



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

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

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 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](#)

약학박사 학위논문

**Investigation of Drug-Drug
Interactions between Tacrolimus and
Mycophenolate Mofetil with
Pharmacometrics Approach**

계량약리학을 활용한 타크로리무스와
미코페놀레이트 모페틸의 약물상호작용 평가

2018 년 2 월

서울대학교 대학원

약학과 예방·임상·사회약학전공

김 재 현

계량약리학을 활용한 타크로리무스와
미코페놀레이트 모페틸의
약물상호작용 평가

지도교수 오 정 미

이 논문을 약학박사 학위논문으로 제출함
2018 년 2 월

서울대학교 대학원
약학과 예방·임상·사회약학전공
김 재 현

김재현의 박사학위논문을 인준함
2018 년 2 월

위 원 장 김 은 경 (인)

부 위 원 장 김 연 수 (인)

위 원 이 형 기 (인)

위 원 윤 휘 열 (인)

위 원 오 정 미 (인)

계량약리학을 활용한 타크로리무스와 미코페놀레이트 모페틸의 약물상호작용 평가

김 재 현

약학과, 예방·임상·사회약학 전공

서울대학교 대학원

1. 건강한 성인에서 타크로리무스와 미코페놀레이트 상호작용 규명 연구

타크로리무스(Tacrolimus, TAC)와 미코페놀레이트 모페틸(Mycophenolate mofetil, MMF)은 장기이식 거부반응을 예방하기 위해 가장 흔히 병용되는 면역억제제이다. 본 연구의 목적은 TAC과 MMF의 약동학적 약물상호작용을 건강한 한국인 성인 자원자에서 규명하는 것이다.

17명의 참여자가 3기, 단회 투약, 고정 순서의 임상시험에 참여하였다. 임상시험 참여자들은 순서대로 각각 MMF, TAC, 그리고

MMF와 TAC을 복용하였다. TAC과 mycophenolic acid (MPA), 그리고 MPA의 대사체인 MPA 7-O-glucuronide (MPAG)와 MPA acyl glucuronide (AcMPAG)의 농도를 측정하였다. *CYP3A4*, *CYP3A5*, *SLCO1B1*, *SLCO1B3*, *ABCC2*, *UGT1A9*, 그리고 *UGT2B7*의 유전자형을 분석하였다. 비구획분석으로 상호작용을 평가하고 그 영향을 집단약동학 모델로 정량하였다. 집단약동학 모델 개발 시 구조모형으로 단일구획, 다구획 모형 등을 평가하였다. 상호작용의 영향을 반영하기 위해 선형, 시그모이드, 그리고 지수 모형을 평가하였다. 공변량의 영향은 단계적 공변량 모델링 방법으로 평가하였다. 모델 개발 과정에서 모델의 개선 정도 평가는 목적 함수 값, 적합도, 시각적 예측 점검으로 평가하였다.

총 1,082개의 약물 농도가 분석되었다. TAC의 $AUC_{0-\infty}$ (Area Under the time-concentration Curve from time 0 to infinity)는 MMF와 병용하였을 때 22.1% 증가하였으나 (322.4 ± 174.1 에서 393.6 ± 121.7 ng·h/mL; $P < 0.05$), MPA와 대사체의 약동력학 파라미터는 유의미한 변화를 보이지 않았다. TAC의 청소율은 MMF와 병용하지 않았을 때에는 17.8 L/h (상대표준오차 11%)였고, MMF와 병용하였을 때에는 13.8 L/h (상대표준오차 11%)였다. 상호작용은 지수 모형으로 설명되었다. *CYP3A5* 유전자형이 유의미한 공변량으로도 출되었다. TAC의 청소율의 대푯값은 *CYP3A5* expresser에서 1.48배(상대표준오차 16%) 증가하였다. TAC의 청소율은 MMF와 병용하였을 때 감소하였다.

결론적으로 본 연구에서 상호작용을 고려한 통합된 집단약동학 모델에서 TAC과 MMF의 상호작용을 확인하였다. TAC의 혈중 농도는

MMF의 병용으로 인하여 상승하는 것으로 분석되었다. 최근의 임상시험이 TAC과 MMF의 여러가지 용량 조합을 평가하는 것을 고려하면, 두 약물 사이의 상호작용 양상을 확인하는 것은 중요하다. 개발된 집단약동학 모델을 활용하여 TAC과 MMF의 상호작용을 고려하면서 두 약물의 혈중농도를 예측할 수 있다. 그러나, 약물 상호작용의 영향이 약물이 주로 사용되는 표적 환자 집단에서도 유지되는지 확인하기 위해서 추가 연구를 수행하였다.

2. 신장이식 환자에서 건강한 대상으로 개발된 집단 약동학 모델의 검증 연구

TAC과 MMF는 신장이식 환자에서 거부반응을 예방하기 위해 가장 흔하게 병용되는 면역억제제이다. 일부 *in vitro* 연구에서 TAC과 MMF의 상호작용 가능성을 제기하였다. Section I의 건강한 성인 대상으로 한 연구에서 TAC과 MMF의 상호작용의 크기와 양상을 확인하였다. 본 연구는 신장이식 환자에게 건강한 성인 대상으로 개발되었던 모델을 적용하여 상호작용의 영향이 환자에서도 나타나는지 확인하고자 하였다.

32명의 신장이식 환자가 연구에 참여하였다. TAC과 MMF를 복용한 후 최대 4시간까지 채혈하였다. TAC, MPA, MPAG, 그리고 AcMPAG의 혈중농도를 분석하였다. *CYP3A4*, *CYP3A5*, *SLCO1B1*, *SLCO1B3*, *ABCC2*, *UGT1A9*, 그리고 *UGT2B7*의 유전자형을 분석하였다. 건강한 성인 대상으로 개발하였던 집단약동학 모델을 신장이식 환자에서의 기본 약동학 구조모형으로 활용하였다. 임상적

변수와 유전자형을 모델의 공변량으로 고려하였다. 개발된 모델을 활용하여 다양한 임상적 상황에서 TAC의 최저 혈중농도를 시뮬레이션 하였다.

총 562개의 약물 농도가 분석되었고 모델 개발에 사용되었다. TAC과 MMF의 최종 집단약동학 모델에 역-지수(inverse exponential) 관계로 상호작용이 반영되었다. 최종 모델에 유의미한 공변량으로 *CYP3A5*, *SLCO1B3*, *UGT2B7*의 유전자형이 도출되었다. TAC의 청소율의 집단 대푯값은 21.9 L/h였고 *CYP3A5* expresser에서 청소율이 1.49배로 증가하였다. *SLCO1B3* T carrier에서 MPAG의 분포 용적이 1.2배인 것으로 추정되었다. AcMPAG의 생성속도상수는 *UGT2B7* T carrier에서 0.8배로 추정되었다. 면역억제제의 용량과 유전자형을 조합한 다양한 임상적 상황에서 TAC의 혈중농도가 시뮬레이션 되었다. *CYP3A5* nonexpresser이면서 병용하는 MMF의 용량이 클수록 TAC의 최저혈중농도가 높게 관찰되었다. *SLCO1B3*와 *UGT2B7*의 유전자형은 TAC의 최저혈중농도에 영향을 미치지 않았다.

본 연구는 건강한 성인에서 개발한 집단약동학 모델을 활용하여 신장이식 환자에서 TAC과 MMF의 상호작용의 영향을 확인한 최초의 연구이다. TAC의 최저혈중농도를 결정하는 주요한 요인은 MMF와의 약물상호작용과 *CYP3A5* 유전자형이었다. MMF가 병용되거나 MMF의 용량이 변경되는 임상적 상황에서 본 연구에서 개발한 집단약동학 모델을 활용하여 TAC의 용량을 조절할 수 있다.

주요어 : 약물-약물 상호작용, 타크로리무스, 미코페놀레이트, 계량약리학, NONMEM

Table of Contents

Section I. Identification of Drug-Drug Interaction between Tacrolimus and Mycophenolate Mofetil in Healthy Volunteers	1
Chapter 1. Introduction	2
1.1. 계량약리학	2
1.2. 신장이식과 유지 면역억제제	4
1.3. 유지 면역억제제의 약물 상호작용	8
1.4. 연구의 목적	11
Chapter 2. Methods	12
2.1. 연구 설계 및 임상시험 대상자	12
2.2. 시험 약물 투여	15
2.3. 약물 혈중 농도 분석	15
2.4. 유전형 분석 및 자료 수집	16
2.5. 비구획 분석	17
2.6. 집단약동학 모델 개발	18
Chapter 3. Results	21
3.1. 인구학적 특성	21
3.2. 비구획 분석	27
3.3. 집단약동학 모델 개발	31
3.4. 모델의 평가	36
Chapter 4. Discussion.....	42

Section II. Validation of a Population Pharmacokinetic Model Derived from Healthy Volunteers with Kidney Transplant Recipients.....	46
Chapter 1. Introduction	47
1.1. 연구의 배경	47
1.2. 연구의 목적	48
Chapter 2. Methods	49
2.1. 연구 설계 및 임상시험 대상자	49
2.2. 시험 약물 투여	50
2.3. 약물 혈중 농도 분석.....	50
2.4. 유전형 분석 및 자료 수집	51
2.5. 집단약동학 모델 개발	52
Chapter 3. Results	55
3.1. 인구학적 특성	55
3.2. 집단약동학 모델 개발	57
3.3. 모델의 평가	60
3.4. 집단약동학 모델의 시뮬레이션	66
Chapter 4. Discussion.....	69
 References.....	 75

Tables

Table 1. Baseline characteristics of enrolled healthy volunteers (n=17).....	22
Table 2. Primer sequence and experimental condition for genotyping	23
Table 3. Genotype and allele frequencies of analyzed polymorphisms	26
Table 4. Pharmacokinetic parameters of tacrolimus estimated by the non-compartmental analysis after administration of TAC alone or in combination with MMF	28
Table 5. Pharmacokinetic parameters of MPA, MPAG, and AcMPAG estimated by the non-compartmental analysis after administration of MMF alone or in combination with TAC	29
Table 6. Population pharmacokinetic parameter estimates of models for TAC and MMF	34
Table 7. Baseline characteristics of included patients (n = 32)	56
Table 8. Population pharmacokinetic parameter estimates of models for TAC and MMF	58

Figures

Figure 1. Schematic diagram of the design of clinical trial.....	14
Figure 2. Schematic presentation of an integrated population pharmacokinetic model	33
Figure 3. Goodness of fit plot of tacrolimus for the integrated population pharmacokinetic model	37
Figure 4. Goodness of fit plot of mycophenolic acid for the integrated population pharmacokinetic model	38
Figure 5. Goodness of fit plot of mycophenolic acid 7-O-glucuronide for the integrated population pharmacokinetic model.....	39
Figure 6. Goodness of fit plot of mycophenolic acid acyl glucuronide for the integrated population pharmacokinetic model.....	40
Figure 7. Visual predictive check of integrated population pharmacokinetic models.....	41
Figure 8. Goodness of fit plot of tacrolimus for the population pharmacokinetic model	61
Figure 9. Goodness of fit plot of mycophenolic acid for the population pharmacokinetic model	62
Figure 10. Goodness of fit plot of mycophenolic acid 7-O-glucuronide for the integrated population pharmacokinetic model	63
Figure 11. Goodness of fit plot of mycophenolic acid acyl glucuronide for the integrated population pharmacokinetic model.....	64

Figure 12. Visual predictive check of population pharmacokinetic models.....	65
Figure 13. Simulation results of trough tacrolimus level in scenarios with different dose and genotypes.....	67

**Section I. Identification of Drug-
Drug Interaction between
Tacrolimus and Mycophenolate
Mofetil in Healthy Volunteers**

Chapter 1. Introduction

1.1. 계량약리학

1.1.1. 계량약리학의 발전

계량약리학(pharmacometrics)은 약물의 약동학 및 약력학과 같은 약물반응과 생체표지자의 특성을 이해하기 위해 수리적, 통계학적 모델을 개발하고 적용하는 학문이다.(1) 계량약리학적 기술을 활용하는 대표적인 방법인 집단약동학(population pharmacokinetic) 분석법은 시간에 따른 약물의 노출 및 약물 반응을 설명하고 모집단의 평균과 개체간의 다양성을 함께 고려할 수 있는 분석법이다. 집단약동학 분석은 측정된 약동력학 지표를 모델로 설명할 수 있도록 함과 동시에, 해당 모델의 적절성을 동시에 검정할 수 있는 특징을 갖는다.

계량약리학을 적용하기 이전의 약동력학 연구의 기본 개념은 1960년대 이전에 태동하였다. 초기에는 체내에서 시간에 따른 약물 농도의 변화를 정량하는 연구가 주를 이루었으나 개인별 약물의 농도 프로파일을 제시하는 데 그쳤으며 약물의 농도와 효과의 상관관계를 규명하는 데 제한적이었다.(2) 이에 따라 연구자들은 관찰한 약물 농도를 약력학적 약물반응과 연관시키고, 정량적으로 예측하고자 1979년도에 이르러 계량적 방법론(혼합 효과 모형 등)인 계량약리학을 도입하였다.(3)

이후 계량약리학은 다양한 분야에서 빠른 속도로 발전하여 FDA에서는 의약품의 평가 및 임상시험 분야에서 계량약리학을

이용하도록 지침을 지속적으로 발간하였고, 그 결과로 집단적 분석에 대한 지침과(1999년) 노출-반응 관계에 대한 지침을(2003년) 배포하였다.(4, 5) 또한, 신약의 허가 또는 표시 기재 내용에 계량약리학을 활용한 연구결과가 기재되기 시작하였다.

최근의 계량약리학 연구는 초기 태동기에 비해 더욱 다양하고 심도있는 분야로 세분화되었다. 생리학 기반 약물동태(physiology based pharmacokinetic, PBPK) 모델 연구(6), 약물-질병-임상시험 통합적 모델에 대한 계량약리학 연구(7), 임상시험 시뮬레이션에 대한 연구(8), 약물상호작용에 대한 적용(9-11) 등이 활발히 연구되고 있다.

1.1.2. 집단약동학을 활용한 약물상호작용 평가

집단약동학적 모델링은 집단 내 개체들의 자료를 동시 분석하여 모델에 포함된 파라미터의 다양성을 파악하는 분석법이다. 집단약동학적 방법을 활용한 상호작용 평가는 시험약물의 약동학적 모델을 구축하고 병용약물의 투여에 의한 청소율의 변화 등을 감지하여 약물상호작용을 정성적 또는 정량적으로 판단한다. 집단약동학적 방법을 활용한 평가에서는 흔히 상호작용 약물의 병용 여부를 이분형 변수(예, 0과1)로 취급하여 반영하였다. 이와 같은 방식은 병용되는 약물의 용량에 대한 정보를 반영하지 못하는 한계를 갖는다.

집단약동학적 분석의 결과로부터 좀 더 직접적인 결론을 도출하려면 병용 약물의 용량, 투여 시간, 채혈 시점에 병용 약물의 투여 상태 등에 대한 자세한 정보가 필요하다. 그러나 시험 약물에 비하여 병용 약물에 대한 자세한 정보를 갖기 어렵고 일반적인 임상시험에서 병용약물의

노출까지 함께 평가하는 경우가 흔하지 않기 때문에 집단약동학적 방법은 병용약물 노출의 영향을 직접적으로 평가하기 어렵다는 한계를 갖는다. 추가적으로, 희박한 자료(sparse data)에 기반한 상호작용 평가는 흡수 과정에서의 검체 확보가 불충분한 경우 최대 혈중 농도에 영향을 미치는 상호작용의 규명이 어려울 수 있다.

