ゼップバウンド皮下注 2.5mg アテオス
ゼップバウンド皮下注 5mg アテオス
ゼップバウンド皮下注 7.5mg アテオス
ゼップバウンド皮下注 10mg アテオス
ゼップバウンド皮下注 12.5mg アテオス
ゼップバウンド皮下注 15mg アテオス

2.6.2　薬理試験の概要文

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.2　薬理試験の概要文 1
2.6.2.1　まとめ 1
2.6.2.2　効力を裏付ける試験 3
2.6.2.2.1　In vitro 試験 3
2.6.2.2.1.1　ヒト及びマウス脂肪組織の脂肪細胞への結合 3
2.6.2.2.1.2　ヒト脂肪細胞モデルでの GIP 受容体活性化作用並びにグルコース及び脂質代謝調節作用 4
2.6.2.2.2　In vivo 試験 8
2.6.2.2.2.1　マウスにおけるチルゼパチド蛍光標識体の脳内分布 8
2.6.2.2.2.2　マウス脳での c-Fos 活性化作用 10
2.6.2.2.2.3　食餌誘発性肥満マウスの摂食行動への影響（1 回摂餌量及び摂餌回数に対する作用） 12
2.6.2.2.2.4　主要栄養素嗜好性に対する作用 15
2.6.2.2.2.5　食餌制限モデルでの脂肪消費量及びエネルギー消費量に対する作用 16
2.6.2.3　副次的薬理試験 22
2.6.2.4　安全性薬理試験 22
2.6.2.5　薬力学的薬物相互作用 22
2.6.2.6　考察及び結論 22
2.6.2.7　参考文献 23

2.6.2　薬理試験の概要文

2.6.2.1　まとめ

チルゼパチド（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。チルゼパチドは日本において、2 型糖尿病を適応症として、2022 年 9 月に承認を取得した（販売名：マンジャロ皮下注）。今回、肥満症を適応症として開発したゼップバウンド皮下注の製造販売承認申請を行う。

初回申請時の概要において、チルゼパチドの薬効薬理試験成績を報告しており、以下の知見が得られている（初回申請時の CTD 第 2.6.2 項参照）。

- チルゼパチドはマウス、ラット、及びサルの GIP 受容体及び GLP-1 受容体に結合した。
- チルゼパチドはヒト GIP 受容体及び GLP-1 受容体に結合して活性化し、細胞内環状アデノシン一リン酸（cyclic adenosine monophosphate：cAMP）濃度を増加させた。
- チルゼパチドはヒトグルカゴン受容体及びグルカゴン様ペプチド-2（glucagon-like peptide-2：GLP-2）受容体を活性化しなかった。
- G タンパク質共役受容体（G protein-coupled receptor：GPCR）の刺激性 G タンパク質サブユニット Gsαへのグアノシン三リン酸（guanosine triphosphate：GTP）の動員を指標に受容体アゴニスト活性を測定した試験において、チルゼパチドは GLP-1 受容体の強力な部分アゴニストであり、GIP 受容体の強力な完全アゴニストであることが示された。
- チルゼパチドは、ヒト GLP-1 受容体へのβ-アレスチン-2 の動員を活性化しなかったが、ヒト GIP 受容体へのβ-アレスチン-2 動員を誘発し、その効力は天然型 GIP リガンドと同程度であった。
- チルゼパチドの GLP-1 受容体に対する内在化刺激作用の効力（EC_{50}）及び最大効果（E_{max}）は天然型 GLP-1 より弱く、GIP 受容体に対する内在化刺激作用の効力及び効果は天然型 GIP と同程度であった。
- 正常マウス及び正常ラットから単離した膵島において、チルゼパチドはグルコース依存性インスリン分泌を促進した。また、チルゼパチドは GIP 受容体ノックアウト（knock-out：KO）マウス及び GLP-1 受容体 KO マウスのいずれの膵島においてもインスリン分泌を促進し、両受容体に対してアゴニスト活性を示すことが確認された。
- ヒト脂肪細胞（内因性に GIP 受容体を発現しているが、GLP-1 受容体は発現していない）において、チルゼパチドは cAMP 産生及び脂肪分解を促進した。
- 正常ラットを用いた静脈内投与グルコース負荷試験において、チルゼパチドはグルコース依存性のインスリン分泌を増加させた。
- 正常マウス、GIP 受容体 KO マウス又は GLP-1 受容体 KO マウスを用いた腹腔内投与グルコース負荷試験において、チルゼパチドは血糖コントロールを改善させた。
- 食餌誘発性肥満（diet-induced obese：DIO）ラット（インスリン抵抗性ラット）を用いた高インスリン正常血糖クランプ試験において、チルゼパチドは反復投与により全身インスリン感受性を改善させた。

- DIO マウス（インスリン抵抗性マウス）を用いた高インスリン正常血糖クランプ試験においてチルゼパチドはインスリン感受性を改善させた。インスリン感受性の改善には、体重減少に加え、褐色脂肪組織（brown adipose tissue：BAT）での分岐鎖アミノ酸（branch chain amino acid：BCAA）の異化経路の活性化などの、体重に依存しない機序も部分的に寄与していると考えられた。
- チルゼパチドの単回投与により DIO マウスの胃内容排出（gastric emptying：GE）が抑制されたが、反復投与後に GE の抑制は認められなかった。チルゼパチドの GE 抑制作用は急性作用であり、タキフィラキシーが生じることが示された。
- DIO マウスにおいて、チルゼパチドは反復投与により用量反応的に体重を減少させた。体重減少は主に脂肪量の減少によるものであった。チルゼパチド投与による体重減少には、投与期間早期に生じる顕著な摂餌量減少と、後半に生じるエネルギー消費量の増加の 2 つのメカニズムが寄与していると考えられた。
- DIO マウスにおいて、チルゼパチドは反復投与により血漿中総コレステロール及び肝臓トリグリセリドを減少させた。

GLP-1 受容体及び GIP 受容体はいずれも、エネルギーバランスの調節に関与する脳の重要な領域に発現しており、GIP 及び GLP-1 は、脳内で摂食や嘔吐に関連する経路に作用する（Borner et al. 2021）。GIP 受容体と GLP-1 受容体はいずれも脳の最後野及び視床下部に発現しているが、それぞれ異なるタイプのニューロンに発現しており、GIP 受容体は GABA 作動性ニューロンに、GLP-1 受容体はグルタミン酸作動性ニューロンに発現すると報告されている（Adriaenssens et al. 2019; Costa et al. 2022）。GLP-1 受容体アゴニストによる GLP-1 受容体シグナル伝達の活性化は、脳の食欲抑制経路を活性化することにより食物摂取量と体重を減少させ（Andersen et al. 2018）、この作用は GIP 受容体アゴニストにより増強される（Zhang et al. 2021）。また GIP 受容体の活性化が、他のペプチドによる悪心や嘔吐を軽減させることも報告されている（Borner et al. 2021）。GIP 受容体は脂肪細胞にも発現し、脂質代謝を調節する。

チルゼパチドは GLP-1 受容体アゴニストのセマグルチドと比較して体重を有意に減少させた（Coskun 2018、既提出申請資料［T2D］CTD 第 2.6.2 項）。また、内因性に GIP 受容体を発現しているヒト脂肪細胞を用いた試験において、チルゼパチドは天然型ヒト GIP と比較してより強力に cAMP 増加及び脂肪分解を促進した（既提出申請資料［T2D］CTD 第 2.6.2 項参照）。

本申請では、肥満症に対する本薬の効果を支持する試験として、チルゼパチドの脂肪細胞の機能に対する影響、脳での分布及び活性化作用、摂食行動への影響、並びに代謝への影響を評価した試験データを提出する。試験成績の概要を以下に示す。

In vitro 試験

- 蛍光標識したチルゼパチドを用いた試験において、チルゼパチドがヒト及びマウスの脂肪組織中の脂肪細胞表面に結合することが示された。
- ヒト脂肪細胞モデルで、チルゼパチドは cAMP 濃度を上昇させた。チルゼパチドは単剤で、脂肪細胞へのグルコース取込みを濃度依存的に増加させ、インスリンとの併用によりインスリン刺激によるグルコース取込みを顕著に増加させた。

- チルゼパチドは濃度依存的にリポタンパクリパーゼ（LPL）活性を上昇させ、脂肪細胞への脂肪酸の取込みを促進した。また、チルゼパチドは脂肪分解の指標であるグリセロール排出を促進したが、この作用はインスリンによって完全に抑制された。

In vivo 試験

- 蛍光標識したチルゼパチドアナログペプチド（TZP-AF647）をマウスに単回皮下投与したとき、脳室周囲の複数の領域で蛍光シグナルが検出された。
- チルゼパチドをマウスに単回皮下投与したとき、脳全体の吻側尾側軸全体で、食欲及び体重調節に関与することが知られた複数の脳領域で c-Fos 発現の増加が認められた。
- DIO マウスにおいて、チルゼパチドは 1 回摂餌量及び摂餌回数の両方を減少させた。
- チルゼパチドは高脂肪食への嗜好性を低下させ、その結果、総摂取カロリーを減少させた。
- DIO マウスの食餌制限（caloric restriction：CR）モデルにおいて、チルゼパチドは、摂食量の減少及び体重減少に関連する代謝適応を抑制し、脂肪消費量を増加させた。

2.6.2.2　効力を裏付ける試験

2.6.2.2.1　In vitro 試験

2.6.2.2.1.1　ヒト及びマウス脂肪組織の脂肪細胞への結合

（4.2.1.1.1、ENDO190 試験）

目的：

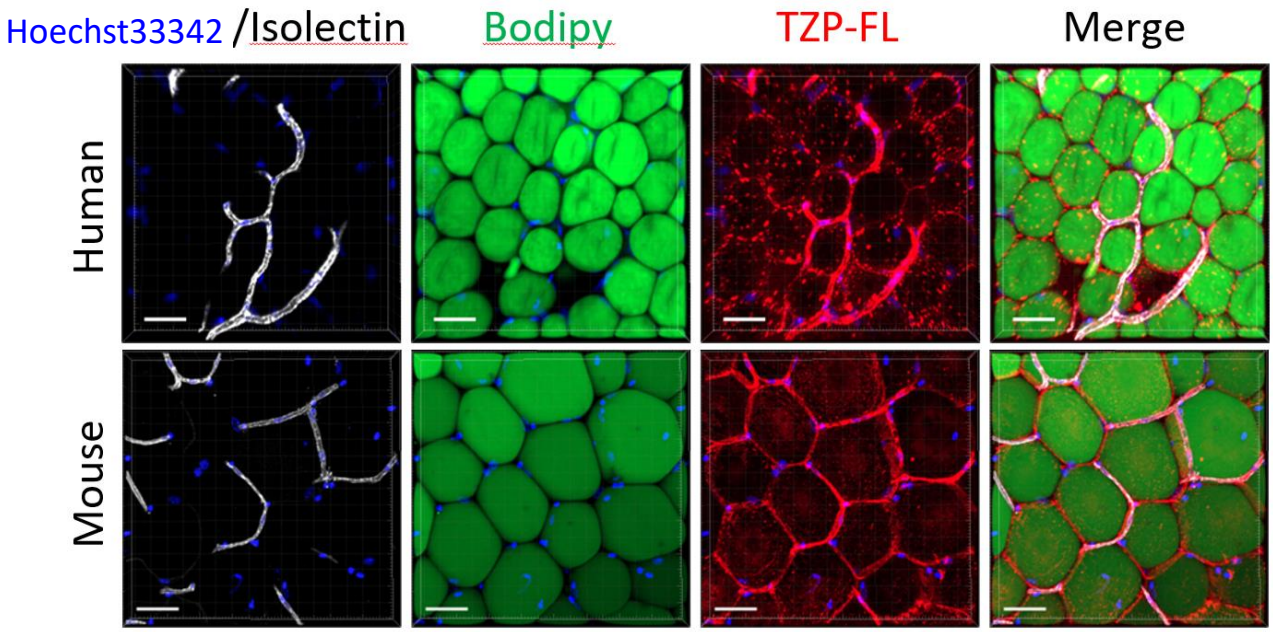
GIP 受容体はヒト及びマウスの脂肪組織の脂肪細胞表面に発現している。本試験では、チルゼパチドが脂肪組織中の脂肪細胞に結合するか否かを検討した。

