マンジャロ皮下注 2.5mg アテオス
マンジャロ皮下注 5mg アテオス
マンジャロ皮下注 7.5mg アテオス
マンジャロ皮下注 10mg アテオス
マンジャロ皮下注 12.5mg アテオス
マンジャロ皮下注 15mg アテオス

2.4　非臨床試験の概括評価

日本イーライリリー株式会社

目次

2.4　非臨床試験の概括評価 1
2.4.1　非臨床試験計画概略 1
2.4.1.1　毒性試験の計画 2
2.4.1.1.1　動物種の選択 2
2.4.1.1.2　投与経路及び投与間隔 2
2.4.1.1.3　用量設定 3
2.4.1.1.4　長期反復投与毒性試験の期間 3
2.4.1.2　非臨床評価における留意点 3
2.4.1.3　化学的及び製剤学的考察 5
2.4.2　薬理試験 5
2.4.3　薬物動態試験 5
2.4.4　毒性試験 5
2.4.5　総括及び結論 5
2.4.5.1　薬理 5
2.4.5.2　薬物動態 6
2.4.5.3　毒性 6
2.4.5.3.1　心血管系への影響 7
2.4.5.3.2　妊娠ウサギの死亡 7
2.4.5.3.3　生殖発生毒性 8
2.4.5.3.4　がん原性 8
2.4.5.3.5　結論 9

2.4　非臨床試験の概括評価

Tirzepatide（別称：LY3298176）は、グルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド（glucose-dependent insulinotropic polypeptide：GIP）及びグルカゴン様ペプチド-1（glucagon-like peptide-1：GLP-1）の両受容体にアゴニスト活性を示す合成ペプチドである（Coskun et al. 2018）。

本項では、tirzepatide の非臨床薬理、薬物動態及び毒性データの総括を示す。Tirzepatide を用いて実施した非臨床試験成績は、非臨床試験の概要文（CTD 第 2.6.2、2.6.4 及び 2.6.6 項）及び概要表（CTD 第 2.6.3、2.6.5 及び 2.6.7 項）に詳述し、試験報告書を CTD 第 4 項に示す。

2.4.1　非臨床試験計画概略

Tirzepatide の薬理試験では、in vitro 試験において GLP-1 受容体及び GIP 受容体に対する tirzepatide 結合親和性及び受容体の機能的活性化の効力を評価し、天然型リガンドと比較した。また GIP 受容体又は GLP-1 受容体におけるβ-アレスチンシグナル伝達に対する tirzepatide の関与及び tirzepatide による受容体の内在化刺激作用を評価した。In vivo 試験では、マウス及びラットを用いて、グルコース負荷試験（静脈内、腹腔内）及び高インスリン正常血糖クランプ試験を実施し、tirzepatide による血糖コントロール、インスリン分泌及びインスリン感受性に対する効果を評価したほか、胃内容排出遅延作用及び肥満マウス体重への影響も評価した。

Tirzepatide の毒性試験は、長期使用の適応症を対象とした長時間作用型ペプチド（C20 二塩基脂肪酸がリンカーを介してペプチドに結合）であることを考慮して計画した。これらの試験は米国食品医薬品局（United States Food and Drug Administration：FDA）、欧州医薬品庁（European Medicines Agency：EMA）、厚生労働省（Ministry of Health, Labour, and Welfare：MHLW）及び医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation：ICH）の適用可能なガイダンス文書に一致するものであった。Tirzepatide の毒性試験として、ラット及びカニクイザル（以下、サル）を用いた 1 及び 6 ヵ月間反復投与毒性試験を実施した。サルを用いた 1 ヵ月間反復投与毒性試験において、心血管系、呼吸系及び中枢神経系への影響を評価した。心血管系の影響はサルを用いた単回投与安全性薬理試験でも評価し、ヒト ether-a-go-go 関連遺伝子（human ether-a-go-go-related gene：hERG）試験で tirzepatide による QT 延長作用の有無を評価した。受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験、胚・胎児発生に関する試験並びに出生前及び出生後の発生並びに母体の機能に関する試験を、ラットを用いて実施し、ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験も実施した。小児を対象とした開発をサポートするため、成長及び発達への影響の有無を評価する目的で、幼若ラットを用いた毒性試験も実施した。がん原性の評価は、RasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間試験及びラットを用いた 2 年間試験で実施した。すべての毒性試験で tirzepatide の曝露量を評価し、血清中の薬物活性を測定した。遺伝毒性の有無についてラットを用いた in vivo 小核試験で評価するとともに、ICH M7 (R1) の推奨に一致した実生産合成経路における遺伝毒性不純物に対する評価を実施した。毒性試験で動物に tirzepatide を反復投与したときの中枢神経系への影響を評価したところ、評価を行った複数の時点及び回復期間においていかなる影響も認められなかった。Tirzepatide を用いて実施した臨床試験においても薬物乱用や依存性に関連した有害作用の報告はなく（CTD 第 2.7.4.5 項）、tirzepatide と同様の薬理作用を有する薬物（GLP-1 受容体アゴニストなど）でも離脱症状やそれに関連した所見は報告されていない。非臨床及び臨床データで乱用の可能性を示す徴候が認められていないことから、乱用及び依存性の

評価に特化した非臨床試験は実施しなかった。ラット及びサルの反復投与試験でリンパ系に明らかな影響は認められなかったことから、ICH S8 に基づき、独立した免疫毒性試験は実施しなかった。

Tirzepatide の非臨床薬物動態試験では、一連の吸収、分布、代謝及び排泄試験を実施した。血漿中 tirzepatide 濃度は、バリデートされた液体クロマトグラフィー - 質量分析（liquid chromatography with mass spectrometry：LC/MS）法で測定した。Tirzepatide の非臨床試験において、薬力学的（pharmacodynamic：PD）活性の変化、予期せぬ曝露量の変化、及び免疫介在性反応の所見は確認されていないことから、抗薬物抗体（anti-drug antibody：ADA）の評価は実施しなかったが［ICH S6 (R1)］、毒性試験で tirzepatide を投与した動物に活性薬物が存在することを確認するため、細胞を用いた定性的薬物活性分析を実施した。

