



저작자표시-비영리-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

약학석사 학위논문

성인 신이식 환자에서 유전형을
고려한 이식 후 초기 Tacrolimus의
집단약동학 연구

**Population Pharmacokinetics and
Pharmacogenetics of Tacrolimus in the Early
Post-kidney Transplantation Period**

2013년 2월

서울대학교 대학원

약학대학 예방·임상약학 전공

하수정

성인 신이식 환자에서 유전형을
고려한 이식 후 초기 Tacrolimus의
집단약동학 연구

지도교수 오 정 미

이 논문을 약학석사 학위논문으로 제출함

2012년 11월

서울대학교 대학원

약학대학 예방·임상약학 전공

하 수 정

하수정의 석사학위논문을 인준함

2012년 12월

위 원 장	<u>신 완 균</u>	(인)
부 위 원 장	<u>이 명 절</u>	(인)
위 원	<u>오 정 미</u>	(인)

요약

Tacrolimus는 이식 후 거부반응 억제를 위하여 사용되는 면역억제제이다. 혈중 농도가 환자의 장기 생존율과 임상적 지표 등에 연관 있어 혈중 농도를 맞추는 것의 중요성이 익히 알려져 있으나 치료역이 좁고 개인 간 변이가 커서 이를 정확하게 예측하는 것에 어려움이 있다. Tacrolimus의 약동학에 영향 인자로 알려져 있는 것들로는 나이, 성별, 체중, hematocrit, 이식 후 기간 등의 임상 지표와 *CYP3A5*, *ABCB1* 등의 유전형이 있다. 본 연구는 성인 환자에서 신장 이식 후 초기 2주의 혈중 농도에 대해 유전형을 고려한 집단약동학 연구를 시행하여 이식 후 초기 기간의 약동학에 영향을 주는 인자를 감별하고 약물 농도 예측을 위한 모델을 개발하여, 이에 기반한 용량 제안을 하고자 하였다.

이식 후 15일까지 시행한 최저 농도치를 수집하고 이와 함께 이식 후 10-15일 사이 tacrolimus의 혈중 농도 조밀 채혈을 약물 투약 후 0.5, 1, 2, 4, 6, 12 시간 쯤에 시행하여 함께 분석하였다. 동일 기간에 대하여 임상적/실험실적 검사를 함께 수집하였고, 모든 연구 대상 환자에서 *CYP3A5*와 *ABCB1* 유전형을 분석하여 모델 확립에 사용하였다. 모델 개발에는 NONMEM version 6을 이용하였고, 모델 검증에는 visual prediction check와 bootstrap 2000회를 시행하였다.

연구에는 전체 122명의 환자가 포함되었고, 이 중 61명에서 조밀 채혈을 시행하였다. 데이터 분석 결과 first-order absorption and elimination을 이용한 one-compartment model로, lag time을 적용 경우에

가장 잘 설명 되었다. 모델의 집단 클리어런스(CL/F)는 20.6 L/h로 추산 되었고, 분포 용적(Vd/F)은 286 L, 흡수 상수(Ka)는 4.41 h⁻¹로 계산 되었으며 lag time은 0.25 hr 로 고정하였다. 이식 후 기간이 증가함에 따라 tacrolimus 클리어런스는 증가하였고 CYP3A5 유전형 *3/*3을 보유한 환자는 *1을 보유한 환자군보다 tacrolimus 클리어런스가 36.7% 감소하였다. ($p < 0.001$) 또한 분포 용적은 체중에 비례하여 증가하는 것으로 나타났다.

본 연구는 신장 이식을 받은 한국인 환자에서 이식 후 초기에서 조밀 채혈과 최저 농도치 결과를 함께 이용하여 tacrolimus의 개인간 약동학 차이에 영향을 미치는 요인을 감별하였다. 본 연구에서 개발된 모델을 통해 보다 적합하게 tacrolimus의 용량을 예측할 수 있을 것이며, 이는 개인맞춤 약물요법의 기반이 될 것이다.

주요어: 집단약동학, Tacrolimus, 신장 이식, 유전다형성, CYP3A5

학번: 2011-21779

목 차

요 약	i
목 차	iii
List of Tables	iv
List of Figures	v
서 론	1
연구 방법	4
연구 결과	13
고 찰	17
참고문헌	22
Tables & Figures	27
Abstract	40

List of Tables

Table 1. Primers and probes for the <i>CYP3A5</i> and <i>ABCB1</i> gene.....	27
Table 2. Demographic characteristics.....	28
Table 3. Allelic frequencies of the <i>CYP3A5</i> and <i>ABCB1</i> genotypes...	29
Table 4. Backward elimination step.....	30
Table 5. Population pharmacokinetic parameters of tacrolimus and bootstrap validation.....	32

List of Figures

Figure 1. Tacrolimus trough level data per individual patients.....	33
Figure 2. Scatter plots of population predicted concentration vs. observed concentrations (a) and individual predicted concentrations vs. observed concentrations (b).....	34
Figure 3. Weighted residual vs. Time and Conditional weighted residual vs. Time.....	35
Figure 4. Validation of the final model using Visual Prediction Check and Simulation.....	36
Figure 5. Influence of post-operative days on tacrolimus clearance....	37
Figure 6. Influence of <i>CYP3A5</i> genotype on tacrolimus clearance.....	38
Figure 7. Influence of body weight on volume of distribution of tacrolimus.....	39

서론

1. Tacrolimus

Tacrolimus는 cyclosporine과 함께 calcineurin inhibitor로서 면역억제에 널리 사용되고 있는 강력한 면역억제제이다. 장기 이식 직후 mycophenolate, steroid와 함께 거부반응 예방을 위해 널리 쓰이는 유용한 면역억제제이다.¹⁸ Tacrolimus는 상대적으로 좁은 유효 치료역을 가지는 약물이며, 개체 간, 개체 내 약동학적 차이가 커서 그 혈중 농도를 정확하게 예측하는 데 어려운 약물이다.^{11, 20} 그런 연유로 tacrolimus의 혈중 농도는 치료적 유효성을 유지하기 위한 용량을 맞추기 위하여 therapeutic drug monitoring이 요구되고 있다.¹⁶

2. Tacrolimus 혈중 농도의 중요성

Tacrolimus의 혈중 농도는 약물의 유효성, 독성, 그리고 임상적 결과와도 뚜렷하게 연관성을 보인다는 점에서 그 중요성이 크다. 혈중 최저 농도가 높을 경우 진전, 두통, 불면 등의 신경 독성 등이 발생하는데, 이는 혈중 농도에 의존적인 양상을 띤다고 알려져 있다.⁴ 신장 독성의 경우, 산화적 스트레스로 인해 내피세포의 기능 저하를 유발하여 사구체 손상을 야기하는 기전으로 인한 것임이 최근에 밝혀졌다.¹² 약물이 개발 및 사용 된 초기 뿐 아니라, 최근까지도 높은 혈중 농도로 인하여 오심, 두통, 고혈압 등이 나타나는 독성 사례가 널리 보고되고 있으며, 이에 대한 지속적인

관찰이 요구되고 있다.⁵ 또한 이식 후 tacrolimus의 혈중 농도가 낮은 군이 높은 군에 비해 좋은 신장 기능을 보이고, 특히 신장이식 후 tacrolimus의 혈중 농도와 거부반응 발생률이 유의한 관련성을 보인다고 알려져 있다.^{11,13,21}

3. Tacrolimus 농도에 영향을 주는 다양한 요인

Tacrolimus의 농도에 영향을 주는 요인은 매우 다양하게 보고되어 있다. 임상 지표로는 나이, 성별, 인종, hematocrit, albumin, 간 기능, 혈중 creatinine, 이식 후 기간, 면역억제제를 비롯한 병용 약물 등이 tacrolimus의 약동학에 영향을 준다고 알려져 있다.²⁰ 또한, *CYP3A*를 비롯한 유전자형성이 tacrolimus의 혈중 농도 뿐 아니라 약력학에도 영향 인자로 역할 하는 것으로 알려져 있다. 그 중, *CYP3A5*는 간과 소장에서 tacrolimus의 대사에 주요한 역할을 하는 인자로서 가장 흔히 연구 되는 유전형이다.⁹ 이 유전형은 빈도의 차이는 있지만 모든 인종에서 유전자형성이 나타나며 개체간 발현 정도의 차이도 10~97% 정도로 크게 나타난다고 알려져 있다.⁸ *CYP3A5* *1은 wild type allele로서 간과 소장에서의 효소 활성화에 관련되는 유전형으로, 가장 대표적인 변이형인 *CYP3A5* *3은 기능하지 않는 단백을 생성하는 가장 흔한 allele이다.¹⁴ 또한 기존에 많이 다뤄졌던 *ABCB1* 유전자형성의 경우, 용량 조정된 tacrolimus 최저 농도와의 관련성이 서술된 바 있으나, 몇몇 연구에서는 *ABCB1*과 tacrolimus 약동학 사이 연관성이 보이지 않는다는 보고가 있어 아직까지 논쟁의 여지가 있다.^{1,3,15}

4. Tacrolimus 이식 후 초기 연구의 필요성

현재까지 이루어져 있는 신이식 환자의 tacrolimus 집단약동학 연구는 대부분 6개월, 또는 1년 이상의 장기적인 분석을 통한 것으로, 장기적인 관점에서 모델을 확립하고 이에 대한 연구를 시행하였다.^{7,24} 이식 후 2개월을 대상으로 한 연구가 하나 존재하나, 이 연구는 K_a 를 고정하고 집단약동학 분석을 시행하였다.² 이는 이식 후 발생할 수 있는 흡수 상수의 변화가 고려되지 못했다는 한계점을 지닌다.

