

オゼンピック皮下注 2mg

2.4 非臨床試験の概括評価

ノボ ノルディスク ファーマ株式会社

目次

	ページ
目次	2
図目次	3
表目次	3
略語一覧	4
2.4.1 非臨床試験計画概要	6
2.4.1.1 特徴及び分子設計	6
2.4.1.2 開発アプローチ及び規制当局との交渉	6
2.4.2 薬理試験	8
2.4.2.1 効力を裏付ける薬理試験	9
2.4.2.2 副次的薬理作用	11
2.4.2.3 安全性薬理試験	12
2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用	14
2.4.3 薬物動態試験	15
2.4.3.1 吸収	16
2.4.3.2 分布	17
2.4.3.3 代謝及び排泄	17
2.4.3.4 薬物相互作用	19
2.4.4 毒性試験	21
2.4.4.1 一般毒性及びがん原性	21
2.4.4.2 遺伝毒性	24
2.4.4.3 生殖発生毒性	24
2.4.4.4 幼若動物を用いた試験	26
2.4.4.5 局所刺激性	26
2.4.4.6 その他の毒性試験	26
2.4.4.7 製剤中の不純物及び溶出物の安全性評価	27
2.4.4.8 添加物の評価	27
2.4.4.9 ヒトとの曝露量比較	27
2.4.5 総合的考察及び結論	29
2.4.5.1 概要	29
2.4.5.2 総括	32
付録 A CTD Module 4 の各項に非臨床試験報告書がないことの理由	33
参考文献	35

図目次

	ページ
図 2.4-1 セマグルチドの構造	6
図 2.4-2 放射能標識位置を示すセマグルチドの構造	18

表目次

	ページ
表 2.4-1 薬効薬理試験及び安全性薬理試験の概要	8
表 2.4-2 薬物動態試験の概要	15
表 2.4-3 セマグルチドの反復皮下投与に用いた用量正規化（1 mg/kg）平均薬物動態パラメータの種間比較	16
表 2.4-4 毒性試験の概要	21
表 2.4-5 NOAEL での動物の AUC 曝露量とヒト最大臨床用量（1 mg/週）での AUC 曝露量との比	28

略語一覧

Ado	: 8-amino-3,6-dioxaoctanic acid (8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸)
AgRP	: Agouti-related peptide (アグーチ関連ペプチド)
ApoE	: Apoprotein E (アポリポタンパク E)
ARC	: Arcuate nucleus (弓状核)
AUC	: Area under the concentration-time curve (濃度-推移曲線下面積)
cAMP	: Cyclic adenosine monophosphate (環状アデノシン-リン酸)
CART	: Cocaine- and amphetamine-regulated transcript (コカイン・アンフェタミン調節転写産物)
C _{avg}	: Average plasma concentration (平均血漿中濃度)
C _{max}	: Maximum drug concentration observed in plasma (最高血漿中濃度)
CHMP	: Committee for Medicinal Products for Human Use (European Medicines Agency) (欧州医薬品庁ヒト用医薬品委員会)
CNS	: Central nervous system (中枢神経系)
CYP	: Cytochrome P450 (チトクローム P450)
DDI	: Drug-drug interaction (薬物相互作用)
DIO	: Diet induced obesity (食餌誘発性肥満)
DPP-4	: Dipeptidyl peptidase-4 (ジペプチジルペプチダーゼ-4)
ECG	: Electrocardiogram (心電図)
EC ₅₀	: Effective concentration 50% (50%有効濃度)
ED ₅₀	: Effective dose 50% (50%効果用量)
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay (酵素免疫吸着測定法)
EMA	: European Medicines Agency (欧州医薬品庁)
EU	: European Union (欧州連合)
FDA	: Food and Drug Administration (United States) (米国食品医薬品局)
GD	: Gestational day (妊娠日)
GLP	: Good laboratory practice (医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準)
GLP-1	: Glucagon like peptide-1 (グルカゴン様ペプチド-1)
GLP-1R	: Glucagon like peptide -1 receptor (グルカゴン様ペプチド-1 受容体)
HbA1c	: Hemoglobin A1c (glycolated hemoglobin) (ヘモグロビン A1c: グリコヘモグロビン)
hERG	: Human <i>ether-a-go-go</i> related gene (ヒト <i>ether-a-go-go</i> 関連遺伝子)
ICH	: International conference on harmonisation (日米 EU 医薬品規制調和国際会議)
i.v.	: Intravenous (静脈内)
LC-MS	: Liquid chromatography-mass spectrometry (液体クロマトグラフィー/質量分析法)
LDL	: Low-density-lipoprotein (低比重リポタンパクコレステロール)
LOCI	: Luminescent oxygen channeling immunoassay (蛍光酸素チャネリング免疫測定法)
mRNA	: Messenger ribonucleic acid (メッセンジャーリボ核酸)
MACE	: Major adverse cardiovascular event (主要な心血管イベント)
NEP	: Neutral endopeptidase (neprilysin) (中性エンドペプチダーゼ: ネプリライシン)
NOAEL	: No observed adverse effect level (無毒性量)
NPY	: Neuropeptide Y (ニューロペプチド Y)
OECD	: Organisation for Economic Co-operation and Development (経済協力開発機構)
PDCO	: Paediatric Committee (European Medicines Agency) (欧州医薬品庁小児委員会)
PMDA	: Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (Japan) (独立行政法人医薬品医療機器総合機構)
RET	: Rearranged during transfection

POMC	:	Pro-opiomelanocortin (プロオピオメラノコルチン)
s.c.	:	Subcutaneous (皮下)
tau	:	Dosing interval (投与間隔)
$t_{\max}$	:	time at which $C_{\max}$ occurs (最高血中濃度到達時間)
$t_{1/2}$	:	Terminal plasma half-life (血漿中消失半減期)

2.4.1 非臨床試験計画概要

2.4.1.1 特徴及び分子設計

セマグルチドは持続性ヒトグルカゴン様ペプチド 1 (GLP-1) 受容体作動薬であり、GLP-1 受容体を特異的に活性化する。セマグルチドはクリアランスを低下させるよう設計されており、それによりヒトにおける消失半減期が約 1 週間に延長され、週 1 回投与に適したものとなっている。半減期延長の基本メカニズムは血清アルブミンとの非共有結合であり、長鎖脂肪酸（オクタデカン二酸）をペプチド骨格の第 26 位のリジンに親水性リンカー [8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸 (Ado) 及びグルタミン酸] を介して附加することで可能となっている。さらに、DPP-4 酵素による分解を抑制するため、ペプチド骨格の第 8 位をアラニンから 2-アミノイソブチル酸に改変している (図 2.4-1)。

セマグルチドの分子構造は $C_{187}H_{291}N_{45}O_{59}$ であり、分子量は 4113.6 Da である。

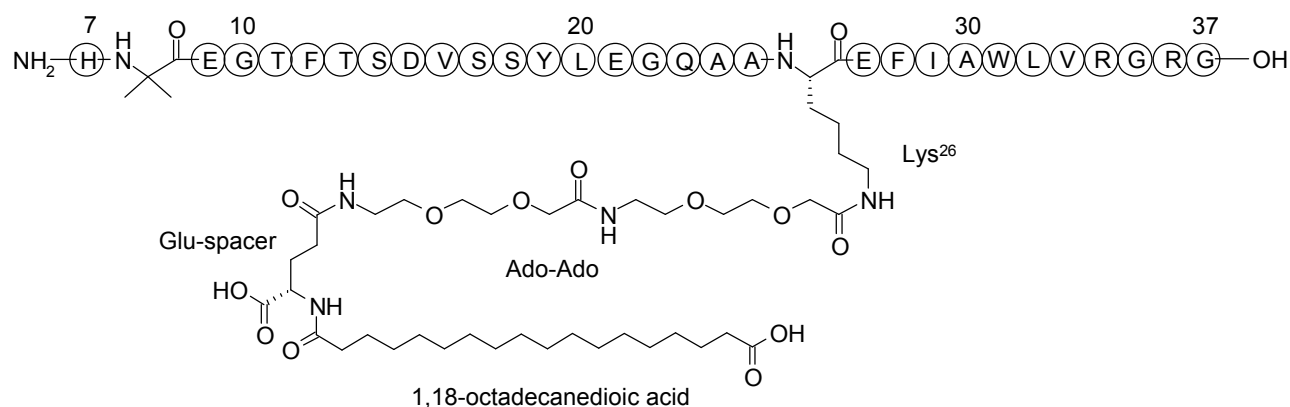


図 2.4-1 セマグルチドの構造

2.4.1.2 開発アプローチ及び規制当局との交渉

セマグルチドの非臨床開発プログラムは、2 型糖尿病患者への長期投与に対して世界的に承認を得ることを目的として、新医薬品に関する日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) ガイドライン (ICH M3¹及び ICH S6²) に準拠し計画されている。

すべての重要な非臨床安全性試験は、OECD 加盟国の医薬品の安全性試験の実施の基準 (GLP) の原則に準拠して実施された。OECD 加盟国とは、データ相互受け入れを目的とした OECD プロセスの一部である。

GLP-1 受容体作動薬の安全性評価に薬理反応の観点からげっ歯類及び非げっ歯類の動物種としてこれまでに汎用されてきたラット及びカニクイザルを、安全性薬理試験及び一般毒性試験の最適動物種として選択した。ICH S1B³ガイドラインでは、2種類のげっ歯類を使用することが推奨されていることに準拠し、マウス及びラットを用いてがん原性試験を実施した。試験開始前に米国食品医薬品局（FDA）と試験計画評価（Special Protocol Assessment）の相談を行い、用量設定に関して FDA の助言を試験計画書に組み入れた。ICH S5⁴ガイドラインでは、一般的な生殖発生毒性試験で通常汎用される動物種が推奨されることに準拠し、当初ラット及びウサギを用いて生殖発生毒性試験を実施した。その後、ウサギでは母動物の忍容性が低く本動物種とヒトとの安全マージンの設定ができないこと、及びラットで認められた胚・胎児毒性の結果を評価するためにラットよりもヒトとの関連性が高い胎盤構造及び機能を有する動物種での評価が必要であったことから、カニクイザルを用いて胚・胎児の発生（EFD）及び出生前及び出生後の発生（PPND）に関する試験を実施した。幼若動物を用いた毒性試験は、セマグルチドの小児への開発計画に関して欧州医薬品庁（EMA）小児委員会（PDCO）及び FDA の合意に基づき、ラットを用いて実施した。

ヒトで予定されている臨床投与経路は皮下であることから、重要な非臨床試験において、セマグルチドを皮下投与した。すべての重要な毒性試験の溶媒組成は上市予定の製剤に用いる溶媒組成と同様であった。ICH M3¹に準拠し、セマグルチドの局所刺激性評価は、反復投与毒性試験に組み入れて実施した。さらに、セマグルチド製剤の単回皮下投与時の局所刺激性試験はブタを用いて、臨床投与経路でない経路（静脈内、動脈内、筋肉内）での投与時の局所刺激性はウサギを用いてそれぞれ評価した。

開発期間中、セマグルチド原薬の製造方法を■■■■法から遺伝子組換え法に変更した。両製造法で製造されたセマグルチドは非臨床プログラムにより試験されており、不純物プロファイルの安全性が確認されている。一次包装からの有機溶出物の種類及び検出レベルから、安全性上の懸念は生じていない。セマグルチド製剤に用いられた添加物は、市販の長期皮下投与医薬品で汎用されており、いずれもヒトに対して長期間皮下投与された場合の安全性が確認されている。

開発期間中、規制当局と協議し、FDA、EMA ヒト用医薬品委員会（CHMP）、独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）、Health Canada 及び EU 各国の規制当局からの助言を求めた。受領した助言を開発戦略に考慮している。

個別の非臨床試験報告書は CTD Module 4 に記載する。Module 4 には、非臨床試験が含まれていない項も存在する。各項で非臨床試験報告書を含めなかった理由を付録 A に示す。

2.4.2 薬理試験

セマグルチドの薬効薬理及び安全性薬理を評価するため、一連の試験が実施されている（表 2.4-1）。

表 2.4-1 薬効薬理試験及び安全性薬理試験の概要

Study type	Administration	Test system/Species
Efficacy Pharmacology		
GLP-1 receptor activation (cAMP)	<i>in vitro</i>	Cloned human GLP-1R
Mechanism of protraction (albumin binding)	<i>in vitro</i>	Cloned human GLP-1R
Blood glucose lowering	<i>in vitro</i>	Rat pancreas (insulin secretion)
	s.c.	db/db mouse, normal rat, normal pig
Body weight lowering	s.c.	DIO rat, normal rat, normal mouse, normal pig
Other effects (atherosclerosis)	s.c.	ApoE ^{-/-} and LDL-receptor ^{-/-} knockout mice
Secondary pharmacology		
Receptor specificity	<i>in vitro</i>	Glucagon receptor, broad panel (68 receptors)
Safety Pharmacology		
Effect on CNS, respiration, kidney	s.c.	Rat
Effect on cardiovascular system	s.c.	Monkey
Cardiac action potential	<i>in vitro</i>	hERG (HEK293 cells), rabbit Purkinje fibres

Abbreviations: cAMP: cyclic adenosine monophosphate; CNS: central nervous system; db: diabetes; DIO: Diet induced obese; ApoE: Apoprotein E; LDL: low-density-lipoprotein; HEK: human embryonic kidney; hERG: human ether-ago-go related gene.

