths + PV	p=0.0635
Alternative JRT+MI accounting for deaths + PV + withdrawal due to disease progression	p=0.0595

NOTE 1: All analyses were post hoc, and all p-values are 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 include 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 3.4.2 ALSFRS-R, Outputs 18, 21, 58, and 59.

2.2.2.2 SVC

Week 28 の SVC（%予測値）のベースラインからの変化量の投与群間差は、mITT 群（7.9［95% CI：-3.5, 19.3］；nominal p = 0.323［JRT+MI］）及び non-mITT 集団（4.6［95% CI：-1.2, 10.5］）のいずれも、プラセボ群と比べトフェルセン群を支持するものであった［Table 11］。

NfL 濃度で層別した急速進行性の部分集団（ベースライン時の血漿中 NfL 濃度が中央値以上）では、Week 28 の SVC（%予測値）のベースラインからの変化量における投与群間差は 9.91%となり、トフェルセン群を支持する結果が示された（95% CI：-2.27, 22.09）。NfL 濃度で層別した緩徐進行性の部分集団（ベースライン時の血漿中 NfL 濃度が中央値未満）では、Week 28 の SVC（%予測値）のベースラインからの変化量における投与群間差は 6.05 となり、トフェルセン群を支持する結果が示された（95% CI：-0.58, 12.68）。

ITT 集団を対象とし、罹患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 濃度を共変量として調整した事後解析では、Week 28 の%予測値の投与群間差は 8.5 となり、トフェルセン群を支持する結果が示された（プラセボ群と比べてトフェルセン群は低下を約 54%緩徐化；［95% CI：1.8, 15.2］；JRT+MI nominal p = 0.0689；ANCOVA+MI nominal p = 0.0128）。

Table 11: Summary of Key Analyses for Percent Predicted SVC at Week 28

		Study 101 Part C	
		Placebo	**Tofersen**
Faster-progressing subgroup	**mITT**		
	N	21	39
	Adjusted mean	-22.2	-14.31
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		7.9 (-3.5, 19.3)
	Nominal p-value (Joint rank+MI)		0.3233
	Nominal p–value (ANCOVA+MI)		0.1755
	≥ median (75.6 pg/mL) baseline plasma NfL		
	N	16	38
	Adjusted mean	-26.1	-16.2
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		9.9 (-2.3, 22.1)
	Nominal p-value ANCOVA+MI		0.1108
Slower- progressing subgroup	**non-mITT**		
	N	15	33
	Adjusted mean	-4.9	-0.3
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		4.6 (-1.2, 10.5)
	Nominal p–value (ANCOVA+MI)		0.1210
	< median (75.6 pg/mL) baseline plasma NfL		
	N	20	34
	Adjusted mean	-5.6	0.4
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		6.1 (-0.6, 12.7)
	Nominal p-value ANCOVA+MI		0.0736
ITT population	**Prespecified analyses with disease duration as a covariate**		
	N	36	72
	Adjusted mean	-14.8	-7.9
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		6.9 (-0.1, 13.8)
	Post hoc nominal p-value (joint rank + MI)		0.1517
	Post hoc nominal p-value ANCOVA + MI		0.0522
	Post hoc analyses with baseline plasma NfL as a covariate		
	N	36	72
	Adjusted mean	-15.8	-7.3
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		8.5 (1.8, 15.2)
	Nominal p-value (joint rank + MI)		0.0689
	Nominal p-value (ANCOVA + MI)		0.0128

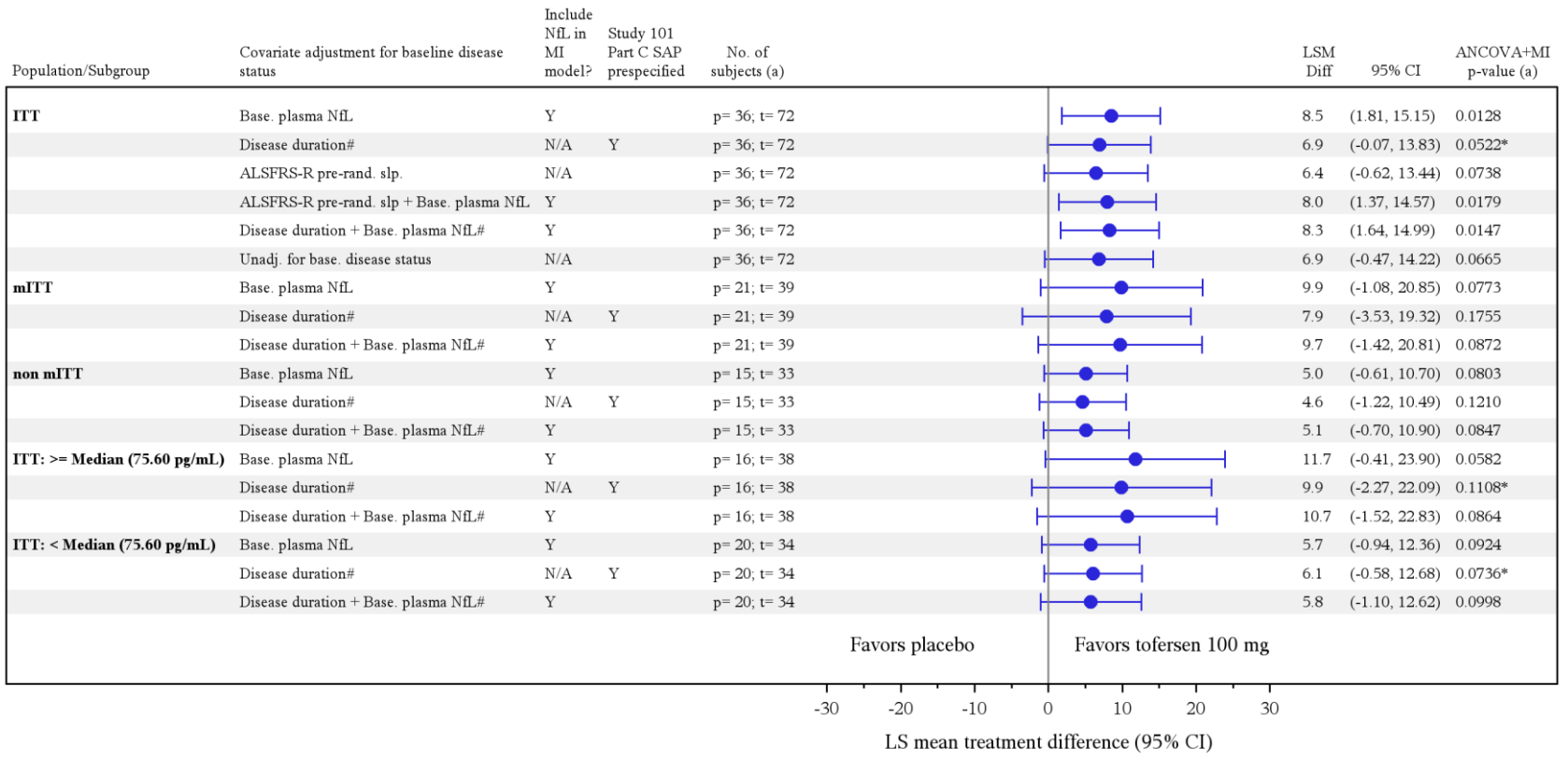
NOTE 1: Lower values depicted a worsening in function. Data were presented at Week 28. Analyses for subgroups defined by median plasma NfL and run-in slope were based on the ITT population. All p-values for the ITT population were post hoc.
NOTE 2: MI was used for missing data. For prespecified analysis, separate imputation models for mITT and non-mITT were

used and combined for the ITT analysis. The model included treatment, use of riluzole or edaravone, baseline ALSFRS-R score, relevant baseline score and postbaseline values. For post hoc ITT analyses adjusted for baseline plasma NfL, the multiple imputation model was based on all participants in the ITT population and included treatment, baseline plasma NfL, use of riluzole or edaravone, relevant baseline score and postbaseline values.
NOTE 3: Adjusted means, treatment differences 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 are ranked the lowest, in conjunction with MI for handling missing data due to withdrawals other than death. The ANCOVA models for prespecified analyses included treatment as a fixed effect and adjusted for the following covariates: baseline disease duration since symptom onset, baseline ALSFRS-R score, relevant baseline score, and use of riluzole or edaravone. The ITT analysis adjusted for baseline plasma NfL used the same model except baseline disease duration since symptom onset and baseline ALSFRS-R score were replaced by baseline plasma NfL
Sources: CSR 233AS101 Part C, Section 14.3.2, Outputs 1, 2, 5, 13 and 30; Section 14.3.2.1, Output 29.

ベースラインから Week 28 の SVC%予測値の変化について、事前に規定した解析及び事後解析について Figure 7 に示す。事前に規定した有効性解析では mITT 集団を対象とした、解析対象集団の共変量として罹病期間で調整し、連続共変量としてベースライン時の NfL で調整することの重要性及び影響を検討するのに様々な事前に規定した解析及び事後解析を実施した。フォレストプロットは、種々の集団及び疾患進行性の部分集団（mITT 集団／non-mITT 集団、及び NfL 濃度が中央値以上／未満）のいずれも、また、種々の共変量の組み合わせで調整した場合にも、一貫してトフェルセン群を支持する傾向を示している。

Figure 7: 233AS101 Part C: Forest Plot of Percent Predicted SVC Change From Baseline to Week 28

Page: 1 of 2



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

233AS101 Part C: Forest plot of percent predicted SVC change from baseline to Week 28

NOTE 1: For the analyses with 'Include NfL in MI model?' = Y, multiple imputation including use of riluzole or edaravone, baseline plasma NfL, and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. For the analyses with 'Include NfL in MI model?' = N or N/A, multiple imputation including use of riluzole or edaravone, and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The multiple imputation is run separately for each population (mITT, non-mITT, ITT) except for the SAP prespecified ITT analysis adjusting for disease duration where the combined MI dataset from the mITT and non-mITT population is used.
NOTE 2: The ANCOVA models include treatment as a fixed effect and adjusting for the following covariates: the specified covariate(s), 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 for ITT population in 233AS101 SAP; all p-values are post hoc for ITT prespecified 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 = placebo; t = tofersen 100 mg.
Source: biib067/ise/ise-bla2-global/f-cf-svc-forest-pc.sas Run Date: 29SEP2022

2.2.2.3 HHD メガスコア

mITT 集団及び non-mITT 集団においてトフェルセン群で筋力低下を緩徐化する傾向が若干認められた。トフェルセン群を支持する差がそれぞれ 0.02（95%CI：-0.21, 0.26）及び 0.09（95% CI：-0.08, 0.26）認められた。これらの傾向は、上肢筋と比べ下肢筋の方で明確であった。

NfL 濃度で層別した急速進行性の部分集団（ベースライン時の血漿中 NfL 濃度が中央値以上）では、HHD メガスコアの Week 28 におけるベースラインからの変化量の投与群間差は 0.13（95% CI：-0.10, 0.37）で、トフェルセン群を支持する結果が示された。NfL 濃度で層別した緩徐進行性の部分集団（ベースライン時の血漿中 NfL 濃度が中央値未満）では、Week 28 におけるベースラインからの変化量の群間差は 0.09 で、トフェルセン群を支持する結果が示された。

ITT 集団全体を対象とし、共変量として罹患期間の代わりにベースライン時の NfL 濃度で調整した事後解析では、Week 28 の HHD メガスコアの投与群間差は 0.10 であり、トフェルセン群を支持する結果が示された（プラセボ群と比べトフェルセン群の方が低下を約 31%緩徐化；［95%CI：-0.04, 0.23］； ANCOVA+MI nominal p = 0.1547）［Table 12］。ITT 集団における下肢の HHD の投与群間差は 0.22 で、トフェルセン群を支持する結果（95%CI：0.04, 0.40）であり、形式的に統計学的に有意であった（p = 0.0169）［233AS101 試験パート C の CSR、Section 14.3.2.2、Output 45］。

Table 12: Summary of Key Analyses for HHD Megascore at Week 28

		Study 101 Part C	
		Placebo	**Tofersen**
Faster-progressing subgroup	**mITT**		
	N	21	39
	Adjusted mean	-0.37	-0.34
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		0.02 (-0.21, 0.26)
	Nominal p–value (ANCOVA+MI)		0.8390
	≥ median (75.6 pg/mL) baseline plasma NfL		
	N	16	38
	Adjusted mean	-0.49	-0.36
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		0.13 (-0.10, 0.37)
	Nominal p-value ANCOVA+MI		0.2690
Slower-progressing subgroup	**non-mITT**		
	N	15	33
	Adjusted mean	-0.18	-0.09
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		0.09 (-0.08, 0.26)
	Nominal p–value (ANCOVA+MI)		0.2832

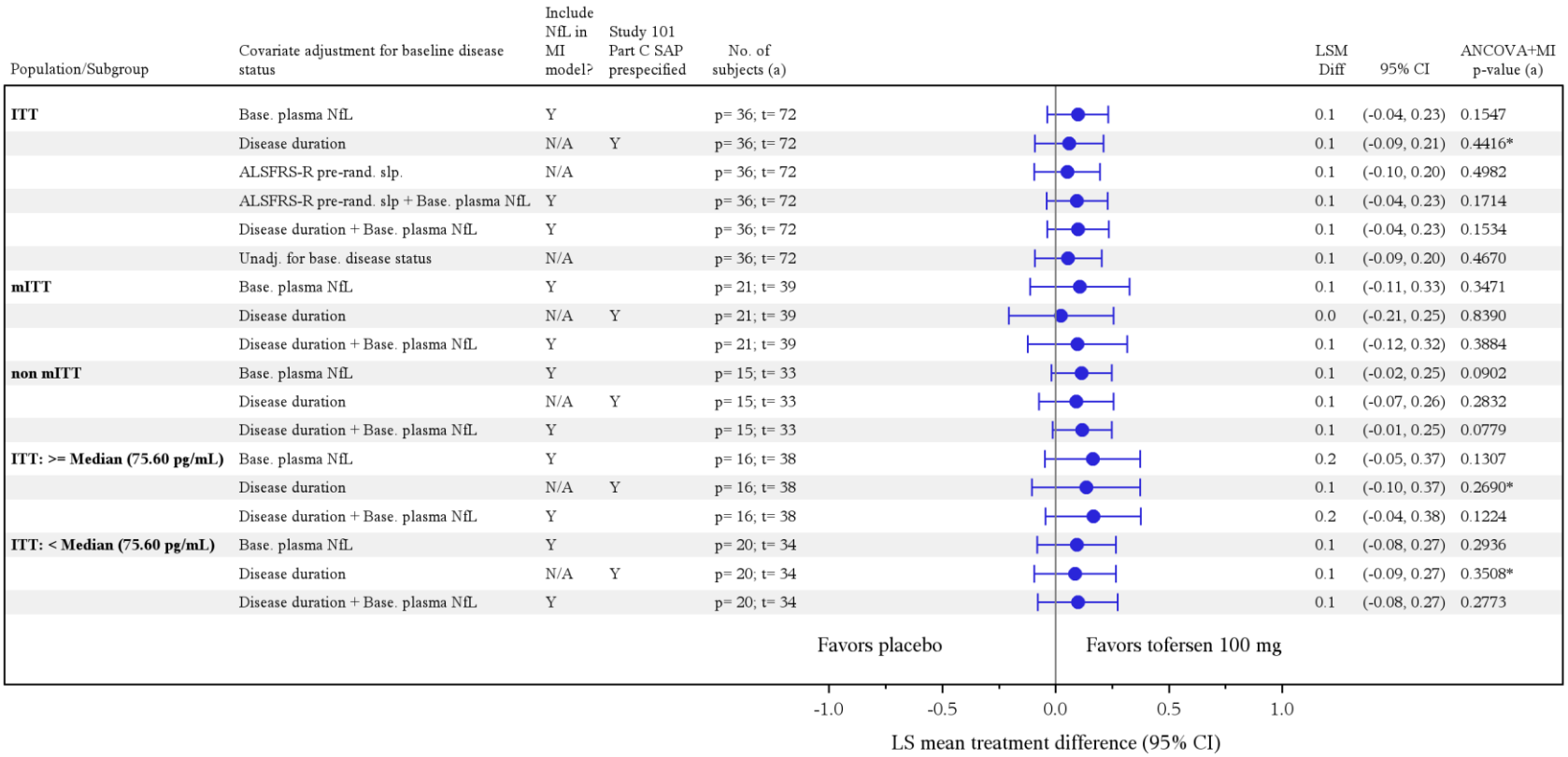
		Study 101 Part C	
		Placebo	**Tofersen**
	< median (75.6 pg/mL) baseline plasma NfL		
	N	20	34
	Adjusted mean	-0.17	-0.09
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		0.09 (-0.10, 0.27)
	Nominal p-value ANCOVA+MI		0.3508
ITT population	**Prespecified analyses with disease duration as a covariate**		
	N	36	72
	Adjusted mean	-0.29	-0.23
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		0.06 (-0.09, 0.21)
	Post hoc nominal p-value ANCOVA + MI		0.4416
	Post hoc analyses with baseline plasma NfL as a covariate		
	N	36	72
	Adjusted mean	-0.32	-0.23
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		0.10 (-0.04, 0.23)
	Nominal p-value ANCOVA + MI		0.1547

NOTE 1: Lower scores depicted a worsening in function. Data were presented at Week 28. Analyses for subgroups defined by median plasma NfL and run-in slope were based on the ITT population. All p-values for the ITT population were post hoc.
NOTE 2: MI was used for missing data. For prespecified analysis, separate imputation models for mITT and non-mITT were used and combined for the ITT analysis. The model included treatment, use of riluzole or edaravone, baseline ALSFRS-R score, relevant baseline score and postbaseline values. For post hoc ITT analyses adjusted for baseline plasma NfL, the multiple imputation model was based on all participants in the ITT population and included treatment, baseline plasma NfL, use of riluzole or edaravone, relevant baseline score and postbaseline values.
NOTE 3: Adjusted means, treatment differences and corresponding 95% Cis and nominal p-values were obtained from the ANCOVA model for change from baseline, in conjunction with MI, 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 ITT analysis adjusted for baseline plasma NfL used the same model except baseline disease duration since symptom onset was replaced by baseline plasma NfL
Sources: CSR 233AS101 Part C, Section 14.3.2, Outputs 1, 2, 8, 15 and 34; Section 14.3.2.2, Output 42.

ベースラインから Week 28 の HHD メガスコアの変化についての事前に規定した解析及び事後解析について Figure 8 に示す。事前に規定した有効性解析では mITT 集団を対象とした、解析対象集団の共変量として罹病期間で調整し、ベースライン時の NfL 濃度で調整することの重要性及び影響を検討するのに様々な事前に規定した解析及び事後解析を実施した。他の評価項目と同様に、このフォレストプロットでも、種々の集団及び疾患進行性の部分集団（mITT 集団／non-mITT 集団、及び NfL 濃度が中央値以上／未満）のいずれにおいても、また、種々の共変量の組み合わせで調整した場合にも、一貫してトフェルセン群を支持する傾向が示されている。

Figure 8: 233AS101 Part C: Forest Plot of HHD Megascore Score Change From Baseline to Week 28

Page: 1 of 2



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

233AS101 Part C: Forest plot of HHD overall megascore change from baseline to Week 28

NOTE 1: For the analyses with 'Include NfL in MI model?' = Y, multiple imputation including use of riluzole or edaravone, baseline plasma NfL, and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. For the analyses with 'Include NfL in MI model?' = N or N/A, multiple imputation including use of riluzole or edaravone, and the relevant baseline and postbaseline values for the endpoint is used for missing data. The multiple imputation is run separately for each population (mITT, non-mITT, ITT) except for the SAP prespecified ITT analysis adjusting for disease duration where the combined MI dataset from the mITT and non-mITT population is used.
NOTE 2: The ANCOVA models include treatment as a fixed effect and adjusting for the following covariates: the specified covariate(s), baseline HHD overall megascore, and use of riluzole or edaravone.
* No statistical testing was prespecified for ITT population in 233AS101 SAP; all p-values are post hoc for ITT prespecified 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 = placebo; t = tofersen 100 mg.
Source: biib067/ise/ise-bla2-global/f-cf-hhd-forest-pc.sas Run Date: 29SEP2022

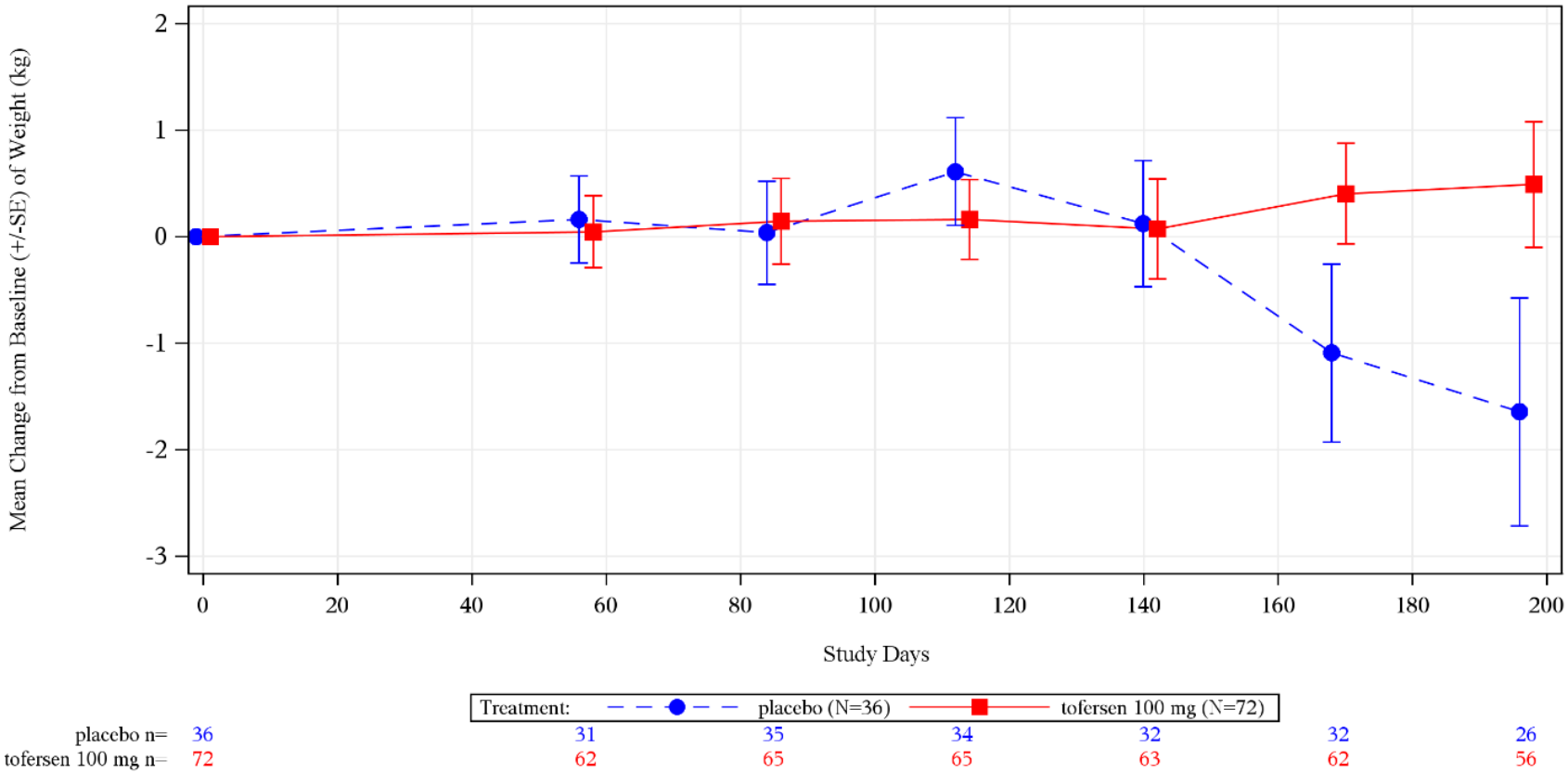
2.2.2.4 体重

101 試験パート C の一連の安全性評価の一環として、体重を収集した。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。2,420 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、ベースライン時の体重が低かった。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 9、ISE Appendix 3.1, Accountability and Exposure、Output 16］。

Figure 9: 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 nonmissing 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

2.2.2.5 イベント発現までの期間

101 試験パート C では、死亡又は永続的換気までの期間の中央値及び死亡までの期間の中央値は、イベント数が少なかったため推定できなかった（233AS101 試験パート C の CSR、Section 11.3.2.5）。

mITT 集団では、死亡又は永続的換気のイベントを発現した被験者の割合は、プラセボ群（2 例［9.5%］で永続的換気のイベント）及びトフェルセン群（4 例［10.3%］-うっ血性心不全による死亡 1 件及び永続的換気 3 件）で同程度であった。Non-mITT 集団では発現したイベントはなかった。

ITT 集団全体では、プラセボ群及びトフェルセン群で死亡又は永続的換気を発現した割合は同程度であった（各群 5.6%）。

2.2.2.6 患者報告アウトカムの測定

ALSAQ-5、FSS、及び EQ-5D-5L を含め、患者からの報告による QoL の評価項目全体でトフェルセン群を支持する傾向は一貫して認められており、主要評価項目及び副次評価項目で認められた効果をさらに裏付けるものであった。探索的な患者報告アウトカムの詳細は、233AS101 試験パート C の CSR の Section 11.3.4.2 に記載する。

2.2.2.6.1 ALSAQ-5

ALSAQ-5 合計スコアの解析では、mITT 集団及び non-mITT 集団のいずれもトフェルセン群の方がベースラインから Week 28 までの悪化の程度が小さいことが示された。投与群間差は、それぞれ-5.6 ポイント（95% CI：-15.55, 4.37）及び-1.6 ポイント（95% CI：-9.55, 6.29）であった（Table 13）。

NfL 濃度で層別した急速進行性及び緩徐進行性の部分集団では、Week 28 の投与群間差はそれぞれ-10.4（95% CI：-20.99, 0.21；nominal p = 0.0546）及び-1.5（95%CI：-8.32, 5.29；nominal p = 0.6629）であり、トフェルセン群を支持する結果が示された。

ITT 集団を対象にベースライン時の NfL 濃度で調整した事後解析では、Week 28 の ALSAQ-5 合計スコアのベースラインからの変化量の投与群間差は-5.7 ポイント（95%CI：-11.83, 0.40；nominal p = 0.0668）となり、トフェルセン群を支持する結果が示された。

Table 13: Summary of Key Analyses for ALSAQ-5

		Study 101 Part C	
		Placebo	**Tofersen**
Faster-progressing subgroup	**mITT**		
	N	21	39
	Adjusted mean	15.6	10.0
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		-5.6 (-15.6, 4.4)
	Nominal p–value (ANCOVA+MI)		0.2715
	≥ median (75.6 pg/mL) baseline plasma NfL (post hoc)		
	N	16	38
	Adjusted mean	24.7	14.3
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		-10.4 (-21.0, 0.2)
	Nominal p-value ANCOVA+MI		0.0546
Slower-progressing subgroup	**non-mITT**		
	N	15	33
	Adjusted mean	3.0	1.3
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		-1.6 (-9.6, 6.3)
	Nominal p–value (ANCOVA+MI)		0.6864
	< median (75.6 pg/mL) baseline plasma NfL (post hoc)		
	N	20	34
	Adjusted mean	1.9	0.4
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		-1.5 (-8.3, 5.3)
	Nominal p-value ANCOVA+MI		0.6629
ITT population (post hoc)	**Analyses with disease duration as a covariate**		
	N	36	72
	Adjusted mean	11.4	6.9
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		-4.5 (-11.1, 2.1)
	Nominal p-value ANCOVA+MI		0.1848
	Analyses with baseline plasma NfL as a covariate		
	N	36	72
	Adjusted mean	12.6	6.9
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		-5.7 (-11.8, 0.4)
	Nominal p-value (ANCOVA + MI)		0.0668

NOTE 1: Higher scores depicted a worsening. Data were presented at Week 28. Analyses for subgroups defined by median plasma NfL and run-in slope were based on the ITT population. All p-values for the ITT population were post hoc.
NOTE 2: MI was used for missing data. Separate imputation models for mITT and non-mITT were used and combined for the ITT analysis. The model included treatment, use of riluzole or edaravone, baseline ALSFRS-R score, relevant baseline score and postbaseline values. For post hoc ITT analyses adjusted for baseline plasma NfL, the multiple imputation model was based on all participants in the ITT population and included treatment, baseline plasma NfL, use of riluzole or edaravone, relevant baseline score and postbaseline values.