이식 후 약물 투여를 시작한 초기에 tacrolimus의 농도 변이가 크게 나타난다. Tacrolimus 혈중 농도의 변화가 클 경우 거부반응 발생 위험이 높아지고 이식 장기 소실률이 높아진다.¹⁹ 또한 이식 초기 임상적 결과가 이후의 장기 생존률에 연관 되어 있다고 알려져 있다.¹⁷ 따라서 혈중 농도 변화가 크고, 임상적으로 중요한 이식 후 초기 시점에 용량을 적절하게 설정하고 치료적 혈중농도를 맞추기 위한 연구가 필요함이 더욱 자명하다.

5. 연구 목표

본 연구에서는 신장 이식 후 2주 간의 tacrolimus 농도를 집중적으로 분석하여 집단약동학 분석을 통해 이식 직후의 tacrolimus 약동학에 영향을 미치는 인자를 탐색하고, 보다 적합한 초기 용량 계산 방법을 제안 하고자 하였다.

연구 방법

1. 연구 대상

본 연구는 18세 이상의 환자 중, 2002년 3월부터 2010년 7월 사이 서울대학교병원에서 첫 신장 이식을 받은 환자를 대상으로 하였다. 본 시험은 이식 직후 흡수 상수(Ka)를 추정하기 위해 조밀하게 tacrolimus 혈중 농도를 수집하고자 하였고, 이 추가적인 샘플링을 위해 2007년부터 2010년 사이 전향적으로 환자를 모집하였다. 모든 환자는 tacrolimus (Prograf®; Astellas), mycophenolate, steroid로 구성된 3중 면역억제 요법을 받았다. 본 연구는 헬싱키 선언에 일치하게 수행되었으며, 서울대학교병원의 임상시험심사위원회의 승인을 받았다. 추가적인 채혈을 위해 모집한 환자들은 사전 동의서 형식을 제공 받았다.

인구학적 자료와 임상적/실험실적 자료는 전자의무기록을 통해 이식 직후부터 15일 동안 수집되었다. 나이, 성별, 투석 기간, 이식 전 투석 방법, 신장 질환 종류, 기증자 유형, 이식장기 무게 자료 등이 인구학적 자료로서 수집되었다. 또한, CBC, 일일 체중, 혈중 creatinine, AST/ALT, total bilirubin, total protein 등의 수치를 매일 혹은 격일로 검사하였고, 이식 후 15일까지 측정된 모든 자료를 수집하였다.

2. 면역억제 요법

연구에 포함된 모든 환자들은 tacrolimus, mycophenolate, steroid로 구성된 3중 요법을 받는 환자들이었다. 연구 약물인 tacrolimus의 경우 이식 직후 0.075-0.01mg/kg로 1일 2회 12시간 간격으로 경구 투약 되었고, 생체 이식을 받는 환자들의 경우는 이식 하루 전 날부터 시작하고 뇌사자 이식인 경우는 이식 직전부터 투약 되었다. 첫 날 이후의 용량은 therapeutic drug monitoring 결과와 환자의 임상적 상태에 따라 적합하게 조절되었다. 이식 후 초기의 tacrolimus 혈중 목표 최저 농도치는 10-12 ng/mL이었다.

Mycophenolate는, 1회 500-750mg의 고정 용량으로 1일 2회 12시간 간격으로 tacrolimus와 함께 투약되었다. 단, 중대한 감염 사례나 혈액학적 독성이 나타나는 경우에는 mycophenolate의 용량을 감량하거나 중단하였다.

스테로이드의 경우, 이식 직후에는 methylprednisolone을 이용하여 정맥 주사 되었고 이후에는 경구 prednisolone으로 변경하였다. Methylprednisolone은 수술 시작 시 초기 용량으로 500mg를 투약하였고, 이후 50mg 4회, 40mg 4회와 같이 점차 감량하였다. 이식 후 4-5일 쯤 경부터 경구 prednisolone으로 변경 투약하였고, 이식 후 15일 경부터는 5-10mg의 prednisolone을 유지하였다. 사체 이식을 받았거나, HLA matching 결과가 2개 이상 다를 경우에는 이식 당일과 이식 후 4일 쯤에 basiliximab 20mg을 정맥 투여하였다.

3. Tacrolimus 혈중 농도 측정

이식 이후, 혈중 tacrolimus의 trough 농도를 치료혈중 농도범위에 맞추기 위해 모든 환자를 대상으로 therapeutic drug monitoring (TDM)을 시행하였다. TDM은 tacrolimus 복용 12시간 후, 즉 다음 복용 이전에 전혈 채혈하여 혈중 최저 농도치를 분석하는 방식으로 진행하였고, 이에 기반하여 용량을 조절하였다. 연구 기간 모든 최저치 농도는 전자의무기록에서 수집하였다.

약동학적 지표 분석을 위해 조밀 채혈 된 농도-시간 자료 분석을 이식 이후 10-15일 사이에 시행하였는데, tacrolimus 투약 후 0.5, 1, 2, 4, 6, 12시간 째에 채혈하였다. 이들 환자에게서 이식 후부터 2주 동안 TDM을 위해 측정된 Ctrough 농도를 수집하였다. Ctrough를 비롯한 모든 tacrolimus 샘플은 Waters 2795 Alliance HT system (Waters Ltd., Watford, UK)을 사용한 Liquid Chromatography-tandem mass spectrometry와 Quattro micro API tandem mass spectrometer (Micromass, Manchester, UK)을 이용해 분석하였다.

4. 유전형 분석

유전자 분석은 모든 환자에 대해 시행하였고, 전혈 샘플로부터 genomic DNA를 추출하였다. *CYP3A5* 6986A>G (rs776746), *ABCB1* exon 12 C1236T (rs1128503)와 exon 26 (C3435T) (rs1045642) SNP은 ABI 7900HT(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)의 TaqMan allelic discrimination assay를 이용하여 포함된 모든 환자에서 분석하였다.

PCR을 시행하기 위한 reaction volume은 총 5 μ L이었다. 분석 kit는 각 유전형에 따른 primer (sense와 anti-sense 각각 0.15 μ L), allele-specific Taqman minor groove binding probes (FAM, TET 각 0.1 μ L), 2X Taqman PCR MasterMix, genomic DNA 1 μ L, 30% glycerol/D.W 1 μ L로 구성되었다. (모두 Applied Biosystems) PCR 과정은 역시 프로토콜에 따랐다. 95 $^{\circ}$ C에서 15분간 초기 incubation을 1회 시행한 다음 95 $^{\circ}$ C에서 15초간 denaturation과 60 $^{\circ}$ C에서 1분간 annealing, extending 하는 과정을 40회 시행하였다. PCR을 시행한 후 얻어진 샘플은 QIAamp DNA blood kit (Qiagen, Valencia, CA, USA)를 통해 분석하였다.²⁵ 본 연구에서 사용한 primer와 probe 정보는 Table 1에 제시하였다.

5. 집단약동학 분석

집단약동학 분석은 모델의 비선형 혼합 효과를 NONMEM 버전 6.1 (ICON Develop., Elicott city, MD)을 이용하여 시행하였다.

5.1. Structural model

데이터 분석 기본 모델은 약동학적 지표와 변이성을 추정하기 위하여 one-compartment 이상의 구획을 갖는 여러 subroutine을 적용하고 objective function value (OFV), 관찰치와 예측농도치 간의 일치성, 지표 추정치의 안정성 등을 평가하였다. 평가 결과 ADVAN2 TRANS2 subroutine을 적용한 first-order conditional estimation with interaction (FOCE+I) 방법이 선정되었다.

이 연구는 조밀 채혈 자료를 이용하여 흡수 속도 상수 (K_a)

추정이 가능하였다. 연구 약물인 tacrolimus가 경구로 투약 된다는 것을 고려하여, 투약 시간과 흡수 사이 시간을 lag time으로 설정하고 0.25 hr로 고정하였다.

5.2. Fixed effect and random effect

개체간 다양성을 포함하는 모델을 구축하기 위해, 다양한 형태의 모델 형태를 탐색하였다. 개체간 다양성은 ‘ETA’ 변수로 표현하였고, exponential, proportional, additive 모델은 각각 다음과 같이 표현되었다.

$$\text{Exponential model; } P_{1i} = \text{THETA}(P_1) \times e^{\eta_i}$$

$$\text{Proportional model; } P_{1i} = \text{THETA}(P_1) \times (1 + \eta_i)$$

$$\text{Additive model; } P_{1i} = \text{THETA}(P_1) + \eta_i$$

이 식에서 THETA(P₁)은 지표 1의 집단 전체 평균값을 의미하고, ETA_i는 각 개인의 THETA₁ 값과 예측치 간의 개인간 차이를 나타낸다. 개인간 차이인 ETA_i는 독립적이고, 정규 분포하는 값으로서 평균 0과 분산 ω²를 가지는 변수이다. 탐색 결과, exponential error model이 개체간 다양성을 설명하는 모델로서 선정되었다.