方法：

蛍光標識トレーサー分子（TZP-AF647［Alexa Fluor-647 により蛍光標識したチルゼパチドアナログペプチド］）を作製し、ヒト又はマウスから採取した脂肪組織をこのトレーサーとともに 60 分間インキュベートした後、固定し、脂肪細胞、核、及び血管をそれぞれ標識する Bodipy、Hoechst 33342、及びイソレクチン B4 で染色した。染色後、共焦点顕微鏡を用いて画像を取得し、3D 画像を生成した。

結果：

TZP- AF647 は血管に沿って、脂肪細胞表面に検出されたことから（図 2.6.2-1）、チルゼパチドが脂肪組織の脂肪細胞に結合することが示された。



略語：TZP-AF647 = Alexa Fluor-647 により蛍光標識したチルゼパチドアナログペプチド。
マウス又はヒトから採取した脂肪組織を TZP- AF647（赤）で処理した後固定し、細胞膜、核及び血管をそれぞれ Bodipy（緑）、Hoechst 33342（青）及びイソレクチン B4（白）で染色した。Scale bar = 10 µm。

図 2.6.2-1　脂肪組織での脂肪細胞へのチルゼパチドの結合

2.6.2.2.1.2　ヒト脂肪細胞モデルでの GIP 受容体活性化作用並びにグルコース及び脂質代謝調節作用

（4.2.1.1.1、ENDO190 試験）

チルゼパチドが GIP 受容体を活性化し、脂肪細胞の機能に影響を及ぼすか否かを検討するために、分化したヒト脂肪細胞（Regmi et al. 2023）を用いて以下の検討を行った。

脂肪細胞の機能的活性化

目的：

チルゼパチドによる受容体の活性化を評価するため、分化したヒト脂肪細胞をチルゼパチドで処理したときの細胞内 cAMP 濃度を評価した。

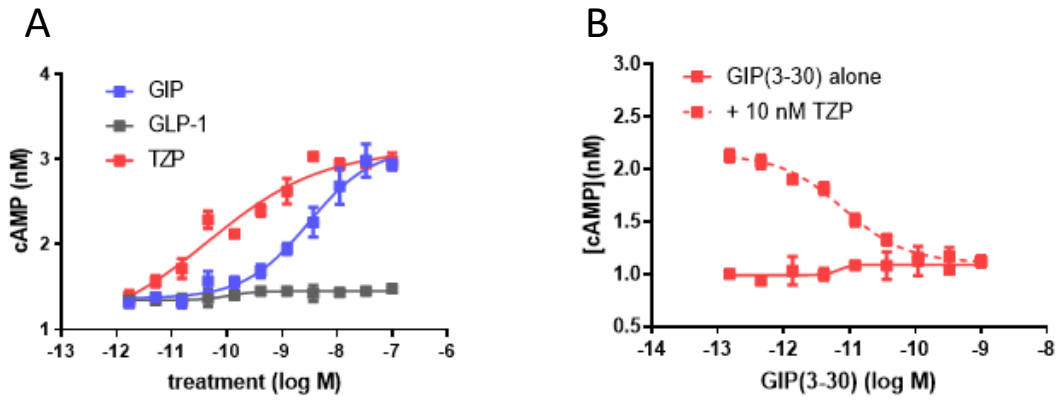
方法：

分化したヒト脂肪細胞をチルゼパチド、天然型 GIP、又は GLP-1 受容体アゴニストのセマグルチドで 15 分間処理した後、細胞内 cAMP 濃度を測定した。また、細胞内 cAMP 濃度に対するチルゼパチドの作用について、GIP 受容体への特異性を評価するため、チルゼパチド 10 nM に GIP 受容体アンタゴニストである GIP（3-30）を併用して同様に処理したときの cAMP 濃度の変化を評価した。

結果：

チルゼパチド及び天然型 GIP で処理したときには用量依存的に cAMP は増加したが、セマグルチドで処理したときに cAMP 濃度の増加は認められなかった（図 2.6.2-2 A）。さらに、チルゼパ

チドによる cAMP の増加は、GIP 受容体アンタゴニストである GIP（3-30）の併用によって完全に阻害された（図 2.6.2-2 B）。



略語：cAMP＝環状アデノシン一リン酸、GIP＝グルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド、GLP-1＝セマグルチド、TZP＝チルゼパチド。
分化ヒト脂肪細胞を（A）天然型 GIP、セマグルチド又はチルゼパチドで処理、及び（B）チルゼパチドと GIP 受容体アンタゴニスト［GIP（3-30）］を併用処理したときの細胞内 cAMP 濃度。データは 3 回の独立した実験の平均値±標準誤差を示す。

図 2.6.2-2　ヒト脂肪細胞モデルにおける cAMP 産生

脂肪細胞へのグルコース取込みに対する影響

目的：

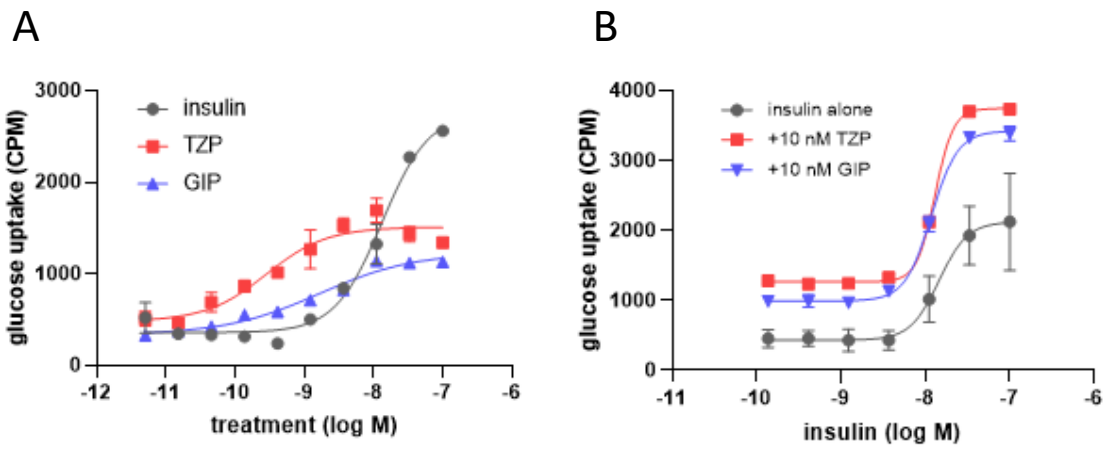
脂肪組織へのグルコース取込みは、脂肪細胞の重要な機能の 1 つである。チルゼパチドによる GIP 受容体活性化が脂肪細胞へのグルコース取込みに影響を及ぼすか否かを検討した。

方法：

分化したヒト脂肪細胞をインスリン、天然型 GIP 又はチルゼパチドで 2 時間処理した後、^{14}C-グルコースとともに 1 時間インキュベートし、グルコース取込みの指標として細胞への ^{14}C-グルコースの取込みを測定した。

結果：

インスリン、天然型 GIP、及びチルゼパチドを単独で処理したとき、脂肪細胞へのグルコース取込みが濃度依存的に増加し、最大作用が最も高かったのはインスリンであった。（図 2.6.2-3 A）。チルゼパチド及び天然型 GIP をインスリンと併用したとき、いずれもインスリン単独で処理したときと比較してグルコース取込みが顕著に増加した（図 2.6.2-3 B）。これはヒト脂肪細胞に対するインスリン感受性促進作用に一致していた。



略語：GIP＝グルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド、TZP＝チルゼパチド。
分化したヒト脂肪細胞を（A）インスリン、天然型 GIP、又はチルゼパチドで処理、及び（B）インスリンとチルゼパチド又は天然型 GIP で併用処理したときの細胞内の ^{14}C-グルコース量（CPM）を測定した。データは 2～3 回の独立した実験の平均値±標準誤差を示す。

図 2.6.2-3　ヒト脂肪細胞組織でのグルコース取込み促進作用

脂肪細胞における脂質取込み及び排出への影響

目的：

脂肪組織への脂質の取込み及び排出は脂質代謝に関わる過程であり、脂肪細胞の重要な機能である。

チルゼパチドが脂肪細胞への脂質取込みに影響を及ぼすか否かを検討するため、LPL 活性及び脂肪酸の取込みに対する作用を評価した。なお、LPL はリポタンパクトリグリセリドを細胞外で加水分解する酵素である。この反応は食事由来トリグリセリドを貯蔵のために脂肪細胞へ取り込む際の重要な過程であることから、LPL 活性は、トリグリセリドの細胞内への取込みの主要なメディエーターとされている。

