

博士論文

生理学的薬物速度論に基づいた種間スケーリングによるヒ
ト薬物動態予測手法の構築

広島大学 大学院医系科学研究科

博士課程医歯薬学専攻 薬学専門プログラム

令和2年度入学 吉田 光佐

主指導教員 古武 弥一郎

目次

略語一覧	3
第1章 緒言	4
第2章 低クリアランス化合物のクリアランス予測におけるヒト肝キメラマウスの有用性 評価	7
第1節 低クリアランス化合物の定義	7
第2節 クリアランス予測のためのデータ収集	11
第3節 ヒトクリアランス予測	13
第1項 <i>In vitro in vivo</i> extrapolation (IVIVE)	13
第2項 複数動物種を用いた allometric scaling	15
第3項 PXB マウスを用いた single-species allometric scaling	16
第4項 PXB マウスを用いた physiologically-based scaling	17
第4節 予測精度の評価	19
第5節 感度分析による重要パラメーターの探索	25
第6節 小括	27
第3章 Simcyp simulator を用いた組織分布を考慮した新規ヒト血漿中濃度推移予測手法 の開発	29
第1節 組織分布を考慮したヒト血漿中濃度推移予測のためのデータ収集	29
第2節 動物の PBPK モデル構築	31
第3節 ヒトの血漿中濃度推移予測	34
第4節 予測精度の評価	36
第5節 小括	40
第4章 総括	42
実験の部	44
引用論文の部	47
補足資料	52
本論文に関連した学会発表	57
基礎となる原著論文	58
謝辞	59

略語一覽

AAFE: absolute average fold error
ADME: absorption, distribution, metabolism and excretion
AO: aldehyde oxidase
BCS: biopharmaceutics classification system
BrW: brain weight
BW: body weight
CL: clearance
CL_{int}: intrinsic clearance
CL_T: total clearance
CSPE: cross-species parameter estimation
ECCS: extended clearance classification system
FCIM: f_u corrected intercept method
FMO: flavin-containing monooxygenase
 $f_{u,p}$: fraction unbound in plasma
 $f_{u,b}$: fraction unbound in blood
IVIVE: *in vitro in vivo* extrapolation
logP: log of partition coefficient
LW: liver weight
MLP: maximum life-span potential
MW: molecular weight
NAT: N-acetyltransferase
OATP: organic anion-transporting polypeptide
OFV: objective function value
PBPK: physiologically-based pharmacokinetics
PE: parameter estimation
PXB-mice: chimeric mice with humanized livers
Q_h: hepatic blood flow
R_b: blood-to-plasma concentration ratio
RMSE: root mean squared error
ROE: rule of exponent
SA: simple allometry
UGT: UDP-glucuronosyltransferase

第1章 緒言

創薬において、質の高い開発化合物の選抜あるいは臨床試験の安全且つ円滑な取り組みを実現するために、クリアランス (CL) や分布容積等のヒト薬物動態パラメーターを正確に予測することは重要である。しかしながら、代謝やタンパク結合率等の薬物動態における種差が認められる場合、これらの正確な予測を困難とする (Huang and Riviere, 2014)。種差の問題を解決可能な CL 予測手法として、最も汎用されているのが、ヒト肝細胞代謝試験結果に基づいた *in vitro* から *in vivo* への外挿法 (*In vitro-in vivo extrapolation*; IVIVE) である。しかしながら、代謝安定性を改善した低い固有クリアランスを持つ化合物 (低 CL_{int} 化合物) においては、酵素活性を維持可能なインキュベーション時間内に代謝反応を定量的に捉えることができず、本結果に基づいた正確な CL 予測は困難である。また近年、製薬業界における創薬ポートフォリオに占める低 CL_{int} 化合物の割合は約 30%にまで増加しており、IVIVE を適用できないことは創薬における深刻な問題である (Di and Obach, 2015; Hultman et al., 2016)。この背景には、ヒトにおいて低用量で十分な曝露を得るために、ADME スクリーニングにおいて代謝的に安定な化合物を選抜していることが大きく寄与している (Bergstrom and Lindmark, 2019)。

株式会社フェニックスバイオより生産されている重度免疫不全肝障害マウスにヒト肝細胞を移植したヒト肝キメラマウス (PXB マウス) は、マウス肝細胞の 80%以上がヒト肝細胞に置換されており、広範なヒト型の薬物代謝酵素及びトランスポーターを肝臓に発現していることが報告されている (Ohtsuki et al., 2014)。このため、PXB マウスは種差の問題を解決し、ヒト CL を予測する有用な動物モデルと考えられている (Sanoh et al., 2012)。また、single-species allometric scaling のアプローチによって、ヒト CL を高精度に予測した事例 (Miyamoto et al., 2017; Sanoh et al., 2015) に加え、肝臓の organic anion-transporting polypeptide (OATP) を介した輸送を受ける化合物や消失半減期の長い化合物への応用も可能であることが報告されている (Miyamoto et al., 2019; Sanoh et al., 2020)。しかしながら、ヒト肝細胞代謝試験において、顕著な代謝反応を示さない低 CL_{int} 化合物の予測精度はこれまで検証されていない。つまり、低 CL_{int} 化合物に IVIVE を適用できない深刻な問題に対して、PXB マウスを用いることで問題解決が可能であるかは実証されていない。

低 CL_{int} 化合物の創製は、製薬企業の最重要課題の一つであることから、*in vitro* 予測手法の改良は多く研究されている。肝細胞代謝試験において、酵素活性を維持可能なインキュベーション時間が短いことを課題と捉え、酵素活性を長時間維持し、遅い代謝反応を定量的に検出可能な H μ REL や Hepatopac 等の肝細胞共培養システムが開発されている (Chan

et al., 2019; Hultman et al., 2016)。これらの *in vitro* システムはシトクローム P450 (CYP) の代謝活性だけでなく非 CYP の代謝活性も約 1 週間維持することに成功しているが、より長期のインキュベーション時間が代謝酵素やトランスポーター活性に影響し、最終的に IVIVE の予測精度に対してどのように影響するかは検証されていない (Kratochwil et al., 2017)。一方で、PXB マウスにおいては、*in vitro* システム特有の時間依存的な活性低下は認められず、適切な採血時間を設定することで CL を容易に推定可能である。また、*in vitro* システムにおいては、培養器具や線維芽細胞への化合物の結合を考慮しなければ CL の予測値を過小評価する懸念が報告されているが、PXB マウスにおいては、そのような制限を考慮する必要はない (Chan et al., 2019)。したがって、PXB マウスを用いた予測手法は、*in vitro* システム特有のいくつかの課題を克服できる可能性があるため、本研究では、低 CL_{int} 化合物の予測手法における PXB マウスの有用性を検証した。また、ヒト肝細胞の代謝試験結果を retrospective に解析した研究報告によると、 CL_{int} が高い化合物の方が、*in vivo* CL_{int} を過小予測する傾向が報告されている (Hallifax et al., 2010)。さらに、肝細胞共培養システムの Hepatopac においても、類似の傾向が報告されている (Chan et al., 2019)。PXB マウスを用いた CL 予測において、同様の傾向が認められるのであれば、低 CL_{int} 化合物に PXB マウスのアプローチを適応することの妥当性が高まることから、 CL_{int} の高低が予測精度にどのように影響するかを検証することは重要である。

PXB マウスを用いた予測手法として、主に **single-species allometric scaling** が報告されているが、これは体重と指数を用いた経験的で単純な方程式であり、生理学的意義を持ち合わせていない。本研究では、生理学的薬物速度論 (Physiologically-based pharmacokinetics; PBPK) に基づき、血流速度や組織容積などの生理学的情報を用いて薬物の体内動態を数学的に記述し、より理論的にヒトに外挿 (種間スケールリング) する手法を検討した。つまり、PXB マウスの肝臓の大部分がヒト肝細胞に置換されているコンセプトに基づき、肝細胞あたりの CL_{int} がヒトと PXB マウスの間で同等であると仮定し、種間スケールリングを行った。この背景として、PXB マウスとヒトで種差が存在する肝血流速度や肝重量等の生理学的情報を組み入れることで (Espie et al., 2009)、**single-species allometric scaling** よりも正確な CL 予測を実現できる可能性を考えた。

ヒトの血漿中濃度推移を予測するためには、CL に加え、分布容積を正確に予測することが重要である。分布容積の予測手法として、動物の薬物動態データに基づく **allometric scaling** や、非結合型の分布容積あるいは組織成分における種間の同等性を仮定した種間スケールリングを行う手法が開発されている (Berry et al., 2011; Hosea et al., 2009; Obach et al., 1997)。しかしながら、これらの予測手法は、定常状態における分布容積の評価に焦点を当てており、多くの化合物が多相性の消失を示すことを考慮すると、ヒトの血漿中濃度推移を正確に予測する最適な手法とは言えない。そこで、生理学的モデリング&シミュレーション

ヨンのソフトウェアである *Simcyp simulator* (Certara) を用いて、ラット、イヌ及びサル
の薬物動態データからヒトの分布容積を予測する手法が報告されている (Shimizu et al.,
2019)。動物の PBPK モデルを構築後、得られた知見に基づき、*in silico* の物理化学的パラ
メーターである $\log P$ の調整及び組織・血漿間分配係数のアルゴリズムを選択し、これらの種
間スケーリングを行うことで多相性の消失を示す化合物のヒト血漿中濃度推移を正確に予
測可能である。しかしながら、これらの報告は高膜透過性の特徴を持つ化合物の検証結果で
あり、低膜透過性や双性イオン等のより広範な特徴を持つ化合物における予測精度は検証
されていない。

Simcyp simulator には、化合物の物理化学的パラメーターである $\log P$ 及び $f_{u,p}$ を用い
て、組織・血漿間分配係数を計算する 3 種類のアルゴリズム (Method 1, Method 2 及び
Method 3) が搭載されている。これまで、動物の PBPK モデルを構築して得られた知見か
ら、Method 1 あるいは Method 2 を選択し、種間スケーリングを行うアプローチの予測精
度は検証されているが、Method 3 の有用性は未検証である。また、このアプローチは、ラ
ット、イヌ及びサルの 3 動物種全てのデータを活用しているが、動物種毎における予測精
度は未検証である。そこで本研究では、組織分布を考慮したヒト血漿中濃度推移予測の精度
向上を目的に、広範な特徴を持つ検証化合物を用いて Method 3 の有用性や動物種毎におけ
る予測精度を評価し、*Simcyp simulator* を用いた新規予測手法の開発及び制限事項を探索
した。

第2章 低クリアランス化合物のクリアランス予測におけるヒト肝

キメラマウスの有用性評価

第1節 低クリアランス化合物の定義

ヒトに静脈内投与後の臨床データに基づいて総 CL (CL_t) が低い化合物、あるいはヒト肝細胞や肝細胞共培養システムにおいて *in vitro* CL_{int} が論文報告されている化合物の中から、比較的低い CL_{int} である市販化合物を選抜した。また、PXB マウスを用いた CL 予測として論文が複数報告されており、本研究において、その結果の再現性を確認するために論文で使用されたいくつかの化合物を選択した。さらに、 CL_{int} の高低が予測精度にどのように影響するかを検証するため、凍結ヒト肝細胞を用いた代謝試験の社内データに基づき、中程度の CL_{int} である化合物をいくつか選択した。一方で、論文報告値を含むこれらの *in vitro* システムの結果は、試験条件や肝細胞のロット等の影響を受け、試験間誤差が大きいと想定されることから、本研究においては、同一の条件下で代謝試験を行い、改めて CL_{int} の高低を検証することとした。本研究で選択した 16 の市販化合物の多くは、薬物代謝酵素の典型的基質であり、CYP あるいは非 CYP 等の複数の酵素によって代謝を受ける化合物や単一の酵素によって代謝を受ける化合物等、幅広い特徴の化合物を選択した。Simple allometric scaling による予測精度が低くなる一因として、広範な代謝が関与している可能性も報告されていることから (Huang and Riviere, 2014)、PXB マウスを用いた検証において、代謝に関与する酵素の数や種類について幅広く検討することは重要である。また、酸性化合物はアルブミンに結合しやすく、塩基性化合物は α 1-酸性糖蛋白に結合しやすいことから、幅広い物理化学的性質を持つ化合物を選択した。選択した化合物の大部分は肝臓で代謝されるため、本研究において、 CL_t は肝 CL と同等であると仮定した。

凍結ヒト肝細胞を用いた代謝試験を実施し、 CL_{int} の高低を検証した。最終濃度 0.1 あるいは 1 μ mol/L の被験物質を、0.125% ウシ血清アルブミン、15 mmol/L HEPES 及び 2 mmol/L GlutaMAX-1 を含む Williams E 培地に懸濁させたヒト肝細胞と 0.5×10^6 cells/mL の細胞濃度で 4 時間インキュベーションを行った。本試験では、顕著な代謝反応を示さない化合物 (<20% の減衰) を低 CL_{int} 化合物と定義した (Di et al., 2012)。一方で、顕著な代謝反応を示した化合物を中-高 CL_{int} 化合物と定義した。検討した 16 化合物中 9 化合物が低 CL_{int} 化合物に分類された (Table 1)。各化合物における 4 時間インキュベーション中の減衰を Figure 1 に示した。

Table 1. Determination of low-CL_{int} compounds based on human hepatocyte assays

Compounds	Ionization	Disposition	%remaining after a 4-h incubation	Category of compounds	Reasons for compound selection
Antipyrine	Neutral* ¹	CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18, CYP3A4	96	Low CL _{int} compounds	<ul style="list-style-type: none"> • Comparison with results reported in other literature*⁶ • Multiple enzyme involvement • Relatively low CL_{int} reported in <i>in vitro</i> study*^{9,10}
Dapsone	Neutral* ²	CYP2C9, CYP3A4, NAT	94		<ul style="list-style-type: none"> • Comparison with results reported in other literature*⁶ • Multiple enzyme involvement
Ranitidine	Base* ¹	FMO, CYP2C19, CYP1A2, CYP2D6	83		<ul style="list-style-type: none"> • Multiple enzyme involvement • Relatively low CL_{int} reported in <i>in vitro</i> study*^{9,10}
(S)-Naproxen	Acid* ³	CYP2C9, CYP1A2, UGT2B7	102		<ul style="list-style-type: none"> • Comparison with results reported in other literature*⁶ • Multiple enzyme involvement • Relatively low CL_{int} reported in <i>in vitro</i> study*^{9,10}
(S)-Warfarin	Acid* ¹	CYP2C9, CYP3A4	80		<ul style="list-style-type: none"> • Comparison with results reported in other literature*⁶ • Multiple enzyme involvement • Relatively low CL_{int} reported in <i>in vitro</i> study*^{7,8,9,10}
Tenoxicam	Acid* ³	CYP2C9	96		<ul style="list-style-type: none"> • Single enzyme involvement • Relatively low CL_{int} reported in <i>in vitro</i> study*¹⁰
Theophylline	Neutral* ¹	CYP1A2	96		<ul style="list-style-type: none"> • Single enzyme involvement • Relatively low CL_{int} reported in <i>in vitro</i> study*^{7,9,10}
Timolol	Base* ¹	CYP2D6	85		<ul style="list-style-type: none"> • Single enzyme involvement • Relatively low CL_{int} reported in <i>in vitro</i> study*^{9,10}
Tolbutamide	Acid* ¹	CYP2C9	89		<ul style="list-style-type: none"> • Single enzyme involvement • Relatively low CL_{int} reported in <i>in vitro</i> study*^{7,9,10}
Bosentan* ¹	Acid	CYP2C9, CYP3A4, OATP	69		<ul style="list-style-type: none"> • Multiple enzyme involvement
Carbazeran	Base* ⁴	AO	0	Moderate- to high- CL _{int} compounds	<ul style="list-style-type: none"> • Comparison with results reported in other literature*⁶ • Single enzyme involvement • High human CL_t
Diazepam	Neutral* ¹	CYP3A, CYP2C19	62		<ul style="list-style-type: none"> • Comparison with results reported in other literature*⁶ • Multiple enzyme involvement • Relatively low CL_{int} reported in <i>in vitro</i> study*^{7,8,9,10}
Disopyramide	Base* ¹	CYP3A4	71		<ul style="list-style-type: none"> • Single enzyme involvement • Relatively low CL_{int} reported in <i>in vitro</i> study*^{8,9}
Doxazosin	Base* ¹	CYP3A, CYP2D6, CYP2C19	11		<ul style="list-style-type: none"> • Multiple enzyme involvement • Relatively moderate CL_{int} based on in-house data
Reboxetine	Base* ¹	CYP3A4	35		<ul style="list-style-type: none"> • Single enzyme involvement • Relatively moderate CL_{int} based on in-house data
UCN-01	Base* ⁵	— ^a	4		<ul style="list-style-type: none"> • Comparison with results reported in other literature*⁶ • Extremely low human CL_t

^aNot available in the literature.

