ウゴービ皮下注
非アルコール性脂肪肝炎（NASH）

2.6.1 緒言

ノボ ノルディスク ファーマ株式会社

目次

ページ

目次 2
表目次 2
略語一覧 3
2.6.1 緒言 4
2.6.1.1 非臨床試験計画及び申請資料 4
2.6.1.2 申請適応症、用法・用量 5

表目次

ページ

表 2.6.1-1 MASH を適応症とした承認申請を裏付ける非臨床資料の概要（NN9931） 4

略語一覧

MASH	:	Metabolic dysfunction-associated steatohepatitis（代謝機能障害関連脂肪肝炎）
NASH	:	Non-alcoholic steatohepatitis（非アルコール性脂肪肝炎）

脂肪性肝疾患の病名に関して、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）及び非アルコール性脂肪肝炎（NASH）からそれぞれ代謝機能障害関連脂肪性肝疾患（MASLD）及び代謝機能障害関連脂肪肝炎（MASH）への用語の移行が開始されている。移行期間中、ノボ ノルディスク社はこれらの用語を互換性のあるものとして使用する。本文書においては、NASH におけるセマグルチドのこれまでの関連文書と合わせ、NAFLD 及び NASH を使用した。

2.6.1　緒言

2.6.1.1 非臨床試験計画及び申請資料

セマグルチドは、オゼンピック（皮下注射製剤）及びリベルサス（経口製剤）〔いずれも 2 型糖尿病治療薬〕ならびにウゴービ（皮下注射製剤）〔肥満症治療薬〕の商品名で米国、欧州、日本、その他複数の国や地域で販売承認されている。2 型糖尿病及び肥満症を適応症とした承認申請のために実施した非臨床試験は、MASH を適応症とした承認申請の裏付けともなると考えられる。そのため、MASH を適応症とした承認申請のための新たな非臨床安全性及び薬物動態試験は実施していない。ただし、NASH/MASH に対するセマグルチドの作用機序に関する理解をさらに裏付けるため、マウス NASH モデルにおけるセマグルチドの効果を検討する、げっ歯類を用いた薬理試験を新たに 2 試験実施して本申請資料に記載した。

MASH を適応症とした承認申請を裏付ける非臨床資料には、2 型糖尿病（プロジェクト番号 NN9535、オゼンピック）及び肥満症（プロジェクト番号 NN9536、ウゴービ）の適応症取得を目的とした承認申請のために既に提出し規制当局の審査を受けた資料のほか、MASH の適応症取得を目的として作成した 2 つの新たな試験報告書、及び 4 つの新たな概要文書が含まれている（プロジェクト番号 NN9931）（表 2.6.1-1）。

表 2.6.1-1　　MASH を適応症とした承認申請を裏付ける非臨床資料の概要（NN9931）

Indication	**Semaglutide in MASH (NN9931)**			
Origin of documents	Type 2 diabetes (Ozempic)	Weight management (Wegovy)	New documents for MASH	
Highest clinical dose (subcutaneous)	**1 mg/week**	**2.4 mg/week**	**2.4 mg/week**	
Regulatory documents				
2.4 Nonclinical overview	(X)	(X)	X	Revised - effects in NASH
2.6.1 Introduction	(X)	(X)	X	Revised
2.6.2 Pharmacology written summary	X	X	X	Two new studies
2.6.3 Pharmacology tabulated summary	X	X	X	Two new studies
2.6.4 Pharmacokinetic written summary	X	-		-
2.6.5 Pharmacokinetic tabulated summary	X	-		-
2.6.6 Toxicology written summary	X	-		-
2.6.7 Toxicology tabulated summary	X	-		-
Individual study reports (Module 4)	X	X	X	Two new pharmacology reports

X: Document included in submission
(X): Document no longer relevant but included in submission for completeness. Has been replaced by new document with updated contents supporting the MASH indication.
"-": No summary document compiled (no new studies).

2.6.1.2 申請適応症、用法・用量

本申請においては、以下の効能又は効果、並びに用法及び用量を設定した。

＜効能又は効果＞

肝硬変を伴わない代謝機能障害関連脂肪肝炎
ただし、中等度又は高度の線維化を有する場合に限る。

＜用法及び用量＞

通常、成人には、セマグルチド（遺伝子組換え）として 0.25mg から投与を開始し、週 1 回皮下注射する。その後は 4 週間の間隔で、週 1 回 0.5mg、1.0mg、1.7mg 及び 2.4mg の順に増量し、以降は 2.4mg を週 1 回皮下注射する。なお、患者の状態に応じて適宜減量する。

ウゴービ皮下注
非アルコール性脂肪肝炎（NASH）

2.6.2 薬理試験の概要文

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 2
略語一覧 3
2.6.2 薬理試験の概要文 4
2.6.2.1 まとめ 4
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 4
2.6.2.2.1 *In vitro* 薬理試験 4
2.6.2.2.2 *In vivo* 薬理試験 5
2.6.2.3 副次的薬理試験 9
2.6.2.4 安全性薬理試験 10
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用 10
2.6.2.6 考察及び結論 10
参考文献 12

図目次

ページ

図 2.6.2-1 GAN DIO-NASH モデルにおける肝脂質レベルに対するセマグルチドの効果 6
図 2.6.2-2 GAN DIO-NASH モデルにおける肝線維化に対するセマグルチドの効果 7
図 2.6.2-3 CDAA-HFD モデルにおける肝線維化に対するセマグルチドの効果 9