GLP-1 ペプチドホルモンはグルカゴン関連ペプチドスーパーファミリーに属する。生理学的に、GLP-1 は腸内分泌細胞である L 細胞、及び後脳の孤束核ニューロンにおける pre-proglucagon 遺伝子からの摂食に対する応答として分泌される。GLP-1 の生理学及び薬理学に関しては広範な文献報告が存在する^{5,6,7}。哺乳類では GLP-1 のアミノ酸配列の保存性が高く、その受容体は GLP-1 受容体のみが同定されている。GLP-1 受容体は G タンパク質共役受容体クラス B に分類される。哺乳類では GLP-1 受容体の動物種間相同性が高く、ラットとヒトで 90%、サルとヒトで 99% の相同性を有する⁸。GLP-1 の細胞作用は、G タンパク質及びアデニル酸シクラーゼを介した、細胞内への環状アデノシン一リン酸 (cAMP) の蓄積によるものである。膵 β 細胞では、受容体結合に引き続きホスホキナーゼ A が活性化され、細胞内サイトゾル Ca²⁺ の増加及びインスリン含有顆粒のエキソサイトーシスが誘導される。

GLP-1 受容体の発現

ヒト及び非ヒト霊長類 (NHP) において、末梢臓器及び脳における GLP-1 受容体の発現は十分に解析されている^{9,10,11}。膵臓では、GLP-1 受容体は主にインスリン産生 β 細胞に局在し、膵外分泌の腺房細胞では、その発現は非常に低い。膵管上皮細胞では GLP-1 受容体の発現が認められない。腎臓及び肺では、GLP-1 受容体は、動脈壁及び細動脈壁の平滑筋細胞に特異的に発現する。心臓では、GLP-1 受容体は洞房結節の筋細胞に局在する。胃腸管では、十二指腸上部のブルンナー腺で最も高い発現が認められる。胃の筋層及び腸全体の筋層間神経叢ニューロンの壁細胞及び平滑筋細胞では、低レベルの発現が認められる。GLP-1 受容体の発現は、肝臓及び甲状腺では認められない。GLP-1 受容体はげっ歯

類の甲状腺 C 細胞で発現するが、健康なヒト又は NHP の C 細胞には発現せず、げっ歯類の肺ではヒトよりも高レベルの GLP-1 受容体が認められる^{9,10,12}。GLP-1 受容体は脳の複数領域で発現し、その発現パターンはげっ歯類及び NHP で類似している¹¹。

GLP-1 受容体作動薬の薬理作用

GLP-1 受容体作動薬の主要な薬理学的標的組織は膵臓（β 細胞）及び脳である。

GLP-1 受容体作動薬は複数の薬理作用を有する。膵臓における機能作用として、グルコース依存性のインスリン分泌ならびにインスリン、グルコキナーゼ及びグルコーストランスポーター生合成の発現亢進が認められる。また、GLP-1 受容体作動薬はグルコース依存的にグルカゴン分泌を減少させ、続いて肝臓グルコース産生を抑制する。GLP-1 は胃内容排出を阻害し、食後の血漿中グルコース変動を減少させる。胃内容排出の抑制は内因性 GLP-1 の重要な生理学的作用であり、エキセナチド及びリキシセナチドのような短時間作用型 GLP-1 受容体作動薬は、リラグルチド、デュラグルチド、アルビグルチド及びセマグルチドのような持続性 GLP-1 受容体作動薬よりも作用が弱い。この作用の違いは部分的なタキフィラキシスを反映するものと考えられる^{6,13}。GLP-1 受容体作動薬は、満腹感及び膨満感を増強し、空腹感を減弱させることによりエネルギー摂取量を低下させる^{14,15}。エネルギー摂取減少の作用機序はよく研究されており、脳の視床下部弓状核における主要な食欲調節ニューロンにおける GLP-1 受容体、ならびに高負荷の脂肪又は炭水化物の摂取を減少させるような報酬及び食物選択に影響を及ぼすその他の受容体も関与するものと考えられている^{16,17}。

GLP-1 受容体作動薬が収縮期血圧を低下させ、心拍数を増加させることが知られている^{18,19}。心血管アウトカム（例として心臓保護、アテローム性動脈硬化症の減少、プラーク安定性の増加、及び血小板機能の減少）に関する GLP-1 受容体作動薬の有効性が文献で報告されている^{20,21,22}。

セマグルチドは週 1 回投与を目的としたヒト GLP-1 アナログであり、以下に記載するように、GLP-1 受容体を介して内因性 GLP-1 と同様の経路及び細胞活性でその作用を発揮する。

2.4.2.1 効力を裏付ける薬理試験

複数のセマグルチドの効力を裏付ける薬理試験では、リラグルチドを比較対照薬として用いている。リラグルチドはノボ ノルディスク社によって開発された 1 日 1 回投与の GLP-1 受容体作動薬であり、2 型糖尿病の治療薬（ビクトーザ[®]）として世界各国で承認・販売されている。また、体重管理の治療薬（Saxenda[®]）として一部の国で承認されている。セマグルチドは、リラグルチドの製造で使用するアシル化技術と同一の技術に基づき製造される。

GLP-1 受容体活性

セマグルチドは、ヒト GLP-1 受容体作動薬であることが実証され、GLP-1 受容体の活性化において、対照薬であるリラグルチドと同様の効力を有していた。

作用持続時間延長の機序

セマグルチドはアルブミン結合性及び酵素安定性により血漿中半減期が延長し、週 1 回投与に適したプロファイルを有するように設計されている。*in vitro* アルブミン結合性試験から、アルブミンの濃度を増加させると、GLP-1 受容体結合曲線は右側へシフトすることが示された。すなわち、アルブミン存在下で、GLP-1 受容体活性化に、より高濃度のセマグルチドが必要であった。すなわち、セマグルチドはリラグルチドよりもアルブミンに対して高い親和性を有することが示された。

血糖降下作用

灌流ラット臍臓において、セマグルチドは、EC₅₀である 13~14.5 nmol/L (53.5~59.6 µg/L) の濃度で用量依存的にインスリン分泌を促進した。ラットでは、静脈内グルコース注入条件下でセマグルチドを皮下投与することによって *in vivo* での効力を推定した。セマグルチドはインスリン分泌を促進し、30 nmol/kg (123 µg/kg) の用量で血糖を降下させたが、同用量のリラグルチドでは効果が認められなかった。糖尿病マウス (db/db マウス) において、セマグルチドは血糖降下作用及び体重減少作用を示し、長時間作用した。投与後 6 時間での血糖値降下に関する ED₅₀は、セマグルチドでは 0.30 nmol/kg (1.2 µg/kg) であると推定されたが、リラグルチド [6.9 nmol/kg (28.4 µg/kg)] はセマグルチドの 23 倍高かった。したがって、ラット及びマウスにおいて、セマグルチドは *in vivo* でリラグルチドよりも高い効力を示した。最大血糖降下作用は、セマグルチド及びリラグルチドともに同程度であった。

ブタは、GLP-1 受容体作動薬の薬物動態プロファイルがげっ歯類よりもヒトに類似した動物モデルである。したがって、ブタは作用時間評価の主要モデルと考えられている。ミニブタを用いた高血糖クランプ試験において、セマグルチドは最終投与 [2.0 nmol/kg (8.2 µg/kg)] 後 7 日までインスリン分泌を促進した。ブタにおいて、セマグルチドの効力はリラグルチドと同等であったが、作用持続時間はより長かった。

セマグルチドの亜急性期の効果及び作用機序について、糖尿病マウス (db/db マウス) を用いて 0.3~15 nmol/kg (1.2~62 µg/kg) の用量で、1 日 1 回、4 週間の皮下投与により評価した。セマグルチドは、血中グルコース及び HbA1c 値を用量依存的に減少させ、血漿中インスリン濃度を増加させた。膵 β 細胞量は統計学的に有意ではないものの、増加傾向がみられた。セマグルチドを *in vivo* で投与後に単離

した膵島では β 細胞機能の増強がみられたことから、セマグルチドがインスリン生合成を促進したことを反映するものと考えられる。

要約すると、薬理試験により、セマグルチドが複数の動物モデルにおいて血糖降下作用を示す、受容体特異的な持続性 GLP-1 受容体作動薬であることが示された。血糖降下作用はインスリン濃度に依存して生じた。

2.4.2.2 副次的薬理作用

セマグルチドは、関連性の高いグルカゴン受容体、又は幅広い受容体プロファイリングでスクリーニングされた 68 種類の生化学的受容体のいずれも活性化しなかった。したがって、セマグルチドは副次的薬理作用を有する可能性は低く、高選択性 GLP-1 受容体作動薬であると考えられる。

体重減少作用

摂餌量の低下に及ぼすセマグルチドの効果及び作用持続時間について、ブタを用いて検討した。5 nmol/kg (21 μ g/kg) で隔日投与することにより、血漿中セマグルチド濃度は定常状態に達した。定常状態に到達後、投薬を停止し、摂餌量を毎日評価した。セマグルチドは、休薬後 7 日間にわたりブタの摂餌量を減少させた。ブタにおいて、摂餌量の減少に関するセマグルチドの効力はリラグルチドと同等であったが、作用持続時間はより長かった。

セマグルチドの体重減少に及ぼす亜急性期の効果を食餌誘発性肥満 (DIO) ラットで評価した。0.3 及び 1.0 nmol/kg (1.2 及び 4.1 μ g/kg) の用量で、1 日 1 回、77 日間皮下投与した結果、用量依存的かつ有意に体重減少が認められた。体重減少は、主に脂肪に由来するものであった。さらに、セマグルチドは、全期間にわたり用量依存的かつ有意に摂餌量を減少させ、食餌嗜好性に影響を及ぼした。標準飼料及びチョコレートを自由摂取させた場合には、セマグルチド投与ラットのチョコレートに対する嗜好性は、対照群と比較して低かった。レプチン、総コレステロール及び遊離脂肪酸は、セマグルチド投与後に有意に減少した。

マウスを用いたセマグルチドの脳への作用、ニューロンに対する作用、ならびに食欲及び空腹シグナル調節作用の検討試験により、体重減少の分子メカニズムを評価した。皮下投与後、視床下部の最後野、中隔核、孤束核及び弓状核 (ARC) を含む、食欲調節に関連する脳の特徴的な領域に蛍光標識セマグルチドが検出された。ARC において、セマグルチド及び CART/POMC (コカイン・アンフェタミン調節転写産物/プロオピオメラノコルチン) 陽性ニューロンとの共局在化が示された。セマグルチドは、CART/POMC 陽性ニューロンを直接的に活性化し、間接的にニューロペプチド Y (NPY) /アグーチ関連ペプチド (AgRP) ニューロンを阻害することが示された。ARC において、セマグルチドを投与された動物では、満腹シグナルである CART の mRNA 発現量が高く、空腹シグナルである NPY

及び AgRP の mRNA 発現量が低かった。以上の試験から、セマグルチドが食欲調節への関与が知られる脳の領域に作用すること、及びセマグルチドが満腹経路を活性化し、空腹経路を阻害することが示唆されている。