잔차를 설명하기 위하여, general coding scheme을 이용한 additive 잔차 모델을 사용하였다. General coding scheme은 σ²을 1로 고정하고, 다른 THETA를 코드에 추가하여 잔차 강도의 변이를 측정하는 방식이다. General coding scheme을 이용함으로써 잔차 지표가 표준편차에서 측정되도록 할 수 있었다. 이는 지표 추정치들을 설명하기 쉽고 보고하기 쉽게 해 주는 방법이다. 더 나아가 이는 epsilon-

shrinkage 계산치를 교정하고, IWRES가 의미 있는 값을 나타내도록 한다. FOCE를 적용한 모델의 경우, conditional weighted residual 분석을 시행하여 모델의 잔차를 교정한 결과를 보고하여야 잔차 분석이 의미 있어 CWRES를 시행하였다.

5.3. Covariate screening

본 covariate screening 단계에서 tacrolimus의 약동학 지표에 관련 있다고 알려진 변수들을 평가했다. 인구학적 지표로는 나이, 성별, 투석 기간 및 종류, 신장 질환 원인, 공여자 방식과 이식 장기 무게, 임상적/실험실적 자료로는 hemoglobin, hematocrit, 일일 체중, 혈중 creatinine, AST/ALT, total bilirubin, albumin, total protein을, 병용 약물 용량과 약물 종류, 유전형 변수로는 CYP3A5 6986A>G, ABCB1 1236C>T, ABCB1 3435C>T 유전형 타입 등의 변수들을 검증하였다.

공변량을 모델에 더해 평가할 때에는 위에 언급한 세 가지 모델 외에 power function model을 함께 평가하였다. 공변량 모델은 다음과 같은 형태로 모델에 결합시켜 평가하였다.

$$\text{Exponential model; } P_{1i} = \text{THETA}(P_1) \times e^{(\text{THETA}(C_1) \times \text{COV})}$$

$$\text{Proportional model; } P_{1i} = \text{THETA}(P_1) \times (1 + \text{THETA}(C_1) \times \text{COV})$$

$$\text{Additive model; } P_{1i} = \text{THETA}(P_1) + \text{THETA}(C_1) \times \text{COV}$$

$$\text{Power function model; } P_{1i} = \text{THETA}(P_1) \times \text{COV}^{\text{THETA}(C_1)}$$

위의 모델에서 COV는 탐색 대상인 변수들을 의미하고, THETA(C₁)은 집단 전체 평균 값을 의미하는 THETA(P₁)에

추가적으로 생성되는 THETA 값이다. 각 변수들마다 위의 모델들을 탐색하였다. 연속적인 변수의 경우 각 변수의 집단 평균 값으로 센터링 하여 모델 왜곡을 막고자 하였다.

변수 선정은 forward selection과 backward elimination 단계를 통해 각 변수의 모델에 대한 유의성을 평가하는 방식으로 수행되었다. Forward selection 과정에서 PK 지표에 영향을 줄 수 있는 모든 지표를 포함하기 위하여, 선정 기준은 OFV 값이 3.84 이상 ($P < 0.05$) 감소하는 것으로 하였다. 유의하다고 평가된 모든 변수들은 ‘full model’에 모두 동시에 포함하였다. 반면 backward elimination 단계에서는 영향력이 크지 않은 변수들을 배제하기 위하여 기준을 OFV 10.83 이상 증가 하는 경우로 제한하였다. ($P < 0.001$) 각 변수들은 직전의 full model에서 하나씩 제거되었고, OFV 값 증가치가 10.83 이상일 경우, 해당 변수는 최종 모델에 남아있게 되었다.

6. 모델 검증과 시뮬레이션

최종 모델의 정확성과 적용 가능성을 평가하기 위하여 모델 검증 단계에서 bootstrap과 visual prediction check 방법을 사용하였다. Bootstrap은 원래의 자료에서 2000회 재샘플링 하는 방법으로 수행하였다. Bootstrap 결과는 원래의 자료에서 예측된 집단 지표 값과 bootstrap 방법에서 추정된 값을 비교하였다.

Visual prediction check (VPC)는 시뮬레이션한 농도를 이용해

검증하는 방법으로서 사용되었다. VPC 시행 전, 모델 시뮬레이션은 모델에서 예상된 tacrolimus 농도 수치를 얻기 위해 사용하지 않고 남겨 두었던 20% 환자의 자료를 이용하여 시행하였다. 시뮬레이션 결과는 원 데이터 자료에 기반해 시행한 VPC에서 5-95번째 백분율로 추정된 그래프 위에 도식화 하여 모델의 적용 가능성을 평가하였다. Bootstrap과 VPC 검증 방법은 R for NONMEM과 Perl-speaks NONMEM (PsN) version 3.1.0에 따라 시행하였다. (<http://psn.sourceforge.net>)

7. 용량 계산 방법 제안

본 집단약동학 모델 개발 및 검증 연구의 최종 목표는 개별 환자에서 용량을 최적화하는 것이었다. 연구 약물이 경구로 투약되기 때문에 우리는 다회 경구 투약 방식에서 초회 용량을 계산하는 방정식을 사용하였고, 이 공식은 다음과 같았다.

$$Dose(mg) = \frac{\text{Target conc.} \times (k_a \cdot V_d / F - CL / F)}{k_a \times e^{-\frac{CL}{Vd} \times t}}$$

또한, 유지 용량을 계산하기 위하여 다음과 같은 공식을 사용하였다.

$$Dose(mg) = \frac{\text{Target conc.} \times (k_a \cdot V_d / F - CL / F) \times (1 - e^{-\frac{CL}{Vd} \times t})}{k_a \times e^{-\frac{CL}{Vd} \times t}}$$

8. 통계적 분석

최종 모델에 포함된 변수들이 각 지표의 차이에 미치는 영향을 SPSS version 19.0 (SPSS Inc., Chicago, IL)으로 평가하였다. 이 단계에서는, 0.05 미만의 *P*-value가 통계적으로 유의한 것으로 간주되었다. *CYP3A5*와 *ABCB1*과 같은 분류된 자료가 CL/F나 V_d/F 에 미치는 영향은 *t*-test나 ANOVA를 이용하여 비교하였고, 연속 변수는 회귀분석을 통하여 비교하였다.

연구 결과

1. 연구 환자 군

처음 신장 이식을 받고 Tacrolimus를 복용하고 있는 전체 122명의 자료가 이식 후 15일 간 수집되었다. 연구 환자들은 67명의 남성과 55명의 여성으로 구성되었다. 평균 연령은 40.9세였고, 평균 체중은 58.3kg이었다. 80명의 환자는 생체 신장 이식을 받았고, 42명은 뇌사자로부터 신장 이식을 받았다. 이 환자들의 인구학적 특징은 Table 2에 나타나 있다. *CYP3A5*와 *ABCB1*의 유전형 빈도는 Hardy-Weinburg 평형 분석에서 유의성을 나타내지 않았다. ($P > 0.05$) *CYP3A5*와 *ABCB1*의 유전형 결과는 Table 3에 제시하였다.

2. 집단약동학 모델링

전체 환자에서 총 1166 포인트의 tacrolimus 최저치가 수집되었고, 추가 채혈에 동의한 61명의 환자에서 481 포인트가 조밀 채혈되었다. 전체 자료 중, 102명의 960개 tacrolimus 레벨이 모델 개발에 사용되었고, 남은 20명의 206 포인트가 모델 검증에 사용되었다. 각 환자 별 자료는 Figure 1에 제시하였다.

모델 탐색 결과 first-order absorption and elimination을 이용한 one-compartment model인 ADVAN2 TRANS2 subroutine이 연구 자료를 가장 잘 설명하였다. GI 흡수 시간을 고려하여 lag time은 0.25 시간으로 고정하였다. Structural model에서 도출된 약동학 지표 값은

경구 클리어런스 (CL/F)로 20.6 L/h, 분포 용적 (V_d/F) 286 L, 흡수 상수 (Ka) 4.41 h⁻¹, lag time 0.25 hr (고정)로 나타났다.

Forward selection step에서, 이식 후 기간, hematocrit, albumin, 체중, total protein, CYP3A5 유전형이 CL/F에 유의한 영향을 주는 것으로 나타났고, structural model 대비 3.84 이상 OFV 값이 감소하였다. 이식 후 기간, hematocrit, 체중, albumin, total protein, 나이가 V_d/F 에, hematocrit이 Ka 에 각각 유의미한 영향력을 가지는 것으로 나타났다. CYP3A5 유전형은 CYP3A5 *1 보유자와 *3/*3 (poor metabolizer)로 분류하여 평가하였다. Backward elimination 과정에서는, 이식 후 기간과 CYP3A5가 CL/F에, 체중이 V_d/F 에 남았다. 해당 변수들은 제외 시 각각 OFV를 10.83 이상 증가 시켰는데, 이식 후 일수가 92.315 증가, CYP3A5가 25.387 증가, 체중이 39.131 증가를 각각 가져왔다. Backward elimination 과정 세부 내역은 각 OFV 차이 값과 함께 Table 4에 제시하였다. 해당 변수들을 포함한 최종 모델 지표들은 Table 5에 요약하여 제시하였다.

도출된 최종 모델은 다음과 같다.

$$CL/F(L/h) = 16.2 \times (1 + (POD - 8.44) \times 0.018)) \\ \times e^{CYP1 \times 0.436 + CYP2 \times 0.037}$$

$$V/F(L) = 184 \times e^{(Wtkg/57.50) \times 0.408}$$

$$Ka(h^{-1}) = 4.47$$

$$Lag\ time(h) = 0.25\ (Fixed)$$

POD는 이식 후 일수, CYP1은 *CYP3A5* *1 보유자, CYP2는 *CYP3A5* *3/*3, Wtkg는 체중(kg)을 나타낸다. 최종 모델에 따른 예측치와 실측치의 차이를 시간에 대해 제시한 그림을 Figure 2에 제시하였다. 최종 모델의 잔차를 보정한 CWRES 데이터를 시간에 대하여 나타낸 그림을 Figure 3에 제시하였다.

