

リナグリプチンのヒト非線形薬物動態を記述する生理学的
薬物速度論モデルの構築と応用

更科 晶子

令和2年7月

博士論文

リナグリプチンのヒト非線形薬物動態を記述する生理学的
薬物速度論モデルの構築と応用

金沢大学大学院医薬保健学総合研究科

創薬科学専攻

分子薬物治療学研究室

学籍番号

1429012015

氏名

更科 晶子

主任指導教員名

加藤 将夫

目次

略語及び主な記号一覧.....	2
第1章 序論.....	3
第2章 静脈内投与後のリナグリプチンの生理学的薬物速度論モデルの構築	6
第1節 緒言.....	6
第2節 方法.....	8
第3節 結果.....	19
第4節 考察.....	30
第3章 静脈内及び経口投与後のリナグリプチンのPBPKモデルの構築.....	35
第1節 緒言.....	35
第2節 方法.....	36
第3節 結果.....	38
第4節 考察.....	51
第4章 静脈内及び経口投与後のリナグリプチンのPBPKモデルの応用.....	54
第1節 緒言.....	54
第2節 方法.....	55
第3節 結果.....	56
第4節 考察.....	62
第5章 総括.....	64
Supplement.....	66
引用文献	74

略語及び主な記号一覧

-2LL	-2 log likelihood
AIC	Akaike information criterion
AUC	Area under the curve
$C_{b,p}$	結合形血漿中濃度
CL_{d-t}	尿細管腔から尿細管へのクリアランス
$CL_{int,h}$	肝固有クリアランス
CL_{sec}	尿細管から尿細管腔への分泌クリアランス
$C_{u,p}$	非結合形血漿中濃度
CV	Coefficient variation
DPP-4	Dipeptidyl peptidase-4
f_{bile}	胆汁中排泄と代謝過程の合計に対する胆汁中排泄の比
fe_{0-24h}	投与後 24 時間までの尿中排泄率
$f_{u,p}$	血漿中非結合形分率
GFR	Glomerular filtration rate
K_1	飽和性の結合部位の結合定数
K_2	非飽和性の結合部位の結合定数
K_d	解離定数
k_{chc}	腸肝循環コンパートメントの通過速度定数
K_m	Michaelis-Menten constant
K_p	組織への分配係数
k_s	胃内容排出速度
k_t	腸管コンパートメントでの移行速度定数
N_1	飽和性の結合部位の濃度
N_2	非飽和性の結合部位の濃度
PBPK model	Physiologically-based pharmacokinetic model
P_{eff}	小腸の透過係数
P-gp	P-glyco protein
R_B	血漿中濃度に対する全血中濃度比
TMDD	Target mediated drug disposition
V_{max}	Maximal velocity
ρ	非結合形の薬剤の血漿中濃度に対する血球中濃度の比

第1章 序論

リナグリプチン (トラゼンタ[®]) はジペプチジルペプチダーゼ-4 (DPP-4) 阻害剤であり、2型糖尿病を適応症として1日1回5mgの用法用量で承認されている (Sarashina et al., 2010; Thomas et al., 2008)。他のDPP-4阻害剤と異なり、リナグリプチンは主に未変化体として糞中に排泄され、尿中排泄はマイナーな排泄経路である (Golightly et al., 2012)。一方、2型糖尿病患者にリナグリプチンをレニン-アンジオテンシン-アルドステロン経路阻害剤と併用投与するとアルブミン尿及び腎機能障害を有意に低下させることが報告されており (Groop et al., 2013)、リナグリプチンの腎臓保護作用が示唆されている。リナグリプチンの薬理的な標的である DPP-4 は 2 種類の形で存在する (Rasmussen et al, 2003)。1つは膜結合型であり、腎臓及び胎盤に高発現し、肺や肝臓に中程度に発現している。もう1つは可溶型 (Abbott et al., 1994) であり、血中を循環し、リナグリプチンを含む DPP-4 阻害剤と結合し得る。

リナグリプチンは特徴的な薬物動態プロファイルを有する。まず DPP-4 への高親和性かつ飽和性の結合のため、臨床濃度範囲で血漿中蛋白結合率が非線形性を示す (Fuchs, Tillement et al., 2009)。さらにリナグリプチンの血漿中薬物動態は経口投与後及び静脈内投与後ともに非線形であり、血漿中濃度-曲線下面積 (AUC) は用量比以下の増加を示す (Sarashina et al., 2010, Retlich, Duval, Ring et al., 2010)。Retlichらは、このような非線形の血漿中濃度推移を母集団薬物動態モデルによって記述している (Retlich et al., 2010, Retlich et al., 2015)。リナグリプチンの尿中排泄量推移にも非線形性がみられ、尿中排泄量は用量比以上に増加する (Sarashina et al., 2010, Retlich, Duval, Ring et al., 2010)。リナグリプチンのこのような血漿中及び尿中の非線形性は DPP-4 への結合の飽和によるものであると推察される。しかしながら、ヒトにおいて血漿中蛋白結合の非線形性と薬物動態の非線形性との関係を示す直接的な根

拠はこれまでに得られていない。そのような根拠はリナグリプチンの患者での薬物動態をさらに正確に理解するために有用であるのみならず、DPP-4 阻害剤のような低分子薬剤の標的介在性の薬物消失 (target mediated drug disposition: TMDD) の薬物動態モデルの事例としても役立つと考えられる。

従来のコンパートメントモデルが解剖学的な臓器や組織を表していないのに対し、生理学的薬物速度論 (physiologically-based pharmacokinetic: PBPK) モデルは、生理学的な臓器を想定したモデルであるという特徴を有する (Kuepfer et al., 2016)。よって PBPK モデルはリナグリプチンの非線形な薬物動態や TMDD を記述するために有用であると考えられる。本研究の目的はリナグリプチンの PBPK モデルを構築し、血漿中およびリナグリプチンが主に分布する臓器での薬理学的な標的である DPP-4 との相互作用を仮定し、その特徴的な薬物動態推移を記述すること、さらに構築した PBPK モデルを利用して、血漿中総薬物濃度並びに安全性及び有効性に関係すると考えられる血漿中非結合形濃度のシミュレーションを行うことでリナグリプチンの薬物動態に重要なパラメータの影響を考察し、PBPK モデルの応用の可能性を考察することである。

本研究では、市販のソフトウェアで構築されている PBPK モデルのようにヒトの全臓器を組み込んだモデルを構築するのではなく、必要最小限の臓器を組み込んだ PBPK モデルを構築することにより、リナグリプチンの標的介在性の非線形な薬物動態を探索的に記述することを試みた。また、リナグリプチンの薬物動態には非線形性に加えて腸肝循環も示唆されており (McGill, 2012)、経口投与後のデータは複雑な PBPK モデルの構築の妨げとなる可能性が考えられたため、まず静脈内投与後のデータに基づいてモデルを構築した後、経口投与後のデータも含めてモデルを構築す

る、というように段階的にモデル構築を行った。第 2 章ではリナグリプチンの静脈内投与後の PBPK モデル構築について、第 3 章ではリナグリプチンの静脈内投与後及び経口投与後の PBPK モデル構築について述べる。さらに第 4 章では第 3 章で構築したリナグリプチンの PBPK モデルを用いて薬物動態に重要であると考えられるパラメータについて様々な条件で薬物動態をシミュレーションし、それらのパラメータの血漿中総薬物濃度並びに安全性及び有効性に影響を及ぼすと考えられる血漿中非結合形濃度への影響について考察した。

第2章 静脈内投与後のリナグリプチンの生理学的薬物速度論モデルの構築

第1節 緒言

リナグリプチンのように臨床濃度範囲で蛋白結合率が濃度依存的な薬剤の場合、蛋白結合率が関係する血漿中濃度に対する全血中濃度比 (R_B)、組織への分配係数 (K_p) など通常 PBPK モデル作成時に一定の値と想定するような薬物動態関連パラメータも蛋白結合率の影響を受けるため一定の値にならない。そこで本章では、まずリナグリプチンの濃度依存的な蛋白結合率が R_B 値に及ぼす影響を確認し、その後、それを組み込んだ PBPK モデルの構築を行った。モデル構築は、以下のように段階的に行った。

複数の用量の静脈内及び経口投与後のヒトにおける薬物動態データが報告されているが (Sarashina et al., 2010, Retlich, Duval, Ring et al., 2010)、本章ではまず静脈内投与後のデータを用いてモデルを構築した。初めに、リナグリプチンが主に分布する臓器を選択し、さらに DPP-4 の発現情報を加味し、血液、筋肉、皮膚、腎臓に DPP-4 との非線形な結合を組み込んだ。最終的なモデルでは経口投与後のデータも記述することから、吸収に関与する腸管のモデルや腸肝循環コンパートメントも文献に従って組み込み、静脈内投与後の基本モデル (iv base model) を構築した。iv base model で用いた尿細管から尿細管腔への分泌のみを仮定した腎臓モデルでは尿中排泄量の非線形性を十分に記述出来なかったため、さらに 2 つの腎臓モデルを検討した。

最後に $[^{14}\text{C}]$ 標識したリナグリプチンをヒトに静脈内投与後のマスバランス試験から得られた尿中及び糞中排泄データを用いて、ヒトでの腸肝循環に関連するパラメータを固定し、得られた値を用いて **final iv model** を構築した。以下に静脈内投与後の PBPK モデル (**final iv model**) 構築過程の詳細を示す。

第2節 方法

2-2-1. 解析データセット

蛋白結合率の検討は Fuchs らの文献のデータに基づいて行った (Fuchs, Tillement et al., 2009)。PBPK モデルの構築には健康成人を対象としたリナグリプチン 0.5、2.5、5 及び 10 mg 静脈内投与後のデータ (Retlich, Duval, Ring et al., 2010) 及び¹⁴Cで標識したリナグリプチン 5 mg を静脈内投与後のマスバランス試験 (Blech et al., 2010) のデータを用いた。

2-2-2. コンピューターソフトウェアおよびモデル評価

モデル構築およびシミュレーションは Phoenix Winnonlin[®] (Version 8.1, Certara, USA, Inc, Princeton, New Jersey) を用いて行った。各モデルの妥当性はモデルによる予測値と実測値のフィッティングを視覚的に評価すること及び Akaike information criterion (AIC) 及び -2 log likelihood (-2LL) の値により評価した。

2-2-3. R_B のリナグリプチン濃度依存性の検討

リナグリプチンの非線形の蛋白結合は Fuchs らの文献 (Fuchs, Tillement, et al., 2009) に基づき、1 つの飽和性の結合部位と 1 つの非飽和性の結合部位を仮定した以下の式によって記述した。

$$C_{b,p} = \frac{N_1 \cdot K_1 \cdot C_{u,p}}{1 + K_1 \cdot C_{u,p}} + (N_2 \cdot K_2) \cdot C_{u,p} \quad (1)$$

ここで $C_{b,p}$ 及び $C_{u,p}$ は結合形又は非結合形リナグリプチンの血漿中濃度、 N_1 及び N_2 は飽和性又は非飽和性の結合部位の濃度、 K_1 及び K_2 は飽和性又は非飽和性の結

合部位の結合定数を示す。血漿中濃度に対する血中濃度の比 (R_B) は以下の式で記述した。

$$R_B = 1 + \text{Hematocrit} \times (f_{u,p} \times \rho - 1) \quad (2)$$

ここで ρ は非結合形の薬剤の血漿中濃度に対する血球中濃度の比を示す。式 (2) に示されるように血漿中非結合形分率 ($f_{u,p}$) は蛋白結合の非線形性のためリナグリプチンの濃度に依存するため、 R_B もリナグリプチン濃度に依存する。本研究では ρ の値は [^{14}C] 標識したリナグリプチンを静脈内投与した後の最初のサンプル採取時点の血中および血漿中濃度を用いて算出した値に固定した。ヘマトクリット値は0.45とした。

2-2-4. モデル構築

2-2-4-1. 静脈内投与後のリナグリプチンの PBPK モデル構築過程

モデル構築過程をFig. 1に要約した。まず健康成人を対象とした静脈内投与後の血漿中濃度及び尿中排泄-時間推移に基づいて、静脈内投与後の基本となるPBPKモデル (base iv model) を構築した。モデルには物理化学的なパラメータ、トランスポーター関連やCaco-2細胞の透過性といった*in vitro*データ、生理学的パラメータを用いた (Table 1、2)。その後、尿中排泄量の記述を最適化するためのモデル検討、ヒトにおけるマスバランス試験データを用いた胆汁中排泄と代謝過程の合計に対する胆汁中排泄の比 (f_{bile}) の最適化過程を経て静脈内投与後のPBPKモデル (final iv model) を構築した。その後の経口投与後のデータも含めたモデル構築過程に関しては第3章で述べる。各静脈内投与後モデル構築過程の詳細は2-2-4-2項から2-2-4-5項に記載した。

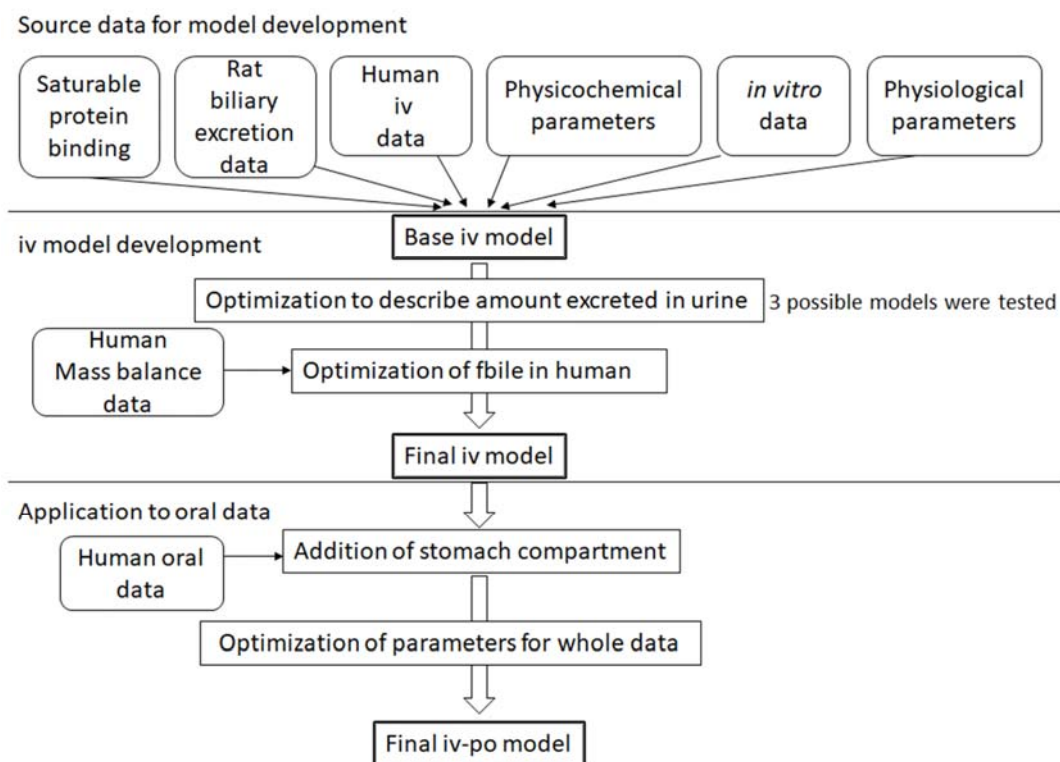


Fig. 1 A framework for the model development in the present study

The base iv model was first developed with linagliptin saturable protein binding data, biliary excretion data in rats, iv data in humans, physicochemical parameters, *in vitro* data, and physiological parameters. After optimization of the kidney component of the PBPK model, the final iv model was developed by further optimization of the ratio of biliary excretion to sum of biliary excretion and metabolism (f_{bile}) value using human mass balance data. The stomach compartment was incorporated into the final iv model, and the blood concentration and urinary excretion profiles after oral dosing were then simulated. The final iv-po model was then built by re-estimating the parameters including those related to the gastrointestinal absorption process using both iv and po data.

Table 1 Linagliptin related parameters used in the PBPK model

Parameters	Values	Unit	Reference
Physicochemical values ^a			(Pharmaceuticals and Medical Devices Agency)
pKa1	8.6		
pKa2	1.9		
logP	1.7		
Partition coefficient ^a			(Rodgers & Rowland, 2007)
K _{pu,liver}	1.54 x 10 ³		
K _{pu,gut}	812		
K _{pu,kidney}	1.69 x 10 ³		
K _{pu,muscle}	516		
K _{pu,skin}	445		
Transporter (P-gp)			
Michaelis-Menten constant (K _{m,pgp})	187	μM	(Ishiguro et al., 2013)
Maximal velocity (V _{max,pgp})	17.7	nmol/h/cm ²	
Permeability in Caco-2 cells	3.56	x10 ⁻⁶ cm/s	(Pharmaceuticals and Medical Devices Agency)

^a) Partition coefficient values were calculated based on the equation reported by Rodgers and Rowland (Rodgers & Rowland, 2007) using physicochemical values

Table 2 Physiological parameters

Parameter	Value	Units	References
Transit rates			
Duodenum transit rate constant ($kt1$)	4.07	h^{-1}	(Guo et al., 2013)
Jejunum transit rate constant ($kt2$) ^a	1.62	h^{-1}	
Ileum transit rate constant ($kt3$) ^a	2.19	h^{-1}	
Radius of small intestine			
Mean duodenal radius ($r1$)	2	cm	(Guo et al., 2013)
Mean jejunal radius ($r2$)	1.63	cm	
Mean ileal radius ($r3$)	1.45	cm	
Volumes of organs			
Blood (V_{blood})	5.2	L	(Guo et al., 2013)
Duodenum wall (V_{GW1})	0.021	L	(Guo et al., 2013)
Jejunum wall (V_{GW2})	0.063	L	(Guo et al., 2013)
Ileum wall (V_{GW3})	0.042	L	(Guo et al., 2013)
Portal vein (V_{PV})	0.070	L	(Guo et al., 2013)
Muscle (V_{mus})	35	L	(Davies & Morris, 1993)
Skin (V_{skin})	7.8	L	(Davies & Morris, 1993)
Liver (V_H)	1.5	L	(Mano et al., 2015)
Renal tubules (V_{tubule}) ^b	0.153	L	
Renal duct (V_{duct}) ^b	0.127	L	
Blood flows			
Enterocytic blood flow rate in the duodenum (Q_{ent1})	2.7	L/h	(Guo et al., 2013)
Enterocytic blood flow rate in the jejunum (Q_{ent2})	10.4	L/h	(Guo et al., 2013)
Enterocytic blood flow rate in the ileum (Q_{ent3})	6.12	L/h	(Guo et al., 2013)
Muscle blood flow rate (Q_{mus})	45	L/h	(Davies & Morris, 1993)
Skin blood flow rate (Q_{skin})	18	L/h	(Davies & Morris, 1993)
Liver blood flow rate (Q_H)	87	L/h	(Davies & Morris, 1993)
Hepatic artery blood flow rate (Q_{HA})	18	L/h	(Davies & Morris, 1993)
Portal vein blood flow rate (Q_{PV})	69	L/h	(Davies & Morris, 1993)
Renal blood flow rate (Q_k)	74.4	L/h	(Davies & Morris, 1993)
Urinary flow rate (Q_u)	0.06	L/h	(Hall, 2016)

Glomerular filtration rate (GFR)	7.2	L/hr	(Rowland & Tozer, 2002)
Expressed amount of P-gp ^c			
Duodenum (F _{pgp1})	0.64		(Guo et al., 2013)
Jejunum (F _{pgp2})	0.84		
Ileum (F _{pgp3})	1		
Total area of the intestine ^d	2.00	x 10 ⁶ cm ²	(Sugano, 2012)

^a The jejunum transit rate constant (k_{t2}) and ileum transit rate constant (k_{t3}) were defined by multiplying k_{t1} by the ratio of reported value of k_{t2} and k_{t3} to k_{t1} , respectively. ¹

^b The duct volume (V_{duct}) was calculated by multiplying the sum of the volumes of glomeruli, proximal tubule, distal tubule, and collecting duct per nephron with the number of nephrons. (Alpern, Hebert, Seldin, & Giebisch; Barrett, Boitano, & Barman, 2010; Beresford; Samuel, Hoy, Douglas-Denton, Hughson, & Bertram, 2005; Zimanyi et al., 2009) The volume of the renal tubules (V_{tubule}) was calculated by subtraction of V_{duct} from the total kidney volume (0.28 L). (Davies & Morris, 1993)

^c The expression level was normalized to that in ileum.