主要な毒性試験、トキシコキネティクス試験及び安全性薬理試験は「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準（Good Laboratory Practice：GLP）」に従って実施した。毒性試験において GLP 非適用下で実施した一部の手順（被験物質特性の検討等）については試験報告書内に記載したが、いずれも試験の結果の解釈及び試験の信頼性に影響を及ぼすものではなかった。

2.4.1.1　毒性試験の計画

2.4.1.1.1　動物種の選択

結合親和性及び in vivo で薬理作用を示すことに基づき、tirzepatide の毒性評価に用いる動物種としてサル及びラットを選択した。Tirzepatide はラット、マウス、サル及びヒトの GIP 受容体及び GLP-1 受容体に結合し（CTD 第 2.6.2.2.1.1 項）、ラットにおいてインスリン分泌を促進し（CTD 第 2.6.2.2.2.2 項）、インスリン感受性を改善させた（CTD 第 2.6.2.2.2.3 項）。さらに、ヒトで見られた薬理作用（体重増加量減少及び／又は体重減少）がラット及びサルでも認められた（それぞれ CTD 第 2.6.6.3.2 及び 2.6.6.3.3 項）。サルでは市販されている GLP-1 受容体アゴニストの非臨床情報も多く得られている。体重に対する薬理活性がウサギでも認められ、胚・胎児発生の評価に用いる 2 番目の動物種として適切であることが示されたため、ウサギを胚・胎児発生に関する試験に用いる 2 番目の動物種として選択した。結合親和性（CTD 第 2.6.2.2.1.1 項）及び体重に関する薬理活性に基づき、がん原性の評価に用いる 2 番目の動物種としてマウスを選択した。Tirzepatide はマウスにおいて血糖コントロール（CTD 第 2.6.2.2.2.1 項）及びインスリン感受性を改善し（CTD 第 2.6.2.2.2.3 項）、体重減少作用を示す（CTD 第 2.6.2.2.2.5 項）ことが確認されている。

2.4.1.1.2　投与経路及び投与間隔

すべての毒性試験において、臨床投与経路である皮下投与を用いた。非臨床試験における投与頻度は、全身曝露量が最大となり、また、潜在的毒性の検出能を高めるように計画し、週 1 回（臨床試験の投与頻度）以上の投与頻度とした（サル反復投与毒性試験では週 1 回、ラット反復投与毒性試験では週 2 回）。

2.4.1.1.3　用量設定

Tirzepatide の薬理作用に起因する顕著な体重及び摂餌量低下に基づく最大耐量及び動物福祉上の懸念を考慮し、高用量を設定した。

2.4.1.1.4　長期反復投与毒性試験の期間

Tirzepatide は特異的かつ強力な活性を持つペプチドであることから、ICH S6 (R1) の原則に加えて、以下に詳述する薬理学的特性や短期反復投与毒性試験で得られた知見を考慮し、サルを用いた反復投与毒性試験の最長投与期間を設定した。

Tirzepatide は、GLP-1 受容体及び GIP 受容体に対して特異的なアゴニスト活性を示す選択的長時間作用型合成ペプチドである。Tirzepatide のオフターゲット作用は示唆されていない。1 ヵ月間反復投与毒性試験で見られた所見は、インクレチンの薬理作用又はそれによる二次的変化に一致しており、体重及び／又は摂餌量並びに心血管系に対する薬理作用に限定されていた。1 ヵ月間反復投与毒性試験において tirzepatide の最高用量を投与されたラット及びサルのいずれにおいても、直接的な標的器官毒性は示唆されなかった。以上のことから、サルを用いた反復投与毒性試験の最長投与期間には 6 ヵ月を選択した。6 ヵ月は ICH S6 (R1) の原則に一致しており、より長期の毒性試験を行っても更なる毒性は特定されないとする報告（Olson et al. 2000; Heidel and Page 2010; Tamaki et al. 2013）にも一致している。

2.4.1.2　非臨床評価における留意点

Tirzepatide の非臨床試験成績を評価する上での留意点を以下に列挙する。

- **GIP 受容体活性：**Tirzepatide は、GIP 及び GLP-1 受容体の両方にアゴニスト活性を示す合成ペプチドである。非臨床試験では、GIP 受容体に対する tirzepatide の作用を、一連の in vitro アッセイ（CTD 第 2.6.2.2.1 項）及び GLP-1 受容体ノックアウトマウスを用いた in vivo 試験（CTD 第 2.6.2.2.2 項）で評価した。細胞を用いた機能的アッセイの結果から、tirzepatide は GIP 受容体の完全アゴニストであり、GLP-1 受容体の部分アゴニストであることが示された（CTD 第 2.6.2.2.1.4 項）。また tirzepatide は GIP 受容体又は GLP-1 受容体のいずれかが欠損したトランスジェニックマウスの血糖コントロールをいずれも改善したことから、両方の受容体を介して作用することが示された（CTD 第 2.6.2.2.2.1 項）。毒性試験における tirzepatide 関連の変化はいずれも長時間作用型 GLP-1 受容体アゴニストで報告された所見に一致していたこと（CTD 第 2.6.6 項）から、GIP 受容体アゴニスト活性による新たな毒性やがん原性の懸念は示唆されなかった。
- **リンカー構造の代謝及び安全性：**Tirzepatide は有機リンカー構造を含むため、ラット及びサルを用いた代謝試験を実施した（CTD 第 2.6.4.5.2 項）。ラット及びサルの排泄物中に tirzepatide 未変化体は認められなかったことから、tirzepatide は代謝のみにより消失することが示された。ラット及びサルにおいて、tirzepatide の消失に寄与する主要な代謝経路は、一般的なタンパク質の異化経路によるペプチド骨格の分解、C20 二塩基脂肪酸部分の β 酸化及びアミド加水分解であった。ラット、サル及びヒトにおいて、総放射性薬物関連曝露量の 10%超を占める循環血中代謝物は認められなかった。すべてのヒト血漿中代謝物は、