また、チルゼパチドが脂肪細胞からの脂質排出を制御するか否かをより明らかにするために、インスリンの存在下又は非存在下でチルゼパチドの脂肪分解作用を評価した。

方法：

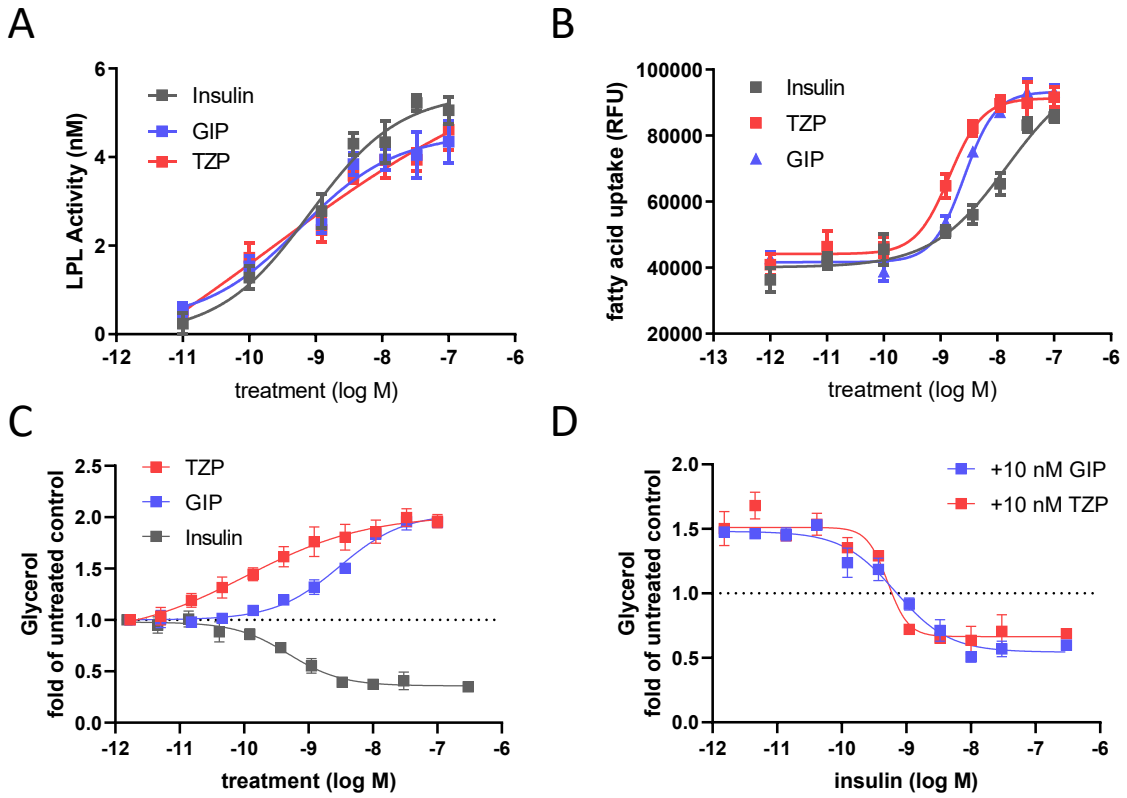
LPL 活性の評価では、分化したヒト脂肪細胞をチルゼパチド、天然型 GIP、又はインスリンで 5 時間処理した後、LPL 活性を測定した（Basu et al. 2011）。脂肪細胞への脂肪酸取込みは、分化したヒト脂肪細胞をチルゼパチド、天然型 GIP、又はインスリンで 30 分間処理した後、蛍光標識した脂肪酸とともにインキュベートし、細胞内への脂肪酸取込み量として蛍光強度を測定した。脂肪分解の評価では、分化したヒト脂肪細胞を天然型 GIP、チルゼパチド、又はインスリンで 3 時間処理し、細胞から排出された培養液中のグリセロールを脂肪分解活性の指標として測定した。また GIP 又はチルゼパチドをインスリンと併用で処理したときの脂肪分解活性も測定した。

結果：

チルゼパチド、天然型 GIP 及びインスリンはいずれも LPL 活性を濃度依存的に上昇させた（図 2.6.2-4 A）ことから、チルゼパチドが脂肪組織でのリポタンパク由来トリグリセリドの細胞外加水分解を促進することが示唆された。

チルゼパチド、天然型 GIP、及びインスリンはいずれも脂肪細胞への脂肪酸取込みを促進した（図 2.6.2-4 B）ことから、チルゼパチドを含む GIP 受容体アゴニストは、食事由来脂質の脂肪細胞への取込みを促進することが示唆された。

チルゼパチド及び GIP はともに脂肪分解を促進したが、インスリンは脂肪分解を抑制した（図 2.6.2-4 C）。さらに、チルゼパチド又は GIP による脂肪分解促進作用がインスリンによって抑制されるか否かを検討するために、分化したヒト脂肪細胞を一定濃度のチルゼパチド又は GIP と漸増濃度のインスリンで処理した。その結果、GIP 又はチルゼパチドによる脂肪分解促進作用は、インスリン処理によって完全に抑制された（図 2.6.2-4 D）。



略語：GIP = グルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド、LPL = リポタンパクリパーゼ、TZP = チルゼパチド。
分化したヒト脂肪細胞を、インスリン、天然型 GIP、又はチルゼパチドをそれぞれ単独処理した後、（A）培養液中の LPL 活性、（B）細胞への蛍光標識脂肪酸取込み、及び（C）培養液中のグリセロール量を測定した。天然型 GIP 又はチルゼパチドをインスリンと併用で処理したときの培養液中のグリセロール量を測定した（D）。データは、独立した 3 回の実験の平均値±標準誤差を示す。

図 2.6.2-4　ヒト脂肪組織での脂質代謝に対する作用

結論：

以上より、チルゼパチドは分化したヒト脂肪細胞で GIP 受容体を活性化し、グルコースの取込み、脂質の取込み及び排出を促進させたことから、全体的な炭水化物及び脂質の代謝において重要な主要栄養素の貯蔵と放出の両方に影響を及ぼすことが示唆された。

2.6.2.2.2　In vivo 試験

2.6.2.2.2.1　マウスにおけるチルゼパチド蛍光標識体の脳内分布

（4.2.1.1.2、 ENDO187 試験）

目的：

脳でのチルゼパチドの作用を明らかにするため、Alexa Fluor-647 で標識したチルゼパチドアナログペプチド（TZP-AF647）をマウスに皮下投与したときの脳での分布を評価した。

方法：

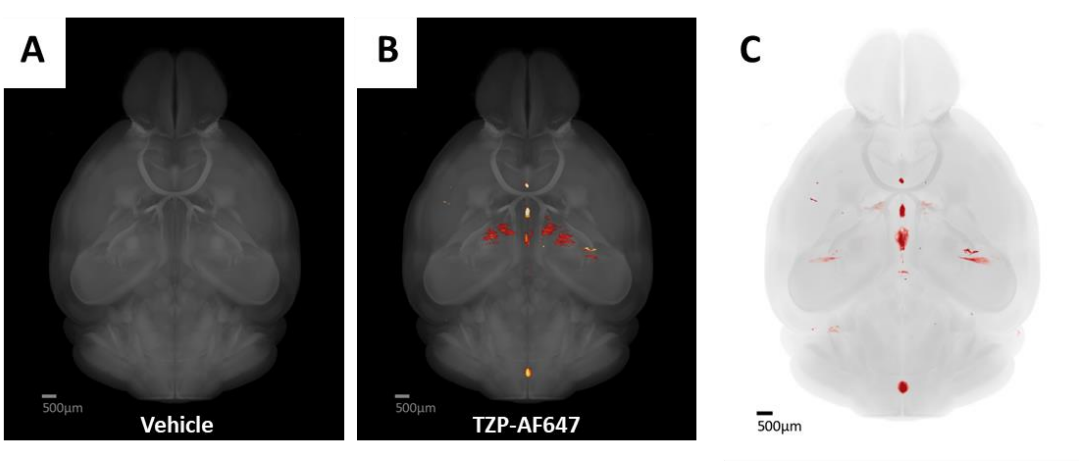
雄の C57BL/6 マウス（6 例／群、9-10 週齢）に媒体（40mM Tris pH8.0、0.02%ポリソルベート 80）又は TZP-AF647（30 nmol/kg）を単回皮下投与した。投与 2 時間後、麻酔下で PBS 及び 10%中性緩衝ホルマリン（NBF）で還流した後、脳を採取し、室温で一晩 10% NBF 中で固定した。標本作成後（標本作成方法の詳細は最終報告書［4.2.1.1.2］参照）脳全体の画像（倍率 1.26 倍）並びに自家蛍光（560 nm）及び TZP-AF647 の蛍光シグナル（647 nm）を測定した。各個体の脳のサブ領域ごとに蛍光強度を定量し、その群平均値を脳の 3D 画像と重ね合わせた。

結果：

媒体投与群の脳には明らかな 647 nm の蛍光シグナルは検出されなかったが（図 2.6.2-5 A）、TZP-AF647 投与群の脳では、脳室周囲領域で 647 nm の蛍光シグナルが認められ（図 2.6.2-5 B）、TZP-AF647 投与群で媒体投与群と比較して蛍光強度が増加した（図 2.6.2-5 C の赤色部分）。脳のサブ領域ごとの蛍光強度測定において、以下に示す脳室周辺領域の複数のサブ領域では、媒体投与群と比較して TZP-AF647 投与群で蛍光強度が統計学的有意に増加した（図 2.6.2-5 D、図 2.6.2-6）。

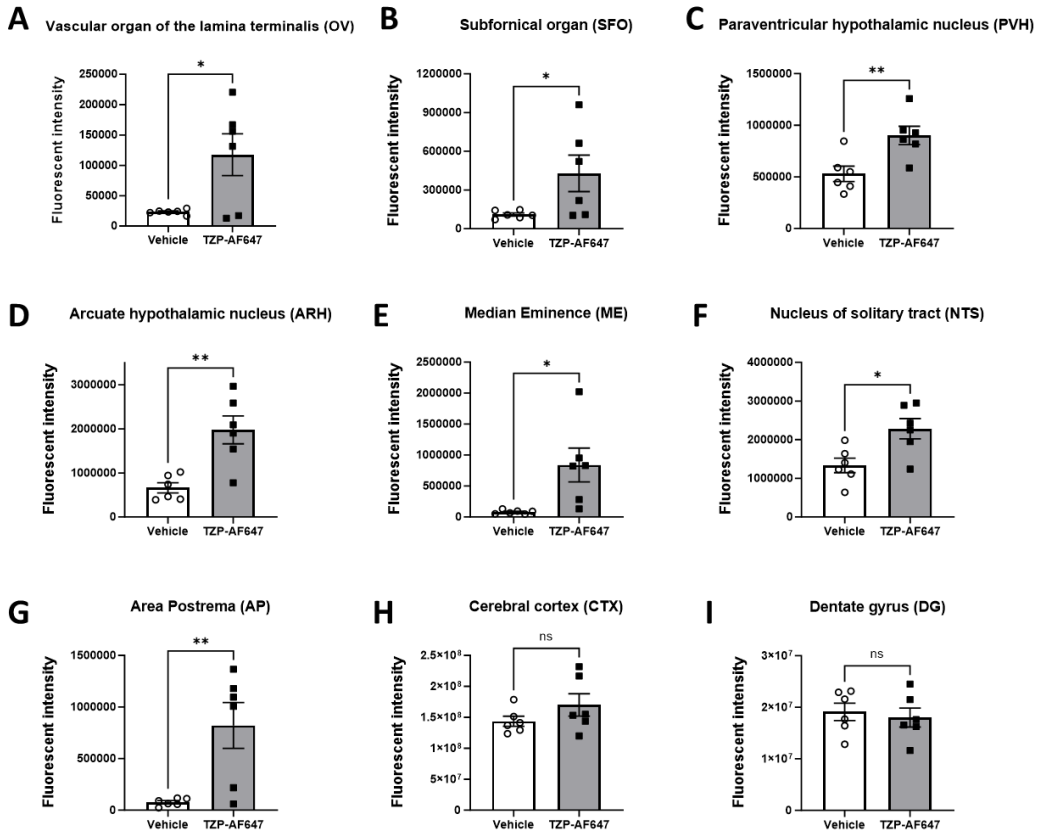
- 終板脈管器官（OV）
- 脳弓下器官（SFO）
- 視床下部室傍核（PVH）
- 視床下部弓状核（ARH）
- 正中隆起（ME）
- 孤束核（NTS）
- 最後野（AP）

大脳皮質（CTX）や歯状回（DG）など他の脳領域では蛍光強度の有意な増加は認められなかった（図 2.6.2-6）。



略語：TZP-AF647 = Alexa Fluor-647 で標識したチルゼパチドアナログペプチド。
（A）媒体投与群、及び（B）TZP-AF647 投与群マウスの脳の 3D 画像。（C）媒体投与群と比較して TZP-AF647 群で蛍光強度が増加した領域を赤色で示した。（D）各個体の脳領域ごとの蛍光強度をヒートマップで示す。太枠及び斜線は TZP-AF647 群で統計学的有意な蛍光強度増加が認められた領域を示す。$p<0.05$（Dunnett 検定による媒体投与群との比較）。

