

博士学位論文

クラスターガウスニュートン法を用いた
リナグリプチンの生理学的薬物速度論モデル解析による
DPP-4 の動態と全身分布の解明

令和 6 年度

横浜薬科大学大学院薬学研究科
薬学専攻博士課程

中村 亮

目次

1. 序論	4
2. ラットの PBPK-CGNM 解析	7
2.1. 緒言	7
2.2. 方法	8
2.2.1. 解析に用いたデータの詳細	8
2.2.2. PBPK モデルの構造	10
2.2.3. LNG の DPP-4 特異的分布と非特異的分布の特定	13
2.2.4. PBPK-CGNM 解析に用いた方法	15
2.2.5. 解析の概要	18
2.3. 結果	22
2.3.1. ラットのオートラジオグラフィデータの PBPK-CGNM 解析	22
2.3.2. ラットの血漿中 LNG 濃度の PBPK-CGNM 解析	26
2.4. 考察	31
3. ヒトの PBPK-CGNM 解析	33
3.1. 緒言	33
3.2. 方法	34
3.2.1. 解析に用いたデータの詳細	34
3.2.2. PBPK モデルの構造	34
3.2.3. ラットで推定された tDpp-4 分布のヒトへの適用	36
3.2.4. ヒト血漿中 LNG 濃度推移のノンコンパートメント解析	36
3.2.5. PBPK-CGNM 解析に用いた方法	38
3.2.6. 解析の概要	38
3.2.7. 感度分析	38
3.3. 結果	40
3.3.1. ヒト臨床試験データのノンコンパートメント解析	40
3.3.2. 推定パラメータセットのカットオフおよび推定パラメータセットを用いたシミュレーションと実測データの比較	41
3.3.3. パラメータ推定値の分布と特定可能性	45
3.3.4. 先行研究で構築された PBPK モデルとの予測性能の比較	46
3.3.5. 解析に用いなかった臨床試験データに対する PBPK モデルの予測性能	48
3.3.6. 異なる仮定をおいた PBPK-CGNM 解析による DPP-4 依存性腎再吸収の不可欠性の確認	49
3.3.7. 感度分析	51
3.4. 考察	58

4. 他の DPP-4 阻害薬への応用	62
4.1. 緒言	62
4.2. 方法	66
4.2.1. PBPK モデルの構造	66
4.2.2. ビルダグリプチンの代謝物の考慮	67
4.3. 結果	69
4.3.1. シタグリプチンの PBPK-CGNM 解析	69
4.3.2. ビルダグリプチンの PBPK-CGNM 解析	73
4.3.3. オマリグリプチンの PBPK-CGNM 解析	76
4.4. 考察	79
5. 総括	81
6. 利益相反	83
7. 引用文献	83
8. 謝辞	86
9. SUPPLEMENT	87

略語一覧

[¹⁴ C]LNG	¹⁴ C 標識リナグリプチン
AUC	曲線下面積
AUC ₀	非結合型血漿中 LNG 濃度に基づく曲線化面積
CGNM	Cluster Gauss-Newton 法
CL _R	腎クリアランス
CL _{R,u}	非結合型血漿中 LNG 濃度に基づく腎クリアランス
CL _{reab,DPP4}	DPP-4 依存性腎再吸収クリアランス
DPP-4	dipeptidyl peptidase-4
EHC	腸肝循環
f _p	血漿タンパク結合率
GIP	glucose-dependent insulinotropic polypeptide
GLP-1	glucagon-like peptide-1
K _p	血漿-組織分配係数
Likelihood	尤度
LNG	リナグリプチン
MAT	平均吸収時間
OCT2	有機カチオントランスポーター2
OMG	オマリグリプチン
P-gp	P-糖タンパク質
PBPK	生理学的薬物速度論
sDPP-4	可溶型 DPP-4
SSR	残差平方和
STG	シタグリプチン
tDPP-4	膜貫通型 DPP-4
TMDD	標的依存性非線形性体内動態
VLG	ビルダグリプチン

1. 序論

リナグリプチン (LNG) は 2 型糖尿病治療薬として臨床で広く利用される dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) 阻害薬である。LNG は他の DPP-4 阻害薬と比較して DPP-4 に対する結合親和性が高く¹、DPP-4 への飽和性の結合に由来する標的依存性非線形性体内動態 (TMDD) を示す²。ヒトでは血漿中濃度推移と尿中未変化体排泄量推移の非線形性^{3,4}が報告されているほか、マウスでも尿中未変化体排泄量の非線形性が報告されている⁵。一方、Dpp-4 ノックアウトマウスでは尿中未変化体排泄量の非線形性が見られなくなる⁵ことから、この現象に DPP-4 が関与していることが示唆される。さらに、ヒトの非結合型血漿中 LNG 濃度に基づく腎クリアランス ($CL_{R,u}$) を計算すると、 $CL_{R,u}$ は依然として非線形性を示す⁶ことから、尿中未変化体排泄量の非線形性は血漿中 DPP-4 の結合飽和では説明できないと考えられる。これらの知見から、尿中未変化体排泄率の非線形性には DPP-4 が関与するものの、血漿中 DPP-4 との飽和性結合以外の機序を通して関与していることが推察される。

DPP-4 は CD26 としても知られるエンドペプチダーゼであり、DPP-4 阻害薬の薬効標的である。DPP-4 は循環血中に存在する可溶性 DPP-4 (sDPP-4) ならびに組織中の細胞膜表面に存在する膜貫通型 DPP-4 (tDPP-4) として全身に広く存在する。生体内では大部分が tDPP-4 として存在し、特に腎臓の刷子縁膜上に高発現している⁷。また、DPP-4 は glucagon-like peptide-1 (GLP-1) 及び glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) 等の様々なペプチドを切断する酵素として機能するほか、炎症反応や組織の繊維化に関わるシグナル伝達等の非酵素的機能を持つことも報告されている⁷。さらに、Caco-2 細胞を用いた実験では、DPP-4 が細胞質内に回収された後に再び細胞膜上に挿入され、再利用されていることが明らかになっている⁸。DPP-4 の分布およびエンドサイトーシスによる内在化等の動態を明らかにすることは、これらの DPP-4 の非酵素的機能の解明に役立つと考えられる。

我々はこれまでの研究²で、血漿中 LNG 濃度推移および尿中 LNG 排泄量推移を含むヒト臨床試験データを用いて生理学的薬物速度論 (PBPK) モデル解析を行い、DPP-4 依存性の腎再吸収が存在する可能性を示してきた²。DPP-4 はトランスポーターではないことから、DPP-4 依存性の腎再吸収は、尿細管上で形成された DPP-4-LNG 複合体が、エンドサイトーシスによって細胞内に内在化することで生じていると予想される。我々の以前の研究で得られたこの知見は、LNG の PBPK モデル解析を通して、DPP-4 の体内動態を明らかにできる可能性を示唆するものであった。

我々の以前の研究は、PBPK モデルによって LNG の体内動態を記述することに主軸をおいたものであったが、本研究では LNG の体内動態の PBPK モデル解析を通して、DPP-4 の分布と動態を推定することを目的とし、ヒトでの tDPP-4 分布の推定ならびに

DPP-4 のエンドサイトーシスに関連すると推察される DPP-4 依存性腎再吸収クリアランスの推定を試みた。

ヒトでの DPP-4 の分布と動態を明らかにするにあたって、本研究では、いくつかの新しいアプローチを取り入れた。一つ目は Cluster Gauss-Newton 法による初期値依存性の克服、二つ目は *in vitro* データを統合したパラメータ推定による生理学的妥当性の確保、三つ目は動物実験データとヒト臨床試験データの包括的解析による全身の tDPP-4 分布の考慮である。Cluster Gauss-Newton 法 (CGNM) は、Aoki らによって開発された初期値依存性の少ないパラメータ推定アルゴリズム⁹であり、複数の初期値の組み合わせからパラメータ推定を開始し、複数の推定値の組み合わせが得られる。そのため CGNM では、PBPK モデルのような複雑な数理モデルにおいても頑健なパラメータ推定を行うことが可能となる。また、本研究では、*in vitro* 実験値を参照しながらパラメータ推定を行う手法 (ペナルティ付き推定法) を併用することで、生理学的に妥当でない推定値が得られることを回避した。本研究では、これらの手法を組み合わせた頑健な PBPK モデル解析 (PBPK-CGNM 解析) を用いて、動物実験データとヒト臨床試験データの包括的な解析を行うことで、ヒトでの tDPP-4 分布および DPP-4 依存性腎再吸収を推定した。

本論文は3つの章で構成される。「2. ラットの PBPK-CGNM 解析」では、野生型および Dpp-4 欠損ラットでのオートラジオグラフィデータと血漿中 LNG 濃度推移データの解析についてそれぞれ述べる。ここでは、Dpp-4 依存性腎再吸収を組み入れたラットの PBPK モデルによって、全身の LNG 分布を含むラットでの体内動態が記述できることを確認すると同時に、ラットでの tDpp-4 分布を推定した。2つ目の章である「3. ヒトの PBPK-CGNM 解析」では、ヒト臨床試験データの解析について述べる。ここでは、前章のラットの解析で推定した tDpp-4 分布を根拠に、ヒトでの tDPP-4 分布を推定すると同時に、ヒトでの種々の臓器/組織中の tDPP-4 を考慮してもなお、DPP-4 依存性腎再吸収によってヒトでの LNG の体内動態が記述できることを確認した。3つ目の章である「4. 他の DPP-4 阻害薬への応用」では、シタグリプチン、ビルダグリプチン、およびオマリグリプチンの解析について述べる。ここでは、LNG の解析で推定したヒトでの tDPP-4 分布および DPP-4 依存性腎再吸収に基づいて、DPP-4 阻害薬の共通 PBPK モデルを構築し、複数の DPP-4 阻害薬の体内動態が一貫して記述可能であることを確認した。

2. ラットの PBPK-CGNM 解析

2.1. 緒言

ラットでは、 $[^{14}\text{C}]$ LNG 投与時の全身オートラジオグラフィーが報告されており¹⁰、野生型および Dpp-4 欠損ラットに対して複数用量の $[^{14}\text{C}]$ LNG を静脈内投与した際の、種々の臓器/組織中の $[^{14}\text{C}]$ LNG 濃度が測定されている。この報告では、野生型ラットでの臓器/組織中の $[^{14}\text{C}]$ LNG 濃度は、組織中の tDpp-4 による濃縮を受けることで、Dpp-4 欠損ラットと比較して非常に高くなることが示されている。またこの濃縮は、Dpp-4 の結合飽和が起こることで、投与量の増加に伴って減弱する。これらの現象は、LNG の Dpp-4 依存的な非線形性の組織分布を捉えたものと考えられ、これらのデータに基づく PBPK-CGNM 解析によって、tDpp-4 の臓器/組織分布の情報が得られると期待される。

ラットでは、オートラジオグラフィーデータに加え、野生型および Dpp-4 欠損ラットでの非線形性の血漿中 LNG 濃度推移が報告されている¹¹。この報告では、Dpp-4 による飽和性の結合によって、野生型ラットでの血漿中 LNG 濃度が Dpp-4 欠損ラットよりも高く、また半減期も延長することが示されている。これらの血漿中 LNG 濃度データに基づく PBPK-CGNM 解析からは、Dpp-4 による飽和性の結合が血漿中 LNG 濃度に対して与える影響について、知見を得ることができると期待される。

本章では、オートラジオグラフィーデータに基づく解析と、血漿中 LNG 濃度推移データの解析についてそれぞれ述べる。オートラジオグラフィーデータの解析では、Dpp-4 依存性腎再吸収を仮定した PBPK モデルを用いて PBPK-CGNM 解析を行うことで、全身の tDpp-4 分布を推定し、同時に、Dpp-4 依存性腎再吸収の仮説がラットの TMDD をも記述できることを確認した。血漿中 LNG 濃度データの解析では、オートラジオグラフィーデータの解析で推定された全身の tDpp-4 分布を用いて、血漿中 LNG 濃度データの解析を行い、オートラジオグラフィーデータから推定された tDpp-4 分布が、血漿中 LNG 濃度の TMDD をも記述可能であることを確認した。

2.2. 方法

2.2.1. 解析に用いたデータの詳細

2.2.1.1. 野生型および Dpp-4 欠損ラットのオートラジオグラフィデータ

臓器中の $[^{14}\text{C}]$ LNG 濃度プロファイルおよび尿・糞中の排泄データを含むオートラジオグラフィデータは既報文献¹⁰から入手した。データは、セット1、セット2、およびセット3からなる3つのセクションで構成される。セット1は、2 mg/kg の LNG を単回静脈内投与した後の経時的な臓器/組織中 $[^{14}\text{C}]$ LNG 濃度推移、セット2は、0.01 から 50 mg/kg の LNG を単回静脈内投与後、72 時間経過後の臓器/組織中 $[^{14}\text{C}]$ LNG 濃度である。セット1およびセット2はいずれも、野生型および Dpp-4 欠損の Fischer ラットで測定されたデータからなる。セット3は野生型 Sprague-Dawley ラットに 2 mg/kg/day の LNG を反復経口投与後した際の尿・糞中の排泄データである。セット3のデータは Day1、Day2、Day3、および Day14 での測定値を含むが、Day3 までのデータを使用することで LNG の物質収支 (Mass-balance) を十分に説明可能であると考え、本研究では Day1、Day2、Day3 のデータのみを解析に使用した。解析データの詳細は Table 1 に示した。

2.2.1.2. 野生型および Dpp-4 欠損ラットの血漿中 LNG 濃度推移データ

野生型および Dpp-4 欠損 Fischer ラットの血漿中 LNG 濃度推移は、既報文献¹¹から入手した。このデータは、野生型ラットでは 0.01 から 50 mg/kg、Dpp-4 欠損ラットでは 0.1 から 50 mg/kg の LNG を静脈内投与した際の血漿中 LNG 濃度推移である。このデータは尿・糞中の排泄データを含まないため、オートラジオグラフィデータのセット3のデータを含めて解析に使用した。解析データの詳細は Table 1 に示した。

Table 1. 解析に用いたデータの概要.

Analysis data	Subset	Strain	Administration Route	Analyte	Dose levels	Time points	
Autoradiography data of the wild-type and DPP-4 deficient rats	Set1	Wild-type and DPP-4 deficient	i.v.	blood, kidney, liver, lung, pancreas, reproductive organs, salivary gland, skin, spleen, thymus	single bolus administration 2 mg/kg	3, 24, 168 h	
	Set2	Wild-type	i.v.	kidney, liver, lung, skin, spleen, salivary gland, thymus	single bolus administration 0.01, 0.1, 0.3, 1, 10, 50 mg/kg	24 h	
		DPP-4 deficient	i.v.	kidney, liver, lung, skin, spleen, salivary gland, thymus	single bolus administration 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 50 mg/kg		
Set3	Wild-type			feces, urine	multiple oral administration 2 mg/kg/day	Day1, Day2, Day3	
Plasma concentration profiles of the wild-type and DPP-4 deficient rats	-	Wild-type		plasma	0.01, 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 50 mg/kg for wild-type	0.033, 0.167, 1, 4, 8, 24, 48, 72 h	
		DPP-4 deficient		plasma	0.1, 0.3, 1, 3, 10, 50 mg/kg for DPP-4 deficient		
Clinical trial data of humans	-	-	i.v.	plasma	infusion (1.5 h) 0.5, 2.5, 5, 10 mg	0.5, 1, 1.5, 1.52, 1.57, 1.65, 1.75, 2, 2.25, 2.5, 3, 3.5, 4, 5, 6, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96, 120 h	
				urine			
				feces	5 mg		120 h
			p.o.	plasma	1, 2.5, 5, 10 mg	0.5, 1, 1.5, 1.52, 1.57, 1.65, 1.75, 2, 2.25, 2.5, 3, 3.5, 4, 5, 6, 8, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 168, 192 h	
				feces	10 mg	48, 120 h	

2.2.2. PBPK モデルの構造

ラットの PBPK モデルは、ラットのオートラジオグラフィーで報告された各臓器/組織内の LNG 濃度推移を記述可能なモデルとして構築した。PBPK モデルの概念図を Figure 1 に、生理学的パラメータを Table S 1 にそれぞれ示した。また、PBPK モデルで仮定した生理学的なメカニズムを以前の研究での PBPK モデルと比較し、Table 2 に示した。

本研究で構築したラットの PBPK モデルでは、肺、生殖器、唾液腺、胸腺、皮膚、消化管、脾臓、膵臓、肝臓、および腎臓からなる種々の臓器を組み入れ、これらの臓器/組織での tDpp-4 特異的な結合を記述した。tDpp-4 発現量が比較的低い臓器は Remainder コンパートメントにまとめた。Remainder コンパートメントの容積は、前述の tDpp-4 を持つ臓器の合計容積を、ラットの標準的な体容積から差し引いた容積とした。また、Remainder コンパートメントでは tDpp-4 による結合を考慮せず、sDpp-4 による結合のみを考慮した。脾臓は tDpp-4 発現量が比較的低いため tDpp-4 による結合を考慮していないが、肝血流を正確にモデル化するために、Remainder コンパートメントに含めず独立したコンパートメントとして残した。

肝臓コンパートメントは、肝固有クリアランスと肝クリアランスの関係を適切に記述¹²することを目的として 5 つのコンパートメントに分割した。LNG の主要な排泄経路は胆汁排泄であるため、肝固有クリアランス ($CL_{int,h}$) のうち胆汁排泄クリアランス (CL_{bile}) の占める割合を f_{bile} として定義し、 f_{bile} を未知パラメータとして推定した。本研究のモデルでは、胆汁排泄された LNG が腸肝循環 (EHC) コンパートメントを通過して再び十二指腸コンパートメントに流入することで、腸肝循環による血中半減期の延長が記述される。

消化管コンパートメントは、管腔コンパートメント (lumen)、腸細胞コンパートメント (enterocyte)、および漿膜血コンパートメント (mucosal blood) からなる segregated flow model¹³ を適用し、lumen および mucosal blood では tDpp-4 による結合を考慮した。

腎臓コンパートメントは、以前の研究での PBPK モデル²と同様に、尿細管腔コンパートメント (duct) および細胞と血管をまとめたコンパートメント (cell+vessel) で構成され、duct コンパートメントには Dpp-4 依存性腎再吸収を組み入れた。Duct コンパートメントでは、尿細管上の tDpp-4 と LNG の結合によって tDpp-4-LNG 複合体が形成され、この複合体が一定のクリアランス ($CL_{reab,DPP4}$) で再吸収されると仮定した。 $CL_{reab,DPP4}$ は Michaelis-Menten 式によって記述される飽和性のクリアランスではないが、本研究のモデルでは、tDpp-4-LNG 複合体の形成が飽和性の過程で記述されているため、Dpp-4 依存性腎再吸収もまた飽和性をもつ。

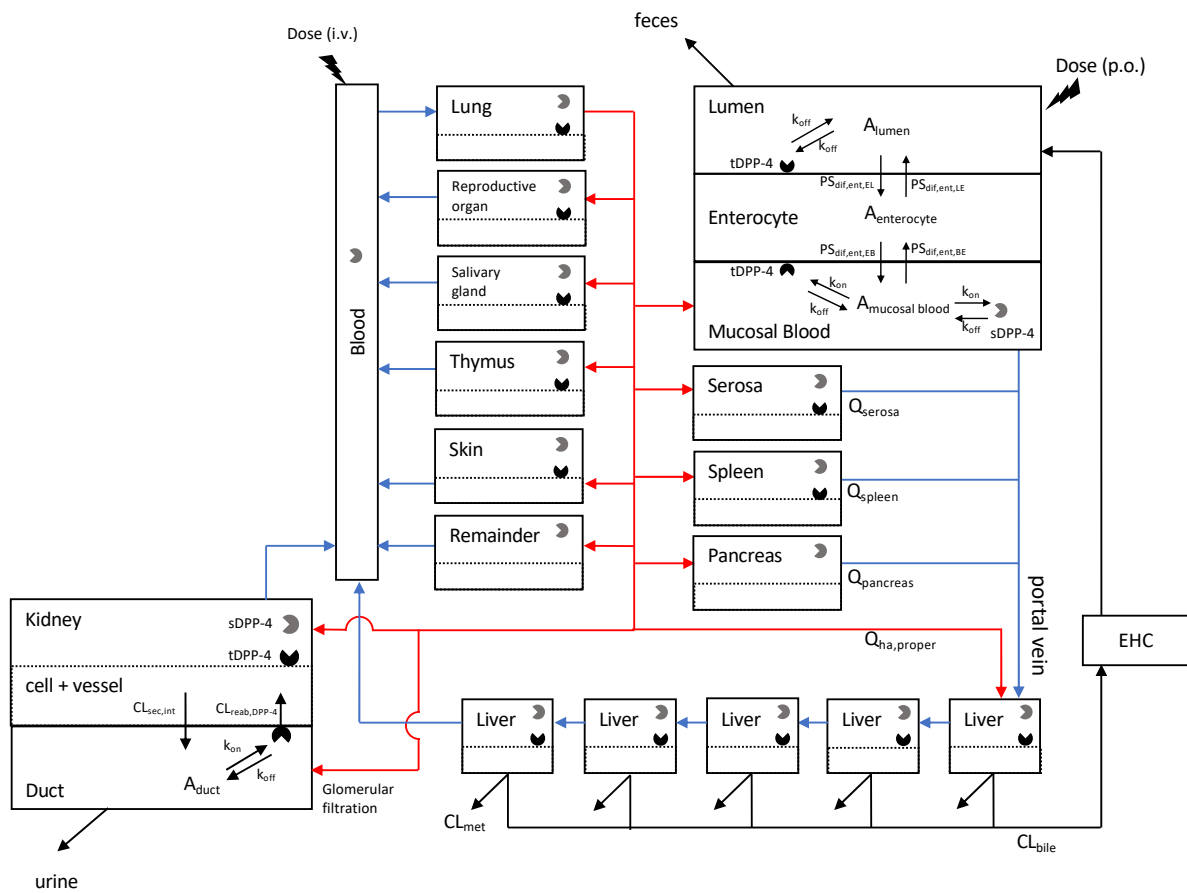


Figure 1. ラットの PBPK モデルの概念図

A_{lumen} , 消化管腔の LNG 量; $A_{enterocyte}$, 消化管細胞の LNG 量; $A_{mucosal\ blood}$, 消化管粘膜血の LNG 量; EHC, 腸肝循環コンパートメント; $PS_{dif,ent,EL}$, 消化管細胞から消化管腔への膜透過クリアランス; $PS_{dif,ent,LE}$, 消化管腔から消化管細胞への膜透過クリアランス; $PS_{dif,ent,EB}$, 消化管細胞から消化管粘膜血への膜透過クリアランス; $PS_{dif,ent,BE}$, 消化管粘膜血から消化管細胞への膜透過クリアランス; k_{on} , DPP-4 に対する LNG の結合速度定数; k_{off} , DPP-4 に対する LNG の解離速度定数; tDPP-4, 膜貫通型 DPP-4; sDPP-4, 可溶性 DPP-4; $CL_{reab,DPP-4}$, DPP-4 依存性腎再吸収クリアランス; $CL_{sec,int}$, 腎分泌クリアランス; $Q_{tissues}$, 臓器/組織の血流速度.

$$CL_{met} = CL_{int,h} * (1 - f_{bile}); CL_{bile} = CL_{int,h} * f_{bile}.$$

Table 2. 以前の研究と本研究の PBPK モデルで仮定した生理学的メカニズムの比較

	PBPK modeling by Sarashina et al (2009)		Present PBPK modeling	
	Model mechanisms	Corresponding parameters	Model mechanisms	Corresponding parameters
DPP-4 binding	Saturable binding. Rapid equilibrium.	K_d	Saturable binding. Time-dependent binding kinetics.	k_{on} , k_{off}
Tissue tDPP-4	tDPP-4 in kidney and muscle were incorporated.	N_{imus} , N_{lk}	tDPP-4 in kidney, liver, lung, reproductive organs, salivary gland, skin, spleen, and thymus were incorporated.	$A_{tDPP4,skin}$, $A_{tDPP4,liver}$, $A_{tDPP4,spleen}$, $A_{tDPP4,lung}$, $A_{tDPP4,reprod}$, $A_{tDPP4,thymus}$, $A_{tDPP4,saliv}$, $A_{tDPP4,kidney}$ * Estimated in the analysis of rat autoradiography data.
Liver compartment	Single liver model		5-liver model ³³	
Intestine compartment	Segregated flow model ³⁴		3-segmented segregated flow model ³⁹	
Drug effect on gastrointestinal motility	-	-	Incorporated based on the dose-dependent delay on mean absorption time (MAT) delay.	$rAlpha$
Penalized estimation method	-	-	DPP-4 binding parameters were estimated referencing <i>in vitro</i> experimental values (penalized estimation method).	k_{on} , k_{off} , K_d , A_{sDPP4}

2.2.3. LNG の DPP-4 特異的分布と非特異的分布の特定

脂肪組織、腸、腎臓、肺、筋肉、膵臓、脾臓、胸腺の組織対血漿濃度比 (K_p) は、物理化学的パラメータに基づく *in silico* 計算^{14, 15, 16} を使用して決定した。生殖器、唾液腺、および Remainder コンパートメントの K_p は *in silico* で計算できなかったため、ラットのオートラジオグラフィデータの解析で未知パラメータとして推定した。肝臓の K_p は、*in silico* 計算が可能であるが、ラットのオートラジオグラフィで想定外の高濃度 (Figure 2) が観察されるため未知パラメータとして推定した。

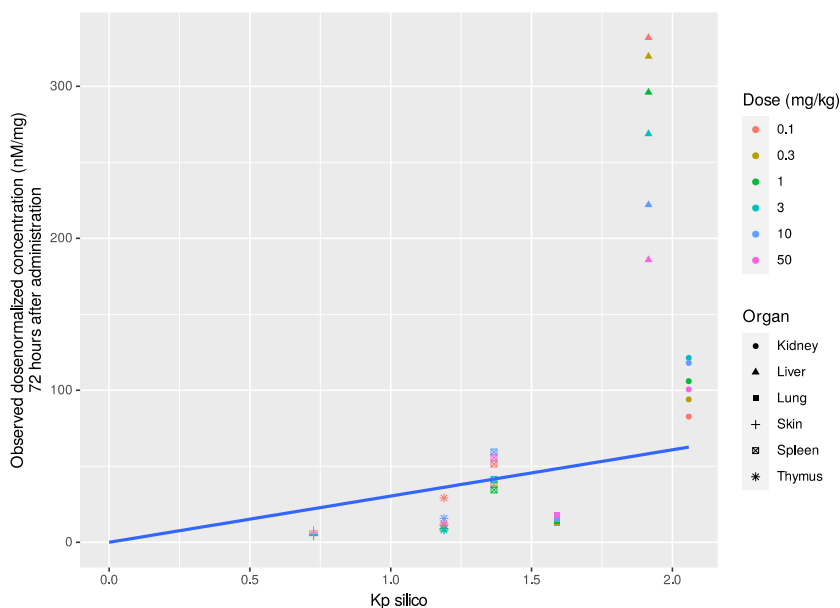


Figure 2. 各臓器/組織の LNG 濃度 (実測) と *in silico* K_p の関係

青色の実線は肝臓の LNG 濃度を除いた回帰直線を示す。

K_p の *in silico* 計算値は血漿タンパク結合率 (f_p) に依存する。LNG は DPP-4 に対して飽和性の結合を示すため、 f_p が濃度依存的に変動する。そこで本研究では、*in vitro* 実験で観察された最大の f_p ($= 0.227$)⁵ を用いて K_p を算出した。過剰量の LNG 投与时、DPP-4 による特異的な結合は飽和し、非特異的な結合が支配的となる。これは、野生型ラットのオートラジオグラフィデータにおいて、高用量の LNG 投与时の臓器/組織中 LNG 濃度が、Dpp-4 欠損ラットでの濃度に近づくことから確認される。したがって、高用量の LNG 投与时の最大の f_p は、DPP-4 非特異的な結合を記述するものであり、このときの f_p を用いて計算される K_p は、DPP-4 非特異的な臓器/組織分布を記述するパラメータとみなすことができる。

sDpp-4 は腸細胞、EHC、および腎尿細管コンパートメントを除くすべてのコンパートメントに対して、臓器毎の毛細血管容積に基づいて組み入れ、sDpp-4 の総量 (A_{sDPP4}) を未知パラメータとして推定した。各臓器の毛細血液容積は、既報の臓器毎の血管容積の割合¹⁷ (f_{Vessel}) に基づいて決定した。ラットおよびヒトでの各臓器の f_{Vessel} は Table S 1 および Table S 2 にそれぞれ示した。

tDpp-4 は、オートラジオグラフィーで用量依存的な LNG 濃度データ (セット 2) が報告されている臓器/組織 (腎臓、肝臓、肺、皮膚、脾臓、顎下腺、胸腺) に組み入れた。生殖器は用量依存的な LNG 濃度データが報告されていない臓器であるが、経時的な LNG 濃度推移 (セット 1) で検出限界以下のデータを含まない完全な濃度推移が得られていたため tDpp-4 を組み入れた。結果として tDpp-4 は腎臓、肝臓、肺、皮膚、脾臓、顎下腺、胸腺、および生殖器に組み入れ、tDpp-4 の総量を未知パラメータとして推定した。

オートラジオグラフィーデータには消化管の LNG 濃度データが含まれず、消化管の tDpp-4 発現量を推定することは困難と予想される。そのため、消化管の tDpp-4 量は、消化管-肝臓間の tDpp-4 量比 (rGL) を用いて、肝臓の tDpp-4 量に rGL を乗じることで決定した。rGL は実験により測定された消化管および肝臓の Dpp-4 活性に基づいて算出した。ここでは Dpp-4 活性比が Dpp-4 濃度比に対応すると仮定し、肝臓に対する消化管 Dpp-4 濃度の比を 1.17 と算出した。臓器容積に基づいて Dpp-4 濃度比を Dpp-4 量比 (rGL) に換算し、rGL として 0.291 を得た。

消化管および腎臓には管腔が存在するため、各臓器の tDpp-4 量のうち、管腔に発現するものの割合をそれぞれ $f_{lumen,gut}$ および $f_{lumen,kidney}$ と定義し、それぞれ未知パラメータとして推定した。

2.2.4. PBPK-CGNM 解析に用いた方法

2.2.4.1. PBPK モデルパラメータの推定に用いたアルゴリズム

PBPK モデルパラメータの推定には、R 4.3.2 および R パッケージ版の CGNM 0.6.5 (<https://cran.r-project.org/web/packages/CGNM/index.html>) を用いた。CGNM は、観測値とモデル予測値の残差二乗和 (SSR) (式1) を最小化する非線形最小二乗法的一种である。CGNM は、複数の初期パラメータセットを生成して同時にパラメータ推定を行うことで、複数の推定パラメータセットを見出すことが可能という特徴を持つ。

$$SSR = \sum_{i=1}^n \left(\log_{10}(y_{obs,i}) - \log_{10}(y_{pred,i}) \right)^2 \quad (1)$$

ここで、 $y_{obs,i}$ は i 番目の観測値を、 $y_{pred,i}$ は i 番目の予測値を示す。本研究では 1000 セットの初期パラメータセットを生成し、50 回の最適化計算を繰り返すことで、式1に定義した SSR が最小となる複数の候補解を得た。解析時の設定の詳細は、解析に用いたプログラム (Supplementary Program 1~3) に示した。

複数の初期値からパラメータ推定を行うことで複数の推定パラメータセットを得ることができるという CGNM の特徴は、これまで用いられてきた非線形最小二乗法 (e.g. Gauss-Newton 法) で課題とされてきた初期値依存性の問題を改善するものと期待されている。初期値依存性とは、パラメータ推定を行う際に与える初期値に依存して、得られる推定パラメータの値が変化する現象である。CGNM は、解が唯一であるということを仮定せず、複数の初期パラメータの組み合わせを生成し、同時に SSR の最小化計算を実行することで、複数の推定パラメータセットを見出すことが可能である。得られた複数の推定パラメータセットに基づいて、各パラメータ推定値の分布を視覚化することによって、推定値が狭い範囲に分布するパラメータと、そうでないパラメータを識別することが可能となる。パラメータ推定値の分布が狭い範囲に分布する場合、PBPK モデルが観測データ (e.g. 血漿中薬物濃度、尿中未変化体排泄量等) を再現するうえで、そのパラメータのあるべき範囲がごく狭い範囲にあり、すなわちパラメータ推定値が特定可能であることを意味する。逆に、パラメータ推定値が広く分布する場合は、パラメータのあるべき値が一意ではなく、どのような値でも観測データの再現にほとんど影響を与えないことを意味する。この場合、当該パラメータは特定不能ということになる。従来のパラメータ推定法では、特定不能なパラメータの存在が SSR 最小化計算の収束を妨げるため、特定不能なパラメータを何らかの値で固定するなどの対応が取られてきた。しかしながら、どのような場合にパラメータが特定不能と判断し、またどのような値で固定するかという基準は、多くの場合、解析者の経験や主観に依存してきた。CGNM では特定不能なパラメータの共存下でも収束が

妨げられず、特定可能なパラメータについては問題なく推定値を得ることが可能である。こうした CGNM の特徴は、PBPK モデル解析のような、未知パラメータ数の多い高度にパラメータ化されたモデル解析において特に有効である。

2.2.4.2. ペナルティ付き推定法によるパラメータ推定値の制限

本研究の PBPK-CGNM 解析では、推定対象としたパラメータの一部に対して、ペナルティ付き推定法を用いて制限を設けた。ペナルティ付き推定法では、式2に示すように、*in vitro* 実験値とパラメータ推定値の残差を SSR に加える。これは、式1で示した観測値（血漿中薬物濃度、尿中未変化体排泄量等）と予測値（PBPK モデルによる予測値）の残差に、さらに実験値（e.g. K_d の *in vitro* 実験値等）と推定値（e.g. K_d の推定値等）の残差を加えることを意味する。

$$SSR' = \sum_{i=1}^n \left(\log_{10}(y_{obs,i}) - \log_{10}(y_{pred,i}) \right)^2 + \sum_{j=1}^n \left(\log_{10}(\theta_{exp,j}) - \log_{10}(\theta_{estim,j}) \right)^2 \quad (2)$$

ここで、 $\theta_{exp,j}$ は j 番目のパラメータの *in vitro* 実験値を、 $\theta_{estim,j}$ は PBPK-CGNM 解析でのパラメータ推定値をそれぞれ示す。

解離定数 (K_d) を例とした場合、 K_d は PBPK モデルにおいて、LNG と DPP-4 の結合親和性を記述するパラメータであると同時に、*in vitro* での測定が可能な生理学的パラメータでもある。しかしながら、実験系の環境は生体内の環境と異なるため、*in vitro* の K_d と *in vivo* の K_d は異なる場合があり、*in vitro* での測定値を直接 PBPK モデルに適用することは適切でない。ペナルティ付き推定法を用いない従来の PBPK 解析では、モデルの安定性を確保するために、*in vitro* の K_d と *in vivo* の K_d の違いを無視して PBPK モデルの K_d を *in vitro* 実験値で固定するか、もしくは未知パラメータとして推定するかを解析者が選択することとなる。前者の場合では PBPK モデルに誤った仮定をおくことになる可能性があり、後者の場合では生理学的妥当性を伴わない推定値、すなわち SSR を最小化することに特化し、*in vitro* 実験値から大きくかけ離れた値が推定される可能性がある。ペナルティ付き推定法では、*in vitro* 実験値からの乖離がペナルティとして SSR に加算されるため、*in vitro* での K_d と *in vivo* での K_d が異なることを前提としながら、生理学的に妥当な範囲で K_d を推定することが可能となる。

2.2.4.3. PBPK-CGNM 解析で得られた推定パラメータの評価

PBPK-CGNM 解析によって得られた推定パラメータセットは、任意の範囲内でランダムに生成された 1000 セットの初期パラメータセットを元に得られたものである。そのため、推定パラメータセットには観測データを十分に再現できない (SSR' の高い) ものも含まれている。したがって本研究では、 χ^2 検定と Elbow 法を組み合わせ、SSR' のカットオフ値を定め、1000 セットの推定パラメータセットのうち、カットオフ値より低い SSR' を示すパラメータセットを選択した。

パラメータ推定値の分布は、バイオリンプロットを用いて視覚的に確認した。バイオリンプロットは、前述のカットオフに基づいてパラメータセットを選択した後、選択されたパラメータセットを対象に作成した。さらに本研究では、プロファイル尤度プロット¹⁸を組み合わせることで、パラメータが特定可能であるか (特定可能性) を評価した。

プロファイル尤度プロットは、パラメータ推定値に対する $-2 \log \text{likelihood}$ をプロットしたものである。ここで、 $-2 \log \text{likelihood}$ は対数尤度 ($\log \text{likelihood}$) に -2 を乗じたものであり、尤度 (likelihood) は実測値を再現するにあたってのパラメータの尤もらしさを表す指標である。したがって、 $-2 \log \text{likelihood}$ が小さいほど尤度が高いことを意味する。パラメータ値の変化が尤度に影響を与える場合、プロファイル尤度プロットに勾配が見られるようになる。パラメータ値の増加が尤度を改善する場合には負の傾き、逆に、パラメータ値の減少が尤度を改善する場合には正の傾きを示すこととなる。ここで、あるパラメータのプロファイル尤度プロットにおいて、下に凸な曲線が見られる場合、当該パラメータは、極小値を境に増加/減少どちらの方向に変化しても尤度を悪化させるということを意味する。この場合、最も尤度が高いときのパラメータ値が一意に定まるため、このパラメータは特定可能とみなすことができる。逆に、プロファイル尤度プロットが平坦で極小値が視認出来ない場合は、パラメータ値の変化が尤度にほとんど影響しないことを意味し、最も尤度が高いときのパラメータ値は一意に定まらない。この場合、当該パラメータは特定不能とみなすことができる。本研究では、プロファイル尤度プロットで下に凸な曲線が見られたパラメータを、特定可能なパラメータであると判定した。

2.2.5. 解析の概要

ラットのオートラジオグラフィーデータの PBPK-CGNM 解析は、Dpp-4 依存性腎再吸収の仮定をおいた PBPK モデルによって、野生型および Dpp-4 欠損ラットの臓器/組織中 LNG 濃度が記述可能であることを確認すること、ならびにラットでの tDpp-4 分布および K_p 値を推定することを目的とした。この解析では、腎臓、肝臓、肺、生殖器、唾液腺、皮膚、脾臓、および胸腺の tDpp-4 量 ($A_{tDPP4,kidney}$, $A_{tDPP4,liver}$, $A_{tDPP4,lung}$, $A_{tDPP4,reprod}$, $A_{tDPP4,saliv}$, $A_{tDPP4,skin}$, $A_{tDPP4,spleen}$, $A_{tDPP4,thymus}$) ならびに肝臓、生殖器、唾液腺、および Remainder コンパートメントの K_p ($K_{p,h,vivo}$, $K_{p,rep,vivo}$, $K_{p,sal,vivo}$, $K_{p,rem,vivo}$) を含む 25 個のパラメータを未知のパラメータとして推定した。sDpp-4 量 (A_{sDPP4})、解離定数 (K_d)、および解離速度定数 (k_{off}) は、報告された実験値 (0.0684 nmol, 0.0427 nmol/L、および 0.184 hr⁻¹) を参照値としてペナルティを課した。この解析で推定対象とした未知パラメータの一覧は Table 3 に示した。

ラットのオートラジオグラフィーデータの解析後、さらに野生型および Dpp-4 欠損ラットの血漿中濃度推移の PBPK-CGNM 解析を実施し、推定された tDPP-4 分布および K_p が、LNG の非線形性の血漿注濃度推移を説明できるか確認した。この解析では、臓器/組織間の Dpp-4 発現量比を、オートラジオグラフィーデータの解析での推定値に基づいて固定し、総 Dpp-4 発現量 (A_{DPP4}) を未知パラメータとして推定した。また、この解析では、オートラジオグラフィーデータの解析で特定可能であったパラメータを対象に、オートラジオグラフィーデータの解析で得た推定値を参照値としてペナルティを課すことで、PBPK モデルの一貫性を確保した。この解析で推定対象とした未知パラメータの一覧は Table 4 に記載した。

Table 3. オートラジオグラフィデータの解析で推定対象とした未知パラメータ。

Parameter	Unit	Initial value range		Reference value for penalizing	Description
		Lower	Upper		
CL _{int,h}	L/hr	0.001	- 1000		Hepatic intrinsic clearance.
f _{bile}	-	0.5	- 0.95		Fraction of biliary excretion within hepatic intrinsic clearance.
CL _{sec,int}	L/hr	0.001	- 1000		Renal secretion clearance.
CL _{reab,DPP4}	L/hr	5.93*10 ⁻⁸	- 5.93*10 ⁻²		DPP-4-related renal reabsorption clearance.
K _{off}	1/hr	0.0184	- 1.84	0.184 ¹	Dissociation rate constant of LNG for DPP-4.
K _d	nM	0.00427	- 0.427	0.0427 ⁵	Dissociation constant of LNG for DPP-4.
A _{sDPP4}	nmol	0.0158	- 1.58	0.0684 ⁵	Total amount of sDPP-4.
A _{tDPP4,skin}	nmol	0.00001	- 10		tDPP-4 amount in skin.
A _{tDPP4,liver}	nmol	0.001	- 1000		tDPP-4 amount in liver.
A _{tDPP4,spleen}	nmol	0.00001	- 10		tDPP-4 amount in spleen.
A _{tDPP4,lung}	nmol	0.00001	- 10		tDPP-4 amount in lung.
A _{tDPP4,reprod}	nmol	0.00001	- 10		tDPP-4 amount in reproductive organs.
A _{tDPP4,thymus}	nmol	0.00001	- 10		tDPP-4 amount in thymus.
A _{tDPP4,saliv}	nmol	0.00001	- 10		tDPP-4 amount in salivary gland.
A _{tDPP4,kidney}	nmol	0.1	- 100000		tDPP-4 amount in kidney.
f _{lumen,kidney}	-	0.5	- 0.95		Proportion of DPP-4 expressed on the luminal side of the kidney.
f _{lumen,gut}	-	0.05	- 0.95		Proportion of DPP-4 expressed on the luminal side of the intestine.
K _{p,rep.vivo}	-	0.1	- 10		Tissue-to-plasma partition coefficient (K _p) for reproductive organs.
K _{p,sal.vivo}	-	0.1	- 10		Tissue-to-plasma partition coefficient (K _p) for salivary gland.
K _{p,rem.vivo}	-	0.1	- 10		Tissue-to-plasma partition coefficient (K _p) for remainder.
K _{p,h.vivo}	-	0.1	- 10		Tissue-to-plasma partition coefficient (K _p) for liver.
k _{bile}	1/hr	0.001	- 1000		Rate constant for biliary transition.
V _{max,P-gp}	nmol/hr	1	- 1000000		Maximum transport rate of P-gp in the intestine.
LR	-	0.05	- 95		Ratio of PS _{diff,ent,LE} to PS _{diff,ent,BE} .
PS _{dif,ent,BE}	L/hr	0.000414	- 0.165		Membrane permeability coefficient from mucosal blood to enterocytes.

Table 4. 血漿中 LNG 濃度データの解析で推定対象とした未知パラメータ.

Parameter	Unit	Initial value range		Reference value for penalizing	Description
		Lower	Upper		
CL _{int,h}	L/hr	0.0425	4.25	0.425 ^a	Hepatic intrinsic clearance.
CL _{sec,int}	L/hr	0.0093	1	0.0971 ^a	Renal secretion clearance.
CL _{reab,DPP4}	L/hr	5.93*10 ⁻⁸	5.93*10 ⁻²		DPP-4-related renal reabsorption clearance.
A _{DPP4}	nmol	2.39	239	0.0684 ^{a,b}	Total amount of DPP-4.
f _{bile}	-	0.5000	0.950		Fraction of biliary excretion within hepatic intrinsic clearance.
k _{off}	1/hr	0.0184	1.84	0.184 ¹	Dissociation rate constant of LNG for DPP-4.
K _d	nM	0.00427	0.427	0.0427 ⁵	Dissociation constant of LNG for DPP-4.
f _{lumen,kidney}	-	0.05	0.95		Fraction DPP-4 expressed on the luminal side of the kidney.
f _{lumen,gut}	-	0.05	0.95		Fraction DPP-4 expressed on the luminal side of intestine.
K _{p,rep.vivo}	-	0.238	23.8	2.38 ^a	Tissue-to-plasma partition coefficient (K _p) for reproductive organs.
K _{p,sal.vivo}	-	0.176	17.6	1.76 ^a	Tissue-to-plasma partition coefficient (K _p) for salivary gland.
K _{p,rem.vivo}	-	0.345	34.5	3.45 ^a	Tissue-to-plasma partition coefficient (K _p) for remainder.
k _{bile}	1/hr	0.00137	0.137	0.0137 ^a	Rate constant for biliary transition.
V _{max,Pgp}	nmol/hr	100	10000		Maximum transport rate of P-gp in the intestine.
LR	-	0.05	95		Ratio of PS _{diff,ent,LE} to PS _{diff,ent,BE} .
PS _{dif,ent,BE}	L/hr	0.000827	0.0827		Membrane permeability coefficient from mucosal blood to enterocytes.

^a: オートラジオグラフィデータの解析での推定値 (SSR が最小のパラメータセット) .

^b: PBPK モデル内で算出される A_{sDPP4} ($=A_{DPP4} \times fsDPP4$) に対してペナルティを課した。 $fsDPP4$ は総 Dpp-4 量に対する sDPP-4 の割合であり、オートラジオグラフィーデータの解析での推定値 (SSR が最小のパラメータセット) を用いた。

2.3. 結果

2.3.1. ラットのオートラジオグラフィデータの PBPK-CGNM 解析

2.3.1.1. 推定パラメータセットのカットオフ

野生型および Dpp-4 欠損ラットの臓器/組織中 LNG 濃度データに基づく PBPK-CGNM 解析では、1000 セットの初期パラメータセットを生成して 50 回の最適化計算を行った。最適化計算の結果得られた 1000 セットの推定パラメータセットに対して、 χ^2 検定および Elbow 法を用いてカットオフを定めた結果、実測データを精度良く再現する 524 セットの推定パラメータセットが選択された (Figure 3)。選択されたパラメータ推定値を元に要約統計量を算出し、Table 5 にまとめた。

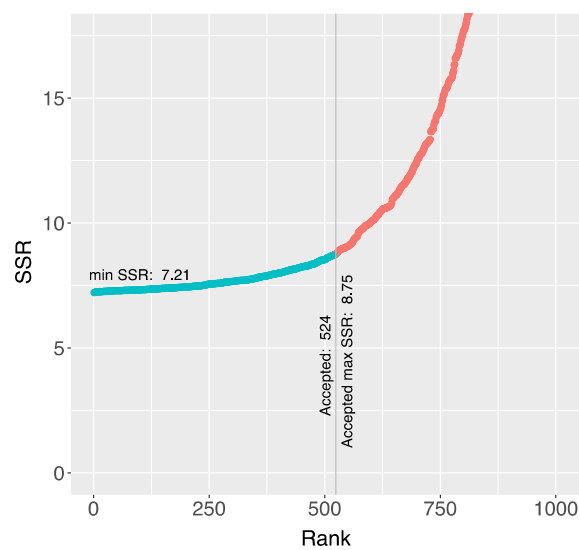


Figure 3. オートラジオグラフィデータの解析の SSR ランクプロット。

オートラジオグラフィデータの解析で得られた 1000 組のパラメータセットの SSR' を降順で示した。青色および赤色の点はそれぞれカットオフによって選択されたパラメータセットと除外されたパラメータセットを示す。

Table 5. オートラジオグラフィデータの解析で得られたパラメータ推定値.