최종 모델 결과를 평가하기 위하여, 2000회 bootstrap과 visual prediction check 분석이 검증 방법으로서 시행되었다. Bootstrap 결과는 2000회 중 1937회가 성공적으로 수행되었음을 보고하였다. Table 4에 보고된 것과 같이, 최종 모델에서 원래 데이터를 이용해 얻은 PK 지표들의 집단 평균 값은 5th-95th 백분율 범위에 모두 포함되었다. 시뮬레이션 단계를 위해 남겨두었던 20명의 자료를 이용하여 모델의 정확성과 안정성을 확인하고자 최종 모델에서 추정된 지표 값들을 이용하여 시뮬레이션을 수행하였다. 시뮬레이션 결과는 VPC 결과 그래프 위에 함께 뿌렸다. 97.95%의 시뮬레이션 결과가 VPC 수행 후 얻은 5th-95th 백분율에 포함되었고, 이를 Figure 4에 제시하였다.

3. 용량 계산 결과

경구 투약 초회 용량은 다음과 같이 계산되었다.

$$Dose(mg) = \frac{\text{Target conc.} \times (822.48 \times e^{WTKG} - (0.2916 \times POD - 13.739) \times e^{CYP})}{4470 \times (e^{-T \times (0.00158 \times POD - 0.0746) \times e^{CYP - WTKG}})}$$

이 식은 경구 투약에 대한 PK 이론에서 도출된 공식이다. 적합한
 초회 용량을 얻기 위해, 'Target conc.'에 해당 기관의 목표 최저
 농도를 대입하고, CYP3A5 *1 보유자 일 경우 CYP에 0.436을, CYP3A5
 *3/*3일 경우 0.037을 대입한다. WTKG에는 당일의 체중*0.408/57.50
 값을 대입하고, POD에는 이식 후 일수를 대입하며 'T'에는 투약
 간격을 대입한다.

1일 기준 유지 투약 용량은 다음과 같이 계산 된다.

$$Dose(mg) = \frac{\text{Target conc.} \cdot (822.48 \cdot e^{WTKG} - (0.2916 \cdot POD - 13.739) \cdot e^{CYP} \cdot (1 - e^{-T \cdot (0.00158 \cdot POD - 0.0746) \cdot e^{CYP - WTKG}}))}{4470 \cdot (e^{-T \cdot (0.00158 \cdot POD - 0.0746) \cdot e^{CYP - WTKG}})}$$

위 공식의 공변량들은 초회 용량 계산 공식과 동일하다. 이런
 방법들을 통해, 기존의 체중에만 기반하여 계산하고, 초회 투약
 시와 유지 용량 간의 차이를 고려하지 않았던 방식을 대체할 수
 있었다.

고찰

본 연구는 다양한 공변량의 영향과 *CYP3A5*, *ABCB1*의 유전자형성이 tacrolimus의 약동학에 미치는 영향을 성인 신장 이식 환자에서 이식 직후 기간에 대해 초점을 맞추어 연구한 최초의 연구이다. 약동학에 영향을 미칠 것으로 예측되는 후보 공변량들을 스크리닝하고 각 공변량이 약동학에 미치는 영향을 집단약동학 모델링을 통하여 분석하였다. 본 연구 모델은 first-order absorption과 elimination을 가지는 one-compartment model에 lag time을 적용하여 tacrolimus 약동학 양상을 설명할 수 있다는 것을 입증하였다. 또한 이는 이식 후 기간 (POD), *CYP3A5* 유전형 그리고 체중이 약동학적 변이성에 유의한 영향을 미친다는 것을 나타내었다. 이에 기반하여 제안한 용량 공식을 이용할 경우, 이전과 달리 이식 후 시간, 유전형, 체중을 고려하여 초회 용량과 유지 용량을 다르게 적용하게 된다.

본 연구에서, tacrolimus 클리어런스의 집단 평균 값은 16.2 L/h 였고, 분포용적은 184 L 였다. 이는 이전 연구에서 보고된 값들과 유사하다. 본 연구에서는 조밀 채혈을 시행하였기 때문에 K_a 추정이 가능하였고, 해당 값은 4.47 hr^{-1} 로 추산되었다. 이는 조밀 채혈 자료를 통해 성인 신장 이식 환자에서 tacrolimus의 흡수 상수를 처음으로 추산한 것이다. 이 결과는 이전에 보편적으로 고정하였던 K_a 값인 4.5 hr^{-1} 과 오차 범위 내에서 일치한다.¹⁰

Tacrolimus의 클리어런스는 시간이 지남에 따라 이식 이후 매일

증가하였다. 이식 후 기간 (POD)는 많은 이전 연구에서 tacrolimus의 주요 공변량으로 검증된 바 있다. 이 공변량은 성인 신장 이식 환자 대상 연구 뿐 아니라, 간 이식 환자 대상 연구에서도 입증 된 바 있다. ^{2, 7, 23} 이전의 집단약동학 연구들에서, 개인의 클리어런스는 이식 후 시간이 지남에 따라 증가하는 곡선을 그리고, 이식 후 21일 사이에 가장 급격하게 진행되는 양상을 보였다. 이 연구에서는 또한, 청소율은 매일 증가하는 양상을 보였고, 비례상수 0.186을 갖는 약간 선형성을 나타내는 증가를 보였다. ($P < 0.001$, $r^2=0.186$, Figure 5) 이식 직후의 낮은 클리어런스는 아마도 수술 직후의 낮은 위장관 운동, 긴 투병 기간으로 인해 떨어져 있는 대사 기능, 간-신증후군으로 인한 약물 대사 변화 등으로 인한 것으로 보인다. ^{2,22}

CYP3A5 유전형은 tacrolimus 약동학의 또 다른 주요 공변량으로 나타났다. 우리는 *CYP3A5* 유전형을 2개 군, *1 보유자와 *3/*3, 즉 낮은 대사 군으로 분류하여 분석하였다. 이런 분류 법은 세 군으로 나누어 분석하는 것보다 더 강한 영향성을 나타내었다. *CYP3A5* *1 보유자와 *CYP3A5* *3/*3 군간의 클리어런스 차이는 유의하였고, *CYP3A5* *3/*3 군은 유의하게 낮은 tacrolimus 클리어런스를 나타내었다. (*1 보유자 vs. *3/*3 군, 각각 26.48 ± 7.442 vs. 16.07 ± 4.872 , $P < 0.001$, Figure 6) 또한, *CYP3A5* *3/*3 군은 항정 상태에서 *CYP3A5* *1 보유군에 비해 높은 최저 농도 대비 용량 값 (Co/D)를 나타내었다. (*1 보유자 vs. *3/*3군, 2.49 ± 1.501 vs. 3.95 ± 2.517 , $P < 0.001$) *CYP3A5* *3 allele이 효소에 스플라이싱 결함을 가져와 단백질 활성을 감소시킨다는 점과 *CYP3A5*가 tacrolimus 대사에 주요한

효소임을 고려할 때, *CYP3A5* *3/*3 유전형이 tacrolimus의 대사에 영향을 미친다는 것은 당연하다 하겠다. ¹⁴ 본 연구에서는 *ABCB1* 유전형 또한 분석하였으나, 이는 약동학적 지표들과 어떠한 연관성도 보이지 못했다. 이는 *ABCB1*의 유전다형성이 약동학적 지표들에 미치는 영향을 찾아내지 못한 최근의 집단약동학 연구들과 일치한다. ^{7,26}

분포 용적에 대해서는, 체중이 유일하게 영향을 나타내었다. 매일 변화하는 체중이 분석에 사용되었고, V_d/F 에 따른 선형성을 나타내었다. ($P < 0.001$, $r^2=0.253$, Figure 7) Tacrolimus는 지용성 약물로서 albumin과 α_1 -acid glycoprotein에 주로 분포한다. ⁶ 단백질과 지질양은 체중에 비례할 것이므로, 체중이 분포용적에 비례하는 것은 그런 관련 인자들을 포함하고 있다는 인자로 발현된 것으로 유추할 수 있을 것이다

최종 모델의 시뮬레이션 결과는 원 데이터 양상과 거의 일치하였다. 모델 개발에 사용된 데이터와 시뮬레이션 결과를 비교하기 위하여 이를 VPC 결과와 함께 도식화하였고, 97.95%의 시뮬레이션 결과치가 5th-95th 백분율 그래프 사이에 포함되었다. 이는 본 연구의 최종 모델의 우수한 적용가능성과 안정성을 보인다 하겠다. VPC와 시뮬레이션 결과 외에도, bootstrap의 결과도 의미 있었고, 2000회 중 95% 이상에서 성공적으로 수행되었다.

본 연구는 tacrolimus의 경구 투여에 기반하여 수행되었다. 최종 모델을 적용하기 위하여, 본 연구 결과를 다회 경구 투약 요법 PK 방정식에 대입하였다. 이를 통해 초회 용량에 대한 공식과 유지

용량에 대한 공식 두 개를 도출하였다. 이 새로운 투여방법은 시뮬레이션 과정에서 보다 적절한 혈중 최저 농도를 보였다. 특히 유전형 타입 간, 초회 용량과 유지 용량 간에도 유의한 차이를 나타냈다. 60kg의 환자에서 이식 후 tacrolimus를 시작할 때 체중 기반 용량 계산법인 0.1mg/kg/q12h에 따를 경우 12mg/day로 시작하게 되지만, 본 모델에 따를 경우 CYP3A5 *1를 보유한 환자들은 13.5mg/day, *3/*3 환자들은 10.5mg/day로 시작한다. 또한 유지 용량의 경우는 초회 용량의 50-60% 용량을 사용하게 된다. 이식 직후 환자들은 평가를 위해 매일 체중을 측정하게 되므로 체중이 급격하게 변화하더라도 이에 적합한 용량 계산에 무리가 없다. 따라서 각 환자에 보다 적합한 용량을 예측하기 위하여 CYP3A5 유전형을 이식 전 단계에서 검사할 것을 추천하는 바이다.