OATP, organic anion-transporting polypeptide; AO, aldehyde oxidase; NAT, N-acetyltransferase; FMO, flavin-containing monooxygenase; UGT, UDP-glucuronosyltransferase.

*¹: (Varma et al., 2015)

*²: (Scotcher et al., 2016)

*³: (Ermondi et al., 2004)

*⁴: (De Sousa Mendes et al., 2020)

*5: ACD/Percepta14.1.0

*6: (Miyamoto et al., 2017; Miyamoto et al., 2020)

*7: (Chan et al., 2019)

*8: (Hultman et al., 2016)

*9: (Di et al., 2012; Di et al., 2013)

*10: (Hallifax et al., 2010)

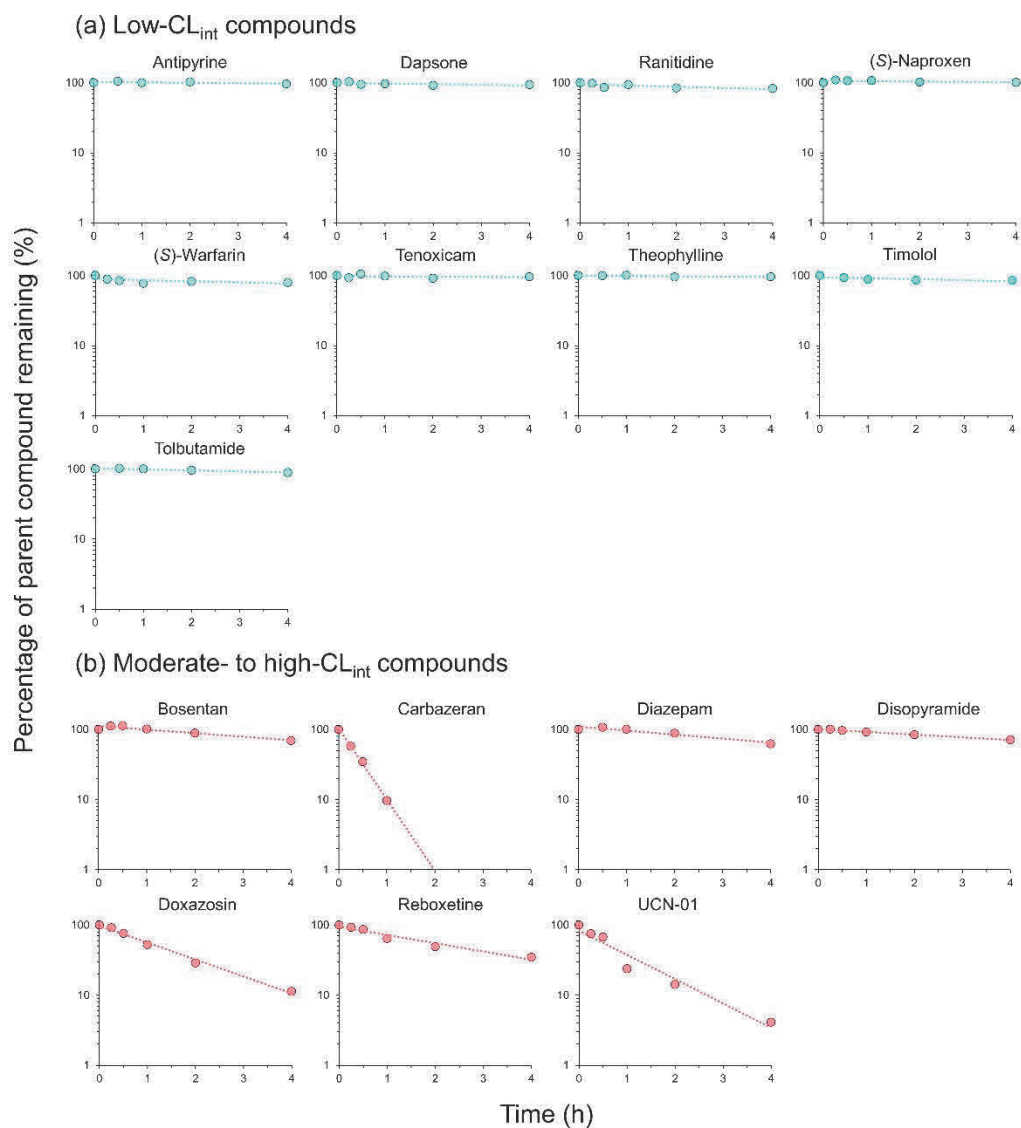


Figure 1. Plots of the percentage of the parent compound remaining over 4 h of incubation in the human hepatocyte assay. Panels (a) and (b) present the results for low intrinsic clearance (CL_{int}) compounds with no significant turnover (<20%) and moderate- to high- CL_{int} compounds, respectively.

第2節 クリアランス予測のためのデータ収集

CL 予測に必要な *in vitro* データ及び *in vivo* データを収集し、Table 2 に要約した。ヒト、PXB マウス、ラット、サル及びイヌにおける静脈内投与後の CL_t に加え、ヒト及びラットにおける血漿中非結合型分率 ($f_{u,p}$) は実験あるいは論文報告値を使用した。引用論文の詳細は、補足資料に記載した。ヒト肝細胞代謝試験における化合物の代謝速度を肝細胞及び培地中の非結合型分率で補正して、肝細胞あたりの *in vitro* $CL_{int, human}$ を算出した。また、Rapid Equilibrium Dialysis Device (Thermo Fisher Scientific) を用いた平衡透析法により、ヒト及びラットにおける $f_{u,p}$ を測定し、平均値 (N=3) を解析に用いた。PXB マウス、ラット及びサルに 0.1 mg/kg の投与量で静脈内にカクテル投与後の血漿試料を採取し、血漿中濃度を測定した。得られた血漿中濃度推移は、Phoenix WinNonlin version 6.3 (Certara) を用いたノンコンパートメント解析により CL_t を算出し、平均値 (N=3) を解析に用いた。

Table 2. Summary of *in vitro* and *in vivo* parameters to predict human CL_t for all compounds

Compounds	<i>In vitro</i> parameters				<i>In vivo</i> parameters			
	CL _{int} per hepatocyte (μL/min/1 × 10 ⁶ cells)	R _b ^a	f _{u,p}		CL _t (mL/min/kg)			
	Humans	Humans	Humans	Rats	PXB-mice	Rats	Monkeys	Dogs
Antipyrine	ND	1	0.990	0.690	4.60	7.86	11.5	7.22
Bosentan	12.3	0.48	0.023	0.012	8.78	16.40	20.6	1.72
Carbazeran	96.9	1	0.148	0.169	99.67	42.22	87.87	11.5
Dapsone	ND	1.04	0.381	0.280	4.40	6.87	5.08	1.21
Diazepam	3.9	0.71	0.036	0.171	42.147	61.51	17.90	46.71
Disopyramide	3.2	1.2	0.161	0.610	28.86	179.46	19	29
Doxazosin	41.5	1	0.066	0.050	34.245	30.00	15.47	11.21
Ranitidine	ND	1	1.000	0.900	131.02	99.88	40.23	10.4
Reboxetine	13.9	1	0.041	0.253	17.658	61.51	14.94	22.39
(<i>S</i>)-Naproxen	ND	0.55	0.007	0.008	0.556	0.41	0.83	0.04
(<i>S</i>)-Warfarin	ND	0.55	0.013	0.005	0.484	0.21	0.102	1.49
Tenoxicam	ND	0.67	0.015	0.030	0.2878	0.49	0.061	0.104
Theophylline	ND	0.85	0.580	0.400	4.70	1.91	1.08	1.73
Timolol	ND	0.84	0.715	0.760	130.05	137.02	13.6	– ^b
Tolbutamide	ND	0.55	0.039	0.049	0.58	0.39	0.0456	0.142
UCN-01	83.5	1	0.003	0.0175	0.0369	77.37	3.36	10.27

^aR_b was assumed to be 1 for carbazeran, doxazosin, ranitidine, reboxetine, and UCN-01 because of a lack of data in the literature.

^bNot available in the literature.

CL_{int}, intrinsic clearance; R_b, blood-to-plasma concentration ratio; f_{u,p}, fraction unbound in plasma; CL_t, total clearance; PXB-mice, chimeric mice with humanized livers; ND, not determined because of the absence of significant turnover (<20%) during a 4-h incubation in the human hepatocyte assay; OATP, organic anion-transporting polypeptide; AO, aldehyde oxidase; NAT, N-acetyltransferase; FMO, flavin-containing monooxygenase; UGT, UDP-glucuronosyltransferase.

第3節 ヒトクリアランス予測

第1項 *In vitro in vivo extrapolation* (IVIVE)

凍結ヒト肝細胞を用いた代謝試験で得られた肝細胞あたりの *in vitro* $CL_{int, human}$ を、式 (1) に従い、肝重量 (LW)、体重 (BW) 及び肝細胞濃度等の生理学的パラメーター (Table 3) を用いて Scaled $CL_{int, human}$ に変換した (Hosea et al., 2009)。 $CL_{t, human}$ を、式 (2) に従い、肝血流速度 (Q_h) 及び論文から得られたヒト血液/血漿中濃度比 (R_b) に基づき算出した血液中非結合型分率 ($f_{u, b}$) を用いて、算出した。

$$\text{Scaled } CL_{int}(\text{mL}/\text{min}/\text{kg}) = CL_{int} \text{ per hepatocyte } (\text{mL}/\text{min}/1 \times 10^6 \text{ cells}) \times \\ LW (\text{g})/BW (\text{kg}) \times \text{hepatocellularity } (1 \times 10^6 \text{ cells}/\text{g liver}) \quad (1)$$

$$CL_h = Q_h \left[1 - \frac{4a}{(1+a)^2 \exp\left[\frac{a-1}{2Dn}\right] - (1-a)^2 \exp\left[-\frac{a+1}{2Dn}\right]} \right] \quad (2)$$

$$\text{In Eq. 2, } Dn = 0.17, \text{ and } \text{Scaled } CL_{int} = \frac{Q_h(a^2-1)}{4Dn \times f_{u,b}}. \text{ (Roberts and Rowland, 1986)}$$

Table 3. Scaling factors for the IVIVE and physiologically-based scaling using PxB-mice

Species	Q_h (mL/min/kg)	Liver weight (g)	Body weight (kg)	Hepatocellularity (1×10^6 cells/g liver)
Humans	20	1470	70	120
PxB-mice	91.3	1.977	0.02	168

IVIVE, *in vitro*–*in vivo* extrapolation; PxB-mice, chimeric mice with humanized livers; Q_h , hepatic blood flow.

第2項 複数動物種を用いた allometric scaling

Rule of exponent (ROE) 及び f_u corrected intercept method (FCIM) によって、 $CL_{t, human}$ を予測した (Mahmood and Balian, 1996; Tang and Mayersohn, 2005)。ROE に従い、ラット、サル及びイヌの CL_t を体重に対して Simple allometry (SA、式 (3)) に基づき、対数スケール上にプロットした。得られた指数値に基づき、アロメトリー式(式 (3)、式 (4)、式 (5)) によって $CL_{t, human}$ を予測した。これらの方程式において、 a 、 b 及び c はアロメトリー式の係数であり、 x 、 y 及び z は指数とした。MLP は、各動物の BrW 及び BW を用いて、式 (6) に従い算出した。FCIM による $CL_{t, human}$ 予測は、式 (7) に従い算出した。本式における a は、体重に対する CL_t の対数プロットから得られた切片である。また $Rf_{u,p}$ は、ラット及びヒトの $f_{u,p}$ 比である。

$$CL_t = a(BW)^x \quad (3)$$

$$CL_t = \frac{b(MLP \times CL_t)^y}{8.18 \times 10^5} \quad (4)$$

$$CL_t = \frac{c(BrW \times CL_t)^z}{1.53} \quad (5)$$

$$MLP \text{ (years)} = 185.4 BrW^{0.636} BW^{-0.225} \quad (6)$$

$$CL_t = 33.35 \times \left(\frac{a}{Rf_{u,p}} \right)^{0.77} \quad (7)$$

第3項 PXB マウスを用いた single-species allometric scaling

Single-species allometric scaling (PXB-SSS) によって、式 (8) に従い、 $CL_{t, human}$ を予測した (Miyamoto et al., 2017; Sanoh et al., 2015)。ヒト及び PXB マウスの体重 (BW) は、それぞれ 70 kg 及び 0.02 kg と設定した。

$$CL_{t, human} = CL_{t, PXB} \times (BW_{human} / BW_{PXB})^{0.75} \quad (8)$$

第4項 PXB マウスを用いた physiologically-based scaling

Physiologically-based scaling (PXB-PBS) によって、いくつかのステップに従い、 $CL_{t, human}$ を予測した (Figure 2)。また、Table 3 に示した Q_h 及び $f_{u,b}$ 等の生理学的パラメーターを用いて、dispersion model (式 (2)) により、 $CL_{t, PXB}$ から scaled $CL_{int, PXB}$ を算出し、肝細胞あたりの *in vivo* $CL_{int, PXB}$ を算出した。PXB マウスの肝臓の大部分がヒト肝細胞に置換されているコンセプトに基づき、肝細胞あたりの CL_{int} はヒトと PXB マウス間で同等であると仮定し (式 (9))、種間スケーリングを行った。また、 $f_{u,p}$ 、 R_b 及び Q_h についても同様の仮定を適用した (Luttringer et al., 2003; Sanoh et al., 2012)。さらに、Table 3 に示した生理学的パラメーターを用いて、dispersion model (式 (2)) により、 $CL_{t, human}$ を推定した。なお、 $CL_{t, PXB}$ が Q_h を超える化合物においては、 CL_t を Q_h の 90% とした (Sanoh et al., 2012)。

$$CL_{int, PXB} \text{ per hepatocyte (mL/min/} 1 \times 10^6 \text{ cells)} = CL_{int, human} \text{ per hepatocyte (mL/min/} 1 \times 10^6 \text{ cells)} \quad (9)$$