Parameter	Unit	Autoradiography data				
		min	25%	median	75%	max
A _s DPP4	nmol	0.0400	0.0645	0.0704	0.0770	0.168
A _t DPP4,kidney	nmol	13.6	22.3	23.9	26.1	39.9
A _t DPP4,liver	nmol	4.56	6.07	6.38	6.65	8.14
A _t DPP4,lung	nmol	0.441	0.558	0.575	0.598	0.753
A _t DPP4,reprod	nmol	0.00036	0.288	0.46	0.516	1.59
A _t DPP4,saliv	nmol	0.0336	0.0414	0.0438	0.0456	0.0624
A _t DPP4,skin	nmol	0.686	1.23	1.29	1.34	2.06
A _t DPP4,spleen	nmol	0.096	0.137	0.143	0.148	0.172
A _t DPP4,thymus	nmol	0.0291	0.0402	0.0419	0.0433	0.0498
CL _{int,h}	L/hr	0.307	0.425	0.441	0.453	0.528
CL _{reab,DPP4}	L/hr	0.000270	0.000680	0.000800	0.000960	0.00925
CL _{sec,int}	L/hr	0.0105	0.0877	0.0954	0.103	0.163
K _d	nM	0.0206	0.0346	0.0371	0.0402	0.0864
K _{p,rem.vivo}	-	10.3	12.1	12.6	12.9	14.1
K _{p,rep.vivo}	-	2.59	3.28	3.39	3.49	4.19
K _{p,sal.vivo}	-	1.65	2.22	2.32	2.45	3.27
LR	-	1.42	1.69	1.74	1.78	2.05
PS _{dif,ent,BE}	L/hr	0.01	0.178	0.728	3.29	72.5
V _{max,Pgp}	nmol/hr	3.12 × 10 ⁻⁵	0.00128	0.00446	0.0193	1.24 × 10 ⁵
f _{bile}	-	4.85 × 10 ⁻¹²	12.6	101	1.07 × 10 ³	5.66 × 10 ⁵
f _{lumen,gut}	-	0.691	0.936	0.977	0.990	1.00
f _{lumen,kidney}	-	2.45 × 10 ⁻⁷	0.129	0.367	0.733	0.982
k _{bile}	-	0.143	0.586	0.634	0.686	0.909
k _{off}	1/hr	0.00847	0.0129	0.0136	0.0144	0.0258
k _{on}	L/hr/nmol	0.0708	0.180	0.196	0.215	0.382
SSR	-	1.46	4.67	5.27	5.99	9.34

* 各パラメータの説明は Table 3 に示した.

2.3.1.2. 実測データに対するモデルの当てはまり

選択された推定パラメータセットを用いてシミュレーションを行い、実測データに対するモデルの当てはまりを確認した (Figure 4)。得られた推定パラメータセットは、野生型および Dpp-4 欠損ラットの組織濃度-時間プロファイル (Figure 4a) および用量依存的な臓器/組織中 LNG 濃度 (Figure 4b) をよく再現した。また、物質収支 (Mass-balance) を説明するために追加した尿中および糞中排泄プロファイルも同様に精度よく再現された (Figure 4c)。

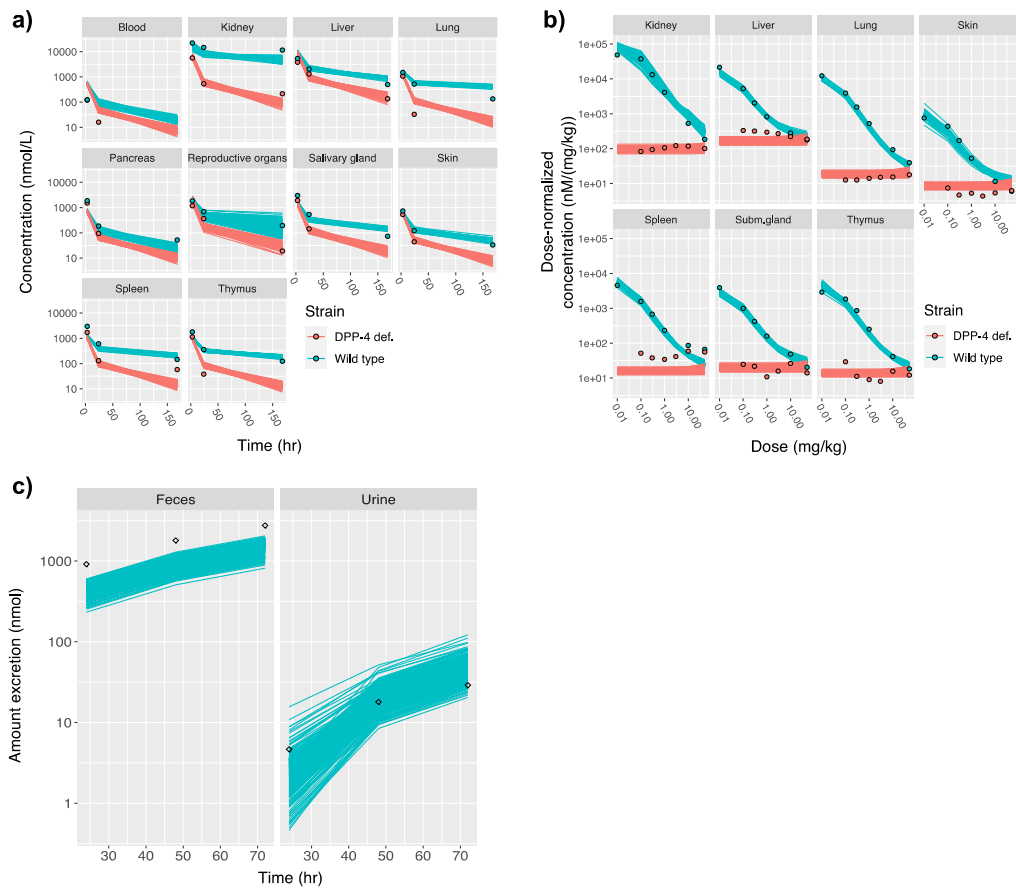


Figure 4. オートラジオグラフィデータの実測値およびモデル予測値。

a) 2 mg/kg 静注時の臓器/組織中 LNG 濃度推移. b) 0.01-50 mg/kg 静注後 72 時間後の臓器/組織中 LNG 濃度. a), b) それぞれにおいて、青色および赤色の実線はそれぞれ野生型および Dpp-4 欠損ラットの予測濃度推移、青色および赤色の点はそれぞれ野生型および Dpp-4 欠損ラットの実際濃度推移を示す. c) 2 mg/kg/day の反復経口投与時の糞中および尿中累積 LNG 排泄量推移. 実線および点はそれぞれ野生型ラットの予測排泄量推移および実際排泄量推移を示す. モデルによる予測はいずれも選択されたパラメータセットに基づく.

2.3.1.3. パラメータ推定値の分布と特定可能性

バイオリンプロットおよびプロファイル尤度プロットを用いて、選択されたパラメータ推定値の分布および特定可能性を確認した。(Figure 5)。バイオリンプロットでは、DPP-4 依存性腎再吸収クリアランス ($CL_{reab,DPP4}$)、臓器/組織の tDpp-4 量

($A_{tDPP4,skin}$, $A_{tDPP4,liver}$, $A_{tDPP4,spleen}$, $A_{tDPP4,lung}$, $A_{tDPP4,thymus}$, $A_{tDPP4,saliv}$, $A_{tDPP4,kidney}$, および $A_{tDPP4,reprod}$)、および血漿-組織分配係数 (K_p) は比較的ばらつきが小さく、一意な値が推定された。 A_{SDPP4} , K_d , k_{off} の推定値は、ペナルティ付き推定法を適用したため、参照値の *in vitro* 実験値に近い値が推定された (Figure 5a)。

プロファイル尤度プロットでは、DPP-4 依存性腎再吸収クリアランス、臓器/組織の Dpp-4 量、および血漿-組織分配係数にはいずれも下に凸な曲線が見られ、これらのパラメータが特定可能であったことが示唆された (Figure 5b)。

生殖器の tDpp-4 量 ($A_{tDPP4,reprod}$) は、他の臓器の tDpp-4 量と比較して、バイオリンプロットで比較的大きなばらつきを示したが、プロファイル尤度プロットでは下に凸の曲線が見られたことから、特定可能とみなした。

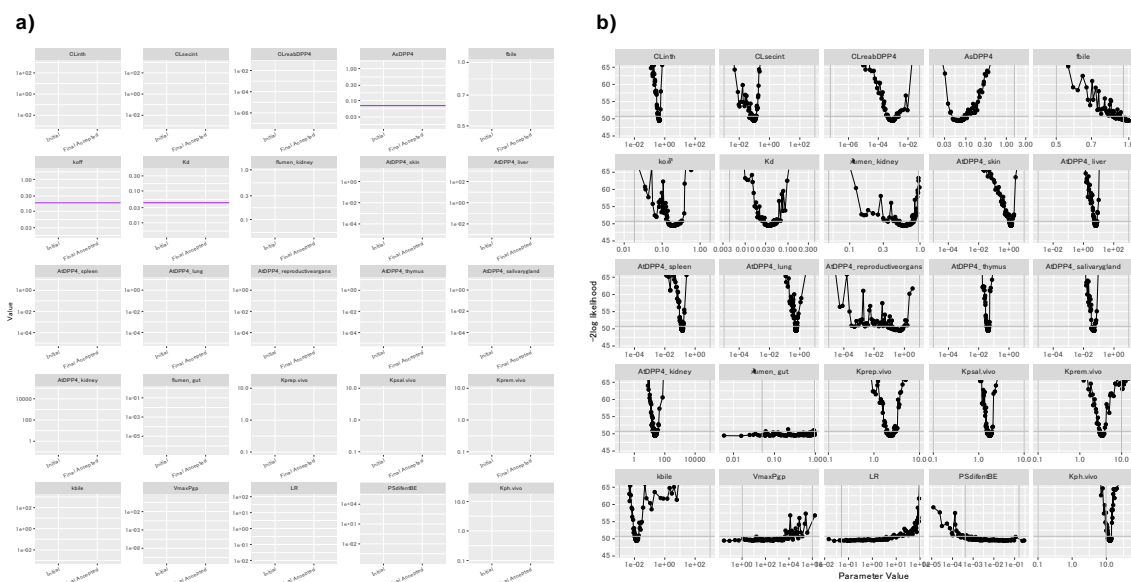


Figure 5. オートラジオグラフィデータの解析で選択されたパラメータ推定値のバイオリンプロットおよびプロファイル尤度プロット。

a) パラメータ推定値のバイオリンプロット. 灰色の領域はパラメータの初期値および推定値の分布を示す. 黒色の点および縦線はそれぞれ中央値および四分位点を示す. 初期値および推定値の間をつなぐ実線および破線はそれぞれ四分位点および上限/下限をつなぐ線である. 紫色の実線はペナルティ付き推定法で用いた参照値を示す. b) パラメータ推定値のプロファイル尤度プロット. 点で繋がれた黒色の実線はパラメータ推定値に対する $-2 \log \text{likelihood}$ の近似値を示す.

2.3.2. ラットの血漿中 LNG 濃度の PBPK-CGNM 解析

2.3.2.1. 推定パラメータセットのカットオフ

野生型および Dpp-4 欠損ラットの血漿中 LNG 濃度データに基づく PBPK-CGNM 解析では、1000 セットの初期パラメータセットを生成して 50 回の最適化計算を行った。最適化計算の結果得られた 1000 セットの推定パラメータセットに対して、 χ^2 検定および Elbow 法を用いてカットオフを定めた結果、実測データを精度良く再現する 904 セットの推定パラメータセットが選択された (Figure 6)。選択されたパラメータ推定値を元に要約統計量を算出し、Table 6 にまとめた。

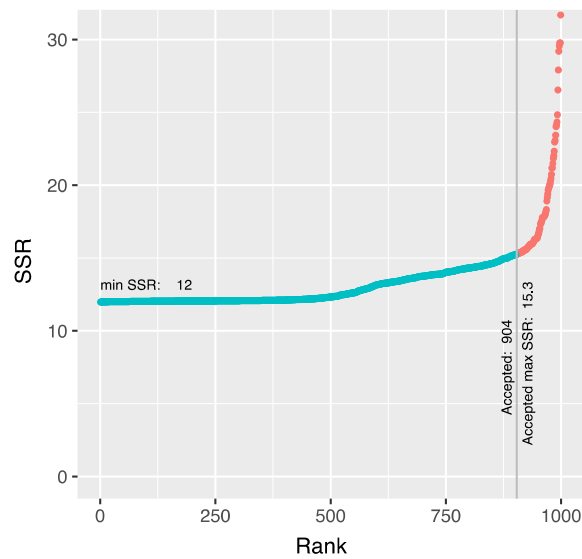


Figure 6. 血漿中 LNG 濃度データの解析の SSR ランクプロット。

血漿中 LNG 濃度データの解析で得られた 1000 組のパラメータセットの SSR' を降順で示した。青色および赤色の点はそれぞれ、カットオフによって選択されたパラメータセットと除外されたパラメータセットを示す。

Table 6. 血漿中 LNG 濃度データの解析で得られたパラメータ推定値.

Parameter	Unit	Plasma concentration data				
		min	25%	median	75%	max
A _s DPP4 ^a	nmol	0.0169	0.029	0.0312	0.0323	0.0427
A _t DPP4,kidney ^a	nmol	5.84	9.98	10.8	11.1	14.7
A _t DPP4,liver ^a	nmol	1.57	2.69	2.90	3.00	3.96
A _t DPP4,lung ^a	nmol	0.141	0.241	0.26	0.268	0.355
A _t DPP4,reprod ^a	nmol	0.128	0.219	0.236	0.244	0.323
A _t DPP4,saliv ^a	nmol	0.0121	0.0206	0.0223	0.023	0.0304
A _t DPP4,skin ^a	nmol	0.344	0.588	0.634	0.656	0.867
A _t DPP4,spleen ^a	nmol	0.0390	0.0667	0.0720	0.0744	0.0983
A _t DPP4,thymus ^a	nmol	0.0109	0.0187	0.0201	0.0208	0.0275
CL _{int,h}	L/hr	2.87	4.78	5.16	5.32	7.48
CL _{reab,DPP4}	L/hr	1.02 × 10 ⁻³²	6.50 × 10 ⁻⁷	7.16 × 10 ⁻⁶	3.86 × 10 ⁻⁵	12.6
CL _{sec,int}	L/hr	0.345	0.641	0.695	0.988	3.16
K _d	nM	0.00982	0.0222	0.0238	0.0268	0.0729
K _{p,rem.vivo}	-	2.34	3.08	3.13	3.28	4.39
K _{p,rep.vivo}	-	0.372	2.12	2.31	2.5	9.07
K _{p,sal.vivo}	-	0.436	1.65	1.76	1.97	7.19
LR	-	0.0100	0.516	4.29	25.0	99.3
PS _{dif,ent,BE}	L/hr	2.69 × 10 ⁻⁵	0.00047	0.00141	0.00881	3.80 × 10 ⁹
V _{max,Pgp}	nmol/hr	2.88 × 10 ⁻¹¹	462	4.17 × 10 ³	2.97 × 10 ⁴	7.45 × 10 ¹⁴
f _{bile}	-	0.028	0.334	0.395	0.610	0.971
f _{lumen,gut}	-	5.54 × 10 ⁻¹⁷	0.211	0.605	0.847	1.00
f _{lumen,kidney}	-	5.21 × 10 ⁻¹⁰	0.00672	0.0419	0.349	0.933
k _{bile}	-	0.00161	0.0226	0.0623	0.0684	0.195
k _{off}	1/hr	0.0413	0.154	0.165	0.182	0.733
k _{on}	L/hr/nmol	1.08	6.14	6.97	7.76	33.9
SSR	-	12.0	12.1	12.2	13.6	15.3

^a A_sDPP4およびA_tDPP4,organsはオートラジオグラフィデータの解析で得られたDpp-4発現量比を用いて事後的に計算した.

* 各パラメータの詳細は Table 4 に示した.

2.3.2.2. 実測データに対するモデルの当てはまり

選択された推定パラメータセットを用いてシミュレーションを行い、実測データに対する当てはまりを確認した (Figure 7)。得られた推定パラメータセットは、野生型および Dpp-4 欠損ラットで測定された非線形性の血漿中 LNG 濃度推移を概ねよく再現した (Figure 7a)。また、LNG の物質収支 (Mass-balance) を考慮するために追加した糞中および尿中の未変化体排泄量推移も同様に概ねよく再現された (Figure 7b)。

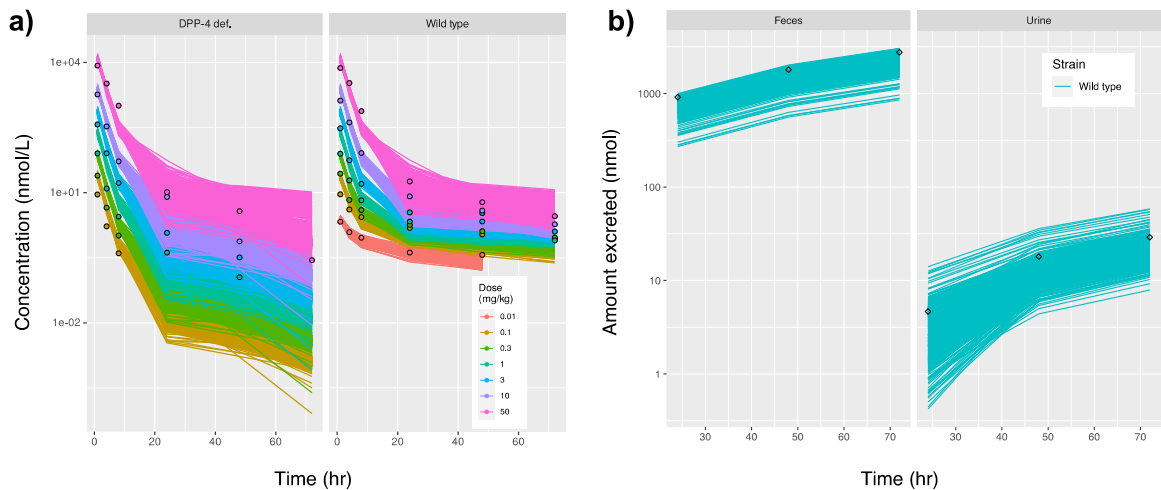


Figure 7. 血漿中 LNG 濃度データのモデル予測値および実測値.

a) 複数用量の LNG 投与時の野生型および DPP-4 欠損ラットの血漿中 LNG 濃度推移. 実線および点はそれぞれモデルによる予測濃度推移と実測濃度推移を示す. c) 2 mg/kg/day の反復経口投与時の糞中および尿中累積 LNG 排泄量推移. 実線および点はそれぞれ野生型ラットの予測排泄量推移および実測排泄量推移を示す. モデルによる予測はいずれも選択されたパラメータセットに基づく.

2.3.2.3. パラメータ推定値の分布と特定可能性

バイオリンプロットおよびプロファイル尤度プロットを用いて、選択されたパラメータ推定値の分布および特定可能性を確認した。(Figure 8)。

バイオリンプロットでは、Dpp-4 の総量 (A_{DPP4}) は比較的小さなばらつきを示し、推定値は概ね一意に特定された。 $CL_{int,h}$ および $CL_{sec,int}$ にはペナルティ付き推定法を適用したが、参照値からの乖離が見られた (Figure 8a)。ここでの参照値は、オートラジオグラフィデータの解析で得られた推定値であることから、 $CL_{int,h}$ および $CL_{sec,int}$ では、血漿中 LNG 濃度データから推定される値と、オートラジオグラフィデータから推定される値との間に乖離があることが示唆された。

プロファイル尤度プロットでは、Dpp-4 の総量は下に凸な曲線を示しており、このパラメータが特定可能であったことが示唆された (Figure 8b)。

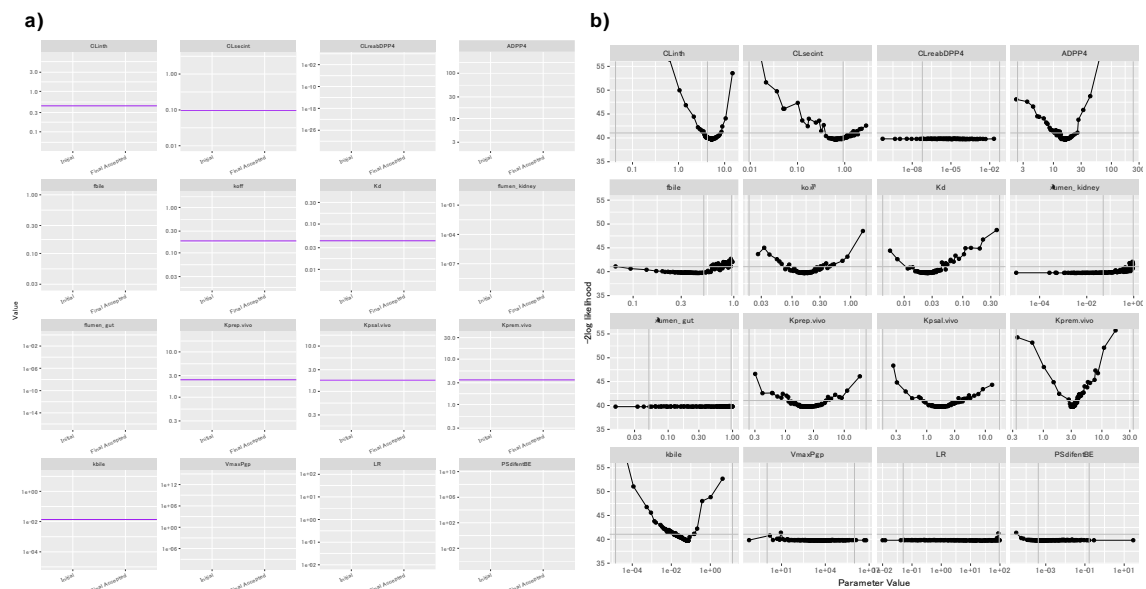


Figure 8. 血漿中 LNG 濃度データの解析で選択されたパラメータ推定値のバイオリンプロットおよびプロファイル尤度プロット。

a) パラメータ推定値のバイオリンプロット. 灰色の領域はパラメータの初期値および推定値の分布を示す. 黒色の点および縦線はそれぞれ中央値および四分位点を示す. 初期値および推定値の間をつなぐ実線および破線はそれぞれ四分位点および上限/下限をつなぐ線である. 紫色の実線はペナルティ付き推定法で用いた参照値を示す. b) パラメータ推定値のプロファイル尤度プロット. 点で繋がれた黒色の実線はパラメータ推定値に対する $-2 \log \text{likelihood}$ の近似値を示す.

2.3.2.4. 2つの解析で推定された Dpp-4 発現量の比較

オートラジオグラフィデータ解析ならびに血漿中 LNG 濃度で得られた推定パラメータセットから、最も SSR の小さいパラメータセットをそれぞれ抽出して比較した (Table 7)。

Table 7. オートラジオグラフィデータの解析および血漿中 LNG 濃度データの解析で得られた Dpp-4 発現量の比較.

Parameter	Autoradiography data		Plasma concentration data
	Estimates (nmol)	Ratio to A _t DPP4	Estimates ^a (nmol)
A _s DPP4	0.0656	0.00209	0.0315
A _t DPP4	31.3 ^b	1.00	15.9
A _t DPP4,kidney	22.6	0.722	10.8
A _t DPP4,liver	6.09	0.194	2.92
A _t DPP4,lung	0.546	0.0174	0.262
A _t DPP4,reprod	0.497	0.0159	0.238
A _t DPP4,saliv	0.0468	0.00149	0.0224
A _t DPP4,skin	1.33	0.0426	0.639
A _t DPP4,spleen	0.151	0.00483	0.0725
A _t DPP4,thymus	0.0423	0.00135	0.0203

^a A_sDPP4およびA_tDPP4,organsはオートラジオグラフィデータの解析で得られたDpp-4発現量比を用いて事後的に計算した.

^b A_tDPP4は A_tDPP4,organsの合計として事後的に計算した.

オートラジオグラフィデータの PBPK-CGNM 解析の結果、sDpp-4 および tDpp-4 は、総量としてそれぞれ 0.00209 および 1.00 nmol と推定され、ラットの生体内に存在する Dpp-4 の大半を tDpp-4 が占めた。tDpp-4 の臓器/組織別の発現量を比較すると、腎臓での発現量が最も多く、tDpp-4 の総量のうちおよそ 72%と推定された。肝臓は腎臓について発現量が多く、tDpp-4 の総量のうちおよそ 19%と推定された。

血漿中 LNG 濃度データの PBPK-CGNM 解析の結果では、sDpp-4 および tDpp-4 の総量はそれぞれ 0.0315 および 15.9 nmol と推定され、オートラジオグラフィデータの解析と比較しておよそ 1/2 であった。

2.4. 考察

オートラジオグラフィーデータの PBPK-CGNM 解析

オートラジオグラフィーデータの PBPK-CGNM 解析では、Dpp-4 依存性腎再吸収を仮定した PBPK モデルによって、種々の臓器/組織中の LNG 濃度が精度よく記述され、ヒトで見出された DPP-4 依存性腎再吸収の仮定が、ラットでの TMDD をも記述可能であることが示された。また、この解析では、DPP-4 依存性腎再吸収クリアランス ($CL_{reab,DPP4}$)、種々の臓器/組織の tDpp-4 量 ($A_{tDPP4,organ}$)、および血漿-組織分配係数 (K_p) が特定可能なパラメータとして推定された。

この解析では、Dpp-4 依存性腎再吸収のクリアランス ($CL_{reab,DPP4}$) が特定可能なパラメータとして推定された。解析に用いたデータには、2 mg/kg/day 反復経口投与時の尿中未変化体排泄量データが含まれているが、非線形性を裏付けるような複数用量投与時のデータは含まれていない。単一用量の尿中排泄量データから、非線形性の Dpp-4 依存性腎再吸収を推定することは通常困難と考えられるが、解析データには、血中および腎臓中の経時的な LNG 濃度推移と、投与量依存的な腎臓中 LNG 濃度が含まれている。 $CL_{reab,DPP4}$ はこれらのデータを同時に記述するうえで必須のパラメータであったと考えられる。

種々の臓器/組織の tDpp-4 発現量 ($A_{tDPP4,organ}$) は、野生型および Dpp-4 欠損ラットでの臓器/組織中 LNG 濃度の差によって特定されと考えられる。臓器/組織中 LNG 濃度は、主に tDpp-4 との結合によって媒介され、Dpp-4 欠損ラットと比較して野生型ラットでより高い濃縮が見られる (Figure 4b)。この現象は、本研究の PBPK モデルでは、各臓器/組織中の tDpp-4 ($A_{tDPP4,organ}$) による飽和性の結合によって記述される。野生型ラットで見られるこの濃縮は、tDpp-4 の飽和が起こることで、用量の増加にしたがって相対的に減弱し、Dpp-4 欠損ラットと同等のレベルにまで低下する (Figure 4b)。したがって、高用量での臓器/組織中 LNG 濃度は、主に Dpp-4 非特異的な機序によって説明され、本研究の PBPK モデルでは K_p によって記述される。以上より、Figure 4b で見られる用量依存的な LNG の組織分布の変化は、この解析での Dpp-4 特異的な分布と非特異的な分布 ($A_{tDPP4,organ}$ および K_p) の特定可能性を裏付けるものであると考えられる。野生型—Dpp-4 欠損ラット間の LNG 濃度差は、経時的な LNG 濃度推移 (Figure 4a) でも観察されるが、その差は用量依存性データ (Figure 4b) ほど明確ではない。したがって、用量依存性データが測定されていない生殖器の tDpp-4 量 ($A_{tDPP4,reprod}$) では、プロファイル尤度プロットは下に凸な曲線を示したものの、他の組織の A_{tDPP4} と比較してやや不明瞭な極小値を示した (Figure 5b)。

血漿中 LNG 濃度データの解析

血漿中 LNG 濃度推移データの PBPK-CGNM 解析では、オートラジオグラフィーデータの解析で推定した tDpp-4 分布が、野生型および Dpp-4 欠損ラットの経時的な血漿中 LNG 濃度推移を記述可能であることが確認された。

推定された Dpp-4 量を、オートラジオグラフィーデータでの推定値と比較すると、sDpp-4 および tDpp-4 はいずれも約 1/2 であった (Table 7)。2つの解析で異なる Dpp-4 量が推定されたことは予想に反するが、オートラジオグラフィーデータと血漿中 LNG 濃度データはそれぞれ液体シンチレーションおよび LC-MS/MS で測定されたものであり、測定方法が異なる。そのため、推定された tDpp-4 量の差は測定方法の違いに由来するものである可能性がある。したがって、ラットのオートラジオグラフィーで推定された各臓器/組織間の tDpp-4 分布は、臓器間の比にのみ注目することが適切と考えられる。

3. ヒトの PBPK-CGNM 解析

3.1. 緒言

ヒトでは、0.5 から 10 mg の LNG を 1.5 時間持続静注した際の血漿中濃度推移⁴および尿中未変化体排泄量推移²、ならびに、1 から 10 mg の LNG を経口投与した際の血漿中濃度推移³がそれぞれ報告されており、さらに、5 mg 静脈内投与時および 10 mg 経口投与時の糞中排泄量推移も報告されている¹⁹。血漿中 LNG 濃度推移は、静注および経口投与のいずれにおいても非線形性を示し、用量の増加に伴って AUC が相対的に減少する。また、尿中未変化体排泄率も同様に非線形性を示し、0.5 mg 投与時ではおよそ 3%、10 mg 投与時では 23%にまで増加する。この現象は主に、DPP-4 との飽和性の結合によって生じていると考えられる。

ヒト血漿を用いて測定された LNG の血漿中タンパク結合率は、LNG 濃度が 1 nM のときにおよそ 98%程度であるが、100 nM のときではおよそ 78%に程度まで低下することが報告されている⁵。Dpp-4 欠損ラットおよび Dpp-4 ノックアウトマウスでは、血漿タンパク結合率は LNG 濃度によらず概ね 80%程度である⁵ことから、このタンパク結合率の変動は、主に血漿中の sDPP-4 との結合飽和によるものと考えられる。臨床用量である 5 mg 経口投与時では、最大血漿中濃度が概ね 100 nM であることから、臨床用量においても DPP-4 の結合飽和による非線形性体内動態が生じていることが推察される。

前述のとおり、ヒトでの血漿中 LNG 濃度の AUC は非線形性を示すが、血漿中 LNG 濃度推移に血漿中タンパク結合率を乗じることで非結合型 LNG 濃度推移を算出し、これに基づいて非結合型 AUC (AUC_u) を算出した場合、 AUC_u は投与量によらずほぼ一定となる⁶。このことから、血漿中 LNG 濃度推移の非線形性は、主に血漿中 sDPP-4 の結合飽和によって説明できると考えられる。一方、尿中未変化体排泄率を AUC_u で除すことで計算した腎クリアランス ($CL_{R,u}$) は、依然として非線形性を示すことから、尿中排泄の非線形性が sDPP-4 の結合飽和では説明できないことが示唆される⁶。我々は以前の研究²で、この尿中排泄の非線形性が、DPP-4 依存性腎再吸収の仮定によって精度よく記述されることを見出した。

本研究では、ヒトの PBPK モデルを新たに構築し、ラットの tDpp-4 分布を根拠とした tDPP-4 分布の考慮、CGNM による網羅的なパラメータ推定、および *in vitro* 実験値を参照したペナルティ付き推定法の 3 つを組み合わせることで、より生理学的に厳密な PBPK モデル解析を行い、DPP-4 依存性腎再吸収の仮定がなおも支持されることを確認し、同時にヒトでの tDPP-4 分布を推定した。

3.2. 方法

3.2.1. 解析に用いたデータの詳細

3.2.1.1. ヒト臨床試験データ

ヒト臨床試験データは以前の研究と同じデータを既報文献^{3,4}から入手した。データは、静脈内投与および経口投与時のデータで構成される。静脈内投与データは日本人の健康成人に対して 0.5 から 10 mg の LNG を 1.5 時間かけて持続投与した後の血漿中 LNG 濃度推移および尿中排泄データ、経口投与データは欧米人の健康成人に対して 1.0 から 10 mg の LNG を単回経口投与した後の血漿中 LNG 濃度推移からなる。

LNG は胆汁排泄型の薬物であることから、ヒトでの物質収支を説明することを目的に、異なる文献¹⁹から糞中排泄データを入手して解析データに加えた。糞中排泄データは、健康成人に対して 5 mg の LNG を 1.5 時間持続静脈内投与した際の糞中排泄量推移、ならびに 10 mg の LNG を単回経口投与した後の糞中排泄量推移からなる。糞中排泄データは LNG 投与後 24, 48, および 120 時間後の測定値を含むが、測定値のばらつきが大きいデータを除外した結果、静脈内投与データでは LNG 投与後 120 時間後、経口投与データでは LNG 投与後 48 および 120 時間後のデータを解析に使用した。解析データの詳細はラットの解析データと併せて Table 1 に示した。

3.2.2. PBPK モデルの構造

ヒトの PBPK モデルは、ラットの PBPK モデル構造を元に、ヒトの生理学的パラメータを用いて構築した。PBPK モデルの概念図は Figure 9 に、生理学的パラメータは Table S 2 にそれぞれ示した。PBPK モデルで仮定したメカニズムはラットの PBPK モデルと同様である (Table 2)。

ヒトの PBPK モデルでは、経時的な糞中 LNG 排泄量推移を記述するために、消化管コンパートメントをラットの PBPK モデルと同様に管腔 (lumen)、細胞 (enterocyte)、および漿膜血 (mucosal blood) コンパートメントに分割 (segregated flow model) したうえで、さらに十二指腸、空腸、および回腸に細分し、計 6 つのコンパートメントからなる 3-segmented segregated flow model²⁰とした。

ヒトの PBPK モデルでは、インクレチン製剤であるデュラグルチドで報告された消化管運動抑制効果²¹が、DPP-4 阻害薬である LNG においても生じている可能性を検討するために、薬効による消化管運動抑制をモデルに組み入れた。消化管運動抑制の影響を明らかにするために、ノンコンパートメント解析を用いて平均吸収時間 (MAT) を算出し、投与量の増加に伴う MAT の延長を大腸内の平均滞留時間 (MRT_{colon}) と定義した。ヒトの PBPK-CGNM 解析では、LNG の投与後、MRT_{colon} に達するまでの時間、消化管の移行速度定数 ($k_{feces,duodenum}$, $k_{feces,jejunum}$, $k_{feces,ileum}$) に係数 (rAlpha) が掛かるモデルとし、rAlpha を未知パラメータとして推定することで、消化管運動抑制の影響を推定した。

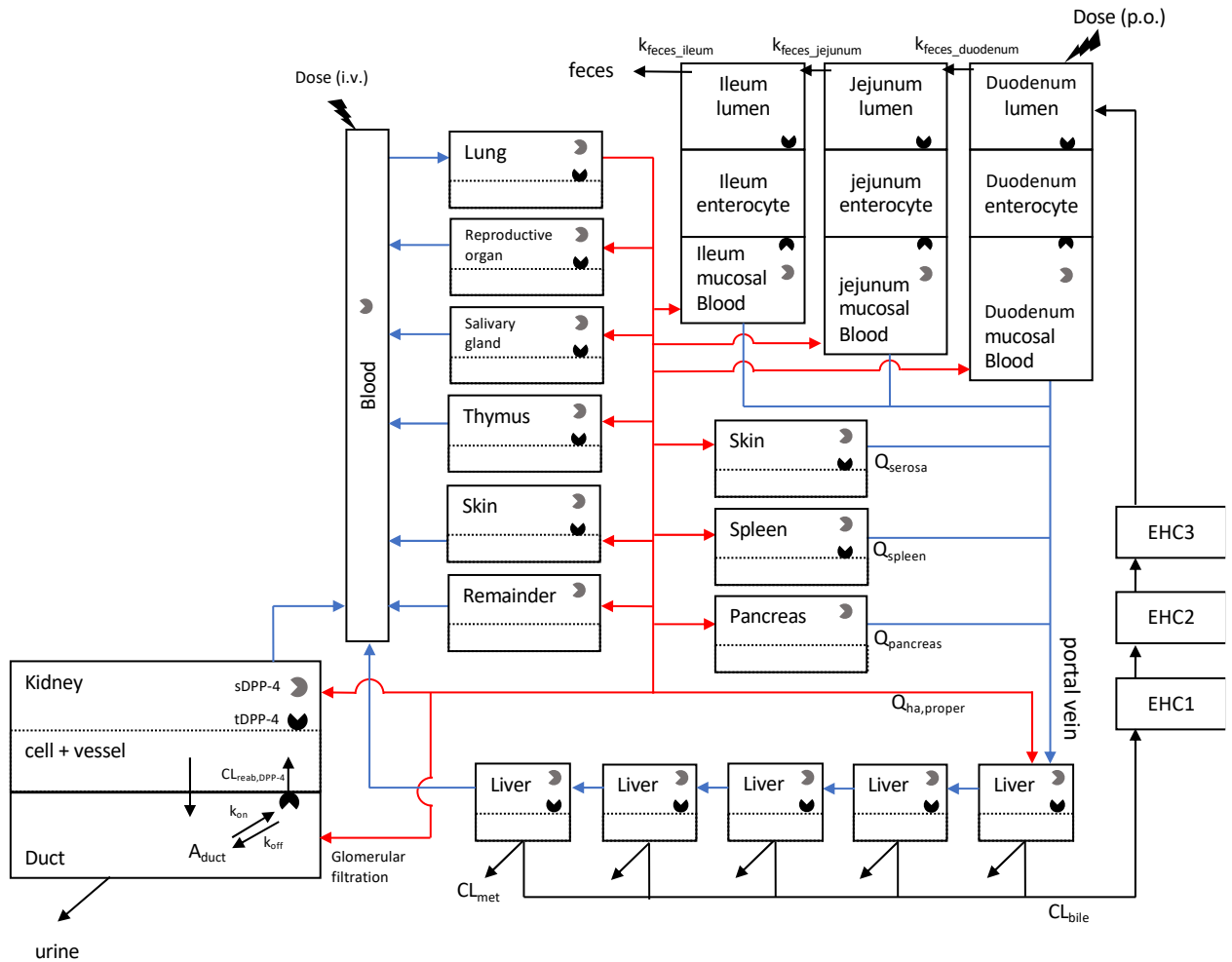


Figure 9. ヒトの PBPK モデルの概念図.

k_{on} , DPP-4に対するLNGの結合速度定数; k_{off} , DPP-4に対するLNGの解離速度定数; $tDPP-4$, 膜貫通型DPP-4; $sDPP-4$, 可溶型DPP-4; $CL_{reab,DPP-4}$, DPP-4依存性腎再吸収クリアランス; $CL_{sec,int}$, 腎分泌クリアランス; $Q_{tissues}$, 臓器/組織の血流速度.

$$CL_{met} = CL_{int,h} * (1 - f_{bile}); \quad CL_{bile} = CL_{int,h} * f_{bile}.$$

3.2.3. ラットで推定された tDpp-4 分布のヒトへの適用

ヒトの PBPK モデルでは、臓器/組織間の tDPP-4 濃度比がラットとヒトで等しいと仮定し、ラットの推定 tDPP-4 濃度比にヒトの臓器容積を掛けることでヒトの臓器/組織内の tDPP-4 量を決定し、tDPP-4 の総量 (A_{tDPP4}) を未知パラメータとして推定した (式3)。

$$A_{tDPP4, human, i} = \frac{C_{tDpp4, rat, i} \cdot V_{human, i} \cdot (1 - f_{vessel, i})}{\sum_{i=1}^n (C_{tDpp4, rat, i} \cdot V_{human, i} \cdot (1 - f_{vessel, i}))} \cdot A_{tDPP4} \quad (3)$$

ここで、 $A_{tDPP4, human, i}$ および $C_{tDpp4, rat, i}$ は、それぞれ i 番目の臓器/組織でのヒトの tDPP-4 量およびラットの推定 tDPP-4 濃度を表す。 $V_{human, i}$ および $f_{vessel, i}$ は、それぞれヒトの i 番目の臓器/組織の容積および毛細血管容積の割合を表す。 A_{tDPP4} はヒトの tDPP-4 総量を表す。ヒトの PBPK-CGNM 解析では、式3のうち、 A_{tDPP4} のみが未知パラメータとして推定したパラメータであり、ラットのオートラジオグラフィデータで推定された臓器/組織の容積あたりの tDPP-4 量の比を維持しながら、ヒトでの tDPP-4 の総量を推定している。

3.2.4. ヒト血漿中 LNG 濃度推移のノンコンパートメント解析

PBPK モデルを用いた解析を行う前に、モデルに依存しない解析手法であるノンコンパートメント解析を用いて、ヒトでの LNG の非線形性体内動態と血漿中タンパク結合率の関係を確認した。本研究では、ヒトでのタンパク非結合型血漿中薬物濃度推移 (C_{up}) を用いたノンコンパートメント解析を実施し、用量で正規化した血漿中薬物濃度-時間曲線下面積 ($AUC_u/Dose$) と腎クリアランス ($CL_{R,u}$) を算出した。

LNG の血漿中タンパク結合率 (f_p) は、DPP-4 との飽和性の結合により、LNG 濃度依存的に変動する。そこで本研究では、血漿中の総薬物濃度 (C_{total}) および LNG 濃度依存的に変化する血漿中タンパク結合率 ($f_p(C_{total})$) を用いて、 C_{up} を算出した。 $f_p(C_{total})$ は、既報⁵ の関係式 (式4) を用いて記述した。

$$f_p(C_{total}) = 1 - \min f_B + \frac{(\max f_B - \min f_B)}{1 + 10^{(\log C_{total} - \log C50) \cdot H}} \quad (4)$$

ここで、 $\min f_B$ および $\max f_B$ はそれぞれ最小および最大の血漿中タンパク結合率、 H は Hill 係数、 $C50$ は最大タンパク結合率の半分のタンパク結合率を示すときの血漿中薬物濃度、 C_{total} は血漿中の総薬物濃度である。 $\min f_B$ 、 $\max f_B$ 、 H 、 $C50$ の値はそれぞれ、報告値⁵ に基づき 0.773、0.995、1.9 および 13.6 nM とした。血漿中 LNG 濃度推移データは経時的に測定されたものであるため、各測定時点での C_{up} は、時点ごとの

C_{total} および $f_p(C_{total})$ を用いて以下の式5で算出した。

$$C_{up,i} = C_{total,i} \cdot f_p(C_{total,i}) \quad (5)$$

ここで、 $C_{up,i}$ および $C_{total,i}$ はそれぞれ測定時点 i での C_{up} および C_{total} である。

AUC_u は、 C_{up} の経時的推移を用いて算出される無限大外挿 AUC (AUC_{inf}) として算出した。 $CL_{R,u}$ は、 AUC_u および尿中未変化体排泄率 (f_e) を用いて以下の式6で算出した。

$$CL_{R,u} = \frac{Dose}{AUC_u} \cdot f_e \quad (6)$$

3.2.5. PBPK-CGNM 解析に用いた方法

ヒトの PBPK-CGNM 解析で用いたパラメータ推定アルゴリズム、ペナルティ付き推定法、および推定パラメータの評価の概要はラットの PBPK-CGNM 解析と同様であり、詳細は前述の「2.2.4 PBPK-CGNM 解析に用いた方法」に示した。

3.2.6. 解析の概要

この解析では、ヒトでの tDPP-4 および sDPP-4 の発現量 (A_{tDPP4} 、 A_{sDPP4})、LNG と DPP-4 の解離定数および解離速度定数 (K_d 、 k_{off})、ならびに DPP-4 依存性腎再吸収クリアランス ($CL_{reab,DPP4}$) を含む、全 16 個のパラメータを未知パラメータとして推定した。 A_{sDPP4} 、 K_d 、および k_{off} は、それぞれ既報の *in vitro* 実験値 (36.1 nmol、0.0510 nmol/L、および 0.184 hr⁻¹) を参照値としてペナルティを課した。さらに、消化管および腎臓では、管腔側と血管側で tDPP-4 発現量が同等と仮定し、 $f_{lumen,gut}$ および $f_{lumen,kidney}$ に対して 0.5 を参照値としてペナルティを課した。この解析で推定対象とした未知パラメータの一覧は Table 8 に示した。

3.2.7. 感度分析

DPP-4 の分布と結合および DPP-4 依存性の腎再吸収の影響を評価することを目的として、 A_{tDPP4} 、 A_{sDPP4} 、 K_d 、 k_{off} 、および $CL_{reab,DPP4}$ の感度分析を行った。この感度分析では、基準パラメータセットとテストパラメータセットを使用して行ったシミュレーションを比較した。基準パラメータセットはヒト臨床試験データの PBPK-CGNM 解析で SSR' が最小となる推定パラメータセット、テストパラメータセットは特定のパラメータを基準パラメータセットの値から 0.1 倍および 10 倍に変化させたパラメータセットである。したがって、この感度分析では、特定パラメータ毎に合計 3 つのパラメータセットを使用したシミュレーションを実施した。

Table 8. ヒト臨床試験データの解析で推定対象とした未知パラメータ.

Parameter	Unit	Initial value range		Reference value for penalizing	Description
		Lower	Upper		
AsDPP4	nmol	0.0147	~ 14700	36.1 ¹	Total amount of sDPP-4.
AtDPP4	nmol	0.103	~ 103000		Total amount of tDPP-4
CL _{int, h}	L/hr	0.2210	~ 221000		Hepatic intrinsic clearance.
CL _{reab, DPP-4}	L/hr	0.0000273	~ 27.3		DPP-4 mediated renal reabsorption clearance.
CL _{secint}	L/hr	0.0517	~ 51700		Renal secretion clearance.
f _{bile}	-	0.0474	~ 0.953		Fraction biliary excretion within hepatic intrinsic clearance.
f _{lumen, gut}	-	0.0005	~ 0.169	0.5 ^a	Fraction DPP-4 expressed on the luminal side of the intestine.
f _{lumen, kidney}	-	0.0004	~ 0.124	0.5 ^a	Fraction DPP-4 expressed on the luminal side of the kidney.
K _d	nM	0.0000500	~ 50.0	0.0510 ⁶	Dissociation constant of LNG for DPP-4.
k _{off}	1/hr	0.0000303	~ 30.3	0.184 ³	Dissociation rate constant of LNG for DPP-4.
K _{p,rem.vivo}	-	0.00100	~ 1000		Tissue-to-plasma partition coefficient (Kp) for remainder.
rAlpha	-	0.0474	~ 0.953		Coefficient affecting the intestinal transition rate under gastrointestinal motility suppression.
LR	-	1.8068	~ 88.002		Ratio of PS _{diff,ent,LE} to PS _{diff,ent,BE} .
PS _{diff,ent,BE}	L/hr	0.00165	~ 1650		Membrane permeability coefficient from mucosal blood to enterocytes.
V _{max, Pgp}	nmol/hr	308.55	~ 308550000		Maximum transport rate of P-gp in the gastrointestinal tract.
rGL	-	0.00199	~ 1990		Ratio of DPP-4 amount in gut to liver.