NOTE 3: Adjusted means, treatment differences and corresponding 95% CIs and nominal p-values were obtained from the ANCOVA model for change from baseline, in conjunction with MI, 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 ITT analysis adjusted for baseline plasma NfL used the same model except baseline disease duration since symptom onset was replaced by baseline plasma NfL
Sources: CSR 233AS101 Part C, Section 14.3.5.3, Outputs 1, 15, 19 and 20.

2.2.2.6.2 FSS

mITT 集団では、Week 28 の FSS のベースラインからの変化量にトフェルセン群を支持する傾向が示されたことから、疲労が少なくなることが示唆された（投与群間差：-4.91 ポイント［95% CI：-11.23, 1.42］）。この傾向は non-mITT 集団では明らかではなかった（投与群間差：2.84 ポイント［95%CI：-4.72, 10.40］）［Table 14］。

NfL 濃度で層別した急速進行性の部分集団（ベースライン時の血漿中 NfL 濃度が中央値以上）では、投与群間差は-7.5 ポイントとなり、トフェルセン群を支持する結果が示された（95% CI：-15.42, 0.41；nominal p = 0.0631）。一方、NfL 濃度で層別した緩徐進行性の部分集団では、投与群間差は 0.9 ポイント（95%CI：-4.57, 6.47；nominal p = 0.7360）となり、プラセボ群を支持する結果が示された。

ITT 集団を対象としたベースライン時の NfL 濃度で調整した事後解析では、Week 28 の FSS 合計スコアのベースラインからの変化量の投与群間差は-2.4 ポイントとなり、トフェルセン群を支持する結果が示された（95%CI：-7.45, 2.55；nominal p = 0.3365）。

Table 14: Summary of Key Analyses for FSS

		Study 101 Part C	
		Placebo	**Tofersen**
Faster-progressing subgroup	**mITT**		
	N	21	39
	Adjusted mean	10.46	5.56
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		-4.91 (-11.23, 1.42)
	Nominal p–value (ANCOVA+MI)		0.1283
	≥ median (75.6 pg/mL) baseline plasma NfL (post hoc)		
	N	16	38
	Adjusted mean	13.9	6.4
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		-7.5 (-15.42, 0.41)
	Nominal p-value ANCOVA+MI		0.0631
Slower- progressing subgroup	**non-mITT**		
	N	15	33
	Adjusted mean	-0.52	2.32
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		2.84 (-4.72, 10.40)
	Nominal p–value (ANCOVA+MI)		0.4613

		Study 101 Part C	
		Placebo	**Tofersen**
	< median (75.6 pg/mL) baseline plasma NfL (post hoc)		
	N	20	34
	Adjusted mean	1.2	2.2
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		0.9 (-4.57, 6.47)
	Nominal p-value ANCOVA+MI		0.7360
ITT population (post hoc)	**Analyses with disease duration as a covariate**		
	N	36	72
	Adjusted mean	5.8	3.9
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		-1.8 (-6.87, 3.20)
	Nominal p-value ANCOVA+MI		0.4742
	Analyses with baseline plasma NfL as a covariate		
	N	36	72
	Adjusted mean	6.3	3.9
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		-2.4 (-7.45, 2.55)
	Nominal p-value (ANCOVA + MI)		0.3365

NOTE 1: Higher scores depicted a worsening in fatigue. Data were presented at Week 28. Analyses for subgroups defined by median plasma NfL and run-in slope were based on the ITT population. All p-values for the ITT population were post hoc.
NOTE 2: MI was used for missing data. Separate imputation models for mITT and non-mITT were used and combined for the ITT analysis. The model included treatment, use of riluzole or edaravone, baseline ALSFRS-R score, relevant baseline score and postbaseline values. For post hoc ITT analyses adjusted for baseline plasma NfL, the multiple imputation model was based on all participants in the ITT population and included treatment, baseline plasma NfL, use of riluzole or edaravone, relevant baseline score and postbaseline values.
NOTE 3: Adjusted means, treatment differences and corresponding 95% CIs and nominal p-values were obtained from the ANCOVA model for change from baseline, in conjunction with MI, 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 ITT analysis adjusted for baseline plasma NfL used the same model except baseline disease duration since symptom onset was replaced by baseline plasma NfL
Sources: CSR 233AS101 Part C, Section 14.3.3.1, Outputs 1 and 2; Section 14.3.5.4, Outputs 14, 17, and 18.

2.2.2.6.3 EQ-5D-5L

mITT 集団では、EQ-5D-5L の utility score のベースラインから Week 28 までの変化量の平均は、プラセボ群（-0.35）と比ベトフェルセン群（-0.16）の方が小さく、Week 28 のベースラインからの変化量の投与群間差は 0.20 ポイント（95% CI：0.062, 0.332；nominal p = 0.0043）であった。non-mITT 集団では、両投与群は安定した状態を保っていたため、この傾向は明確ではなかった（Table 15）。VAS スコアのベースラインから Week 28 までの変化量もプラセボ群（mITT 集団：-15.64；non-mITT 集団：-4.21）と比ベトフェルセン群の方が小さかった（mITT 集団：-10.75；non-mITT 集団：-3.47）［233AS101 試験パート C の CSR の Section 14.3.3.1、Output 1 及び 2；及び 233AS101 試験パート C の CSR の Section 14.3.5.5、Output 20］。

NfL 濃度で層別した急速進行性及び緩徐進行性の部分集団では、トフェルセン投与によって、EQ-5D-5L の utility score で評価した QoL 及び VAS スコアの Week 28 のベースラインからの変化量の低下の程度は小さくなった。

ITT 集団を対象としてベースライン時の NfL 濃度で調整した事後解析では、トフェルセン投与によって EQ-5D-5L の utility score 及び VAS スコアの Week 28 のベースラインからの変化量の低下の程度も小さくなった。

Table 15: Summary of Key Analyses for EQ-5D-5L Utility Score

		Study 101 Part C	
		Placebo	**Tofersen**
Faster-progressing subgroup	**mITT**		
	N	21	39
	Adjusted mean	-0.35	-0.16
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		0.20 (0.06, 0.33)
	Nominal p–value (ANCOVA+MI)		0.0043
	≥ median (75.6 pg/mL) baseline plasma NfL (post hoc)		
	N	16	38
	Adjusted mean	-0.32	-0.14
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		0.18 (0.02, 0.33)
	Nominal p-value ANCOVA+MI		0.0278
Slower-progressing subgroup	**non-mITT**		
	N	15	33
	Adjusted mean	-0.03	-0.03
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		-0.01 (-0.11, 0.10)
	Nominal p–value (ANCOVA+MI)		0.9233
	< median (75.6 pg/mL) baseline plasma NfL (post hoc)		
	N	20	34
	Adjusted mean	-0.12	-0.02
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		0.10 (-0.01, 0.21)
	Nominal p-value ANCOVA+MI		0.0850
ITT population (post hoc)	**Analyses with disease duration as a covariate**		
	N	36	72
	Adjusted mean	-0.20	-0.09
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		0.11 (0.02, 0.21)
	Nominal p-value ANCOVA+MI		0.0162
	Analyses with baseline plasma NfL as a covariate		
	N	36	72
	Adjusted mean	-0.21	-0.08
	Tof-plac: Adj. mean difference (95% CI)		0.14 (0.05, 0.23)
	Nominal p-value (ANCOVA + MI)		0.0029

NOTE 1: Lower scores depicted a worsening. Data were presented at Week 28. Analyses for subgroups defined by median plasma NfL and run-in slope were based on the ITT population. All p-values for the ITT population were post hoc.

NOTE 2: MI was used for missing data. Separate imputation models for mITT and non-mITT were used and combined for the ITT analysis. The model included treatment, use of riluzole or edaravone, baseline ALSFRS-R score, relevant baseline score and postbaseline values. For post hoc ITT analyses adjusted for baseline plasma NfL, the multiple imputation model was based on all participants in the ITT population and included treatment, baseline plasma NfL, use of riluzole or edaravone, relevant baseline score and postbaseline values.
NOTE 3: Adjusted means, treatment differences and corresponding 95% CIs and nominal p-values were obtained from the ANCOVA model for change from baseline, in conjunction with MI, 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 ITT analysis adjusted for baseline plasma NfL used the same model except baseline disease duration since symptom onset was replaced by baseline plasma NfL
Sources: CSR 233AS101 Part C, Section 14.3.3.1, Outputs 1 and 2; Section 14.3.5.5, Outputs 19, 25 and 26.

2.2.2.7 Exit Interview サブスタディ

定性的な exit interview は、101 試験パート C の 10 例（トフェルセン群：7 例、プラセボ群：3 例）及び被験者の介護者 5 名を対象に、101 試験パート C の Week 28 から 26 日以内に実施された。これらの対象者は、米国、カナダ及び英国の 7 つの実施医療機関から組み入れた。本集団は、101 試験パート C に組み入れた集団全体を代表していた（Table 16）。Exit interview を受けた例数が少なかったため、年齢の分布には偏りがあった。平均年齢は 53.5 歳（範囲：23～66 歳）で、50%が男性であった。無作為化された集団全体では、年齢の中央値は 48 歳（範囲：23～78 歳）、57%が男性であった。各投与群で exit interview を受けた被験者数も 2 : 1 の無作為化比と同様であった。

Table 16: Demographics and Baseline Disease Characteristics

	Overall ITT Population Study 101 Part C (n = 108)	**Participants with Exit Interviews (n = 10)**
Age (years)		
Mean (SD)	49.1 (12.3)	46.7 (15.1)
Median	48.0	53.5
Min, Max	23, 78	23, 66
Gender n (%)		
Male	62 (57)	5 (50)
Female	46 (43)	5 (50)
Disease progression group n (%)		
mITT (“faster-progressing”)	60 (56)	7 (70)
non-mITT (“slower-progressing”)	48 (44)	3 (30)
Site of Onset n (%)		
Lower Limb	72 (66.7)	8 (80)
Upper Limb	27 (25.0)	1 (10)
Respiratory	1 (0.9)	0
Multiple	2 (1.9)	1 (10)
Bulbar	6 (5.6)	0
Prerandomization slope		
Median	-0.77	-1.2
Min, Max	(-8.30, 0.00)	(-6.6, -0.1)

	Overall ITT Population Study 101 Part C (n = 108)	**Participants with Exit Interviews (n = 10)**
Time from symptom onset (months)		
Median	11.79	7.4
Min, Max	(1.7, 145.7)	(1.7, 96.9)

Sources: CSR 233AS101 Part C, Table 12; and Section 14.2, Output 9.
Exit Interview Qualitative Report listed in Section 7.1.

回答された主な症状（面談した被験者の 70%以上が回答）には、筋力低下、筋痙攣／筋攣縮、疼痛、疲労、及び更衣動作及び／又は身の回りの管理の困難があった。トフェルセン群とプラセボ群との間にも急速進行性及び緩徐進行性の部分集団との間にも明らかな差はないと考えられた。

回答された主な影響（面談した被験者の 70%以上が回答）は、自立性の低下、階段を上る際の困難、歩行困難、活動に時間を要すること、及び家事や買い物などの日常生活活動を行う能力への影響であった。トフェルセン群とプラセボ群との間にも急速進行性群と緩徐進行性群との間にも明らかな差はないと考えられた。

自立性の低下、歩行困難、日常生活活動の制限、情緒的／心理的健康に対する影響、及び起立困難のすべてが､介護者からみた各被験者にとっての最も困難な症状及び影響として報告された。

被験者の大部分は、自分がトフェルセン又はプラセボのどちらを投与されたかを正確に特定することができた｡トフェルセンを投与されたことを正確に特定した被験者は､組み入れ前と比べ、症状の顕著な減少及び疾患進行の緩徐化を回答した。これらの被験者のうち、複数の被験者が試験開始から約 2 ヵ月後に疾患進行の緩徐化を認識した｡これはトフェルセンの PK/PD と整合性があり、単なるベネフィットへの期待（プラセボ効果の可能性など）から予想されるものではなかった。

トフェルセン群のほぼすべての被験者が､これまで自身の症状は同じ状態が続いていたと考え、被験者の大部分が 101 試験パート C の期間に疾患進行の速度の緩徐化又は安定化に気づいた。

重要な点は、ALSFRS-R では評価されないいくつかの症状及び疾患による影響が、本プロジェクトの被験者と介護者の大部分から重要なこととして回答されたことである。例として、筋力低下、筋痙攣／筋攣縮、疼痛、疲労、自立性、及び日常生活活動への影響（活動に時間を要することなど）がある。

定性的面談の報告書及び面談の記録は、Module 5 に示す。ALS と共存する患者による exit interview の主な結果の要約及び 101 試験パート C における ALSFRS-R の対応するベースラインから Week 28 までのスコアを Table 17 に示す。

Table 17: Summary of Key Results From Exit Interviews by PALS and Corresponding Clinical Function

PALS ID	Trt./ Prog. Group/ Prerand. Slope	Perceived Treatment Assignment	Rate of Prog.	Top 3 Most Difficult Symptoms/Impacts	Meaningfully Improved	Meaningfully Worsened	Meaningfully Unchanged	Overall Change in Symptoms	Overall Change in Impacts	ALSFRS-R Total Score at Baseline/ Week 28
P1	Pbo / FP/ -1.37	Placebo	Stayed the same	Muscle weakness	-	Muscle weakness	Muscle weakness	Worsened	Improved	33/34
P2	Tof./ FP/ -1.21	Tofersen	Slower	Unable to take part in hobbies/ favorite activities, relationships (romantic)	Sleep; muscle cramps/ twitching	-	Muscle weakness	Stayed the same	Stayed the same	41/42
P3	Tof./FP/ -2.34	Placebo	Faster	Muscle weakness, fatigue, muscle cramps/ twitching	-	Muscle weakness, shortness of breath, fatigue	Worsened muscle weakness, shortness of breath, fatigue	Worsened	Worsened	44/41
P4	Pbo /SP/ -0.11	Tofersen	Slower	Not mentioned	Toe movement	-	Muscle weakness, mobility (walking)	Improved	Improved	37/39
P5	Tof./SP/ -0.20	Placebo	Stayed the same	Muscle weakness, daily activity limitations, loss of balance	-	-	-	Stayed the same	Stayed the same	35/39
P6	Tof./FP/ -1.04	Tofersen	Slower	Reduced mobility (walking), unable to take part in hobbies/ favourite activities, interference with relationships (family)	Muscle weakness	-	-	Stayed the same	Stayed the same	42/40
P7	Pbo /FP/ -1.19	Placebo	Faster	Reduced mobility (walking), reduced independence, shortness of breath/ breathlessness	-	Muscle weakness, shortness of breath, mobility (walking), independence	-	Worsened	Worsened	42/29
P8	Tof./FP/ -1.43	Tofersen	Slower	Reduced mobility (walking), reduced independence, unable to take part in hobbies/ favorite activities	-	-	Muscle weakness	Stayed the same	Stayed the same	35/35

PALS ID	Trt./ Prog. Group/ Prerand. Slope	Perceived Treatment Assignment	Rate of Prog.	Top 3 Most Difficult Symptoms/Impacts	Meaningfully Improved	Meaningfully Worsened	Meaningfully Unchanged	Overall Change in Symptoms	Overall Change in Impacts	ALSFRS-R Total Score at Baseline/ Week 28
P9	Tof./FP/ -6.60	Tofersen	Faster	Muscle weakness, reduced independence, difficulties eating	Improvement in depression, improved muscle weakness	-	Pain	Stayed the same	Stayed the same	25/22
P10	Tof./SP/ -0.18	Tofersen	Stayed the same	Muscle weakness, reduced mobility (walking), daily activity limitations	Improved breathing, improved muscle weakness	-	Muscle weakness, mobility (walking), independence, difficulties turning in bed/ adjusting bed sheets, difficulty with dressing and/or self-care	Stayed the same	Stayed the same	37/37[a]

[a] This participant had no score available at Week 28 so data from Day 169 are presented.

2.3 102 試験の結果の概要

実施中の 102 試験の事前に規定された中間解析のデータカットは、2021 年 7 月 16 日及び 2022 年 1 月 16 日であった。

最新（2022 年 1 月 16 日）の中間解析データについて、ITT 集団を対象とした解析結果を本項に要約する。部分集団の解析を含めた各データカット時点の詳細な結果は、それぞれの中間報告書に示す（データカット 2021 年 7 月 16 日：233AS102 試験の CSR Interim 1、データカット 2022 年 1 月 16 日：233AS102 試験の CSR Interim 2）。

解釈を裏付けるのに十分なデータがある最新の時点までの結果を示した。これには、101 試験パート C の被験者の Week 24 のデータ、並びに 101 試験パート A 及び B の被験者の Week 196 までのデータが含まれる。

2.3.1 被験者集団

101 試験を完了し適格な被験者 159 例のうち、139 例が 101 試験パート A、B、及び C から組み入れられた。その内訳は 101 試験パート A 及び B が 44 例、101 試験パート C が 95 例であった。101 試験パート C から組み入れた被験者のうち、52 例は mITT 集団（102 試験では「エンリッチ部分集団」）から組み入れられ、43 例は non-mITT 集団（102 試験では「その他の部分集団」）から組み入れられた［233AS102 試験の CSR、Section 10］。101 試験パート A、B、及び C の被験者集団全体でよくみられた SOD1 変異は、p.Ile114Thr（22 例［16.5%］）及び p.Ala5Val（16 例［12.0%］）であった。

102 試験への組入れ時のベースライン時の特性から、101 試験パート C でプラセボ群の被験者は、トフェルセン群の被験者よりもベースライン時に疾患進行が進んでおり、より急速であったことが示唆された（Table 18）。

Table 18: Key Study 102 Baseline Disease Characteristics (ITT population)

	Part C Participants		Part A and B Participants
	Previous tofersen (N=63)	**Previous placebo (N=32)**	**All doses (N=44)**
Time from symptom onset (months)			
Median	17.97	21.06	62.72
Range	8.3, 152.1	8.8, 109.6	7.6, 211.7
Riluzole use			
n(%)	43 (68.3)	21 (65.6)	29 (65.9)
Edaravone use			
n(%)	6 (9.5)	3 (9.4)	N/A
Total CSF SOD1 protein (ng/mL) at baseline Mean (SD)	81.1 (40.97)	132.92 (72.17)	125.15 (48.59)
Plasma NfL (pg/mL)			
Mean (SD)	42.68 (70.70)	96.58 (90.99)	N/A
Geometric Mean	28.81	60.75	
Range	5.3, 170.9	7.0, 354.0	
% predicted SVC			
Mean (SD)	77.62 (23.87)	68.71 (25.80)	74.42 (20.75)
ALSFRS-R total score			
Mean (SD)	34.1 (7.71)	30.9 (9.23)	34.1 (8.94)
ALSFR-R prerandomization slope decline			
Median	-0.589	-0.836	-0.191
Range	-3.34, 0.00	-3.02, -0.06	-3.09, 0.00

Sources: CSR 233AS102 Interim 1, Section 14.2, Output 8 and Output 10; and Section 14.3.2.2.2, Output 19.

2.3.2 102 試験における有効性解析

102 試験のみの解析にはいくつかの限界があり、早期開始群とプラセボ／投与開始遅延群の比較で 101 試験パート C 及び 102 試験の統合解析とはやや異なる傾向があった。これらの理由の概略を以下に示す。

102 試験のベースライン時の平均値は 101 試験パート C の Week 28 又は統合解析での平均値と以下の理由で同じではなかった。

- 被験者の一部（108 例中 95 例）は 101 試験パート C から 102 試験に組み入れられた。このため、102 試験のベースライン時の平均値は 101 試験パート C で認められた Week 28 の平均値と同じではなかった。
- 一部の被験者は 101 試験パート C の Week 28 で実施医療機関に来院できなかったため SVC 及び HHD の評価に欠測値があったが、102 試験に組み入れられた可能性がある。これらの被験者には 101 試験パート C の Week 28 の評価で観察されたデータはないが、102 試験のベースライン値はあった。
- 102 試験のベースライン値が利用可能でなかった場合は、スクリーニング時の値を使用した。

上記のような相違の他の要因には、評価の欠測のレベル（特に SVC の評価）、及び 102 試験の解析では統合解析で用いたベースライン時の NfL 濃度での調整ができないなどがある。

2.3.2.1 ALSFRS-R

2.3.2.1.1 パート C の被験者

ITT 集団では、102 試験の ALSFRS-R のベースライン値は、101 試験パート C でトフェルセンを投与されていた被験者の方が 101 試験パート C でプラセボを投与されていた被験者よりも高かった（233AS102 試験の CSR Interim 2、Section 11.3.1.3）。

2022 年 1 月 16 日の中間解析のデータカット時点では、101 試験でトフェルセンを投与されていた被験者及びプラセボを投与されていた被験者のいずれにも、102 試験の非盲検でのトフェルセンの投与開始から 24 週間後の ALSFRS-R 合計スコアにわずかな減少が認められた。102 試験の 24 週の終了時点では、101 試験でトフェルセンを投与されていた被験者の ALSFRS-R 合計スコアは、101 試験でプラセボを投与されていた被験者よりも高いスコアが持続した。2 回の中間解析において両部分集団（「エンリッチ」［mITT］及び「その他」［non-mITT］）で同様の傾向が認められた。

2.3.2.1.2 パート A 及び B の被験者

ALSFRS-R 合計スコアは、トフェルセン投与で 196 週間にわたり比較的安定していた（Table 20）。

2.3.2.2 SVC

2.3.2.2.1 パート C の被験者

ITT 集団では、102 試験における SVC（%予測値）のベースライン値は、101 試験パート C でトフェルセンを投与されていた被験者の方が 101 試験パート C でプラセボを投与されていた被験者よりも高かった（Table 18）。

2022 年 1 月 16 日の中間解析のデータカット時点では、101 試験でトフェルセンを投与されていた被験者及び 101 試験でプラセボを投与されていた被験者のいずれにも、102 試験の非盲検でのトフェルセンの投与開始から 24 週間後の SVC 値（%予測値）にわずかな減少が認められた。この結果は、2 回の中間解析において両部分集団（「エンリッチ」及び「その他」）で認められた傾向からも裏付けられた。

2.3.2.2.2 パート A 及び B の被験者

SVC 値（%予測値）は、トフェルセン投与で 196 週間にわたり比較的安定していた（Table 20）。

2.3.2.3 HHD メガスコア

2.3.2.3.1 パート C の被験者

ITT 集団では、102 試験のベースライン時の HHD メガスコアの平均は、101 試験パート C でトフェルセンを投与されていた被験者と 101 試験パート C でプラセボを投与されていた被験者とで同程度であった（Table 18）。

2022 年 1 月 16 日の中間解析のデータカット時点では、101 試験でトフェルセンを投与されていた被験者及び 101 試験でプラセボを投与されていた被験者のいずれでも、102 試験の非盲検でのトフェルセンの投与開始から 24 週間にわたり、HHD メガスコアの値は同程度であった。この結果は、2 回の中間解析において両部分集団（「エンリッチ」及び「その他」）で認められた傾向からも裏付けられた。

2.3.2.3.2 パート A 及び B の被験者

HHD メガスコアは、トフェルセン投与で 196 週間にわたり比較的安定していた（Table 20）。

Table 19: Summary of Efficacy Analyses From Baseline to Week 24 for Part C Participants in Study 102 (ITT Population)

	Adjusted Mean Change From Baseline (SE)	
Endpoint	**Previous Tofersen (N=63)**	**Previous Placebo (N=32)**
ALSFRS-R total score	-1.4 (0.60)	-2.3 (0.82)
Percent predicted SVC	-3.6 (1.58)	-2.1 (2.12)
HHD megascore	0.1 (0.06)	-0.1 (0.08)

NOTE 1: Negative changes indicated a worsening in function. Baseline was defined as Day 1 value prior to the study drug in Study 102. If Day 1 value was missing, the nonmissing value (including screening visit) closest to and prior to the first dose

was used as the baseline value.
NOTE 2: Multiple imputation was used for missing data. The model included corresponding prior treatment in 233AS101 Part C (tofersen or placebo), baseline value for the endpoint, as well as all available postbaseline values.
NOTE 3: Adjusted means and corresponding SEs were obtained from the ANCOVA model for change from baseline including prior treatment in Study 101 Part C as a fixed effect and adjusting for the following covariates: baseline disease duration since symptom onset and relevant baseline score.
Sources: For ALSFRS-R, refer to CSR 233AS102 Interim 2, Section 14.3.1.1, Output 1.
For SVC, refer to CSR 233AS102 Interim 2, Section 14.3.1.2, Output 3.
For HHD, refer CSR 233AS102 Interim 2, Section 14.3.1.3, Output 1.