PXB-PBS

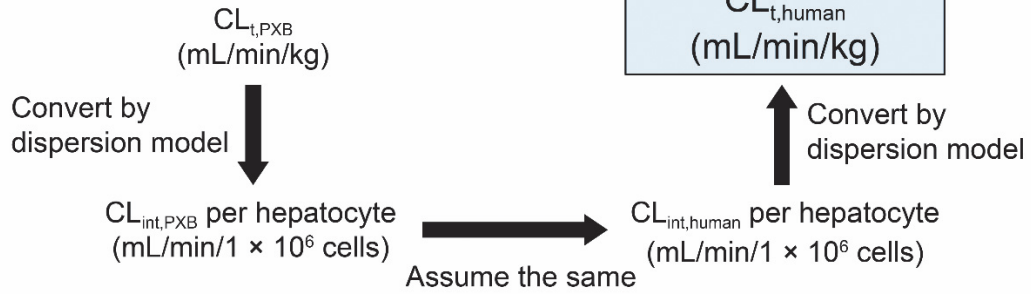


Figure 2. Outline of the physiologically-based scaling using CL_t in PXB-mice

第4節 予測精度の評価

IVIVE、PXB-SSS、PXB-PBS、ROE 及び FCIM の各アプローチで予測された $CL_{t, human}$ を実測値と比較した (Figure 3)。また、予測値と実測値の誤差として、fold error を算出した (Table 4)。PXB-SSS の論文 (Miyamoto et al., 2017; Miyamoto et al., 2020) の結果と比較するため、報告されている $CL_{t, human}$ 予測値を Figure 3 にプロットし、Table 4 にその数値を記載した。低 CL_{int} 化合物、中-高 CL_{int} 化合物及び全化合物の各分類において、実測値の 2 倍あるいは 3 倍以内の精度で予測された割合に加え、式 (10) に従い、absolute average fold error (AAFE) を算出した (Table 5)。得られたデータに基づき、各方法間での予測精度を比較した。なお、低 CL_{int} 化合物においては、PXB-SSS、PXB-PBS、ROE 及び FCIM のアプローチで予測したが、中-高 CL_{int} 化合物においては、IVIVE を含む全ての方法で予測した。

$$AAFE = 10^{\frac{\sum |\log(\frac{\text{Observed}}{\text{Predicted}})|}{n}} \quad (10)$$

Antipyrine、Dapsone、(S)-Naproxen、(S)-Warfarin、Carbazeran、Diazepam 及び UCN-01 における本研究で得られた PXB-SSS の $CL_{t, human}$ 予測値は、それぞれ 0.59, 0.60, 0.072, 0.062, 12.8, 5.68 及び 0.005 mL/min/kg であり、論文報告値は、それぞれ 0.71, 0.45, 0.08, 0.051, 23.16, 7.93 及び 0.003 mL/min/kg であったことから、いずれの化合物においても 2 倍以内の誤差であることが確認された。つまり、論文報告値に再現性があることが確認された。本研究で用いた PXB マウスのヒト肝細胞置換率は 89%~91% であり、引用した論文のヒト肝細胞置換率は 85%~95% であることから、少なくとも 85% 以上のヒト肝細胞置換率を持つ PXB マウスを用いることで再現性良く結果が得られることが示された。

また、上記の Antipyrine、Dapsone、(S)-Naproxen 及び (S)-Warfarin に加え、Ranitidine、Tenoxicam、Theophylline、Timolol、Tolbutamide を含む低 CL_{int} 化合物において、実測値の 2 倍以内の精度で予測される割合は、PXB-SSS 及び PXB-PBS のいずれの方法についても Tolbutamide を除く 89% であり、AAFE はそれぞれ 1.51 及び 1.46 であった。また実測値の 3 倍以内の精度で予測される割合は、いずれの方法でも 100% であった。一方で、ROE においては、Antipyrine、(S)-Warfarin 及び Tolbutamide で実測値と予測値に 3 倍以上の乖離が認められ、FCIM においては、Antipyrine、Dapsone 及び (S)-Warfarin で実測値と予測値に 3 倍以上の乖離が認められた。また、ROE 及び FCIM の AAFE は、それぞれ 2.58 及び 2.50 と高値を示した。上記の Carbazeran、Diazepam 及び UCN-01 に加え、Disopyramide、Bosentan、Doxazosin 及び Reboxetine を含む中-高 CL_{int} 化合物において、実測値の 3 倍以内の精度で予測される割合は、PXB-SSS で Disopyramide 及び Diazepam

を除く 71%、PXB-PBS で Disopyramide、Diazepam、Doxazosin 及び Reboxetine を除く 43%、IVIVE で Bosentan、Doxazosin 及び UCN-01 を除く 57%、ROE で Carbazeran、Disopyramide、Diazepam、Reboxetine 及び UCN-01 を除く 29%、FCIM で Carbazeran、Disopyramide、Diazepam、Doxazosin 及び UCN-01 を除く 29%であった。また、PXB-SSS、PXB-PBS、IVIVE、ROE 及び FCIM の AAFE は、それぞれ 3.23、3.50、4.07、10.84 及び 7.52 であった。つまり、PXB-SSS 及び PXB-PBS のアプローチは従来の ROE 及び FCIM と比較して予測精度は高いが、IVIVE と同程度の精度であることが示唆された。

低 CL_{int} 化合物及び中-高 CL_{int} 化合物の予測精度を比較すると、いずれの手法においても AAFE に差が認められたことから、 CL_{int} の高低は CL の予測精度に影響することが示唆された。特に低 CL_{int} 化合物において、PXB-SSS 及び PXB-PBS の予測精度が高いことが明らかとなった。また、低 CL_{int} 化合物においては、実測値の 3 倍以内の精度で予測される割合がいずれの方法でも 100%であったことから、複数の酵素によって代謝を受ける Antipyrine、Dapsone、Ranitidine、(S)-Naproxen 及び(S)-Warfarin を含む化合物群と単一の酵素によって代謝を受ける Tenoxicam、Theophylline、Timolol 及び Tolbutamide を含む化合物群の予測精度に顕著な差は認められなかった。

全ての化合物において、実測値の 3 倍以内の精度で予測される割合及び AAFE は、それぞれ PXB-SSS で 88%及び 2.11、PXB-PBS で 75%及び 2.14、ROE で 47%及び 5.04、FCIM で 47%及び 4.18 であり、PXB マウスを用いたアプローチが最も予測精度が高いことを示した。つまり、PXB-PBS は、*in vivo* における肝細胞あたりの CL_{int} 、 $f_{u,p}$ 及び R_b がヒトと PXB マウス間で同等であることに加え、 Q_h は正常マウスと PXB マウス間で同等であるといういくつかの仮定があるにも関わらず、高い予測精度を示した。また、PXB-SSS 及び PXB-PBS を用いて予測した $CL_{t, human}$ は、Table 4 及び Figure 4 に示す通り、化合物の分類に関係なく、ほぼ一致した。

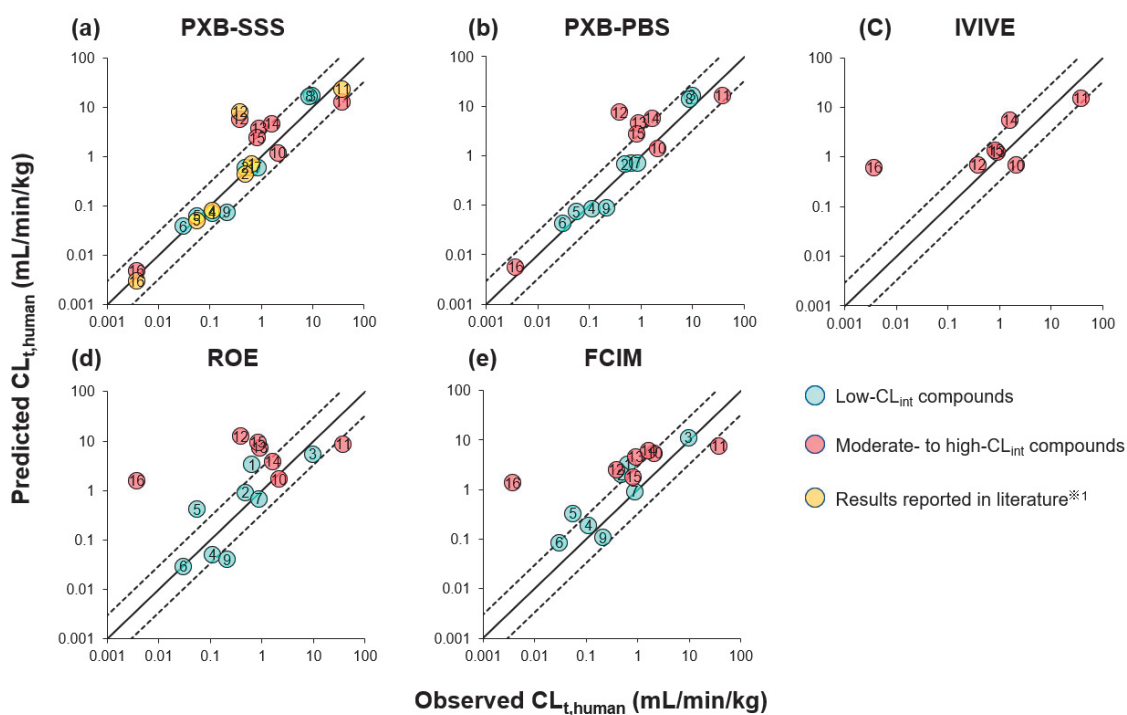


Figure 3. Relationships between observed and predicted total human clearance ($CL_{t, human}$) for low intrinsic clearance (CL_{int}) compounds and moderate- to high- CL_{int} compounds. Panels (a), (b), (c), (d), and (e) presents the results of single-species allometric scaling from chimeric mice with humanized livers (PXB-mice), a physiologically-based scaling using PXB-mice, *in vitro-in vivo* extrapolation, rule of exponent, and the fu corrected intercept method, respectively. Solid and dotted lines represent the unity and 3-fold error, respectively. The compound numbers are as follows: 1, Antipyrine; 2, Dapsone; 3, Ranitidine; 4, (*S*)-Naproxen; 5, (*S*)-Warfarin; 6, Tenoxicam; 7, Theophylline; 8, Timolol; 9, Tolbutamide; 10, Bosentan; 11, Carbazeran; 12, Diazepam; 13, Disopyramide; 14, Doxazosin; 15, Reboxetine; 16, UCN-01.

*1: (Miyamoto et al., 2017; Miyamoto et al., 2020)

Table 4. Comparisons of observed and predicted $CL_{t, human}$ for all compounds

Category of compounds	Compounds	Observed $CL_{t, human}$ (mL/min/kg)	Predicted $CL_{t, human}$ (mL/min/kg)						Fold error (predicted/observed)				
			PXB-SSS	PXB-PBS	IVIVE	ROE	FCIM	Literature ^{*1}	PXB-SSS	PXB-PBS	IVIVE	ROE	FCIM
Low- CL_{int} compounds	Antipyrine	0.64	0.59	0.71	ND	3.32	3.31	0.71	0.92	1.10	ND	5.19	5.17
	Dapsone	0.48	0.60	0.67	ND	0.91	2.01	0.45	1.24	1.40	ND	1.90	4.19
	Ranitidine	9.6	16.9	16.4	ND	5.4	11.1	NA	1.76	1.70	ND	0.56	1.16
	(S)-Naproxen	0.11	0.072	0.085	ND	0.051	0.189	0.08	0.65	0.77	ND	0.46	1.71
	(S)-Warfarin	0.055	0.062	0.074	ND	0.417	0.330	0.051	1.13	1.34	ND	7.58	5.99
	Tenoxicam	0.03	0.039	0.044	ND	0.029	0.085	NA	1.29	1.46	ND	0.98	2.83
	Theophylline	0.86	0.60	0.72	ND	0.68	0.91	NA	0.70	0.84	ND	0.79	1.06
	Timolol	8.5	16.8	13.7	ND	NC	NC	NA	1.98	1.62	ND	NC	NC
Tolbutamide	0.21	0.074	0.088	ND	0.040	0.107	NA	0.35	0.42	ND	0.19	0.51	
Moderate- to high- CL_{int} compounds	Bosentan	2.1	1.18	1.39	0.68	1.68	5.37	NA	0.56	0.66	0.32	0.80	2.56
	Carbazeran	37.6	12.8	16.4	15.5	8.6	7.6	23.16	0.34	0.44	0.41	0.23	0.20
	Diazepam	0.38	5.68	7.52	0.69	12.46	2.53	7.93	14.94	19.80	1.82	32.79	6.67
	Disopyramide	0.9	3.72	4.63	1.24	7.36	4.56	NA	4.14	5.15	1.38	8.17	5.06
	Doxazosin	1.6	4.61	5.65	5.62	3.93	6.20	NA	2.88	3.53	3.51	2.46	3.88
	Reboxetine	0.82	2.39	2.79	1.37	9.52	1.82	NA	2.91	3.40	1.67	11.61	2.22
	UCN-01	0.0037	0.0050	0.0056	0.6186	1.5640	1.3765	0.003	1.35	1.52	167.20	422.70	372.03

CL_{int} , intrinsic clearance; $CL_{t, human}$, total human clearance; PXB-SSS, single-species allometric scaling using chimeric mice with humanized livers; PXB-PBS, physiologically-based scaling using chimeric mice with humanized livers; IVIVE, *in vitro*-*in vivo* extrapolation; ROE, rule of exponents; FCIM, f_u corrected intercept method; NA, not available; ND, not determined because of the absence of significant turnover (<20%) during a 4-h incubation in the human hepatocyte assay; NC, not calculated because of a lack of data.

*1: (Miyamoto et al., 2017; Miyamoto et al., 2020)

Table 5. Comparative evaluation of various prediction methods

	PXB-SSS	PXB-PBS	IVIVE	ROE	FCIM
Low-CL _{int} compounds					
Number of compounds	9	9	ND	8	8
Within 2-fold error (%)	89	89	ND	50	50
Within 3-fold error (%)	100	100	ND	63	63
AAFE	1.51	1.46	ND	2.58	2.50
Moderate- to high-CL _{int} compounds					
Number of compounds	7	7	7	7	7
Within 2-fold error (%)	29	29	43	14	0
Within 3-fold error (%)	71	43	57	29	29
AAFE	3.23	3.50	4.07	10.84	7.52
All compounds					
Number of compounds	16	16	7	15	15
Within 2-fold error (%)	63	63	43	33	27
Within 3-fold error (%)	88	75	57	47	47
AAFE	2.11	2.14	4.07	5.04	4.18

CL_{int}, intrinsic clearance; PXB-SSS, single-species allometric scaling using chimeric mice with humanized livers; PXB-PBS, physiologically-based scaling using chimeric mice with humanized livers; IVIVE, *in vitro*-*in vivo* extrapolation; ROE, rule of exponents; FCIM, f_u corrected intercept method; ND, not determined because of the absence of significant turnover (<20%) during a 4-h incubation in the human hepatocyte assay; AAFE, absolute average fold error.