^a: 管腔側と血管側で 1:1 の tDPP-4 量を仮定。

3.3. 結果

3.3.1. ヒト臨床試験データのノンコンパートメント解析

PBPK モデルを用いた解析を実施する前に、モデルに依存しない解析手法であるノンコンパートメント解析を用いて、ヒトでの飽和性の血漿タンパク結合と非線形薬物動態の関係を確認した。0.5、2.5、5、および 10 mg の経口投与データから算出した $\frac{AUC_u}{Dose}$ は、それぞれ 5.44、5.41、7.41、および 6.67 (10^{-3} nmol*h/L/mg) であった。さらに、 AUC_u および f_e から算出した $CL_{R,u}$ は、それぞれ 0.510、3.28、2.96、および 3.46 (10^4 L/hr) であった (Table 9)。

Table 9. ノンコンパートメント解析によって算出された PK パラメータ.

Parameter	Unit	Dose (i.v.)			
		0.5 mg	2.5 mg	5.0 mg	10 mg
AUC/Dose	nmol*hr/L	0.4082	0.1558	0.1192	0.0727
CL _R	10 ³ L/hr	0.0680	1.14	1.84	3.17
AUC _u /Dose	10 ⁻³ nmol*hr/L	5.44	5.41	7.41	6.67
CL _{R,u}	10 ⁴ L/hr	0.510	3.28	2.96	3.46

3.3.2. 推定パラメータセットのカットオフおよび推定パラメータセットを用いたシミュレーションと実測データの比較

ヒト臨床試験データに基づく PBPK-CGNM 解析では、1000 セットの初期パラメータセットを生成して 50 回の最適化計算を行った。最適化計算の結果得られた 1000 セットの推定パラメータセットに対して、 χ^2 検定および Elbow 法を用いてカットオフを定めた結果、実測データを精度良く再現する 193 セットの推定パラメータセットが選択された (Figure 10a)。選択されたパラメータ推定値を元に要約統計量を算出し、Table 10 にまとめた。推定した各パラメータの説明は前述の Table 8 に記載している。得られた推定パラメータセットを用いたシミュレーションは、4 つの異なる投与量での静脈内投与後の非線形尿中排泄量-時間プロファイル (Figure 10b)、静脈内および経口投与後の糞中排泄データ (Figure 10c,d)、および 4 つの異なる投与量での静脈内および経口投与後の血漿濃度-時間プロファイル (Figure 11a,c) を概ねよく再現した。また、静脈内および経口投与後 0~6 時間で観察される特徴的な分布相も同様に概ねよく再現した (Figure 11b,d)。

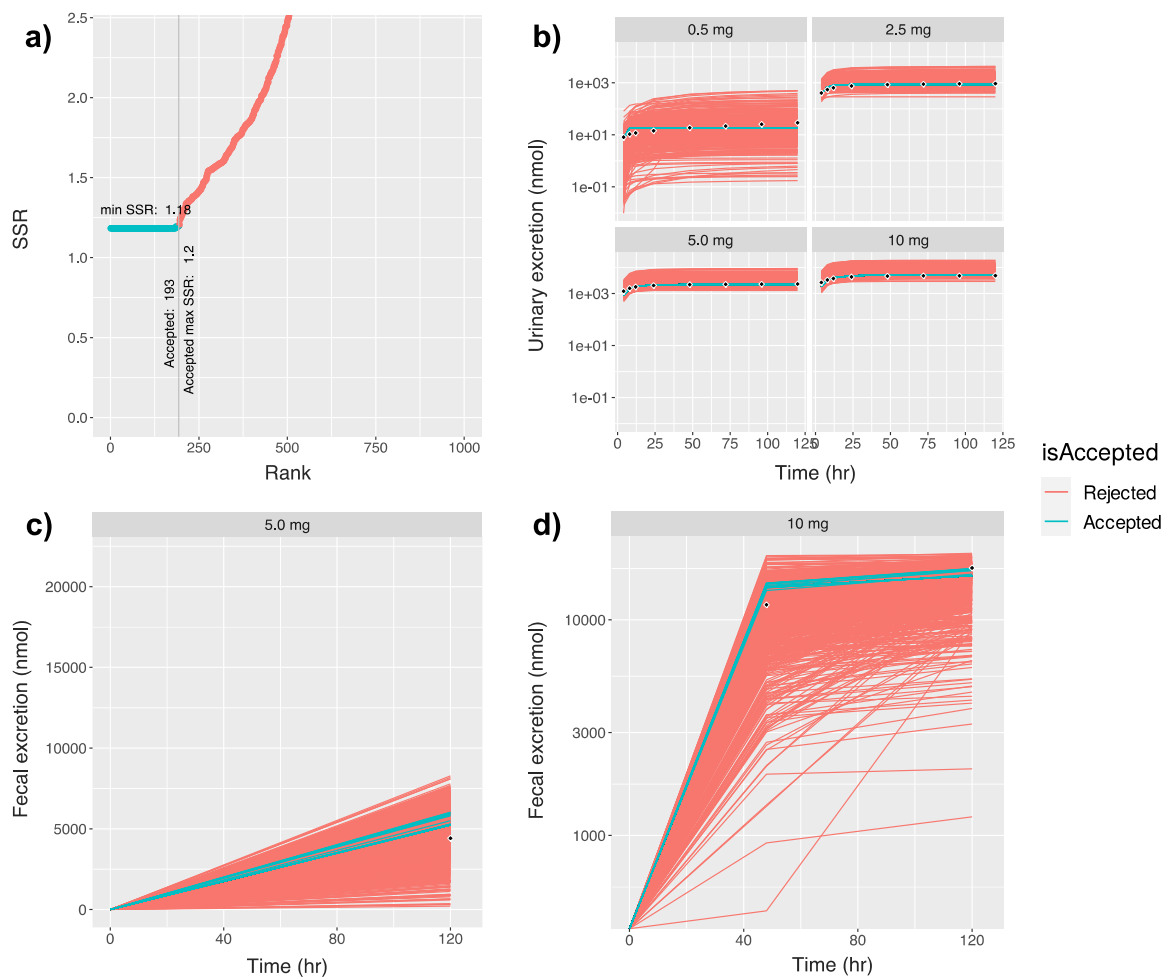


Figure 10. ヒト臨床試験データ PBPK-CGNM 解析結果 (SSR'および排泄量推移).

a) ヒト臨床試験データの SSR ランクプロット. 得られた 1000 組のパラメータセットの SSR'を降順で示した. 青色および赤色の点はそれぞれカットオフによって選択されたパラメータセットと除外されたパラメータセットを示す. b) 0.5 から 10 mg 静注時の尿中累積排泄量推移. c) 5 mg 静注時の糞中累積排泄量推移. d) 10 mg 経口投与時の糞中累積排泄量推移. b), c), d) の各パネルにおいて, 実線および点はそれぞれモデルによる予測推移および実測推移を示す.

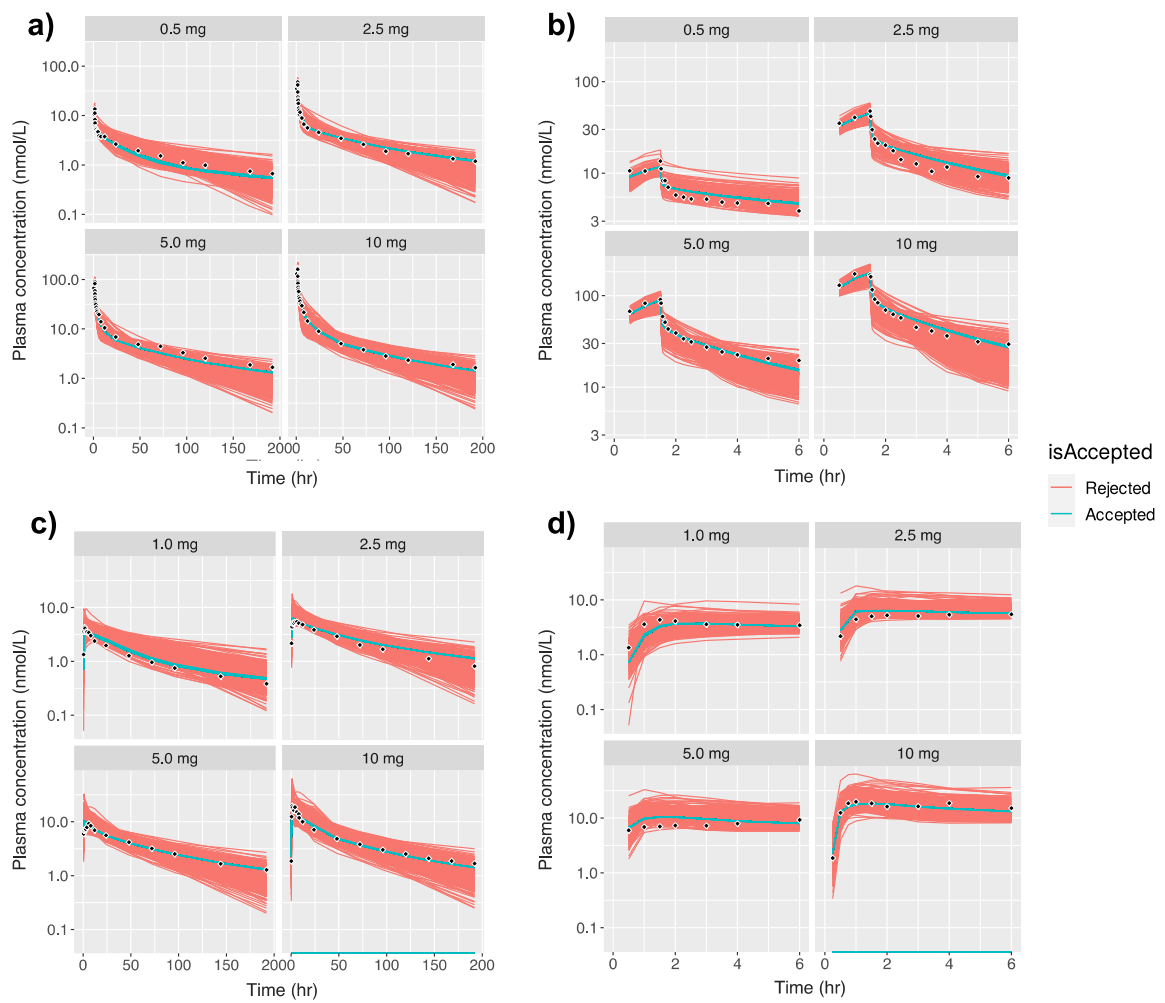


Figure 11. ヒト臨床試験データ PBPK-CGMN 解析結果 (血漿中 LNG 濃度推移).

a)および b) 0.5 から 10 mg 静注時の血漿中 LNG 濃度推移. b)は 0 から 6 時間までの拡大図を示す. c)および d) 1 から 10 mg 経口投与時の血漿中 LNG 濃度推移. d)は 0 から 6 時間までの拡大図を示す. 各パネルにおいて, 実線および点はそれぞれモデルによる予測推移および実測推移を示す.

Table 10. ヒト臨床試験データの解析で得られたパラメータ推定値.

Parameter	Unit	min	25%	median	75%	max
A _s DPP4	nmol	30.1	31.0	31.0	31.1	31.1
A _t DPP4	nmol	2.34 × 10 ³	2.61 × 10 ³	2.61 × 10 ³	2.62 × 10 ³	2.62 × 10 ³
CL _{Pgp} ^b	L/hr	40.0	53.4	53.5	53.5	53.6
CL _{int,h}	L/hr	406	407	407	407	440
CL _{reab,DPP4}	L/hr	0.0211	0.0228	0.0228	0.0228	0.0229
CL _{sec,int}	L/hr	60.9	61.5	61.5	61.5	61.8
K _d	nM	0.0258	0.0259	0.0259	0.0259	0.0280
K _{p,rem.vivo}	-	1.77	1.85	1.85	1.85	1.85
LR	-	3.49	6.21	6.22	6.22	6.54
PS _{dif,ent,BE}	L/hr	1.88	1.91	1.91	1.91	2.37
V _{max,P-gp}	nmol/hr	7.48 × 10 ⁶	9.99 × 10 ⁶	1.00 × 10 ⁷	1.00 × 10 ⁷	1.00 × 10 ⁷
f _{bile}	-	0.970	0.970	0.970	0.970	1.00
f _{lumen,gut}	-	0.486	0.56	0.56	0.56	0.561
f _{lumen,kidney}	-	0.439	0.447	0.447	0.447	0.474
k _{off}	1/hr	0.216	0.229	0.229	0.230	0.233
k _{on} ^a	L/hr/nmol	7.88	8.87	8.87	8.88	8.88
rAlpha	-	0.634	0.693	0.694	0.694	0.699
rGL	-	51.1	59.3	59.3	59.3	59.4
SSR	-	1.18	1.18	1.18	1.18	1.20

^ak_{on} = k_{off} / K_d,

* 各パラメータの説明は Table 8 に示した.

3.3.3. パラメータ推定値の分布と特定可能性

バイオリンプロットでは、16個のすべての推定パラメータが比較的小さなばらつきを示した (Figure 12a)。ペナルティを課したパラメータは、 K_d を除いて、参照値である *in vitro* 実験値に近い値が推定された。 K_d は、ペナルティを課しているにもかかわらず、参照値の約半分の値と推定された (Table 10)。プロフィール尤度プロットは、推定されたパラメータの全てが下に凸であり、識別可能であったことが示された (Figure 12b)。

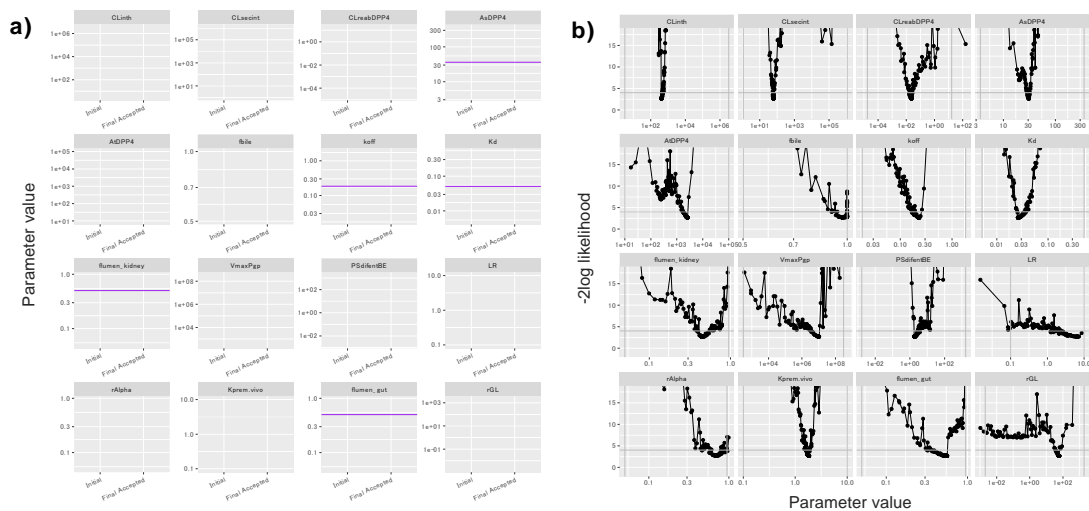


Figure 12. ヒト臨床試験データの解析で選択されたパラメータ推定値のバイオリンプロットおよびプロフィール尤度プロット。

a) パラメータ推定値のバイオリンプロット. 灰色の領域はパラメータの初期値および推定値の分布を示す. 黒色の点および縦線はそれぞれ中央値および四分位点を示す. 初期値および推定値の間をつなぐ実線および破線はそれぞれ四分位点および上限/下限をつなぐ線である. 紫色の実線はペナルティ付き推定法で用いた参照値を示す. b) パラメータ推定値のプロフィール尤度プロット. 点で繋がれた黒色の実線はパラメータ推定値に対する $-2 \log \text{likelihood}$ の近似値を示す.

3.3.4. 先行研究で構築された PBPK モデルとの予測性能の比較

本研究の PBPK モデルでのシミュレーション結果と先行研究でのシミュレーション結果 (Sarashina et al) を比較し、Figure 13 および Figure 14 に示した。

本研究の PBPK モデルは、先行研究の PBPK モデルと比較して、投与後 0 から 6 時間までの間に見られる特徴的な分布相をより精度よく再現した (Figure 13)。SSR を比較した場合、静脈内投与時のシミュレーションでは、本研究の PBPK モデルは先行研究の PBPK モデルと比較して、およそ 1/2 の SSR 低下を示し、経口投与データではおよそ 1/3 の SSR 低下を示した (Figure 14)。

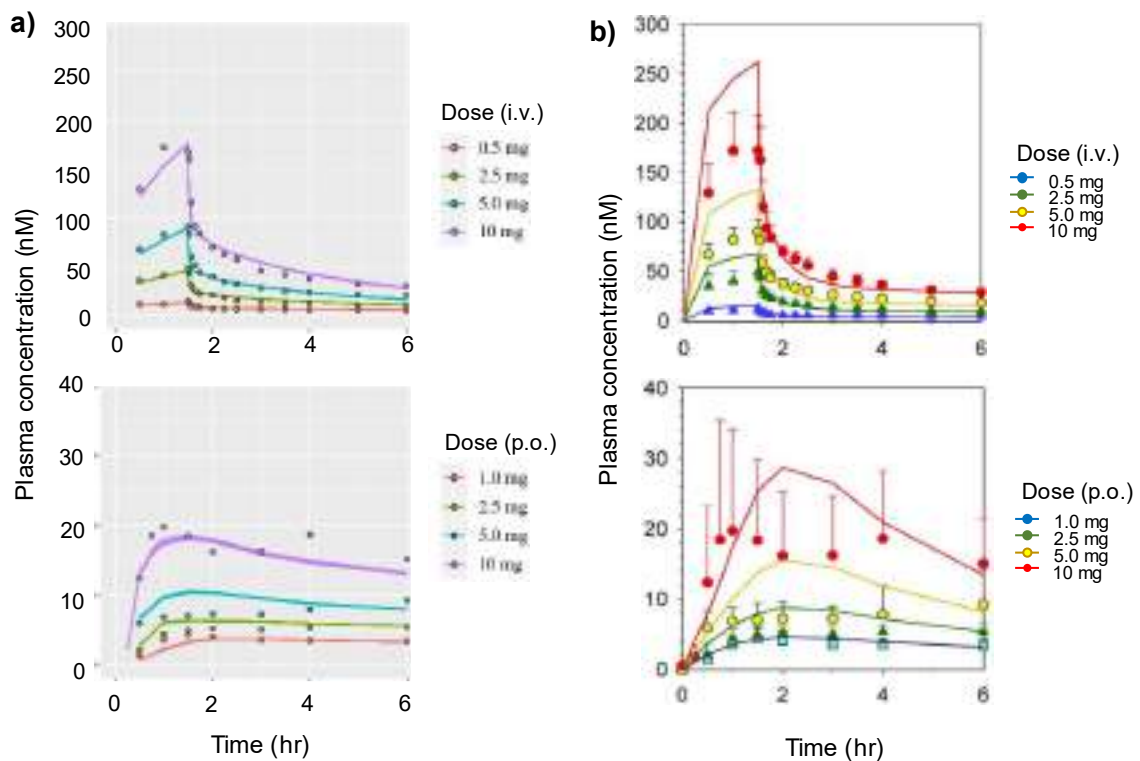


Figure 13. 以前の研究の PBPK モデルと本研究の PBPK モデルの予測性能の比較.

a) 本研究の PBPK モデルによる予測血漿中 LNG 濃度推移. b) 以前の研究の PBPK モデルによる予測血漿中濃度推移. a) の予測濃度推移は選択されたパラメータセットに基づく.

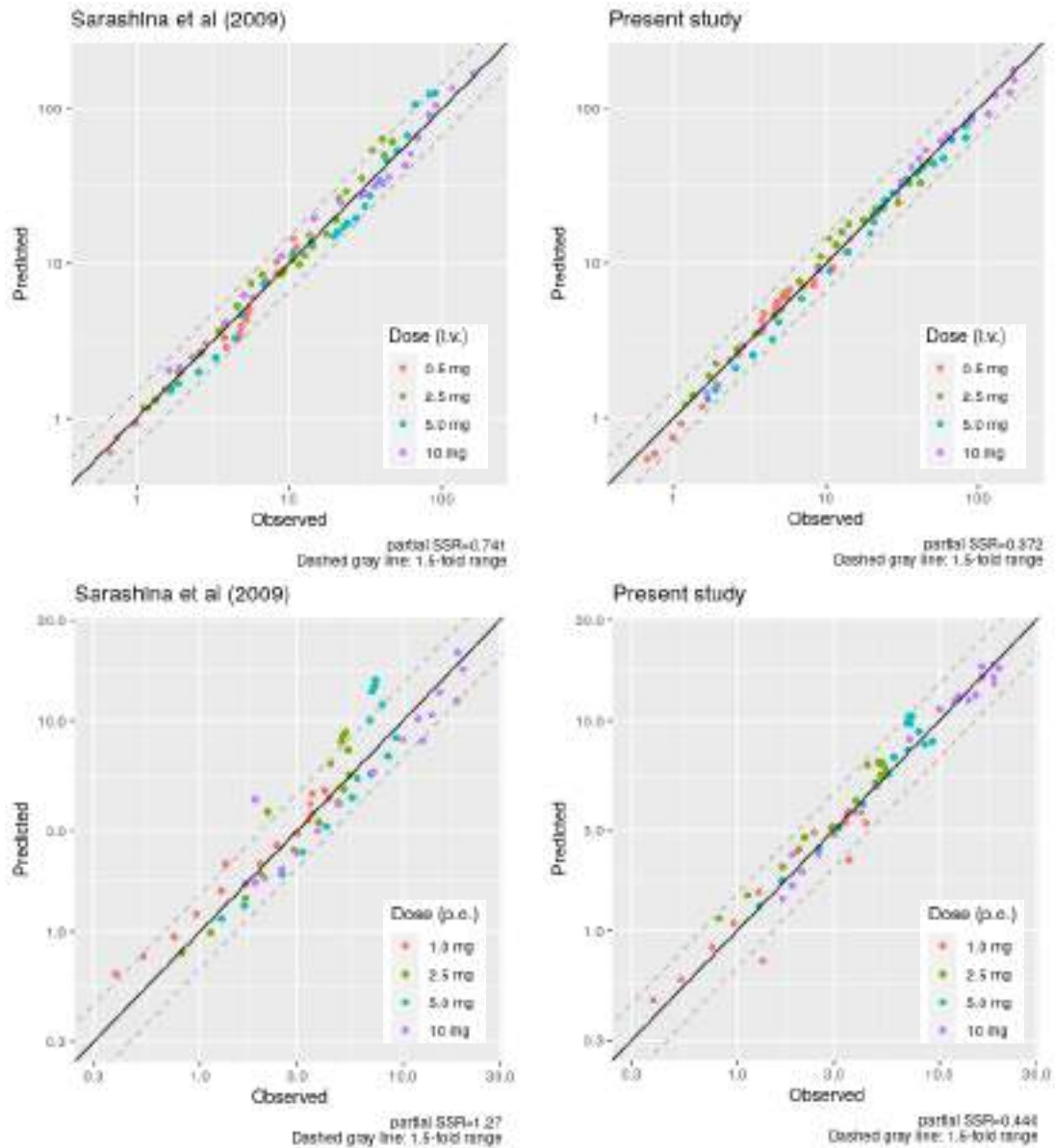


Figure 14. 血漿中濃度の予測値および実測値の散布図.

予測血漿中濃度および実測血漿中濃度の散布図. 上段は静注, 下段は経口投与時の血漿中濃度の散布図を示す. 左および右の列はそれぞれ以前の研究の PBPK モデルおよび本研究の PBPK モデルを示す. 各パネルにおいて, 黒色の実線は予測と実測が 1:1 で対応する線を示す. 灰色の破線は 1.5 倍の範囲を示す. パネル右下の partial SSR は事後的に計算した血漿中 LNG 濃度に基づく SSR を示す.

3.3.5. 解析に用いなかった臨床試験データに対する PBPK モデルの予測性能

さらに、本研究で開発された PBPK モデルの予測性能を評価するために、パラメータ推定時に使用しなかった反復経口投与時の血漿中 LNG 濃度プロファイルのシミュレーションを行った。シミュレーションは概ね実測データをよく再現したことから、本研究の PBPK モデルが良好な予測性能を有していることが示唆された (Figure 15)。

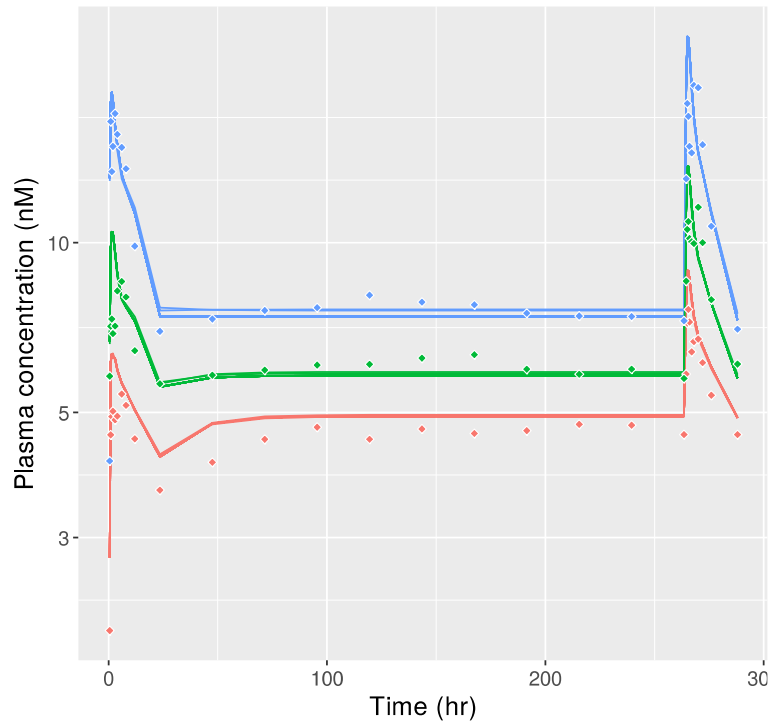


Figure 15. 反復経口投与時の血漿中 LNG 濃度データの予測値および実測値。

反復経口投与時の血漿中 LNG 濃度推移. 血漿中濃度は Day1 および Day12 で頻回採血され、Day2 から Day11 の間ではトラフ濃度が測定されている. 実線および点はそれぞれモデルによる予測推移および実測データを示す. モデル予測値はヒト臨床試験データの解析で選択されたパラメータに基づく.

3.3.6. 異なる仮定をおいた PBPK-CGNM 解析による DPP-4 依存性腎再吸収の不可欠性の確認

LNG-DPP4 複合体の DPP-4 依存性腎再吸収クリアランス ($CL_{reab,DPP4}$) の仮定が、LNG の非線形性の尿中未変化体排泄量推移を記述するうえで不可欠であることを確認するために、2つの追加シナリオの下でラットからヒトへの一連の解析を実施した。1つ目の追加シナリオは、 $CL_{reab,DPP4}$ をゼロに固定した PBPK-CGNM 解析、2つ目の追加シナリオは、非結合 LNG に対する腎再吸収クリアランス ($CL_{reab,u}$)、すなわちトランスporterによる再吸収を仮定した PBPK-CGNM 解析である。2つの追加シナリオでラットからヒトの一連の PBPK-CGNM 解析を行った結果をこれまで述べてきた $CL_{reab,DPP4}$ を仮定した PBPK-CGNM 解析と比較し、Figure 16 に示した。 $CL_{reab,DPP4}$ をゼロに固定した PBPK-CGNM 解析 (Figure 16 中段) および $CL_{reab,u}$ を仮定した PBPK-CGNM 解析 (Figure 16 下段) では、LNG の非線形性の尿中未変化体排泄量推移を適切に説明できず、また、糞中未変化体排泄量推移の予測値はばらつきが大きくなったものの系統的な変化は見られなかった。

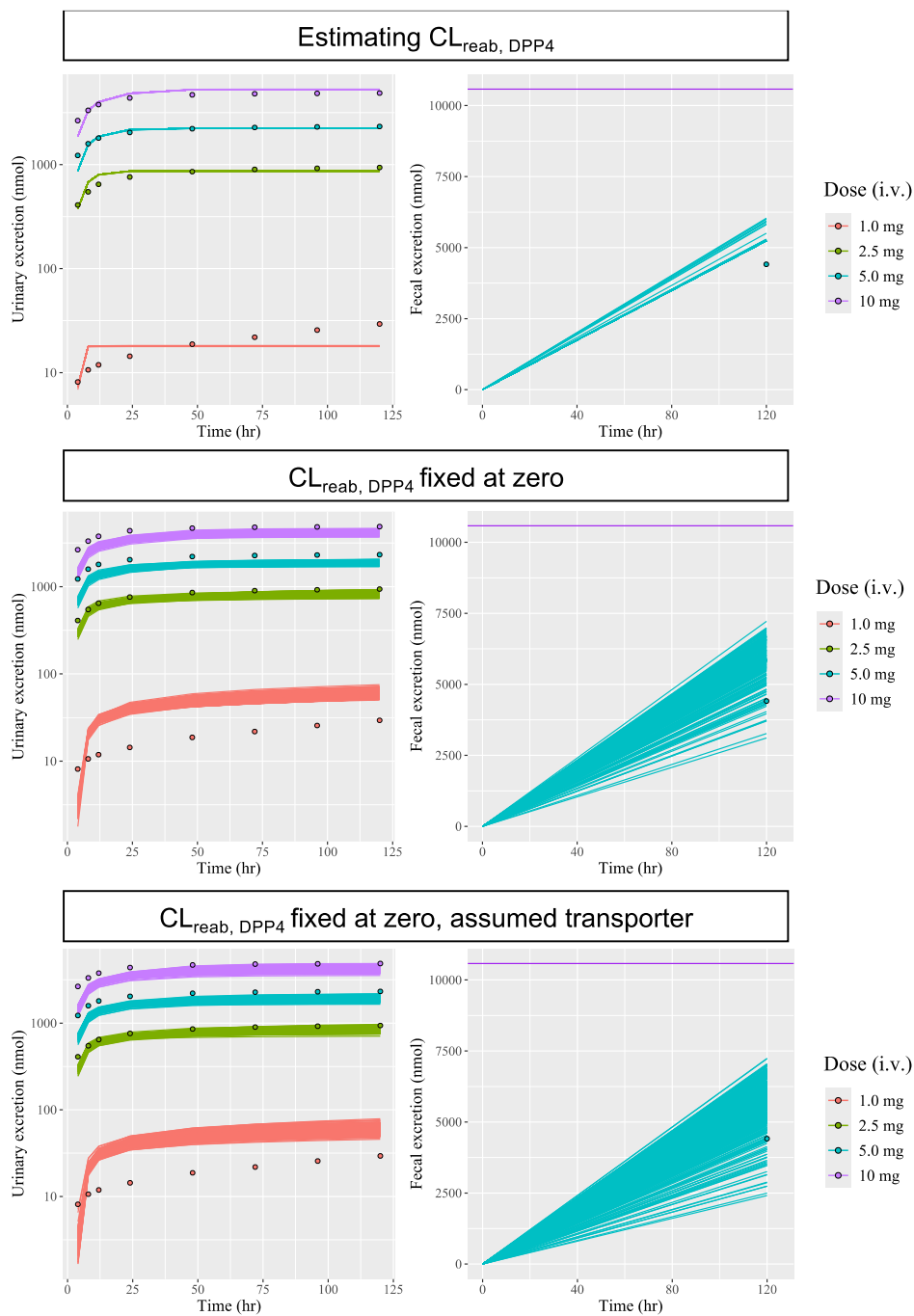


Figure 16. 異なる仮定に基づく PBPK-CGNM 解析による予測尿中未変化体排泄量.

上段) DPP-4 依存性腎再吸収($CL_{reab, DPP4}$)を仮定した PBPK-CGNM 解析による予測尿中未変化体排泄量推移および糞中未変化体排泄量推移. 中段) DPP-4 依存性腎再吸収($CL_{reab, DPP4}$)を仮定しない PBPK-CGNM 解析による予測尿中未変化体排泄量推移および糞中未変化体排泄量推移. 下段) 尿細管での非結合型 LNG に対する再吸収($CL_{reab, u}$)を仮定した PBPK-CGNM 解析による予測尿中未変化体排泄量推移および糞中未変化体排泄量推移. 各パネルにおいて実線および点はモデルによる予測推移および実測を示す. モデルによる予測は選択されたパラメータに基づく.

3.3.7. 感度分析

PBPK モデルパラメータが非線形性の血漿中 LNG 濃度推移と尿/糞中便排泄量推移に与える影響を確認するために、ヒト PBPK モデルを用いた感度解析を実施した。ここでは、ヒト臨床試験データの PBPK-CGNM 解析で得られた推定パラメータセットのうち、SSR が最小となるパラメータセットを基準パラメータセットとして、TMDD に関与すると考えられる 5 つのパラメータ (A_{tDPP4} 、 A_{sDPP4} 、 K_d 、 k_{off} 、および $CL_{reab,DPP4}$) を 0.1 倍および 10 倍に変化させた場合のシミュレーションを行った。感度分析の結果を Figure 17 に示した。また、血漿中 LNG 濃度推移および尿/糞中便排泄量推移の曲線下面積を計算し、基準パラメータセットに対する変動率を Table 11 にまとめた。

AtDPP-4 の感度分析

A_{tDPP4} は血漿中 LNG 濃度推移、尿中排泄量推移、および糞中排泄量推移に対して大きな影響を与えた。静脈内投与時の血漿中 LNG 濃度推移では、 A_{tDPP4} を 10 倍に変化させた場合に消失速度が上昇した。経口投与時では、 A_{tDPP4} を 0.1 倍に変化させた場合に吸収速度は低下し、投与量が低いほどより顕著な影響が見られた。尿中排泄量推移は、 A_{tDPP4} を 0.1 倍に変化させた場合に増加し、曲線下面積 (Table 11) は投与量が低いほどより大きく変化した。 A_{tDPP4} を 10 倍に変化させた場合では、尿中排泄量は低下し、曲線下面積 (Table 11) は用量が高いほど大きく変化した。糞中排泄量推移は、 A_{tDPP4} を 0.1 倍に変化させた場合に増加し、 A_{tDPP4} を 10 倍に変化させた場合では低下した。

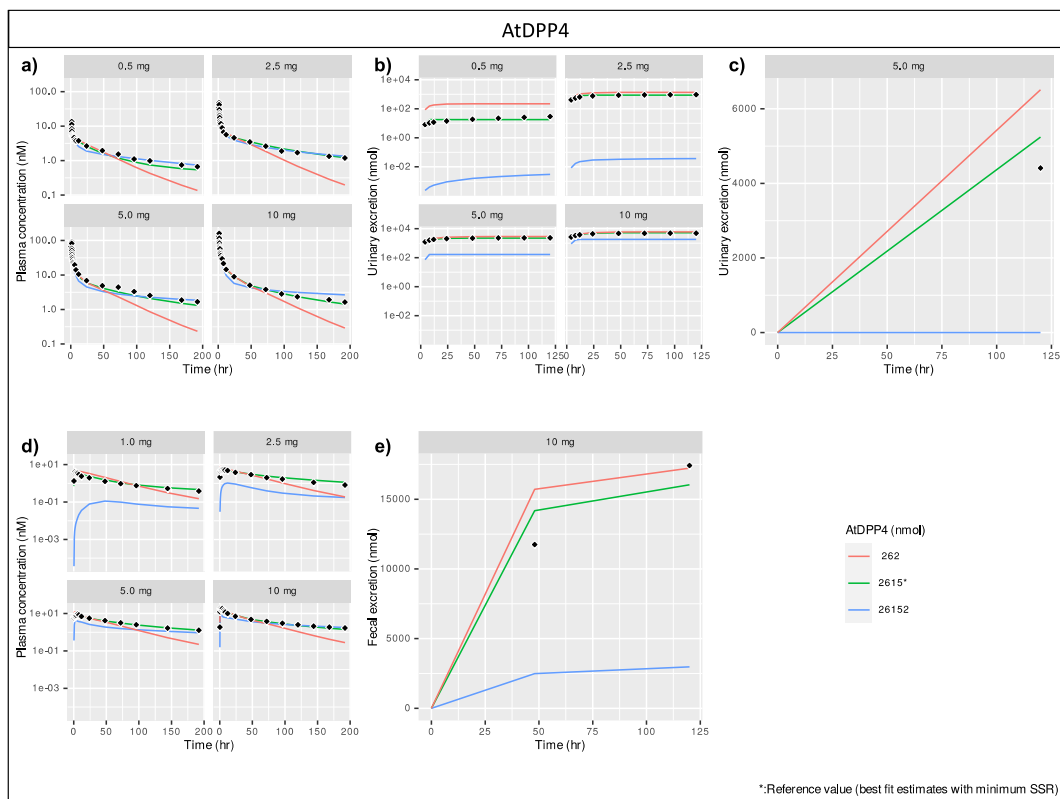


Figure 17-1. A_{tDPP4} の感度分析.

0.5 から 10 mg 静注時の血漿中 LNG 濃度推移(a), 尿中未変化体排泄量推移(b), 糞中未変化体排泄量推移(c). 1 から 10 mg 経口投与時の血漿中 LNG 濃度推移(d), 糞中未変化体排泄量推移(e) 実線は SSR が最小のパラメータセット(基準パラメータセット)による予測値, および基準パラメータセットの A_{tDPP4} を 0.1 倍ならびに 10 倍に変化させたときの予測値を示す. 点は実測データを示す.

AsDPP4 の感度分析

AsDPP4 は血漿中 LNG 濃度推移および尿中排泄量推移に対して大きな影響を与え、糞中排泄量推移にはほとんど影響を与えなかった。血漿中 LNG 濃度推移は、AtDPP4 とは対照的に、投与後初期から消失相までの全域にわたって大きく変化し、AsDPP4 を 0.1 倍に変化させた場合に低下、AsDPP4 を 10 倍に変化させた場合に上昇した。尿中排泄量推移は、AsDPP4 を 10 倍に変化させた場合に、0.5 mg 投与時の曲線下面積がおよそ 0.01 倍に低下したが、2.5, 5, 10 mg 投与時の推移はほとんど変化せず、また、AtDPP4 を 0.1 倍に変化させた場合でも変化しなかった (Table 11)。

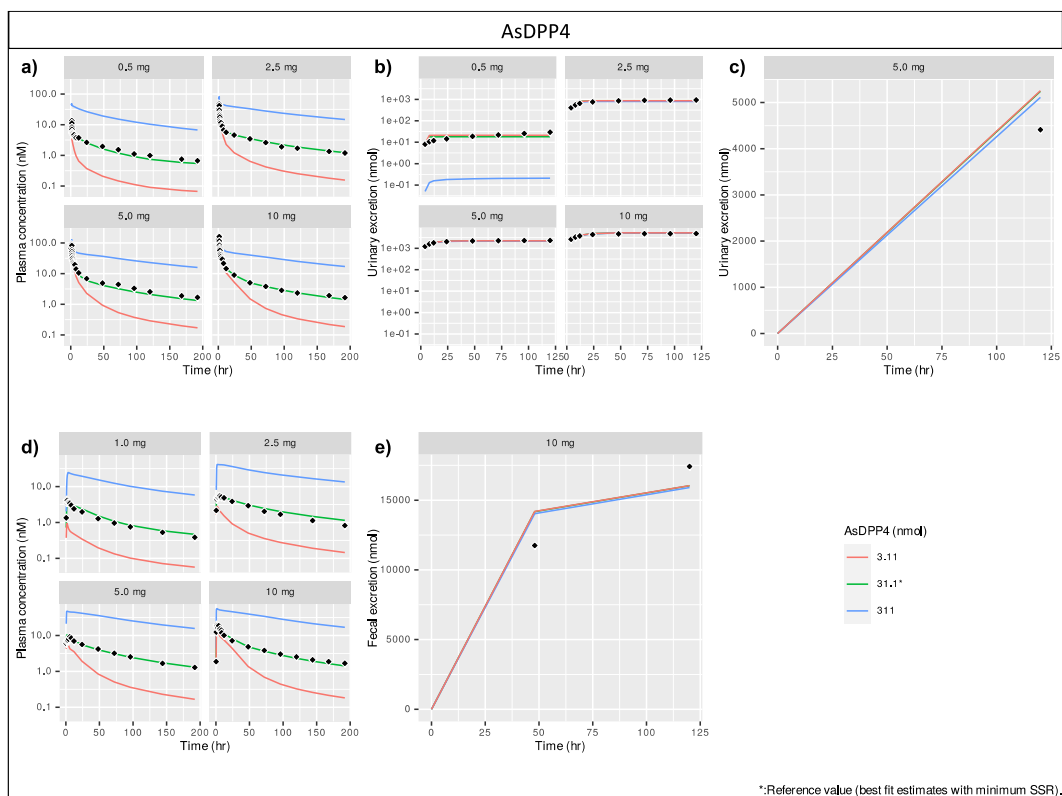


Figure 17-2. AsDPP4 の感度分析.

0.5 から 10 mg 静注時の血漿中 LNG 濃度推移(a), 尿中未変化体排泄量推移(b), 糞中未変化体排泄量推移(c). 1 から 10 mg 経口投与時の血漿中 LNG 濃度推移(d), 糞中未変化体排泄量推移(e) 実線は SSR が最小のパラメータセット(基準パラメータセット)による予測値, および基準パラメータセットの AsDPP4 を 0.1 倍ならびに 10 倍に変化させたときの予測値を示す. 点は実測データを示す.

K_dの感度分析

K_dは血漿中 LNG 濃度推移に対して大きな影響を与え、尿中排泄量推移に対してわずかに影響を与えた。糞中排泄量推移にはほとんど影響を与えなかった。血漿中 LNG 濃度推移では、A_{sDPP4}とは対照的に、消失相の傾きに対して大きな影響を与え、K_dを 0.1 倍に変化させた場合に傾きは増加し、K_dを 10 倍に変化させた場合では低下した。尿中排泄量推移は、0.5 mg 投与時の推移がわずかに変化し、K_dを 10 倍に変化させた場合の曲線下面積はおよそ 2 倍に増加した (Table 11)。

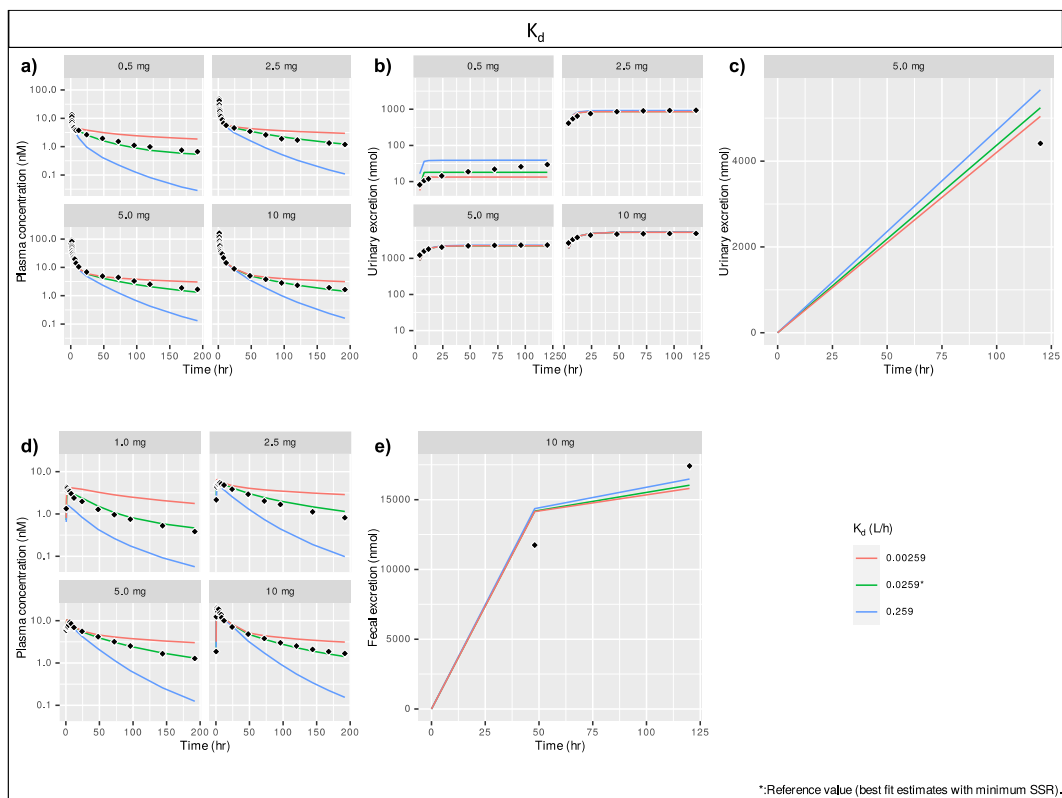


Figure 17-3. K_dの感度分析.

0.5 から 10 mg 静注時の血漿中 LNG 濃度推移(a), 尿中未変化体排泄量推移(b), 糞中未変化体排泄量推移(c). 1 から 10 mg 経口投与時の血漿中 LNG 濃度推移(d), 糞中未変化体排泄量推移(e) 実線は SSR が最小のパラメータセット(基準パラメータセット)による予測値, および基準パラメータセットの K_d を 0.1 倍ならびに 10 倍に変化させたときの予測値を示す. 点は実測データを示す.

k_{off} の感度分析

k_{off} は1.0 mg 経口投与時の血漿中 LNG 濃度推移に対して大きな影響を与えた。 k_{off} は前述の A_{tDPP4} , A_{sDPP4} , および K_d と比較して、血漿中 LNG 濃度、尿中排泄量推移、および糞中排泄量推移のいずれに対する影響も小さかったが、0.5 mg 経口投与時の血漿中 LNG 濃度推移では、 k_{off} を0.1倍に変化させた場合に吸収速度が低下した。

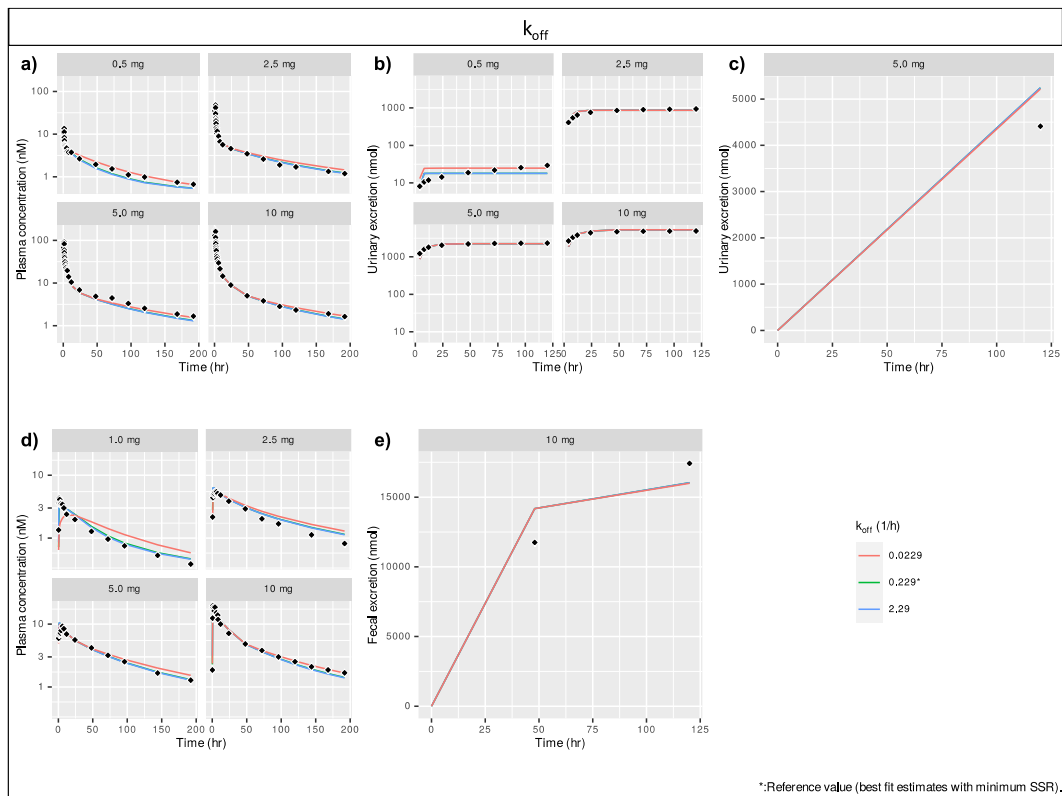


Figure 17-4. k_{off} の感度分析.