図 2.6.2-5　脳における TZP-AF647 蛍光シグナルの分布



略語：TZP-AF647 = Alexa Fluor-647 標識チルゼパチドアナログペプチド。
A：終板脈管器官（OV）、B：脳弓下器官（SFO）、C：視床下部室傍核（PVH）、D：視床下部弓状核（ARH）、E：正中隆起（ME）、F：孤束核（NTS）、G：最後野（AP）、H：大脳皮質（CTX）、I：歯状回（DG）での蛍光強度を平均値±標準誤差（n = 6／群）で示す。
*p <0.05、 ** p <0.01、 ns：有意差なし（Dunnett 検定による媒体投与群との比較）。

図 2.6.2-6　脳領域ごとの TZP-AF647 による蛍光強度

結論：

全脳の蛍光顕微鏡を用いて、皮下投与された TZP-AF647 による蛍光シグナルが脳室周囲の複数の領域で検出されたことから、末梢投与されたチルゼパチドが食欲と体重の調節に関与する脳領域に分布することが示された（Hansen et al. 2021）。

2.6.2.2.2.2　マウス脳での c-Fos 活性化作用

（4.2.1.1.3、ENDO186 試験）

目的：

チルゼパチドをマウスに皮下投与したときの c-Fos シグナルを脳全体で評価した。

方法：

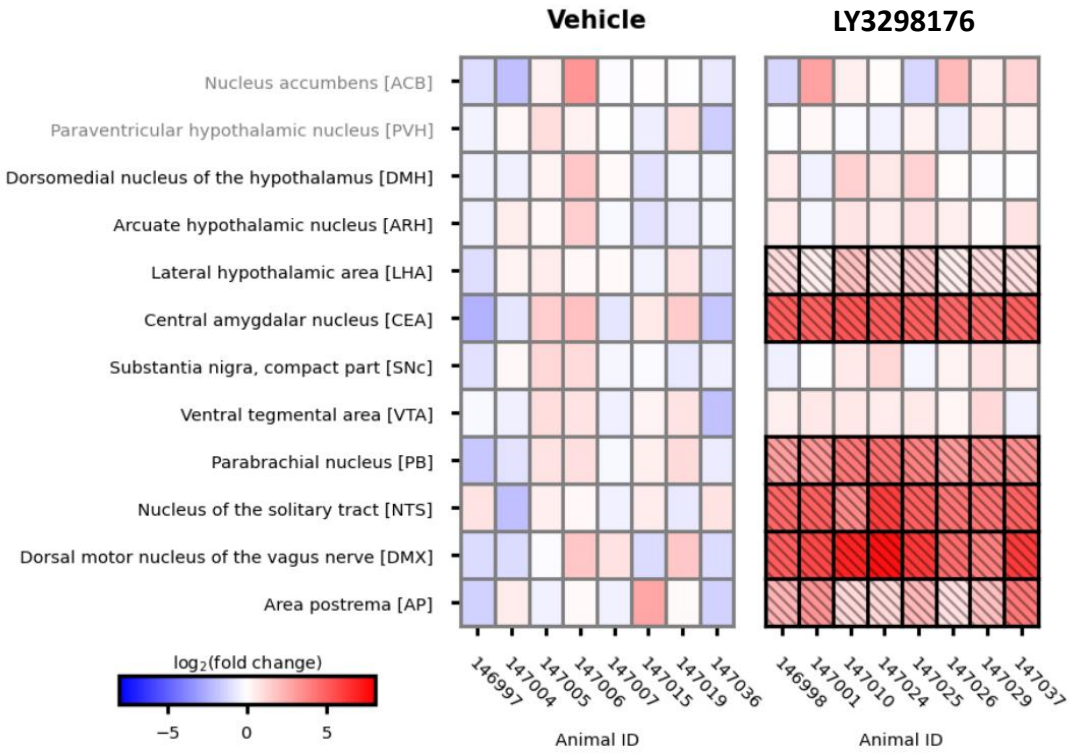
雄の C57BL/6 マウス（8 例／群、9-10 週齢）は、投与 4 日前に体重に基づき媒体（40 mM Tris pH8.0、0.02% ポリソルベート 80）投与群又はチルゼパチド投与群に割り付けた。すべての動物に、投与 4 日前から 1 日前まで媒体を模擬投与したのち、投与日に媒体又はチルゼパチド（30 nmol/kg）を単回皮下投与した。投与 2 時間後、麻酔下で PBS 及び 10% NBF で還流した後、脳を採取し、室温で一晩 10% NBF 中で固定した。c-Fos の全脳免疫組織化学標識及び光シート顕微鏡

検査を実施し（Perens et al. 2021；Hansen et al. 2021）、各脳領域の c-Fos 標識陽性細胞数を計測した。

結果：

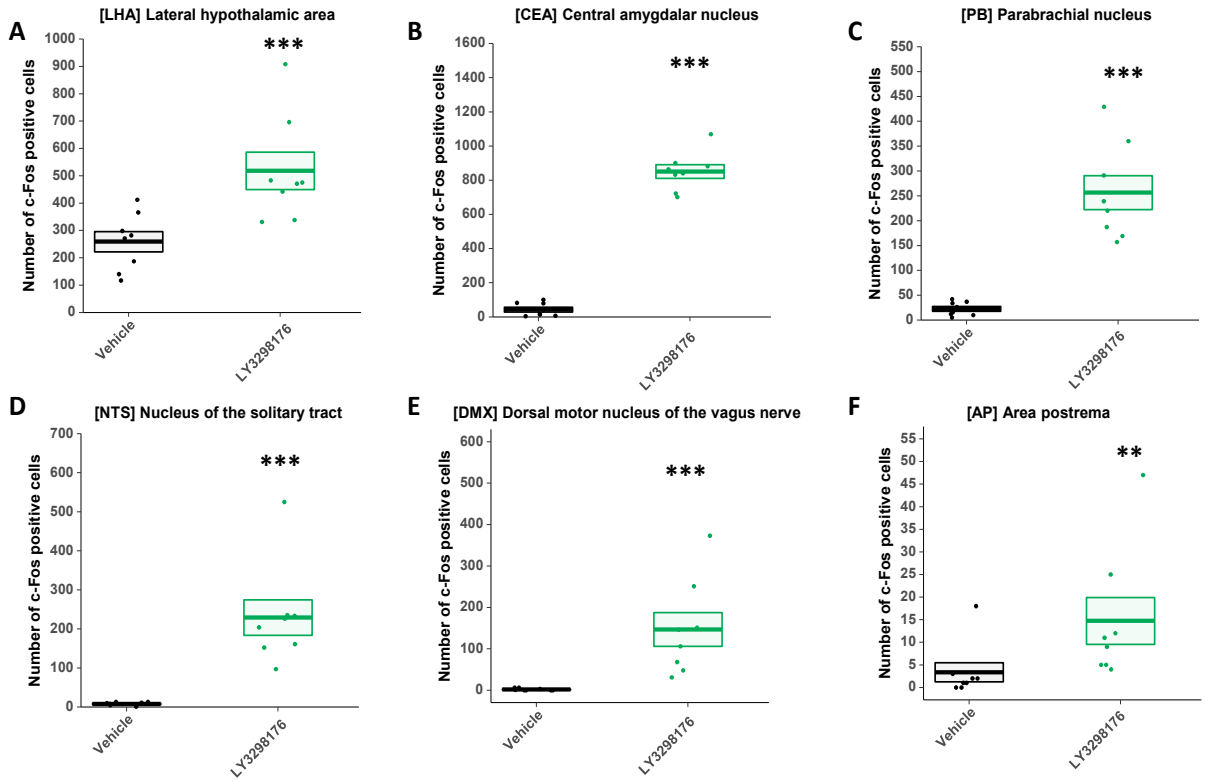
チルゼパチド投与群の脳では、媒体投与群と比較して c-Fos 発現の増加が認められた（図 2.6.2-7）。広範囲の脳領域にわたって、チルゼパチド投与群では媒体投与群と比較して c-Fos 陽性細胞数が有意に増加した（図 2.6.2- 8）。c-Fos 陽性細胞数が増加した以下の脳領域は、食欲や体重調節に関与することが知られた領域であった（Hansen et al. 2021）。

- 外側視床下部（LHA）
- 扁桃体中心核（CEA）
- 傍小脳脚核（PB）
- 孤束核（NTS）
- 迷走神経背側運動核（DMX）
- 最後野（AP）



略語：LY3298176＝チルゼパチド。
各個体の脳領域ごとの c-Fos 陽性細胞数をヒートマップで示す。太枠及び斜線は統計学的に有意な蛍光強度増加が認められた領域を示す。$p<0.05$（Dunnett 検定による媒体投与群との比較）。

図 2.6.2- 7　　マウスの脳の各領域における c-Fos 活性



略語：LY3298176 = チルゼパチド。
A：外側視床下部（LHA）、B：扁桃体中心核（CEA）、C：傍小脳脚核（PB）、D：孤束核（NTS）、E：迷走神経背側運動核（DMX）、F：最後野（AP）の cFos 陽性細胞数を平均値±標準誤差（n = 8／群）で示す。
** p <.0.01、*** p <.0.001（Dunnett 検定による媒体投与群との比較）。

図 2.6.2- 8　　マウスの各脳領域でのチルゼパチドによる c-Fos 発現誘導作用

結論：

チルゼパチドを皮下投与したマウスの脳では、脳の吻側尾側軸全体で c-Fos 発現の有意な増加が認められたことから、末梢投与したチルゼパチドが食欲や体重の調節に関与する領域の神経細胞を活性化させることが示された。

2.6.2.2.2.3　食餌誘発性肥満マウスの摂食行動への影響（1 回摂餌量及び摂餌回数に対する作用）

（4.2.1.1.4、ENDO179 試験）

目的：

チルゼパチドがどのように 1 日の摂食量を減少させるかを検討するため、DIO マウスにチルゼパチドを投与し、摂食パターン（1 日の摂餌回数及び 1 回の摂餌当たりの摂餌量）に対する作用を評価した。

方法：

雄の C57BL/6 DIO マウス（22 週齢）に媒体（40 mM Tris pH8.0）又はチルゼパチド 1、3、10、及び 30 nmol/kg を 1 日 1 回 19 日間皮下投与した。投与期間中、BioDAQ 摂食モニタリングシステムを用いて摂食パターンのパラメータ（摂餌回数及び 1 回の食餌当たりの摂餌量）を連続的に記

録し、薬剤投与後 24 時間ごとに各パラメータの平均値を算出した。薬剤は、パラメータ測定開始の約 1 時間前に投与した。1 日の摂餌量は、24 時間の合計摂餌量とした。累積摂餌量及び累積体重変化量（%）も記録した。