Table 20: Summary of Efficacy Results for Part A and B Participants in Study 102 (Observed Data; ITT Population)

	January 2022 Data Cut	
	Week 116	**Week 196**
ALSFRS-R total score		
N	34	9
Actual value mean (SD)	33.4 (9.84)	33.0 (7.60)
Mean change from baseline (SD)	-2.0 (5.37)	0.2 (3.83)
Percent Predicted SVC		
N	22[a]	8
Actual value mean (SD)	71.3 (23.48)	71.3 (18.58)
Mean change from baseline (SD)	-3.8 (13.65)	-0.5 (11.49)
HHD megascore		
N	23[b]	6
Actual value mean (SD)	-0.2 (0.62)	-0.4 (0.46)
Mean change from baseline (SD)	-0.2 (0.58)	-0.1 (0.20)

[a] For percent predicted SVC, the N=22 shown at Week 116 corresponds to the actual mean value. For mean change from baseline at Week 116, the N=21.
[b] For HHD megascore, the N=23 shown at Week 116 corresponds to the actual mean value. For mean change from baseline at Week 116, the N=21.
NOTE 1: Baseline was defined as day 1 value prior to the study drug in 233AS102. If Day 1 value was missing, the nonmissing value (including screening visit) closest to and prior to the first dose was used as the baseline value.
NOTE 2: Negative change indicated worsening in function.
Sources: For ALSFRS-R, refer to CSR 233AS102 Interim 2, Section 14.3.1.1, Output 24.
For SVC, refer to CSR 233AS102 Interim 2, Section 14.3.1.2, Output 11.
For HHD, refer CSR 233AS102 Interim 2, Section 14.3.1.3, Output 11.

2.3.2.4 イベント発現までの期間

生存期間の中央値は、これらの群のイベント数が少なかったために推定できなかった。

2.3.2.4.1 パート C の被験者

2022 年 1 月 16 日の中間解析のデータカット時点で、ITT 集団において 101 試験でトフェルセンを投与されていた 7 例（11.1%）及び 101 試験でプラセボを投与されていた 6 例（18.8%）が、102 試験の期間中に死亡した（233AS102 試験の CSR Interim 2、Table 23）。

2.3.2.4.2 パート A 及び B の被験者

2022 年 1 月 16 日の中間解析のデータカット時点で、101 試験パート A 及び B から組み入れら

れた 44 例のうち 4 例（9.1%）が死亡した。2022 年 1 月 16 日のデータカットより後に、新たな死亡は認められなかった（233AS102 試験の CSR Interim 2、Section 14.3.1.4、Output 7）。

2.3.2.5 患者報告アウトカムの測定

102 試験の中間解析では、233AS102 試験の中間報告書の Appendix 16.1.9（233AS102 試験の SAP 第 [redacted] 版）に従って患者報告アウトカムの測定結果の要約及び解析は行わなかった。これらのデータは、3.1.2.1.5 項の統合解析結果として示す。

3 全試験を通しての結果の比較と解析

本項では、101 試験及び 102 試験全体の有効性の統合データの要約を示す。当初のデータカット（2021 年 7 月及び 2022 年 1 月）及び最新のデータカット（2023 年 2 月）に基づく結果を 3.1 項及び 3.2 項にそれぞれ示す。

3.1 2021 年 7 月及び 2022 年 1 月データカットの有効性の結果

パート C 並びにパート A 及び B の全被験者のそれぞれの患者プロファイルについては、2021 年 7 月 16 日のデータカット時点は ISE の Appendix 2.2, Longitudinal Efficacy and Pharmacodynamics Data Output 1～3、及び 22 年 1 月 16 日のデータカット時点は ISE の Appendix 3.2, Longitudinal Efficacy and Pharmacodynamics Data Output 1～3 に示す。

3.1.1 試験対象集団

101 試験の無作為化プラセボ対照期間のデータは、トフェルセンの長期のベネフィット／リスクについて情報を得るため、非盲検継続試験である 102 試験のデータと統合した（ISE SAP 第 [redacted] 版）。統合解析での主要な点は、101 試験パート C の被験者の長期の結果を、以下に示す群で 101 試験パート C 及び 102 試験全体（プール CL 群）で示すことである。

- 101 試験パート C でトフェルセン 100 mg の投与を開始し、102 試験でトフェルセン 100 mg の投与を継続した被験者：早期開始群
- 101 試験パート C でプラセボを投与され、102 試験でトフェルセン 100 mg の投与を開始した被験者：プラセボ／投与開始遅延群

101 試験パート C で無作為化された 108 例のうち 95 例（87%）が 102 試験でトフェルセンの投与を継続した。2022 年 1 月 16 日のデータカット時点で、71%（95 例中 67 例）が 102 試験を継続中であった（Figure 10）。被験者の内訳を Table 21 に示す。

2021 年 7 月 16 日の中間解析のデータカット時点における 101 試験パート C と 102 試験を統合したプール CL 群及び 101 試験パート A 及び B と 102 試験を統合したプール ABL 群の被験者の内訳、人口統計学、疾患の経過、投与、並びに不投与及び投与遅延に関する統合データは、ISE の Appendix 2.1, Accountability, Demographics and Exposure、Output 1～8 に示す。

2022 年 1 月 16 日のデータカット時点のプール CL 群及びプール ABL 群の被験者の内訳、投与、並びに不投与及び投与遅延に関する統合データは、ISE の Appendix 3.1, Accountability and Exposure、Output 1～4 に示す。

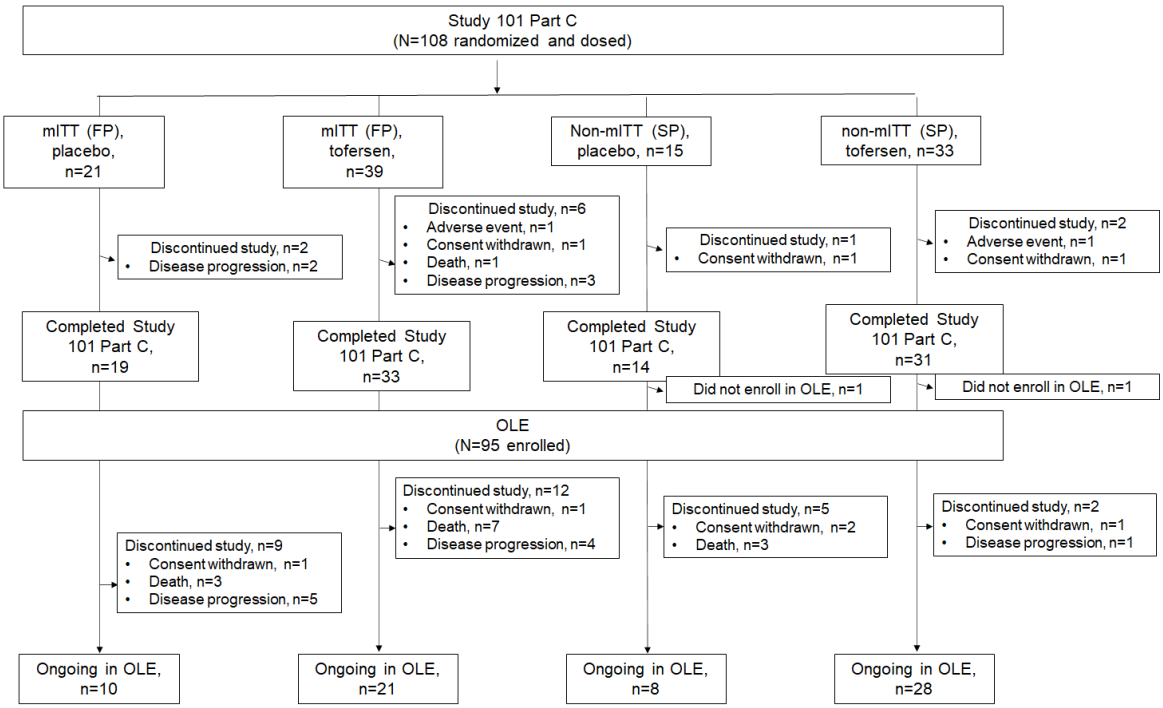
Table 21: Participant Disposition of Integrated Analysis of Studies 101 Part C and 102 for the ITT Population

	ISE Based on Jul 2021 Data Cut		ISE Based on Jan 2022 Data Cut	
Participants	**Early-start Tofersen 100 mg (n = 72)**	**Placebo/delayed-start Tofersen 100 mg (n = 36)**	**Early-start Tofersen 100 mg (n = 72)**	**Placebo/delayed-start Tofersen 100 mg (n = 36)**
Dosed in Study 101 Part C n (%)	72 (100)	36 (100)	72 (100)	36 (100)
Dosed in Study 102 n (%)	63 (88)	32 (89)	63 (88)	32 (89)
Completed Study 101 Part C but not enrolled in Study 102 n (%)	1 (1)	1 (3)	1 (1)	1 (3)
Ongoing in Study 102 n (%)	54 (75)	22 (61)	49 (68)	18 (50)
Died while on trial n (%)	7 (10)	4 (11)	8 (11)	6 (17)
Withdrew from trial n (%)	17 (24)	13 (36)	22 (31)	17 (47)
- AE	2 (3)	0	2 (3)	0
- Consent withdrawn	3 (4)	3 (8)	4 (6)	4 (11)
- Death	7 (10)	4 (11)	8 (11)	6 (17)
- Disease progression	5 (7)	6 (17)	8 (11)	7 (19)
Postwithdrawal vital status not collected[a]	N/A	N/A	5 (7)	3 (8)
Total deaths including postwithdrawal death[a]	N/A	N/A	12 (17)	11 (31)

[a] Postwithdrawal vital status was collected retrospectively for participants who withdrew from Study 101 Part C or Study 102 or who completed Study 101 Part C and did not enroll in Study 102.

Sources:
16 July 2021 data cut: ISE Appendix 2.1 Accountability, Demographics and Exposure, Output 1.
16 January 2022 data cut: ISE Appendix 3.1 Accountability and Exposure, Output 1 and ISE Appendix 3.4.5 Time to Death or Permanent Ventilation and Time to Death, Output 1.

Figure 10: CONSORT Flow Diagram



FP denotes faster-progressing, OLE lopen-label extension, mITT modified intent to treat, SP slower-progressing.

101 試験パート A 及び B 並びに 102 試験の統合データ（プール ABL 群）も少数ではあるが示す（プール ABL 群）。ただし、1.6.5 項に示した制限により、プール ABL 群に正式な統計解析は実施しなかった。

3.1.2 全有効性試験の結果の比較検討

3.1.2.1 101 試験パート C 及び 102 試験：有効性に関する主な解析

1.4 項で述べたように、該当する場合に各評価項目の有効性の統合解析を 3 つの方法で示す。

- ITT 集団を対象にベースライン時の NfL 濃度で調整した解析
- 治験実施計画書に規定されたエンリッチメント戦略による変異型及び無作為化前の ALSFRS-R の傾きに基づく解析（mITT 集団／non-mITT 集団）
- ベースライン時の血漿中 NfL 濃度に基づく解析
  - ITT 集団のベースライン時の血漿中 NfL 濃度の中央値（75.6 pg/mL）を用い、ニューロフィラメントに基づく急速進行性及び緩徐進行性の部分集団を定義した。

プール CL 群（ITT 集団）の有効性の重要な評価項目である各被験者のプロファイルは、2021 年 7 月 16 日のデータカット時点は ISE の Appendix 2.2 Longitudinal Efficacy and Pharmacodynamics Data の Output 1 に、2022 年 1 月 16 日のデータカット時点については ISE の Appendix 3.2, Longitudinal Efficacy and Pharmacodynamics Data の Output 1 に示す。

3.1.2.1.1 ALSFRS-R

ITT 集団の長期での観察において、プラセボ／投与開始遅延群では、Week 28 からトフェルセンの投与を開始する機会があったにもかかわらず、ALSFRS-R のベースラインから Week 52 までの低下が早期開始群よりも大きく、形式的に統計学的に有意であった（Table 22、Figure 11）。この結果は、1 回目の中間解析のデータカット時点（2021 年 7 月 16 日）に認められた Week 40 まで持続した差と一貫性があり、すべての部分集団の解析で認められた傾向とも一貫性があった。

さらに、感度分析として reference-based MI を実施した。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（J2R、CR、及び CIR）で臨床的に重要であり、ANCOVA＋MI の妥当性が裏付けられた（Table 23 及び Table 25）。

Table 22: Change in ALSFRS-R From Study 101 Part C Baseline in Studies 101 Part C and 102

		ISE Based on Jul 2021 Data Cut*	**ISE Based on Jan 2022 Data Cut****
	Endpoint	Early-start tofersen (n=72) vs. placebo → delayed-start tofersen (n=36) Change from baseline to **Week 40**	Early-start tofersen (n=72) vs. placebo → delayed-start tofersen (n=36) Change from baseline to **Week 52**
ITT	**Adjusted for baseline plasma NfL**		
	N: Tof; Placebo	72; 36	72; 36
	Adjusted means: Tof; Placebo	-5.8; -8.5	-6.0, -9.5
	Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	2.6 (-0.4, 5.7)	3.5 (0.4, 6.7)
	p-value (ANCOVA+MI)	N/A	0.0272
	Post hoc joint rank+MI analyses:		
	p-value (original method)	N/A	0.2090
	p-value (alternative method)	N/A	0.0340
Faster progressing	**mITT**		
	N: Tof; Placebo	39; 21	39; 21
	Adjusted means: Tof; Placebo	-9.3; -10.6	-9.1; -13.0
	Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	1.3 (-4.1, 6.7)	3.9 (-1.5, 9.3)
	p-value (ANCOVA+MI)	N/A	0.1564
	≥ median (75.6 pg/mL) baseline plasma NfL		
	N: Tof; Placebo	38; 16	38; 16
	Adjusted means: Tof; Placebo	-10.6; -15.2	-11.1; -17.6
	Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	4.6 (-1.2, 10.4)	6.5 (0.7, 12.2)
	p-value (ANCOVA+MI)	N/A	0.0286
Slower progressing	**non-mITT**		
	N: Tof; Placebo	33; 15	33; 15
	Adjusted means: Tof; Placebo	-1.6; -4.3	-1.4; -4.4
	Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	2.7 (-0.4, 5.8)	3.0 (-0.1, 6.0)
	p-value (ANCOVA+MI)	N/A	0.0540
	< median (75.6 pg/mL) baseline plasma NfL		
	N: Tof; Placebo	34; 20	34; 20
	Adjusted means: Tof; Placebo	-1.7; -3.3	-1.5; -3.1
	Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	1.6 (-1.3, 4.5)	1.7 (-0.9, 4.2)
	p-value (ANCOVA+MI)	N/A	0.2000

* For all analyses in slower and faster progressing subgroups the multiple imputation model included treatment, use of riluzole or edaravone, relevant baseline value and postbaseline values. Adjusted means, treatment difference and corresponding 95% CIs were obtained from the ANCOVA model for change from baseline in conjunction with multiple imputation. The ANCOVA models for prespecified analyses included treatment as a fixed effect and adjust for the following covariates: baseline disease duration since symptom onset, relevant baseline score, and use of riluzole or edaravone. For the ITT population the multiple imputation model included treatment, use of riluzole or edaravone, baseline plasma NfL, relevant baseline value and postbaseline values. The ANCOVA model for the ITT population included treatment as a fixed effect and adjusted for the following covariates: baseline plasma NfL, relevant baseline score, and use of riluzole or edaravone.

** The multiple imputation model was based on all participants in the relevant population (ITT, mITT, non-mITT) and includes baseline plasma NfL, treatment, use of riluzole or edaravone, relevant baseline score and postbaseline values. 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. Joint-rank p values were obtained are post hoc and were 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 is based on the ANCOVA for ranked score for the change from baseline and included 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 included ranked covariates for continuous variables. The ANCOVA models included treatment as a fixed effect and adjusted for the following covariates: plasma NfL, relevant baseline score, and use of riluzole or edaravone.
NOTE: Lower scores depicted a worsening in function.
Sources: *16 July 2021 data cut:* ISE Appendix 2.4.1 ALSFRS-R, Outputs 4, 8, 22 and 32.
16 January 2022 data cut: ISE Appendix 3.4.1 ALSFRS-R, Outputs 4, 6 and 12; ISE Appendix 3.4.2 ALSFRS-R, Output 18 and 20.
ISE Appendix 3.4.1 ALSFRS-R, Outputs 4, 6 and 12; ISE Appendix 3.4.2 ALSFRS-R, Output 18 and 20.

Table 23: Reference-Based Imputation on Missing Data After Intercurrent Event – ALSFRS-R Total Score Change from Baseline at Week 28 and Week 52 – ITT Population

Macro	Time Point	Imputation	Estimated Difference (95% CI)	p-value
Five Macros	Week 28	MAR	2.0 (-0.54, 4.58)	0.1222
		J2R	1.7 (-0.96, 4.38)	0.2089
		CR	1.8 (-0.89, 4.40)	0.1943
		CIR	1.8 (-0.85, 4.42)	0.1847
	Week 52	MAR	3.7 (0.32, 7.03)	0.0319
		J2R	3.0 (-0.59, 6.60)	0.1012
		CR	3.1 (-0.38, 6.61)	0.0806
		CIR	3.2 (-0.26, 6.71)	0.0699
RMConjPlus	Week 28	MAR	2.1 (-0.44, 4.66)	0.1087
		J2R	1.9 (-0.71, 4.49)	0.1566
		CR	1.9 (-0.63, 4.52)	0.1419
		CIR	2.0 (-0.61, 4.53)	0.1378
	Week 52	MAR	3.7 (0.42, 6.97)	0.0294
		J2R	3.1 (-0.35, 6.47)	0.0815
		CR	3.3 (-0.01, 6.61)	0.0533
		CIR	3.3 (0.00, 6.62)	0.0531

Note 1: The ANCOVA model included treatment as a fixed effect and adjusted for the following covariates: baseline plasma NfL, baseline ALSFRS-R total score, and use of riluzole or edaravone.
Note 2: Imputations on missing values after intercurrent events were performed. For MAR, missing values were imputed under MAR. For J2R, missing values in the early start tofersen group following an intercurrent event were imputed using the distribution of the delayed start tofersen group (i.e., the reference). For CR, participants with missing values following intercurrent events had the entire series imputed based on the reference group. For CIR, missing values in the early start tofersen group following an intercurrent event were imputed following a parallel track to the reference group.
Sources: ISE Appendix 3.4.2, Outputs 61, 63, 65, and 67.

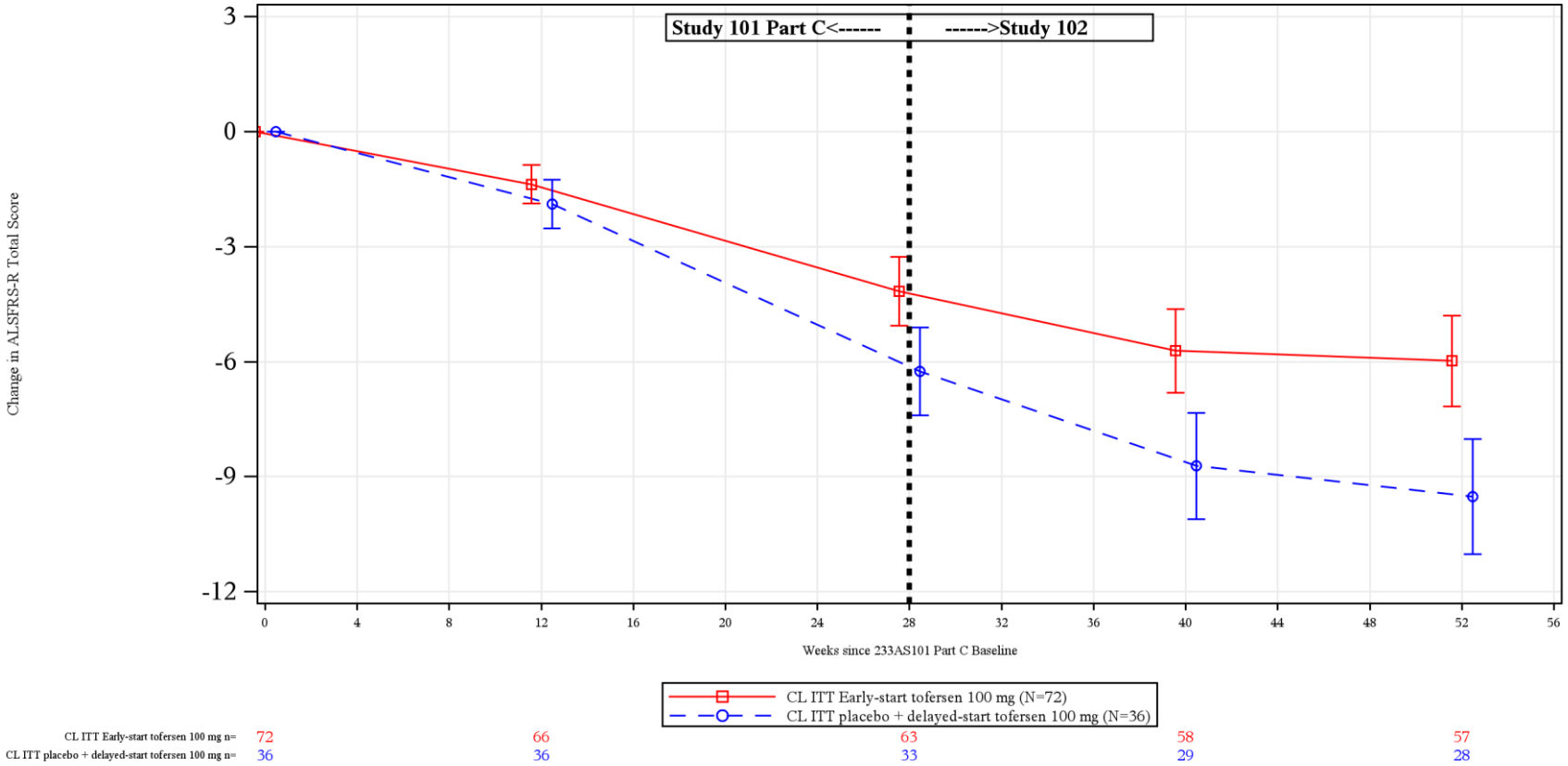
Table 24: Reference-Based Imputation on Missing Data After Intercurrent Event and Imputation Zero After Death – ALSFRS-R Total Score Change from Baseline at Week 28 and Week 52 – ITT Population

Macro	Time Point	Imputation	Estimated Difference (95% CI)	p-value
Five Macros	Week 28	MAR	1.8 (-0.86, 4.49)	0.1842
		J2R	1.6 (-1.13, 4.34)	0.2505
		CR	1.6 (-1.08, 4.36)	0.2364
		CIR	1.7 (-1.04, 4.38)	0.2284
	Week 52	MAR	3.0 (-0.57, 6.65)	0.0992
		J2R	2.7 (-1.01, 6.45)	0.1534
		CR	2.8 (-0.89, 6.44)	0.1384
		CIR	2.9 (-0.80, 6.53)	0.1249
RMConjPlus	Week 28	MAR	1.9 (-0.74, 4.59)	0.1605
		J2R	1.7 (-0.96, 4.42)	0.2104
		CR	1.8 (-0.90, 4.44)	0.1975
		CIR	1.8 (-0.88, 4.46)	0.1927
	Week 52	MAR	3.3 (-0.25, 6.83)	0.0714
		J2R	2.8 (-0.80, 6.42)	0.1302
		CR	3.0 (-0.57, 6.54)	0.1030
		CIR	3.0 (-0.58, 6.53)	0.1038

Note 1: The ANCOVA model included treatment as a fixed effect and adjusted for the following covariates: baseline plasma NfL, baseline ALSFRS-R total score, and use of riluzole or edaravone.
Note 2: Imputations on missing values after intercurrent events were performed. For MAR, missing values were imputed under MAR. For J2R, missing values in the early start tofersen group following an intercurrent event were imputed using the distribution of the delayed start tofersen group (i.e., the reference). For CR, participants with missing values following intercurrent events had entire series imputed based on the reference group. For CIR, missing values in the early start tofersen group following an intercurrent event were imputed following a parallel track to the reference group.
Sources: ISE Appendix 3.4.2, Outputs 62, 64, 66, and 68.