0.5 から 10 mg 静注時の血漿中 LNG 濃度推移(a), 尿中未変化体排泄量推移(b), 糞中未変化体排泄量推移(c). 1 から 10 mg 経口投与時の血漿中 LNG 濃度推移(d), 糞中未変化体排泄量推移(e) 実線は SSR が最小のパラメータセット(基準パラメータセット)による予測値, および基準パラメータセットの k_{off} を 0.1 倍ならびに 10 倍に変化させたときの予測値を示す. 点は実測データを示す.

CL_{reab,DPP4} の感度分析

CL_{reab,DPP4}は尿中排泄量推移に対して大きな影響を与えた。尿中排泄量推移は、CL_{reab,DPP4}を0.1倍に変化させた場合に増加し、曲線下面積（Table 11）は投与量が低いほどより大きく増加した。CL_{reab,DPP4}を10倍に変化させた場合では、尿中排泄量は低下し、曲線下面積（Table 11）は用量が低いほど大きく低下した。

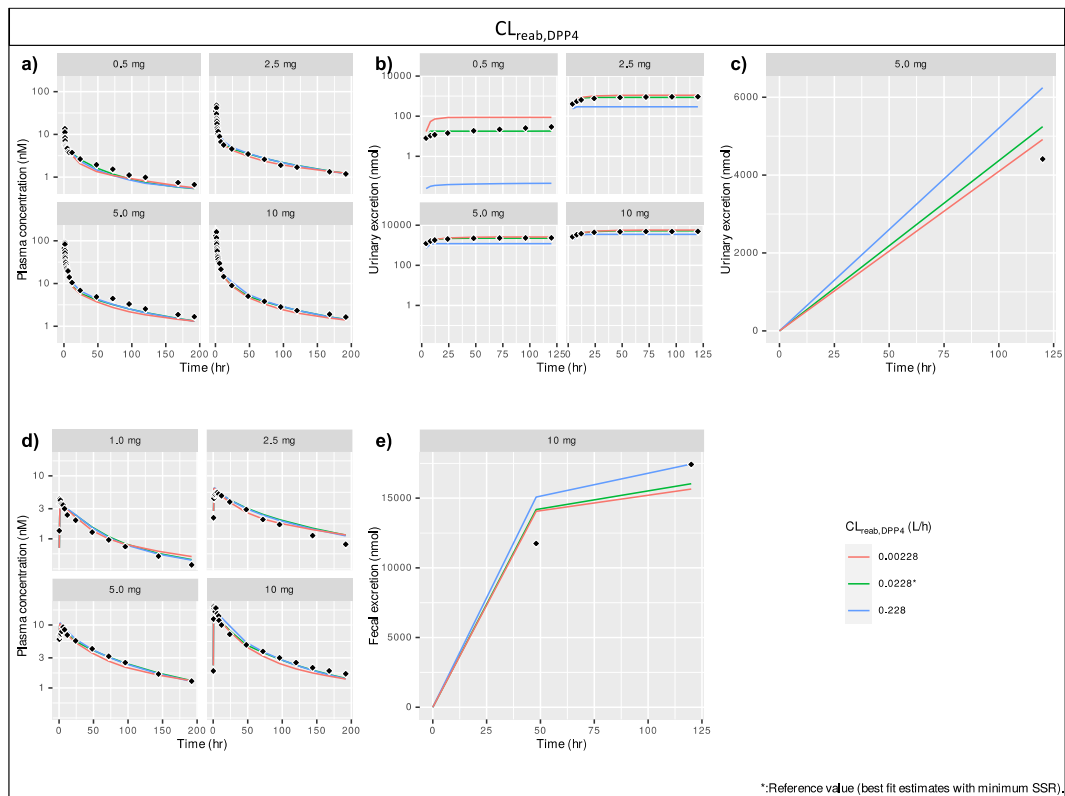


Figure 17-5. CL_{reab,DPP4} の感度分析.

0.5 から 10 mg 静注時の血漿中 LNG 濃度推移(a), 尿中未変化体排泄量推移(b), 糞中未変化体排泄量推移(c). 1 から 10 mg 経口投与時の血漿中 LNG 濃度推移(d), 糞中未変化体排泄量推移(e) 実線は SSR が最小のパラメータセット(基準パラメータセット)による予測値, および基準パラメータセットの CL_{reab,DPP4} を 0.1 倍ならびに 10 倍に変化させたときの予測値を示す. 点は実測データを示す.

Table 11. 感度分析による曲線下面積の変化倍率.

Parameters		Fold AUC change from reference					
		Plasma concentration ^a		Urinary excretion ^b		Fecal excretion ^c	
		i.v. ^d	p.o. ^e	i.v. ^d		i.v.	p.o.
A _i DPP4	×0.1	(0.927, 0.772, 0.830, 0.893)	(1.15, 0.764, 0.776, 0.836)	(11.9, 1.51, 1.24, 1.12)		1.24	1.09
	×10	(0.979, 0.886, 0.894, 0.922)	(0.0590, 0.170, 0.523, 0.758)	(1.00×10 ⁻⁴ , 0.378×10 ⁻⁴ , 75.8×10 ⁻⁴ , 360×10 ⁻⁴)		9.36×10 ⁻⁸	0.179
A _s DPP4	×0.1	(0.188, 0.326, 0.450, 0.595)	(0.142, 0.198, 0.278, 0.401)	(1.17, 1.01, 1.00, 1.00)		1.00	1.00
	×10	(10.9, 8.32, 6.91, 5.29)	(9.84, 9.54, 8.76, 7.36)	(0.0107, 0.932, 0.970, 0.986)		0.975	0.991
K _d	×0.1	(1.95, 1.37, 1.25, 1.15)	(2.28, 1.51, 1.35, 1.23)	(0.737, 0.988, 0.995, 0.998)		0.962	0.988
	×10	(0.369, 0.540, 0.659, 0.778)	(0.294, 0.411, 0.527, 0.656)	(2.15, 1.06, 1.02, 1.01)		1.08	1.02
k _{off}	×0.1	(1.24, 1.06, 1.04, 1.03)	(1.08, 1.06, 1.05, 1.04)	(1.38, 1.00, 1.00, 1.00)		0.995	0.999
	×10	(0.978, 0.993, 0.995, 0.997)	(0.982, 0.996, 0.995, 0.996)	(0.997, 1.00, 1.00, 1.00)		1.00	1.00
CL _{reab,DPP4}	×0.1	(0.935, 0.930, 0.942, 0.957)	(0.969, 0.914, 0.924, 0.937)	(4.67, 1.23, 1.12, 1.06)		0.937	0.985
	×10	(0.964, 1.05, 1.06, 1.07)	(0.992, 0.988, 1.03, 1.08)	(0.00234, 0.348, 0.556, 0.688)		1.19	1.07

a: 基準およびテストパラメータセットに基づく予測血漿中 LNG の濃度推移の曲線下面積 (AUC).

b: 基準およびテストパラメータセットに基づく予測尿中未変化体排泄量推移の曲線下面積 (AUC).

c: 基準およびテストパラメータセットに基づく予測糞中未変化体排泄量推移の曲線下面積 (AUC).

d: 投与量毎 (0.5, 2.5, 5.0, 10 mg)の AUC 比を示す.

e: 投与量毎 (1.0, 2.5, 5.0, 10 mg)の AUC 比を示す.

3.4. 考察

ヒト臨床試験データのノンコンパートメント解析では、LNG の非線形薬物動態と飽和性のタンパク結合の関係を確認することを目的に、血漿中非結合型 LNG 濃度に基づく $AUC_u/Dose$ および $CL_{R,u}$ を算出した。算出された $AUC_u/Dose$ は投与量によらず一定であり、線形性を示したことから、血漿中 LNG 濃度の非線形性が、主に LNG と血漿中 sDPP-4 の飽和性の結合に起因することが示唆された (Table 9)。一方、 $CL_{R,u}$ は投与量依存的に上昇し、尿中排泄の非線形性が血漿中 sDPP-4 では説明できないことが示された。LNG の尿中排泄の非線形は野生型マウスでも観察されるが、Dpp-4 ノックアウトマウスでは観察されないことが報告されている⁵。これらの知見は、尿中 LNG 排泄の非線形性において腎臓 tDPP-4 が重要な役割を果たすことを示唆するものであると考えられる。

ヒトの PBPK-CGPM 解析では、全身の DPP-4 分布に関連するパラメータである A_{sDPP4} ならびに A_{tDPP4} と、腎臓での tDPP-4 の動態に関連するパラメータである $CL_{reab,DPP4}$ を含む、全 14 個のパラメータが推定された (Figure 12)。 A_{sDPP4} および A_{tDPP4} の推定値 (中央値) はそれぞれ 31.0 nmol および 2.61×10^3 nmol であった (Table 10)。 A_{sDPP4} および A_{tDPP4} を使用して事後計算した血漿中 sDPP-4 濃度と腎尿細管上の tDPP-4 密度はそれぞれ 4.29 nmol/L および 516 nmol/L kidney であり、いずれも以前の報告²の 1.5 倍の範囲内であり、以前の解析と本研究の解析の間に一貫性があることが示された。

ラットおよびヒトでの推定 DPP-4 量を体重で補正し、DPP-4 発現量の種差を比較すると、体重あたりの tDPP-4 量はラットで 63.1 nmol/kg、ヒトで 37.4 nmol/kg、体重あたりの sDPP-4 量はラットで 0.125 nmol/kg、ヒトで 0.444 nmol/kg であった (Table 12)。

Table 12. ラットおよびヒトの体重補正した推定 DPP-4 発現量.

Parameter	Rat					Humans				
	min	25%	media	75%	max	min	25%	media	75%	max
A_{sDPP4} (nmol/kg)	0.067	0.11	0.125	0.12	0.17	0.43	0.44	0.444	0.44	0.44
	8	6		9	1	1	4		4	4
A_{tDPP4} (nmol/kg)	34.2	58.5	63.1	65.3	86.2	33.5	37.4	37.4	37.4	37.4

* 体重はラットで 250 g, ヒトで 70 kg とした。

体重あたりの DPP-4 量をラット-ヒトで比較すると、tDPP-4 では約 1.69 倍、sDPP-4 では約 3.55 倍の種差が見られた。DPP-4 がインクレチンをはじめとするさまざまなペプチドホルモンの調節に関与することを考慮すると、種差が示唆されたことは驚くべきことではないが、これらの種差を明確に裏付けるには、定量的プロテオミクス等を統合したさらなる解析が必要と考えられる。

ヒトの PBPK-CGNM で得られた $CL_{reab,DPP4}$ の推定値（中央値）は 0.0228 L/hr であった（Table 10）。本研究での推定値を以前の研究で推定された $CL_{reab,DPP4}$ (CL_{d-t}) と比較すると、およそ 1.4 倍の範囲内であり、概ね類似した結果であった。今回の研究では、CGNM を用いた網羅的なパラメータ探索を行うことで複数の最適パラメータの組み合わせを得ている。本研究と以前の研究で得られた結果の類似性は、以前の研究が最適パラメータの組み合わせのうちの一つを見つけたものであったことを示唆しており、以前の研究で特定されたパラメータ推定値が単なる数理最適値として偶然得られたものではないことを示唆している。本研究において、以前の研究と類似した $CL_{reab,DPP4}$ が推定されたという事実は、以前の研究で見出された DPP-4 依存性の腎再吸収メカニズムの信頼性をさらに強化するものである。DPP-4 に関連した再吸収の具体的なメカニズムを解明するには、*in vitro* 実験を含むさらなる研究が必要であるが、DPP-4 が腎近位尿細管の刷子縁膜上に豊富に発現すること、ならびに Caco-2 細胞ではエンドサイトーシスによる DPP-4 の内在化が報告されていることを考えると、LNG が腎尿細管上の tDPP-4 と複合体を形成し、エンドサイトーシスによって取り込まれている可能性は十分に考えられるものである。

異なるモデル構造を用いて行った複数の PBPK-CGNM 解析の結果では、ヒトで観察される尿中未変化体排泄量推移の非線形性を正確に再現するためには、DPP-4 関連の腎再吸収を考慮することが不可欠であることが確認された（Figure 16）。 $CL_{reab,DPP4}$ をゼロに固定した解析では、非線形性の尿中排泄プロファイルを捉えることができず、 $CL_{reab,DPP4}$ の仮定が必要であることが示された。さらに、腎尿細管での非結合型 LNG の再吸収 ($CL_{reab,u}$) を仮定した場合の解析でも同様に、非線形性の尿中排泄プロファイル再現することはできず、未同定のトランスポーターが関与している可能性も低いことが示唆された。LNG は P-gp および OCT2 の基質であることが報告されている²² が、腎臓での再吸収に関与し得るトランスポーターは報告されていない。さらに、DPP-4 ノックアウトマウスでの尿中排泄プロファイルが非線形性を示さないことから、これらが未同定のトランスポーターに起因するものではないことが示唆される。これらの結果は、ヒトで観察される非線形性の尿中未変化体排泄量推移が、未同定のトランスポーターによる再吸収ではなく DPP-4 依存性腎再吸収によるものであるという仮説をさらに支持するものと考えられる。

本モデルで特定された TMDD を説明するパラメータ (A_{tDPP4} 、 A_{sDPP4} 、および $CL_{reab,DPP4}$) のうち、特に DPP-4 の発現量に関わる A_{tDPP4} および A_{sDPP4} は、他の DPP-4 阻害剤の非線形薬物動態の解析で得られる結果と類似することが予想される。シタグリプチンでは、12.5mg から 400mg の経口投与時に、尿中未変化体排泄率が 70.6% から 88.7% へとわずかに増加することが報告されており、これは LNG で観察されたメカニズムと関連している可能性がある。ただし、シタグリプチンの主たる消失経路が腎排泄であることを考えると、尿細管上の tDPP-4 は急速に飽和することが予想され、シタグリプチンの PBPK-CGNM 解析では、LNG ほど顕著に DPP-4 依存性再吸収が観察されないことが予想される。

我々は、DPP-4 依存性の腎再吸収が、尿中または腎臓の刷子縁膜上での LNG-DPP4 複合体の形成と、複合体の細胞内への内在化によって生じると仮定しており、このプロセスは DPP-4 の内在化と薬物の結合/解離の動態によって説明可能であると考えられる。しかし、複合体形成後の内在化やオルガネラ内での複合体の解離等に薬物依存性があるかどうかという点は依然として不明であることから、実験を含めたさらなるアプローチを通して DPP-4 依存性腎再吸収の薬物依存性を検討する必要がある。

本研究で構築した PBPK モデルは、先行研究でのモデルと比較して、血漿中 LNG 濃度をより精度良く再現した (Figure 13)。以前のモデルでは正確に捉えられなかった生理学的プロセスに関連するパラメータとして K_d に注目すると、本研究では、 K_d は 0.0259nmol/L と推定され、これは既報の *in vitro* 実験値の約半分であった (Table 10)。ペナルティ付きパラメータ推定の対象であるにも関わらず、PBPK-CGNM 解析での推定値と実験値との間に約 2 倍の差異が見られることは注目すべき点であるが、これは実験系に内在する測定精度の限界に起因する可能性がある。また、本研究での K_d の推定値を以前の研究での推定値²と比較すると、前回の研究では K_d が著しく低く推定されている ($K_d=0.00252$ nmol/L)。推定パラメータの感度解析 (Figure 17) では、 K_d を低下させた場合に血漿濃度が大きく増加することが示されていることから、前回の研究では、 K_d が過小評価されたことによって血漿中 LNG 濃度が過大評価された可能性がある (Figure 13b)。本研究で構築した PBPK モデルは、全身に存在する tDPP-4 を適切に組み入れたことで、LNG の非線形性体内動態に関わる生理学的プロセスがより正確に表現され、適切な K_d を仮定しながら血漿中 LNG 濃度推移をより精度良く再現したと考えられる。以前の研究と本研究の間での K_d の推定値の違いは、本研究で tDPP-4 の分布をより正確に考慮したこと由来すると考えられる。言い換えれば、前回のモデルでは全身臓器に発現している tDPP-4 をほとんど考慮できなかったため、より強い結合親和性 (より小さい K_d) を仮定することで代替した可能性がある。

本研究のモデルは、以前の PBPK モデルと比較して、投与後 0 から 6 時間の血漿中 LNG 濃度-時間プロファイルに見られる特徴的な分布相をより精度良く再現している (Figure 13a)。ヒトで観察されるこの特徴的な分布相は、各臓器に発現する tDPP-4 への LNG の時間依存的な分布に起因すると考えられ、この現象は各臓器/組織における tDPP-4 分布を適切に組み込んだ PBPK モデルによって正確に記述された。以前の研究で Sarashina らが全身の tDPP4 を組み込むことができなかつた理由は、過剰なパラメータ化がパラメータ推定の収束を妨げるため、モデルの複雑化を避ける必要があったこと、ならびに、ヒトでの tDPP-4 分布に関する情報が不足していたことに起因する。本研究では、CGNM を用いた強力なパラメータ推定と、ラットからヒトへ tDPP-4 分布を橋渡しするアプローチを用いたことで、これらの課題を克服することに成功した。

LNG の非線形尿中排泄と腎尿細管に発現する tDPP-4 の関係を確認するために、腎尿細管の tDPP-4 占有率のシミュレーションを行った (Figure 18)。シミュレーションでは、1、2.5、5、および 10 mg の異なる用量を経口投与した場合、2.5 mg 投与時に tDPP-4 占有率が 100% に達することが予測された。この結果は、ノンコンパートメント解析で観察された非結合型腎クリアランス ($CL_{R,u}$) の非線形性の特徴 (Table 9) と類似しており、尿中排泄の非線形性が、腎尿細管での tDPP-4 依存性腎再吸収の飽和に起因する可能性を示唆している。

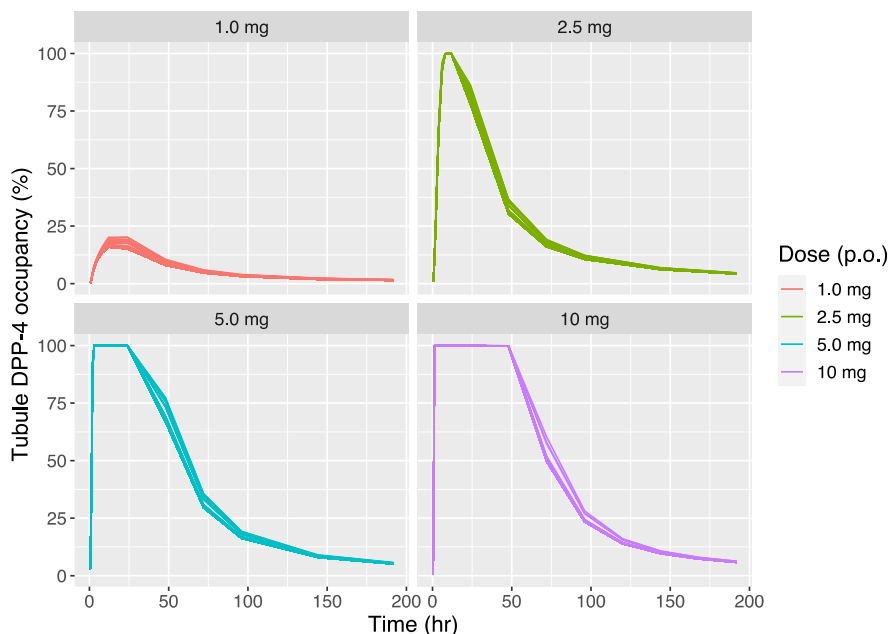


Figure 18. 経口投与時の尿細管 tDPP-4 の占有率の予測

1 から 10 mg 単回経口投与時の尿細管 tDPP-4 の占有率の予測推移. 実線はヒト臨床試験データで得られた推定パラメータセットに基づく予測値を示す.

4. 他の DPP-4 阻害薬への応用

4.1. 緒言

本研究では、野生型および Dpp-4 欠損ラットのオートラジオグラフィーで測定された臓器/組織内の LNG 濃度データを用いた PBPK-CGNM 解析を実施し、ラットでの Dpp-4 分布を明らかにした。さらに、ラットで推定された Dpp-4 分布をヒトの PBPK モデルに橋渡ししてヒト臨床試験データの PBPK-CGNM 解析を行うことで、ヒトでの DPP-4 分布と DPP-4 依存性腎再吸収の存在を明らかにした。このアプローチでは、LNG を DPP-4 に対する高親和性のプローブとして扱い、動物実験データおよびヒト臨床試験データを包括的に解析することで、DPP-4 の分布と動態を捉えることが可能になったと考えられ、推定された DPP-4 の分布と動態は、LNG だけでなく種々の DPP-4 阻害薬にも一貫して適用できると期待される。そこで本研究では、LNG で特定された DPP-4 分布と DPP-4 依存性腎再吸収メカニズムを適用した PBPK モデルを用いて、シタグリプチン (STG)、ビルダグリプチン (VLG)、およびオマリグリプチン (OMG) のヒト臨床試験データの PBPK-CGNM 解析を実施し、LNG で推定された DPP-4 の分布と動態が各種 DPP-4 阻害薬のヒト臨床試験データを再現可能であるか確認した。

STG, VLG, および OMG の PBPK-CGNM 解析を実施するにあたって、解析の対象とした DPP-4 阻害薬について、薬物動態に関わる特徴および解析に利用した実測データ（ヒト臨床試験データもしくは動物実験データ）を比較し、Table 13 にまとめた。

Table 13. 各 DPP-4 阻害薬の特徴および解析データの比較.

	Linagliptin	Sitagliptin	Vildagliptin	Omarigliptin
Clinical dosage	5 mg QD	50 mg QD	50 mg BID	25 mg QW
Approval order	4 th (2011)	1 st (2009)	2 nd (2010)	7 th (2015)
Major elimination	Biliary excretion	renal excretion	renal excretion Metabolism by DPP-4	renal excretion
TMDD in plasma concentration	Significant	Moderate	Moderate	Moderate
TMDD in urinary excretion	Significant	Subtle	N.A.	N.A.
K _d (nM)	0.0066	5.3	2.4	2.75
Molecular weight (g/mol)	472.5	407.3	303.4	398.4
pKa	9.86	8.78	14.71 (Acidic) 9.03 (Basic)	8.81
logP	2.62	1.95	1.12	0.63
Transporter	P-gp, OCT2	P-gp, OAT3	Not reported	Not reported
Autoradiography data	○			
Clinical trial data				
Plasma concentration (i.v.)	○	○	○	
Urinary excretion (i.v.)	○	○		
Fecal excretion (i.v.)	○			
Plasma concentration (p.o.)	○	○	○	○
Urinary excretion (p.o.)	○	○		○
Fecal excretion (p.o.)	○			
Plasma DPP-4 inhibition		○	○	

N.A.: Not available, QD: Once daily, BID, twice daily, QW: once weekly.

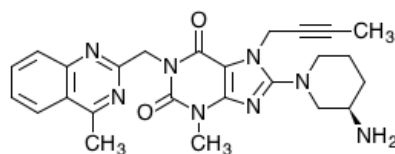


Figure 19. リナグリプチンの構造式.

リナグリプチン (LNG) の構造式を Figure 19 に示す。LNG は本邦では 4 番目に承認された DPP-4 阻害薬である。LNG は上市されている DPP-4 阻害薬の中で最も DPP-4 に対する結合親和性が高く、血漿中薬物濃度推移および尿中未変化体排泄量推移はいずれも顕著な TMDD を示す。また、LNG では、Fuchs らの研究¹⁰によってラットでの臓器/組織への分布が詳細に明らかになっており、全身の DPP-4 依存的な LNG 分布に関する豊富な情報が利用可能である。

他の DPP-4 阻害薬は、LNG と比較して DPP-4 に対する親和性が低く、LNG ほど顕著な TMDD を示さない。またラットでの臓器/組織への薬物分布に関する情報もほとんど存在しないことから、LNG は DPP-4 の分布と動態を探る上でのプローブとして最も適した化合物であると考えられる。

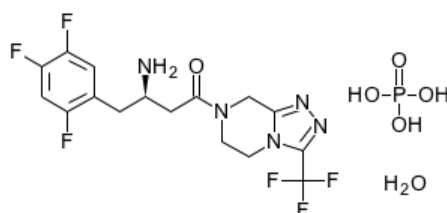


Figure 20. シタグリプチンの構造式.

シタグリプチン (STG) の構造式を Figure 20 に示す。STG は本邦で初めて承認された DPP-4 阻害薬である。STG の K_d は LNG と比較して 800 倍ほど高く、DPP-4 に対する結合親和性は LNG ほど高くないが、血漿中薬物濃度推移は TMDD を示し、尿中未変化体排泄量推移にも非線形性が見られる。STG の物理化学的性質 (分子量、 pK_a 、 $\log P$) は比較的 LNG に近いが、主たる排泄経路は尿中への未変化体排泄である。これは STG の血漿タンパク結合率が LNG ほど高くないため糸球体ろ過を受けやすいこと、ならびに STG が OAT3 の基質であることに由来していると考えられる。

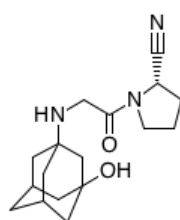


Figure 21. ビルダグリプチンの構造式.

ビルダグリプチン (VLG) の構造式を Figure 21 に示す。VLG は本邦で 2 番目に承認された DPP-4 阻害薬である。VLG の K_d は、LNG と比較して 3~400 倍ほど高く、LNG ほどの結合親和性は持たないが、STG と比較した場合には 1/2 ほどであり、STG よりも結合親和性が高い。VLG では、血漿中薬物濃度推移に TMDD が見られるが、尿中未変化体排泄量の経時的推移が報告されておらず、尿中未変化体排泄量が非線形性を示すかは不明である。VLG の物理化学的性質は概ね LNG に近いが、LNG と比較して分子量がやや小さく、 $\log P$ は LNG の約 1/2 である。VLG の主たる排泄経路は腎排泄であるが、グルクロン酸抱合および DPP-4 による直接の代謝を受けることが知られ、グルクロン酸抱合体 (M20.2) は DPP-4 に対して親和性を有している。

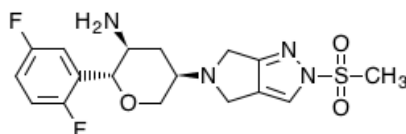


Figure 22. オマリグリプチンの構造式.

オマリグリプチン (OMG) の構造式を Figure 22 に示す。OMG は本邦で 7 番目に承認された DPP-4 阻害薬である。OMG の用法は 1 週間に 1 回の投与であり、他の DPP-4 阻害薬の用法が 1 日 1 回投与であるのに対して非常に長い投与間隔で用いられる。OMG では、血漿中薬物濃度推移に TMDD が見られるが、複数用量での尿中未変化体排泄量の報告がなく、非線形性の有無は不明である。OMG の K_d は VLG と概ね同等であり、LNG と比較して 400 倍ほど大きく、STG と比較して 1/2 程度である。OMG は他の DPP-4 阻害薬と比較して水溶性が高く、 $\log P$ は LNG のおよそ 1/4 である。

以上のように、本邦で上市されている DPP-4 阻害薬はいずれも DPP-4 を共通のターゲットとしていながら、それぞれ異なる薬物動態の特徴を持つ。特徴の異なる種々の DPP-4 阻害薬を包括的に説明可能な PBPK モデルを構築することで、LNG の PBPK モデルでは見出されなかった DPP-4 の分布、動態および機能に関する新たな知見が見出されることが期待される。

4.2. 方法

4.2.1. PBPK モデルの構造

STG, VLG, および OMG の PBPK モデルの模式図を Figure 23 に示した。本章で用いた PBPK モデルは、LNG の PBPK モデルを元に構築し、さらに肝臓コンパートメントおよび循環血コンパートメントに変更を加えた。肝臓コンパートメントは、LNG のモデル構造を元に、さらに細胞外コンパートメント (Extra hepatic)、肝細胞コンパートメント (Hepatocytes)、および胆管コンパートメント (Bile canaliculi) に分割し、胆管に発現する tDPP-4 を考慮可能なモデルとした。また、循環血コンパートメントでは、DPP-4 の生成および消失を組み入れることで、薬物と DPP-4 の複合体が分解される事による血漿タンパク結合率の変動を考慮可能なモデルとした。

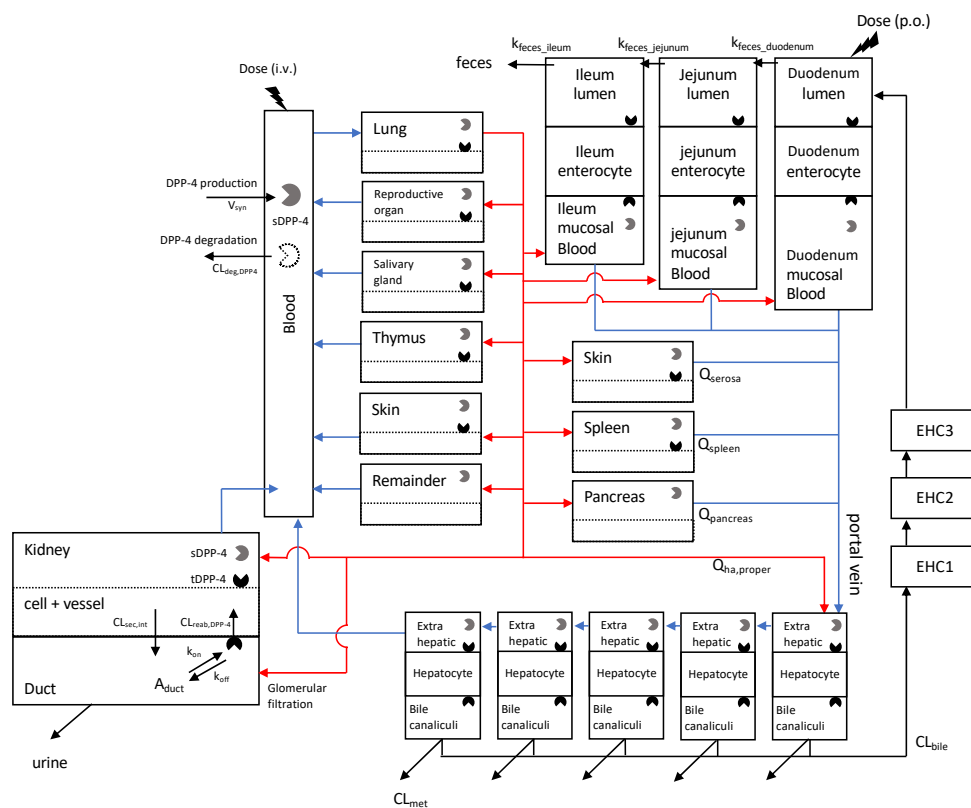


Figure 23. 各 DPP-4 阻害薬で共通して使用した PBPK モデルの概念図。

A_{lumen} , 消化管腔の LNG 量; $A_{enterocyte}$, 消化管細胞の LNG 量; $A_{mucosal\ blood}$, 消化管粘膜血の LNG 量; EHC, 腸肝循環コンパートメント; $PS_{dif,ent,EL}$, 消化管細胞から消化管腔への膜透過クリアランス; $PS_{dif,ent,LE}$, 消化管腔から消化管細胞への膜透過クリアランス; $PS_{dif,ent,EB}$, 消化管細胞から消化管粘膜血への膜透過クリアランス; $PS_{dif,ent,BE}$, 消化管粘膜血から消化管細胞への膜透過クリアランス; k_{on} , DPP-4 に対する LNG の結合速度定数; k_{off} , DPP-4 に対する LNG の解離速度定数; tDPP-4, 膜貫通型 DPP-4; sDPP-4, 可溶性 DPP-4; $CL_{reab,DPP-4}$, DPP-4 依存性腎再吸収クリアランス; $CL_{sec,int}$, 腎分泌クリアランス; $Q_{tissues}$, 臓器/組織の血流速度. V_{syn} , sDPP-4 の生成速度; $CL_{deg,DPP4}$, sDPP-4 の分解クリアランス。

$$CL_{met} = CL_{int,h} * (1 - f_{bile}); CL_{bile} = CL_{int,h} * f_{bile}.$$

4.2.2. ビルダグリプチンの代謝物の考慮

VLGの主要な代謝物および代謝経路をFigure 24に示した。VLGの主たる排泄経路は尿中未変化体排泄であるが、その他にグルクロン酸抱合およびDPP-4による直接代謝を受けることが報告されている。したがって、VLGのPBPKモデルは、親化合物(VLG)の他、グルクロン酸抱合体(M20.2)およびDPP-4による代謝産物(M20.7)の体内動態を同時に記述可能なモデルとした。M20.2およびM20.7のモデル構造は、STG, VLG, およびOMGと共通であるが、M20.2はDPP-4に対する親和性を有するため、M20.2のモデルではDPP-4とM20.2の結合と解離を組み入れ、さらに β -グルコニダーゼによってM20.2が再びVLGへと代謝される過程を組み入れたモデルとした(Figure 25)。M20.7はDPP-4による代謝産物であるため、M20.7のモデルではVLGがDPP-4と結合した後、M20.7として解離する過程を組み入れたモデルとした(Figure 26)。

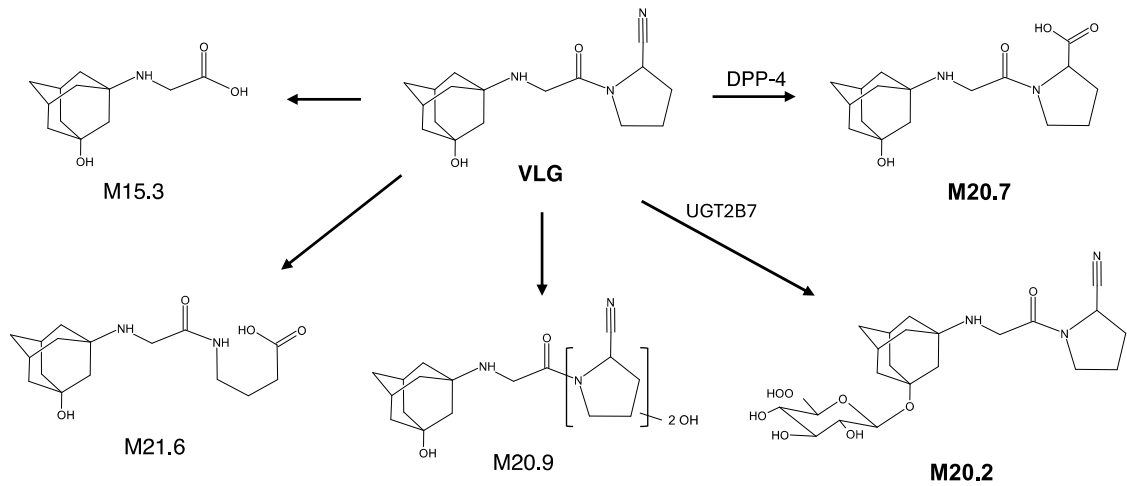


Figure 24. ビルダグリプチンの代謝経路.

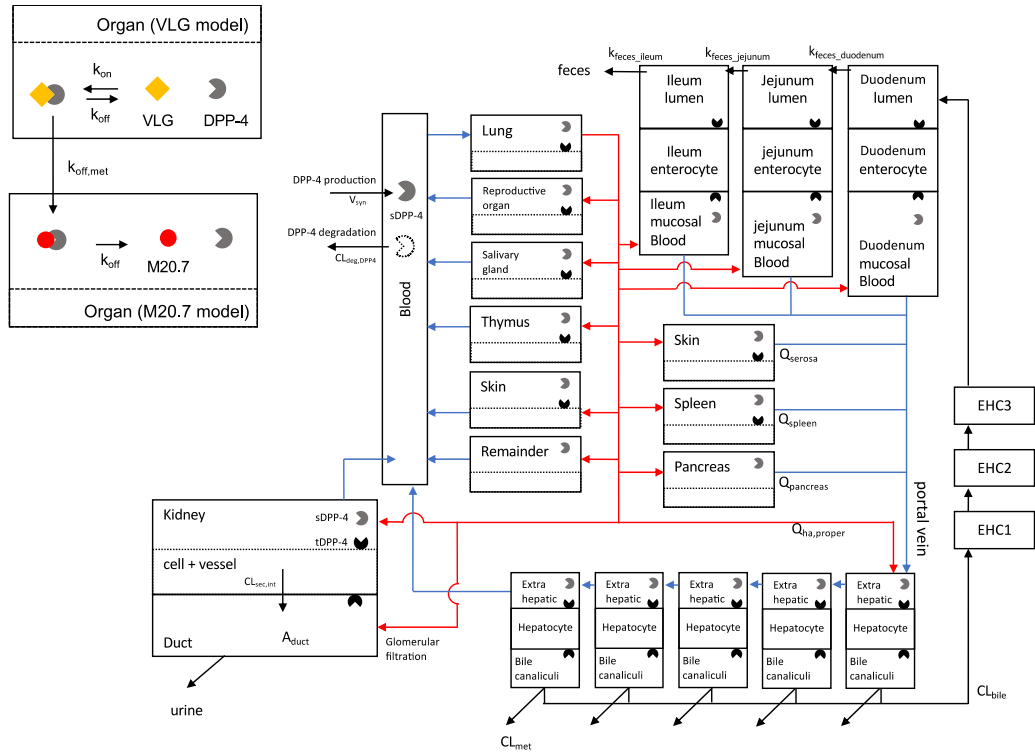


Figure 25. ビルダグリプチンの DPP-4 による代謝産物 (M20.7) の PBPK モデルの概念図.

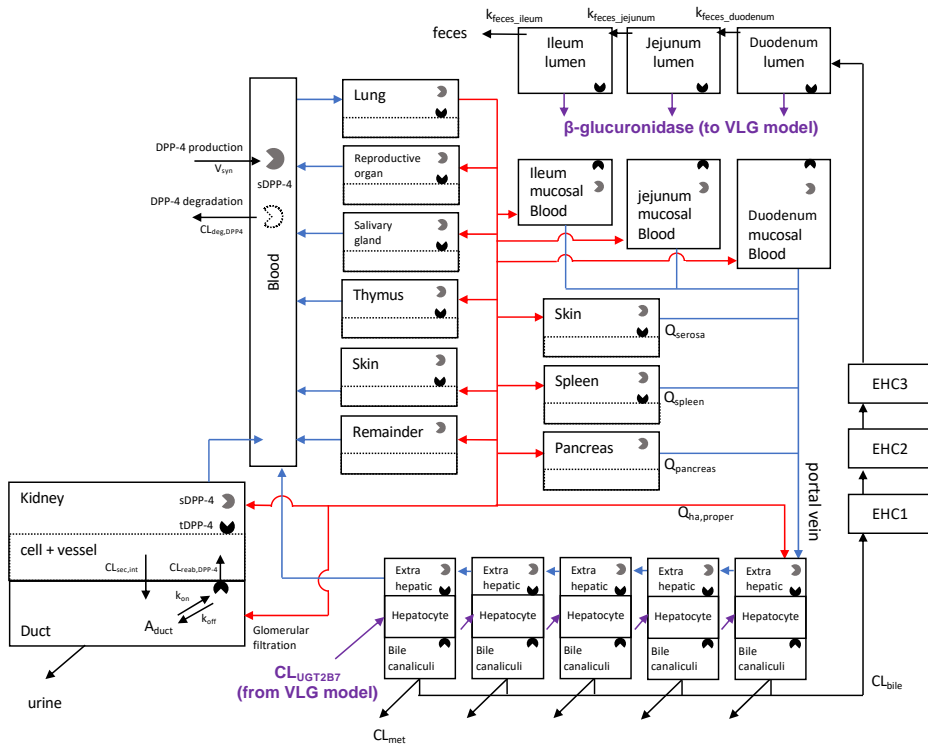


Figure 26. ビルダグリプチンのグルクロン酸抱合体 (M20.7) の PBPK モデルの概念図.

4.3. 結果

4.3.1. シタグリプチンの PBPK-CGNM 解析

4.3.1.1. 推定パラメータのカットオフ

LNG の解析で推定した DPP-4 分布を適用した STG の PBPK-CGNM 解析では、1000 セットの初期パラメータを生成して 50 回の最適化計算を行った。最適化計算の結果得られた 1000 セットの推定パラメータセットに対して、 χ^2 検定および Elbow 法を用いてカットオフを定めた結果、実測データを精度良く再現する 926 セットの推定パラメータセットが選択された (Figure 27)。

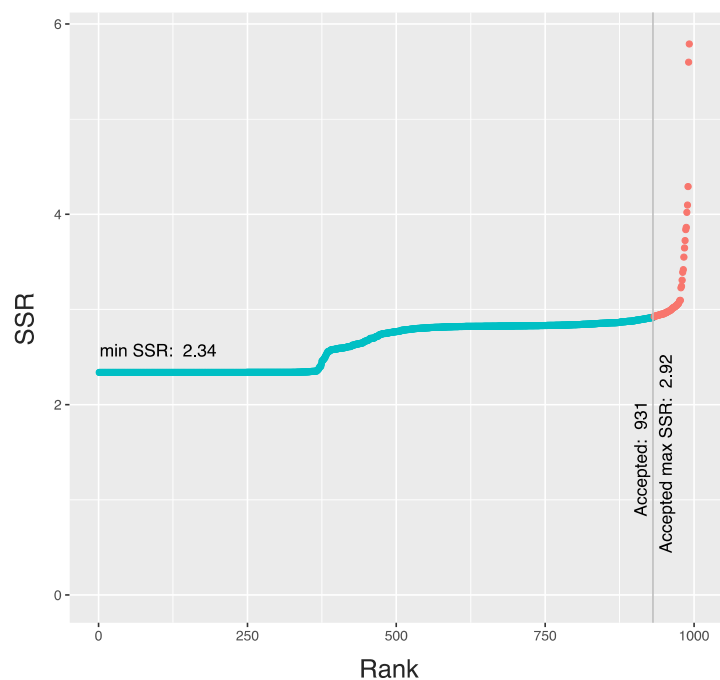


Figure 27. シタグリプチンの解析の SSR ランクプロット。

シタグリプチンの解析で得られた 1000 組のパラメータセットの SSR を降順で示した。青色および赤色の点はそれぞれカットオフによって選択されたパラメータセットと除外されたパラメータセットを示す。

4.3.1.2. 推定パラメータセットを用いたシミュレーションと実測データの比較

得られた推定パラメータセットを用いてシミュレーションを行い、実測データに対する当てはまりを確認した。得られたパラメータセットを用いたシミュレーションは、ヒトでの STG の血漿中濃度推移、尿中未変化体排泄量推移、および血漿中 DPP-4 阻害率推移を精度良く再現した (Figure 28, Figure 29, Figure 30)。

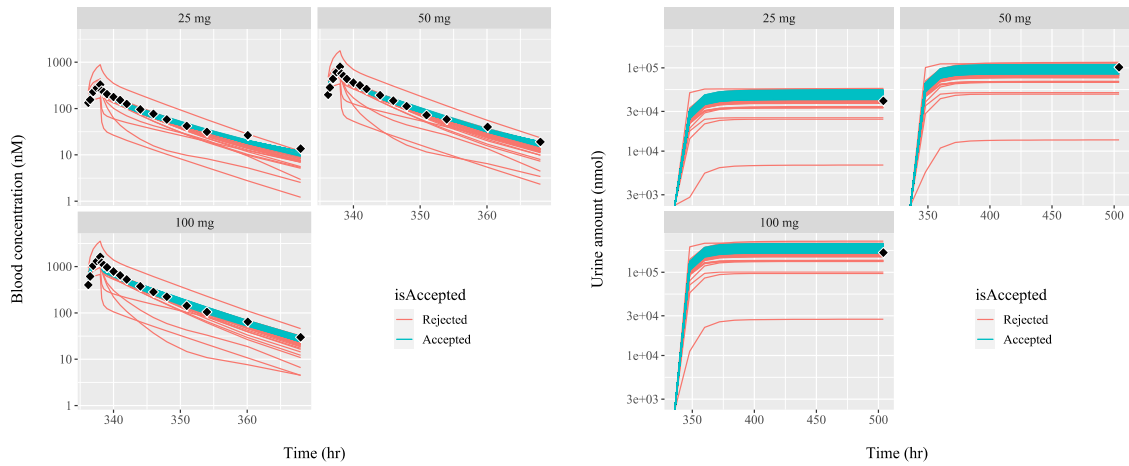


Figure 28. Simulated plasma concentration and urinary excretion after intravenous administration.

実線および点はそれぞれモデルによる予測推移および実測データを示す。

各パネルにおいて青色および赤色の実線は選択されたパラメータセットおよび除外されたパラメータセットによる予測値を示す。

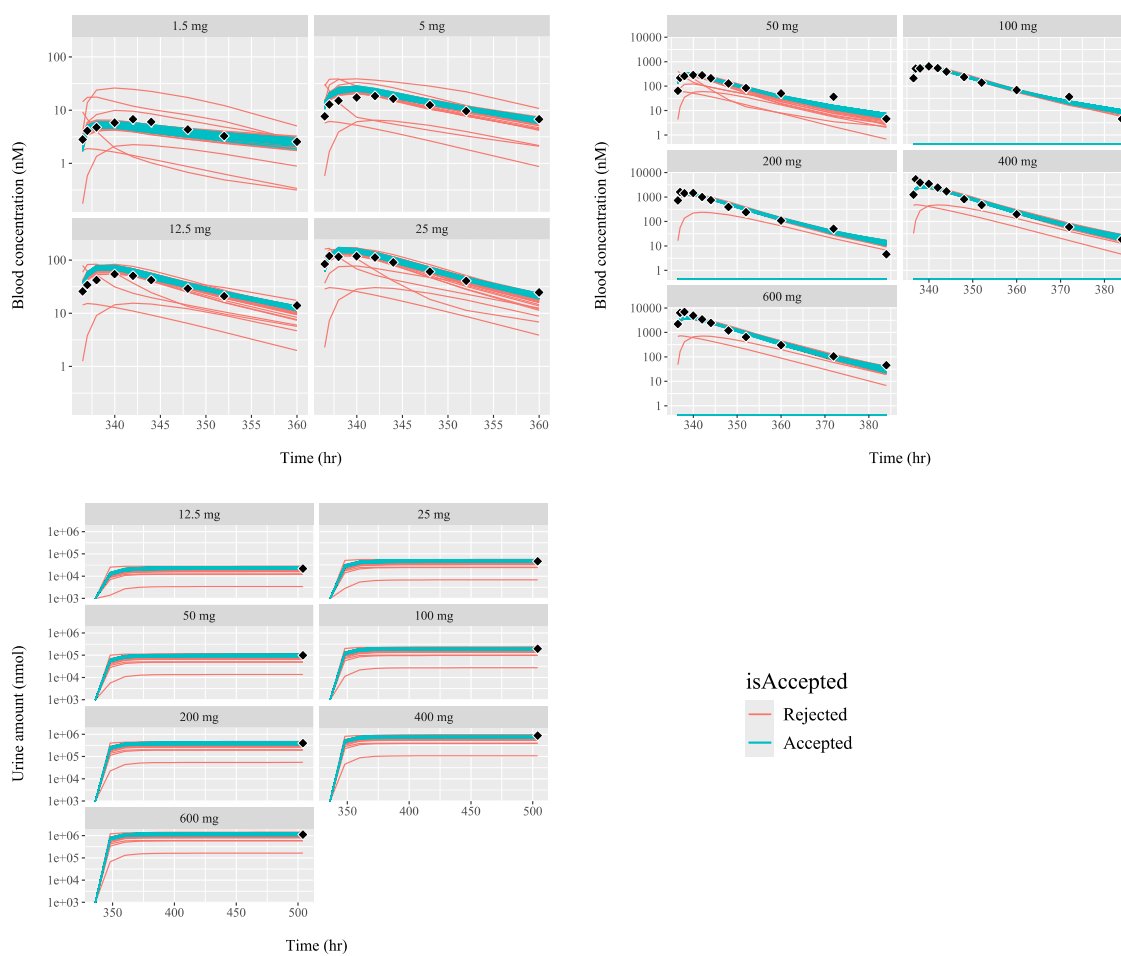


Figure 29. Simulated plasma concentration and urinary excretion after oral administration.