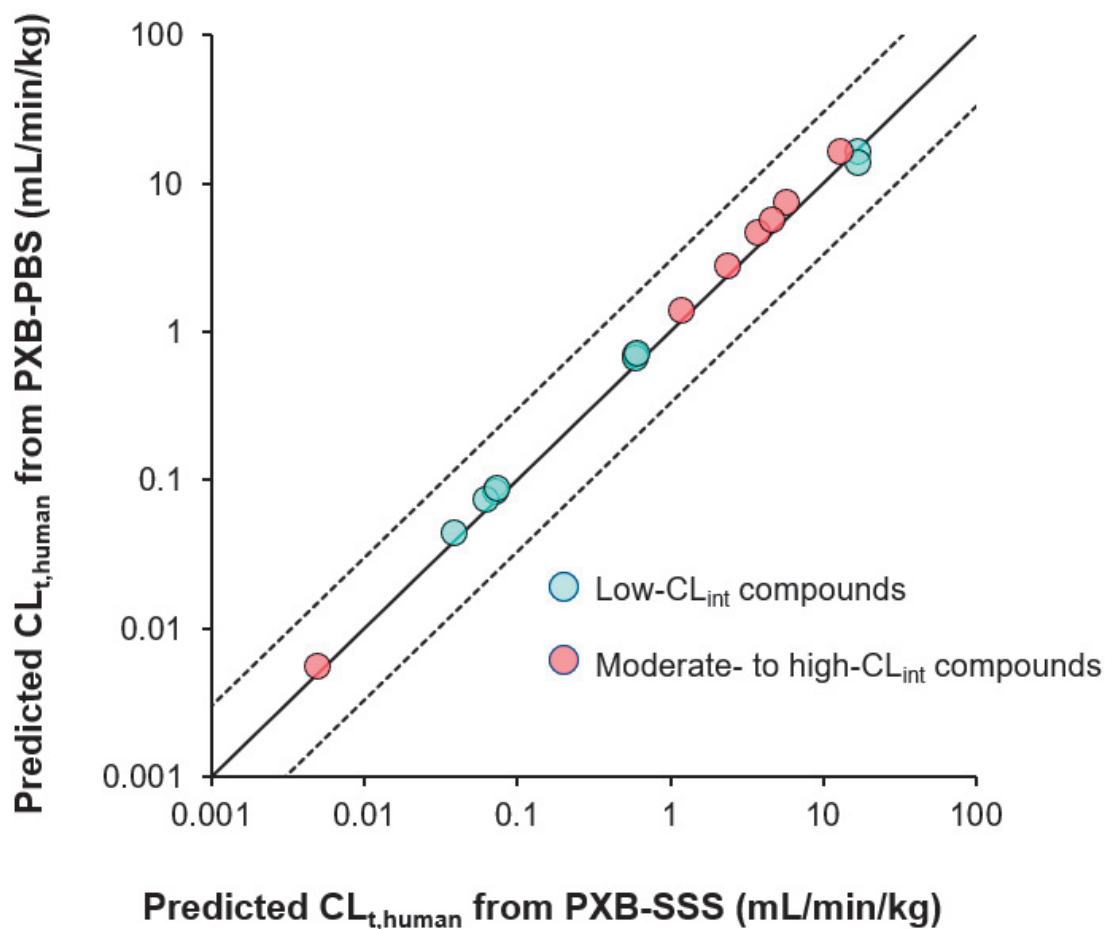


Figure 4. Relationships between predicted total human clearance ($CL_{t, human}$) for each PXB-mouse method for low intrinsic clearance (CL_{int}) compounds and moderate- to high- CL_{int} compounds. PXB-SSS is a clearance prediction method based on single-species allometric scaling using PXB-mice, and PXB-PBS is a clearance prediction method based on a physiologically-based scaling using PXB-mice. Solid and dotted lines represent the unity and 3-fold error, respectively. PXB-mice, chimeric mice with humanized livers.

第5節 感度分析による重要パラメーターの探索

PXB-PBS の生理学的理解を深め、 $CL_{t, human}$ の予測値に重要なパラメーターを探索するため、 $f_{u,p}$ 、 R_b 及び Q_h の感度分析を実施した。低 CL_{int} 化合物の代表として (*S*)-Naproxen、中・高 CL_{int} 化合物の代表として Diazepam の各データセットを用いて、 $f_{u,p}$ 、 R_b 及び Q_h が $CL_{t, human}$ の予測値にどのように影響しているかを検討した (Figure 5)。各パラメーターを変化させて得られた $CL_{t, human}$ を simulated $CL_{t, human}$ と定義し、 $CL_{t, human}$ の予測値が増加した場合は式 (11) に従い、 $CL_{t, human}$ の予測値が減少した場合は式 (12) に従い、 $CL_{t, human}$ の予測値からの変化量を評価した (Tang and Mayersohn, 2006)。これらの式は、パラメーターを変化させて得られた $CL_{t, human}$ の変化量を正と負の値で同一の尺度で表現し、また $CL_{t, human}$ の実測値に関わらず、化合物間で同一の尺度で評価するために用いた。ヒト及び PXB マウスの $f_{u,p}$ は、ヒトの実測値の 3 倍、ヒト及び PXB マウスの R_b は 0.5~2、PXB マウスの Q_h は 90~180 mL/min/kg、ヒトの Q_h は 18~23 mL/min/kg の範囲で、生理学的パラメーターとして頻用される論文報告値に基づいて感度分析を実施した。PXB マウスよりヒトの $f_{u,p}$ が大きい場合、予測 $CL_{t, human}$ は増加したが、逆の場合に予測 $CL_{t, human}$ は減少した。この変化の程度は Diazepam よりも (*S*)-Naproxen で大きかった。一方、ヒトと PXB-マウスの $f_{u,p}$ に顕著な差がない場合、どちらの化合物においても、予測される $CL_{t, human}$ は $f_{u,p}$ の値に関わらず一定であった。 R_b 及び Q_h は、検討されたパラメーターの範囲において、 $CL_{t, human}$ に影響しなかった。

$$\text{Percent change (\%)} = \frac{\text{Simulated } CL_{t, human} - \text{Predicted } CL_{t, human}}{\text{Predicted } CL_{t, human}} \times 100 \quad (11)$$

$$\text{Percent change (\%)} = \frac{\text{Simulated } CL_{t, human} - \text{Predicted } CL_{t, human}}{\text{Simulated } CL_{t, human}} \times 100 \quad (12)$$

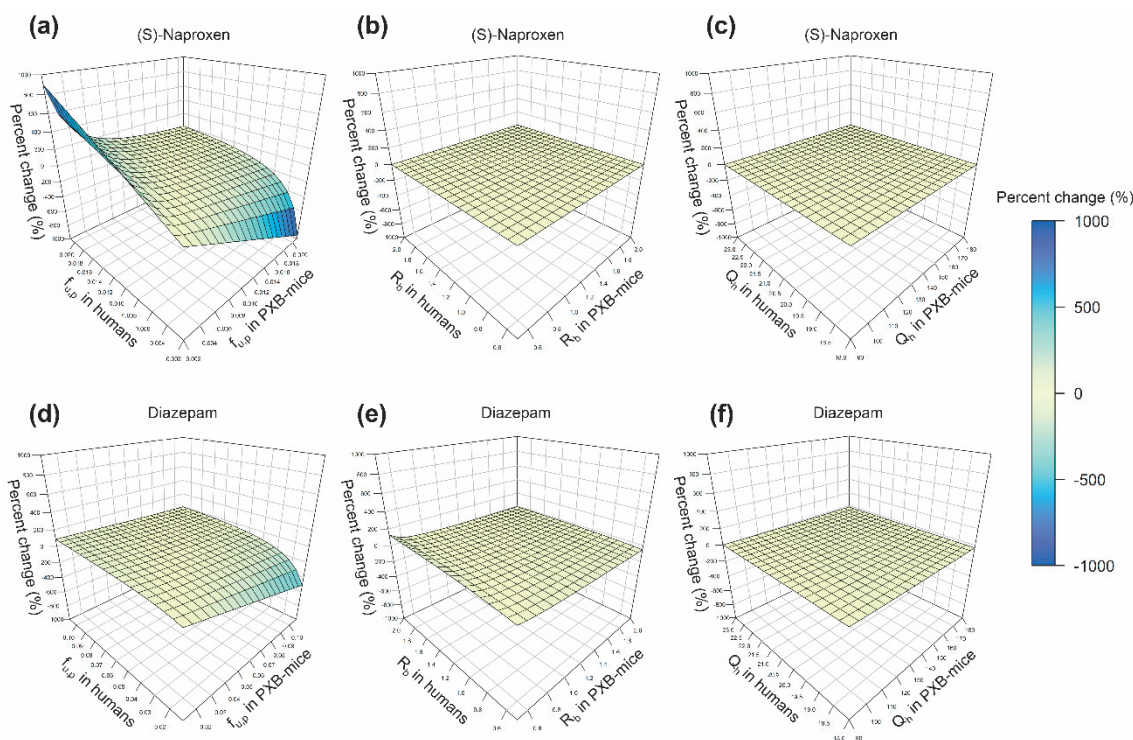


Figure 5. Sensitivity analysis of total human clearance ($CL_{t, \text{human}}$) predicted using the PXB-PBS approach. The impact of fraction unbound in plasma ($f_{u,p}$), blood-to-plasma concentration ratio (R_b), and hepatic blood flow (Q_h) on predicted $CL_{t, \text{human}}$ value was examined using a dataset of (*S*)-naproxen as a representative of low intrinsic clearance (CL_{int}) compounds and diazepam as a representative of moderate- to high- CL_{int} compounds. Sensitivity analysis was conducted for each $f_{u,p}$ value in humans and PXB-mice within a 3-fold range of human $f_{u,p}$, for each R_b value in humans and PXB-mice within a 0.5–2 range, and for each Q_h value within the ranges of 90–180 mL/min/kg in PXB-mice and 18–23 mL/min/kg in humans. The simulated $CL_{t, \text{human}}$ was defined as the clearance generated by changing each parameter, and the impact of these parameters on predicted $CL_{t, \text{human}}$ was evaluated as the percent change (%) calculated according to the following equations: $((\text{simulated } CL_{t, \text{human}} - \text{predicted } CL_{t, \text{human}}) / \text{predicted } CL_{t, \text{human}}) \times 100\%$ for an increase in predicted $CL_{t, \text{human}}$ and $((\text{simulated } CL_{t, \text{human}} - \text{predicted } CL_{t, \text{human}}) / \text{simulated } CL_{t, \text{human}}) \times 100\%$ for a decrease in predicted $CL_{t, \text{human}}$. Panels (a), (b), and (c) present the results obtained using $f_{u,p}$, R_b , and Q_h for (*S*)-naproxen as variables, respectively. Panels (d), (e), and (f) present the results obtained using $f_{u,p}$, R_b , and Q_h for diazepam as variables, respectively. PXB-mice, chimeric mice with humanized livers; PXB-PBS, physiologically-based scaling using PXB-mice.

第6節 小括

複数動物種を用いた *allometric scaling* に基づく ROE や FCIM と比較して、PXB マウスを用いたアプローチは、全体として高い予測精度を示した。また、 CL_{int} の高低が CL の予測精度にどのように影響するかを検証した結果、中-高 CL_{int} 化合物と比較して、低 CL_{int} 化合物において非常に高い予測精度を示すことが明らかとなった。このことから、PXB マウスは、低 CL_{int} 化合物の予測に特に有用であることが示された。創薬ポートフォリオにおいて、低 CL_{int} 化合物が増加している昨今、IVIVE が低 CL_{int} 化合物に適用できないことは創薬における深刻な問題であったが、本研究において、PXB マウスを用いることによりその問題解決が可能であることを示した。

PXB マウスを用いたアプローチが、低 CL_{int} 化合物において高い予測精度を示す一方で、中-高 CL_{int} 化合物である Diazepam、Disopyramide、Doxazosin、Reboxetine においては、2 倍以上の過大予測が認められた。つまり、化合物の CL_{int} が高いほど、過大予測が起きる可能性が高い傾向にあった。特に Diazepam の過大予測はいくつかの論文で報告されており、本研究においても高い AAFE に寄与することが再現された (Miyamoto et al., 2017; Sanoh et al., 2015)。これらの報告は、PXB マウスの肝臓に残存するマウス肝細胞由来の代謝活性が過大予測に寄与している可能性を示唆しているが、明確には解明されていない。本研究で、代謝に関与する酵素の種類や数については、予測精度に顕著に影響しなかったことを踏まえると、過大予測を起こす因子としては、肝代謝以外の経路が関与している可能性が高まったと考えられる。マウス腎臓に発現したフラビン含有モノオキシゲナーゼ (FMO) が Benzydamine における $CL_{t, human}$ の過大予測を引き起こした事例のように、肝代謝以外の種差が予測精度の低さをもたらす可能性も提唱されている (Sawada et al., 2020)。中-高 CL_{int} 化合物において、肝臓以外の代謝が CL_t に寄与する傾向があるのであれば、*in vitro* CL_{int} が高い化合物の方が、*in vivo* CL_{int} を過小予測する報告 (Hallifax et al., 2010) とも整合する。本研究においても、このような肝代謝以外の種差が、中-高 CL_{int} 化合物における予測精度の低下に寄与した可能性があるため、今後、さらなる検討が必要である。

ヒト肝細胞を用いた IVIVE は、Diazepam の $CL_{t, human}$ を高精度に予測することが示されたことから、化合物プロファイルに応じて、PXB マウスを用いたアプローチあるいは IVIVE を戦略的に選択することは効果的と考えられる。IVIVE では、少なくとも 2 種の非臨床動物種で *in vitro-in vivo* 相関を確認することにより、予測の正確性を高める戦略が提案されている (Wilby et al., 2011)。しかしながら、現時点で PXB マウスを用いたアプローチの適応可否を事前に認識する明確な方法はない。今後、過大予測に関連する因子やそれらの因子に影響を受ける化合物の特性を明確にすることで、適切な予測戦略を考案するか、あるいは、

全ての化合物に対して高い予測精度を示す手法を開発することが重要である。

PXB-PBS で予測した $CL_{t, human}$ は、化合物の分類に関係なく、PXB-SSS による予測値とほぼ一致した。PXB-SSS は体重比と指数を用いた単純なアロメトリー式であることから、この指数は、肝細胞あたりの CL_{int} 、 $f_{u,p}$ 及び R_b が PXB マウスとヒトで同等という関係性を表現していると考えられた。また、PXB-SSS の高い予測精度は、肝細胞あたりの CL_{int} 、 $f_{u,p}$ 及び R_b の同等性に起因している可能性が示唆された。さらに感度分析の結果から、 $f_{u,p}$ は低 CL_{int} 化合物の $CL_{t, human}$ 予測に大きく影響していることが示唆された。PXB-PBS が高い予測精度を示すことを考慮すると、このことは、 $f_{u,p}$ の同等性を強く支持すると考えられた。実際に、PXB マウスの血漿中には、血漿蛋白結合に関与するヒトアルブミンやヒト $\alpha 1$ -酸性糖蛋白が分泌されており、多くの化合物で $f_{u,p}$ の種差は 3 倍以内であることが報告されている (Miyamoto et al., 2020; Tateno et al., 2015)。しかしながら、マウス肝臓由来のアルブミンもヒトアルブミンと共存することが報告されている (Landry et al., 2022)。また、マウス肝臓由来の $\alpha 1$ -酸性糖蛋白とヒト $\alpha 1$ -酸性糖蛋白も同様に共存する可能性が考えられ、これらの共存下で $f_{u,p}$ にどのように影響しているかは検証されていないことから、今後、さらなる検討が必要である。また、 $f_{u,p}$ は $CL_{t, human}$ の予測値に大きく影響する一方で、 R_b 及び Q_h は大きく影響しないことが示された。実際、PXB マウスの R_b あるいは Q_h を正確に推定した報告はなく、各パラメーターに顕著な種差はないと仮定せざるを得ない。そのような状況を踏まえると、これらのパラメーターが $CL_{t, human}$ の予測値に大きく影響しないという知見は、PXB マウスを用いた予測を実践する上で有意義である。

