

2 型糖尿病治療薬 SGLT2 阻害薬の
薬理作用メカニズムに関する
モデリング&シミュレーションを用いた定量的研究

2021 年 1 月

穴井 和美

2 型糖尿病治療薬 SGLT2 阻害薬の
薬理作用メカニズムに関する
モデリング&シミュレーションを用いた定量的研究

筑波大学大学院
理工情報生命学術院
生命地球科学研究群
生命農学学位プログラム
博士（生命農学）学位論文

穴井 和美

目次

第 1 章 序章.....	1
第 2 章 PBPK/PD モデルによる SGLT2 阻害薬の腎における薬理作用メカニズム解析 ...	6
第 1 節 緒言.....	6
第 2 節 方法.....	9
2.2.1 PBPK モデル構築.....	9
2.2.2 PBPK モデルバリデーション.....	15
2.2.3 SGLT2 阻害薬の尿細管管腔内濃度シミュレーション	20
2.2.4 SGLT2 阻害薬の腎尿細管における SGLT1 及び SGLT2 阻害率の算出.....	20
2.2.5 尿糖排泄速度シミュレーション.....	22
第 3 節 結果.....	25
2.3.1 PBPK モデル構築.....	25
2.3.2 PBPK モデルバリデーション.....	26
2.3.3 SGLT2 阻害薬の尿細管管腔内濃度シミュレーション	31
2.3.4 SGLT2 阻害薬の腎尿細管における SGLT1 及び SGLT2 阻害率.....	31
2.3.5 尿糖排泄速度シミュレーション.....	32
第 4 節 考察.....	36
第 5 節 結論.....	42
第 3 章 QSP モデルによる SGLT2 阻害薬の小腸における薬理作用メカニズム解析	43
第 1 節 緒言.....	43
第 2 節 方法.....	45
3.2.1 PBPK モデル.....	47
3.2.2 PBPK モデルのバリデーション.....	48

3.2.3	HSGD モデルの構築.....	52
3.2.4	HSGD モデルのバリデーション.....	57
3.2.5	食事負荷後の血漿中グルコース動態に対する SGLT2 阻害薬の影響	57
第 3 節	結果.....	60
3.3.1	イプラグリフロジン PBPK モデルの構築.....	60
3.3.2	イプラグリフロジン PBPK モデルのバリデーション.....	61
3.3.3	HSGD モデルの構築.....	64
3.3.4	HSGD モデルのバリデーション.....	65
3.3.5	食事負荷後の血漿中グルコース動態に対する SGLT2 阻害薬の影響	78
第 4 節	考察.....	89
第 5 節	結論.....	94
第 4 章	今後の展望.....	95
謝辞	101
参考文献	102

第1章 序章

世界の糖尿病人口は増加の一途をたどっており、国際糖尿病連合（IDF）の報告によると、2019年現在で約4億6300万人と推定されている [1]. 糖尿病とは、インスリン作用不足による慢性の高血糖状態を主徴とする代謝疾患群であり、その成因により1型、2型、その他の特定の機序・疾患によるもの、妊娠糖尿病に分類される [2]. その中で、全糖尿病患者の90%以上を占める2型糖尿病は、インスリン分泌低下やインスリン抵抗性をきたす遺伝的素因に、過食、運動不足、肥満など種々の環境因子や後天的身体要因が加わって発症すると考えられている。インスリン非依存状態の2型糖尿病では、まず食事・運動療法による治療が行われるが、それでも代謝コントロールが不十分な場合には、薬物療法が開始される。

糖尿病治療薬には注射薬から経口薬まで様々な種類が存在する。糖尿病の治療薬として最初に登場したのはインスリン注射であるが、その後は使いやすさ等から、インスリン分泌促進薬（スルホニル尿素薬やグリニド薬）、インスリン抵抗性改善薬（ビグアナイド薬、チアゾリジン薬）、小腸糖吸収抑制薬（ α -グルコシダーゼ薬）といった経口血糖降下薬が次々に開発された。近年では、インスリン分泌を促進する消化管ホルモンであるインクレチン（グルカゴン様ペプチ

ド (GLP) -1, グルコース依存性インスリン分泌刺激ポリペプチド (GIP)) の分解を抑制する dipeptidyl peptidase (DPP) IV 阻害薬や GLP-1 受容体作動薬が使用可能となり, 従来薬と比べて低血糖を起こしにくいため広く使用されている. そして 2014 年に, 腎臓をターゲットとした新規作用機序を有する, インスリン非依存性の経口糖尿病治療薬 Sodium-dependent glucose cotransporter (SGLT) 2 阻害薬がわが国で上市された.

経口摂取された炭水化物は, 主にグルコースに消化され, 小腸で吸収されて血液中に移行し, 脳や筋肉などの末梢組織に取り込まれてエネルギー源として利用される. 血液循環により腎臓に運ばれてきたグルコースは, 糸球体で 100%ろ過されるが, ろ過後, ほぼすべてのグルコースが近位尿細管で再吸収され, 健康成人では尿糖は認められない. グルコースはほぼすべての細胞にとって必須なエネルギー源であるが, 親水性化合物であるために, 細胞への取り込みや輸送にはトランスポーターを必要とする [3, 4]. SGLT は糖輸送を担う重要なトランスポーターであり, Na^+ の細胞内外の濃度差を駆動力として, 濃度勾配に逆らい糖を輸送することが出来る. SGLT には SGLT1-SGLT6 のサブタイプが存在するが [3, 4], 中でも SGLT2 及び SGLT1 の研究が数多くなされ, その生理的な役割が明らかとなっている. SGLT2 は腎の近位尿細管 segment 1 (S-1) および segment 2 (S-2) の管腔側刷子縁膜に局在しており [5], グルコースに対し低親和性である

が高い輸送能力を持ち、健康成人においては、糸球体でろ過されたグルコースの約 90%を再吸収して血液中に戻す役割を担っている [5,6]. 一方、SGLT1 は近位尿細管 segment 3 (S-3) の管腔側に発現し、輸送能力は低いが高親和性であるため、健康成人においては上流に存在する SGLT2 で再吸収されなかった原尿中の約 10%の尿糖再吸収を担っている. SGLT1 は他にも小腸上皮細胞、気管、心臓などに発現しており、小腸ではグルコース吸収において重要な役割を担うことが良く知られている [5-7].

SGLT2 阻害薬は、SGLT2 を阻害して糖の再吸収を抑制し、尿糖排泄を促進することにより、高血糖を改善する (Figure 1) [8]. SGLT2 阻害薬以外の全ての抗糖尿病薬による治療では、血糖値を低下させた結果、尿糖は減少することを考えると、SGLT2 阻害薬の薬理作用は画期的であるといえる. 現在、わが国では 6 成分 7 製剤の SGLT2 阻害薬が上市されており、薬剤により SGLTs に対する選択性や薬物動態等が異なる (Table 1). また、インスリンに依存しないメカニズムであるため、低血糖を起こしにくく、他の糖尿病治療薬と併用される場面も多い. このような状況下で、薬剤の特徴や薬効メカニズムの理解につながる情報を広く提供し共有することは、薬剤の適正使用のために重要である.

近年はコンピューターの発達に伴いモデリング&シミュレーション (M&S) 手法の発達が目覚ましく、複雑な生体内の現象を数理的モデルで記述し、シミュ

レーションすることが可能となってきた。医薬品の開発過程においても、*in vitro* 試験や非臨床・臨床試験等で取得される様々な情報やデータに基づいてモデルを構築することにより、例えば単回投与から反復投与、健康成人から患者の薬物動態あるいは薬理作用の予測が可能となる。ヒト生体内の生理学的現象や薬剤等のエビデンスに対する説明や理解のために、生理学的因子を加味した薬物動態及び薬理学的モデルを適切に構築し、必要な情報を取得していくことは、病態の新たな理解や薬効メカニズムの解明、適切な薬剤の種類・用法用量の選択等を可能にし、薬剤の適正使用推進につながる。

本研究では、SGLT2 阻害薬の一つであるカナグリフロジンに対して、臨床現場から挙がってきた複数のクリニカルクエスチョン (CQ) について、薬物動態及び薬理学的モデルを駆使した定量的解析による回答を得ることにより、SGLT2 阻害薬の薬理メカニズムの理解ならびに薬剤の適正使用につなげることを目的とし、第 2 章で SGLT2 阻害薬の腎における薬理作用メカニズムについて、第 3 章で SGLT2 阻害薬の主に小腸における薬理作用メカニズムについて、M&S の手法を用いた検討を行った。

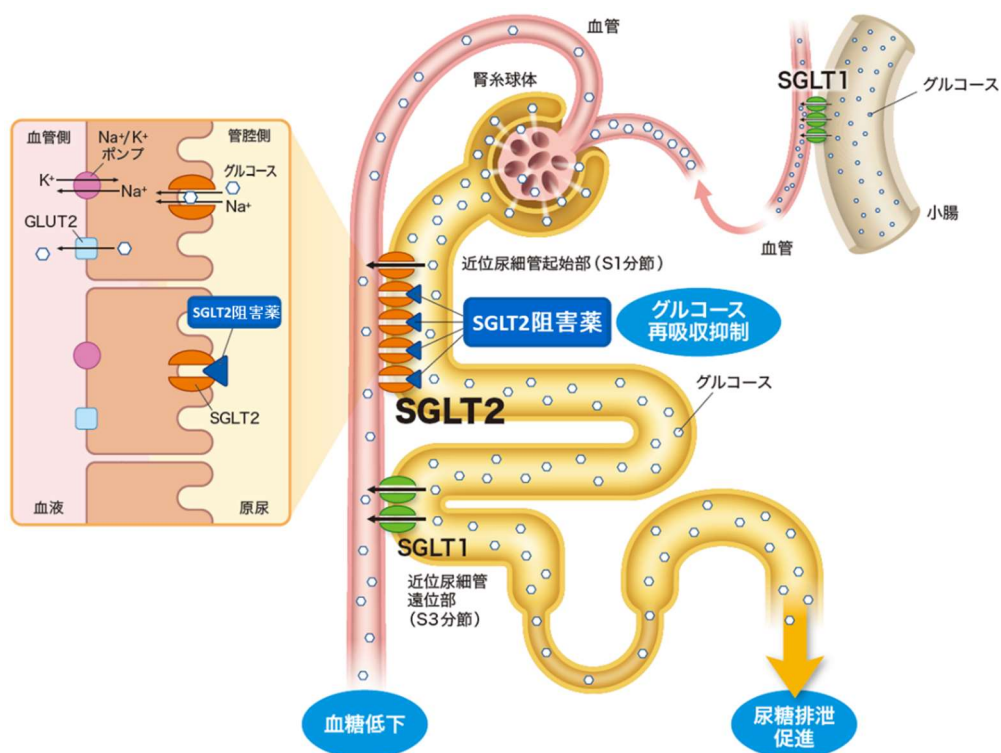


Figure 1 Schematic diagram of the pharmacological action of the SGLT2 inhibitor.

Adapted from [9].

Table 1 SGLT2 IC_{50} , SGLT2/SGLT1 selectivity, clinical dose, and urinary excretion ratio of unchanged SGLT2 inhibitors^{a)}.

	IC_{50} hSGLT2	Selectivity	Dose (mg)	Urinary excretion ratio (%)
Canagliflozin	4.2	158	100, 300	0.4
Dapagliflozin	1.1	1242	5, 10	<2
Ipragliflozin	7.4	254	50, 100	1
Empagliflozin	1.3	4829	10, 25	23
Tofogliflozin	2.9	2900	20	16
Luceogliflozin	2.3	1283	2.5, 5	4

Selectivities are expressed as the ratio of SGLT2 IC_{50} to SGLT1 IC_{50} .

a) Interview form of each SGLT2 inhibitor [10-15].

第 2 章 PBPK/PD モデルによる SGLT2 阻害薬の腎における薬理

作用メカニズム解析

第 1 節 緒言

SGLT2 阻害薬は、腎尿細管刷子縁膜に局在している SGLT2 を管腔側から阻害し、尿細管から血液へのグルコース再吸収を抑制して、尿中グルコース排泄を促進することにより高血糖を改善させる薬剤である [8, 16]. 現在、我が国では 6 成分 7 製剤の SGLT2 阻害薬が上市されており、SGLT に対する選択性や投与量、薬物動態等は成分により異なる (Table 1). 薬理作用を発現するためには、尿細管管腔内薬物濃度が SGLT2 を阻害するのに十分な濃度に達している必要があるが、尿中未変化体排泄率が低い薬剤が複数存在する. 中でもカナグリフロジンは 1%未満と報告されており [10], 尿細管管腔内の薬物濃度が SGLT2 を阻害するのに十分な濃度に達しているのかという CQ が挙げられた. また、カナグリフロジンは SGLT2 阻害薬の中で、SGLT1 に対する SGLT2 選択性 (SGLT2/SGLT1 選択性) が最も低いと報告されており [17], 腎臓では SGLT2 のみならず SGLT1 をも阻害し、糖再吸収を完全に阻害して低血糖を引き起こすリスクがあるのではないかと懸念された. このような CQ に対する回答を導くアプローチの一つ

として、生理学的薬物動態/薬力学（Physiologically based pharmacokinetic and pharmacodynamic: PBPK/PD）モデルを用いた M&S による検討を行った。

PBPK モデルは、種々の組織あるいは器官を血流で連結した形で組み立てられ、生体中の薬物の吸収・分布・代謝・排泄を記述する数理モデルであり、生理学的・解剖学的情報及び薬物の物理化学的・薬物動態学的情報により構成される。

PBPK モデルは薬物相互作用予測、特殊集団における薬物動態予測や用法・用量設定等に広く適用されるようになっており、近年では、アメリカ食品医薬品局

（FDA）や医薬品医療機器総合機構（PMDA）でも PBPK モデル解析が推奨され、PBPK モデルによるシミュレーションが添付文書に記載されるようになってきている。PBPK モデルの利点の一つに、実際の測定が困難なヒト組織内濃度をシミュレーションできることが挙げられる。PBPK モデルを使用することにより、標的組織における薬物濃度を用いた PBPK/PD 解析が可能となり、単に血漿中濃度と PD をリンクさせていた従来の解析と比較して、より正確な薬効・毒性予測や、薬物の作用メカニズムの理解が可能となる。

本章では、カナグリフロジンと、同じく尿中未変化体排泄率の低い SGLT2 阻害薬であるダパグリフロジンの PBPK モデルを構築し、腎尿細管の管腔内薬物濃度を検討した。さらに、腎糖再吸収を記述した PD モデル [18] を改良して組み合わせ、尿中グルコース排泄速度を定量的にシミュレーションして、臨床試験

時の尿糖排泄速度と比較することにより、シミュレーション結果の妥当性を確認し、両 SGLT2 阻害薬の尿細管での薬理作用メカニズムを検討した。

第2節 方法

本章で検討した内容の概略を Figure 2 に示す. 各ステップにおける詳細を以下に記載する.

2.2.1 PBPK モデル構築

SGLT2 阻害薬カナグリフロジン及びダパグリフロジンの PBPK モデルの構築には, PBPK シミュレーションソフトウェア Simcyp Simulator (ver. 14, Simcyp Limited, a Certara company, Sheffield, UK) を用いた. Simcyp には生理学的情報が含まれており, 薬剤の物理化学的及び薬物動態学的な情報を組み込むことにより PBPK モデルを構築することが可能である. また試験デザインを設定することにより, 構築したモデルを用いて目的とするシミュレーション結果を得ることができる. 本研究では, 薬剤の *in silico*, *in vitro* あるいは *in vivo* 情報は, PMDA の掲載データ [10, 19, 20] 及び ADMET Predictor (ver. 5, Simulations Plus, Lancaster, CA, USA) により構造式から計算された値を用いた (Table 2). SGLT2 阻害薬の作用部位である腎尿細管管腔及び小腸管腔における薬物濃度を予測するため, 吸収に advanced dissolution, absorption and metabolism (ADAM) モデル [21] を使用し, 分布には腎臓をより詳細に記述した permeability-limited

mechanistic kidney model (Mech-KiM) [22, 23] を組み入れた full PBPK モデルを用いた (Figure 3).

Mech-KiM は腎臓を尿細管管腔, 尿細管細胞及び血液の 3 コンパートメントに分け, さらに細分化して記述したサブモデルであり, 血流を通して full PBPK モデルにつながっている. Mech-KiM では, apical 及び basal 膜における受動拡散クリアランス (CL_{PD}), 取り込みクリアランス及び排泄クリアランスにより, 腎における薬物の流れを記述している. また, このモデルでは, 腎臓は上部から順に糸球体, 近位尿細管, ヘンレ係蹄, 遠位尿細管, 集合管及び膀胱に分割されており, 近位尿細管はさらに S-1, S-2 及び S-3 に分割され, 各部位での薬物濃度推移をシミュレーションできるモデルとなっている. ADAM モデルは, 十二指腸から大腸までを 8 コンパートメントに分割設定したモデルであり, コンパートメント毎の薬物の溶解, 代謝, 吸収過程を考慮した薬物濃度推移がシミュレーション可能な小腸モデルである.

モデル構築時には, 最初に, 静脈内投与時の臨床データを用いて, 分布, 代謝及び排泄パラメータを決定した. その後, 経口投与時の臨床データを用いて, 吸収パラメータを決定した. CL_{PD} は, Simcyp に搭載されているパラメータ感度分析機能を用いた検討において, 血漿中濃度に影響を及ぼさなかったことから, 最後に設定した. 一般的に, PBPK モデルを構築する際には, 臨床試験における血

漿中薬物濃度推移を再現可能なモデルとなるようにパラメータを設定するが、本試験の目的は腎尿細管管腔内の薬物濃度を予測することであり、そのためには薬物の尿中排泄の再現が非常に重要であると考えられた。したがって、臨床試験時の血漿中薬物濃度推移及び尿中未変化体排泄量 (A_e) の両データを再現できる PBPK モデル構築を実施した。

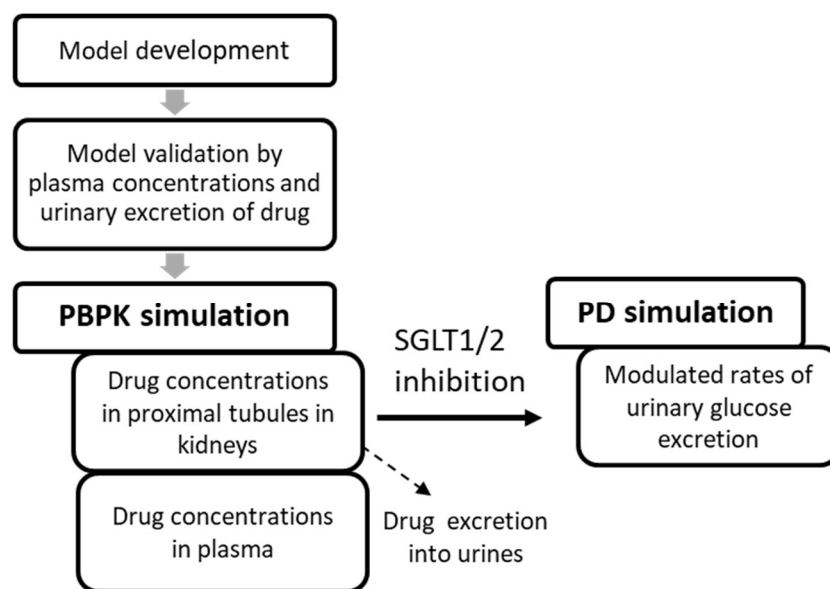


Figure 2 Flow chart of the physiologically based pharmacokinetic/pharmacodynamic analyses of canagliflozin developed in this chapter.

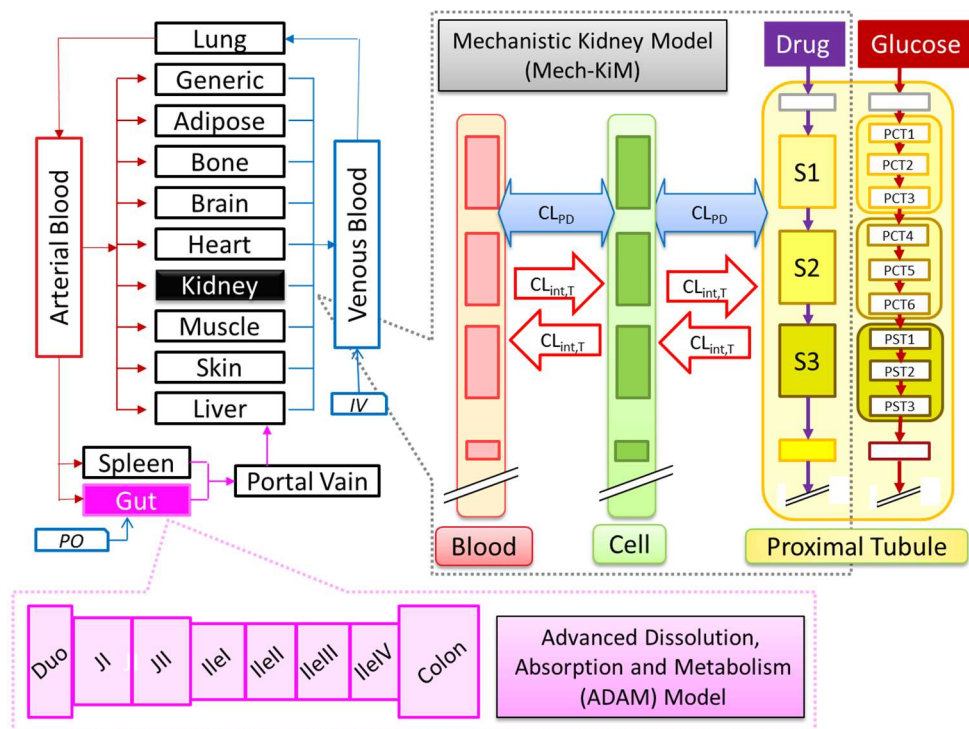


Figure 3 Schematic diagram of PBPK model.

Duo, duodenum; JI–II, jejunum I–II; IleI–IV, ileum I–IV; S1–3, segment 1–3 of proximal tubules; PCT1–6, sub-segments 1–6 of proximal convoluted tubules; PST1–3, sub-segments 1–3 of proximal straight tubules; CL_{PD} , passive diffusion clearance; $CL_{int,T}$, transporter-mediated intrinsic clearance; PO, oral administration; IV, intravenous administration.

カナグリフロジン

^{14}C -カナグリフロジンを静脈内投与したマイクロドーズ試験 (Table 3: study C1) 及び単回経口投与試験 (study C2) の結果を使用して、血漿中濃度推移及び A_e を反映するようにパラメータを決定した。血液/血漿比は、健康成人を対象としたマスバランス試験における単回投与 1.5 時間後の血漿中及び血液中濃度から算出した値を用いた [19]。分布容積に関するパラメータは Rodgers and Rowland の方法による予測値を使用した [24, 25]。腎クリアランス (CL_R) は健康成人に単回投与 (50, 100, および 300 mg) した際の臨床結果の平均値を使用した [19]。カナグリフロジンの消失は肝代謝及び腎排泄であると仮定した。肝クリアランス値は、study C1 で得られた全身クリアランス値 (CL_{iv}) から CL_R を差し引いて算出し、さらに肝臓の酵素発現量等を考慮して肝固有クリアランス値 (CL_{int}) を back-calculate した。マスバランス試験から、カナグリフロジンの主代謝物はグルクロン酸抱合体及び水酸化体であり、肝代謝の相対的寄与率は各々 83% 及び 17% と推定された [19]。 CL_{int} のうち、酸化代謝クリアランスは酸化代謝の主酵素である CYP3A4 を介するものとした。本研究の目的は、腎及び小腸部位における薬物濃度予測であり、さらなる肝代謝の詳細設定は予測に影響を及ぼさないと考えられ、酸化代謝以外は additional clearance として $CL_{int,HLM}$ に設定した。ヒトにおける透過性 (P_{eff}) は、カナグリフロジン 300 mg 投与時 (study C2) の

血漿中濃度推移が臨床試験結果と一致するように、Simcyp の parameter estimation 機能により最適化した。 CL_{PD} は、管腔側の $CL_{PD,apical}$ と血管側の $CL_{PD,basal}$ が等しいと仮定し、 Ae の予測値が study C2 の実測値と一致するように、Simcyp の sensitivity analysis を用いて最適化した。

ダバグリフロジン

^{14}C -ダバグリフロジンを静脈内投与したマイクロドーズ試験 (Table 3: study D1) 及び単回経口投与試験 (study D2) の結果を使用して、モデルパラメータを決定した。 P_{eff} 値は並行人工膜透過性試験 (PAMPA) による透過性を用いて算出した [20]。マスバランス試験の結果、ダバグリフロジンの主要代謝物はグルクロン酸抱合体及び水酸化体であり、肝代謝における相対的寄与率はそれぞれ 90%及び 10%と推定された [20]。酸化的代謝クリアランスは CYP3A4 を介すると考えられ、残りの部分はカナグリフロジンと同様に additional clearance として $CL_{int,HLM}$ に設定した。 CL_R は study D2 の臨床値を採用し、 CL_{int} 及び分布パラメータについてもカナグリフロジンと同様に算出した。 CL_{PD} を算出するにあたり、study D2 の尿中未変化体排泄率の情報は投与後 120 時間のみであり、また反復投与時のダバグリフロジンの尿中排泄率が単回投与時の約 2 倍である [20] ことから、study D2 の情報を使用するのは適切ではないと考えられた。本薬の尿中排泄率

は 2%未満と低いこと、及び SGLT2 阻害薬は一般に反復投与されることから、 CL_{PD} は反復投与試験 (study D3) のデータを用いた sensitivity analysis により算出した。

構築したモデルを用いて、カナグリフロジンは study C2、ダパグリフロジンは study D2 をシミュレーションし、再現性を確認した。シミュレーションでは、ポピュレーション、被験者数、年齢、男女比及び食事条件を、再現する臨床試験の条件と一致させ、10 試験分のシミュレーションを実施し、算出した血漿中濃度推移と PK パラメータ及び A_e を臨床報告値と比較した。

2.2.2 PBPK モデルバリデーション

構築した各 PBPK モデルの妥当性を確認するため、モデル構築に用いていない複数の臨床試験について、血漿中濃度推移及び A_e の報告値とシミュレーション値の一致を確認した。カナグリフロジンは study C3–C5、ダパグリフロジンは study D3, D4 の臨床試験を評価に用いた。臨床試験情報を Table 3 に記載した。モデル再現性の確認時と同様に、ポピュレーション、被験者数、年齢、男女比及び食事条件を臨床試験と一致させ、10 試験分のシミュレーションを実施し、臨床試験とシミュレーションの血漿中濃度推移と PK パラメータ及び A_e を比較す

ることにより，モデルの頑健性を確認した。

Table 2 Parameters for PBPK/PD modeling of canagliflozin and dapagliflozin.