본 연구에서의 제한점은 다음과 같다. 연구에 포함된 모든 환자들은 한국 성인으로서 다른 인종과 유전형에 차이가 있을 수 있고, 환자들의 체중이 비교적 이상 체중에 가까운 분포를 보여 다른 환자 군과 체중 분포 양상에 차이가 있을 수 있다. CYP3A5 *3/*3 유전형이 낮은 대사율과 관련 있다는 것은 전반적으로 의견이 일치되어 있으므로, CYP3A5 *1 보유자와 *3/*3 군 간의 차이는 다른 연구군에서도 유의하게 나타날 것이다. 또한, 모든 환자들은 tacrolimus 경구 약물로서 Prograf®을 복용한 사람으로, tacrolimus 다른 제제를 사용한 경우는 연구에서 배제하였다. 다른 tacrolimus 제제는 약동학적 양상이 다를 수 있으므로, 용량 계산 시 그 차이점에 주의하도록 한다. 본 연구는 이식 후 초기 기간에 대해

집중적으로 탐색하고 이식 후 15일의 기간만을 대상으로 하였다. 따라서 그 이후의 시점에는 이 연구에서 제시한 정보를 참고하되, 각 기관이 tacrolimus 용량과 혈중 농도를 환자의 임상 상태에 따라 조정해야 할 것이다.

결론적으로, 본 연구에서는 집단약동학과 유전형 분석을 수행하였고 이를 통하여 이식 직후 시점에 대한 신장 이식 환자들의 tacrolimus 약동학 모델을 개발하였다. Tacrolimus의 약동학에서 이식 후 기간과 CYP3A5 유전형이 클리어런스에, 체중이 분포 용적에 영향을 주는 주요 인자로 확인되었다. CYP3A5 유전형 *3/*3을 보유한 환자는 *1을 보유한 환자군보다 tacrolimus 클리어런스가 36.7% 감소하였다. ($p < 0.001$) K_a 는 모델 개발 과정에서 독립적으로 추정 가능하였다. 본 연구에서 제안한 새로운 용량 계산 방법은 이식 직후 tacrolimus를 환자에서 시작하는 경우 뿐 아니라, 이식 후 초기에 다른 약물에서 tacrolimus로 변경하거나 보다 쉽게 치료 혈중 농도를 맞추고자 하는 의료진에게 유용할 것이다.

참고문헌

- 1 D. Anglicheau, C. Verstuyft, P. Laurent-Puig, L. Becquemont, M. H. Schlageter, B. Cassinat, P. Beaune, C. Legendre, and E. Thervet, 'Association of the Multidrug Resistance-1 Gene Single-Nucleotide Polymorphisms with the Tacrolimus Dose Requirements in Renal Transplant Recipients', *J Am Soc Nephrol*, 14 (2003), 1889-96.
- 2 M. Antignac, B. Barrou, R. Farinotti, P. Lechat, and S. Urien, 'Population Pharmacokinetics and Bioavailability of Tacrolimus in Kidney Transplant Patients', *Br J Clin Pharmacol*, 64 (2007), 750-7.
- 3 T. Asano, K. Nishimoto, and M. Hayakawa, 'Increased Tacrolimus Trough Levels in Association with Severe Diarrhea, a Case Report', *Transplant Proc*, 36 (2004), 2096-7.
- 4 L. Backman, M. Nicar, M. Levy, D. Distant, C. Eisenstein, T. Renard, R. Goldstein, B. Husberg, T. A. Gonwa, and G. Klintmalm, 'Fk506 Trough Levels in Whole Blood and Plasma in Liver Transplant Recipients. Correlation with Clinical Events and Side Effects', *Transplantation*, 57 (1994), 519-25.
- 5 A. Ceschi, C. Rauber-Luthy, H. Kupferschmidt, N. R. Banner, M. Ansari, S. Krahenbuhl, and A. B. Taegtmeyer, 'Acute Calcineurin Inhibitor Overdose: Analysis of Cases Reported to a National Poison Center between 1995 and 2011', *Am J Transplant* (2012).
- 6 Lora L. Armstrong Charles F. Lacy, morton P. goldman, Leonard L. Lance, *Drug Information Handbook: A Comprehensive Resource for All Clinicians and Healthcare Professionals*. 20 edn.

Vol. 20Lexicomp, 2011).

- 7 N. Han, H. Y. Yun, J. Y. Hong, I. W. Kim, E. Ji, S. H. Hong, Y. S. Kim, J. Ha, W. G. Shin, and J. M. Oh, 'Prediction of the Tacrolimus Population Pharmacokinetic Parameters According to Cyp3a5 Genotype and Clinical Factors Using Nonmem in Adult Kidney Transplant Recipients', *Eur J Clin Pharmacol* (2012).
- 8 E. Hustert, M. Haberl, O. Burk, R. Wolbold, Y. Q. He, K. Klein, A. C. Nuessler, P. Neuhaus, J. Klattig, R. Eiselt, I. Koch, A. Zibat, J. Brockmoller, J. R. Halpert, U. M. Zanger, and L. Wojnowski, 'The Genetic Determinants of the Cyp3a5 Polymorphism', *Pharmacogenetics*, 11 (2001), 773-9.
- 9 K. Iwasaki, 'Metabolism of Tacrolimus (Fk506) and Recent Topics in Clinical Pharmacokinetics', *Drug Metab Pharmacokinet*, 22 (2007), 328-35.
- 10 W. J. Jusko, 'Analysis of Tacrolimus (Fk 506) in Relation to Therapeutic Drug Monitoring', *Ther Drug Monit*, 17 (1995), 596-601.
- 11 R. P. Kershner, and W. E. Fitzsimmons, 'Relationship of Fk506 Whole Blood Concentrations and Efficacy and Toxicity after Liver and Kidney Transplantation', *Transplantation*, 62 (1996), 920-6.
- 12 K. Kidokoro, M. Satoh, H. Nagasu, T. Sakuta, A. Kuwabara, D. Yorimitsu, Y. Nishi, N. Tomita, T. Sasaki, and N. Kashihara, 'Tacrolimus Induces Glomerular Injury Via Endothelial Dysfunction Caused by Reactive Oxygen Species and Inflammatory Change', *Kidney Blood Press Res*, 35 (2012), 549-57.
- 13 Y. Kong, D. Wang, Y. Shang, W. Liang, X. Ling, Z. Guo, and X.

- He, 'Calcineurin-Inhibitor Minimization in Liver Transplant Patients with Calcineurin-Inhibitor-Related Renal Dysfunction: A Meta-Analysis', *PLoS One*, 6 (2011), e24387.
- 14 P. Kuehl, J. Zhang, Y. Lin, J. Lamba, M. Assem, J. Schuetz, P. B. Watkins, A. Daly, S. A. Wrighton, S. D. Hall, P. Maurel, M. Relling, C. Brimer, K. Yasuda, R. Venkataramanan, S. Strom, K. Thummel, M. S. Boguski, and E. Schuetz, 'Sequence Diversity in Cyp3a Promoters and Characterization of the Genetic Basis of Polymorphic Cyp3a5 Expression', *Nat Genet*, 27 (2001), 383-91.
- 15 I. A. Macphee, S. Fredericks, T. Tai, P. Syrris, N. D. Carter, A. Johnston, L. Goldberg, and D. W. Holt, 'Tacrolimus Pharmacogenetics: Polymorphisms Associated with Expression of Cytochrome P4503a5 and P-Glycoprotein Correlate with Dose Requirement', *Transplantation*, 74 (2002), 1486-9.
- 16 S. Masuda, and K. Inui, 'An up-Date Review on Individualized Dosage Adjustment of Calcineurin Inhibitors in Organ Transplant Patients', *Pharmacol Ther*, 112 (2006), 184-98.
- 17 D. Nicol, A. S. MacDonald, J. Lawen, and P. Belitsky, 'Early Prediction of Renal Allograft Loss Beyond One Year', *Transpl Int*, 6 (1993), 153-7.
- 18 G. L. Plosker, and R. H. Foster, 'Tacrolimus: A Further Update of Its Pharmacology and Therapeutic Use in the Management of Organ Transplantation', *Drugs*, 59 (2000), 323-89.
- 19 S. M. Pollock-Barziv, Y. Finkelstein, C. Manlhiot, A. I. Dipchand, D. Hebert, V. L. Ng, M. Solomon, B. W. McCrindle, and D. Grant, 'Variability in Tacrolimus Blood Levels Increases the Risk of Late Rejection and Graft Loss after Solid Organ Transplantation in