第3章 Simcyp simulator を用いた組織分布を考慮した新規ヒト血

漿中濃度推移予測手法の開発

第1節 組織分布を考慮したヒト血漿中濃度推移予測のためのデータ

収集

ラット、サル、イヌ及びヒトに静脈内投与後の血漿中濃度推移及び $f_{u,p}$ を論文から収集した (Shimizu et al., 2019; Yahata et al., 2020)。創薬のモダリティが多様化する中、低分子においても様々な特徴を持つ化合物に対応できるように、biopharmaceutics classification system (BCS) において低膜透過性に分類されるクラス 3 及びクラス 4 が検証化合物に含まれることを確認した (Bergstrom et al., 2014)。また、extended clearance classification system (ECCS) においても、低膜透過性に分類されるクラス 3 及びクラス 4 が検証化合物に含まれることを確認した (El-Kattan and Varma, 2018; Varma et al., 2015)。中性化合物においては、Phoenix WinNonlin version 8.3.5 (Certara) を用いて、2 コンパートメントモデル解析を実施し、Simcyp simulator に入力するための CL_t を推定した。また $\log P$ 及び pK_a は、ACD/Percepta V14 (Advanced Chemistry Development) を用いて *in silico* で推定した。検証化合物の物理化学的性質を Table 6 に示した。

Table 6. Physicochemical property of tested compounds

Compound	MW	<i>In silico</i> logP	<i>In silico</i> pKa	Ionization ^{**4}	BCS	ECCS
Diazepam	284.74	1.91	pKa (Base): 3.4	Neutral	1	2 ^{**2}
Reboxetine	313.39	2.82	pKa(Base): 7.7	Base	1	2 ^{**2}
Tamsulosin	408.51	2.24	pKa (Acid): 10.2, pKa (Base): 9.2	Base	1	a
Doxazosin	451.48	0.65	pKa (Base): 7.5	Base	2	2 ^{**2}
Bosentan	551.62	1.15	pKa (Acid): 4.9, pKa (Base): 2.6	Acid	2	1B ^{**2}
Oxprenolol	265.35	2.29	pKa (Acid): 13.9, pKa (Base): 9.5	Base	1	2 ^{**2}
Midazolam	325.77	3.93	pKa(Base): 6.1	Neutral	1	2 ^{**2}
Telmisartan	514.62	7.73	pKa (Acid): 3.3, pKa (Base): 6.2	Acid	2	1B ^{**2}
Diltiazem	414.52	3.63	pKa (Base): 7.8	Base	1	2 ^{**2}
Raloxifene	473.58	6.8	pKa (Acid): 8.7, pKa (Base): 8.1	Base	2	a
Acebutolol	336.43	1.95	pKa (Acid): 13.2, pKa (Base): 9.5	Base	3 ^{*1}	a
Amitriptyline	277.4	4.92	pKa (Base): 8.8	Base	1/2 ^{**1}	2 ^{**2}
Azithromycin	748.98	3.33	pKa(Acid): 12.6, pKa(Base): 9.5	Base	2 ^{*1}	4 ^{**3}
Chloroquine	319.87	4.69	pKa(Base): 10.7	Base	1 ^{*1}	a
Chlorpromazine	318.86	5.2	pKa(Base): 9.2	Base	1/2 ^{**1}	a
Dofetilide	441.57	1.56	pKa(Acid): 7.6, pKa(Base): 9.0	Zwitterion	a	4 ^{**2}
Enalaprilat	348.39	1.54	pKa(Acid): 2.0, pKa(Base): 7.9	Zwitterion	a	3A ^{**2}
Flecainide	414.34	2.9	pKa(Acid): 13.5, pKa(Base): 9.7	Base	a	a
Folinic acid	473.44	-3.19	pKa(Acid): 3.3, pKa(Base): 2.2	Acid	3 ^{*1}	a
Ketanserin	395.43	3.21	pKa(Acid): 10.0, pKa(Base): 7.2	Base	a	2 ^{**2}
Nateglinide	317.42	4.21	pKa(Acid): 3.3	Acid	a	3A ^{**2}
Quinine	324.42	3.44	pKa(Acid): 11.8, pKa(Base): 8.6	Base	1/3 ^{**1}	2 ^{**2}
Ranitidine	314.4	1.23	pKa(Base): 8.2	Base	3 ^{*1}	4 ^{**2}
Tegaserod	301.39	2.91	pKa(Base): 9.8	Base	a	a

^aNot available in the literature.

BCS, biopharmaceutics classification system; ECCS, extended clearance classification system

^{*1}: (Bergstrom et al., 2014)

^{**2}: (Varma et al., 2015)

^{**3}: (El-Kattan and Varma, 2018)

^{**4}: Acid: acid pKa≤8.4, Base: base pKa≥6.4, Neutral: acid pKa > 8.4 and base pKa < 6.4, Zwitterion: acid pKa≤8.4 and base pKa≥6.4 (Mathew et al., 2021)

第2節 動物の PBPK モデル構築

Simcyp simulator を用いて、動物の PBPK モデルを構築するステップの概要を Figure 6 に示した。各化合物の分子量、logP 及び pKa 等の物理化学的パラメーターに加え、ラット、サル及びイヌに静脈内投与後の血漿中濃度推移、CL_t、f_{u,p} 及び R_b を Simcyp simulator に入力した。

Simcyp simulator には、化合物の物理化学的パラメーターである logP 及び f_{u,p} を用いて組織-血漿間分配係数を計算する 3 種類のアルゴリズムが搭載されている。Method 1 は、Poulin 及び Theil らが提案したアルゴリズムに Berezhkovskiy による修正を加えて開発された (Berezhkovskiy, 2004; Poulin et al., 2001; Poulin and Theil, 2000)。血漿及び各組織は、中性脂質、中性リン脂質、水及びタンパクの混合物であり、組織中の化合物のイオン化は考慮せず、化合物は各脂質と水の間で分配される。Method 2 は、Rodgers 及び Rowland らが開発したアルゴリズムであり、組織中の水分は細胞内及び細胞外成分に分配され、さらに酸性リン脂質画分が追加されている (Rodgers et al., 2005; Rodgers and Rowland, 2006)。各コンパートメントにおける化合物のイオン化を考慮し、非イオン型が細胞膜を通過する。Method 3 は、Method 2 のコンセプトに加え、細胞膜の分極を考慮している (Fisher et al., 2019)。通常、細胞内は細胞外に対して負の電位にあることから、カチオンの細胞内移行を促進し、アニオンの細胞内移行を制限する。アルゴリズム毎に、血漿中濃度推移を最もよく説明する logP あるいは K_p scalar を Simcyp simulator の parameter estimation (PE) ツールを用いて推定した。なお、K_p scalar を推定する場合、全ての組織の K_p 予測値が均等に調整された。動物種毎のデータを用いて log P あるいは K_p scalar を推定するアプローチに加え、3 動物種のデータを同時に解析する cross-species parameter estimation (CSPE) のツールを用いて、同様に logP あるいは K_p scalar を推定した。その際、3 種類の組織-血漿間分配係数の計算方法の中で、最も objective function value (OFV) の小さいアルゴリズムを best-fit method と定義した。

CSPE のツールを用いて推定された logP 及び K_p scalar を Table 7 に示し、最も objective function value (OFV) の小さいアルゴリズムを水色で表示した。logP scaling において、酸性化合物の best-fit method は全て Method 3 であった。一方で、中性化合物、塩基性化合物及び双性イオン化合物の best-fit method は、特定のアルゴリズムに限定されることはなかった。

Animal PBPK modeling

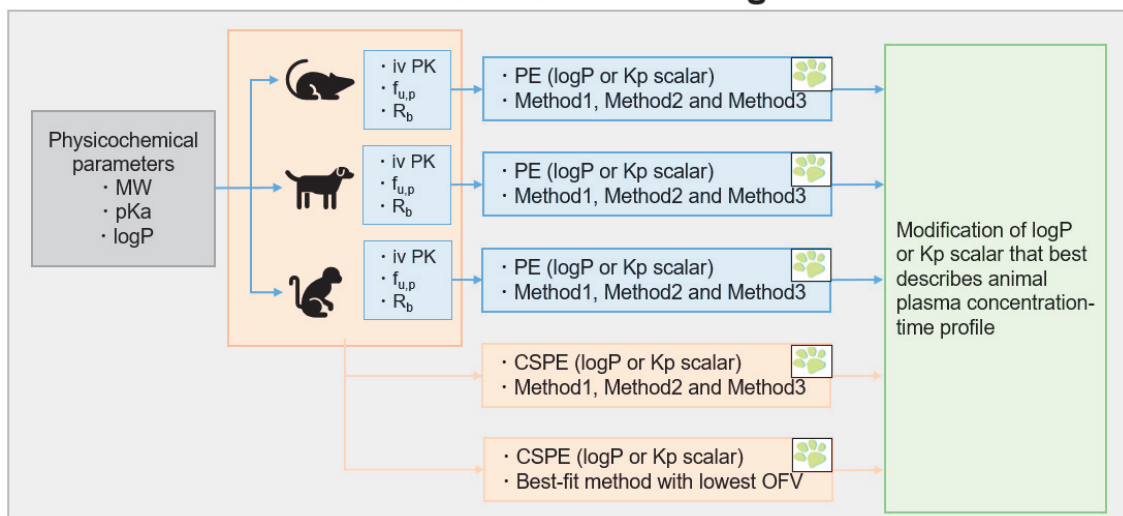


Figure 6. Scheme for animal PBPK modeling with *in silico* logP or Kp scaling
 MW, molecular weight; logP, log of partition coefficient; $f_{u,p}$, fraction unbound in plasma;
 R_b , blood-to-plasma concentration ratio; PE, parameter estimation; CSPE, cross-species
 parameter estimation

Table 7. Summary of CSPE-optimized logP and Kp scalar. The highlighted method was the best-fit method with the lowest OFV in animal PBPK modeling.

Ionization	Compound	ACD/logP	CSPE-optimized logP			CSPE-optimized Kp scalar		
			Method	Method	Method	Method	Method	Method
			1	2	3	1	2	3
Neutral	Diazepam	1.91	3.22	3.21	3.32	8.96	14.40	18.11
	Midazolam	3.93	3.26	3.31	3.49	0.33	0.23	0.34
Acid	Bosentan	1.15	4.07	6.24	6.37	11.79	48.54	48.70
	Folinic acid	-3.19	2.48	6.15	6.41	6.70	13.83	20.67
	Nateglinide	4.21	3.27	7.19	7.34	0.24	9.27	9.44
	Telmisartan	7.73	18.25	8.19	8.32	0.82	2.91	4.01
Base	Acebutolol	1.95	2.79	4.33	4.19	2.64	5.20	1.55
	Amitriptyline	4.92	4.43	5.07	5.08	0.88	1.36	1.26
	Azithromycin	3.33	27.72	5.26	5.19	4.04	7.65	2.84
	Chloroquine	4.69	36.24	7.73	-9.38	14.05	20.00	6.77
	Chlorpromazine	5.2	5.24	5.58	5.45	1.06	1.59	0.89
	Diltiazem	3.63	5.36	3.78	4.02	1.49	1.21	2.03
	Doxazosin	0.65	3.81	3.29	4.14	13.49	1.87	1.28
	Flecainide	2.9	2.72	4.49	3.95	0.86	2.21	0.77
	Ketanserin	3.21	4.00	4.19	4.71	4.52	2.62	2.27
	Oxprenolol	2.29	2.87	4.25	4.47	2.20	3.05	0.85
	Quinine	3.44	2.91	3.42	4.38	0.44	0.95	0.70
	Raloxifene	6.8	4.72	4.78	5.51	0.48	0.019	0.045
	Ranitidine	1.23	17.40	3.57	3.73	15.89	6.94	2.72
	Reboxetine	2.82	3.11	2.93	3.63	1.48	1.12	1.15
	Tamsulosin	2.24	2.69	-3.73	4.69	1.88	0.89	0.33
	Tegaserod	2.91	31.60	6.74	3.91	24.05	4.77	1.09
Zwitterion	Dofetilide	1.56	2.81	3.80	4.14	4.68	1.30	0.62
	Enalaprilat	1.54	2.64	8.13	-2.19	3.81	1.49	0.56

第3節 ヒトの血漿中濃度推移予測

Simcyp simulator を用いて、ヒトの血漿中濃度推移を予測するステップの概要を Figure 7 に示した。動物の PBPK モデルを構築し、推定された $\log P$ あるいは K_p scalar に加え、ヒトの CL_t 、 $f_{u,p}$ 及び R_b を Simcyp simulator に入力し、組織・血漿間分配係数を計算する 3 種類のアプローチを用いてヒトの血漿中濃度推移を予測した。動物毎に推定された $\log P$ あるいは K_p scalar を用いるアプローチ、3 動物種の同時解析 (CSPE) により推定された $\log P$ あるいは K_p scalar を用いるアプローチ及び 3 動物種の同時解析に (CSPE) より推定された $\log P$ あるいは K_p scalar を用いることに加え、最も OFV の小さい best-fit method を選択するアプローチについて検討し、ヒトの血漿中濃度推移を予測した。なお、population の設定は healthy volunteer とし、血漿中濃度推移はその population の代表値 (representative value) としてシミュレーションした。

Simulation

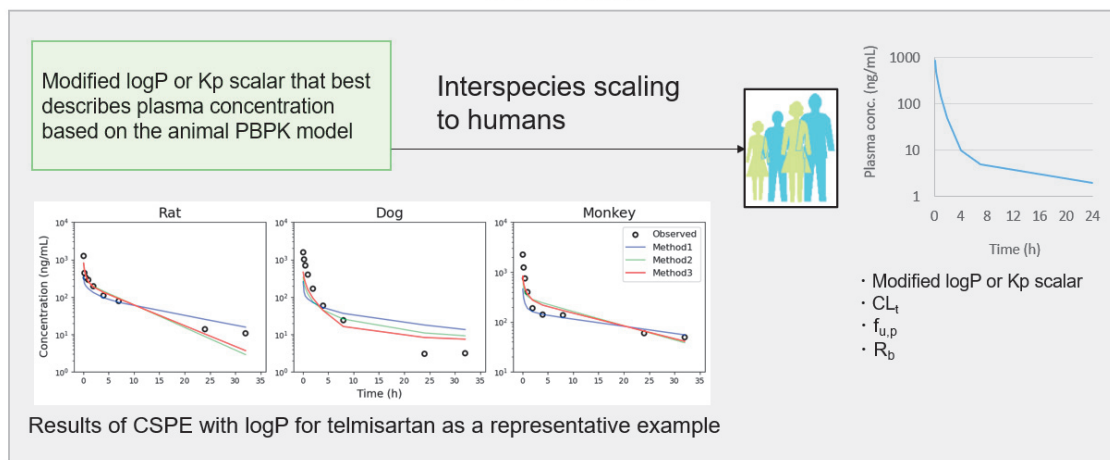


Figure 7. Scheme for human PBPK simulation with modified logP or Kp scaling logP, log of partition coefficient; CL_t , total clearance; $f_{u,p}$, fraction unbound in plasma; R_b , blood-to-plasma concentration ratio; CSPE, cross-species parameter estimation