^d The areas of the duodenum, jejunum and ileum were each set to one third of the total area of the intestine.

2-2-4-2. Base iv modelの作成

静脈内投与後のリナグリプチンの PBPK モデルの構造を Fig. 2 に示す。各コンパートメントの物質収支式は Supplement に示した。Base iv model は 3 つの腸管コンパートメント、門脈コンパートメント、3 つの腸肝循環コンパートメント、血液コンパートメント、肝臓コンパートメント、筋肉コンパートメント、皮膚コンパートメント及び 2 つの腎臓コンパートメントからなり、胃コンパートメントは含めなかった (Fig. 2)。この段階では、腎臓の尿細管腔コンパートメントと尿細管コンパートメント間に尿細管から尿細管腔への分泌クリアランス (CL_{sec}) を組み込んだが、尿細管腔から尿細管へのクリアランス (CL_{d-t}) は組み込まなかった (Fig. 3)。この base iv model を model 1 とした (2-2-4-3 項参照)。

十二指腸、空腸、回腸、腸壁、門脈コンパートメントからなる吸収過程のモデルは Guo H ら (Guo et al., 2013) の文献を、腸肝循環に関しては Yoshikado らの文献 (Yoshikado et al., 2016) を基にモデルを構築した。腎臓モデルは Sirianni らの文献 (Sirianni & Pang, 1998) を若干変更したモデルを用いた。リナグリプチンが主に分布する臓器をモデルに含めた (Fig. 2)。非線形な蛋白結合を血液、筋肉、皮膚及び腎臓コンパートメントに組み込み、 K_1 は全臓器で同一と仮定し、血漿中 (N_1)、筋肉中 (N_{1mus})、皮膚 (N_{1skin}) 及び腎臓 (N_{1k}) の結合部位濃度は臓器によって異なることと仮定した。ただし、推定するパラメータ数を減らすため N_{1skin} は N_{1mus} に筋肉に対する

皮膚の DPP-4 活性の比を乗じることによって記述した (supplement 参照)。ヒトでの文献値がなかったため、これら 2 つの臓器の DPP-4 活性の比に種差が無いと仮定し、ラットでの文献値を使用した。健康成人に 4 用量 (0.5、2.5、5 及び 10 mg) のリナグリプチンを静脈内投与後の血漿中濃度推移及び尿中排泄量 (Retlich, Duval, Ring, et al., 2010) に対してモデルを当てはめることにより、蛋白結合に関するパラメータ (K_1 , N_1 , N_{1mus} , N_{1k} , 及び $N_2 \cdot K_2$)、肝固有クリアランス ($CL_{int,h}$)、腎臓での分泌クリアランス (CL_{sec}) 並びに腸肝循環コンパートメントの通過速度定数 (k_{ehc}) を推定した。胆汁中排泄と代謝の合計に対する胆汁中排泄の比 (f_{bile}) はラットの胆汁中排泄データ (Pharmaceuticals and Medical Devices Agency) から算出した 0.595 に固定した。また、小腸の透過係数 (P_{eff}) はリナグリプチンの Caco-2 細胞の透過性データ (Pharmaceuticals and Medical Devices Agency) を用いて、Sun らが報告した式 (Sun et al., 2002) に従って算出した 0.237 cm/h に固定した。

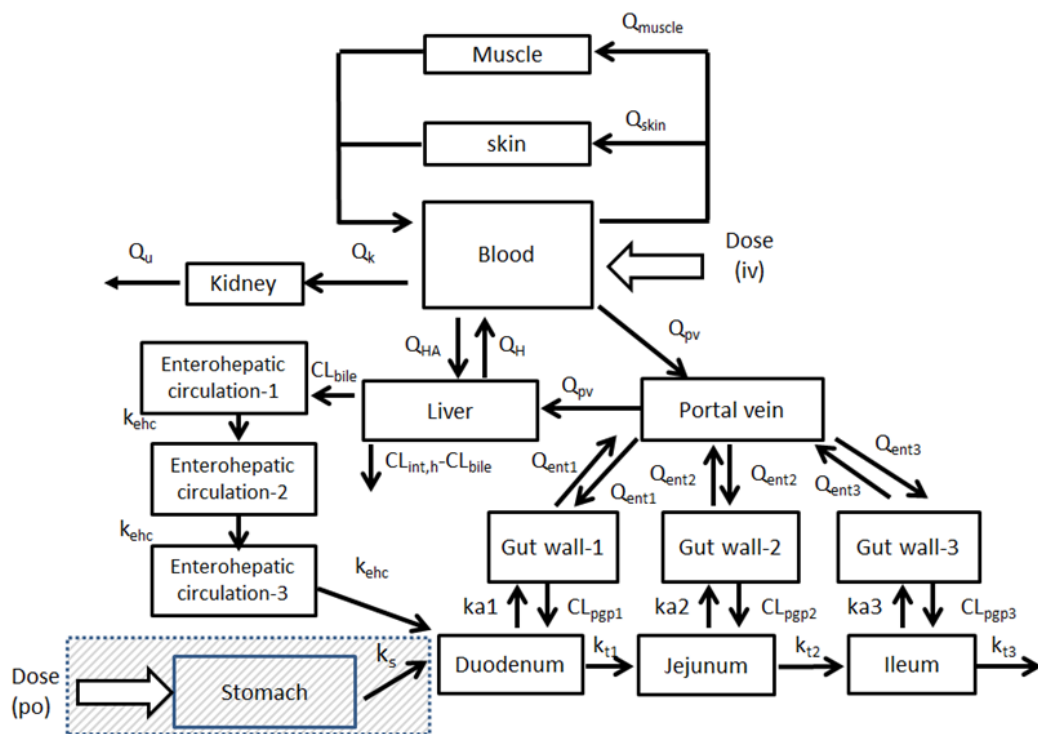


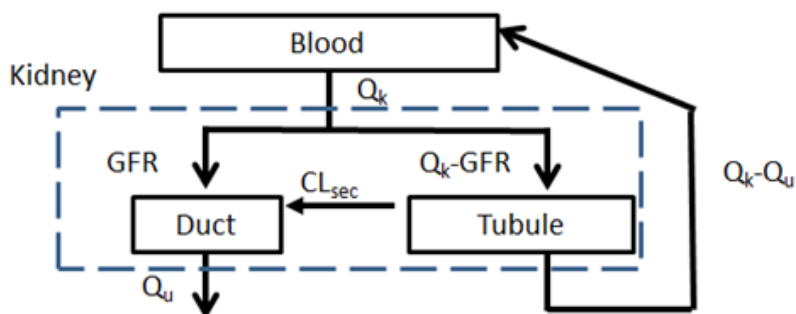
Fig. 2 Schematic representation of PBPK model for linagliptin after intravenous administration

The shaded box including the stomach compartment was incorporated only in the final iv-po model. k_s is the gastric emptying rate; k_{a1-3} the absorption rate constant in duodenum (k_{a1}), jejunum (k_{a2}), and ileum (k_{a3}); k_t the transit rate constant from duodenum (k_{t1}), jejunum (k_{t2}), and ileum (k_{t3}); k_{ehc} the transit rate constant for enterohepatic circulation; CL_{pgp1} , CL_{pgp2} , and CL_{pgp3} are the clearances for basolateral to apical transfer in duodenum, jejunum, and ileum, respectively; Q_{ent1-3} is the enterocytic blood flow between gut wall 1-3 and portal vein compartment; Q_{pv} the portal vein blood flow; Q_H the liver blood flow; Q_{HA} the hepatic artery blood flow; Q_k the renal blood flow rate; Q_{muscle} the muscle blood flow; Q_{skin} the skin blood flow; Q_u the urinary flow rate; $CL_{int,h}$ the hepatic intrinsic clearance; f_{bile} the ratio of biliary excretion to sum of biliary excretion and metabolism; GFR is the glomerular filtration rate; CL_{sec} the clearance from tubule to duct, and CL_{d-t} the clearance from duct to tubule. Note that CL_{pgp} was assumed to be saturable in the present study (see Supplement).

2-2-4-3. 腎臓モデルの最適化

次に 4 用量の静脈内投与後の尿中排泄量を記述するために、腎臓モデルを検討することとした。リナグリプチンの非線形な尿中排泄データを記述するために Model 1 から 3 までの 3 つのモデルを検討した (Fig. 3)。Model 1 では CL_{sec} のみを考慮し、 CL_{d-t} は考慮しなかった。Model 2 では CL_{sec} 及び CL_{d-t} を考慮し、非結合形のみが膜を透過すると仮定し、 CL_{d-t} は尿細管腔からの非結合形濃度のクリアランスとして定義した。Model 3 でも CL_{sec} 及び CL_{d-t} を考慮し、このモデルでは結合形のみが膜を透過すると仮定し、 CL_{d-t} は尿細管腔からの結合形濃度のクリアランスとして定義した。各モデルは Retlich らが報告した健康成人に 4 用量 (0.5、2.5、5 及び 10 mg) のリナグリプチンを静脈内投与した後の血漿中濃度推移及び尿中排泄量 (Retlich, Duval, Ring, et al., 2010) にフィッティングすることにより推定し、これらの中から最適なモデルを選択した。

1) Without clearance from duct to tubule (model 1)



2) With clearance from duct to tubule (model 2 and 3)

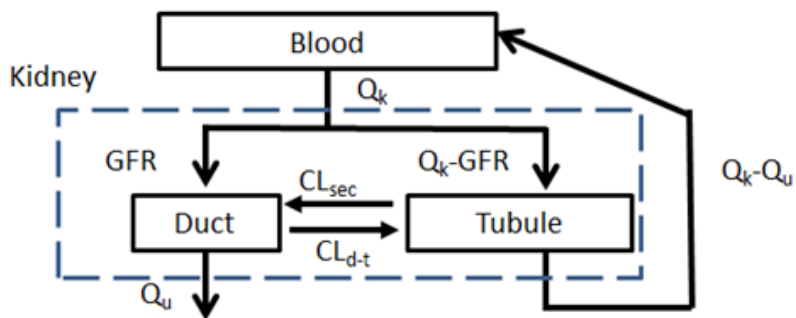


Fig. 3 Schematic representation of the kidney models included in the PBPK model

All models included GFR and CL_{sec} , whereas models 2 and 3 also included the clearance from duct to tubule of unbound and bound linagliptin, respectively, to describe the nonlinear urinary excretion of linagliptin.

2-2-4-4. f_{bile} の最適化

Model 3 に対して $[^{14}C]$ 標識したリナグリプチン 5 mg を静脈内投与後のヒトマスバラン
ス試験 (Blech et al., 2010) から得られた未変化体及び総 $[^{14}C]$ 放射能の尿中及び糞
中排泄データを当てはめることによって腸肝循環に関する f_{bile} と k_{ehc} の値を最適化し
た。この際、 f_{bile} と k_{ehc} 以外の全てのパラメータは model 3 の値に固定した。詳細な方

法は Supplement に記載した。

2-2-4-5. final iv modelの構築

f_{bile} を 2-2-4-4 項で推定した値に固定し、model 3 を再度 4 用量の静脈内投与後の血漿中及び尿中データ (Retlich, Duval, Ring, et al., 2010) に当てはめて K_1 、 N_1 、 N_{1mus} 、 N_{1k} 、 $N_2 \cdot K_2$ 、 $CL_{int,h}$ 、 CL_{sec} 、 CL_{d-t} 及び k_{chc} を再度推定することにより、final iv model を得た。

第 3 節 結果

2-3-1. R_B の血漿中リナグリプチン濃度依存性

Fuchsら及び Blechらによって報告されたリナグリプチンの $f_{u,p}$ 及び R_B の値 (Blech et al., 2010; Fuchs, Tillement, et al., 2009) は濃度依存的であった (Fig. 4)。濃度依存的な $f_{u,p}$ の値を、Fuchsらの論文に記載されている *in vitro* 試験から得られたパラメータ (N_1 、 N_2 、及び $N_2 \cdot K_2$) の値と Supplement の式 (2) に基づいて様々な C_p において算出された $C_{u,p}$ を C_p で除することによって算出した (Fuchs, Tillement, et al., 2009)。文献で報告されている $f_{u,p}$ の値は上述のように算出された値によって良く記述された (Fig. 4)。 R_B の値に関して ρ の値 (2.03) は式 (2) 及び Blechらの報告 (Blech et al., 2010) のデータから算出した。濃度依存的な R_B の値は、この ρ の値及び式 (2) によって良く記述され (Fig. 4)、 R_B の非線形性は蛋白結合の非線形性によって説明されることが示唆された。

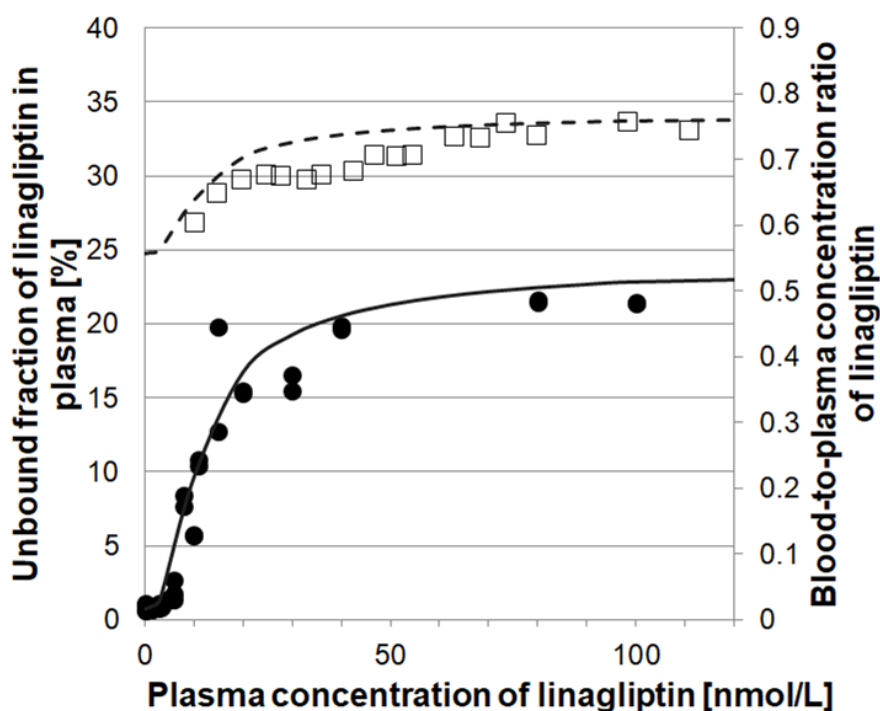


Fig. 4 Concentration dependence of linagliptin plasma protein binding and blood-to-plasma concentration ratio

The closed circles show the observed values for the unbound fraction of linagliptin in plasma ($f_{u,p}$ [%]) taken from reference (Fuchs, Tillement, et al., 2009), and the open squares show those for the blood-to-plasma concentration ratio (R_B) calculated from reference (Rowland & Tozer, 2002). The solid line indicates the simulation based on $C_{u,p}$ values calculated at various total plasma concentrations by equation (2) in Supplemental Methods with binding parameters obtained from an *in vitro* study (N_1 , N_2 , and $N_2 \cdot K_2$ were 6.35 nM, $1.96 \times 10^{10} \text{ M}^{-1}$, and 3.10, respectively), whereas the dashed line indicates that based on equation (2).

2-3-2. 静脈内投与後のPBPKモデルの構築

2-3-2.1. Base iv modelの構築

Base iv modelは健康成人に4用量の静脈内投与後の血漿中濃度及び尿中排泄データ (Retlich, Duval, Ring, et al., 2010) に対して Supplement に記載した物質収支式を当てはめることによって構築した。非線形な蛋白結合に加えて、これまでに報告されている P-糖蛋白 (P-gp) による腸管分泌 (Ishiguro et al., 2013) 、腸肝循環 (McGill,

2012) というリナグリプチンの薬物動態の特徴も PBPK モデルに組み込んだ (Fig. 2)。リナグリプチンが主に分布し (Fuchs et al., 2009)、DPP-4 も発現している (Mentzel, Dijkman, Van Son, Koene, & Assmann, 1996) (Hasan & Hocher, 2017) ことから、筋肉、皮膚、腎臓にも非線形な蛋白結合を組み込んだ。肝臓では DPP-4 は胆管側に発現しており (McCaughan et al., 2000) 血液コンパートメントとは接していないことから非線形の蛋白結合は組み込まなかった。

胆汁中排泄データの無い状況で、ヒトの血漿中濃度データと尿中排泄データに基づいて f_{bile} 及び k_{ehc} の値を同時に推定することは困難であることから f_{bile} の値はラットから得られた値 (0.595) (Pharmaceuticals and Medical Devices Agency) に一時的に固定した。静脈内投与後のデータのみから腸管膜の透過性に関連するパラメータを推定することは困難であるため、P-gp に関連したパラメータ ($K_{m,Pgp}$ 及び $V_{max,pgp}$) 並びに Caco-2 細胞の透過性に関する値は文献値を使用した (Table 1)。Base iv model (=model 1) から推定されたパラメータの値を Table 3 に示した。この base iv model は 10 mg の消失相を除いて静脈内投与後の血漿中濃度推移に良く当てはまったが、モデルによる尿中排泄量の推定値は 0.5 mg では実測値より高く、その他の用量では実測値より低かった (Fig. 5)。そこで、リナグリプチンの尿中排泄に関連するパラメータを最適化するためのモデルの検討を行うこととした。

Table 3 Estimated parameters in the base iv model (=model 1)

Estimated parameters [Unit]	Estimate (CV%) for base iv model
Protein binding:	
Affinity constant (K_1) [nM^{-1}]	149 (29.8)
Concentration of binding site in plasma (N_1) [nM]	4.69 (17.2)
Concentration of binding site in muscle ($N_{1\text{mus}}$) [nM]	6.03 (33.3)
Concentration of binding site in kidney ($N_{1\text{k}}$) [nM]	621 (9.63)
Affinity constant x concentration for non-saturable binding site in plasma ($N_2 \cdot K_2$)	70.7 (8.85)
Hepatic intrinsic clearance ($CL_{\text{int,h}}$) [L/h]	1480 (12.6)
Secretion clearance in kidney (CL_{sec}) [L/h]	577 (11.7)
Effective permeability in human small intestine (P_{eff}) [cm/h] ^a	0.237 (fixed)
Transit rate constant for enterohepatic circulation (k_{ehc}) [h^{-1}]	0.0105 (40.4)

^a The effective permeability in humans was calculated according to the equation previously reported (Sun et al., 2002) using the permeability of linagliptin observed in Caco-2 cells.

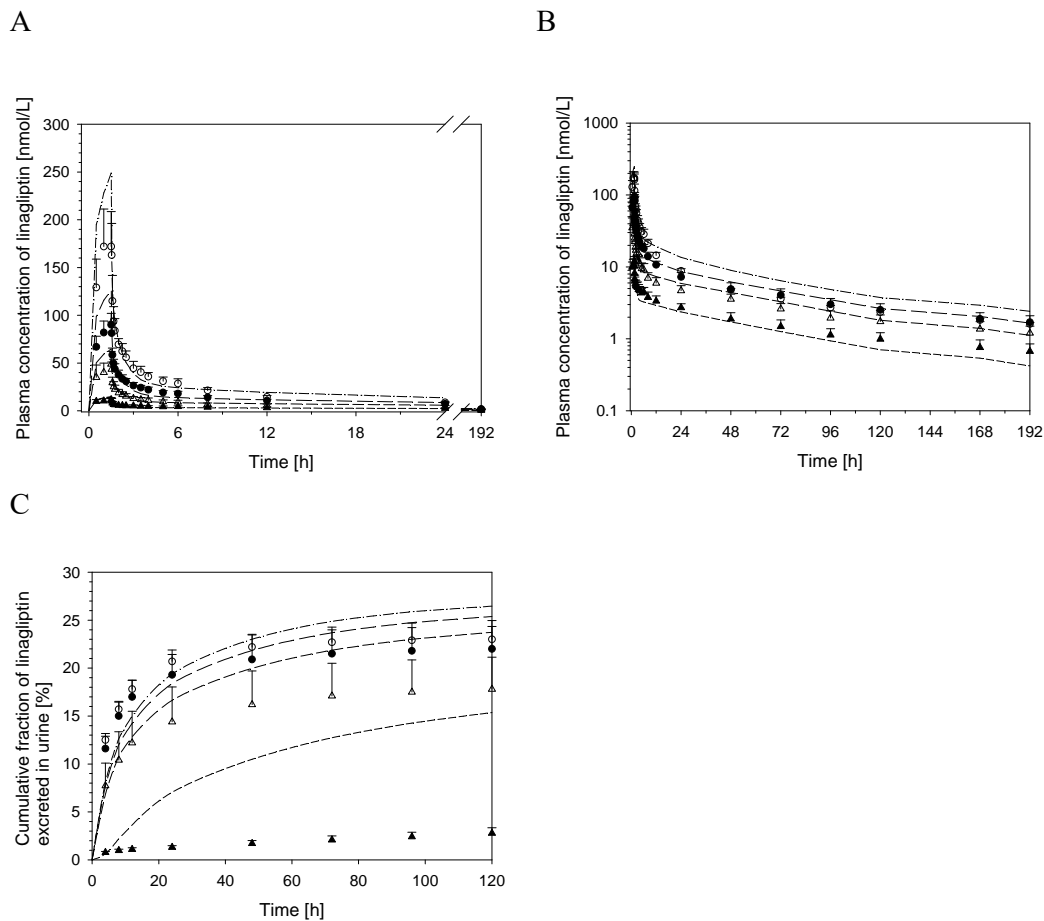


Fig. 5 Observed mean with SD and fitted lines of linagliptin-time profiles after intravenous administration (base iv model=model 1)

Panels A, B, and C show plasma concentration of linagliptin in linear scale, that in semi-log scale, and fraction of linagliptin excreted into the urine (%), respectively. Closed triangle, open triangle, closed circle, and open circle shows observed data after 0.5, 2.5, 5, and 10 mg administration, respectively. The short dash, medium dash, long dash, and dash-dot lines represent fitted curves after 0.5, 2.5, 5, and 10 mg.