略語一覧

ALT	:	Alanine transaminase（アラニントランスアミナーゼ）
ANOVA	:	Analysis of variance（分散分析）
AST	:	Aspartate aminotransferase（アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ）
CD11b	:	Cluster of differentiation molecule 11B（分化クラスター11B）
CDAA-HFD	:	Choline deficient L-amino acid defined high fat diet（コリン欠乏 L-アミノ酸制限高脂肪食）
Col1	:	Collagen 1a1（コラーゲン 1a1）
CR	:	Chow reversal（食餌復帰）
Gal-3	:	Galectin 3（ガレクチン 3）
GAN DIO-NASH	:	Gubra Amylin NASH diet-induced obesity non-alcoholic steatohepatitis（Gubra Amylin NASH 食誘導肥満非アルコール性脂肪肝炎）
GLP-1	:	Glucagon-like peptide-1（グルカゴン様ペプチド-1）
H&E	:	Haematoxylin/eosin（ヘマトキシリン・エオジン）
IHC	:	Immunohistochemistry（免疫組織化学染色）
LDLr	:	Low density lipoprotein receptor（低比重リポタンパク受容体）
MASH	:	Metabolic dysfunction-associated steatohepatitis（代謝機能障害関連脂肪肝炎）
MASLD	:	Metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease（代謝機能障害関連脂肪性肝疾患）
MCP-1	:	Monocyte chemoattractant protein-1（単球走化性タンパク-1）
NAFLD	:	Non-alcoholic fatty liver disease（非アルコール性脂肪性肝疾患）
NAS	:	NAFLD activity score
NASH	:	Non-alcoholic steatohepatitis（非アルコール性脂肪肝炎）
PSR	:	Picro Sirius Red（ピクロシリウスレッド）
RNA-seq	:	RNA sequencing（RNA シークエンシング）
αSMA	:	Alpha smooth muscle actin（アルファ平滑筋アクチン）
TNFα	:	Tumour necrosis factor α（腫瘍壊死因子 α）

脂肪性肝疾患の病名に関して、非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）及び非アルコール性脂肪肝炎（NASH）からそれぞれ代謝機能障害関連脂肪性肝疾患（MASLD）及び代謝機能障害関連脂肪肝炎（MASH）への用語の移行が開始されている。移行期間中、ノボ ノルディスク社はこれらの用語を互換性のあるものとして使用する。本概要においては、NASH におけるセマグルチドのこれまでの関連文書と合わせ、NAFLD 及び NASH を使用した。

2.6.2　薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

グルカゴン様ペプチド-1（GLP-1）受容体アゴニストであるリラグルチド及びセマグルチドの投与により、肝酵素レベルが改善し、肝脂肪が低減することが第 2 相臨床試験で示され[1,2]、また非アルコール性脂肪肝炎（NASH）における組織像が改善した。セマグルチド（オゼンピック皮下注）の 2 型糖尿病の適応症承認において、低比重リポタンパク受容体（LDLr）のノックアウトマウスを用いた試験で、粥状動脈硬化に対する効果を評価し（試験番号：[redacted]150803）、その後結果を公表した[3]。当該試験では NASH 関連のエンドポイントも評価しており、肝臓の脂肪含量及び肝線維化及び炎症に関する遺伝子のレベルがセマグルチドにより有意に低下した。LDLr ノックアウトマウスは主に非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）のモデルであることから、このモデルで得られたデータは臨床試験において NASH 患者で得られたリラグルチド及びセマグルチドの知見を支持するものである。この試験の結果はオゼンピック皮下注 2mg 申請時の Module 2.6.2.3.4 に要約されている。

NASH に対するセマグルチドの効果をさらに評価するために、詳細が明らかになっている 2 種類のマウス NASH モデルを用いて薬理試験を実施した。Gubra Amylin NASH 食誘導肥満非アルコール性脂肪肝炎（GAN DIO-NASH）モデルは代謝機能障害により NASH が進行するモデルであり、コリン欠乏 L-アミノ酸制限高脂肪食（CDAA-HFD）モデルはコリン欠乏に伴う超低比重リポタンパクの輸送の阻害により NASH が進行するモデルである。CDAA-HFD モデルは肝線維化に対する薬物の効果を評価するために適切と考えられている。しかし、CDAA-HFD を継続している間はコリン欠乏のため脂質が効率よく捕捉されるので、肝脂質の蓄積が低下しないという欠点がある。

今回実施した薬理試験のデータは、総じてセマグルチドが複数の NASH 関連のエンドポイントに有効であることを支持するものである。セマグルチドは両方のモデルで、循環血中の肝障害マーカー〔アラニントランスアミナーゼ（ALT）及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ（AST）〕ならびに炎症マーカー〔腫瘍壊死因子 α（TNFα）及び単球走化性タンパク-1（MCP-1、CDAA-HFD モデルでは測定せず）〕を低下させた。セマグルチドは GAN DIO-NASH モデルにおいて、トリグリセリド及びコレステロールの両方を低下させ、肝臓中の脂質の蓄積を減少させた。免疫組織化学染色（IHC）及びフローサイトメトリー法により評価した肝臓の炎症、ならびに線維化の肝バイオマーカーは、両モデルにおいてセマグルチドの投与後に抑制が認められた。

以上のことから、NASH マウスモデルを用いた薬理試験において、セマグルチドが、NASH の主要な特徴である脂肪化、炎症及び線維化などの臨床的に意義のあるエンドポイントを改善することが示された。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1　*In vitro* 薬理試験