집단약동학적 방법이 위와 같은 한계점을 가지고 있지만 방법론 측면에서 여러 가지 장점을 확보하고 있다.(12) 첫째로, 특정 집단(예: 환자)에서 집단약동학적 방법론을 이용한 약물 상호작용 평가를 수행하여 해당 집단에 그 결과를 직접적으로 적용 가능하다. 두 번째로, 희박한 자료로도 평가가 가능하다. 셋째로, 실제 임상시험을 진행하는 것에 비하여 더 짧은 시간에 진행 할 수 있다. 마지막으로, 집단약동학적 방법을 이용해서 예상하지 못했던 상호작용을 발견할 수도 있다.

1.2. 신장이식과 유지 면역억제제

신장이식은 말기신부전 환자의 치료 전략 중 하나이다. 거부반응을 예방하기 위한 신장이식 후 유지 면역억제제 요법의 발전으로, 이식 후 우수한 임상적 성과를 얻을 수 있었다.(13) 신장 이식 후 유지 면역억제제에는 glucocorticoids, cyclosporine (CSA), tacrolimus (TAC), mycophenolate mofetil (MMF) 등이 있다. 신장이식 후 가장 흔히 병용되는 면역억제제 조합은 glucocorticoids, TAC, MMF의 3제 조합이다.(14)

1.2.1. Glucocorticoids

Glucocorticoids는 이식 후 면역억제를 유지하는 요법의 가장 중추적인 약제이다. glucocorticoids는 간에서의 포합체 형성 및 불활성화 대사체의 신배설로 제거된다.

Rifampin이나 phenytoin과 같이 glucocorticoids를 대사하는 효소를 유도하는 약제를 병용할 경우 glucocorticoids의 반감기가 감소되고, ketoconazole과 같은 *CYP3A4* 억제제를 병용할 경우 반대로 glucocorticoids의 반감기가 연장된다.(15, 16) 일반적으로 현장에서 glucocorticoids의 약물농도 모니터링은 이루어지지 않는다.

1.2.2. 칼시뉴린 억제제

CSA와 TAC과 같은 칼시뉴린(Calcineurin) 억제제는 유지면역억제 요법의 또 다른 중추적인 구성 요소로 진균에서 기원한 물질이다. CSA는 cyclophilin에 결합하고 TAC는 FK-결합 단백질 12(FKBP12)와 결합하여 칼시뉴린을 억제한다.(17) 칼시뉴린은 활성화 T 세포의 nuclear factor (nuclear factor of activated T-cell; NFAT)의 탈인산화에 중요한 역할을 한다. 칼시뉴린을 억제하면 칼시뉴린의 탈인산화 능력과 NFAT를 활성화하는 능력이 억제되어 면역반응에 주요한 역할을 하는 사이토카인의 전사가 억제된다.(18)

CSA와 TAC은 장세포에서 *CYP3A4*, *CYP3A5*에 의해 대사된다.(19, 20) CSA의 경우 *CYP3A4*에 의해 주로 대사되고,(21) TAC는 *CYP3A5*에 의해 주로 대사된다.(22) 혈중에서 CSA는

대부분이 적혈구에 분포하고 나머지 소수는 백혈구에 분포한다. 혈장에서 90%는 지단백이나 알부민에 결합한다.(23)

CSA는 약동학적으로 개인간 다양성이 크고 좁은 치료역을 갖는 약물이다. CSA의 낮은 노출은 급성 및 만성 거부반응과 연관되고, 높은 노출은 신장독성, 심장독성, 대사 질환의 발생과 연관된다. 따라서 CSA를 복용하는 대상 환자의 노출에 기반하여 개인화된 약물 요법을 수행하는 것이 필요하다. 비록 신장이식 환자에서 급성 거부반응이나 독성과의 연관은 약하지만 이식환자에서 CSA 용량을 조절할 때에 노출에 대한 지표로 CSA의 최저 혈중 농도를 참고하여 추적한다.(24)

TAC 또한 개인간 및 개인내 약동학적 다양성이 큰 약물이다. TAC은 지용성 약물이고 빠르게 흡수되지만 대부분의 경우 경구 투여시 흡수시까지 지연 시간을 보인다.(25) TAC은 혈장 단백질 및 적혈구와 강하게 결합하여 비결합 분율은 1% 미만이다. *CYP3A*에 의해 대사되며 미변화로 노배설되는 비율은 1%가 되지 않는다.(26) TAC도 약물의 치료역이 좁으므로 용량이 적절히 조절되지 않으면 유효성이 감소되거나 또는 부작용이 발생할 수 있다. TAC은 주로 최저 혈중 농도를 측정하여 치료적 약물농도 모니터링을 수행한다. TAC의 AUC나 다른 시점에서의 약물 농도가 최저 혈중 농도에 비하여 임상적인 결과와 더 좋은 연관을 보였지만, 최저 혈중 농도를 측정하여 추적하는 것에 대비해서 최저 혈중 농도 이외의 다른 시점의 약물 농도를 측정하거나 AUC를 계산하여 추적하는 것의 임상적인 이득은 증명되지 않았다.(27, 28)

1.2.3. 미코페놀레이트

MPA 성분의 의약품은 에스테르 형태의 전구 약물인 mycophenolate mofetil 또는 나트륨염인 mycophenolate sodium의 2가지 형태로 이용된다. MMF는 경구 투여 후 carboxylesterase에 의해 빠르게 MPA로 활성화된다.(29) MPA는 inosine monophosphate dehydrogenase를 선택적으로 억제하여 세포 내의 guanosine을 고갈시켜서 T 림프구의 증식을 억제하는 방식으로 작용한다.(30) 장과 간에서 UDP glucuronosyl transferase (UGT)에 의한 2상 대사가 MPA의 주요 대사 경로이다. MPA의 주 대사체인 MPA 7-O-glucuronide (MPAG)로의 대사는 UGT에 의해 간, 신장 그리고 장에서 일어난다. 간에서의 MPAG 대사체 생성에는 UGT1A9이 주로 관여한다.(31) MPA의 또 다른 대사체인 acyl glucuronide MPA (AcMPAG)는 UGT2B7에 의해 생성되며, AcMPAG는 MPA와 유사한 약력학적 효능을 갖는다.(32) 소수의 MPA는 CYP3A4, CYP3A5, CYP2C8에 의해 6-O-desmethyl MPA로 대사된다.(33)

일부 연구에서 MPA의 노출과 신장이식의 임상적 성과 사이의 연관성에 대해 연구되었다. 급성 거부반응이 발생한 군과 그렇지 않은 군을 비교하였을 때 급성 거부반응이 발생한 군에서 MPA AUC₀₋₁₂의 평균이 더 낮았다.(34-36) MMF의 치료적 약물농도 모니터링에 대한 컨퍼런스 논의 결과 MPA의 최저 혈중농도보다는 MPA의 AUC₀₋₁₂에 기반하여 약물 용량을 조절할 것을 권장하였다. MPA에 대해 권장되는 AUC₀₋₁₂ 값의 표적은 신장이식 후 첫 6개월 동안 30-60 mg·h/L이다.(37) 그러나, AUC를 추적하여 진료에 활용하는 것은

임상적인 한계가 있으므로, limited sampling strategy에 기반한 AUC 추정이나 약동학 모델의 활용이 대안이 될 수 있다.

MPA에 대한 집단약동학 모델 개발 연구들에서는 연령, 체중, 크레아티닌 청소율, MPA 투여 용량, 병용 CSA 농도, nifedipine 병용 여부, 알부민 등이 MPA의 청소율에, 이식 후 기간 등이 MPA의 분포 용적에 유의미한 공변량으로 고려되었다.(38-43)

1.3. 유지 면역억제제의 약물 상호작용

1.3.1. CSA와 MMF의 상호작용

CSA와 MMF의 약물 상호작용은 SYMPHONY 임상시험의 하위 연구 결과에서 주목되었다. SYMPHONY 임상시험은 신이식 후 칼시뉴린 억제제에 대한 노출을 더 낮게 한 경우의 임상적 결과를 평가한 연구이다.(44) SYMPHONY 임상시험은 표준 용량의 CSA를 사용한 군과 daclizumab 유도요법을 하고 저용량의 CSA, TAC 또는 sirolimus를 사용한 3개의 군을 포함하여, 총 4개의 군으로 구성되어 있다.(44) 연구의 일차 평가 변수는 신장 생검으로 입증된 급성 거부반응이었으며 저용량 TAC 군에서 일차 평가변수의 발생 비율이 가장 낮았다.(44)

SYMPHONY 연구에서 CSA가 MMF와 함께 투여되었을 때 TAC 또는 sirolimus가 MMF와 함께 투여된 군과 비교하여 MPA의 노출은 감소하고 MPAG의 노출은 증가하였다.(45) CSA를 병용한 군에서 MPA의 노출이 낮은 원인은 CSA가 MPAG의 장간순환을 억제하였기

때문으로 생각된다. CSA는 OATP(organic anion-transporting peptide)와 MRP2(multidrug resistance-associated protein 2)를 억제하여 MPAG의 canalicular efflux와 basolateral uptake를 억제한다.(46)

1.3.2. TAC와 MMF의 상호작용

TAC과 MMF는 장기 이식 후 거부 반응을 예방하기 위해 처방되는 면역억제제이다.(13) 이전 임상시험 결과에 따르면 TAC과 MMF를 병용하였을 때, 이식 후 임상적인 성과가 유의미하게 개선되었다.(47-49) 그러나, TAC과 MMF는 치료역이 좁고 약동학적으로 개인간 다양성이 큰 약물이기 때문에 환자의 특성을 고려하여 정확한 약물 용량을 결정하는 것이 중요하다.(50, 51) 장기이식 후 면역억제제 유지 치료 과정에서 약물 부작용이나 감염으로 인해 면역억제제를 중단하거나 용량을 변경하는 것이 빈번하기 때문에, 면역억제제 간의 상호작용의 영향을 함께 고려하여 용량을 정확히 설정하는 것이 중요하다.(52)

MPA의 대사체 중 하나인 6-O-desmethyl-MPA (DM-MPA)는 주로 *CYP3A4*, *CYP3A5* 그리고 더 작은 비율로 *CYP2C8*에 의해 생성된다(apparent $K_m = 0.83 \pm 0.06$ mmol/L, $V_{max} = 5.57 \pm 0.29$ pmol/mg/min). Human liver microsome을 이용한 *in vitro* 실험에서, MPA에 의한 TAC의 대사 저해가 관찰된 바 있다.(33)

European Medical Agency (EMA)의 Cellcept® Summary of Product Characteristics (SmPC)의 약물상호작용 항에 TAC과의 약물상호작용에 대한 내용이 기재되어있다. 해당 기재 내용에 따르면 간

이식 환자에서 TAC과 MMF 병용시 TAC의 AUC가 20% 상승하는 것이 관찰된 바 있다.(53) 그러나, 신장이식 환자에서 TAC과 MMF를 병용하였을 때에는 상호작용이 관찰되지 않았다.(53)

상기 연구 결과와 대조적으로 TAC과 MMF 사이에 약물상호작용이 없다는 연구 결과도 제시된 바 있다. 해당 연구에서는 신장이식 환자에서 MPA의 AUC 범위에 따른 TAC의 약동학적 파라미터, TAC의 최저 혈중 농도의 범위에 따른 MPA의 약동학적 파라미터에 유의한 차이가 없어 두 약물 사이에 약물상호작용이 없다고 주장하였다.(54)

요약된 바와 같이 일부 연구에서 TAC와 MMF의 대사 경로에 공통적으로 관여하는 대사 효소 또는 수송체에 의해 상호작용이 발생할 가능성을 제기하였다.(33, 55, 56) 그러나 현재까지는 사람을 대상으로 TAC과 MMF의 상호작용에 대해 계량약리학 모델을 활용하여 연구된 바는 없다. 계량약리학 모델을 활용하여 약물상호작용을 평가하는 경우, 상호작용의 효과 추정이 가능하고 상호작용에 영향을 미치는 요인을 확인할 수 있으며, 개발된 계량약리학 모델을 활용하여 시뮬레이션이 가능하다.

1.4. 연구의 목적

본 연구는 건강한 성인 자원자를 대상으로 TAC과 MMF의 상호작용을 평가하고, 상호작용에 영향을 미치는 임상적 또는 유전적 요인을 선형 및 비선형 모델로 규명하고자 한다. 실제 TAC과 MMF를 병용하고 있는 신장이식 환자가 아닌 건강한 자원자에서 상호작용을 평가한 이유는 다음과 같다(57): 1) TAC과 MMF를 기반으로 하는 유지면역억제제 요법이 임상적으로 유효함이 알려져 있는 상황에서 상호작용의 평가를 위하여 둘 중 한 가지의 면역억제제를 중단하는 것은 비윤리적이다 2) 규제기관의 약물상호작용 평가 가이드라인에 따르면 항암제와 같은 고위험약물 이외에는 건강한 자원자에서 상호작용을 평가하는 것이 권고된다.

Chapter 2. Methods

2.1. 연구 설계 및 임상시험 대상자

임상시험은 전향적, 3기, 단일 시퀀스, 개방 표지, 단일 용량 시험으로 2015년부터 2016년 사이에 수행되었다(Figure 1). 본 임상시험의 선정 기준은 다음과 같다:

19세 이상 45세 이하 남성, 성별과 나이를 고려한 이상 체중과 실제 체중의 차이가 20% 이하, 이전에 질병에 대한 진단을 받은 병력이 없는 자, 신체 검진, 전혈구 계수, 심전도, 전해질, 임상화학 검사, 신기능, 간기능 검사상 정상 소견, 최근 1개월 이내 과음한 적 없고 연구 기간 중 금주를 유지할 수 있는 자.

다음 기준에 해당되는 자는 임상시험에서 제외되었다:

최근 1년 이내에 흡연한 경험이 있는 자, 연구 참여 1개월 이내에 다른 약물을 복용한 경험이 있는 자, 알코올 섭취 또는 약물 남용자, 최근 3개월 이내에 다른 임상연구에 참여한 경험이 있는 자.

비용 투입된 MMF에 의하여 TAC의 약동학적 특성이 변할 것이라는 가정 하에 TAC의 개체 내 변이를 고려하여 임상시험 대상자 수를 산출하였다. 기존 연구에 따르면 TAC의 AUC와 C_{max} 에 대한 변동 계수를 18%로 고려하였을 때(58), 적어도 80%의 검정력으로 약동학적 파라미터의 비율의 기하평균에 대한 양측 90% 신뢰구간이 80~125%가 되도록 하는 표본 크기는 13명이다. 전체 임상시험 기간이 3주임을 감안하여 탈락률을 약 30%로 설정하였을 때 최종적으로 산출된 표본 크기는 18명이다.

본 연구는 헬싱키 선언 및 ICH-GCP를 준수하여 윤리적 원칙과 해당되는 규제 요구사항에 따라서 수행되었다.(59) 본 연구는 서울대학교병원 기관윤리심의위원회의 승인을 받았으며 모든 대상자에게 연구에 대한 설명을 하고 자발적인 동의를 구하였다(IRB No. C-1506-155-686). 본 연구의 프로토콜은 clinicaltrials.gov에 공개되었다(Identifier NCT02743247).