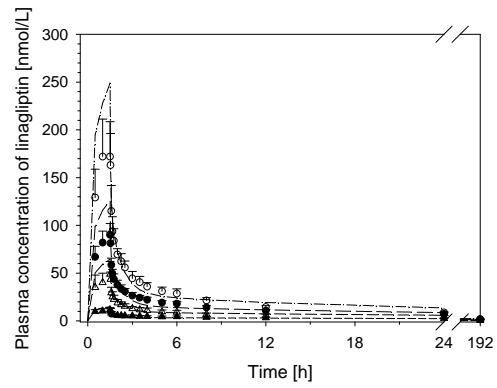
2-3-2-2. 尿中排泄量の記述の最適化

Base iv model (以下 model 1 と記載する) には腎臓での糸球体濾過と分泌過程のみが組み込まれていた (Fig. 3) が、尿中排泄データを記述するために、さらに尿細管

腔から尿細管へのクリアランス (CL_{d-t}) を追加したモデルを検討した。Model 2 及び Model 3 では、それぞれ非結合形又は結合形リナグリプチンが尿細管腔から尿細管への膜を透過すると仮定した。各モデルのリナグリプチンの血漿中濃度推移の当てはまりを Fig. 6 の A から F に示す。Model 1 と model 2 では 0.5 mg 投与後の尿中排泄は実測値より高く、2.5、5、10 mg 投与後は実測値より低く推定されたが、model 3 では尿中排泄データは良く記述された (Fig. 6 G, H, I)。Model 2 と 3 の AIC 及び-2LL の値は model 1 より小さく、model 3 の値は model 2 よりさらに小さかった (Table 4) ことから、model 3 が最も当てはまりが良いことが示唆された。そこで、以降のモデル構築に model 3 を選択した。

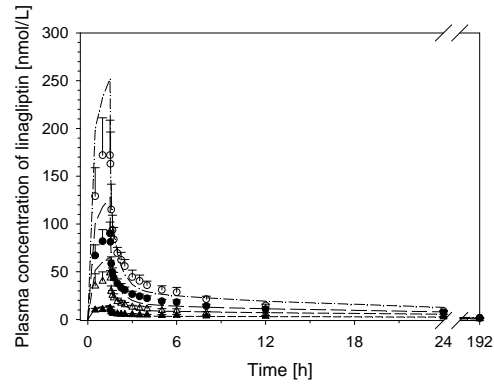
Model 1 (base iv model)

A



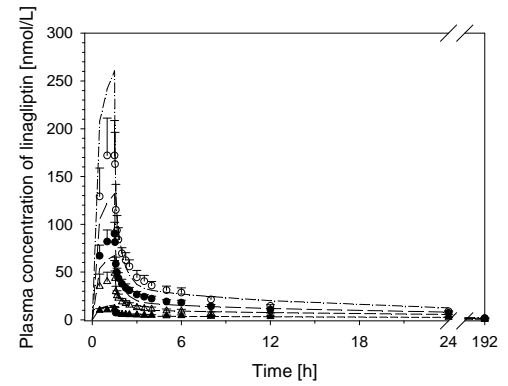
Model 2

B

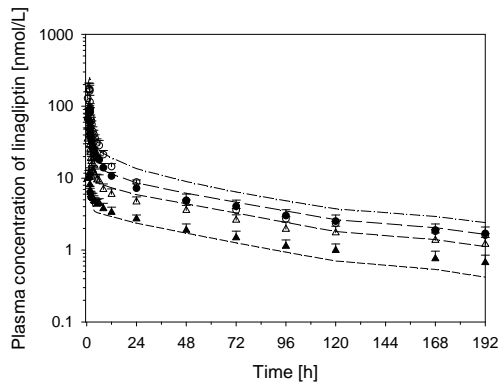


Model 3

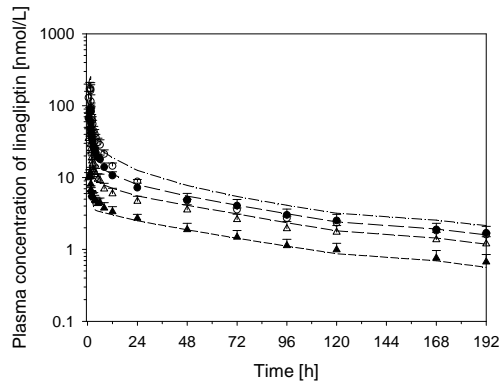
C



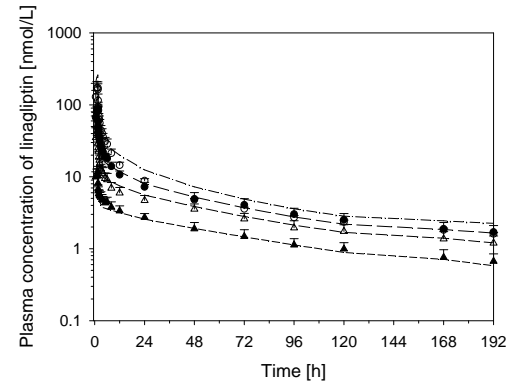
D



E



F



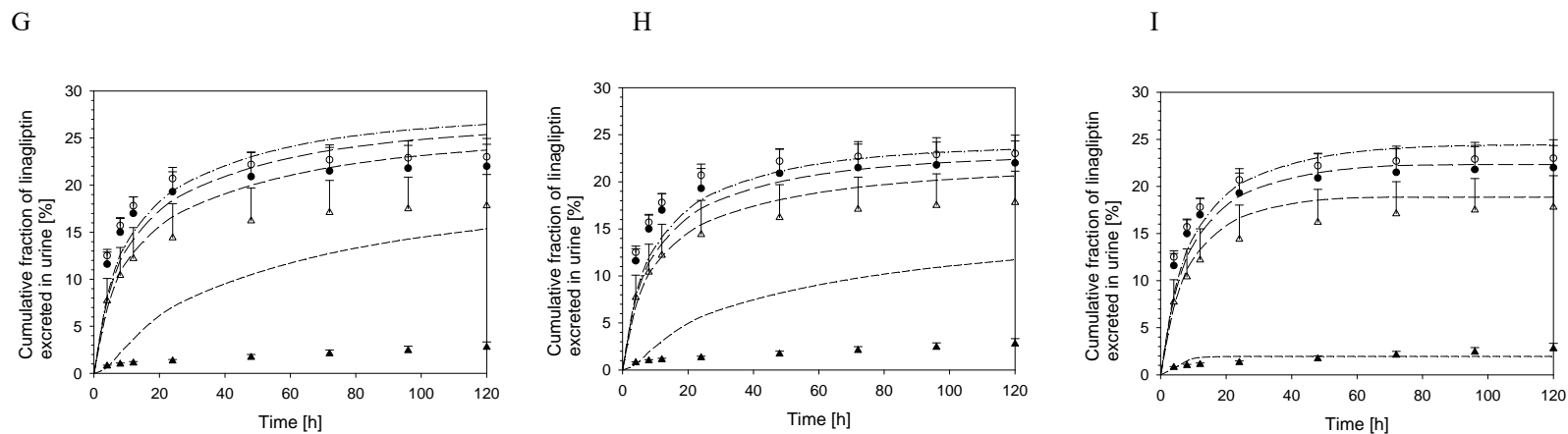


Fig. 6 Observed mean with SD and fitted lines of linagliptin-time profiles after intravenous administration

Panels A, B, and C show plasma concentrations of linagliptin on a linear scale, panels D, E, and F show the same on a semi-log scale, and panels G, H, and I show the fraction of linagliptin excreted into the urine (%). Closed triangles, open triangles, closed circles and open circles show the observed data after 0.5, 2.5, 5, and 10 mg administration, respectively. The short dashed, medium dashed, long dashed, and dash-dotted lines represent fitted curves after 0.5, 2.5, 5, and 10 mg administration, respectively, based on model 1 (without clearance from duct to tubule) in panels A, D, and G, model 2 (with clearance from duct to tubule of unbound linagliptin) in panels B, E, and H, and model 3 (with clearance from duct to tubule of bound linagliptin) in panels C, F, and I.

Table 4 Evaluation of the fitting with three different models for renal handling

	Model 1 Without CL_{d-t}	Model 2 With CL_{d-t} defined for unbound linagliptin	Model 3 With CL_{d-t} defined for bound linagliptin
Akaike information criterion	950	909	835
-2 log likelihood	926	883	809

CL_{d-t} = clearance from duct to tubule in the kidney

2-3-2-3. f_{bile} の最適化

さらに f_{bile} 及び k_{chc} の値を最適化するために $[^{14}C]$ 標識したリナグリプチンを投与したヒトマスバランス試験から得られたデータを用いた。尿中及び糞中排泄データに model 3 を当てはめた結果、 f_{bile} 及び k_{chc} の値 (CV%) は、それぞれ 0.772 (1.95) 及び 0.0282 (0.927) h^{-1} と推定された。以降の検討では、 f_{bile} の値を0.772に固定することとした。

2-3-2-4. final iv modelの構築

2-3-2-3 項に記載したように f_{bile} を 0.772 に固定して model 3 を静脈内投与後の血漿中濃度及び尿中排泄データに再度当てはめて、その他のパラメータを推定することにより final iv model を得た (Fig. 1)。Final iv model により 4 用量のリナグリプチンを静脈内投与後の血漿中濃度及び尿中排泄量-時間推移の実測値は良く記述された (Fig. 7)。Final iv model の推定値を Table 5 に示す。CV 値は全て 29%未満であった。

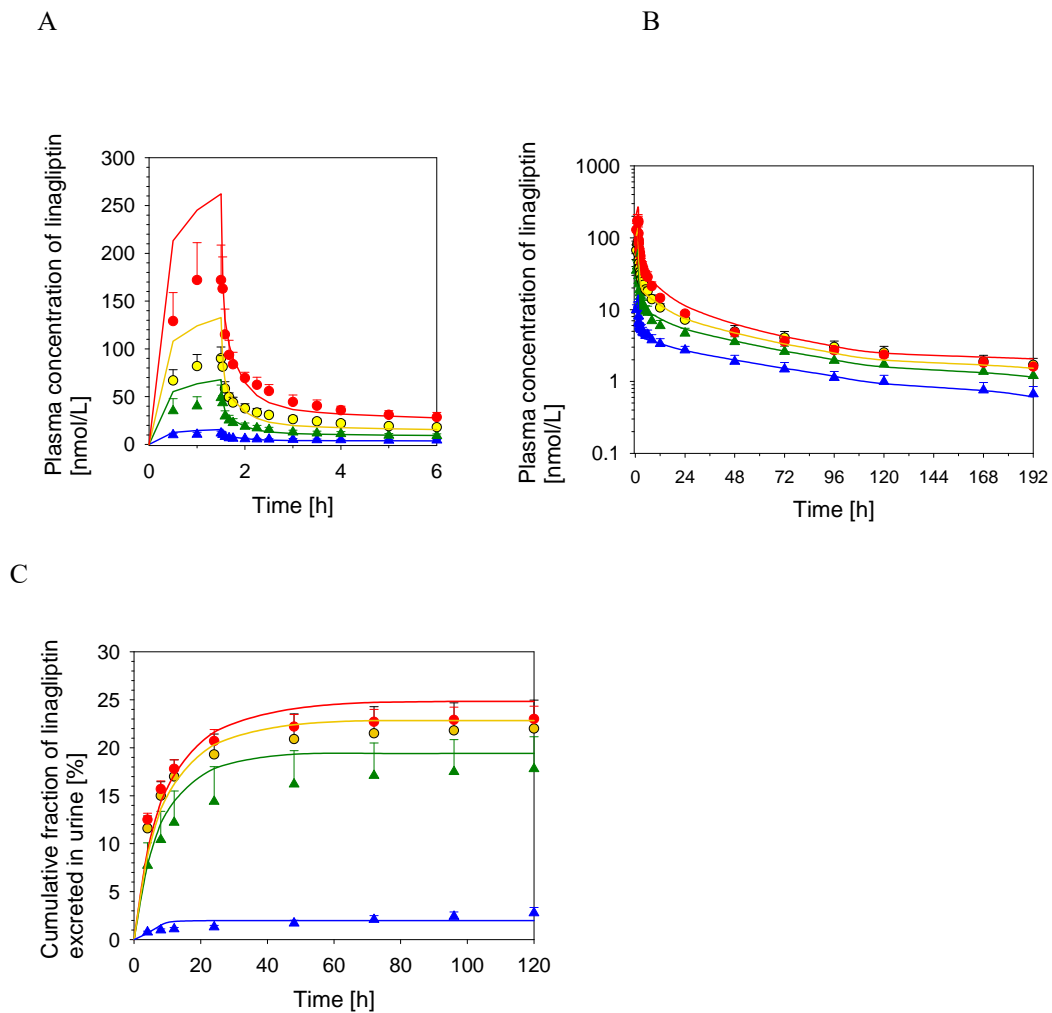


Fig. 7 Observed mean with SD values and fitted lines based on the final iv model of linagliptin-time profiles in plasma and urine after intravenous administration

Panels (A) and (B) show plasma concentrations of linagliptin on the linear (up to 6 hours) and semi-log scale, respectively. Panel (C) shows the fraction of linagliptin excreted into the urine (%). The blue triangles, green triangles, yellow circles, and red circles show the observed data after 0.5, 2.5, 5, and 10 mg iv administration, respectively. The blue, green, yellow, and red lines indicate the fitted values derived from the final iv model after 0.5, 2.5, 5, and 10 mg iv administration, respectively.

Table 5 Parameters estimated in the final iv model

Parameters [Unit]	Estimate (CV%) in the final iv model
Protein binding:	
Affinity constant (K_1) [nM^{-1}]	383 (18.3)
Concentration of binding sites in plasma (N_1) [nM]	4.18 (9.72)
Concentration of binding sites in the muscle ($N_{1\text{mus}}$) [nM]	3.50 (28.8)
Concentration of binding sites in the kidney (N_{1k}) [nM]	694 (5.99)
Product of affinity constant and concentration of non-saturable binding sites in plasma ($N_2 \cdot K_2$)	121 (7.62)
Hepatic intrinsic clearance ($CL_{\text{int,h}}$) [L/h]	3240 (10.8)
Secretion clearance in the kidney (CL_{sec}) [L/h]	1080 (9.42)
Clearance from duct to tubule ($CL_{\text{d-t}}$) [L/h]	0.00620 (11.3)
Effective permeability in small intestine (P_{eff}) [cm/h]	0.237 (fixed)
Ratio of biliary excretion to sum of biliary excretion and metabolism (f_{bile})	0.772 (fixed)
Duodenum transit rate constant (kt_1) [h^{-1}]	4.07 (fixed)
Transit rate constant for enterohepatic circulation (k_{ehc}) [h^{-1}]	0.00871 (19.4)

iv: intravenous

第4節 考察

リナグリプチンはヒトにおいて静脈内及び経口投与後に非線形な血漿中濃度推移及び尿中排泄を示す。本研究で構築した血液中、筋肉、皮膚及び腎臓に飽和性の蛋白結合を組み込んだ PBPK モデル (final iv model) によって、種々の投与量の静脈内投与後のリナグリプチンの血漿中及び尿中の薬物動態推移は適切に記述された (Fig. 7)。このことから、非線形な蛋白結合が本剤の非線形な尿中排泄に直接関与していることを示すと考えられる。リナグリプチンの血漿中蛋白結合が飽和する要因は DPP-4 との強固な結合であることが報告されている (Fuchs, Tillement, et al., 2009)。よって、リナグリプチンの非線形な薬物動態は薬効の標的である DPP-4 への結合の飽和によるものであり、この薬剤が TMDD を示すことが示唆される。また、 $f_{u,p}$ のみならず R_B の値も濃度依存性を示した点に注目すべきである (Fig. 4)。このような R_B の値の非線形性は主に 2-2-3 項の式 (2) によって説明されることから、 R_B の値の非線形性も蛋白結合の飽和によるものであることが示された。DPP-4 は種々の組織の細胞表面に発現していること (Rasmussen et al., 2003) から、飽和性の蛋白結合を腎臓、皮膚、筋肉コンパートメントにも組み込んだ (Fig. 2)。

非結合形リナグリプチンの腎への分泌過程を含む base iv model (model 1) では低用量投与後の尿中排泄データを適切に記述することはできなかった (Fig. 5c)。Base

iv model の腎臓モデルでは糸球体濾過と分泌過程のみを考慮しており、腎臓での再吸収過程を考慮していなかった。このため、リナグリプチンの尿中排泄の非線形性をより適切に記述するために、さらに 2 つのモデルを検討した。1 つは非結合形のリナグリプチンが尿細管腔から尿細管細胞内への膜を透過すると仮定した model 2、もう 1 つは結合形のリナグリプチンが尿細管腔から尿細管細胞内への膜を透過すると仮定した model 3 である (Fig. 3)。DPP-4 は近位尿細管の刷子縁膜上に発現しており (Stange et al., 1996)、生合成後、細胞内のソーティングシステムによって apical 側の膜へと送達される (Casanova et al., 1991)。その後 DPP-4 は細胞内に移動し、リソソーム内に隔離されるか細胞表面にリサイクルされることが培養上皮細胞において報告されている (Matter et al., 1990)。よって、DPP-4 は apical 側の膜に安定して局在するのではなく、細胞内に内在化する可能性が考えられる。Model 3 によって血漿中及び尿中排泄量の推移は適切に記述された (Fig. 6)。この結果は、野生型マウスではリナグリプチンの尿中排泄に非線形が見られるが、*dpp-4* 欠損マウスでは見られず、低用量の *dpp-4* 欠損マウスでの尿中排泄は野生型マウスに比べて高いという報告 (Fuchs, Tillement, et al., 2009) と合致している。よって、尿中排泄は少なくとも一部はマウス及びヒトの両方において target-mediated であると考えられる。ただし、リナグリプチンの排泄全体に対する腎排泄の割合はマイナーであり、リナグリプチンの薬物動態は腎機能によって影

響を受けない (Graefe-Mody et al., 2011)。リナグリプチンは DPP-4 と結合し腎臓の尿管の apical 側の膜に局在した後、細胞内に移動し、basolateral 側に移行すると推察される。しかし、本研究の model 3 は経験的なアプローチによって選択されたものであり、この仮説の分子学的なメカニズムを支持する直接的な根拠はないことから、さらなる研究によってこの仮説を検証する必要がある。

これまでに、リナグリプチンの非線形な薬物動態を記述するために、中央及び末梢コンパートメントでの結合を仮定した母集団薬物動態解析モデルが構築され、報告されている (Retlich et al., 2015; Retlich, Duval, Graefe-Mody, et al., 2010; Retlich, Duval, Ring, et al., 2010; Retlich et al., 2009; Tadayasu et al., 2013)。本研究では、血液、皮膚、筋肉及び腎臓コンパートメントでの可溶型及び膜結合型の DPP-4 へのリナグリプチンの結合を組み込んだ PBPK モデルを構築した。前述した母集団薬物動態モデルでは尿中を含めた排泄過程は組み込まれていなかった。さらに腸肝循環や腸管での P-gp による排出過程を含めた吸収過程を本 PBPK モデルでは組み込んだが、前述の母集団薬物動態モデルには組み込まれていなかった。PBPK モデルは臓器の大きさ、血流速度、糸球体濾過量のような生理学的な数値に基づいて作成され、本研究では主にメカニズムに基づいたモデル構築を行った。この検討過程で3つの仮説モデルを比較することで、腎臓の分泌及び再吸収過程についての理解を深めることが出