その他の作用

アポリポタンパク E (ApoE) 及び低比重リポタンパクコレステロール (LDL) 受容体ノックアウトマウスを用いて、それぞれ 0.97、2.9 及び 14.6 nmol/kg (4、12 及び 60 µg/kg) の用量で、1 日 1 回、13 又は 17 週間にわたり投与し、アテローム性動脈硬化症の発症に及ぼすセマグルチドの作用を検討した。上記動物モデルは、アテローム性動脈硬化症の研究に汎用されている^{23,24}。いずれの用量のセマグルチドでも、大動脈プラーク病変領域の進展は抑制された。この効果は大動脈組織における抗炎症パターンと一致したが、体重増加抑制との関連性は限定的であった。これらのデータは、心血管系に対してセマグルチドが有益な役割を果たすことを支持している。本結果はさらに複数の証拠によっても支持されている。したがって、種々の動物モデルにおいて、心血管アウトカムに対する GLP-1 受容体作動薬の有用性が認められており、例えば、心臓保護作用、アテローム性動脈硬化症の減少、プラーク安定性の増加、及び血小板機能の低下が文献で報告されている^{20,21,22}。また、GLP-1 受容体は心臓、血管系、免疫系及び腎臓に発現しており、直接的及び間接的メカニズムの両方を介して、GLP-1 による心血管及び微小血管に対する作用に関与している可能性を支持するデータが示されている^{25,26}。さらに、最近のゲノムワイド関連解析^{27,28}から、冠動脈疾患に関連する遺伝子とそのネットワークが同定されている。臨床的に、ネットワーク解析により 5 つの相互作用ネットワークが生成されたが、これらのネットワークにマッピングされる最も重要な 4 経路は脂質代謝及び炎症に関連するものであった²⁸。また、治療ターゲットバリデーションに対するゲノムアプローチにより、血糖降下作用を有する GLP-1 受容体のうち、冠状動脈性心疾患を抑制するヒト GLP-1 受容体変異体が同定されている²⁹。セマグルチドの非臨床試験データから、アテローム性動脈硬化症及び炎症の抑制が示されており、このことが、セマグルチドの心血管系アウトカム試験 (3744 試験、Module 2.5) で観察された主要な心血管イベント (MACE) のリスク低減機序に関する仮説として考えられる。

要約すると、副次的薬理試験により、セマグルチドは受容体特異的な持続性 GLP-1 受容体作動薬であり、複数の動物モデルで体重を減少させることが示された。体重減少メカニズムは脳における食欲制御経路に関与するものであった。さらに、セマグルチドはアテローム性動脈硬化症の進行を抑制し、心血管系における抗炎症作用を有していた。

2.4.2.3 安全性薬理試験

中枢神経系 (CNS)、呼吸器及び腎機能、ならびに心血管系への影響に及ぼすセマグルチドの影響を評価する一連の安全性薬理試験により、セマグルチドを検討した。心臓活動電位誘発性を評価する

ために、*in vitro* 心血管試験も実施した。さらに、カニクイザルを用いた反復投与毒性試験において、心臓の電気生理を心電図（ECG）によりモニターした。

ラットに高用量の曝露を目的とする場合、セマグルチドの忍容性を確実にするためには、概して用量漸増が必要である。しかしながら、急性期の影響を評価する安全性薬理試験では、忍容性の範囲内での単回投与しか実施されなかった。その結果、ラットで試験した最高用量は 23.1 nmol/kg (0.095 mg/kg) であり、これは平均血漿中濃度 (C_{avg}) (表 2.4-5) に基づくと、日本人における 1 mg/週の最大臨床用量での曝露の 1.3 倍に相当する。20.4 nmol/kg (0.084 mg/kg) までの用量で、ラットの呼吸器系に影響は認められなかった。ラットの Irwin 試験では、試験した最高用量 [23.1 nmol/kg (0.095 mg/kg)] において活動性の低下が認められた。活動性の低下は、GLP-1 受容体作動薬を急性投与したラットで認められる、GLP-1 受容体を介した影響であることが知られており³⁰、目的とした薬理作用である食欲減退に関連するものと考えられる³⁰。ラットの腎機能試験において、セマグルチドは、最高用量 [5.6 及び 21.6 nmol/kg (0.023 及び 0.089 mg/kg)] で尿量及び尿中ナトリウムの急激かつ一過性の増加が認められた。これらは、ラットにおける GLP-1 受容体作動薬による既知の影響である^{31,32}。ヒトでは、内因性 GLP-1 はナトリウム利尿及び利尿を増加させることが示されているが、GLP-1 受容体作動薬の慢性投与試験では、同様の影響は報告されていない^{33,34}。ラット及びサルを用いた慢性毒性試験において、日本人最大臨床用量の最大 22 倍の用量で曝露したが、腎臓の肉眼的又は病理組織学的変化は報告されていない。

セマグルチドのサルに対する忍容性は良好であり、114.3 nmol/kg (0.47 mg/kg) の用量 (C_{avg} に基づくと、日本人最大臨床用量の 13 倍の曝露量に相当) を単回投与により評価する心臓テレメトリー試験でも有害な影響は認められなかった。GLP-1 受容体作動薬は、ヒト動脈圧を低下させ、心拍数を 1 分あたり 2~3 回増加させることが報告されている³⁵。これらの影響は、サルを用いた急性単回投与試験では認められなかった。 C_{avgat} に基づくと日本人最大臨床用量の最大 232 倍に相当する高濃度で *in vitro* hERG 試験又はウサギプルキンエ繊維アッセイを行ったが、心臓活動電位に対する影響はいずれも観察されなかった。

カニクイザルを用いた 52 週間反復投与毒性試験において、ECG 評価により、87.5 nmol/kg (0.36 mg/kg) の週 2 回投与群 (日本人最大臨床用量の 22 倍高い AUC 曝露量に相当) の雌 1 頭で慢性的左脚ブロック波形が認められた。ECG で認められた所見が動物の一般状態に影響を及ぼすことを示唆する臨床兆候は認められず、病理組織学的検査を実施したが、対応する変化も認められなかった。心臓ブロックはサル³⁶及びヒト³⁷で時折認められ、大半はその他の根本的な心疾患の結果として生じるものである³⁷。セマグルチドの臨床試験で認められた左脚ブロックの発生は非常に低く、セマグルチドと比較対照薬との差異も認められなかった (Module 2.7.4.2.5)。

2.4.2.4 薬力学的薬物相互作用

セマグルチドの非臨床薬力学的薬物相互作用試験は実施されていない。GLP-1 受容体作動薬は胃内容排出を遅延させることが報告されており⁶、胃内容の排出遅延は、併用する薬物の吸収に影響を及ぼす可能性がある。セマグルチドの胃内容排出に対する効果は臨床試験で評価され、全体的に遅延は認められなかった (Module 2.7.2.3.2.4)。

2.4.3 薬物動態試験

セマグルチドの薬物動態及び代謝を特徴付けるため、一連の試験が実施されている ([表 2.4-2](#))。

表 2.4-2 薬物動態試験の概要

Study type	Administration	Species
Pharmacokinetics/Toxicokinetics		
DRF/MTD; single dose; 2-, 13-, 26 ^a - and 52 ^b -weeks tox.; 2-year carc. ^c	s.c., i.v. ^d	Mouse, rat, cynomolgus monkey
Fertility ^a , embryo-foetal development, pre- and postnatal development ^b	s.c.	Rat, rabbit, cynomolgus monkey
Distribution		
QWBA	s.c., i.v.	Rat
Placental transfer	s.c.	Rat, rabbit
Plasma protein binding	<i>in vitro</i>	Mouse, rat, rabbit, monkey, human
Metabolism		
Hepatocytes	<i>in vitro</i>	Rat, monkey, human
Degradation by NEP	<i>in vitro</i>	Human
Plasma, urine, bile ^a , faeces	s.c.	Mouse ^e , rat, monkey, human
Metabolite identification (plasma, urine)	s.c.	Human
Excretion		
Urine, bile ^a , faeces, milk ^a	s.c.	Rat, monkey, human
Pharmacokinetic drug interaction		
CYP inhibition, CYP induction, transporter inhibition	<i>in vitro</i>	Human hepatocytes
CYP activity in liver homogenate (from 26-week toxicity study)	s.c.	Rat

Notes: a: rat only; b: cynomolgus monkey only; c: mouse and rat; d: single dose only; e: plasma only.

Abbreviations: DRF: dose range finding; MTD: maximally tolerated dose; QWBA: quantitative whole body autoradiography; NEP: neutral endopeptidase; CYP: cytochrome P450

上記の試験により、セマグルチドは皮下投与したいずれの動物種においても、予想どおり長時間の血漿中半減期を有することが確認された。セマグルチドのバイオアベイラビリティは高く (>85%)、いずれの動物種でもセマグルチドの血漿中アルブミンとの結合性は高く (>99%)、アルブミン結合が長時間の半減期の重要な要因であることを支持している。セマグルチドは、ペプチド骨格のタンパク質分解及び脂肪酸側鎖のβ酸化により代謝される。

非臨床安全性プログラムで使用された動物種で試験を実施した。薬物動態パラメータの概要を[表 2.4-3](#)に示す。すべての非臨床動物種及びヒトの両方で線形性の薬物動態を示したことから、集計した全身曝露に関するデータは用量で正規化している。

表 2.4-3 セマグルチドの反復皮下投与に用いた用量正規化（1 mg/kg）平均薬物動態パラメータの種間比較

Species	s.c. administration (steady-state)					
	C _{max} (nmol/L)	t _{max} (h)	AUC _(tau) (h×nmol/L)	Tau (hours)	C _{avg} (nmol/L)	t _½ (h)
Mouse	1040	4	12500	24	522	7.5
Rat	1340	3	23700	24	927	12
Minipig	1950	24	42300	72	1760	-
Monkey	2860	12	150000	72	2080	54
Human	3000	36	437000	168	2600	149

Data: please refer to 2.6.4, Table 1. Human data are from trial 3635.

Abbreviations: Tau: dosing frequency; C_{avg}: average plasma concentration (AUC_(tau)/Tau).

開発期間中、バリデートされた複数の分析法によりセマグルチドの血漿中濃度を測定した。当初、動物及びヒト試料（動物：ELISA/蛍光酵素チャネリング免疫測定法（LOCI）、ヒト：LOCI）用に、イムノベースアッセイを使用した。しかしながら、血漿マトリックスによる干渉が認められたことに関連し、測定性能は最適なものではなかったことから、動物及びヒトの両方とも測定法を LC-MS/MS に変更した。慢性毒性、がん原性、発生毒性（Module 2.6.5.2 及びバリデーション報告書 表 1）を含む、動物を用いたすべての重要な毒性試験、ならびに臨床薬理、生物学的同等性及び第 3 相試験（Module 2.7.1、付録 II）を含む、すべての主要な臨床試験で LC-MS/MS による測定法を用いた。本測定法は、血漿中の総セマグルチド、すなわちアルブミン結合セマグルチド及び非結合セマグルチドの両方を測定するものである。

バリデートされた測定法により、動物及びヒトにおけるすべての重要な試験で抗セマグルチド抗体の形成をモニターした。動物試験では、抗セマグルチド抗体の形成は非常に限定的であった。非臨床プログラム全体をととして、抗セマグルチド抗体が検出された動物は 10 例未満であり、セマグルチドの曝露に及ぼす影響は認められなかった。第 3 相臨床試験においても、抗セマグルチド抗体の産生は低頻度であった（1～2%）。

2.4.3.1 吸収

セマグルチドは、皮下投与部位からの吸収が良好であり、カニクイザルで 86% のバイオアベイラビリティを示した。ヒトにおけるバイオアベイラビリティは同様に高く、89% であった（3687 試験）。

皮下投与及び静脈内投与時のサルを用いて、単回投与による薬物動態学的特性解析を行った。終末相半減期は類似しており（約 51 時間）、皮下組織からの吸収速度は排泄の律速にはならないことが示された。分布容積は 0.2 L/kg と、サルにおける血漿量及び細胞外水分量に相当し、このことはセマグルチドがアルブミンと同程度に末梢組織に分布することを反映するものと考えられる。