実線および点はそれぞれモデルによる予測推移および実測データを示す。

各パネルにおいて青色および赤色の実線は選択されたパラメータセットおよび除外されたパラメータセットによる予測値を示す。

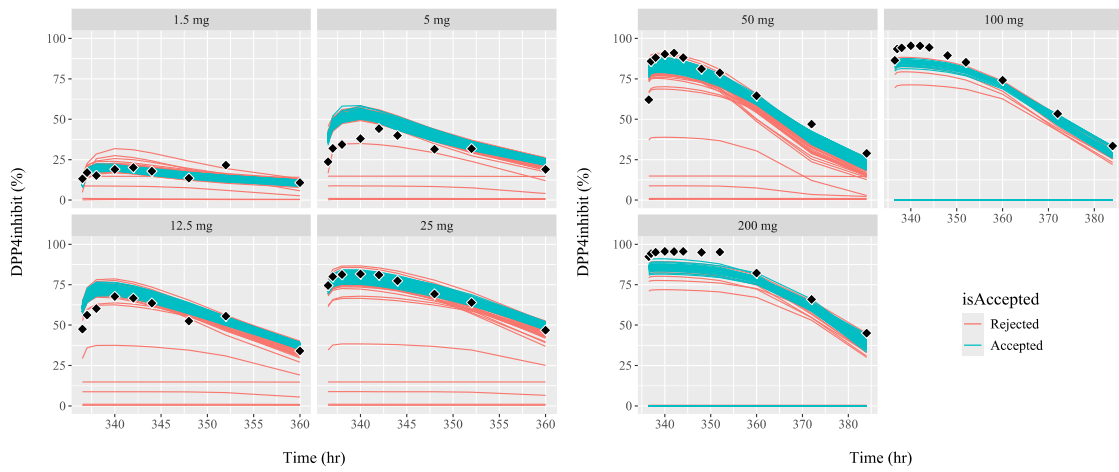


Figure 30. Simulated plasma DPP-4 inhibition after oral administration

実線および点はそれぞれモデルによる予測推移および実測データを示す。各パネルにおいて青色および赤色の実線は選択されたパラメータセットおよび除外されたパラメータセットによる予測値を示す。

4.3.2. ビルダグリプチンの PBPK-CGNM 解析

4.3.2.1. 推定パラメータのカットオフ

LNG の解析で推定した DPP-4 分布を適用した VLG の PBPK-CGNM 解析では、1000 セットの初期パラメータを生成して 50 回の最適化計算を行った。最適化計算の結果得られた 1000 セットの推定パラメータセットに対して、 χ^2 検定および Elbow 法を用いてカットオフを定めた結果、実測データを精度良く再現する 660 セットの推定パラメータセットが選択された (Figure 31)。

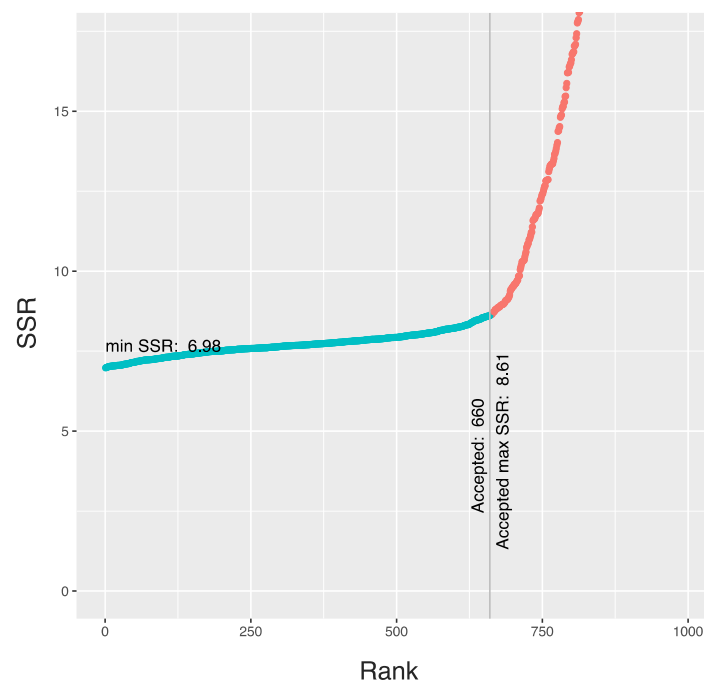


Figure 31. ビルダグリプチンの解析の SSR ランクプロット。

ビルダグリプチンの解析で得られた 1000 組のパラメータセットの SSR' を降順で示した。青色および赤色の点はそれぞれカットオフによって選択されたパラメータセットと除外されたパラメータセットを示す。

4.3.2.2. 推定パラメータセットを用いたシミュレーションと実測データの比較

得られた推定パラメータセットを用いてシミュレーションを行い、実測データに対する当てはまりを確認した。得られたパラメータセットを用いたシミュレーションは、ヒトでの VLG, M20.2, M20.7 の血漿中濃度推移を精度良く再現した (Figure 32, Figure 34)。

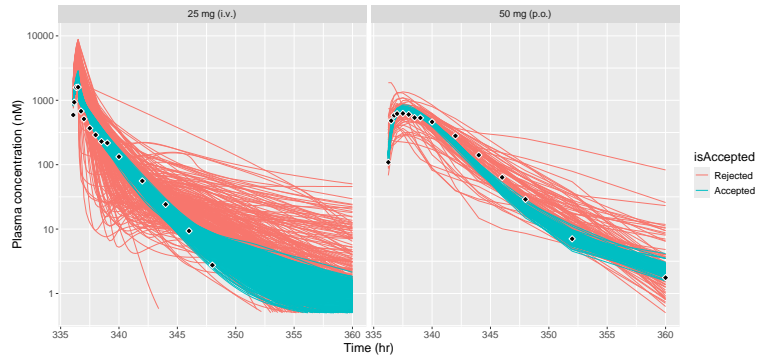


Figure 32. 血漿中 VLG 濃度のモデル予測値および実測値 (i.v. + p.o.).

実線および点はそれぞれモデルによる予測推移および実測データを示す。各パネルにおいて青色および赤色の実線は選択されたパラメータセットおよび除外されたパラメータセットによる予測値を示す。

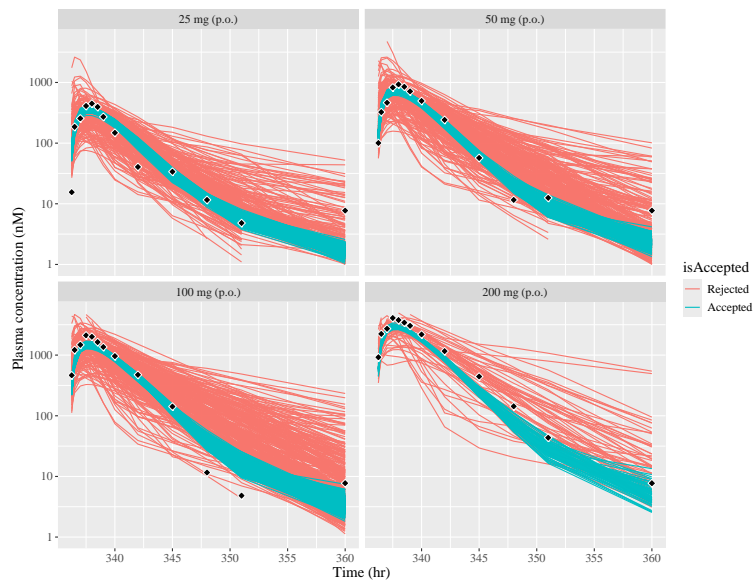


Figure 33. 血漿中 VLG 濃度のモデル予測値および実測値 (p.o.).

実線および点はそれぞれモデルによる予測推移および実測データを示す。各パネルにおいて青色および赤色の実線は選択されたパラメータセットおよび除外されたパラメータセットによる予測値を示す。

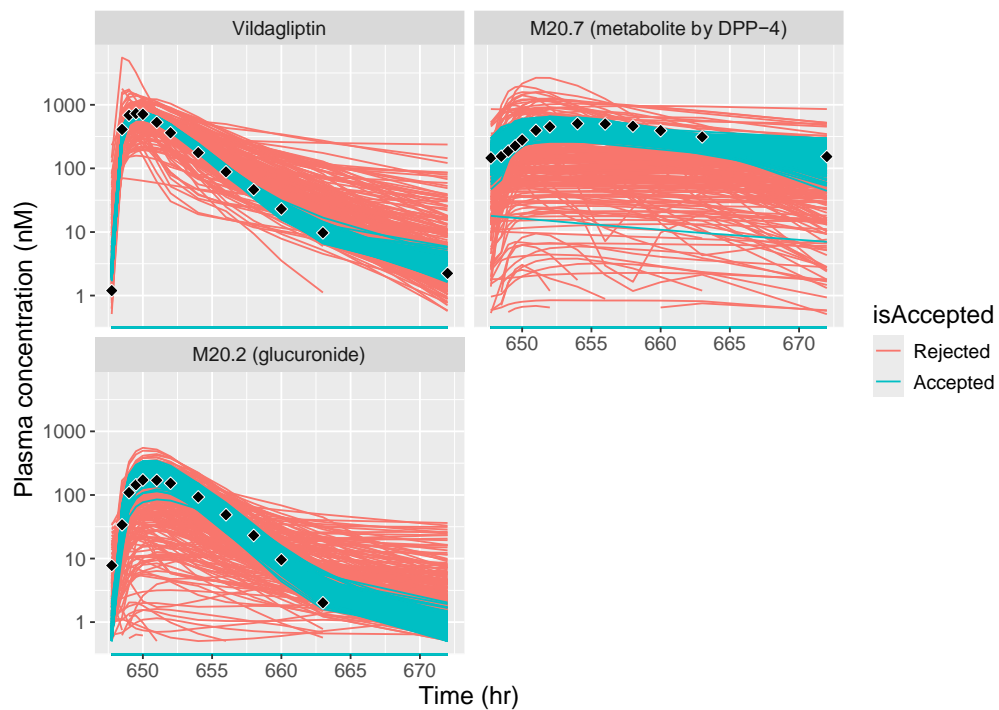


Figure 34. 血漿中の VLG, M20.2, および M20.7 濃度のモデル予測値および実測値.

実線および点はそれぞれモデルによる予測推移および実測データを示す。

各パネルにおいて青色および赤色の実線は選択されたパラメータセットおよび除外されたパラメータセットによる予測値を示す。

4.3.3. オマリグリプチンの PBPK-CGNM 解析

4.3.3.1. 推定パラメータのカットオフ

LNG の解析で推定した DPP-4 分布を適用した OMG の PBPK-CGNM 解析では、1000 セットの初期パラメータを生成して 50 回の最適化計算を行った。最適化計算の結果得られた 1000 セットの推定パラメータセットに対して、 χ^2 検定および Elbow 法を用いてカットオフを定めた結果、実測データを精度良く再現する 840 セットの推定パラメータセットが選択された (Figure 35)。

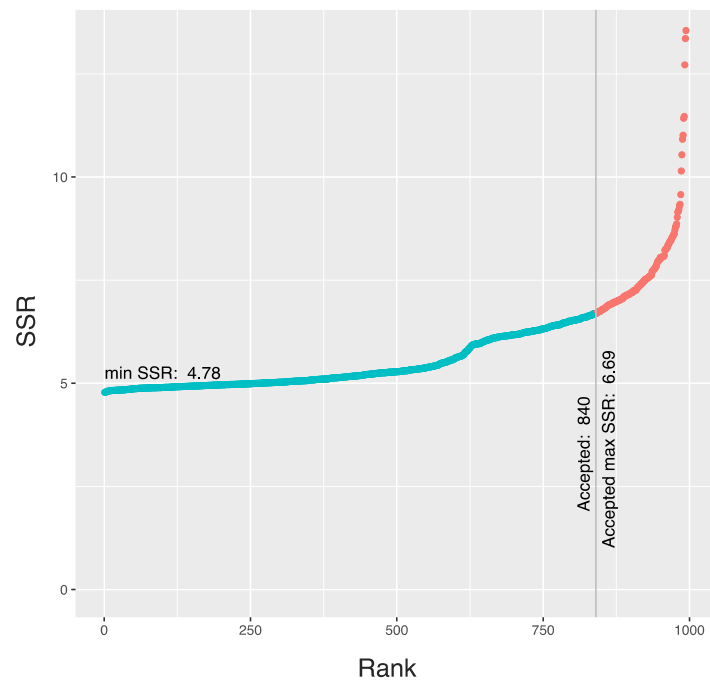


Figure 35. オマリグリプチンの解析の SSR ランクプロット。

オマリグリプチンの解析で得られた 1000 組のパラメータセットの SSR' を降順で示した。青色および赤色の点はそれぞれカットオフによって選択されたパラメータセットと除外されたパラメータセットを示す。

4.3.3.2. 推定パラメータセットを用いたシミュレーションと実測データの比較

得られた推定パラメータセットを用いてシミュレーションを行い、実測データに対する当てはまりを確認した。得られたパラメータセットを用いたシミュレーションは、ヒトでの OMG の血漿中濃度推移、尿中未変化体排泄量推移、および糞中未変化体排泄量推移を概ね良く再現したが、血漿中濃度推移が過小評価、尿中未変化体排泄量推移は過大評価される傾向を示した。(Figure 36, Figure 32)。

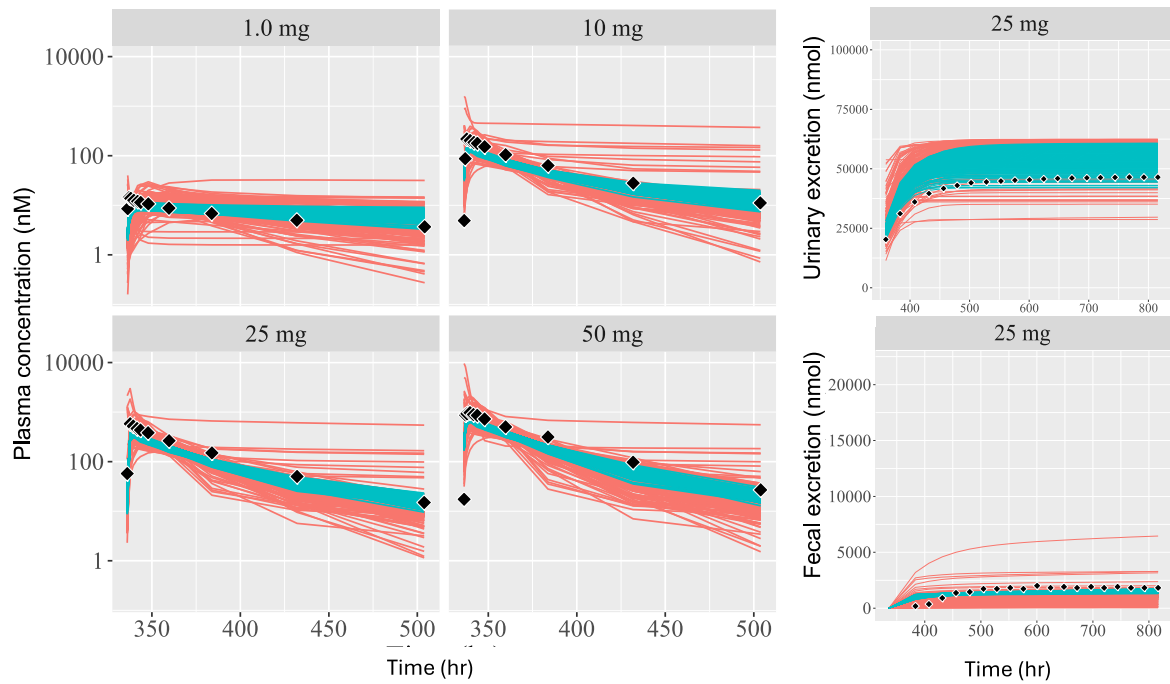


Figure 36. 血漿中 OMG 濃度および尿中未変化体排泄量推移のモデル予測値および実測値。

実線および点はそれぞれモデルによる予測推移および実測データを示す。

各パネルにおいて青色および赤色の実線は選択されたパラメータセットおよび除外されたパラメータセットによる予測値を示す。

得られた推定パラメータを用いたシミュレーションでは、血漿中濃度推移が過小評価され、尿中未変化体排泄量推移は過大評価された。そこで本研究では、この乖離が、DPP-4 に対する OMG の結合親和性に pH 依存性があることに由来するという仮説のもと、追加の PBPK-CGNM 解析を行った。追加の PBPK-CGNM 解析では、血液もしくは組織間液中の pH と原尿中 pH が異なることに着目し、腎尿細管上に発現する DPP-4 に対する OMG の K_d がその他の臓器/組織中の DPP-4 に対する K_d とは異なると仮定した。この仮定に基づき、追加解析で用いた PBPK モデルでは、OMG と腎尿細管上の DPP-4 の K_d として新たに $K_{d,u}$ を追加し、未知パラメータとして推定した。

追加解析の結果得られた推定パラメータは、ヒトでの OMG の血漿中濃度推移、尿中未変化体排泄量推移、および糞中未変化体排泄量推移を精度良く再現し、血漿中濃度推移および尿中未変化体排泄量推移の当てはまりが改善した (Figure 37)。

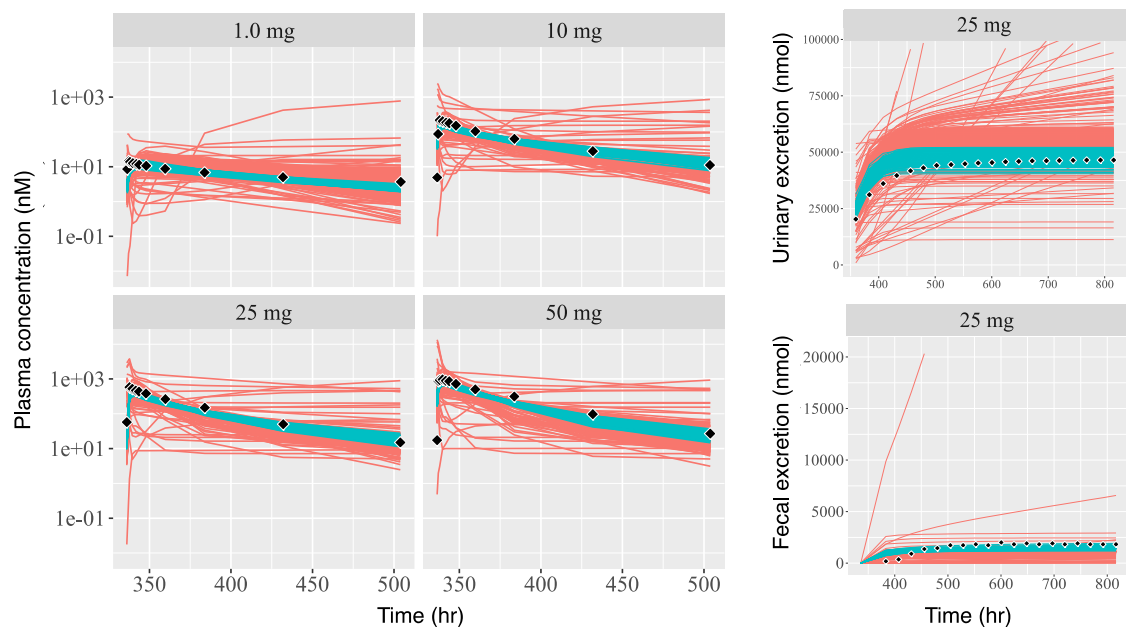


Figure 37. 血漿中 OMG 濃度および尿中未変化体排泄量推移のモデル予測値および実測値 ($K_{d,u}$ を組み入れた追加解析) .

実線および点はそれぞれモデルによる予測推移および実測データを示す。

各パネルにおいて青色および赤色の実線は選択されたパラメータセットおよび除外されたパラメータセットによる予測値を示す。

4.4. 考察

STG, VLG, および OMG の PBPK-CGNM 解析では、共通の PBPK モデルを用いて各 DPP-4 阻害薬のヒトでの体内動態を記述し、LNG で推定された DPP-4 の分布と動態が、複数の DPP-4 阻害薬に適用可能であることを確認した。

STG の PBPK-CGNM 解析では、静脈内投与時の血漿中 STG 濃度推移および尿中未変化体排泄量推移が精度良く記述された。静脈内投与時の薬物動態は、一般的に吸収過程の影響を受けず、薬物の分布、代謝、および消失過程のメカニズムを反映している。本章で構築した共通 PBPK モデルは、STG の DPP-4 依存的な非線形性の分布、代謝、および消失を適切に記述可能しており、LNG で見出された DPP-4 の分布と動態が STG にも適用可能であったことを示している。一方、経口投与データでは、尿中未変化体排泄量推移が精度良く記述されたが、投与量依存的な最高血漿中濃度の変化が一部再現されなかった。血漿中 STG 濃度推移の実測値は、25 から 200 mg の投与量範囲において、経口投与後約 2 時間を境に低下し始めるが、3 から 5 時間後に再び上昇している。この現象は他の DPP-4 阻害薬でも見られることから、DPP-4 が関与している可能性が示唆される。静脈内投与時の体内動態が精度よく記述されたにもかかわらず、経口投与時の体内動態が一部再現されなかったという事実は、吸収過程に何らかの未知のメカニズムが存在している可能性を示唆していると考えられる。DPP-4 は消化管にも比較的多く発現量していることが報告されている²³ことから、消化管の DPP-4 が STG の吸収過程に影響を与えている可能性がある。

VLG の PBPK-CGNM 解析では、2.5 mg 静脈内投与時の血漿中濃度推移が精度良く再現された一方、経口投与時の血漿中濃度推移では、STG と同様に、用量依存的な最高血漿中濃度の変化が一部捉えられず、消化管の DPP-4 が吸収過程に関与している可能性が示唆された。

VLG の代謝物である M20.2 および M20.7 の血漿中濃度推移は概ねよく再現された。M20.2 は DPP-4 に対する親和性を有するため、VLG と M20.2 は競合的に全身の DPP-4 と結合している。本章の共通 PBPK モデルが、VLG と M20.2 による競合的な DPP-4 との結合をも記述可能であったという事実は、LNG で推定された DPP-4 の分布と動態が生理学的に妥当であったことをより一層裏付けていると考えられる。

OMG の PBPK-CGNM 解析では、尿中での K_d が臓器/組織中での K_d と異なると仮定することで、血漿中 OMG 濃度推移、尿中未変化体排泄量推移、および糞中未変化体排泄量推移が精度良く記述可能であることが見出された。尿中および臓器/組織中では pH が異なることから、OMG の K_d に pH 依存性がある可能性が示唆される。ただし、OMG の尿中未変化体排泄量推移は一用量でのデータしかないことから、この結果が単に腎排泄の非線形性を記述出来なかっただけに過ぎない可能性は引き続き検討する必

要があり、OMG の臓器/組織依存的な K_d の変動を裏付けるには、OMG の pH 依存的な結合プロファイルおよび複数用量投与時の尿中未変化体排泄量等のデータを収集し、それらを統合した解析を実施する必要がある。

結論として、本章では、共通 PBPK モデルを用いて STG, VLG, および OMG の PBPK-CGNM 解析を行うことで、LNG で推定された DPP-4 の分布と動態がこれらの化合物に一貫して適用可能であることを確認した。各 DPP-4 阻害薬に共通して見られる経口投与時の特徴的な最高血漿中濃度の変化は、本章で用いた共通 PBPK モデルで考慮したメカニズムでは捉えられず、消化管の DPP-4 に由来する何らかの非線形性のメカニズムが関与していることが示唆された。さらに、OMG の PBPK-CGNM 解析では、臓器/組織依存的な K_d の変動を示唆する知見が得られた。今後、更に多くの DPP-4 阻害薬を解析に加え、共通 PBPK モデルを用いてより多くの DPP-4 阻害薬の TMDD を一貫して記述することで、DPP-4 が関与する未知のメカニズムを見出すことができると期待される。

5. 総括

本研究では、DPP-4 依存的な腎再吸収の仮定を組み入れた PBPK モデルを構築し、ペナルティ付き推定法による *in vitro* データの統合と、CGNM による網羅的なパラメータ探索を組み合わせた解析 (PBPK-CGNM 解析) を行うことで、ヒトでの tDPP-4 分布と DPP-4 依存性再吸収クリアランスを推定した。

LNG の PBPK-CGNM 解析では、ラットおよびヒトで観察される TMDD データの解析により、DPP-4 依存性腎再吸収の存在がより確かなものとして推定され、同時に、我々が以前の研究で検討出来なかったヒトでの全身の tDPP-4 分布が推定された。この解析で推定されたヒトでの腎臓の tDPP-4 発現量および DPP-4 依存性腎再吸収クリアランスを我々の以前の研究での推定値と比較すると、本研究の推定値は以前の研究の推定値と類似している。*in vitro* データを統合した網羅的なパラメータ推定においても、以前の研究と類似した結果が得られたという事実は、我々の以前の研究の結果が初期値依存的に偶然見出されたものでない事を裏付けている。また、DPP-4 依存性腎再吸収の仮定を除いたモデルおよびトランスポーターによる非結合型薬物の腎再吸収を改定したモデルでは、ヒトでの非線形性の尿中排泄量推移を再現できないことから、DPP-4 依存性腎再吸収の仮定は、LNG の非線形性の腎排泄を記述するうえで必須であることが示唆される。本研究で得られたこれらの知見は、DPP-4 が LNG の腎再吸収に関与している可能性をより一層強く支持するだけでなく、PBPK モデルと CGNM を組み合わせた *in silico* 研究によって、生体内での分子メカニズムに関する知見が得られることを示している。

STG, VLG, および OMG の PBPK-CGNM 解析では、LNG の解析で推定された tDPP-4 分布および DPP-4 依存性腎再吸収クリアランスを適用した共通 PBPK モデルを構築し、STG, VLG, および OMG の解析を行った。この解析では、各 DPP-4 阻害薬で観察される静脈内投与時の TMDD が概ね精度よく記述され、LNG の解析で推定された tDPP-4 分布および DPP-4 依存性腎再吸収が、薬物非依存的に適用可能であることが示された。一方で、本研究で構築した共通 PBPK モデルでは、経口投与時に観察される最高血漿中濃度の投与量依存的な変化が精密に記述できないことも明らかとなった。この現象は今後、消化管の DPP-4 による取り込みの仮定等を組み入れることで記述できる可能性があり、消化管での DPP-4 の役割に関する新たな知見が得られることが期待される。また、OMG の PBPK-CGNM 解析では、尿中未変化体排泄量推移において、シミュレーションと実測データとの乖離が認められたが、臓器/組織中および尿中での K_d が異なると仮定したモデルでは予測性が改善することが示された。STG, VLG, および OMG はそれぞれ異なる薬物動態的特徴を有しているが、DPP-4 への高い親和性を有するという点で共通している。今後さらに多くの DPP-4 阻害薬を対象とし、モデルによる予測値と実測データの乖離を観察し、各 DPP-4 阻害薬に共通して見られる

現象を特定することで、LNG の解析だけでは見出されなかった様々な仮説が見出されることが期待される。

結論として、本研究では、LNG が DPP-4 に対して非常に高い親和性を有することを利用し、動物実験データ、*in vitro* 実験値、および CGNM による網羅的なパラメータ探索を組み合わせた PBPK-CGNM 解析を行うことで、ヒトでの tDPP-4 の分布と腎再吸収への関与を明らかにした。推定された DPP-4 の分布と腎再吸収クリアランスは、複数の DPP-4 阻害薬に適用可能であったことから、これらの DPP-4 分布と腎再吸収クリアランスはヒトにおける DPP-4 の分布と動態を反映したパラメータであると推察される。また、経口投与データにおけるモデル予測値と実測データの乖離から、消化管の DPP-4 が DPP-4 阻害薬の吸収に関与していることを示唆する興味深い知見も得られた。本研究で明らかになった DPP-4 の分布と動態は、今後、様々な病態との関連や細胞内シグナル伝達への関与をはじめとした、DPP-4 の種々の役割を明らかにするうえでの基礎となることが期待される。

6. 利益相反

本研究に関して開示すべき利益相反はない。

7. 引用文献

1. Schnapp G, Klein T, Hoevels Y, Bakker RA, Nar H. Comparative Analysis of Binding Kinetics and Thermodynamics of Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitors and Their Relationship to Structure. *J Med Chem* **59** 7466-7477. (2016)
2. Sarashina A, Chiba K, Tatami S, Kato Y. Physiologically Based Pharmacokinetic Model of the DPP-4 Inhibitor Linagliptin to Describe its Nonlinear Pharmacokinetics in Humans. *J Pharm Sci* **109** 2336-2344. (2020)
3. Sarashina A, *et al.* Linagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor in development for the treatment of type 2 diabetes mellitus: a Phase I, randomized, double-blind, placebo-controlled trial of single and multiple escalating doses in healthy adult male Japanese subjects. *Clin Ther* **32** 1188-1204. (2010)
4. Retlich S, *et al.* Pharmacokinetics and pharmacodynamics of single rising intravenous doses (0.5 mg-10 mg) and determination of absolute bioavailability of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor linagliptin (BI 1356) in healthy male subjects. *Clin Pharmacokinet* **49** 829-840. (2010)
5. Fuchs H, Tillement JP, Urien S, Greischel A, Roth W. Concentration-dependent plasma protein binding of the novel dipeptidyl peptidase 4 inhibitor BI 1356 due to saturable binding to its target in plasma of mice, rats and humans. *J Pharm Pharmacol* **61** 55-62. (2009)
6. Nakamura R, Yoshikado T, Aoki Y, Sugiyama Y, Chiba K. Elucidation of DPP-4 involvement in systemic distribution and renal reabsorption of linagliptin by PBPK modeling with a cluster Gauss-Newton method. *Clin Transl Sci* **17** e70047. (2024)
7. Rohrborn D, Wronkowitz N, Eckel J. DPP4 in Diabetes. *Front Immunol* **6** 386. (2015)
8. Matter K, Stieger B, Klumperman J, Ginsel L, Hauri HP. Endocytosis, recycling, and lysosomal delivery of brush border hydrolases in cultured human intestinal epithelial cells (Caco-2). *J Biol Chem* **265** 3503-3512. (1990)

9. Aoki Y, Hayami K, Toshimoto K, Sugiyama Y. Cluster Gauss–Newton method. *Optimization and Engineering* **23** 169-199. (2020)
10. Fuchs H, Binder R, Greischel A. Tissue distribution of the novel DPP-4 inhibitor BI 1356 is dominated by saturable binding to its target in rats. *Biopharm Drug Dispos* **30** 229-240. (2009)
11. Retlich S, *et al.* Binding to dipeptidyl peptidase-4 determines the disposition of linagliptin (BI 1356)--investigations in DPP-4 deficient and wildtype rats. *Biopharm Drug Dispos* **30** 422-436. (2009)
12. Watanabe T, Kusuhara H, Maeda K, Shitara Y, Sugiyama Y. Physiologically based pharmacokinetic modeling to predict transporter-mediated clearance and distribution of pravastatin in humans. *J Pharmacol Exp Ther* **328** 652-662. (2009)
13. Pang KS, Peng HB, Noh K. The Segregated Intestinal Flow Model (SFM) for Drug Absorption and Drug Metabolism: Implications on Intestinal and Liver Metabolism and Drug-Drug Interactions. *Pharmaceutics* **12**. (2020)
14. Rodgers T, Rowland M. Mechanistic approaches to volume of distribution predictions: understanding the processes. *Pharm Res* **24** 918-933. (2007)
15. Rodgers T, Rowland M. Physiologically based pharmacokinetic modelling 2: predicting the tissue distribution of acids, very weak bases, neutrals and zwitterions. *J Pharm Sci* **95** 1238-1257. (2006)
16. Rodgers T, Leahy D, Rowland M. Physiologically based pharmacokinetic modeling 1: predicting the tissue distribution of moderate-to-strong bases. *J Pharm Sci* **94** 1259-1276. (2005)
17. Kawai R, Mathew D, Tanaka C, Rowland M. Physiologically based pharmacokinetics of cyclosporine A: extension to tissue distribution kinetics in rats and scale-up to human. *J Pharmacol Exp Ther* **287** 457-468. (1998)
18. Aoki Y, Sugiyama Y. Cluster Gauss-Newton method for a quick approximation of profile likelihood: With application to physiologically-based pharmacokinetic models. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. (2023)

19. Blech S, Ludwig-Schwellinger E, Grafe-Mody EU, Withopf B, Wagner K. The metabolism and disposition of the oral dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, linagliptin, in humans. *Drug Metab Dispos* **38** 667-678. (2010)
20. Tsuchitani T, *et al.* Elucidating nonlinear pharmacokinetics of telmisartan: Integration of target-mediated drug disposition and OATP1B3-mediated hepatic uptake in a physiologically based model. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. (2024)
21. Morse BL, *et al.* Physiologically-Based Pharmacokinetic Modeling of Atorvastatin Incorporating Delayed Gastric Emptying and Acid-to-Lactone Conversion. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* **8** 664-675. (2019)
22. Ishiguro N, Shimizu H, Kishimoto W, Ebner T, Schaefer O. Evaluation and prediction of potential drug-drug interactions of linagliptin using in vitro cell culture methods. *Drug Metab Dispos* **41** 149-158. (2013)
23. Nistala R, Savin V. Diabetes, hypertension, and chronic kidney disease progression: role of DPP4. *Am J Physiol Renal Physiol* **312** F661-F670. (2017)
24. Cong D, Doherty M, Pang KS. A new physiologically based, segregated-flow model to explain route-dependent intestinal metabolism. *Drug Metab Dispos* **28** 224-235. (2000)
25. Doherty MM, Pang KS. Route-dependent metabolism of morphine in the vascularly perfused rat small intestine preparation. *Pharm Res* **17** 291-298. (2000)
26. Wu N, An G. Incorporating Pharmacological Target-Mediated Drug Disposition (TMDD) in a Whole-Body Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Model of Linagliptin in Rat and Scale-up to Human. *AAPS J* **22** 125. (2020)
27. Davies B, Morris T. Physiological parameters in laboratory animals and humans. *Pharm Res* **10** 1093-1095. (1993)
28. Yoshikado T, *et al.* Quantitative Analyses of Hepatic OATP - Mediated Interactions Between Statins and Inhibitors Using PBPK Modeling With a Parameter Optimization

8. 謝辞

本研究に際し、御指導と御鞭撻を賜りました横浜薬科大学 臨床薬理学研究室 千葉康司教授、吉門崇准教授に謹んで感謝申し上げます。

本研究に際し、多くのご指導を賜りました城西国際大学 定量的システム薬物動態・薬効解析研究室 杉山雄一教授、青木康憲博士に深く感謝申し上げます。

本研究での解析実施に際し、サポートしてくださいました横浜薬科大学 榎本和輝氏、原野華帆氏、鈴木優樹氏、鳥越寛氏、佐久本莉那氏、中野晴斗氏に深く感謝申し上げます。

本研究の完遂に対し、業務分担などを通してサポートくださいましたエイツーヘルスケア株式会社 データサイエンス第3部の皆様に深く御礼申し上げます。

最後に、本研究を支えてくださいました両親に御礼を述べたいと思います。

9. Supplement

Table S 1. Physiological parameters used in the development of the PBPK model for rats.

Parameter	Unit	Value	Reference
Tissue to plasma concentration ratio			
K_p , liver	-	1.92	14
K_p , kidney	-	2.06	14
K_p , pancreas	-	0.923	14
K_p , thymus	-	1.19	14
K_p , heart	-	1.01	14
K_p , spleen	-	1.37	14
K_p , muscle	-	0.913	14
K_p , skin	-	0.726	14
K_p , adipose	-	0.201	14
K_p , lung	-	1.59	14
K_p , gut	-	1.18	14
Tissue volume			
V_{serosa}	L/kg	0.0116	24
$V_{\text{intestinal lumen}}$	L/kg	0.00556	25
$V_{\text{enterocyte}}$	L/kg	0.000833	24
$V_{\text{mucosal blood}}$	L/kg	0.000450	24
V_{blood}	L/kg	0.0714	a
V_{liver}	L/kg	0.0369	26
$V_{\text{kidney, vessel + cell}}$	L/kg	0.00437	b
$V_{\text{kidney, duct}}$	L/kg	0.00363	b
V_{pancreas}	L/kg	0.00500	26
$V_{\text{reproductive organs}}$	L/kg	0.0115	26
V_{thymus}	L/kg	0.00100	26
$V_{\text{salivary gland}}$	L/kg	0.00172	26
V_{spleen}	L/kg	0.00300	26
V_{skin}	L/kg	0.160	26
V_{lung}	L/kg	0.00600	26
$V_{\text{remainder}}$	L/kg	0.176	c
V_{adrenal}	L/kg	0.000200	26
V_{heart}	L/kg	0.00332	26
V_{bone}	L/kg	0.0768	26
V_{muscle}	L/kg	0.380	26

Parameter	Unit	Value	Reference
V_{adipose}	L/kg	0.0800	26
Organ blood flow			
Q_{serosa}	L/hr/kg	1.20	24
$Q_{\text{mucosal blood}}$	L/hr/kg	0.133	24
Q_{liver}	L/hr/kg	2.45	26
$Q_{\text{proper hepatic artery}}$	L/hr/kg	0.850	d
Q_{pancreas}	L/hr/kg	0.171	26
$Q_{\text{reproductive organ}}$	L/hr/kg	0.104	26
Q_{thymus}	L/hr/kg	0.0856	26
$Q_{\text{salivary gland}}$	L/hr/kg	0.208	26
Q_{spleen}	L/hr/kg	0.0980	26
Q_{skin}	L/hr/kg	1.26	26
Q_{lung}	L/hr/kg	12.2	26
Q_{kidney}	L/hr/kg	1.59	26
GFR	L/hr/kg	0.314	27
Q_{urine}	L/hr/kg	0.0083	27
$Q_{\text{remainder}}$	L/hr/kg	1.11	e
Q_{adrenal}	L/hr/kg	0.0257	26
Q_{heart}	L/hr/kg	0.648	26
Q_{bone}	L/hr/kg	0.660	26
Q_{muscle}	L/hr/kg	4.04	26
Q_{adipose}	L/hr/kg	0.061	26
Fraction capillary volume			
$fV_{\text{vessel, serosa}}$	-	0.100	f
$fV_{\text{vessel, kidney}}$	-	0.105	17
$fV_{\text{vessel, pancreas}}$	-	0.100	f
$fV_{\text{vessel, reproductive organ}}$	-	0.0200	f
$fV_{\text{vessel, thymus}}$	-	0.0300	17
$fV_{\text{vessel, salivary gland}}$	-	0.100	f
$fV_{\text{vessel, bone}}$	-	0.041	17
$fV_{\text{vessel, heart}}$	-	0.262	17
$fV_{\text{vessel, adrenal}}$	-	0.100	f
$fV_{\text{vessel, spleen}}$	-	0.282	17
$fV_{\text{vessel, muscle}}$	-	0.0260	17
$fV_{\text{vessel, skin}}$	-	0.0190	17
$fV_{\text{vessel, adipose}}$	-	0.0100	17

Parameter	Unit	Value	Reference
$fV_{\text{vessel, lung}}$	-	0.262	¹⁷
$fV_{\text{vessel, remainder}}$	-	0.100	f
$fV_{\text{vessel, liver}}$	-	0.278	¹⁷ , g
Others			
$f_{\text{unbound, plasma, albumin}}$	-	0.225	5
f_{gut}	-	0.232	¹⁴ , h
$K_{\text{m, pgp}}$	nmol/L	187,000	²² , h
R_{B}	-	0.691	¹⁹ , h

^a V_{plasma} (Wu et al. 2020.) $\cdot (1-H_t)$

^bTotal kidney volume was proportionally assigned to vessel+cell and duct as in humans.

^c $V_{\text{remainder}}$ (Wu et al. 2020.) + V_{adrenal} + V_{heart} + V_{bone} + V_{muscle} + V_{adipose}

^d Q_{liver} - Q_{serosa} - $Q_{\text{mucosal blood}}$ - Q_{spleen} - Q_{pancreas}

^e $Q_{\text{remainder}}$ (Wu et al. 2020.) + Q_{adrenal} + Q_{heart} + Q_{bone} + Q_{muscle} + Q_{adipose}

^fAssumed to be the same level as the kidney.

^gAdded interstitial volume to the capillary, considering the space of Disse.

^hAssumed to be the same as humans.

Table S 2. Physiological parameters used in the development of the PBPK model for humans.

Parameter	Unit	Value	Reference
Tissue to plasma concentration ratio			
K_p , liver	-	13.07857	a
K_p , kidney	-	1.69	14
K_p , pancreas	-	0.923	14
K_p , thymus	-	1.19	14
K_p , heart	-	1.01	14
K_p , spleen	-	1.37	14
K_p , muscle	-	0.913	14
K_p , skin	-	0.726	14
K_p , adipose	-	0.201	14
K_p , lung	-	1.59	14
K_p , gut	-	1.18	14
K_p , reproductive organ	-	2.13	a
K_p , salivary gland	-	1.63	a
Tissue volume			
V_{serosa}	L/kg	0.00702	20
$V_{duodenum, lumen}$	L/kg	0.00093	20
$V_{jejunum, lumen}$	L/kg	0.00395	20
$V_{ileum, lumen}$	L/kg	0.00395	20
$V_{duodenum, enterocyte}$	L/kg	0.00084	20
$V_{jejunum, enterocyte}$	L/kg	0.00299	20
$V_{ileum, enterocyte}$	L/kg	0.00357	20
$V_{duodenum, mucosal blood}$	L/kg	0.000113	20
$V_{jejunum, mucosal blood}$	L/kg	0.000400	20
$V_{ileum, mucosal blood}$	L/kg	0.000477	20
V_{blood}	L/kg	0.07	27
V_{liver}	L/kg	0.02	27
$V_{kidney, vessel + cell}$	L/kg	0.00219	2
$V_{kidney, duct}$	L/kg	0.00181	2
$V_{pancreas}$	L/kg	0.00191	26
$V_{reproductive organs}$	L/kg	0.000534	26
V_{thymus}	L/kg	0.000343	26
$V_{salivary gland}$	L/kg	0.00116	26
V_{spleen}	L/kg	0.00274	26
V_{skin}	L/kg	0.111	26

Parameter	Unit	Value	Reference
V_{lung}	L/kg	0.0167	26
$V_{\text{remainder}}$	L/kg	0.276	b
V_{adrenal}	L/kg	0.000200	26
V_{heart}	L/kg	0.00443	26
V_{bone}	L/kg	0.0160	26
V_{adipose}	L/kg	0.143	26
V_{muscle}	L/kg	0.500	26
Organ blood flow			
Q_{serosa}	L/hr/kg	0.744	g
$Q_{\text{duodenum, mucosal blood}}$	L/hr/kg	0.0164	20
$Q_{\text{jejunum, mucosal blood}}$	L/hr/kg	0.0900	20
$Q_{\text{ileum, mucosal blood}}$	L/hr/kg	0.0796	20
$Q_{\text{proper hepatic artery}}$	L/hr/kg	0.196	c
Q_{liver}	L/hr/kg	1.24	27
Q_{pancreas}	L/hr/kg	0.0480	26
$Q_{\text{reproductive organ}}$	L/hr/kg	0.0149	26
Q_{thymus}	L/hr/kg	0.00287	26
$Q_{\text{salivary gland}}$	L/hr/kg	0.00149	26
Q_{spleen}	L/hr/kg	0.0660	27
Q_{skin}	L/hr/kg	0.257	27
Q_{lung}	L/hr/kg	3.74	27
Q_{kidney}	L/hr/kg	1.06	27
GFR	L/hr/kg	0.107	27
Q_{urine}	L/hr/kg	0.000833	27
$Q_{\text{remainder}}$	L/hr/kg	0.987	d
Q_{adrenal}	L/hr/kg	0.0143	26
Q_{heart}	L/hr/kg	0.206	27
Q_{bone}	L/hr/kg	0.143	26
Q_{adipose}	L/hr/kg	0.223	27
Q_{muscle}	L/hr/kg	0.643	27
Fraction capillary volume			
$fV_{\text{vessel, serosa}}$	-	0.100	e
$fV_{\text{vessel, kidney}}$	-	0.105	17
$fV_{\text{vessel, pancreas}}$	-	0.100	e
$fV_{\text{vessel, reproductive organ}}$	-	0.0200	e
$fV_{\text{vessel, thymus}}$	-	0.0300	17

Parameter	Unit	Value	Reference
$fV_{\text{vessel, salivary gland}}$	-	0.100	e
$fV_{\text{vessel, bone}}$	-	0.041	17
$fV_{\text{vessel, heart}}$	-	0.262	17
$fV_{\text{vessel, adrenal}}$	-	0.100	e
$fV_{\text{vessel, spleen}}$	-	0.282	17
$fV_{\text{vessel, muscle}}$	-	0.0260	17
$fV_{\text{vessel, skin}}$	-	0.0190	17
$fV_{\text{vessel, adipose}}$	-	0.0100	17
$fV_{\text{vessel, lung}}$	-	0.262	17
$fV_{\text{vessel, remainder}}$	-	0.100	e
$fV_{\text{vessel, liver}}$	-	0.278	¹⁷ , f
Others			
$f_{\text{unbound, plasma, albumin}}$	-	0.227	5
f_{gut}	-	0.2320	14
K_m, pgp	nmol/L	187,000	22
k_{bile}	1/hr	0.605	28
R_B	-	0.691	19

^aEstimated value in rat analysis.

^b $V_{\text{remainder}}$ (Wu et al. 2020.) + V_{adrenal} + V_{heart} + V_{bone} + V_{muscle} + V_{adipose}

^c $Q_{\text{liver}} - Q_{\text{serosa}} - Q_{\text{duodenum, mucosal blood, Q}_{\text{jejunum, mucosal blood, Q}_{\text{spleen, Q}_{\text{pancreas}}$.

^d $Q_{\text{remainder}}$ (Wu et al. 2020.) + Q_{adrenal} + Q_{heart} + Q_{bone} + Q_{muscle} + Q_{adipose}

^eValue assumed to be at the same level as the kidney.