来た。

ラットにおいてリナグリプチンが腸肝循環することが示されていること (Pharmaceuticals and Medical Devices Agency) から今回の PBPK モデルに組み込んだ (Fig. 2)。しかしながら、腸肝循環を組み込むことでフィッティング及びパラメータの最適化は困難となることが予想される。なぜならヒトにおける胆汁中排泄データがなく、静脈内及び経口投与後の薬物動態プロファイルのみから腸肝循環に関連するパラメータを決定することは容易ではないためである。この点を克服するために、初めに **base iv model** を構築する際は f_{bile} をラットから得られた値に固定してモデル構築をした後、ヒトでの腸肝循環に関連するパラメータ (f_{bile} 及び k_{chc}) を最適化するために、 $[^{14}C]$ 標識したリナグリプチンを投与したヒトマスバランス試験から得られた尿中及び糞中排泄データをモデルに当てはめて f_{bile} を推定するという方法によってモデルを構築した。リナグリプチンは主に糞中に排泄されることが報告されている (Blech et al., 2010) ことから、得られた f_{bile} の推定値 (0.772) は妥当だと考えられた。現在までに知り得る限り、本研究はヒトマスバランス試験を用いて腸肝循環過程を記述した最初の研究であり、この手法を応用することは腸肝循環関連のパラメータを最適化するために有用な方法である。しかしながら、腸肝循環は胆汁酸の移動のような様々な生理学的な要因によって影響を受ける (Roberts et al., 2002) ため、これらのパラメータは変動する可能性

があり、ヒトにおける腸肝循環関連のパラメータをより正確に推定するためには、さらに新しい方法が必要だと考えられる。

第3章 静脈内及び経口投与後のリナグリプチンのPBPKモデルの構築

第1節 緒言

第2章で静脈内投与後のPBPKモデルが構築出来たので、次に final iv model に、胃コンパートメントを追加し、静脈内投与後のデータに加えて経口投与後のデータも加えて当てはめることにより、最終のPBPKモデル (final iv-po model) を構築した。

Final iv-po model の妥当性を評価するために、種々の投与量の経口投与後の薬物動態パラメータの推定や腸肝循環コンパートメントの必要性を検討した。また、final iv-po model において吸収過程に関するパラメータについて感度分析を実施し、各パラメータの吸収相の血漿中濃度推移に及ぼす影響について検討した。

第2節 方法

3-2-1. 解析データセット

モデルの構築には健康成人を対象としたリナグリプチン 0.5、2.5、5 及び 10 mg 静脈内投与後のデータ (Retlich, Duval, Ring, et al., 2010) 及びリナグリプチン 1、2.5、5 及び 10 mg 経口投与後のデータ (Sarashina et al., 2010) を用いた。

3-2-2. コンピューターソフトウェアおよびモデル評価

モデル構築、シミュレーション及びノンコンパートメント解析は Phoenix Winnonlin® (Version 8.1, Certara, USA, Inc, Princeton, New Jersey) を用いて行った。各モデルの妥当性はモデルによる予測値と実測値のフィッティングを視覚的に評価すること並びに-2LL 及び AIC の値を比較することにより評価した。Final iv-po model を用いて 1 mg から 10 mg まで投与量を 0.5 mg 刻みで変化させた際の血漿中濃度および尿中排泄量をシミュレーションし、その推移から各投与量での AUC 及び尿中排泄率をノンコンパートメント解析によって算出した。

3-2-3. 経口投与後のデータを適用することによる final iv-po model の構築

Final iv model に胃コンパートメントを加え (Fig. 2)、健康成人に 4 用量を静脈内または経口投与後の血漿中濃度および尿中排泄データ (Sarashina et al., 2010, Retlich, Duval, Ring, et al., 2010) に当てはめ、final iv model で推定したパラメータを再度推定するとともに、吸収過程に関するパラメータ (k_s 、 P_{eff} 及び kt_1) も推定し、final iv-po model とした。リナグリプチン 1 mg を経口投与後の尿中排泄量の実測値は、全サンプルの 80%以上の尿中濃度が定量下限未満であったため、モデル検討に含めなかった。

3-2-4. 腸肝循環コンパートメントの必要性の検討

腸肝循環コンパートメントの必要性を検討するために final iv-po model から Supplement の式 (14) から (16) 及び式 (18) の k_{ehc} の項を削除したモデルを構築し、静脈内投与及び経口投与後の血漿中濃度推移及び尿中排泄データに当てはめた。この腸肝循環コンパートメントを除いたモデルと final iv-po model について、それぞれの予測値と実測値のフィッティングを視覚的に評価すること並びに -2LL 及び AIC の値を比較した。

3-2-5. final iv-po model を用いた吸収過程のパラメータの感度分析

Final iv-po model を基に、吸収過程に関係するパラメータ (k_s , P_{eff} , $kt1$ 及び k_{ehc}) を推定値の 0.5 または 2 倍に変化させてシミュレーションをすることによって、これらのパラメータの吸収相の血漿中濃度への影響を検討した。

第3節 結果

3-3-1 Final iv-po model 構築のための静脈内投与及び経口投与後のデータの適応

Final iv model に胃コンパートメントを追加し、final iv model で推定したパラメータ (K_1 , N_1 , N_{1mus} , N_{1k} , $N_2 \cdot K_2$, $CL_{int,h}$, CL_{sec} , CL_{d-t} , 及び k_{ehc}) に加えて消化管の吸収に関係するパラメータ (k_s , P_{eff} , 及び kt_1) を、健康成人に静脈内及び経口投与後の血漿中濃度及び尿中排泄データに当てはめることによってモデルを最適化して final iv-po model を構築した。Final iv-po model のパラメータの推定値を final iv model の推定値とともに Table 6 に示す。Final iv model のパラメータの推定値に対する Final iv-po model のパラメータの推定値の比は CL_{d-t} の 2.7 を除き、0.77 から 1.3 の範囲内であり、final iv-po model のパラメータの推定値は final iv model のパラメータの推定値と同程度であった。推定値の CV 値はすべてのパラメータについて 27%未満であった。

Table 6 Parameters estimated in the final iv and final iv-po model

Parameters [Unit]	Estimate (CV%) in the final iv model	Estimate (CV%) in the final iv-po model
Protein binding:		
Affinity constant (K_1) [nM^{-1}]	383 (18.3)	397 (15.4)
Concentration of binding sites in plasma (N_1) [nM]	4.18 (9.72)	4.01 (8.59)
Concentration of binding sites in the muscle ($N_{1\text{mus}}$) [nM]	3.50 (28.8)	4.65 (26.7)
Concentration of binding sites in the kidney (N_{1k}) [nM]	694 (5.99)	531 (7.14)
Product of affinity constant and concentration of non-saturable binding sites in plasma ($N_2 \cdot K_2$)	121 (7.62)	121 (7.68)
Hepatic intrinsic clearance ($CL_{\text{int,h}}$) [L/h]	3240 (10.8)	3220 (10.8)
Secretion clearance in the kidney (CL_{sec}) [L/h]	1080 (9.42)	1110 (9.81)
Clearance from duct to tubule ($CL_{\text{d-t}}$) [L/h]	0.00620 (11.3)	0.0166 (19.8)
Effective permeability in small intestine (P_{eff}) [cm/h]	0.237 (fixed)	0.299 (23.5)
Ratio of biliary excretion to sum of biliary excretion and metabolism (f_{bile})	0.772 (fixed)	0.772 (fixed)
Duodenum transit rate constant ($kt1$) [h^{-1}]	4.07 (fixed)	3.29 (22.1)
Transit rate constant for enterohepatic circulation (k_{ehc}) [h^{-1}]	0.00871 (19.4)	0.0100 (11.3)
Gastric emptying rate (k_s) [h^{-1}]	Not applicable	0.597 (18.7)

iv: intravenous, po: per oral

静脈内投与後の血漿中濃度推移及び尿中排泄量推移は final iv-po model によって良く記述された (Fig. 8)。経口投与後のモデルの推定値と実測値の血漿中濃度推移を Fig. 9 に示した。経口投与後の血漿中濃度推移の消失相は final iv-po model によって適切に記述された (Fig. 9B)。モデルによって記述された血漿中濃度推移及び尿中排泄量を用いてノンコンパートメント解析によって算出した薬物動態パラメータ (投与量補正した AUC_{0-24h} 及び fe_{0-24h}) を実測値と比較した (Fig. 9C 及び D)。投与量

補正した AUC_{0-24h} 及び fc_{0-24h} の推定値は実測値と類似していた。経口投与後の血漿中濃度推移は 1 mg 投与後では最高血漿中濃度付近に関しても final iv-po model によって良く記述されたが、2.5, 5 及び 10 mg 投与後では実測値より高かった (Fig. 9A)。

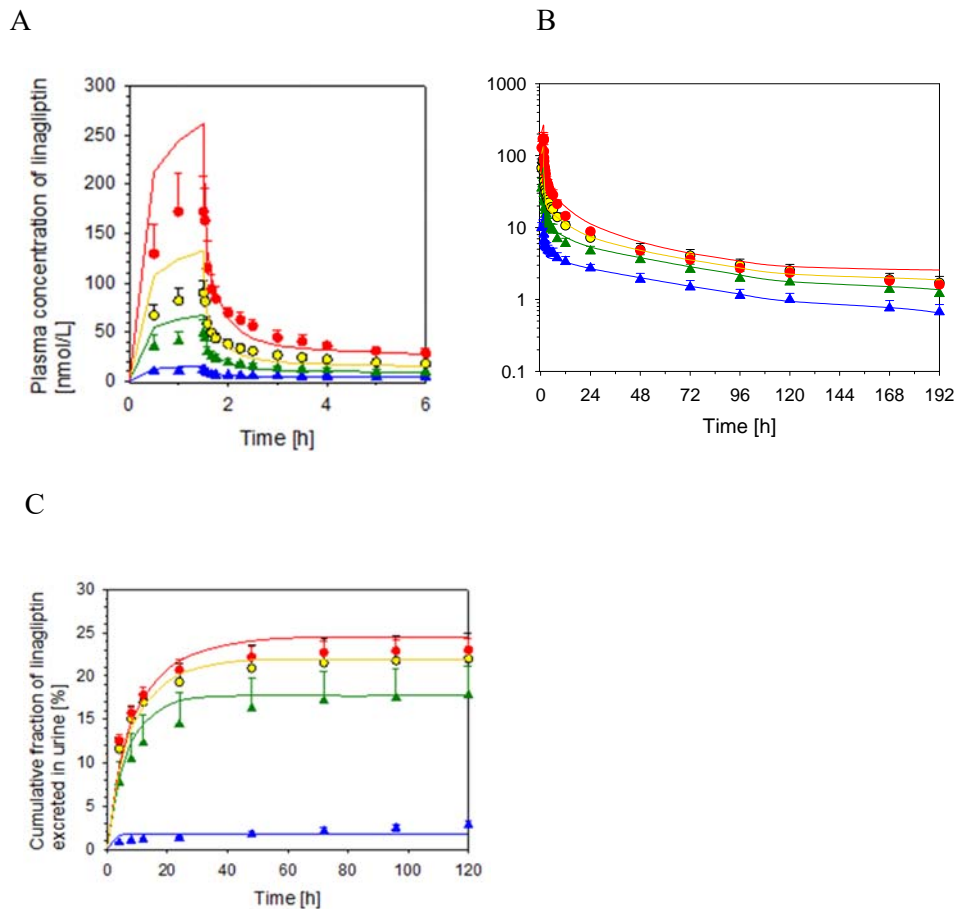


Fig. 8 Observed mean with SD and fitted lines of linagliptin-time profiles after intravenous administration (iv-po final model)

Panel A shows plasma concentrations of linagliptin on a linear scale, panel B shows the same on a semi-log scale, and panel C shows the fraction of linagliptin excreted into the urine (%). The blue triangles, green triangles, yellow circles, and red circles show the observed data after 0.5, 2.5, 5, and 10 mg iv administration, respectively. The blue, green, yellow, and red lines indicate the fitted values derived from the final iv model after 0.5, 2.5, 5, and 10 mg iv administration, respectively.

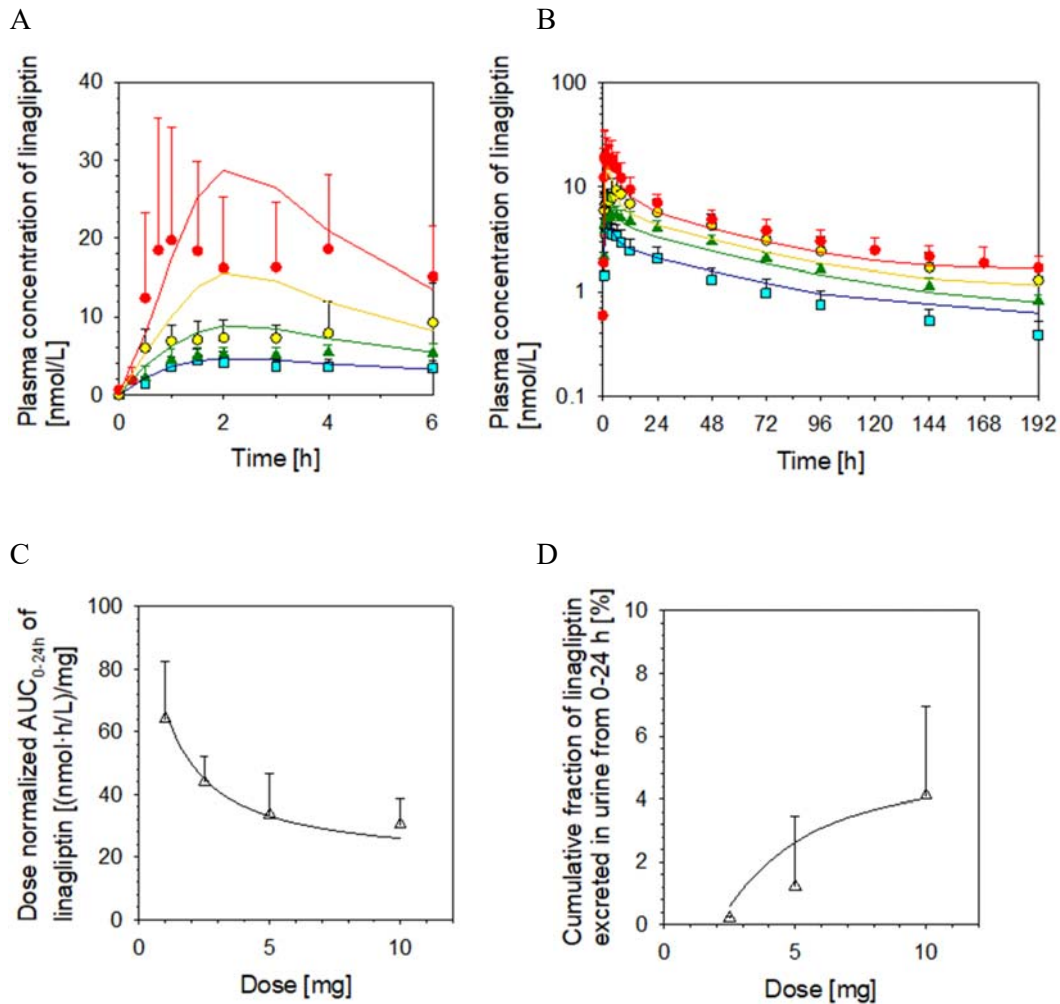


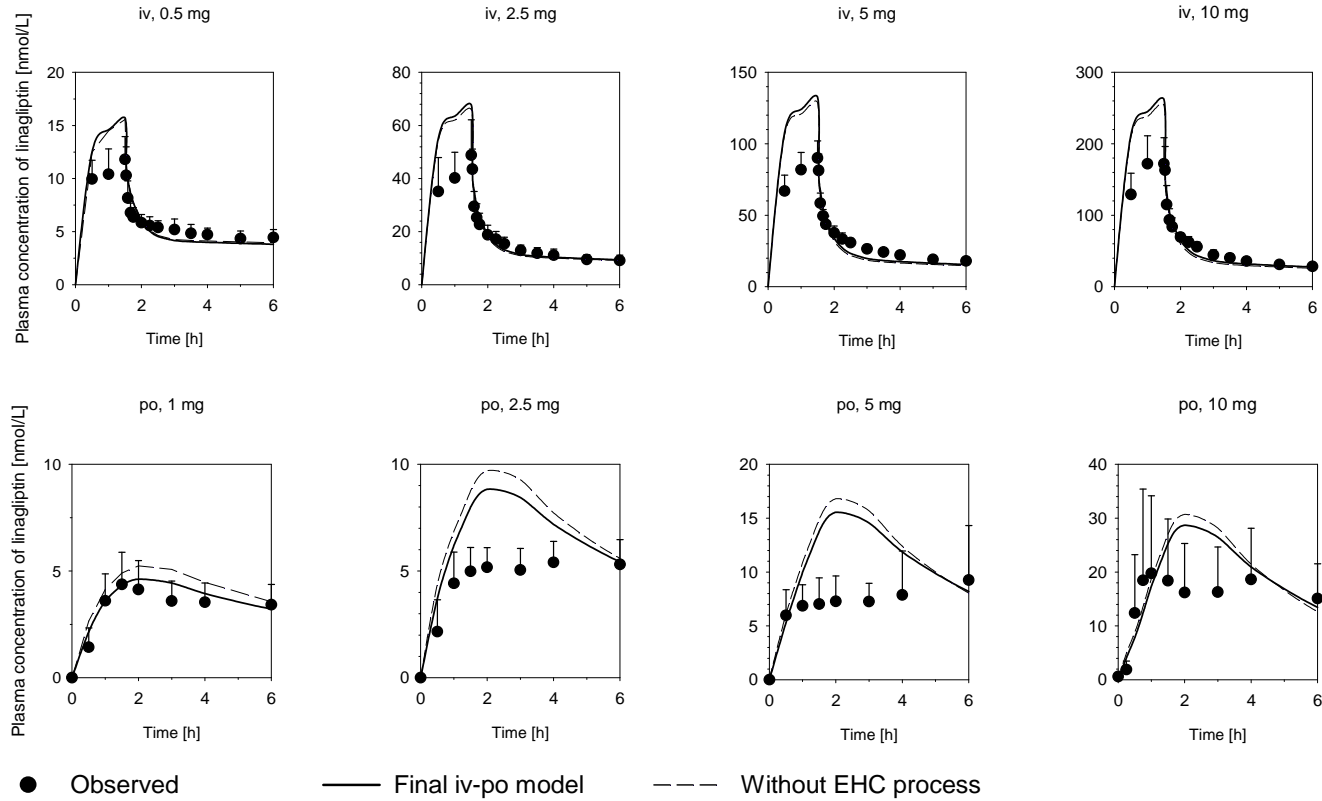
Fig. 9 Observed mean with SD values and fitted lines based on the final iv-po model of linagliptin-time profiles in plasma (A and B), dose normalized AUC (C), and urinary excretion (D) after oral administration

Panels (A) and (B) show plasma concentrations of linagliptin on the linear (up to 6 hours) and semi-log scale, respectively. Panels (C) and (D) show dose normalized AUC and the fraction of linagliptin excreted into the urine (%) from 0 to 24 hours after drug administration, respectively. Panel (A) and (B); pale blue squares, green triangles, yellow circles, and red circles show the observed data after 1, 2.5, 5, and 10 mg po administration, respectively. The dark blue, green, yellow, and red lines indicate the fitted values derived from the final iv-po model after 1, 2.5, 5, and 10 mg oral administration, respectively. Panels (C) and (D); closed circles show the observed values, and solid line shows the values calculated by fitted concentration-time profiles.