皮下投与時のセマグルチドの薬物動態は用量比例性を示し、性差は認められなかった。反復投与試験において動物への継続的な曝露を確実に実施し、可能な限りヒトでの週1回の曝露プロフィールを模倣するため、1日1回投与をマウス及びラットに、週2回投与をカニクイザルにそれぞれ実施した。摂餌量及び体重に及ぼすセマグルチドの薬理作用が認められることから、より高用量に対する忍容性を達成するため、緩徐な用量漸増を実施した。用量漸増により投与用量が増加することから、各用量における累積を測定することは、ほとんどできなかった。しかしながら、試験の用量範囲で薬物動態は予測可能であり、用量比例性であることから、全身に対する累積は、終末相半減期及び投与間隔に基づく、種間で約1.5～5倍であると推定された。ヒトでは、累積は約2倍であり、これは観察された149時間という半減期、及び週1回（168時間）の投与間隔と一致するものである。

2.4.3.2 分布

血漿中タンパク質とセマグルチドとの結合性を、非臨床動物種及びヒトにおいて *in vitro* で評価した。試験の結果、試験したすべての動物種において、血漿中タンパク結合は99%以上と高いことが示された。追加の検討により、アルブミンが主要なセマグルチド結合性の血漿中タンパク質であることが示された。

セマグルチドの分布は、トリチウム標識セマグルチドの単回投与を行ったラットを用いて試験されている。ラットを用いた定量的全身オートラジオグラフィ（QWBA）試験では、セマグルチドは時間の経過とともに大部分の組織に分布し、血液ならびに肺、腎臓、歯髄及び子宮のような極めて血管の多い組織に最高レベルの放射能が認められた。血液と比較して、CNS（脳及び脊髄）には低レベルの放射能しか存在せず、単回投与後に血液－脳関門を通じたセマグルチドの分布が限定的であることが示された。本分布パターンは、アルブミンの分布パターンと一致するものである。

妊娠ラットにおいて、トリチウム標識セマグルチドの分布は、非妊娠動物における分布と同様であった。セマグルチドの胎児組織への分布は、評価した全時点で母動物の血漿（<4%）よりも低レベルであることが示された。このことから、胎盤を通じた分布は限定的であることが示唆される。

2.4.3.3 代謝及び排泄

セマグルチドは、脂肪酸が親水性リンカーを介して結合している4 kDaのペプチドである。化合物の構造に基づくと、ペプチド骨格と脂肪酸であるオクタデカン二酸の分解は、動物及びヒトに共通の代謝経路である、ペプチダーゼ及び連続的 β 酸化により生じることが予想される。セマグルチドの代謝を検討する方法として、脂肪酸及びペプチド骨格の分解パターンとともにリンカーの生体内運命を同定するため、ADO リンカーに結合している脂肪酸を放射能標識した（[図 2.4-2](#)）。開発早期の試験では、19位のチロシン標識体も使用した。

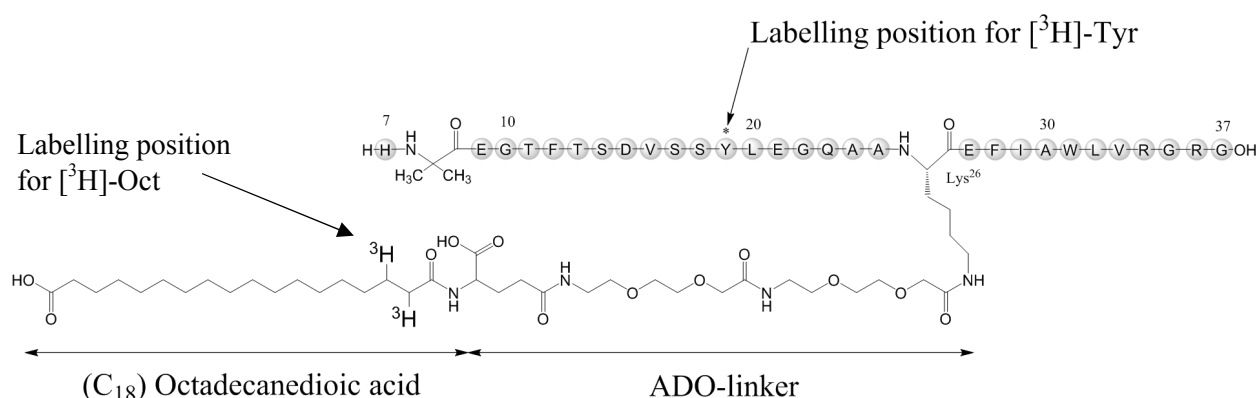


図 2.4-2 放射能標識位置を示すセマグルチドの構造

ラット、サル及びヒト肝細胞を用いて、放射能標識したセマグルチドの代謝を *in vitro* で試験した。いずれの動物種でも代謝が限定的であることが認められ、ヒト特有の代謝物は認められなかった。さらに、広範に分布する酵素である中性エンドペプチダーゼ（NEP；ネプリライシン）は、*in vitro* でセマグルチドを代謝することが示された。また、NEPは内因性 GLP-1 及びリラグルチドを分解することが報告されている^{38,39,40}。

放射能標識セマグルチドを投与したラット、サルならびにヒト血漿、尿及び糞のクロマトグラフィーによる代謝プロファイリングにより、セマグルチドの *in vivo* 代謝を検討した。いずれの動物種でも、未変化のセマグルチドは、検討した全時点で血漿中を循環する主要成分（69～93%）であった。セマグルチドは排泄前に代謝され、いずれの動物種でも血漿中に 7～12 種類の代謝物が検出された。ヒトにおけるセマグルチドのクロマトグラフィーによる血漿中代謝物プロファイルは、ラット及びサルのプロファイルと類似していた（Module 2.6.4、図 2.6.4-6）。ヒト血漿において、各代謝物は、AUC に基づいた総放射能の 0.4～7.7%であることが示された。さらにクロマトグラフィー分析を実施した結果、主たる放射能標識代謝物（P3）は 3 成分（P3A、P3B 及び P3C）から成ることが明らかとなった。代謝物の曝露が低く、種間で代謝物に類似性がみられたことから、ヒトにおけるセマグルチド代謝物は、非臨床安全性試験において安全性が確認されていると考えられる。

3 種類のヒト代謝物が同定された；血漿中 P3B、ならびに尿中 U6 及び U7（構造については Module 2.6.4、図 2.6.4-5 を参照）。P3B は、最初の 13 個の N 末端アミノ酸の切断を伴うセマグルチドとして同定された。本代謝物は、セマグルチドと NEP とのインキュベーション後に *in vitro* でも形成されたことから、NEP はセマグルチドのタンパク質分解による *in vivo* 代謝物形成に関与するものと考えられる。内因性 GLP-1 は DPP-4⁴¹ による N 末端ジペプチドの切断により不活化されることから、13 個の N 末端アミノ酸により切断される P3B 代謝物は、GLP-1 受容体に対して薬理活性を有さないものと考えられ

る。尿中代謝物 U6 及び U7 は、ペプチド骨格から遊離した、C₄又は C₆脂肪酸側鎖が Ado リンカーを介して結合した 26 位の遊離アミノ酸（リジン）として同定された。上記代謝物は、ペプチド側鎖の β 酸化（C₁₈→...→C₆→C₄）によって C₂単位で連続的に切断されるとともに、ペプチド骨格がタンパク質分解されることにより生じた生成物である。U6 及び U7 代謝物の構造から、Ado リンカーが尿中に排泄されたことも同様に確認された。

放射能標識セマグルチドを用いたラット、サル及びヒトの排泄試験から、尿及び糞がセマグルチド関連物質の重要な排泄経路であることが明らかとなった。動物では、試験過程で放射能標識投与量の 30～37%が尿中に、20～35%が糞中に排泄された。ヒトでは、放射能標識投与量の 53%が尿中に、19%が糞中に排泄された。セマグルチドは排泄前に代謝され、動物（<1%）及びヒト（3%）尿中に未変化のセマグルチドがわずかに認められたのみであった。セマグルチドは体内に広く分布する酵素（NEP）により代謝されることから、単一の臓器がクリアランスに関与するものでないものと予想される。このことは、様々な状態の肝障害（3651 試験、Module 5.3.3.3）又は腎障害（3616 試験、Module 5.3.3.3）を有する患者の血漿中曝露に関して臨床的に有意な差異が認められなかった臨床データと一致するものである。

放射能標識セマグルチドを投与された授乳ラットでは、少量のセマグルチド及びセマグルチド関連物質の排泄が乳汁中に認められた（母動物血漿と比較して 1/3～1/12 倍）。主要成分はセマグルチド未変化体であった。

結論として、セマグルチドはペプチド骨格のタンパク質分解及び脂肪酸側鎖の連続的 β 酸化により代謝された。未変化の Ado リンカーは尿中に排泄された。セマグルチドの代謝に関与する酵素は体内に広く分布しているため、単一臓器が代謝に関与するものではないと予想される。ヒトにおけるセマグルチドの代謝物プロファイルは、ラット及びサルのプロファイルと類似していたことから、ヒトのセマグルチド代謝物は、非臨床安全性試験において安全性が十分に確認されているものと考えられる。

2.4.3.4 薬物相互作用

セマグルチドは 4 kDa のペプチドであり、チトクローム P450（CYP）酵素及び薬物トランスポーターの基質とは考えられていない。したがって、薬物相互作用（DDI）評価の焦点は、CYP 酵素及び薬物トランスポーターに及ぼすセマグルチドの影響を検討することであった。

セマグルチドは、ヒト肝細胞又は慢性毒性試験で 1 日 1 回 26 週間投与されたラット肝ホモジネート中の CYP 酵素活性レベルに影響を及ぼさず、標準的な *in vitro* 試験において、セマグルチドは臨床的に意味のある主要な CYP 酵素又はトランスポーターを阻害しなかった。

臨床薬理試験により DDI の可能性を評価したが、臨床的に意味のある相互作用は認められなかった (Module 2.7.2.3.1.7.1) 。以上より、全体的にセマグルチドが臨床的に意味のある DDI を生じる可能性は低いと考えられる。

2.4.4 毒性試験

セマグルチドは、ICH M3¹及び ICH S6²ガイドラインに準拠した包括的な毒性プログラムにより評価した。毒性試験一覧を表 2.4-4 に示す。げっ歯類において認められた甲状腺 C 細胞の変化に関連する一連の事象を確認することと、ラットを用いた胚・胎児発生（EFD）試験で認められた影響を検討するためにメカニズム試験を実施した。

表 2.4-4 毒性試験の概要

Study type and duration	Administration	Species
Single-dose toxicity	s.c., i.v.	Mouse, rat
Repeat dose toxicity DRF/MTD; 2-, 13-, 26 ^a - and 52 ^b -week	s.c.	Mouse, rat, cynomolgus monkey
Genotoxicity Ames test, Chromosome aberration in human lymphocytes	<i>in vitro</i>	-
Micronucleus induction	s.c.	Rat
Carcinogenicity 2 years	s.c.	Mouse, rat
Reproductive and developmental toxicity Combined fertility and embryo-foetal development	s.c.	Rat
Embryo-foetal development	s.c.	Rabbit, cynomolgus monkey
Pre- and postnatal development	s.c.	Cynomolgus monkey
Juvenile toxicity 11 weeks	s.c.	Rat
Local tolerance Subcutaneous injection	s.c.	Pig
Unintended injection routes	i.m., i.v., i.a.	Rabbit
Impurities 4- and 13-week	s.c.	Rat
Mechanistic studies C-cell changes - sequence of events	s.c.	Mouse, rat
Embryotoxicity - mechanism of action	s.c., <i>in vitro</i>	Rat, monkey

Notes: a: rat only; b: cynomolgus monkey only.

Abbreviations: DRF: dose range finding; MTD: maximum tolerated dose; s.c.: subcutaneous, i.v.: intravenous, i.a.: intra-arterial.