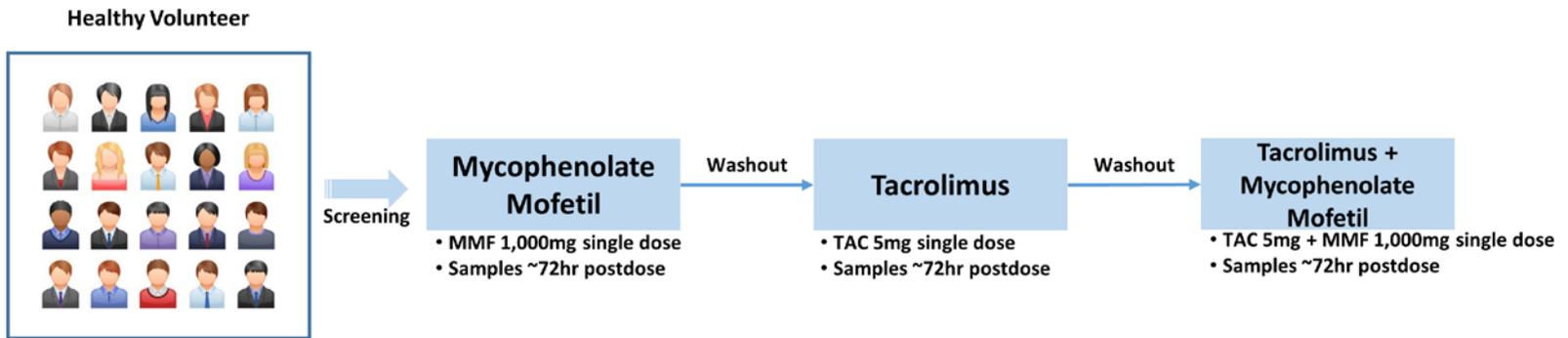


Figure 1. Schematic diagram of the design of clinical trial

2.2. 시험 약물 투여

임상시험 참여자들에게 임상시험 1기에 Mycophenolate mofetil (Cellcept®; Roche Korea, Seoul, Korea) 1,000 mg을 단독으로 투여하였다. 일주일 이후, Tacrolimus (Prograf®; Astellas Pharma Korea Inc., Seoul, Korea) 5 mg을 단독으로 투여하였다. 임상시험의 마지막 3기에는 MMF 1,000 mg과 TAC 5 mg을 병용 투여하였다. 시험 약물은 공복에 240 mL의 물과 복용하였다. 시험 약물 복용 후 2시간 동안은 앉은 자세를 유지하도록 하였고, 물과 음식은 각각 약물 투여 후 2시간, 4시간 이후에 허용되었다.

2.3. 약물 혈중 농도 분석

혈액 검체를 약물 투여 전, 투여 후 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24, 48, 72, 그리고 168 시간 이후에 채혈하였다. 각 시점에 확보한 검체에서 TAC과 mycophenolic acid (MPA), MPA의 대사체인 MPA 7-O-glucuronide (MPAG)와 MPA acyl glucuronide (AcMPAG)의 농도를 분석하였다. MPA 및 대사체의 농도를 분석하기 위한 검체는 채혈 후 4 °C, 3,000 rpm의 조건에서 15분간 원심분리하였다. 분리한 혈장에 phosphoric acid (850 g/L; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)를 첨가하여 pH를 2.5로 맞추었다.(60) 혈액 및 혈장 검체는 분석 전까지 -70°C에서 보관하였다.

전혈에서 TAC의 농도는 액체 크로마토그래피(LC; Shimadzu HPLC, Shimadzu, Japan) - 질량분석기(MS/MS; QTRAP® 5500, AB Sciex,

USA)로 다중 반응 모니터링 방법으로 분석하였다. 내부표준물로 rapamycin을 사용하였다. TAC과 내부표준물을 Capcell PAK MGIII (3.0 x 50 mm, 3 μ m; Shiseido, Tokyo, Japan) 컬럼으로 분리하였다. 이동상은 5 mM ammonium acetate와 methanol로 구성되었다. TAC의 0.5-100 ng/mL의 농도 범위로 검량선을 작성하였다. 해당 범위에서 TAC의 농도는 선형이었고 분석 농도의 변동 계수는 6% 미만이었다.

혈장에서 MPA, MPAG, AcMPAG의 농도는 LC-MS/MS를 이용하여 다중 반응 모니터링 방법으로 분석하였다. 내부표준물로 각각 MPA-d3, MPA-d3 β -D-glucuronide, 그리고 MPA-d3 acyl- β -D-glucuronide을 사용하였다. Cadenza CD-C18 (3.0 x 150 mm, 3 μ m; Imtakt, Kyoto, Japan) 컬럼으로 물질을 분리하였다. 이동상은 0.1% formic acid를 함유한 5 mM ammonium acetate와 acetonitrile로 구성되었다. MPA, MPAG 그리고 AcMPAG에 대한 검량선은 0.1-100, 0.1-100, 그리고 0.2-20 μ g/mL의 범위에서 선형이었다. 분석 농도의 변동 계수는 5% 미만이었다.

2.4. 유전형 분석 및 자료 수집

약물 투약 전 채혈한 혈액 검체에서 QIAamp DNA blood kit (Qiagen, Valencia, CA)으로 DNA를 추출하였다. TAC과 MMF의 약동학과 연관된 것으로 알려진 *CYP3A4**1G (rs2242480), *CYP3A5**3 (rs776746), *SLCO1B1**1B (rs2306283), *SLCO1B1**5 (rs4149056), *SLCO1B3* 334T>G (rs4149117), *SLCO1B3* 699G>A (rs7311358), *ABCC2* -24C>T (rs717620), *ABCC2* 1249G>A (rs2273697),

ABCC2 3972C>T (rs3740066), *UGT1A9**1b (rs3832043), 그리고 *UGT2B7* 802C>T (rs7439366)의 유전자형을 ABI PRISM SNaPshot Multiplex kit (Applied Biosystems, Foster City, CA) 또는 direct sequencing의 방법으로 분석하였다. 분석한 유전자형의 대립유전자 빈도가 하디 바인베르크 평형을 만족하는지 검정하였다.

연령, 체중, 키, 혈청 크레아티닌, MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) 방식으로 추정된 사구체 여과율(61), 헤모글로빈, 헤마토크릿, 알부민, 총 빌리루빈, 절대 호중구 수를 약물 투약 시점에 검사하였고 검사 결과를 수집하였다.

2.5. 비구획 분석

비구획 분석을 활용하여 개인별 약동학 파라미터를 추정하였다. TAC, MPA, MPAG, 그리고 AcMPAG에 대하여 추정된 약동학 파라미터는 C_{max} , t_{max} , AUC_{0-12} , AUC_{0-24} , AUC_{0-48} , AUC_{0-72} , 그리고 AUC_{0-inf} 이다. TAC 또는 MMF를 단독 투약했을 때의 약동학 파라미터와 TAC과 MMF를 병용 투약했을 때의 약동학 파라미터를 비교하였다. Paired *t*-test 또는 signed rank test로 통계적 유의성을 검정하였다. 비구획 분석시 WinNonLin® version 6.4 (Pharsight, Mountain View, CA)을 사용하였다.

2.6. 집단약동학 모델 개발

2.6.1. 개별 집단약동학 모델 개발

TAC과 MMF의 약동학 모델을 독립적으로 개발하였고, 각각의 모델을 개발한 이후에 약물 상호작용 파라미터를 반영하여 TAC과 MMF의 개별 모델이 통합된 상호작용 모델을 개발하였다. 각각의 모델 개발시에는 구조 모형 개발, 오차 모형 개발, 공변량의 반영, 모델의 타당성 검토 과정을 거쳤다. 약동학 파라미터의 개인간 다양성은 개별 약동학 파라미터에 지수적인 형태로 고려되었다.

TAC 단독 투여 후 확보한 혈중 농도 자료를 이용하여 TAC의 집단 약동학 모델을 개발하였다. 혈중 농도 자료를 적합하기 위하여 1-구획, 2-구획 모델을 비교하였다. TAC의 흡수 양상을 표현하기 위하여 일차 흡수, 지연 시간 모형, 트랜짓 모형 등의 다양한 흡수 모형을 검정하였다. MMF 단독 투여 후 확보한 혈중 농도 자료를 이용하여 MMF의 집단 약동학 모델을 개발하였다. 먼저 MPA 모델을 개발하고, 장간 순환과 MPAG, AcMPAG 구획을 단계적으로 추가 고려하였다. 각 약물의 청소율 및 분포 용적 파라미터에 임상 변수 및 유전자형의 영향을 고려하였다. 임상 변수 및 유전자형 공변량의 평가는 Perl-speaks-NONMEM (PsN) version 4.4.8의 stepwise covariate modeling (SCM) 방법을 활용하였다.(62, 63) 공변량을 포함한 약동학 모델의 목적함수 값이 공변량을 포함하지 않은 모델에 비하여 3.84 ($p < 0.05$) 초과로 감소한 경우 공변량의 고려가 약동학 모델을 유의미하게 개선한 것으로 평가하였다. 유의미한 공변량을 모두 포함한 약동학

모델에서 공변량을 하나씩 제거했을 시 목적함수 값이 6.63 ($p < 0.01$) 초과로 증가하는 경우, 해당 공변량은 유의미한 것으로 평가하였다.

정량한계 미만의 농도 측정값의 유무에 따라 Laplacian + Interaction (LAPL+I) 또는 first-order conditional estimation + Interaction (FOCE+I) 방법으로 약동학 모델 파라미터를 추정하였다.(64) 정량한계 미만의 농도가 전체 농도의 10% 미만인 경우, 해당 농도 측정값을 무시하고 FOCE+I 방법을 활용하였다.(65) 정량한계 미만의 농도가 전체 농도의 10%를 초과하는 경우 LAPL+I 방법으로 추정한 후, 정량한계 미만의 측정값을 모델에서 예측한 혈중 농도 값으로 대체하였다. 그 후 FOCE+I 추정법으로 분석하였다.

2.6.2. 상호작용 집단약동학 모델 개발

개별적으로 개발한 TAC과 MMF의 집단약동학 모델을 상호작용 파라미터로 연결하여 상호작용 모델을 개발하였다. TAC과 MPA 사이의 상호작용을 추정하기 위하여 선형(Equation 1), 지수형(Equation 2), E_{max} (Equation 3) 형태의 모델을 검정하였다.

$$\text{Interaction} = \text{Slope} \cdot C_{MPA} \quad (\text{Equation 1})$$

$$\text{Interaction} = \frac{1}{e^{\text{Slope} \cdot C_{MPA}}} \quad (\text{Equation 2})$$

$$\text{Interaction} = \frac{E_{max} \cdot C_{MPA}}{EC_{50} + C_{MPA}} \quad (\text{Equation 3})$$

2.6.3. 모델의 평가

집단약동학 모델 개발 과정에서 모델의 개선 여부는 목적함수의 감소, 추정된 약동학 파라미터의 과학적 타당성, 상대 표준 오차, shrinkage 파라미터, goodness-of-fit으로 평가하였다. Goodness-of-fit은 R version 3.2.2 소프트웨어의 Xpose 4를 이용하여 시각적으로 평가하였다.(66) 1,000회의 시뮬레이션에 기반한 시각적 예측 점검(visual predictive check, VPC)으로 개발된 모델의 내적 타당성을 평가하였다.(67)

2.6.4. 소프트웨어

NONMEM version 7.3.0 (ICON Development Solutions, Hanover, MD)을 활용하여 집단 약동학 모델을 개발하였고, 공변량의 평가 및 모델의 내적 타당성 평가시에 PsN version 4.4.8과 R software version 3.2.2를 활용하였다.

Chapter 3. Results

3.1. 인구학적 특성

총 18명의 건강한 성인 자원자가 연구에 참여하였다(Table 1). 한 명의 참여자에서 MMF 투약 이후 급성 신기능 손상이 발생하였고, 해당 참여자는 중도 탈락하였다. 연구 참여자의 연령 중앙값은 25세(범위 20-42)였다. 분석한 유전자형의 대립 유전자 빈도는 Table 2와 같다. 분석한 유전자형의 빈도는 하디 바인베르크 평형을 만족하였다(Table 3). 네 명의 참여자가 *CYP3A5* expresser (*CYP3A5**1/*1 또는 *CYP3A5**1/*3)였다.

Table 1. Baseline characteristics of enrolled healthy volunteers
(n=17)

Characteristics	Median	Range (min–max)
Age (yr)	25	20–42
Weight (kg)	69.7	57.4–88.3
Height (cm)	173.4	167.7–192.8
Hemoglobin (g/dL)	15	13.6–16.2
Hematocrit (%)	44.6	41.0–47.4
ANC ($/\mu\text{L}$)	3,022	1,553–5,858
Serum creatinine (mg/dL)	0.86	0.79–1.20
MDRD GFR (mL/min/1.73m ²)	104.8	74.1–122.3
Albumin (g/dL)	4.6	4.2–4.9
Total bilirubin (mg/dL)	0.8	0.5–1.2
<i>CYP3A5</i> expresser ^a	4	23.5%

^a*CYP3A5* expresser is presented as number and proportion

ANC, absolute neutrophil count; *CYP3A5* expresser, *CYP3A5* *1/*1 or *CYP3A5* *1/*3; GFR, glomerular filtration rate

Table 2. Primer sequence and experimental condition for genotyping

Gene	rs number	Primer	Sequence	Tm
<i>CYP3A4</i>	rs2242480	Forward	CCAGCAGAAACTGC AGG	60
		Reverse	GAGTCAGTGAAAG AATCAGTGATT	
		Genotyping	TACCCAATAAGGT GAGTGGATG	
<i>CYP3A5</i>	rs776746	Forward	TTATGGAGAGTGG CATAGGA	60
		Reverse	GCTGATTAAACTT CACTAGCC	
		Genotyping	CTCTTTAAAGAGM TCTTTTGTCTTTC A	
<i>SLCO1B1</i>	rs2306283	Forward	TGTTCTTACAGTT ACAGGTATTC	55
		Reverse	TCCAGTTCAGAtgga caaa	
		Genotyping	atggtgaaKtttctgatgaat	
<i>SLCO1B1</i>	rs4149056	Forward	tgtcaaagtttgcaaagtg	60
		Reverse	GGACCAATCATTG CTATTG	
		Genotyping	TCTGGGTCATACA TGTGGATATRTG	
<i>SLCO1B3</i>	rs4149117	Forward	ttgagggaaggtacaatgctc	55
		Reverse	ggtgaagttgtgaagcctta	

Gene	rs number	Primer	Sequence	Tm
		Genotyping	TGGGAAMTGGAAAG TATTTTGACA	
<i>SLCO1B3</i>	rs7311358	Forward	CTGGATCTACCCTT GAAAT	55
		Reverse	GATTATTAATGGA TTTATTTCTAC	
		Genotyping	GATCTACATATCC AATATCCACGTA	
<i>ABCC2</i>	rs717620	Forward	TGTACTTTGGGAA CTGGTG	55
		Reverse	TCTGGTTCTTGTT GGTGAC	
		Genotyping	catgattcctggactgcgtct ggaaY	
<i>ABCC2</i>	rs2273697	Forward	tggaggaaggtgggaataa	55
		Reverse	GGTCCCAACTCTCT CCATA	
		Genotyping	CCAACTTGGCCAGG AAGGAGTACACC	
<i>ABCC2</i>	rs3740066	Forward	CCCTGGGTGACTGA TAAGA	55
		Reverse	TCCCTCTGATACTG TGTCC	
		Genotyping	TCCTCAGAGGGATC ACTTGTGACAT	
<i>UGT1A9</i>	rs3832043	Forward	AGGCGAGCCCCAAT TTAG	60