^fAdded interstitial volume to the capillary, considering the space of Disse.

^g0.0236 L/kg (Davies, B. and T. Morris, 1993) - $V_{\text{duodenum, lumen}} - V_{\text{duodenum, enterocyte}}$

- $V_{\text{duodenum, mucosal blood, V}_{\text{jejunum, lumen}} - V_{\text{jejunum, enterocyte}} - V_{\text{jejunum, mucosal blood}} - V_{\text{ileum, lumen}}$

- $V_{\text{ileum, enterocyte}} - V_{\text{ileum, mucosal blood}}$.

Supplementary Program 1. R program for the PBPK-CGNM analysis of rat auto radiography data.

```
library(rxode2)
library(CGNM)
library(openxlsx)
library(dplyr)
library(parallel)

load('paramdata_rat.rdata')
paramSrc_lina <-
  paramdata_rat %>%
  filter(!is.na(Value)) %>%
  # Adrenal, Heart, Bone, muscle and adipose volumes are aggregated in Remainder.
  mutate(
    Value = ifelse(
      Parameter == 'Vrem',
      filter(., Parameter == 'Vrem') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Vadr') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Vhrt') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Vbon') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Vm') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Va') %>% pull(Value),
      Value
    )
  ) %>%
  # Adrenal, Heart, Bone, muscle and adipose volumes are aggregated in Remainder.
  mutate(
    Value = ifelse(
      Parameter == 'Qrem',
      filter(., Parameter == 'Qrem') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Qadr') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Qhrt') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Qbon') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Qm') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Qa') %>% pull(Value),
      Value
    )
  )
```

```

)
)%>%
filter(!Parameter %in% c(
  'Vadr',
  'Vhrt',
  'Vbon',
  'Vm',
  'Va',
  'Qadr',
  'Qhrt',
  'Qbon',
  'Qm',
  'Qa'
))
param_lina <- paramSrc_lina$Value
names(param_lina) <- paramSrc_lina$Parameter

```

```

load('Ingdata_rat.rdata')
data01 <- Ingdata_rat %>%
  filter(
    (
      Seq1 == 'Set1' &
      Seq2 %in% c(
        'Blood',
        'Kidney',
        'Liver',
        'Lung',
        'Pancreas',
        'Reproductive organs',
        'Salivary gland',
        'Skin',
        'Spleen',
        'Thymus')
    ) |
    (
      Seq1 == 'Set2' &

```

```

      Seq2 %in% c(
        'Kidney',
        'Liver',
        'Lung',
        'Skin',
        'Spleen',
        'Subm.gland',
        'Thymus')
    ) |
  (
    Seq1 == 'Set3' &
    Seq2 %in% c(
      'Feces',
      'Urine') &
    Time <= 24*3
  )
) %>%
arrange(Seq3, Seq1, Seq2, Time) %>%
group_by(Seq3, Seq1, Seq2) %>%
mutate(cumValue = ifelse(
  Seq1 == 'Set3' &
  Seq2 %in% c('Feces', 'Urine'),
  cumsum(Value),
  Value
))

# EventTable Definition
BW = 0.250 # body weight of rat (Kg)

# Set1
ev_Set1 <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*2*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data01, Seq1=='Set1' & Seq3=='Wild type' & Seq2=='Kidney')$Time) %>%
  et(id=1)

# Set2
ev_Set2_0.01 <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%

```

```

et(time=0, amt=2116.22*0.01*BW, cmt="ABlood") %>%
et(72) %>%
et(id=2)

ev_Set2_0.1 <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*0.1*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(72) %>%
  et(id=3)

ev_Set2_0.3 <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*0.3*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(72) %>%
  et(id=4)

ev_Set2_1.0 <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*1.0*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(72) %>%
  et(id=5)

ev_Set2_3.0 <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*3.0*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(72) %>%
  et(id=6)

ev_Set2_10 <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*10*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(72) %>%
  et(id=7)

ev_Set2_50 <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*50*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(72) %>%
  et(id=8)

# Set3 (excretion)
ev_Set3_excr <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=c(0:2*24), amt=2116.22*2*BW, cmt="Aintestinal_lumen") %>%

```



```
et(filter(data01, Seq1=='Set3' & Seq2=='Urine' & Time<=24*3)$Time) %>%
et(id=9)
```

```
ev <- rbind(
  ev_Set1,
  ev_Set2_0.01,
  ev_Set2_0.1,
  ev_Set2_0.3,
  ev_Set2_1.0,
  ev_Set2_3.0,
  ev_Set2_10,
  ev_Set2_50,
  ev_Set3_excr
)
```

```
model <- rxode2({
```

```
  # For Simulation
```

```
  SSR = SSR
```

```
  cluster = cluster
```

```
  isAccepted = isAccepted
```

```
  VBlood = VBlood
```

```
  Vh_i = Vh/5          # Vh : Total volume of liver
```

```
  Veh_i = Veh/5       # Veh: Extra hepatic (Disse + Interstitial) volume
```

```
  CLinh_i = CLinh/5  # CLinh : Hepatic intrinsic clearance
```

```
  # Capillary Vessel Volume
```

```
  Vkvesv = Vkves*fVkvesv    # Kidney
```

```
  Vsv = Vs*fVsv            # Skin
```

```
  Vlv = V1*fVlv           # Lung
```

```
  Vpanv = Vpan*fVpanv     # pancreas
```

```
  Vsplv = Vspl*fVsplv    # spleen
```

```
  Vrepv = Vrep*fVrepv    # reproductiveorgans
```

```
  Vthyv = Vthy*fVthyv    # thymus
```

```
  Vsalv = Vsal*fVsalv    # salivarygland
```

Vremv = Vrem*fVremv # remainder
Vserosav = Vserosa*fVserosav # serosa

DPP-4 binding
kon = koff/Kd

Tissue to Plasma concentration ratio (Kp)
SFKp = 1

Kpk = Kpk_calc*SFKp # Kidney
Kphrt = Kphrt_calc*SFKp # Heart
Kpspl = Kpspl_calc*SFKp # Spleen
Kpm = Kpm_calc*SFKp # Muscle
Kps = Kps_calc*SFKp # Skin
Kpa = Kpa_calc*SFKp # Adipose
Kpl = Kpl_calc*SFKp # Lung
Kpthy = Kpthy_calc*SFKp # Thymus
Kppan = Kppan_calc*SFKp # Pancreas
Kpgut = Kpgut_calc*SFKp # Intestine

Kprep = Kprep.vivo*SFKp # Reproductive Organ
Kprem = Kprem.vivo*SFKp # Remainder (Rest of Body)
Kph = Kph.vivo*SFKp # Liver

Concentration for each organ
Blood = (ABlood+AsDPP4c_blood)/VBlood
Plasma = (ABlood/VBlood/RB)+(AsDPP4c_blood/Vplasma)
Liver = (Aliver_1+Aliver_2+Aliver_3+Aliver_4+Aliver_5+

AsDPP4c_hepat_1+AsDPP4c_hepat_2+AsDPP4c_hepat_3+AsDPP4c_hepat_4+AsDPP4c_hepat_5+

AtDPP4c_hepat_1+AtDPP4c_hepat_2+AtDPP4c_hepat_3+AtDPP4c_hepat_4+AtDPP4c_hepat_5
) /Vh

Pancreas = (Apancreas+AsDPP4c_pancreas)/Vpan
Spleen = (Aspleen+AsDPP4c_spleen+AtDPP4c_spleen)/Vspl

$Lung = (Alung + AsDPP4c_lung + AtDPP4c_lung) / V_l$
 $Reproductiveorgans =$
 $(Areproductiveorgans + AsDPP4c_reproductiveorgans + AtDPP4c_reproductiveorgans) / V_{rep}$
 $Thymus = (Athymus + AsDPP4c_thymus + AtDPP4c_thymus) / V_{thy}$
 $Skin = (Askin + AsDPP4c_skin + AtDPP4c_skin) / V_s$
 $Salivarygland =$
 $(Asalivarygland + AsDPP4c_salivarygland + AtDPP4c_salivarygland) / V_{sal}$
 $Kidney =$
 $(Akves + AsDPP4c_kidneyVessel + AtDPP4c_kidneyVessel + Aktubule + AtDPP4c_kidney$
 $tubule) / (V_{kves} + V_{ktubule})$

#####

Differential equation

#####

EHC

$d/dt(Aehc) = +CL_{inh_i} * fbile * Aliver_1 / V_{h_i} / K_{ph} * fupAlb$
 $+CL_{inh_i} * fbile * Aliver_2 / V_{h_i} / K_{ph} * fupAlb$
 $+CL_{inh_i} * fbile * Aliver_3 / V_{h_i} / K_{ph} * fupAlb$
 $+CL_{inh_i} * fbile * Aliver_4 / V_{h_i} / K_{ph} * fupAlb$
 $+CL_{inh_i} * fbile * Aliver_5 / V_{h_i} / K_{ph} * fupAlb$
 $-kbile * Aehc$

Serosa

$d/dt(Aserosa) = -kon * AsDPP4f_serosa * Aserosa / V_{serosa} / K_{pgut} * fupAlb$
 $+koff * AsDPP4c_serosa$

$-kon * AtDPP4f_serosa * Aserosa / V_{serosa} / K_{pgut} * fupAlb$
 $+koff * AtDPP4c_serosa$

$+Q_{serosa} * Alung / V_l / K_{pl} * RB$
 $-Q_{serosa} * Aserosa / V_{serosa} / K_{pgut} * RB$

$d/dt(AsDPP4c_serosa) = +kon * AsDPP4f_serosa * Aserosa / V_{serosa} / K_{pgut} * fupAlb$
 $-koff * AsDPP4c_serosa$

$$\begin{aligned} d/dt(AsDPP4f_serosa) = & -kon*AsDPP4f_serosa*Aserosa/Vserosa/Kpgut*fupAlb \\ & +koff*AsDPP4c_serosa \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(AtDPP4c_serosa) = & +kon*AtDPP4f_serosa*Aserosa/Vserosa/Kpgut*fupAlb \\ & -koff*AtDPP4c_serosa \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(AtDPP4f_serosa) = & -kon*AtDPP4f_serosa*Aserosa/Vserosa/Kpgut*fupAlb \\ & +koff*AtDPP4c_serosa \end{aligned}$$

Mucosal Blood

$$\begin{aligned} d/dt(Amucosal_blood) = & - \\ & kon*AsDPP4f_mucosal_blood*Amucosal_blood/Vmucosal_blood/RB*fupAlb \\ & +koff*AsDPP4c_mucosal_blood \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & -kon*AtDPP4f_mucosal_blood*Amucosal_blood/Vmucosal_blood/RB*fupAlb \\ & +koff*AtDPP4c_mucosal_blood \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & +Qmucosal*Alung/VI/Kpl*RB \\ & -Qmucosal*Amucosal_blood/Vmucosal_blood \\ & +fgut*(PSdifentBE/Gammaent)*Aenterocyte/Venterocyte \\ & -(fupAlb/RB)*PSdifentBE*Amucosal_blood/Vmucosal_blood \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(AsDPP4c_mucosal_blood) = & \\ & +kon*AsDPP4f_mucosal_blood*Amucosal_blood/Vmucosal_blood/RB*fupAlb \\ & -koff*AsDPP4c_mucosal_blood \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(AsDPP4f_mucosal_blood) = & - \\ & kon*AsDPP4f_mucosal_blood*Amucosal_blood/Vmucosal_blood/RB*fupAlb \\ & +koff*AsDPP4c_mucosal_blood \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(AtDPP4c_mucosal_blood) = & \\ & +kon*AtDPP4f_mucosal_blood*Amucosal_blood/Vmucosal_blood/RB*fupAlb \\ & -koff*AtDPP4c_mucosal_blood \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(AtDPP4f_mucosal_blood) = & - \\ & kon*AtDPP4f_mucosal_blood*Amucosal_blood/Vmucosal_blood/RB*fupAlb \\ & +koff*AtDPP4c_mucosal_blood \end{aligned}$$

Enterocyte

$$\begin{aligned} d/dt(A_{\text{enterocyte}}) = & -f_{\text{gut}} \cdot (P_{\text{SdifentBE}} / \Gamma_{\text{aent}}) \cdot A_{\text{enterocyte}} / V_{\text{enterocyte}} \\ & + (f_{\text{upAlb}} / R_{\text{B}}) \cdot P_{\text{SdifentBE}} \cdot A_{\text{mucosal_blood}} / V_{\text{mucosal_blood}} \\ & + L_{\text{R}} \cdot P_{\text{SdifentBE}} \cdot A_{\text{intestinal_lumen}} / V_{\text{intestinal_lumen}} \\ & - f_{\text{gut}} \cdot V_{\text{maxPgp}} / (K_{\text{mPgp}} + f_{\text{gut}} \cdot A_{\text{enterocyte}} / V_{\text{enterocyte}}) \cdot A_{\text{enterocyte}} / V_{\text{enterocyte}} \\ & - f_{\text{gut}} \cdot A_{\text{R}} \cdot (P_{\text{SdifentBE}} / \Gamma_{\text{aent}}) \cdot A_{\text{enterocyte}} / V_{\text{enterocyte}} \end{aligned}$$

Intestinal Lumen

$$\begin{aligned} d/dt(A_{\text{intestinal_lumen}}) = & - \\ & k_{\text{on}} \cdot A_{\text{DPP4f_intestinal_lumen}} \cdot A_{\text{intestinal_lumen}} / V_{\text{intestinal_lumen}} \\ & + k_{\text{off}} \cdot A_{\text{DPP4c_intestinal_lumen}} \\ & + k_{\text{bile}} \cdot A_{\text{hc}} \\ & - \alpha \cdot k_{\text{feces}} \cdot A_{\text{intestinal_lumen}} \\ & - L_{\text{R}} \cdot P_{\text{SdifentBE}} \cdot A_{\text{intestinal_lumen}} / V_{\text{intestinal_lumen}} \\ & + f_{\text{gut}} \cdot V_{\text{maxPgp}} / (K_{\text{mPgp}} + f_{\text{gut}} \cdot A_{\text{enterocyte}} / V_{\text{enterocyte}}) \cdot A_{\text{enterocyte}} / V_{\text{enterocyte}} \\ & + f_{\text{gut}} \cdot A_{\text{R}} \cdot (P_{\text{SdifentBE}} / \Gamma_{\text{aent}}) \cdot A_{\text{enterocyte}} / V_{\text{enterocyte}} \end{aligned}$$
$$\begin{aligned} d/dt(A_{\text{DPP4c_intestinal_lumen}}) = & \\ & + k_{\text{on}} \cdot A_{\text{DPP4f_intestinal_lumen}} \cdot A_{\text{intestinal_lumen}} / V_{\text{intestinal_lumen}} \\ & - k_{\text{off}} \cdot A_{\text{DPP4c_intestinal_lumen}} \end{aligned}$$
$$\begin{aligned} d/dt(A_{\text{DPP4f_intestinal_lumen}}) = & - \\ & k_{\text{on}} \cdot A_{\text{DPP4f_intestinal_lumen}} \cdot A_{\text{intestinal_lumen}} / V_{\text{intestinal_lumen}} \\ & + k_{\text{off}} \cdot A_{\text{DPP4c_intestinal_lumen}} \end{aligned}$$

Systemic Blood

$$\begin{aligned} d/dt(A_{\text{blood}}) = & -k_{\text{on}} \cdot A_{\text{DPP4f_blood}} \cdot A_{\text{blood}} / V_{\text{blood}} / R_{\text{B}} \cdot f_{\text{upAlb}} \\ & + k_{\text{off}} \cdot A_{\text{DPP4c_blood}} \end{aligned}$$
$$\begin{aligned} & -k_{\text{on}} \cdot A_{\text{DPP4f_blood}} \cdot A_{\text{blood}} / V_{\text{blood}} / R_{\text{B}} \cdot f_{\text{upAlb}} \\ & + k_{\text{off}} \cdot A_{\text{DPP4c_blood}} \end{aligned}$$
$$\begin{aligned} & + Q_{\text{h}} \cdot A_{\text{liver_5}} / V_{\text{h_i}} / K_{\text{ph}} \cdot R_{\text{B}} \\ & + Q_{\text{rep}} \cdot A_{\text{reproductiveorgans}} / V_{\text{rep}} / K_{\text{prep}} \cdot R_{\text{B}} \\ & + Q_{\text{thy}} \cdot A_{\text{thymus}} / V_{\text{thy}} / K_{\text{pthy}} \cdot R_{\text{B}} \end{aligned}$$

+Qsal*Asalivarygland/Vsal/Kpsal.vivo*RB
 +Qs*Askin/Vs/Kps*RB
 +Qrem*Aremainder/Vrem/Kprem*RB
 +(Qk-Qu)*Akves/Vkves/Kpk*RB
 -Ql*ABlood/VBlood

$d/dt(AsDPP4c_blood) = +kon*AsDPP4f_blood*ABlood/VBlood/RB*fupAlb$
 $-koff*AsDPP4c_blood$

$d/dt(AsDPP4f_blood) = -kon*AsDPP4f_blood*ABlood/VBlood/RB*fupAlb$
 $+koff*AsDPP4c_blood$

$d/dt(AtDPP4c_blood) = +kon*AtDPP4f_blood*ABlood/VBlood/RB*fupAlb$
 $-koff*AtDPP4c_blood$

$d/dt(AtDPP4f_blood) = -kon*AtDPP4f_blood*ABlood/VBlood/RB*fupAlb$
 $+koff*AtDPP4c_blood$

Lung

$d/dt(Alung) = -kon*AsDPP4f_lung*Alung/Vl/Kpl*fupAlb$
 $+koff*AsDPP4c_lung$

$-kon*AtDPP4f_lung*Alung/Vl/Kpl*fupAlb$
 $+koff*AtDPP4c_lung$

+Ql*ABlood/VBlood
 -Qserosa*Alung/Vl/Kpl*RB
 -Qmucosal*Alung/Vl/Kpl*RB
 -Qha_proper*Alung/Vl/Kpl*RB
 -Qpan*Alung/Vl/Kpl*RB
 -Qspl*Alung/Vl/Kpl*RB
 -Qrep*Alung/Vl/Kpl*RB
 -Qthy*Alung/Vl/Kpl*RB
 -Qsal*Alung/Vl/Kpl*RB
 -Qs*Alung/Vl/Kpl*RB
 -Qrem*Alung/Vl/Kpl*RB
 -(Qk-GFR)*Alung/Vl/Kpl*RB

-GFR*Alung/Vl/Kpl*fupAlb

d/dt(AsDPP4c_lung) = +kon*AsDPP4f_lung*Alung/Vl/Kpl*fupAlb
-koff*AsDPP4c_lung

d/dt(AsDPP4f_lung) = -kon*AsDPP4f_lung*Alung/Vl/Kpl*fupAlb
+koff*AsDPP4c_lung

d/dt(AtDPP4c_lung) = +kon*AtDPP4f_lung*Alung/Vl/Kpl*fupAlb
-koff*AtDPP4c_lung

d/dt(AtDPP4f_lung) = -kon*AtDPP4f_lung*Alung/Vl/Kpl*fupAlb
+koff*AtDPP4c_lung

Liver 1

d/dt(Aliver_1) = -kon*AsDPP4f_hepat_1*Aliver_1/Vh_i/Kph*fupAlb
+koff*AsDPP4c_hepat_1

-kon*AtDPP4f_hepat_1*Aliver_1/Vh_i/Kph*fupAlb
+koff*AtDPP4c_hepat_1

+Qha_proper*Alung/Vl/Kpl*RB
+Qpan*Apancreas/Vpan/Kppan*RB
+Qspl*Aspleen/Vspl/Kpspl*RB
+Qserosa*Aserosa/Vserosa/Kpgut*RB
+Qmucosal*Amucosal_blood/Vmucosal_blood
-Qh*Aliver_1/Vh_i/Kph*RB
-CLinth_i*Aliver_1/Vh_i/Kph*fupAlb

d/dt(AsDPP4c_hepat_1) = +kon*AsDPP4f_hepat_1*Aliver_1/Vh_i/Kph*fupAlb
-koff*AsDPP4c_hepat_1

d/dt(AsDPP4f_hepat_1) = -kon*AsDPP4f_hepat_1*Aliver_1/Vh_i/Kph*fupAlb
+koff*AsDPP4c_hepat_1

d/dt(AtDPP4c_hepat_1) = +kon*AtDPP4f_hepat_1*Aliver_1/Vh_i/Kph*fupAlb
-koff*AtDPP4c_hepat_1

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_hepat_1}) &= -\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat_1} * \text{Aliver_1} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat_1} \end{aligned}$$

Liver 2

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Aliver_2}) &= -\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat_2} * \text{Aliver_2} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat_2} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &-\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat_2} * \text{Aliver_2} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat_2} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &+ \text{Qh} * \text{Aliver_1} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{RB} \\ &- \text{Qh} * \text{Aliver_2} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{RB} \\ &- \text{CLinh_i} * \text{Aliver_2} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4c_hepat_2}) &= +\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat_2} * \text{Aliver_2} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &- \text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat_2} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_hepat_2}) &= -\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat_2} * \text{Aliver_2} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat_2} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_hepat_2}) &= +\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat_2} * \text{Aliver_2} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &- \text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat_2} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_hepat_2}) &= -\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat_2} * \text{Aliver_2} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat_2} \end{aligned}$$

Liver 3

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Aliver_3}) &= -\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat_3} * \text{Aliver_3} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat_3} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &-\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat_3} * \text{Aliver_3} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat_3} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &+ \text{Qh} * \text{Aliver_2} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{RB} \\ &- \text{Qh} * \text{Aliver_3} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{RB} \end{aligned}$$

-CL_{in}_i*Aliver₃/V_h_i/K_{ph}*fupAlb

d/dt(AsDPP4c_{hepat_3}) = +kon*AsDPP4f_{hepat_3}*Aliver₃/V_h_i/K_{ph}*fupAlb
-koff*AsDPP4c_{hepat_3}

d/dt(AsDPP4f_{hepat_3}) = -kon*AsDPP4f_{hepat_3}*Aliver₃/V_h_i/K_{ph}*fupAlb
+koff*AsDPP4c_{hepat_3}

d/dt(AtDPP4c_{hepat_3}) = +kon*AtDPP4f_{hepat_3}*Aliver₃/V_h_i/K_{ph}*fupAlb
-koff*AtDPP4c_{hepat_3}

d/dt(AtDPP4f_{hepat_3}) = -kon*AtDPP4f_{hepat_3}*Aliver₃/V_h_i/K_{ph}*fupAlb
+koff*AtDPP4c_{hepat_3}

Liver 4

d/dt(Aliver₄) = -kon*AsDPP4f_{hepat_4}*Aliver₄/V_h_i/K_{ph}*fupAlb
+koff*AsDPP4c_{hepat_4}

-kon*AtDPP4f_{hepat_4}*Aliver₄/V_h_i/K_{ph}*fupAlb
+koff*AtDPP4c_{hepat_4}

+Q_h*Aliver₃/V_h_i/K_{ph}*RB
-Q_h*Aliver₄/V_h_i/K_{ph}*RB
-CL_{in}_i*Aliver₄/V_h_i/K_{ph}*fupAlb

d/dt(AsDPP4c_{hepat_4}) = +kon*AsDPP4f_{hepat_4}*Aliver₄/V_h_i/K_{ph}*fupAlb
-koff*AsDPP4c_{hepat_4}

d/dt(AsDPP4f_{hepat_4}) = -kon*AsDPP4f_{hepat_4}*Aliver₄/V_h_i/K_{ph}*fupAlb
+koff*AsDPP4c_{hepat_4}

d/dt(AtDPP4c_{hepat_4}) = +kon*AtDPP4f_{hepat_4}*Aliver₄/V_h_i/K_{ph}*fupAlb
-koff*AtDPP4c_{hepat_4}

d/dt(AtDPP4f_{hepat_4}) = -kon*AtDPP4f_{hepat_4}*Aliver₄/V_h_i/K_{ph}*fupAlb
+koff*AtDPP4c_{hepat_4}

Liver 5

$d/dt(\text{Aliver}_5) = -\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat}_5 * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb}$
 $+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat}_5$

$-\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat}_5 * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb}$
 $+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat}_5$

$+ \text{Qh} * \text{Aliver}_4 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{RB}$
 $- \text{Qh} * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{RB}$
 $- \text{CLin}_i * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb}$

$d/dt(\text{AsDPP4c_hepat}_5) = +\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat}_5 * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb}$
 $- \text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat}_5$

$d/dt(\text{AsDPP4f_hepat}_5) = -\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat}_5 * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb}$
 $+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat}_5$

$d/dt(\text{AtDPP4c_hepat}_5) = +\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat}_5 * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb}$
 $- \text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat}_5$

$d/dt(\text{AtDPP4f_hepat}_5) = -\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat}_5 * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb}$
 $+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat}_5$

Reproductive organs

$d/dt(\text{Areproductiveorgans}) = -$
 $\text{kon} * \text{AsDPP4f_reproductiveorgans} * \text{Areproductiveorgans} / \text{Vrep} / \text{Kprep} * \text{fupAlb}$
 $+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_reproductiveorgans}$

$-\text{kon} * \text{AtDPP4f_reproductiveorgans} * \text{Areproductiveorgans} / \text{Vrep} / \text{Kprep} * \text{fupAlb}$
 $+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_reproductiveorgans}$

$+ \text{Qrep} * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{RB}$
 $- \text{Qrep} * \text{Areproductiveorgans} / \text{Vrep} / \text{Kprep} * \text{RB}$

$d/dt(\text{AsDPP4c_reproductiveorgans}) =$
 $+ \text{kon} * \text{AsDPP4f_reproductiveorgans} * \text{Areproductiveorgans} / \text{Vrep} / \text{Kprep} * \text{fupAlb}$
 $- \text{koff} * \text{AsDPP4c_reproductiveorgans}$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_reproductiveorgans}) &= - \\ &\text{kon*AsDPP4f_reproductiveorgans*Areproductiveorgans/Vrep/Kprep*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AsDPP4c_reproductiveorgans} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_reproductiveorgans}) &= \\ &+ \text{kon*AtDPP4f_reproductiveorgans*Areproductiveorgans/Vrep/Kprep*fupAlb} \\ &- \text{koff*AtDPP4c_reproductiveorgans} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_reproductiveorgans}) &= - \\ &\text{kon*AtDPP4f_reproductiveorgans*Areproductiveorgans/Vrep/Kprep*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AtDPP4c_reproductiveorgans} \end{aligned}$$

Thymus

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Athymus}) &= -\text{kon*AsDPP4f_thymus*Athymus/Vthy/Kpthy*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AsDPP4c_thymus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &-\text{kon*AtDPP4f_thymus*Athymus/Vthy/Kpthy*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AtDPP4c_thymus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &+ \text{Qthy*Alung/VI/Kpl*RB} \\ &- \text{Qthy*Athymus/Vthy/Kpthy*RB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4c_thymus}) &= +\text{kon*AsDPP4f_thymus*Athymus/Vthy/Kpthy*fupAlb} \\ &- \text{koff*AsDPP4c_thymus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_thymus}) &= -\text{kon*AsDPP4f_thymus*Athymus/Vthy/Kpthy*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AsDPP4c_thymus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_thymus}) &= +\text{kon*AtDPP4f_thymus*Athymus/Vthy/Kpthy*fupAlb} \\ &- \text{koff*AtDPP4c_thymus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_thymus}) &= -\text{kon*AtDPP4f_thymus*Athymus/Vthy/Kpthy*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AtDPP4c_thymus} \end{aligned}$$

Salivary gland

$$\begin{aligned}
& d/dt(\text{Asalivarygland}) = - \\
& \text{kon} * \text{AsDPP4f_salivarygland} * \text{Asalivarygland} / \text{Vsal} / \text{Kpsal.vivo} * \text{fupAlb} \\
& + \text{koff} * \text{AsDPP4c_salivarygland} \\
& \\
& - \text{kon} * \text{AtDPP4f_salivarygland} * \text{Asalivarygland} / \text{Vsal} / \text{Kpsal.vivo} * \text{fupAlb} \\
& + \text{koff} * \text{AtDPP4c_salivarygland} \\
& \\
& + \text{Qsal} * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{RB} \\
& - \text{Qsal} * \text{Asalivarygland} / \text{Vsal} / \text{Kpsal.vivo} * \text{RB}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& d/dt(\text{AsDPP4c_salivarygland}) = \\
& + \text{kon} * \text{AsDPP4f_salivarygland} * \text{Asalivarygland} / \text{Vsal} / \text{Kpsal.vivo} * \text{fupAlb} \\
& - \text{koff} * \text{AsDPP4c_salivarygland}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& d/dt(\text{AsDPP4f_salivarygland}) = - \\
& \text{kon} * \text{AsDPP4f_salivarygland} * \text{Asalivarygland} / \text{Vsal} / \text{Kpsal.vivo} * \text{fupAlb} \\
& + \text{koff} * \text{AsDPP4c_salivarygland}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& d/dt(\text{AtDPP4c_salivarygland}) = \\
& + \text{kon} * \text{AtDPP4f_salivarygland} * \text{Asalivarygland} / \text{Vsal} / \text{Kpsal.vivo} * \text{fupAlb} \\
& - \text{koff} * \text{AtDPP4c_salivarygland}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& d/dt(\text{AtDPP4f_salivarygland}) = - \\
& \text{kon} * \text{AtDPP4f_salivarygland} * \text{Asalivarygland} / \text{Vsal} / \text{Kpsal.vivo} * \text{fupAlb} \\
& + \text{koff} * \text{AtDPP4c_salivarygland}
\end{aligned}$$

Pancreas

$$\begin{aligned}
& d/dt(\text{Apancreas}) = - \text{kon} * \text{AsDPP4f_pancreas} * \text{Apancreas} / \text{Vpan} / \text{Kppan} * \text{fupAlb} \\
& + \text{koff} * \text{AsDPP4c_pancreas}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& + \text{Qpan} * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{RB} \\
& - \text{Qpan} * \text{Apancreas} / \text{Vpan} / \text{Kppan} * \text{RB}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& d/dt(\text{AsDPP4c_pancreas}) = \\
& + \text{kon} * \text{AsDPP4f_pancreas} * \text{Apancreas} / \text{Vpan} / \text{Kppan} * \text{fupAlb} \\
& - \text{koff} * \text{AsDPP4c_pancreas}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_pancreas}) &= - \\ &\text{kon*AsDPP4f_pancreas*Ap pancreas/Vpan/Kppan*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AsDPP4c_pancreas} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Aspleen}) &= -\text{kon*AsDPP4f_spleen*Aspleen/Vspl/Kpspl*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AsDPP4c_spleen} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &-\text{kon*AtDPP4f_spleen*Aspleen/Vspl/Kpspl*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AtDPP4c_spleen} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &+ \text{Qspl*Alung/VI/Kpl*RB} \\ &- \text{Qspl*Aspleen/Vspl/Kpspl*RB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4c_spleen}) &= +\text{kon*AsDPP4f_spleen*Aspleen/Vspl/Kpspl*fupAlb} \\ &- \text{koff*AsDPP4c_spleen} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_spleen}) &= -\text{kon*AsDPP4f_spleen*Aspleen/Vspl/Kpspl*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AsDPP4c_spleen} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_spleen}) &= +\text{kon*AtDPP4f_spleen*Aspleen/Vspl/Kpspl*fupAlb} \\ &- \text{koff*AtDPP4c_spleen} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_spleen}) &= -\text{kon*AtDPP4f_spleen*Aspleen/Vspl/Kpspl*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AtDPP4c_spleen} \end{aligned}$$

Skin

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Askin}) &= -\text{kon*AsDPP4f_skin*Askin/Vs/Kps*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AsDPP4c_skin} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &-\text{kon*AtDPP4f_skin*Askin/Vs/Kps*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AtDPP4c_skin} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &+ \text{Qs*Alung/VI/Kpl*RB} \\ &- \text{Qs*Askin/Vs/Kps*RB} \end{aligned}$$

$$d/dt(\text{AsDPP4c_skin}) = +\text{kon*AsDPP4f_skin*Askin/Vs/Kps*fupAlb}$$

-koff*AsDPP4c_skin

$d/dt(\text{AsDPP4f_skin}) = -\text{kon} * \text{AsDPP4f_skin} * \text{Askin} / \text{Vs} / \text{Kps} * \text{fupAlb}$
 $+\text{koff} * \text{AsDPP4c_skin}$

$d/dt(\text{AtDPP4c_skin}) = +\text{kon} * \text{AtDPP4f_skin} * \text{Askin} / \text{Vs} / \text{Kps} * \text{fupAlb}$
 $-\text{koff} * \text{AtDPP4c_skin}$

$d/dt(\text{AtDPP4f_skin}) = -\text{kon} * \text{AtDPP4f_skin} * \text{Askin} / \text{Vs} / \text{Kps} * \text{fupAlb}$
 $+\text{koff} * \text{AtDPP4c_skin}$

Remainder

$d/dt(\text{Aremainder}) = -\text{kon} * \text{AsDPP4f_remainder} * \text{Aremainder} / \text{Vrem} / \text{Kprem} * \text{fupAlb}$
 $+\text{koff} * \text{AsDPP4c_remainder}$

$+\text{Qrem} * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{RB}$
 $-\text{Qrem} * \text{Aremainder} / \text{Vrem} / \text{Kprem} * \text{RB}$

$d/dt(\text{AsDPP4c_remainder}) =$
 $+\text{kon} * \text{AsDPP4f_remainder} * \text{Aremainder} / \text{Vrem} / \text{Kprem} * \text{fupAlb}$
 $-\text{koff} * \text{AsDPP4c_remainder}$

$d/dt(\text{AsDPP4f_remainder}) = -$
 $\text{kon} * \text{AsDPP4f_remainder} * \text{Aremainder} / \text{Vrem} / \text{Kprem} * \text{fupAlb}$
 $+\text{koff} * \text{AsDPP4c_remainder}$

Kidney (Cell + Vessel)

$d/dt(\text{Akves}) = -\text{kon} * \text{AsDPP4f_kidneyVessel} * \text{Akves} / \text{Vkves} / \text{Kpk} * \text{fupAlb}$
 $+\text{koff} * \text{AsDPP4c_kidneyVessel}$

$-\text{kon} * \text{AtDPP4f_kidneyVessel} * \text{Akves} / \text{Vkves} / \text{Kpk} * \text{fupAlb}$
 $+\text{koff} * \text{AtDPP4c_kidneyVessel}$

$+(\text{Qk}-\text{GFR}) * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{RB}$
 $-(\text{Qk}-\text{Qu}) * \text{Akves} / \text{Vkves} / \text{Kpk} * \text{RB}$

$-\text{CLsecint} * \text{Akves} / \text{Vkves} / \text{Kpk} * \text{fupAlb}$

+CLreabDPP4*AtDPP4c_kidneytubule/Vktubule

d/dt(AsDPP4c_kidneyVessel) =
+kon*AsDPP4f_kidneyVessel*Akves/Vkves/Kpk*fupAlb
-koff*AsDPP4c_kidneyVessel

d/dt(AsDPP4f_kidneyVessel) = -
kon*AsDPP4f_kidneyVessel*Akves/Vkves/Kpk*fupAlb
+koff*AsDPP4c_kidneyVessel

d/dt(AtDPP4c_kidneyVessel) =
+kon*AtDPP4f_kidneyVessel*Akves/Vkves/Kpk*fupAlb
-koff*AtDPP4c_kidneyVessel

d/dt(AtDPP4f_kidneyVessel) = -
kon*AtDPP4f_kidneyVessel*Akves/Vkves/Kpk*fupAlb
+koff*AtDPP4c_kidneyVessel

Kidney (Tubule)

d/dt(Aktubule) = -kon*AtDPP4f_kidneytubule*Aktubule/Vktubule
+koff*AtDPP4c_kidneytubule

+GFR*Alung/Vl/Kpl*fupAlb # GFRはミスじゃない
+CLsecint*Akves/Vkves/Kpk*fupAlb
-Qu*Aktubule/Vktubule

d/dt(AtDPP4c_kidneytubule) = +kon*AtDPP4f_kidneytubule*Aktubule/Vktubule
-koff*AtDPP4c_kidneytubule

-CLreabDPP4*AtDPP4c_kidneytubule/Vktubule

d/dt(AtDPP4f_kidneytubule) = -kon*AtDPP4f_kidneytubule*Aktubule/Vktubule
+koff*AtDPP4c_kidneytubule
+CLreabDPP4*AtDPP4c_kidneytubule/Vktubule

$$\begin{aligned} d/dt(Xmetab) = & +CL_{inh_i}*(1-f_{bile})*Aliver_1/Vh_i/Kph*fupAlb \\ & +CL_{inh_i}*(1-f_{bile})*Aliver_2/Vh_i/Kph*fupAlb \\ & +CL_{inh_i}*(1-f_{bile})*Aliver_3/Vh_i/Kph*fupAlb \\ & +CL_{inh_i}*(1-f_{bile})*Aliver_4/Vh_i/Kph*fupAlb \\ & +CL_{inh_i}*(1-f_{bile})*Aliver_5/Vh_i/Kph*fupAlb \end{aligned}$$

$$d/dt(Xurine) = +Qu*Aktubule/Vktubule$$

$$d/dt(Xfeces) = +Alpha*kfeces*Aintestinal_lumen$$

#####

Allocating Amount of Soluble DPP-4

#####

$$\begin{aligned} Vtotal = & +VBlood+Veh+Vsv+Vlv+Vkvesv+Vsplv \\ & +Vsalv+Vthyv+Vrepv+Vpanv+Vremv \\ & +Vmucosal_blood+Vserosav \end{aligned}$$

AsDPP4f_blood(0)	= AsDPP4*VBlood/Vtotal
AsDPP4f_hepat_1(0)	= AsDPP4*Veh/Vtotal/5
AsDPP4f_hepat_2(0)	= AsDPP4*Veh/Vtotal/5
AsDPP4f_hepat_3(0)	= AsDPP4*Veh/Vtotal/5
AsDPP4f_hepat_4(0)	= AsDPP4*Veh/Vtotal/5
AsDPP4f_hepat_5(0)	= AsDPP4*Veh/Vtotal/5
AsDPP4f_skin(0)	= AsDPP4*Vsv/Vtotal
AsDPP4f_lung(0)	= AsDPP4*Vlv/Vtotal
AsDPP4f_kidneyVessel(0)	= AsDPP4*Vkvesv/Vtotal
AsDPP4f_spleen(0)	= AsDPP4*Vsplv/Vtotal
AsDPP4f_salivarygland(0)	= AsDPP4*Vsalv/Vtotal
AsDPP4f_thymus(0)	= AsDPP4*Vthyv/Vtotal
AsDPP4f_reproductiveorgans(0)	= AsDPP4*Vrepv/Vtotal
AsDPP4f_pancreas(0)	= AsDPP4*Vpanv/Vtotal
AsDPP4f_remainder(0)	= AsDPP4*Vremv/Vtotal
AsDPP4f_mucosal_blood(0)	= AsDPP4*Vmucosal_blood/Vtotal
AsDPP4f_serosa(0)	= AsDPP4*Vserosav/Vtotal

#####


```

# Allocating Amount of Transmembrane DPP-4 #
#####
AtDPP4f_skin(0)          = AtDPP4_skin
AtDPP4f_lung(0)          = AtDPP4_lung
AtDPP4f_blood(0)         = 0
AtDPP4f_hepat_1(0)       = AtDPP4_liver/5
AtDPP4f_hepat_2(0)       = AtDPP4_liver/5
AtDPP4f_hepat_3(0)       = AtDPP4_liver/5
AtDPP4f_hepat_4(0)       = AtDPP4_liver/5
AtDPP4f_hepat_5(0)       = AtDPP4_liver/5
AtDPP4f_kidneyVessel(0)  = AtDPP4_kidney*(1-flumen_kidney)
AtDPP4f_kidneytubule(0) = AtDPP4_kidney*(flumen_kidney)
AtDPP4f_spleen(0)        = AtDPP4_spleen
AtDPP4f_salivarygland(0) = AtDPP4_salivarygland
AtDPP4f_thymus(0)        = AtDPP4_thymus
AtDPP4f_reproductiveorgans(0) = AtDPP4_reproductiveorgans

AtDPP4_intestine          = AtDPP4_liver*rGL
AtDPP4f_intestinal_lumen(0) = AtDPP4_intestine*(flumen_gut)
AtDPP4f_mucosal_blood(0)   = AtDPP4_intestine*(1-
flumen_gut)*Vmucosal_blood/(Vmucosal_blood+Vserosa)
AtDPP4f_serosa(0)          = AtDPP4_intestine*(1-
flumen_gut)*Vserosa/(Vmucosal_blood+Vserosa)
}))

Fixed_param_temporary <- function(){
  fixed_param <- c(
    Alpha=1,
    AR=1,
    Gammaent=1,
    rGL=0.291,
    kfeces=0.637
  )
  return(fixed_param)
}

Estimated_param <- function(x){

```

```

c(
  CLinth          = 10**x[1],
  CLsecint       = 10**x[2],
  CLreabDPP4     = 10**x[3],
  AsDPP4         = 10**x[4],
  fbile          = expit(x[5]),

  koff           = 10**x[6],
  Kd             = 10**x[7],
  flumen_kidney = expit(x[8]),
  AtDPP4_skin   = 10**x[9],
  AtDPP4_liver  = 10**x[10],

  AtDPP4_spleen = 10**x[11],
  AtDPP4_lung   = 10**x[12],
  AtDPP4_reproductiveorgans = 10**x[13],
  AtDPP4_thymus = 10**x[14],
  AtDPP4_salivarygland = 10**x[15],

  AtDPP4_kidney = 10**x[16],
  flumen_gut    = expit(x[17]),
  Kprep.vivo    = 10**x[18],
  Kpsal.vivo    = 10**x[19],
  Kprem.vivo    = 10**x[20],

  kbile         = 10**x[21],
  VmaxPgp       = 10**x[22],
  LR            = 99.9*expit(x[23])+0.01,
  PSDifentBE   = 10**x[24],
  Kph.vivo     = 10**x[25]
)
}

modeldef.theta <- function(x){
  c(Estimated_param(x),
    Fixed_param_temporary()
  )
}

```

```
}
```

```
model_function=function(x){
```

```
  thetaW <- c(isAccepted=NA,  
             cluster=NA,  
             SSR=NA,  
             modeldef.theta(x),  
             param_lina)
```

```
  thetaD <- thetaW
```

```
  thetaD["AsDPP4"] <-0  
  thetaD["AtDPP4_muscle"] <-0  
  thetaD["AtDPP4_skin"] <-0  
  thetaD["AtDPP4_adipose"] <-0  
  thetaD["AtDPP4_liver"] <-0  
  thetaD["AtDPP4_spleen"] <-0  
  thetaD["AtDPP4_lung"] <-0  
  thetaD["AtDPP4_reproductiveorgans"] <-0  
  thetaD["AtDPP4_thymus"] <-0  
  thetaD["AtDPP4_salivarygland"] <-0  
  thetaD["AtDPP4_kidney"] <-0  
  thetaD["AtDPP4_mucosal_blood"] <-0  
  thetaD["AtDPP4_intestinal_lumen"] <-0
```

```
# Perform Simulations
```

```
odeSolW=model$solve(thetaW, ev)
```

```
odeSolD=model$solve(thetaD, ev)
```

```
# Aggregate Simulation Result
```

```
c(  
  # Set1 Wild type
```

```
  log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(1, 'Blood')],
```

```
  log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(1, 'Kidney')],
```

```
  log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(1, 'Liver')],
```

```

log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(1), 'Lung']),
log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(1), 'Pancreas']),
log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(1), 'Reproductiveorgans']),
log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(1), 'Salivarygland']),
log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(1), 'Skin']),
log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(1), 'Spleen']),
log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(1), 'Thymus']),

```

```
# Set1 DPP-4 def.
```

```

log10(odeSolD[odeSolD[, 'id'] %in% c(1), 'Blood']),
log10(odeSolD[odeSolD[, 'id'] %in% c(1), 'Kidney']),
log10(odeSolD[odeSolD[, 'id'] %in% c(1), 'Liver']),
log10(odeSolD[odeSolD[, 'id'] %in% c(1), 'Lung']),
log10(odeSolD[odeSolD[, 'id'] %in% c(1), 'Pancreas']),
log10(odeSolD[odeSolD[, 'id'] %in% c(1), 'Reproductiveorgans']),
log10(odeSolD[odeSolD[, 'id'] %in% c(1), 'Salivarygland']),
log10(odeSolD[odeSolD[, 'id'] %in% c(1), 'Skin']),
log10(odeSolD[odeSolD[, 'id'] %in% c(1), 'Spleen']),
log10(odeSolD[odeSolD[, 'id'] %in% c(1), 'Thymus']),

```

```
# Set2 Wild type
```

```

log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(2,3,4,5, 7,8), 'Kidney']),
log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(2,3,4,5, 7,8), 'Liver']),
log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(2,3,4,5, 7,8), 'Lung']),
log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(2,3,4,5, 7,8), 'Skin']),
log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(2,3,4,5, 7,8), 'Spleen']),
log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(2,3,4,5, 7,8), 'Salivarygland']),
log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(2,3,4,5, 7,8), 'Thymus']),

```

```
# Set2 DPP-4 def.
```

```

log10(odeSolD[odeSolD[, 'id'] %in% c( 3,4,5,6,7,8), 'Kidney']),
log10(odeSolD[odeSolD[, 'id'] %in% c( 3,4,5,6,7,8), 'Liver']),
log10(odeSolD[odeSolD[, 'id'] %in% c( 3,4,5,6,7,8), 'Lung']),
log10(odeSolD[odeSolD[, 'id'] %in% c( 3,4,5,6,7,8), 'Skin']),
log10(odeSolD[odeSolD[, 'id'] %in% c( 3,4,5,6,7,8), 'Spleen']),
log10(odeSolD[odeSolD[, 'id'] %in% c( 3,4,5,6,7,8), 'Salivarygland']),
log10(odeSolD[odeSolD[, 'id'] %in% c( 3,4,5,6,7,8), 'Thymus']),

```

```

# Set3
log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(9), 'Xfeces']),
log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(9), 'Xurine']),

# Penalized Parameters
log10(unname(thetaW['Kd'])),
log10(unname(thetaW['AsDPP4'])),
log10(unname(thetaW['koff']))
)

}

n_fold <- 1000

initial_value <- tribble(
  ~Parameter,          ~lower,          ~upper,

  'CLinth',            1/n_fold,        1*n_fold,
  'CLsecint',          1/n_fold,        1*n_fold,
  'CLreabDPP4',        0.00005929/n_fold, 0.00005929*n_fold,
  'AsDPP4',            0.1581/10,       0.1581*10,
  'fbile',             10**logit(0.5),  10**logit(0.95),

  'koff',              0.18410/10,     0.18410*10,
  'Kd',                0.04274/10,     0.04274*10,
  'flumen_kidney',    10**logit(0.05), 10**logit(0.95),
  'AtDPP4_skin',      0.01/n_fold,    0.01*n_fold,
  'AtDPP4_liver',     1/n_fold,        1*n_fold,

  'AtDPP4_spleen',    0.01/n_fold,    0.01*n_fold,
  'AtDPP4_lung',      0.01/n_fold,    0.01*n_fold,
  'AtDPP4_reproductiveorgans', 0.01/n_fold,    0.01*n_fold,
  'AtDPP4_thymus',    0.01/n_fold,    0.01*n_fold,
  'AtDPP4_salivarygland', 0.01/n_fold,    0.01*n_fold,

  'AtDPP4_kidney',    100/n_fold,     100*n_fold,