ラット及びサルの血漿中に認められた。毒性試験で見られた所見は、いずれもインクレチンの薬理作用又はそれによる二次的変化に一致していたことから、リンカーに起因する非臨床安全性上の懸念は示唆されなかった。

- **心血管系への影響：**長時間作用型 GLP-1 受容体アゴニストについて動物で報告されている心血管系への作用に一致して、tirzepatide はサルにおいて血圧上昇、心拍数増加及び心収縮性低下［最大左室圧上昇速度（maximal rate of rise of left ventricular pressure：dP/dt_{max}）の低下］を誘発した（CTD 第 2.6.2.4.1 項）。心血管系安全性薬理試験並びに 1 又は 6 ヵ月間反復投与毒性試験で単回又は反復投与を受けたサルでは、いずれの用量においても、心拍数で補正した QT（QTc）の変化は認められなかった。Tirzepatide は検討した最高濃度（300 μM）において hERG 電流を阻害しなかったことから、不整脈誘発リスクは低いことが示された。Tirzepatide の臨床試験において、GLP-1 受容体アゴニストと類似した、血圧低下及び心拍数増加が見られた（CTD 第 2.7.4.4 項）。
- **遺伝毒性評価：**Tirzepatide はラットを用いた in vivo 小核試験において陰性であった（CTD 第 2.6.6.4 項）。また、ICH M7 (R1) の推奨に準じて、実生産合成経路における遺伝毒性不純物の評価を実施した（CTD 第 3.2.S.3.2.4 項）。すべての天然型アミノ酸及び非天然型アミノ酸の 2 アミノイソブチル酸（Aib）を含めて、変異原性リスクを有する出発物質は特定されなかった。アミノ酸出発物質中に不純物として存在する可能性がある非天然型アミノ酸について in silico 評価を実施した結果、構造アラートは認められず、リンカーが結合した二塩基脂肪酸は変異原性評価において陰性であった。
- **妊娠ウサギの死亡：**ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験のすべての用量において、母動物毒性として死亡、流産、体重減少、体重増加量低下及び／又は摂餌量低下並びに胃腸障害が認められた（CTD 第 2.6.6.6.4 項）。生存への影響は、体重／摂餌量に対する tirzepatide の薬理作用に関連する二次的変化並びに消化管運動性の変化に対するウサギ特有の感受性に起因する胃腸病変及びそれに続く流産や死亡と考えられた。ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験では、妊娠ウサギの曝露量より著しく高い曝露量においても tirzepatide に関連した死亡は認められなかった。非臨床試験で得られたデータ及びウサギ特有な生理を考慮すると、妊娠ウサギの死亡は種特異的と考えられた。
- **生殖発生毒性：**ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験において、重度の母動物体重低下に伴って、胎児の外表、内臓及び骨格奇形並びに内臓及び骨格変異の発現頻度が増加した（CTD 第 2.6.6.6.3 項）。0.5 mg/kg の用量で奇形及び変異の全体数が増加したが、大血管変異を除く個々の奇形及び変異には、いずれも対照と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。変化が認められた器官系及び発生経路に明確なパターンは見られなかった。
- **がん原性：**Tirzepatide のがん原性をラット 2 年間がん原性試験及び RasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験で評価したところ、tirzepatide 投与群で認められた腫瘍性所見はラットの甲状腺 C 細胞過形成及び腫瘍（C 細胞腺腫及び／又は癌）の発現頻度増加のみであり、これは長時間作用型 GLP-1 受容体アゴニストで報告されている甲状腺の所見に一致していた（CTD 第 2.6.6.5.2 項）。

2.4.1.3　化学的及び製剤学的考察

Tirzepatide は 39 個のアミノ酸からなる合成ペプチドであり、GIP 及び GLP-1 受容体のいずれにおいてもアゴニスト活性を示す。本薬の構造は GIP 配列に基づくものであり、20 番目のリジン残基にリンカーを介して C20 二塩基脂肪酸を結合させることで血漿中アルブミンへの結合性を高め、血漿中半減期を延長するように設計されている。

実生産合成経路における遺伝毒性不純物の評価を実施した（CTD 第 3.2.S.3.2.4 項）。また、非臨床毒性試験、2 つの非臨床安全性確認試験及び臨床試験における患者安全性データの専門医による詳細な検討を含む包括的なリスク評価により、tirzepatide 製剤の不純物の申請規格は妥当であると判断した（CTD 第 2.6.6.8.3 及び 3.2.P.5.6 項並びに表 2.6.7.4）。