Gene	rs number	Primer	Sequence	Tm
		Reverse	CAAAGCCACAGGTC AGCA	
<i>UGT2B7</i>	rs7439366	Forward	TTTCAAAGCACAG ATATTTGCCT	60
		Reverse	gtgtttgtgctaatacccttg t	
		Genotyping	CGAAACTCCTGGA ATTTTCAGTTTCC W	

Table 3. Genotype and allele frequencies of analyzed polymorphisms

Gene	rs number	Genotype	<i>n</i>	MAF	HWE <i>P</i> - value
<i>CYP3A4</i>	rs2242480	GG	13	0.147	0.22
		GA	3		
		AA	1		
<i>CYP3A5</i>	rs776746	GG	13	0.147	0.22
		GA	3		
		AA	1		
<i>SLCO1B1</i>	rs2306283	GG	10	0.235	0.94
		GA	6		
		AA	1		
<i>SLCO1B1</i>	rs4149056	TT	11	0.176	0.38
		TC	6		
		CC	0		
<i>SLCO1B3</i>	rs4149117	GG	8	0.382	0.12
		GT	5		
		TT	4		
<i>SLCO1B3</i>	rs7311358	AA	8	0.382	0.12
		AG	5		
		GG	4		
<i>ABCC2</i>	rs717620	CC	11	0.176	0.38
		CT	6		
		TT	0		
<i>ABCC2</i>	rs2273697	GG	15	0.059	0.80
		GA	2		
		AA	0		
<i>ABCC2</i>	rs3740066	CC	9	0.294	0.54
		CT	6		
		TT	2		
<i>UGT1A9</i>	rs3832043	TT	8	0.294	0.58
		T/-	8		
		-/-	1		
<i>UGT2B7</i>	rs7439366	CC	7	0.324	0.39
		CT	9		
		TT	1		

3.2. 비구획 분석

TAC, MPA, MPAG, 그리고 AcMPAG에 대하여 총 1,082개의 약물 농도를 측정하였다. TAC을 단독 투약 했을 때와 비교하여 TAC과 MMF를 병용 투약 했을 때 AUC_{0-inf} 가 유의하게 증가하였다 (병용 투약 vs. 단독 투약, 393.6 ± 121.7 vs. 322.4 ± 174.1 ng · h/mL, $P < 0.05$) (Table 4). 병용 투약 하였을 때 C_{max} 가 증가하였으나 그 차이가 통계적으로 유의하지는 않았다 (병용 투약 vs. 단독 투약, 35.0 ± 12.5 vs. 33.5 ± 10.6 ng/mL, $P = 0.5825$). TAC의 청소율은 MMF와 병용 투약했을 때 통계적으로 유의미하게 감소하였다 (병용 투약 vs. 단독 투약, 14.2 ± 5.8 vs. 20.1 ± 10.7 L/h, $P < 0.05$). MPA, MPAG, 그리고 AcMPAG의 약동학 파라미터는 MMF 단독 투약과 TAC과 MMF 병용 투약 시기 사이에 통계적으로 유의한 차이가 없었다 (Table 5).

Table 4. Pharmacokinetic parameters of tacrolimus estimated by the non-compartmental analysis after administration of TAC alone or in combination with MMF

Parameter	TAC (mean ± SD)	TAC + MMF (mean ± SD)	<i>P</i> value
C_{\max} (ng/mL)	33.5 ± 10.6	35.0 ± 12.5	0.5825
t_{\max} (h)	1 (1-2)	2 (1-4)	–
AUC ₀₋₁₂ (ng · h/mL)	139.3 ± 61.7	167.3 ± 54.9	< 0.05
AUC ₀₋₂₄ (ng · h/mL)	180.2 ± 85.0	221.8 ± 71.0	< 0.05
AUC ₀₋₄₈ (ng · h/mL)	235.1 ± 117.4	292.0 ± 91.5	< 0.05
AUC ₀₋₇₂ (ng · h/mL)	267.9 ± 137.2	333.0 ± 103.9	< 0.05
AUC _{0-inf} (ng · h/mL)	322.4 ± 174.1	393.6 ± 121.7	< 0.05
CL/ <i>F</i> (L/h)	20.1 ± 10.7	14.2 ± 5.8	< 0.05

TAC, tacrolimus; MMF, mycophenolate mofetil; SD, standard deviation; C_{\max} , maximum concentration; t_{\max} , time of maximum concentration; AUC, area under the blood concentration–time curve from time 0 to infinity or pre-specified time points; CL/*F*, apparent clearance

CL/*F* was calculated from dose and AUC_{0-inf}; t_{\max} is presented as median (min–max); *P* value was obtained by paired *t*-test or signed rank test

Table 5. Pharmacokinetic parameters of MPA, MPAG, and AcMPAG estimated by the non-compartmental analysis after administration of MMF alone or in combination with TAC

Parameter	MMF (mean \pm SD)	TAC + MMF (mean \pm SD)	<i>P</i> value
<i>MPA</i>			
C_{\max} (μ g/mL)	24.5 \pm 17.2	23.2 \pm 8.3	0.7819
t_{\max} (h)	1 (1-1)	1 (1-2)	–
AUC ₀₋₁₂ (μ g \cdot h/mL)	43.1 \pm 23.3	43.1 \pm 12.1	0.3529
AUC ₀₋₂₄ (μ g \cdot h/mL)	56.1 \pm 25.3	56.4 \pm 14.2	0.3060
AUC ₀₋₄₈ (μ g \cdot h/mL)	69.7 \pm 25.7	69.8 \pm 17.8	0.4586
AUC ₀₋₇₂ (μ g \cdot h/mL)	73.3 \pm 25.9	72.7 \pm 18.8	0.5791
AUC _{0-inf} (μ g \cdot h/mL)	74.7 \pm 26	74.0 \pm 19.3	0.5791
<i>MPAG</i>			
C_{\max} (μ g/mL)	40.7 \pm 9.9	41.5 \pm 10.6	0.7743
t_{\max} (h)	2 (1-4)	2 (1-4)	–
AUC ₀₋₁₂ (μ g \cdot h/mL)	223.7 \pm 62.5	229 \pm 56	0.4967
AUC ₀₋₂₄ (μ g \cdot h/mL)	315.7 \pm 85.7	329.5 \pm 79.1	0.2085
AUC ₀₋₄₈ (μ g \cdot h/mL)	404.3 \pm 95.6	417.2 \pm 95.3	0.3159
AUC ₀₋₇₂ (μ g \cdot h/mL)	431.1 \pm 97.7	438 \pm 96.8	0.5905
AUC _{0-inf} (μ g \cdot h/mL)	440.5 \pm 98.7	445.1 \pm 95.7	0.7233
<i>AcMPAG</i>			
C_{\max} (μ g/mL)	0.7 \pm 0.3	0.8 \pm 0.3	0.8731
t_{\max} (h)	1 (1-1)	1 (1-2)	–
AUC ₀₋₁₂ (μ g \cdot h/mL)	2.7 \pm 1.3	2.8 \pm 1.0	0.4301
AUC ₀₋₂₄ (μ g \cdot h/mL)	3.6 \pm 2.0	3.9 \pm 1.5	0.2224
AUC ₀₋₄₈ (μ g \cdot h/mL)	4.5 \pm 2.8	4.8 \pm 2.1	0.3654
AUC ₀₋₇₂ (μ g \cdot h/mL)	4.9 \pm 3.3	5.1 \pm 2.4	0.6606
AUC _{0-inf} (μ g \cdot h/mL)	5.5 \pm 4.0	5.4 \pm 2.6	0.8233

MMF, mycophenolate mofetil; MPA, mycophenolic acid; MPAG, MPA 7-O-glucuronide; AcMPAG, MPA acyl glucuronide; TAC, tacrolimus; SD, standard deviation; C_{\max} , maximum concentration; t_{\max} , time of maximum concentration; t_{\max} is presented as median (min-max); AUC, area under the blood concentration-time curve from time 0 to infinity or pre-specified time points; P value was obtained by paired t -test or signed rank test

3.3. 집단약동학 모델 개발

TAC과 MMF 개별 약물에 대한 집단약동학 모델과, 상호작용을 고려하여 통합된 집단약동학 모델은 Figure 2와 같은 구조 모형으로 개발되었다. 집단약동학 모델의 약동학 파라미터 추정치, 상대 표준 오차, 약동학 파라미터의 다양성은 Table 6에 제시되었다.

TAC의 약동학은 2-구획, 일차 흡수 및 지연 시간, 일차 제거 모델로 가장 잘 설명되었다. TAC 단독 투약 시 TAC의 청소율, 분포 용적은 각각 17.8 L/hr, 108 L로 추정되었다. TAC 집단약동학 모델의 오차를 설명하기 위하여 proportional error model이 사용되었다. 공변량 평가시 *CYP3A5* 유전자형만이 유의미한 공변량으로 평가되었다. *CYP3A5* expresser인 경우 TAC의 청소율이 1.26배로 증가하였다.

MPA의 약동학은 2-구획, 일차 흡수 모델로 가장 잘 설명되었다. 장간순환은 가상의 담낭 구획을 설정하여 설명하였다. 식사 시간 (MTIME1), 담즙액이 배출되는 시간(MTIME2), 담즙액의 배출 속도 상수(k_{84}), 장간순환 비율을 설정하여 담즙액이 배출되는 과정을 설명하였다. 담즙액이 배출되는 시간은 이전 문헌을 참조하여 1 시간으로 고정하였다.(68) MPA가 MPAG로 대사되는 비율은 85%로 고정하였다.(69-71) 장간순환을 설명하는 모델 파라미터는 MTIME1 7.99 h, 담즙액 배출 속도 상수 263 h^{-1} , 장간순환 비율 42.7%로 추정되었다. MPA의 신배설은 AcMPAG 형태로 이루어지는 것으로 가정하였다. AcMPAG의 제거 상수와 분포 용적은 LAPL+I 추정치 2.15 h^{-1} 와 23 L로 각각 추정되었고, 이후의 모델 개발 과정에서 해당 값으로 고정되었다. 공변량 평가시 어떠한 공변량도 모델을 유의미하게

개선하지 못했다.

TAC과 MPA 사이의 상호작용을 설명하기 위하여 선형, 지수형, E_{\max} 형태의 상호작용 모델을 검정하였다. 지수형 모델이 상호작용을 가장 적절히 설명하였고 지수의 계수는 0.0294로 추정되었다. 상호작용을 고려한 모델에서 TAC의 청소율은 13.8 L/h로 감소하였다. 상호작용을 고려한 모델에서도 *CYP3A5* 유전자형은 유의미한 공변량으로 평가되었다. TAC의 청소율에 대한 수식은 Equation 4와 같다.

$$CL/F \text{ (L/h)} = 13.6 \cdot \frac{1}{e^{0.0294 \cdot C_{MPA}}} \cdot 1.48^{CYP3A5} \quad (\text{Equation 4})$$

수식에서 *CYP3A5* expresser인 경우 *CYP3A5* 값은 1이며, nonexpresser인 경우 *CYP3A5* 값은 0임. C_{MPA} 는 MPA의 혈중농도를 의미함.

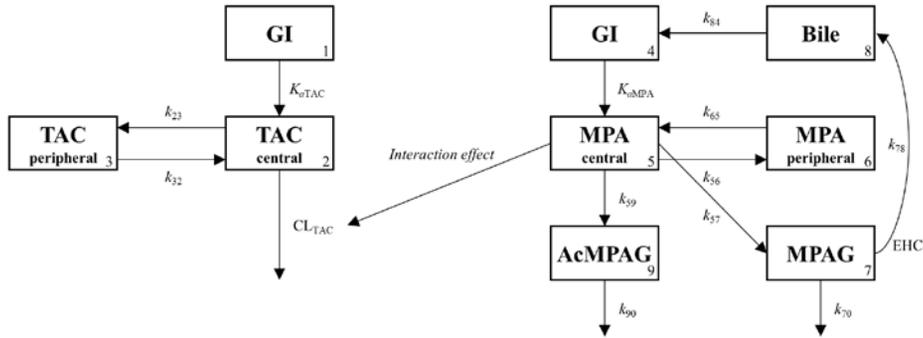


Figure 2. Schematic presentation of an integrated population pharmacokinetic model

Compartments: gastrointestinal tract (GI, 1, 4), central compartment for tacrolimus (2); peripheral compartment for tacrolimus (3), central compartment for mycophenolic acid (5), peripheral compartment for mycophenolic acid (6), compartment for mycophenolic acid 7-O-glucuronide (7), compartment for gall bladder (8), compartment for mycophenolic acid acyl glucuronide (9). TAC, tacrolimus; K_a , absorption rate constant; k_{23} , k_{32} , k_{56} , and k_{65} , intercompartment rate constants; CL , clearance; MPA, mycophenolic acid; MPAG, MPA 7-O-glucuronide; AcMPAG, MPA acyl glucuronide; k_{57} and k_{59} , metabolized rate constants for mycophenolic acid; EHC, enterohepatic circulation; k_{78} , biliary recirculation of MPAG into GI; k_{70} and k_{90} , eliminated rate constants; k_{84} , gallbladder emptying rate constant; Meal times were used to trigger timing of gall bladder emptying.