- Older Children', *Pediatr Transplant*, 14 (2010), 968-75.
- 20 C. E. Staats, and S. E. Tett, 'Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Tacrolimus in Solid Organ Transplantation', *Clin Pharmacokinet*, 43 (2004), 623-53.
- 21 C. Staats, P. Taylor, and S. Tett, 'Low Tacrolimus Concentrations and Increased Risk of Early Acute Rejection in Adult Renal Transplantation', *Nephrol Dial Transplant*, 16 (2001), 1905-9.
- 22 S. Tuteja, R. R. Alloway, J. A. Johnson, and A. O. Gaber, 'The Effect of Gut Metabolism on Tacrolimus Bioavailability in Renal Transplant Recipients', *Transplantation*, 71 (2001), 1303-7.
- 23 N. A. Undre, and A. Schafer, 'Factors Affecting the Pharmacokinetics of Tacrolimus in the First Year after Renal Transplantation. European Tacrolimus Multicentre Renal Study Group', *Transplant Proc*, 30 (1998), 1261-3.
- 24 J. B. Woillard, B. C. de Winter, N. Kamar, P. Marquet, L. Rostaing, and A. Rousseau, 'Population Pharmacokinetic Model and Bayesian Estimator for Two Tacrolimus Formulations--Twice Daily Prograf and Once Daily Advagraf', *Br J Clin Pharmacol*, 71 (2011), 391-402.
- 25 Y. Zhang, X. H. Jiang, Y. Q. Hu, Z. R. Li, L. Su, Z. G. Wang, and G. Ma, 'Mdr1 Genotypes Do Not Influence the Absorption of a Single Oral Dose of 600 Mg Valacyclovir in Healthy Chinese Han Ethnic Males', *Br J Clin Pharmacol*, 66 (2008), 247-54.
- 26 W. Zhao, V. Elie, G. Roussey, K. Brochard, P. Niaudet, V. Leroy, C. Loirat, P. Cochat, S. Cloarec, J. L. Andre, F. Garaix, A. Bensman, M. Fakhoury, and E. Jacqz-Aigrain, 'Population Pharmacokinetics and Pharmacogenetics of Tacrolimus in De

Novo Pediatric Kidney Transplant Recipients', *Clin Pharmacol Ther*, 86 (2009), 609-18.

Tables & Figures

Table 1. Primers and probes for the *CYP3A5* and *ABCB1* gene

SNP	Primer and Probe
<i>CYP3A5</i> A6986G	Sense: 5'-CCACCCAGCTTAACGAATGC-3'
	Antisense: 5'-GCCACCCAAGGCTTCATATG-3'
	Probe A: 5'-6-FAM- CTTTTGTCTTTCAATATCTCTTCCCTGTTTGG-TAMPA
<i>ABCB1</i> C1236T	Sense: 5'-GTCTGTGAATTGCCTTGAAGTTTTT-3'
	Antisense: 5'-TTCCAACCAGGGCCACC-3'
	Probe C: 5'-6-FAM- CTTGAAGGGCCTGAACCTGAAGGTG- TAMPA
	Probe T: 5'-TET- AGATCTTGAAGGGTCTGAACCTGAAGGTG- TAMRA
<i>ABCB1</i> C3435T	Sense: 5'-GTGACTCGATGAAGGCATGTATG-3'
	Antisense: 5'-GAACATTGCCTATGGAGACAACAG-3'
	Probe C reverse: 5'-6-FAM- TTGCTGCCCTCACGATCTCTTCCT-TAMRA
	Probe T reverse: 5'-TET- TTGCTGCCCTCACAATCTCTTCCTG- TAMRA

Table 2. Demographic characteristics (n=122)

항목		항목	
Age (years) [‡]	40.9 ± 12.2	Graft Weight (g) [‡]	160.2 ± 35.6
Sex, n(%)		Type of kidney disease, n(%)	
	Female 55 (45.1)	Glomerular nephropathy	44 (36.1)
Body Weight (kg) [‡]	58.3 ± 10.6	Diabetes	9 (7.4)
Donor type, n(%)		Hypertension	5 (4.1)
	Living donor 80 (65.6)	Others	21 (17.2)
	Deceased donor 42 (34.4)	Unknown	43 (35.2)

Table 3. Allelic frequencies of the *CYP3A5* and *ABCB1* genotypes (n=122)

Genes		Frequency, n(%)			P-value
<i>ABCB1</i>	1236C>T	CC	CT	TT	N.S
		36 (29.5)	63 (51.6)	23 (18.9)	
		CC	CT	TT	
<i>ABCB1</i>	3435C>T	23 (18.9)	71 (58.2)	28 (22.9)	N.S
		CC	CT	TT	
		AA (*1/*1)	AG (*1/*3)	GG (*3/*3)	
<i>CYP3A5</i>	6986A>G	12 (9.8)	40 (32.8)	70 (57.4)	N.S

Table 4. Backward elimination step

Covariate	Model	OFV	dOFV
Full model	$CL/F = \theta_1 * (1 + POD * \theta_2) * (1 + HCT * \theta_3) * (ALB + 0.0001)^{\theta_4} * (1 + WTKG * \theta_5) * e^{(TPRT * \theta_6) * (CYP1 * \theta_7 + CYP2 * \theta_8)}$ $V_d/F = \theta_9 * e^{(POD * \theta_{10}) * e^{(HCT * \theta_{11}) * e^{(WTKG * \theta_{12}) * (ALB + 0.0001)^{\theta_{13}} * (1 + TPRT * \theta_{14}) * e^{(AGE * \theta_{15})}}$ $Ka = \theta_{16} * (1 + HCT * \theta_{17})$	7681.328	-
	Albumin	7681.423	+0.095
	Total Protein	7686.827	+5.404
CL	Weight	7693.98	+7.153
	Hematocrit	7702.907	+8.927
	Albumin	7703.863	+0.956
V	POD	7709.369	+5.506
	Total protein	7711.078	+1.709
	Hematocrit	7712.322	+1.244
	Age	7722.309	+9.987

		$V_d/F = \theta_9 * e^{(WTKG * \theta_{12})}$		
		$Ka = \theta_{16} * (1 + HCT * \theta_{17})$		
Ka	Hematocrit	$CL/F = \theta_1 * (1 + POD * \theta_2) * e^{(CYP1 * \theta_7 + CYP2 * \theta_8)}$		
		$V_d/F = \theta_9 * e^{(WTKG * \theta_{12})}$	7725.198	+2.889
		$Ka = \theta_{16}$		
Final Model		$CL/F = \theta_1 * (1 + POD * \theta_2) * e^{(CYP1 * \theta_3 + CYP2 * \theta_4)}$		
		$V_d/F = \theta_5 * e^{(WTKG * \theta_6)}$	7725.198	-
		$Ka = \theta_7$		

Table 5. Population pharmacokinetic parameters of tacrolimus and bootstrap validation

Parameter	Pop. mean	%SEM*	IIV** (%)	5th percentile	95th percentile
CL/F (Θ1)	16.2	5.8	-	13.3	19.1
POD (Θ2)	0.018	21.3	-	0.012	0.024
<i>CYP3A5</i> *1 (Θ3)	0.436	18.6	-	0.234	0.638
<i>CYP3A5</i> *3/*3 (Θ4)	0.036	77.7	-	-0.158	0.232
V_d/F (Θ5)	184	9.9	-	154.2	213.8
Body weight (Θ6)	0.408	22.9	-	0.253	0.563
K_a (Θ7)	4.47	9.8	-	3.5	5.4
Lag time	0.25 (fixed)	-	-	-	-
ω^2 CL/F	0.115	8.1	34.9	0.085	0.144
ω^2 V _d /F	0.386	10.5	68.6	0.255	0.516
ω^2 K _a	0.36	24.9	65.8	-0.288	1.008
σ^2	4.07	-	-	3.76	4.38
Random residual variability (%)	4.7	-	-		