2.4.2　薬理試験

薬理試験の概要文のまとめ（CTD 第 2.6.2.1 項）参照。

2.4.3　薬物動態試験

薬物動態試験の概要文のまとめ（CTD 第 2.6.4.1 項）参照。

2.4.4　毒性試験

毒性試験の概要文のまとめ（CTD 第 2.6.6.1 項）参照。

2.4.5　総括及び結論

2.4.5.1　薬理

一連の効力を裏付ける試験において、tirzepatide の in vitro 及び in vivo 作用を評価した。In vitro 試験の結果、tirzepatide は GLP-1 受容体及び GIP-1 受容体の強力なデュアルアゴニストであることが示された。Tirzepatide の両受容体に対する親和性及び作動活性を天然型リガンドと比較した比活性に基づくと、tirzepatide は GLP-1 受容体よりも GIP 受容体に高い親和性及び効力を示す不均衡な活性を有することが示された。In vivo 試験の結果、tirzepatide は GIP 及び GLP-1 両受容体を介して血糖コントロールを改善することが示された。Tirzepatide は食餌誘発肥満（DIO）ラット及びマウスにおいてインスリン感受性を改善させることが高インスリン正常血糖クランプ試験により示された。DIO マウスを用いた高インスリン正常血糖クランプ試験では、体重減少が同程度の pair-fed 群及びセマグルチド群と比較して優れたインスリン感受性改善作用を示したことから、tirzepatide によるインスリン感受性改善作用には、体重非依存的な機序が寄与していることが示唆された。さらに、GLP-1 受容体ノックアウトマウスを用いた高インスリン正常血糖クランプ試験においても tirzepatide によるインスリン感受性の改善が報告されている（Samms et al. 2021）。Tirzepatide は DIO マウスにおいて GLP-1 受容体アゴニストよりも高い体重減少効果を示し、これには持続的な摂餌量減少及びエネルギー消費量の増加が寄与していると考えられた。

以上、非臨床薬理試験で示された作用は、2 型糖尿病患者の治療選択肢として tirzepatide の使用を支持するものであり、同様の効果が臨床試験においても立証されている（CTD 第 2.5 項）。

2.4.5.2　薬物動態

非臨床薬物動態試験において、毒性試験における tirzepatide のトキシコキネティクスを検討した。化学構造から予測されるとおり、ラット、サル、マウス及びウサギで曝露の持続が確認され、検討したいずれの動物種においても、曝露量は用量比例的に増加した。細胞を用いた定性的な薬物活性分析により、すべての毒性試験の生存期間を通して、tirzepatide 投与動物において活性薬物が存在することが示された。トキシコキネティクスデータによると、毒性試験に使用したすべての動物種で、十分な tirzepatide の曝露量が認められた。ラットを用いた[^{14}C]tirzepatide の分布試験により、tirzepatide 関連の放射能は組織内に広範に分布することが示された。Tirzepatide は血漿アルブミンに対して高度に結合し、結合率はサルで 99%超、ラットで 97%超であった。ラット、サル及びヒトを用いた[^{14}C]tirzepatide の排泄／マスバランス及び代謝試験において、血漿中薬物由来総放射能の 10%超を占める代謝物は認められなかった。ヒト血漿中の tirzepatide の代謝物（CTD 第 2.7.2.3.4 項）はすべて、ラット及びサルの血漿中に認められた。排泄試験から、ラット及びサルに tirzepatide を皮下投与したとき、腎臓及び肝胆道系経路の両方を介して排泄されることが示された。ラット及びサルの排泄物中に未変化体は認められなかったことから、tirzepatide は代謝により消失することが示唆された。ヒトに[^{14}C]tirzepatide を皮下投与したときにも同様の排泄プロファイルが認められた（I8F-MC-GPHX 試験；CTD 第 2.7.2.2.2.3 項）。Tirzepatide の消失における主要な代謝経路は、一般的なタンパク質の異化経路によるペプチド骨格の分解、C20 脂肪酸部分のβ-酸化及びアミド加水分解であった。これらの結果によると、ラット及びサルにおける tirzepatide の体内動態は動物種間で類似しており、ヒトでの tirzepatide 体内動態を代表するものと考えられる。

2.4.5.3　毒性

反復投与毒性試験では、臨床試験で検討する用量範囲を制限するような特筆すべき標的器官毒性は認められなかった。毒性試験における高用量は、体重及び摂餌量に対する tirzepatide の薬理作用に起因する動物福祉上の懸念により制限された。

ラット及びサルの反復投与毒性試験及び生殖発生毒性試験における重要な tirzepatide に関連した所見は、概して、インクレチンの薬理作用に一致するか又はそれによる二次的変化であり、その内訳は、体重増加量低下及び／又は体重低下並びに摂餌量低下であった。サルでは心拍数増加も認められた。ラット及びサルのいずれにおいても、最長 6 ヵ月の期間で tirzepatide に関連した直接的な標的器官毒性は認められなかった。

市販されている GLP-1 受容体アゴニストには急性膵炎リスクがあり、添付文書中の警告又は使用上の注意に反映されているが、多くの場合、動物試験では膵外分泌腺の毒性変化は認められていない（Egan et al. 2014）。同様に、tirzepatide の毒性試験においても膵外分泌腺の毒性変化は認められなかった。ラットで認められた膵臓の変化は、腺房細胞のチモーゲン枯渇の発現頻度増加、びまん性萎縮、並びに膵島線維化及び／又は膵島内もしくは膵島近傍の色素の発現頻度減少であり、全体として体重及び／又は摂餌量に対する tirzepatide の薬理作用による二次的変化で、毒性変化ではないと考えられた。摂餌量低下による二次的変化である膵臓のチモーゲン枯渇は、マウス及びサルの試験においても認められた。いずれの動物種においても膵炎のエビデンスは認めら

れなかった。以上のように、tirzepatide の非臨床安全性データは、概して、長時間作用型 GLP-1 受容体アゴニストと類似しており、膵炎及び膵臓癌を示唆する所見は得られなかった。

以下に、毒性試験又は安全性薬理試験で見られた主要所見に関する考察を示す。

2.4.5.3.1　心血管系への影響

Tirzepatide をサルに単回皮下投与したところ、報告されている動物の心血管系に対する GLP-1 受容体アゴニストの薬理作用に一致して（Goodwill et al. 2014）、血圧上昇、心拍数増加及び心収縮性低下が認められた。dP/dt_{max} は収縮性の間接的な指標であり、心室の負荷条件に依存することから、心拍数及び血圧に認められた変化を考慮すると、dP/dt_{max} の変化は予想される変化と考えられる。いずれの用量においても、サルへの単回又は反復投与後に QTc の変化は認められなかった。予定臨床用量（15 mg を週 1 回）での tirzepatide の非結合型 $C_{max, ss}$ は約 0.003 μM と予想される。Tirzepatide は検討した最高濃度（300 μM）において hERG 電流を阻害しなかったことから、不整脈誘発リスクは低いとの予想が裏付けられた。