Type	Parameter	Value	Source/comments
Canagliflozin			
Physicochemical	Molecular weight (g/mol)	444.52	
	LogP	3.17	ADMET Predictor
	Compound type	Neutral	ADMET Predictor
	B/P	0.71	[19]
	$f_{u,p}$	0.017	[19]
Absorption	P_{eff} (10^{-4} cm/s)	7.4	Parameter estimation. Initial value: 7.8 from sensitivity analysis.
	Solubility (mg/mL)	0.1	[19], applied bile micelle solubilization
Distribution	Vd_{ss} (L/kg)	1.14	Full PBPK model using Rodgers and Rowland's method
Elimination	CL_{iv} (L/h)	12.2	[19]
	$CL_{\text{int,CYP3A}}$ ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{pmol}$ of isoform)	0.283	Calculated by retrograde model
	$CL_{\text{int,HLM}}$ ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ protein)	185	Calculated by retrograde model
	CL_{R} (L/h)	0.0646	[19]
	CL_{PD} (mL/min/million proximal tubular cells)	7×10^{-5}	Sensitivity analysis ^a
Inhibition	K_i for SGLT1 (nmol/L)	586	Calculated from the reported IC_{50}^b
	K_i for SGLT2 (nmol/L)	0.84	[26]
Dapagliflozin			
Physicochemical	Molecular weight (g/mol)	408.87	
	LogP	2.45	ADMET Predictor
	Compound type	Neutral	ADMET Predictor
	B/P	0.88	[20]
	$f_{u,p}$	0.09	[20]
Absorption	P_{eff} (10^{-4} cm/s)	4.5	Predicted from $P_{\text{PAMPA}} = 23.8 \times 10^{-6}$ cm/s
	Solubility (mg/mL)	1.60	[20], applied bile micelle solubilization
Distribution	Vd_{ss} (L/kg)	1.69	Full PBPK model using Rodgers and Rowland's method
Elimination	CL_{iv} (L/h)	15.3	[20]
	$CL_{\text{int,CYP3A}}$ ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{pmol}$ of isoform)	0.04	Calculated by retrograde model

	isoform)		
	$CL_{\text{int,HLM}}$ ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{mg}$ protein)	47.2	Calculated by retrograde model
	CL_{R} (L/h)	0.216	[20]
	CL_{PD} (mL/min/million proximal tubular cells)	8.33×10^{-5}	Sensitivity analysis ^a
Inhibition	K_{i} for SGLT1 (nmol/L)	810	[20]
	K_{i} for SGLT2 (nmol/L)	0.55	[20]
Glucose			
Small intestine	K_{m} for SGLT1 (mmol/L)	1.8	[27]
Kidney	K_{m} for SGLT1 (mmol/L)	0.103 (267.8) ^c	Parameter estimation to fit to [28]
	K_{m} for SGLT2 (mmol/L)	3.46 (18.7) ^c	Parameter estimation to fit to [28]

^a CL_{PD} was calculated based on the assumption that CL_{PD} at apical membranes equals that at basal membranes.

^bDetails are described in 2.2.4.

^cValues in parentheses represent CV%.

P , octanol/water partition coefficient; B/P, blood-to-plasma partition ratio; $f_{\text{u,p}}$, unbound fraction in plasma; P_{eff} , effective permeability in humans; Vd_{ss} , distribution volume in steady state; CL_{iv} , intravenous clearance; CL_{int} , intrinsic clearance; HLM, human liver microsomes; CL_{R} , renal clearance; CL_{PD} , passive diffusion clearance; K_{i} , inhibition constant; P_{PAMPA} , permeability in parallel artificial membrane permeability assay.

Table 3 Clinical studies used to develop the PBPK model of SGLT2 inhibitors.

Study	Dose (mg)	Duration of administration	Age range (years)	n	% Female	Health status	Ref.
Canagliflozin							
C1 ^a	0.01	iv for 15 min	27–54	9	0	Healthy	[19]
C2	300	Single	27–51	9	22	Healthy	[19]
C3	300	QD for 6 days	27–51	9	22	Healthy	[19]
C4	100	QD for 6 days	26–51	9	44	Healthy	[19]
C5	100	QD for 14 days	39–61	12	0	Diabetic	[19]
C6	100	QD for 8 days	38–66	14	29	Diabetic	[28]
C7 ^b	300	QD for 8 days	38–66	14	29	Diabetic	
Dapagliflozin							
D1 ^a	0.08	iv for 1 min	18–45	7	0	Healthy	[20]
D2	10	Single	21–23	6	0	Healthy	[20]
D3	10	QD for 14 days	25–41	6	0	Healthy	[20]
D4	10	QD for 14 days	57–70	9	22	Diabetic	[20]
D5 ^c	10	QD for 7 days	44–62	12	42	Diabetic	[29]

^aIntravenous microdose study using ¹⁴C-drug.

^bVirtual study only.

^cAge range was set in mean ± SD.

2.2.3 SGLT2 阻害薬の尿細管管腔内濃度シミュレーション

構築したカナグリフロジン PBPK モデルを用いて、SGLT2 阻害薬の腎尿細管管腔内における薬物濃度推移シミュレーションを実施した。Stepwise hyperglycemic clamp procedure (SHCP) method により、グルコースを静脈内注入して血糖値を段階的に上昇させ、各段階において血糖値が安定した定常状態を維持して尿糖排泄を評価した study C6 の条件下での薬物濃度シミュレーションを実施した。Study C6 では、カナグリフロジン 100 mg を糖尿病患者に 8 日間反復投与していたが、カナグリフロジンの臨床投与量は国内 100 mg、一部の海外は 100 mg 及び 300 mg であるため、300 mg を反復投与した際 (study C7) の薬物濃度についても検討した。さらに、尿細管管腔内の薬物濃度シミュレーション結果の妥当性を検討するため、腎糖再吸収モデル [18] を用いて、study C6 における尿糖排泄速度の再現性を確認した (2.2.5 項)。ダパグリフロジンについても、カナグリフロジンの検討と同様に、SHCP method を用いた study D5 の条件に基づいて、腎尿細管管腔内薬物濃度のシミュレーションを実施した。

2.2.4 SGLT2 阻害薬の腎尿細管における SGLT1 及び SGLT2 阻害率の算出

グルコース吸収速度は式 (1) で表される。

$$V_0 = \frac{V_{\max} \times [S]}{K_m + [S]} \quad (1)$$

V_0 は反応初速度, K_m は SGLTs に対するグルコースのミカエリス定数, V_{max} は最大糖再吸収速度, $[S]$ はターゲット部位のグルコース濃度である. 腎臓では, K_m は PD モデルで用いた修正 K_m 値 (2.2.5 項) を使用し, 尿細管管腔内の $[S]$ は血糖値 140 mg/dL の際の PD モデルによるシミュレーション値を使用した.

SGLT2 阻害薬はグルコースに対して SGLT1 及び SGLT2 (SGLT1/2) を競合的に阻害するため, 薬剤投与後のグルコース吸収/再吸収速度 V_i は式 (2) で表される.

$$V_i = \frac{V_{max} \times [S]}{K_m \times \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + [S]} \quad (2)$$

$[I]$ は腎の尿細管管腔内 (Meck-KiM の S-1 から S-3) 薬物濃度である. カナグリフロジン及びダパグリフロジンの SGLT1/2 に対する阻害定数 K_i は Table 2 に示した. カナグリフロジンの SGLT1 に対する K_i は報告値がなかったため, α -methyl-D-glucopyranoside (AMD) を基質として算出されている IC_{50} 報告値 (663 nmol/L) [26] から Cheng-Prusoff の式 (3) [30] により算出した.

$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + \frac{[S]}{K_m'}} \quad (3)$$

$[S]$ は IC_{50} 算出時に使用した AMD 濃度 [26], K_m' は SGLT1 に対する AMD のミカエリス定数であり, 既報 [27] の値を使用した.

SGLT2 阻害薬投与後の SGLT1/2 阻害率は式 (4) で算出した。

$$\text{Inhibition ratio (\%)} = \left(1 - \frac{v_i}{v_0}\right) \times 100 \quad (4)$$

2.2.5 尿糖排泄速度シミュレーション

尿細管管腔内の薬物濃度シミュレーション結果の妥当性を確認するため、腎糖再吸収 PD モデル [18] を用いて、SHCP 法を用いた臨床試験 (study C6, D5) における尿糖排泄速度のシミュレーションを行った。カナグリフロジンは study C6 の条件下でシミュレーションした 8 日目の尿細管管腔内濃度推移を、ダパグリフロジンは study D5 の 7 日目の尿細管管腔内シミュレーション濃度推移を、各尿糖排泄速度シミュレーションに適用した。

PD モデルにおいて、近位尿細管は解剖学的に均等に 9 分割されており、上部 6 コンパートメント (PCT1-6) が SGLT2、下部 3 コンパートメント (PST1-3) が SGLT1 の発現部位と定義されている (Figure 4) [18]。各コンパートメントにおける糖再吸収は、SGLT2 阻害薬により阻害される。Mech-KiM では、前述したように、尿細管は S-1, S-2, S-3 の 3 コンパートメントに分けられており、S-1 から S-2 が SGLT2、S-3 が SGLT1 の発現部位となる。PBPK モデルと PD モデルの間で尿細管コンパートメント設定が異なるため、PD モデルの上部 3 コンパー

トメント (PCT1-3) が Mech-KiM における S-1, 次の 3 コンパートメント (PCT4-6) が S-2, 下部 3 コンパートメント (PST1-3) が S-3 に相当すると定義した (Figure 4).

PD モデルでは, 糸球体濾過量は臨床データ [28] を用い, SGLTs の見かけの K_m 値以外のパラメータは既存のモデルの数値をそのまま採用した [18]. SGLTs に対する見かけの K_m 値は, 文献値を初期値として, カナグリフロジン非投与群の血糖値と尿糖排泄速度の相関が臨床試験結果 [28] と一致するように最適化した. その結果, SGLT1 及び SGLT2 に対する K_m 値を, 各々 0.103 及び 3.46 mmol/L と設定した. これらの修正 K_m 値を PD モデルに組み込むことにより, カナグリフロジン非投与群における尿糖排泄が臨床結果をより精度よく再現できるモデルとなった. 最適化された K_m 値の妥当性を確認するために, ダパグリフロジンの臨床薬物動態試験についても同様にシミュレーションを実施した. 尿糖排泄速度のシミュレーションは, 汎用生物学的シミュレーションプラットフォーム simBio [31] 上で行った.

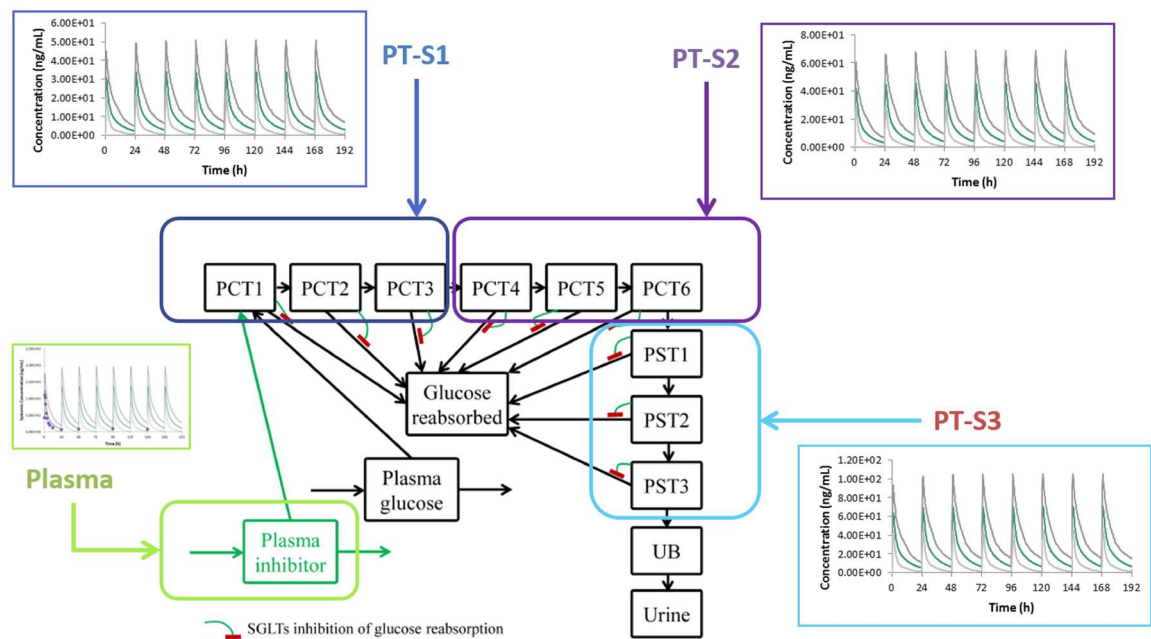


Figure 4 Relationship between renal glucose reabsorption model and drug concentrations of SGLT2 inhibitors simulated by Simcyp with Mech-KiM.

PCT1–6, sub-segments 1–6 of proximal convoluted tubules; PST1–3, sub-segments 1–3 of proximal straight tubules; UB, urinary bladder; PT-S1–3, segments 1–3 of proximal tubules. Adapted from [18].

第3節 結果

2.3.1 PBPK モデル構築

カナグリフロジン及びダパグリフロジンの PBPK モデルを、それぞれ単回静脈内投与及び単回経口投与臨床試験時の血漿中濃度推移及び A_e に基づき構築した。PBPK モデルのパラメータを Table 2 に示す。2.2.1 項で記載したように、申請概要等における公表値があるパラメータは公表値を採用し、構造式から計算可能なパラメータはその数値を採用した。消失クリアランスのうち $CL_{int,CYP3A}$ と $CL_{int,HLM}$ は、静脈内投与時の CL_{iv} と CL_R から肝臓の酵素発現量等を考慮して back-calculate により求めた。 P_{eff} と CL_{PD} は、Simcyp に搭載されている parameter estimation あるいは sensitivity analysis 機能を用いて、臨床試験のデータをもとに最適化し、モデルパラメータを確定した。

構築したモデルを用いて、study C2, study D2 の血漿中濃度推移及び A_e をシミュレーションし、PK パラメータ及び A_e を報告値と比較することにより、再現性を確認した。カナグリフロジンの血漿中濃度推移は臨床報告値と一致しており、投与後 24 時間までの A_e も臨床報告値を再現した (Figure 5IA, IB)。ダパグリフロジンの血漿中濃度推移は臨床報告値とほぼ一致した (Figure 5IC)。 A_e のシミュレーション値は臨床報告値より高かったが、臨床報告値はシミュレーシ

ョン値の 5 及び 95 パーセンタイル値の範囲内であった (Figure 5ID). PK パラメータである最高血漿中濃度 (C_{\max}), C_{\max} 到達時間 (T_{\max}), 濃度-時間曲線下面積 (AUC) 及び Ae のシミュレーション値を Table 4 に示した. シミュレーションから得られた study C2 及び study D2 の各 PK パラメータと Ae は, ダパグリフロジンの Ae が 2.3 倍高かったが, その他は臨床試験時の値とほぼ一致した.

2.3.2 PBPK モデルバリデーション

カナグリフロジン, ダパグリフロジンの PBPK モデルの頑健性を検証するために, それぞれ Table 3 の study C3–C5, study D3, D4 の臨床試験について, 構築したモデルを用いたシミュレーションを行い, 血漿中濃度推移, PK パラメータ及び Ae を臨床報告値と比較した (Figure 5, Table 4). カナグリフロジンを study C2 と同じ投与量で反復投与した場合 (study C3) の血漿中濃度推移と最終投与後 24 時間までの Ae は臨床報告値とほぼ一致しており (Figure 5IIa, b), 同じ投与回数で投与量を 300 mg から 100 mg に変更した場合 (study C4) も血漿中濃度推移及び Ae は臨床報告値と同等であった (Figure 5IIc, d). 反復投与の回数を変更し, 健康成人から糖尿病患者に対象を変更した場合の血漿中濃度推移及び Ae についても, 臨床報告値を再現できた (Figure 5IIe, f). ダパグリフロジンも同様に, 反復投与や糖尿病患者で臨床報告値を再現したシミュレーション結果が得られた

(Figure 5IIg-j). これらのシミュレーションにおける PK パラメータ及び A_e を臨床試験時の値と比較したところ、実施したシミュレーションの PK パラメータ及び A_e はすべて臨床報告値の $\pm 50\%$ 以内で再現できたことから、構築した両 PBPK モデルは頑健性のあるモデルであると判断した。

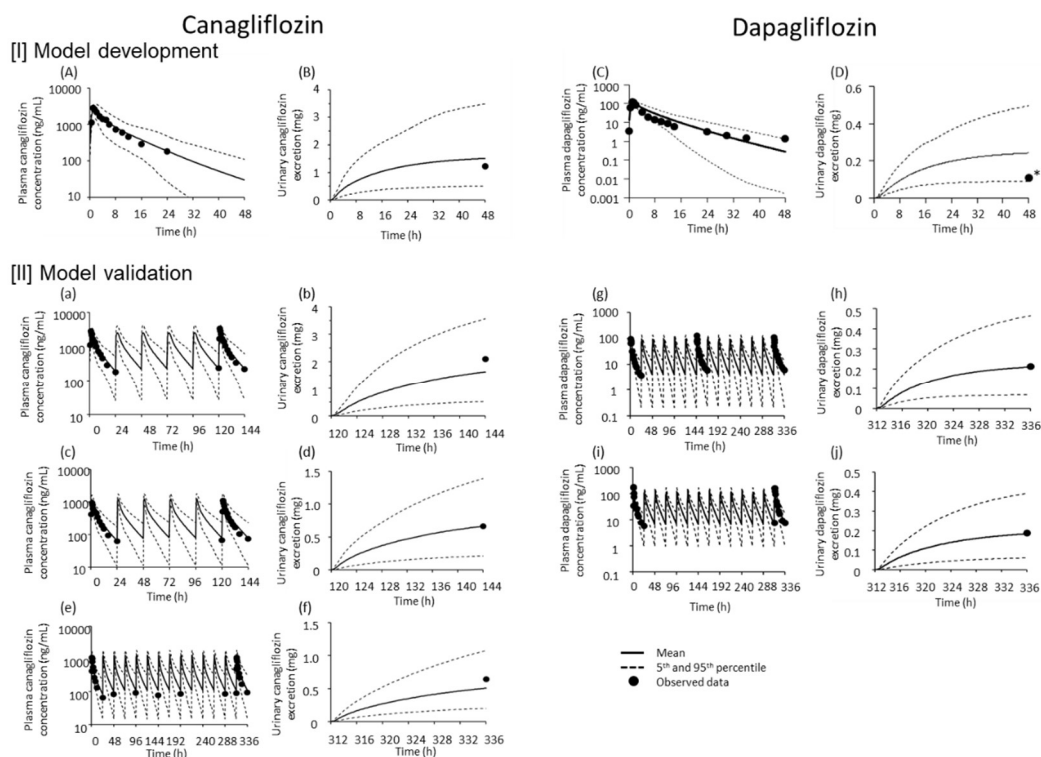


Figure 5 Simulation of time profiles of plasma concentrations (A, C, a, c, e, g, and i) and cumulative urinary excretion (B, D, b, d, f, h, and j) after the final dose of canagliflozin in four clinical studies and of dapagliflozin in three clinical studies. *Canagliflozin*: single oral administration of 300 mg in 9 healthy subjects (A, B; study C2), repeated oral administration of 300 mg/day for 6 days in 9 healthy subjects (a, b; study C3), repeated oral administration of 100 mg/day for 6 days in 9 healthy subjects (c, d; study C4), and repeated oral administration of 100 mg/day for 14 days in 12 diabetic patients (e, f; study C5). *Dapagliflozin*: single oral administration of 10 mg in 6 healthy subjects (C, D; study D2) and repeated oral administration of 10 mg/day for 14 days in 6 healthy subjects (g, h; study D3) and in 9 diabetic patients (i, j; study D4). *: observed urinary excretion of dapagliflozin 48 h after administration in j. Data are presented as means (lines) and the 5th and 95th percentiles (dashed lines). Solid circles represent means of observed data. Details of each study are provided in Table 3.

Table 4 Summary of pharmacokinetic parameters for canagliflozin and dapagliflozin as simulated by PBPK models using the same populations and dosages as those in published clinical studies.

Study	Dose (mg)	Simulated data				Observed data			
		C_{\max}	T_{\max}	$AUC_{0-24\text{ h}}$	$Ae_{0-24\text{ h}}$	C_{\max}	T_{\max}	$AUC_{0-24\text{ h}}$	$Ae_{0-24\text{ h}}$
		($\mu\text{g}/\text{mL}$)	(h)	($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$)	(mg)	($\mu\text{g}/\text{mL}$)	(h)	($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$)	(mg)
Canagliflozin									
C2	300	2.57 (0.673)	1.80 (0.50–3.40)	19.0 (7.56)	1.51 (0.85) ^b	2.90 (0.652)	1.00 (1.00–1.50)	17.1 (3.33)	1.22 (0.354) ^b
C3	300	2.79 (0.812)	1.90 (0.55–4.50)	21.6 (9.89)	1.63 (0.92)	3.38 (0.728)	1.00 (1.00–1.50)	19.3 (5.35)	2.097 (0.705)
C4	100	1.29 (0.316)	1.00 (0.55–2.20)	7.93 (3.65)	0.66 (0.43)	1.12 (0.143)	1.00 (1.00–1.50)	6.06 (0.959)	0.662 (0.214)
C5	100	1.37 (0.331)	1.00 (0.45–2.55)	8.98 (4.40)	0.496 (0.307)	1.14 (0.330)	1.00 (1.00–1.50)	6.64 (1.37)	0.641 (0.204)
C6	100	1.43 (0.348)	0.95 (0.50-2.00)	9.56 (4.22)	0.568 (0.349)	N/A	N/A	N/A	N/A
C7 ^b	300	3.25 (1.00)	1.75 (0.45-4.45)	27.4 (12.4)	1.60 (1.00)	N/A	N/A	N/A	N/A
Dapagliflozin									
D2	10	0.112 (21)	1.00 (0.00–1.50)	0.634 (43) ^a	0.256 (0.153)	0.124 (34)	1.25 (1.00–1.50)	0.464 (20) ^a	0.11 (0.038) ^c
D3	10	0.093 (27)	1.15 (0.70–1.75)	0.528 (54)	0.209 (0.133)	0.119 (21)	1.00 (0.50–2.00)	0.506 (20)	0.213 (0.042)
D4	10	0.112 (24)	1.10 (0.70–1.70)	0.706 (44)	0.184 (0.114)	0.191 (35)	1.00 (0.50–1.50)	0.727 (23)	0.190 (0.059)
D5	10	0.118 (0.028)	1.10 (0.80-1.41)	0.766 (0.340)	0.208 (0.124)	0.058 (0.023)	2.2 (0.8)	0.358 (0.166)	N/A

C_{\max} and AUC in canagliflozin studies C2–C7, dapagliflozin studies D5, and ipragliflozin all studies, Ae values in all studies, and observed

T_{\max} in study D5 are expressed as means (SD) after the final dose.

C_{\max} and AUC in dapagliflozin studies D2–D4 are expressed as geometric means (CV%) after the final dose.

T_{\max} values in canagliflozin and dapagliflozin studies other than the observed value in study D5 are expressed as median (minimum–max) after the final dose.