NASH の適応症取得を目的としたセマグルチドの *in vitro* 薬理試験は実施していない。

2.6.2.2.2 *In vivo* 薬理試験

NASH の適応症取得を目的として、NASH モデルとして詳細に研究されているマウスの GAN DIO-NASH 及び CDAA-HFD モデルを用いて、以下の 2 つの薬理試験を実施した。いずれのモデルもヒトの NASH を反映している。GAN DIO-NASH モデルは、現時点で NASH の研究のための最善のモデルの一つと考えられており、CDAA-HFD モデルは、ヒトにおける主要な病態を反映しつつ、肝線維化に対する薬物の効果を評価するために適切と考えられていることから、GAN DIO-NASH モデルを補完している [4, 5]。

GAN DIO-NASH（高脂肪、高果糖、高コレステロール）食を与えた雄性 C57BL/6 マウスにおける NASH 関連パラメータに対するセマグルチドの効果（Module 2.6.3.2、試験番号：321911）

［目的］

この試験は GAN DIO-NASH 食により確立した組織線維化に対するセマグルチドの効果ならびに NAFLD activity score（NAS）及び代謝パラメータに対する持続した効果を検討するため、組織線維化の確立後も同食を最長 24 週間まで継続して実施した。

［方法］

C57BL/6JRj マウス（5 週齢）に、通常食又は高濃度の果糖（20%）、ヤシ油（18%）及びコレステロール（2%）を含む高脂肪食を薬物投与開始の 29 週前から給餌した。

セマグルチド（123 µg/kg、溶媒：0.007%ポリソルベート 20、50 mM リン酸、70 mM 塩化ナトリウム、pH 7.4）を、生検により確認した GAN DIO-NASH マウス（15～16 匹／群）に 1 日 1 回、8、16 又は 24 週間皮下投与した。

特に明記しない限り、セマグルチドの効果は、溶媒を投与した GAN DIO-NASH 群と比較することにより評価した。通常食を投与した群を設定して健康対照群とした。さらに、投与開始時に GAN DIO-NASH 群の食餌を通常食に戻し、セマグルチドの代わりに溶媒を投与した群〔食餌復帰（CR）群〕を設定した。この処置は、病態を引き起こす要因（食餌）をすべて取り除いているため、最も強力な代謝介入となりうる。

投与終了後の肝臓試料を用いて病理組織学的、生化学的及び RNA シークエンシング（RNA-seq）解析を行い、セマグルチドの効果を検討した。

具体的には、最終薬物投与約 24 時間後にイソフルラン麻酔下、マウスを安楽死させ心採血を行い、肝臓を全摘し重量を測定した。肝外側左葉の組織片（100～200 mg）を 4%パラホルムアルデヒドで固定し組織学的検討に用いた。肝内側葉を複数の組織片に分割し、液体窒素中で急速冷凍した組織片は生化学的解析に用い、RNA later に加えた組織片からは RNA を単離し遺伝子発現を解析した。市販のキット（Roche Diagnostics）及び Cobas c 501 自動分析装置を用いて血液中の ALT 及び AST を測定した。心採血後調製した血漿中の TNFα 及び MCP-1 を、カスタマイズした U-plex multiplex assay（Meso Scale Diagnostics）を用いて測定した。肝臓をホモジナイズし、抽出液中のトリグリセリド及び総コレステロールを市販のキット（Roche Diagnostics）及び Cobas c 501 自動分析装置を用いて測定した。脂肪化の程度はヘマトキシリン・エオジン（H&E）染色した組織切片を Visiomorph ソフトウェア（Visiopharm、デンマーク）を用いて画像解析して定量化した。ガレクチン 3（Gal-3）及びコラーゲン 1a1（Col1）の IHC はそれぞれ抗 Gal-3 抗体及び抗 Col1 抗体を用いた常法により実施した。ピクロシリ

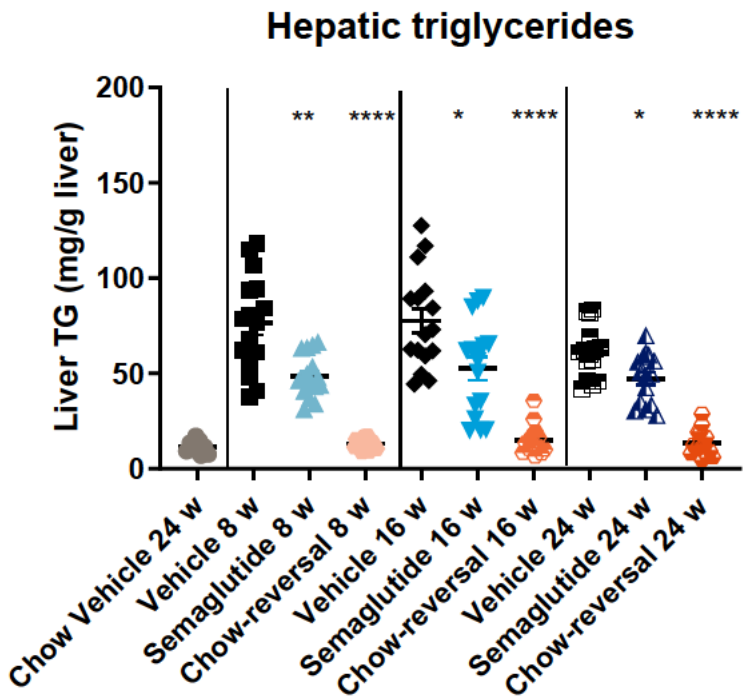
ウスレッド（PSR）染色陽性領域は肝切片をワイゲルト鉄ヘマトキシリンとインキュベーション後、PSR で染色することにより特定した。アルファ平滑筋アクチン（αSMA）染色陽性領域は標準的な方法を用いた IHC により特定した。投与終了後に NAS 及び線維化のステージ評価用に採取した肝外側左葉組織を用いて、脂肪化グレード、小葉内炎症、肝細胞風船様変性を評価し、さらに NAS を評価した。H&E 染色した投与前後の生検試料の線維化のステージを、GAN DIO-NASH モデルで最適化した PathAI 社のソフトウェアを用いて求めた。