Table 6. Population pharmacokinetic parameter estimates of models for TAC and MMF

Parameter	Independent model		Integrated model	
	Population mean value (%RSE)	IIV CV% (%RSE)	Population mean value (%RSE)	IIV CV% (%RSE)
<i>Tacrolimus</i>				
CL_{TAC} (L/h)	17.8 (11%)	50.9% (14%)	13.8 (11%)	26.4% (19%)
V_{TAC} (L)	108 (12%)	44.4% (13%)	93 (9%)	30.8% (13%)
K_{aTAC} (h^{-1})	3.75 (60%)	160% (36%)	1.78 (43%)	93% (18%)
k_{23} (h^{-1})	0.326 (4%)	–	0.313 (6%)	–
k_{32} (h^{-1})	0.069 (5%)	–	0.0719 (6%)	–
Lag time (h)	0.627 (26%)	–	0.59 (30%)	–
<i>CYP3A5</i> on CL_{TAC}	1.26 (7%)	–	1.48 (16%)	–
$\sigma_{prop TAC}$	0.131 (13%)	–	0.131 (12%)	–
<i>Mycophenolic acid</i>				
CL_{MPA} (L/h)	16.1 (7%)	25.9% (35%)	16.3 (7%)	18.7% (32%)
V_{MPA} (L)	16.8 (12%)	40.9% (28%)	19.7 (11%)	18.2% (27%)
K_{aMPA} (h^{-1})	2.06 (14%)	69.7% (17%)	2.29 (9%)	56.6% (28%)
k_{56} (h^{-1})	1.33 (6%)	–	1.12 (10%)	–
k_{65} (h^{-1})	0.109 (9%)	–	0.131 (7%)	–
k_{70} (h^{-1})	0.256 (10%)	–	0.251 (13%)	–
V_{MPAG} (L)	5.13 (7%)	–	5.83 (7%)	–
f_{MPA}	0.85 fix	–	0.85 fix	–
EHC (%)	0.427 (10%)	30.1% (22%)	0.367 (15%)	35.5% (18%)
k_{84} (h^{-1})	263 (540%)	–	18.4 (160%)	–
MTIME1	7.99 (0%)	–	7.96 (1%)	–

Parameter	Independent model		Integrated model	
	Population mean value (%RSE)	IIV CV% (%RSE)	Population mean value (%RSE)	IIV CV% (%RSE)
MTIME2	1 fix	–	1 fix	–
V_{AcMPAG} (L)	23 fix	–	23 fix	–
k_{90} (h^{-1})	2.15 fix	–	2.15 fix	–
σ_{prop} MPA	0.516 (9%)	–	0.524 (7%)	–
σ_{add} MPAG	0.186 (44%)	–	0.104 (31%)	–
σ_{prop} MPAG	0.172 (8%)	–	0.237 (12%)	–
σ_{prop} AcMPAG	0.654 (31%)	–	0.651 (22%)	–
Interaction	–	–	0.0294 (154%)	–

IIV, interindividual variability; CV, coefficient of variation; RSE, relative standard error; F, fraction of the dose absorbed; CL , clearance; TAC, tacrolimus; V , volume of distribution; K_a , first-order absorption rate constant; k_{23} , k_{32} , k_{56} , and k_{65} , intercompartment rate constants; MPA, mycophenolic acid; k_{70} and k_{90} , eliminated rate constants; $CYP3A5$, $CYP3A5$ expressers ($CYP3A5*1/*1$ or $CYP3A5*1/*3$); f_{MPA} , fraction of MPA which metabolized to MPAG; EHC, enterohepatic circulation; k_{84} , gallbladder emptying rate constant; MTIME1, meal time; MTIME2, Gallbladder emptying duration; MPAG, MPA 7-O-glucuronide; AcMPAG, MPA acyl glucuronide; σ_{prop} , proportional residual error; σ_{add} , additive residual error

3.4. 모델의 평가

상호작용을 고려한 최종 모델에서 TAC에 대한 goodness of fit은 Figure 3와 같다. 개인간 다양성을 고려한 모델이 TAC의 약동학을 더 잘 설명하는 것을 확인하였다. Conditional weighted residual (CWRES)는 시간 또는 약물 농도 추정값에 따른 분포의 차이를 보이지 않았다. MPA, MPAG, 그리고 AcMPAG에 대한 goodness-of-fit 또한 개인간 다양성을 고려한 약동학 모델이 각각의 약동학을 더 잘 설명하는 것을 보여주었다(Figure 4-6).

상호작용을 고려한 모델에서 TAC, MPA, MPAG, 그리고 AcMPAG의 VPC는 Figure 7과 같다. VPC 결과 실제 관찰된 농도가 신뢰구간 안에 적절히 포함되어 개발된 모델이 내적으로 타당함을 확인하였다.

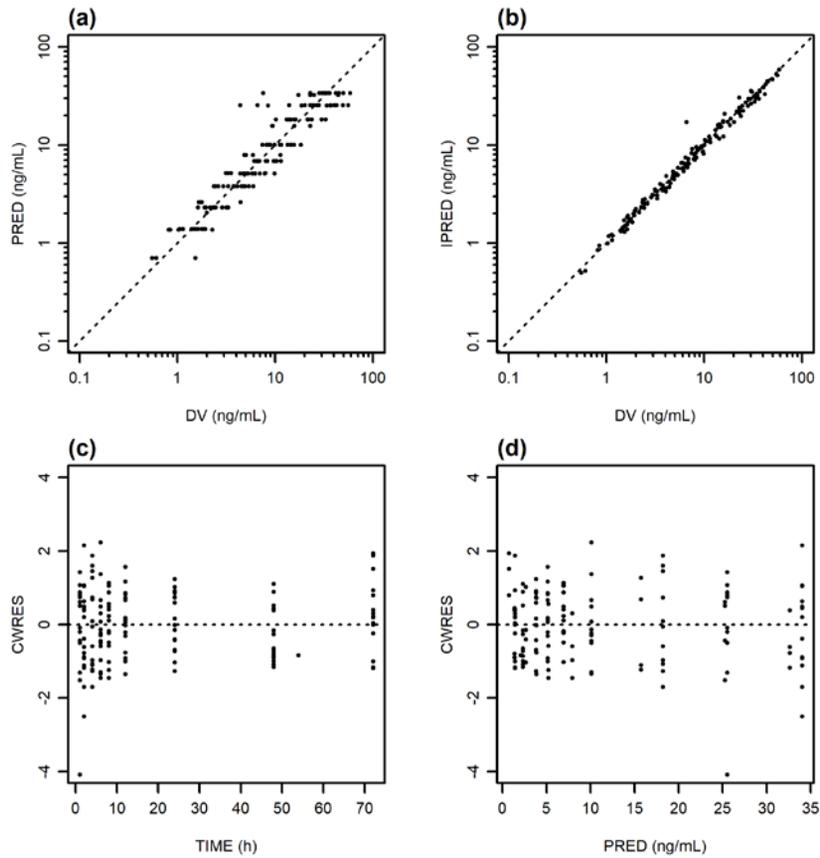


Figure 3. Goodness of fit plot of tacrolimus for the integrated population pharmacokinetic model
 (a) population prediction (PRED) *vs.* observed concentration (DV);
 (b) individual prediction (IPRED) *vs.* DV; (c) conditional weighted residual (CWRES) *vs.* TIME; (d) CWRES *vs.* PRED.

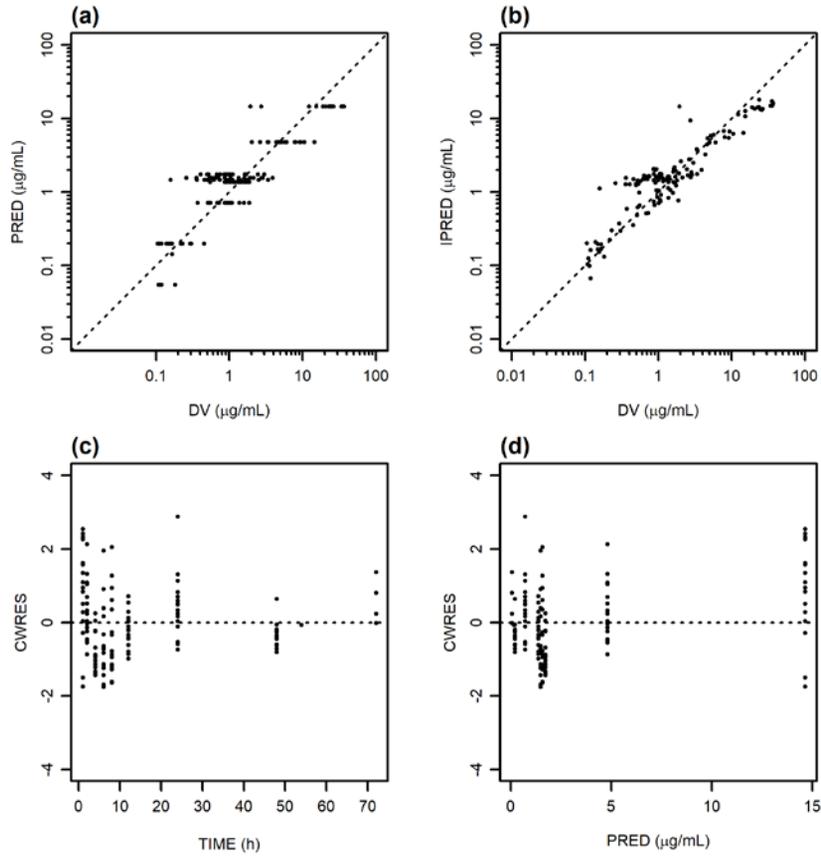


Figure 4. Goodness of fit plot of mycophenolic acid for the integrated population pharmacokinetic model
 (a) population prediction (PRED) vs. observed concentration (DV);
 (b) individual prediction (IPRED) vs. DV; (c) conditional weighted residual (CWRES) vs. TIME; (d) CWRES vs. PRED.

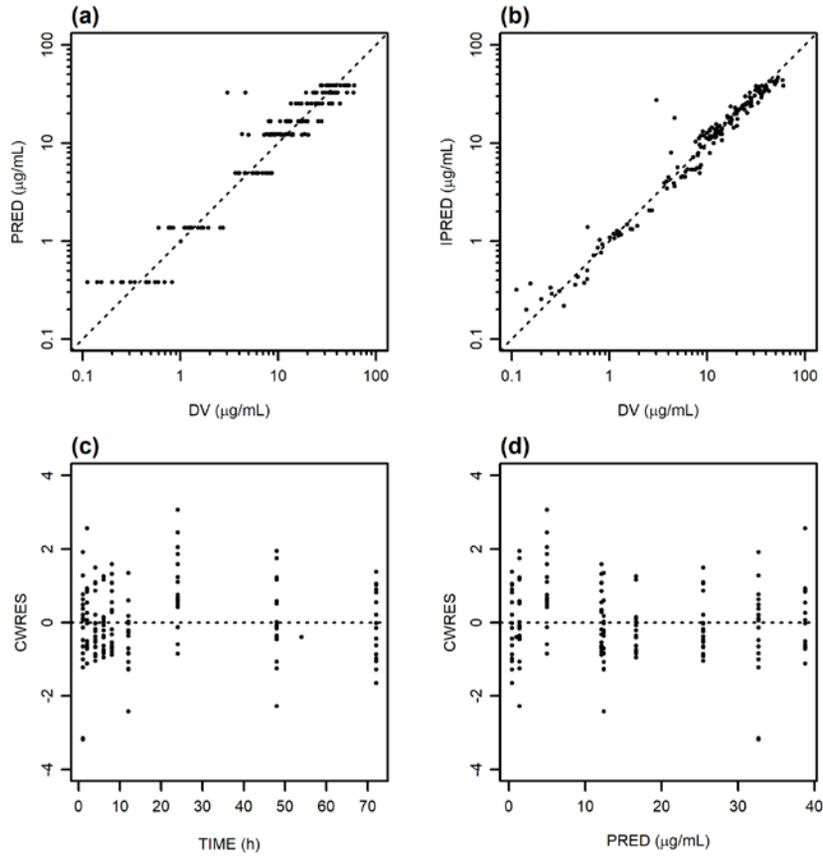


Figure 5. Goodness of fit plot of mycophenolic acid 7-O-glucuronide for the integrated population pharmacokinetic model (a) population prediction (PRED) vs. observed concentration (DV); (b) individual prediction (IPRED) vs. DV; (c) conditional weighted residual (CWRES) vs. TIME; (d) CWRES vs. PRED.

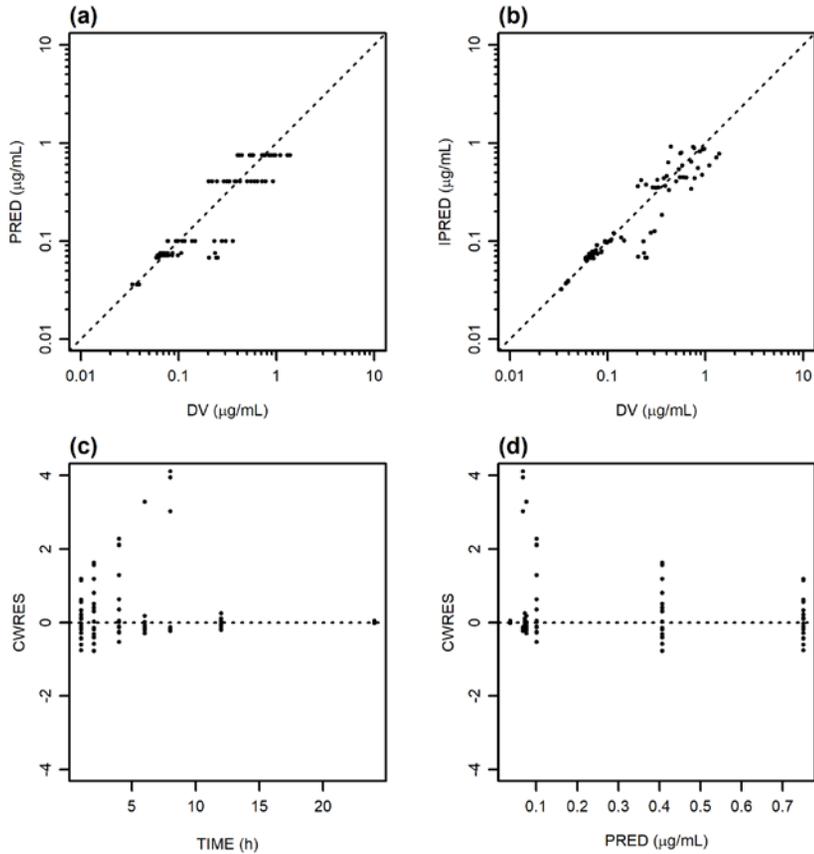


Figure 6. Goodness of fit plot of mycophenolic acid acyl glucuronide for the integrated population pharmacokinetic model
 (a) population prediction (PRED) *vs.* observed concentration (DV);
 (b) individual prediction (IPRED) *vs.* DV; (c) conditional weighted residual (CWRES) *vs.* TIME; (d) CWRES *vs.* PRED.

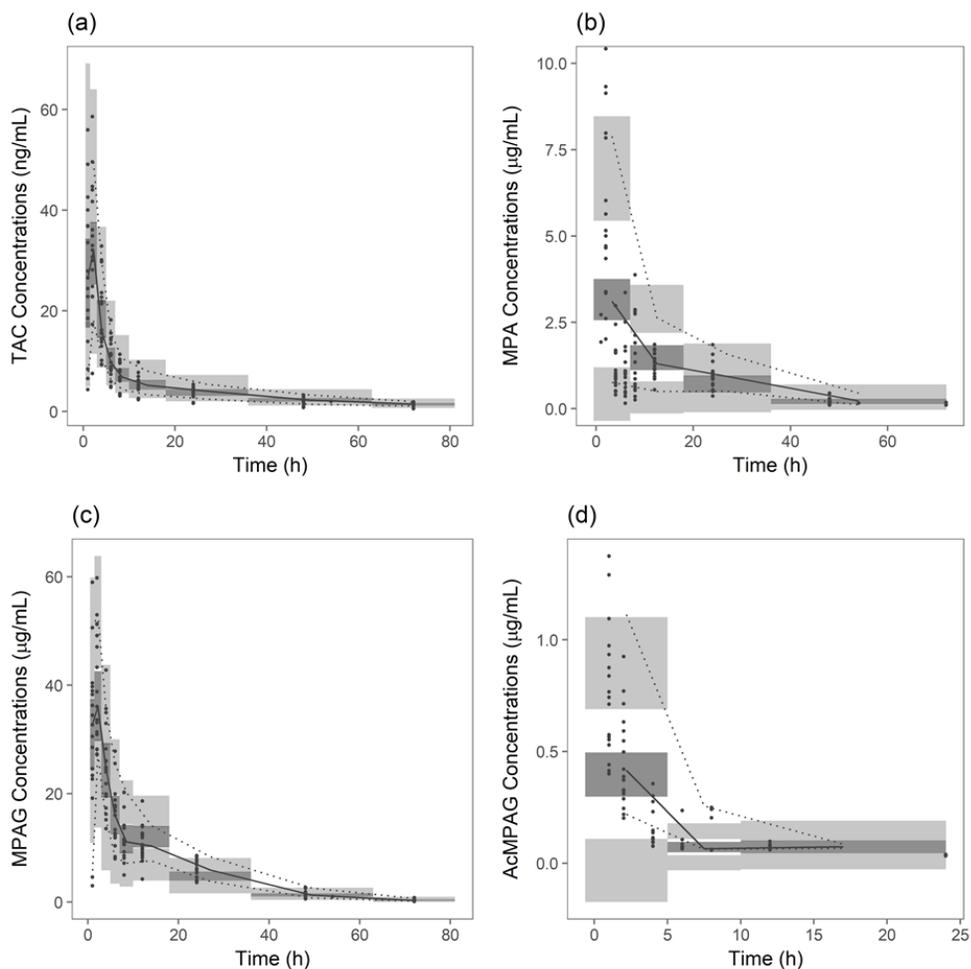


Figure 7. Visual predictive check of integrated population pharmacokinetic models

(a) TAC; (b) MPA; (c) MPAG; (d) AcMPAG. Closed circles represent observed concentrations. Solid line represents median of observed concentration and dotted line represents 5th and 95th percentile of observed concentration. Light grey area represents 95% confidence interval of 5th and 95th percentile of predicted concentration and dark grey area, 95% confidence interval of median of predicted concentration. TAC, tacrolimus; MPA, mycophenolic acid; MPAG, MPA 7-O-glucuronide; AcMPAG, MPA acyl glucuronide

Chapter 4. Discussion

본 연구에서 TAC과 MMF의 약동학적 약물 상호작용을 비선형 혼합 효과 모형을 사용하여 건강한 성인 자원자에서 평가하였다. 본 연구는 비구획분석을 이용하여 TAC과 MMF의 약물 상호작용의 크기와 양상을 평가하고 집단 약동학 모델을 활용하여 상호작용의 영향을 정량한 최초의 연구이다. 단순히 AUC를 비교하는 것을 넘어서서 상호작용의 영향을 추정된 뒤 상호작용에 영향을 미치는 임상적 요소를 확인하였다. 최종적으로 개발된 모델에서 MPA의 혈중농도가 $5 \mu\text{g/mL}$ 상승할 때 TAC의 청소율과 TAC의 용량 요구량은 13.7% 감소하였다. *CYP3A5* expresser에서 TAC의 청소율은 1.48배 상승하였다.