Each study information is described in Table 3.

^a $AUC_{0-48\text{ h}}$, ^b $AUC_{0-72\text{ h}}$, ^c $Ae_{0-48\text{ h}}$, ^d $Ae_{0-72\text{ h}}$, ^e $Ae_{0-120\text{ h}}$.

N/A, not available.

2.3.3 SGLT2 阻害薬の尿細管管腔内濃度シミュレーション

構築した PBPK モデルを用いて、study C6 の条件下で糖尿病患者にカナグリフロジン 100 mg を 8 日間反復投与した際の尿細管管腔内カナグリフロジン濃度をシミュレーションした (Figure 6a-c)。尿細管管腔内の薬物濃度は、その推移から投与後 4 日には定常状態に達していると考えられた。近位尿細管は、上部から S-1, S-2, S-3 に区分される。カナグリフロジン濃度は糸球体からの距離に依存して増加し S-1 < S-2 < S-3 であった。カナグリフロジン 300 mg 投与時の尿細管管腔内濃度は、100 mg 投与時と比べ高濃度の暴露が認められた。ダパグリフロジンは study D5 の条件下で 10 mg 投与時の尿細管管腔内濃度をシミュレーションした (Figure 6d-f)。ダパグリフロジンの尿細管管腔内濃度も、投与後 1 週間以内に定常状態に達していると考えられ、カナグリフロジンと同様に、糸球体からの距離に依存した増加が認められた。

2.3.4 SGLT2 阻害薬の腎尿細管における SGLT1 及び SGLT2 阻害率

SGLT2 の主発現部位である S-1 及び S-2 において、カナグリフロジン最終投与時の管腔内シミュレーション濃度から推定した SGLT2 の最大阻害率はほぼ 100%であった (Figure 6g, h)。100 mg 投与時には、投与後 24 時間まで 70%以上の SGLT2 阻害率を保持しており、300 mg 投与時には、投与後 24 時間まで 90%以

上の SGLT2 阻害率を保っていると推定された (Figure 6g, h). 一方, SGLT1 の主発現部位である S-3 における SGLT1 の最大阻害率は, 300 mg 投与時においても 1%未満であると推算された (Figure 6i). ダパグリフロジンについても, 10 mg 投与時の SGLT2 最大阻害率は, カナグリフロジンと同様にほぼ 100%であり, S-3 における SGLT1 の最大阻害率は約 0.1%と低い値であった (Figure 6j-l).

2.3.5 尿糖排泄速度シミュレーション

構築した PBPK モデルと腎糖再吸収モデルを組み合わせた PBPK/PD モデルを用いて, カナグリフロジンは study C6 の条件下で, 薬剤非投与群及び投与群における尿糖排泄速度のシミュレーションを行った (Figure 7a). ダパグリフロジンは study D5 の条件下で同様にシミュレーションを実施した (Figure 7b). 薬剤投与群については, 2.2.5 項に記載したとおり, PBPK モデルでシミュレーションした尿細管管腔内の薬物濃度推移を PD モデルの各コンパートメントに組み込んだ (Figure 4). Study C6 及び D5 のいずれの臨床試験においても, 薬剤非投与群では, 血糖値が 200 mg/dL を超えてから血糖依存的な尿糖排泄が起こっており, シミュレーションでそれが再現された. 臨床試験では, SGLT2 阻害薬投与群では非投与群よりも低い血糖状態から尿糖排泄が観察されているが, 両薬剤ともにシミュレーションは臨床報告を再現でき, 血糖値と尿糖排泄速度の関

係は両薬剤ともに臨床報告値とほぼ一致した。

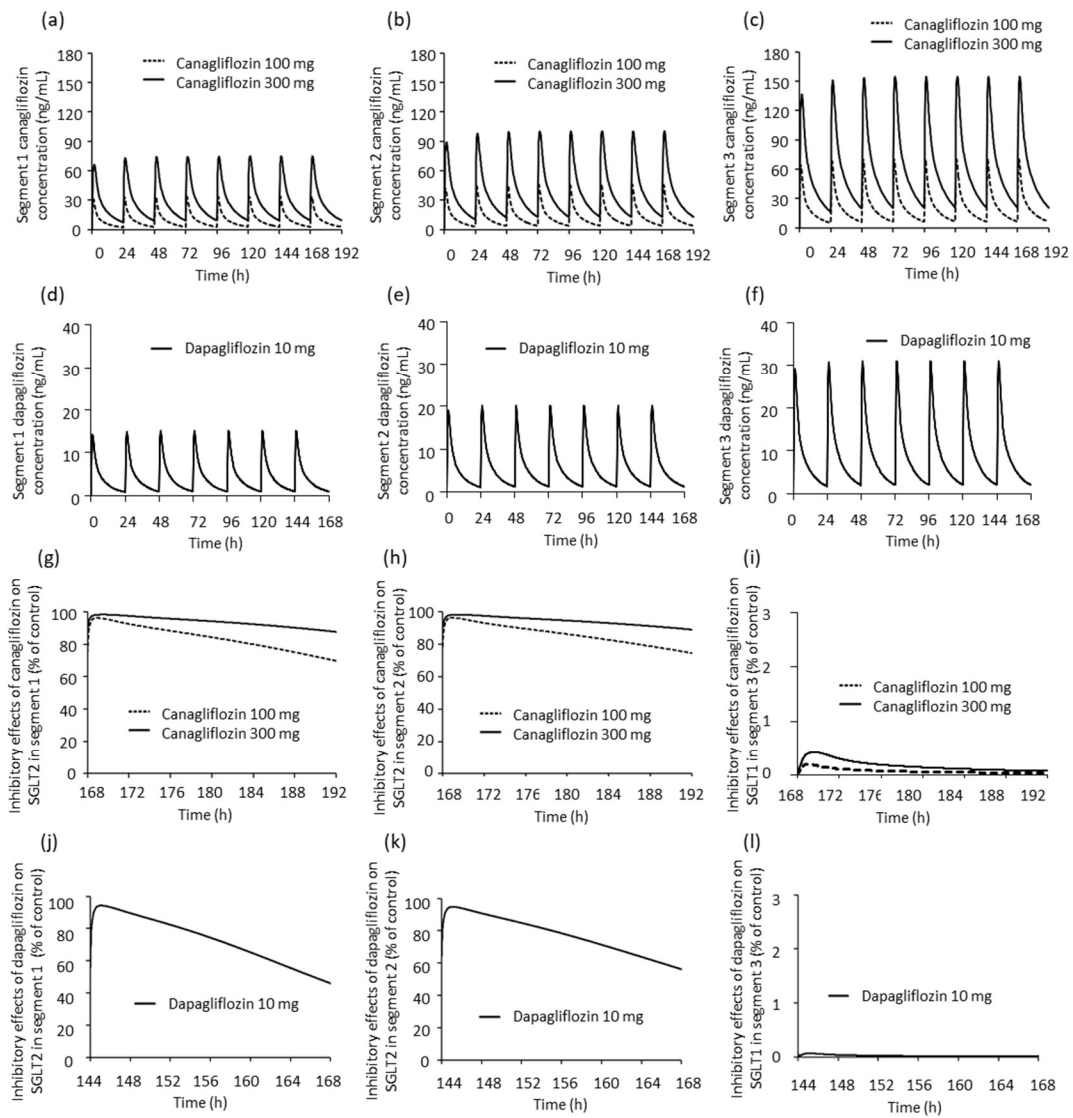


Figure 6 Pharmacokinetic simulation of luminal concentrations in segment 1 (S-1, a, d), segment 2 (S-2, b, e), and segment 3 (S-3, c, f) of proximal tubules after repeated daily oral administration of canagliflozin 100 and 300 mg doses for 8 days (a, b, and c) and of dapagliflozin 10 mg doses for 7 days (d, e, and f). Simulation of inhibitory effects of canagliflozin on the 8th day (g, h, and i) or dapagliflozin on the 7th day (j, k, and l) on SGLT1/2 (% of control) in S-1 (g, j), S-2 (h, k), and S-3 (i, l) of proximal tubules. Canagliflozin data are presented as means for 100 mg (dashed lines) and for 300 mg (lines). Dapagliflozin data are presented as means for diabetic patients.

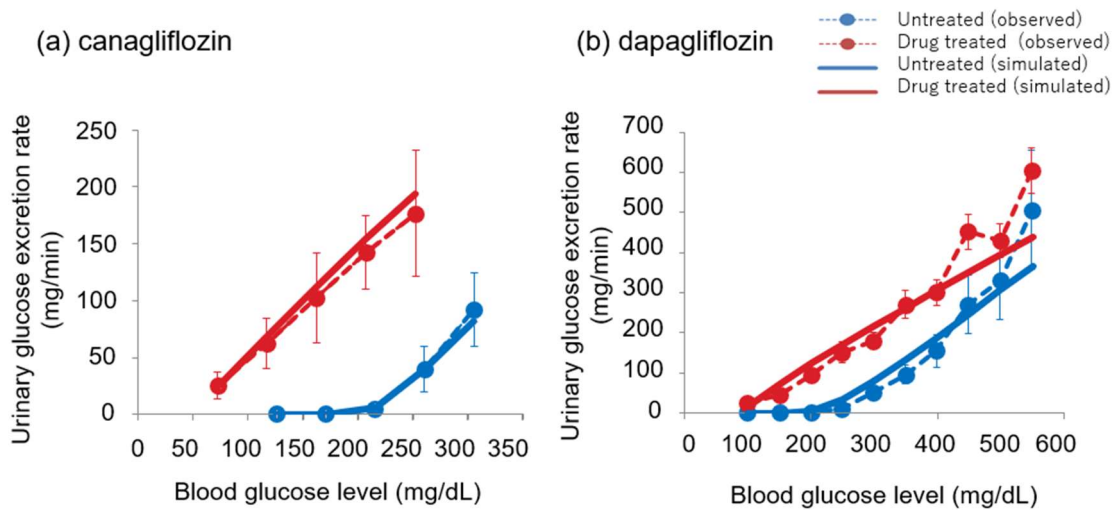


Figure 7 Observed (mean \pm SD, dashed lines) and simulated (bold lines) blood glucose-dependent urinary glucose excretion rates in untreated subjects (blue lines) and subjects treated with (a) 100 mg canagliflozin once a day for 8 days and (b) 10 mg dapagliflozin once a day for 7 days (red lines).

第4節 考察

本章では、健康成人を対象とした臨床試験における血漿中濃度推移と A_e に基づき、カナグリフロジン及びダパグリフロジンの PBPK モデルを構築した。腎尿細管管腔内の濃度を予測するために、腎臓を尿細管管腔、尿細管細胞及び血液の3コンパートメントで記述したサブモデルである Mech-KiM を組み込んだ。一般的に、PBPK モデル構築時には血漿中濃度推移のデータが使用されるが、本試験では血漿中濃度推移に加え A_e についてもシミュレーション値が臨床報告値と一致するモデルにしたことにより、腎臓内に設定した各コンパートメントの薬物濃度を、より高精度に予測できるモデルとなったと考えられる。本研究で用いた投与量の範囲において、両薬剤とも臨床試験で血漿中暴露に線形性が確認されている。構築した PBPK モデルは、本研究におけるシミュレーションには必要十分であるが、肝代謝の詳細情報を組み込んでいないため、肝代謝が影響する薬物間相互作用の検討や、肝機能の変動を伴う高齢者あるいは肝機能障害患者等の予測をするためには、グルクロン酸抱合を担う UDP-グルクロン酸転移酵素 (UGT) 分子種の寄与率の情報や、UGT についての生理学的情報を更に追加することが必要であり、それにより適切に再現できるモデル構築が可能であると推察される。

構築した両薬剤の PBPK モデルの妥当性評価のため、投与量、投与期間及びポピュレーションの異なる複数の臨床試験結果を用いた検討を実施した。シミュレーションした血漿中濃度推移及び A_e は、各臨床試験の結果と同等であったことから、構築した PBPK モデルの頑健性を確認でき、目的とする条件下で精度よく薬物濃度推移を予測できると考えられた (Figure 5, Table 4)。

臨床用量で SGLT2 阻害薬を反復経口投与した際の、尿細管管腔内 (S-1-S-3) の薬物濃度は、糸球体からの距離とともに増加するシミュレーション結果が得られた (Figure 6a-f)。これは尿細管における水分の再吸収に起因すると考えられ、生理的な現象を反映しているものと推察された。カナグリフロジン 100 mg 及び 300 mg 投与時の尿細管 S-1 及び S-2 における SGLT2 阻害率は、最大で約 100% であり、100 mg 投与においても投与後 24 時間まで約 70% 以上阻害が保持されることから (Figure 6g, h)、カナグリフロジンの尿細管管腔内濃度は、投与期間を通して、腎 SGLT2 を阻害し尿糖排泄促進作用を示すのに十分な濃度に達していることが示された。同様にダパグリフロジンを 10 mg 投与した際にも、投与後 24 時間まで約 50% 以上阻害が保持された (Figure 6j, k)。したがって、尿中未変化体排泄率が低い SGLT2 阻害薬の場合にも、臨床用量において腎 SGLT2 をほぼ完全に阻害して薬効を発現していると推察された。一方、S-3 における SGLT1 阻害率はカナグリフロジン、ダパグリフロジンともに 1% 未満であった

(Figure 6i, 1). カナグリフロジンは SGLT2/SGLT1 選択性が低いが、腎尿細管における SGLT1 阻害はほとんどないと考えられたことから、臨床用量で使用する際には糖再吸収が完全に阻害されることはなく、低血糖のリスクは低いことが示唆された。

さらに、ここで得られた尿細管管腔内の SGLT2 阻害薬濃度を、既報の腎糖再吸収モデル [18] を改良したモデルに入力し、SHCP 法を用いた臨床試験の各血糖値における尿糖排泄速度を予測した。糖尿病患者にカナグリフロジンあるいはダパグリフロジンを投与した際の尿糖排泄速度のシミュレーション結果は臨床結果とほぼ一致し、SGLT2 阻害薬の投与により、尿糖排泄の閾値がプラセボより低くなること、閾値以上のどの血糖値においても尿糖排泄が促進されることが再現された (Figure 7)。これらの結果から、PBPK モデルで予測された尿細管管腔内の薬物濃度推移は両化合物共に妥当であると考えられた。

PD モデルである腎糖再吸収モデルを使用するにあたり、尿糖排泄の閾値をより正確にシミュレーションするために、カナグリフロジン非投与群の臨床データを用いて SGLT1 及び SGLT2 に対する K_m 値を最適化したところ、 K_m 値は *in vitro* 試験で報告されている数値 (各々 1.8, 4.9 mmol/L) [27] よりも低値となった。各 K_m に対し、0.1–10 倍で感度分析を実施したところ (Figure 8)、SGLT2 に対する K_m 値は尿糖排泄予測に影響を与えることが示されたが、1/2–2 倍になっ

たとしてもシミュレーションへの影響は小さいと考えられた。一方、SGLT1 に対する K_m 値は、検討した範囲内で尿中排泄速度にほとんど影響を及ぼさなかった。最適化した K_m 値を用いることにより、カナグリフロジン、ダパグリフロジンの両薬剤を投与した際の臨床結果をより精度よく予測できる PD モデルとなった。また、 K_i 値について 0.1–10 倍で感度分析を実施したところ、SGLT2 に対する K_i 値は尿糖排泄に影響を及ぼすことが示され、このモデルが薬物の SGLT2 阻害能を反映出来ることが確認された (Figure 9)。

以上の結果より、PBPK/PD モデルを使用することにより、実測不可能なヒト組織中濃度推移や薬理作用を再現することができ、薬理メカニズムを検討可能であることが示された。

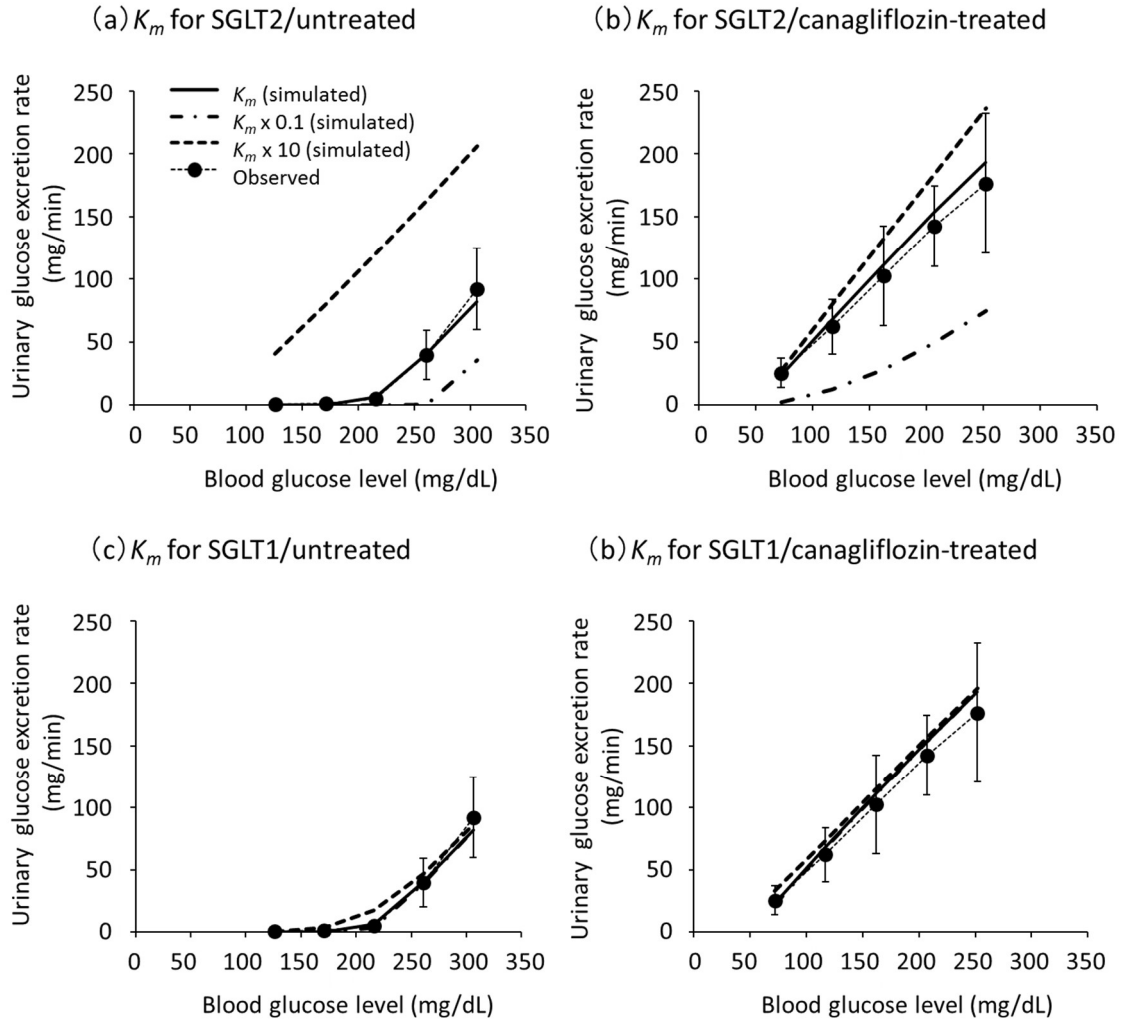


Figure 8 Sensitivity analyses for K_m values for SGLT2 (a, b) and for SGLT1 (c, d) on renal glucose excretion rates in the untreated group (a, c) and in the canagliflozin-treated group (b, d) after repeated oral administration of canagliflozin (100 mg/day for 8 days) in diabetic subjects (study C6).

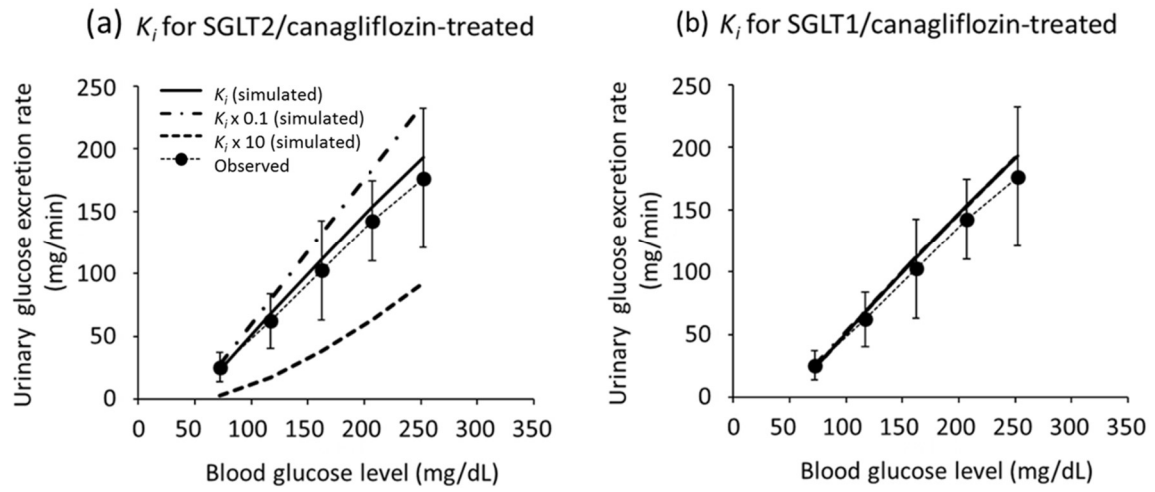


Figure 9 Sensitivity analyses for K_i values for SGLT2 (a) and for SGLT1 (b) on renal glucose excretion rates after repeated oral administration of canagliflozin (100 mg/day for 8 days) in diabetic subjects (study C6).

第5節 結論

本章では、カナグリフロジン及びダパグリフロジンの頑健性のある PBPK モデルを構築し、PD モデルを組み合わせることで、臨床試験時の尿糖排泄速度シミュレーションを可能にした。構築した PBPK/PD モデルにより、カナグリフロジンは臨床用量で腎 SGLT2 を十分に阻害し、尿糖排泄促進作用を示すことが示唆された。腎 SGLT1 はほとんど阻害せず、糖再吸収の完全な阻害は生じないことから、低血糖を起こしにくい薬であると考えられた。

第 3 章 QSP モデルによる SGLT2 阻害薬の小腸における薬理作用

メカニズム解析

第 1 節 緒言

SGLT2 阻害薬カナグリフロジンは、他の SGLT2 阻害薬と比較して、食後血糖上昇の抑制が強いことが報告されている。食後高血糖は心血管疾患のリスク因子であると報告されており [32, 33]、食後血糖の抑制は心血管疾患の抑制につながる可能性を有している。カナグリフロジン 300 mg を投与した際の、標準混合食後の経口グルコース出現速度の AUC は、投与後 0–1 時間で約 31%、0–2 時間で約 20%低下するが、一方で 0–6 時間までに吸収された総グルコース量の低下は、プラセボと比べて 5.7%にとどまっている [10, 34]。このことから、小腸からのグルコース吸収を遅延させる作用があることが示唆されており、この現象は、他の臨床試験でも認められている [35, 36]。その理由として、カナグリフロジンは他の SGLT2 阻害薬と比較して SGLT2/SGLT1 選択性が低く投与量が高いことから、小腸 SGLT1 阻害の関与が推察された [34]。

本章では、小腸からのグルコース吸収遅延のメカニズムをより定量的に検証するために、ヒト全身グルコース動態に対する包括的な定量的システム薬理学

(quantitative systems pharmacology: QSP) モデルを構築し、2 型糖尿病患者の小腸からの糖吸収を含めた血漿中グルコース濃度推移の記述を可能にした。このモデルを human systemic glucose dynamics (HSGD) モデルと名付けた。HSGD モデルは、グルコースの吸収、代謝、腎再吸収及び排泄を統合したモデルであり、食事後の炭水化物の消化吸収過程を組み込むことにより、経口ブドウ糖負荷試験 (OGTT) よりも日常療法に近い食事負荷試験 (MTT) における血漿中グルコース濃度推移を適切に説明できるモデルとした。

SGLT2 阻害薬の小腸 SGLT1 阻害の寄与をより丁寧に確認するために、SGLT2/SGLT1 選択性の異なるカナグリフロジン、ダパグリフロジン、イプラグリフロジンの 3 剤を使用した。そのため、イプラグリフロジンの PBPK モデルも新たに構築した。SGLT2 阻害薬投与時の小腸管腔内薬物濃度を PBPK モデルによりシミュレーションして、小腸 SGLT1 阻害強度の予測を行った。同時に、これら 3 剤を経口投与した際の MTT 時の血漿中グルコース濃度推移を HSGD モデルによりシミュレーションし、各薬剤が食後血糖上昇に及ぼす影響について定量的に検討した。また、SGLT2 阻害薬による MTT 時の血漿中グルコース低下作用に対する、各薬剤の小腸 SGLT1 阻害の寄与率も定量的に推定した。さらに、血漿中グルコース低下作用に対する、薬剤の SGLT1/2 阻害能およびモデルパラメータの感度分析を実施した。

第2節 方法

本章における M&S の流れを Figure 10 に示す。血漿中グルコース、インスリン、C-ペプチド、活性型 GLP-1 (aGLP-1)、及び活性型 GIP (aGIP) の 5 つの測定変数の報告値を必要とする HSGD モデルを組み立てた。検索した公表文献の中で、5 つの測定変数全てを含む臨床試験は、DPPIV 阻害薬であるシタグリプチンを用いた 75 g-OGTT の臨床試験 [37] のみであったため、step 1 として、この試験のデータをもとにパラメータを仮設定した。MTT 対応モデルにするため、step 2 として C-ペプチドを除く 4 測定変数の報告値がある DPPIV 阻害薬テネリグリプチン及びカナグリフロジンの臨床 MTT [38] データを用いて再度パラメータを最適化した。

薬物濃度は PBPK モデルを用いて算出した。シミュレーションには薬物の標的的部位における濃度が重要である。SGLT2 阻害薬は腎尿細管管腔内及び小腸管腔内濃度を算出した。小腸管腔内濃度算出のために使用した ADAM モデルでは、十二指腸から結腸までを解剖学的に 8 セグメントに分割し定義している。SGLT1 mRNA の発現はマウス消化管において小腸上部で最も高いと報告されており [39]、生理学的にも小腸上部での糖吸収が重要であると考えられることから、空腸上部 (Simcyp では jejunum I と定義) の薬物濃度推移を HSGD モデルに組み込

む小腸管腔内濃度として採用した。DPPIV 阻害薬テネリグリプチンの血漿 DPPIV 阻害は血漿中グルコース減少と関連することが報告されていることから [40], DPPIV 阻害薬は血漿中濃度を算出した。算出した各薬物濃度を HSGD モデルに組み込み、血漿中グルコース濃度等をシミュレーションした。本章で構築したイプラグリフロジンの PBPK モデルならびに HSGD モデルは、いずれもシミュレーションに使用する前に頑健性を検証した。

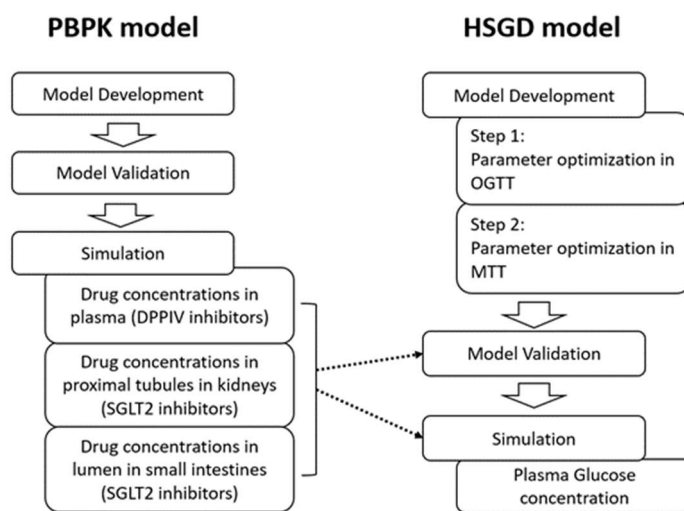


Figure 10 Modeling and simulation flows of the physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model and the human systemic glucose dynamics (HSGD) model as a quantitative systems pharmacology model. OGTT and MTT represent oral glucose tolerance test and meal tolerance test, respectively.