*%SEM: Percentage Standard Error of Mean

**IIV: Inter-individual variability

Figure 1. Tacrolimus trough level data per individual patients

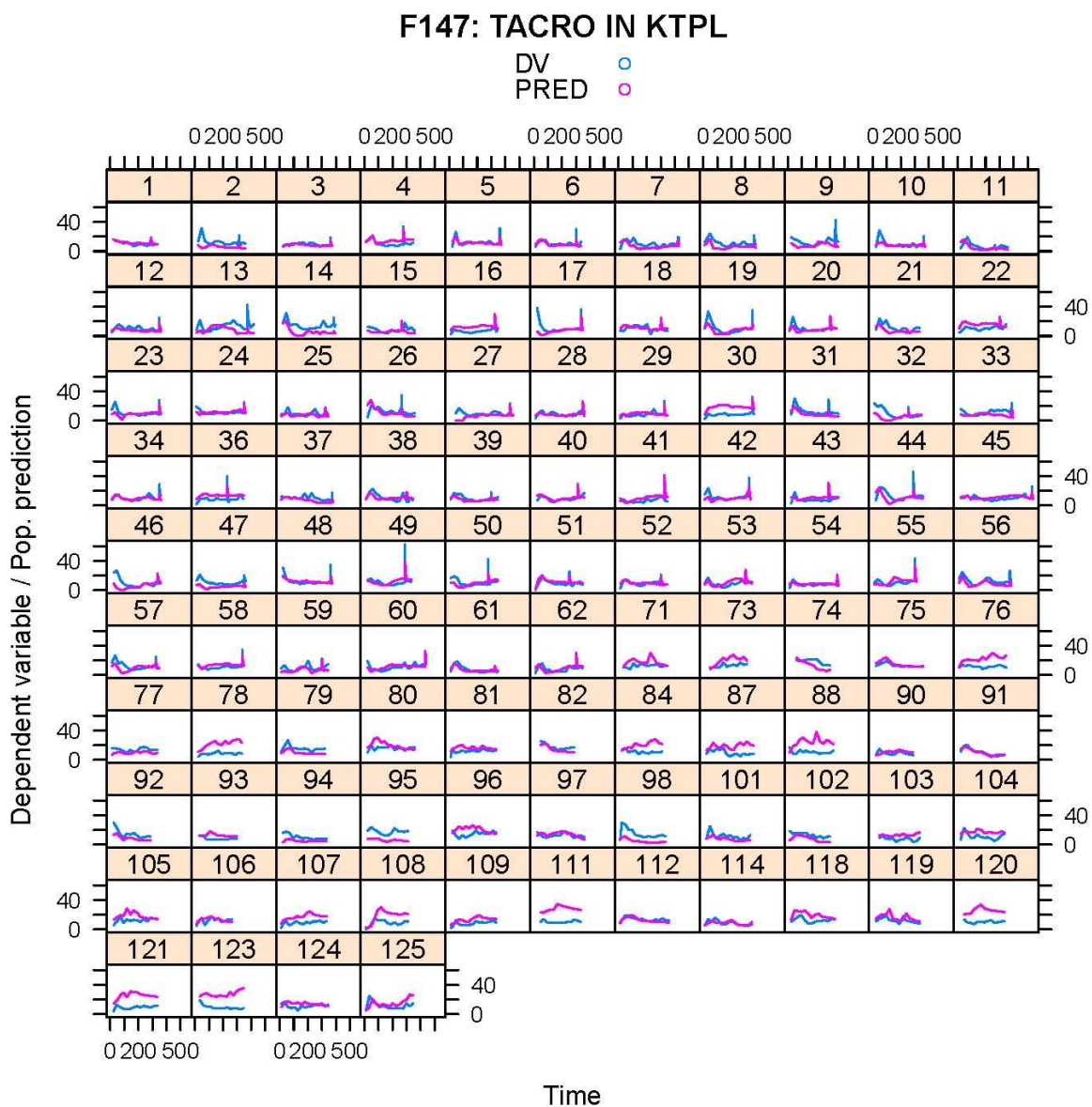


Figure 2. Scatter plots of population predicted concentration vs. observed concentrations (a) and individual predicted concentrations vs. observed concentrations (b)

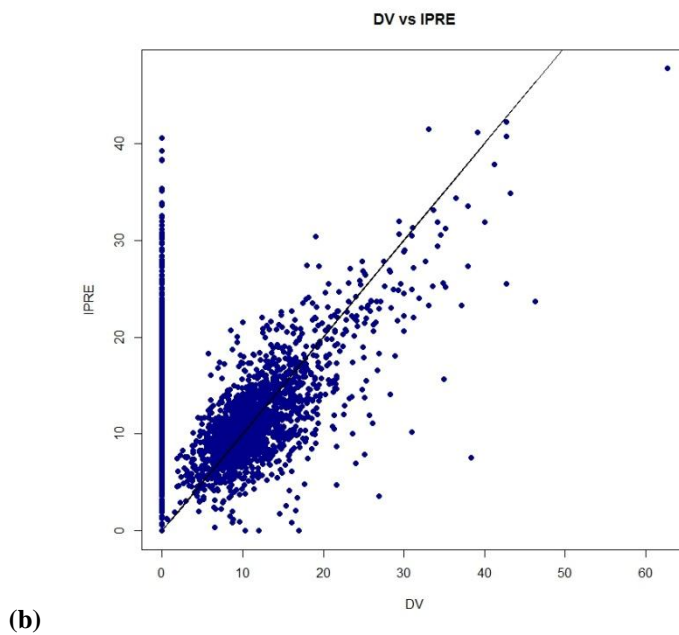
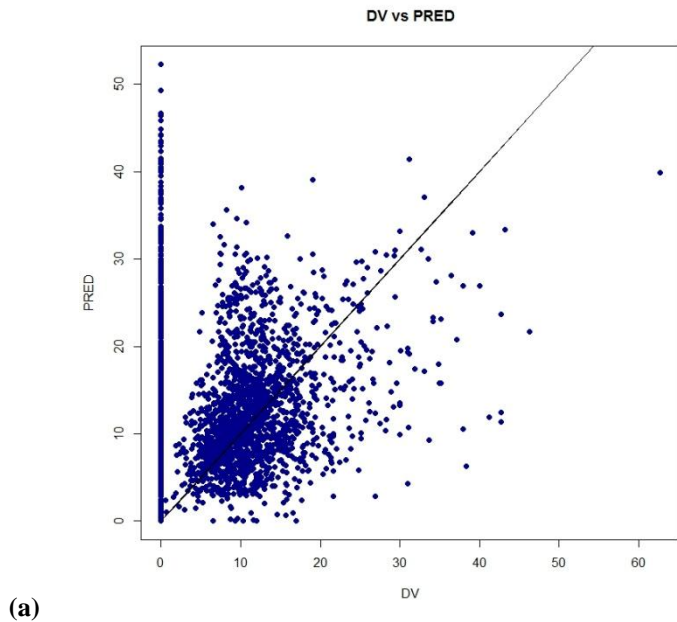


Figure 3. Weighted residual vs. Time and Conditional weighted residual vs. Time

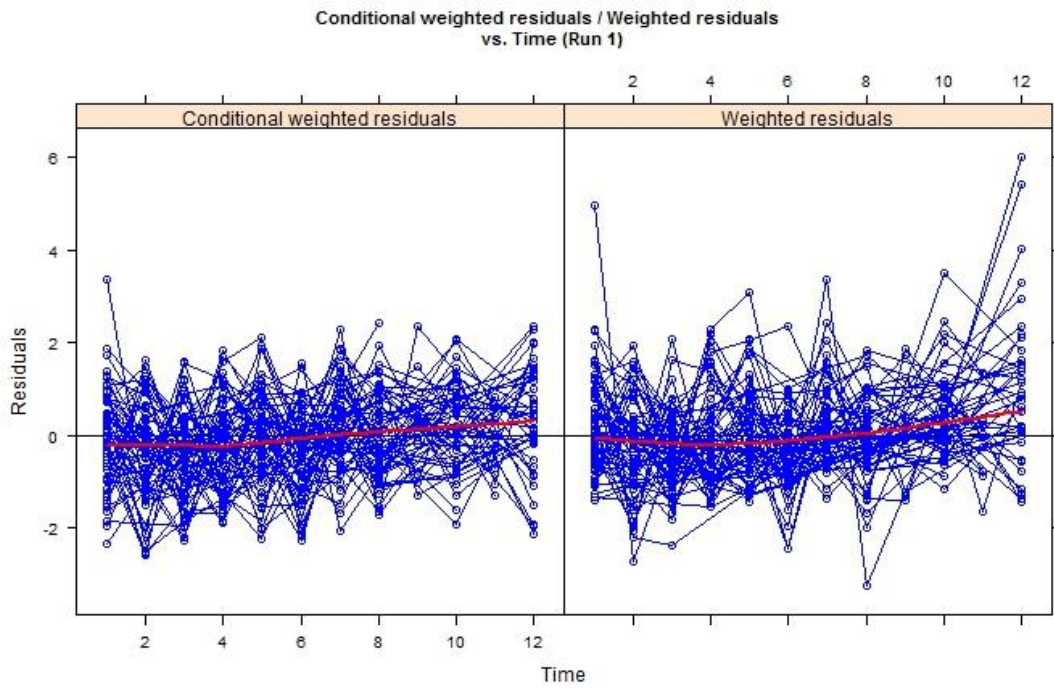


Figure 4. Validation of the final model using Visual Prediction Check and Simulation