최종적으로 개발된 TAC의 집단약동학 모델은 TAC의 약동학을 2구획 및 일차 흡수 모형으로 설명하였다. TAC의 모델에 포함된 유의미한 공변량은 *CYP3A5* 유전자형이 유일하였다. *CYP3A5* 유전자형은 기존의 집단약동학 연구에서 반복적으로 유의미한 공변량으로 확인된 바 있다.(72-75) 기본 구조 모형에서 추정된 약동학적 파라미터의 추정치들은 이전에 보고된 모델 추정치들과 유사하였다.(74, 75) 모든 연구 대상자들이 건강한 성인 남성이어서 기저선에서의 인구학적 특성의 차이가 작았고 다른 임상적 변수의 영향은 유의하지 않았다.

MMF의 최종 집단약동학 모델은 MPA와 2개의 대사체인 MPAG 및 AcMPAG의 모델로 구성되었다. 대사체의 약동학 파라미터 추정치는 기존에 개발되었던 약동학 모델의 추정치와 유사하였다.(68, 69) 모델을 더 생리학적으로 개발하기 위하여 가상의 담낭 구획을 추가하여 MPA의

장간 순환을 설명하고자 하였다. 담낭에서 담즙액이 배출되는 과정은 1시간동안 발생하는 것으로 고정하였다. 임상시험에서의 실제 식사시간을 모방하여 담즙액이 배출되는 과정을 여러번으로 설정하여 모델 개발을 시도하였지만 2회 이상의 담즙 배출을 설정한 모델은 수학적으로 불안정하였다. 실제 임상시험에서의 식사시간 전후에 혈액 검체 채혈이 빈번하지 않아서 파라미터의 추정이 불안정한 것으로 생각된다. MPA의 시간-혈중농도 곡선에서 두 번째 피크가 약물 투약 후 6-12시간째에 관찰되는 것을 감안하면 담즙액 배출 시간이 7.99 시간으로 추정된 것은 합리적이라고 생각된다.(76) AcMPAG의 혈중 농도는 MPA의 혈중 농도나 TAC와의 상호작용에는 거의 영향을 주지 않았고, 따라서 이후의 모델 개발 과정에서 AcMPAG의 약동학 파라미터 대푯값은 초기의 추정치로 고정되었다.

상호작용 모델에서 TAC와 MMF의 상호작용은 역-지수 (inverse exponential) 관계로 설명되었다. 병용 투약한 MMF에 의해 대사 효소가 억제되어 TAC의 청소율이 감소한 것으로 추정된다. Picard 등의 human liver microsome 연구에 따르면 MPA와의 인큐베이션 하에서 TAC의 대사가 저해되었다.(33) Braun 등은 TAC과 MMF의 상호작용이 CYP3A, ABCC2 또는 UGT가 관여하는 알려지지 않은 경로에 의한 것으로 주장하였다(55).

약물의 상호작용을 집단약동학 모델로 평가하였던 다른 연구에서는 상호작용은 상호작용 약물의 투여 여부에 따라 1과 0의 이분형 공변량으로 평가되었다.(9) 다른 연구에서는 약동학 파라미터에 개인간 차이를 설정하고 상호작용의 영향도 개인간 차이로 함께 추정되도록 모델을 구성하였다.(77) 상호작용의 효과를 단순한 공변량으로

취급하면 상호작용의 패턴을 설명하거나 정확한 영향을 추정하는 것이 어렵다. 병용 투여된 약물에 대해서 약물 요법이나 투여 시간 및 혈중농도에 대한 자세한 정보를 가지고 있으면 집단약동학 모델에서 상호작용의 효과를 추정하기 용이하다. 본 연구에서는 TAC의 혈중농도 뿐 아니라 MPA 및 대사체의 혈중농도를 함께 측정하였고, 따라서 상호작용에 대해서 더 자세히 추정할 수 있었다.

*CYP3A5*의 유전자형이 TAC 단독 집단약동학 모델 및 상호작용이 고려된 집단약동학 모델 둘 모두에서 유의미한 공변량으로 확인되었다. TAC의 대사에 *CYP3A5* 효소가 미치는 영향은 이전의 연구에서 광범위하게 연구되었다.(78) 최근 연구에서는 TAC의 약물상호작용을 대사효소의 유전적 다형성에 따라 층화된 집단에서 평가하기도 하였다.(79-81) Zuo 등의 연구에서 TAC을 amlodipine과 병용 투여하였을 때 TAC의 청소율은 *CYP3A5* expresser에서만 유의미하게 감소하였다.(81) 본 연구에서도 유전자형에 따른 상호작용의 영향 차이가 관찰되었으며, TAC의 청소율에 대해서는 MMF와의 병용 투여보다 *CYP3A5* 유전자형이 더 큰 영향을 미쳤다.

약물 상호작용을 환자 집단이 아닌 건강한 자원자 집단에서 평가하였기 때문에 연구 결과의 일반화에 제약이 있을 수 있다. 그러나, 상호작용과 관련된 국제적인 가이드라인에 따르면 약물 상호작용은 건강한 자원자에서 평가하는 것이 권고된다.(57, 82) 또한, 이식 환자에서 약물 상호작용을 연구하기 위하여 1개 종류의 면역억제제를 중단하는 것은 비윤리적이다. 본 연구에서 약물 상호작용을 항정 상태에서 평가하지 않고, 단회 투약 후 평가한 것이 추가적인 제한점일 수 있다. 비록 약물 상호작용이 일반적으로 상호작용 유발 약물의 항정

상태에서 평가되지만(82), 본 연구에서는 기존의 연구 결과만으로 TAC과 MMF 중 어떤 약물이 상호작용을 유발하는 약물인지 확신할 수 없었다. 따라서, 본 연구는 단회 투약 방식을 채택하여 약물 상호작용에 대해 적어도 정성적인 스크리닝을 할 수 있도록 하였다. 또 다른 면역억제제인 sirolimus와 TAC의 상호작용을 평가한 다른 연구에서도 단회 투약 방식을 채택한 바 있다.(83)

결론

결론적으로 본 연구는 상호작용을 고려한 통합된 집단약동학 모델에서 TAC과 MMF의 상호작용을 확인하였다. TAC의 혈중농도는 MMF의 병용으로 인하여 상승할 수 있다. 최근의 임상시험이 TAC과 MMF의 여러가지 용량 조합을 평가하는 것을 고려하면(84-86), 두 약물 사이의 상호작용 양상을 확인하는 것이 중요하다. 개발된 집단약동학 모델은 TAC과 MMF의 상호작용을 고려하면서 두 약물의 혈중농도를 예측할 수 있다. 그러나, 약물 상호작용의 영향이 약물이 주로 사용되는 표적 환자 집단에서도 유지되는지 확인하기 위해서는 추가 연구가 필요하다.

**Section II. Validation of a
Population Pharmacokinetic Model
Derived from Healthy Volunteers
with Kidney Transplant Recipients**

Chapter 1. Introduction

1.1. 연구의 배경

TAC과 MMF는 신장이식 후 거부반응을 예방하기 위하여 가장 흔히 사용되는 면역억제제 조합이다.(14) 임상시험에서 TAC과 MMF를 기반으로 하는 유지 면역억제 요법이 거부반응 발생과 이식신의 기능 유지 면에서 개선을 보이면서, TAC과 MMF를 유지 면역억제제의 조합으로 하는 비율이 꾸준히 증가하였다.(87) 임상시험에서 이식 후의 임상적 성과는 TAC의 최저 혈중 농도나 곡선하면적과 연관이 있었다. TAC의 약동학의 큰 개인내 및 개인간 다양성으로 인하여 TAC의 약동학에 영향을 미치는 인자를 탐색하기 위한 연구들이 진행되었고 혈색소, 이식 후 기간, *CYP3A4* 또는 *CYP3A5*와 같은 유전자형이 TAC의 약동학에 영향을 주는 것으로 확인되었다.(25) 추가적으로, *in vitro* 연구에서 TAC과 MMF의 상호작용 가능성을 제기하였고,(33) Section I에 기술한 건강한 성인 대상의 상호작용 연구에서 TAC과 MMF의 상호작용을 확인하였다. Section I의 건강한 성인 대상 연구에서 개발한 약동학 모델에서 TAC을 MMF와 병용할 때 TAC의 청소율이 감소하는 것으로 확인되었다. 혈색소, 이식 후 기간, *CYP3A4/5* 유전자형과 같이 이전에 TAC의 약동학에 영향을 미치는 것으로 알려진 요소와 함께 MMF와의 상호작용을 추가적으로 고려하면, TAC과 MMF를 병용할 때 TAC의 용량 설정을 더 세밀하게 할 수 있을 것으로 예상된다.

1.2. 연구의 목적

Section I의 연구가 건강한 성인 대상으로 단회 투약 임상시험에서 진행되었으므로, 상호작용의 영향이 환자 집단의 항정 상태 상황에서는 다르게 관찰 될 수 있다. 이에 본 연구는, 건강한 성인에서 평가한 상호작용이 TAC과 MMF를 주로 병용하는 환자 집단인 신장이식 환자군에서도 관찰되는지 여부를 집단약동학 모델을 활용하여 검증하고자 하였다.

Chapter 2. Methods

2.1. 연구 설계 및 임상시험 대상자

신장이식 후 최소 6개월이 경과하였고, 유지면역억제제로 Tacrolimus (Prograf[®])와 Mycophenolate mofetil (Cellcept[®])을 복용하고 있는 성인 환자를 연구대상자로 하였다. 두 면역억제제의 정상 상태에서 약동학적 상호작용을 평가하기 위하여 환자 등록 전 최소 2주 동안 TAC과 MMF의 용량 및 용법이 일정한 자료 한정하였다. 약동학적 상호작용의 정확한 평가를 위하여 연구 참여 시점에 약물의 흡수에 영향을 줄 수 있는 위장관 질환을 가진 자, 면역억제제의 약동학에 영향을 미치는 약물을 병용하는 자, 복용순응도가 낮은 자는 제외하였다. 추가적으로 간기능 이상(aspartate transaminase (AST)또는 alanine transaminase (ALT)가 정상 상한의 3배 초과), 다장기 이식 수혜자, 중증 정신질환자를 제외하였다.

본 연구는 헬싱키 선언 및 ICH-GCP를 준수하여 윤리적 원칙과 해당되는 규제 요구사항에 따라서 수행되었다.(59) 본 연구는 서울대학교병원 기관윤리심의위원회의 승인을 받았으며 모든 대상자에게 연구에 대한 설명을 하고 자발적인 동의를 구하였다(IRB No. C-1604-014-753). 본 연구의 프로토콜은 clinicaltrials.gov에 공개되었다(Identifier NCT02808065).

2.2. 시험 약물 투여

시험 약물인 TAC과 MMF는 외래에서 처방받은 원래의 유지 용량대로 복용하도록 하였다. 연구에 참여하기 위해서는 시험 전 최소 2주 이상의 기간 동안 복용중인 TAC과 MMF의 용량 및 용법이 일정해야 했다.

연구에 참여한 신장이식 환자들은 TAC과 MMF 외에 유지 면역억제요법의 일환으로 glucocorticoid(Solondo®, Calcort®)를 복용하였다. 그 외에 혈압 조절을 위해 calcium channel blocker, 콜레스테롤 조절을 위해 statin, 혈당 조절을 위해 biguanide, dipeptidyl peptidase-4 inhibitor 등을 병용하였다.

2.3. 약물 혈중 농도 분석

혈액 검체를 약물 투여 직전, 투여 후 1, 2, 3, 4시간에 채혈하였다. 각 시점에 확보한 검체에서 TAC과 MPA, 그리고 MPA의 대사체인 MPAG, AcMPAG의 농도를 분석하였다. MPA 및 대사체의 농도를 분석하기 위한 검체는 채혈 후 4 °C, 3,000 rpm의 조건에서 15분간 원심분리하였다. 분리한 혈장에 phosphoric acid (850 g/L; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)를 첨가하여 pH를 2.5로 맞추었다.(60) 혈액 및 혈장 검체는 분석 전까지 -70°C에서 보관하였다.

전혈에서 TAC의 농도는 액체 크로마토그래피(LC; Shimadzu HPLC, Shimadzu, Japan) - 질량분석기(MS/MS; QTRAP® 5500, AB Sciex, USA)로 다중 반응 모니터링 방법으로 분석하였다. 내부표준물로

rapamycin을 사용하였다. TAC과 내부표준물을 Capcell PAK MGIII (3.0 x 50 mm, 3 μ m; Shiseido, Tokyo, Japan) 컬럼으로 분리하였다. 이동상은 5 mM ammonium acetate와 methanol로 구성되었다. TAC의 0.5–100 ng/mL의 농도 범위로 검량선을 작성하였고 해당 범위에서 TAC의 농도는 선형이었고 분석 농도의 변동 계수는 6% 미만이었다.

혈장에서 MPA, MPAG, AcMPAG의 농도는 LC-MS/MS를 이용하여 다중 반응 모니터링 방법으로 분석하였다. 내부표준물로 각각 MPA-d3, MPA-d3 β -D-glucuronide, 그리고 MPA-d3 acyl- β -D-glucuronide을 사용하였다. Cadenza CD-C18 (3.0 x 150 mm, 3 μ m; Imtakt, Kyoto, Japan) 컬럼으로 물질을 분리하였다. 이동상은 0.1% formic acid를 함유한 5 mM ammonium acetate와 acetonitrile로 구성되었다. MPA, MPAG 그리고 AcMPAG에 대한 검량선은 0.1–100, 0.1–100, 그리고 0.2–20 μ g/mL의 범위에서 선형이었다. 분석 농도의 변동 계수는 6% 미만이었다.