3.2.1 PBPK モデル

PBPK モデル構築ならびにシミュレーションには、PBPK シミュレーションソフトウェア Simcyp Simulator(ver. 17, Simcyp Limited, a Certara company, Sheffield, UK) を用いた。シタグリプチン [41]、テネリグリプチン [42]、カナグリフロジン [43] 及びダパグリフロジン [43] は既報の PBPK モデルを使用し、イプラグリフロジンは新たに PBPK モデルを構築した。

イプラグリフロジン PBPK モデル構築

イプラグリフロジンの PBPK モデル構築には、静脈内投与試験 (Table 5: study I1) 及び単回経口投与試験 (study I2) の結果を使用した。第 2 章 2.2.1 項と同様に、吸収に ADAM モデル [21]、分布には腎臓の Mech-KiM [22, 23] を組み入れた full PBPK モデルを用い、薬剤の *in silico*, *in vitro* あるいは *in vivo* 情報は、PMDA の掲載データ [44] 及び ADMET Predictor(ver. 5, Simulations Plus, Lancaster, CA, USA) により構造式から計算された値を用いた (Table 6)。マスバランス試験から、イプラグリフロジンの主代謝経路はグルクロン酸抱合であり [44]、 CL_{int} は additional clearance として $CL_{int,HLM}$ に設定した。イプラグリフロジンでは、Rodgers and Rowland の方法 [24, 25] による推定分布容積を用いてシミュレーションした study I1 の血漿中薬物濃度推移が、臨床試験における濃度推移と一致し

なかった。未変化体の臓器内分布に関するデータは得られていないが、SGLT2 阻害薬の血漿中濃度推移及び累積尿中排泄量から標的部位濃度を予測することは可能と考えられたため、血漿中濃度推移が一致するように組織/血漿分配係数 (K_p) scalar を最適化し、分布容積を均一に調整した。その他のパラメータは第 2 章 2.2.1 項の PBPK モデル構築時と同様に最適化した。

構築したモデルを用いて、study I2 をシミュレーションし、再現性を確認した。シミュレーションでは、ポピュレーション、被験者数、年齢、男女比及び食事条件を、再現する臨床試験と一致させ、10 試験分をシミュレーションした。シミュレーションにより算出した血漿中濃度推移、PK パラメータ及び A_e を臨床データと比較した。

3.2.2 PBPK モデルのバリデーション

構築したイプラグリフロジンの PBPK モデルの妥当性を確認するため、study I3–I5 の臨床試験についてシミュレーションを行った。モデル再現性の確認時と同様に、ポピュレーション、被験者数、年齢、男女比及び食事条件を臨床試験と一致させ、10 試験分のシミュレーションを実施し、臨床試験とシミュレーションの血漿中濃度推移、PK パラメータ及び A_e を比較することにより、モデルの頑健性を確認した。

Table 5 Clinical studies used to develop the PBPK model of ipragliflozin.

Study	Dose (mg)	Duration of administration	Age (years)	n	% Female	Subjects
I1	25	iv for 1 hour	42 (12)	14	43	Caucasian
I2	100	Single	42 (12)	14	43	Caucasian
I3	30	Single	24 (4.9)	6	0	Japanese
I4	50	QD for 7 days	30 (5.6)	8	0	Japanese
I5	100	QD for 10 days	38 (11)	6	0	Caucasian

Age is expressed as means (SD).

All studies were described in [44].

Table 6 Clinical studies used to develop the PBPK model of ipragliflozin.

Type	Parameter	Value	Source/comments
Ipragliflozin			
Physicochemical	Molecular weight (g/mol)	404.45	
	LogP	3.38	ADMET Predictor
	Compound type	Neutral	ADMET Predictor
	B/P	0.685	[44]
	$f_{u,p}$	0.042	[44]
Absorption	P_{eff} (10^{-4} cm/s)	5.92	Parameter estimation.
	Solubility (mg/mL)	0.09	[44], applied bile micelle solubilization
	Precipitation model	Model 1	
Distribution	Vd_{ss} (L/kg)	1.35	Full PBPK model using Rodgers and Rowland's method
	K_p Scalar	0.3	Predicted by Simcyp
Elimination	CL_{iv} (L/h)	10.9	[44]
	$CL_{int,HLM}$ (μ L/min/mg protein)	78.8	Calculated by retrograde model
	CL_R (L/h)	0	[44]
	CL_{PD} (mL/min/million proximal tubular cells)	1.5×10^{-4}	Sensitivity analysis ^a
Inhibition	K_i for SGLT1 (nmol/L)	2176.1	The geometric mean of calculated from the three reported IC_{50}^b [45-47]
	K_i for SGLT2 (nmol/L)	4.5	Same as above
Canagliflozin			
Physicochemical	Molecular weight (g/mol)	444.52	
	$f_{u,p}$	0.017	[43]
Inhibition	K_i for SGLT1 (nmol/L)	770.5	Reported K_i [16]
	K_i for SGLT2 (nmol/L)	1.83	The geometric mean of reported K_i [16, 26]
Dapagliflozin			
Physicochemical	Molecular weight (g/mol)	408.87	
	$f_{u,p}$	0.09	[20]
Inhibition	K_i for SGLT1 (nmol/L)	810	Reported K_i [20]
	K_i for SGLT2 (nmol/L)	0.55	Reported K_i [20]
Sitagliptin			
Physicochemical	Molecular weight (g/mol)	408.87	

	$f_{u,p}$	0.09	[41]
Inhibition	K_i for recombinant human DPPIV (nmol/L)	8.9	Reported K_i [48]
	E_{max}	0.363	Predicted by HSGD model
Teneligliptin			
Physicochemical	Molecular weight (g/mol)	426.58	
	$f_{u,p}$	0.207	[42]
Inhibition	K_i for recombinant human DPPIV (nmol/L)	0.406	Reported K_i [40]
	E_{max}	0.528	Predicted by HSGD model

^a CL_{PD} was calculated based on the assumption that CL_{PD} at apical membranes equals that at basal membranes.

^bIt was calculated using the Cheng-Prusoff equation. Details are described in 3.2.3.

B/P, blood-to-plasma partition ratio; CL_{int} , intrinsic clearance; CL_{iv} , intravenous clearance; CL_{PD} , passive diffusion clearance; CL_R , renal clearance; E_{max} , maximum effect; $f_{u,p}$, unbound fraction in plasma; HLM, human liver microsomes; K_i , inhibition constant; P, octanol/water partition coefficient; P_{eff} , effective permeability in humans; Vd_{ss} , distribution volume in steady state.

3.2.3 HSGD モデルの構築

構築した HSGD モデルの概要を Figure 11 に示す。本モデルは、Noguchi らによる食事負荷モデル [49]、Moller らによる腸管からのグルコース吸収モデル [50]、Moller ら及び Dalla Man らによるインスリン分泌及び作用モデル [50, 51]、Pacini らによるインスリン作用モデル [52]、Toffolo らによる C-ペプチド分泌モデル [53]、第 2 章で用いた腎糖再吸収モデル [43] を参考に、グルコースの小腸吸収、代謝、腎再吸収及び尿中排泄を統合したヒト全身グルコース動態モデルである。モデルの中で、SGLT2 阻害薬は近位尿細管及び小腸における SGLT1/2 を阻害するように設定した。DPPIV 阻害薬は、血糖依存的に膵 β 細胞からのインスリン分泌を促進する消化管ホルモンであるインクレチン (GLP-1 及び GIP) を速やかに分解する酵素 DPPIV を阻害して、血糖低下作用をもたらす薬剤である。したがって、DPPIV 阻害薬はモデルの中で GLP-1 及び GIP の消失過程を阻害するように設定した。SGLT2 阻害薬の尿細管管腔内濃度推移は、第 2 章 2.2.5 項で記載したとおりにモデルに挿入した (Figure 4)。既存の PBPK モデルを用いた化合物については、HSGD モデル式で使用したパラメータを Table 6 に記載した。イプラグリフロジン以外の各阻害薬の SGLT1/2 あるいは DPPIV の阻害定数 (K_i) は既報の値を用い、複数の報告値が存在する場合は幾何平均値を用いた。イプラグリフロジンの K_i 値は報告がなかったため、 IC_{50} 報告値 [45-47] 及び K_m [27] か

ら Cheng-Prusoff の式 [30] を用いて算出し、幾何平均値を用いた (Table 6).

HSGD モデルは、臨床試験で測定された血漿中グルコース、インスリン、C-ペプチド、aGLP-1 及び aGIP の 5 つの測定変数の経時推移と一致するように、2 段階でパラメータ設定を実施した。Step 1 では、臨床 OGTT におけるプラセボ、シタグリプチン 25 mg 及び 200 mg 投与時 (Table 7: study S_I) のデータを用いて同時パラメータフィッティングを行った。Step 2 では、step 1 で最適化した値に基づき、臨床 MTT でのプラセボ、テネリグリプチン 20 mg、及びカナグリフロジン 100 mg 投与時 (study T_I, C_I) のデータを用いて同時フィッティングによりパラメータを最適化した。最適化の計算には Levenberg-Marquardt 法 (非線形最小二乗法) を用いた。HSGD モデル構築及びシミュレーションには MATLAB, ver. 9.7.0 (The MathWorks, Inc., Natick, MA) を使用した。

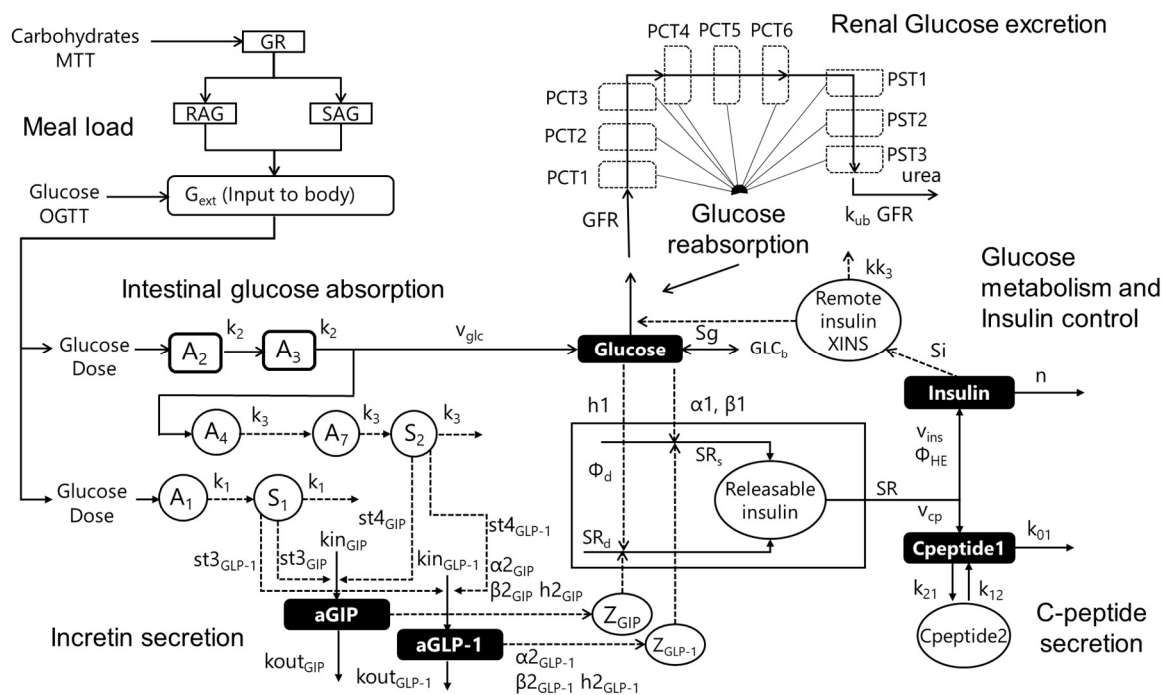


Figure 11 Structure of the quantitative systems pharmacology model of human systemic glucose dynamics (HSGD model). GR, glucose relative function; RAG, rapidly available glucose; SAG, slowly available glucose; G_{ext} , glucose-equivalent of the carbohydrate-rich food ingested; aGIP, active glucose-dependent insulinotropic polypeptide; GFR, glomerular filtration rate; k_1 , neural signal rate constant; k_2 , absorption rate constant; k_3 , transit rate constant; k_{01} , k_{12} , and k_{21} , transfer rate parameters; $st_{3_{GLP-1/GIP}}$, stimulation factor of GLP-1/GIP production by early signal; $st_{4_{GLP-1/GIP}}$, stimulation factor of GLP-1/GIP production by late signal; $kin_{GLP-1/GIP}$, formation rate constant of GLP-1/GIP; $k_{out_{GLP-1/GIP}}$, degradation rate constant of GLP-1/GIP; α_1 and β_1 , parameters for glucose; h_1 , threshold for glucose; Φ_d , intensity parameter of GIP; $\alpha_{2_{GLP-1}}$ and $\beta_{2_{GLP-1/GIP}}$, parameter for GLP-1/GIP; $h_{2_{GLP-1/GIP}}$, threshold for GLP-1/GIP; v_{glc} , distribution volume of glucose; v_{cp} , distribution volume of C-peptide; v_{ins} , distribution volume of insulin; Φ_{HE} , hepatic metabolic rate constant of insulin; n , rate constant of insulin disappearance; S_i , insulin sensitivity; kk_3 , time delay parameters for remote insulin; S_g , glucose effectiveness; GLC_b , reported glucose concentration in each literature; k_{ub} , excretion rate constant; PCT1-3, PCT4-6, and PST1-3 were defined according to segments 1, 2, and 3 of proximal tubules, respectively. Solid and dashed lines represent the flows of glucose amount (squares) and signals (circles),

respectively. A_i ($i = 1-7$) and S_j ($j = 1, 2$) represent the compartment absorption structure of glucose and the first- and second phase stimulation signals, respectively. $Z_{\text{GLP-1/GIP}}$ represent the signal compartment of GLP-1/GIP. Observed states which were glucose, insulin, Cpeptide1, aGLP-1, and aGIP, are shown in closed box. Details of each parameter and variables are provided in Table 9 and 10.

Table 7 Clinical studies used for modeling and simulation with the HSGD model.

Study	Drug	Dose (mg)	Duration of administration	Glucose tolerance test	Measured parameters	Subjects	References
Model construction							
S _I	SITA	25, 200	single	OGTT	GLC, INS, Cpep, aGLP-1, aGIP	Caucasian	[37]
T _I	TENE	20	4 days	MTT	GLC, INS, aGLP-1, aGIP	Japanese	[38]
C _I	CANA	100	4 days	MTT	GLC, INS, aGLP-1, aGIP	Japanese	[38]
Model verification							
S _{II}	SITA	50	3 months	MTT	GLC, INS	Japanese	[54]
T _{II}	TENE	20	3 days	MTT	GLC, INS, aGLP-1, aGIP	Japanese	[55]
C _{II}	CANA	100, 300	26 weeks	MTT	GLC, INS, Cpep	Caucasian	[56]
D _I	DAPA	5	12 weeks	MTT	GLC, INS	Japanese	[57]
I _I	IPRA	50	12 weeks, 24 weeks	MTT	GLC, Cpep	Japanese	[58]

HSGD, human systemic glucose dynamics; MTT, meal tolerance test; OGTT, oral glucose tolerance test; T2DM, type 2 diabetes mellitus; GLC, plasma glucose; INS, insulin; Cpep, C-peptide; aGIP, active GIP; aGLP-1, active GLP-1; UGE, urinary glucose excretion; SITA, sitagliptin; TENE, teneligliptin; CANA, canagliflozin; DAPA, dapagliflozin; IPRA, ipragliflozin.

3.2.4 HSGD モデルのバリデーション

臨床試験 (Table 7: study S_{II}, T_{II}, C_{II}, D_I, I_I) のデータを用いて, HSGD モデルに薬剤を投与したときの血漿中グルコース濃度をはじめとする 5 測定変数の再現性を検討した. 各変数について, 食事負荷後のベースラインからの最大変化量を算出し, プラセボ群に対する薬剤投与群の比について, シミュレーションと臨床データの値を比較した. また, HSGD モデルは MTT 試験を再現するために, 炭水化物の消化吸収過程を考慮している. HSGD モデルから炭水化物の消化吸収過程を外したモデルを用いて, 血漿中グルコース濃度推移と, カナグリフロジンによる小腸 SGLT1 占有率の経時推移をシミュレーションし, シミュレーションにおけるこの過程の影響を確認した.

3.2.5 食事負荷後の血漿中グルコース動態に対する SGLT2 阻害薬の影響

モデル再現性及び頑健性の検討以外のシミュレーションは, 以下に示す統一した試験デザインで実施した. PBPK モデル条件: 白人集団, 男女比 1/1, 作成した virtual 試験 10 試験, 1 試験あたり 10 例. HSGD モデル: 食事グルコース 75 g (グルコース量の影響の検討を除く).

各薬剤の投与量は, 臨床最大投与量を含む設定とした. すなわち, カナグリフロジン 100 mg 及び 300 mg, ダパグリフロジン 10 mg, イブラグリフロジン 100 mg を投与し, 投与直後の MTT における血漿中グルコース濃度推移に対する各薬剤の影響をシミュレーションした. 血漿中グルコース濃度推移を示すパラメータとして, 最高血漿中グルコース濃度 ($C_{\max, \text{glc}}$), $C_{\max, \text{glc}}$ 到達時間 ($T_{\max, \text{glc}}$) 及び血

漿中グルコース濃度時間曲線下面積 (AUC_{glc}) を算出した。 AUC_{glc} は、食事負荷後の血糖値がほぼ定常状態に戻ると考えられる 0–8 時間の範囲で、シミュレーション結果に基づき台形法により算出した。各パラメータの薬剤投与とプラセボとの差 ($\Delta C_{\text{max,glc}}$, $\Delta T_{\text{max,glc}}$ 及び ΔAUC_{glc}) を SGLT2 阻害薬間で比較した。同条件下で PBPK モデルにより算出した各薬剤の小腸管腔内濃度推移を用いて、第 2 章 2.2.4 項の (4) 式から小腸 SGLT1 阻害率を算出した。小腸では、 V_0 は既報の K_m 値 [27] を用いて算出し、小腸管腔内の $[S]$ (1,670 mmol/L) は、糖負荷試験の経口負荷液 (グルコース 75 g/250 mL) がほとんど希釈なく小腸上部の SGLT1 に到達しているという仮定のもとに算出した。

次に、SGLT2 阻害薬の食後血糖低下作用に対する、腎及び小腸 SGLT1/2 の寄与を明らかにするために、下記の条件下で薬剤投与直後に食事を負荷した場合の、投与後 8 時間までの血漿中グルコース濃度推移をシミュレーションした。

Case 1 : SGLT2 阻害薬を投与しない場合 (control), Case 2 : SGLT2 阻害薬を投与した場合, Case 3 : SGLT2 阻害薬投与時に、薬剤の腎 SGLT2 阻害作用のみキャンセルアウトした場合, Case 4 : SGLT2 阻害薬投与時に、薬剤の腎 SGLT1 阻害作用のみキャンセルアウトした場合, Case 5 : SGLT2 阻害薬投与時に、薬剤の小腸 SGLT1 阻害作用のみキャンセルアウトした場合。 $C_{\text{max,glc}}$ 及び AUC_{glc} に対する腎 SGLT2, 腎 SGLT1 及び小腸 SGLT1 の寄与率を、それぞれ Case 3, 4, 及び 5 の条件下で以下の式に従って算出した。

$$\text{Contribution ratio to } C_{\text{max,glc}} \text{ in Case X (\%)} = \frac{\Delta C_{\text{max,glc}}(\text{Case 2}) - \Delta C_{\text{max,glc}}(\text{Case X})}{\Delta C_{\text{max}}(\text{Case 2})} \times 100$$

$$\text{Contribution ratio to } AUC_{\text{glc}} \text{ in Case X (\%)} = \frac{\Delta AUC_{\text{glc}}(\text{Case 2}) - \Delta AUC_{\text{glc}}(\text{Case X})}{\Delta AUC_{\text{glc}}(\text{Case 2})} \times 100$$

$$\Delta C_{\max,\text{glc}}(\text{Case X}) = C_{\max,\text{glc},\text{Case 1}} - C_{\max,\text{glc},\text{Case X}}$$

$$\Delta AUC(\text{Case X}) = AUC_{\text{glc},\text{Case 1}} - AUC_{\text{glc},\text{Case X}}$$

SGLT2 阻害薬の血糖低下作用は、腎 SGLT1/2 及び小腸 SGLT1 の阻害作用の合計が 100%となるように正規化した。食事量が小腸におけるグルコース吸収に影響を与えると考えられたため、50–100 g のグルコース摂取時の血漿グルコース動態を事前に確認した。

さらに、カナグリフロジン 300 mg 投与時の SGLT1 に対する K_i (K_{i_SGLT1} , 1 nmol/L–1 mmol/L) 及び SGLT2 に対する K_i (K_{i_SGLT2} , 1 pmol/L–1 μ mol/L) について、 $C_{\max,\text{glc}}$, $T_{\max,\text{glc}}$ 及び AUC_{glc} に対する感度分析を行った。また、ローカル感度分析として、SGLT2 阻害薬及びプラセボを食事直前に投与した際に、各 HSGD モデルパラメータに 5%の摂動を加えた時の、 $C_{\max,\text{glc}}$, $T_{\max,\text{glc}}$ 及び AUC_{glc} に対する感度を推定した。さらに、グローバル感度分析として、各パラメータ (1 万例) の正規分布に基づいて Monte Carlo simulation により摂動パラメータセットを作成し、Spearman の順位相関係数を算出した。多重比較検定における family-wise error 率を調整するため Bonferroni の方法により補正した Spearman の順位相関係数の p 値が $p < 0.05$ となるパラメータを有意なパラメータとした。 $C_{\max,\text{glc}}$, $T_{\max,\text{glc}}$ 及び AUC_{glc} に対する糸球体濾過量 (GFR) の感受性は、カナグリフロジン 300 mg 投与下で評価した。