Figure 11: ALSFRS-R Total Score Adjusted Mean Change From Study 101 Part C Baseline ±SE by Visit to Week 52 From ANCOVA+MI - 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 nonmissing 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

共変量の調整

ISE SAP 第 [redacted] 版に規定された、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の解析の結果（MI モデル及び解析モデル）の結果、及び種々の事後解析の結果と比較を Figure 12 に示す。事後解析では、MI を併用した ANCOVA 及び MI を併用した JRT において、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解析で連続共変量としてベースライン時の NfL 濃度での調整の重要性及びその影響を検討した。フォレストプロットでは、いずれの共変量で調整しても、種々の解析集団及び疾患進行性の部分集団（mITT 集団／non-mITT 集団、及び NfL 濃度が中央値以上／未満）のいずれにおいても、一貫してトフェルセン群を支持する傾向が示されている。この傾向は、101 試験パート C の Week 28 時点の解析で示された傾向とも一貫性があった（2.2.2.1 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／non-mITT 集団、及び NfL 濃度が中央値以上／未満）でも、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整すると、同様の一貫した傾向がみられる。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。これは文献とも一貫性があり、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一貫性があった（233AS101 試験パート C の CSR、Section 11.2）。

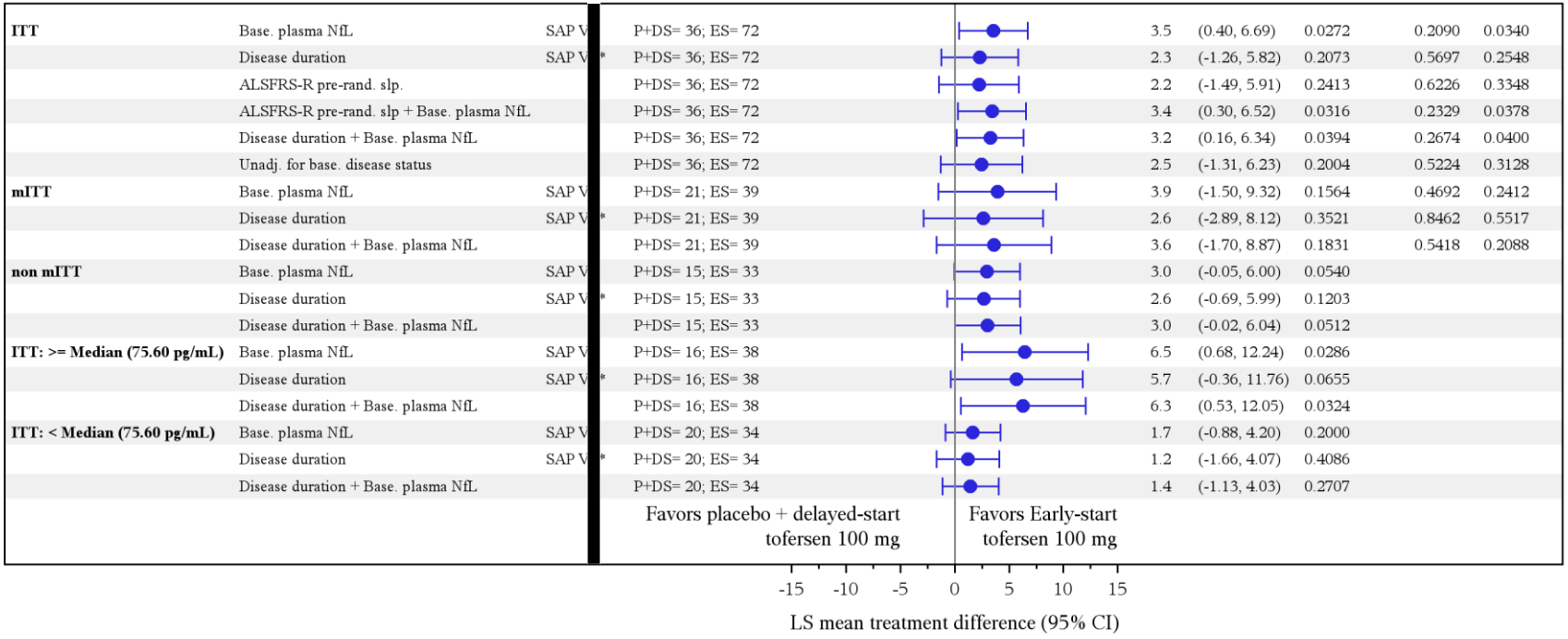
本項で上述した解析の裏付けとして、代替の 1 つの MI を併用した JRT 法でも、MI を併用した ANCOVA と同様の結果が示されている。

ベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整し ITT 集団でのもう 1 つの JRT でも、対応する MI を併用した ANCOVA 解析よりも p 値に一貫性があった。被験者集団及びベースライン時の疾患状態の共変量の調整を通して、もう 1 つの MI を併用した JRT から得られた Week 52 の結果は、MI を併用した ANCOVA の結果とおおむね一致している。

Figure 12: 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 V	P+DS= 36; ES= 72	3.5	(0.40, 6.69)	0.0272	0.2090	0.0340
	Disease duration	SAP V*	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 V	P+DS= 21; ES= 39	3.9	(-1.50, 9.32)	0.1564	0.4692	0.2412
	Disease duration	SAP V*	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 V	P+DS= 15; ES= 33	3.0	(-0.05, 6.00)	0.0540		
	Disease duration	SAP V*	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 V	P+DS= 16; ES= 38	6.5	(0.68, 12.24)	0.0286		
	Disease duration	SAP V*	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 V	P+DS= 20; ES= 34	1.7	(-0.88, 4.20)	0.2000		
	Disease duration	SAP V*	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.
© 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 Sca–e - 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 analysis 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 は、死亡によるデータの打切りを考慮に入れた代替 JRT+MI 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 データセットの中の（死亡以外の理由による）脱落による欠測値の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 ポイント分の変化に尺度全体での一貫性がない。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。

2021 年 7 月 16 日のデータカット時点の ALSFRS-R 合計スコア及び領域スコアは、ISE の Appendix 2.4.1, ALSFRS-R、Output 1、2、及び 4～34 に示す。

2022 年 1 月 16 日のデータカット時点の ALSFRS-R 合計スコア及び領域スコアは、ISE の Appendix 3.4.1, ALSFRS-R、Output 1、2、及び 4～23、ISE の Appendix 3.4.2, ALSFRS-R、Output 1～17 に示す。JRT についての事後解析及び ALSFRS-R 合計スコアのベースラインからの変化量の tipping point analysis は、ISE の Appendix 3.4.2, ALSFRS-R、Output 18～60 に示す。

中間事象の取扱い

種々の中間事象に対応するために、101 試験パート C の有効性の主要解析で用いられた当初の方法による JRT と、当初の方法の限界を軽減することを目的としたもう 1 つの JRT を用いて、ITT 集団を対象に Week 52 時点の事後解析を実施した。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 25 に要約する。種々の中間事象を採り入れたもう 1 つの JRT で、101 試験パート C のベースラインから Week 52 の時点で形式上の統計学的な有意性が認められた。この結果は、MI を併用した ANCOVA の結果と一貫性があった。

Table 25: 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 52*** **(Early-Start vs. Delayed-Start)**
ANCOVA + MI	p=0.0272
JRT+MI accounting for deaths	p=0.2090
JRT+MI accounting for deaths + PV	p=0.2640
JRT+MI accounting for deaths + PV + withdrawal due to disease progression	p=0.2412
Alternative JRT+MI accounting for deaths	p=0.0340
Alternative JRT+MI accounting for deaths + PV	p=0.0394
Alternative JRT+MI accounting for deaths + PV + withdrawal due to disease progression	p=0.0267

NOTE 1: All analyses were post hoc, and all p-values are 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 20, 55, and 56.

もう 1 つの事後解析での感度分析も実施し、死亡後は 0 で補完した。p 値は小さかったが、結果は MI を併用した ANCOVA の結果と同程度であった。プラセボ／投与開始遅延群の被験者は早期開始群に比べて、101 試験パート C のベースラインから Week 52 までの ALSFRS-R スコアの低下が大きく、投与群間差は 3.3（95% CI：-0.2, 6.8、nominal p = 0.0609）であった［ISE、Appendix 3.4.2, ALSFRS-R、Output 22］。

ALSFRS-R の各領域

ITT 集団の長期の観察では、ALSFRS-R 合計スコアと同様、ALSFRS-R のすべての領域で、プラセボ／投与開始遅延群はベースラインから Week 52 までのスコアの低下が相対的に大きかった（Table 26）。早期開始を支持するこれらの差が特に大きかったのは、微細運動能力、粗大運動能力、及び呼吸機能であった。

Table 26: Change in ALSFRS-R Domains From Study 101 Part C Baseline in Studies 101 Part C and 102 (ITT population)

		ISE Based on January 2022 Data Cut**
Domain	**Endpoint**	Early-start tofersen (n=72) vs. placebo → delayed-start tofersen (n=36) Change from baseline to **Week 52**
Bulbar Function	**Adjusted for baseline plasma NfL**	
	N: Tof; Placebo	72; 36
	Adjusted means: Tof; Placebo	-1.4, -1.7
	Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	0.3 (-0.7, 1.3)
	p-value (ANCOVA+MI)	0.5889
Fine Motor Skill	**Adjusted for baseline plasma NfL**	
	N: Tof; Placebo	72; 36
	Adjusted means: Tof; Placebo	-1.6, -2.6
	Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	1.0 (0.1, 2.0)
	p-value (ANCOVA+MI)	0.0374
Gross Motor Skill	**Adjusted for baseline plasma NfL**	
	N: Tof; Placebo	72; 36
	Adjusted means: Tof; Placebo	-1.1, -2.1
	Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	1.0 (0.1, 1.8)
	p-value (ANCOVA+MI)	0.0227
Respiratory Function	**Adjusted for baseline plasma NfL**	
	N: Tof; Placebo	72; 36
	Adjusted means: Tof; Placebo	-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: Baseline was defined as Day 1 value prior to the study drug. If Day 1 value was missing, the nonmissing value (including screening visit) closest to and prior to the first dose was 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 was used for missing data.
NOTE 3: For non-Japanese subjects, the Global ALSFRS-R was used. For Japanese subjects, the Japanese (Ohashi) ALSFRS-R was 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 indicated an improvement.

NOTE 4: The ANCOVA model included treatment as a fixed effect and adjusted for the following covariates: baseline plasma NfL, baseline ALSFRS-R total score, and use of riluzole or edaravone.
Source: ISE Appendix 3.4.1 ALSFRS-R, Output 11.

3.1.2.1.2 SVC

ITT 集団の長期での観察では、プラセボ／投与開始遅延群における SVC（%予測値）のベースラインから Week 52 までの低下は、早期開始群よりも大きくなった（-18.6 対-9.4；%予測値の差は 9.2［95%CI：1.7, 16.6］；ANCOVA + MI nominal p = 0.0159；Table 27；Figure 13）。この結果は、1 回目の中間解析のデータカット時点（2021 年 7 月 16 日）に認められた Week 40 まで持続した差と一貫性があり、すべての部分集団の解析で認められた傾向とも一貫性があった。

Table 27: Change in SVC Percent Predicted From Study 101 Part C Baseline in Studies 101 Part C and 102

		ISE Based on July 2021 Data Cut*	**ISE Based on January 2022 Data Cut****
	Endpoint	Early-start tofersen (n=72) vs. placebo → delayed-start tofersen (n=36) Change from baseline to **Week 40**	Early-start tofersen (n=72) vs. placebo → delayed-start tofersen (n=36) Change from baseline to **Week 52**
ITT	**Adjusted for baseline plasma NfL**		
	N: Tof; Placebo	72; 36	72; 36
	Adjusted means: Tof; Placebo	-8.6, -20.8	-9.4; -18.6
	Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	12.2 (4.3, 20.1)	9.2 (1.7, 16.6)
	p-value (ANCOVA+MI)	N/A	0.0159
Faster progressing	**mITT**		
	N: Tof; Placebo	39; 21	39; 21
	Adjusted means: Tof; Placebo	-17.7; -30.4	-17.2; -28.0
	Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	12.7 (-1.1, 26.5)	10.8 (-2.6, 24.1)
	p-value (ANCOVA+MI)	N/A	0.1139
	≥ median (75.6 pg/mL) baseline plasma NfL		
	N: Tof; Placebo	38; 16	38; 16
	Adjusted means: Tof; Placebo	-20.2; -34.3	-20.3; -31.0
	Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	14.1 (-0.6, 28.8)	10.7 (-2.1, 23.6)
	p-value (ANCOVA+MI)	N/A	0.1019
Slower progressing	**non-mITT**		
	N: Tof; Placebo	33; 15	33; 15
	Adjusted means: Tof; Placebo	1.6, -6.5	-0.9; -5.0
	Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	8.1 (-1.0, 17.2)	4.2 (-2.7, 11.1)
	p-value (ANCOVA+MI)	N/A	0.2354

		ISE Based on July 2021 Data Cut*	ISE Based on January 2022 Data Cut**
	Endpoint	Early-start tofersen (n=72) vs. placebo → delayed-start tofersen (n=36) Change from baseline to **Week 40**	Early-start tofersen (n=72) vs. placebo → delayed-start tofersen (n=36) Change from baseline to **Week 52**
	< median (75.6 pg/mL) baseline plasma NfL		
	N: Tof; Placebo	34; 20	34; 20
	Adjusted means: Tof; Placebo	0.9; -9.8	0.2; -7.3
	Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	10.7 (0.6, 20.8)	7.6 (-0.1, 15.2)
	p-value (ANCOVA+MI)	N/A	0.0525

* For all analyses in slower and faster progressing subgroups the multiple imputation model included treatment, use of riluzole or edaravone, relevant baseline value and postbaseline values. Adjusted means, treatment difference and corresponding 95% CIs were obtained from the ANCOVA model for change from baseline in conjunction with multiple imputation. The ANCOVA models for prespecified analyses included treatment as a fixed effect and adjusted for the following covariates: baseline disease duration since symptom onset, baseline ALSFRS-R total score, relevant baseline score, and use of riluzole or edaravone. For the ITT population the multiple imputation model included treatment, use of riluzole or edaravone, baseline plasma NfL, relevant baseline value and postbaseline values. The ANCOVA model for the ITT population included treatment as a fixed effect and adjusted for the following covariates: baseline plasma NfL, relevant baseline score, and use of riluzole or edaravone.

** The multiple imputation model was based on all participants in the relevant population (ITT, mITT, non-mITT) and included baseline plasma NfL, treatment, use of riluzole or edaravone, relevant baseline score and postbaseline values. 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: plasma NfL, relevant baseline score, and use of riluzole or edaravone.

NOTE 1: Lower scores depicted a worsening in function.

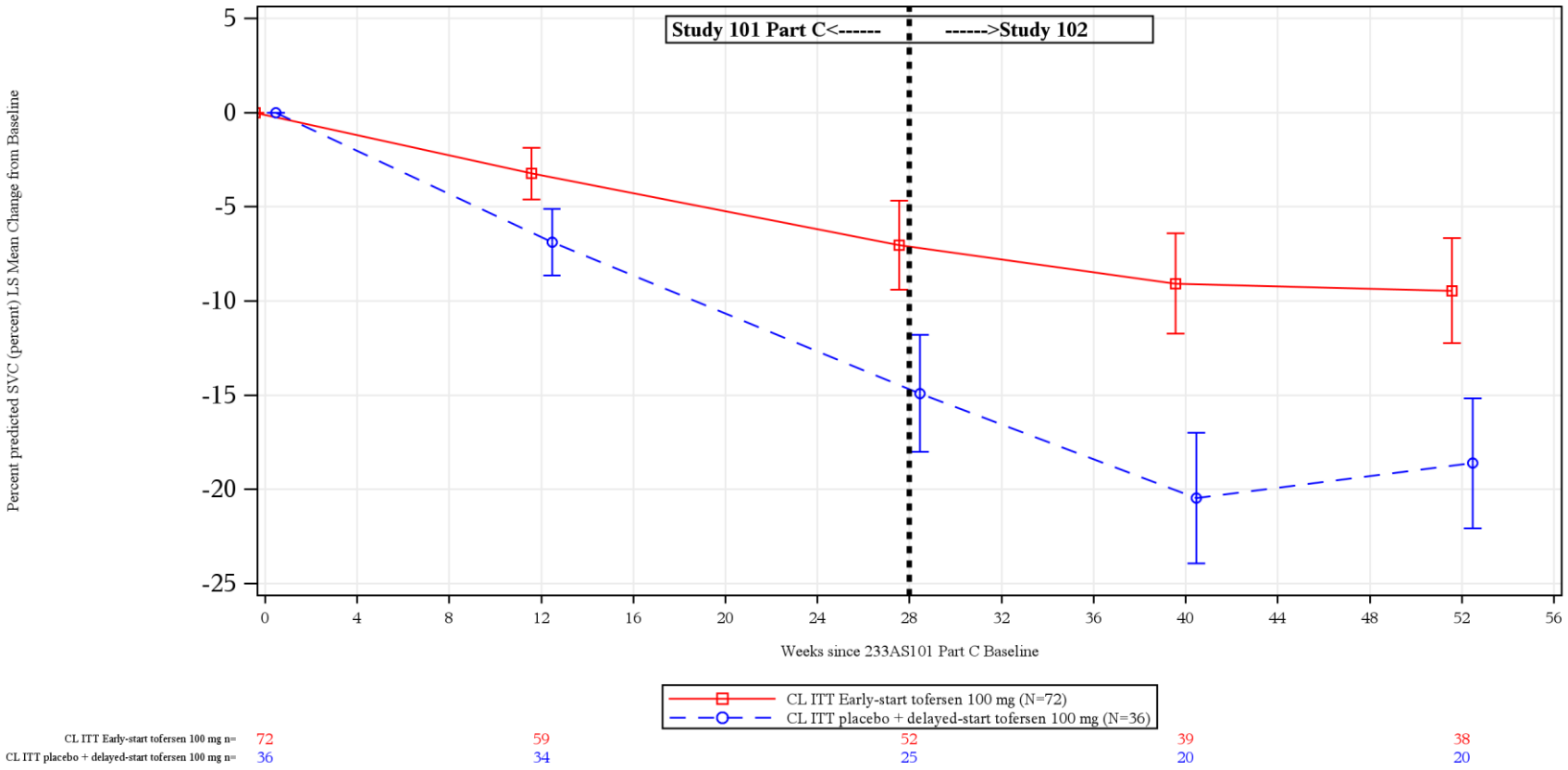
Sources:

16 July 2021 data cut: ISE Appendix 2.4.2 Percent SVC and HHD, Outputs 3, 12, and 15.

16 January 2022 data cut: ISE Appendix 3.4.3 Percent SVC and HHD, Outputs 3, 4, and 7.

Figure 13: SVC Percent Predicted Adjusted Mean Change From Study 101 Part C Baseline ±SE by Visit to Week 52 From ANCOVA+MI - 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 nonmissing 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

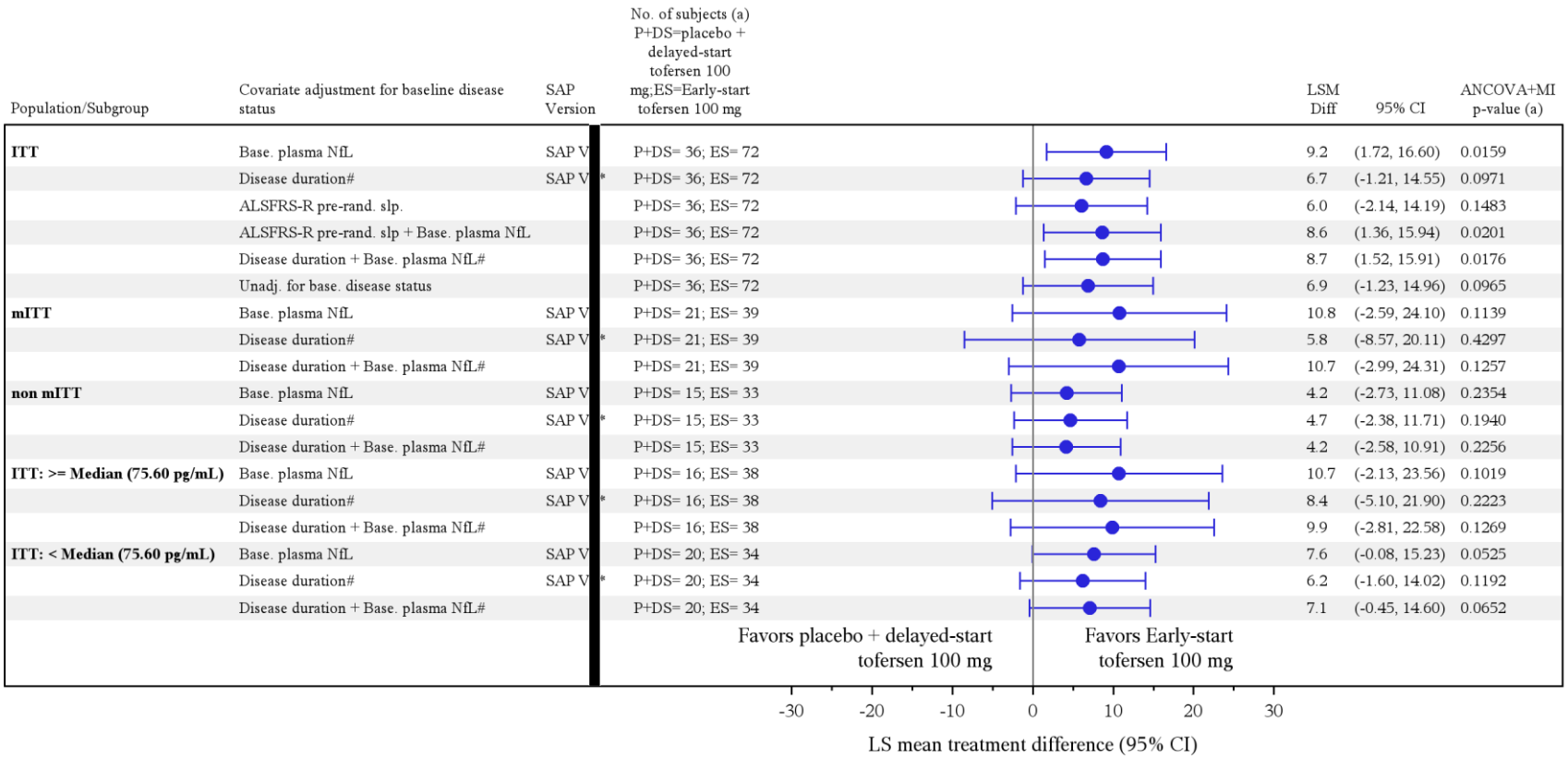
ISE SAP 第[redacted]版に規定された、ベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整した ITT 集団及び疾患進行性の部分集団の解析の結果（MI モデル及び解析モデル）、及び種々の事後解析の結果と比較を Figure 14 に示す。事後解析は、ベースラインから Week 52 までの SVC の%予測値の変化に関する解析で連続共変量としてベースライン時の NfL 濃度で調整することの重要性及びその影響について検討した。フォレストプロットでは、種々の解析集団及び疾患進行性の部分集団（mITT 集団／non-mITT 集団、及び NfL 濃度が中央値以上／未満）のいずれにおいても、また、種々の共変量の組み合わせで調整した場合にも、一貫してトフェルセン群を支持する傾向が示されている。この傾向は、101 試験パート C の Week 28 時点の解析で示された傾向とも一貫性があった（2.2.2 項）。

ベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整したときの ITT 集団及び事前に規定した疾患進行性の部分集団（mITT 集団／non-mITT 集団、及び NfL 濃度が中央値以上／未満）でも同様の傾向が認められている。

Figure 14: 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 V	P+DS= 36; ES= 72	9.2	(1.72, 16.60)	0.0159
	Disease duration#	SAP V*	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 V	P+DS= 21; ES= 39	10.8	(-2.59, 24.10)	0.1139
	Disease duration#	SAP V*	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 V	P+DS= 15; ES= 33	4.2	(-2.73, 11.08)	0.2354
	Disease duration#	SAP V*	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 V	P+DS= 16; ES= 38	10.7	(-2.13, 23.56)	0.1019
	Disease duration#	SAP V*	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 V	P+DS= 20; ES= 34	7.6	(-0.08, 15.23)	0.0525
	Disease duration#	SAP V*	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 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.
#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