Dunnett の多重比較検定を伴う 2 元配置分散分析（ANOVA）を用いて組織像の定量的画像解析を行った。他のすべてのパラメータは、Dunnett の多重比較検定及び Welch 補正を伴う（又は補正なし）1 元配置 ANOVA を行った。投与前後の生検のデータは Student の t 検定（面積%）又は Bonferroni 補正を伴う Fisher の正確検定（組織学的スコアとステージ）を用いて比較した。統計的有意水準は $P<0.05$ とした。

［結果］

投与前と比較して、セマグルチドの投与により予想されたとおり体重が 13～21%減少し、絶対及び相対（体重で補正した）肝重量も減少した。肝酵素（ALT 及び AST）のレベルも溶媒投与群と比較して大幅に低下した（59～84%）。循環血中の炎症マーカー（TNFα 及び MCP-1）も低下した（TNFα：22～37%、MCP-1：31～57%）。これは、セマグルチドの投与により全身性炎症が改善したことを示唆している。さらに、肝脂肪化（トリグリセリド及びコレステロールを抽出して定量的に評価、画像解析により形態計測学的に評価及びスコア化により半定量的に評価）もセマグルチドにより抑制された（トリグリセリド：27～37%（図 2.6.2-1）、コレステロール：27～34%）。

図 2.6.2-1　　GAN DIO-NASH モデルにおける肝脂質レベルに対するセマグルチドの効果

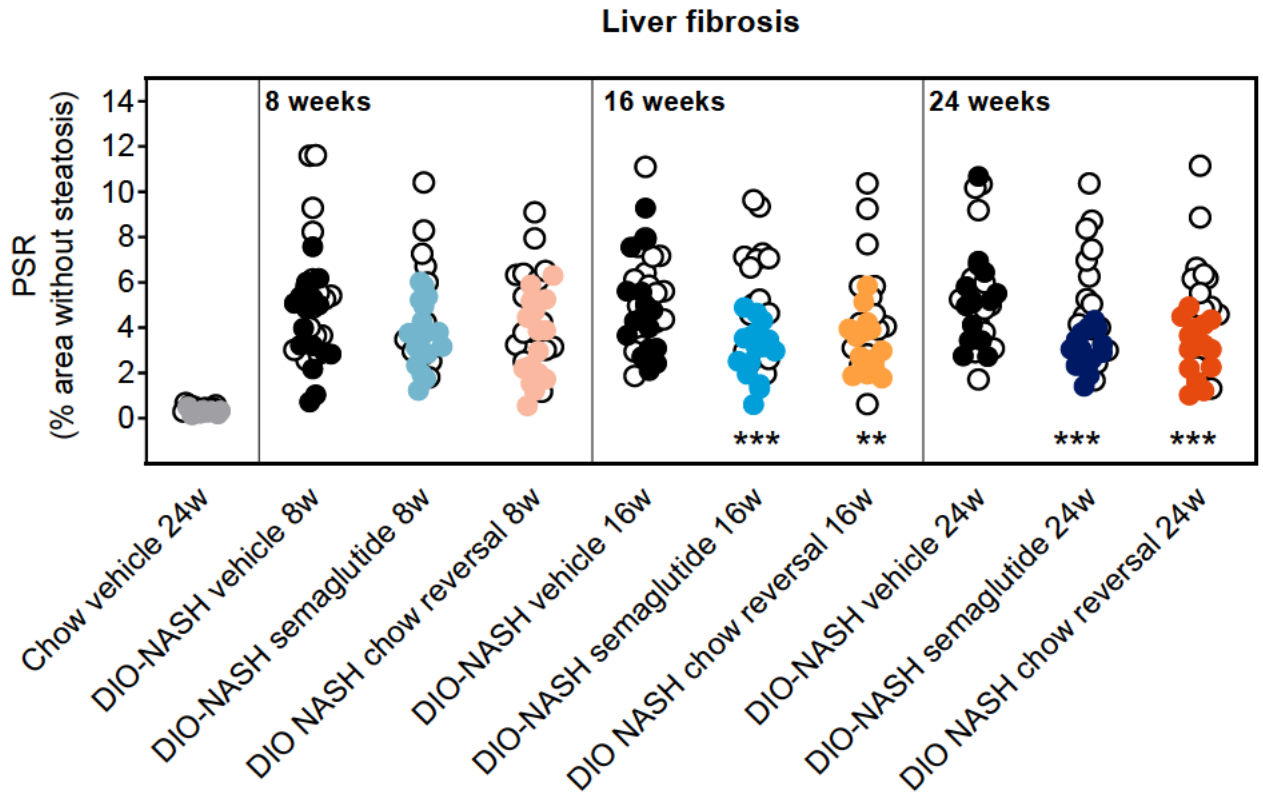


One-way analysis of variance with Welch correction all groups tested against NASH vehicle. Chow vehicle was not part of the analysis. *=p<0.05, **=p<0.01, ****=p<0.0001. Data ± SEM. n = 9-16