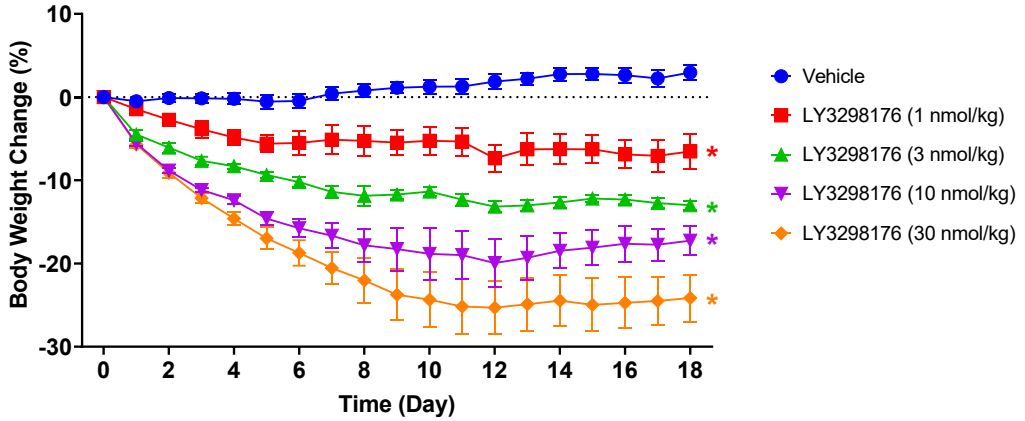
結果：

チルゼパチドは投与 19 日目までに、用量依存的に累積体重変化率（表 2.6.2-1 及び図 2.6.2- 9）及び累積摂餌量（表 2.6.2-1 及び図 2.6.2- 10）を減少させた。投与期間中、チルゼパチドの投与により、媒体投与群と比較して、3、10、及び 30 nmol/kg 群で摂餌回数が有意に減少し（図 2.6.2-11）、10 及び 30 nmol/kg 群で 1 回の摂餌当たりの摂餌量が有意に減少した（図 2.6.2- 12）。

表 2.6.2-1　投与 19 日目の累積体重変化率及び累積摂餌量

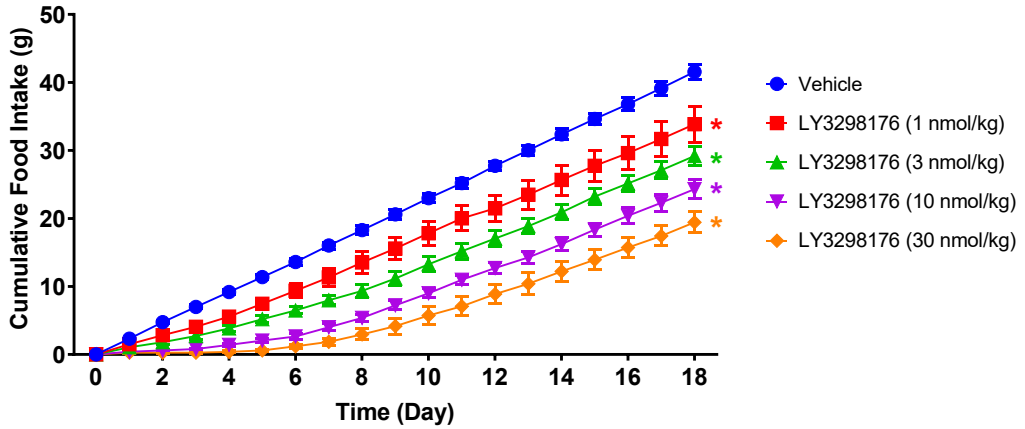
		Mean (± SEM)				
Parameter	**Dose (nmol/kg):**	**0**	**1**	**3**	**10**	**30**
累積体重変化率（%）		2.95	-6.53*	-12.99*	-17.24*	-24.13*
		(± 0.88)	(± 2.09)	(± 0.52)	(± 1.74)	(± 2.83)
累積摂餌量（g）		41.56	33.86*	29.20*	24.32*	19.43*
		(± 1.08)	(± 2.64)	(± 1.34)	(± 1.45)	(± 1.54)

略語：SEM = 標準誤差
媒体（n = 8／群）又はチルゼパチド（LY3298176）（n = 6／群）を 1 日 1 回 19 日間皮下投与したときの、19 日目の累積摂餌量及び累積体重変化率（%）を算出した。データは平均値 ± 標準誤差で示す。
* p<0.05（二元配置反復測定分散分析後 Dunnett 検定による媒体投与群との比較）。



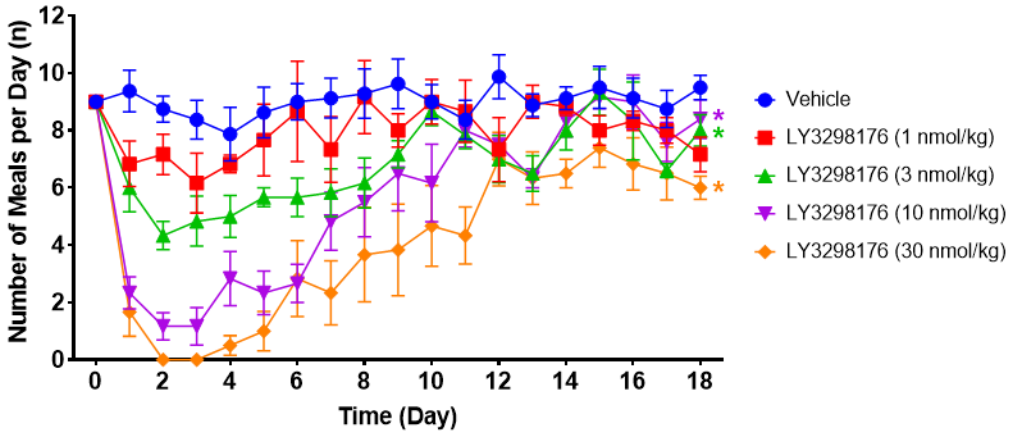
媒体（n = 8／群）又はチルゼパチド（LY3298176）（n = 6／群）を 1 日 1 回 19 日間皮下投与し、投与日毎に投与開始日と比較した累積体重変化率（%）を算出した。データは平均値 ± 標準誤差で示す。
* p<0.05（二元配置反復測定分散分析後 Dunnett 検定による媒体投与群との比較）。

図 2.6.2- 9　　チルゼパチド投与後の体重の変化



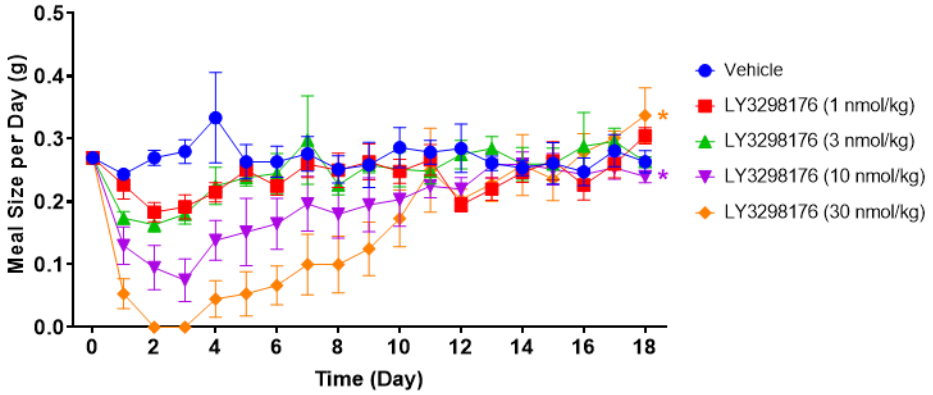
媒体（n＝8／群）又はチルゼパチド（LY3298176）（n＝6／群）を 1 日 1 回 19 日間皮下投与し、投与 19 日までの累積摂餌量を算出した。データは平均値 ± 標準誤差で示す。* p<0.05（二元配置反復測定分散分析後 Dunnett 検定による媒体投与群との比較）。

図 2.6.2- 10　　チルゼパチド投与後の累積摂餌量



0.02 g の摂餌を 1 単位とし、これが 600 秒未満の間隔で連続して生じたものを 1 回の摂餌（Meal）と定義した。媒体（n＝8／群）又はチルゼパチド（LY3298176）（n＝6／群）を 1 日 1 回 19 日間皮下投与し、投与期間中 24 時間ごとに摂餌回数を計測した。データは平均値 ± 標準誤差で示す。* p<0.05（混合効果モデル［REML］分析後 Dunnett 検定による媒体投与群との比較）。

図 2.6.2- 11　　チルゼパチド投与後の 1 日摂餌回数の変化



0.02 g の摂餌を 1 単位とし、これが 600 秒未満の間隔で連続して生じたものを 1 回の摂餌（Meal）と定義し、1 回の摂餌当たりの摂餌量（Meal size）を算出した。媒体（n = 8／群）又はチルゼパチド（LY3298176）（n = 6／群）を 1 日 1 回 19 日間皮下投与し、投与期間中 24 時間ごとに Meal size の平均値を算出した。データは平均値 ± 標準誤差で示す。* p<0.05（混合効果モデル［REML］分析後 Dunnett 検定による媒体投与群との比較）。

図 2.6.2- 12　　チルゼパチド投与後の 1 回摂餌量の変化

結論

DIO マウスにおいて、チルゼパチドは用量依存的に体重および摂餌量を減少させた。チルゼパチドによる累積摂餌量の減少には、1 回当たりの摂餌量の低下と 1 日当たりの摂餌回数減少の両方が関与することが示された。

2.6.2.2.2.4　　主要栄養素嗜好性に対する作用

（4.2.1.1.5、Geisler et al.2023）

目的：

本試験では、嗜好性食物の摂取及び特定の主要栄養素への嗜好性に対するチルゼパチドの作用を検討した。またチルゼパチド投与による選択摂取への効果が GLP-1 受容体の関与によるものか否かを、GLP-1 受容体ノックアウトマウスを用いて示した。

方法：

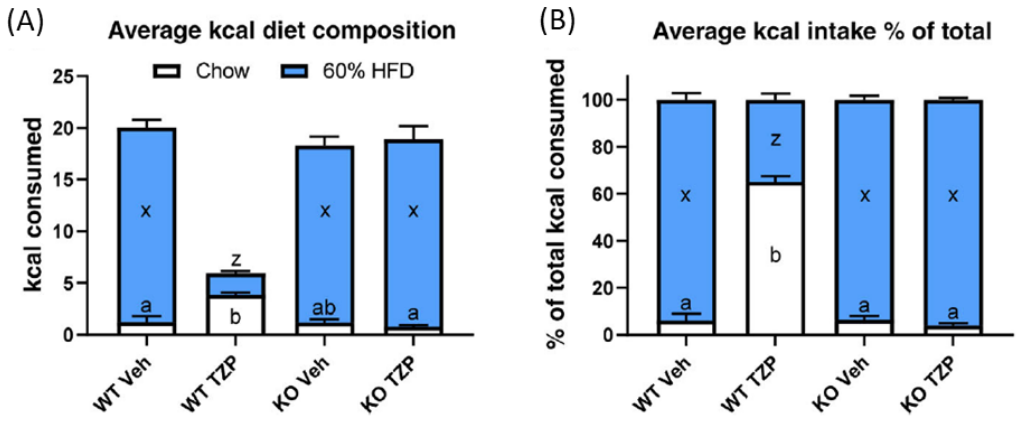
雄の野生型（wild-type：WT）マウス及び GLP-1 受容体ノックアウトマウスを用い、標準飼料（低脂肪食）及び 60%高脂肪食（60% high-fat diet：60% HFD、脂質由来カロリーが 60%）を 5 日間自由選択摂取させ、摂餌量を毎日測定した。試験期間中、マウスに媒体（40 mM Tris pH8.0、0.01% Tween 20）又はチルゼパチド（3 nmol/kg）を 1 日 1 回皮下投与した。

結果：

野生型マウスにチルゼパチドを投与したとき、総摂取カロリーが減少し（図 2.6.2-13 A）、総摂取カロリーに対する高脂肪食の比率が低下し、標準飼料の比率が増加した（図 2.6.2-13 B）。GLP-1 受容体ノックアウトマウスでは、摂取カロリーの減少や嗜好性の変化は認められなかったことから、GIP 受容体シグナル伝達は摂食嗜好性に影響を及ぼさないことが示唆された（図 2.6.2-13）。