第3節 結果

3.3.1 イブラグリフロジン PBPK モデルの構築

イブラグリフロジンの PBPK モデルを、単回静脈内投与及び単回経口投与臨床試験時 (Table 5: study I1, I2) の血漿中濃度推移及び Ae に基づき構築した。モデルパラメータを Table 6 に示す。3.2.1 項で記載したように、申請概要等における公表値があるパラメータは公表値を採用し、構造式から計算可能なパラメータはその数値を採用した。消失クリアランス $CL_{int,HLM}$ は、静脈内投与時の CL_{iv} 及び CL_R から肝臓の蛋白量等を考慮して back-calculate により求めた。イブラグリフロジンでは、Rodgers and Rowland の方法 [24, 25] による推定分布容積が適当でなかったため、血漿中濃度推移が一致するように K_p scalar を最適化し、0.3 に設定した (Table 6)。 P_{eff} と CL_{PD} は、Simcyp に搭載されている parameter estimation あるいは sensitivity analysis 機能を用いて、臨床試験のデータをもとに最適化し、モデルパラメータを確定した。

構築したモデルを用いて、study I2 の血漿中濃度推移及び Ae をシミュレーションし、薬物動態パラメータ及び Ae を報告値と比較することにより、再現性を確認した。Study I2 の血漿中濃度推移は臨床報告値と一致しており、 C_{max} , T_{max} , AUC 及び投与後 24 時間までの Ae は、臨床報告値の 0.7–1.2 倍であった (Figure 12a, b, Table 8)。

3.3.2 イブラグリフロジン PBPK モデルのバリデーション

PBPK モデルの頑健性を検証するために、study I3-I5 の臨床試験について、構築したモデルを用いたシミュレーションを行い、算出した薬物動態パラメータを臨床報告値と比較した。イブラグリフロジンの投与量及び人種を study I2 から変更して投与した場合 (study I3) の血漿中濃度推移と最終投与後 24 時間までの A_e は臨床報告値とほぼ一致しており (Figure 12c, d) ,さらに投与量, 投与回数を変更した場合も, 臨床報告値を再現できた (Figure 12e-h)。また, 各シミュレーションの PK パラメータ及び A_e はいずれも臨床報告値の 0.6-1.2 倍であり (Table 8), 本モデルは, 投与期間, 用量及び対象集団にかかわらず, 臨床試験を再現可能な頑健性のあるモデルであると考えられた。

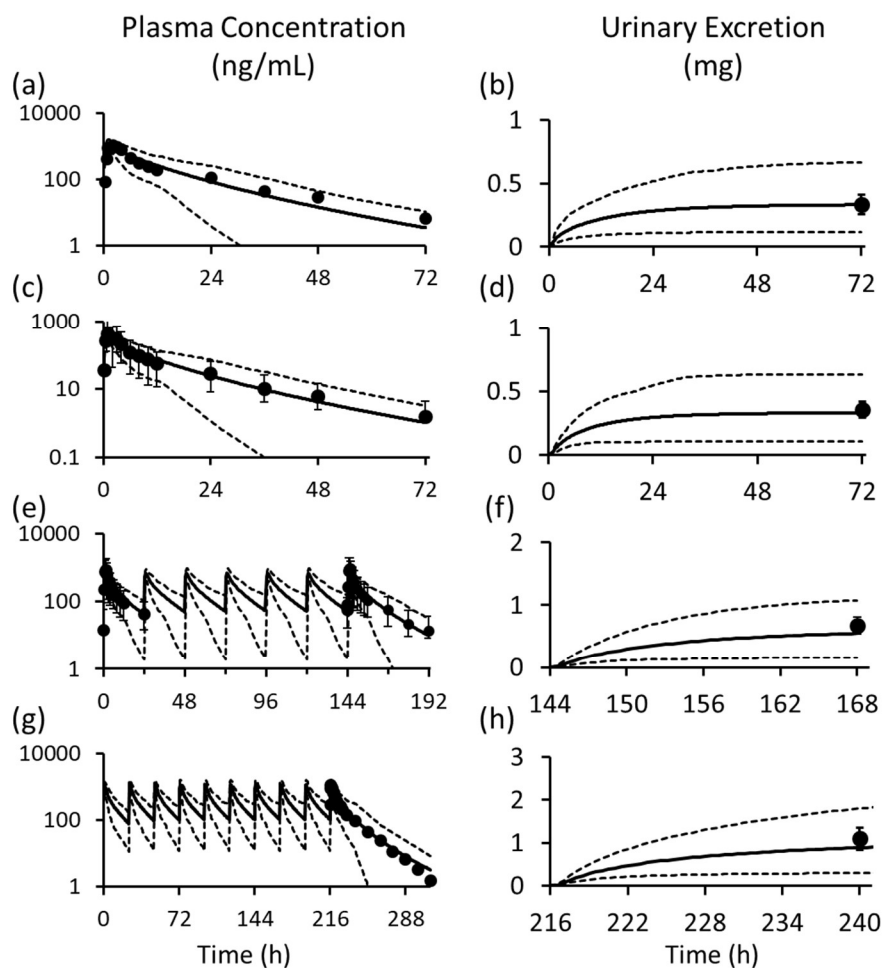


Figure 12 Simulated plasma concentration–time profiles (a, c, e, and g) and cumulative urinary excretion (b, d, f, and h) after single (a–d) and the final dose (e–h) of ipragliflozin in four clinical studies. Single oral administration of 100 mg/day (a, b; study I2) in fourteen Caucasian, single oral administration of 30 mg/day in six Japanese (c, d; study I3), repeated oral administration of 50 mg/day for 7 days in eight Japanese (e, f; study I4), and repeated oral administration of 100 mg/day for 10 days in six Caucasian (g, h; study I5). Data are presented as means (lines) and the 5th and 95th percentiles (dashed lines). Observed data are presented as means (solid circles) \pm SD (b, c, d, e, f, and h) or means (a and g). Details of each study are provided in Table 7.

Table 8 Comparison of estimated pharmacokinetic parameters for ipragliflozin based on its PBPK model with observed ones.

Study	Dose (mg)	Simulated data				Observed data			
		C_{\max} ($\mu\text{g/mL}$)	T_{\max} (h)	$AUC_{0-24\text{ h}}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	$Ae_{0-24\text{ h}}$ (mg)	C_{\max} ($\mu\text{g/mL}$)	T_{\max} (h)	$AUC_{0-24\text{ h}}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	$Ae_{0-24\text{ h}}$ (mg)
I2	100	1.15 (0.270)	1.18 (0.37)	9.27 (3.71) ^a	1.13 (0.68) ^c	1.41 (0.338)	1.50 (0.88)	8.18 (1.25) ^a	1.17 (0.300) ^c
I3	30	0.396 (0.089)	1.01 (0.24)	2.95 (1.32) ^a	0.33 (0.17) ^c	0.524 (0.103)	1.58 (1.11)	2.85 (0.373) ^a	0.355 (0.065) ^c
I4	50	0.705 (0.171)	1.13 (0.31)	5.65 (2.76) ^b	0.549 (0.336)	0.976 (0.188)	1.25 (0.38)	4.69 (1.07)	0.677 (0.139)
I5	100	1.20 (0.312)	1.23 (0.34)	8.69 (3.67)	0.886 (0.479)	1.31 (0.333)	1.50 (1.26)	7.50 (1.37)	1.10 (0.260)

Data are expressed as means (SD) after the final dose.

Each study information is described in Table 7.

^a $AUC_{0-72\text{ h}}$, ^b $AUC_{0-48\text{ h}}$, ^c $Ae_{0-72\text{ h}}$.

3.3.3 HSGD モデルの構築

HSGD モデルのパラメータを Table 9, 状態変数の初期値を Table 10 に示す.

HSGD モデルは, モデル構築において, 臨床 OGTT のデータを用いた最適化 step 1 および臨床 MTT のデータを用いた最適化 step 2 の 2 段階でパラメータを決定したため, 最終的に最適化した step を Table 9 の determining step 列に記載した.

Step 1 終了時のモデルで study S_I をシミュレーションした結果を Figure 13 に示した. OGTT におけるプラセボ群の 5 測定変数の濃度推移シミュレーションは, 臨床報告値とほぼ一致した (Figure 13a-e). シタグリプチン 25 mg 投与群においては, aGLP-1 及び aGIP が報告値の平均よりも低い推移にシミュレーションされたが, 報告値の平均 \pm 標準偏差 (SD) の範囲内であり (Figure 13f-j), シタグリプチン 200 mg 投与群においても同様の傾向が認められた (Figure 13k-o).

Step 2 終了後の最終モデルを用いて, study C_I 及び T_I について 5 測定変数の濃度推移をシミュレーションしたところ, プラセボ群における血漿中グルコース, インスリン, aGLP-1, aGIP の 4 変数のシミュレーション値 (Figure 14a-d) は, 臨床報告値の平均 \pm SD の範囲に入っており, テネリグリプチン 20 mg 投与群およびカナグリフロジン 100 mg 投与群においても同様であった (Figure 14e-l).

3.3.4 HSGD モデルのバリデーション

構築した HSGD モデルを使用し, study S_{II}, C_{II}, T_{II}, D_I, I_I について, それぞれの試験条件に基づいて 5 測定変数をシミュレーションした. 各測定変数について, ベースラインからの変化量を算出し, プラセボ群の変化量に対する薬剤投与群の変化量の比を, シミュレーションと臨床データで比較した (Table 11). シミュレーションで得られた変化量の比は, study T_I のインスリン (2.43 倍) および study I_I の C-ペプチド (0.31 倍) 以外は, 臨床データから算出された比の 0.5–2 倍以内であった. また, HSGD モデルに組み込んでいる炭水化物の消化吸收過程について, シミュレーションへの影響を確認するため, HSGD モデルからこの過程を外したモデルによるシミュレーションを行い, HSGD モデルを用いたシミュレーションと比較した (Figure 15). 炭水化物の消化吸收過程を外したモデルでは, プラセボの食後グルコース濃度は, HSGD モデルによるシミュレーションよりも急速に上昇し, より高値を示した (Figure 15c). また, カナグリフロジンによる小腸 SGLT1 占有率の上昇が緩やかになり (Figure 15a, b), 臨床で確認されていたカナグリフロジンによる $T_{\max, \text{glc}}$ 延長作用は消失した (Figure 15d).

Table 9 Parameters of the HSGD model.

Parameters	Unit	Initial Set	Optimized Value	CV (%)	Determining step ^{a)}	Description	References
k1	min ⁻¹	0.0566	0.049	39.7	Step 2	Neural signal rate constant	[50]
k2	min ⁻¹	0.0359	0.060	43.8	Step 2	Absorption rate constant	[50]
k3	min ⁻¹	0.0962	0.045	32.0	Step 2	Transit rate constant	[50]
kin_glp1	pmol·L ⁻¹ ·min ⁻¹	0.137	0.354	44.4	Step 2	Formation rate constant of GLP-1	
kout_glp1	min ⁻¹	0.347	0.164	45.2	Step 2	Degradation rate constant of GLP-1	[59]
st3_glp1	10 ⁻⁴ mg ⁻¹	2.00	3.26	45.9	Step 2	Stimulation factor of GLP-1 production by early signal	[50]
st4_glp1	10 ⁻⁴ mg ⁻¹	0.476	2.25	34.6	Step 2	Stimulation factor of GLP-1 production by late signal	[50]
k01	min ⁻¹	0.064	0.157	29.9	Step 1	Transfer rate parameters of C-peptide	[53]
k12	min ⁻¹	0.051	0.047	24.6	Step 1	Transfer rate parameters of C-peptide	[53]
k21	min ⁻¹	0.053	0.224	43.6	Step 1	Transfer rate parameters of C-peptide	[53]
alpha1	min ⁻¹	0.14	13.9	43.5	Step 2	Parameter for Glucose	[53]
beta1	10 ⁻⁹ ·min ⁻¹	20	29.5	32.8	Step 2	Parameter for Glucose	[53]
h1	mmol·L ⁻¹	5.92	5.32		NA	Threshold for glucose (Estimated value in each literature)	
phid	-	200	172.4	36.1	Step 2	Intensity parameter of GIP	[53]
alpha2_glp1	10 ⁻³ ·min ⁻¹	0.14	6.59	47.2	Step 2	Parameter for GLP-1	[53]

beta2_glp1	min ⁻¹	0.4	0.752	35.3	Step 2	Parameter for GLP-1	
h2_glp1	pmol·L ⁻¹	2.235	1.98		NA	Threshold for GLP-1 (Estimated value in each literature)	
phiHE	-	0.54	0.685	17.0	Step 1	Hepatic metabolic rate constant of insulin	[53]
n	min ⁻¹	0.19	0.596	38.5	Step 2	Rate constant of insulin disappearance	[53]
vcp	L	3.9	3.9		Fixed	Distribution volume of C-peptide	[60]
vins	L	9.2	9.2		Fixed	Distribution volume of insulin	[53]
Sg	10 ⁻³ ·min ⁻¹	10	8.86	53.2	Step 2	Glucose effectiveness	[49]
Si	10 ⁻⁴ ·(pmol·L ⁻¹) ⁻¹	5	1.07	43.6	Step 2	Insulin sensitivity	[61]
kk3	min ⁻¹	0.025	0.218	34.7	Step 1	Time delay parameters for remote insulin	[62]
vglc	L	12	12		Fixed	Distribution volume of glucose	[63]
INSb	pmol·L ⁻¹	46.5	43.6		NA	Baseline insulin concentration (Estimated value from each literature)	
GLCb	mmol·L ⁻¹	8.78	9.95		NA	Baseline plasma glucose concentration (Estimated value from each literature)	
beta2_gip	min ⁻¹	0.4	0.141	54.0	Step 2	Parameter for GIP	
h2_gip	pmol·L ⁻¹	8.8	3.85		NA	Threshold for GIP (Estimated value from each literature)	
kin_gip	pmol·L ⁻¹ ·min ⁻¹	1.64	0.409	41.4	Step 2	Formation rate constant of GLP-1	
kout_gip	min ⁻¹	0.139	0.115	39.4	Step 2	Degradation rate constant of GLP-1	[59]

st3_gip	$10^{-3} \cdot \text{mg}^{-1}$	4	3.16	34.8	Step 2	Stimulation factor of GIP production by early signal	[50]
st4_gip	$10^{-3} \cdot \text{mg}^{-1}$	0.08	1.27	32.5	Step 2	Stimulation factor of GIP production by late signal	[50]
f	-		0.722		Fixed	Glucose absorption ratio (from intestine to inside the body)	[50]
hill	-		1		Fixed	Hill coefficient	[49]
pGi	-		51		Fixed	Glycaemic index	[64]
RAG	g/portion size		31.1		Fixed	Rapidly available glucose	[64]
SAG	g/portion size		8.4		Fixed	Slowly available glucose	[64]
taudg	-		100		Fixed	Gastric emptying delay	[49]
kw2g	-		0.71		Fixed	Constant to calculate carbohydrate from the mix meal	[49]
kGR	10^{-5}		1.80		Fixed	Constant to calculate carbohydrate from the mix meal	[49]
Trag	min		4.22		Fixed	Time-constant of RAG	[49]
Tsag	min		21.1		Fixed	Time-constant of SAG	[49]
tausag	min		20		Fixed	The delay time of SAG absorption	[49]
k0	-		0.586	26.4	Step 2	Transit rate constant of G_{ext}	
kx	-		0.069	34.9	Step 2	Transit rate constant of G_{ext}	
VmaxSGLT2	$\mu\text{mol/s}$		4.33		Fixed	Maximum velocity of Glucose transport activity for SGLT2	[43]

KmSGLT2K	$\mu\text{mol/L}$	3462	Fixed	Michaelis constant for kidney SGLT2	[43]
VmaxSGLT1	$\mu\text{mol/s}$	1.85	Fixed	Maximum velocity of Glucose transport activity for SGLT1	[43]
KmSGLT1K	$\mu\text{mol/L}$	102.6	Fixed	Michaelis constant for kidney SGLT1	[43]
KmSGLT1I	$\mu\text{mol/L}$	4900	Fixed	Michaelis constant for small intestinal SGLT1	[43]
GFR	L/min	0.12	Fixed	Glomerular filtration rate	[43]
VPCT1	L	0.00756	Fixed	Water volume in proximal tubules compartment 1	[43]
VPCT2	L	0.00756	Fixed	Water volume in proximal tubules compartment 2	[43]
VPCT3	L	0.00756	Fixed	Water volume in proximal tubules compartment 3	[43]
VPCT4	L	0.00756	Fixed	Water volume in proximal tubules compartment 4	[43]
VPCT5	L	0.00756	Fixed	Water volume in proximal tubules compartment 5	[43]
VPCT6	L	0.00756	Fixed	Water volume in proximal tubules compartment 6	[43]
VPST1	L	0.00648	Fixed	Water volume in proximal tubules compartment 7	[43]
VPST2	L	0.00648	Fixed	Water volume in proximal tubules compartment 8	[43]

VPST3	L	0.00648	Fixed	Water volume in proximal tubules compartment 9	[43]
VUB	L	0.2	Fixed	Water volume in urinary bladder	[43]
KPCT1	-	0.926	Fixed	Filtrate flow rate in tubular lumen in proximal tubules compartment 1	[43]
KPCT2	-	0.852	Fixed	Filtrate flow rate in tubular lumen in proximal tubules compartment 2	[43]
KPCT3	-	0.778	Fixed	Filtrate flow rate in tubular lumen in proximal tubules compartment 3	[43]
KPCT4	-	0.704	Fixed	Filtrate flow rate in tubular lumen in proximal tubules compartment 4	[43]
KPCT5	-	0.630	Fixed	Filtrate flow rate in tubular lumen in proximal tubules compartment 5	[43]
KPCT6	-	0.556	Fixed	Filtrate flow rate in tubular lumen in proximal tubules compartment 6	[43]
KPST1	-	0.482	Fixed	Filtrate flow rate in tubular lumen in proximal tubules compartment 7	[43]
KPST2	-	0.408	Fixed	Filtrate flow rate in tubular lumen in proximal tubules compartment 8	[43]
KPST3	-	0.334	Fixed	Filtrate flow rate in tubular lumen in proximal tubules compartment 9	[43]
KUB	-	0.139	Fixed	Filtrate flow rate in tubular lumen in urinary bladder	[43]

a): Step 1 was entered for parameters determined in step 1, step 2 for parameters determined in step 2, and Fixed for fixed parameters. In step 1, simultaneous parameter fitting was performed using data of three groups, including placebo, sitagliptin 25 mg, and sitagliptin 200 mg in a clinical OGTT [37]. In step 2, simultaneous fitting was performed using data of placebo, teneligliptin 20 mg, and canagliflozin 100 mg in a clinical MTT [38] with pre-run conditions that maintained a steady state (initial conditions) for 2 hours before dosing and food intake.

All CV% values of optimized model parameters were calculated from distribution of acceptable HSGD models. These acceptable models were selected good-fitness HSGD models, under 3.55% of mean error from experimental data, from random generated population model for parameter ranges of -90% to +90% from optimized values.

-: dimensionless

NA: not applicable

Table 10 Initial values of state variables in the HSGD model

Parameters	Unit	Value	Description
GLC	mmol/L	10.0	Glucose, MTT placebo mean value [38]
INS	pmol/L	43.6	Insulin, MTT placebo mean value [38]
aGLP1	pmol/L	2.0	Active GLP-1, MTT placebo mean value [38]
aGIP	pmol/L	3.9	Active GIP, MTT placebo mean value [38]
CP1	pmol/L	867.5	C-peptide, OGTT placebo value [37]
A1	-	0	Signal transit compartment
A2	-	0	Gastrointestinal transit compartment
A3	-	0	Gastrointestinal transit compartment
A4	-	0	Signal transit compartment
A5	-	0	Signal transit compartment
A6	-	0	Signal transit compartment
A7	-	0	Signal transit compartment
S1	-	0	Signal transit compartment
S2	-	0	Signal transit compartment
CP2	-	$CP1 * k21 / k12$	Signal compartment of C-peptide
SRs	-	$CP1 * k01$	Insulin secretion rate
ZGLP1	-	0	Signal compartment of GLP-1
XINS	-	0	Signal compartment of insulin
ZGIP	-	0	Signal compartment of GIP
GlcExcret	μg	0	Excreted glucose
GlcReabs	μg	0	Reabsorbed glucose
GlcPCT1	μg	0	Glucose net amount of proximal tubules compartment 1
GlcPCT2	μg	0	Glucose net amount of proximal tubules compartment 2
GlcPCT3	μg	0	Glucose net amount of proximal tubules compartment 3
GlcPCT4	μg	0	Glucose net amount of proximal tubules compartment 4
GlcPCT5	μg	0	Glucose net amount of proximal tubules compartment 5

GlcPCT6	μg	0	Glucose net amount of proximal tubules compartment 6
GlcPST1	μg	0	Glucose net amount of proximal tubules compartment 7
GlcPST2	μg	0	Glucose net amount of proximal tubules compartment 8
GlcST3	μg	0	Glucose net amount of proximal tubules compartment 9
GlcUB	μg	0	Glucose net amount of urinary bladder
Xrag1	mg	0	Amount of rapidly available glucose1
Xrag2	mg	0	Amount of rapidly available glucose2
Xsag1	mg	0	Amount of slowly available glucose1
Xsag2	mg	0	Amount of slowly available glucose2
Gext	mg	0	Glucose-equivalent of the carbohydrate-rich food ingested

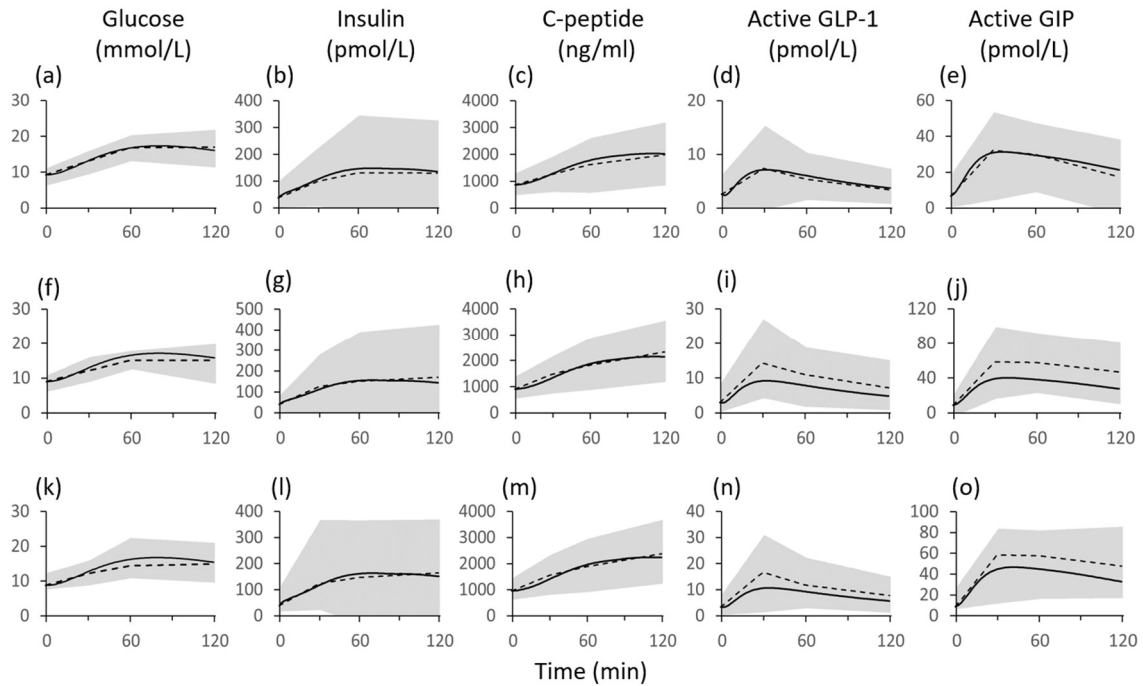


Figure 13 Simulation of plasma concentration–time profiles of glucose (a, f, and k), insulin (b, g, and l), C-peptide (c, h, and m), active GLP-1 (d, i, and n) and active GIP (e, j, and o) after the final dose of placebo (a, b, c, d, and e), 25 mg sitagliptin (f, g, h, i, and j) and 200 mg sitagliptin (k, l, m, n, and o) in OGTT which started at 30 min post dosing (study S₁). Solid lines represent means of simulations. Dashed lines and shaded areas represent means \pm SDs of observed data [37]. Details of study S₁ are provided in Table 7.