心血管系リスクを有する患者を対象とする第 III 相試験（GPGM 試験）を含む臨床開発プログラムにおいて、心血管系への影響を包括的に評価したところ、GLP-1 受容体アゴニストと同様に、血圧低下及び脈拍数増加が認められた（CTD 第 2.7.4.4 項）。

2.4.5.3.2　妊娠ウサギの死亡

ウサギを用いた胚・胎児発生に関する試験（1 群 22 例）において、tirzepatide の薬理作用による二次的変化と考えられる生存への影響がすべての用量で認められた。死亡又は流産が、0.01、0.03 及び 0.1 mg/kg 群で、それぞれ 3、2 及び 4 例の雌に発現した。これらは、胃及び十二指腸に認められた肉眼所見（穿孔及び／又は白色領域）及び病理組織学的所見（壊死、炎症及び穿孔）に起因すると考えられた。病変の因果関係は多因子性で、消化管運動性の変化、ストレス及び腸内細菌叢の変化に関連している可能性が考えられた。上記の雌の大半では、死亡又は流産前の数日間に体重減少及び摂餌量低下が認められ、胃腸の健康を助けるために担当獣医師の指示で提供された追加のケール又はセロリを摂取しなかった。一般状態の変化である食欲不振、糞排泄減少及び／又は軟便は、他の動物種における tirzepatide の既知の作用である消化管運動性の変化を示していた。後腸発酵動物かつ小型草食動物であるウサギは、消化管運動性変化に伴う腸微生物叢の変化及び生理的ストレスに起因するコルチゾール濃度上昇といった有害作用への感受性が高い。ウサギにおけるストレス及び腸運動性に関する研究により、心因性ストレスに起因する胃十二指腸運動性の乱れによる胃前庭部の運動性低下及びそれに伴った十二指腸の運動性増加により、胃十二指腸逆流が誘発され、それによって本試験で認められたような胃潰瘍の形成が亢進する可能性がある（Ovsyannikov et al. 2015）。また、運動性の変化に起因する正常な腸内細菌叢の変化により、クロストリジウムのような毒素産生細菌が過剰増殖する環境が生まれる（Garcia et al. 2014）。クロストリジウム属に類似した細菌が十二指腸の内腔及び壊死部位に認められたが、培養では系統は特定されなかった。ウサギの胃には食料貯蔵庫の性質があり、げっ歯類と比較して生理的条件下での伸長性が高いため、異常な運動性及び／又は細菌の過剰増殖に起因すると考えられる潰瘍形成や胃及び十二指腸の部位での穿孔は予想外な変化ではない。以上のことから、生存への影響は、体重／摂餌量に対する tirzepatide の薬理作用に関連する二次的変化並びに消化管

運動性の変化に対するウサギ特有の感受性に起因する胃腸病変及びそれに続く流産や死亡と考えられた。ラット及びサルを用いた反復投与毒性試験では、妊娠ウサギの曝露量より著しく高い曝露量において、tirzepatide に関連した死亡は認められなかった。さらに、tirzepatide はラット 2 年間がん原性試験において生存に対する正の影響を示した。非臨床試験で得られたデータ及びウサギに特有な生理を考慮すると、妊娠ウサギの死亡は種特異的と考えられた。

2.4.5.3.3　生殖発生毒性

発生への影響である奇形及び変異数の増加が、ラットを用いた胚・胎児発生に関する試験で見られた。0.5 mg/kg の用量で何らかの奇形（外表、内臓又は骨）又は変異（内臓及び骨格）を有する胎児数が増加したが、その発現頻度に対照群との統計学的有意差は認められなかった。大血管変異を除く個々の奇形及び変異にも統計学的に有意な増加は認められなかった。変化が認められた器官系に明確なパターンは見られなかった。しかしながら、0.5 mg/kg 群で発生異常が認められた胎児の数は明らかに増加していたことから、この群における奇形及び変異は tirzepatide に関連した変化と考えられた。

0.5 mg/kg では著しい用量制限的な母動物毒性も発現した。Tirzepatide に関連した著しい体重減少が、0.1 及び 0.5 mg/kg で各投与日の翌日にかけて認められた（妊娠 6～7 日、10～11 日、13～14 日及び 17～18 日）。0.5 mg/kg では初回投与後の更なる翌日（妊娠 7～8 日）にも体重減少が引き続き認められた。非投与期間（投与日の間の期間）における 0.1 及び 0.5 mg/kg 群の体重増加量は、溶媒対照群とおおむね同程度又はそれを上回った。体重減少の結果として、妊娠 7～20 日における 0.1 及び 0.5 mg/kg 群の体重は、溶媒対照群より低く（それぞれ最大で 11.6%及び 21.4%）、おおむね有意差が認められた。

胚・胎児発生に関する試験の目的は、軽微な母動物毒性が生じる用量での器官形成期における胚発生を評価することであるが、0.5 mg/kg 群では、対照群と比較して、20%に近い持続的な母動物体重低下が器官形成期を通して認められたことから、高用量の 0.5 mg/kg は胚・胎児発生に関する試験で許容可能な毒性の限度を超えていたと考えられる。0.1 mg/kg 群では、目的とする軽微な毒性により一致した、体重低下を特徴とする tirzepatide に関連した薬理作用が示されたにもかかわらず、発生への影響は認められなかった。Tirzepatide による胎児への影響は、重度の母動物毒性が生じる用量（0.5 mg/kg）でのみ認められた。

2.4.5.3.4　がん原性

ICH S1A の原則に従ったがん原性評価として、ラット 2 年間がん原性試験及び RasH2 トランスジェニックマウスを用いた 26 週間がん原性試験を実施した。以下に記述するように、特筆すべき所見は、ラット 2 年間がん原性試験で認められた、予想された甲状腺 C 細胞腫瘍のみであった。