結論：

チルゼパチド投与により総摂取カロリーが減少し、高脂肪食摂取量の比率が低下したことから、チルゼパチドが主要栄養素の嗜好性を変化させることが示唆された。これらの変化は、GLP-1 受容体ノックアウトマウスでは認められなかったことから、GIP 受容体シグナル伝達は摂食嗜好性に影響を及ぼさないことが示唆された。チルゼパチドによる体重減少作用に、高脂肪食嗜好性の低下による総摂取カロリーの低下が寄与すると考えられた。



略語：Chow = 標準飼料、HFD = 高脂肪食、KO = GLP-1 受容体ノックアウト、TZP = チルゼパチド、Veh = 媒体、WT = 野生型。
標準飼料及び 60% HFD の 1 日の摂取量を（A）総摂取カロリー及び（B）総摂取カロリーに対する比率で示す。データは 1 群 4～6 例の平均値±標準誤差で示す。飼料の種類ごとに、投与群間で比較した結果を ab（標準飼料）又は xz（高脂肪食）で示す。共通の文字を持たないバーは有意差あり（$p<0.05$、一元配置分散分析後 Tukey の検定による多重比較）。

図 2.6.2-13　高脂肪食嗜好性に対するチルゼパチドの作用

2.6.2.2.2.5　食餌制限モデルでの脂肪消費量及びエネルギー消費量に対する作用

（4.2.1.1.6、ENDO188 試験）

目的：

DIO マウスの食餌制限（CR）モデルを用いて、チルゼパチド及び GLP-1 受容体アゴニストのセマグルチドによる代謝への影響を検討するため、エネルギー消費量及び脂肪消費量に対する作用を評価した。

方法：

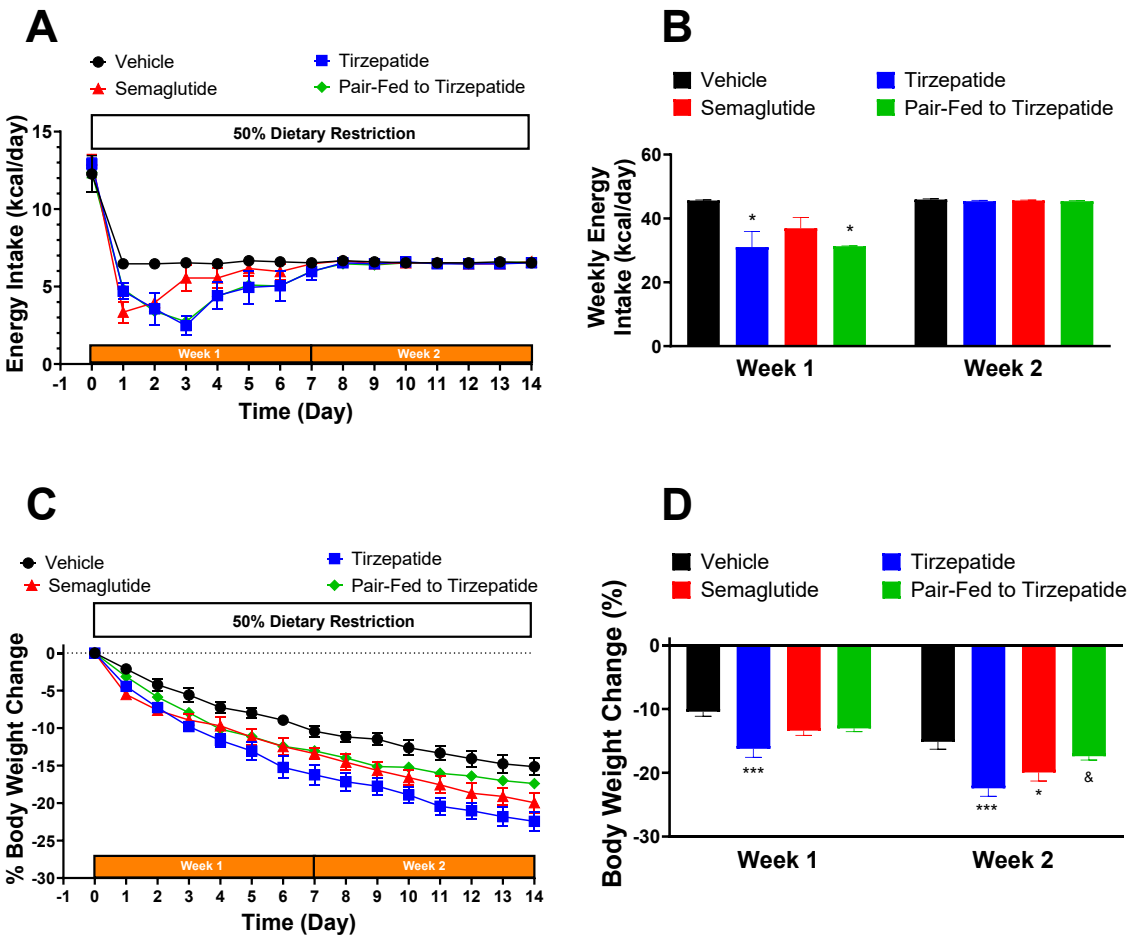
C57BL/6 DIO マウス（7～8 ヵ月齢）の CR モデルでは、マウスを計画摂食下に置き、自由摂食時に得られた 1 日摂餌量（約 3 g = 12.75 kcal）と同量の餌を与える条件下で、間接熱量測定チャンバーを用いて 1 週間モニタリングした後、50% CR（約 1.5 g）に切り替えた。CR 開始と同日から、媒体（40 mM Tris pH8.0）、チルゼパチド（3 nmol/kg）、又はセマグルチド（3 nmol/kg）を 1 日 1 回、14 日間皮下投与した。また、給餌量をチルゼパチド投与群の摂餌量と同量に調整した pair-fed 群も設けた。投与期間中、体重及び摂餌量（エネルギー摂取量）を毎日測定した。また O_2 消費量及び CO_2 産生量を継続的に測定し、これらの値から呼吸交換比（respiratory exchange ratio：RER）及びエネルギー消費量を算出した。

さらに追加試験として、チルゼパチド（3 nmol/kg）と長時間作用型 GIP 受容体アンタゴニスト（1000 nmol/kg）を併用投与し、同様のパラメータを評価した。

結果：

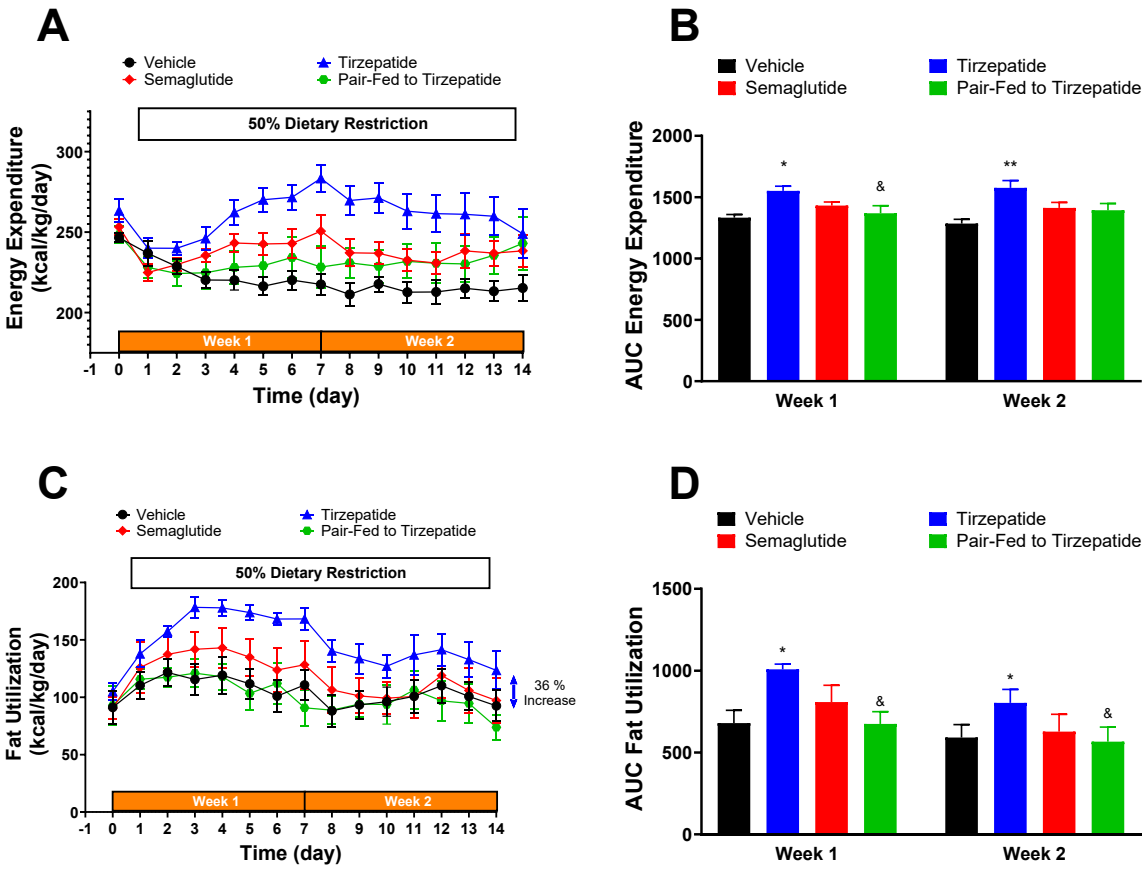
チルゼパチド投与群では、セマグルチド投与群、pair-fed 群、及び媒体投与群と比較して、CR 中の体重減少が最も顕著であった（14 日間投与終了時の体重変化率はそれぞれ 22.4 ± 1.3%、19.9 ± 1.3%、17.0 ± 0.7%、及び 15.2 ± 1.2%）（図 2.6.2- 14 C 及び D）。CR 中のエネルギー消費量は、媒体投与群、セマグルチド投与群、及び pair-fed 群で減少した（代謝適応）（図 2.6.2-15 A 及び B）。一方、チルゼパチド投与群のエネルギー消費量は CR 開始前と同程度に維持され、媒体投与群及び pair-fed 群と比較して有意に高かったことから、代謝適応が抑制されたことが示唆された（図 2.6.2-15 A 及び B）。さらに、チルゼパチド投与群では、CR 中の脂肪消費量が媒体投与群と比較して有意に高く（30%以上増加）、pair-fed 群との比較でも統計学的有意差が認められた（図 2.6.2-15 C 及び D）。

チルゼパチド投与による体重（図 2.6.2- 16 A 及び B）、摂餌量（エネルギー摂取量）（図 2.6.2-16 C 及び D）及びエネルギー消費量への作用は、GIP 受容体アンタゴニストの併用投与により、セマグルチド投与群と同程度まで抑制された（図 2.6.2- 17 A 及び B）。また、チルゼパチド投与による脂肪消費量の増加も、GIP 受容体アンタゴニストの併用投与によって抑制された（図 2.6.2-17 C 及び D）。