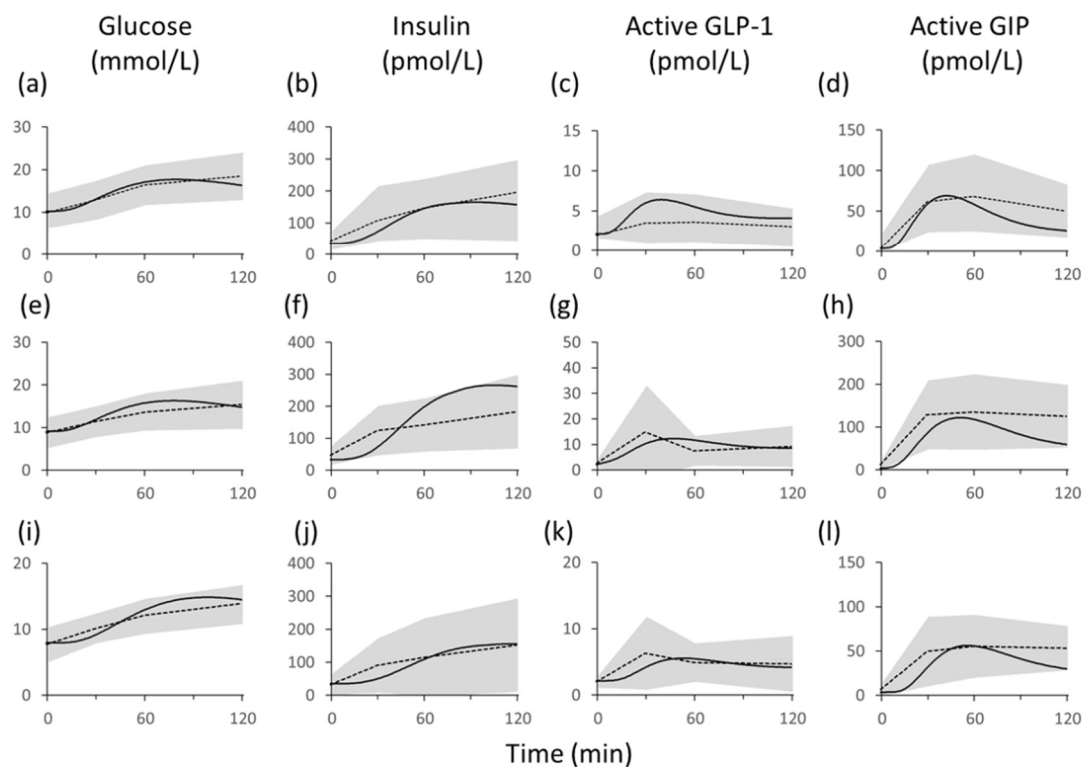


Figure 14 Simulated plasma concentration–time profiles of glucose (a, e, and i), insulin (b, f, and j), active GLP-1 (c, g, and k) and active GIP (d, h, and l) after the final dose of placebo (a–d), 20 mg teneligliptin (e–h) and 100 mg canagliflozin (i–l) in MTT which started at 30 min post dosing (study T_I/C_I). Solid lines represent simulated values. Dashed lines and shaded areas represent means \pm SDs of observed data (study T_I/C_I) [38]. Details of study T_I/C_I are provided in Table 7.

Table 11 Comparison of simulated changes of glucose and its related measurements from baseline based on the HSGD model with observed data

Study	Drug	Dose (mg)	Ratio of simulated to observed value for maximum therapeutic changes from baseline				
			Glucose	Insulin	C-peptide	aGLP-1	aGIP
S _I	Sitagliptin	50	1.34	1.04	N.C.	N.C.	N.C.
T _{II}	Teneligliptin	20	1.46	2.43	N.C.	1.00	0.85
C _I	Canagliflozin	100	0.83	0.93	0.69	N.C.	N.C.
C _{II}	Canagliflozin	300	0.81	0.54	0.68	N.C.	N.C.
D _I	Dapagliflozin	5	0.97	0.95	N.C.	N.C.	N.C.
I _I	Ipragliflozin	50	0.87	N.C.	0.31	N.C.	N.C.

Each value was calculated as follows: $\frac{|\Delta\max_{\text{drug, sim}}| - |\Delta\max_{\text{placebo, sim}}|}{|\Delta\max_{\text{drug, obs}}| - |\Delta\max_{\text{placebo, obs}}|} \times 100 (\%)$

$\Delta\max_{A,B}$ is maximum changes from baseline in A (drug or placebo group) in B (simulation or observation).

aGLP-1, active glucagon-like peptide-1; aGIP, active glucose-dependent insulinotropic polypeptide

Study numbers are shown in Table 7.

N.C., not calculate due to no available values in the clinical studies.

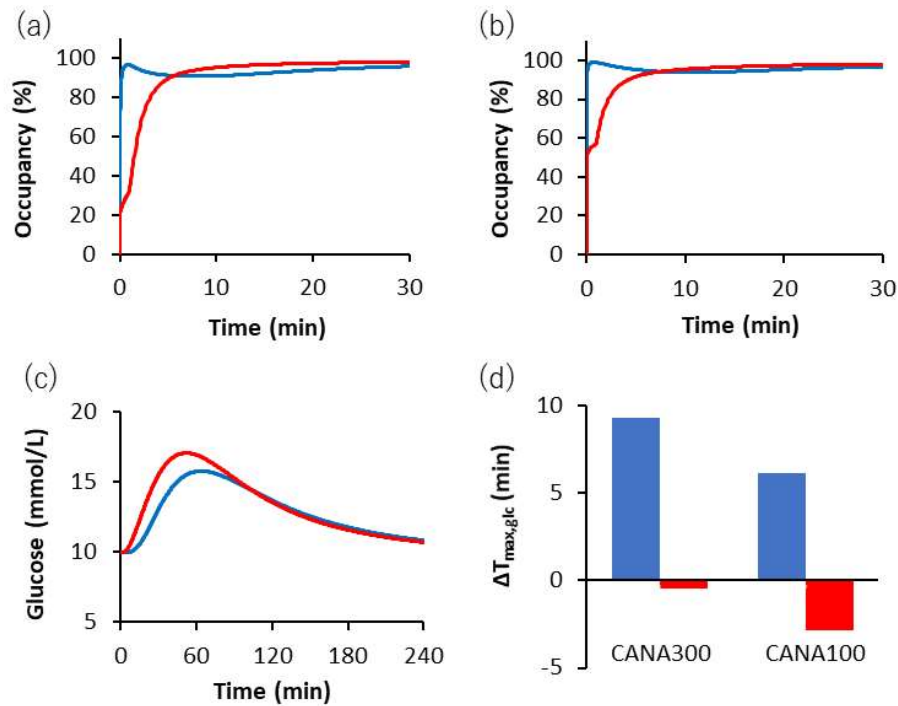


Figure 15 Effects of the carbohydrate digestion and absorption process based on the glycemic index (pGi) of foods and carbohydrate bioavailability concepts for plasma glucose simulation. Simulated Intestinal SGLT1 occupancies of (a) 100 mg and (b) 300 mg canagliflozin (CANA), (c) plasma glucose concentration-time profiles after food intake in placebo, and (d) change from placebo in simulated values of $T_{max,glc}$ after administration of 100 and 300 mg canagliflozin and food intake. Blue lines/bars represent simulated values by HSGD model and red lines/bars represent those by HSGD without the carbohydrate digestion and absorption process.

3.3.5 食事負荷後の血漿中グルコース動態に対する SGLT2 阻害薬の影響

臨床用量の SGLT2 阻害薬及びプラセボを投与した直後に食事を負荷した際の、血漿中グルコース濃度の経時推移をシミュレーションした結果を Figure 16a, b に示した。また、その動態パラメータ $C_{\max, \text{glc}}$, $T_{\max, \text{glc}}$ 及び AUC_{glc} について、SGLT2 阻害薬投与群とプラセボ群の差を算出した (Figure 16c-e)。カナグリフロジン投与時には、 $C_{\max, \text{glc}}$ の低下作用が他の薬剤よりも大きい傾向が認められた (Figure 16c)。また、明らかな $T_{\max, \text{glc}}$ の延長が認められ、用量が高いほど延長傾向が強かった (Figure 16d)。一方、 AUC_{glc} はいずれの SGLT2 阻害薬の場合も同等に低下した (Figure 16e)。小腸管腔内濃度及び各薬剤の SGLT1 に対する K_i 値から算出された小腸 SGLT1 阻害率は、カナグリフロジン 100, 300 mg, ダパグリフロジン 10 mg 及びイプラグリフロジン 100 mg でそれぞれ 50, 59, 14, 18% であった (Figure 18)。

血漿中グルコース低下作用に対する、SGLT2 阻害薬の腎 SGLT1/2 及び小腸 SGLT1 阻害の寄与を明らかにするために、SGLT2 阻害薬投与直後に食事負荷を行った際の血漿中グルコース濃度推移と投与後 8 時間までの AUC_{glc} を、5 つの条件下でシミュレーションした。Case 1 はコントロール、Case 2 は SGLT2 阻害薬投与群とした。SGLT2 阻害薬としてカナグリフロジン 300 mg を使用した場合 (Figure 17a)、Case 3 (腎 SGLT2 阻害作用キャンセルアウト) では、Case 2 で認

められた血漿中グルコース低下作用の大半が消失したが、 $T_{\max, \text{glc}}$ は Case 1 と比較して延長していた。Case 4 (腎 SGLT1 阻害作用キャンセルアウト) では、血漿中グルコース濃度推移は Case 2 とほぼ一致していた。Case 5 (小腸 SGLT1 阻害作用キャンセルアウト) では、Case 2 と比較して $C_{\max, \text{glc}}$ 低下作用は多少減弱し、 $T_{\max, \text{glc}}$ が短縮した。カナグリフロジン 100 mg, ダパグリフロジン 10 mg, イプラグリフロジン 100 mg についても、同様のシミュレーションを実施し、 $C_{\max, \text{glc}}$ 及び AUC_{glc} 低下作用における SGLT2 阻害薬の腎 SGLT1/2 及び小腸 SGLT1 阻害の寄与率を算出した (Figure 17b)。臨床用量のカナグリフロジンを投与した場合、 $C_{\max, \text{glc}}$ 低下作用にはカナグリフロジンの SGLT1 阻害作用が 23–28% 関与していると算出された。ダパグリフロジンは 9%、イプラグリフロジンは 14% であった。一方、カナグリフロジン 300 mg 投与時の AUC_{glc} の低下には、腎 SGLT2 の阻害作用がほぼ単独で寄与していた。これは他剤投与時においても同様であった (データ未掲載)。

小腸におけるグルコース吸収には、グルコース負荷量の影響が考えられたため、グルコース負荷量 50–100 g の範囲で血漿中グルコース濃度推移を検討したところ、 $\Delta C_{\max, \text{glc}}$ 、 $\Delta T_{\max, \text{glc}}$ 及び ΔAUC_{glc} に対するグルコース負荷量の影響はほとんど認められなかった (Figure 19)。

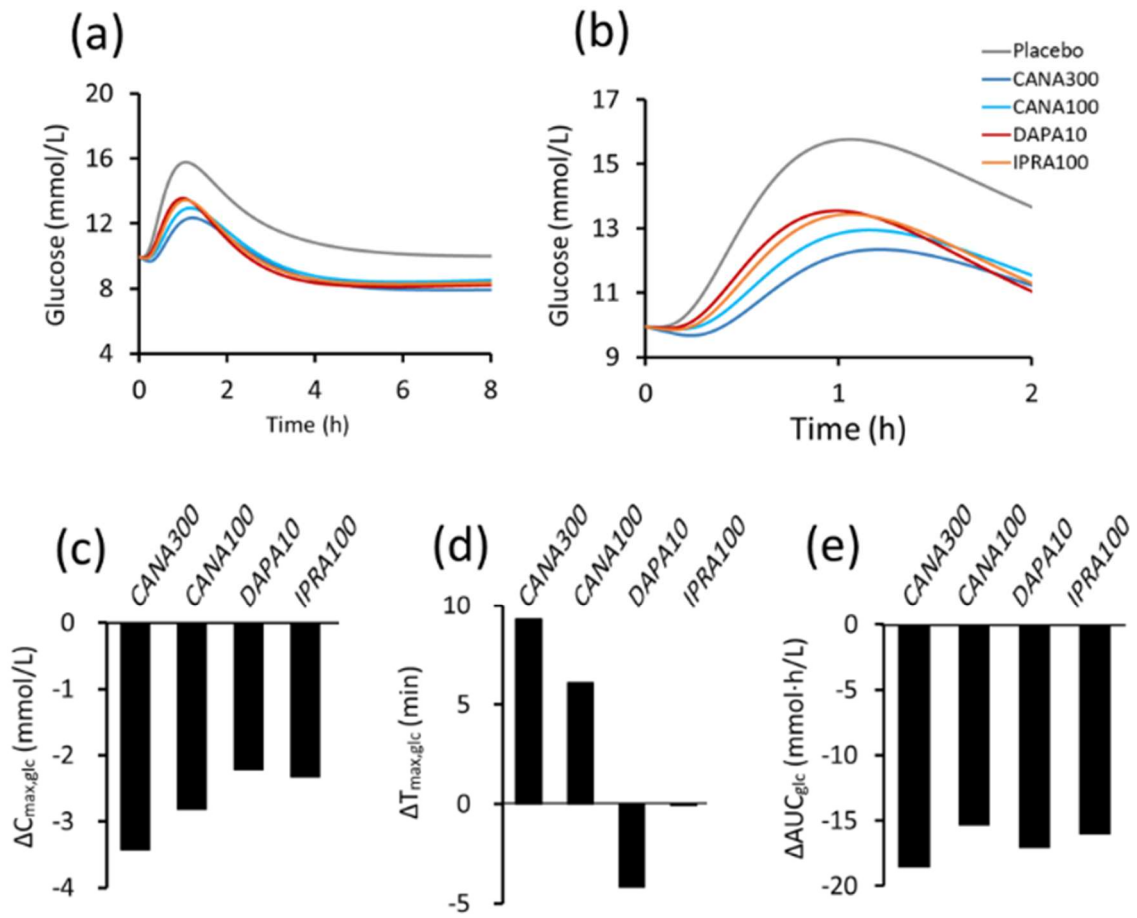


Figure 16 Effects of SGLT2 inhibitors on glucose levels. The clinical doses of canagliflozin (CANA) 100 and/or 300 mg, dapagliflozin (DAPA) 10 mg, and ipragliflozin (IPRA) 100 mg were used. (a) Simulation of concentration–time profiles of glucose up to 8 h after administration of SGLT2 inhibitors. (b) An enlarged figure of the part from 0 to 2 h of (a). Change from placebo in simulated values of (c) $C_{\max, \text{glc}}$, (d) $T_{\max, \text{glc}}$, and (e) AUC_{glc} after administration of SGLT2 inhibitors.

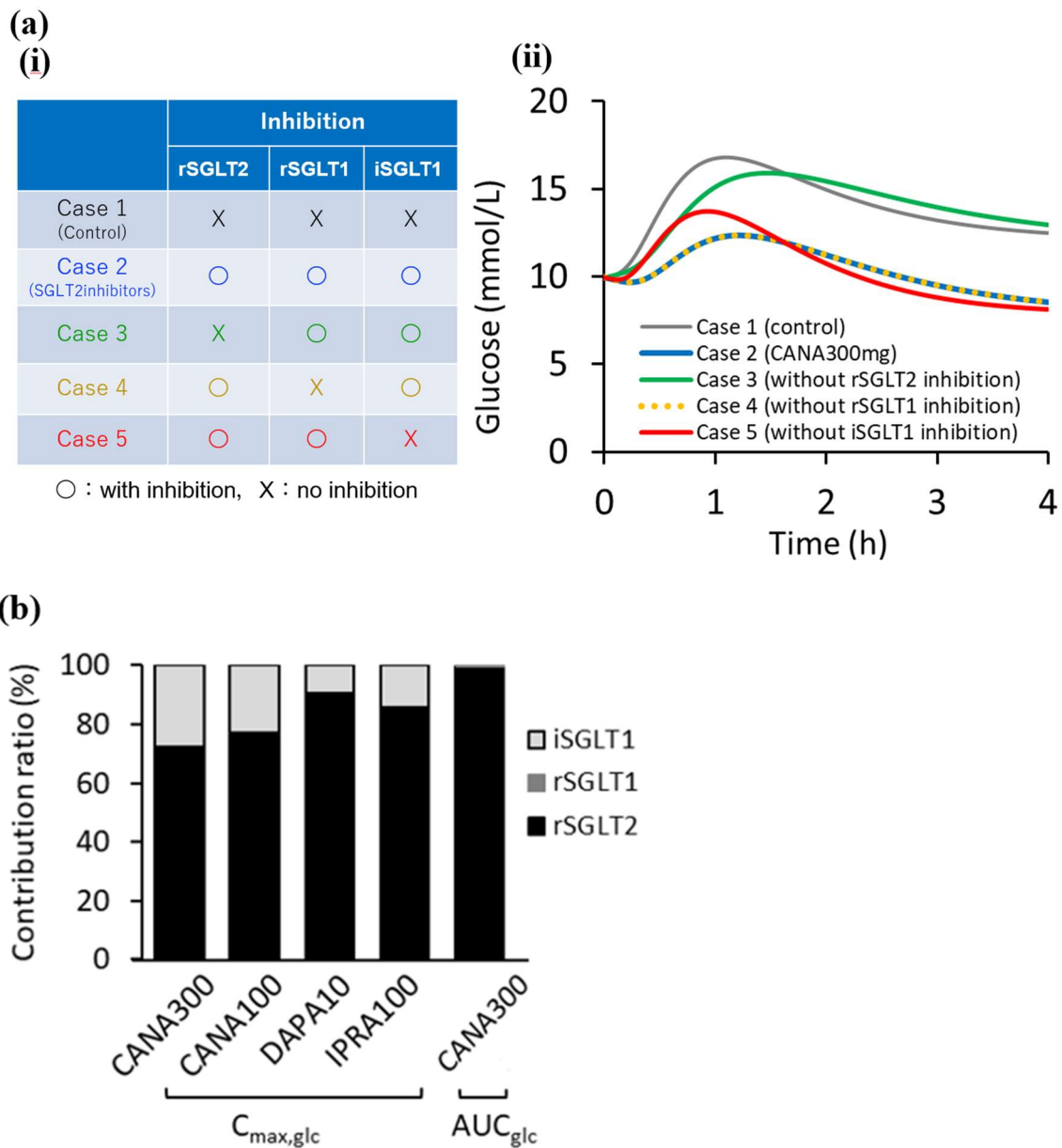


Figure 17 Effects of SGLT2 inhibitors on glucose levels. (a) Simulated plasma concentration–time profiles of glucose in cases without effects of either renal SGLT1/2 (rSGLT1/2) or intestinal SGLT1 (iSGLT1) after simultaneous administration of canagliflozin 300 mg with food intake. (b) Contribution of rSGLT1/2 and iSGLT1 to $C_{max,glc}$ and AUC_{glc} after administration of SGLT2 inhibitors and MTT simultaneously. The clinical doses of canagliflozin (CANA) 100 and/or 300 mg, dapagliflozin (DAPA) 10 mg, and ipragliflozin (IPRA) 100 mg were used.

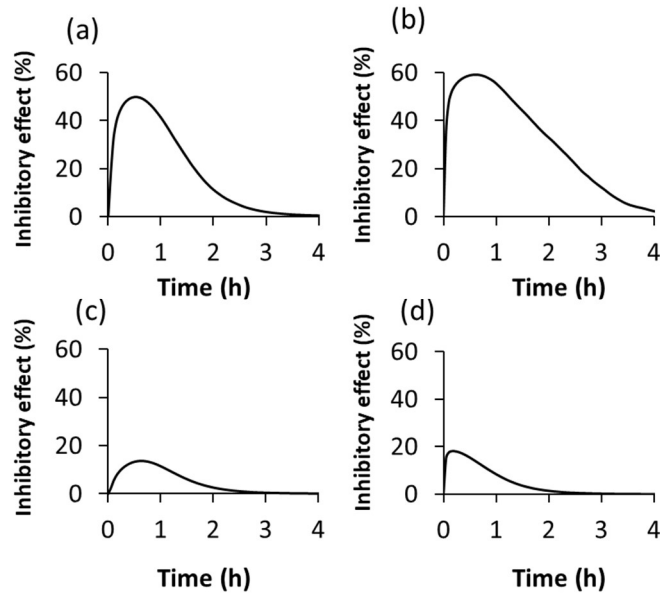


Figure 18 Simulation of inhibitory effects on SGLT1 in upper intestine after the final oral administration of (a) canagliflozin 100 mg/day, (b) canagliflozin 300 mg/day, (c) dapagliflozin 10 mg/day, and (d) ipragliflozin 100 mg/day in repeated administration for 7 days. Data represent the mean of simulated data in the upper jejunal segment (jejunum I).

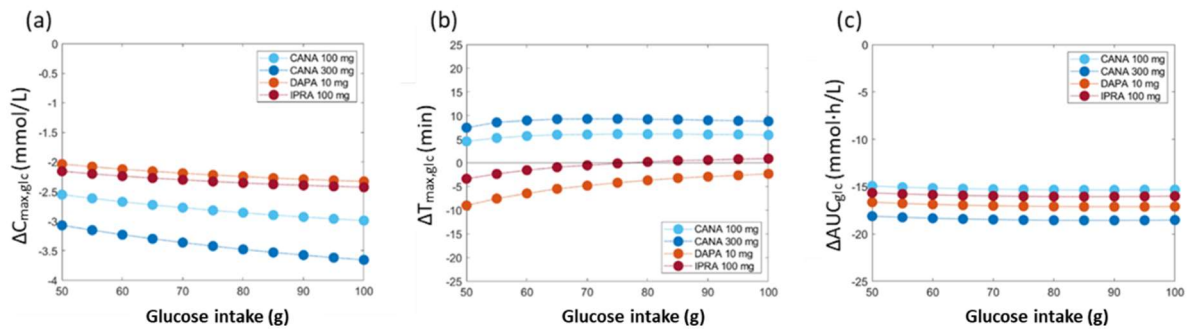


Figure 19 Dependencies of amount of glucose intake on pharmacological effects of SGLT2 inhibitors for glucose dynamics in plasma. Differences from placebo control were calculated for (a) $C_{max,glc}$, (b) $T_{max,glc}$ and (c) AUC_{glc} as pharmacological effects of each SGLT2 inhibitors, i.e. canagliflozin (CANA), dapagliflozin (DAPA) and ipragliflozin (IPRA).

カナグリフロジン 300 mg 投与時の $C_{\max, \text{glc}}$, $T_{\max, \text{glc}}$ 及び AUC_{glc} に対し, SGLT1/2 に対するカナグリフロジンの K_i 及び HSGD モデルパラメータの感度分析を実施した (Figure 20). ヒートマップでは, 経口摂取したグルコース動態パラメータに対する K_i 値の影響を示した (Figure 20a-c). マップ右上の頂点がコントロールである. マップの色は, 黄色から青に近づくにつれ, $C_{\max, \text{glc}}$ は低下し, $T_{\max, \text{glc}}$ は短くなり, AUC_{glc} は低下することを意味する. $C_{\max, \text{glc}}$ は SGLT1/2 に対する両 K_i の影響を受け (Figure 20a), $T_{\max, \text{glc}}$ は SGLT1 に対する K_i の影響を強く受け (Figure 20b), AUC_{glc} は SGLT2 に対する K_i の影響を強く受けた (Figure 20c).

ローカル感度分析を行い, カナグリフロジン 300 mg 投与時におけるグルコース動態パラメータに対して, 高感度の HSGD モデルパラメータ上位 20 個を Figure 20d-f に示した. SGLT1 に対する K_i は $C_{\max, \text{glc}}$ 及び $T_{\max, \text{glc}}$, SGLT2 に対する K_i は $C_{\max, \text{glc}}$ 及び AUC_{glc} に対して高感度パラメータの 20 位以内に入った. グローバル感度分析において, グルコース動態パラメータと有意に関連していた HSGD モデルパラメータを Figure 20g-i に示した. SGLT1 に対する K_i は $C_{\max, \text{glc}}$ 及び $T_{\max, \text{glc}}$ と有意に関連していた. プラセボ時のローカル感度分析の結果を Figure 21 に示した. 高感度パラメータはカナグリフロジン投与時の解析結果とほぼ同様であった. 感度分析の結果から, GFR がどのグルコース動態パラメータにも高感度なパラメータであったため, GFR の影響の程度を確認した

(Figure 22). GFR が低下するにつれて, SGLT2 阻害薬による血漿中グルコース
低下作用は, 阻害薬の種類によらず減弱することが示唆された.