ラット 2 年間がん原性試験（CTD 第 2.6.6.5.2 項）は標準的な試験デザインで実施した。1 群雌雄各 60 例のラットに tirzepatide を 1.5 mg/kg までの用量で投与した。本試験で設定した用量については、FDA の発がん性評価委員会（eCAC）の審査を受けて同意を得た。Tirzepatide の全身曝露量を確認するため、トキシコキネティクス解析用に別の群をおいた。対照群の生存率が低かったため、eCAC の同意を得て、雌は 84 週目、雄は 88 週目にそれぞれ早期屠殺した（計画屠殺は 104 週目）が、tirzepatide のがん原性を十分に評価できる 80 週目まで、十分な数の動物が生存し

た。体重低下を伴った摂餌量低下が試験を通して認められたが、GIP/GLP-1 受容体アゴニストの予想される薬理作用による影響と考えられた。本試験で見られた主要な所見は、すべての tirzepatide 投与群において雌雄に認められた甲状腺 C 細胞過形成及び腫瘍（C 細胞腺腫及び／又は癌）の発現頻度増加であった。また、非腫瘍性所見として、副腎球状帯のびまん性肥大／過形成が 0.15 mg/kg 以上の群の雄及び 0.50 mg/kg 以上の群の雌で認められたが、これらは摂餌量及び摂水量（Chatelain et al. 2003）への tirzepatide の薬理作用に対する代償性変化と考えられた。臨床第 II 及び III 相試験において、高アルドステロン症は報告されておらず、臨床試験で見られた tirzepatide 関連の有害事象は、高アルドステロン症を示唆するものではなかった。

甲状腺 C 細胞で認められた過形成性及び腫瘍性の反応は、長時間作用型 GLP-1 受容体アゴニストについて甲状腺で報告されている所見に一致していた。ラットにおける甲状腺 C 細胞過形成及び腫瘍の発現パターンは、概して、リラグルチド（Bjerre Knudsen et al. 2010）、デュラグルチド（Byrd et al. 2015）、セマグルチド（FDA 2017）及び tirzepatide で類似していたことから、tirzepatide によるげっ歯類の甲状腺 C 細胞腫瘍発現には GLP-1 受容体アゴニスト活性が寄与したことが示唆された。また、特筆すべきこととして、膵臓腫瘍を含むその他の腫瘍は tirzepatide により誘発されなかったことから、GIP 受容体アゴニスト活性による新たな腫瘍誘発作用は示唆されなかった。Tirzepatide の臨床第 II 相及び第 III 相試験において、甲状腺の安全性を注意深く評価したところ、甲状腺髄様癌及び C 細胞過形成の症例は認められなかった（CTD 第 2.7.4.4 項）。

Tirzepatide の 10 mg/kg までの用量での週 2 回皮下投与を 26 週間受けた RasH2 マウスにおいて、腫瘍性所見は認められなかった。

2.4.5.3.5　結論

予定最高臨床用量の 15 mg/週を用いて、毒性試験からの曝露量比を算出した（表 2.4-1 及び表 2.4-2）。無毒性量（NOAEL）であるラット及びサルの 6 ヵ月間反復投与毒性試験の最高用量を用いると、動物で検討した最高曝露量は、予定最高臨床用量 15 mg/週でのヒト曝露量とほぼ同程度又はわずかにより高い。毒性試験で用いた最高用量では、獣医師の介入が必要となるような重度の体重・摂餌量減少が生じたことから、更なる高用量を検討することはできなかったが、ラット及びサルで認められた変化は、いずれもインクレチンの薬理作用又はそれによる二次的変化に一致しており、長時間作用型 GLP-1 受容体アゴニストで報告されているものであること、また、tirzepatide に関連する標的器官毒性は認められなかったことから、臨床における安全性上の懸念をもたらすものではないと考える。

以上、非臨床試験から得られた所見全般から、tirzepatide を 2 型糖尿病の治療選択肢として使用することが支持されると考える。

表 2.4-1　主要毒性試験における tirzepatide 皮下投与時の曝露量比（AUC に基づく）

物種 用量	$AUC_{0-\tau}$、定常状態 (ng•hr/mL)	曝露量比
ヒト		
15 mg/週	250000[a]	-
反復投与毒性試験		
001178-W（野生型）RasH2 マウス 4 週間（8376621 試験）[b,c]		
1 mg/kg/週 2 回	171500	1.20
3 mg/kg/週 2 回	493000	3.45
30 mg/kg/週 2 回[d]	5165000	36.16
ラット 1 ヵ月間（8325822 試験）[b,e]		
0.15 mg/kg/週 2 回	14050	0.10
0.5 mg/kg/週 2 回	45450	0.32
1.5 mg/kg/週 2 回[d]	133500	0.93
ラット 6 ヵ月間（8337876 試験）[b,f]		
0.5 mg/kg/週 2 回	53950	0.38
1.5 mg/kg/週 2 回	142000	0.99
3 mg/kg/週 2 回[d]	279500	1.96
サル 1 ヵ月間（8325823 試験）[g,h]		
0.05 mg/kg/週 1 回	33300	0.13
0.15 mg/kg/週 1 回[d]	114500	0.46
0.5 mg/kg/週 1 回	424000	1.70
サル 6 ヵ月間（8336517 試験）[g,i]		
0.05 mg/kg/週 1 回	34050	0.14
0.15 mg/kg/週 1 回	111500	0.45
0.5 mg/kg/週 1 回[d]	336500	1.35
がん原性試験		
トランスジェニックマウス 26 週間（8392063 試験）[b,i]		
1 mg/kg/週 2 回	168000	1.18
3 mg/kg/週 2 回	490000	3.43
10 mg/kg/週 2 回[k]	1520000	10.64
ラット 104 週間（8392734 試験）[b,l,m]		
0.15 mg/kg/週 2 回	17600	0.12
0.5 mg/kg/週 2 回	51200	0.36
1.5 mg/kg/週 2 回	145000	1.02
生殖発生毒性試験		
ラット雄の受胎能（00353430 試験）[b,n]		
0.5 mg/kg/週 2 回	43400	0.30
1.5 mg/kg/週 2 回	147000	1.03
3 mg/kg/週 2 回[o]	245000	1.72
ラット雌の受胎能及び着床までの初期胚発生（WIL-353356 試験）[b,p,q]		
0.5 mg/kg/週 2 回	41900	0.29
1.5 mg/kg 週 2 回	129000	0.90
3 mg/kg/週 2 回	269000	1.88
ラット胚・胎児発生（WIL-353354 試験）[r,s]		
0.02 mg/kg/3 日に 1 回	821	0.03
0.1 mg/kg/3 日に 1 回[t]	4010	0.07
0.5 mg/kg/3 日に 1 回	35800	0.45
ウサギ胚・胎児発生（WIL-353355 試験）[u]		
0.01 mg/kg/週 1 回	3560	0.01
0.03 mg/kg/週 1 回[t]	14700	0.06
0.1 mg/kg/週 1 回	56400	0.23