```

```

'flumen_gut',          10**logit(0.05),  10**logit(0.95),
'Kprep.vivo',         1/10,              1*10,
'Kpsal.vivo',         1/10,              1*10,
'Kprem.vivo',         1/10,              1*10,

'kbile',              1/n_fold,          1*n_fold,
'VmaxPgp',            1000/n_fold,       1000*n_fold,
'LR',                 10**logit((0.05-0.01)/99.9), 10**logit((95-0.01)/99.9),
'PSdifentBE',        0.00827/20,        0.00827*20,
'Kph.vivo',           1/10,              1*10

)

observation = c(
  # Set1
  log10(data01 %>% filter(Seq1=='Set1' & Seq3=='Wild type') %>% arrange(Seq2,
Time) %>% pull(Value)),
  log10(data01 %>% filter(Seq1=='Set1' & Seq3=='DPP-4 def.') %>% arrange(Seq2,
Time) %>% pull(Value)),

  # Set2
  log10(data01 %>% filter(Seq1=='Set2' & Seq3=='Wild type') %>% arrange(Seq2,
Time) %>% pull(Value)),
  log10(data01 %>% filter(Seq1=='Set2' & Seq3=='DPP-4 def.') %>% arrange(Seq2,
Time) %>% pull(Value)),

  # Set3 (excretion)
  log10(data01 %>% filter(Seq1=='Set3' & Seq2=='Feces') %>%
pull(cumValue)/100*2116.22*2*0.25),
  log10(data01 %>% filter(Seq1=='Set3' & Seq2=='Urine') %>%
pull(cumValue)/100*2116.22*2*0.25),

  # Penalized Parameters
  log10(0.04273504),
  log10(0.06837277),
  log10(0.1836)
)

```

```

t<-proc.time()
CGNM_result = Cluster_Gauss_Newton_method(nonlinearFunction=model_function,
                                           targetVector = observation,
                                           initial_lowerRange =
log10(initial_value$lower),
                                           initial_upperRange =
log10(initial_value$upper),
                                           num_iter = 50, num_minimizersToFind =
1000,
                                           ParameterNames =
names(Estimated_param(0)),
                                           saveLog = T)
save(CGNM_result, file="CGNM_result.Rdata")
elapsed <- proc.time()-t

print(elapsed)

```

Supplementary Program 2. R program for the PBPK-CGNM analysis of rat plasma concentration data.

```
library(rxode2)
library(CGNM)
library(openxlsx)
library(dplyr)
library(parallel)

load('paramdata_rat.rdata')
paramSrc_lina <-
  paramdata_rat %>%
  filter(!is.na(Value)) %>%
  # Adrenal, Heart, Bone, muscle and adipose volumes are aggregated in Remainder.
  mutate(
    Value = ifelse(
      Parameter == 'Vrem',
      filter(., Parameter == 'Vrem') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Vadr') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Vhrt') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Vbon') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Vm') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Va') %>% pull(Value),
      Value
    )
  ) %>%
  # Adrenal, Heart, Bone, muscle and adipose volumes are aggregated in Remainder.
  mutate(
    Value = ifelse(
      Parameter == 'Qrem',
      filter(., Parameter == 'Qrem') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Qadr') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Qhrt') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Qbon') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Qm') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Qa') %>% pull(Value),
      Value
    )
  )
```



```

)
)%>%
filter(!Parameter %in% c(
  'Vadr',
  'Vhrt',
  'Vbon',
  'Vm',
  'Va',
  'Qadr',
  'Qhrt',
  'Qbon',
  'Qm',
  'Qa'
))
param_lina <- paramSrc_lina$Value
names(param_lina) <- paramSrc_lina$Parameter

```

```

load('Ingdata_rat.rdata')
data01 <- Ingdata_rat %>%
filter(
  (
    Seq1 == 'Set1' &
    Seq2 %in% c(
      'Blood',
      'Kidney',
      'Liver',
      'Lung',
      'Pancreas',
      'Reproductive organs',
      'Salivary gland',
      'Skin',
      'Spleen',
      'Thymus')
  ) |
  (
    Seq1 == 'Set2' &

```

```

      Seq2 %in% c(
        'Kidney',
        'Liver',
        'Lung',
        'Skin',
        'Spleen',
        'Subm.gland',
        'Thymus')
    ) |
  (
    Seq1 == 'Set3' &
    Seq2 %in% c(
      'Feces',
      'Urine') &
    Time <= 24*3
  )
) %>%
arrange(Seq3, Seq1, Seq2, Time) %>%
group_by(Seq3, Seq1, Seq2) %>%
mutate(cumValue = ifelse(
  Seq1 == 'Set3' &
  Seq2 %in% c('Feces', 'Urine'),
  cumsum(Value),
  Value
))

data02 <- lngdata_rat %>%
  filter(Seq1=='Retlich')

# EventTable Definition
BW = 0.250 # body weight of rat (Kg)

# Set3 (excretion)
ev_Set3_excr <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=c(0:2*24), amt=2116.22*2*BW, cmt="Aintestinal_lumen") %>%
  et(filter(data01, Seq1=='Set3' & Seq2=='Urine' & Time<=24*3)$Time) %>%

```

```

et(id=9)

# Retlich
ev0.01_wt_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*0.01*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data02, Seq3=='Wild type' & Dose==0.01)$Time) %>%
  et(id=11)

ev0.1_wt_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*0.1*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data02, Seq3=='Wild type' & Dose==0.1)$Time) %>%
  et(id=12)

ev0.3_wt_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*0.3*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data02, Seq3=='Wild type' & Dose==0.3)$Time) %>%
  et(id=13)

ev1_wt_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*1*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data02, Seq3=='Wild type' & Dose==1)$Time) %>%
  et(id=14)

ev3_wt_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*3*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data02, Seq3=='Wild type' & Dose==3)$Time) %>%
  et(id=15)

ev10_wt_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*10*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data02, Seq3=='Wild type' & Dose==10)$Time) %>%
  et(id=16)

ev50_wt_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*50*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data02, Seq3=='Wild type' & Dose==50)$Time) %>%
  et(id=17)

```

```
ev0.1_def_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%  
  et(time=0, amt=2116.22*0.1*BW, cmt="ABlood") %>%  
  et(filter(data02, Seq3=='DPP-4 def.' & Dose==0.1)$Time) %>%  
  et(id=18)
```

```
ev0.3_def_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%  
  et(time=0, amt=2116.22*0.3*BW, cmt="ABlood") %>%  
  et(filter(data02, Seq3=='DPP-4 def.' & Dose==0.3)$Time) %>%  
  et(id=19)
```

```
ev1.0_def_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%  
  et(time=0, amt=2116.22*1.0*BW, cmt="ABlood") %>%  
  et(filter(data02, Seq3=='DPP-4 def.' & Dose==1.0)$Time) %>%  
  et(id=20)
```

```
ev3.0_def_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%  
  et(time=0, amt=2116.22*3.0*BW, cmt="ABlood") %>%  
  et(filter(data02, Seq3=='DPP-4 def.' & Dose==3.0)$Time) %>%  
  et(id=21)
```

```
ev10_def_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%  
  et(time=0, amt=2116.22*10.0*BW, cmt="ABlood") %>%  
  et(filter(data02, Seq3=='DPP-4 def.' & Dose==10.0)$Time) %>%  
  et(id=22)
```

```
ev50_def_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%  
  et(time=0, amt=2116.22*50.0*BW, cmt="ABlood") %>%  
  et(filter(data02, Seq3=='DPP-4 def.' & Dose==50.0)$Time) %>%  
  et(id=23)
```

```
ev <- rbind(  
  ev_Set3_excr,  
  ev0.01_wt_plsm,  
  ev0.1_wt_plsm,  
  ev0.3_wt_plsm,  
  ev1_wt_plsm,
```

```

ev3_wt_plsm,
ev10_wt_plsm,
ev50_wt_plsm,
ev0.1_def_plsm,
ev0.3_def_plsm,
ev1.0_def_plsm,
ev3.0_def_plsm,
ev10_def_plsm,
ev50_def_plsm
)

```

```

model <- rxode2({

```

```

# For Simulation

```

```

SSR = SSR

```

```

cluster = cluster

```

```

isAccepted = isAccepted

```

```

VBlood = VBlood

```

```

Vh_i = Vh/5          # Vh : Total volume of liver

```

```

Veh_i = Veh/5       # Veh: Extra hepatic (Disse + Interstitial) volume

```

```

CLinth_i = CLinth/5 # CLinth : Hepatic intrinsic clearance

```

```

# Capillary Vessel Volume

```

```

Vkvesv = Vkves*fVkvesv    # Kidney

```

```

Vsv = Vs*fVsv            # Skin

```

```

Vlv = V1*fVlv           # Lung

```

```

Vpanv = Vpan*fVpanv     # pancreas

```

```

Vsplv = Vspl*fVsplv    # spleen

```

```

Vrepv = Vrep*fVrepv    # reproductiveorgans

```

```

Vthyv = Vthy*fVthyv    # thymus

```

```

Vsalv = Vsal*fVsalv    # salivarygland

```

```

Vremv = Vrem*fVremv    # remainder

```

```

Vserosav = Vserosa*fVserosav # serosa

```

DPP-4 binding

$kon = koff/Kd$

Tissue to Plasma concentration ratio (Kp)

$SFKp = 1$

$Kpk = Kpk_calc * SFKp$ # Kidney

$Kphrt = Kphrt_calc * SFKp$ # Heart

$Kpspl = Kpspl_calc * SFKp$ # Spleen

$Kpm = Kpm_calc * SFKp$ # Muscle

$Kps = Kps_calc * SFKp$ # Skin

$Kpa = Kpa_calc * SFKp$ # Adipose

$Kpl = Kpl_calc * SFKp$ # Lung

$Kpthy = Kpthy_calc * SFKp$ # Thymus

$Kppan = Kppan_calc * SFKp$ # Pancreas

$Kpgut = Kpgut_calc * SFKp$ # Intestine

$Kprep = Kprep.vivo * SFKp$ # Reproductive Organ

$Kprem = Kprem.vivo * SFKp$ # Remainder (Rest of Body)

$Kph = Kph.vivo * SFKp$ # Liver

Concentration for each organ

$Blood = (ABlood + AsDPP4c_blood) / VBlood$

$Plasma = (ABlood / VBlood / RB) + (AsDPP4c_blood / Vplasma)$

$Liver = (Aliver_1 + Aliver_2 + Aliver_3 + Aliver_4 + Aliver_5 +$

$AsDPP4c_hepat_1 + AsDPP4c_hepat_2 + AsDPP4c_hepat_3 + AsDPP4c_hepat_4 + AsDPP4c_hepat_5 +$

$AtDPP4c_hepat_1 + AtDPP4c_hepat_2 + AtDPP4c_hepat_3 + AtDPP4c_hepat_4 + AtDPP4c_hepat_5$

$) / Vh$

$Pancreas = (Apancreas + AsDPP4c_pancreas) / Vpan$

$Spleen = (Aspleen + AsDPP4c_spleen + AtDPP4c_spleen) / Vspl$

$Lung = (Alung + AsDPP4c_lung + AtDPP4c_lung) / Vl$

Reproductiveorgans =
 (Areproductiveorgans+AsDPP4c_reproductiveorgans+AtDPP4c_reproductiveorgans)/V
 rep
 Thymus = (Athymus+AsDPP4c_thymus+AtDPP4c_thymus)/Vthy
 Skin = (Askin+AsDPP4c_skin+AtDPP4c_skin)/Vs
 Salivarygland =
 (Asalivarygland+AsDPP4c_salivarygland+AtDPP4c_salivarygland)/Vsal
 Kidney =
 (Akves+AsDPP4c_kidneyVessel+AtDPP4c_kidneyVessel+Aktubule+AtDPP4c_kidney
 tubule)/(Vkves+Vktubule)

#####

Differential equation

#####

EHC

d/dt(Aehc) = +CLinth_i*fbile*Aliver_1/Vh_i/Kph*fupAlb
 +CLinth_i*fbile*Aliver_2/Vh_i/Kph*fupAlb
 +CLinth_i*fbile*Aliver_3/Vh_i/Kph*fupAlb
 +CLinth_i*fbile*Aliver_4/Vh_i/Kph*fupAlb
 +CLinth_i*fbile*Aliver_5/Vh_i/Kph*fupAlb
 -kbile*Aehc

Serosa

d/dt(Aserosa) = -kon*AsDPP4f_serosa*Aserosa/Vserosa/Kpgut*fupAlb
 +koff*AsDPP4c_serosa

-kon*AtDPP4f_serosa*Aserosa/Vserosa/Kpgut*fupAlb
 +koff*AtDPP4c_serosa

+Qserosa*Alung/Vl/Kpl*RB
 -Qserosa*Aserosa/Vserosa/Kpgut*RB

d/dt(AsDPP4c_serosa) = +kon*AsDPP4f_serosa*Aserosa/Vserosa/Kpgut*fupAlb
 -koff*AsDPP4c_serosa

d/dt(AsDPP4f_serosa) = -kon*AsDPP4f_serosa*Aserosa/Vserosa/Kpgut*fupAlb

+koff*AsDPP4c_serosa

d/dt(AtDPP4c_serosa) = +kon*AtDPP4f_serosa*Aserosa/Vserosa/Kpgut*fupAlb
-koff*AtDPP4c_serosa

d/dt(AtDPP4f_serosa) = -kon*AtDPP4f_serosa*Aserosa/Vserosa/Kpgut*fupAlb
+koff*AtDPP4c_serosa

Mucosal Blood

d/dt(Amucosal_blood) = -

kon*AsDPP4f_mucosal_blood*Amucosal_blood/Vmucosal_blood/RB*fupAlb
+koff*AsDPP4c_mucosal_blood

-kon*AtDPP4f_mucosal_blood*Amucosal_blood/Vmucosal_blood/RB*fupAlb
+koff*AtDPP4c_mucosal_blood

+Qmucosal*Alung/VI/Kpl*RB

-Qmucosal*Amucosal_blood/Vmucosal_blood

+fgut*(PSdifentBE/Gammaent)*Aenterocyte/Venterocyte

-(fupAlb/RB)*PSdifentBE*Amucosal_blood/Vmucosal_blood

d/dt(AsDPP4c_mucosal_blood) =

+kon*AsDPP4f_mucosal_blood*Amucosal_blood/Vmucosal_blood/RB*fupAlb
-koff*AsDPP4c_mucosal_blood

d/dt(AsDPP4f_mucosal_blood) = -

kon*AsDPP4f_mucosal_blood*Amucosal_blood/Vmucosal_blood/RB*fupAlb
+koff*AsDPP4c_mucosal_blood

d/dt(AtDPP4c_mucosal_blood) =

+kon*AtDPP4f_mucosal_blood*Amucosal_blood/Vmucosal_blood/RB*fupAlb
-koff*AtDPP4c_mucosal_blood

d/dt(AtDPP4f_mucosal_blood) = -

kon*AtDPP4f_mucosal_blood*Amucosal_blood/Vmucosal_blood/RB*fupAlb
+koff*AtDPP4c_mucosal_blood

Enterocyte

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Aenterocyte}) = & -\text{fgut} * (\text{PSdifentBE} / \text{Gammaent}) * \text{Aenterocyte} / \text{Venterocyte} \\ & + (\text{fupAlb} / \text{RB}) * \text{PSdifentBE} * \text{Amucosal_blood} / \text{Vmucosal_blood} \\ & + \text{LR} * \text{PSdifentBE} * \text{Aintestinal_lumen} / \text{Vintestinal_lumen} \\ & - \text{fgut} * \text{VmaxPgp} / (\text{KmPgp} + \text{fgut} * \text{Aenterocyte} / \text{Venterocyte}) * \text{Aenterocyte} / \text{Venterocyte} \\ & - \text{fgut} * \text{AR} * (\text{PSdifentBE} / \text{Gammaent}) * \text{Aenterocyte} / \text{Venterocyte} \end{aligned}$$

Intestinal Lumen

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Aintestinal_lumen}) = & - \\ & \text{kon} * \text{AtDPP4f_intestinal_lumen} * \text{Aintestinal_lumen} / \text{Vintestinal_lumen} \\ & + \text{koff} * \text{AtDPP4c_intestinal_lumen} \\ & + \text{kbile} * \text{Aehc} \\ & - \text{Alpha} * \text{kfeces} * \text{Aintestinal_lumen} \\ & - \text{LR} * \text{PSdifentBE} * \text{Aintestinal_lumen} / \text{Vintestinal_lumen} \\ & + \text{fgut} * \text{VmaxPgp} / (\text{KmPgp} + \text{fgut} * \text{Aenterocyte} / \text{Venterocyte}) * \text{Aenterocyte} / \text{Venterocyte} \\ & + \text{fgut} * \text{AR} * (\text{PSdifentBE} / \text{Gammaent}) * \text{Aenterocyte} / \text{Venterocyte} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_intestinal_lumen}) = & \\ & + \text{kon} * \text{AtDPP4f_intestinal_lumen} * \text{Aintestinal_lumen} / \text{Vintestinal_lumen} \\ & - \text{koff} * \text{AtDPP4c_intestinal_lumen} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_intestinal_lumen}) = & - \\ & \text{kon} * \text{AtDPP4f_intestinal_lumen} * \text{Aintestinal_lumen} / \text{Vintestinal_lumen} \\ & + \text{koff} * \text{AtDPP4c_intestinal_lumen} \end{aligned}$$

Systemic Blood

$$\begin{aligned} d/dt(\text{ABlood}) = & -\text{kon} * \text{AsDPP4f_blood} * \text{ABlood} / \text{VBlood} / \text{RB} * \text{fupAlb} \\ & + \text{koff} * \text{AsDPP4c_blood} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & -\text{kon} * \text{AtDPP4f_blood} * \text{ABlood} / \text{VBlood} / \text{RB} * \text{fupAlb} \\ & + \text{koff} * \text{AtDPP4c_blood} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & + \text{Qh} * \text{Aliver_5} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{RB} \\ & + \text{Qrep} * \text{Areproductiveorgans} / \text{Vrep} / \text{Kprep} * \text{RB} \\ & + \text{Qthy} * \text{Athymus} / \text{Vthy} / \text{Kpthy} * \text{RB} \\ & + \text{Qsal} * \text{Asalivarygland} / \text{Vsal} / \text{Kpsal.vivo} * \text{RB} \end{aligned}$$

$+Q_s * A_{skin} / V_s / K_{ps} * RB$
 $+Q_{rem} * A_{remainder} / V_{rem} / K_{prem} * RB$
 $+(Q_k - Q_u) * A_{kves} / V_{kves} / K_{pk} * RB$
 $-Q_l * A_{blood} / V_{blood}$

$d/dt(A_{sDPP4c_blood}) = +k_{on} * A_{sDPP4f_blood} * A_{blood} / V_{blood} / RB * f_{upAlb}$
 $-k_{off} * A_{sDPP4c_blood}$

$d/dt(A_{sDPP4f_blood}) = -k_{on} * A_{sDPP4f_blood} * A_{blood} / V_{blood} / RB * f_{upAlb}$
 $+k_{off} * A_{sDPP4c_blood}$

$d/dt(A_{tDPP4c_blood}) = +k_{on} * A_{tDPP4f_blood} * A_{blood} / V_{blood} / RB * f_{upAlb}$
 $-k_{off} * A_{tDPP4c_blood}$

$d/dt(A_{tDPP4f_blood}) = -k_{on} * A_{tDPP4f_blood} * A_{blood} / V_{blood} / RB * f_{upAlb}$
 $+k_{off} * A_{tDPP4c_blood}$

Lung

$d/dt(A_{lung}) = -k_{on} * A_{sDPP4f_lung} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * f_{upAlb}$
 $+k_{off} * A_{sDPP4c_lung}$

$-k_{on} * A_{tDPP4f_lung} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * f_{upAlb}$
 $+k_{off} * A_{tDPP4c_lung}$

$+Q_l * A_{blood} / V_{blood}$
 $-Q_{serosa} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-Q_{mucosal} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-Q_{ha_proper} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-Q_{pan} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-Q_{spl} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-Q_{rep} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-Q_{thy} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-Q_{sal} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-Q_s * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-Q_{rem} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-(Q_k - GFR) * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-GFR * A_{lung} / V_l / K_{pl} * f_{upAlb}$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4c_lung}) = & +\text{kon} * \text{AsDPP4f_lung} * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{fupAlb} \\ & -\text{koff} * \text{AsDPP4c_lung} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_lung}) = & -\text{kon} * \text{AsDPP4f_lung} * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{fupAlb} \\ & +\text{koff} * \text{AsDPP4c_lung} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_lung}) = & +\text{kon} * \text{AtDPP4f_lung} * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{fupAlb} \\ & -\text{koff} * \text{AtDPP4c_lung} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_lung}) = & -\text{kon} * \text{AtDPP4f_lung} * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{fupAlb} \\ & +\text{koff} * \text{AtDPP4c_lung} \end{aligned}$$

Liver 1

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Aliver}_1) = & -\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat}_1 * \text{Aliver}_1 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ & +\text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat}_1 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & -\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat}_1 * \text{Aliver}_1 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ & +\text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat}_1 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & +\text{Qha_proper} * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{RB} \\ & +\text{Qpan} * \text{Apancreas} / \text{Vpan} / \text{Kppan} * \text{RB} \\ & +\text{Qspl} * \text{Aspleen} / \text{Vspl} / \text{Kpspl} * \text{RB} \\ & +\text{Qserosa} * \text{Aserosa} / \text{Vserosa} / \text{Kpgut} * \text{RB} \\ & +\text{Qmucosal} * \text{Amucosal_blood} / \text{Vmucosal_blood} \\ & -\text{Qh} * \text{Aliver}_1 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{RB} \\ & -\text{CLinth}_i * \text{Aliver}_1 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4c_hepat}_1) = & +\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat}_1 * \text{Aliver}_1 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ & -\text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat}_1 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_hepat}_1) = & -\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat}_1 * \text{Aliver}_1 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ & +\text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat}_1 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_hepat}_1) = & +\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat}_1 * \text{Aliver}_1 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ & -\text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat}_1 \end{aligned}$$

$d/dt(\text{AtDPP4f_hepat_1}) = -\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat_1} * \text{Aliver_1} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb}$
 $+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat_1}$

Liver 2

$d/dt(\text{Aliver_2}) = -\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat_2} * \text{Aliver_2} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb}$
 $+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat_2}$

$-\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat_2} * \text{Aliver_2} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb}$
 $+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat_2}$

$+ \text{Qh} * \text{Aliver_1} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{RB}$
 $- \text{Qh} * \text{Aliver_2} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{RB}$
 $- \text{CLin} * \text{Aliver_2} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb}$

$d/dt(\text{AsDPP4c_hepat_2}) = +\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat_2} * \text{Aliver_2} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb}$
 $- \text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat_2}$

$d/dt(\text{AsDPP4f_hepat_2}) = -\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat_2} * \text{Aliver_2} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb}$
 $+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat_2}$

$d/dt(\text{AtDPP4c_hepat_2}) = +\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat_2} * \text{Aliver_2} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb}$
 $- \text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat_2}$

$d/dt(\text{AtDPP4f_hepat_2}) = -\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat_2} * \text{Aliver_2} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb}$
 $+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat_2}$

Liver 3

$d/dt(\text{Aliver_3}) = -\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat_3} * \text{Aliver_3} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb}$
 $+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat_3}$

$-\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat_3} * \text{Aliver_3} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb}$
 $+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat_3}$

$+ \text{Qh} * \text{Aliver_2} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{RB}$
 $- \text{Qh} * \text{Aliver_3} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{RB}$
 $- \text{CLin} * \text{Aliver_3} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb}$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4c_hepat_3}) &= +\text{kon}*\text{AsDPP4f_hepat_3}*\text{Aliver_3}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &-koff*\text{AsDPP4c_hepat_3} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_hepat_3}) &= -\text{kon}*\text{AsDPP4f_hepat_3}*\text{Aliver_3}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &+koff*\text{AsDPP4c_hepat_3} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_hepat_3}) &= +\text{kon}*\text{AtDPP4f_hepat_3}*\text{Aliver_3}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &-koff*\text{AtDPP4c_hepat_3} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_hepat_3}) &= -\text{kon}*\text{AtDPP4f_hepat_3}*\text{Aliver_3}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &+koff*\text{AtDPP4c_hepat_3} \end{aligned}$$

Liver 4

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Aliver_4}) &= -\text{kon}*\text{AsDPP4f_hepat_4}*\text{Aliver_4}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &+koff*\text{AsDPP4c_hepat_4} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &-\text{kon}*\text{AtDPP4f_hepat_4}*\text{Aliver_4}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &+koff*\text{AtDPP4c_hepat_4} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &+Qh*\text{Aliver_3}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*RB \\ &-Qh*\text{Aliver_4}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*RB \\ &-CL_{inh_i}*\text{Aliver_4}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4c_hepat_4}) &= +\text{kon}*\text{AsDPP4f_hepat_4}*\text{Aliver_4}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &-koff*\text{AsDPP4c_hepat_4} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_hepat_4}) &= -\text{kon}*\text{AsDPP4f_hepat_4}*\text{Aliver_4}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &+koff*\text{AsDPP4c_hepat_4} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_hepat_4}) &= +\text{kon}*\text{AtDPP4f_hepat_4}*\text{Aliver_4}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &-koff*\text{AtDPP4c_hepat_4} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_hepat_4}) &= -\text{kon}*\text{AtDPP4f_hepat_4}*\text{Aliver_4}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &+koff*\text{AtDPP4c_hepat_4} \end{aligned}$$

Liver 5

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Aliver}_5) &= -\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat}_5 * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat}_5 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &-\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat}_5 * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat}_5 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &+ \text{Qh} * \text{Aliver}_4 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{RB} \\ &- \text{Qh} * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{RB} \\ &- \text{CLinh}_i * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4c_hepat}_5) &= +\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat}_5 * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &- \text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat}_5 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_hepat}_5) &= -\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat}_5 * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat}_5 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_hepat}_5) &= +\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat}_5 * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &- \text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat}_5 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_hepat}_5) &= -\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat}_5 * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat}_5 \end{aligned}$$

Reproductive organs

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Areproductiveorgans}) &= - \\ &\text{kon} * \text{AsDPP4f_reproductiveorgans} * \text{Areproductiveorgans} / \text{Vrep} / \text{Kprep} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_reproductiveorgans} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &-\text{kon} * \text{AtDPP4f_reproductiveorgans} * \text{Areproductiveorgans} / \text{Vrep} / \text{Kprep} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_reproductiveorgans} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &+ \text{Qrep} * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{RB} \\ &- \text{Qrep} * \text{Areproductiveorgans} / \text{Vrep} / \text{Kprep} * \text{RB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4c_reproductiveorgans}) &= \\ &+ \text{kon} * \text{AsDPP4f_reproductiveorgans} * \text{Areproductiveorgans} / \text{Vrep} / \text{Kprep} * \text{fupAlb} \\ &- \text{koff} * \text{AsDPP4c_reproductiveorgans} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_reproductiveorgans}) &= - \\ &\text{kon*AsDPP4f_reproductiveorgans*Areproductiveorgans/Vrep/Kprep*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AsDPP4c_reproductiveorgans} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_reproductiveorgans}) &= \\ &+ \text{kon*AtDPP4f_reproductiveorgans*Areproductiveorgans/Vrep/Kprep*fupAlb} \\ &- \text{koff*AtDPP4c_reproductiveorgans} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_reproductiveorgans}) &= - \\ &\text{kon*AtDPP4f_reproductiveorgans*Areproductiveorgans/Vrep/Kprep*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AtDPP4c_reproductiveorgans} \end{aligned}$$

Thymus

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Athymus}) &= -\text{kon*AsDPP4f_thymus*Athymus/Vthy/Kpthy*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AsDPP4c_thymus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &-\text{kon*AtDPP4f_thymus*Athymus/Vthy/Kpthy*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AtDPP4c_thymus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &+ \text{Qthy*Alung/VI/Kpl*RB} \\ &- \text{Qthy*Athymus/Vthy/Kpthy*RB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4c_thymus}) &= +\text{kon*AsDPP4f_thymus*Athymus/Vthy/Kpthy*fupAlb} \\ &- \text{koff*AsDPP4c_thymus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_thymus}) &= -\text{kon*AsDPP4f_thymus*Athymus/Vthy/Kpthy*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AsDPP4c_thymus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_thymus}) &= +\text{kon*AtDPP4f_thymus*Athymus/Vthy/Kpthy*fupAlb} \\ &- \text{koff*AtDPP4c_thymus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_thymus}) &= -\text{kon*AtDPP4f_thymus*Athymus/Vthy/Kpthy*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AtDPP4c_thymus} \end{aligned}$$

Salivary gland

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Asalivarygland}) &= - \\ &\text{kon*AsDPP4f_salivarygland*Asalivarygland/Vsal/Kpsal.vivo*fupAlb} \end{aligned}$$

+koff*AsDPP4c_salivarygland

-kon*AtDPP4f_salivarygland*Asalivarygland/Vsal/Kpsal.vivo*fupAlb
+koff*AtDPP4c_salivarygland

+Qsal*Alung/VI/Kpl*RB
-Qsal*Asalivarygland/Vsal/Kpsal.vivo*RB

d/dt(AsDPP4c_salivarygland) =
+kon*AsDPP4f_salivarygland*Asalivarygland/Vsal/Kpsal.vivo*fupAlb
-koff*AsDPP4c_salivarygland

d/dt(AsDPP4f_salivarygland) = -
kon*AsDPP4f_salivarygland*Asalivarygland/Vsal/Kpsal.vivo*fupAlb
+koff*AsDPP4c_salivarygland

d/dt(AtDPP4c_salivarygland) =
+kon*AtDPP4f_salivarygland*Asalivarygland/Vsal/Kpsal.vivo*fupAlb
-koff*AtDPP4c_salivarygland

d/dt(AtDPP4f_salivarygland) = -
kon*AtDPP4f_salivarygland*Asalivarygland/Vsal/Kpsal.vivo*fupAlb
+koff*AtDPP4c_salivarygland

Pancreas

d/dt(Apancreas) = -kon*AsDPP4f_pancreas*Apancreas/Vpan/Kppan*fupAlb
+koff*AsDPP4c_pancreas

+Qpan*Alung/VI/Kpl*RB
-Qpan*Apancreas/Vpan/Kppan*RB

d/dt(AsDPP4c_pancreas) =
+kon*AsDPP4f_pancreas*Apancreas/Vpan/Kppan*fupAlb
-koff*AsDPP4c_pancreas

d/dt(AsDPP4f_pancreas) = -
kon*AsDPP4f_pancreas*Apancreas/Vpan/Kppan*fupAlb

+koff*AsDPP4c_pancreas

$d/dt(\text{Aspleen}) = -\text{kon} * \text{AsDPP4f_spleen} * \text{Aspleen} / \text{Vspl} / \text{Kpspl} * \text{fupAlb}$
+koff*AsDPP4c_spleen

-kon*AtDPP4f_spleen*Aspleen/Vspl/Kpspl*fupAlb
+koff*AtDPP4c_spleen

+Qspl*Alung/Vl/Kpl*RB
-Qspl*Aspleen/Vspl/Kpspl*RB

$d/dt(\text{AsDPP4c_spleen}) = +\text{kon} * \text{AsDPP4f_spleen} * \text{Aspleen} / \text{Vspl} / \text{Kpspl} * \text{fupAlb}$
-koff*AsDPP4c_spleen

$d/dt(\text{AsDPP4f_spleen}) = -\text{kon} * \text{AsDPP4f_spleen} * \text{Aspleen} / \text{Vspl} / \text{Kpspl} * \text{fupAlb}$
+koff*AsDPP4c_spleen

$d/dt(\text{AtDPP4c_spleen}) = +\text{kon} * \text{AtDPP4f_spleen} * \text{Aspleen} / \text{Vspl} / \text{Kpspl} * \text{fupAlb}$
-koff*AtDPP4c_spleen

$d/dt(\text{AtDPP4f_spleen}) = -\text{kon} * \text{AtDPP4f_spleen} * \text{Aspleen} / \text{Vspl} / \text{Kpspl} * \text{fupAlb}$
+koff*AtDPP4c_spleen

Skin

$d/dt(\text{Askin}) = -\text{kon} * \text{AsDPP4f_skin} * \text{Askin} / \text{Vs} / \text{Kps} * \text{fupAlb}$
+koff*AsDPP4c_skin

-kon*AtDPP4f_skin*Askin/Vs/Kps*fupAlb
+koff*AtDPP4c_skin

+Qs*Alung/Vl/Kpl*RB
-Qs*Askin/Vs/Kps*RB

$d/dt(\text{AsDPP4c_skin}) = +\text{kon} * \text{AsDPP4f_skin} * \text{Askin} / \text{Vs} / \text{Kps} * \text{fupAlb}$
-koff*AsDPP4c_skin

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_skin}) &= -\text{kon} * \text{AsDPP4f_skin} * \text{Askin} / \text{Vs} / \text{Kps} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_skin} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_skin}) &= +\text{kon} * \text{AtDPP4f_skin} * \text{Askin} / \text{Vs} / \text{Kps} * \text{fupAlb} \\ &- \text{koff} * \text{AtDPP4c_skin} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_skin}) &= -\text{kon} * \text{AtDPP4f_skin} * \text{Askin} / \text{Vs} / \text{Kps} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_skin} \end{aligned}$$

Remainder

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Aremainder}) &= -\text{kon} * \text{AsDPP4f_remainder} * \text{Aremainder} / \text{Vrem} / \text{Kprem} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_remainder} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &+ \text{Qrem} * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{RB} \\ &- \text{Qrem} * \text{Aremainder} / \text{Vrem} / \text{Kprem} * \text{RB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4c_remainder}) &= \\ &+ \text{kon} * \text{AsDPP4f_remainder} * \text{Aremainder} / \text{Vrem} / \text{Kprem} * \text{fupAlb} \\ &- \text{koff} * \text{AsDPP4c_remainder} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_remainder}) &= - \\ &\text{kon} * \text{AsDPP4f_remainder} * \text{Aremainder} / \text{Vrem} / \text{Kprem} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_remainder} \end{aligned}$$

Kidney (Cell + Vessel)

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Akves}) &= -\text{kon} * \text{AsDPP4f_kidneyVessel} * \text{Akves} / \text{Vkves} / \text{Kpk} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_kidneyVessel} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &- \text{kon} * \text{AtDPP4f_kidneyVessel} * \text{Akves} / \text{Vkves} / \text{Kpk} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_kidneyVessel} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &+ (\text{Qk} - \text{GFR}) * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{RB} \\ &- (\text{Qk} - \text{Qu}) * \text{Akves} / \text{Vkves} / \text{Kpk} * \text{RB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &- \text{CLsecint} * \text{Akves} / \text{Vkves} / \text{Kpk} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{CLreabDPP4} * \text{AtDPP4c_kidneytubule} / \text{Vktubule} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & d/dt(\text{AsDPP4c_kidneyVessel}) = \\ & +\text{kon}*\text{AsDPP4f_kidneyVessel}* \text{Akves}/\text{Vkves}/\text{Kpk}* \text{fupAlb} \\ & -\text{koff}*\text{AsDPP4c_kidneyVessel} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & d/dt(\text{AsDPP4f_kidneyVessel}) = - \\ & \text{kon}*\text{AsDPP4f_kidneyVessel}* \text{Akves}/\text{Vkves}/\text{Kpk}* \text{fupAlb} \\ & +\text{koff}*\text{AsDPP4c_kidneyVessel} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & d/dt(\text{AtDPP4c_kidneyVessel}) = \\ & +\text{kon}*\text{AtDPP4f_kidneyVessel}* \text{Akves}/\text{Vkves}/\text{Kpk}* \text{fupAlb} \\ & -\text{koff}*\text{AtDPP4c_kidneyVessel} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & d/dt(\text{AtDPP4f_kidneyVessel}) = - \\ & \text{kon}*\text{AtDPP4f_kidneyVessel}* \text{Akves}/\text{Vkves}/\text{Kpk}* \text{fupAlb} \\ & +\text{koff}*\text{AtDPP4c_kidneyVessel} \end{aligned}$$

Kidney (Tubule)

$$\begin{aligned} & d/dt(\text{Aktubule}) = -\text{kon}*\text{AtDPP4f_kidneytubule}* \text{Aktubule}/\text{Vktubule} \\ & +\text{koff}*\text{AtDPP4c_kidneytubule} \end{aligned}$$

+GFR*Alung/Vl/Kpl*fupAlb # GFRはミスじゃない

+CLsecint*Akves/Vkves/Kpk*fupAlb

-Qu*Aktubule/Vktubule

$$\begin{aligned} & d/dt(\text{AtDPP4c_kidneytubule}) = +\text{kon}*\text{AtDPP4f_kidneytubule}* \text{Aktubule}/\text{Vktubule} \\ & -\text{koff}*\text{AtDPP4c_kidneytubule} \end{aligned}$$

-CLreabDPP4*AtDPP4c_kidneytubule/Vktubule

$$\begin{aligned} & d/dt(\text{AtDPP4f_kidneytubule}) = -\text{kon}*\text{AtDPP4f_kidneytubule}* \text{Aktubule}/\text{Vktubule} \\ & +\text{koff}*\text{AtDPP4c_kidneytubule} \\ & +\text{CLreabDPP4}*\text{AtDPP4c_kidneytubule}/\text{Vktubule} \end{aligned}$$

$$d/dt(\text{Xmetab}) = +\text{CLinth}_i*(1-\text{fbile})*\text{Aliver}_1/\text{Vh}_i/\text{Kph}* \text{fupAlb}$$

+CLinth_i*(1-fbile)*Aliver_2/Vh_i/Kph*fupAlb
 +CLinth_i*(1-fbile)*Aliver_3/Vh_i/Kph*fupAlb
 +CLinth_i*(1-fbile)*Aliver_4/Vh_i/Kph*fupAlb
 +CLinth_i*(1-fbile)*Aliver_5/Vh_i/Kph*fupAlb

d/dt(Xurine) = +Qu*Aktubule/Vktubule

d/dt(Xfeces) = +Alpha*kfeces*Aintestinal_lumen

#####

Allocating Amount of Soluble DPP-4

#####

AsDPP4 = ADPP4*fsDPP4

Vtotal = +VBlood+Veh+Vsv+Vlv+Vkvesv+Vsplv
 +Vsalv+Vthyv+Vrepv+Vpanv+Vremv
 +Vmucosal_blood+Vserosav

AsDPP4f_blood(0) = AsDPP4*VBlood/Vtotal
 AsDPP4f_hepat_1(0) = AsDPP4*Veh/Vtotal/5
 AsDPP4f_hepat_2(0) = AsDPP4*Veh/Vtotal/5
 AsDPP4f_hepat_3(0) = AsDPP4*Veh/Vtotal/5
 AsDPP4f_hepat_4(0) = AsDPP4*Veh/Vtotal/5
 AsDPP4f_hepat_5(0) = AsDPP4*Veh/Vtotal/5
 AsDPP4f_skin(0) = AsDPP4*Vsv/Vtotal
 AsDPP4f_lung(0) = AsDPP4*Vlv/Vtotal
 AsDPP4f_kidneyVessel(0) = AsDPP4*Vkvesv/Vtotal
 AsDPP4f_spleen(0) = AsDPP4*Vsplv/Vtotal
 AsDPP4f_salivarygland(0) = AsDPP4*Vsalv/Vtotal
 AsDPP4f_thymus(0) = AsDPP4*Vthyv/Vtotal
 AsDPP4f_reproductiveorgans(0) = AsDPP4*Vrepv/Vtotal
 AsDPP4f_pancreas(0) = AsDPP4*Vpanv/Vtotal
 AsDPP4f_remainder(0) = AsDPP4*Vremv/Vtotal
 AsDPP4f_mucosal_blood(0) = AsDPP4*Vmucosal_blood/Vtotal
 AsDPP4f_serosa(0) = AsDPP4*Vserosav/Vtotal

#####

Allocating Amount of Transmembrane DPP-4

```
#####
```

```
AtDPP4 = ADPP4*ftDPP4
```

```
AtDPP4f_skin(0)           = AtDPP4*fDPP4_skin
AtDPP4f_lung(0)           = AtDPP4*fDPP4_lung
AtDPP4f_blood(0)          = 0
AtDPP4f_hepat_1(0)        = AtDPP4*fDPP4_liver/5
AtDPP4f_hepat_2(0)        = AtDPP4*fDPP4_liver/5
AtDPP4f_hepat_3(0)        = AtDPP4*fDPP4_liver/5
AtDPP4f_hepat_4(0)        = AtDPP4*fDPP4_liver/5
AtDPP4f_hepat_5(0)        = AtDPP4*fDPP4_liver/5
AtDPP4f_kidneyVessel(0)   = AtDPP4*fDPP4_kidney*(1-flumen_kidney)
AtDPP4f_kidneytubule(0)   = AtDPP4*fDPP4_kidney*(flumen_kidney)
AtDPP4f_spleen(0)         = AtDPP4*fDPP4_spleen
AtDPP4f_salivarygland(0)  = AtDPP4*fDPP4_saliva
AtDPP4f_thymus(0)         = AtDPP4*fDPP4_thymus
AtDPP4f_reproductiveorgans(0) = AtDPP4*fDPP4_reprod
```

```
AtDPP4_intestine          = AtDPP4*fDPP4_liver*rGL
AtDPP4f_intestinal_lumen(0) = AtDPP4_intestine*(flumen_gut)
AtDPP4f_mucosal_blood(0)   = AtDPP4_intestine*(1-
flumen_gut)*Vmucosal_blood/(Vmucosal_blood+Vserosa)
AtDPP4f_serosa(0)          = AtDPP4_intestine*(1-
flumen_gut)*Vserosa/(Vmucosal_blood+Vserosa)
})
```

```
Fixed_param_temporary <- function(){
```

```
  fixed_param <- c(
```

```
    Alpha=1,
```

```
    AR=1,
```

```
    Gammaent=1,
```

```
    rGL=0.291,
```

```
    kfeces=0.637,
```

```
    fsDPP4=0.001975627,
```

```
    ftDPP4=(1-0.001975627),
```

```

fDPP4_skin=0.040193860,
fDPP4_lung=0.016447626,
fDPP4_liver=0.183671181,
fDPP4_kidney=0.682043533,
fDPP4_spleen=0.004560798,
fDPP4_saliva=0.001410761,
fDPP4_thymus=0.001276369,
fDPP4_reprod=0.014971930,
Kph.vivo=12.94390
)
return(fixed_param)
}

Estimated_param <- function(x){
c(
  CLinth           = 10**x[1],
  CLsecint         = 10**x[2],
  CLreabDPP4      = 10**x[3],
  ADPP4           = 10**x[4],
  fbile           = expit(x[5]),

  koff            = 10**x[6],
  Kd              = 10**x[7],
  flumen_kidney  = expit(x[8]),
  flumen_gut     = expit(x[9]),
  Kprep.vivo     = 10**x[10],

  Kpsal.vivo     = 10**x[11],
  Kprem.vivo     = 10**x[12],
  kbile          = 10**x[13],
  VmaxPgp        = 10**x[14],
  LR             = 99.9*expit(x[15])+0.01,

  PSdifentBE     = 10**x[16]
)
}

```

```

modeldef.theta <- function(x){
  c(Estimated_param(x),
    Fixed_param_temporary()
  )
}

```

```

model_function=function(x){

  thetaW <- c(isAccepted=NA,
             cluster=NA,
             SSR=NA,
             modeldef.theta(x),
             param_lina)

  thetaD <- thetaW
  thetaD["AsDPP4"] <-0
  thetaD["AtDPP4_muscle"] <-0
  thetaD["AtDPP4_skin"] <-0
  thetaD["AtDPP4_adipose"] <-0
  thetaD["AtDPP4_liver"] <-0
  thetaD["AtDPP4_spleen"] <-0
  thetaD["AtDPP4_lung"] <-0
  thetaD["AtDPP4_reproductiveorgans"] <-0
  thetaD["AtDPP4_thymus"] <-0
  thetaD["AtDPP4_salivarygland"] <-0
  thetaD["AtDPP4_kidney"] <-0
  thetaD["AtDPP4_mucosal_blood"] <-0
  thetaD["AtDPP4_intestinal_lumen"] <-0

  # Perform Simulations
  odeSolW=model$solve(thetaW, ev)
  odeSolD=model$solve(thetaD, ev)
}

```

```

# Aggregate Simulation Result
c(
  # Set3
  log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(9), 'Xfeces']),
  log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(9), 'Xurine']),

  # Retlich et al
  log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(11:17), 'Plasma']),
  log10(odeSolD[odeSolD[, 'id'] %in% c(18:23), 'Plasma']),

  # Penalized Parameters
  log10(unnamed(thetaW['Kd'])),
  log10(unnamed(thetaW['ADPP4'])*unnamed(Fixed_param_temporary()['fsDPP4'])),
  log10(unnamed(thetaW['koff'])),

  log10(unnamed(thetaW['CLinth'])), # CLinth
  log10(unnamed(thetaW['CLsecint'])), # CLsecint
  log10(unnamed(thetaW['kbile'])), # kbile
  log10(unnamed(thetaW['Kprep.vivo'])), # Kprep.vivo
  log10(unnamed(thetaW['Kpsal.vivo'])), # Kpsal.vivo
  log10(unnamed(thetaW['Kprem.vivo'])) # Kprem.vivo
)
}

n_fold <- 1000

initial_value <- tribble(
  ~Parameter,          ~lower,          ~upper,

  'CLinth',            0.4253250/10,    0.4253250*10,
  'CLsecint',          0.09301730/10,  0.09301730*10,
  'CLreabDPP4',        0.00005929/n_fold, 0.00005929*n_fold,
  'ADPP4',             23.9/10,         23.9*10,
  'fbile',             10**logit(0.5),  10**logit(0.95),

  'koff',              0.18410/10,     0.18410*10,

```



```

'Kd',                0.04274/10,      0.04274*10,
'flumen_kidney',    10**logit(0.05),  10**logit(0.95),
'flumen_gut',       10**logit(0.05),  10**logit(0.95),
'Kprep.vivo',       2.375267/10,      2.375267*10,

'Kpsal.vivo',       1.755423/10,      1.755423*10,
'Kprem.vivo',       3.445471/10,      3.445471*10,
'kbile',            0.01370795/n_fold, 0.01370795*n_fold,
'VmaxPgp',          1000/n_fold,      1000*n_fold,
'LR',               10**logit((0.05-0.01)/99.9), 10**logit((95-0.01)/99.9),

'PSdifentBE',      0.00827/20,       0.00827*20,
)

if (!identical(initial_value$Parameter, names(Estimated_param(0)))) {
  stop('Names of initial values and Estimated parameters are not same')
}

observation = c(
  # Set3 (excretion)
  log10(data01 %>% filter(Seq1=='Set3' & Seq2=='Feces') %>%
pull(cumValue)/100*2116.22*2*0.25),
  log10(data01 %>% filter(Seq1=='Set3' & Seq2=='Urine') %>%
pull(cumValue)/100*2116.22*2*0.25),

  # Retlich et al
  log10(data02 %>% filter(Seq3=='Wild type') %>% arrange(Dose, Time) %>%
pull(Value)),
  log10(data02 %>% filter(Seq3=='DPP-4 def.') %>% arrange(Dose, Time) %>%
pull(Value)),

  # Penalized Parameters
  log10(0.04273504),
  log10(0.06837277),
  log10(0.1836),

  log10(0.4253250), # CLinth