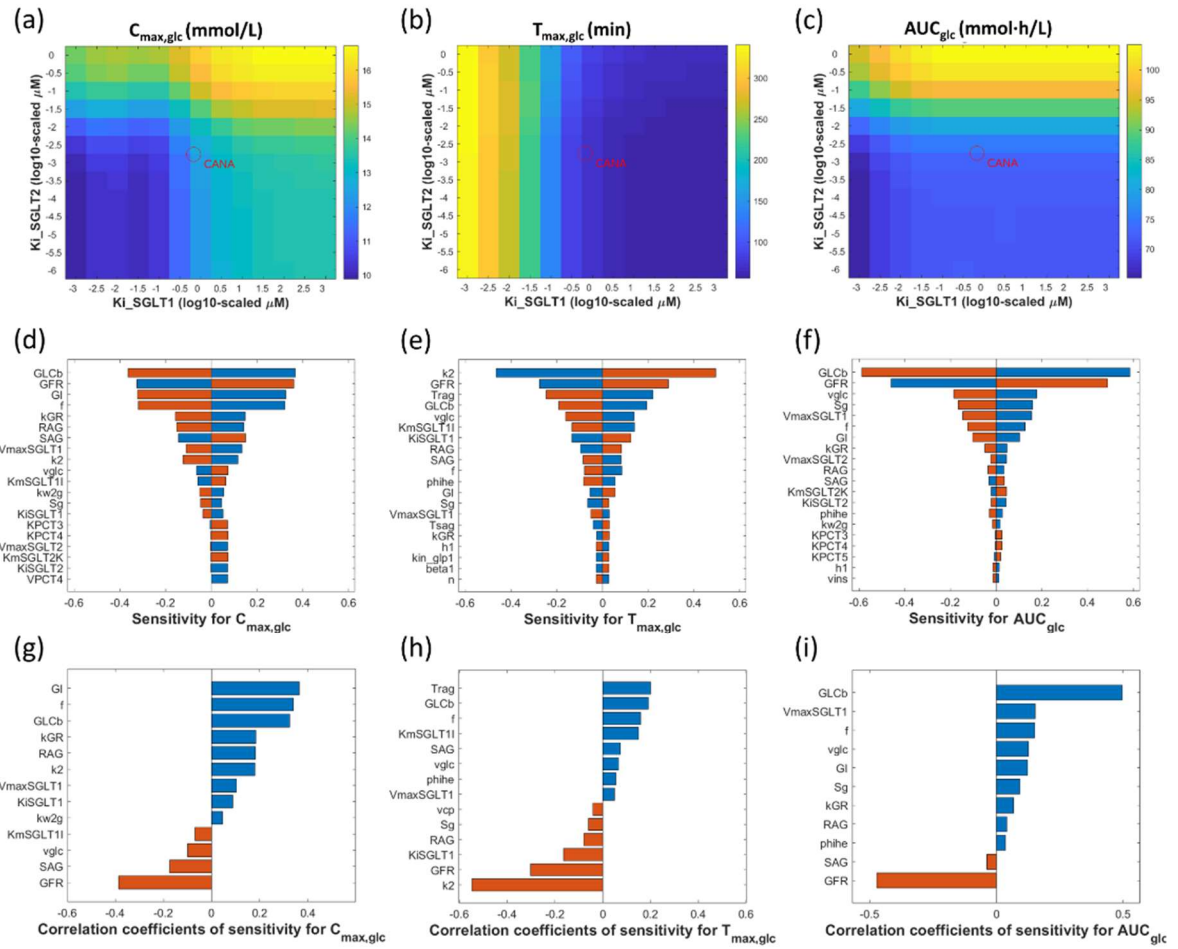


Figure 20 Sensitivity analysis for glucose dynamics on canagliflozin treatment. Top panels show two-dimensional heat maps involving K_i values of SGLT1 (K_{i_SGLT1}) and SGLT2 (K_{i_SGLT2}) for (a) $C_{\max,glc}$, (b) $T_{\max,glc}$, and (c) AUC_{glc} in canagliflozin 300 mg treatment. Middle panels show tornado plots about top 20 sensitive parameters for glucose dynamics in canagliflozin treatment. Sensitivities with $\pm 5\%$ perturbation of all model parameters were estimated for (d) $C_{\max,glc}$, (e) $T_{\max,glc}$, and (f) AUC_{glc} after an administration of canagliflozin 300 mg with food intake. Blue and red bars were shown sensitivities of positive and negative perturbation, respectively. Bottom panels show global sensitivity analysis for systemic glucose dynamics on canagliflozin treatment. Correlation coefficients of Spearman's rank correlation between sensitivities and all

model parameters were estimated for (g) $C_{\max,\text{glc}}$, (h) $T_{\max,\text{glc}}$, and (i) AUC_{glc} in canagliflozin 300 mg treatment with food intake. Significant parameters were defined p-values < 0.05 corrected by Bonferroni's method. Blue and red bars were shown correlation coefficients of positive and negative correlation, respectively. Model parameters were defined in Figure 11 and Table 9.

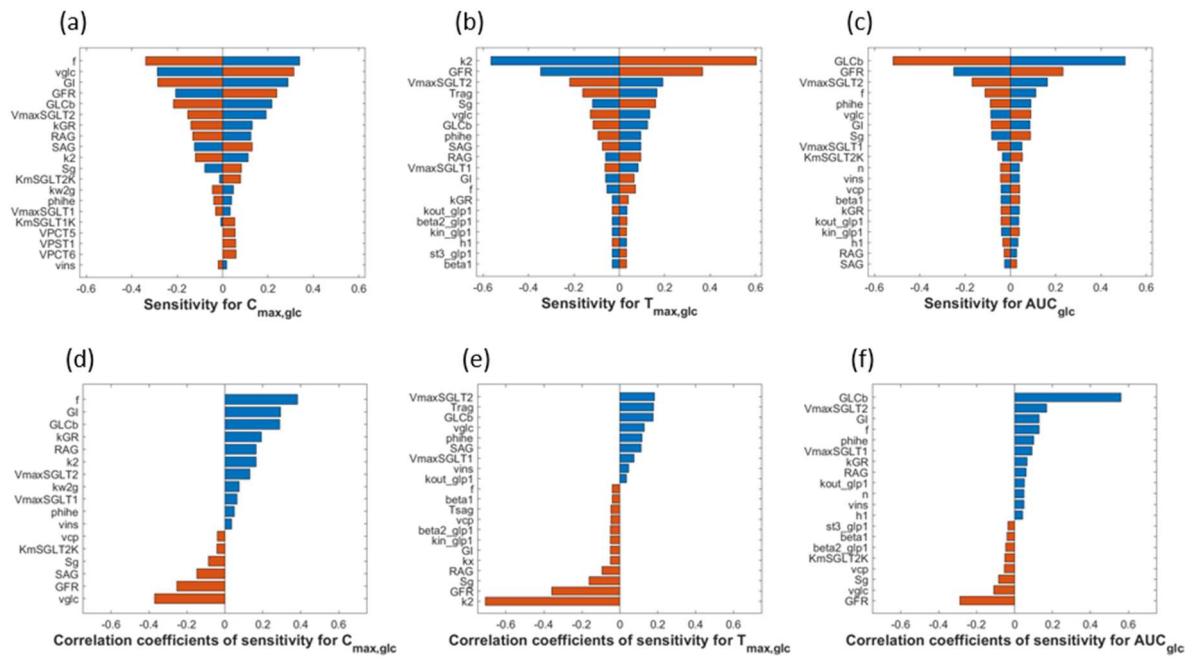


Figure 21 Tornado plots about Top 20 high-sensitive parameters for glucose dynamics on placebo control. Sensitivities with 5% perturbation of all model parameters were estimated for (a) $C_{\max,glc}$, (b) $T_{\max,glc}$, and (c) AUC_{glc} after administration of placebo with food intake. Blue and red bars were shown sensitivities of positive and negative perturbation, respectively. Correlation coefficients of Spearman's rank correlation between sensitivities and all model parameters were estimated for (d) $C_{\max,glc}$, (e) $T_{\max,glc}$, and (f) AUC_{glc} in canagliflozin 300 mg treatment with food intake. Significant parameters were defined p-values < 0.05 corrected by Bonferroni's method. Blue and red bars were shown correlation coefficients of positive and negative correlation, respectively. Model parameters were defined in Figure 11 and Table 9.

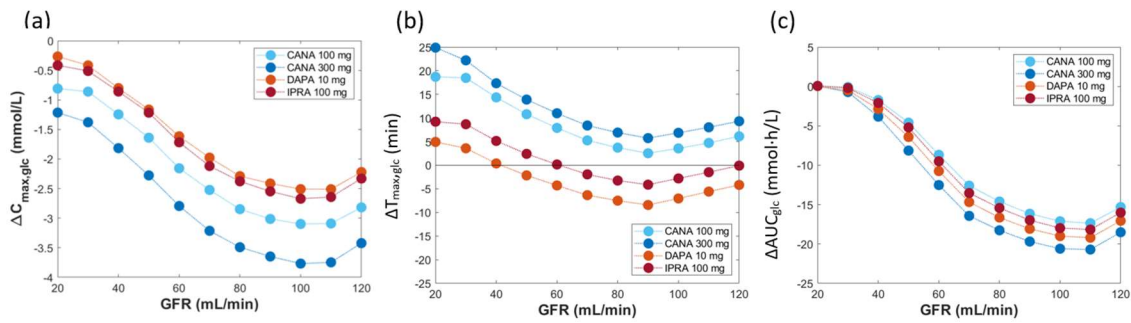


Figure 22 Dependencies of glomerular filtration rate (GFR) on pharmacological effects of SGLT2 inhibitors for glucose dynamics in plasma. Differences from placebo control were calculated for (a) $C_{\max,glc}$, (b) $T_{\max,glc}$ and (c) AUC_{glc} as pharmacological effects of each SGLT2 inhibitors, i.e. canagliflozin (CANA), dapagliflozin (DAPA) and ipragliflozin (IPRA).

第4節 考察

本章では、グルコースの消化吸収、代謝、腎糖再吸収および排泄の過程を統合し、食事負荷時のグルコース体内動態シミュレーションが可能な HSGD モデルを構築した。このモデルを用いた検討の結果、SGLT2 阻害薬の中で SGLT2/SGLT1 選択性が小さく投与量が高いカナグリフロジンの糖吸収遅延作用が、小腸 SGLT1 の阻害に起因していることが定量的に示された。

HSGD モデルは、臨床 OGTT [37] 及び臨床 MTT [38] (study S_i, T_i, C_i) のデータを用いて二段階で構築した。複数の DPPIV 阻害薬及び SGLT2 阻害薬に関する臨床試験のシミュレーションを実施したところ、血漿中グルコース、インスリン、C-ペプチド、aGLP-1 及び aGIP の5つの測定変数のベースラインからの変化は、ほとんどが臨床報告値の 0.5–2 倍以内であった (Table 11)。インスリンと C-ペプチドについて、報告値と若干の違いが認められたが、臨床試験におけるこれらの変動は、Figure 13, 14 に示すように広範囲であり、さらに実際の患者や試験間の変動が存在する [54, 57, 65] ことを考慮すると、シミュレーションされた血漿中グルコース濃度を含む測定変数は、臨床データと同等の結果が得られたものと考えられる。これまでに、SGLT2 阻害薬による食後グルコース濃度推移を予測する QSP モデルは報告されている [66, 67] が、そのモデルとは異なり、HSGD

モデルは炭水化物の消化及び吸収過程を考慮している。HSGD モデルからこの過程を外してシミュレーションしたプラセボの食後グルコース濃度は、HSGD モデルによるシミュレーションよりも急速に上昇し、より高値を示した (Figure 15c)。この結果は、他のモデルにおいて、特に食後の血糖値変化を過剰に予測する傾向があるという以前の知見 [67] を裏付けるものである。食後血漿中グルコースレベルに対する食事の種類や成分割合の影響に関しては更なる検討が必要であるが、少なくともグルコース負荷量は 50–100 g の範囲では腸管のグルコース吸収にほとんど影響を及ぼさないことを確認した (Figure 19)。したがって、HSGD モデルは他のモデルと比較して、SGLT2 阻害薬の投与による小腸 SGLT1 阻害の経時推移や食後血漿中グルコース濃度変化をより精度よく予測することができると考えられた。

構築した HSGD モデルを用いて、カナグリフロジン、ダパグリフロジン及びイプラグリフロジンを投与した際の血漿中グルコース濃度推移について、シミュレーション、用法及び食事負荷等の条件を揃えたシミュレーションを実施し、薬物間の違いを検討した (Figure 16a–e)。カナグリフロジン 100 mg 及び 300 mg では、プラセボと比較して $C_{\max, \text{glc}}$ の低下に加え $T_{\max, \text{glc}}$ の延長がシミュレーションされたが、ダパグリフロジン 10 mg 及びイプラグリフロジン 100 mg では $T_{\max, \text{glc}}$ の延長は認められず、薬物間で違いが確認された。この現象は Sha ら

により報告された臨床試験 [36] と類似しており、HSGD モデルは薬剤の食後グルコース濃度上昇に対する抑制メカニズム解析を可能にすることがこの結果からも示された。

SGLT1/2 を介した SGLT2 阻害薬の作用メカニズムを明らかにするために、カナグリフロジン 300 mg 投与時において、各トランスポーターに対する薬剤の阻害作用をキャンセルアウトした場合の血漿中グルコース濃度変化を検討した (Figure 17a)。カナグリフロジン 300 mg から小腸 SGLT1 阻害作用のみをキャンセルアウトした場合 (Case 5)、MTT 時の $T_{\max, \text{glc}}$ 延長は認められず、腎 SGLT2 阻害作用のみをキャンセルアウトした条件下 (Case 3) では、血糖降下作用自体は大きく減弱したが、 $T_{\max, \text{glc}}$ 延長作用は残存していた。一方、腎 SGLT1 阻害作用をキャンセルアウトした条件下 (Case 4) では、カナグリフロジン 300 mg 投与時 (Case 2) の血漿中グルコース濃度推移と同様であった。これらの結果は、カナグリフロジンのグルコース吸収遅延作用が小腸 SGLT1 阻害を介した作用であることを支持すると同時に、カナグリフロジンは臨床用量で腎 SGLT1 を阻害しないことを示唆しており、第 2 章の結果を支持するものである。また、カナグリフロジン 100 mg 及び 300 mg 投与時の $C_{\max, \text{glc}}$ 低下に対する小腸 SGLT1 阻害作用の寄与率は 23–28% と算出され、他剤と比較して高く (Figure 17b)、各剤の小腸 SGLT1 阻害率の相対強度 (Figure 18) を反映したものであった。さらに、感度分

析の結果 (Figure 20a-c) より $T_{\max, \text{glc}}$ は主に SGLT1 阻害, AUC_{glc} は主に SGLT2 阻害の影響を受けることが示され, ローカル及びグローバル感度分析の結果, SGLT1 に関連するパラメータが $C_{\max, \text{glc}}$ 及び $T_{\max, \text{glc}}$ に対して感度の高いパラメータとして挙げられた (Figure 20d-i). これらのことから, カナグリフロジンの食後血糖上昇抑制作用には, 小腸 SGLT1 阻害によるグルコース吸収の遅延が関与していることが強く示唆された. これは臨床試験で報告された現象 [34-36] を数理的に証明する最初の報告である.

SGLT2 遺伝子変異による家族性腎症糖尿は, 多くの場合, その症状は持続性尿糖排泄亢進のみであり, 他の有害事象は少ないと報告されているが, SGLT1 を遺伝的に欠損した個体は, グルコースガラクトース吸収不全症を発症し, 重度の下痢を呈することが報告されており [4], SGLT2 阻害薬は SGLT2/SGLT1 選択性が高いことが望ましいとの考えがある. カナグリフロジンは, 上市されている SGLT2 阻害薬の中で最も選択性が低く, 今回の定量的検討からも, 臨床用量で小腸 SGLT1 を阻害することが示唆された. しかしながら, PBPK モデルでシミュレーションした小腸薬物濃度プロファイルと, そこから算出される小腸 SGLT1 阻害の経時的推移 (Figure 18) から, カナグリフロジンによる小腸 SGLT1 阻害作用は, 薬物投与直後に一過性に認められ, 投与後 4 時間までにほぼ消失すると考えられる. また, 小腸からの糖吸収を完全に阻害するわけではなく, 吸

収を遅延して急激な血糖上昇を抑制しつつ、摂取した糖の大部分を時間をかけて吸収することが報告されており [34]、実際に現在まで重篤な下痢が問題にはなっていない。さらに、腎 SGLT1 に対してはほとんど阻害しないことも本研究から示されており、カナグリフロジンは、薬効面で有効に働き、副作用を呈さない SGLT2/SGLT1 阻害バランスを有する薬剤であると考えられる。

第 5 節 結論

本章では、イプラグリフロジンの PBPK モデル及びグルコース体内動態の包括的な QSP モデルとして HSGD モデルを構築した。HSGD モデルにより、カナグリフロジンの食後血糖上昇抑制作用には、小腸 SGLT1 阻害作用による糖吸収遅延作用が影響していることが定量的に示された。臨床用量のカナグリフロジンによる小腸 SGLT1 阻害作用は、 AUC_{glc} への影響はほとんどないが、食後の $C_{max,glc}$ 低下に 20–30% 寄与することが明らかとなった。

第4章 今後の展望

医薬品の適正使用とは、「的確な診断, 最適の薬剤・剤形, 適切な用法・用量」「調剤」「薬剤の説明を十分に理解」「正確に使用」「効果や副作用を評価」「フィードバック」という6ステップの一連のサイクルである（「21世紀の医薬品のあり方に関する懇談会」の最終報告書（平成5年5月））。このサイクルを確保するためには、医薬品に関する情報が医療関係者や患者に適切に提供され、十分理解されることが必要と考えられる。臨床現場から上がってくるクリニカルクエスチョン（CQ）には、実際の医療現場において治療法の選択等につながる重要なポイントが含まれる場合が多い。したがって、CQを検証可能な研究課題（Research Question; RQ）に昇華させて検討し、その情報をフィードバックすることは、薬の適正使用のために重要である。

本研究では、糖尿病治療薬の中で一番新しいクラスであるSGLT2阻害薬を研究対象に、薬の適正使用につながるCQやRQの回答を得ることを目的として、腎SGLT1/2阻害や小腸SGLT1阻害に関するメカニズムの定量的な検討を、M&Sの手法を用いて実施した。第2章では、SGLT2阻害薬の主作用である腎SGLT2阻害メカニズムについて検討した。PBPK/PDモデルを構築し、臨床用量のSGLT2阻害薬が、腎SGLT2を十分阻害していること、及び腎SGLT1をほとんど阻害

せず糖再吸収機能が残存するため、低血糖が起こりにくいと考えられることを定量的に示した。第3章では、SGLT2 阻害薬の各剤の特徴につながる小腸 SGLT1 阻害作用について検討した。HSGD モデルを構築し、SGLT2 阻害薬による小腸からの糖吸収遅延作用が、小腸 SGLT1 阻害によること、その作用は薬剤により異なることを定量的に示した。

特に臨床においては、組織中濃度測定やメカニズム検証を直接的に実施することは不可能な場合が多い。そのような状況下で、M&S の手法は非常に有用な手段となりうる。本研究で構築した HSGD モデルは、小腸糖吸収以外にも、下記に示すような臨床現象の再現やメカニズムの示唆を提示している。1) パラメータの感度分析を行った結果、 $C_{\max, \text{glc}}$, $T_{\max, \text{glc}}$, AUC_{glc} のいずれにおいても、SGLT2 阻害薬投与に関わらず GFR が高感度であることから (Figure 20, 21), GFR が食後血漿中グルコース濃度変化及び SGLT2 阻害薬の有効性の可変因子である可能性が示唆された。2) 臨床で報告されている SGLT 2 阻害薬はその作用機序から GFR が低下すると効果が減弱することが臨床的に報告されている [68]。HSGD モデルによるシミュレーションにおいても、GFR 低下に伴い臨床報告と同様の傾向が示された (Figure 22c)。3) SGLT2 阻害薬は肝糖新生を増加させることが報告されている [69]。感度分析の結果から、糖感受性を示すパラメータ S_g は、プラセボ時には糖代謝優位であり、 S_g が増えると AUC_{glc} が減少するが、SGLT2

阻害薬投与時には S_g の感受性が反転しており、 S_g が増えると AUC_{glc} が増える結果が得られている (Figure 20f, i, 21c, f). このことは、SGLT2 阻害薬投与により、糖代謝から糖新生へ糖代謝のバランスが変わっていることを示唆しており、臨床現象を説明できる可能性がある。

もちろん M&S の手法には限界が存在する。HSGD モデルの限界としては、このモデルが肝糖新生、骨格筋におけるグルコース代謝、脂肪組織における脂肪分解など、末梢組織における代謝経路の詳細を含まないことが挙げられる。したがって、このような末梢組織における糖代謝の詳細な記述を追加していくことが今後の課題である。また、糖尿病患者の変動性が考慮できないことも限界の一つである。この解決法としては、腎機能、肥満、インスリン抵抗性の程度が異なる等の多様な糖尿病患者の臨床試験データに基づき、HSGD モデルに現実的なパラメータ分布を反映する方法が考えられる。各々の仮想患者を用いたシミュレーションは、SGLT2 阻害薬の血糖抑制効果がどのように変化するか、あるいは何が標的集団の間で大きな可変性を引き起こすかの情報を得るのに役立つ。そしてこれらを組み合わせることにより、目的とする様々な仮想個体群における可変性を予測することができる。

本研究のように、薬剤の薬理メカニズムを明らかにし情報を提供することは、個々の患者背景に応じた薬剤の選択や適切な使用量の選択に繋がり、糖尿病治

療におけるプレシジョンメディシンにつながっていくと考えられる。近年の国内糖尿病治療薬市場は、DPPIV 阻害薬が上市後シェアを拡大し、治療下にある糖尿病患者の約 6 割に処方されているとのデータがある。また、SGLT2 阻害薬は、上市後急速に市場シェアを拡大しており、DPPIV 阻害薬と SGLT2 阻害薬の配合剤も 3 剤が上市されている。両薬剤使用時における血糖推移シミュレーションが可能な HSGD モデルは、上述した限界に対する改良を加えていくことにより、さらに有用なモデルとして糖尿病治療に貢献していくことができると確信している。

糖尿病治療薬の中で最も歴史の浅い SGLT2 阻害薬は、尿糖が減少することが治療結果であった糖尿病治療において、糖を尿中に排泄させるという画期的な発想で開発され、副作用を懸念する声も聞かれたが、最近、相次いで心・腎保護作用を有するという臨床結果が報告され、高い注目を集めている。心血管イベント既往、あるいは心血管疾患危険因子を有する 2 型糖尿病患者を対象に実施された、EMPA-REG OUTCOME（エンパグリフロジン）、CANVAS-Program（カナグリフロジン）、DECLARE-TIMI 58（ダパグリフロジン）等の大規模臨床試験において、心血管死及び心不全による入院という心血管イベントに対し抑制効果を持つことが明らかとなり、腎保護作用も認められた [70-72]。また、顕性アルブミン尿を有する 2 型糖尿病患者を対象とした CREDENCE 試験（カナグリフ

ロジン)においても、心及び腎保護作用が確認された。さらに2019年から2020年にかけて、非糖尿病患者を含む左室駆出率が低下した慢性心不全(HFrEF)患者を対象にした大規模臨床試験DAPA-HF試験(ダパグリフロジン), EMPEROR-Reduced試験(エンパグリフロジン)において、糖尿病の有無にかかわらず心保護作用を有することが報告され[73-75]、慢性腎臓病(CKD)患者を対象としたDAPA-CKD試験(ダパグリフロジン)において、やはり糖尿病の有無に関わらず腎保護作用が報告された[76]。ダパグリフロジンは、これらの結果により、2020年5月にFDAから、糖尿病の有無を問わず、駆出率低下心不全(HFrEF)患者への適応拡大の承認を受けており、10月にはCKD患者への治療薬としてFDAより画期的治療薬(Breakthrough Therapy)指定を受けた。また、日本国内においても、2020年10月に、厚生労働省薬事・食品衛生審議会医薬品第一部会において、ダパグリフロジンの慢性心不全の適応追加承認が了承された。SGLT2阻害薬は、もはや糖尿病の領域を超えた薬という位置づけになってきている。今後、糖尿病治療薬としてだけでなく、腎臓や循環器の分野でも広く使用されるようになり、糖尿病専門医以外の処方により、より複雑で多様な背景を持った人々に使用されるようになるであろう。その中で引き続き適正な使用を続けていくために、これまでも増してさまざまな情報が必要になる。

M&S の手法は empirical modeling approach と systems modeling approach に大別される [77]. 前者は比較的シンプルで経験的な top down 型のモデリングであり、統計手法を組み合わせて、臨床データの特徴を抽出および定量化し、データの解釈や内挿に適している。後者は生体内を模倣し外挿性の高い複雑な bottom up 型のモデリングであり、多くのパラメータ情報が必要だが、生理学的意味を持つ解釈や外挿が可能である。今回使用した PBPK モデルや QSP モデルは後者に属し、医薬品開発において、代謝、自己免疫、腫瘍、神経科学など多くの治療領域で、有効性や安全性の予測、バイオマーカーの検討、作用機序の理解等に活用されている [78].