Abbreviations: GAN DIO-NASH = Gubra Amylin diet-induced obesity non-alcoholic steatohepatitis, NASH = non-alcoholic steatohepatitis, SEM = standard error of the mean, TG = triglycerides

肝臓の炎症（肝切片の Gal-3 染色による IHC で評価）はセマグルチドにより抑制された（41～55%）。スコア化による炎症の半定量的な評価では、セマグルチドの 16 及び 24 週間投与で有効性が認められた。NAS も同様にセマグルチドの投与により低下した。線維化のマーカー〔PSR 陽性領域面積（14～42%）（図 2.6.2-2）、Col1 陽性領域面積（21～46%）〕及び肝星細胞活性化（αSMA 陽性領域面積）（52～62%）がセマグルチドにより減少した。セマグルチドの線維化に対する効果は投与期間の延長により増強した。セマグルチドによる NASH に対する作用のメカニズムを明らかにするために、事前に選択した NASH 関連遺伝子のセットを用いて肝トランスクリプトームを解析し、また、調整された Reactome データベースを用いてパスウェイ情報を偏りなく検索した。両解析の結果、セマグルチドは炎症誘発性の活性（炎症シグナリング、単球の動員及びインフラマソーム）ならびにコラーゲンの発現及びターンオーバー（細胞外マトリックスリモデリング）に関連する遺伝子の発現を抑制した。

図 2.6.2-2　　GAN DIO-NASH モデルにおける肝線維化に対するセマグルチドの効果



Open circles: Pre-treatment (pre-biopsy) values. One-way analysis of variance with Dunnett multiple comparisons test **=p<0.01, ***=p<0.001 tested against NASH vehicle. Chow vehicle was not part of the analysis. n = 9-16

Abbreviations: GAN DIO-NASH = Gubra Amylin diet-induced obesity non-alcoholic steatohepatitis, NASH = non-alcoholic steatohepatitis, PSR = picro sirius red

［結論］

以上のことから、セマグルチド（123 µg/kg/day、8～24 週間）を GAN DIO-NASH マウスに投与すると体重減少ならびに肝脂肪化、肝臓の炎症及び肝線維化の抑制が認められた。線維化の抑制の程度は、病因を完全に取り除いた CR 群と同様であった。

CDAA-HFD（コリン欠乏 L-アミノ酸制限高脂肪食）を与えた雄性 C57BL/6 マウスモデルにおける NASH 関連パラメータに対するセマグルチドの効果（Module 2.6.3.2、試験番号：321945）

［目的］

この試験では CDAA-HFD を摂餌させた雄性マウスにおける炎症及び線維化のエンドポイントに対するセマグルチドの効果を検討した。

［方法］

線維化を伴った NASH を誘導するために、C57BL/6J マウス（7～8 週齢）に通常食又は CDAA-HFD を薬物投与開始 6 週間前から給餌した。食餌による病態の誘導後、セマグルチド（溶媒：0.007%ポリソルベート 20、50 mM リン酸、70 mM 塩化ナトリウム、pH 7.4）を 20 µg/kg の用量で 1 日 1 回、6 又は 12 週間皮下投与した（12～15 匹／群）。さらに、一部の動物は 6 又は 12 週間通常食に CR した（15 匹／群）。GAN DIO-NASH モデルでの試験と同様に、CR は病因（食餌）を完全に取り除くことになるため最も強力な介入となりうる。投与開始前に、CDAA-HFD を 6 週間投与した後、1 群の動物を安楽死させ、投与前の病態を把握するためのベースライン群として使用した。通常食を給餌した群も設定し、健康対照群とした。

特に明記しない限り、セマグルチドの効果は、溶媒を投与した CDAA-HFD 群と比較することにより評価した。投与終了後の肝臓試料を用いて病理組織学的、生化学的及び RNA-seq 解析を行い、セマグルチドの効果を検討した。

具体的には、最終薬物投与約 24 時間後イソフルラン麻酔下で後眼窩静脈叢から採血し、頚椎脱臼により動物を安楽死させ、肝臓を全摘し重量を測定した。肝外側左葉の組織片（100～200 mg）を 4%パラホルムアルデヒドで固定し組織学的検討に用いた。肝内側葉を複数の組織片に分割し、RNA を単離して遺伝子発現を解析した。ALT 及び AST は、市販のキット及び Cobas-6000 自動分析装置を用いて測定した。血漿中の TNFα を、カスタマイズした U-plex multiplex assay（Meso Scale Diagnostics）を用いて測定した。肝臓をホモジナイズし抽出液中の脂質（トリグリセリド及び総コレステロール）を、Cobas-6000 自動分析装置を用いて測定した。分化クラスター11B（CD11b）及び Gal-3 の IHC はそれぞれ抗 CD11b 抗体及び抗 Gal-3 抗体を用いて実施した。投与終了後に NAS と線維化のステージ評価用に採取した肝外側左葉組織を用いて、脂肪化グレード、小葉内炎症、肝細胞風船様変性を評価し、さらに NAS を評価した。投与前後の生検試料の線維化のステージを、CDAA-HFD モデルで最適化した PathAI 社のソフトウェアを用いて求めた。