略語：$AUC_{0-\tau}$ = 1 投与間隔における血漿中濃度－時間曲線下面積、BMI = ボディマス指数、NOEL = 無影響量、NOAEL = 無毒性量、PK = 薬物動態

a　最高臨床用量を示す。母集団 PK モデルを用いた血漿中濃度推移のシミュレーションに基づいて算出（母集団 PK 解析データセットにおける 2 型糖尿病患者のベースラインの体重、BMI 及び性別の分布を用いたシミュレーション。平均体重は 89.6 kg）（Population PKPD）。

b　曝露量比は（動物における $AUC_{0-\tau}/\tau$）/（ヒトにおける $AUC_{0-\tau}/\tau$）として算出。τは、マウス及びラットでは 96 時間、ヒトでは 168 時間。定常状態の $AUC_{0-\tau}$値は雌雄のデータがある場合は雌雄平均値。

c 26 日目に求めた血漿中 AUC
d 標的器官毒性に関する NOAEL
e 29 日目に求めた血漿中 AUC
f 176 日目に求めた血漿中 AUC
g 曝露量比は（動物における $AUC_{0-\tau}/\tau$）/（ヒトにおける $AUC_{0-\tau}/\tau$）として算出。τはサル及びヒトでは 168 時間で、サルの定常状態の $AUC_{0-\tau}$値は雌雄平均値。
h 29 日目に求めた血漿中 AUC
i 176 日目に求めた血漿中 AUC
k 新生物に関する NOEL
l 358 日目に求めた血漿中 AUC
m 甲状腺 C 細胞腫瘍については NOEL を求められなかったが、他のすべての腫瘍については高用量（1.5 mg/kg/週 2 回）が NOEL であった。
n 28 日目に求めた血漿中 AUC
o 生殖毒性に関する NOAEL
p 妊娠 6 日目に求めた血漿中 AUC
q 生殖毒性に関する NOAEL は決定されなかった。
r 曝露量比は（動物における $AUC_{0-\tau}/\tau$）/（ヒトにおける $AUC_{0-\tau}/\tau$）として算出。τは母動物ラットでは 21 時間（0.02 mg/kg）、40 時間（0.1 mg/kg）又は 54 時間（0.5 mg/kg）、ヒトでは 168 時間。
s 妊娠 17 日目に求めた血漿中 AUC
t 発生毒性に関する NOAEL
u 曝露量比は（動物における $AUC_{0-\tau}/\tau$）/（ヒトにおける $AUC_{0-\tau}/\tau$）として算出。τはウサギ及びヒトでは 168 時間。妊娠 14 日目に求めた血漿中 AUC

表 2.4-2　主要毒性試験における tirzepatide 皮下投与時の曝露量比（C_{max} に基づく）

動物種 用量	C_{max} (ng/mL)	曝露量比
ヒト		
15 mg/週	1990 [a]	–
反復投与毒性試験		
001178-W（野生型）RasH2 マウス 4 週間（8376621 試験） [b,c]		
1 mg/kg/週 2 回	5845	2.94
3 mg/kg/週 2 回	19800	9.95
30 mg/kg/週 2 回 [d]	234500	117.8
ラット 1 ヵ月間（8325822 試験） [b,e]		
0.15 mg/kg/週 2 回	474	0.24
0.5 mg/kg/週 2 回	1480	0.74
1.5 mg/kg/週 2 回 [d]	4755	2.39
ラット 6 ヵ月間（8337876 試験） [b,f]		
0.5 mg/kg/週 2 回	1175	0.59
1.5 mg/kg/週 2 回	3635	1.83
3 mg/kg/週 2 回 [d]	6280	3.16
サル 1 ヵ月間（8325823 試験） [g,h]		
0.05 mg/kg/週 1 回	464	0.23
0.15 mg/kg/週 1 回 [d]	1360	0.68
0.5 mg/kg/週 1 回	4915	2.47
サル 6 ヵ月間（8336517 試験） [g,i]		
0.05 mg/kg/週 1 回	414	0.21
0.15 mg/kg/週 1 回	1275	0.64
0.5 mg/kg/週 1 回 [d]	4385	2.20
がん原性試験		
トランスジェニックマウス 26 週間（8392063 試験） [b,i]		
1 mg/kg/週 2 回	5465	2.75
3 mg/kg/週 2 回	17000	8.54
10 mg/kg/週 2 回 [k]	49400	24.8
ラット 104 週間（8392734 試験） [b,l,m]		
0.15 mg/kg/週 2 回	370	0.19
0.5 mg/kg/週 2 回	1095	0.55
1.5 mg/kg/週 2 回	3215	1.62
生殖発生毒性試験		
ラット雄の受胎能（00353430 試験） [b,n]		
0.5 mg/kg/週 2 回	1370	0.69
1.5 mg/kg/週 2 回	4730	2.38
3 mg/kg/週 2 回 [o]	9110	4.58
ラット雌の受胎能及び着床までの初期胚発生（WIL-353356 試験） [b,p,q]		
0.5 mg/kg/週 2 回	1380	0.69
1.5 mg/kg 週 2 回	4560	2.29
3 mg/kg/週 2 回	9340	4.69
ラット胚・胎児発生（WIL-353354 試験） [r,s]		
0.02 mg/kg/3 日に 1 回	52.2	0.03
0.1 mg/kg/3 日に 1 回 [t]	174	0.09
0.5 mg/kg/3 日に 1 回	1480	0.74
ウサギ胚・胎児発生（WIL-353355 試験） [u]		
0.01 mg/kg/週 1 回	46.6	0.02
0.03 mg/kg/週 1 回 [t]	159	0.08
0.1 mg/kg/週 1 回	567	0.28