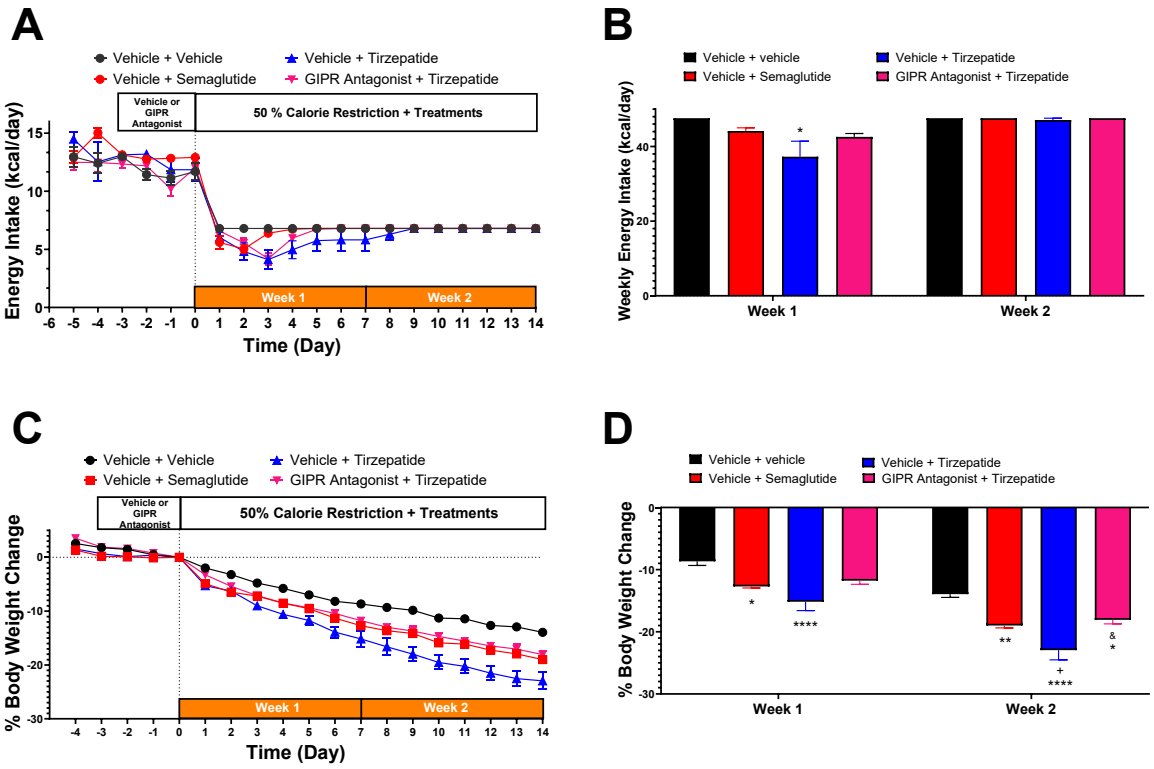
略語：DIO = 食餌誘発性肥満。
媒体、チルゼパチド（3 nmol/kg）又はセマグルチド（3 nmol/kg）を食餌制限開始日から 14 日間、1 日 1 回皮下投与したときの、1 日当たり（A）又は週ごと（B）の摂餌量、及び 1 日当たり（C）又は週ごと（D）の体重変化率を示す。pair-fed 群では、給餌量をチルゼパチド投与群の摂餌量と同じに調整した。データは 1 群 6 例の平均値± 標準誤差で示す。* $p<0.05$、*** $p<0.001$（一元配置分散分析後 Tukey 検定による媒体投与群との比較）、& $p<0.05$（一元配置分散分析後 Tukey 検定によるチルゼパチド投与群との比較）。

図 2.6.2- 14　DIO マウスの食餌制限モデルでの摂餌量及び体重変化率



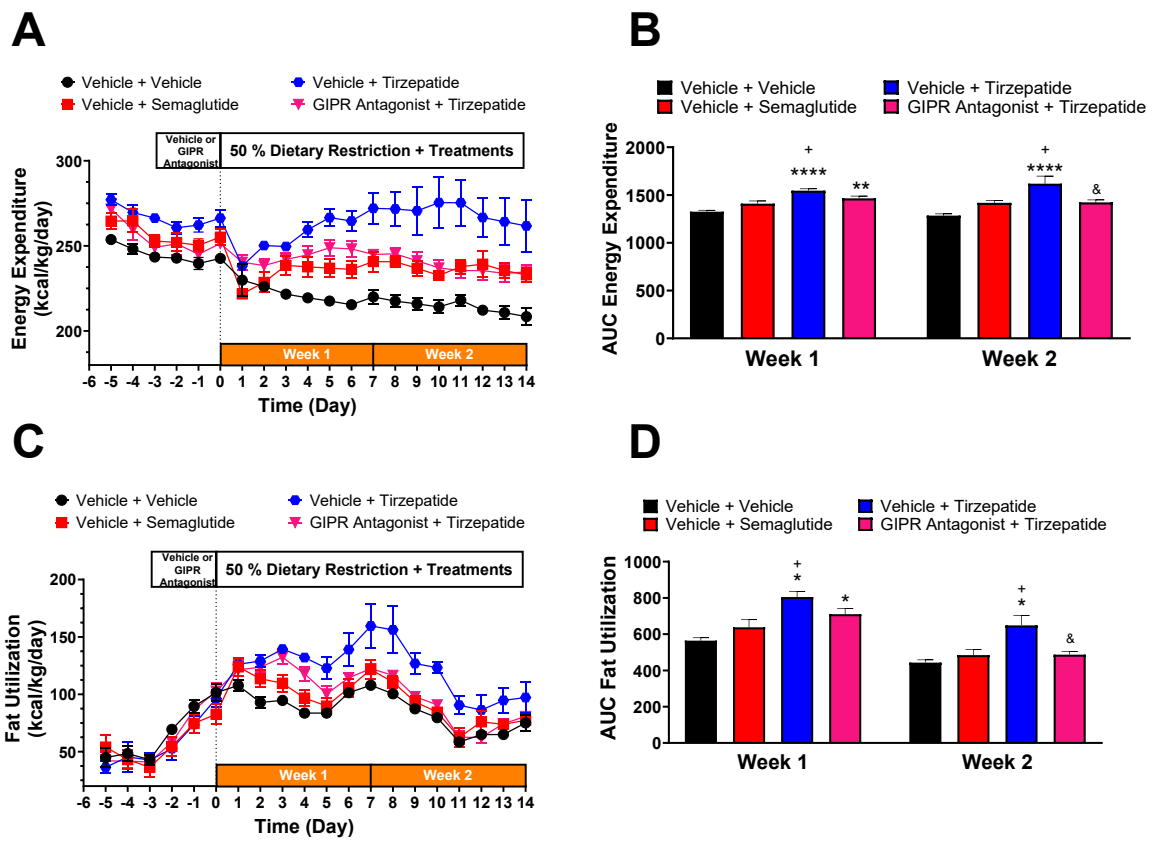
略語：AUC = 曲線下面積、DIO = 食餌誘発性肥満。
媒体、チルゼパチド（3 nmol/kg）又はセマグルチド（3 nmol/kg）を食餌制限開始日から 14 日間、1 日 1 回皮下投与したときの、1 日当たり（A、C）又は週ごと（B、D）のエネルギー消費量及び脂肪消費量を測定した。pair-fed 群では、摂餌量をチルゼパチド投与群と同じに調整した。データは 1 群 5～6 例の平均値 ± 標準誤差で示す。* p<0.05、** p<0.01（一元配置分散分析後 Tukey 検定による媒体投与群との比較）、& p<0.05（一元配置分散分析後 Turkey 検定によるチルゼパチド投与群との比較）。

図 2.6.2-15　DIO マウスにおける食餌制限中のエネルギー消費量及び脂肪消費量に対するチルゼパチド及びセマグルチドの作用



略語：AUC = 曲線下面積、DIO = 食餌誘発性肥満、GIPR = glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor。
チルゼパチド（3 nmol/kg）及びセマグルチド（3 nmol/kg）は食餌制限開始日から、媒体及び GIP 受容体アンタゴニスト（1000 nmol/kg）は食餌制限開始 4 日前から投与を開始し、1 日 1 回皮下投与したときの、1 日当たり又は週ごとのエネルギー摂取量（A、B）並びに体重変化（C、D）を測定した。データは 1 群 6 例の平均値 ± 標準誤差で示す。* p<0.05、** p<0.01、****p<0.0001（一元配置分散分析後 Tukey 検定による媒体投与群との比較）、+p<0.05（一元配置分散分析後 Tukey 検定によるセマグルチド群との比較）、& p<0.05（一元配置分散分析後 Tukey 検定によるチルゼパチド投与群との比較）。

図 2.6.2- 16　DIO マウスにおける食餌制限中のチルゼパチドによる摂餌量（エネルギー摂取量）及び体重減少作用に対する GIP 受容体アンタゴニストの拮抗作用



略語：AUC = 曲線下面積、 DIO = 食餌誘発性肥満、GIPR = glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor。
チルゼパチド（3 nmol/kg）及びセマグルチド（3 nmol/kg）は食餌制限開始日から、媒体及び GIP 受容体アンタゴニスト（1000 nmol/kg）は食餌制限開始 4 日前から投与を開始し、1 日 1 回皮下投与したときの、1 日当たり（A、B）又は週ごと（B、D）のエネルギー消費量及び脂肪消費量を測定した。データは 1 群 4～6 例の平均値 ± 標準誤差で示す。* p<0.05、** p<0.01、**** p<0.001（一元配置分散分析後 Tukey 検定による媒体投与群との比較）、+p<0.05（一元配置分散分析後 Tukey 検定によるセマグルチド群との比較）、& p<0.05（一元配置分散分析後 Tukey 検定によるチルゼパチド投与群との比較）。

図 2.6.2- 17　DIO マウスにおける食餌制限中のチルゼパチドによるエネルギー消費量増加及び脂肪消費量増加に対する GIP 受容体アンタゴニストの拮抗作用

結論：

チルゼパチド投与群では、セマグルチド投与群、pair-fed 群、及び媒体投与群と比較して、CR 中の体重減少が最も顕著であった。セマグルチド群、pair-fed 群及び媒体対照群では代謝適応が見られ、CR によりエネルギー消費量が低下した。チルゼパチド群では、エネルギー摂取量が CR による減少（50%）をさらに下回っていたにもかかわらず、エネルギー消費量は CR 前と同程度であり、チルゼパチド投与により代謝適応が抑制された。また、チルゼパチド投与群では CR 中に脂肪消費量が媒体対照群及び pair-fed 群と比較して増加した。さらに、チルゼパチドによる代謝適応の抑制及び脂肪消費量増加は、GIP 受容体アンタゴニストの併用投与により抑制されたことから、これらの作用には GIP 受容体アゴニスト作用が主に関与することが示唆された。

DIO マウスの食餌制限モデルにおいて、チルゼパチドが脂質酸化の増加を介して食餌制限中の代謝率を維持すると考えられた。チルゼパチドによる代謝適応の抑制は、体重減少の程度及び持続性の両方に寄与すると考えられた。

2.6.2.3　副次的薬理試験

新たな試験は実施していない。

2.6.2.4　安全性薬理試験

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

新たな試験は実施していない。

2.6.2.6　考察及び結論

一連の効力を裏付ける試験において、チルゼパチドの in vitro 及び in vivo 作用を評価した。

初回承認申請時に提出した効力を裏付ける試験において、チルゼパチドの体重減少作用を評価し、チルゼパチドは GLP-1 受容体アゴニストのセマグルチドと比較して体重を有意に減少させること、またチルゼパチド投与後の体重減少には、投与開始の早い時期から見られる摂食抑制と、その後に見られるエネルギー消費量の増加の 2 つの機序が寄与している可能性が示唆された（Coskun 2018、既提出申請資料［T2D］CTD 第 2.6.2 項参照）。