```

```

log10(0.09710178), # CLsecint
log10(0.01370795), # kbile
log10(2.375267), # Kprep.vivo
log10(1.755423), # Kpsal.vivo
log10(3.445471) # Kprem.vivo
)

t<-proc.time()
CGNM_result = Cluster_Gauss_Newton_method(nonlinearFunction=model_function,
                                           targetVector = observation,
                                           initial_lowerRange =
log10(initial_value$lower),
                                           initial_upperRange =
log10(initial_value$upper),
                                           num_iter = 50, num_minimizersToFind =
1000,
                                           ParameterNames =
names(Estimated_param(0)),
                                           saveLog = T)
save(CGNM_result, file="CGNM_result.Rdata")
elapsed <- proc.time()-t

print(elapsed)

```

Supplementary Program 3. R program for the PBPK-CGNM analysis of human clinical trial data.

```
library(rxode2)
library(CGNM)
library(openxlsx)
library(dplyr)
library(parallel)

load('paramdata_rat.rdata')
paramSrc_lina <-
  paramdata_rat %>%
  filter(!is.na(Value)) %>%
  # Adrenal, Heart, Bone, muscle and adipose volumes are aggregated in Remainder.
  mutate(
    Value = ifelse(
      Parameter == 'Vrem',
      filter(., Parameter == 'Vrem') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Vadr') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Vhrt') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Vbon') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Vm') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Va') %>% pull(Value),
      Value
    )
  ) %>%
  # Adrenal, Heart, Bone, muscle and adipose volumes are aggregated in Remainder.
  mutate(
    Value = ifelse(
      Parameter == 'Qrem',
      filter(., Parameter == 'Qrem') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Qadr') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Qhrt') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Qbon') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Qm') %>% pull(Value) +
        filter(., Parameter == 'Qa') %>% pull(Value),
      Value
    )
  )
```

```

)
)%>%
filter(!Parameter %in% c(
  'Vadr',
  'Vhrt',
  'Vbon',
  'Vm',
  'Va',
  'Qadr',
  'Qhrt',
  'Qbon',
  'Qm',
  'Qa'
))
param_lina <- paramSrc_lina$Value
names(param_lina) <- paramSrc_lina$Parameter

```

```

load('Ingdata_rat.rdata')
data01 <- Ingdata_rat %>%
  filter(
    (
      Seq1 == 'Set1' &
      Seq2 %in% c(
        'Blood',
        'Kidney',
        'Liver',
        'Lung',
        'Pancreas',
        'Reproductive organs',
        'Salivary gland',
        'Skin',
        'Spleen',
        'Thymus')
    ) |
    (
      Seq1 == 'Set2' &

```

```

      Seq2 %in% c(
        'Kidney',
        'Liver',
        'Lung',
        'Skin',
        'Spleen',
        'Subm.gland',
        'Thymus')
    ) |
  (
    Seq1 == 'Set3' &
    Seq2 %in% c(
      'Feces',
      'Urine') &
    Time <= 24*3
  )
) %>%
arrange(Seq3, Seq1, Seq2, Time) %>%
group_by(Seq3, Seq1, Seq2) %>%
mutate(cumValue = ifelse(
  Seq1 == 'Set3' &
  Seq2 %in% c('Feces', 'Urine'),
  cumsum(Value),
  Value
))

data02 <- lngdata_rat %>%
  filter(Seq1=='Retlich')

# EventTable Definition
BW = 0.250 # body weight of rat (Kg)

# Set3 (excretion)
ev_Set3_excr <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=c(0:2*24), amt=2116.22*2*BW, cmt="Aintestinal_lumen") %>%
  et(filter(data01, Seq1=='Set3' & Seq2=='Urine' & Time<=24*3)$Time) %>%

```

```

et(id=9)

# Retlich
ev0.01_wt_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*0.01*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data02, Seq3=='Wild type' & Dose==0.01)$Time) %>%
  et(id=11)

ev0.1_wt_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*0.1*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data02, Seq3=='Wild type' & Dose==0.1)$Time) %>%
  et(id=12)

ev0.3_wt_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*0.3*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data02, Seq3=='Wild type' & Dose==0.3)$Time) %>%
  et(id=13)

ev1_wt_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*1*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data02, Seq3=='Wild type' & Dose==1)$Time) %>%
  et(id=14)

ev3_wt_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*3*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data02, Seq3=='Wild type' & Dose==3)$Time) %>%
  et(id=15)

ev10_wt_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*10*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data02, Seq3=='Wild type' & Dose==10)$Time) %>%
  et(id=16)

ev50_wt_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*50*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data02, Seq3=='Wild type' & Dose==50)$Time) %>%
  et(id=17)

```

```
ev0.1_def_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*0.1*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data02, Seq3=='DPP-4 def.' & Dose==0.1)$Time) %>%
  et(id=18)
```

```
ev0.3_def_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*0.3*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data02, Seq3=='DPP-4 def.' & Dose==0.3)$Time) %>%
  et(id=19)
```

```
ev1.0_def_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*1.0*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data02, Seq3=='DPP-4 def.' & Dose==1.0)$Time) %>%
  et(id=20)
```

```
ev3.0_def_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*3.0*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data02, Seq3=='DPP-4 def.' & Dose==3.0)$Time) %>%
  et(id=21)
```

```
ev10_def_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*10.0*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data02, Seq3=='DPP-4 def.' & Dose==10.0)$Time) %>%
  et(id=22)
```

```
ev50_def_plsm <- et(amount.units="nmol", time.units="hours") %>%
  et(time=0, amt=2116.22*50.0*BW, cmt="ABlood") %>%
  et(filter(data02, Seq3=='DPP-4 def.' & Dose==50.0)$Time) %>%
  et(id=23)
```

```
ev <- rbind(
  ev_Set3_excr,
  ev0.01_wt_plsm,
  ev0.1_wt_plsm,
  ev0.3_wt_plsm,
  ev1_wt_plsm,
```

```

ev3_wt_plsm,
ev10_wt_plsm,
ev50_wt_plsm,
ev0.1_def_plsm,
ev0.3_def_plsm,
ev1.0_def_plsm,
ev3.0_def_plsm,
ev10_def_plsm,
ev50_def_plsm
)

```

```

model <- rxode2({

```

```

# For Simulation

```

```

SSR = SSR

```

```

cluster = cluster

```

```

isAccepted = isAccepted

```

```

VBlood = VBlood

```

```

Vh_i = Vh/5          # Vh : Total volume of liver

```

```

Veh_i = Veh/5       # Veh: Extra hepatic (Disse + Interstitial) volume

```

```

CLinth_i = CLinth/5 # CLinth : Hepatic intrinsic clearance

```

```

# Capillary Vessel Volume

```

```

Vkvesv = Vkves*fVkvesv    # Kidney

```

```

Vsv = Vs*fVsv            # Skin

```

```

Vlv = V1*fVlv            # Lung

```

```

Vpanv = Vpan*fVpanv      # pancreas

```

```

Vsplv = Vspl*fVsplv     # spleen

```

```

Vrepv = Vrep*fVrepv     # reproductiveorgans

```

```

Vthyv = Vthy*fVthyv     # thymus

```

```

Vsalv = Vsal*fVsalv     # salivarygland

```

```

Vremv = Vrem*fVremv     # remainder

```

```

Vserosav = Vserosa*fVserosav # serosa

```


DPP-4 binding

$kon = koff/Kd$

Tissue to Plasma concentration ratio (Kp)

$SFKp = 1$

$Kpk = Kpk_calc * SFKp$ # Kidney

$Kphrt = Kphrt_calc * SFKp$ # Heart

$Kpspl = Kpspl_calc * SFKp$ # Spleen

$Kpm = Kpm_calc * SFKp$ # Muscle

$Kps = Kps_calc * SFKp$ # Skin

$Kpa = Kpa_calc * SFKp$ # Adipose

$Kpl = Kpl_calc * SFKp$ # Lung

$Kpthy = Kpthy_calc * SFKp$ # Thymus

$Kppan = Kppan_calc * SFKp$ # Pancreas

$Kpgut = Kpgut_calc * SFKp$ # Intestine

$Kprep = Kprep.vivo * SFKp$ # Reproductive Organ

$Kprem = Kprem.vivo * SFKp$ # Remainder (Rest of Body)

$Kph = Kph.vivo * SFKp$ # Liver

Concentration for each organ

$Blood = (ABlood + AsDPP4c_blood) / VBlood$

$Plasma = (ABlood / VBlood / RB) + (AsDPP4c_blood / Vplasma)$

$Liver = (Aliver_1 + Aliver_2 + Aliver_3 + Aliver_4 + Aliver_5 +$

$AsDPP4c_hepat_1 + AsDPP4c_hepat_2 + AsDPP4c_hepat_3 + AsDPP4c_hepat_4 + AsDPP4c_hepat_5 +$

$AtDPP4c_hepat_1 + AtDPP4c_hepat_2 + AtDPP4c_hepat_3 + AtDPP4c_hepat_4 + AtDPP4c_hepat_5$

$) / Vh$

$Pancreas = (Apancreas + AsDPP4c_pancreas) / Vpan$

$Spleen = (Aspleen + AsDPP4c_spleen + AtDPP4c_spleen) / Vspl$

$Lung = (Alung + AsDPP4c_lung + AtDPP4c_lung) / Vl$

Reproductiveorgans =
 (Areproductiveorgans+AsDPP4c_reproductiveorgans+AtDPP4c_reproductiveorgans)/V
 rep
 Thymus = (Athymus+AsDPP4c_thymus+AtDPP4c_thymus)/Vthy
 Skin = (Askin+AsDPP4c_skin+AtDPP4c_skin)/Vs
 Salivarygland =
 (Asalivarygland+AsDPP4c_salivarygland+AtDPP4c_salivarygland)/Vsal
 Kidney =
 (Akves+AsDPP4c_kidneyVessel+AtDPP4c_kidneyVessel+Aktubule+AtDPP4c_kidney
 tubule)/(Vkves+Vktubule)

#####

Differential equation

#####

EHC

d/dt(Aehc) = +CLinth_i*fbile*Aliver_1/Vh_i/Kph*fupAlb
 +CLinth_i*fbile*Aliver_2/Vh_i/Kph*fupAlb
 +CLinth_i*fbile*Aliver_3/Vh_i/Kph*fupAlb
 +CLinth_i*fbile*Aliver_4/Vh_i/Kph*fupAlb
 +CLinth_i*fbile*Aliver_5/Vh_i/Kph*fupAlb
 -kbile*Aehc

Serosa

d/dt(Aserosa) = -kon*AsDPP4f_serosa*Aserosa/Vserosa/Kpgut*fupAlb
 +koff*AsDPP4c_serosa

-kon*AtDPP4f_serosa*Aserosa/Vserosa/Kpgut*fupAlb
 +koff*AtDPP4c_serosa

+Qserosa*Alung/Vl/Kpl*RB
 -Qserosa*Aserosa/Vserosa/Kpgut*RB

d/dt(AsDPP4c_serosa) = +kon*AsDPP4f_serosa*Aserosa/Vserosa/Kpgut*fupAlb
 -koff*AsDPP4c_serosa

d/dt(AsDPP4f_serosa) = -kon*AsDPP4f_serosa*Aserosa/Vserosa/Kpgut*fupAlb

+koff*AsDPP4c_serosa

d/dt(AtDPP4c_serosa) = +kon*AtDPP4f_serosa*Aserosa/Vserosa/Kpgut*fupAlb
-koff*AtDPP4c_serosa

d/dt(AtDPP4f_serosa) = -kon*AtDPP4f_serosa*Aserosa/Vserosa/Kpgut*fupAlb
+koff*AtDPP4c_serosa

Mucosal Blood

d/dt(Amucosal_blood) = -

kon*AsDPP4f_mucosal_blood*Amucosal_blood/Vmucosal_blood/RB*fupAlb
+koff*AsDPP4c_mucosal_blood

-kon*AtDPP4f_mucosal_blood*Amucosal_blood/Vmucosal_blood/RB*fupAlb
+koff*AtDPP4c_mucosal_blood

+Qmucosal*Alung/VI/Kpl*RB

-Qmucosal*Amucosal_blood/Vmucosal_blood

+fgut*(PSdifentBE/Gammaent)*Aenterocyte/Venterocyte

-(fupAlb/RB)*PSdifentBE*Amucosal_blood/Vmucosal_blood

d/dt(AsDPP4c_mucosal_blood) =

+kon*AsDPP4f_mucosal_blood*Amucosal_blood/Vmucosal_blood/RB*fupAlb
-koff*AsDPP4c_mucosal_blood

d/dt(AsDPP4f_mucosal_blood) = -

kon*AsDPP4f_mucosal_blood*Amucosal_blood/Vmucosal_blood/RB*fupAlb
+koff*AsDPP4c_mucosal_blood

d/dt(AtDPP4c_mucosal_blood) =

+kon*AtDPP4f_mucosal_blood*Amucosal_blood/Vmucosal_blood/RB*fupAlb
-koff*AtDPP4c_mucosal_blood

d/dt(AtDPP4f_mucosal_blood) = -

kon*AtDPP4f_mucosal_blood*Amucosal_blood/Vmucosal_blood/RB*fupAlb
+koff*AtDPP4c_mucosal_blood

Enterocyte

$$\begin{aligned}d/dt(\text{Aenterocyte}) = & -\text{fgut} * (\text{PSdifentBE} / \text{Gammaent}) * \text{Aenterocyte} / \text{Venterocyte} \\ & + (\text{fupAlb} / \text{RB}) * \text{PSdifentBE} * \text{Amucosal_blood} / \text{Vmucosal_blood} \\ & + \text{LR} * \text{PSdifentBE} * \text{Aintestinal_lumen} / \text{Vintestinal_lumen} \\ & - \text{fgut} * \text{VmaxPgp} / (\text{KmPgp} + \text{fgut} * \text{Aenterocyte} / \text{Venterocyte}) * \text{Aenterocyte} / \text{Venterocyte} \\ & - \text{fgut} * \text{AR} * (\text{PSdifentBE} / \text{Gammaent}) * \text{Aenterocyte} / \text{Venterocyte}\end{aligned}$$

Intestinal Lumen

$$\begin{aligned}d/dt(\text{Aintestinal_lumen}) = & - \\ & \text{kon} * \text{AtDPP4f_intestinal_lumen} * \text{Aintestinal_lumen} / \text{Vintestinal_lumen} \\ & + \text{koff} * \text{AtDPP4c_intestinal_lumen} \\ & + \text{kbile} * \text{Aehc} \\ & - \text{Alpha} * \text{kfeces} * \text{Aintestinal_lumen} \\ & - \text{LR} * \text{PSdifentBE} * \text{Aintestinal_lumen} / \text{Vintestinal_lumen} \\ & + \text{fgut} * \text{VmaxPgp} / (\text{KmPgp} + \text{fgut} * \text{Aenterocyte} / \text{Venterocyte}) * \text{Aenterocyte} / \text{Venterocyte} \\ & + \text{fgut} * \text{AR} * (\text{PSdifentBE} / \text{Gammaent}) * \text{Aenterocyte} / \text{Venterocyte}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}d/dt(\text{AtDPP4c_intestinal_lumen}) = & \\ & + \text{kon} * \text{AtDPP4f_intestinal_lumen} * \text{Aintestinal_lumen} / \text{Vintestinal_lumen} \\ & - \text{koff} * \text{AtDPP4c_intestinal_lumen}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}d/dt(\text{AtDPP4f_intestinal_lumen}) = & - \\ & \text{kon} * \text{AtDPP4f_intestinal_lumen} * \text{Aintestinal_lumen} / \text{Vintestinal_lumen} \\ & + \text{koff} * \text{AtDPP4c_intestinal_lumen}\end{aligned}$$

Systemic Blood

$$\begin{aligned}d/dt(\text{ABlood}) = & -\text{kon} * \text{AsDPP4f_blood} * \text{ABlood} / \text{VBlood} / \text{RB} * \text{fupAlb} \\ & + \text{koff} * \text{AsDPP4c_blood}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}& -\text{kon} * \text{AtDPP4f_blood} * \text{ABlood} / \text{VBlood} / \text{RB} * \text{fupAlb} \\ & + \text{koff} * \text{AtDPP4c_blood}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}& + \text{Qh} * \text{Aliver_5} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{RB} \\ & + \text{Qrep} * \text{Areproductiveorgans} / \text{Vrep} / \text{Kprep} * \text{RB} \\ & + \text{Qthy} * \text{Athymus} / \text{Vthy} / \text{Kpthy} * \text{RB} \\ & + \text{Qsal} * \text{Asalivarygland} / \text{Vsal} / \text{Kpsal.vivo} * \text{RB}\end{aligned}$$

$+Q_s * A_{skin} / V_s / K_{ps} * RB$
 $+Q_{rem} * A_{remainder} / V_{rem} / K_{prem} * RB$
 $+(Q_k - Q_u) * A_{kves} / V_{kves} / K_{pk} * RB$
 $-Q_l * A_{blood} / V_{blood}$

$d/dt(A_{sDPP4c_blood}) = +k_{on} * A_{sDPP4f_blood} * A_{blood} / V_{blood} / RB * f_{upAlb}$
 $-k_{off} * A_{sDPP4c_blood}$

$d/dt(A_{sDPP4f_blood}) = -k_{on} * A_{sDPP4f_blood} * A_{blood} / V_{blood} / RB * f_{upAlb}$
 $+k_{off} * A_{sDPP4c_blood}$

$d/dt(A_{tDPP4c_blood}) = +k_{on} * A_{tDPP4f_blood} * A_{blood} / V_{blood} / RB * f_{upAlb}$
 $-k_{off} * A_{tDPP4c_blood}$

$d/dt(A_{tDPP4f_blood}) = -k_{on} * A_{tDPP4f_blood} * A_{blood} / V_{blood} / RB * f_{upAlb}$
 $+k_{off} * A_{tDPP4c_blood}$

Lung

$d/dt(A_{lung}) = -k_{on} * A_{sDPP4f_lung} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * f_{upAlb}$
 $+k_{off} * A_{sDPP4c_lung}$

$-k_{on} * A_{tDPP4f_lung} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * f_{upAlb}$
 $+k_{off} * A_{tDPP4c_lung}$

$+Q_l * A_{blood} / V_{blood}$
 $-Q_{serosa} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-Q_{mucosal} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-Q_{ha_proper} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-Q_{pan} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-Q_{spl} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-Q_{rep} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-Q_{thy} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-Q_{sal} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-Q_s * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-Q_{rem} * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-(Q_k - GFR) * A_{lung} / V_l / K_{pl} * RB$
 $-GFR * A_{lung} / V_l / K_{pl} * f_{upAlb}$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4c_lung}) = & +\text{kon} * \text{AsDPP4f_lung} * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{fupAlb} \\ & -\text{koff} * \text{AsDPP4c_lung} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_lung}) = & -\text{kon} * \text{AsDPP4f_lung} * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{fupAlb} \\ & +\text{koff} * \text{AsDPP4c_lung} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_lung}) = & +\text{kon} * \text{AtDPP4f_lung} * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{fupAlb} \\ & -\text{koff} * \text{AtDPP4c_lung} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_lung}) = & -\text{kon} * \text{AtDPP4f_lung} * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{fupAlb} \\ & +\text{koff} * \text{AtDPP4c_lung} \end{aligned}$$

Liver 1

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Aliver_1}) = & -\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat_1} * \text{Aliver_1} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ & +\text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat_1} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & -\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat_1} * \text{Aliver_1} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ & +\text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat_1} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} & +\text{Qha_proper} * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{RB} \\ & +\text{Qpan} * \text{Apancreas} / \text{Vpan} / \text{Kppan} * \text{RB} \\ & +\text{Qspl} * \text{Aspleen} / \text{Vspl} / \text{Kpspl} * \text{RB} \\ & +\text{Qserosa} * \text{Aserosa} / \text{Vserosa} / \text{Kpgut} * \text{RB} \\ & +\text{Qmucosal} * \text{Amucosal_blood} / \text{Vmucosal_blood} \\ & -\text{Qh} * \text{Aliver_1} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{RB} \\ & -\text{CLinth_i} * \text{Aliver_1} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4c_hepat_1}) = & +\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat_1} * \text{Aliver_1} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ & -\text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat_1} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_hepat_1}) = & -\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat_1} * \text{Aliver_1} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ & +\text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat_1} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_hepat_1}) = & +\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat_1} * \text{Aliver_1} / \text{Vh_i} / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ & -\text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat_1} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}d/dt(\text{AtDPP4f_hepat_1}) &= -\text{kon}*\text{AtDPP4f_hepat_1}*\text{Aliver_1}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &+ \text{koff}*\text{AtDPP4c_hepat_1}\end{aligned}$$

Liver 2

$$\begin{aligned}d/dt(\text{Aliver_2}) &= -\text{kon}*\text{AsDPP4f_hepat_2}*\text{Aliver_2}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &+ \text{koff}*\text{AsDPP4c_hepat_2}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}-\text{kon}*\text{AtDPP4f_hepat_2}*\text{Aliver_2}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ + \text{koff}*\text{AtDPP4c_hepat_2}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}+ \text{Qh}*\text{Aliver_1}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*RB \\ - \text{Qh}*\text{Aliver_2}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*RB \\ - \text{CLinh_i}*\text{Aliver_2}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}d/dt(\text{AsDPP4c_hepat_2}) &= +\text{kon}*\text{AsDPP4f_hepat_2}*\text{Aliver_2}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &- \text{koff}*\text{AsDPP4c_hepat_2}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}d/dt(\text{AsDPP4f_hepat_2}) &= -\text{kon}*\text{AsDPP4f_hepat_2}*\text{Aliver_2}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &+ \text{koff}*\text{AsDPP4c_hepat_2}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}d/dt(\text{AtDPP4c_hepat_2}) &= +\text{kon}*\text{AtDPP4f_hepat_2}*\text{Aliver_2}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &- \text{koff}*\text{AtDPP4c_hepat_2}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}d/dt(\text{AtDPP4f_hepat_2}) &= -\text{kon}*\text{AtDPP4f_hepat_2}*\text{Aliver_2}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &+ \text{koff}*\text{AtDPP4c_hepat_2}\end{aligned}$$

Liver 3

$$\begin{aligned}d/dt(\text{Aliver_3}) &= -\text{kon}*\text{AsDPP4f_hepat_3}*\text{Aliver_3}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &+ \text{koff}*\text{AsDPP4c_hepat_3}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}-\text{kon}*\text{AtDPP4f_hepat_3}*\text{Aliver_3}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ + \text{koff}*\text{AtDPP4c_hepat_3}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}+ \text{Qh}*\text{Aliver_2}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*RB \\ - \text{Qh}*\text{Aliver_3}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*RB \\ - \text{CLinh_i}*\text{Aliver_3}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb\end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4c_hepat_3}) &= +\text{kon}*\text{AsDPP4f_hepat_3}*\text{Aliver_3}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &-koff*\text{AsDPP4c_hepat_3} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_hepat_3}) &= -\text{kon}*\text{AsDPP4f_hepat_3}*\text{Aliver_3}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &+koff*\text{AsDPP4c_hepat_3} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_hepat_3}) &= +\text{kon}*\text{AtDPP4f_hepat_3}*\text{Aliver_3}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &-koff*\text{AtDPP4c_hepat_3} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_hepat_3}) &= -\text{kon}*\text{AtDPP4f_hepat_3}*\text{Aliver_3}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &+koff*\text{AtDPP4c_hepat_3} \end{aligned}$$

Liver 4

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Aliver_4}) &= -\text{kon}*\text{AsDPP4f_hepat_4}*\text{Aliver_4}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &+koff*\text{AsDPP4c_hepat_4} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &-\text{kon}*\text{AtDPP4f_hepat_4}*\text{Aliver_4}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &+koff*\text{AtDPP4c_hepat_4} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &+Qh*\text{Aliver_3}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*RB \\ &-Qh*\text{Aliver_4}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*RB \\ &-CL_{inh_i}*\text{Aliver_4}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4c_hepat_4}) &= +\text{kon}*\text{AsDPP4f_hepat_4}*\text{Aliver_4}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &-koff*\text{AsDPP4c_hepat_4} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_hepat_4}) &= -\text{kon}*\text{AsDPP4f_hepat_4}*\text{Aliver_4}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &+koff*\text{AsDPP4c_hepat_4} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_hepat_4}) &= +\text{kon}*\text{AtDPP4f_hepat_4}*\text{Aliver_4}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &-koff*\text{AtDPP4c_hepat_4} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_hepat_4}) &= -\text{kon}*\text{AtDPP4f_hepat_4}*\text{Aliver_4}/\text{Vh_i}/\text{Kph}*fupAlb \\ &+koff*\text{AtDPP4c_hepat_4} \end{aligned}$$

Liver 5

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Aliver}_5) &= -\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat}_5 * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat}_5 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &-\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat}_5 * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat}_5 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &+ \text{Qh} * \text{Aliver}_4 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{RB} \\ &- \text{Qh} * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{RB} \\ &- \text{CLinh}_i * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4c_hepat}_5) &= +\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat}_5 * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &- \text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat}_5 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_hepat}_5) &= -\text{kon} * \text{AsDPP4f_hepat}_5 * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_hepat}_5 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_hepat}_5) &= +\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat}_5 * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &- \text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat}_5 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_hepat}_5) &= -\text{kon} * \text{AtDPP4f_hepat}_5 * \text{Aliver}_5 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_hepat}_5 \end{aligned}$$

Reproductive organs

$$d/dt(\text{Areproductiveorgans}) = -$$

$$\begin{aligned} &\text{kon} * \text{AsDPP4f_reproductiveorgans} * \text{Areproductiveorgans} / \text{Vrep} / \text{Kprep} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_reproductiveorgans} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &-\text{kon} * \text{AtDPP4f_reproductiveorgans} * \text{Areproductiveorgans} / \text{Vrep} / \text{Kprep} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_reproductiveorgans} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &+ \text{Qrep} * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{RB} \\ &- \text{Qrep} * \text{Areproductiveorgans} / \text{Vrep} / \text{Kprep} * \text{RB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4c_reproductiveorgans}) &= \\ &+ \text{kon} * \text{AsDPP4f_reproductiveorgans} * \text{Areproductiveorgans} / \text{Vrep} / \text{Kprep} * \text{fupAlb} \\ &- \text{koff} * \text{AsDPP4c_reproductiveorgans} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_reproductiveorgans}) &= - \\ &\text{kon*AsDPP4f_reproductiveorgans*Areproductiveorgans/Vrep/Kprep*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AsDPP4c_reproductiveorgans} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_reproductiveorgans}) &= \\ &+ \text{kon*AtDPP4f_reproductiveorgans*Areproductiveorgans/Vrep/Kprep*fupAlb} \\ &- \text{koff*AtDPP4c_reproductiveorgans} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_reproductiveorgans}) &= - \\ &\text{kon*AtDPP4f_reproductiveorgans*Areproductiveorgans/Vrep/Kprep*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AtDPP4c_reproductiveorgans} \end{aligned}$$

Thymus

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Athymus}) &= -\text{kon*AsDPP4f_thymus*Athymus/Vthy/Kpthy*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AsDPP4c_thymus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &-\text{kon*AtDPP4f_thymus*Athymus/Vthy/Kpthy*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AtDPP4c_thymus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &+ \text{Qthy*Alung/VI/Kpl*RB} \\ &- \text{Qthy*Athymus/Vthy/Kpthy*RB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4c_thymus}) &= +\text{kon*AsDPP4f_thymus*Athymus/Vthy/Kpthy*fupAlb} \\ &- \text{koff*AsDPP4c_thymus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_thymus}) &= -\text{kon*AsDPP4f_thymus*Athymus/Vthy/Kpthy*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AsDPP4c_thymus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_thymus}) &= +\text{kon*AtDPP4f_thymus*Athymus/Vthy/Kpthy*fupAlb} \\ &- \text{koff*AtDPP4c_thymus} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_thymus}) &= -\text{kon*AtDPP4f_thymus*Athymus/Vthy/Kpthy*fupAlb} \\ &+ \text{koff*AtDPP4c_thymus} \end{aligned}$$

Salivary gland

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Asalivarygland}) &= - \\ &\text{kon*AsDPP4f_salivarygland*Asalivarygland/Vsal/Kpsal.vivo*fupAlb} \end{aligned}$$

+koff*AsDPP4c_salivarygland

-kon*AtDPP4f_salivarygland*Asalivarygland/Vsal/Kpsal.vivo*fupAlb
+koff*AtDPP4c_salivarygland

+Qsal*Alung/VI/Kpl*RB
-Qsal*Asalivarygland/Vsal/Kpsal.vivo*RB

d/dt(AsDPP4c_salivarygland) =
+kon*AsDPP4f_salivarygland*Asalivarygland/Vsal/Kpsal.vivo*fupAlb
-koff*AsDPP4c_salivarygland

d/dt(AsDPP4f_salivarygland) = -
kon*AsDPP4f_salivarygland*Asalivarygland/Vsal/Kpsal.vivo*fupAlb
+koff*AsDPP4c_salivarygland

d/dt(AtDPP4c_salivarygland) =
+kon*AtDPP4f_salivarygland*Asalivarygland/Vsal/Kpsal.vivo*fupAlb
-koff*AtDPP4c_salivarygland

d/dt(AtDPP4f_salivarygland) = -
kon*AtDPP4f_salivarygland*Asalivarygland/Vsal/Kpsal.vivo*fupAlb
+koff*AtDPP4c_salivarygland

Pancreas

d/dt(Apancreas) = -kon*AsDPP4f_pancreas*Apancreas/Vpan/Kppan*fupAlb
+koff*AsDPP4c_pancreas

+Qpan*Alung/VI/Kpl*RB
-Qpan*Apancreas/Vpan/Kppan*RB

d/dt(AsDPP4c_pancreas) =
+kon*AsDPP4f_pancreas*Apancreas/Vpan/Kppan*fupAlb
-koff*AsDPP4c_pancreas

d/dt(AsDPP4f_pancreas) = -
kon*AsDPP4f_pancreas*Apancreas/Vpan/Kppan*fupAlb

+koff*AsDPP4c_pancreas

$d/dt(\text{Aspleen}) = -\text{kon} * \text{AsDPP4f_spleen} * \text{Aspleen} / \text{Vspl} / \text{Kpspl} * \text{fupAlb}$
+koff*AsDPP4c_spleen

-kon*AtDPP4f_spleen*Aspleen/Vspl/Kpspl*fupAlb
+koff*AtDPP4c_spleen

+Qspl*Alung/Vl/Kpl*RB
-Qspl*Aspleen/Vspl/Kpspl*RB

$d/dt(\text{AsDPP4c_spleen}) = +\text{kon} * \text{AsDPP4f_spleen} * \text{Aspleen} / \text{Vspl} / \text{Kpspl} * \text{fupAlb}$
-koff*AsDPP4c_spleen

$d/dt(\text{AsDPP4f_spleen}) = -\text{kon} * \text{AsDPP4f_spleen} * \text{Aspleen} / \text{Vspl} / \text{Kpspl} * \text{fupAlb}$
+koff*AsDPP4c_spleen

$d/dt(\text{AtDPP4c_spleen}) = +\text{kon} * \text{AtDPP4f_spleen} * \text{Aspleen} / \text{Vspl} / \text{Kpspl} * \text{fupAlb}$
-koff*AtDPP4c_spleen

$d/dt(\text{AtDPP4f_spleen}) = -\text{kon} * \text{AtDPP4f_spleen} * \text{Aspleen} / \text{Vspl} / \text{Kpspl} * \text{fupAlb}$
+koff*AtDPP4c_spleen

Skin

$d/dt(\text{Askin}) = -\text{kon} * \text{AsDPP4f_skin} * \text{Askin} / \text{Vs} / \text{Kps} * \text{fupAlb}$
+koff*AsDPP4c_skin

-kon*AtDPP4f_skin*Askin/Vs/Kps*fupAlb
+koff*AtDPP4c_skin

+Qs*Alung/Vl/Kpl*RB
-Qs*Askin/Vs/Kps*RB

$d/dt(\text{AsDPP4c_skin}) = +\text{kon} * \text{AsDPP4f_skin} * \text{Askin} / \text{Vs} / \text{Kps} * \text{fupAlb}$
-koff*AsDPP4c_skin

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_skin}) &= -\text{kon} * \text{AsDPP4f_skin} * \text{Askin} / \text{Vs} / \text{Kps} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_skin} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_skin}) &= +\text{kon} * \text{AtDPP4f_skin} * \text{Askin} / \text{Vs} / \text{Kps} * \text{fupAlb} \\ &- \text{koff} * \text{AtDPP4c_skin} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_skin}) &= -\text{kon} * \text{AtDPP4f_skin} * \text{Askin} / \text{Vs} / \text{Kps} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_skin} \end{aligned}$$

Remainder

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Aremainder}) &= -\text{kon} * \text{AsDPP4f_remainder} * \text{Aremainder} / \text{Vrem} / \text{Kprem} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_remainder} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &+ \text{Qrem} * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{RB} \\ &- \text{Qrem} * \text{Aremainder} / \text{Vrem} / \text{Kprem} * \text{RB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4c_remainder}) &= \\ &+ \text{kon} * \text{AsDPP4f_remainder} * \text{Aremainder} / \text{Vrem} / \text{Kprem} * \text{fupAlb} \\ &- \text{koff} * \text{AsDPP4c_remainder} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_remainder}) &= - \\ &\text{kon} * \text{AsDPP4f_remainder} * \text{Aremainder} / \text{Vrem} / \text{Kprem} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_remainder} \end{aligned}$$

Kidney (Cell + Vessel)

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Akves}) &= -\text{kon} * \text{AsDPP4f_kidneyVessel} * \text{Akves} / \text{Vkves} / \text{Kpk} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AsDPP4c_kidneyVessel} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &- \text{kon} * \text{AtDPP4f_kidneyVessel} * \text{Akves} / \text{Vkves} / \text{Kpk} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{koff} * \text{AtDPP4c_kidneyVessel} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &+ (\text{Qk} - \text{GFR}) * \text{Alung} / \text{Vl} / \text{Kpl} * \text{RB} \\ &- (\text{Qk} - \text{Qu}) * \text{Akves} / \text{Vkves} / \text{Kpk} * \text{RB} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} &- \text{CLsecint} * \text{Akves} / \text{Vkves} / \text{Kpk} * \text{fupAlb} \\ &+ \text{CLreabDPP4} * \text{AtDPP4c_kidneytubule} / \text{Vktubule} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4c_kidneyVessel}) = & \\ +\text{kon} * \text{AsDPP4f_kidneyVessel} * \text{Akves} / \text{Vkves} / \text{Kpk} * \text{fupAlb} & \\ -\text{koff} * \text{AsDPP4c_kidneyVessel} & \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AsDPP4f_kidneyVessel}) = & - \\ \text{kon} * \text{AsDPP4f_kidneyVessel} * \text{Akves} / \text{Vkves} / \text{Kpk} * \text{fupAlb} & \\ +\text{koff} * \text{AsDPP4c_kidneyVessel} & \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_kidneyVessel}) = & \\ +\text{kon} * \text{AtDPP4f_kidneyVessel} * \text{Akves} / \text{Vkves} / \text{Kpk} * \text{fupAlb} & \\ -\text{koff} * \text{AtDPP4c_kidneyVessel} & \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_kidneyVessel}) = & - \\ \text{kon} * \text{AtDPP4f_kidneyVessel} * \text{Akves} / \text{Vkves} / \text{Kpk} * \text{fupAlb} & \\ +\text{koff} * \text{AtDPP4c_kidneyVessel} & \end{aligned}$$

Kidney (Tubule)

$$\begin{aligned} d/dt(\text{Aktubule}) = & -\text{kon} * \text{AtDPP4f_kidneytubule} * \text{Aktubule} / \text{Vktubule} \\ +\text{koff} * \text{AtDPP4c_kidneytubule} & \end{aligned}$$

+GFR*Alung/Vl/Kpl*fupAlb # GFRはミスじゃない

+CLsecint*Akves/Vkves/Kpk*fupAlb

-Qu*Aktubule/Vktubule

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4c_kidneytubule}) = & +\text{kon} * \text{AtDPP4f_kidneytubule} * \text{Aktubule} / \text{Vktubule} \\ -\text{koff} * \text{AtDPP4c_kidneytubule} & \end{aligned}$$

-CLreabDPP4*AtDPP4c_kidneytubule/Vktubule

$$\begin{aligned} d/dt(\text{AtDPP4f_kidneytubule}) = & -\text{kon} * \text{AtDPP4f_kidneytubule} * \text{Aktubule} / \text{Vktubule} \\ +\text{koff} * \text{AtDPP4c_kidneytubule} & \\ +\text{CLreabDPP4} * \text{AtDPP4c_kidneytubule} / \text{Vktubule} & \end{aligned}$$

$$d/dt(\text{Xmetab}) = +\text{CLinth}_i * (1 - \text{fbile}) * \text{Aliver}_1 / \text{Vh}_i / \text{Kph} * \text{fupAlb}$$

+CLinth_i*(1-fbile)*Aliver_2/Vh_i/Kph*fupAlb
 +CLinth_i*(1-fbile)*Aliver_3/Vh_i/Kph*fupAlb
 +CLinth_i*(1-fbile)*Aliver_4/Vh_i/Kph*fupAlb
 +CLinth_i*(1-fbile)*Aliver_5/Vh_i/Kph*fupAlb

d/dt(Xurine) = +Qu*Aktubule/Vktubule

d/dt(Xfeces) = +Alpha*kfeces*Aintestinal_lumen

#####

Allocating Amount of Soluble DPP-4

#####

AsDPP4 = ADPP4*fsDPP4

Vtotal = +VBlood+Veh+Vsv+Vlv+Vkvesv+Vsplv
 +Vsalv+Vthyv+Vrepv+Vpanv+Vremv
 +Vmucosal_blood+Vserosav

AsDPP4f_blood(0) = AsDPP4*VBlood/Vtotal
 AsDPP4f_hepat_1(0) = AsDPP4*Veh/Vtotal/5
 AsDPP4f_hepat_2(0) = AsDPP4*Veh/Vtotal/5
 AsDPP4f_hepat_3(0) = AsDPP4*Veh/Vtotal/5
 AsDPP4f_hepat_4(0) = AsDPP4*Veh/Vtotal/5
 AsDPP4f_hepat_5(0) = AsDPP4*Veh/Vtotal/5
 AsDPP4f_skin(0) = AsDPP4*Vsv/Vtotal
 AsDPP4f_lung(0) = AsDPP4*Vlv/Vtotal
 AsDPP4f_kidneyVessel(0) = AsDPP4*Vkvesv/Vtotal
 AsDPP4f_spleen(0) = AsDPP4*Vsplv/Vtotal
 AsDPP4f_salivarygland(0) = AsDPP4*Vsalv/Vtotal
 AsDPP4f_thymus(0) = AsDPP4*Vthyv/Vtotal
 AsDPP4f_reproductiveorgans(0) = AsDPP4*Vrepv/Vtotal
 AsDPP4f_pancreas(0) = AsDPP4*Vpanv/Vtotal
 AsDPP4f_remainder(0) = AsDPP4*Vremv/Vtotal
 AsDPP4f_mucosal_blood(0) = AsDPP4*Vmucosal_blood/Vtotal
 AsDPP4f_serosa(0) = AsDPP4*Vserosav/Vtotal

#####

Allocating Amount of Transmembrane DPP-4

```
#####
```

```
AtDPP4 = ADPP4*ftDPP4
```

```
AtDPP4f_skin(0)           = AtDPP4*fDPP4_skin
AtDPP4f_lung(0)           = AtDPP4*fDPP4_lung
AtDPP4f_blood(0)          = 0
AtDPP4f_hepat_1(0)        = AtDPP4*fDPP4_liver/5
AtDPP4f_hepat_2(0)        = AtDPP4*fDPP4_liver/5
AtDPP4f_hepat_3(0)        = AtDPP4*fDPP4_liver/5
AtDPP4f_hepat_4(0)        = AtDPP4*fDPP4_liver/5
AtDPP4f_hepat_5(0)        = AtDPP4*fDPP4_liver/5
AtDPP4f_kidneyVessel(0)    = AtDPP4*fDPP4_kidney*(1-flumen_kidney)
AtDPP4f_kidneytubule(0)   = AtDPP4*fDPP4_kidney*(flumen_kidney)
AtDPP4f_spleen(0)         = AtDPP4*fDPP4_spleen
AtDPP4f_salivarygland(0)  = AtDPP4*fDPP4_saliva
AtDPP4f_thymus(0)         = AtDPP4*fDPP4_thymus
AtDPP4f_reproductiveorgans(0) = AtDPP4*fDPP4_reprod
```

```
AtDPP4_intestine           = AtDPP4*fDPP4_liver*rGL
AtDPP4f_intestinal_lumen(0) = AtDPP4_intestine*(flumen_gut)
AtDPP4f_mucosal_blood(0)    = AtDPP4_intestine*(1-
flumen_gut)*Vmucosal_blood/(Vmucosal_blood+Vserosa)
AtDPP4f_serosa(0)           = AtDPP4_intestine*(1-
flumen_gut)*Vserosa/(Vmucosal_blood+Vserosa)
})
```

```
Fixed_param_temporary <- function(){
```

```
  fixed_param <- c(
```

```
    Alpha=1,
```

```
    AR=1,
```

```
    Gammaent=1,
```

```
    rGL=0.291,
```

```
    kfeces=0.637,
```

```
    fsDPP4=0.001975627,
```

```
    ftDPP4=(1-0.001975627),
```



```

fDPP4_skin=0.040193860,
fDPP4_lung=0.016447626,
fDPP4_liver=0.183671181,
fDPP4_kidney=0.682043533,
fDPP4_spleen=0.004560798,
fDPP4_saliva=0.001410761,
fDPP4_thymus=0.001276369,
fDPP4_reprod=0.014971930,
Kph.vivo=12.94390
)
return(fixed_param)
}

Estimated_param <- function(x){
c(
  CLinth           = 10**x[1],
  CLsecint         = 10**x[2],
  CLreabDPP4      = 10**x[3],
  ADPP4           = 10**x[4],
  fbile           = expit(x[5]),

  koff            = 10**x[6],
  Kd              = 10**x[7],
  flumen_kidney   = expit(x[8]),
  flumen_gut      = expit(x[9]),
  Kprep.vivo      = 10**x[10],

  Kpsal.vivo      = 10**x[11],
  Kprem.vivo      = 10**x[12],
  kbile           = 10**x[13],
  VmaxPgp         = 10**x[14],
  LR              = 99.9*expit(x[15])+0.01,

  PSdifentBE      = 10**x[16]
)
}

```

```

modeldef.theta <- function(x){
  c(Estimated_param(x),
    Fixed_param_temporary()
  )
}

```

```

model_function=function(x){

  thetaW <- c(isAccepted=NA,
             cluster=NA,
             SSR=NA,
             modeldef.theta(x),
             param_lina)

  thetaD <- thetaW
  thetaD["AsDPP4"] <-0
  thetaD["AtDPP4_muscle"] <-0
  thetaD["AtDPP4_skin"] <-0
  thetaD["AtDPP4_adipose"] <-0
  thetaD["AtDPP4_liver"] <-0
  thetaD["AtDPP4_spleen"] <-0
  thetaD["AtDPP4_lung"] <-0
  thetaD["AtDPP4_reproductiveorgans"] <-0
  thetaD["AtDPP4_thymus"] <-0
  thetaD["AtDPP4_salivarygland"] <-0
  thetaD["AtDPP4_kidney"] <-0
  thetaD["AtDPP4_mucosal_blood"] <-0
  thetaD["AtDPP4_intestinal_lumen"] <-0

  # Perform Simulations
  odeSolW=model$solve(thetaW, ev)
  odeSolD=model$solve(thetaD, ev)

```

```

# Aggregate Simulation Result
c(
  # Set3
  log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(9), 'Xfeces']),
  log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(9), 'Xurine']),

  # Retlich et al
  log10(odeSolW[odeSolW[, 'id'] %in% c(11:17), 'Plasma']),
  log10(odeSolD[odeSolD[, 'id'] %in% c(18:23), 'Plasma']),

  # Penalized Parameters
  log10(unnamed(thetaW['Kd'])),
  log10(unnamed(thetaW['ADPP4'])*unnamed(Fixed_param_temporary()['fsDPP4'])),
  log10(unnamed(thetaW['koff'])),

  log10(unnamed(thetaW['CLinth'])), # CLinth
  log10(unnamed(thetaW['CLsecint'])), # CLsecint
  log10(unnamed(thetaW['kbile'])), # kbile
  log10(unnamed(thetaW['Kprep.vivo'])), # Kprep.vivo
  log10(unnamed(thetaW['Kpsal.vivo'])), # Kpsal.vivo
  log10(unnamed(thetaW['Kprem.vivo'])) # Kprem.vivo
)
}

n_fold <- 1000

initial_value <- tribble(
  ~Parameter,          ~lower,          ~upper,

  'CLinth',            0.4253250/10,    0.4253250*10,
  'CLsecint',          0.09301730/10,  0.09301730*10,
  'CLreabDPP4',        0.00005929/n_fold, 0.00005929*n_fold,
  'ADPP4',              23.9/10,         23.9*10,
  'fbile',              10**logit(0.5),  10**logit(0.95),

  'koff',               0.18410/10,     0.18410*10,

```

```

'Kd',                0.04274/10,      0.04274*10,
'flumen_kidney',    10**logit(0.05),  10**logit(0.95),
'flumen_gut',       10**logit(0.05),  10**logit(0.95),
'Kprep.vivo',       2.375267/10,      2.375267*10,

'Kpsal.vivo',       1.755423/10,      1.755423*10,
'Kprem.vivo',       3.445471/10,      3.445471*10,
'kbile',            0.01370795/n_fold, 0.01370795*n_fold,
'VmaxPgp',          1000/n_fold,      1000*n_fold,
'LR',               10**logit((0.05-0.01)/99.9), 10**logit((95-0.01)/99.9),

'PSdifentBE',      0.00827/20,       0.00827*20,
)

if (!identical(initial_value$Parameter, names(Estimated_param(0)))) {
  stop('Names of initial values and Estimated parameters are not same')
}

observation = c(
  # Set3 (excretion)
  log10(data01 %>% filter(Seq1=='Set3' & Seq2=='Feces') %>%
pull(cumValue)/100*2116.22*2*0.25),
  log10(data01 %>% filter(Seq1=='Set3' & Seq2=='Urine') %>%
pull(cumValue)/100*2116.22*2*0.25),

  # Retlich et al
  log10(data02 %>% filter(Seq3=='Wild type') %>% arrange(Dose, Time) %>%
pull(Value)),
  log10(data02 %>% filter(Seq3=='DPP-4 def.') %>% arrange(Dose, Time) %>%
pull(Value)),

  # Penalized Parameters
  log10(0.04273504),
  log10(0.06837277),
  log10(0.1836),

  log10(0.4253250), # CLint

```

```

log10(0.09710178), # CLsecint
log10(0.01370795), # kbile
log10(2.375267), # Kprep.vivo
log10(1.755423), # Kpsal.vivo
log10(3.445471) # Kprem.vivo
)

t<-proc.time()
CGNM_result = Cluster_Gauss_Newton_method(nonlinearFunction=model_function,
                                           targetVector = observation,
                                           initial_lowerRange =
log10(initial_value$lower),
                                           initial_upperRange =
log10(initial_value$upper),
                                           num_iter = 50, num_minimizersToFind =
1000,
                                           ParameterNames =
names(Estimated_param(0)),
                                           saveLog = T)
save(CGNM_result, file="CGNM_result.Rdata")
elapsed <- proc.time()-t

print(elapsed)

```