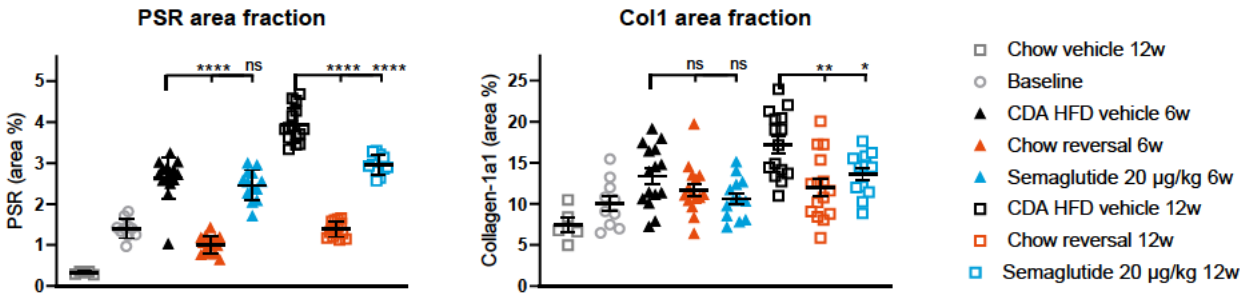
体重推移のデータは、Dunnett の多重比較検定を伴う 2 元配置 ANOVA を行った。組織学的スコアは、Wilcoxon 検定を実施した。他のすべてのパラメータは、Welch 補正を伴う（又は補正なし）及び Dunnett の多重比較検定を伴う 1 元配置 ANOVA を行った。統計的有意水準は $P<0.05$ とした。

［結果］

セマグルチド（20 µg/kg）の 6 又は 12 週間投与により、体重は投与前と比較して約 16～18%減少し、絶対及び相対（体重で補正した）肝重量も減少した。肝酵素（ALT 及び AST）は 6 週間投与後に低下したが（ALT：45%、AST：19%）、12 週間投与後では低下は認められなかった。なおこの時点ではこのモデルで通常観察されるように、溶媒群でも両肝酵素は顕著に低下していた。循環血中の炎症マーカーである TNFα もセマグルチドにより低下していた（32～33%）。肝脂質はセマグルチドによる

影響はみられなかった。GAN DIO-NASH モデル（試験番号：321911）と対照的に、CDAA-HFD モデルでは食餌中のコリンが欠乏しておりメチオニン含量が低いため、肝臓の脂質のクリアランスが低下していることから、この結果は予想されるものであった。肝臓の炎症（肝切片の Gal-3 及び CD11b の IHC 染色により評価）はセマグルチドにより抑制された（Gal-3：22%、CD11b：32～34%）。炎症の程度の半定量的なスコア化では、IHC 染色による定量的評価よりもデータの粒度が低く、いずれの時点でもセマグルチドの炎症スコアへの効果は示されなかった。予想されたように、CDAA-HFD モデルにおける肝脂肪化に対する効果が認められなかったため、NAS もセマグルチドの投与による影響はみられなかった。線維化（Col1 の IHC 染色又は PSR 染色で評価）は投与 6 週間後では影響を受けていなかったが、12 週間後では肝線維化の抑制が認められた〔Col1 の IHC 染色（21%）及び PSR 染色（25%）〕（図 2.6.2-3）。活性化された肝星細胞の数は投与 6 週間後では減少していたが、12 週間後では減少が認められなかった。予想どおり、CR はすべてのパラメータを改善し、肝脂肪化を低減させた。

図 2.6.2-3　　CDAA-HFD モデルにおける肝線維化に対するセマグルチドの効果



One-way analysis of variance with Welch correction. ns= not statistically significant, *=p<0.05, **=p<0.01, ****=p<0.0001 tested against age-matched CDAA-HFD vehicle. Data ± SEM. n= 10-15

Abbreviations: CDAA-HFD = choline deficient L-amino acid defined high fat diet, Col1 = collagen 1a1, PSR = picro sirius red, SEM = standard error of the mean

DIO-NASH での試験（試験番号：321911）と同様に、事前に選択した NASH 関連遺伝子のセットを用いて肝トランスクリプトーム解析を実施した。また、調整された Reactome データベースを用いてパスウェイ情報を偏りなく検索した。これらの解析の結果、セマグルチドは炎症誘発性の活性（炎症性シグナリング、単球の動員及びインフラマソーム）及びコラーゲンのターンオーバー（細胞外マトリックスリモデリング）に関連する遺伝子の発現を抑制することが示された。

［結論］

結論として、セマグルチドはマウス CDAA-HFD モデルにおいて肝臓の炎症及び活動性線維化のバイオマーカーを抑制した。セマグルチドを 12 週間投与することで肝臓の炎症を持続的に抑制し、溶媒投与群と比較して肝線維化を有意に抑制した。

2.6.2.3 副次的薬理試験

該当せず（新たな試験は実施していない）。

2.6.2.4 安全性薬理試験

該当せず（新たな試験は実施していない）。

2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用

該当せず（新たな試験は実施していない）。

2.6.2.6 考察及び結論

NASH におけるセマグルチドの効果を評価するために、詳細が明らかになっている 2 種類のマウス NASH モデルを用いて薬理試験を実施した。GAN DIO-NASH モデルでは代謝機能障害により NASH が進行し、CDAA-HFD モデルではコリン欠乏に伴う超低比重リポタンパクの輸送の阻害により NASH が進行する。CDAA-HFD モデルは肝線維化に対する薬物の効果を評価するために適切と考えられている。しかし、CDAA-HFD を継続している間はコリン欠乏のため脂質が効率よく捕捉されるので、肝脂質の蓄積が低下しないという欠点がある。