第4節 予測精度の評価

動物毎に推定された $\log P$ あるいは K_p scalar を用いるアプローチ、3 動物種の同時解析 (CSPE) により推定された $\log P$ あるいは K_p scalar を用いるアプローチ及び 3 動物種の同時解析 (CSPE) により推定された $\log P$ あるいは K_p scalar を用いることに加え、最も OFV の小さい best-fit method を選択するアプローチによって、それぞれヒト血漿中濃度推移を予測した。Simcyp を用いて予測された血漿中濃度推移の中には、多相性の消失を含む推移も多く、2 コンパートメントモデル解析によって、分布容積を正確に推定できない化合物も認められた。したがって、本研究では分布容積の予測精度を root mean squared error (RMSE、式 (13)) を指標として評価した。検証化合物毎における RMSE の結果を、Figure 8 に示した。また物理化学的性質の分類毎における RMSE の平均値を、Table 8 に示した。CSPE によって Method1、Method2 及び Method3 の各アルゴリズムで調整した $\log P$ をそれぞれヒトに種間スケーリングし、得られたヒト血漿中濃度推移の予測値と実測値の比較について、中性化合物、酸性化合物、塩基性化合物及び双性イオン化合物毎の代表化合物について Figure 9 に示した。

$$\text{RMSE} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (\log(\text{Pred}_i) - \log(\text{Obs}_i))^2} \quad (13)$$

$\log P$ scaling の検討結果として、中性化合物においては、検討したいずれのアプローチでも高い予測精度を示した。また酸性化合物においては、サルを用いた Method 3 のアプローチが最も高い予測精度を示した。つまり、CSPE によって調整された $\log P$ 及び OFV が最も小さい best-fit method を選択するアプローチよりも高い予測精度を示した。一方で、塩基性化合物においては、CSPE による OFV が最も小さい best-fit method を選択するアプローチが、最も高い予測精度を示した。検証化合物毎の RMSE の結果からも、CSPE による OFV が最も小さい best-fit method を選択するアプローチにおいて、顕著に RMSE が高い塩基性化合物は認められなかった。双性イオン化合物においては、高い予測精度を示すアプローチは確認できなかった。Kp scaling の結果は、 $\log P$ scaling よりも全体的に予測精度が低い傾向が認められた。

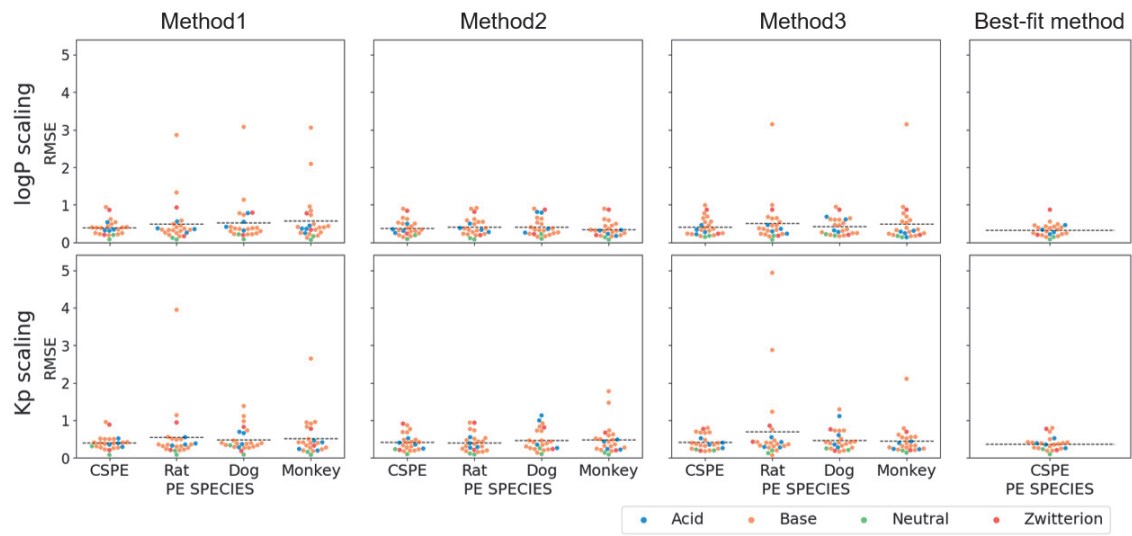


Figure 8. Summary of individual RMSE for each compound

Table 8. Summary of mean RMSE for each ionization state

Scaling	Ionization	Method 1			Method 2			Method 3			Best-fit method				
		CSPE	PE			CSPE	PE			CSPE		PE			CSPE
			Rat	Dog	Monkey		Rat	Dog	Monkey			Rat	Dog	Monkey	
logP	Neutral	0.138	0.098	0.148	0.113	0.139	0.095	0.159	0.104	0.160	0.123	0.199	0.154	0.111	
	Acid	0.378	0.386	0.514	0.355	0.350	0.372	0.555	0.260	0.321	0.337	0.473	0.243	0.321	
	Base	0.402	0.561	0.592	0.699	0.407	0.445	0.388	0.384	0.444	0.609	0.425	0.599	0.335	
	Zwitterion	0.533	0.547	0.493	0.555	0.538	0.504	0.547	0.533	0.551	0.524	0.536	0.536	0.536	
	Overall	0.387	0.492	0.534	0.581	0.386	0.409	0.410	0.352	0.409	0.516	0.424	0.497	0.331	
Kp	Neutral	0.195	0.136	0.210	0.119	0.164	0.103	0.176	0.113	0.209	0.161	0.229	0.166	0.164	
	Acid	0.388	0.404	0.500	0.326	0.381	0.375	0.684	0.344	0.383	0.384	0.587	0.324	0.380	
	Base	0.417	0.627	0.526	0.618	0.432	0.422	0.441	0.563	0.438	0.857	0.476	0.517	0.386	
	Zwitterion	0.545	0.577	0.503	0.552	0.561	0.574	0.524	0.435	0.480	0.642	0.474	0.450	0.489	
	Overall	0.405	0.545	0.494	0.522	0.412	0.400	0.467	0.479	0.413	0.702	0.474	0.450	0.375	

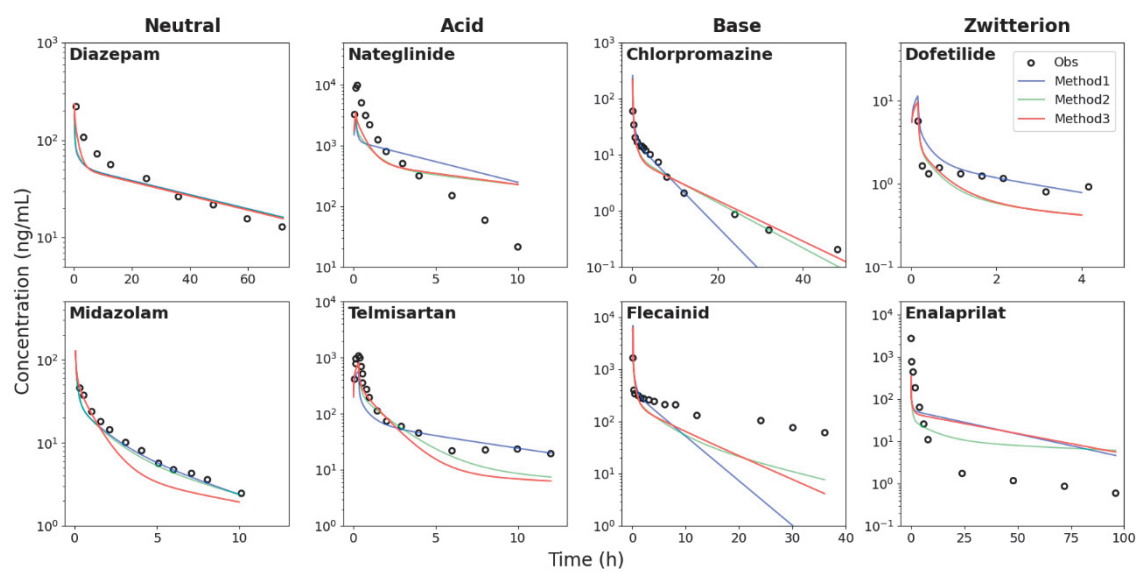


Figure 9. Predictability of plasma concentration-time profiles in human after intravenous administration of representative compounds using the CSPE approach

第5節 小括

低膜透過性や双性イオン等のより広範な特徴を持つ検証化合物を用いて、Simcyp simulator による組織分布を考慮したヒト血漿中濃度推移予測の精度を検証した。中性化合物においては、本研究で検討したいずれのアプローチでも高い予測精度を示したことから、創薬において、3 動物種すべての薬物動態データを取得する必要はない可能性が示唆された。また、酸性化合物においては、サルによる Method 3 のアプローチが最も高い予測精度を示した。中性化合物と同様に、単一の動物種のデータを用いて予測できる可能性が示唆されたことから、今後、動物実験の replacement を推進した創薬の実現に期待できる。本研究では、3 動物種あるいは単一動物種のデータを用いたアプローチを検証したが、CSPE のツールを用いることで、例えばラット 1 種及び大動物 1 種のデータの同時解析も可能である。予測精度の向上及び動物実験の replacement の観点で、さらなる検証は重要である。また、動物の PBPK モデルを構築時に得られた知見として、酸性化合物の best-fit method は全て Method 3 であったことから、Method 3 が種間共通で酸性化合物の血漿中濃度推移を最もよく説明すると考えられた。つまり、Method 3 は、酸性化合物の組織分布を考慮したヒト血漿中濃度推移予測に有用であることが示唆された。

塩基性化合物の K_p 予測に、Method 2 は有用であることが報告されている (Rodgers et al., 2005; Rodgers and Rowland, 2006)。本研究においても、Method 2 による塩基性化合物の予測精度が、他の Method よりも比較的高い傾向にあった。しかしながら、CSPE による OFV が最も小さい best-fit method を選択するアプローチが、最も高い予測精度を示した。動物の PBPK モデルを構築時の best-fit method が、Method 2 に限定されないことから、塩基性化合物の組織分布を考慮したヒト血漿中濃度推移予測が Method 2 のみでは不十分であることを示唆している。塩基性化合物は、酸性リン脂質への分配、リソソームトラッピング及び膜電位差による膜透過促進等の細胞動態を示す可能性がある (Fisher et al., 2019; Rodgers et al., 2005)。動物の PBPK モデル構築から知見を得て、最適な組織-血漿間分配係数のアルゴリズムを選択することが、このような複雑な動態を示す化合物の予測に効果的であることが示された。

K_p scaling は、 $\log P$ scaling と比較して全体的に予測精度が低い傾向にあった。つまり、 $\log P$ の方が、種間スケーリングにおいて妥当なパラメーターであることが示唆された。動物の PBPK モデル構築による $\log P$ の調整を行わず、*in silico* の値のみで予測する場合に、動物の血漿中濃度推移を過大予測及び過少予測の両方が認められることが報告されている (Shimizu et al., 2019)。つまり、動物種間で共通した K_p scalar の調整が困難であることを示唆している。一方で、 $\log P$ は化合物の物理化学的性質であり、動物種に関係なく共通

していることから、合理的な結果であると考えられた。しかしながら、今後、 $\log P$ による調整が困難な場合も想定されることから、**Kp scaling** は、そのような場合の代替手法として活用できる。

双性イオン化合物において、高い予測精度を示すアプローチは見出せなかったことから、今後、有効な予測手法の開発が必要である。**Simcyp simulator** に搭載されている組織-血漿間分配係数を計算する 3 種類のアルゴリズムは、いずれも能動輸送機構を考慮しておらず、また検証化合物においてそのような機構の存在も不明である。したがって、このような能動輸送機構が予測精度の低下に寄与した可能性があり、今後、さらなる検討が必要である。

第4章 総括

ヒトの薬物動態予測手法は数多く開発されているが、創薬ポートフォリオにおいて、低 CL_{int} 化合物の占める割合が増えている昨今、*in vitro* においてはインキュベーションによる代謝活性の低下、*in vivo* においては種差による予測精度の低下が大きな問題であった。本研究では、*in vitro* 及び *in vivo* のどちらの問題も解決できる可能性のある PXB マウスに注目し、その有用性を検証した結果、低 CL_{int} 化合物の CL を高精度に予測可能であることを示した。つまり、低 CL_{int} 化合物の新規 *in vivo* 予測手法の開発に成功した。

一方で、本研究では主に肝代謝型の化合物を用いて予測精度を検証したため、腎排泄、胆汁排泄あるいは肝外代謝等の経路を有する化合物の予測精度については、さらなる検証が必要である。このような経路を制御する因子として、いずれもタンパク結合率は重要であることから、ヒトアルブミンやヒト $\alpha 1$ -酸性糖蛋白の分泌が確認されており (Landry et al., 2022; Miyamoto et al., 2020; Tateno et al., 2015)、ヒトのタンパク結合率を模倣できる PXB マウスの有用性に期待できる。

また本研究では、予測精度の向上を目的に PXB-PBS のアプローチを新たに検証した。PXB-SSS の予測精度を上回ることはなかったが、PXB-SSS の予測値とほぼ一致することが明らかになった。このことから、PXB-SSS で用いた単純なアロメトリー式に、生理学的意義を与えることができた。つまり、肝細胞あたりの CL_{int} 、 $f_{u,p}$ 及び R_b がヒトと PXB マウスの間で同等であるからこそ、PXB-SSS の高い予測精度を実現していると考えられた。このように生理学的理解を深めることで、PXB マウスからヒトに種間スケーリングを行う妥当性を高めることができた。本研究は、PXB マウスにおける肝細胞あたりの CL_{int} をヒトに種間スケーリングした最初の研究であり、今後、この知見に基づいた薬物間相互作用や代謝物予測の研究への応用に期待できる。

ヒトの血漿中濃度推移を正確に予測するためには、CL 予測に加え、分布容積の予測も重要である。様々な予測手法が開発されているが、いずれも定常状態の分布容積に焦点を当てているため、本研究では、Simcyp simulator を用いたアプローチを検証した。創薬のモダリティが多様化する中で、低分子においても様々な特徴を持つ化合物に対応できるように、より広範な特徴を持つ検証化合物を用いて、組織分布を考慮したヒト血漿中濃度推移の予測精度を検証した。また、新規アルゴリズムである Method 3 の有用性や動物種毎の予測精度を検証した結果、化合物の物性に基づいて適切に動物種を選択できる可能性を見出した。このような戦略的なアプローチを取ることで、より効率的かつ動物実験の replacement を推進した創薬の実現に期待できる。一方で、塩基性化合物の一部や双性イオン化合物のよう

に、精度の高い予測が困難なケースもあることから、今後、原因究明が必須である。また、能動輸送機構の可能性も踏まえて、さらなる研究が必要である。

本研究で得られたアプローチを創薬において適切に活用することで、ヒトの血漿中濃度推移の高精度な予測が可能となり、臨床開発に向けた質の高い化合物の選抜及び臨床試験の安全且つ円滑な取り進めを実現することができる。

実験の部

動物実験及び血漿中濃度の測定

PXB マウス (N=3、株式会社フェニックスバイオ) に 0.1 mg/kg の投与量で静脈内にカクテル投与し、投与後 0.083、0.25、0.5、1、3、7、24 及び 48 時間に血漿試料を採取した。血漿試料は内部標準物質であるベラパミルを含むアセトニトリルで抽出し、液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法を用いて血漿中濃度を測定した。各化合物の分析条件の詳細は、Table 9 に示した。なお、実験に用いた PXB マウスのヒト肝細胞置換率は 89%~91% であった。さらに、ラット (N=3、ジャクソン・ラボラトリー・ジャパン株式会社) に 0.1 mg/kg の投与量で静脈内にカクテル投与し、投与後 0.083、0.25、0.5、1、2、4、7、24 及び 48 時間に血漿試料を採取した。また、サル (N=3、ハムリー株式会社) に 0.1 mg/kg の投与量で静脈内にカクテル投与し、投与後 0.083、0.25、0.5、1、2、4、8、24 及び 48 時間に血漿試料を採取した。同様の分析法を用いて血漿中濃度を測定した。すべての *in vivo* 実験は、田辺三菱製薬株式会社の動物実験委員会の承認を得て実施された。