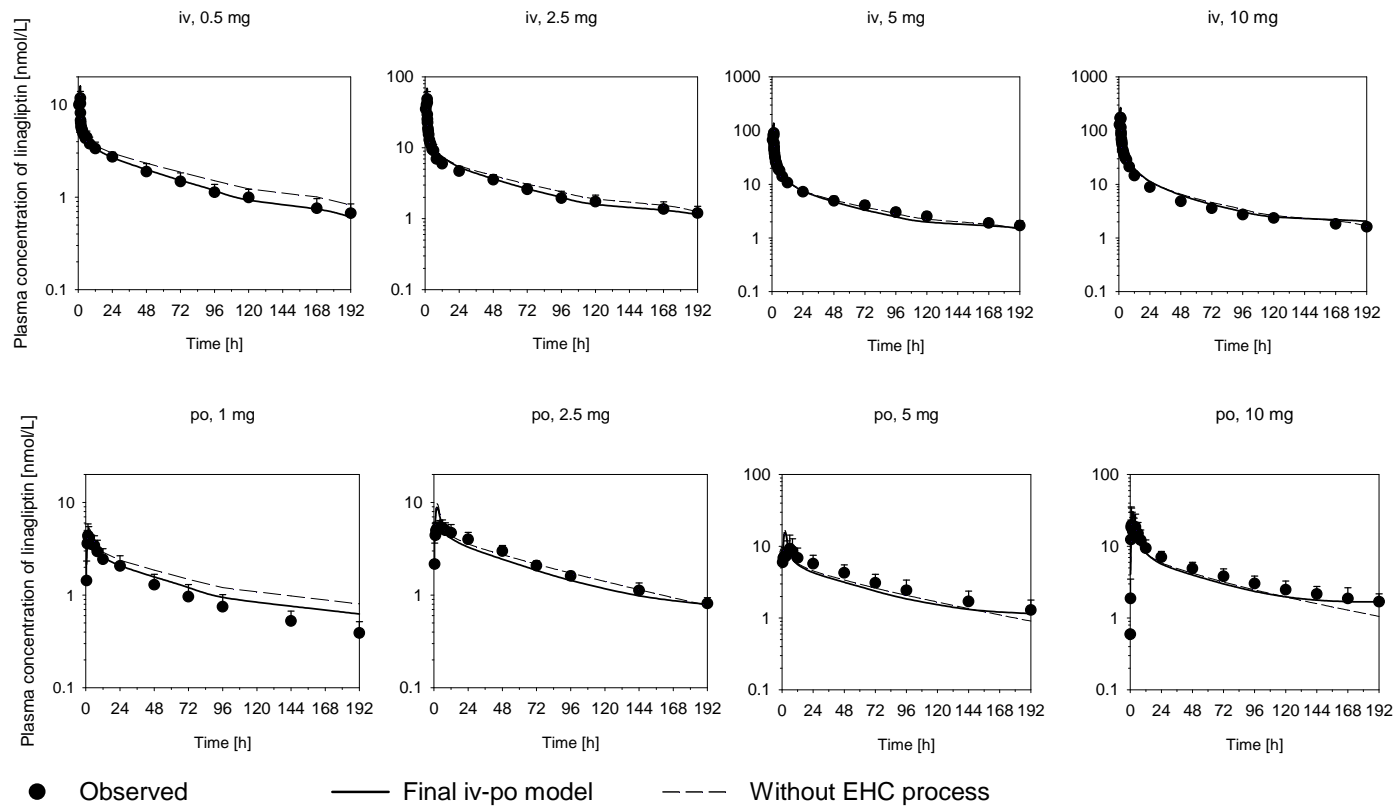
3-3-2 腸肝循環コンパートメントの必要性の検討

腸肝循環コンパートメントを除いたモデルと final iv-po model について予測値と実測値のフィッティングを視覚的に評価した結果、両者のフィッティングに大きな違いは見られなかった (Fig. 10)。しかしながら、腸肝循環コンパートメントを除いたモデルの -2LL は final iv-po model と比べて 1412 から 1476 へ、AIC の値は 1444 から 1506 へと増大した。

A) Plasma concentration-time profile (normal scale, up to 0-6 hours)



B) Plasma concentration-time profile (semi-log scale)



C) Cumulative fraction of linagliptin excreted in urine

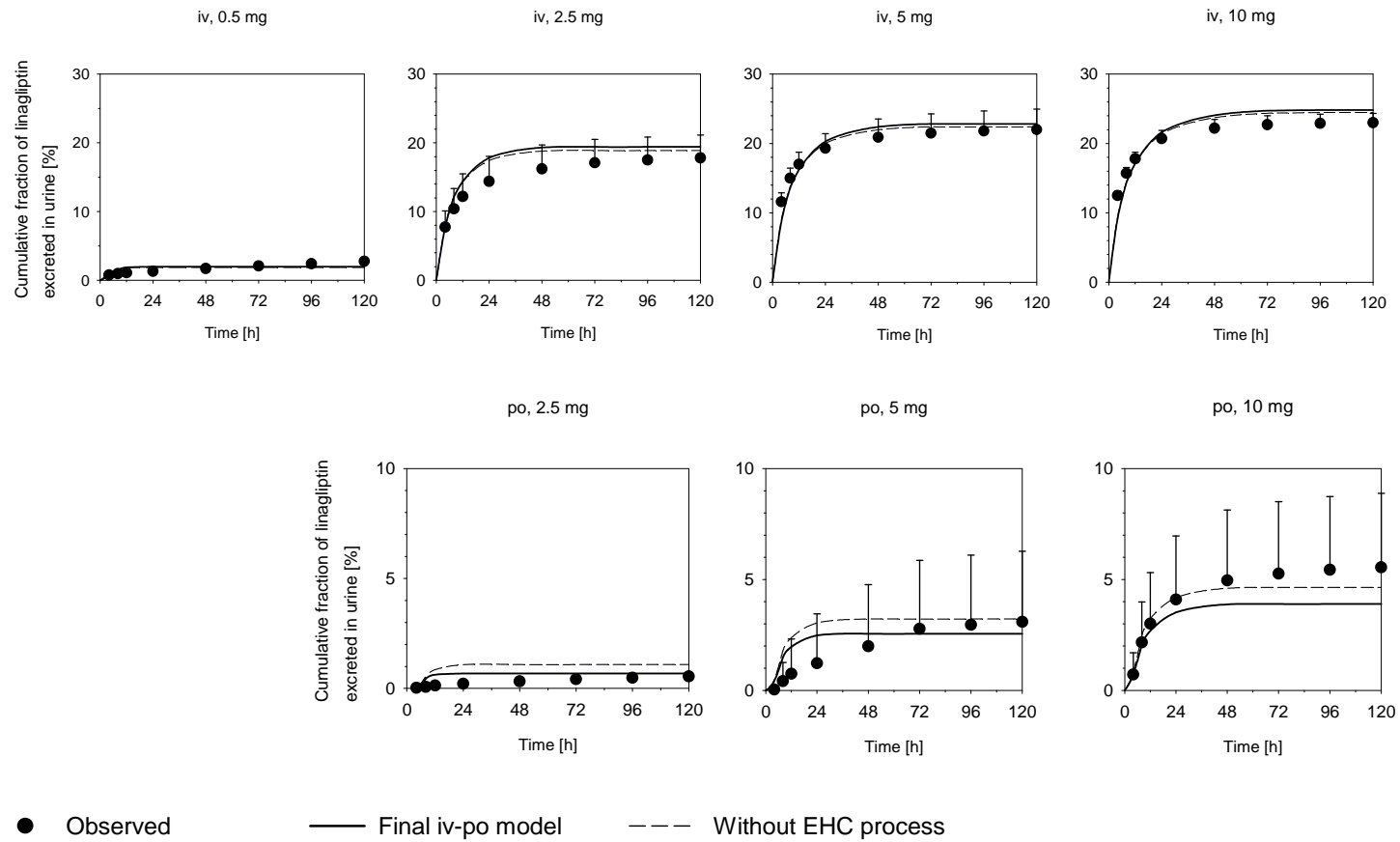
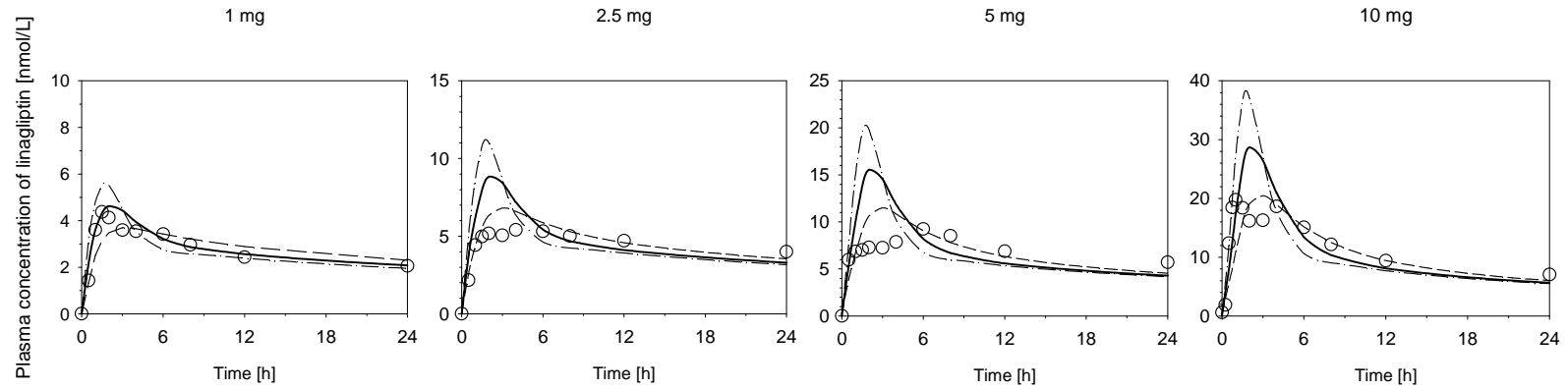


Fig. 10 Comparison of the fitting to final iv-po model and that without enterohepatic circulation

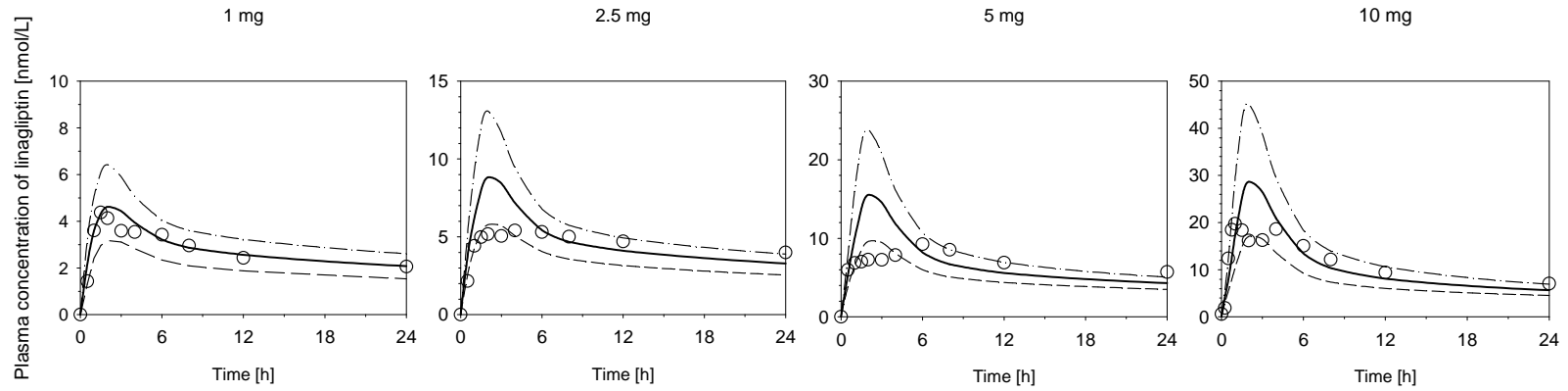
3-3-3 感度分析

経口投与後の吸収相の血漿中濃度推移の当てはまりがあまり良くなかった (Fig. 9A) ことから、種々の吸収過程に関するパラメータが経口投与後の血漿中濃度推移にどのような影響を与えるのかを検討するために感度分析を実施した。 k_{ehc} の値の変化による血漿中濃度推移への影響は見られなかったが、 k_s または P_{eff} の値を小さくすると吸収相の血漿中濃度は低下し、 k_s または kt_1 の値を小さくするとピークに到達する時間が遅くなった (Fig. 11)。

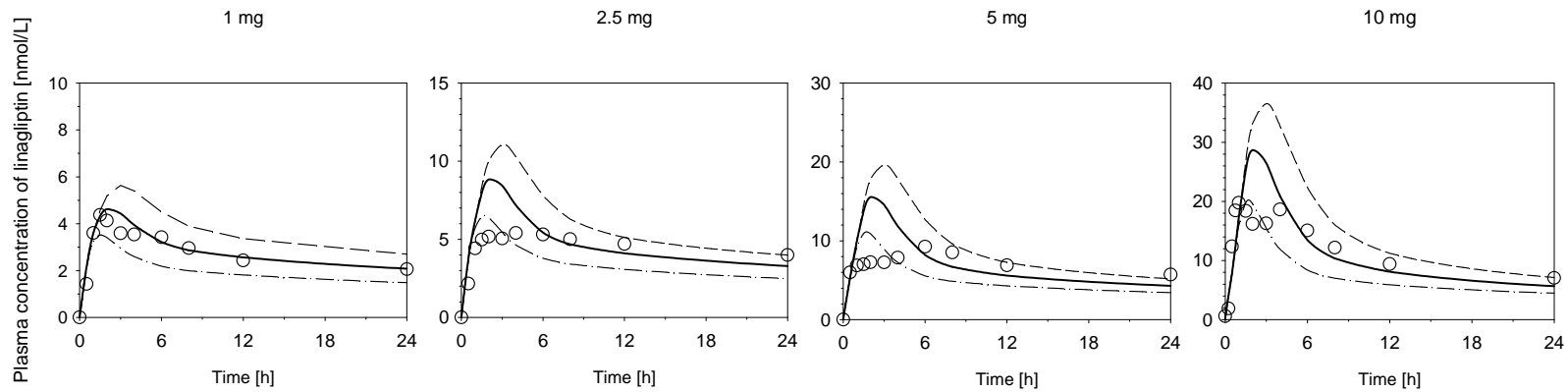
Gastric emptying rate (k_s)



Effective permeability in human small intestine (P_{eff})



Duodenum, jejunum, and ileum transit rate constant (kt_{1-3})



Transit rate constant for enterohepatic circulation (k_{ehc})

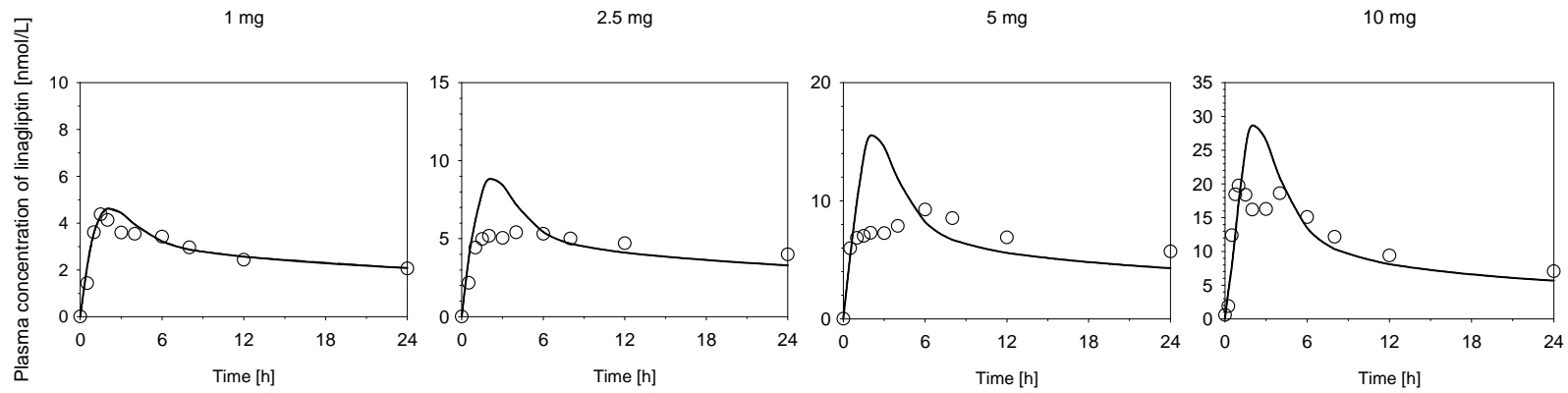


Fig. 11 Sensitivity analysis of the parameters in simulation of plasma concentration-time profiles of linagliptin after oral administration

The effect of each parameter on simulated plasma concentration-time profiles of linagliptin after oral administration was examined. The open circles show the observed data. The straight lines represent simulated curves based on the iv-po final model. The medium dashed lines, and the dashed and dotted lines represent simulated curves with 0.5- and 2-fold values of the parameter, respectively. Note that the ratio of k_{12} and k_{13} to k_{11} was fixed, but not changed, to the reported values, leading to parallel change in k_{11} , k_{12} , and k_{13} values.

第4節 考察

Final iv-po model によって静脈内投与後の血漿中濃度推移及び尿中排泄データは適切に記述され (Fig. 8)、経口投与後の薬物動態パラメータの非線形性も良く記述された (Fig. 9C 及び 9D)。この結果は、蛋白結合の非線形性はリナグリプチンの尿中排泄の非線形性にも関与しているということを直接示す根拠となる。リナグリプチンの飽和性の血漿中蛋白結合は DPP-4 との結合によるものである (Fuchs, Tillement, et al., 2009)。よって、リナグリプチンの薬物動態の非線形性は薬理学的な標的である DPP-4 への結合の飽和によって説明されうることから、リナグリプチンの薬物動態が TMDD であることが示唆される。

腸肝循環コンパートメントの重要性を検討するために final iv-po model から腸肝循環コンパートメントを除いたモデルを構築したところ、血漿中濃度及び尿中排泄データへのフィッティングは視覚的に同様であり、腸肝循環コンパートメントを除いたモデルの-2LL 及び AIC の値は final iv-po model と比べて 60 以上増大したことから、腸肝循環過程が PBPK モデルに必要であることが支持された。

Final iv-po model によって 1 mg 経口投与後の吸収相の血漿中濃度推移は良く記述されたが、2.5、5、10 mg 投与後に関しては、実測値より高く推定する傾向が見られた (Fig. 9A)。感度分析の結果、 P_{eff} 、 k_s 及び kt の値を変化させることにより吸収相の血漿中濃度推移の推定が改善することが明らかとなった。このことから、吸収及び消化管の移行に関するヒトのデータが得られれば、そのデータを追加することによって現在の PBPK モデルがさらに改善する可能性があることが示唆された。

Final iv-po model の妥当性を評価するために、パラメータの推定値を、文献で報告された値がある場合、文献値と比較した。パラメータの推定値は、 $N_2 \cdot K_2$ を除いて文献で報告されている値の範囲内 (約 0.3 から 2.6 倍) であり、これらの推定値は生理学

的に想定される範囲の値であることが示唆された (Table 7)。 $N_2 \cdot K_2$ の推定値が文献値と異なった理由は不明であるが、*in vitro* と *in vivo* の状態の相違がその原因の一つであると考えられる。

Table 7 Comparison of estimated values of the parameters in final iv-po model with those from the publication

Parameters [Unit]	Estimated values in the final iv-po model	Reported values	Ratio of estimated values to reported ones	References
Protein binding: Affinity constant (K_1) [nM^{-1}]	397	151.5	2.6	Kanasaki, 2018
Concentration of binding sites in plasma (N_1) [nM]	4.01	6.35	0.63	Fuchs, Tillement, et al., 2009
Product of affinity constant and concentration of non-saturable binding sites in plasma ($N_2 \cdot K_2$)	121	3.1	39	Fuchs, Tillement, et al., 2009
Effective permeability in small intestine (P_{eff}) [cm/h]	0.299	0.237	1.3	Sun et al., 2002, Pharmaceuticals and Medical Devices Agency
Duodenum transit rate constant ($kt1$) [h^{-1}]	3.29	4.07	0.81	Guo et al., 2013
Gastric emptying rate (k_s) [h^{-1}]	0.597	2.11	0.28	Guo et al., 2013

本研究の PBPK モデルは健康成人から得られたデータに基づいて構築されたが、患者での生化学的、生理学的なパラメータが正確に推定されたならば、このモデルによって患者でのリナグリプチンの薬物動態を記述することは可能であると考えられる。その際に障害となるのは、患者での DPP-4 への結合を推定することが非線形な薬物動態を説明するために必須であることである。血清中または血漿中の DPP-4 の発現が C 型肝炎患者や血液または固形がん患者において変化することが報告されている (Lamers et al., 2011, Ragab et al., 2013, Cordero, Salgado, & Nogueira, 2009) ことを考