上記 2 試験のデータをまとめると、複数の NASH 関連エンドポイントに対してセマグルチドが有効であることが示された。セマグルチドは循環血中の肝障害マーカー（ALT 及び AST）及び炎症マーカー〔TNFα 及び MCP-1（MCP-1 は CDAA-HFD モデルで測定せず）〕を両モデルで低下させた。肝酵素レベルが高値の NAFLD 患者は末期肝疾患を発症するリスクが高い[6]。また、非侵襲的な肝脂肪化及び肝線維化の検査で ALT 及び AST は測定されており、そのレベルの低下が疾患の全般的な改善と相関している可能性が示唆されている[7]。肝臓では、セマグルチドは脂質の蓄積を抑制し、GAN DIO-NASH モデルにおいてトリグリセリド及びコレステロールを低下させた。両モデルにおいて肝臓の炎症はセマグルチド投与により抑制された。肝脂肪化及び炎症はいずれも NASH 患者における主要な病理組織学的所見であり、これらを抑制することは NASH の治療に重要であり、上記試験の結果はセマグルチドの治療効果を示すものと考えられる[8]。

臨床試験において、NASH の重症度は NAS によって評価される。NAS は肝脂肪化、肝細胞風船様変性及び炎症のスコアを重みづけせずに加えた複合スコアである[8]。GAN DIO-NASH モデルにおいて、NAS はセマグルチドの投与により低下し、投与期間に応じてより低下した。NAS の高値は at-risk NASH 患者を定義する要因の一つであるため、この知見はセマグルチドが患者でも有意に病態を改善することを示唆している[9]。CDAA-HFD モデルでは、セマグルチドにより NAS は変化しなかった。これはセマグルチドが（予想されたように）脂質の蓄積及び脂肪化スコアを抑制しなかったことから、想定されるものであった。そしてこれは GAN DIO-NASH モデルにおいて NAS を低下させた主要因の一つである。

特筆すべきことは、セマグルチドの投与により、組織学的検査における Col1 及び PSR の陽性領域面積を指標とした肝線維化が抑制されたことである。さらに、セマグルチドは、NASH における線維化の原因となるコラーゲンの産生と蓄積の主要な細胞種である肝星細胞の活性化を抑制し、この作用によって線維化を抑制したことが示唆された。NASH 患者において線維化は、肝関連死及びすべての原因による死亡の最も正確な予測因子である[10, 11]。さらに、肝硬変の発症を予防することは臨床試験での重要なエンドポイントであり、動物モデルにおいては線維化が重要なエンドポイントとしてこれを裏付ける[12]。これらの知見は両モデルにおけるトランスクリプトーム解析でも支持され、炎症シグナ

リング、単球の動員及びコラーゲンのターンオーバーなどに関連する疾患関連遺伝子の発現はセマグルチドの投与により低下した。なお、CDAA-HFD モデルでは、コラーゲンのターンオーバーに関与する遺伝子について 12 週間投与後に統計的に有意な変化は認められなかった。ヒトの NASH の病態における脂質代謝をより正確に反映している GAN DIO-NASH モデルでは、セマグルチド投与により脂質の輸送や利用に関連した遺伝子の発現が上昇した。

最後に、循環血中の肝酵素、肝線維化及び肝臓の炎症に対するセマグルチドの影響は肝臓の脂質のレベルを低下させない状態でも認められた（CDAA-HFD モデル）。これはセマグルチドの薬効は肝脂質を取り除くことだけではなく、複数のメカニズムを介して NASH を改善することを示唆している。

総括

結論として、セマグルチドはマウスを用いた薬理試験において、NASH の主要な特徴である肝脂肪化、炎症及び線維化などに関連した臨床的に意義のある複数のエンドポイントを改善した。