Table 9. Summary of tandem mass spectrometry for the tested compounds

Compounds	Mass spectrometer	Ionization	Monitoring ion (m/z)
Antipyrine			189.3→56.2
Carbazeran			361.3→272.1
Disopyramide			340.4→239.2
(<i>S</i>)-Naproxen			231.2→185.2
Ranitidine	Waters Xevo TQ-S		315.3→130.2
Theophylline			181.3→124.2
Timolol			317.3→74.2
Tolbutamide			271.3→91.2
(<i>S</i>)-Warfarin		Positive ESI	309.2→163.1
Bosentan			552.2→201.8
Dapsone			249.0→155.9
Diazepam			284.9→153.8
Doxazosin	Sciex API 5000		452.1→344.1
Reboxetine			314.1→175.8
UCN-01			483.1→88.0
Tenoxicam			338.3→121.1

複数動物種を用いた allometric scaling

Rule of exponent (ROE) 及び f_u corrected intercept method (FCIM) によって、 $CL_{t, human}$ を予測した (Mahmood and Balian, 1996; Tang and Mayersohn, 2005)。ROE に従い、ラット、サル及びイヌの CL_t を体重に対して Simple allometry (SA、式 (3)) に基づき、対数スケール上にプロットした。得られた指数値に基づき、アロメトリー式(式 (3)、式 (4)、式 (5)) によって $CL_{t, human}$ を予測した。SA の指数値が 0.55-0.70 の場合は、SA を適用した。Maximum life-span potential (MLP) による補正は、SA の指数値が 0.71-1.0 の場合に適用した。SA が 1.0 以上の場合、脳重量 (BrW) による補正を適用した。これらの方程式において、 a 、 b 及び c はアロメトリー式の係数であり、 x 、 y 及び z は指数とした。ラットの体重は 0.25 kg、BrW は 0.00174 kg、MLP は 4.4 歳と設定した。サルの体重は 3.75 kg、BrW は 0.0424 kg、MLP は 18.5 歳と設定した。イヌの体重は 12 kg、BrW は 0.0754 kg、MLP は 20.5 歳と設定した (Mahmood, 2005)。MLP は、各動物の BrW 及び BW を用いて、式 (6) に従い算出した。FCIM による $CL_{t, human}$ 予測は、式 (7) に従い算出した。本式における a は、体重に対する CL_t の対数プロットから得られた切片である。また $Rf_{u,p}$ は、ラット及びヒトの $f_{u,p}$ 比である。

$$CL_t = a(BW)^x \quad (3)$$

$$CL_t = \frac{b(MLP \times CL_t)^y}{8.18 \times 10^5} \quad (4)$$

$$CL_t = \frac{c(BrW \times CL_t)^z}{1.53} \quad (5)$$

$$MLP \text{ (years)} = 185.4 BrW^{0.636} BW^{-0.225} \quad (6)$$

$$CL_t = 33.35 \times \left(\frac{a}{Rf_{u,p}} \right)^{0.77} \quad (7)$$

引用論文の部

- Berezhkovskiy, L.M. 2004. Volume of Distribution at Steady State for a Linear Pharmacokinetic System with Peripheral Elimination. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 93:1628-1640.
- Bergstrom, C.A., S.B. Andersson, J.H. Fagerberg, G. Ragnarsson, and A. Lindahl. 2014. Is the full potential of the biopharmaceutics classification system reached? *Eur J Pharm Sci*. 57:224-231.
- Bergstrom, F., and B. Lindmark. 2019. Accelerated drug discovery by rapid candidate drug identification. *Drug Discov Today*. 24:1237-1241.
- Berry, L.M., C. Li, and Z. Zhao. 2011. Species differences in distribution and prediction of human V_{ss} from preclinical data. *Drug Metab Dispos*. 39:2103-2116.
- Chan, T.S., H. Yu, A. Moore, S.R. Khetani, and D. Tweedie. 2019. Meeting the Challenge of Predicting Hepatic Clearance of Compounds Slowly Metabolized by Cytochrome P450 Using a Novel Hepatocyte Model, HepatoPac. *Drug Metab Dispos*. 47:58-66.
- De Sousa Mendes, M., L.O. A, H.E. Humphries, B. Jones, I. Gardner, S. Neuhoff, and V. Pilla Reddy. 2020. A Laboratory-Specific Scaling Factor to Predict the In Vivo Human Clearance of Aldehyde Oxidase Substrates. *Drug Metab Dispos*. 48:1231-1238.
- Di, L., K. Atkinson, C.C. Orozco, C. Funk, H. Zhang, T.S. McDonald, B. Tan, J. Lin, C. Chang, and R.S. Obach. 2013. In vitro-in vivo correlation for low-clearance compounds using hepatocyte relay method. *Drug Metab Dispos*. 41:2018-2023.
- Di, L., and R.S. Obach. 2015. Addressing the challenges of low clearance in drug research. *AAPS J*. 17:352-357.
- Di, L., P. Trapa, R.S. Obach, K. Atkinson, Y.A. Bi, A.C. Wolford, B. Tan, T.S. McDonald, Y. Lai, and L.M. Tremaine. 2012. A novel relay method for determining low-clearance values. *Drug Metab Dispos*. 40:1860-1865.
- El-Kattan, A.F., and M.V.S. Varma. 2018. Navigating Transporter Sciences in Pharmacokinetics Characterization Using the Extended Clearance Classification System. *Drug Metab Dispos*. 46:729-739.
- Ermondi, G., M. Lorenti, and G. Caron. 2004. Contribution of ionization and lipophilicity to drug binding to albumin: a preliminary step toward biodistribution prediction. *J Med Chem*. 47:3949-3961.
- Espie, P., D. Tytgat, M.L. Sargentini-Maier, I. Poggesi, and J.B. Watelet. 2009. Physiologically based pharmacokinetics (PBPK). *Drug Metab Rev*. 41:391-407.

- Fisher, C., S. Siméon, M. Jamei, I. Gardner, and Y.F. Bois. 2019. VIVD: Virtual in vitro distribution model for the mechanistic prediction of intracellular concentrations of chemicals in in vitro toxicity assays. *Toxicology in Vitro*. 58:42-50.
- Hallifax, D., J.A. Foster, and J.B. Houston. 2010. Prediction of human metabolic clearance from in vitro systems: retrospective analysis and prospective view. *Pharm Res*. 27:2150-2161.
- Hosea, N.A., W.T. Collard, S. Cole, T.S. Maurer, R.X. Fang, H. Jones, S.M. Kakar, Y. Nakai, B.J. Smith, R. Webster, and K. Beaumont. 2009. Prediction of human pharmacokinetics from preclinical information: comparative accuracy of quantitative prediction approaches. *J Clin Pharmacol*. 49:513-533.
- Huang, Q., and J.E. Riviere. 2014. The application of allometric scaling principles to predict pharmacokinetic parameters across species. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 10:1241-1253.
- Hultman, I., C. Vedin, A. Abrahamsson, S. Winiwarter, and M. Darnell. 2016. Use of H μ REL Human Coculture System for Prediction of Intrinsic Clearance and Metabolite Formation for Slowly Metabolized Compounds. *Mol Pharm*. 13:2796-2807.
- Kratochwil, N.A., C. Meille, S. Fowler, F. Klammers, A. Ekiciler, B. Molitor, S. Simon, I. Walter, C. McGinnis, J. Walther, B. Leonard, M. Triyatni, H. Javanbakht, C. Funk, F. Schuler, T. Lave, and N.J. Parrott. 2017. Metabolic Profiling of Human Long-Term Liver Models and Hepatic Clearance Predictions from In Vitro Data Using Nonlinear Mixed-Effects Modeling. *AAPS J*. 19:534-550.
- Landry, F., H. Shen, Y. Zhang, A. Uchiyama, Y. Miyata, Y. Morikawa, B. Joshi, and P. Shipkova. 2022. Simultaneous measurement of mouse and human albumin in chimeric mice with humanized livers. *Bioanalysis*. 14:267-278.
- Luttringer, O., F.P. Theil, P. Poulin, A.H. Schmitt-Hoffmann, T.W. Guentert, and T. Lave. 2003. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling of disposition of epiroprim in humans. *J Pharm Sci*. 92:1990-2007.
- Mahmood, I. 2005. Interspecies pharmacokinetic scaling: allometric principles and applications. Pine House Publishers.
- Mahmood, I., and J.D. Balian. 1996. Interspecies scaling: predicting clearance of drugs in humans. Three different approaches. *Xenobiotica*. 26:887-895.
- Mathew, S., D. Tess, W. Burchett, G. Chang, N. Woody, C. Keefer, C. Orozco, J. Lin, S. Jordan, S. Yamazaki, R. Jones, and L. Di. 2021. Evaluation of Prediction Accuracy for Volume of Distribution in Rat and Human Using In Vitro, In Vivo, PBPK and QSAR Methods. *J Pharm Sci*. 110:1799-1823.

- Miyamoto, M., S. Iwasaki, I. Chisaki, S. Nakagawa, N. Amano, and H. Hirabayashi. 2017. Comparison of predictability for human pharmacokinetics parameters among monkeys, rats, and chimeric mice with humanised liver. *Xenobiotica*. 47:1052-1063.
- Miyamoto, M., S. Iwasaki, I. Chisaki, S. Nakagawa, N. Amano, Y. Kosugi, and H. Hirabayashi. 2019. Prediction of human pharmacokinetics of long half-life compounds using chimeric mice with humanised liver. *Xenobiotica*. 49:1379-1387.
- Miyamoto, M., Y. Kosugi, S. Iwasaki, I. Chisaki, S. Nakagawa, N. Amano, and H. Hirabayashi. 2020. Characterization of plasma protein binding in two mouse models of humanized liver, PXB mouse and humanized TK-NOG mouse. *Xenobiotica*:1-10.
- Obach, R.S., J.G. Baxter, T.E. Liston, B.M. Silber, B.C. Jones, F. MacIntyre, D.J. Rance, and P. Wastall. 1997. The prediction of human pharmacokinetic parameters from preclinical and in vitro metabolism data. *J Pharmacol Exp Ther*. 283:46-58.
- Ohtsuki, S., H. Kawakami, T. Inoue, K. Nakamura, C. Tateno, Y. Katsukura, W. Obuchi, Y. Uchida, J. Kamiie, T. Horie, and T. Terasaki. 2014. Validation of uPA/SCID mouse with humanized liver as a human liver model: protein quantification of transporters, cytochromes P450, and UDP-glucuronosyltransferases by LC-MS/MS. *Drug Metab Dispos*. 42:1039-1043.
- Poulin, P., K. Schoenlein, and F.P. Theil. 2001. Prediction of adipose tissue: Plasma partition coefficients for structurally unrelated drugs. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 90:436-447.
- Poulin, P., and F.P. Theil. 2000. A Priori Prediction of Tissue:Plasma Partition Coefficients of Drugs to Facilitate the Use of Physiologically - Based Pharmacokinetic Models in Drug Discovery. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 89:16-35.
- Roberts, M.S., and M. Rowland. 1986. Correlation between in-vitro microsomal enzyme activity and whole organ hepatic elimination kinetics: analysis with a dispersion model. *J Pharm Pharmacol*. 38:177-181.
- Rodgers, T., D. Leahy, and M. Rowland. 2005. Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling 1: Predicting the Tissue Distribution of Moderate-to-Strong Bases. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 94:1259-1276.
- Rodgers, T., and M. Rowland. 2006. Physiologically based pharmacokinetic modelling 2: Predicting the tissue distribution of acids, very weak bases, neutrals and zwitterions. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 95:1238-1257.
- Sanoh, S., A. Horiguchi, K. Sugihara, Y. Kotake, Y. Tayama, H. Ohshita, C. Tateno, T. Horie, S. Kitamura, and S. Ohta. 2012. Prediction of in vivo hepatic clearance and half-life of drug candidates in human using chimeric mice with humanized liver. *Drug*

- Metab Dispos.* 40:322-328.
- Sanoh, S., Y. Naritomi, M. Fujimoto, K. Sato, A. Kawamura, A. Horiguchi, K. Sugihara, Y. Kotake, H. Ohshita, C. Tateno, T. Horie, S. Kitamura, and S. Ohta. 2015. Predictability of plasma concentration-time curves in humans using single-species allometric scaling of chimeric mice with humanized liver. *Xenobiotica.* 45:605-614.
- Sanoh, S., Y. Naritomi, S. Kitamura, A. Shinagawa, M. Kakuni, C. Tateno, and S. Ohta. 2020. Predictability of human pharmacokinetics of drugs that undergo hepatic organic anion transporting polypeptide (OATP)-mediated transport using single-species allometric scaling in chimeric mice with humanized liver: integration with hepatic drug metabolism. *Xenobiotica.* 50:1370-1379.
- Sawada, T., Y. Yamaura, S. Higuchi, H. Imawaka, and H. Yamazaki. 2020. Predicting successful/unsuccessful extrapolation for in vivo total clearance of model compounds with a variety of hepatic intrinsic metabolism and protein bindings in humans from pharmacokinetic data using chimeric mice with humanised liver. *Xenobiotica.* 50:526-535.
- Scotcher, D., C. Jones, A. Rostami-Hodjegan, and A. Galetin. 2016. Novel minimal physiologically-based model for the prediction of passive tubular reabsorption and renal excretion clearance. *Eur J Pharm Sci.* 94:59-71.
- Shimizu, H., K. Yoshida, T. Nakada, K. Kojima, A. Ogasawara, Y. Nakamaru, and H. Yamazaki. 2019. Prediction of Human Distribution Volumes of Compounds in Various Elimination Phases Using Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling and Experimental Pharmacokinetics in Animals. *Drug Metab Dispos.* 47:114-123.
- Tang, H., and M. Mayersohn. 2005. A novel model for prediction of human drug clearance by allometric scaling. *Drug Metab Dispos.* 33:1297-1303.
- Tang, H., and M. Mayersohn. 2006. A global examination of allometric scaling for predicting human drug clearance and the prediction of large vertical allometry. *J Pharm Sci.* 95:1783-1799.
- Tateno, C., Y. Kawase, Y. Tobita, S. Hamamura, H. Ohshita, H. Yokomichi, H. Sanada, M. Kakuni, A. Shiota, Y. Kojima, Y. Ishida, H. Shitara, N.A. Wada, H. Tateishi, M. Sudoh, S. Nagatsuka, K. Jishage, and M. Kohara. 2015. Generation of Novel Chimeric Mice with Humanized Livers by Using Hemizygous cDNA-uPA/SCID Mice. *PLoS One.* 10:e0142145.
- Varma, M.V., S.J. Steyn, C. Allerton, and A.F. El-Kattan. 2015. Predicting Clearance Mechanism in Drug Discovery: Extended Clearance Classification System (ECCS). *Pharm Res.* 32:3785-3802.
- Wilby, A.J., K. Maeda, P.F. Courtney, Y. Debori, P.J. Webborn, Y. Kitamura, H. Kusuhara,

- R.J. Riley, and Y. Sugiyama. 2011. Hepatic uptake in the dog: comparison of uptake in hepatocytes and human embryonic kidney cells expressing dog organic anion-transporting polypeptide 1B4. *Drug Metab Dispos.* 39:2361-2369.
- Yahata, M., Y. Ishii, T. Nakagawa, T. Watanabe, and I. Miyawaki. 2020. Applicability of the Oie-Tozer model to predict three types of distribution volume (Vd) in humans: Vd in central compartment, Vd at steady state, and Vd at beta phase. *Biopharm Drug Dispos.* 41:151-165.