GIP 受容体はヒト及びマウスの脂肪細胞上に発現している。In vitro 試験において、チルゼパチドはヒト及びマウスの脂肪組織の脂肪細胞表面に結合することが示された。チルゼパチドは分化したヒト脂肪細胞で GIP 受容体を活性化し、グルコースの取込み、脂質の細胞内への取込み（血中からの除去）、及び脂肪細胞に貯蔵された脂質の排出（脂肪分解）を促進したことから、主要栄養素の貯蔵と放出の両方に影響を及ぼすことが示された。脂肪分解作用はインスリンによって抑制されることから、チルゼパチドは食事由来脂質の血中からの除去が優位な状態では脂肪細胞への脂質取込みを促進し、インスリン濃度が低く、貯蔵された脂質の放出が優位な状態でのみ脂肪分解を促進することが示唆された。

GIP 及び GLP-1 受容体はともに、食欲、摂食及び体重の制御に関与する脳の領域に存在することが知られている（Adriaenssens et al. 2019; Costa et al. 2022）。マウスの脳を用いた蛍光画像解析の結果、チルゼパチドは皮下投与により GLP-1 受容体及び GIP 受容体が存在する領域に分布し、食欲や体重の制御に関与する脳領域の神経細胞を活性化することが示された。

DIO マウスにおいて、チルゼパチドは用量依存的に体重および累積摂餌量を減少させた。チルゼパチドによる累積摂餌量の減少には、1 回当たりの摂餌量の低下と 1 日当たりの摂餌回数減少の両方が関与することが示された。また、標準試料（低脂肪食）と高脂肪食の選択摂取モデルではチルゼパチド投与により総摂取カロリー及び高脂肪食摂取量の比率が減少したことから、チルゼパチドが主要栄養素の嗜好性を変化させることが示唆された。GLP-1 受容体ノックアウトマウスでこれらの変化は認められなかったことから、GIP 受容体シグナル伝達は摂食嗜好性に影響を及ぼさないことが示唆された。これらの結果から、チルゼパチドは摂食量及び高脂肪食嗜好性を低下させることにより、総摂取カロリーを減少させ、体重を減少させると考えられた。

摂取カロリーの減少により体重を急激に減少させると、代償メカニズムとして代謝率の低下が生じるため、長期体重管理や減量プログラムの全体的な成功が妨げられる。これは代謝適応として知られる現象である。チルゼパチドは非臨床試験において、自由摂食下でエネルギー消費量を有意に増加させたのに対し、セマグルチドでは明らかな増加は認められなかった（既提出申請資料［T2D］CTD 第 2.6.2 項参照）。DIO マウスを用いた CR モデルを用いた検討では、チルゼパチドは脂質の酸化を増加させることで代謝適応を抑制する可能性が示された。チルゼパチド投与による代謝適応の抑制及び脂肪消費量の増加は、GIP 受容体アンタゴニストの併用投与によって抑制されたことから、これらの作用には GIP 受容体アゴニスト作用が主に関与することが示唆された。チルゼパチドによる代謝適応の抑制は、体重減少の程度及び持続性の両方に寄与すると考えられた。

2.6.2.7　参考文献

Adriaenssens AE, Biggs EK, Darwish T, Tadross J, et al. Glucose-Dependent Insulinotropic Polypeptide Receptor-Expressing Cells in the Hypothalamus Regulate Food Intake. *Cell Metab.* 2019 Nov 5;30(5):987-996.e6.

Andersen A, Lund A, Knop FK, Vilsbøll T. Glucagon-like peptide　1 in health and disease. *Nat Rev Endocrinol*. 2018 Jul;14(7):390-403.

Basu D, Manjur J, Jin W. Determination of lipoprotein lipase activity using a novel fluorescent lipase assay. *J Lipid Res.* 2011 Apr;52(4):826-32.

Borner T, Geisler CE, Fortin SM, Cosgrove R, et al. GIP Receptor Agonism Attenuates GLP-1 Receptor Agonist-Induced Nausea and Emesis in Preclinical Models. *Diabetes.* 2021 Nov;70(11):2545-2553.

Coskun T, Sloop KW, Loghin C, Alsina-Fernandez J, 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 Dec;18:3-14.

Costa A, Ai M, Nunn N, Culotta I, et al. Anorectic and aversive effects of GLP-1 receptor agonism are mediated by brainstem cholecystokinin neurons, and modulated by GIP receptor activation. *Mol Metab.* 2022 Jan;55:101407.

Geisler CE, Antonellis MP, Trumbauer W, Martin JA, et al. Tirzepatide suppresses palatable food intake by selectively reducing preference for fat in rodents. *Diabetes Obes Metab*. 2023 Jan;25(1):56-67.

Hansen HH, Perens J, Roostalu U, Skytte JL, et al. Whole-brain activation signatures of weight-lowering drugs. *Mol Metab*. 2021 May;47:101171.

Perens J, Salinas CG, Skytte JL, Roostalu U, et al. An Optimized Mouse Brain Atlas for Automated Mapping and Quantification of Neuronal Activity Using iDISCO+ and Light Sheet Fluorescence Microscopy. *Neuroinformatics.* 2021 Jul;19(3):433-446.

Regmi A, Roell W. Differentiation of human subcutaneous adipocytes and of lipolytic function induced by GIP or LY3437943. *STAR Protoc.* 2023 May 12;4(2):102304.

Zhang Q, Delessa CT, Augustin R, Bakhti M, et al. The glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) regulates body weight and food intake via CNS-GIPR signaling. *Cell Metab.* 2021 Apr 6;33(4):833-844.e5.

ゼップバウンド皮下注 2.5mg アテオス
ゼップバウンド皮下注 5mg アテオス
ゼップバウンド皮下注 7.5mg アテオス
ゼップバウンド皮下注 10mg アテオス
ゼップバウンド皮下注 12.5mg アテオス
ゼップバウンド皮下注 15mg アテオス

2.6.3　薬理試験概要表

日本イーライリリー株式会社

目次

2.6.3 Pharmacology Tabulated Summary 1
2.6.3.1 Pharmacology: Overview 1
2.6.3.2 Primary Pharmacodynamics 2
2.6.3.3 Secondary Pharmacodynamics 3
2.6.3.4 Safety Pharmacology 3
2.6.3.5 Pharmacodynamic Drug Interactions 3

2.6.3 Pharmacology Tabulated Summary

2.6.3.1 Pharmacology: Overview

Table 2.6.3.2- 1. Overview of Pharmacology Studies

Type of Study	Test System	Route	Testing Facility	Document ID	Section #
Primary Pharmacodynamics					
Tirzepatide binding to receptors on whole adipocyte	Mouse and human adipose tissue	In vitro	Eli Lilly and Company Indianapolis, Indiana, USA	ENDO190	4.2.1.1.1
Signaling in adipocyte (cAMP assay), Regulation of glucose uptake, Regulation of lipid uptake and efflux	Differentiated human adipocytes	In vitro	Eli Lilly and Company Indianapolis, Indiana, USA	ENDO190	4.2.1.1.1
Brain distribution of tirzepatide-AF647	C57BL/6 mouse	SC	Eli Lilly and Company Indianapolis, Indiana, USA	ENDO187	4.2.1.1.2
Brain cFos expression	C57BL/6 mouse	SC	Eli Lilly and Company Indianapolis, Indiana, USA	ENDO186	4.2.1.1.3
Effects on meal size and meal frequency in DIO mouse	C57BL/6 mouse	SC	Eli Lilly and Company Indianapolis, Indiana, USA	ENDO179	4.2.1.1.4
Effects on macronutrient preference	C57BL/6 mouse	SC	Eli Lilly and Company Indianapolis, Indiana, USA	Geisler et al. 2023	4.2.1.1.5
Effects on lipid utilization and energy expenditure in dietary restricted model	C57BL/6 mouse	SC	Eli Lilly and Company Indianapolis, Indiana, USA	ENDO188	4.2.1.1.6
Secondary Pharmacodynamics					
Not applicable					
Safety Pharmacology					
Not applicable					
Pharmacodynamic Drug Interactions					
Not applicable					

Abbreviations: TZP-AF647 = AlexaFluor-647 conjugated tirzepatide; cAMP = cyclic adenosine monophosphate; DIO = diet-induced obese; ID = identification; SC = subcutaneous.

2.6.3.2 Primary Pharmacodynamics

Table 2.6.3.2- 2. Overview of Primary Pharmacology Studies

Type of Study	Test System	Route	Test article Doses	Number of Replicates /Animals	Noteworthy Findings	GLP	Document ID
Tirzepatide binding to the receptor on whole adipocytes	Mouse and human adipose tissue	In vitro	10–100 nM (as TZP-AF647)	NA	Tirzepatide binds to the surface of human and mouse adipocytes in adipose tissue.	No	ENDO190
Signaling in adipocytes, Regulation of glucose uptake, Regulation of lipid uptake and efflux.	Differentiated human adipocytes	In vitro	See footnote ‘a’	2-3	Tirzepatide activates GIP receptor signaling. Tirzepatide regulates glucose uptake, lipid uptake, and lipid efflux in a manner supporting both storage and release of macronutrients in adipocytes.	No	ENDO190
Brain distribution of TZP-AF647	C57BL/6 mouse	SC	0[b], 30 nmol/kg (as TZP-AF647)	6	The fluorescence signal from the SC administered TZP-AF647 was detected in several circumventricular brain regions.	No	ENDO187
Brain cFos expression	C57BL/6 mouse	SC	0[b], 30 nmol/kg	8	Single SC administration of tirzepatide led to substantial modulation of c-Fos activity across the entire rostro-caudal axis of the brain, impacting specific regions known to regulate appetite and body weight.	No	ENDO186
Effects on meal size and meal frequency in DIO mouse	C57BL/6 DIO mouse	SC	0[b], 1, 3,10, 30 nmol/kg	6-8	Tirzepatide decreased both meal size and meal frequency in obese mice.	No	ENDO179
Effects on macronutrient preference	C57BL/6 Mouse (WT/GLP-1R KO)	SC	0[b], 3 nmol/kg	4-6	Tirzepatide decreased the preference for high-fat diet resulting in suppressed total caloric intake.	No	Geisler et al. 2023
Effects on lipid utilization and energy expenditure in dietary restricted model	C57BL/6 DIO mouse	SC	See footnote ‘a’	6	Tirzepatide uniquely maintains metabolic rate in the setting of reduced calorie intake, potentially via increased lipid oxidation, in DIO mice.	No	ENDO188

Abbreviations: DIO = diet-induced obese; GIP = glucose-dependent insulinotropic polypeptide; GLP = Good Laboratory Practice; GLP-1R KO = glucagon-like peptide-1 receptor knock out; ID = identification; NA = not applicable; SC = subcutaneous; TZP-AF647 = AlexaFluor-647 conjugated tirzepatide; WT = wild type.

[a] Refer to the CTD 2.6.2 or the study report for treatment details.

[b] Vehicle control.

2.6.3.3　Secondary Pharmacodynamics

Not applicable.

2.6.3.4　Safety Pharmacology

Not applicable.

2.6.3.5　Pharmacodynamic Drug Interactions

Not applicable.