慮すると、患者での薬物動態を記述するための PBPK モデルを開発するには、患者の血液中及び組織中の DPP-4 との結合の推定が必須となると考えられる。

さらに、リナグリプチンでは臨床的に意味のある薬物相互作用は報告されていないものの、構築した PBPK モデルは、他の薬物を併用した際の薬物動態の変化の定量的な予測及びメカニズムに関する理解を助けるために応用できると考えられる。今回作成した PBPK モデルは、ヒトでのリナグリプチンの最初の PBPK モデルであり、リナグリプチンの全身での複雑な薬物動態を説明するためにモデルには必要最小限のパラメータを組み込んだ。

本 PBPK モデルは、リナグリプチンの患者での薬物動態をさらに正確に理解するために有用であるのみならず、DPP-4 阻害剤のような低分子薬剤の TMDD の薬物動態モデルの事例としても役立つと考えられる。

以上より、リナグリプチンの PBPK モデルをメカニズムに基づいて構築し、血液、筋肉、皮膚及び腎臓での飽和性の蛋白結合を考慮することによってリナグリプチンの薬物動態の非線形性を記述出来ること、さらにリナグリプチンの薬物動態が高親和性で飽和性の標的蛋白である DPP-4 へのリナグリプチンの結合によって説明されることを示した。

第4章 静脈内及び経口投与後のリナグリプチンのPBPKモデルの応用

第1節 緒言

第3章では、リナグリプチンの濃度依存的な蛋白結合を組み込んだ静脈内及び経口投与後のリナグリプチンのPBPKモデルを構築し、リナグリプチンの薬物動態が高親和性で飽和性の標的蛋白であるDPP-4へのリナグリプチンの結合によって説明されることを示した。

構築した final iv-po model の応用の一つとして、種々のパラメータの変化がリナグリプチンの血漿中濃度に及ぼす影響の程度を検討することとした。有効性及び安全性への影響を考察することを可能にするために血漿中総薬物濃度に加えて非結合形濃度についてもシミュレーションした。臨床での使用状況を想定し、経口投与後のシミュレーションを実施した。まず、リナグリプチンの薬物動態に重要な飽和性の蛋白結合の及ぼす影響の程度を検討するために、飽和性の蛋白結合に関係するパラメータ (K_i , N_i) を変化させて、リナグリプチンの血漿中総薬物濃度及び非結合形薬物濃度に対する影響の程度を検討した。得られた結果を用いて、有効性及び安全性への影響の可能性について考察した。さらに、一般的に薬物動態に影響を及ぼす重要な要因であると考えられる肝機能及び腎機能の低下時に想定される $CL_{h,int}$ 及び糸球体濾過速度 (GFR) の低下の、リナグリプチンの血漿中総薬物濃度及び非結合形薬物濃度に及ぼす影響の程度をシミュレーションした。得られた結果を用いて各パラメータの変化が安全性に及ぼす影響の可能性について考察を行った。

第2節 方法

4-2-1. 蛋白結合に関するパラメータ (K_1 , N_1)の影響の検討

Final iv-po model の物質収支式を用いて、蛋白結合に関するパラメータ (K_1 , N_1) をそれぞれ final iv-po model の推定値の 1/3、1/10、3 倍、10 倍と変化させた際の 1、2.5、5、10 mg リナグリプチンを経口投与後の血漿中総薬物濃度及び非結合形濃度をシミュレーションした。シミュレーションには第 2 及び第 3 章と同様に Phoenix Winnonlin® (Version 8.1, Certara, USA, Inc, Princeton, New Jersey) を用いた。

4-2-2. 肝機能及び腎機能に関するパラメータ ($CL_{h,int}$, GFR)の影響の検討

4-2-1 項と同様に final iv-po model の物質収支式を用いて、肝機能及び腎機能の低下時に変化するパラメータ ($CL_{h,int}$, GFR) をそれぞれ final iv-po model の推定値の 1/3、1/10 と低下させた際の 1、2.5、5、10 mg リナグリプチンを経口投与後の血漿中総薬物濃度及び非結合形濃度をシミュレーションした。シミュレーションには第 2 及び第 3 章と同様に Phoenix Winnonlin® (Version 8.1, Certara, USA, Inc, Princeton, New Jersey) を用いた。

第3節 結果

4-3-1. 蛋白結合に関するパラメータ (K_1 , N_1)の影響

蛋白結合に関するパラメータ (K_1 , N_1) をそれぞれ final iv-po model の推定値の 1/3、1/10、3 倍、10 倍と変化させた際の 1、2.5、5、10 mg リナグリプチンを経口投与後の血漿中総薬物濃度及び非結合形濃度をシミュレーションした結果を Fig. 12 及び Fig. 13 に示した。 K_1 を大きくすると血漿中総薬物濃度のピーク値はあまり影響を受けないものの消失が遅くなり総薬物濃度は高くなる傾向が認められた。高用量では影響はあまり見られなかった。非結合形濃度は K_1 を大きくすると低くなる傾向がみられたが投与量が上昇するにつれ影響は小さく、5 mg 以上ではほとんど変化は見られなかった。 N_1 を大きくするといずれの用量でも血漿中総薬物濃度は上昇し、消失が遅くなる傾向が認められた。非結合形濃度は N_1 を大きくすると低くなる傾向がみられたが、投与量が上昇するにつれ影響は小さくなり、5 mg 以上では N_1 を 10 倍にした場合を除き、ほとんど影響はみられなかった。

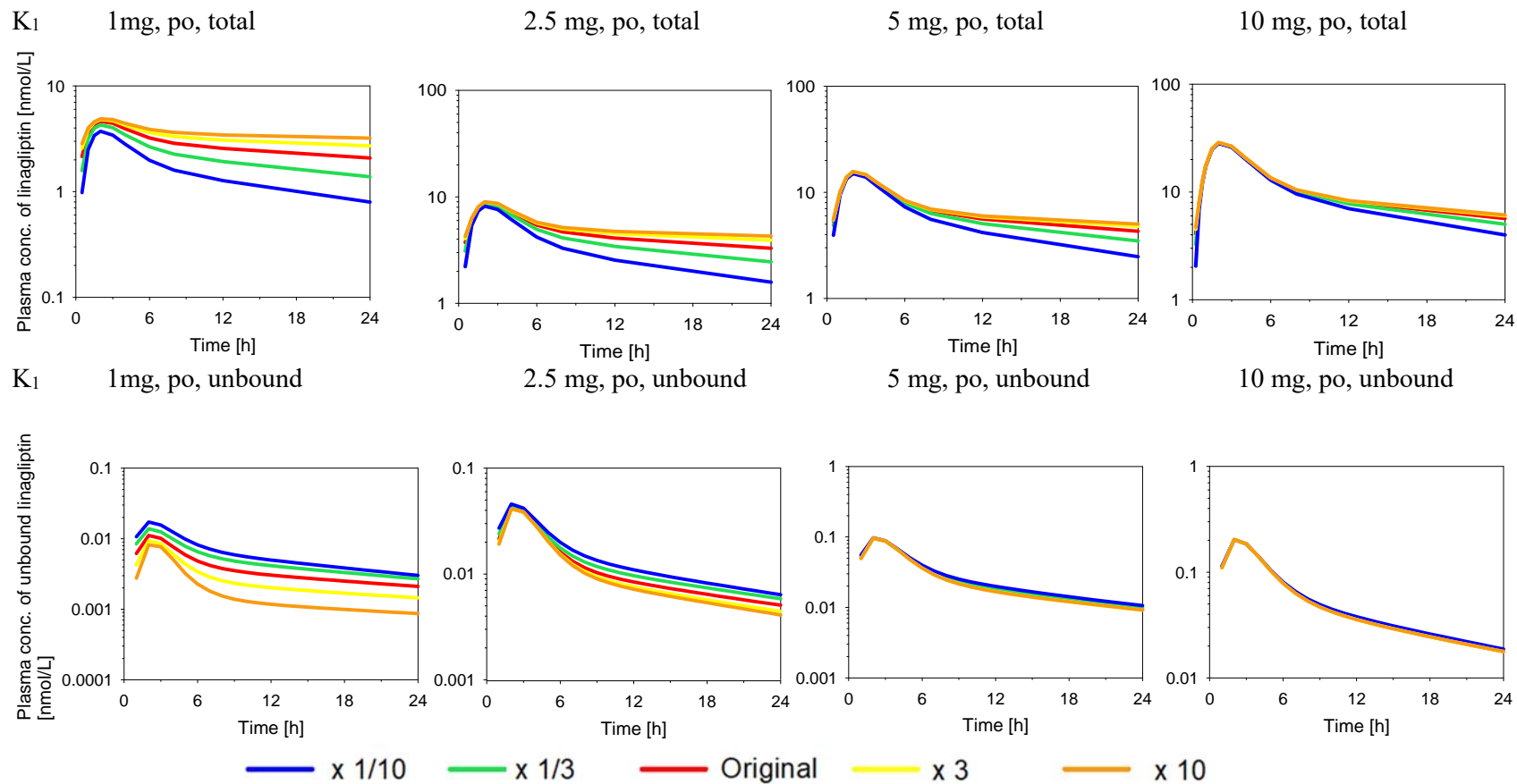


Fig. 12 Sensitivity analysis of the protein binding related parameter (K_1) in simulation of plasma concentration-time profiles of linagliptin after oral administration (upper panels: total, lower panels: unbound)

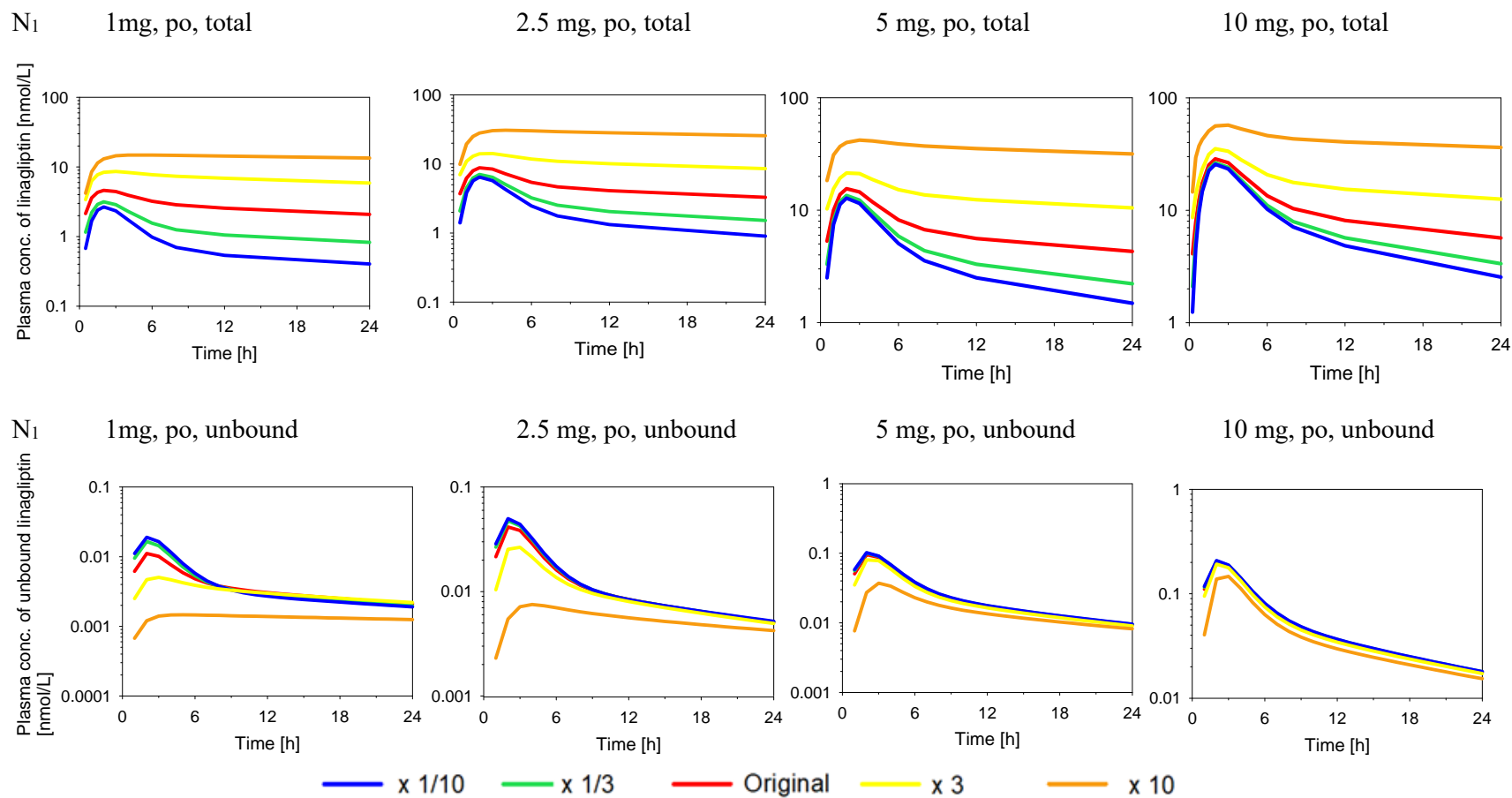


Fig. 13 Sensitivity analysis of the protein binding related parameter (N_1) in simulation of plasma concentration-time profiles of linagliptin after oral administration (upper panels: total, lower panels: unbound)

4-3-2. 肝機能及び腎機能の低下時に変化するパラメータ (CL_{h,int}, GFR) の影響

肝機能及び腎機能の低下時に変化するパラメータ (CL_{h,int}, GFR) をそれぞれ final iv-po model の推定値の 1/3、1/10 と変化させた際の 1、2.5、5、10 mg リナグリプチンを経口投与後の血漿中総薬物濃度及び非結合形濃度をシミュレーションした結果を Fig. 14 及び Fig. 15 に示した。CL_{h,int} を小さくすると血漿中総薬物濃度及び非結合形濃度が上昇し、半減期が若干延長する傾向が認められた (Fig. 14)。GFR を変化させることにより、血漿中総薬物濃度及び非結合形濃度に対する影響はみられなかった (Fig. 15)。

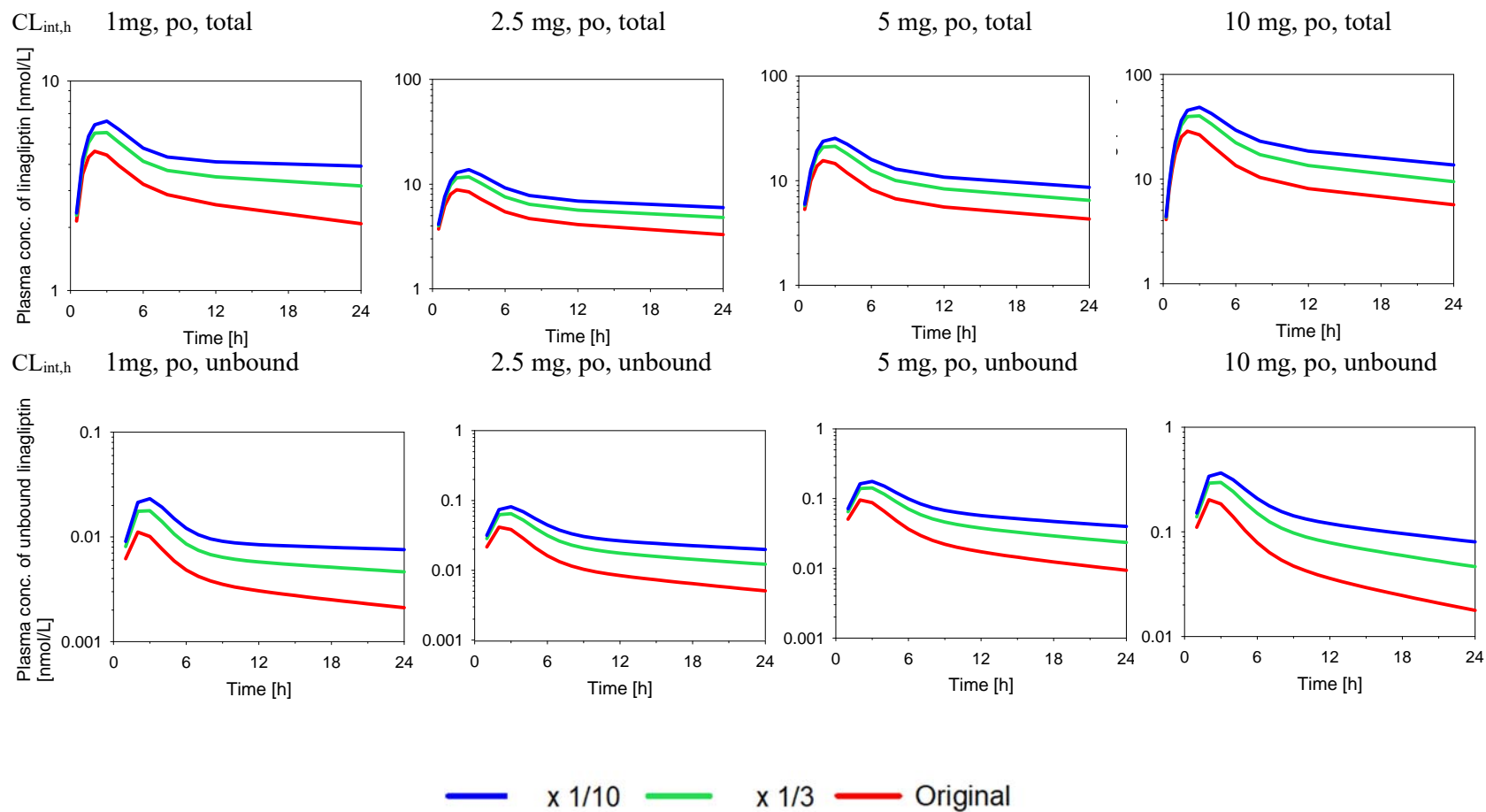


Fig. 14 Sensitivity analysis of the hepatic intrinsic clearance ($CL_{int,h}$) in simulation of plasma concentration-time profiles of linagliptin after oral administration (upper panels: total, lower panels: unbound)

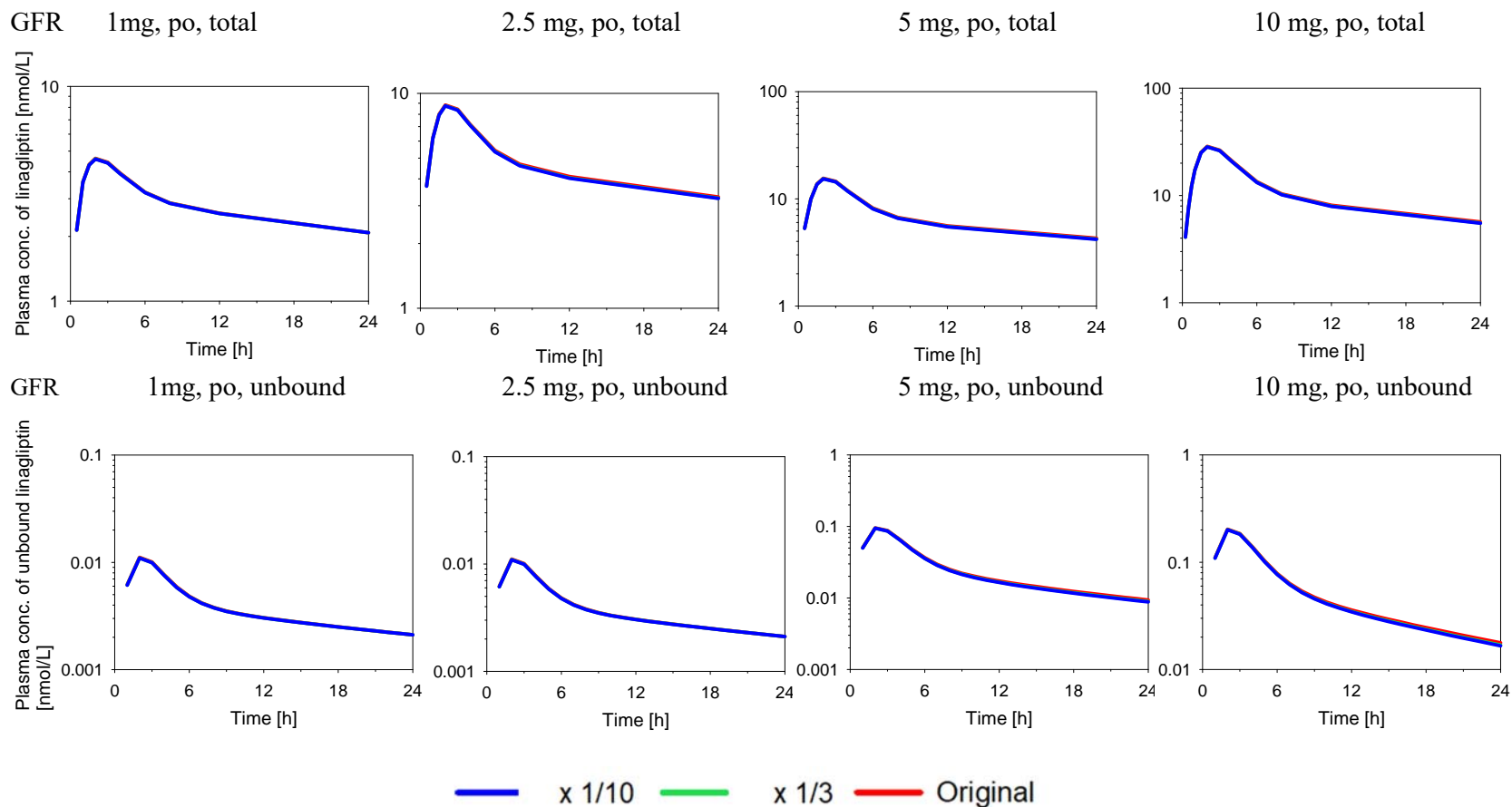


Fig. 15 Sensitivity analysis of the glomerular filtration rate (GFR) in simulation of plasma concentration-time profiles of linagliptin after oral administration (upper panels: total, lower panels: unbound)