略語： BMI = ボディマス指数、C_{max} = 最高血漿中濃度、NOEL = 無影響量、NOAEL = 無毒性量、PK = 薬物動態

a　最高臨床用量を示す。母集団 PK モデルを用いた血漿中濃度推移のシミュレーションに基づいて算出（母集団 PK 解析データセットにおける 2 型糖尿病患者のベースラインの体重、BMI 及び性別の分布を用いたシミュレーション。平均体重は 89.6 kg）（Population PKPD）。

b　曝露量比は（動物における C_{max}）/（ヒトにおける C_{max}）として算出。C_{max} は雌雄のデータがある場合は雌雄平均値。

c　26 日目に求めた血漿中 C_{max}

d　標的器官毒性に関する NOAEL
e　29 日目に求めた血漿中 C_{max}
f　176 日目に求めた血漿中 C_{max}
g　曝露量比は（動物における C_{max}）/（ヒトにおける C_{max}）として算出。C_{max} は雌雄平均値。
h　29 日目に求めた血漿中 C_{max}
i　176 日目に求めた血漿中 C_{max}
k　新生物に関する NOEL
l　358 日目に求めた血漿中 C_{max}
m　甲状腺 C 細胞腫瘍については NOEL を求められなかったが、他のすべての腫瘍については高用量（1.5 mg/kg/週 2 回）が NOEL であった。
n　28 日目に求めた血漿中 C_{max}
o　生殖毒性に関する NOAEL
p　妊娠 6 日目に求めた血漿中 C_{max}
q　生殖毒性に関する NOAEL は決定されなかった。
r　曝露量比は（動物における C_{max}）/（ヒトにおける C_{max}）として算出。
s　妊娠 17 日目に求めた血漿中 C_{max}
t　発生毒性に関する NOAEL
u　曝露量比は（動物における C_{max}）/（ヒトにおける C_{max}）として算出。妊娠 14 日目に求めた血漿中 C_{max}

参考文献

Bjerre Knudsen L, 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. *Endocrinology*. 2010;151(4):1473-1486.

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. *Endocrinology*. 2015;156(7):2417-2428.

Chatelain D, Montel V, Dickes-Coopman A, Chatelain A, Deloof S. Trophic and steroidogenic effects of water deprivation on the adrenal gland of the adult female rat. *Reg Peptides.* 2003:11:249-255.

Coskun T, Sloop KW, Loghin C, Alsina-Fernandez J, Urva S, Bokvist KB, et al. LY3298176, a novel dual GIP and GLP-1 receptor agonist for the treatment of type 2 diabetes mellitus: From discovery to clinical proof of concept. *Mol Metab*. 2018;18:3-14.

Egan AG, Eberhard B, Dunder K, deGraef PA, Hummer T, Bourcier T, et al. Pancreatic safety of incretin-based drugs: FDA and EMA assessment. *New Eng J Med*. 2014;370:794-797.

[FDA] United States Food and Drug Administration. Pharmacology/Toxicology NDA/BLA Review and Evaluation. Semaglutide. 2017. Available at: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/nda/2017/209637Orig1s000PharmR.pdf. Accessed 21 July 2021.

Garcia JP, Moore J, Loukopoulos P, Diab SS, Uzal FA. Necrotizing gastritis associated with Clostridium septicum in a rabbit. *J Vet Diagn Invest*. 2014;26(5):669-673.

Goodwill AG, Mather KJ, Conteh AM, Sassoon D, Noblet JN, Tune JD. Cardiovascular and hemodynamic effects of Glucagon-like Peptide-1. *Rev Endocr Metab Disord*. 2014;15:209-217.

Heidel SM, Page TJ. Current practices in the preclinical safety assessment of peptides. In: Shayne C Gad, editor. Pharmaceutical Sciences Encyclopedia: Drug Discovery, Development, and Manufacturing. John Wiley & Sons, Inc; 2010.

Olson H, Betton G, Robinson D, Thomas K, Monro A, Kolaja G,et al. Concordance of the toxicity of pharmaceuticals in humans and in animals. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2000;32:56-67.

Ovsyannikov VI, Berezina TP, Shemerovskii KA. Mechanisms of discoordination of contractile activity in the gastroduodenal zone during psychogenic stress in rabbits. *Bull Exp Biol Med.* 2015;159(4):446-449.

Samms RJ, Christe ME, Collins KA, Pirro V, Droz BA, Holland AK, et al. GIPR agonism mediates weight-independent insulin sensitization by tirzepatide in obese mice. *J Clin Invest*. 2021;131(12):e146353.

Tamaki C, Nagayama T, Hashiba M, Fujiyoshi M, Hizue M, Kodaira H, et al. Potentials and limitations of nonclinical safety assessment for predicting clinical adverse drug reactions: correlation analysis of 142 approved drugs in Japan. *J Toxicol Sci*. 2013;38:581-598.