2021 年 7 月 16 日のデータカット時点の SVC（%予測値）は、ISE の Appendix 2.4.2, Percent SVC and HHD、Output 1～15 に示す。

2022 年 1 月 16 日のデータカット時点の SVC（%予測値）は、ISE の Appendix 3.4.3, Percent SVC and HHD、Output 1～16 及び 42～60 に示す。

3.1.2.1.3 HHD メガスコア

ITT 集団の長期での観察では、プラセボ／投与開始遅延群における HHD メガスコアのベースラインから Week 52 までの低下は、早期開始群よりも大きくなった（-0.45 vs. -0.17 ; 投与群間差 0.28［95% CI：0.05, 0.52］; ANCOVA + MI nominal p = 0.0186）。これは、1 回目の中間解析のデータカット時点（2021 年 7 月 16 日）に認められた Week 40 まで持続した差と一貫性があり、すべての部分集団の解析で認められた傾向とも一貫性があった（Table 28 及び Figure 15）。

1.5.3 項で述べたように、ALS 患者では筋力が徐々に失われる。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 後に筋力の安定化が認められた。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（比率の差の推定値：18.8%、95% CI：1.4, 36.2）［ISE の Appendix 3.4.3, Percent SVC and HHD、Output 84］。

筋力の回復は、軸索損傷又は神経変性の緩徐化を示すエビデンスよりも遅れて現れると考えられている。神経支配を失った筋肉の筋力が回復するには、複数の事象が生じる必要がある。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出し、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、再度神経支配を得た筋線維が筋原線維を増やすことにより、筋収縮力が強化される必要がある。

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 28: Change in HHD Megascore From Study 101 Part C Baseline in Studies 101 Part C and 102

		ISE Based on July 2021 Data Cut*	**ISE Based on January 2022 Data Cut****
	Endpoint	Early-start tofersen (n=72) vs. placebo → delayed-start tofersen (n=36) Change from baseline to **Week 40**	Early-start tofersen (n=72) vs. placebo → delayed-start tofersen (n=36) Change from baseline to **Week 52**
ITT	**Adjusted for baseline plasma NfL**		
	N: Tof; Placebo	72; 36	72; 36
	Adjusted means: Tof; Placebo	-0.21; -0.51	-0.17; -0.45
	Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	0.30 (0.09, 0.51)	0.28 (0.047, 0.517)
	p-value (ANCOVA+MI)	N/A	0.0186
Faster progressing	**mITT**		
	N: Tof; Placebo	39; 21	39; 21
	Adjusted means: Tof; Placebo	-0.24; -0.56	-0.23; -0.62
	Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	0.32 (-0.06, 0.70)	0.39 (-0.004, 0.778)
	p-value (ANCOVA+MI)	N/A	0.0522
	≥ median (75.6 pg/mL) baseline plasma NfL		
	N: Tof; Placebo	38; 16	38; 16
	Adjusted means: Tof; Placebo	-0.36; -0.74	-0.37; -0.73
	Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	0.38 (0.03, 0.72)	0.36 (-0.005, 0.728)
	p-value (ANCOVA+MI)	N/A	0.0534
Slower progressing	**non-mITT**		
	N: Tof; Placebo	33; 15	33; 15
	Adjusted means: Tof; Placebo	-0.07; -0.25	-0.03; -0.24
	Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	0.18 (-0.08, 0.44)	0.21 (-0.036, 0.447)
	p-value (ANCOVA+MI)	N/A	0.0946
	< median (75.6 pg/mL) baseline plasma NfL		
	N: Tof; Placebo	34; 20	34;20
	Adjusted means: Tof; Placebo	-0.04; -0.29	0.03;-0.28
	Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	0.25 (-0.07, 0.58)	0.30 (0.027, 0.582)
	p-value (ANCOVA+MI)	N/A	0.0313

* For all analyses in slower and faster progressing subgroups the multiple imputation model included treatment, use of riluzole or edaravone, relevant baseline value and postbaseline values. Adjusted means, treatment difference and corresponding 95% CIs were obtained from the ANCOVA model for change from baseline in conjunction with multiple imputation. The ANCOVA models for prespecified analyses included treatment as a fixed effect and adjusted for the following covariates: baseline disease duration since symptom onset, relevant baseline score, and use of riluzole or edaravone. For the ITT population the multiple imputation model included treatment, use of riluzole or edaravone, baseline plasma NfL, relevant baseline value and postbaseline values. The ANCOVA model for the ITT population included treatment as a fixed effect and adjusted for the following covariates: baseline plasma NfL, relevant baseline score, and use of riluzole or edaravone.

** The multiple imputation model was based on all participants in the relevant population (ITT, mITT, non-mITT) and included baseline plasma NfL, treatment, use of riluzole or edaravone, relevant baseline score and postbaseline values.

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 adjust for the following covariates: plasma NfL, relevant baseline score, and use of riluzole or edaravone.
NOTE 1: Lower scores depicted a worsening in function.

Sources:

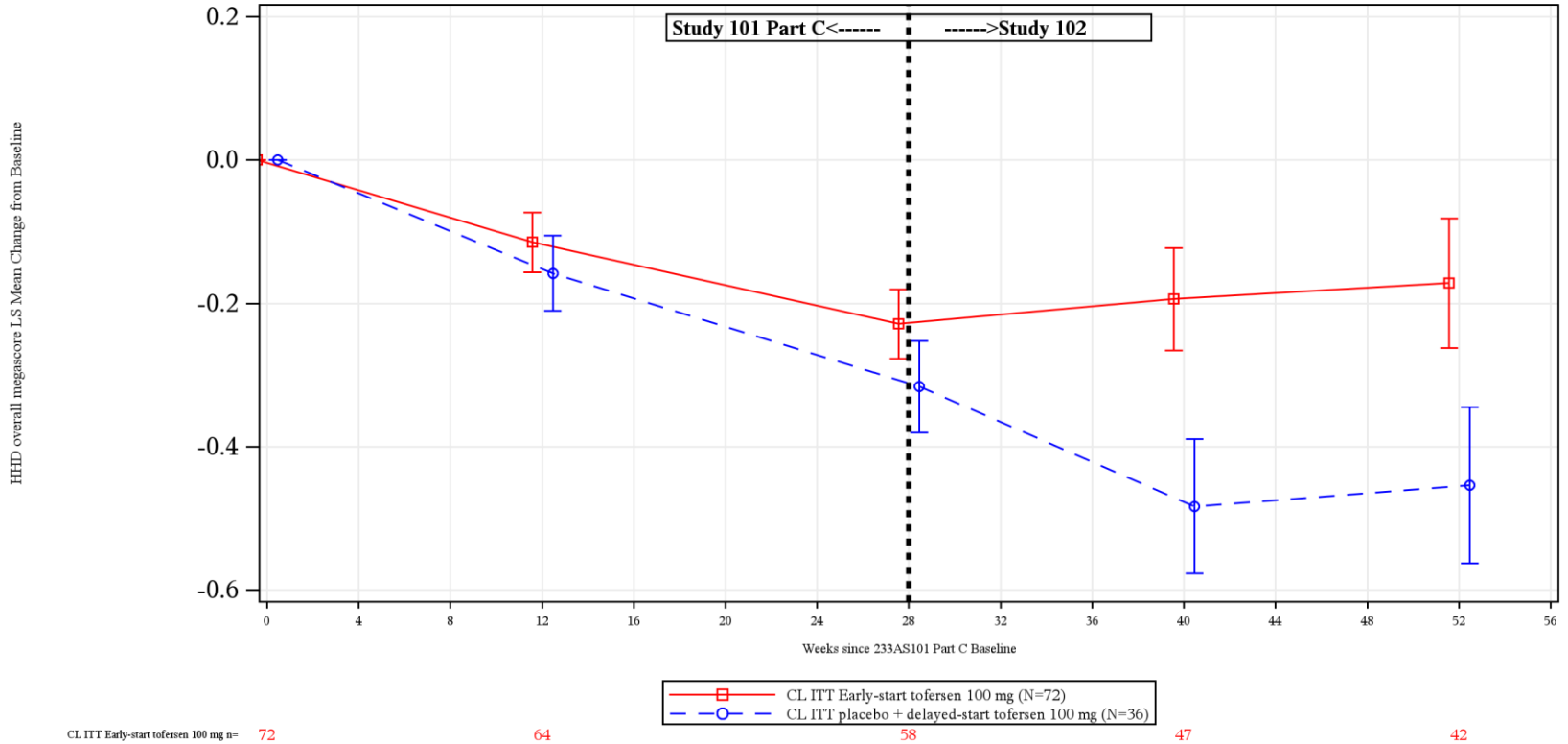
16 July 2021 data cut: ISE Appendix 2.4.2 Percent SVC and HHD, Outputs 19, 27 and 34.

16 January 2022 data cut: ISE Appendix 3.4.3 Percent SVC and HHD, Outputs 19, 20, and 27.

Figure 15: HHD Megascore Adjusted Mean Change From Study 101 Part C Baseline ±SE by Visit to Week 52 From ANCOVA+MI (ITT Population)

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

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 nonmissing 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

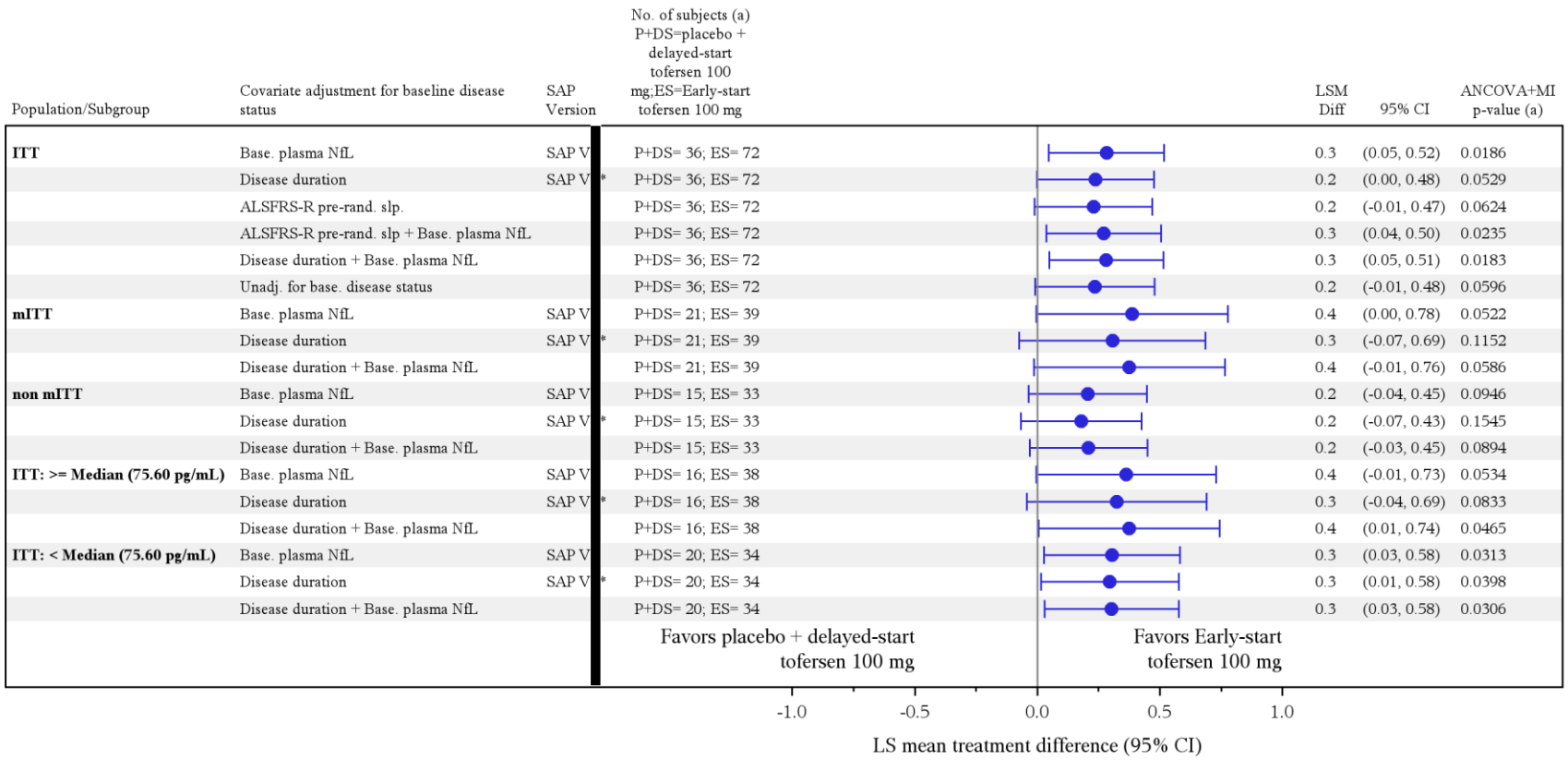
共変量の調整

ISE SAP 第 [redacted] 版に規定された、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の解析の結果（MI モデル及び解析モデル）、及び種々の事後解析の結果と比較を Figure 16 に示す。事後解析では、ベースラインから Week 52 までの HHD メガスコアの変化の解析で連続共変量としてベースライン時の NfL 濃度での調整の重要性及びその影響について検討した。フォレストプロットでは、種々の解析集団及び疾患進行性の部分集団（mITT 集団／non-mITT 集団、及び NfL 濃度が中央値以上／未満）、及び種々の共変量の組み合わせで調整した場合にも、一貫してトフェルセン群を支持する傾向が示されている。この傾向は、101 試験パート C の Week 28 時点の解析で示された傾向とも一貫性があった（2.2.2 項）。

ベースライン時の血漿中 NfL 濃度で調整したときの ITT 集団及び事前に規定した疾患進行性の部分集団（mITT 集団／non-mITT 集団、及び NfL 濃度が中央値以上／未満）でも、同様の傾向が認められている。

Figure 16: 233AS101 and 233AS102 ISE: Forest Plot of HHD Megascore Change From Baseline to Week 52

Page: 1 of 2



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

2021 年 7 月 16 日のデータカット時点の HHD メガスコアは、ISE の Appendix 2.4.2, Percent SVC and HHD、Output 16～22 及び 24～34 に示す。

2022 年 1 月 16 日のデータカット時点の HHD メガスコアは、ISE の Appendix 3.4.3, Percent SVC and HHD、Output 17～41 及び 61～84 に示す。

上肢及び下肢の HHD メガスコア

ITT 集団の長期の観察では、全体的な HHD メガスコアと同様に、プラセボ／投与開始遅延群はベースラインから Week 52 までの上肢及び下肢の HHD メガスコアの低下がいずれも相対的に大きかった（Table 29 並びに ISE の Appendix 3.4.3, Percent SVC and HHD、Output 32、37、61、及び 62）。

Table 29: Change in HHD Upper and Lower Extremities Megascore Change From Study 101 Part C Baseline in Studies 101 Part C and 102 (ITT population)

		ISE Based on January 2022 Data Cut**
Domain	Endpoint	Early-start tofersen (n=72) vs. placebo → delayed-start tofersen (n=36) Change from baseline to **Week 52**
Upper Extremities	**Adjusted for baseline plasma NfL**	
	N: Tof; Placebo	72; 36
	Adjusted means: Tof; Placebo	-0.22, -0.47
	Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	0.25 (0.00, 0.51)
	p-value (ANCOVA+MI)	0.0512
Lower Extremities	**Adjusted for baseline plasma NfL**	
	N: Tof; Placebo	72; 36
	Adjusted means: Tof; Placebo	-0.02 -0.40
	Tofersen-placebo: adjusted mean difference (95% CI)	0.38 (0.05, 0.72)
	p-value (ANCOVA+MI)	0.0242

NOTE 1: A lower megascore depicted a worsening. 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 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: The upper and lower extremities megascore were calculated as an average normalized Z scores of 6 bilateral muscles in upper limb and 2 bilateral muscles of lower limb, respectively.
Source: ISE Appendix 3.4.3 Percent SVC and HHD, Output 28

3.1.2.1.4 生存期間

3.1.2.1.4.1 イベント発現までの期間

死亡又は永続的換気までの期間の中央値及び死亡までの期間の中央値は、イベント数が少なかったため推定できなかった。ITT 集団では、トフェルセン投与の早期開始により死亡又は永続的換気のリスク及び死亡のリスクを明らかに低下させた（Table 30）。試験中止後に収集した生存状態の情報を取り入れた死亡までの期間及び死亡、永続的換気、又は疾患進行による試験中止までの期間の補足的解析では、一貫した裏付けとなるエビデンスが示されている。試験中止後の生存状態は、101 試験パート C の数例で収集されなかった。2022 年 1 月 16 日の時点で、早期開始群の 5 例（7%）及びプラセボ／投与開始遅延群の 3 例（8%）の生存状態は不明である。

Figure 17 に示したように、投与群間の差は Week 52 より後に明らかになった。試験期間が短いことによる限界に着目すると、これらのデータから、早期の標的特異作用（Target Engagement）及びニューロフィラメントの減少が認められても、臨床機能及び筋力の評価項目、及び最終的には生存期間での差を観察するには時間を要することが示唆された。

ITT 集団ではいずれの投与群でも中央値は推定できなかったが、疾患の不均一性を適切に説明するため、イベント発生までの期間の解析について NfL 値に基づく部分集団でも評価した。NfL が中央値未満の群では、疾患の進行が緩徐でイベント数が非常に少なかった。重要な点として、2022 年 1 月 16 日時点で早期開始群では死亡又は永続的換気のイベントは認められていなかった。NfL が中央値以上の部分集団では、投与開始遅延群における死亡又は永続的換気までの期間の中央値は約 1.5 年であった。データカット時点で早期開始群は中央値が推定できなかったものの、無イベント期間の 1 年以上の延長を示している（Table 30 及び Figure 18）。

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 Table 31 に示す。RPSFTM から推定したハザード比は、実際の生存期間から推定したハザード比よりもはるかに小さかった（Table 30）。Cox 回帰による p 値は統計学的に有意であり、トフェルセン群を支持する治療効果が裏付けられた。RPSFTM 解析では投与開始遅延群（緑色）の被験者は、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 19）。

2021 年 7 月 16 日のデータカット時点のイベント発現までの期間の解析については、ISE の Appendix 2.4.3, Time to Death or Permanent Ventilation and Time to Death、Output 1～8、11～13、及び 16～37 に示す。

2022 年 1 月 16 日のデータカット時点のイベント発現までの期間の解析については、ISE の Appendix 3.4.4, Time to Death or Permanent Ventilation and Time to Death、Output 1～11、13、15、16、18、19、及び 21～41；ISE の Appendix 3.4.5, Time to Death or Permanent Ventilation and Time to Death、及び ISE の Appendix 3.4.6, Time to Death or Permanent Ventilation and Time to Death に示す。

ISE の Appendix 3.4.4、3.4.5、及び 3.4.6 には、2021 年 7 月 16 日のデータカット時点のデータと比較した死亡までの期間も含まれる。

Table 30: Time-to-Event Analyses in Studies 101 Part C and 102 (ITT Population)

	ISE Based on January 2022 Data Cut	
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 subjects (%)	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 subjects (%)	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 subjects (%)	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, permanent ventilation, or withdrawal due to disease progression		
Number of events/Total number subjects (%)	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
Time to death or PV in the ≥ median plasma NfL group		
Number of events/Total number participants (%)	12/38 (31.6)	7/16 (43.8)
Hazard ratio (95% CI)*		0.37 (0.136, 0.988)
Cox regression p-value*		0.0473
Log-rank test p-value***		0.2235
Time to death or PV in the < median plasma NfL group		
Number of events/Total number participants (%)	0/34	1/20 (5.0)
Hazard ratio (95% CI)*		NE
Cox regression p-value*		NE
Log-rank test p-value***		0.2059

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 PV was defined as the time from first dose to death or PV (≥ 22 hours of mechanical ventilation

[invasive or noninvasive] per day for ≥ 21 consecutive days), whichever came first. Participants who did not meet the endpoint definition were censored at the participant's last known alive date. Similarly, time to death, PV 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.
*** Based on a log rank test stratified by riluzole or edaravone use.
Sources: ISE Appendix 3.4.4 Time to Death or Permanent Ventilation and Time to Death, Outputs 3, 10, 29, and 36.
ISE Appendix 3.4.5 Time to Death or Permanent Ventilation and Time to Death, Output 2.

Table 31: Summary of RPSFTM Analysis of Event-Free Survival – ITT Population

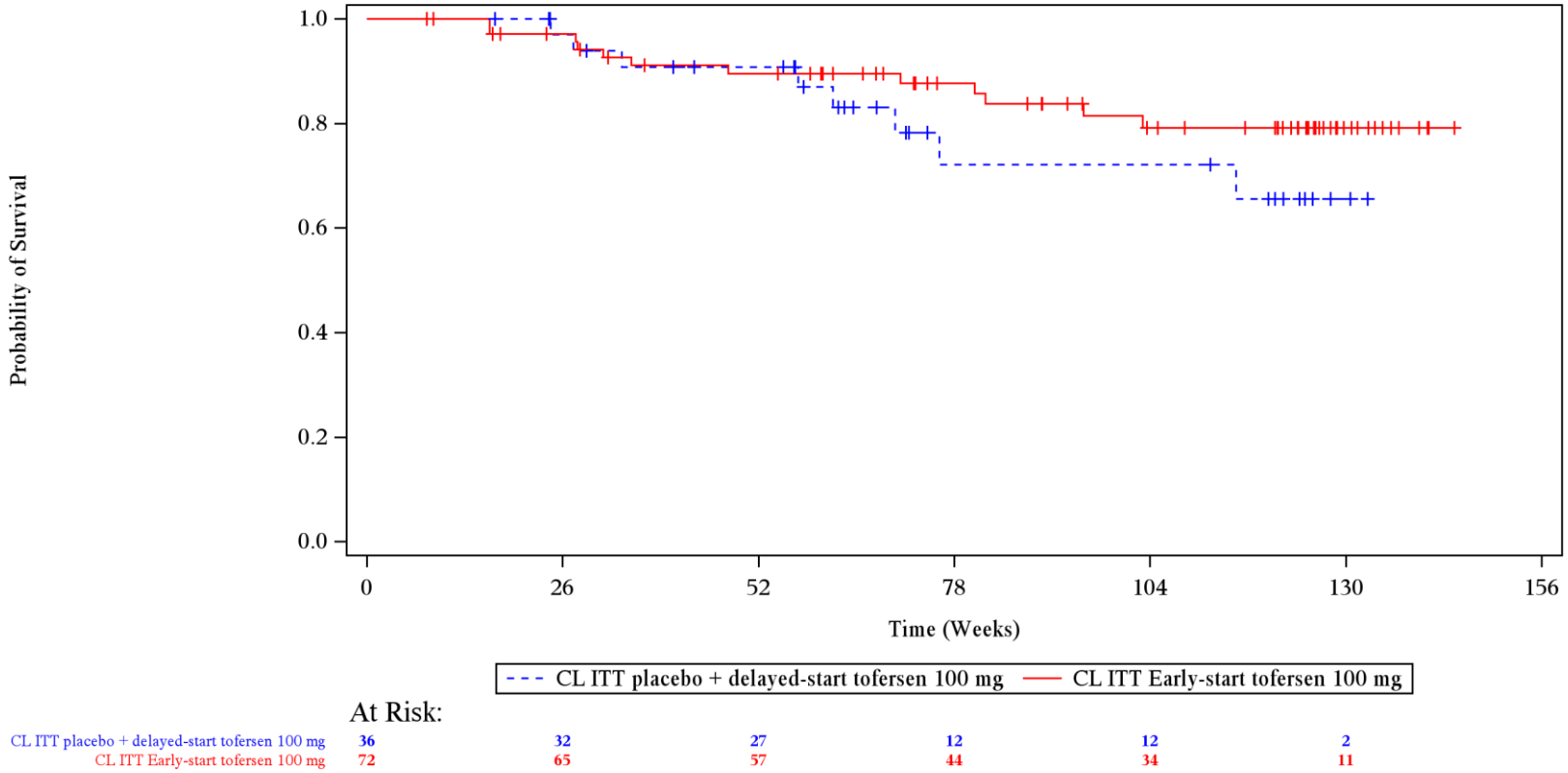
	January 2022 Data Cut	
Endpoint	**Without recensoring**	**With recensoring**
Time to death or PV		
HR	0.20	0.28
(Unadjusted 95% CI)	(0.064, 0.590)	(0.087, 0.917)
(Adjusted 95% CI)*	(0.041, 0.917)	(0.085, 0.935)
Log-rank p-value	0.0045	0.0608
Cox p-value	0.0038	0.0354
Time to death		
HR	0.10	0.11
(Unadjusted 95% CI)	(0.024, 0.426)	(0.021, 0.595)
(Adjusted 95% CI)*	(0.013, 0.814)	(0.015, 0.822)
Log-rank p-value	0.0021	0.0207
Cox p-value	0.0018	0.0101
Time to death, PV, or withdrawal due to disease progression		
HR	0.21	0.27
(Unadjusted 95% CI)	(0.089, 0.516)	(0.102, 0.724)
(Adjusted 95% CI)*	(0.063, 0.731)	(0.096, 0.767)
Log-rank p-value	0.0004	0.0157
Cox p-value	0.0006	0.0092

* Based on distribution of log hazard ratio retaining the Cox regression p-value from the ITT analysis, back transformed to the original scale.
Sources: ISE Appendix 3.4.6, Outputs 10 through 12, 16 through 18, and 22.