第4節 考察

第3章で構築した final iv-po model の応用として、リナグリプチンの薬物動態に重要な飽和性の蛋白結合に関係するパラメータ (K_1 , N_1) 及び一般的に薬物動態に影響を及ぼす要因であると考えられる肝機能及び腎機能の低下時に変化するパラメータ ($CL_{h,int}$, GFR) を変動させた場合のリナグリプチンの血漿中総薬物濃度及び非結合形薬物濃度に対する影響の程度をシミュレーションした。

肝機能 (肝固有クリアランス) を低下させることによりリナグリプチンの血漿中総薬物濃度の上昇がみられた。この結果は肝臓がリナグリプチンの消失臓器として重要であることを示唆しており、リナグリプチンの排泄過程において尿中排泄はマイナーであり、主に胆汁を介して糞中から排泄されるということ (Blech et al., 2010) をサポートしている。一方、この結果は肝機能障害患者でリナグリプチンの血漿中濃度はほとんど影響を受けないという文献 (Graefe-Mody et al., 2012) の結果とは一致しなかったが、肝機能障害患者では肝固有クリアランスの低下のみではなく、蛋白結合、門脈体循環シャント、代謝酵素やトランスポーターの発現変化など様々な生理的な変化がおこっていること (Ikemura et al., 2009; Verbeeck, 2008) が原因の一つとして考えられるかもしれない。腎機能 (GFR) を低下させた場合にリナグリプチンの血漿中総薬物濃度に対する影響はみられなかったが、この結果は Graefe-Mody らの腎機能障害患者でリナグリプチンの血漿中濃度はほとんど影響を受けないという報告 (Graefe-Mody et al., 2011) の結果と合致するものであり、またリナグリプチンの薬物動態において尿中排泄の寄与はマイナーであることから想定された結果であった。

蛋白結合に関係するパラメータ (K_1 , N_1) を変化させることにより、血漿中総薬物濃度のみならず、非結合形濃度も変化することが示された。本研究の PBPK モデルは健康成人から得られたデータに基づいて構築されたが、第3章でも考察したように、血清中または血漿中の DPP-4 の発現が種々病態において変化することが報告されてい

る (Lamers et al., 2011, Ragab et al., 2013, Cordero et al., 2009) ことを考慮すると、患者での薬物動態を記述するための PBPK モデルを開発するには、患者の血液中及び組織中の DPP-4 との結合の推定が必須である。このような推定が可能になれば、本モデルを応用して患者での薬物動態を推定することが可能になる可能性がある。

臨床用量である 5 mg での非結合形濃度に対する K_1 の影響はほとんどなく、 N_1 を大きくすると若干低くなる傾向がみられた。この結果から、今回シミュレーションした範囲での K_1 や N_1 の変化によってリナグリプチンの非結合形濃度はほとんど影響を受けないか、または受けても低下する方向であることから、非結合形濃度が上昇して安全性に問題を生じる可能性は低いと考えられ、ヒトでのリナグリプチンの高い安全性をサポートする結果であると考えられる。また、臨床用量である 5 mg での非結合形濃度はいずれのシミュレーション条件でも単回投与 24 時間後まで K_d 値 (K_1 の逆数: 0.0025 nM) より高く、蛋白結合に関するパラメータ (K_1 , N_1) の変化が有効性に関して大きな影響を与えることはないことが示唆された。

以上より、本研究で構築した final iv-po model を用いてリナグリプチンの薬物動態に重要な飽和性の蛋白結合に関するパラメータ、肝機能及び腎機能を変化させた場合のリナグリプチンの血漿中総薬物濃度及び非結合形薬物濃度に対する影響の程度をシミュレーションすることにより、その影響の程度を考察するとともに非結合形薬物濃度の予測値からパラメータの変化による安全性や有効性への考察が可能となることが示唆された。

第5章 総括

リナグリプチンは DPP-4 への高親和性かつ飽和性の結合のため、臨床濃度範囲で血漿中蛋白結合率が非線形性を示し、さらに血漿中薬物動態は経口投与後及び静脈内投与後ともに非線形であり、AUC は用量比以下の増加を示す。このような血漿中及び尿中の非線形性は DPP-4 への結合の飽和によるものであると推察されているが、ヒトにおいて血漿中蛋白結合の非線形性と薬物動態の非線形性との関係を示す直接的な根拠はこれまでに得られていない。PBPK モデルは、生理学的な臓器を想定したモデルであるという特徴を有することから、PBPK モデルはリナグリプチンの非線形な薬物動態や TMDD を記述するために有用なツールであると考え、リナグリプチンの PBPK モデルを構築した。本研究では、市販のソフトウェアで構築されている PBPK モデルのようにヒトの全臓器を組み込んだモデルを構築するのではなく、必要最小限の臓器を組み込んだ PBPK モデルを構築することにより、リナグリプチンの標的介在性の非線形な薬物動態を探索的に記述することを試みた。また、ヒトでの¹⁴C標識リナグリプチン投与後のマスバランス試験のデータを用いることによってヒトでのデータを得ることが困難な腸肝循環コンパートメントに関するパラメータを推察することが可能となることを示した。

以上のような方法でリナグリプチンの PBPK モデルをメカニズムに基づいて構築し、血液、筋肉、皮膚及び腎臓での飽和性の蛋白結合を考慮することによってリナグリプチンの薬物動態の非線形性を記述出来ること、さらにリナグリプチンの薬物動態が高親和性で飽和性の標的蛋白である DPP-4 へのリナグリプチンの結合によって説明されることを示した。本 PBPK モデルは、リナグリプチンの患者での薬物動態をさらに正確に理解するために有用であるのみならず、DPP-4 阻害剤のような低分子薬剤の TMDD の薬物動態モデルの事例としても役立つと考えられる。

さらに構築した PBPK モデルを用いた血漿中総薬物濃度及び非結合形薬物濃度のシミュレーションの結果から、リナグリプチンの薬物動態に影響を与えると考えられる蛋白結合に関するパラメータ (K_1 、 N_1) を変化させることにより、血漿中総薬物濃度のみならず、非結合形濃度も変化することが示されたが、臨床用量である 5 mg での非結合形濃度への K_1 の影響はほとんどなく、 N_1 を大きくすると若干低くなる傾向がみられた。この結果から、今回シミュレーションした範囲での K_1 や N_1 の変化によってリナグリプチンの非結合形濃度はほとんど影響を受けないか、または受けても低下する方向であることから、蛋白結合に関するパラメータの変化により非結合形濃度が上昇して安全性に問題を生じる可能性は低いと考えられ、ヒトでのリナグリプチンの高い安全性をサポートする結果であると考えられる。このように PBPK モデルを用いて種々のパラメータを動かした場合のリナグリプチンの非結合形薬物濃度をシミュレーションすることにより、安全性や有効性への影響の考察へと応用することが出来る可能性が示された。

本研究から、ヒトでのリナグリプチンの薬物動態の非線形性を、血液及び組織での飽和性の標的蛋白である DPP-4 への結合を考慮した PBPK モデルによって記述出来ることを示した。DPP-4 阻害剤のような低分子薬剤の TMDD の薬物動態モデルの事例としても役立つ可能性及び PBPK モデルを用いて非結合形薬物濃度を予測することにより種々のパラメータの安全性や有効性への影響の考察への応用の可能性が示された。

Supplement

物質収支式

以下に本研究で構築した PBPK モデルの物質収支式を示す。以下の式中で $A_{(\text{compartment})}$ は各コンパートメントでのリナグリプチンの量、 $C_{(\text{compartment})}$ は各コンパートメントでのリナグリプチンの濃度、 $V_{(\text{compartment})}$ は各コンパートメントの体積、 $K_{pu,(\text{compartment})}$ は各コンパートメントでの非結合形リナグリプチンの分配係数を示す。よって $A_{(\text{compartment})}$ は $C_{(\text{compartment})}$ と $V_{(\text{compartment})}$ の積として記述した。

血液コンパートメント:

$$\begin{aligned} \frac{dA_{\text{blood}}}{dt} = & \left(C_H \times Q_H \times \frac{R_B}{K_{pu,h} \times f_{u,p}} \right) - C_{\text{blood}} \times Q_{ha} - C_{\text{blood}} \times Q_{pv} - \\ & C_{\text{blood}} \times (Q_k - GFR) + C_{\text{tubule}} \times (Q_k - Q_u) \times \frac{R_B}{K_{pu,k} \times f_{u,p}} - C_{u,p} \times GFR \\ & - C_{\text{blood}} \times Q_{\text{mus}} \tag{1} \\ & + \left(C_{\text{mus},f} + \frac{C_{\text{mus},f} \times N1 \times K1}{1 + K1 \times C_{\text{mus},f}} + C_{\text{mus},f} \times N2 \cdot K2 \right) \times R_B \times Q_{\text{mus}} - C_{\text{blood}} \times Q_{\text{skin}} \\ & + \left(C_{\text{skin},f} + \frac{C_{\text{skin},f} \times N1 \times K1}{1 + K1 \times C_{\text{skin},f}} + C_{\text{skin},f} \times N2 \cdot K2 \right) \times R_B \times Q_{\text{skin}} \end{aligned}$$

ここで Q_h は肝血流速度、 Q_{ha} は肝動脈血流速度、 Q_{pv} は門脈の血流速度、 Q_k は腎血流速度、 Q_u は尿の流速、 Q_{mus} は筋肉の血流速度、 Q_{skin} は皮膚の血流速度、 R_B は血漿中濃度に対する血液中濃度比、 GFR は糸球体濾過量を示す。

飽和性及び非飽和性の結合部位をそれぞれ 1 つずつ仮定し、2.2.3 項の式 (1) に基づき、血漿中非結合形濃度 ($C_{u,p}$) は以下の式で記述した。

$$C_{u,p} = \frac{-1 + C_p \times K1 - K1 \times N1 - N2 \cdot K2 + \sqrt{(1 - C_p \times K1 + K1 \times N1 + N2 \cdot K2)^2 + 4 \times C_p \times (K1 + K1 \times N2 \cdot K2)}}{2 \times (K1 + K1 \times N2 \cdot K2)} \tag{2}$$

血漿中濃度(C_p)及び R_B は以下のように記述した。

$$C_p = \frac{C_{blood}}{R_B} \quad (3)$$

$$R_B = \frac{C_p - Hct \times C_p + Hct \times C_{u,p} \times \rho}{C_{u,p}} \times f_{u,p} \quad (4)$$

ここで Hct はヘマトクリット、 ρ はリナグリプチンの血漿中非結合形濃度に対する血球中濃度の比を示す。

血漿中非結合形分率 ($f_{u,p}$) は以下のように記述した。

$$f_{u,p} = \frac{1 + C_{u,p} \times K1}{1 + K1 \times N1 + N2 \cdot K2 + C_{u,p} \times K1 \times (1 + N2 \cdot K2)} \quad (5)$$

式(2) から (5)より最終的に $C_{p,f}$ は以下の式で記述される。

$$C_{u,p} = \frac{-Y + \sqrt{Y^2 + 4 \times C_{blood} \times X}}{2 \times X} \quad (6)$$

ここで $X = K1 - Hct \times K1 + \rho \times Hct \times K1 + K1 \times N2 \cdot K2 - Hct \times K1 \times N2 \cdot K2$

$Y = 1 - Hct + \rho \times Hct - C_{blood} \times K1 + K1 \times N1 - Hct \times K1 \times N1 + N2 \cdot K2 - Hct \times N2 \cdot K2$ 。

式 (4) から (6)より最終的に R_B は以下の式で記述される。

$$R_B = \frac{(1 + Hct \times (-1 + \rho - N2 \cdot K2) + N2 \cdot K2) \times (X + N2 \cdot K2 - Hct \times N2 \cdot K2 + Y)}{X + 2 \times \rho \times Hct \times K1 \times N1 + 2 \times N2 \cdot K2 - 2 \times Hct \times N2 \cdot K2 + \rho \times Hct \times N2 \cdot K2 + C_{cent} \times K1 \times N2 \cdot K2 + K1 \times N1 \times N2 \cdot K2 + N2 \cdot K2 \times Y - Hct \times K1 \times N1 \times N2 \cdot K2 + N2 \cdot K2^2 - Hct \times N2 \cdot K2^2 + Y} \quad (7)$$

ここで $X = 1 - Hct + \rho \times Hct + C_{cent} \times K1 + K1 \times N1 - Hct \times K1 \times N1$ 。

Y

$$= \sqrt{4 \times C_{blood} \times K1 \times (1 + Hct \times (-1 + \rho - N2 \cdot K2) + N2 \cdot K2) + (1 - C_{blood} \times K1 + K1 \times N1 + Hct \times (-1 + \rho - K1 \times N1 - N2 \cdot K2) + N2 \cdot K2)^2}$$

筋肉コンパートメント:

$$\frac{dA_{mus}}{dt} = C_{blood} \times Q_{mus} - \left(C_{mus, f} + \frac{C_{mus, f} \times N1 \times K1}{1 + K1 \times C_{mus, f}} + C_{mus, f} \times N2 \cdot K2 \right) \times R_B \quad (8)$$

$$\begin{aligned} & \times Q_{mus} \\ & \frac{-(1 + N2 \cdot K2) + (N1 + N1_{mus}) \times K1 + K_{pu, mus} - K1 \times C_{mus}}{\sqrt{(-K1 \times C_{mus} + K_{pu, mus} + (N1 + N1_{mus}) \times K1 + 1 + N2 \cdot K2)^2 + 4 \times (K1 + N2 \cdot K2 \times K1 + K_{pu, mus} \times K1) \times C_{mus}}} \quad (9) \\ C_{mus, f} = & \frac{2 \times (K1 + N2 \cdot K2 \times K1 + K_{pu, mus} \times K1)}{\sqrt{(-K1 \times C_{mus} + K_{pu, mus} + (N1 + N1_{mus}) \times K1 + 1 + N2 \cdot K2)^2 + 4 \times (K1 + N2 \cdot K2 \times K1 + K_{pu, mus} \times K1) \times C_{mus}}} \end{aligned}$$

ここで $N1_{mus}$ は筋肉コンパートメントでの結合部位の濃度を示す。

皮膚コンパートメント:

$$\frac{dA_{skin}}{dt} = C_{blood} \times Q_{skin} - \left(C_{skin, f} + \frac{C_{skin, f} \times N1 \times K1}{1 + K1 \times C_{skin, f}} + C_{skin, f} \times N2 \cdot K2 \right) \times R_B \quad (10)$$

$$\begin{aligned} & \times Q_{skin} \\ & \frac{-(1 + N2 \cdot K2) + (N1 + N1_{skin}) \times K1 + K_{pu, skin} - K1 \times C_{skin}}{\sqrt{(-K1 \times C_{skin} + K_{pu, skin} + (N1 + N1_{skin}) \times K1 + 1 + N2 \cdot K2)^2 + 4 \times (K1 + N2 \cdot K2 \times K1 + K_{pu, skin} \times K1) \times C_{skin}}} \quad (11) \\ C_{skin, f} = & \frac{2 \times (K1 + N2 \cdot K2 \times K1 + K_{pu, skin} \times K1)}{\sqrt{(-K1 \times C_{skin} + K_{pu, skin} + (N1 + N1_{skin}) \times K1 + 1 + N2 \cdot K2)^2 + 4 \times (K1 + N2 \cdot K2 \times K1 + K_{pu, skin} \times K1) \times C_{skin}}} \end{aligned}$$

ここで $N1_{skin}$ は皮膚コンパートメントでの結合部位の濃度であり、 $N1_{skin} = N1_{mus} \times R_{skin_to_muscle \ ratio}$ 。として記述した。 $R_{skin_to_muscle \ ratio}$ の値は、文献で報告されている筋肉に対する皮膚の DPP-4 活性の比 (4.25) に固定した。(Wang et al., 2014)

肝臓コンパートメント:

$$\frac{dA_{liver}}{dt} = - \left(Ch \times Qh \times \frac{R_B}{K_{pu, h} \times fu, p} \right) + C_{blood} \times Q_{ha} + C_{pv} \times Q_{pv} - Ch, f \quad (12)$$

$$\times CL_{int, h} \times (1 - fbile) - Ch, f \times CL_{int, h} \times fbile$$

ここで $CL_{int, h}$ は肝固有クリアランス、 $fbile$ は代謝に対する胆汁中排泄の比、 $K_{pu, h}$ は肝臓での非結合形リナグリプチンの分配係数を示す。

肝臓コンパートメント中の非結合形濃度 (Ch, f) は以下の式によって記述した。

$$Ch, f = \frac{\frac{K1 \times Ch}{Kpu, h \times fu, p} - 1 - N1 \times K1 - N2 \cdot K2 + \sqrt{\left(-\frac{K1 \times Ch}{Kpu, h \times fu, p} + 1 + N1 \times K1 + N2 \cdot K2\right)^2 + 4 \times \frac{Ch}{Kpu, h \times fu, p} \times (1 + N2 \cdot K2) \times K1}}{2 \times K1 \times (1 + N2 \cdot K2)} \quad (13)$$

腸肝循環コンパートメント 1:

$$\frac{dAehc1}{dt} = Ch, f \times CLint, h \times fbile - Aehc1 \times kehc \quad (14)$$

ここで $kehc$ は腸肝循環コンパートメントの通過速度定数を示す。

腸肝循環コンパートメント 2 及び 3:

$$\frac{dAehc2}{dt} = Aehc1 \times kehc - Aehc2 \times kehc \quad (15)$$

$$\frac{dAehc3}{dt} = Aehc2 \times kehc - Aehc3 \times kehc \quad (16)$$

門脈コンパートメント:

$$\begin{aligned} \frac{dApv}{dt} = & -Cpv \times Qent1 - Cpv \times Qent2 - Cpv \times Qent3 \\ & + \left(Cgw1 \times Qent1 \times \frac{R_B}{Kpu, g \times fu, p}\right) + \left(Cgw2 \times Qent2 \times \frac{R_B}{Kpu, g \times fu, p}\right) \\ & + \left(Cgw3 \times Qent3 \times \frac{R_B}{Kpu, g \times fu, p}\right) - Cpv \times Qpv + Cblood \times Qpv \end{aligned} \quad (17)$$