すべての重要な試験において投与動物への曝露が確認され、数例に抗セマグルチド抗体形成が認められたが、曝露には影響しなかった。

2.4.4.1 一般毒性及びがん原性

マウス、ラット及びカニクイザルを用いた毒性プログラムの結果、主な影響として GLP-1 受容体の活性化を介した薬理作用、すなわち、摂餌量及び体重に及ぼす直接的又は二次的影響が考えられた。セマグルチドにより誘発された摂餌量の減少及び投与初期にみられる一過性の体重減少に続く体重増加抑制は、全ての動物種において用量制限因子であり、最大耐用量（MTD）を超えた場合に、数例では有害と考えられる一般状態変化を示したことから、安楽死処置した。セマグルチドに対する忍容性は、段階的な用量漸増法により概して改善された。上記の所見は市販の GLP-1 受容体作動薬で報告さ

れた所見、及びヒトで最も頻繁に生じる有害反応は悪心、食欲不振、嘔吐といった胃腸管に及ぼす影響と一致する。

十二指腸におけるブルンナー腺の内腔拡張がマウスで、過形成がラットでそれぞれ認められた。ブルンナー腺は、上部消化管における酵素液として重炭酸を含むアルカリ性の粘液分泌に関与し、酸性の胃内腔消化物から上部消化管を保護する。ブルンナー腺では GLP-1 受容体が高発現しており^{10,12}、内腔拡張及び過形成は GLP-1 受容体の活性化に関連するものと考えられた。ブルンナー腺で認められた所見は、ブルンナー腺又は消化管粘膜の炎症又は細胞障害のいずれにも関連するものではなかったこと、休薬により回復性が認められたこと、及びがん原性試験で過形成又は腫瘍性病変へ進展しなかったことから、有害ではないものと考えられた。カニクイザルに日本人最大臨床用量の 22 倍の曝露量で 52 週間投与したが、ブルンナー腺における投与の影響は認められなかった。したがって、げっ歯類において認められた変化は、ヒトにおける安全上の懸念とは考えられなかった。

マウスを用いたすべての重要な反復毒性試験において、甲状腺 C 細胞の過形成が認められたことから、マウスの試験からは NOAEL を設定することができなかった。ラットでは、有害性変化が全く認められなかったことから、高用量である 0.6 mg/kg/日が反復試験における NOAEL と考えられ、これは日本人最大臨床用量の 21 倍高い曝露量であった（表 2.4-5）。予想どおり、マウス及びラットを用いたがん原性試験で、全セマグルチド用量で甲状腺 C 細胞の過形成、腺腫及び腺癌が認められ、がん原性試験では NOAEL を設定することができなかった。

げっ歯類における増殖性 C 細胞の変化は GLP-1 受容体作動薬による GLP-1 受容体の活性化に伴う既知のクラス効果であり、リラグルチド⁴²、エキセナチド（徐放製剤）⁴³、リキシセナチド⁴⁴及びデュラグルチド⁴⁵のげっ歯類を用いたがん原性試験でも報告されている。マウス及びラットでセマグルチドにより誘発された C 細胞の変化は、非遺伝毒性的な機序による、げっ歯類で高感受性の GLP-1 受容体を介した特異的メカニズムによるものであり⁴⁶、ヒト甲状腺髄様癌でよくみられるがん原遺伝子である RET（Rearranged during transfection）の活性化には関与しない⁴⁷。増殖性甲状腺 C 細胞の変化に先立ち血漿中カルシトニン濃度上昇が認められており⁴⁶、セマグルチドに関しても、マウス及びラットの両方でも同様に C 細胞の変化が認められる前にカルシトニン濃度の上昇が示された。サルを用いたセマグルチドの毒性試験では、日本人最大臨床用量の最大 22 倍の曝露量で 52 週間投与したが、カルシトニン濃度の上昇も C 細胞の変化も認められなかった。このことは、正常なサルの甲状腺 C 細胞では GLP-1 受容体の発現が認められないことと一致する¹⁰。さらに、公表データによれば、GLP-1 受容体は健康なヒトの甲状腺では発現していないことが示されている⁹。セマグルチドの臨床試験において、血漿中カルシトニン濃度に及ぼす影響は認められなかった。さらに、4792 例の患者にセマグルチドを投与した第 3 相臨床試験において、甲状腺髄様癌を発現した患者は認められていない（Module 2.5）。したがって、セマグルチド及びその他の GLP-1 受容体作動薬の利用可能なデータに基づき総合的に考察

すると、げっ歯類における GLP-1 受容体を介した C 細胞の変化がヒトで生じる可能性は低いと考えられる。

マウスに日本人最大臨床用量の最大 47 倍、ラットに最大 4.5 倍の投与量でがん原性試験を実施したが、C 細胞腫瘍以外に投与に関連した腫瘍は認められなかった。

既承認の GLP-1 受容体作動薬及び DPP-4 阻害剤の膵臓に対する安全性は、製造販売業者及び規制当局により厳正に監視されている。複数の文献報告から、インクレチン治療に伴う膵腺癌及びグルカゴノーマのリスクが示唆されている^{48,49,50,51}。しかしながら、これらの報告に異議を唱える結果も報告されている^{52,53,54}。さらに、最近のデータにより現在市販されている検出用抗体を用いた GLP-1 受容体の免疫組織化学的検査は妥当ではないことが示されており、膵管部及び膵外部の GLP-1 受容体の局在性に関する免疫組織化学的データの妥当性は懐疑的となっている^{55,56}。実験操作上の問題がなくなった最新の試験でも、膵管細胞又は膵腺癌に GLP-1 受容体の存在は確認されていない^{9,10}。

ラットを用いたセマグルチドの 13 週間毒性試験において、膵外分泌腺における軽微な限局性腺房細胞萎縮及び単核性炎症細胞が、セマグルチド投与群及び対照群において低頻度に認められた。上記の所見は、ラットで通常認められる自然発生所見であること^{57,58}、及び当該試験でしか認められなかったことから、これらの所見は総合的にみて投与との関連性はないものと考えられた。サルを用いた 52 週間反復投与毒性試験において膵臓重量の低値が、サルを用いた用量範囲設定 (DRF) 試験において膵外分泌腺における腺房細胞の脱顆粒がそれぞれ認められたが、摂餌量の減少に伴う二次的变化と考えられた。反復投与毒性試験又は 2 年間がん原性試験のいずれも、セマグルチド誘発性の急性膵炎、膵腺癌、グルカゴノーマ又はその他の増殖性病変の兆候は示されていない。したがって、セマグルチドの毒性プログラムからは、ヒト膵臓の有害性に関する特別な懸念は特定されていない。これは FDA 及び EMA により実施された、GLP-1 受容体作動薬の膵臓に対する安全性に関する評価の結論⁵⁹と一致するものである。

サルを用いた 52 週間毒性試験において、ECG 計測の結果、高用量群（日本人最大臨床用量の 22 倍高い曝露量に相当）の雌 1 頭で連続性の左脚ブロック波形が認められた。追加で ECG を測定したが、異常な ECG が計測されたのは 1 頭のみであることが確認された。ECG で認められた所見が動物の一般状態に影響を及ぼすことを示唆する臨床兆候は認められなかったものの、本所見は NOAEL の判断根拠とした。その他に有害性変化が認められず、1 頭で認められた ECG の異常所見に基づき、本試験における NOAEL は中用量である 0.06 mg/kg の週 2 回投与（日本人最大臨床用量の 3.6 倍以上、[表 2.4-5](#)）と考えられた。心臓ブロックはサル³⁶及びヒト³⁷で時折認められ、大半はその他の根本的な心疾患の結果として生じるものである³⁷。セマグルチドの臨床試験で認められた左脚ブロックの発生は非常に低く、セマグルチドと比較薬との差異も認められなかった（Module 2.7.4.2.5）。

結論として、セマグルチドの毒性試験及びがん原性試験では、GLP-1 受容体の活性化を介した薬理作用に基づく、摂餌量の減少及び体重増加抑制による直接的又は二次的なものと考えられる影響が認められた。予想どおり、セマグルチドはげっ歯類において甲状腺 C 細胞の過形成及び腫瘍性病変を誘発した。げっ歯類で認められた C 細胞の変化は GLP-1 受容体作動薬のクラス効果であり、げっ歯類における C 細胞の変化がヒトで生じる可能性は低いと考えられる。その他に臨床的に重要と考えられるセマグルチドに関連した影響は認められなかった。

2.4.4.2 遺伝毒性

セマグルチドの遺伝毒性誘発性は認められなかった。ICH S2 ガイドライン⁶⁰に準拠し、*in vitro* Ames 試験、ヒトリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験、及び *in vivo* ラット骨髄小核試験にて遺伝毒性評価を実施した。

2.4.4.3 生殖発生毒性

ICH S5 ガイドラインに準拠し、ラット、ウサギ及びカニクイザルを用いてセマグルチドの授受胎能、EFD、ならびに出生前及び出生後の発生（PPND）に及ぼす影響を検討した。ウサギでは母動物の忍容性が低く本動物種とヒトとの安全マージンの設定ができないこと、及びラットで認められた胚・胎児毒性の結果を評価するために、ラットよりもヒトとの関連性が高い胎盤構造及び機能を有する動物種での評価が必要であったことから、カニクイザルを第3の動物種として含めた。

市販の GLP-1 受容体作動薬は動物試験で生殖毒性を有することが示されており、一般的に妊娠期の使用は推奨されていない^{44,61,62,63,64,65}。概して、認められた影響は骨化遅延を含む胎児の発育遅延及び骨格異常であった。さらに、複数の GLP-1 受容体作動薬の動物試験において、胚・胎児の死亡及び胎児異常が認められている。

ラットでは、雄の生殖能に及ぼす影響は認められなかったが、雌では性周期が延長し、黄体数減少に伴う着床数及び同腹児数への影響が誘発された。これらの影響は摂餌量及び体重に及ぼすセマグルチドの薬理作用による二次的な適応反応と考えられ⁶⁶、有害でないものと考えられた。

セマグルチドはラットにおいて、日本人最大臨床用量である 1 mg/週での臨床曝露量以下（0.3 倍）の AUC に相当する 0.03 mg/kg/日以上以上の用量で、胚・胎児の死亡、生育遅延、軽微／重大な骨格及び内臓異常を含む胚毒性を誘発した。メカニズム試験により、セマグルチドのラットにおける胚毒性の影響は、反転卵黄嚢胎盤がラット胚の栄養供給に必須である器官形成期〔妊娠日（GD）7～13〕に誘発されたことが明らかとなった。ラット卵黄嚢では器官形成期に GLP-1 受容体が機能的に発現することが明らかになっており、GLP-1 受容体特異的拮抗薬を加えると、セマグルチドの影響は抑制された。さらに、セマグルチドは反転卵黄嚢胎盤に達し、卵黄嚢細胞の飲小胞形成不全を誘発することで反転

卵黄囊細胞の母体から胚への栄養輸送を阻害することが明らかとなった。卵黄囊の解剖学的構造及び機能に種差があること、カニクイザルでは GLP-1 受容体の発現が認められないことから、このメカニズムは、ヒトに当てはまる可能性は低いものと考えられる。詳細は Module 4.2.3.7.3 ”Embryotoxicity findings in rats: Assessment of human relevance”を参照のこと。

ウサギでは、早期妊娠損失及び軽微な胎児異常の発生頻度増加が、日本人最大臨床用量の臨床曝露用量以下（0.3 倍）である 0.0025 mg/kg/日以上との投与群で認められた。ウサギにおける胎児異常はラットで認められた所見と異なるものであった。ウサギでは、食餌制限により妊娠損失及び胎児異常の増加が誘発されることが示されていることから^{67,68,69}、ウサギで認められた影響は、母動物への顕著な影響による二次的なものと考えられたが、セマグルチドの直接的な影響を否定することができなかった。以上より、ウサギの EFD に関する NOAEL は最低用量群である 0.001 mg/kg/日と考えられ、これは日本人最大臨床用量である 1 mg/週での臨床曝露用量以下（0.03 倍）に相当した（表 2.4-5）。

サルを用いた PPND 試験において、早期妊娠損失が中用量及び高用量群で認められたが、その他に実施した 2 つの EFD 試験では認められなかった。主要な EFD 毒性試験において、散発的な胎児異常がわずかに認められたものの、PPND 試験では認められなかった。早期妊娠損失をみる EFD 毒性試験では、骨格及び内臓奇形は認められなかった。サルで認められた胎児異常はラットの所見とは異なるものであり、早期妊娠損失の誘発には関与しないものと考えられ、母動物の顕著な体重減少（最大 16% の減少）と一致するものであった。試験間の整合性が認められず、胎児異常の性質に共通性が認められなかったことから、サルで認められた所見は偶発的か、あるいは母動物へのストレス又は体重減少に関連する変化のいずれかを示唆するものと考えられた。しかしながら、利用可能な背景データが限られており、母動物への顕著な体重減少を伴うカニクイザルの試験経験がこれまでないことから、早期妊娠損失及び胎児異常が投与の影響による可能性を否定できなかった。したがって、カニクイザルの総合的な発生毒性に関する NOAEL は、低用量である 0.015 mg/kg（3 日に 1 回投与）であり、これは日本人最大臨床用量の 1 mg/週に概ね相当（0.8 倍）すると結論された（表 2.4-5）。