2.4. 유전형 분석 및 자료 수집

약물 투약 전 채혈한 혈액 검체에서 QIAamp DNA blood kit (Qiagen, Valencia, CA)으로 DNA를 추출하였다. TAC과 MMF의 약동학과 연관된 것으로 알려진 *CYP3A4**1G (rs2242480), *CYP3A5**3 (rs776746), *SLCO1B1**1B (rs2306283), *SLCO1B1**5 (rs4149056), *SLCO1B3* 334T>G (rs4149117), *SLCO1B3* 699G>A (rs7311358), *ABCC2* -24C>T (rs717620), *ABCC2* 1249G>A (rs2273697), *ABCC2* 3972C>T (rs3740066), *UGT1A9**1b (rs3832043), 그리고

UGT2B7 802C>T (rs7439366)의 유전자형을 ABI PRISM SNaPshot Multiplex kit (Applied Biosystems, Foster City, CA) 또는 direct sequencing의 방법으로 분석하였다. 분석한 유전자형의 대립유전자 빈도가 하디 바인베르크 평형을 만족하는지 검정하였다.

연구 참여 대상자의 인구학적 정보로 키, 체중, 체표면적, 성별, 연령을 수집하였고, 관련 임상 정보로 약동학 분석을 위한 혈액 검체 수집 당일의 전혈구계수(백혈구, 혈소판, 적혈구, 헤모글로빈, 헤마토크릿, 호산구), 간기능 검사(AST, ALT, 총 빌리루빈), 신기능 검사(혈청 크레아티닌, MDRD 방식으로 추정된 사구체 여과율)(61), 혈당, 콜레스테롤, 알부민, 전해질 검사 결과를 수집하였다.

2.5. 집단약동학 모델 개발

2.5.1. 신장이식 환자 집단약동학 모델 개발

건강한 성인 대상으로 개발하였던 TAC와 MMF의 집단약동학 모델을 환자 대상 모델의 기본 구조 모형으로 설정하였다. 환자 임상시험에서 측정된 약물 농도를 구조 모형에 적합하여 TAC, MPA, MPAG, 그리고 AcMPAG의 약동학 파라미터를 추정하였다. 약동학 파라미터의 개인간 다양성은 TAC과 MPA의 청소율과 분포 용적에 지수적인 형태로 고려되었다. 각 약물의 청소율의 분포 용적 파라미터에 임상 변수 및 유전자형의 영향이 고려되었다. 임상 변수 및 유전자형 공변량의 평가는 PsN version 4.4.8의 stepwise covariate modeling (SCM) 방법을 활용하였다.(62, 63) 공변량을 포함한 약동학 모델의

목적함수 값이 공변량을 포함하지 않은 모델에 비하여 3.84 초과로 감소한 경우 공변량의 고려가 약동학 모델을 유의미하게 개선한 것으로 평가하였다. 유의미한 공변량을 모두 포함한 약동학 모델에서 공변량을 하나씩 제거했을 시 목적함수 값이 6.63 초과로 증가하는 경우, 해당 공변량은 유의미한 것으로 평가하였다.

2.5.2. 모델의 평가

집단약동학 모델 개발 과정에서 모델의 개선 여부는 목적함수의 감소, 추정된 약동학 파라미터의 과학적 타당성, 상대 표준 오차, shrinkage 파라미터, goodness of fit plot으로 평가되었다. Goodness-of-fit은 R version 3.2.2 소프트웨어의 Xpose 4를 이용하여 시각적으로 평가하였다.(66) 1,000회의 시뮬레이션에 기반한 시각적 예측 점검(VPC)으로 개발된 모델의 내적 타당성을 평가하였다.(67)

2.5.3. 모델의 시뮬레이션

TAC의 투여 용량, MMF의 투여 용량, *CYP3A5* 유전자형, *UGT2B7* 유전자형, *SLCO1B3*의 유전자형을 조합하여 32개의 서로 다른 임상적 시나리오를 가정하였다. 각각의 임상적 시나리오에서 개발된 집단약동학 모델을 활용하여 각각 1,000회의 시간-혈중농도 프로파일을 시뮬레이션하여 TAC의 최저 혈중농도를 확보하였다.

시뮬레이션 된 최저 혈중농도를 TAC의 1일 복용 용량으로 나누어 TAC의 용량-보정 농도(concentrations per dose, C/D)를 산출하였다.

MMF의 투여 용량, 유전자형의 TAC C/D에 대한 영향을 선형 회귀 분석을 통해 추정하였다. 각 공변량의 TAC C/D에 대한 영향은 선형 회귀식의 절편에 대비하여 상승된 TAC C/D의 분율로 표기되었다.

2.5.4. 소프트웨어

NONMEM version 7.3.0 (ICON Development Solutions, Hanover, MD)을 활용하여 집단 약동학 모델을 개발하였고, 공변량의 및 모델 평가 시에 PsN version 4.4.8과 R software version 3.2.2를 활용하였다.

Chapter 3. Results

3.1. 인구학적 특성

총 32명의 신장이식 환자가 연구에 참여하였다(Table 7). 연령의 중앙값은 52세 였으며, 남성이 20명으로 전체의 63%였다. 신장이식 후 연구 참여 시점까지의 기간 중앙값은 5.7년으로 헤마토크릿(중앙값 43.6%)과 사구체 여과율(중앙값 59.5 mL/min/1.73m²)은 비교적 안정적이었다. 시험 참여 당시 복용하고 있던 TAC과 MMF 1일 용량의 중앙값은 각각 2.125 mg 과 1,000 mg 이었다. 약물 농도 분석을 위한 채혈은 중앙값 4회 수행되었다. 참여 환자 중 *CYP3A5* expresser의 비율은 40.6% 였다.

Table 7. Baseline characteristics of included patients (n = 32)

Characteristics	Median	Range (min–max)
Age (yr)	52	20–70
Sex (male) ^a	20	63%
Weight (kg)	62.7	43.9–102.4
Height (cm)	165.8	151–180
Hemoglobin (g/dL)	14.1	10.6–17.5
Hematocrit (%)	43.6	32.3–53.8
Serum creatinine (mg/dL)	1.22	0.69–1.66
GFR (mL/min/1.73m ²)	59.5	35–85.7
Albumin (g/dL)	4.4	3.8–5.0
Total bilirubin (mg/dL)	0.7	0.5–2.4
Tacrolimus daily dose (mg)	2.125	1–6
Mycophenolate mofetil daily dose (mg)	1,000	500–2,000
Postoperative day (yr)	5.7	0.6–10.4
Collected blood samples	4	1–5
<i>CYP3A5</i> expresser ^a	13	40.6%

^aSex and *CYP3A5* expresser are presented as number and proportion *CYP3A5* expresser, *CYP3A5* *1/*1 or *CYP3A5* *1/*3; GFR, glomerular filtration rate

3.2. 집단약동학 모델 개발

TAC과 MMF 개별 약물에 대한 집단약동학 모델과, 상호작용을 고려하여 통합된 집단약동학 모델은 건강한 성인 대상으로 개발하였던 모델과 동일하게, Figure 2와 같은 구조 모형으로 개발되었다. 집단약동학 모델의 약동학 파라미터 추정치, 상대 표준 오차, 약동학 파라미터의 다양성은 Table 8에 제시되었다.

TAC의 약동학은 2-구획, 일차 흡수 및 지연 시간, 일차 제거 모델로 설명되었다. 연구에 참여한 환자의 채혈이 주로 투약 후 2시간째까지 이루어졌기 때문에, 흡수 속도 상수와 지연 시간 파라미터는 건강한 성인 대상으로 추정된 값으로 고정하였다. TAC의 청소율과 분포 용적은 21.9 L/h, 103 L로 추정되었다. 집단약동학 모델의 오차를 설명하기 위하여 combined additive and proportional model이 사용되었다. *CYP3A5* 유전자형이 유의미한 공변량으로 평가되었다. *CYP3A5* expresser에서 청소율이 1.49배 증가하였다.

MPA의 약동학은 2-구획, 일차 흡수 모델로 설명되었다. MPA의 흡수 속도 상수와 장간순환과 관련된 파라미터는 건강한 성인 대상으로 추정된 값으로 고정하였다. AcMPAG의 청소율과 분포 용적 파라미터는 1회 추정한 후 해당 값으로 고정하였다. *UGT2B7* 유전자형과 *SLCO1B3* 유전자형이 각각 MPA가 AcMPAG로 대사되는 속도 상수, MPAG의 분포용적에 유의미한 공변량으로 도출되었다.

Table 8. Population pharmacokinetic parameter estimates of models for TAC and MMF

Parameter	Population mean value (%RSE)	IIV CV% (%RSE)
<i>Tacrolimus</i>		
CL_{TAC} (L/h)	21.9 (16%)	24.4% (14%)
V_{TAC} (L)	103 (15%)	45.5% (18%)
K_{aTAC} (h^{-1})	1.78 FIX	—
k_{23} (h^{-1})	0.803 (44%)	—
k_{32} (h^{-1})	0.583 (51%)	—
Lag time (h)	0.59 FIX	—
<i>CYP3A5</i> on CL_{TAC}	1.49 (9%)	—
$\sigma_{add TAC}$	0.585 (48%)	
$\sigma_{prop TAC}$	0.211 (14%)	—
<i>Mycophenolic acid</i>		
CL_{MPA} (L/h)	3.27 (10%)	25.8% (17%)
V_{MPA} (L)	23.2 (33%)	42.9% (19%)
K_{aMPA} (h^{-1})	2.29 FIX	—
k_{56} (h^{-1})	1.75 (23%)	—
k_{65} (h^{-1})	0.0089 (18%)	—
k_{70} (h^{-1})	0.103 (18%)	—
V_{MPAG} (L)	1.76 (15%)	—
f_{MPA}	0.85 FIX	—
EHC (%)	0.367 FIX	—
k_{84} (h^{-1})	18.4 FIX	—
MTIME1	7.96 FIX	—
MTIME2	1 FIX	—
V_{AcMPAG} (L)	13.9 FIX	—
k_{90} (h^{-1})	0.407 FIX	—

Parameter	Population mean value (%RSE)	IIV CV% (%RSE)
<i>UGT2B7</i> on k_{59}	0.812 (10%)	
<i>SLCO1B3</i> on V_{MPAG} (L)	1.2 (10%)	
σ_{prop} MPA	0.515 (7%)	—
σ_{prop} MPAG	0.216 (8%)	—
σ_{add} AcMPAG	0.0647 (23%)	—
σ_{prop} AcMPAG	0.268 (8%)	—
Interaction	0.06 (35%)	—

IIV, interindividual variability; CV, coefficient of variation; RSE, relative standard error; F, fraction of the dose absorbed; CL, clearance; TAC, tacrolimus; V, volume of distribution; K_a , first-order absorption rate constant; k_{23} , k_{32} , k_{56} , and k_{65} , intercompartment rate constants; MPA, mycophenolic acid; k_{70} and k_{90} , eliminated rate constants; *CYP3A5*, *CYP3A5* expressers (*CYP3A5**1/*1 or *CYP3A5**1/*3); f_{MPA} , fraction of MPA which metabolized to MPAG; EHC, enterohepatic circulation; k_{84} , gallbladder emptying rate constant; MTIME1, meal time; MTIME2, Gallbladder emptying duration; MPAG, MPA 7-O-glucuronide; AcMPAG, MPA acyl glucuronide; *SLCO1B3*, *SLCO1B3* rs4149117 T carrier; *UGT2B7*, *UGT2B7* rs7439366 T carrier; σ_{prop} , proportional residual error; σ_{add} , additive residual error

3.3. 모델의 평가

환자 대상 최종 집단약동학 모델에서 TAC에 대한 goodness of fit은 Figure 8과 같다. 개인간 다양성을 고려한 모델이 TAC의 약동학을 더 잘 설명하는 것을 확인하였다. CWRES는 시간 또는 약물 농도 추정값에 따른 분포의 차이를 보이지 않았다. MPA, MPAG, 그리고 AcMPAG에 대한 goodness-of-fit 또한 개인간 다양성을 고려한 약동학 모델이 각각의 약동학을 더 잘 설명하는 것을 보여주었다(Figures 9–11).

환자 대상 최종 모델에서 TAC, MPA, MPAG, 그리고 AcMPAG의 VPC는 Figure 12와 같다. VPC 결과 실제 관찰된 농도가 신뢰구간 안에 적절히 포함되어 개발된 모델이 내적으로 타당함을 확인하였다.

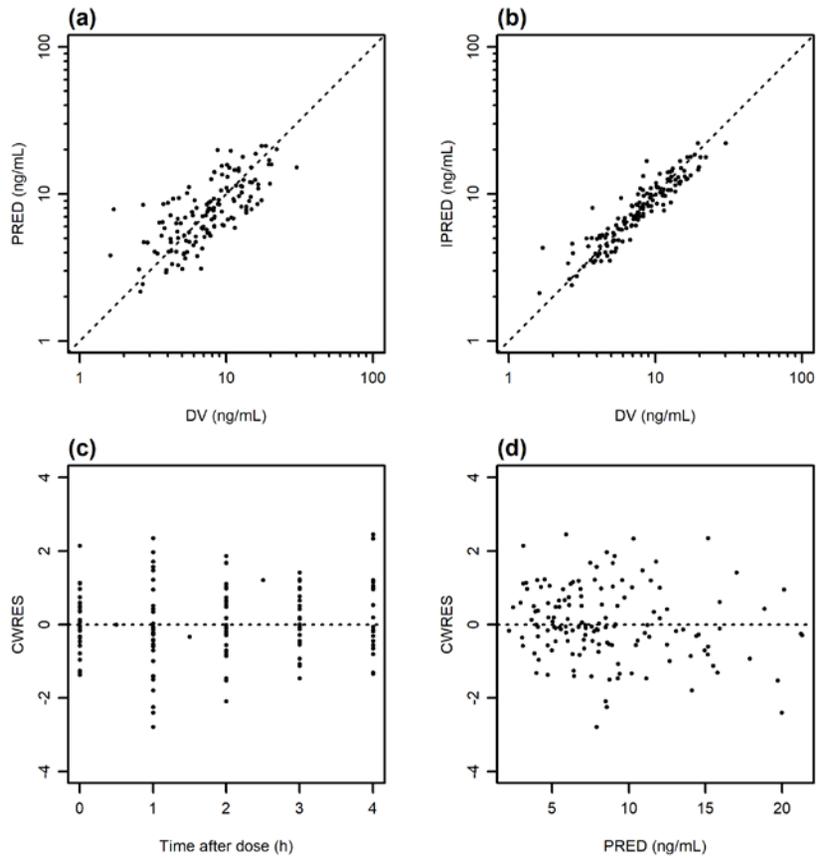


Figure 8. Goodness of fit plot of tacrolimus for the population pharmacokinetic model

(a) population prediction (PRED) *vs.* observed concentration (DV); (b) individual prediction (IPRED) *vs.* DV; (c) conditional weighted residual (CWRES) *vs.* TIME; (d) CWRES *vs.* PRED.