Figure 17: Kaplan-Meier Plot of Time to Death or PV From Study 101 Part C Baseline (ITT Population)

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

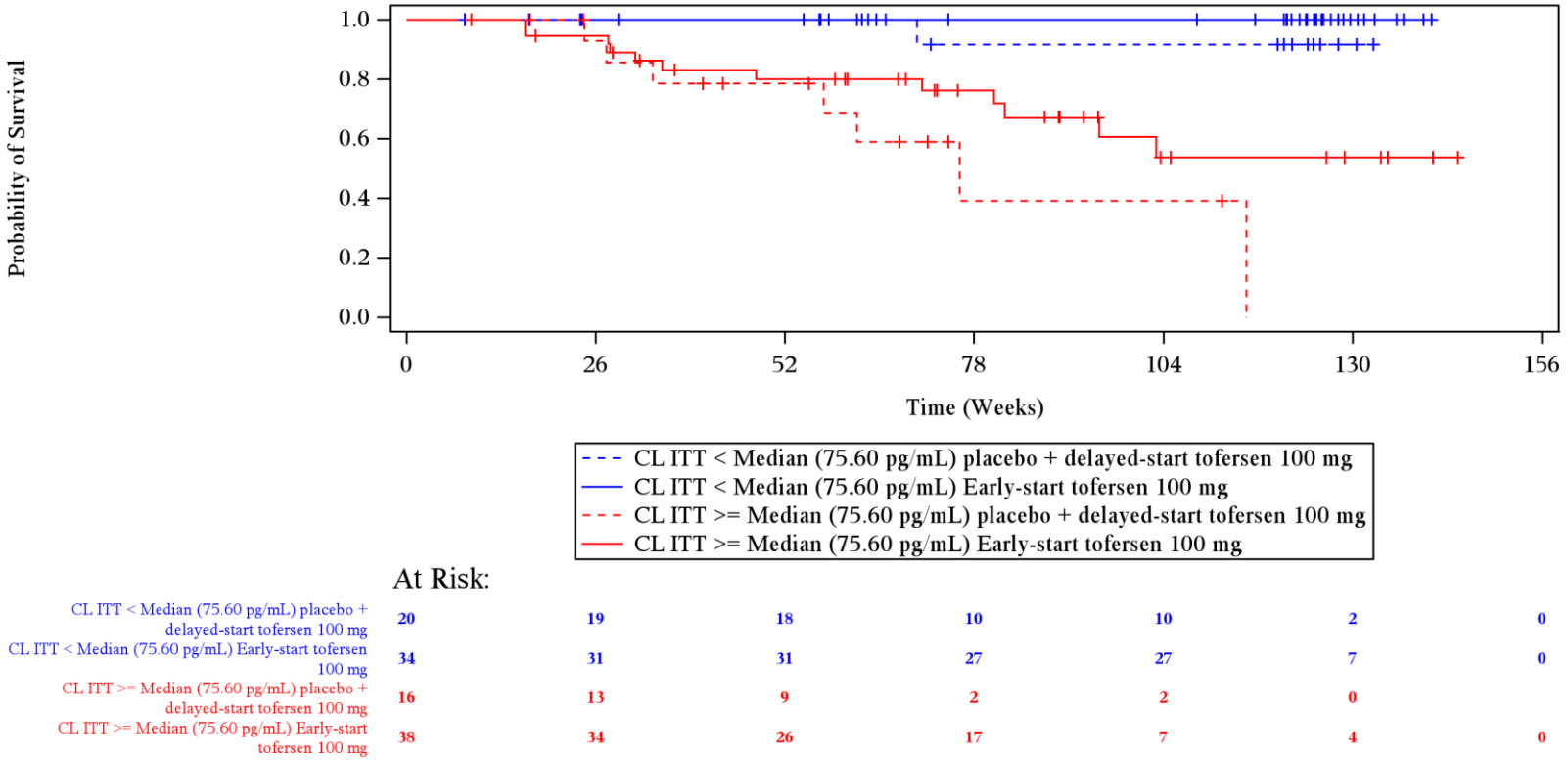
Page: 1 of 1



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 18: Kaplan-Meier Plot of Time to Death or PV by Median Baseline Plasma NfL Level - ITT Population

Page: 1 of 1

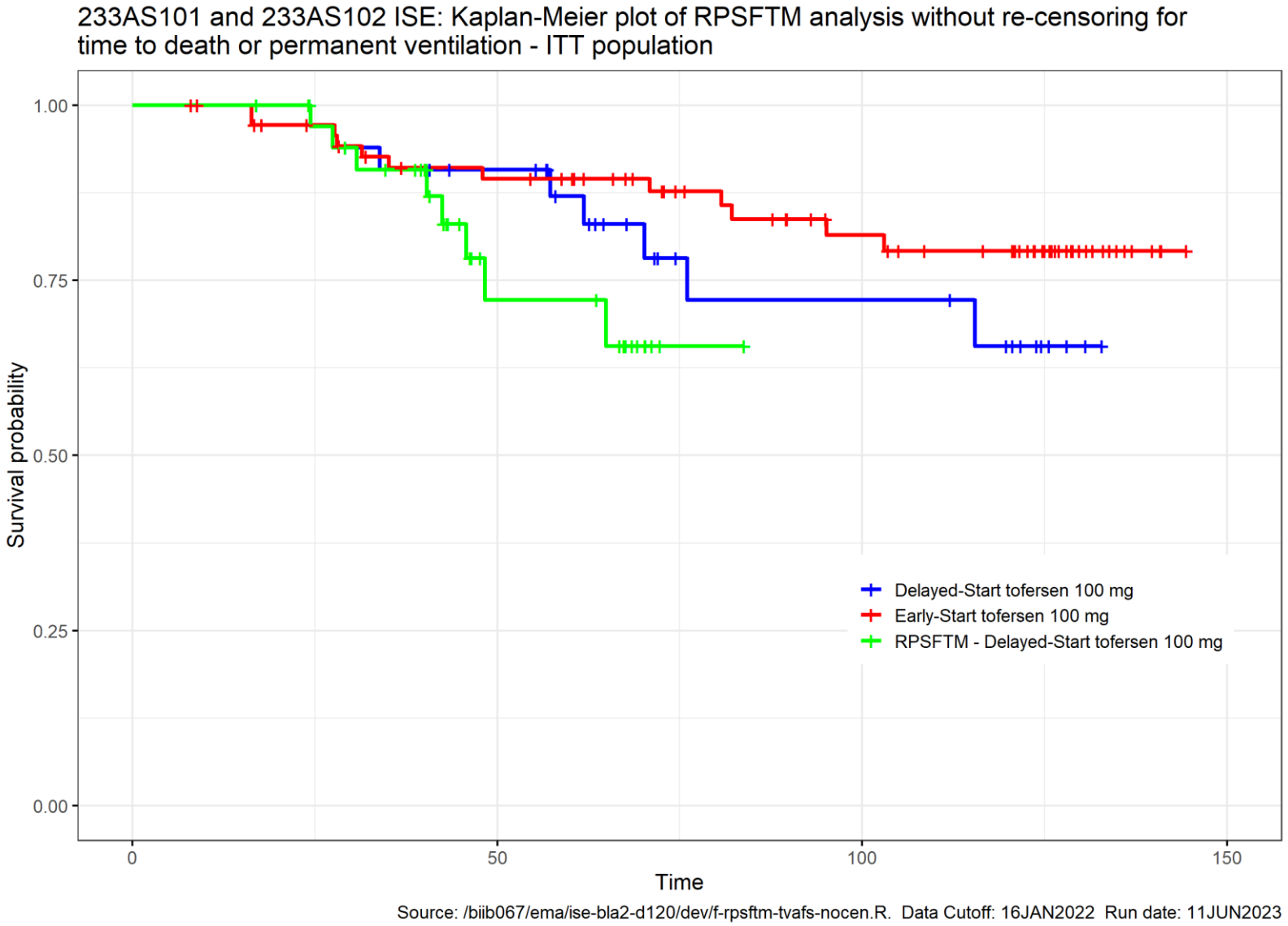


At Risk:

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 19: Kaplan-Meier Plot of RPSFTM Analysis Without Recensoring for Time to Death or PV - ITT Population



3.1.2.1.4.2 トフェルセンを投与された A5V キャリアの罹患期間

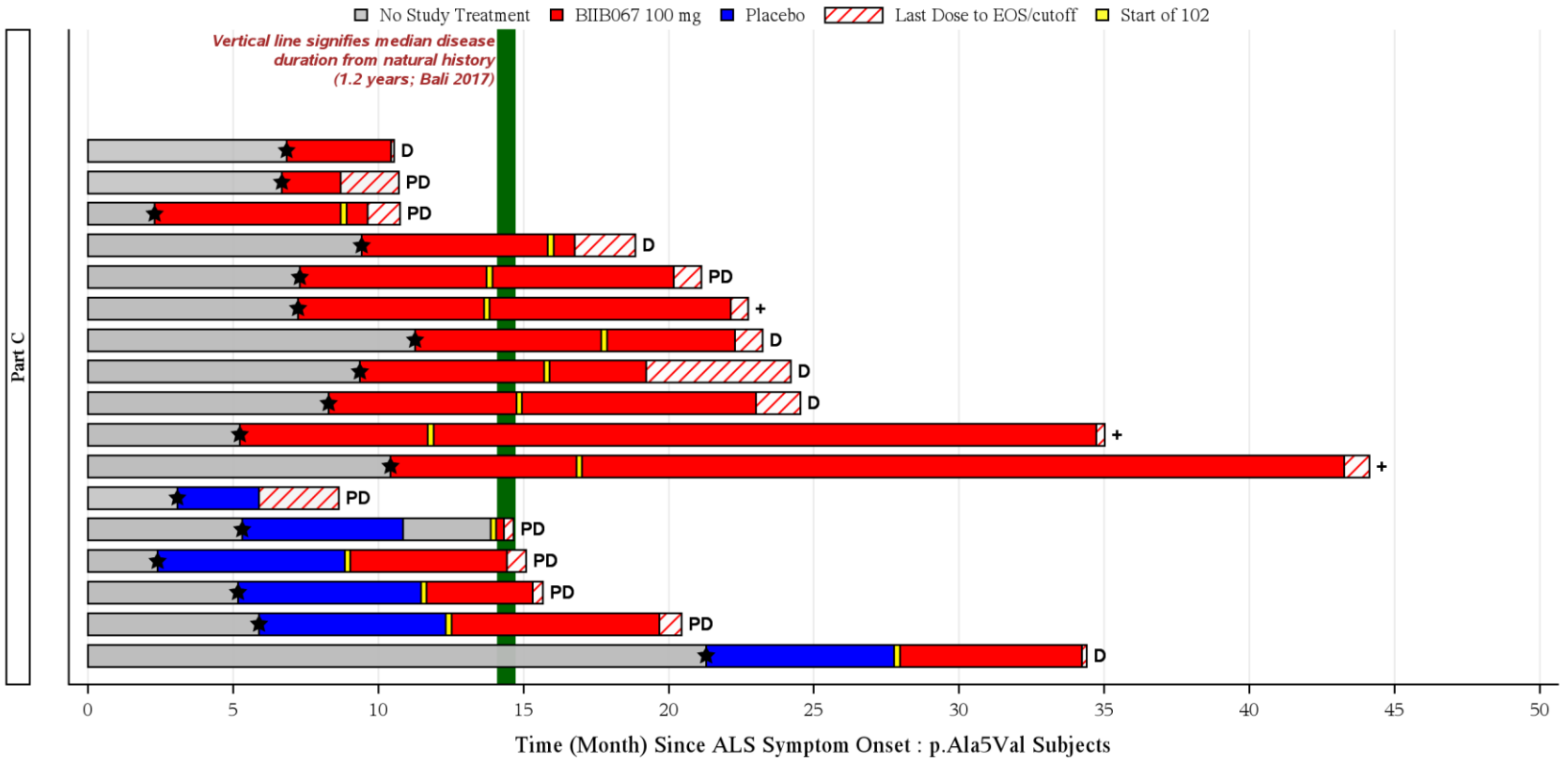
1.1.1 項で述べたように、p.Ala5Val（A5V、A4V）は文献でその特徴が十分に明らかとなっている SOD1 変異であり、疾患の急速進行性の経過と一貫して関連している（中央値は 1.2 年以下）［Bali 2017; Cudkowicz 1997］。トフェルセンを 1 回以上投与された A5V 変異を有する被験者（16 例）について、自然歴と比較すると、2022 年 1 月 16 日のデータカット時点では、症状発現から死亡、又は中途打ち切り（試験中止、又はデータカット）までの期間の中央値（Kaplan-Meier 法による正式な解析に基づかない）は 1.73 年であった（Figure 20）。これは、データカット時点で本試験を継続中の被験者（3 例［19%］、罹患期間：1.89～3.68 年）及び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。被験者数は少ないものの、Kaplan-Meier 法による正式な解析も p.Ala5Val 変異を有する被験者を対象に実施された（ISE の Appendix 3.4.4, Time to Death or Permanent Ventilation and Time to Death、Output 25～27 及び 31～33）。

2021 年 7 月 16 日のデータカット時点のプール CL 群の p.Ala5Val 変異を有する被験者の罹患期間は、ISE の Appendix 2.1, Accountability Demographics Exposure、Output 10 及び 11 に示す。

2022 年 1 月 16 日のデータカット時点の 101 試験パート C の被験者、プール CL 群、並びに p.Ala5Val 及び p.Ile114Thr の変異を有する被験者の罹患期間は、ISE の Appendix 3.1, Accountability and Exposure、Output 5 及び 7～12 に示す。SOD1 変異体別及び p.Ala5Val 変異を有する被験者における、文献から得られた自然歴との罹患期間の比較は、ISE の Appendix 3.1, Accountability and Exposure、Output 17 及び 18 に示す。

Figure 20: 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

3.1.2.1.5 患者報告アウトカムの測定

ITT 集団において患者報告による QoL の測定（ALSAQ-5、FSS、及び EQ-5D を含む）全体で認められた長期的な効果は、主要評価項目及び副次評価項目で観察されたトフェルセンの効果をさらに裏付けるものである（Table 32）。

52 週間にわたって追跡したところ（2022 年 1 月 16 日のデータカット時点）、トフェルセンの早期開始群では、投与開始遅延群と比べて QoL（ALSAQ-5 合計スコア、EQ-5D-5L の utility score、及び EQ-5D-VAS で測定）の悪化が一貫して小さかった。トフェルセンの早期開始群では、投与開始遅延群と比べて疲労（FSS 合計スコアで測定）の悪化が小さかった。これは、1 回目の中間解析のデータカット時点（2021 年 7 月 16 日）に認められた Week 40 までの差と同程度であった（Table 32）。

解釈には限界があるが、その他の患者報告アウトカム測定（SF-36、ZBI、PGI、及び CGI）に関する統合データの記述統計量は、以下の ISE の Appendix に示した。

2021 年 7 月 16 日のデータカット時点の患者報告アウトカムの測定結果は、ISE の Appendix 2.5.1, ALSAQ-5, FSS, and EQ-5D-5L、Output 1～40 及び ISE の Appendix 2.5.2, SF-36, ZBI, PGI-S, and CGI-S、Output 1～20 に示す。

2022 年 1 月 16 日のデータカット時点の患者報告アウトカムの測定結果は、ISE の Appendix 3.5.1, ALSAQ-5 and FSS、Output 1～24；ISE の Appendix 3.5.2, EQ-5D-5L and SF-36、Output 1～36；及び ISE の Appendix 3.5.3, ZBI, CGI-S, and PGI-S、Output 1～14 に示す。

Table 32: Change in QoL Measures From Study 101 Part C Baseline (ITT Population)

Endpoint	**ISE Based on July 2021 Data Cut**	**ISE Based on January 2022 Data Cut**
	Early-start tofersen (n=72) vs. placebo → delayed-start tofersen (n=36) Change from baseline to **Week 40**	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	7.4, 16.5	9.6, 19.9
Tofersen-placebo: adjusted mean (95% CI)	-9.1 (-17.0, -1.16)	-10.3 (-17.33, -3.20)
p-value (ANCOVA+MI)		0.0044
Change from baseline on FSS		
Adjusted means: Tof;placebo	3.9, 2.4	1.3, 5.1
Tofersen-placebo: adjusted mean (95% CI)	1.6 (-3.3, 6.4)	-3.8 (-9.03, 1.38)
p-value (ANCOVA+MI)		0.1493

Endpoint	ISE Based on July 2021 Data Cut	ISE Based on January 2022 Data Cut
	Early-start tofersen (n=72) vs. placebo → delayed-start tofersen (n=36) Change from baseline to **Week 40**	Early-start tofersen (n=72) vs. placebo → delayed-start tofersen (n=36) Change from baseline to **Week 52**
Change from baseline on EQ-5D-5L Utility Score		
Adjusted means: Tof;placebo	-0.06, -0.30	-0.1, -0.3
Tofersen-placebo: adjusted mean (95% CI)	0.23 (0.131, 0.335)	0.2 (0.13, 0.32)
p-value (ANCOVA+MI)		<0.0001
Change from baseline on EQ-5D VAS		
Adjusted means: Tof;placebo	-8.3, -14.5	-7.0, -12.9
Tofersen-placebo: adjusted mean (95% CI)	6.2 (-0.9, 13.2)	5.9 (-1.54, 13.25)
p-value (ANCOVA+MI)		0.1209

NOTE 1: Higher scores on ALSAQ-5 and FSS and lower scores on EQ-5D depicted a worsening. Analysis for Studies 101 Part C & 102 was based on January 2022 data cut and was prespecified. All p-values were nominal. Analysis based on July 2021 data cut iswas post hoc.
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 adjust for the following covariates: baseline plasma NfL, relevant baseline score, and use of riluzole or edaravone.
Sources:
16 July 2021 data cut: ISE Appendix 2.5.1 ALSAQ-5, FSS and EQ-5D-5L, Outputs 10, 20, 39 and 40.
16 January 2022 data cut: ISE Appendix 3.5.1 ALSAQ-5 and FSS, Outputs 7 and 19.
ISE Appendix 3.5.2 EQ-5D-5L and SF-36, Outputs 13 and 14.

3.1.2.2 101 試験パート A 及び B 並びに 102 試験：有効性に関する主な結果

101 試験パート B 及び 102 試験では、パート A 及び B の 43 例の SOD1-ALS 被験者がトフェルセン 100 mg の投与を少なくとも 1 回受けた。102 試験に組み入れられたパート A 及び B の上記以外の 4 例は、低用量のトフェルセンのみを投与された。1.3.2 項に詳述したように、101 試験と 102 試験の間のウォッシュアウト期間が長く（16 週間から 2 年間）、用法及び用量が様々であったため、本集団の解析結果の解釈には限界があった。これらの 43 例の内訳は以下のとおりである（2022 年 1 月 16 日のデータカット時点）。

- 3 例（7%）が 102 試験に組み入れられなかった。
- 3 例（7%）が死亡し、7 例（16%）が 102 試験を試験中止した。
- 30 例（70%）が 102 試験を継続中で、トフェルセン 100 mg を 104 週間以上投与され、101 試験の試験終了時の来院から 102 試験のベースラインまでの期間は 24 週間を超えていなかった。このため、これらの被験者で「ABL トフェルセン 100 mg 長期投与集団」を構成した。

「ABL トフェルセン 100 mg 長期投与集団」の被験者の機能及び筋力は、104 週間にわたり比

較的安定していた（Table 33）。

有効性の重要な評価項目である各被験者の患者プロファイル（ITT 集団全体）は、2021 年 7 月 16 日のデータカット時点については ISE の Appendix 2.2, Longitudinal Efficacy and Pharmacodynamics Data、Output 2 に、2022 年 1 月 16 日のデータカット時点については ISE の Appendix 3.2, Longitudinal Efficacy and Pharmacodynamics Data、Output 2 に示す。

ALSFRS-R 合計スコアの実測値及びベースラインからの変化量は、2021 年 7 月 16 日のデータカット時点については ISE の Appendix 2.4.1, ALSFRS-R、Output 3 に、2022 年 1 月 16 日のデータカット時点については ISE の Appendix 3.4.1, ALSFRS-R、Output 3 に示す。

SVC（%予測値）の実測値及びベースラインからの変化量は、2021 年 7 月 16 日のデータカット時点は ISE の Appendix 2.4.2, Percent SVC and HHD、Output 2 に、2022 年 1 月 16 日のデータカット時点については ISE の Appendix 3.4.3, Percent SVC and HHD、Output 2 に示す。

HHD メガスコアは、2021 年 7 月 16 日のデータカット時点は ISE の Appendix 2.4.2, Percent SVC and HHD、Output 23 に、2022 年 1 月 16 日のデータカット時点は ISE の Appendix 3.4.3, Percent SVC and HHD、Output 24 に示す。

イベント発現までの期間の解析は、2021 年 7 月 16 日のデータカット時点は ISE の Appendix 2.4.3, Time to Death or Permanent Ventilation and Time to Death、Output 9、10、14 及び 15 に、2022 年 1 月 16 日のデータカット時点は ISE の Appendix 3.4.4, Time to Death or Permanent Ventilation and Time to Death に示す。

罹患期間は、2021 年 7 月 16 日のデータカット時点は ISE の Appendix 2.1, Accountability, Demographics and Exposure、Output 9 に、2022 年 1 月 16 日のデータカット時点は ISE の Appendix 3.1, Accountability, Demographics and Exposure、Output 6 に示す。

Table 33: Summary of Change From Baseline to Week 104 in Clinical Measures for “ABL Long-Term Tofersen 100 mg Population” (Observed Data)

	ISE Based on Jul 2021 Data Cut	ISE Based on Jan 2022 Data Cut
ALSFRS-R		
Baseline N	27	30
Mean (SD)	36.8 (7.39)	35.8 (8.34)
min, max	20, 48	16, 48
Week 104 N	27	30
Mean change (SD) from baseline	-1.3 (4.67)	-1.7 (5.16)
min, max	-19, 9	-19, 9
SVC percent predicted		
Baseline N	27	29
Mean (SD)	76.4 (19.28)	74.3 (20.49)
min, max	30, 100	30, 100
Week 104 N	27	29
Mean change SD) from baseline	1.1 (10.16)	1.3 (9.82)
min, max	-16, 37	-16, 37
HHD megascore		
Baseline N	27	30
Mean (SD)	-0.11 (0.774)	-0.18 (0.766)
min, max	-1.1, 2.5	-1.1, 2.5
Week 104 N	26	29
Mean change (SD) from baseline	-0.11 (0.788)	-0.17 (0.521)
min, max	-2.6, 2.8	-2.6, 0.5

.NOTE 1: Baseline was defined as the last assessment prior to the first dose of tofersen 100 mg. For those with no data at Week 104 but had measurements taken at visit greater than 741 days from baseline, the first nonmissing value of the corresponding endpoint taken after Day 741 was used.
NOTE 2: If participants had a gap > 169 days between 233AS101 EOS and 233AS102 baseline, then the data from 233AS102 only was presented. If participants had a gap ≤ 169 days between 233AS101 EOS and 233AS102 baseline, then the data were excluded from visits between 233AS101 and 233AS102 where they had no follow-up.
Sources:
16 July 2021 data cut:
ISE Appendix 2.4.1 ALSFRS-R, Output 3.
ISE Appendix 2.4.2 Percent SVC and HHD, Outputs 2 and 23.
16 January 2022 data cut:
ISE Appendix 3.4.1 ALSFRS-R, Output 3.
ISE Appendix 3.4.3 Percent SVC and HHD, Outputs 2 and 24.