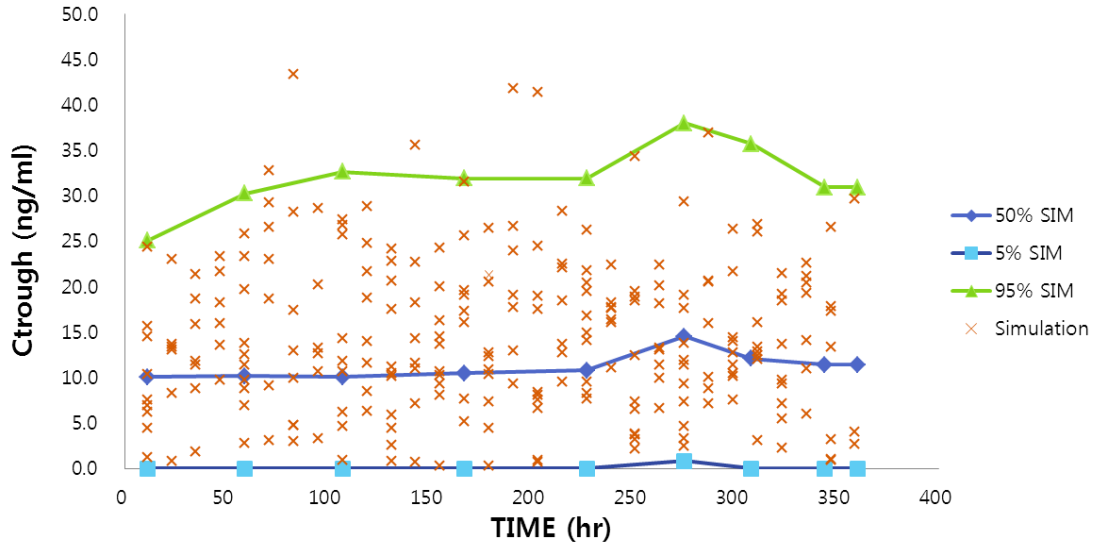


Figure 5. Influence of post-operative days on tacrolimus clearance

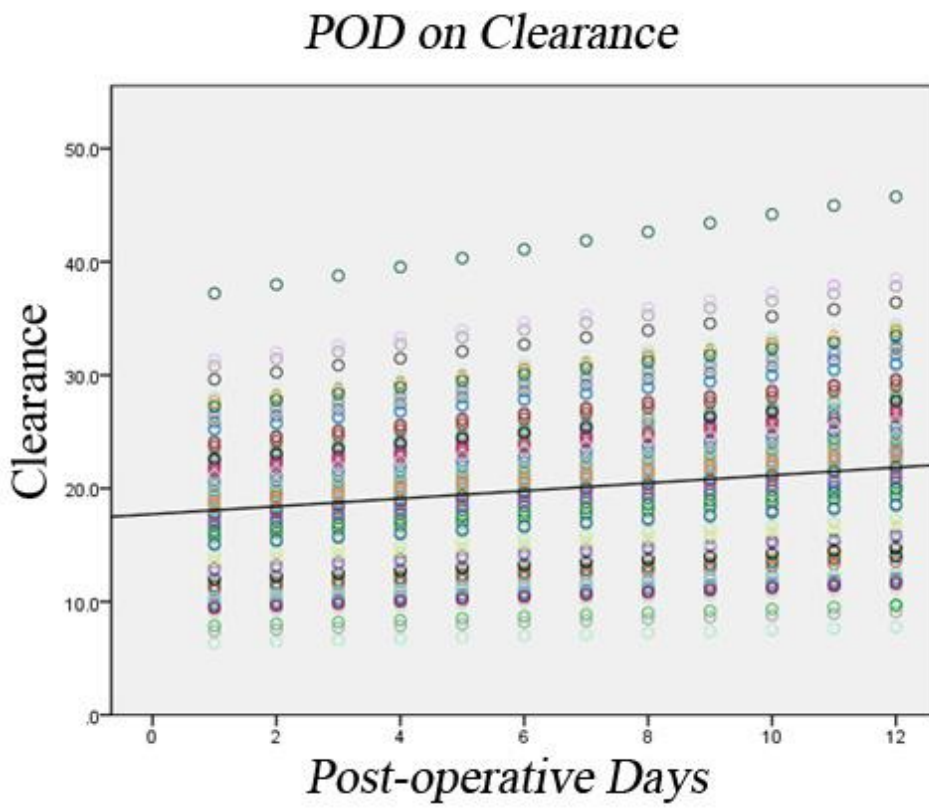


Figure 6. Influence of *CYP3A5* genotype on tacrolimus clearance

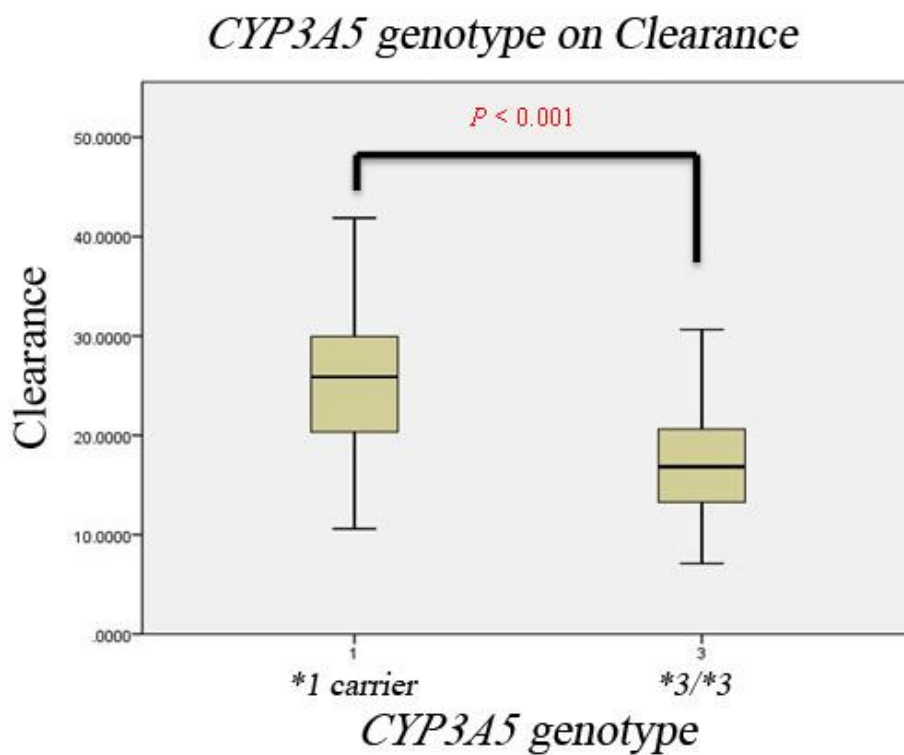
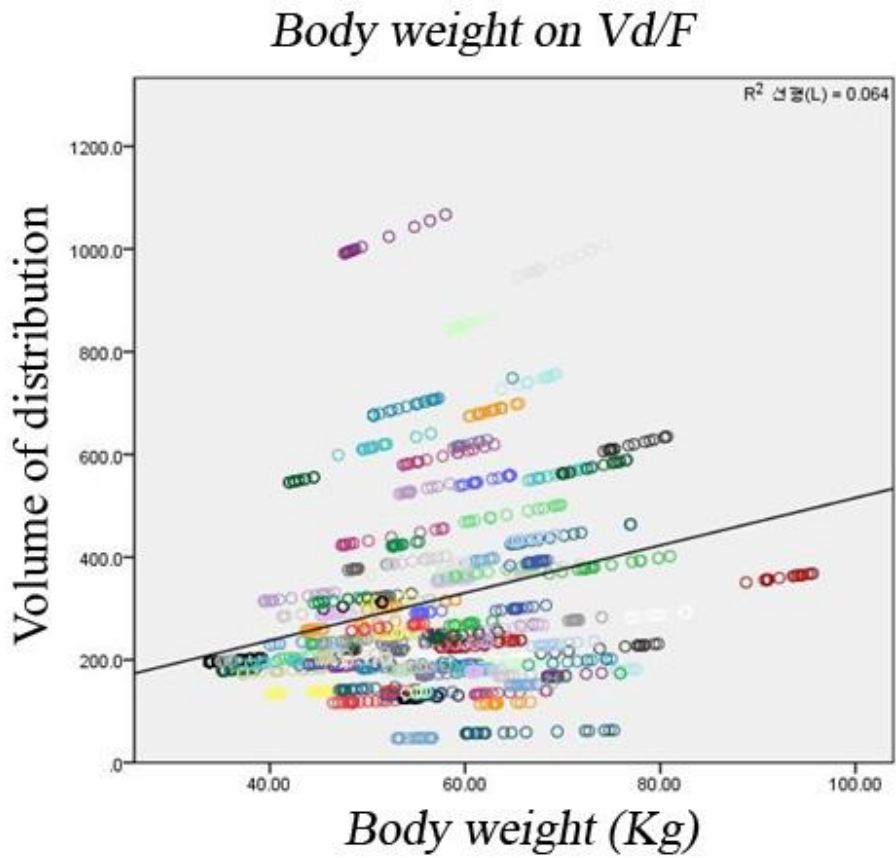


Figure 7. Influence of body weight on volume of distribution of tacrolimus



Abstract

Population pharmacokinetics and pharmacogenetics of tacrolimus in the early post-kidney transplantation period

Ha, Soo Jung

Clinical Pharmacy, Department of Pharmacy

The Graduate School

Seoul National University

Tacrolimus is a competent immunosuppressant used for suppression of rejection after transplantation. The importance of targeting serum levels of tacrolimus is famous for affecting graft survival and clinical outcome; however, it is still hard to predict the level exactly due to its high individual variability. Clinical factors such as age, sex, body weight, hematocrit and post- transplant period and genetic factors, *CYP3A5* and *ABCB1* have been identified as the contributing factors of tacrolimus pharmacokinetics. This study aims to analyze tacrolimus serum levels of two weeks just after kidney transplantation using population pharmacokinetic-pharmacogenetic study to identify covariates affecting pharmacokinetics and develop the model for predicting serum levels and to suggest dosing regimen based on the model.

All trough levels until 15 days after transplantation were collected. Dense sampling of tacrolimus was done at 0.5, 1, 2, 4, 6, 12 hr after drug administration

and analyzed with trough levels. Clinical/laboratory data were also collected for the same period, and *CYP3A5* and *ABCB1* genotypes were analyzed to use in modeling from all included patients. NONMEM version 6 was used for model development and visual prediction check and bootstrap 2000 times were used as model validation method.

All 122 patients were included to this study. Among them, dense sampling was done from 61 patients. The pharmacokinetic data were well described by one-compartment model with first absorption and elimination and lag time. Estimated population mean of pharmacokinetic parameters were following: clearance (CL/F) was 20.6 L/h, volume of distribution (Vd/F) was 286 L, absorption rate was 4.41 hr⁻¹ and lag time was fixed to 0.25 hr. Post-operative days and *CYP3A5* on clearance and body weight on volume of distribution showed the significant impact respectively.

This study identified covariates affecting the individual variability of tacrolimus pharmacokinetics using densely sampled and trough tacrolimus levels in Korean adult kidney transplant recipients. This model will help to predict ideal dosage of tacrolimus more properly and to develop rational guidelines for individual drug therapy.

Keywords: Population pharmacokinetics, Tacrolimus, Kidney transplantation, Genetic polymorphism, *CYP3A5*

Student Number: 2011-21779