カニクイザルを用いた PPND 試験において、母動物への投与を GD140 に中止し、出産及び授乳時に体重減少のみられた母動物に対しては、ストレスを軽減させるために試験中に休薬した。最高用量側の 2 群では、新生児及び母動物の体重は出産後第 1 日の対照群よりも低かったが、授乳期に体重増加がみられ、出産後第 180 日では群間差は認められなかった。いずれの投与群でも新生児の神経行動学的評価項目に及ぼす影響は認められなかった。

標準的な生殖毒性試験及びメカニズム試験データから、妊娠期間中の投与に関連したヒトへのリスク評価が実施されている。メカニズム試験から、卵黄囊に関連したラット胚毒性について、ヒトとの関連性は低いものと考えられる。しかしながら、その他のメカニズムが関与する可能性を完全には否

定できない。ウサギ及びサルで認められた妊娠損失及び胎児異常は偶発的であるか、母動物への顕著な体重減少に関連したものいずれかと考えられる。しかしながら、利用可能なデータからではヒトとの関連性を完全には否定できない。したがって、妊娠期間中のセマグルチドの使用は一般的に推奨しない。

2.4.4.4 幼若動物を用いた試験

セマグルチドを幼若ラットに 11 週間投与したところ、摂餌量の減少及び体重増加抑制が認められ、ペアフィード対照群との比較に基づくと、セマグルチドによる体重増加抑制の程度は制限給餌による体重増加抑制単独の影響よりも大きかった。セマグルチドは雌雄に対して性成熟の遅延を誘発し、性成熟到達時の体重はペアフィード対照群よりも高値であった。しかしながら、雌の性周期の規則性、雌雄の生殖器官重量又は顕微鏡的病理検査、発情行動、雌雄の繁殖能又は受胎能、妊娠中期までの雌の妊娠維持能に及ぼす影響はいずれも認められなかった。したがって、性成熟の到達遅延は有害ではないものと考えられた。したがって、NOAEL は試験における最高用量である 0.6 mg/kg/日と考えられ、これは日本人最大臨床用量である 1 mg/週の 18 倍の曝露量に相当した ([表 2.4-5](#))。

2.4.4.5 局所刺激性

セマグルチドの局所刺激性評価の結果、溶媒又は皮下投与方法に関連した軽度の投与部位反応が時折認められたのみであった。同様の所見は局所刺激性試験〔ブタへの皮下投与及びウサギへの臨床投与経路でない経路（筋肉内、動脈内及び静脈内投与）〕でも認められた。すべての毒性試験において同一溶媒、すなわち、pH を 7.4 に調整した注射用水にリン酸水素二ナトリウム (1.42 mg/mL)、プロピレングリコール (14.0 mg/mL) 及びフェノール (5.50 mg/mL) を使用し、溶媒組成は臨床試験に用いる製剤の溶媒組成と同様であった。結論として、セマグルチド製剤投与時に時折認められた組織反応は軽度であり、ヒトにおける安全性上の懸念にはならないものと考えられた。

2.4.4.6 その他の毒性試験

EFD 試験に用いる第 3 の動物種としてミニブタが適切かどうか評価するため、雌性 Göttingen ミニブタを用いた毒性試験を実施した。その結果、本動物種で忍容性が認められた AUC に基づくと、日本人最大臨床用量である 1 mg/週の最大 4 倍の曝露量であることから、母動物に対する忍容性が低いことが示された。カニクイザルでは 52 週間反復投与毒性試験において、日本人最大臨床用量の最大 22 倍の曝露量で忍容性を示し、EFD 試験において、より高いセマグルチドの曝露評価が可能であることから、カニクイザルを選択した。

2.4.4.7 製剤中の不純物及び溶出物の安全性評価

セマグルチド製剤規格には、4 グループの不純物（親水性不純物、疎水性不純物 1、疎水性不純物 2 及び高分子タンパク質）が含まれる。いずれの不純物もセマグルチドに関連したものであり（Module 2.3.P.5）、非臨床試験で安全性が確認されている。

開発期間中、セマグルチドを第 2 相臨床試験まで████法により製造した。第 3 相臨床試験開始前に製法を変更し、セマグルチドのペプチド骨格を *Saccharomyces cerevisiae* 種による遺伝子組換え DNA 技術により製造した。同等性／同質性試験から、製法変更は主に低レベルのバックグラウンド不純物プロファイルに影響を与えたが、セマグルチドの目的物質関連物質や安定性を反映する不純物は両製法とも同等であると確認された（Module 3.2.P.5.5）。バックグラウンド不純物プロファイル及び同定されたセマグルチドの目的物質由来不純物に関して、最終製剤を上回る濃度で非臨床試験が実施されている。非臨床 NOAEL では、日本人最大臨床用量である 1mg/週の 53～92 倍高い濃度で不純物を試験した（Module 2.6.6、表 2.6.6-39）。したがって、不純物の安全性は確認されたものと考えられ、提案する製品使用時の評価基準は妥当と考えられる。有効期間内規格（shelf-life specification limits）は提案する製品使用時の評価基準よりも低値であることから、有効期間内規格も妥当と考えられる。

製剤の製造時に生成された製造工程由来不純物は認められなかった。一次包装からの有機溶出物が 1 物質認められたが、安全性上の懸念は生じなかった。

2.4.4.8 添加物の評価

セマグルチド製剤に用いられた添加物（リン酸水素二ナトリウム、プロピレングリコール及びフェノール）は、市販の長期皮下投与医薬品で使用されていることがよく知られている。セマグルチドの製剤組成は、世界各国で承認されている 1 日 1 回皮下投与 GLP-1 受容体作動薬であるリラグルチド（ビクトーザ®）の製剤組成と類似する⁴²。各添加物の 1 週間あたりの投与量はリラグルチド（ビクトーザ®）よりも低い。したがって、セマグルチド製剤に含まれる添加物は、ヒトに対して長期間皮下投与された場合の安全性が適切に確認されたものと考えられる。

2.4.4.9 ヒトとの曝露量比較

[表 2.4-5](#)に、動物の NOAEL での AUC 曝露量と日本人最大臨床用量である 1 mg/週での AUC 曝露量との比を示す。げっ歯類のがん原性試験では、C 細胞腫瘍が試験した全用量で認められたことから、NOAEL を設定することができなかった。慢性毒性試験、がん原性試験、生殖毒性及び幼若毒性試験における全試験用量での曝露量と最大臨床用量との曝露量比の情報に関しては、Module 2.6.6、表 2.6.6-44 を参照のこと。

表 2.4-5 NOAEL での動物の AUC 曝露量とヒト最大臨床用量（1 mg/週）での AUC 曝露量との比

Study type	Mouse	Rat	Monkey	Rabbit
Chronic toxicity	NE	21	3.6	-
Carcinogenicity	NE	NE	-	-
Reproduction and development				
Combined fertility and embryo-foetal development	-	0.09	-	-
Embryo-foetal development	-	-	0.8	0.03
Pre- and postnatal development toxicity	-	-	0.5	-
Juvenile toxicity	-	18	-	-

NE: not established. “-”: not applicable.

Animal exposure data: see Module 2.6.6, Table 44.

Human exposure based on population pharmacokinetic data from Japanese type 2 diabetic subjects in clinical phase 3 trials (C_{avg} : 35.3 nM; AUC_{0-168h} : 168 h * C_{avg} = 5930 h*nM) [Japanese Modelling Report, M5.3.3.5].

2.4.5 総合的考察及び結論

2.4.5.1 概要

セマグルチドは持続性 GLP-1 受容体作動薬であり、GLP-1 受容体の特異的に活性化する。セマグルチドはクリアランスを低下させるよう設計されており、それにより消失半減期が延長し、ヒトにおける週 1 回投与に適したものとなっている。半減期延長は、長鎖脂肪酸をペプチド骨格に附加することで血清アルブミンと非共有結合を生じること、及び DPP-4 酵素による分解を抑制するため、第 8 位のアラニンを変更したことにより可能となっている。

ICH M3¹及び ICH S6²ガイドラインに準拠して、セマグルチドの非臨床開発プログラムを設計した。他の GLP-1 受容体作動薬の非臨床安全性評価に薬理反応の観点からげっ歯類及び非げっ歯類の動物種としてこれまでに汎用されてきたラット及びカニクイザルを、安全性薬理試験及び一般毒性試験の最適動物種として選択した。

薬理試験において、セマグルチドはヒトでの週 1 回投与に適した作用持続時間の延長が示された。複数の動物モデルにおいて、セマグルチド投与により血糖降下及び体重減少が認められた。GLP-1 受容体作動薬の薬理メカニズムは文献で詳細に記載されており、膵臓 GLP-1 受容体を介したインスリン濃度の上昇及びグルカゴン濃度の低下を通じて血中グルコースが低下すること、ならびに満腹感の増強及び空腹感の減弱を介してカロリー摂取の低下が生じ、体脂肪が減少することである。心血管及び微小血管組織の両方に対する GLP-1 受容体作動薬の有効性を支持する報告が発表されてきている。また、本申請で提出したセマグルチドの試験報告書から、心血管系における抗アテローム性動脈硬化症及び抗炎症作用が示されており、これらがセマグルチドの心血管系アウトカム試験（3744 試験）で観察された MACE のリスク低減に関する機序として考えられた。

薬物動態試験から、セマグルチドは評価したいずれの動物種においても、期待どおり長時間の血漿中半減期を有することが確認された。セマグルチドの皮下投与部位からの吸収は良好であり、バイオアベイラビリティは高かった（>85%）。いずれの動物種及びヒトでもセマグルチドのタンパク結合率は高く（>99%）、アルブミンが主要な結合成分であった。分布容積はアルブミンの細胞外分布量に相当し、このことはセマグルチドがアルブミンと同程度に末梢組織に分布することが示された。セマグルチドの薬物動態は用量比例性を示し、性差は認められなかった。抗セマグルチド抗体の産生は限定的であり、セマグルチドの曝露に及ぼす影響は認められなかった。

セマグルチドはペプチド骨格のタンパク質分解及び脂肪酸側鎖の連続的 β 酸化により代謝され、Ado リンカー未変化体は尿中に排泄された。*in vitro* 評価により、すでに内因性 GLP-1 及びリラグルチドでも示されたように、分解に NEP が関与する可能性が示された。セマグルチドの分解に関与する酵素は体内に広く分布しているため、単一の臓器が代謝に関与するものではない。ヒトにおけるセマグルチ

ドの代謝物プロファイルは、ラット及びサルのプロファイルと類似しており、代謝物の存在量はセマグルチド未変化体よりも低かった。したがって、ヒトのセマグルチド代謝物は、非臨床安全性試験において安全性が十分に確認されているものと考えられる。

CYPの制御及び阻害、ならびに薬物トランスポーター阻害に及ぼすセマグルチドの影響に関して、*in vitro*試験での非臨床評価に基づく、セマグルチドがDDIを誘発する可能性は低いと考えられる。さらに、臨床薬理試験において、臨床的に意味のあるDDIは認められていない。

セマグルチドの単回投与安全性薬理試験では、ヒトにおける安全性上の懸念は生じなかった。カニクイザルに最大0.47 mg/kg（日本人最大臨床用量の13倍高い曝露量に相当）まで単回投与したが、臨床的に意味のある所見は認められなかった。ラットでは、活動性の低下及び利尿亢進が認められた。上記の所見はラットにおけるGLP-1受容体作動薬の影響であることがよく知られている。利尿に関する急性期の影響は、内因性GLP-1を投与されたヒトにおいても認められているが、GLP-1受容体作動薬の長期投与では認められていない。カニクイザルを用いた52週間反復投与毒性試験において、0.36 mg/kg投与群（日本人最大臨床用量の22倍高い曝露量に相当）の雌1頭で左脚ブロックが認められた。心臓ブロックはサル及びヒトで時折認められ、大半はその他の根本的な心疾患の結果として生じるものである。セマグルチドの臨床試験で認められた左脚ブロックの発生は非常に低く、セマグルチドと比較薬との差異も認められなかった。

一般毒性試験及びがん原性試験において、セマグルチドは主にGLP-1受容体の活性化に関連すると考えられる影響を誘発した。全ての試験動物種における用量制限因子は、薬理作用を介した摂餌量の減少及び投与初期の体重減少に続く体重増加抑制であった。