3.1.2.3 日本人集団の有効性

日本人被験者における有効性を検討するため、101 試験パート C、並びに 101 試験パート C 及び 102 試験の統合解析結果を用いて、日本人被験者での記述的な部分集団解析を実施した。統合解析の中間解析のデータカットは 2022 年 1 月 16 日であった。

3.1.2.3.1 日本人集団の被験者集団

101 試験パート C では、日本人被験者 7 例がトフェルセン群に 3 例及びプラセボ群に 4 例が無作為化された（Japan Analysis IA1 Output 1）。

日本人集団では、mITT 集団のプラセボ群が 1 例であり、non-mITT 集団が 6 例であった（Japan Analysis IA1 Output 180）。Non-mITT 集団の内訳は 3 例がプラセボ群及び 3 例がトフェルセン群であった。

7 例全例が 101 試験パート C を完了し（Japan Analysis IA1 Output 1）、102 試験に移行した（Japan Analysis IA2 Output 7）。102 試験では、早期開始群の 1 例が疾患進行のため試験を中止した（Japan Analysis IA2 Output 7、102 試験の CSR Interim 2 Appendix 16.2.1 Table 1）。102 試験のデータカット時点（2022 年 1 月 16 日）で、6 例が試験を継続していた（Japan Analysis IA2 Output 7）。

日本人集団では、年齢が 35～58 歳であり、男性が 3 例及び女性が 4 例であった（Japan Analysis IA1 Output 8）。日本人集団では、ベースライン時に 6 例がリルゾール、4 例がエダラボンを投与されていた。日本人集団における SOD1 変異型は p.Gly94Ser（3 例）、p.His47Arg（3 例）、及び p.Leu127Ser（1 例）であった（Japan Analysis IA1 Output 9）。

日本人集団での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（Japan Analysis IA2 Output 20）。日本人集団において、ベースライン時の NfL 濃度が比較的高かった被験者は、トフェルセン群の 1 例（78.5 pg/mL）及びプラセボ群の 1 例（110.8 pg/mL）であった（Japan Analysis IA2 Output 20）。この 2 例の被験者はベースライン時の血漿中 NfL 濃度中央値の定義（1.4.2 項）では急速進行性の部分集団であった（Japan Analysis IA1 Output 180）。

3.1.2.3.2 日本人集団の有効性

ALSFRS-R、SVC%予測値、及び HHD メガスコアの推移図は、Figure 21～Figure 23、Japan Analysis IA2 Output 27～Output 32、及び Output 48～Output 50 に示し、日本人被験者を橙色で、外国人被験者を青色で示した。

3.1.2.3.2.1 ALSFRS-R

mITT 集団／non-mITT 集団

mITT 集団

ALSFRS-R の 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、プラセボ／投与開始遅延群の日本人集団（1 例）は、おおむねプラセボ／投与開始遅延群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 27）。

Non-mITT 集団

ALSFRS-R の 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、早期開始群の日本人集団（3 例）は、おおむね早期開始群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 28）。

ALSFRS-R の 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、プラセボ／投与開始遅延群の日本人集団（3 例）は、おおむねプラセボ／投与開始遅延群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 28）。

ベースライン時の血漿中 NfL 濃度での部分集団

急速進行性（中央値以上）

ALSFRS-R の 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、早期開始群の日本人集団（1 例）は、おおむね早期開始群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 48）。

ALSFRS-R の 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、プラセボ／投与開始遅延群の日本人集団（1 例）は、おおむねプラセボ／投与開始遅延群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 48）。

緩徐進行性（中央値未満）

ALSFRS-R の 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、早期開始群の日本人集団（2 例）は、おおむね早期開始群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 48）。

ALSFRS-R の 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、プラセボ／投与開始遅延群の日本人被験者（3 例）は、おおむねプラセボ／投与開始遅延群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 48）。

ITT 集団

ALSFRS-R の 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、早期開始群の日本人集団（3 例）は、おおむね早期開始の全体集団の変動の範囲内であった（Figure 21）。

ALSFRS-R の 101 試験パート C のベースラインから変化量の推移について、プラセボ／投与開始遅延群の日本人集団（4 例）は、おおむねプラセボ／投与開始遅延群の全体集団の変動の範囲内であった（Figure 21）。

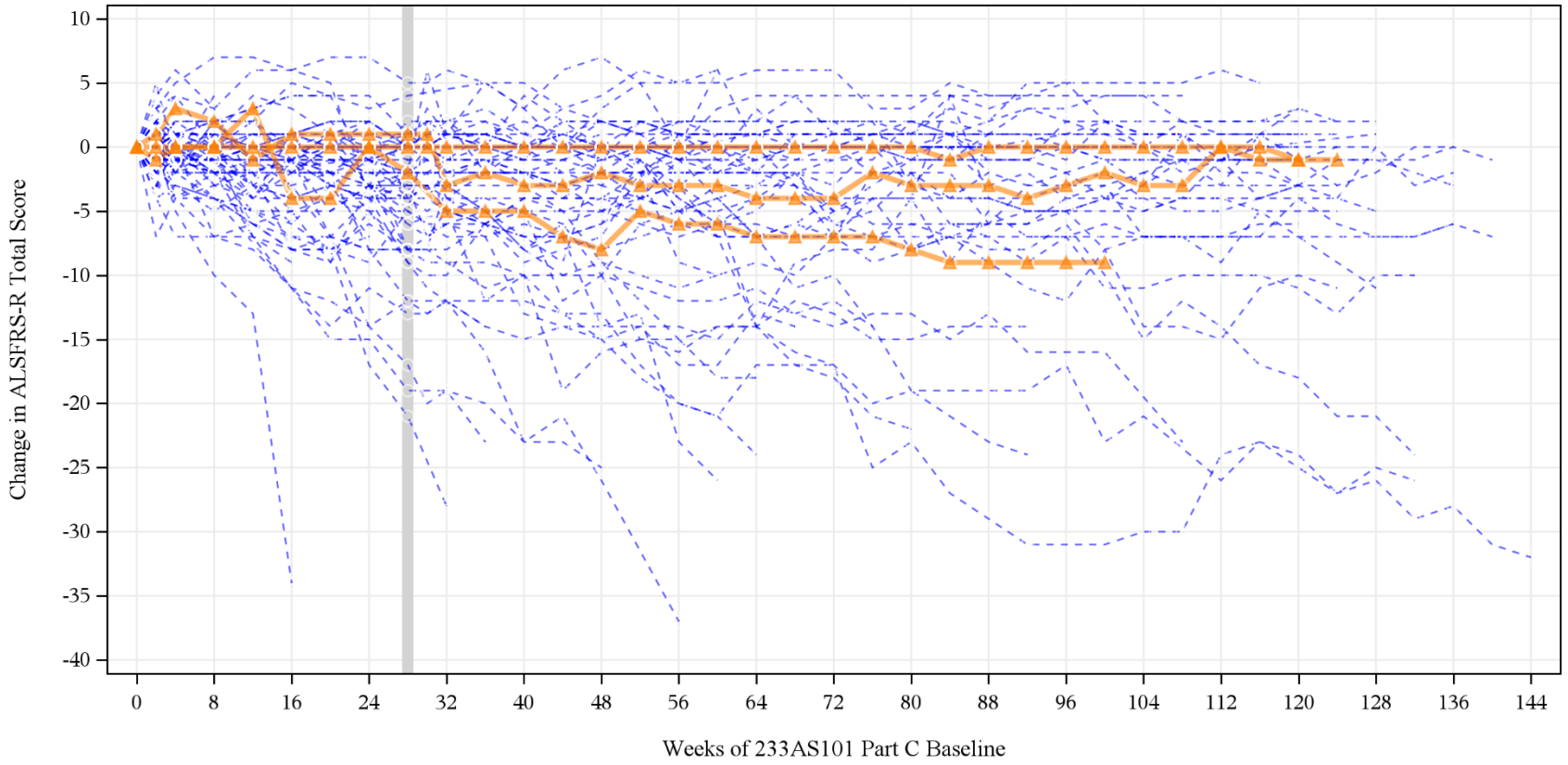
日本人集団での ALSFRS-R の被験者の来院別での一覧をそれぞれ Japan Analysis IA 2 Output 17 に示した。

日本人集団での ALSFRS-R の初版及び大橋版の比較

日本人被験者では、ALSFRS-R の評価において初版に加えて大橋版での評価を行った（1.5.1 項）。質問項目 5a 及び 11 における初版と大橋版のスコアを被験者別に各来院ごとに比較した（Japan Analysis IA2 Output 18）。質問項目 5a では、初版及び大橋版との間に差が 4 例に認められた。その差はほとんどが 1 ポイントであった。最高で 2 ポイントの差が早期開始群の 1 例に認められ、1 時点のみであった（Japan Analysis IA2 Output 18）。質問項目 11 での両版との間に差が認められたのは、早期開始群の 1 例で 1 ポイントの差が認められた（Japan Analysis IA2 Output 18）。

Figure 21: 233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti Plot of ALSFRS-R Total Score Change from 233AS101 Part C Baseline by Visit - ITT Population

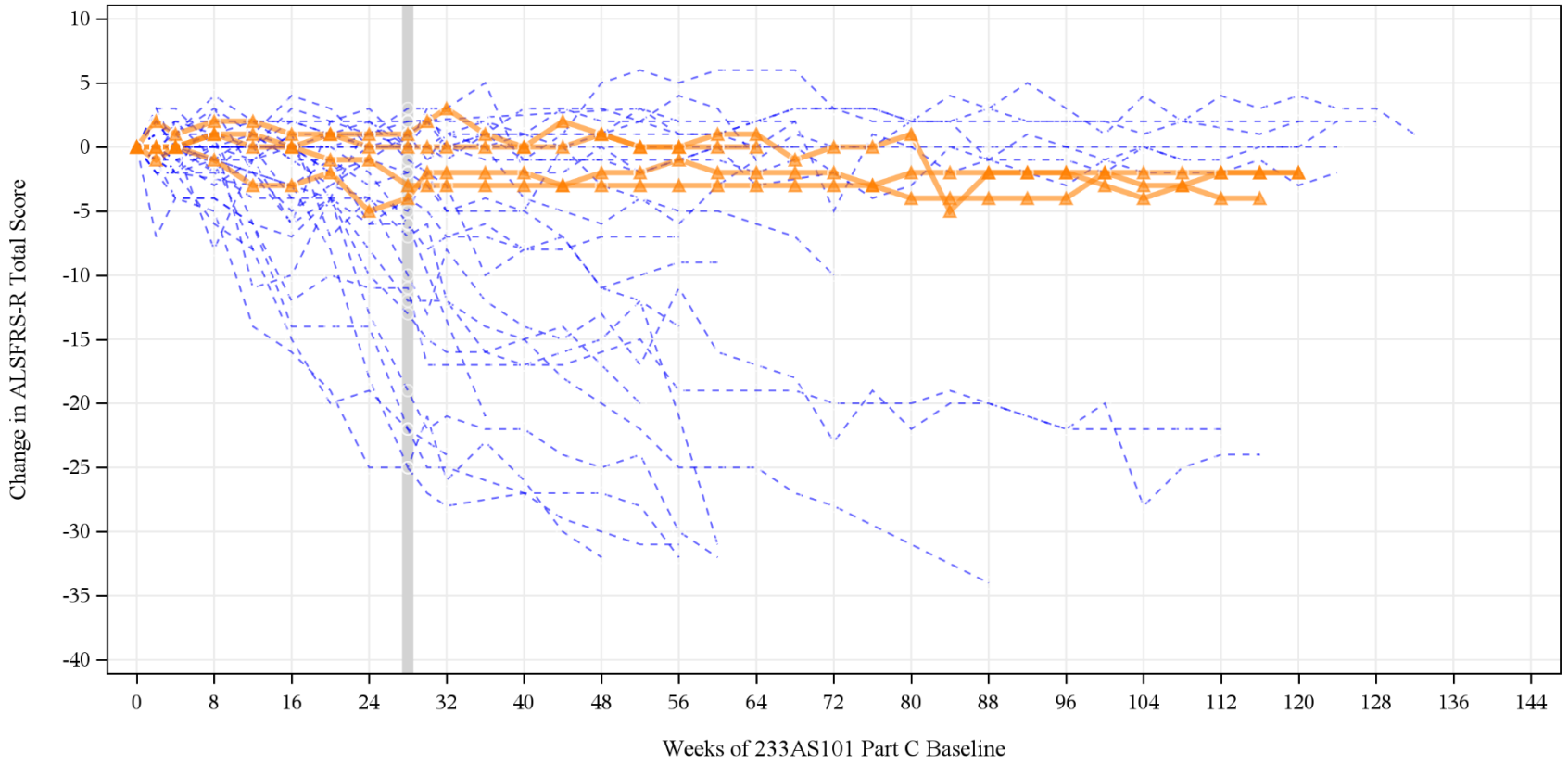
233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti plot of ALSFRS-R total score change from 233AS101 Part C baseline by visit - ITT population
Page: 1 of 3
Early-start tofersen 100 mg (N=72 including 3 Japanese participants)



Footnotes are displayed on last page.

Source: biib067/japan/ia2/f-cf-alsf-spag-pcb-itt.sas **Data Cutoff:** 16JAN2022 **Run Date:** 21JUN2022

233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti plot of ALSFRS-R total score change from 233AS101 Part C baseline by visit - ITT population
Page: 2 of 3
Placebo + delayed-start tofersen 100 mg (N=36 including 4 Japanese participants)



Footnotes are displayed on last page.

Source: biib067/japan/ia2/f-cf-alsf-spag-pcb-itt.sas **Data Cutoff:** 16JAN2022 **Run Date:** 21JUN2022

233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti plot of ALSFRS-R total score change from 233AS101 Part C baseline by visit - ITT population
Page: 3 of 3

NOTE 1: Baseline is defined as day 1 of 233AS101 Part C 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: Observed values at all visits are used.
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: If subjects had a gap between 233AS101 end of study and 233AS102 baseline, then the data are excluded from visits between 233AS101 and 233AS102 where they have no follow-up.
NOTE 5: Japanese subjects are colored orange and non-Japanese subjects are colored blue.
Abbreviations: ALSFRS-R = Amyotrophic Lateral Sclerosis Functional Rating Scale - Revised

Source: biib067/japan/ia2/f-cf-alsf-spag-pcb-itt.sas **Data Cutoff:** 16JAN2022 **Run Date:** 21JUN2022

3.1.2.3.2.2 SVC

mITT 集団／non-mITT 集団

mITT 集団

SVC%予測値の 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、プラセボ／投与開始遅延群の日本人集団（1 例）は、おおむねプラセボ／投与開始遅延群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 29）。

Non-mITT 集団

SVC%予測値の 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、早期開始群の日本人集団（3 例）は、おおむね早期開始群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 30）。

SVC%予測値の 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、プラセボ／投与開始遅延群の日本人集団（3 例）は、1 例での一部のわずかな高値を除き、プラセボ／投与開始遅延群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 22、Output 30）。

ベースライン時の血漿中 NfL 濃度での部分集団

急速進行性（中央値以上）

SVC%予測値の 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、早期開始群の日本人被験者（1 例）は、おおむね早期開始群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 49）。

SVC%予測値の 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、プラセボ/投与開始遅延群の日本人集団（1 例）は、おおむねプラセボ/投与開始遅延群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 49）。

緩徐進行性（中央値未満）

SVC%予測値の 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、早期開始群の日本人集団（2 例）は、おおむね早期開始群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 49）。

SVC%予測値の 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、プラセボ／投与開始遅延群の日本人集団（3 例）は、1 例での一部のわずかな高値を除き、おおむねプラセボ／投与開始遅延群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 22、Output 49）。

ITT 集団

SVC%予測値の 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、早期開始群の日本人集団（3 例）は、おおむね早期開始群の全体集団の変動の範囲内であった（Figure 22）。

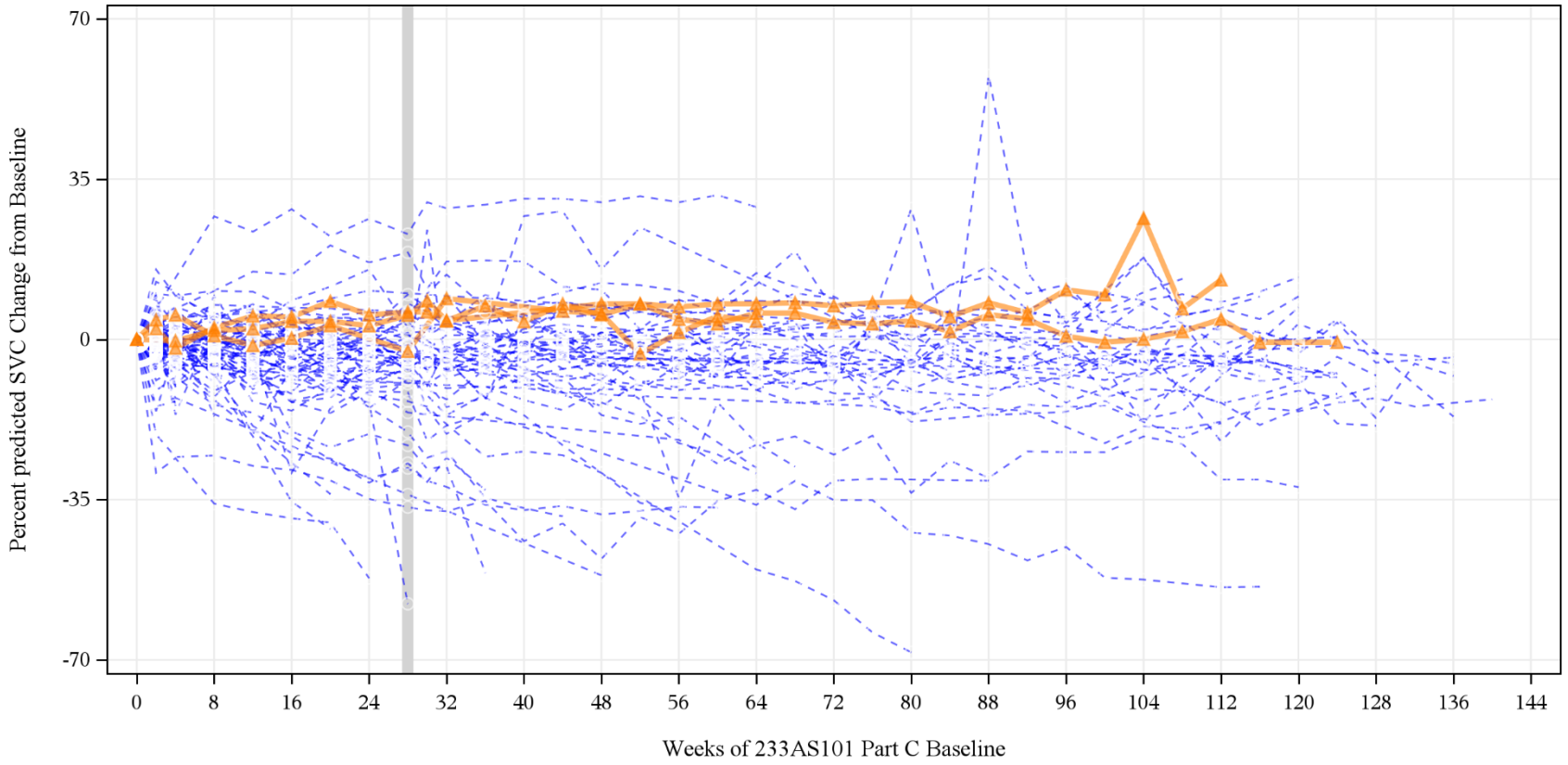
SVC%予測値の 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、プラセボ／投

与開始遅延群の日本人集団（4 例）は、1 例での一部のわずかな高値を除き、おおむねプラセボ／投与開始遅延群の全体集団の変動の範囲内であった（Figure 22, Japan Analysis IA2 Output 22）。

日本人集団での SVC%予測値の被験者の来院別での一覧をそれぞれ Japan Analysis IA2 Output 22 に示した。

Figure 22: 233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti Plot of Percent Predicted SVC Change from 233AS101 Part C Baseline by Visit - ITT Population

233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti plot of percent predicted SVC Change from 233AS101 Part C baseline by visit - ITT population
Page: 1 of 3
Early-start tofersen 100 mg (N=72 including 3 Japanese participants)



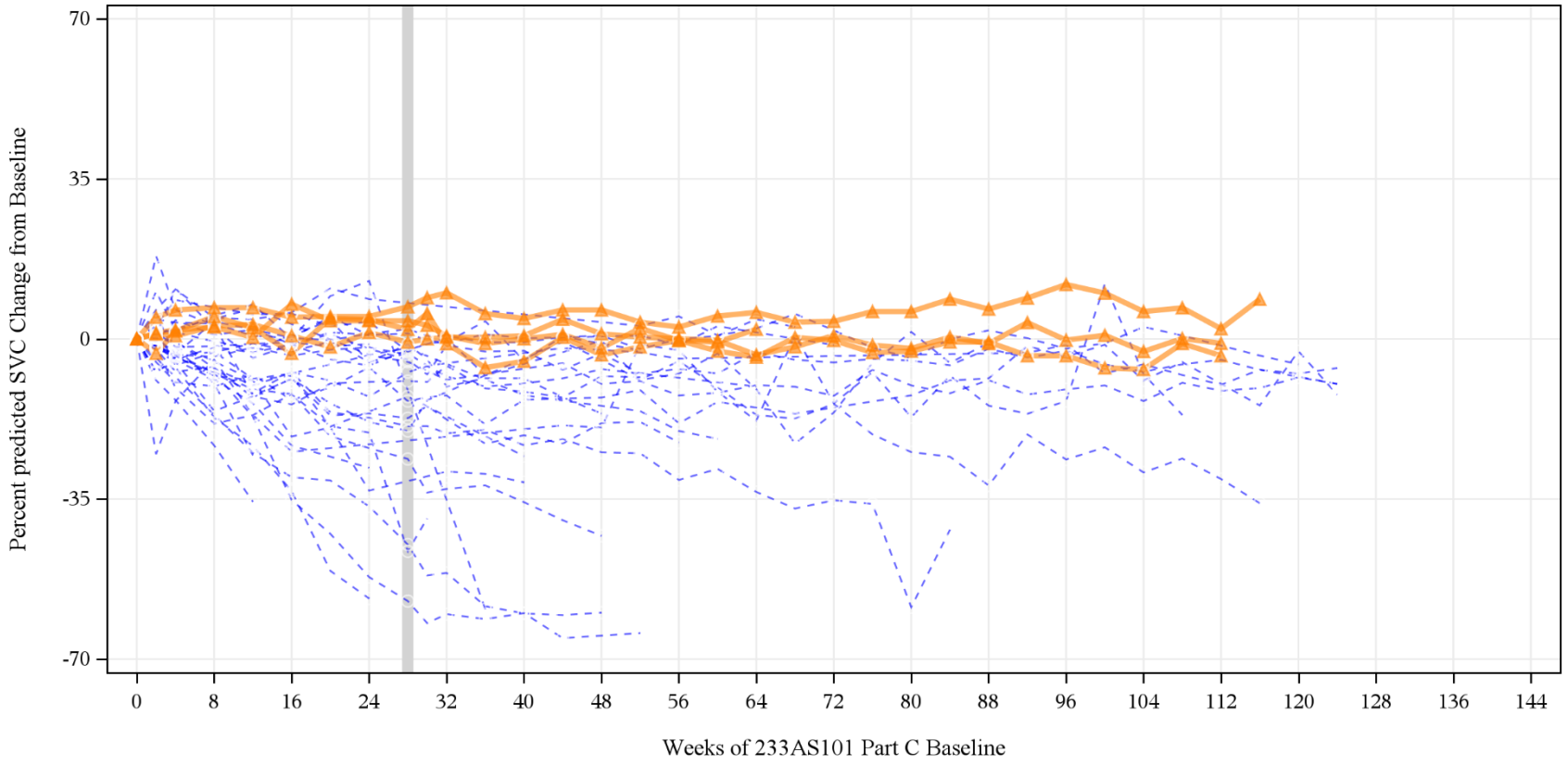
Footnotes are displayed on last page.

Source: biib067/japan/ia2/f-cf-svc-pcb-itt.sas **Data Cutoff:** 16JAN2022 **Run Date:** 21JUN2022

233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti plot of percent predicted SVC change from 233AS101 Part C baseline by visit - ITT population

Page: 2 of 3

Placebo + delayed-start tofersen 100 mg (N=36 including 4 Japanese participants)



Footnotes are displayed on last page.

Source: biib067/japan/ia2/f-cf-svc-pcb-itt.sas **Data Cutoff:** 16JAN2022 **Run Date:** 21JUN2022

233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti plot of percent predicted SVC change from 233AS101 Part C baseline by visit - ITT population
Page: 3 of 3

NOTE 1: Baseline is defined as day 1 of 233AS101 Part C 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: Observed values at all visits are used. Readings with ATS Best criteria F (failed) are considered as missing.
NOTE 3: The maximum (best effort) acceptable reading is used for analysis. A positive change indicates an improvement.
NOTE 4: If subjects had a gap between 233AS101 end of study and 233AS102 baseline, then the data are excluded from visits between 233AS101 and 233AS102 where they have no follow-up.
NOTE 5: Japanese subjects are colored orange and non-Japanese subjects are colored blue.
Abbreviations: SVC = slow vital capacity; ATS = the American Thoracic Society.