補足資料

Table S1. Drug disposition obtained from the literature and R_b , $f_{u,p}$, and CL_t obtained from experiments or the literature

Compounds	Disposition	R_b^a		$f_{u,p}$		CL_t (mL/min/kg)			
		Humans	Humans	Rats	Humans	PXB-mice	Rats	Monkeys	Dogs
Antipyrine	CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C18, CYP3A4 ¹	1 ²	0.990	0.690 ²	0.64 ³	4.60	7.86	11.5 ⁴	7.22 ⁴
Bosentan	CYP2C9, CYP3A4, OATP ⁵	0.48 ⁶	0.023	0.012 ⁷	2.1 ³	8.78	16.40 ⁷	20.6 ⁷	1.72 ⁷
Carbazeran	AO ⁸	1	0.148	0.169	37.6 ⁹	99.67	42.22	87.87 ¹⁰	11.5 ^{9,b}
Dapsone	CYP2C9, CYP3A4, NAT ¹¹	1.04 ¹¹	0.381	0.280 ¹²	0.48 ³	4.40	6.87	5.08 ¹⁰	1.21 ¹³
Diazepam	CYP3A, CYP2C19 ¹⁴	0.71 ¹⁵	0.036	0.171 ⁷	0.38 ³	42.147	61.51 ⁷	17.90 ⁷	46.71 ⁷
Disopyramide	CYP3A4 ¹⁴	1.2 ¹⁶	0.161	0.610 ²	0.9 ³	28.86	179.46	19 ¹⁷	29 ¹⁷
Doxazosin	CYP3A, CYP2D6, CYP2C19 ¹⁸	1	0.066	0.050 ⁷	1.6 ³	34.245	30.00 ⁷	15.47 ⁷	11.21 ⁷
Ranitidine	FMO, CYP2C19, CYP1A2, CYP2D6 ¹⁹	1	1.000	0.900 ²⁰	9.6 ³	131.02	99.88	40.23	10.4 ²¹
Reboxetine	CYP3A4 ²²	1	0.041	0.253 ⁷	0.82 ³	17.658	61.51 ⁷	14.94 ⁷	22.39 ⁷
(S)-Naproxen	CYP2C9, CYP1A2, UGT2B7 ¹¹	0.55 ¹¹	0.007	0.008 ²	0.11 ¹⁶	0.556	0.41	0.83 ²³	0.04 ¹⁷
(S)-Warfarin	CYP2C9, CYP3A4 ¹⁴	0.55 ¹¹	0.013	0.005 ²	0.055 ³	0.484	0.21	0.102 ²⁴	1.49 ²⁵
Tenoxicam	CYP2C9 ²⁶	0.67 ²⁷	0.015	0.030 ²⁸	0.03 ³	0.2878	0.49	0.061	0.104 ^{29,c}
Theophylline	CYP1A2 ¹⁴	0.85 ¹⁵	0.580 ³⁰	0.400 ³⁰	0.86 ³	4.70	1.91	1.08 ³¹	1.73 ³²
Timolol	CYP2D6 ¹⁴	0.84 ³³	0.715	0.760 ³⁴	8.5 ³	130.05	137.02	13.6 ³³	— ^d
Tolbutamide	CYP2C9 ¹⁴	0.55 ¹⁵	0.039	0.049 ³⁵	0.21 ³	0.58	0.39	0.0456	0.142 ^{36,e}
UCN-01	— ^d	1	0.003	0.0175 ³⁷	0.0037 ³	0.0369	77.37	3.36	10.27 ³⁷

R_b , blood-to-plasma concentration ratio; $f_{u,p}$, fraction unbound in plasma; CL_t , total clearance; OATP, organic anion-transporting polypeptide; AO, aldehyde oxidase; NAT, N-acetyltransferase; FMO, flavin-containing monooxygenase; UGT, UDP-glucuronosyltransferase.

^a R_b was assumed to be 1 for carbazeran, doxazosin, ranitidine, reboxetine, and UCN-01 because of a lack of data from the literature.

^bThe mean calculated from CL_t in two animals described in the literature was used.

^cThe mean calculated from CL_t in three animals described in the literature was used.

^dNot available in the literature

^e CL_t calculated from dose, AUC after oral administration, and bioavailability as described in the literature was used.

REFERENCES

1. Engel G, Hofmann U, Heidemann H, Cosme J, Eichelbaum M. Antipyrine as a probe for human oxidative drug metabolism: Identification of the cytochrome P450 enzymes catalyzing 4-hydroxyantipyrine, 3-hydroxymethylantipyrine, and norantipyrine formation. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 1996;59:613-623.
2. Berry LM, Li C, Zhao Z. Species differences in distribution and prediction of human $V(ss)$ from preclinical data. *Drug Metab Dispos*. 2011;39:2103-2116.
3. Obach RS, Lombardo F, Waters NJ. Trend analysis of a database of intravenous pharmacokinetic parameters in humans for 670 drug compounds. *Drug Metab Dispos*. 2008;36:1385-1405.
4. Balani SK, Zhu T, Yang TJ, et al. Effective dosing regimen of 1-aminobenzotriazole for inhibition of antipyrine clearance in rats, dogs, and monkeys. *Drug Metab Dispos*. 2002;30:1059-1062.
5. Treiber A, Schneiter R, Hausler S, Stieger B. Bosentan is a substrate of human OATP1B1 and OATP1B3: inhibition of hepatic uptake as the common mechanism of its interactions with cyclosporin A, rifampicin, and sildenafil. *Drug Metab Dispos*. 2007;35:1400-1407.
6. Jones HM, Barton HA, Lai Y, et al. Mechanistic pharmacokinetic modeling for the prediction of transporter-mediated disposition in humans from sandwich culture human hepatocyte data. *Drug Metab Dispos*. 2012;40:1007-1017.
7. Shimizu H, Yoshida K, Nakada T, et al. Prediction of Human Distribution Volumes of Compounds in Various Elimination Phases Using Physiologically Based Pharmacokinetic Modeling and Experimental Pharmacokinetics in Animals. *Drug Metab Dispos*. 2019;47:114-123.
8. Hutzler JM, Obach RS, Dalvie D, Zientek MA. Strategies for a comprehensive

- understanding of metabolism by aldehyde oxidase. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2013;9:153-168.
9. Kaye B, Offerman JL, Reid JL, Elliott HL, Hillis WS. A species difference in the presystemic metabolism of carbazeren in dog and man. *Xenobiotica*. 1984;14:935-945.
 10. Miyamoto M, Iwasaki S, Chisaki I, et al. Comparison of predictability for human pharmacokinetics parameters among monkeys, rats, and chimeric mice with humanised liver. *Xenobiotica*. 2017;47:1052-1063.
 11. Sanoh S, Horiguchi A, Sugihara K, et al. Prediction of in vivo hepatic clearance and half-life of drug candidates in human using chimeric mice with humanized liver. *Drug Metab Dispos*. 2012;40:322-328.
 12. Gordon GR, Peters JH, Ghoull DC, et al. Disposition of dapsone and monoacetyldapsone in rats. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1975;150:485-492.
 13. Hekman P, Rens P, Rietvel EC, Coert A. Pharmacokinetics and bioavailability of dapsone in the beagle dog. *Journal of Small Animal Practice*. 1989;30:92-95.
 14. Di L, Trapa P, Obach RS, et al. A novel relay method for determining low-clearance values. *Drug Metab Dispos*. 2012;40:1860-1865.
 15. Chan TS, Yu H, Moore A, Khetani SR, Tweedie D. Meeting the Challenge of Predicting Hepatic Clearance of Compounds Slowly Metabolized by Cytochrome P450 Using a Novel Hepatocyte Model, HepatoPac. *Drug Metab Dispos*. 2019;47:58-66.
 16. Hutzler JM, Ring BJ, Anderson SR. Low-Turnover Drug Molecules: A Current Challenge for Drug Metabolism Scientists. *Drug Metab Dispos*. 2015;43:1917-1928.
 17. Jolivet LJ, Ward KW. Extrapolation of human pharmacokinetic parameters from rat, dog, and monkey data: Molecular properties associated with extrapolative success or failure. *J Pharm Sci*. 2005;94:1467-1483.
 18. Hammond KP, Nielsen C, Linnebur SA, et al. Priapism induced by boceprevir- CYP3A4 inhibition and alpha-adrenergic blockade: case report. *Clin Infect Dis*. 2014;58:e35-38.
 19. Chung WG, Park CS, Roh HK, Lee WK, Cha YN. Oxidation of ranitidine by isozymes of flavin-containing monooxygenase and cytochrome P450. *Jpn J Pharmacol*. 2000;84:213-220.
 20. Paine SW, Menochet K, Denton R, McGinnity DF, Riley RJ. Prediction of human renal clearance from preclinical species for a diverse set of drugs that exhibit both active secretion and net reabsorption. *Drug Metab Dispos*. 2011;39:1008-1013.
 21. Eddershaw PJ, Chadwick AP, Highton DM, et al. Absorption and disposition of ranitidine hydrochloride in rat and dog. *Xenobiotica*. 1996;26:947-956.
 22. Fleishaker JC. Clinical pharmacokinetics of reboxetine, a selective norepinephrine

- reuptake inhibitor for the treatment of patients with depression. *Clin Pharmacokinet.* 2000;39:413-427.
23. Takahashi M, Washio T, Suzuki N, et al. Characterization of Gastrointestinal Drug Absorption in Cynomolgus Monkeys. *Molecular Pharmaceutics.* 2008;5:340-348.
 24. Koyanagi T, Nakanishi Y, Murayama N, et al. Age-related changes of hepatic clearances of cytochrome P450 probes, midazolam and R-/S-warfarin in combination with caffeine, omeprazole and metoprolol in cynomolgus monkeys using in vitro-in vivo correlation. *Xenobiotica.* 2015;45:312-321.
 25. Shen C, Huang X, Li J, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions of aspirin with warfarin in beagle dogs. *Xenobiotica.* 2016;46:530-541.
 26. Tan ML, Yoshida K, Zhao P, et al. Effect of Chronic Kidney Disease on Nonrenal Elimination Pathways: A Systematic Assessment of CYP1A2, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19, and OATP. *Clin Pharmacol Ther.* 2018;103:854-867.
 27. Poulin P, Hop CE, Ho Q, et al. Comparative assessment of In Vitro-In Vivo extrapolation methods used for predicting hepatic metabolic clearance of drugs. *J Pharm Sci.* 2012;101:4308-4326.
 28. Lopez-Bustamante LG, Troconiz JI, Fos D. Effect of uraemia and anephric state on the pharmacokinetics of tenoxicam in the rat. *J Pharm Pharmacol.* 1992;44:898-901.
 29. Guentert TW, Schmitt M, Defoin R. Acceleration of the elimination of tenoxicam by cholestyramine in the dog. *J Pharmacol Exp Ther.* 1986;238:295-301.
 30. Gaspari F, Bonati M. Interspecies metabolism and pharmacokinetic scaling of theophylline disposition. *Drug Metab Rev.* 1990;22:179-207.
 31. Nishimura T, Kato Y, Amano N, et al. Species difference in intestinal absorption mechanism of etoposide and digoxin between cynomolgus monkey and rat. *Pharm Res.* 2008;25:2467-2476.
 32. Gascon AR, Calvo B, Hernandez RM, Dominguez-Gil A, Pedraz JL. Interspecies scaling of cimetidine-theophylline pharmacokinetic interaction: interspecies scaling in pharmacokinetic interactions. *Pharm Res.* 1994;11:945-950.
 33. Akabane T, Tabata K, Kadono K, et al. A comparison of pharmacokinetics between humans and monkeys. *Drug Metab Dispos.* 2010;38:308-316.
 34. Rodgers T, Rowland M. Mechanistic approaches to volume of distribution predictions: understanding the processes. *Pharm Res.* 2007;24:918-933.
 35. Mandula H, Parepally JM, Feng R, Smith QR. Role of site-specific binding to plasma albumin in drug availability to brain. *J Pharmacol Exp Ther.* 2006;317:667-675.
 36. Kimura K, Hirayama F, Uekama K. Characterization of tolbutamide polymorphs (Burger's forms II and IV) and polymorphic transition behavior. *J Pharm Sci.*

- 1999;88:385-391.
37. Fuse E, Kuwabara T, Sparreboom A, Sausville EA, Figg WD. Review of UCN-01 development: a lesson in the importance of clinical pharmacology. *J Clin Pharmacol*. 2005;45:394-403.

本論文に関連した学会発表

第 36 回日本薬物動態学会

2021 年 12 月 17 日 (金) オンライン

Oral presentation

In vivo approach using chimeric mice with humanized livers to overcome the challenges in predicting human pharmacokinetics of low-clearance compounds

Kosuke Yoshida^{1,2}, Yuki Doi¹, Norihiko Iwazaki¹, Hidenori Yasuhara¹, Yuka Ikenaga¹, Hidetoshi Shimizu¹, Tomohisa Nakada¹, Tomoko Watanabe¹, Chise Tateno³, Seigo Sanoh^{2,4} and Yaichiro Kotake²

¹DMPK Research Laboratories, Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation

²Graduate School of Biomedical and Health Sciences, Hiroshima University

³PhoenixBio Co., Ltd.

⁴School of Pharmaceutical Sciences, Wakayama Medical University

第 37 回日本薬物動態学会

2022 年 11 月 9 日 (木) 神奈川

ランチョンセミナー

低クリアランス化合物のヒト薬物動態予測におけるヒト肝キメラマウスの活用

吉田 光佐

基礎となる原著論文

Yoshida, K.: Doi, Y.: Iwazaki, N.: Yasuhara, H.: Ikenaga, Y.: Shimizu, H.: Nakada, T.: Watanabe, T.: Tateno, C.: Sanoh, S.: Kotake, Y., Prediction of human pharmacokinetics for low-clearance compounds using pharmacokinetic data from chimeric mice with humanized livers. Clin Transl Sci 2022, 15 (1), 79-91.

謝辞

本研究の遂行にあたり、終始御懇篤なる御助言を頂きました 広島大学 大学院医系科学研究科 薬学部 古武 弥一郎 教授に謹んで感謝を申し上げます。

そして、本研究を進めるにあたり、数々の貴重な御助言ならびに御指導を頂きました、和歌山県立医科大学薬学部 佐能 正剛 准教授に厚く御礼申し上げます。

本研究の遂行にあたり、幅広い見地・経験からのご意見を賜りました 株式会社フェニックスバイオ 立野 知世 博士に心より感謝を申し上げます。

本研究の遂行にあたり、数々の御助言、御協力を賜りました Certara Dr Helen Musther、Dr Frederic Bois、Dr Anthonia Onasanwo に心より感謝を申し上げます。

本研究において、審査及び御助言を賜りました 広島大学 大学院医系科学研究科 内田 康雄 教授、 大学院医系科学研究科 松尾 裕彰 教授、 大学院医系科学研究科 猪川 和朗 准教授に厚く御礼申し上げます。

本研究に際して、数々の御助言、御協力を賜りました 田辺三菱製薬株式会社 土井 雄貴 博士、岩崎 紀彦 博士、安原 秀典 博士、池永 有香 博士、清水 秀俊 博士、中田 智久 博士、申 偉琳 博士、渡邊 友子 博士ならびに田辺三菱製薬株式会社の皆様に心より感謝を申し上げます。

そして、学生生活において温かいご支援をいただきました 広島大学 生体機能分子動態学研究室の皆様に心より感謝を申し上げます。

最後に、このような勉強をする環境を与え、支えてくれた家族に心から感謝致します。