げっ歯類において、ブルンナー腺の肥大及び内腔拡張が認められ、ブルンナー腺におけるGLP-1受容体発現の活性化に関連するものと考えられた。本変化はブルンナー腺又は消化管粘膜の炎症又は細胞障害のいずれにも関連するものではなく、休薬により回復性が認められ、がん原性試験で過形成又は腫瘍性病変へ進展しなかった。さらに、カニクイザルではブルンナー腺における投与の影響は認められなかった。したがって、セマグルチドはマウス及びラットのブルンナー腺の変化を誘発したが、ヒトにおける安全性上の懸念を有さないと考えられた。

他のすべてのGLP-1受容体作動薬のがん原性試験でみられたように、セマグルチドはマウス及びラットに甲状腺C細胞腫瘍を誘発した。C細胞の変化は、非遺伝毒性的な機序による、げっ歯類で高感受性のGLP-1受容体を介した特異的メカニズムによるものである。サルを用いたセマグルチドの毒性試験では、日本人最大臨床用量の最大22倍の曝露量で52週間投与したが、C細胞の変化は認められなかった。公表データによれば、GLP-1受容体は健康なヒト又はNHPの甲状腺では発現していないことが示されている。第3相臨床試験において4792例の2型糖尿病患者にセマグルチドを投与したが、甲

状腺髄様癌を発現した患者は認められていない。したがって、セマグルチド及びその他の GLP-1 受容体作動薬の利用可能なデータに基づき総合的に考察すると、げっ歯類における GLP-1 受容体を介した C 細胞の変化がヒトで生じる可能性は低いと考えられる。

生殖毒性試験において、雄の生殖能に及ぼす影響は認められなかったが、雌性ラットでは性周期が延長し、黄体数減少に伴う着床数及び同腹児数への影響が誘発された。これらの影響は摂餌量及び体重に及ぼすセマグルチドの薬理作用による二次的な適応反応と考えられた。セマグルチドの胎盤移行性はラット及びウサギで認められ、ラットでは乳汁に低濃度のセマグルチドが検出された。

セマグルチドは、反転卵黄嚢胎盤がラット胚の栄養供給に必須である器官形成期に、GLP-1 受容体を介した反転卵黄嚢胎盤の機能不全を誘発することにより、ラットの EFD に有害影響を及ぼした。卵黄嚢の解剖学的構造及び機能に種差があること、カニクイザルでは GLP-1 受容体の発現が認められないことから、このメカニズムは、ヒトに当てはまる可能性は低いものと考えられる。しかしながら、上記の所見に関し、ラットに胚毒性を誘発するその他のメカニズムを完全には否定できない。ウサギ及びサルで認められた妊娠損失及び胎児異常は偶発的であるか、母動物への顕著な体重減少に関連したものいずれかと考えられる。しかしながら、利用可能なデータからでは、ヒトとの関連性を完全には否定できない。したがって、妊娠期間中のセマグルチドの使用は推奨しない。

このことは、市販の GLP-1 受容体作動薬は動物試験で生殖毒性を有することが示されており、一般的に妊娠期の使用は推奨されていないことと一致するものである。

幼若ラットにおいて、セマグルチド投与により摂餌量の減少及び体重増加抑制が認められた。セマグルチドによる体重増加抑制の程度は制限給餌による体重増加抑制単独の影響よりも大きかった。さらに、セマグルチドは雌雄に対して性成熟の遅延を誘発し、性成熟到達時の体重はペアフィード対照群よりも高値であった。性成熟の到達遅延はその他の生殖評価項目に長期の影響を及ぼさなかったことから、有害ではないものと考えられた。

セマグルチドの局所刺激性を評価した結果、セマグルチド製剤投与時に軽度な組織反応が時折認められた。

セマグルチド製剤中の不純物は非臨床試験で評価されており、安全性は適切に確認されたものと考えられる。セマグルチド製剤に使用された添加物（リン酸水素二ナトリウム、プロピレングリコール及びフェノール）は、その他の市販の長期皮下投与医薬品で多くの使用経験があり、安全性は確認されているものと考えられる。

2.4.5.2 総括

セマグルチドは非臨床プログラムにより包括的に評価されている。薬理試験では、セマグルチドは GLP-1 受容体に対して作用する選択的作動薬であり、GLP-1 受容体作動薬による既知の薬理作用（血糖降下作用及び体重減少）を示すことが確認された。さらに、セマグルチドによるアテローム性動脈硬化症の減弱及び炎症がみられた大動脈組織に対する抗炎症作用への関与が認められた。

セマグルチドの薬物動態学的特性は用量比例性であり、血漿中消失半減期は動物種によらず体重の増加に伴い延長した。ヒトの消失半減期は約 1 週間であり、これは週 1 回の臨床投与を支持するものである。セマグルチドは通常のペプチド及び脂肪酸代謝経路により代謝され、代謝プロファイルは動物種及びヒトで同様であった。

非臨床安全性所見は概して既知の GLP-1 受容体作動薬の薬理作用に関連したものであった。げっ歯類において、既知のクラス効果である甲状腺 C 細胞の過形成及び腫瘍性病変が認められた。利用可能な非臨床及び臨床データに基づき総合的に考察すると、げっ歯類のクラス効果がヒトに関連する可能性は低いと考えられる。セマグルチドは、GLP-1 受容体を介するげっ歯類の卵黄嚢に関連したメカニズムにより、ラットの EFD に有害影響を及ぼした。卵黄嚢の解剖学的構造及び機能に種差があること、カンクイザルの卵黄嚢では GLP-1 受容体の発現が認められないことから、このメカニズムがヒトに当てはまる可能性は低いものと考えられる。ウサギ及びサルで認められた妊娠損失及び胎児異常は偶発的であるか、母動物への顕著な体重減少に関連したものいずれかと考えられる。しかしながら、利用可能なデータからでは、ヒトとの関連性を完全には否定できない。したがって、妊娠期間中のセマグルチドの使用は一般的に推奨しない。

総合的に、包括的な非臨床プログラムからは、ヒトに対する長期皮下投与の妨げとなる安全性上の懸念は認められなかった。

付録 A CTD Module 4 の各項に非臨床試験報告書がないことの理由

CTD Module 4 のいくつかの項目では、非臨床試験を組み入れていない。これらの項に試験が存在しない理由を以下に概説する。

Module 4.2.1.4 薬力学的薬物相互作用

非臨床薬力学的薬物相互作用試験は実施していない。GLP-1 受容体作動薬は、胃内容排出を遅延させることが報告されており、そのことにより併用した薬物の吸収に影響を及ぼす可能性がある。胃内容排出に及ぼすセマグルチドの効果を臨床試験で評価したが、全体的に遅延は認められなかった ([2.4.2.4](#))。

Module 4.2.2.7 その他の薬物動態試験

単回及び反復投与試験を実施してセマグルチドの薬物動態を検討し、適切に特性解析を行ったものと考えられた。したがって、追加の薬物動態試験は実施しなかった。

Module 4.2.3.4.2 短期及び中期試験

マウス及びラットを用いた 2 年間長期がん原性試験を実施したことから、短期及び中期試験の意義は低いと考えられた。

Module 4.2.3.7.1 抗原性

抗原性試験は実施しなかった。抗原性及び免疫原性誘発性評価は反復投与毒性試験（抗セマグルチド抗体形成、及び脾臓、リンパ節等の免疫器官の病理組織学的検査）に含まれた。

Module 4.2.3.7.2 免疫原性

免疫原性試験は実施していない。血液学的評価項目、血漿中グロブリン、免疫器官重量及び病理組織学的検査といった標準的免疫毒性評価項目は、重要な反復投与毒性試験に含まれた。

Module 4.2.3.7.4 依存性

セマグルチドの化学構造及び基本的薬理作用は、薬物乱用又は薬物依存に関連する薬物とは異なるものである。さらに、セマグルチドの、薬物乱用又は薬物依存誘発性に関連する神経伝達物質（例としてアヘン及び麻薬）受容体／輸送体との結合は示されていない。このことと、心血管作用、体温及び自発運動に関する非臨床試験結果に基づくと、セマグルチドは薬物乱用又は薬物依存誘発性に関連

しないものと考えられる。さらに、市販の GLP-1 受容体作動薬について、乱用性／依存性は知られていない。したがって、セマグルチドの薬物乱用性又は依存性を検討する非臨床試験は実施していない。

Module 4.2.3.7.5 代謝物

セマグルチドは、ペプチド骨格のタンパク質分解及び脂肪酸側鎖の連続的 β 酸化により代謝される。ヒトの血漿中セマグルチドの代謝物プロファイルは、ラット及びサル血漿中プロファイルと類似している。したがって、代謝物の安全性を評価する毒性試験の意義は低いと考えられ、実施していない。

参考文献

- ¹ ICH M3(R2). Guidance on Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals. M3(R2). Current Step 4 version dated 11 June 2009.
- ² ICH S6(R1). Preclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals. S6(R1). Parent Guideline dated 16 July 1997. Current Step 4 version. Addendum dated 12 June 2011 incorporated at the end of June 2011.
- ³ ICH S1B. Testing for Carcinogenicity of Pharmaceuticals. S1B. Current Step 4 version dated 16 July 1997.
- ⁴ ICH S5(R2). Detection of Toxicity to Reproduction for Medicinal Products & Toxicity to Male Fertility. S5(R2). Current Step 4 version. Parent Guideline dated 24 June 1993 (Addendum dated 9 November 2000 incorporated in November 2005).
- ⁵ Holst JJ. The Physiology of Glucagon-like Peptide 1. *Physiol Rev.* 2007;87:1409-39.
- ⁶ Meier JJ: GLP-1 receptor agonists for individualized treatment of type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocr.* 2012;8:728-42.
- ⁷ Vrang N, Larsen PJ. Preproglucagon derived peptides GLP-1, GLP-2 and oxyntomodulin in the CNS: Role of peripherally secreted and centrally produced peptides. *Prog Neurobiol.* 2010;92:442-62.
- ⁸ Knudsen LB, Hastrup S, Underwood CR, Wulff BS, Fleckner J. Functional importance of GLP-1 receptor species and expression levels in cell lines. *Reg Pept.* 2012;175:21-9.
- ⁹ Waser B, Blank A, Karamitopoulou E, Perren A, Reubi JC. Glucagon-like-peptide-1 receptor expression in normal and diseased human thyroid and pancreas. *Mod Pathol.* 2015;28:391-402.
- ¹⁰ Pyke C, Heller RS, Kirk RK, Ørskov C, Reedtz-Runge S, Kaastrup P, et al. GLP-1 Receptor Localization in Monkey and Human Tissue: Novel Distribution Revealed With Extensively Validated Monoclonal Antibody. *Endocr.* 2014;155:1280–90.
- ¹¹ Heppner KM, Kirigiti M, Secher A, Paulsen SJ, Buckingham R, Pyke C, et al. Expression and distribution of glucagon-like peptide-1 receptor mRNA, protein and binding in the male nonhuman primate (macaca mulatta) brain. *Endocr.* 2015;156:255-67.
- ¹² Körner M, Stöckli M, Waser B, Reubi JC. GLP-1 receptor expression in human tumors and human normal tissues: Potential for in vivo targeting. *J Nucl Med.* 2007;48(5):736-43.
- ¹³ Nauck MA, Kemmeries G, Holst JJ, Meier JJ. Rapid tachyphylaxis of the glucagon-like peptide 1-induced deceleration of gastric emptying in humans. *Diabetes.* 2011;60:1561-5.
- ¹⁴ Flint A, Raben A, Astrup A, Holst JJ. Glucagon-like peptide 1 promotes satiety and suppresses energy intake in humans. *J Clin Invest.* 1998;101:515-20.
- ¹⁵ van Can J, Sloth B, Jensen CB, Flint A, Blaak EE, Saris WH. Effects of the once-daily GLP-1 analog liraglutide on gastric emptying, glycemic parameters, appetite, and energy metabolism in obese, non-diabetic adults. *Int J Obes.* 2014;38:784-93.