ここで Q_{ent} は腸細胞の血流速度、 $K_{pu, g}$ は腸管壁での非結合形リナグリプチンの分配係数を示す。

十二指腸 (int1)、空腸 (int2)、および回腸 (int3) コンパートメント:

$$\frac{dA_{int1}}{dt} = -A_{int1} \times \frac{2 \times P_{eff}}{r1} + \frac{V_{max,pgp}}{K_{m,pgp} + C_{gw1,f}} \times C_{gw1,f} \times SA_{int1} \times F_{pgp1} \quad (18)$$

$$- A_{int1} \times kt1 + A_{ehc3} \times kehc + A_{stomach} \times ks$$

$$\frac{dA_{int2}}{dt} = -A_{int2} \times \frac{2 \times P_{eff}}{r2} + \frac{V_{max,pgp}}{K_{m,pgp} + C_{gw2,f}} \times C_{gw2,f} \times SA_{int2} \times F_{pgp2} \quad (19)$$

$$+ A_{int1} \times kt1 - A_{int2} \times kt2$$

$$\frac{dA_{int3}}{dt} = -A_{int3} \times \frac{2 \times P_{eff}}{r3} + \frac{V_{max,pgp}}{K_{m,pgp} + C_{gw3,f}} \times C_{gw3,f} \times SA_{int3} \times F_{pgp3} \quad (20)$$

$$+ A_{int2} \times kt2 - A_{int3} \times kt3$$

ここで P_{eff} はヒト小腸の透過性、 r は各腸管壁コンパートメントの半径、 $V_{max,pgp}$ は P-gp の最大反応速度、 $K_{m,pgp}$ は P-gp のミカエリス定数、 SA_{int1} 、 SA_{int2} 及び SA_{int3} は十二指腸、空腸及び回腸の腸管壁の表面積、 F_{pgp} は回腸の P-gp の発現量に対する各器官での相対的な発現量、 $kt1$ は十二指腸から空腸へ、 $kt2$ は空腸から回腸へ、 $kt3$ は回腸からの移行速度定数、 ks は胃内容排出速度を示す。

(18) 式の最終項は iv-po model のみに組み込み、iv model には組み込まなかった。

(18) から (20) 式の $(2 \times P_{eff})/r(n)$ ($n = 1-3$) は Fig. 2 の十二指腸、空腸及び回腸の吸収速度定数 ($ka1$ 、 $ka2$ 、 $ka3$) に相当する。

腸管壁コンパートメント 1-3:

$$\frac{dA_{gw(n)}}{dt} = - \left(C_{gw(n)} \times Q_{ent(n)} \times \frac{R_B}{K_{pu,g} \times f_{u,p}} \right) + C_{pv} \times Q_{ent(n)} \quad (21)$$

$$+ A_{int(n)} \times \frac{2 \times P_{eff}}{r(n)} - \frac{V_{max,pgp}}{K_{m,pgp} + C_{gw(n),f}} \times C_{gw(n),f} \times SA_{int(n)} \times F_{pgp(n)}$$

腸管壁コンパートメントの非結合形濃度 (Cgw(n),f) は以下の式で記述した。

$$C_{gw(n),f} = \frac{\frac{K1 \times C_{gw(n)}}{K_{pu,gw(n)} \times f_{u,p}} - 1 - N1 \times K1 - N2 \cdot K2 + \sqrt{\left(-\frac{K1 \times C_{gw(n)}}{K_{pu,g} \times f_{u,p}} + 1 + N1 \times K1 + N2 \cdot K2\right)^2 + 4 \times \frac{C_{gw(n)}}{K_{pu,g} \times f_{u,p}} \times (1 + N2 \cdot K2) \times K1}}{2 \times K1 \times (1 + N2 \cdot K2)} \quad (22)$$

ここで (n) は 1, 2, 又は 3 の値をとる。

胃コンパートメント(iv-po model のみ):

$$\frac{dA_{stomach}}{dt} = -A_{stomach} \times k_s \quad (23)$$

腎臓の尿細管コンパートメント:

$$\frac{dA_{tubule}}{dt} = C_{blood} \times (Q_k - GFR) - C_{tubule} \times (Q_k - Q_u) \times \frac{R_B}{K_{pu,k} \times f_{u,p}} - C_{tubule,f} \times CL_{sec} + (C_{duct} - C_{duct,f}) \times CL_{d-t} \quad (24)$$

ここで $K_{pu,k}$ は腎臓での非結合形リナグリプチンの分配係数、 CL_{sec} は腎臓での分泌クリアランス、 CL_{d-t} は尿細管腔から尿細管へのクリアランスを示す。

注:(24)式の最終項は model 3、final iv model 及び final iv-po model に組み込んだ。

(24)式の最終項は Model 1 では組み込まず、Model 2 では $C_{duct,f} \times CL_{d-t}$ として組み込んだ。

尿細管コンパートメントでの非結合形濃度 (Ctubule,f) は以下の式で記述した。

$$C_{tubule, f} = \frac{\frac{K1 \times C_{tubule}}{K_{pu, k} \times f_{u, p}} - 1 - N1 \times K1 - N2 \cdot K2 + \sqrt{\left(-\frac{K1 \times C_{tubule}}{K_{pu, k} \times f_{u, p}} + 1 + N1 \times K1 + N2 \cdot K2\right)^2 + 4 \times \frac{C_{tubule}}{K_{pu, k} \times f_{u, p}} \times (1 + N2 \cdot K2) \times K1}}{2 \times K1 \times (1 + N2 \cdot K2)} \quad (25)$$

尿細管腔コンパートメントでの非結合形濃度 ($C_{duct, f}$) は以下の式で記述した。

$$C_{duct, f} = \frac{K1 \times C_{duct} - 1 - N1k \times K1 + \sqrt{(-K1 \times C_{duct} + 1 + N1k \times K1)^2 + 4 \times C_{duct} \times K1}}{2 \times K1} \quad (26)$$

ここで $N1k$ は腎臓での結合部位の濃度。腎臓では1つの飽和性結合部位のみを仮定した。

腎臓の尿細管腔コンパートメント:

$$\frac{dA_{duct}}{dt} = C_{tubule, f} \times CL_{sec} - C_{duct, f} \times Qu + C_{p, f} \times GFR - (C_{duct} - C_{duct, f}) \times CL_{d-t} \quad (27)$$

注:(27)式の最終項は model 3、final iv model 及び final iv-po model に組み込んだ。

(27)式の最終項は Model 1 では組み込まず、Model 2 では $C_{duct, f} \times CL_{d-t}$ として組み込んだ。

リナグリプチンの尿中排泄量 (X_u) は以下の式で記述した。

$$X_u = C_{duct, f} \times Qu \quad (28)$$

静脈内投与時の初期条件:

$$C_{blood}(0) = Dose_{iv}/V_{blood} \quad (29)$$

経口投与時の初期条件:

$$A_{stomach}(0) = Dose_{po} \quad (30)$$

$$C_{blood}(0) = 0 \quad (31)$$

[¹⁴C] 標識したリナグリプチンを用いてヒトマスバランス試験の尿中及び糞中排泄データに基づく腸肝循環コンパートメントのパラメータ (f_{bile} and k_{ehc}) の最適化

[¹⁴C] 標識したリナグリプチン 5 mg 静脈内投与後 120 時間までの累積尿中リナグリプチン排泄量 (X_u), 投与後 288 時間までの累積糞中代謝物排泄量 (X_{met}) 及び投与後 288 時間までの累積糞中リナグリプチン排泄量 (X_{feces}) は既報の文献値を用いた (Blech et al., 2010)。 X_{met} の値は糞中への総 [¹⁴C] 放射能排泄量からリナグリプチンの排泄量を差し引くことで算出した。尿中への代謝物の排泄量は、糞中への排泄量と比べて無視できる程度であったことから、この方法で代謝物の総排泄量とみなすことが可能だと考えられた。上述した model 3 と同じモデル構造のモデルを用いて X_u , X_{met} , 及び X_{feces} の時間推移を式 (28) 及び以下の式に当てはめることにより f_{bile} 及び k_{ehc} の値を推定した。

$$X_{met} = C_{h,f} \times CL_{int,h} \times (1-f_{bile}) \quad (32)$$

$$X_{feces} = A_{int3} \times k_{t3} \quad (33)$$

f_{bile} 及び k_{ehc} 以外のパラメータ値は model 3 と同じ値とした。

引用文献

- Abbott CA, Baker E, Sutherland GR, McCaughan GW. Genomic organization, exact localization, and tissue expression of the human CD26 (dipeptidyl peptidase IV) gene. *Immunogenetics* 1994;40(5):331-338.
- Alpern RJ, Hebert SC, Seldin DW, Giebisch G. Structural organization of mammalian kidney. In: Seldin and Giebisch's the kidney: physiology and pathophysiology. 5th ed., Amsterdam: Elsevier, Acad. Press; 2012: 602.
- Barrett KE, Boitano S, Barman SM. Renal physiology. In: Ganong's Review of Medical Physiology 23rd ed., McGraw-Hill Medical; 2010: 640-641.
- Beresford WA. HISTOLOGY FULL-TEXT. Available at: <http://wberesford.hsc.wvu.edu/histol.htm>. Accessed January 3, 2020.
- Blech S, Ludwig-Schwellinger E, Grafe-Mody EU, Withopf B, Wagner K. The metabolism and disposition of the oral dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, linagliptin, in humans. *Drug Metab Dispos* 2010;38(4):667-678.
- Casanova JE, Mishumi Y, Ikehara Y, Hubbard AL, Mostov KE 1991. Direct apical sorting of rat liver dipeptidylpeptidase IV expressed in Madin-Darby canine kidney cells *J Biol Chem* 1991;266(36):24428-24432.
- Cordero OJ, Salgado FJ, Nogueira M. On the origin of serum CD26 and its altered concentration in cancer patients. *Cancer Immunol Immunother* 2009;58(11):1723-1747.
- Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. *Pharm Res* 1993;10(7):1093-1095.
- Fuchs H, Binder R, Greischel A. Tissue distribution of the novel DPP-4 inhibitor BI 1356 is dominated by saturable binding to its target in rats. *Biopharm Drug Dispos* 2009;30(5):229-240.
- Fuchs H, Tillement JP, Urien S, Greischel A, Roth W. Concentration-dependent plasma protein binding of the novel dipeptidyl peptidase 4 inhibitor BI 1356 due to saturable binding to its target in plasma of mice, rats and humans. *J Pharm Pharmacol* 2009;61(1):55-62.
- Golightly LK, Drayna CC, McDermott MT. Comparative clinical pharmacokinetics of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Clin Pharmacokinet* 2012;51(8):501-514.
- Graefe-Mody U, Friedrich C, Port A, Ring A, Retlich S, Heise T, Halabi A, Woerle HJ. Effect of renal impairment on the pharmacokinetics of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor linagliptin. *Diabetes Obes Metab* 2011;13(10):939-946.
- Graefe-Mody U, Rose P, Retlich S, Ring A, Waldhauser L, Cinca R, & Woerle H. J. Pharmacokinetics of linagliptin in subjects with hepatic impairment. *Br J Clin*

- Pharmacol 2012;74(1):75-85.
- Groop PH, Cooper ME, Perkovic V, Emser A, Woerle HJ, von Eynatten M. Linagliptin lowers albuminuria on top of recommended standard treatment in patients with type 2 diabetes and renal dysfunction. *Diabetes care* 2013;36(11):3460-3468.
- Guo H, Liu C, Li J, Zhang M, Hu M, Xu P, Liu L, Liu X. A mechanistic physiologically based pharmacokinetic-enzyme turnover model involving both intestine and liver to predict CYP3A induction-mediated drug-drug interactions. *J Pharm Sci* 2013;102(8):2819-2836.
- Hall JE. The body fluids and kidneys. In: Guyton and Hall textbook of medical physiology. 13th ed., Philadelphia: Elsevier; 2016:336.
- Hasan AA, Hocher B. Role of soluble and membrane-bound dipeptidyl peptidase-4 in diabetic nephropathy. *J Mol Endocrinol* 2017;59(1):R1-R10.
- Ikemura K, Iwamoto T, Okuda M. Altered functions and expressions of drug transporters in liver, kidney and intestine in disorders of local and remote organs: possible role of oxidative stress in the pathogenesis. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2009;5(8):907-920.
- Ishiguro N, Shimizu H, Kishimoto W, Ebner T, Schaefer O. Evaluation and prediction of potential drug-drug interactions of linagliptin using in vitro cell culture methods. *Drug Metab Dispos* 2013;41(1):149-158.
- Kuepfer L, Niederalt C, Wendl T, Schlender JF, Willmann S, Lippert J, Block M, Eissing T, Teutonico D. Applied concepts in PBPK modeling: How to build a PBPK/PD model. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* 2016;5(10):516-531.
- Kanasaki K. The role of renal dipeptidyl peptidase-4 in kidney disease: renal effects of dipeptidyl peptidase-4 Inhibitors with a focus on linagliptin. *Clin Sci (Lond)* 2018;132(4):489-507.
- Lamers D, Famulla S, Wronkowitz N, Hartwig S, Lehr S, Ouwens DM, Eckardt K, Kaufman JM, Ryden M, Muller S, Hanisch FG, Ruige J, Arner P, Sell H, Eckel J. Dipeptidyl peptidase 4 is a novel adipokine potentially linking obesity to the metabolic syndrome. *Diabetes* 2011;60(7):1917-1925.
- Mano Y, Sugiyama Y, Ito K. Use of a physiologically based pharmacokinetic model for quantitative prediction of drug-drug interactions via CYP3A4 and estimation of the intestinal availability of CYP3A4 substrates. *J Pharm Sci* 2015;104(9):3183-3193.
- Matter K, Stieger B, Klumperman J, Ginsel L, Hauri HP. Endocytosis, recycling, and lysosomal delivery of brush border hydrolases in cultured human intestinal epithelial cells (Caco-2). *J Biol Chem* 1990;265(6):3503-3512.
- McCaughan GW, Gorrell MD, Bishop GA, Abbott CA, Shackel NA, McGuinness PH,

- Levy MT, Sharland AF, Bowen DG, Yu D, Slaitini L, Church WB, Napoli J. Molecular pathogenesis of liver disease: an approach to hepatic inflammation, cirrhosis and liver transplant tolerance. *Immunol Rev* 2000;174:172-191.
- McGill JB. Linagliptin for type 2 diabetes mellitus: a review of the pivotal clinical trials. *Ther Adv Endocrinol Metab* 2012;3(4):113-124.
- Mentzel S, Dijkman HB, Van Son JP, Koene RA, Assmann KJ. Organ distribution of aminopeptidase A and dipeptidyl peptidase IV in normal mice. *J Histochem Cytochem* 1996;44(5):445-461.
- Pharmaceuticals and Medical Devices Agency. Common Technical Document of linagliptin. Available at: <http://www.pmda.go.jp/drugs/2011/P201100128/index.html>. Accessed January 3, 2020.
- Ragab D, Laird M, Duffy D, Casrouge A, Mamdouh R, Abass A, Shenawy DE, Shebl AM, Elkashef WF, Zalata KR, Kamal M, Esmat G, Bonnard P, Fontanet A, Rafik M, Albert ML. CXCL10 antagonism and plasma sDPPIV correlate with increasing liver disease in chronic HCV genotype 4 infected patients. *Cytokine* 2013;63(2):105-112.
- Rasmussen HB, Branner S, Wiberg FC, Wagtmann N. Crystal structure of human dipeptidyl peptidase IV/CD26 in complex with a substrate analog. *Nat Struct Biol* 2003;10(1):19-25.
- Retlich S, Duval V, Graefe-Mody U, Friedrich C, Patel S, Jaehde U, Staab A. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of linagliptin in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Pharmacokinet* 2015;54(7):737-750.
- Retlich S, Duval V, Graefe-Mody U, Jaehde U, Staab A. Impact of target-mediated drug disposition on linagliptin pharmacokinetics and DPP-4 inhibition in type 2 diabetic patients. *J Clin Pharmacol* 2010;50(8):873-885.
- Retlich S, Duval V, Ring A, Staab A, Huttner S, Jungnik A, Jaehde U, Dugi KA, Graefe-Mody U. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of single rising intravenous doses (0.5 mg-10 mg) and determination of absolute bioavailability of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor linagliptin (BI 1356) in healthy male subjects. *Clin Pharmacokinet* 2010;49(12):829-840.
- Retlich S, Withopf B, Greischel A, Staab A, Jaehde U, Fuchs H. Binding to dipeptidyl peptidase-4 determines the disposition of linagliptin (BI 1356)--investigations in DPP-4 deficient and wildtype rats. *Biopharm Drug Dispos* 2009;30(8):422-436.
- Roberts MS, Magnusson BM, Burczynski FJ, Weiss M. Enterohepatic circulation: physiological, pharmacokinetic and clinical implications. *Clin Pharmacokinet*

- 2002;41(10):751-790.
- Rodgers T, Rowland M. Mechanistic approaches to volume of distribution predictions: understanding the processes. *Pharm Res* 2007;24(5):918-933.
- Rowland M, Tozer TN. Elimination. In: *Clinical pharmacokinetics concepts and applications*. 3rd ed., Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1994:171.
- Samuel T, Hoy WE, Douglas-Denton R, Hughson MD, Bertram JF. Determinants of glomerular volume in different cortical zones of the human kidney. *J Am Soc Nephrol* 2005;16(10):3102-3109.
- Sarashina A, Sesoko S, Nakashima M, Hayashi N, Taniguchi A, Horie Y, Graefe-Mody EU, Woerle HJ, Dugi KA. Linagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor in development for the treatment of type 2 diabetes mellitus: a Phase I, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of single and multiple escalating doses in healthy adult male Japanese subjects. *Clin Ther* 2010;32(6):1188-1204.
- Sirianni GL, Pang KS. Intracellular and not intraluminal esterolysis of enalapril in kidney. Studies with the single pass perfused nonfiltering rat kidney. *Drug Metab Dispos* 1998;26(4):324-331.
- Stange T, Kettmann U, Holzhausen HJ. Immunoelectron microscopic single and double labelling of aminopeptidase N (CD 13) and dipeptidyl peptidase IV (CD 26). *Acta histochemica* 1996;98(3):323-331.
- Sugano K. Physiology of gastrointestinal tract and other administration sites in humans and animals. In: *Biopharmaceutics Modeling and Simulations: Theory, Practice, Methods, and Applications*. 1st ed., Wiley; 2012: 161.
- Sun D, Lennernas H, Welage L, Barnett J, Landowski C, Foster D, Fleisher D, Lee K, Amidon G. Comparison of human duodenum and Caco-2 gene expression profiles for 12,000 gene sequences tags and correlation with permeability of 26 drugs. *Pharm Res* 2002;19(10):1400-1416.
- Tadayasu Y, Sarashina A, Tsuda Y, Tatami S, Friedrich C, Retlich S, Staab A, Takano M. Population pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis of the DPP-4 inhibitor linagliptin in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus. *J Pharm Pharm Sci* 2013;16(5):708-721.
- Thomas L, Eckhardt M, Langkopf E, Tadayyon M, Himmelsbach F, Mark M. (R)-8-(3-amino-piperidin-1-yl)-7-but-2-ynyl-3-methyl-1-(4-methyl-quinazolin-2-yl methyl)-3,7-dihydro-purine-2,6-dione (BI 1356), a novel xanthine-based dipeptidyl peptidase 4 inhibitor, has a superior potency and longer duration of action compared with other dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *J Pharmacol Exp Ther* 2008;325(1):175-182.

- Verbeeck RK. Pharmacokinetics and dosage adjustment in patients with hepatic dysfunction. *Eur J Clin Pharmacol* 2008;64(12):1147-1161.
- Wang Z, Grigo C, Steinbeck J, von Horsten S, Amann K, Daniel C. Soluble DPP4 originates in part from bone marrow cells and not from the kidney. *Peptides*. 2014;57: 109-117.
- Yoshikado T, Yoshida K, Kotani N, Nakada T, Asaumi R, Toshimoto K, Maeda K, Kusuhara H, Sugiyama Y. Quantitative analyses of hepatic OATP-mediated interactions between statins and inhibitors using PBPK modeling with a parameter optimization method. *Clin Pharmacol Ther* 2016;100(5):513-523.
- Zimanyi MA, Hoy WE, Douglas-Denton RN, Hughson MD, Holden LM, Bertram JF. Nephron number and individual glomerular volumes in male Caucasian and African American subjects. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24(8):2428-2433.

謝辞

本研究に際し、御指導と御鞭撻を賜りました金沢大学 分子薬物治療学研究室
加藤将夫教授に謹んで感謝申し上げます。

また本論文作成に際し、長年にわたり有益な御助言と御高閲を賜りました横浜薬科
大学 千葉康司教授に謹んで感謝いたします。

共同研究者であり、本研究の機会を与えていただくとともに、御指導とサポ
ートをいただいた日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社 多々見真司博士
に心から感謝申し上げます。

本研究の機会を与えていただき、多くの御指導とサポートを賜りましたベー
リンガーインゲルハイム株式会社 Peter Sopfer 博士、Caroline Lippert 博士、
Alexander Staab 博士に深く感謝いたします。

本研究の完遂に対し、業務分担などでサポートしてくださった日本ベーリン
ガーインゲルハイム株式会社 臨床薬物動態部の皆さまに深く感謝致します。

また、本研究に際し、技術面でサポートしていただいた横浜薬科大学 山本
和史氏、中村亮氏に感謝致します。

最後に、本研究を常に支え続けてくれた家族そして両親に心から御礼を述べ
たいと思います。