Source: biib067/japan/ia2/f-cf-svc-pcb-itt.sas **Data Cutoff:** 16JAN2022 **Run Date:** 21JUN2022

3.1.2.3.2.3　　HHD メガスコア

mITT 集団/non-mITT 集団

mITT 集団

HHD メガスコアの 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、プラセボ／投与開始遅延群の日本人集団（1 例）は、おおむねプラセボ／投与開始遅延群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 31）。

Non-mITT 集団

HHD メガスコアの 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、早期開始群の日本人集団（3 例）は、1 例での 101 試験パート C 期間中でのわずかな低値を除き、おおむね早期開始群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 32）。

HHD メガスコアの 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、プラセボ／投与開始遅延群の日本人集団（3 例）は、おおむねプラセボ／投与開始遅延群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 32）。

ベースライン時の血漿中 NfL 濃度での部分集団

急速進行性（中央値以上）

HHD メガスコアの 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、早期開始群の日本人集団（1 例）は、おおむね早期開始群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 50）。

HHD メガスコアの 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、プラセボ／与開始遅延群の日本人集団（1 例）は、おおむねプラセボ／投与開始遅延群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 50）。

緩徐進行性（中央値未満）

HHD メガスコアの 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、早期開始群の日本人集団（2 例）は、おおむね早期開始群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 50）。

HHD メガスコアの 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、プラセボ／投与開始遅延群の日本人被験者（3 例）は、おおむねプラセボ／投与開始遅延群の全体集団の変動の範囲内であった（Japan Analysis IA2 Output 50）。

ITT 集団

HHD メガスコアの 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、早期開始群の日本人集団（3 例）は、おおむね早期開始群の全体集団の変動の範囲内であった（Figure 23）。

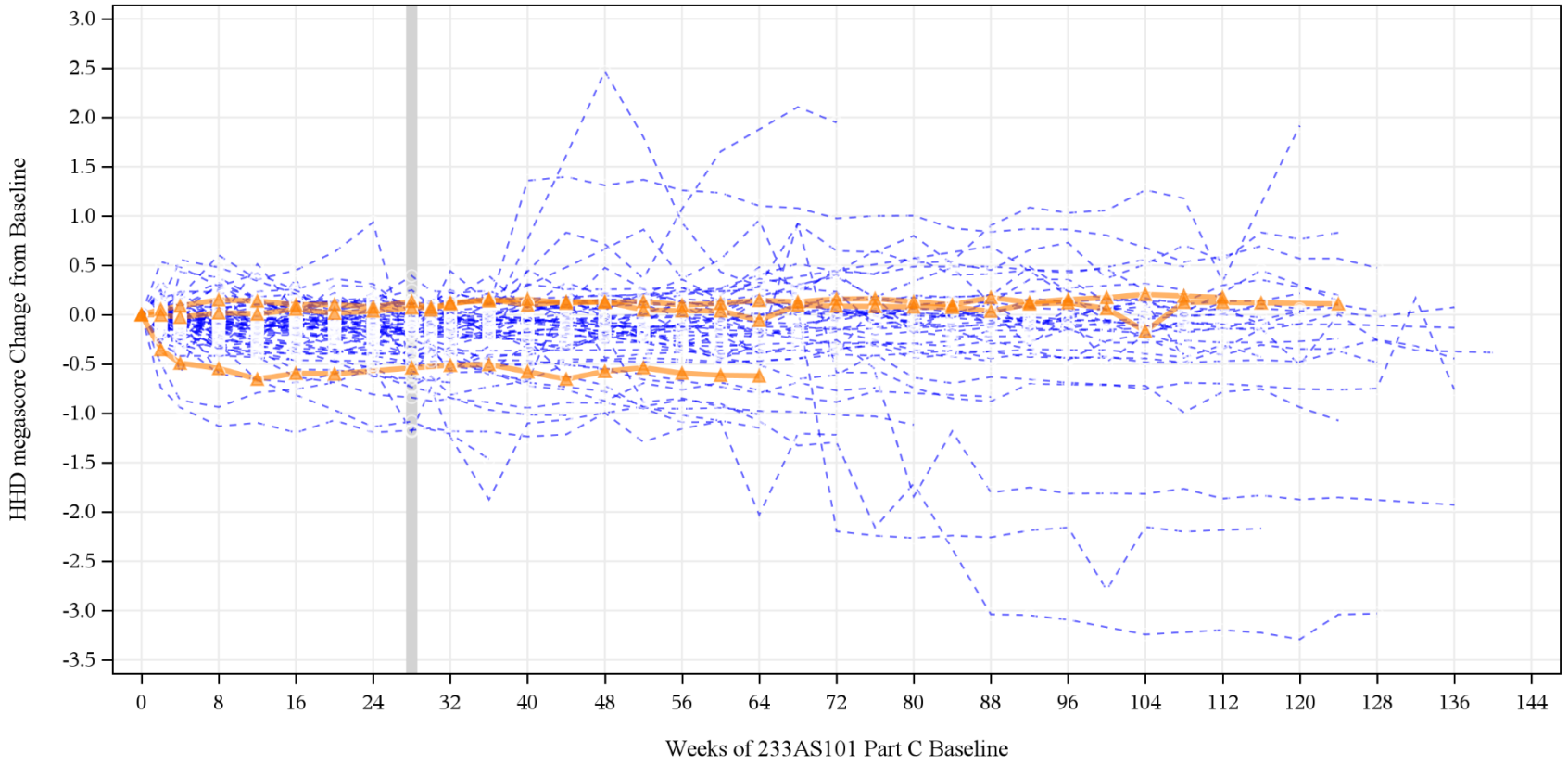
HHD メガスコアの 101 試験パート C のベースラインからの変化量の推移について、プラセボ

／投与開始遅延群の日本人集団（4 例）は、おおむねプラセボ／投与開始遅延群の全体集団の変動の範囲内であった（Figure 23）。

日本人集団での HHD メガスコアの被験者の来院別での一覧をそれぞれ Japan Analysis IA2 Output 23 に示した。

Figure 23: 233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti Plot of HHD Megascore Change from 233AS101 Part C Baseline by Visit - ITT Population

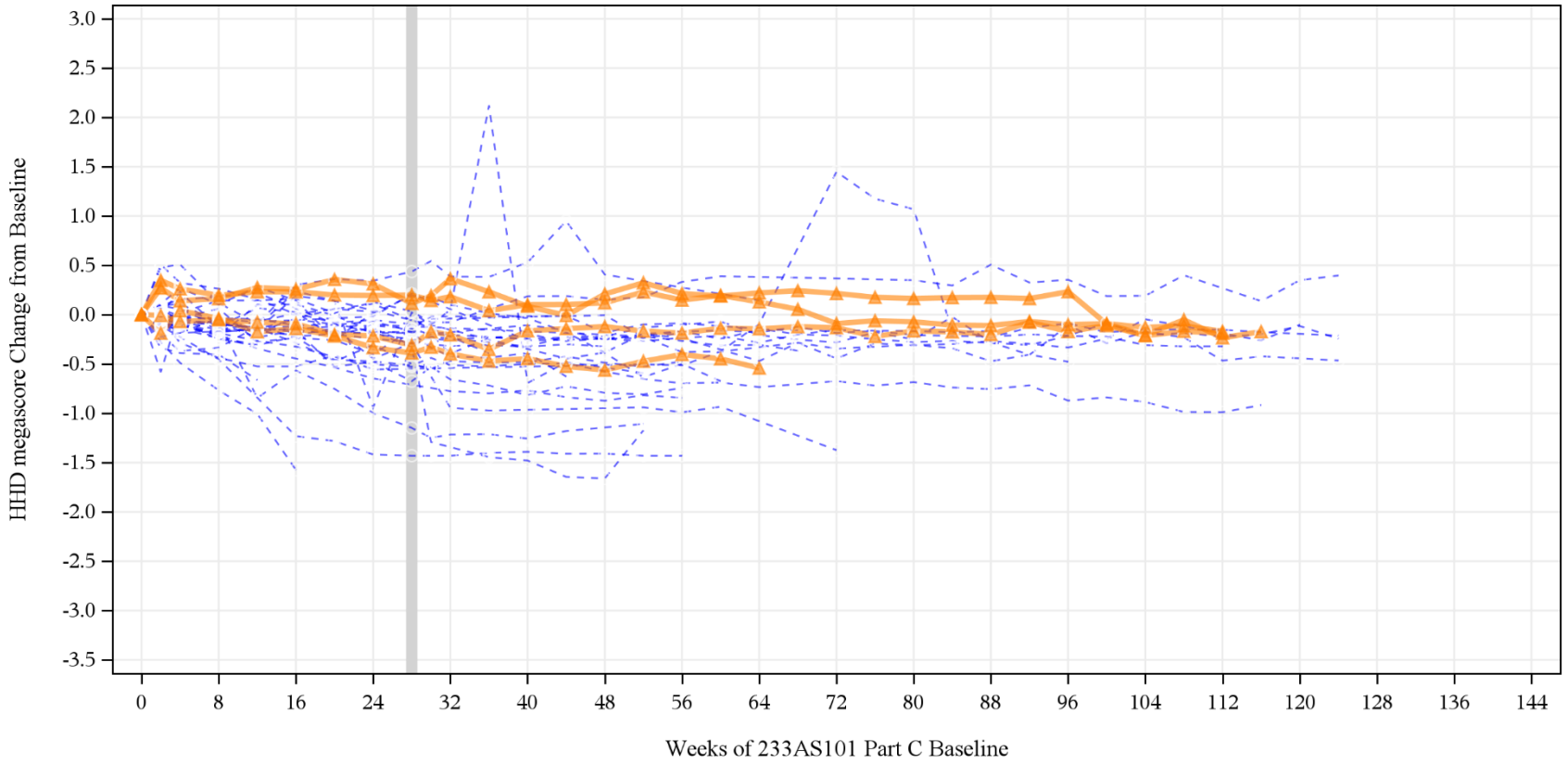
233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti plot of HHD megascore change from 233AS101 Part C baseline by visit - ITT population
Page: 1 of 3
Early-start tofersen 100 mg (N=72 including 3 Japanese participants)



Footnotes are displayed on last page.

Source: biib067/japan/ia2/f-cf-hhdmg-pcb-itt.sas **Data Cutoff:** 16JAN2022 **Run Date:** 21JUN2022

233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti plot of HHD megascore change from 233AS101 Part C baseline by visit - ITT population
Page: 2 of 3
Placebo + delayed-start tofersen 100 mg (N=36 including 4 Japanese participants)



Footnotes are displayed on last page.

Source: biib067/japan/ia2/f-cf-hhdmg-pcb-itt.sas **Data Cutoff:** 16JAN2022 **Run Date:** 21JUN2022

233AS101 Part C and 233AS102: Spaghetti plot of HHD megascore change from 233AS101 Part C baseline by visit - ITT population
Page: 3 of 3

NOTE 1: Baseline is defined as day 1 of 233AS101 Part C 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: Observed values at all visits are used.
NOTE 3: The overall megascore calculated as an average normalized Z scores across the 16 muscles. A positive change indicates an improvement.
NOTE 4: If subjects had a gap between 233AS101 end of study and 233AS102 baseline, then the data are excluded from visits between 233AS101 and 233AS102 where they have no follow-up.
NOTE 5: Japanese subjects are colored orange and non-Japanese subjects are colored blue.
Abbreviations: HHD = handheld dynamometry

Source: biib067/japan/ia2/f-cf-hhdmg-pcb-itt.sas **Data Cutoff:** 16JAN2022 **Run Date:** 21JUN2022

3.1.2.3.2.4 死亡及び永続的換気に関連するイベント

日本人集団では死亡及び永続的換気に関連するイベントは認められなかった（Japan Analysis IA2 Output 25）。

3.2 2023 年 2 月データカットの追加の有効性の結果

本項では、2023 年 2 月 28 日のデータカット時点での 101 試験及び 102 試験の有効性のデータを統合して要約する。被験者別のプロファイルは ISE Addendum Appendix 2.6 に示す。

3.2.1 試験対象集団

2023 年 2 月 28 日のデータカットでの試験対象集団は以下のとおりであった。

- ITT 集団としてプール CL 群（108 例）は、以下の被験者を含む。
  - 早期開始群：101 試験パート C でトフェルセン 100 mg の投与を開始し、102 試験でトフェルセン 100 mg の投与を継続する機会があった被験者（72 例）
  - プラセボ／投与開始遅延群：101 試験パート C でプラセボを投与され、102 試験でトフェルセン 100 mg の投与を開始する機会があった被験者（36 例）
- 101 試験パート A 及びパート B でトフェルセン 100 mg を 1 回以上投与された被験者（生存解析についてはパート B 又は 102 試験［43 例］、若しくは臨床機能及び筋力については 102 試験［全体：40 例又は長期での投与：31 例］（詳細は 1.6.5.3 項）。

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（63.2%）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（58.8%）がトフェルセン 100 mg を 1 回以上投与された。計 31 例（45.6%）が ABL トフェルセン 100 mg 長期投与集団であった（被験者集団の定義は 1.6.5.3.2 項）（ISE Addendum Appendix 2.1, Output 2）。

3.2.2 全有効性試験の結果の比較検討

3.2.2.1 101 試験パート C 及び非盲検継続投与試験：主な有効性の解析

3.2.2.1.1 無イベント期間

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追跡期間の中央値は 3.4 年（範囲：2.2～3.9 年）であった（ISE Addendum Appendix 2.1, Output 10）。

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、死亡又は永続的換気までの期間、死亡までの期間、若しくは死亡、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を推定することはできなかった（Table 34）。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（ISE Addendum Appendix 2.1、Output 10）。

重要な点として、ITT 集団では投与開始遅延群と比較して早期開始群で、死亡相当イベント（死亡又は永続的換気、死亡、死亡、永続的換気、疾患進行、又は死亡による試験中止、若しくは ALS 発症から死亡）のリスクが 50%～73%低下した（Table 34）。RPSFTM 解析を実施し、早期開始群で認められた結果とプラセボ／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、re-censoring した結果、しない結果のいずれも、リスクの低下は大きくなった（Table 34）。具体的には、早期開始群では死亡相当イベントのリスクの低下は 75%～88%であった（Table 34）。死亡又は永続的換気までの期間、死亡までの期間、若しくは死亡、永続的換気、又は疾患進行による試験中止までの期間について、re-censoring をした RPSFTM 解析を含む Kaplan-Meier プロットをそれぞれ Figure 24、Figure 26、及び Figure 28 に示す。Re-censoring をしない解析も Appendix 2.3 に示す。

急速進行性の被験者でイベント数が多くなることが予想されたため、当初事前に規定した NfL 値に基づく疾患進行の部分集団（FPS：ベースライン時の血漿中 NfL 濃度が中央値 75.6 pg/mL 以上の被験者；SPS：ベースライン時の血漿中 NfL 濃度が中央値 75.6 pg/mL 未満の被験者）でも解析を実施した。FPS では、両群で死亡又は永続的換気までの期間の中央値が推定され、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 35）。同様に 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、プラセボ／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、プラセボ／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を推定できなかった。ベースライン時の血漿中 NfL 濃度による部分集団での死亡又は永続的換気までの期間、死亡までの期間、若しくは死亡、永続的換気、又は疾患進行による試験中止までの期間について Kaplan-Meier プロットをそれぞれ Figure 25、Figure 27、及び Figure 29 に示す。

生存データとの関連を説明するため、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、特徴が最も明らかになっており、北米で主にみられる SOD1 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る変異の 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（ISE Addendum Appendix 2.1, Output 7）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（ISE Addendum Appendix 2.1, Output 5）。他の SOD1 変異の罹病期間の推定値は、ISE Addendum Appendix 2.1, Output 5 及び Outputs 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。

この他の変異の解析は、ISE Addendum Appendix 2.3 に示す。

Table 34: Summary of Time-to-Event Analyses in Studies 101 Part C and 102 - ITT Population

Early-start (n=72) vs. delayed-start (n=36)							
Event Definition	**Median Time to Event (Week)s**	**HR From Cox (95% CI)**	**p-Value (Cox) p-Value (Log-Rank)**	**RPSFTM Analysis**			
				Without Recensoring		**With Recensoring**	
				HR (Unadjusted 95% CI) (Adjusted 95% CI)	**p-Value (Cox) p-Value (Log-Rank)**	**HR (Unadjusted 95% CI) (Adjusted 95% CI)***	**p-Value (Cox) p-Value (Log-Rank)**
Time to Death or PV [From Study 101 Part C Baseline]	Pcb/delayed-start: NE Early-start: NE	0.47 (0.196, 1.108)	0.0842 0.1685	0.22 (0.082, 0.610) (0.040, 1.240)	p=0.0035 p=0.0027	0.24 (0.083, 0.698) (0.047, 1.226)	p=0.0087 p=0.0110
Time to Death [From Study 101 Part C Baseline]	Pcb/delayed-start: NE Early-start: NE	0.36 (0.131, 1.017)	0.0538 0.1224	0.12 (0.033, 0.433) (0.014, 1.035)	p=0.0012 p=0.0012	0.08 (0.018, 0.373) (0.006, 1.042)	p=0.0012 p=0.0009
Time to death, PV, or Withdrawal due to DP [From Study 101 Part C Baseline]	Pcb/delayed-start: NE Early-start: NE	0.50 (0.248, 0.992)	0.0475 0.0866	0.25 (0.112, 0.560) (0.063, 0.992)	p=0.0008 p=0.0005	0.21 (0.086, 0.511) (0.044, 0.991)	p=0.0006 p=0.0003
Time to death [From ALS Symptom Onset]	Pcb/delayed-start: 491.4 months Early-start: NE	0.27 (0.084, 0.853)	0.0258 0.1697	NR	NR	NR	NR

Note 1: Cox proportional hazards model adjusted for baseline plasma NfL and riluzole or edaravone use.
Note 2: Log-rank test stratified by median baseline plasma NfL.
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 came first. Time to death was defined as the time from first dose received in Study 233AS101 to death. Time to death, permanent ventilation, or withdrawal due to DP was defined as the time from first dose to death, permanent ventilation (≥ 22 hours of mechanical ventilation [invasive or noninvasive] per day for ≥ 21 consecutive days), or withdrawal from the study due to disease progression, whichever came first. Time to death since ALS symptom onset was defined as the time from ALS symptom onset to death.
Note 4: Adjusted 95%CI values were based on the distribution of the log hazard ratio retaining the Cox regression p-value from the ITT analysis back transformed to the original scale.
Sources: ISE Addendum, Appendix 2.3, Outputs 1, 5, 9, 18, 39-41, 45-47, and 56.

Table 35: Summary of Time-to-Event Analyses in Studies 101 Part C and 102 by Baseline Plasma NfL – ITT Population

	< Median NfL Subgroup			≥ Median NfL Subgroup		
	Placebo/Delayed-Start Tofersen (n=20)	**Early-Start Tofersen (n=34)**	**HR (95%CI) p-Value (Cox and log-rank)**	**Placebo/Delayed-Start Tofersen (n=16)**	**Early-Start Tofersen (n=38)**	**HR (95%CI) p-Value (Cox and log-rank)**
Time to Death or PV (From Study 101 Part C Baseline)						
Number With an Event	1 (5.0)	1 (2.9)	HR: 0.47 (0.029, 7.668)	8 (50.0)	15 (39.5)	HR: 0.46 (0.181, 1.147)
Median Time to Event (weeks)	NE	NE	p=0.5972 p=0.6319	76.0 (33.9, NE)	159.0 (95.1, NE)	p=0.0950 p=0.2535
Time to Death (From Study 101 Part C Baseline)						
Number With an Event	1 (5.0)	1 (2.9)	HR: 0.47 (0.029, 7.668)	6 (37.5)	10 (26.3)	HR: 0.39 (0.129, 1.168)
Median Time to Event (weeks)	NE	NE	p=0.5972 p=0.6319	115.4 (57.1, NE)	NE	p=0.0921 p=0.4232
Time to Death, PV, or Withdrawal DP (From Study 101 Part C Baseline)						
Number With an Event	2 (10.0)	1 (2.9)	HR: 0.23 (0.020, 2.635)	12 (75.0)	23 (60.5)	HR: 0.48 (0.230, 1.001)
Median Time to Event (Weeks)	NE	NE	p=0.2362 p=0.2160	57.3 (27.4, 135.6)	103.6 (70.9, 159.0)	p=0.0502 p=0.1418
Time to Death From ALS Symptom Onset (Disease Duration)						
Number With an Event	1 (5.0)	1 (2.9)	HR: 0.94 (0.050, 17.431)	6 (37.5)	10 (26.3)	HR: 0.23 (0.061, 0.896)
Median Time to Event (Weeks)	NE	NE	p=0.9647 p=0.6547	183.3 (73.1, NE)	NE	p=0.0340 P=0.5782

Note: Cox proportional hazards model adjusted for baseline plasma NfL and riluzole or edaravone use. Log-rank test stratified by riluzole or edaravone use.
Sources: ISE Addendum, Appendix 2.3, Outputs 19, 25, 26, and 28.

Figure 24: Kaplan-Meier Plot of RPSFTM Analysis With Recensoring for Time to Death or Permanent Ventilation - ITT Population

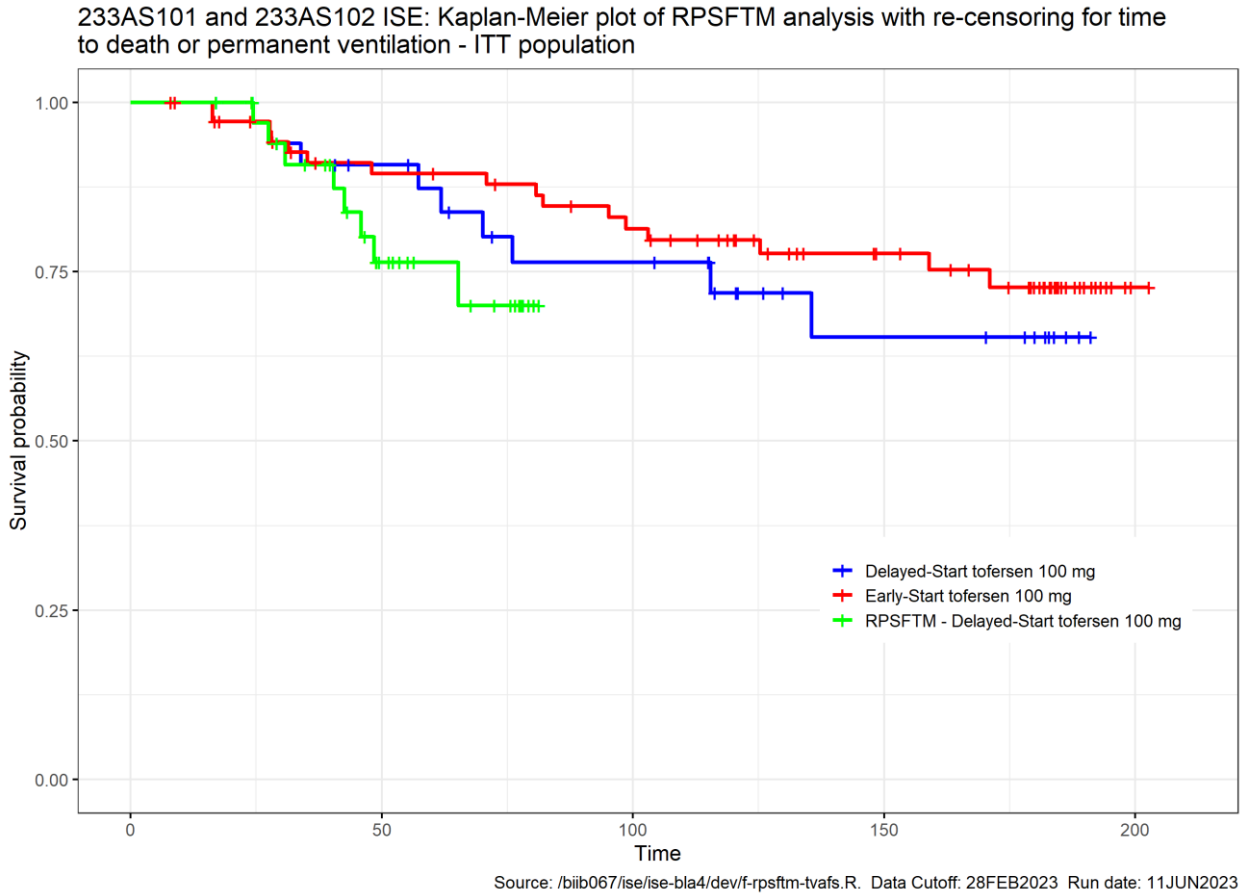
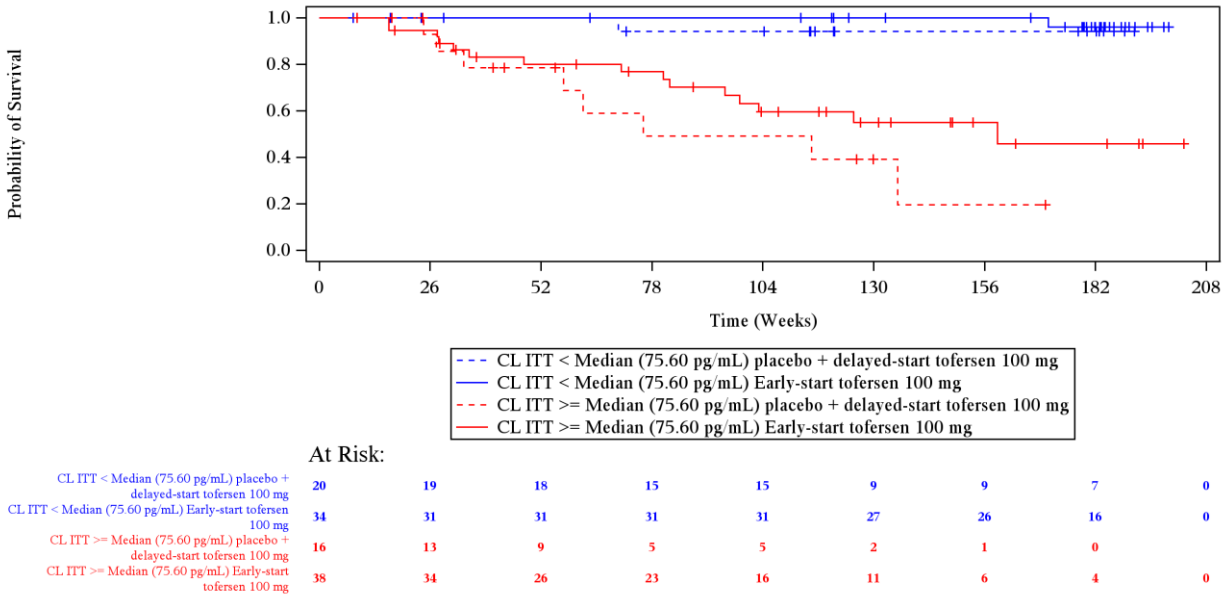


Figure 25: Kaplan-Meier Plot of Time to Death or Permanent Ventilation by Baseline Plasma NFL Level (Median) - ITT Population

Page: 1 of 1



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. Participants who do not meet the endpoint definition are censored at the participant'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-bla4/f-phoc-vafs-km-pnfl-clitt.sas **Data Cutoff:** 28FEB2023 **Run Date:** 22MAY2023