- [16](#) Sisley S, Gutierrez-Aguilar R, Scott M, D'Alessio DA, Sandoval DA, Seeley RJ. Neuronal GLP1R mediates liraglutide's anorectic but not glucose-lowering effect. *J Clin Invest*. 2014;124(6):2456-63.
- [17](#) Secher A, Jelsing J, Baquero AF, Hecksher-Sorensen J, Cowley MA, Dalboge LS, et al. The arcuate nucleus mediates GLP-1 receptor agonist liraglutide-dependent weight loss. *J Clin Invest*. 2014;124(10):4473-88.
- [18](#) Kim M, Platt MJ, Shibasaki T, Quaggin SE, Backx PH, Seino S, et al. GLP-1 receptor activation and Epac2 link atrial natriuretic peptide secretion to control of blood pressure. *Nat Med*. 2013;19(5):567-75.
- [19](#) Ussher JR, Baggio LL, Campbell JE, Mulvihill EE, Kim M, Kabir MG, et al. Inactivation of the cardiomyocyte glucagon-like peptide-1 receptor (GLP-1R) unmasks cardiomyocyte-independent GLP-1R-mediated cardioprotection. *Mol Metab*. 2014;3:507-17.
- [20](#) Hossein M, Noyan-Ashraf MH, Momen MA, Ban K, Sadi AM, Zhou YQ, Riazi AM, et al. GLP-1R agonist liraglutide activates cytoprotective pathways and improves outcomes after experimental myocardial infarction in mice. *Diabetes*. 2009;58:975-83.
- [21](#) Gaspari T, Welungoda I, Widdop RE, Simpson RW, Dear AE. The GLP-1 receptor agonist liraglutide inhibits progression of vascular disease via effects on atherogenesis, plaque stability and endothelial function in an ApoE(-/-) mouse model. *Diabetes Vasc Dis Res*. 2013;10(4):353-60.
- [22](#) Cameron-Vendrig A, Reheman A, Siraj MA, Xu XR, Wang Y, Lei X, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor activation attenuates platelet aggregation and thrombosis. *Diabetes*. 2016;65:1714-23.
- [23](#) Getz GS, Reardon CA. Animal Models of Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32:1104-15.
- [24](#) Zadelaar S, Kleemann R, Verschuren L, de Vries-Van der Weij J, van der Hoorn J, Princen HM and Kooistra T. Mouse Models for Atherosclerosis and Pharmaceutical Modifiers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27:1706-21.
- [25](#) Drucker DJ. The Cardiovascular Biology of Glucagon-like Peptide-1. *Cell Metab*. 2016;24(1):15-30.
- [26](#) Yusta B, Baggio LL, Koehler J, Holland D, Cao X, Pinnell LJ, et al. GLP-1R agonists modulate enteric immune responses through the intestinal intraepithelial lymphocyte GLP-1R. *Diabetes*. 2015;64:2537-49.
- [27](#) Schunkert H, König IR, Kathiresan S, Reilly MP, Assimes TL, Holm H, et al. Large-scale association analysis identifies 13 new susceptibility loci for coronary artery disease. *Nat Genet*. 2011;43(4):333-8.
- [28](#) Deloukas P, Kanoni S, Willenborg C, Farrall M, Assimes TL, Thompson JR, et al. CARDIoGRAMplusC4D Consortium. Large-scale association analysis identifies new risk loci for coronary artery disease. *Nat Genet*. 2013;45(1):25-33.
- [29](#) Scott RA, Freitag DF, Li L, Chu AY, Surendran P, Young R et al. A genomic approach to therapeutic target validation identifies a glucose-lowering GLP1R variant protective for coronary heart disease. *Sci Transl Med*. 1 Jun 2016;8(341):341ra76.
- [30](#) Mack C, Laugero K, Liu Q, Jodka C, Young A, Parkes D. Therapeutic Applications of Incretin Mimetics for Metabolic Diseases: Preclinical Studies. *Drug Dev Res*. 2006;67:553-8.

- ³¹ Larsen PJ, Fledelius C, Knudsen LB, Tang-Christensen M. Systemic Administration of the Long-Acting GLP-1 Derivative NN2211 Induces Lasting and Reversible Weight Loss in Both Normal and Obese Rats. *Diabetes*. 2001;50:2530-9.
- ³² Moreno C, Mistry M, Roman RJ. Renal effects of glucagon-like peptide in rats. *Eur J Pharmacol*. 2002;434:163-7.
- ³³ Gutzwiller JP, Tschopp S, Bock A, Zehnder CE, Huber AR, Kreyenbuehl M, et al. Glucagon-like peptide 1 induces natriuresis in healthy subjects and in insulin-resistant obese men. *J Clin Endocr Metab*. 2004;89:3055-61.
- ³⁴ Skov J, Pedersen M, Holst JJ, Madsen B, Goetze JP, Rittig S, et al. Short-term effects of liraglutide on kidney function and vasoactive hormones in type 2 diabetes: a randomized clinical trial. *Diabetes Obes Metab*. 2016;18:581-9.
- ³⁵ Robinson LE, Holt TA, Rees K, Randeva HS and O'Hare1 JP. Effects of exenatide and liraglutide on heart rate, blood pressure and body weight: systematic review and meta-analysis. *BMJ. Open* 2013;3:1-16.
- ³⁶ Bristow JD, Malinow MR. Spontaneous Bundle Branch Blocks in Rhesus Monkeys. *Circ Res*. 1965;16:210-20.
- ³⁷ Francia P, Balla C, Paneni F, Volpe M. Left Bundle-Branch Block - Pathophysiology, Prognosis and Clinical Management. *Clin Cardiol*. 2007;30:110-5.
- ³⁸ Malm-Erjefä M, Björnsdóttir I, Vanggaard J, Helleberg H, Larsen U, Oosterhuis B, et al. Metabolism and excretion of the once-daily human glucagon-like peptide-1 analog liraglutide in healthy male subjects and its in vitro degradation by dipeptidyl peptidase IV and neutral endopeptidase. *Drug Metab Dispos*. 2010;38(11):1944-53.
- ³⁹ Roques BP, Noble F, Dauge V, Fournie-Zaluski MC, Beaumont A. Neutral endopeptidase 24.11: structure, inhibition, and experimental and clinical pharmacology. *Pharmacol Rev*. 1993;45:87-146.
- ⁴⁰ Turner AJ, Isaac RE, Coates D. The neprilysin (NEP) family of zinc metalloendopeptidases: genomics and function. *BioEssays*. 2001;23(3):261-9.
- ⁴¹ Deacon CF, Johnsen AH, Holst JJ. Degradation of glucagon-like peptide-1 by human plasma in vitro yields an N-terminally truncated peptide that is a major endogenous metabolite in vivo. *J Clin Endocr Metab*. 1995;80(3):952-7.
- ⁴² Federal Drug Administration, USA. Victoza[®] Prescribing Information, 2010.
- ⁴³ Federal Drug Administration, USA. Exenatide extended-release (Bydureon[®]), FDA pharmacology review 2011.
- ⁴⁴ European Medicines Agency. Summary of Product Characteristics for Lixisenatide (Luxymia[®]), 2016.
- ⁴⁵ Byrd RA, Sorden SD, Ryan T, Pienkowski T, LaRock R, Quander R, et al. Chronic Toxicity and Carcinogenicity Studies of the Long-Acting GLP-1 Receptor Agonist Dulaglutide in Rodents. *Endocr*. 2015;156:2417-28.

- [46](#) Knudsen LB, Madsen LW, Andersen S, Almholt K, de Boer AS, Drucker DJ, et al. Glucagon-Like Peptide-1 Receptor Agonists Activate Rodent Thyroid C-Cells Causing Calcitonin Release and C-Cell Proliferation. *Endocr.* 2010;151(4):1473-86.
- [47](#) Madsen LW, Knauf JA, Gotfredsen C, Pilling A, Sjögren I, Andersen S, et al. GLP-1 receptor agonists and the thyroid: C-cell effects in mice are mediated via the GLP-1 receptor and not associated with RET activation. *Endocr.* 2012;153(3):1538-47.
- [48](#) Matveyenko AV, Dry S, Cox HI, Moshtaghian A, Gurlo T, Galasso R, et al. Beneficial endocrine but adverse exocrine effects of sitagliptin in the human islet amyloid polypeptide transgenic rat model of type 2 diabetes. *Diabetes.* 2009;58:1604-15.
- [49](#) Nachnani JS, Bulchandani DG, Nookala A, Herndon B, Molteni A, Pandya P, et al. Biochemical and histological effects of exendin-4 (exenatide) on the rat pancreas. *Diabetologia.* 2010;53:153-9.
- [50](#) Gier B, Matveyenko AV, Kirakossian D, Dawson D, Dry SM, Butler PC. Chronic GLP-1 receptor activation by exendin-4 induces expansion of pancreatic duct glands in rats and accelerates formation of dysplastic lesions and chronic pancreatitis in the kras(G12D) mouse model. *Diabetes.* 2012;61:1250-62.
- [51](#) Butler AE, Campbell-Thompson M, Gurlo T, Dawson DW, Atkinson M, Butler PC. Marked expansion of exocrine and endocrine pancreas with incretin therapy in humans with increased exocrine pancreas dysplasia and the potential for glucagon-producing neuroendocrine tumors. *Diabetes.* 2013;62:2595-604.
- [52](#) Kahn SE. Incretin therapy and islet pathology – A time for caution. *Diabetes.* 2013;62:2178-80.
- [53](#) Drucker DJ. Incretin action in the pancreas: Potential promise, possible perils, and pathological pitfalls. *Diabetes.* 2013;62:3316-23.
- [54](#) Harja E, Lord J, Skyler JS. An Analysis of Characteristics of Subjects Examined for Incretin Effects on Pancreatic Pathology. *Diabetes Technol Ther.* 2013;15(8):609-18.
- [55](#) Panjwani N, Mulvihill EE, Longuet C, Yusta B, Campbell JE, Brown TJ, et al. GLP-1 receptor activation indirectly reduces hepatic lipid accumulation but does not attenuate development of atherosclerosis in diabetic male ApoE(-/-) mice. *Endocr.* 2013;154:127-39.
- [56](#) Pyke C, Knudsen LB. The glucagon-like peptide-1 receptor-or not? *Endocr.* 2013;154(1):4-8.
- [57](#) Gopinath C, Mowat V. *Atlas of Toxicological Pathology.* New York: Springer; 2014: 77-107. (specifically: p. 84-9,100).
- [58](#) McInnes EF. Wistar and Sprague-Dawley rats. In McInnes ed. *Background Lesions in Laboratory Animals. A Color Atlas.* Edinburgh: Elsevier Ltd; 2012.p.17-36.
- [59](#) Egan AG, Blind E, Dunder K, de Graeff PA, Hummer BT, Bourcier T et al. Pancreatic safety of incretin-based drugs--FDA and EMA assessment. *N Engl J Med.* 2014;370(9):794-7.
- [60](#) ICH S2(R1). Guidance on Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use. S2(R1). Current Step 4 version dated 9 November 2011.

- [61](#) European Medicines Agency. Summary of Product Characteristics for Exenatide immediate-release (Byetta[®]), 2016.
- [62](#) European Medicines Agency. Summary of Product Characteristics for Exenatide prolonged-release (Bydureon[®]), 2016.
- [63](#) European Medicines Agency. Summary of Product Characteristics for Liraglutide (Victoza[®]), 2016.
- [64](#) European Medicines Agency. Summary of Product Characteristics for Albiglutide (Eperzan[®]), 2016.
- [65](#) European Medicines Agency. Summary of Product Characteristics for Dulaglutide (Trulicity[®]), 2016.
- [66](#) Terry KK, Chatman LA, Foley GL, Kadyszewski E, Fleeman TL, Hurtt ME et al. Effects on Feed Restriction on Fertility in Female Rats. Birth Defects Res (Part B). 2005;74:431-41.
- [67](#) Cappon GD, Fleeman TL, Chapin RE, Hurtt ME. Effects of feed restriction during organogenesis on embryo-fetal development in rabbit. Birth Defects Research (Part B). 2005;74:424-30.
- [68](#) Matsuzawa T, Nakata M, Goto I, Tsushima M. Dietary Deprivation Induces Fetal Loss and Abortion in Rabbits. Toxicology. 1981;22:255-9.
- [69](#) Clark RL, Robertson RT, Peter CP, Bland JA, Nolan TE, Oppenheimer L, et al. Association between adverse maternal and embryo-fetal effects in norfloxacin-treated and food-deprived rabbits. Fund Appl Toxicol. Aug 1986;7(2):272-86.