参考文献

1. Armstrong MJ, Gaunt P, Aithal GP, Barton D, Hull D, Parker R, et al. Liraglutide safety and efficacy in patients with non-alcoholic steatohepatitis (LEAN): a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled phase 2 study. Lancet. 2016;387(10019):679-90.
2. Newsome PN, Buchholtz K, Cusi K, Linder M, Okanoue T, Ratziu V, et al. A Placebo-Controlled Trial of Subcutaneous Semaglutide in Nonalcoholic Steatohepatitis. N Engl J Med. 2021;384(12):1113-24.
3. Rakipovski G, Rolin B, Nøhr J, Klewe I, Frederiksen KS, Augustin R, et al. The GLP-1 Analogs Liraglutide and Semaglutide Reduce Atherosclerosis in $ApoE^{-/-}$ and $LDLr^{-/-}$ Mice by a Mechanism that Includes Inflammatory Pathways. JACC Basic Transl Sci. 2018;3(6):844-57.
4. Gallage S, Avila JEB, Ramadori P, Focaccia E, Rahbari M, Ali A, et al. A researcher's guide to preclinical mouse NASH models. Nat Metab. 2022;4(12):1632-49.
5. Farrell G, Schattenberg JM, Leclercq I, Yeh MM, Goldin R, Teoh N, et al. Mouse Models of Nonalcoholic Steatohepatitis: Toward Optimization of Their Relevance to Human Nonalcoholic Steatohepatitis. Hepatology. 2019;69(5):2241-57.
6. Ekstedt M, Franzén LE, Mathiesen UL, Thorelius L, Holmqvist M, Bodemar G, et al. Long-term follow-up of patients with NAFLD and elevated liver enzymes. Hepatology. 2006;44(4):865-73.
7. Li G, Zhang X, Lin H, Liang LY, Wong GL, Wong VW. Non-invasive tests of non-alcoholic fatty liver disease. Chin Med J (Engl). 2022;135(5):532-46.
8. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M, Behling C, Contos MJ, Cummings OW, et al. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology. 2005;41(6):1313-21.
9. Sanyal AJ, Shankar SS, Yates KP, Bolognese J, Daly E, Dehn CA, et al. Diagnostic performance of circulating biomarkers for non-alcoholic steatohepatitis. Nat Med. 2023;29(10):2656-64.
10. Sanyal AJ, Van Natta ML, Clark J, Neuschwander-Tetri BA, Diehl A, Dasarathy S, et al. Prospective Study of Outcomes in Adults with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. N Engl J Med. 2021;385(17):1559-69.
11. Taylor RS, Taylor RJ, Bayliss S, Hagström H, Nasr P, Schattenberg JM, et al. Association Between Fibrosis Stage and Outcomes of Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. Gastroenterology. 2020;158(6):1611-25.e12.
12. Loomba R, Ratziu V, Harrison SA. NASH Clinical Trial Design International Working Group. Expert Panel Review to Compare FDA and EMA Guidance on Drug Development and Endpoints in Nonalcoholic Steatohepatitis. Gastroenterology. 2022;162(3):680-8.

ウゴービ皮下注
非アルコール性脂肪肝炎（NASH）

2.6.3 薬理試験の概要表

ノボ ノルディスク ファーマ株式会社

目次

ページ

目次 2
2.6.3 薬理試験の概要表 3
2.6.3.1 薬理試験一覧表 3
2.6.3.2 効力を裏付ける試験 4
2.6.3.3 副次的薬理試験 5
2.6.3.4 安全性薬理試験 5
2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用 5

2.6.3 薬理試験の概要表

2.6.3.1 薬理試験一覧表

Test article: Semaglutide

Type of study	Test system	Method of administration	Testing facility	Study ID	Location in CTD
Primary pharmacodynamics (1)	Mouse / Metabolic liver disease Mouse / Mechanistic liver disease	Subcutaneous Subcutaneous	[redacted] Novo Nordisk, DK	321911 321945	4.2.1.1-1 4.2.1.1-2
Secondary pharmacodynamics	*(2)*	*(2)*	*(2)*	*(2)*	*(2)*
Safety pharmacology	*(2)*	*(2)*	*(2)*	*(2)*	*(2)*
Pharmacodynamic drug interactions	*(2)*	*(2)*	*(2)*	*(2)*	*(2)*

Notes

(1): Additional primary pharmacodynamics studies have been performed with semaglutide to support the NASH indication.

For additional studies, reference is made to Nonclinical Summary 2.6.3.1, Ozempic® and Nonclinical Summary 2.6.3.1, Wegovy®.

(2): No dedicated studies have been performed with semaglutide to support the NASH indication.

For Secondary pharmacodynamic studies, Safety pharmacology studies and Pharmacodynamic drug interaction studies performed with semaglutide to support the T2D and obesity disease indications, reference is made to Nonclinical Summary 2.6.3.1, Ozempic® and Nonclinical Summary 2.6.3.1, Wegovy®.

2.6.3.2 効力を裏付ける試験

Test article: Semaglutide

Organ systems evaluated	Species/strain	Method of administration	Doses (µg/kg)	Gender and no. per group	Noteworthy findings	GLP (Y/N)	Study ID
Liver	Mice / C57BL/6JRj	Subcutaneous	0, 1.2, 7.4 or 123 QD for 8 weeks (Sub-study [redacted]180901) Or 0 or 123 QD for 8, 12 or 24 weeks (Sub-study [redacted]210201)	Male n=12-16/group	Semaglutide dose-dependently reduced liver enzymes (ALT, AST), circulating markers of inflammation, liver triglycerides, liver inflammation, NAFLD activity score, hepatic stellate cell activation and liver fibrosis. Hepatic transcriptomics suggested that semaglutide dose-dependently reduced expression of disease-relevant genes related to e.g., inflammation signaling, monocyte recruitment and collagen turnover while enhancing genes related to lipid transport and utilization.	N	321911
Liver	Mice / C57BL/6JRj	Subcutaneous	0, 1.2 or 7.4 QD for 6 weeks (Sub-study [redacted]180801) Or 0 or 20 QD for 6 or 12 weeks (Sub-study [redacted]210102)	Male, n=12-15/group n=5 for the healthy chow control group n= 10 for the baseline group	Semaglutide dose-dependently reduced liver enzymes (ALT, AST), circulating markers of inflammation, liver inflammation and hepatic stellate cell activation. With prolonged treatment (12 weeks in [redacted]210102) semaglutide reduced liver fibrosis. Hepatic transcriptomics suggested that semaglutide reduced expression of disease-relevant genes related to e.g., monocyte recruitment and collagen turnover, these changes were most pronounced after 6 weeks treatment.	N	321945

2.6.3.3 副次的薬理試験

Not applicable (No additional studies have been performed).

2.6.3.4 安全性薬理試験

Not applicable (No additional studies have been performed).

2.6.3.5 薬力学的薬物相互作用

Not applicable (No additional studies have been performed).