薬剤投与時における薬剤反応の個体間変動は、薬剤の薬理作用と患者の病態を含む生理学的状態との相互作用に起因する。両方の情報を組み込んだ systems modeling approach を主とした M&S 手法は、暴露と薬効あるいは毒性との定量的理解、小児や高齢者を含む異なる患者集団への外挿、適切なバイオマーカーの探索、病態生理の理解や治療戦略策定等につながる情報を、今後も絶え間なく提供し、通常の臨床診療におけるプレシジョンメディスンの実現や、医薬品の適正使用に貢献していくと考えられる。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、御指導御鞭撻を賜りました筑波大学生存ダイナミクス研究センター 教授 深水昭吉 先生に謹んで深謝の意を表します。

本論文を審査していただきました筑波大学生命環境系 教授 田中俊之 先生、筑波大学生命環境系 准教授 木村圭志 先生、筑波大学生命環境系 講師 加香孝一郎 先生に深謝の意を表します。

本研究の第 2 章は、昭和薬科大学と田辺三菱製薬株式会社の共同研究の成果をまとめたものであり、御指導賜りました昭和薬科大学薬物動態学研究室 教授 山崎浩史 先生ならびに准教授 清水万紀子 先生に深く感謝申し上げます。

本研究を遂行するにあたり、有益な御助言、御助力を賜りました、田辺三菱製薬株式会社 齊藤隆太 博士、仲丸善喜 博士、中田智久 博士、シスメックス株式会社 田島慶彦 博士、高畑隆之 博士に心より感謝申し上げます。

本研究の機会を与えていただきました、田辺三菱製薬株式会社 佐藤貢 メディカルインテリジェンス部長、北嶋浩 薬物動態研究所長、久米俊行 前薬物動態研究所長に深く感謝すると共に、本研究を進めるにあたりご助言を頂きました荒川健司 博士、奥哲 博士を始めとする皆様に深く感謝申し上げます。

最後に、本研究を行うにあたり、支えてくれた家族に心より感謝致します。

参考文献

1. IDF diabetes atlas 9th edition [Internet]. International Diabetes Federation. Available from: <https://www.diabetesatlas.org/>.
2. 日本糖尿病学会編. 糖尿病治療ガイド 2020-2021. 文光堂.
3. Mather A, Pollock C. Glucose handling by the kidney. *Kidney Int. Suppl.* 2011(120):S1-6.
4. Wright EM, Loo DD, Hirayama BA. Biology of human sodium glucose transporters. *Physiol. Rev.* 2011;91(2):733-794.
5. Vrhovac I, Balen Eror D, Klessen D, Burger C, Breljak D, Kraus O, Radovic N, Jadrijevic S, Aleksic I, Walles T, Sauvant C, Sabolic I, Koepsell H. Localizations of Na(+)-D-glucose cotransporters SGLT1 and SGLT2 in human kidney and of SGLT1 in human small intestine, liver, lung, and heart. *Pflugers Arch.* 2015;467(9):1881-1898.
6. Chen LH, Leung PS. Inhibition of the sodium glucose co-transporter-2: Its beneficial action and potential combination therapy for type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes. Metab.* 2013;15(5):392-402.
7. Gorboulev V, Schurmann A, Vallon V, Kipp H, Jaschke A, Klessen D, Friedrich A, Scherneck S, Rieg T, Cunard R, Veyhl-Wichmann M, Srinivasan A, Balen D, Breljak D, Rexhepaj R, Parker HE, Gribble FM, Reimann F, Lang F, Wiese S, Sabolic I, Sendtner M, Koepsell H. Na(+)-D-glucose cotransporter SGLT1 is pivotal for intestinal glucose absorption and glucose-dependent incretin secretion. *Diabetes.* 2012;61(1):187-196.
8. Mudaliar S, Polidori D, Zambrowicz B, Henry RR. Sodium-glucose cotransporter inhibitors: Effects on renal and intestinal glucose transport: From bench to bedside. *Diabetes Care.* 2015;38(12):2344-2353.
9. カナグル総合製品情報概要 [Internet]. Available from: <https://medical.mt-pharma.co.jp/intro/can/pdf/mtpc-can-all.pdf>.

10. Interview form of canagliflozin [Internet]. PMDA (Pharmaceutical and Medical Devices Agency) Japan. [cited 3 September 2014]. Available from: https://www.info.pmda.go.jp/go/interview/1/400315_3969022F1029_1_090_1F.
11. Interview form of dapagliflozin [Internet]. PMDA (Pharmaceutical and Medical Devices Agency) Japan. [cited 24 April 2015]. Available from: https://www.info.pmda.go.jp/go/interview/2/670227_3969019F1027_2_091_1F.pdf.
12. Interview form of ipragliflozin [Internet]. [cited 14 November 2017]. Available from: https://www.info.pmda.go.jp/go/interview/1/800126_3969018F1022_1_011_1F.pdf.
13. Interview form of empagliflozin [Internet]. PMDA (Pharmaceutical and Medical Devices Agency) Japan. [cited 14 November 2017]. Available from: https://www.info.pmda.go.jp/go/interview/1/650168_3969023F1023_1_207_1F.pdf.
14. Interview form of tofogliflozin [Internet]. PMDA (Pharmaceutical and Medical Devices Agency) Japan. [cited 10 November 2020]. Available from: https://www.info.pmda.go.jp/go/interview/2/270072_3969021F1024_2_002_1F.pdf.
15. Interview form of luceogliflozin [Internet]. PMDA (Pharmaceutical and Medical Devices Agency) Japan. [cited 10 November 2020]. Available from: https://www.info.pmda.go.jp/go/interview/2/400059_3969020F1020_2_012_1F.pdf.
16. Ohgaki R, Wei L, Yamada K, Hara T, Kuriyama C, Okuda S, Ueta K, Shiotani M, Nagamori S, Kanai Y. Interaction of the sodium/glucose cotransporter (SGLT) 2 inhibitor canagliflozin with SGLT1 and SGLT2. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2016;358(1):94-102.
17. Cangoz S, Chang YY, Chempakaseril SJ, Guduru RC, Huynh LM, John JS, John ST, Joseph ME, Judge R, Kimmey R, Kudratov K, Lee PJ, Madhani IC, Shim PJ, Singh S, Singh S, Ruchalski C, Raffa RB. The kidney as a new target for antidiabetic drugs: SGLT2 inhibitors. *J. Clin. Pharm. Ther.* 2013;38(5):350-359.

18. Lu Y, Griffen SC, Boulton DW, Leil TA. Use of systems pharmacology modeling to elucidate the operating characteristics of SGLT1 and SGLT2 in renal glucose reabsorption in humans. *Front. Pharmacol.* 2014;5:274.
19. New drugs approved in FY 2014 [Internet]. PMDA (Pharmaceutical and Medical Devices Agency) Japan. 2014 [cited 17 December 2014]. Available from: <https://www.pmda.go.jp/drugs/2014/P201400070/index.html>.
20. New drugs approved in FY2013 [Internet]. PMDA (Pharmaceutical and Medical Devices Agency) Japan. 2013 [cited 24 April 2015]. Available from: <https://www.pmda.go.jp/drugs/2014/P201400016/index.html>.
21. Jamei M, Turner D, Yang J, Neuhoff S, Polak S, Rostami-Hodjegan A, Tucker G. Population-based mechanistic prediction of oral drug absorption. *AAPS J.* 2009;11(2):225-237.
22. Hsu V, de LTVM, Zhao P, Zhang L, Zheng JH, Nordmark A, Berglund EG, Giacomini KM, Huang SM. Towards quantitation of the effects of renal impairment and probenecid inhibition on kidney uptake and efflux transporters, using physiologically based pharmacokinetic modelling and simulations. *Clin. Pharmacokinet.* 2014;53(3):283-293.
23. Neuhoff S, Gaohua L, Burt H, Jamei M, Li L, Tucker G, Rostami-Hodjegan A. Accounting for transporters in renal clearance: Towards a mechanistic kidney model (Mech KiM). Sugiyama Y, Steffansen B, editors: Springer New York; 2013. 155-177 p.
24. Rodgers T, Leahy D, Rowland M. Physiologically based pharmacokinetic modeling 1: Predicting the tissue distribution of moderate-to-strong bases. *J. Pharm. Sci.* 2005;94(6):1259-1276.
25. Rodgers T, Rowland M. Physiologically based pharmacokinetic modelling 2: Predicting the tissue distribution of acids, very weak bases, neutrals and zwitterions. *J. Pharm. Sci.* 2006;95(6):1238-1257.
26. Kuriyama C, Xu JZ, Lee SP, Qi J, Kimata H, Kakimoto T, Nakayama K, Watanabe Y, Taniuchi N, Hikida K, Matsushita Y, Arakawa K, Saito A, Ueta K, Shiotani M. Analysis of the effect of canagliflozin on renal glucose reabsorption and progression of hyperglycemia in Zucker diabetic fatty rats. *J. Pharmacol. Exp.*

- Ther. 2014;351(2):423-431.
27. Hummel CS, Lu C, Loo DD, Hirayama BA, Voss AA, Wright EM. Glucose transport by human renal Na⁺/D-glucose cotransporters SGLT1 and SGLT2. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2011;300(1):C14-21.
 28. Polidori D, Sha S, Ghosh A, Plum-Morschel L, Heise T, Rothenberg P. Validation of a novel method for determining the renal threshold for glucose excretion in untreated and canagliflozin-treated subjects with type 2 diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013;98(5):E867-871.
 29. DeFronzo RA, Hompesch M, Kasichayanula S, Liu X, Hong Y, Pfister M, Morrow LA, Leslie BR, Boulton DW, Ching A, LaCreta FP, Griffen SC. Characterization of renal glucose reabsorption in response to dapagliflozin in healthy subjects and subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2013;36(10):3169-3176.
 30. Cheng Y, Prusoff WH. Relationship between the inhibition constant (K₁) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (I₅₀) of an enzymatic reaction. *Biochem. Pharmacol.* 1973;22(23):3099-3108.
 31. Sarai N, Matsuoka S, Noma A. Simbio: A java package for the development of detailed cell models. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2006;90(1-3):360-377.
 32. Tominaga M, Eguchi H, Manaka H, Igarashi K, Kato T, Sekikawa A. Impaired glucose tolerance is a risk factor for cardiovascular disease, but not impaired fasting glucose. The Funagata diabetes study. *Diabetes Care.* 1999;22(6):920-924.
 33. Nakagami T, Group DS. Hyperglycaemia and mortality from all causes and from cardiovascular disease in five populations of Asian origin. *Diabetologia.* 2004;47(3):385-394.
 34. Polidori D, Sha S, Mudaliar S, Ciaraldi TP, Ghosh A, Vaccaro N, Farrell K, Rothenberg P, Henry RR. Canagliflozin lowers postprandial glucose and insulin by delaying intestinal glucose absorption in addition to increasing urinary glucose excretion: Results of a randomized, placebo-controlled study. *Diabetes Care.* 2013;36(8):2154-2161.
 35. Noda T, Ebihara E, Ueno H, Sadohara K, Tanaka Y, Nagatomo Y, Murakami Y, Yonamine S, Tsuchimochi W, Sakoda H, Yamaguchi H, Nakazato M. Concurrent

- use of teneligliptin and canagliflozin improves glycemic control with beneficial effects on plasma glucagon and glucagon-like peptide-1: A single-arm study. *Diabetes Ther.* 2019;10(5):1835-1846.
36. Sha S, Polidori D, Farrell K, Ghosh A, Natarajan J, Vaccaro N, Pinheiro J, Rothenberg P, Plum-Morschel L. Pharmacodynamic differences between canagliflozin and dapagliflozin: Results of a randomized, double-blind, crossover study. *Diabetes Obes. Metab.* 2015;17(2):188-197.
 37. Herman GA, Bergman A, Stevens C, Kotey P, Yi B, Zhao P, Dietrich B, Golor G, Schrodter A, Keymeulen B, Lasseter KC, Kipnes MS, Snyder K, Hilliard D, Tanen M, Cilissen C, De Smet M, de Lepeleire I, Van Dyck K, Wang AQ, Zeng W, Davies MJ, Tanaka W, Holst JJ, Deacon CF, Gottesdiener KM, Wagner JA. Effect of single oral doses of sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, on incretin and plasma glucose levels after an oral glucose tolerance test in patients with type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2006;91(11):4612-4619.
 38. Takebayashi K, Hara K, Terasawa T, Naruse R, Suetsugu M, Tsuchiya T, Inukai T. Effect of canagliflozin on circulating active GLP-1 levels in patients with type 2 diabetes: A randomized trial. *Endocr. J.* 2017;64(9):923-931.
 39. Yoshikawa T, Inoue R, Matsumoto M, Yajima T, Ushida K, Iwanaga T. Comparative expression of hexose transporters (SGLT1, GLUT1, GLUT2 and GLUT5) throughout the mouse gastrointestinal tract. *Histochem. Cell Biol.* 2011;135(2):183-194.
 40. Fukuda-Tsuru S, Anabuki J, Abe Y, Yoshida K, Ishii S. A novel, potent, and long-lasting dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, teneligliptin, improves postprandial hyperglycemia and dyslipidemia after single and repeated administrations. *Eur. J. Pharmacol.* 2012;696(1-3):194-202.
 41. Hsueh CH, Hsu V, Zhao P, Zhang L, Giacomini KM, Huang SM. PBPK modeling of the effect of reduced kidney function on the pharmacokinetics of drugs excreted renally by organic anion transporters. *Clin. Pharmacol. Ther.* 2018;103(3):485-492.
 42. Nakamaru Y, Emoto C, Shimizu M, Yamazaki H. Human pharmacokinetic profiling of the dipeptidyl peptidase-IV inhibitor teneligliptin using

- physiologically based pharmacokinetic modeling. *Biopharm. Drug Dispos.* 2015;36(3):148-162.
43. Mori K, Saito R, Nakamaru Y, Shimizu M, Yamazaki H. Physiologically based pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling to predict concentrations and actions of sodium-dependent glucose transporter 2 inhibitor canagliflozin in human intestines and renal tubules. *Biopharm. Drug Dispos.* 2016;37(8):491-506.
 44. New drugs approved in FY2013. [Internet]. PMDA (Pharmaceutical and Medical Devices Agency) Japan. 2013 [cited 24 April 2015]. Available from: <https://www.pmda.go.jp/drugs/2013/P201300172/index.html>.
 45. Suzuki M, Honda K, Fukazawa M, Ozawa K, Hagita H, Kawai T, Takeda M, Yata T, Kawai M, Fukuzawa T, Kobayashi T, Sato T, Kawabe Y, Ikeda S. Tofogliflozin, a potent and highly specific sodium/glucose cotransporter 2 inhibitor, improves glycemic control in diabetic rats and mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2012;341(3):692-701.
 46. Tahara A, Kurosaki E, Yokono M, Yamajuku D, Kihara R, Hayashizaki Y, Takasu T, Imamura M, Qun L, Tomiyama H, Kobayashi Y, Noda A, Sasamata M, Shibasaki M. Pharmacological profile of ipragliflozin (ASP1941), a novel selective SGLT2 inhibitor, in vitro and in vivo. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 2012;385(4):423-436.
 47. Grempler R, Thomas L, Eckhardt M, Himmelsbach F, Sauer A, Sharp DE, Bakker RA, Mark M, Klein T, Eickelmann P. Empagliflozin, a novel selective sodium glucose cotransporter-2 (SGLT-2) inhibitor: Characterisation and comparison with other SGLT-2 inhibitors. *Diabetes Obes. Metab.* 2012;14(1):83-90.
 48. Interview form of sitagliptin [Internet]. PMDA (Pharmaceutical and Medical Devices Agency) Japan. [cited 8 May 2018].
 49. Yamamoto-Noguchi CC, Furutani E, Sumi S. Mathematical model of glucose-insulin metabolism in type 1 diabetes including digestion and absorption of carbohydrates. *Frontiers in Life Engineering.* 2014;7(6):314-320.
 50. Moller JB, Jusko WJ, Gao W, Hansen T, Pedersen O, Holst JJ, Overgaard RV, Madsen H, Ingwersen SH. Mechanism-based population modelling for assessment of l-cell function based on total GLP-1 response following an oral

- glucose tolerance test. *J. Pharmacokinet. Pharmacodyn.* 2011;38(6):713-725.
51. Dalla Man C, Micheletto F, Sathananthan M, Vella A, Cobelli C. Model-based quantification of glucagon-like peptide-1-induced potentiation of insulin secretion in response to a mixed meal challenge. *Diabetes Technol. Ther.* 2016;18(1):39-46.
 52. Pacini G, Bergman RN. Minmod: A computer program to calculate insulin sensitivity and pancreatic responsiveness from the frequently sampled intravenous glucose tolerance test. *Comput. Methods Programs Biomed.* 1986;23(2):113-122.
 53. Toffolo G, Campioni M, Basu R, Rizza RA, Cobelli C. A minimal model of insulin secretion and kinetics to assess hepatic insulin extraction. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2006;290(1):E169-E176.
 54. Ohkura T, Fujioka Y, Sumi K, Nakanishi R, Shiochi H, Yamamoto N, Matsuzawa K, Izawa S, Ohkura H, Kato M, Taniguchi S, Yamamoto K. Sitagliptin improves the impaired acute insulin response during a meal tolerance test in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus: A small-scale real-world study. *Diabetes Ther.* 2014;5(1):285-297.
 55. Tsuchimochi W, Ueno H, Yamashita E, Tsubouchi C, Sakoda H, Nakamura S, Nakazato M. Teneligliptin improves glycemic control with the reduction of postprandial insulin requirement in Japanese diabetic patients. *Endocr. J.* 2015;62(1):13-20.
 56. Polidori D, Mari A, Ferrannini E. Canagliflozin, a sodium glucose co-transporter 2 inhibitor, improves model-based indices of beta cell function in patients with type 2 diabetes. *Diabetologia.* 2014;57(5):891-901.
 57. Okamoto A, Yokokawa H, Sanada H, Naito T. Changes in levels of biomarkers associated with adipocyte function and insulin and glucagon kinetics during treatment with dapagliflozin among obese type 2 diabetes mellitus patients. *Drugs R D.* 2016;16(3):255-261.
 58. Nagai Y, Ohta A, Sada Y, Kato H, Tanaka Y. Effect of 24-week treatment with ibragliflozin on proinsulin/C-peptide ratio in Japanese patients with type 2 diabetes. *Expert Opin. Pharmacother.* 2017;18(1):13-17.
 59. Meier JJ, Nauck MA, Kranz D, Holst JJ, Deacon CF, Gaeckler D, Schmidt WE,

- Gallwitz B. Secretion, degradation, and elimination of glucagon-like peptide 1 and gastric inhibitory polypeptide in patients with chronic renal insufficiency and healthy control subjects. *Diabetes*. 2004;53(3):654-662.
60. Polonsky KS, Licinio-Paixao J, Given BD, Pugh W, Rue P, Galloway J, Karrison T, Frank B. Use of biosynthetic human C-peptide in the measurement of insulin secretion rates in normal volunteers and type i diabetic patients. *J. Clin. Invest.* 1986;77(1):98-105.
 61. van Riel N. Minimal models for glucose and insulin kinetics; a matlab implementation. Eindhoven University of Technology; 2004; Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/273122307>.
 62. Cobelli C, Caumo A, Omenetto M. Minimal model Sg overestimation and Si underestimation: Improved accuracy by a bayesian two-compartment model. *Am. J. Physiol.* 1999;277(3):E481-488.
 63. Sjostrand F, Edsberg L, Hahn RG. Volume kinetics of glucose solutions given by intravenous infusion. *Br. J. Anaesth.* 2001;87(6):834-843.
 64. Englyst KN, Vinoy S, Englyst HN, Lang V. Glycaemic index of cereal products explained by their content of rapidly and slowly available glucose. *Br. J. Nutr.* 2003;89(3):329-340.
 65. Eto T, Inoue S, Kadowaki T. Effects of once-daily teneligliptin on 24-h blood glucose control and safety in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus: A 4-week, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Diabetes Obes. Metab.* 2012;14(11):1040-1046.
 66. Balazki P, Schaller S, Eissing T, Lehr T. A quantitative systems pharmacology kidney model of diabetes associated renal hyperfiltration and the effects of SGLT inhibitors. *CPT: pharmacometrics & systems pharmacology.* 2018;7(12):788-797.
 67. Schaller S, Willmann S, Lippert J, Schaupp L, Pieber TR, Schuppert A, Eissing T. A generic integrated physiologically based whole-body model of the glucose-insulin-glucagon regulatory system. *CPT: pharmacometrics & systems pharmacology.* 2013;2:e65.

68. DeFronzo RA, Norton L, Abdul-Ghani M. Renal, metabolic and cardiovascular considerations of SGLT2 inhibition. *Nat Rev Nephrol.* 2017;13(1):11-26.
69. Merovci A, Solis-Herrera C, Daniele G, Eldor R, Fiorentino TV, Tripathy D, Xiong J, Perez Z, Norton L, Abdul-Ghani MA, DeFronzo RA. Dapagliflozin improves muscle insulin sensitivity but enhances endogenous glucose production. *J. Clin. Invest.* 2014;124(2):509-514.
70. Zinman B, Wanner C, Lachin JM, Fitchett D, Bluhmki E, Hantel S, Mattheus M, Devins T, Johansen OE, Woerle HJ, Broedl UC, Inzucchi SE, Investigators E-RO. Empagliflozin, cardiovascular outcomes, and mortality in type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.* 2015;373(22):2117-2128.
71. Neal B, Perkovic V, Mahaffey KW, de Zeeuw D, Fulcher G, Erondu N, Shaw W, Law G, Desai M, Matthews DR, Group CPC. Canagliflozin and cardiovascular and renal events in type 2 diabetes. *N. Engl. J. Med.* 2017;377(7):644-657.
72. Wiviott SD, Raz I, Bonaca MP, Mosenzon O, Kato ET, Cahn A, Silverman MG, Zelniker TA, Kuder JF, Murphy SA, Bhatt DL, Leiter LA, McGuire DK, Wilding JPH, Ruff CT, Gause-Nilsson IAM, Fredriksson M, Johansson PA, Langkilde AM, Sabatine MS. Dapagliflozin and cardiovascular outcomes in type 2 diabetes. *N Engl J Med.* 2019;380(4):347-357.
73. McMurray JJV, Solomon SD, Inzucchi SE, Køber L, Kosiborod MN, Martinez FA, Ponikowski P, Sabatine MS, Anand IS, Bělohávek J, Böhm M, Chiang CE, Chopra VK, de Boer RA, Desai AS, Diez M, Drozd J, Dukát A, Ge J, Howlett JG, Katova T, Kitakaze M, Ljungman CEA, Merkely B, Nicolau JC, O'Meara E, Petrie MC, Vinh PN, Schou M, Tereshchenko S, Verma S, Held C, DeMets DL, Docherty KF, Jhund PS, Bengtsson O, Sjöstrand M, Langkilde AM. Dapagliflozin in patients with heart failure and reduced ejection fraction. *N Engl J Med.* 2019;381(21):1995-2008.
74. Petrie MC, Verma S, Docherty KF, Inzucchi SE, Anand I, Belohlávek J, Böhm M, Chiang CE, Chopra VK, de Boer RA, Desai AS, Diez M, Drozd J, Dukát A, Ge J, Howlett J, Katova T, Kitakaze M, Ljungman CEA, Merkely B, Nicolau JC, O'Meara E, Vinh PN, Schou M, Tereshchenko S, Køber L, Kosiborod MN, Langkilde AM, Martinez FA, Ponikowski P, Sabatine MS, Sjöstrand M, Solomon SD, Johanson P, Greasley PJ, Boulton D, Bengtsson O, Jhund PS, McMurray JJV.

- Effect of dapagliflozin on worsening heart failure and cardiovascular death in patients with heart failure with and without diabetes. *Jama*. 2020;323(14):1353-1368.
75. Packer M, Anker SD, Butler J, Filippatos G, Pocock SJ, Carson P, Januzzi J, Verma S, Tsutsui H, Brueckmann M, Jamal W, Kimura K, Schnee J, Zeller C, Cotton D, Bocchi E, Böhm M, Choi D-J, Chopra V, Chuquiure E, Giannetti N, Janssens S, Zhang J, Gonzalez Juanatey JR, Kaul S, Brunner-La Rocca H-P, Merkely B, Nicholls SJ, Perrone S, Pina I, Ponikowski P, Sattar N, Senni M, Seronde M-F, Spinar J, Squire I, Taddei S, Wanner C, Zannad F. Cardiovascular and renal outcomes with empagliflozin in heart failure. *New England Journal of Medicine*. 2020;383(15):1413-1424.
76. Heerspink HJL, Stefánsson BV, Correa-Rotter R, Chertow GM, Greene T, Hou F-F, Mann JFE, McMurray JJV, Lindberg M, Rossing P, Sjöström CD, Toto RD, Langkilde A-M, Wheeler DC. Dapagliflozin in patients with chronic kidney disease. *New England Journal of Medicine*. 2020;383(15):1436-1446.
77. Marshall SF, Burghaus R, Cosson V, Cheung SY, Chenel M, DellaPasqua O, Frey N, Hamrén B, Harnisch L, Ivanow F, Kerbusch T, Lippert J, Milligan PA, Rohou S, Staab A, Steimer JL, Tornøe C, Visser SA. Good practices in model-informed drug discovery and development: Practice, application, and documentation. *CPT: pharmacometrics & systems pharmacology*. 2016;5(3):93-122.
78. Bradshaw EL, Spilker ME, Zang R, Bansal L, He H, Jones RDO, Le K, Penney M, Schuck E, Topp B, Tsai A, Xu C, Nijsen M, Chan JR. Applications of quantitative systems pharmacology in model-informed drug discovery: Perspective on impact and opportunities. *CPT: pharmacometrics & systems pharmacology*. 2019;8(11):777-791.