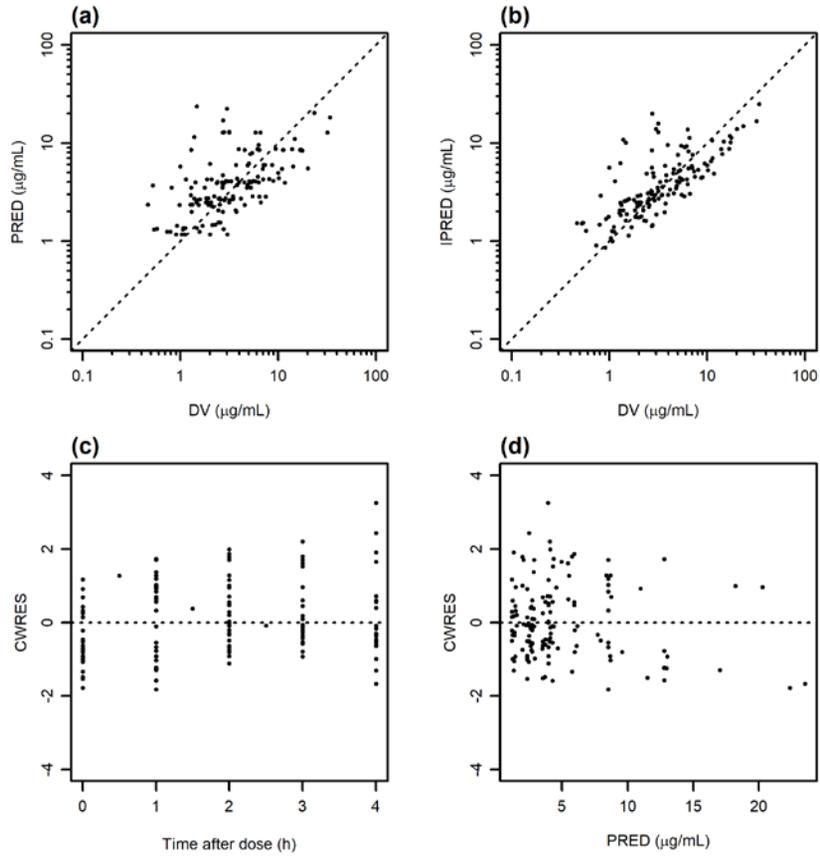


Figure 9. Goodness of fit plot of mycophenolic acid for the population pharmacokinetic model

(a) population prediction (PRED) *vs.* observed concentration (DV); (b) individual prediction (IPRED) *vs.* DV; (c) conditional weighted residual (CWRES) *vs.* TIME; (d) CWRES *vs.* PRED.

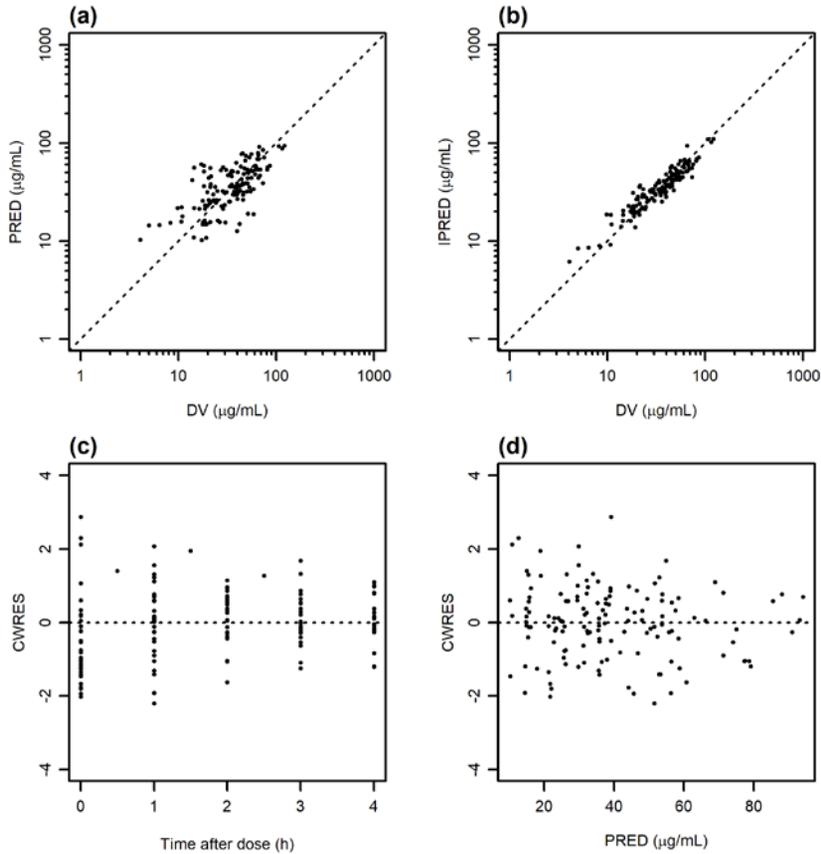


Figure 10. Goodness of fit plot of mycophenolic acid 7-O-glucuronide for the integrated population pharmacokinetic model (a) population prediction (PRED) vs. observed concentration (DV); (b) individual prediction (IPRED) vs. DV; (c) conditional weighted residual (CWRES) vs. TIME; (d) CWRES vs. PRED.

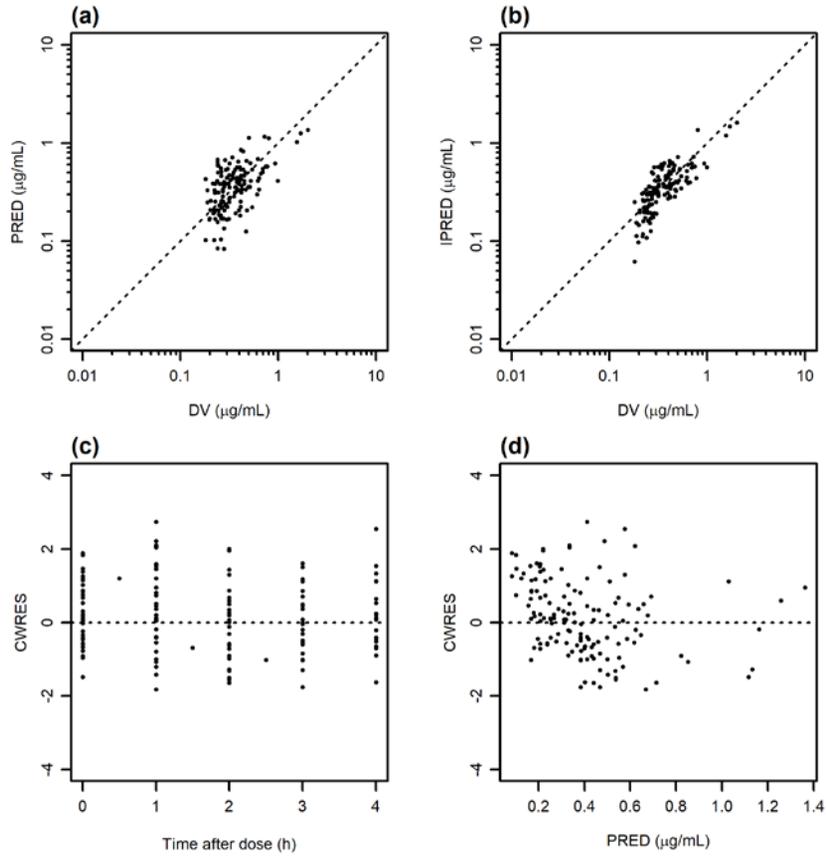


Figure 11. Goodness of fit plot of mycophenolic acid acyl glucuronide for the integrated population pharmacokinetic model (a) population prediction (PRED) vs. observed concentration (DV); (b) individual prediction (IPRED) vs. DV; (c) conditional weighted residual (CWRES) vs. TIME; (d) CWRES vs. PRED.

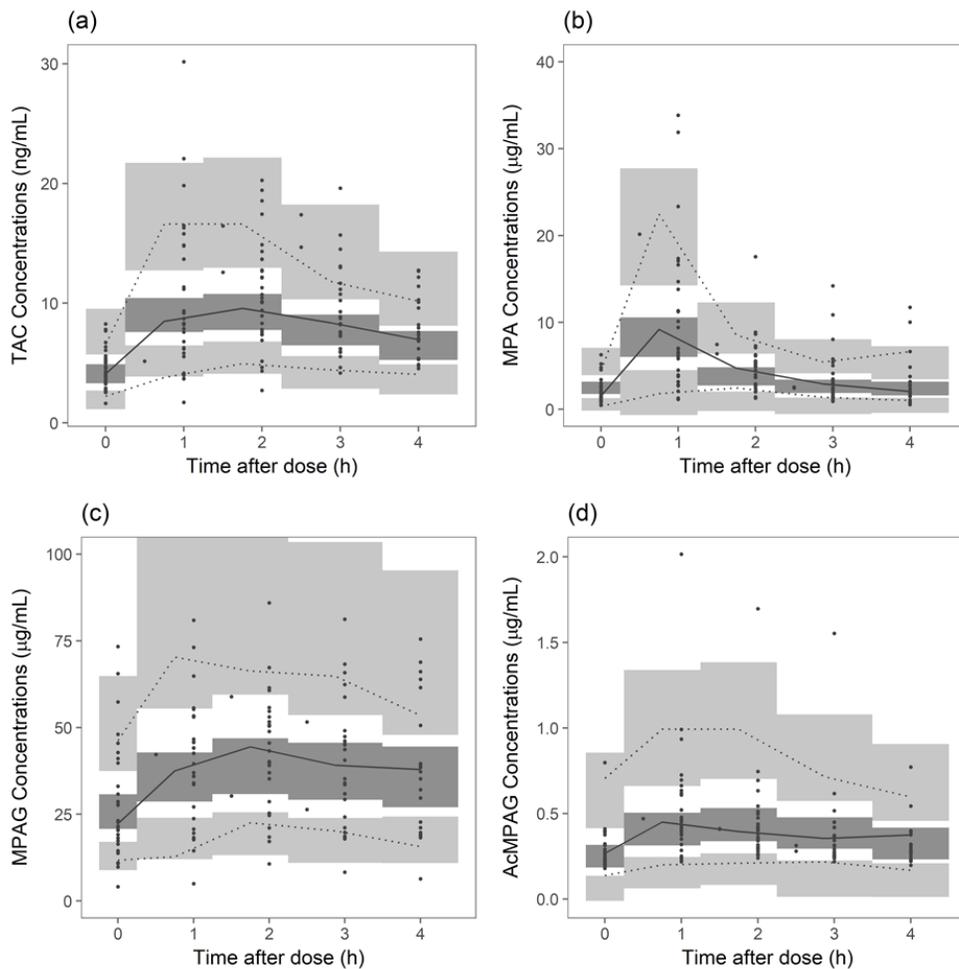


Figure 12. Visual predictive check of population pharmacokinetic models

(a) TAC; (b) MPA; (c) MPAG; (d) AcMPAG. Closed circles represent observed concentrations. Solid line represents median of observed concentration and dotted line represents 5th and 95th percentile of observed concentration. Light grey area represents 95% confidence interval of 5th and 95th percentile of predicted concentration and dark grey area, 95% confidence interval of median of predicted concentration. TAC, tacrolimus; MPA, mycophenolic acid; MPAG, MPA 7-O-glucuronide; AcMPAG, MPA acyl glucuronide

3.4. 집단약동학 모델의 시뮬레이션

내적 타당성을 확인한 최종 모델을 활용하여 다양한 임상적 시나리오에 따라 1,000 명을 대상으로 시뮬레이션 하여 TAC의 최저 혈중 농도를 구하였다(Figure 13). *CYP3A5* nonexpresser에서 expresser에 비하여 TAC의 최저 혈중 농도가 높게 관찰되었다. TAC의 용량이 동일할 때, MMF의 용량이 높을수록 TAC의 최저 혈중 농도가 높게 관찰되었다. *SLCO1B3*와 *UGT2B7* 유전자형의 조합은 TAC의 최저 혈중 농도에 영향을 미치지 않았다.

시뮬레이션 결과를 활용하여 TAC의 C/D에 대한 선형 회귀 분석을 수행한 결과는 Table 9와 같다. MMF의 용량, *CYP3A5* 유전자형, *SLCO1B3* 유전자형, *UGT2B7* 유전자형 중 MMF의 용량과 *CYP3A5* 유전자형의 영향만이 유의하였다. MMF 용량이 250 mg bid에서 500 mg bid로 증량되는 경우, TAC의 C/D는 52.8% 증가하였다(95% CI, 51.1 – 54.6). *CYP3A5* expresser인 경우와 비교하여 *CYP3A5* nonexpresser에서 TAC의 C/D는 94.9% 증가하였다(95% CI, 93.1 – 96.6). *CYP3A5*의 영향이 MMF 1일 용량 500 mg 증가에 비하여 TAC의 C/D 상승에 약 1.8배의 효과를 보였다.

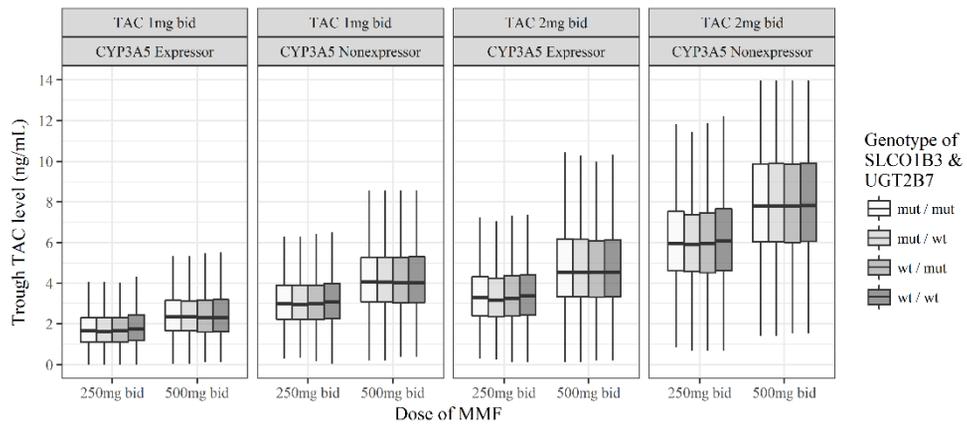


Figure 13. Simulation results of trough tacrolimus level in scenarios with different dose and genotypes

MMF, mycophenolate mofetil; mut, mutant; wt, wild type

Table 9. Effect of covariates on concentrations per dose of tacrolimus

Covariates	State	Effect (%)	95% CI	P value
Dose of MMF	250 mg bid →	52.8	51.1 – 54.6	<.01
	500 mg bid			
<i>CYP3A5</i> (rs776746)	expresser →	94.9	93.1 – 96.6	<.01
	nonexpresser			
<i>SLCO1B3</i> (rs4149117)	G homozygote	-1.6	-3.3 – 0.1	0.07
	→ T carrier			
<i>UGT2B7</i> (rs7439366)	C homozygote	-0.9	-2.6 – 0.8	0.32
	→ T carrier			

CI, confidence interval; *CYP3A5* expresser, *CYP3A5**1/*1 or *CYP3A5**1/*3; *CYP3A5* nonexpresser, *CYP3A5**3/*3; MMF, mycophenolate mofetil

Chapter 4. Discussion

TAC의 약동학의 개인내 다양성 및 개인간 다양성으로 인하여 이식 후 유지 면역억제제 사용시 정밀한 약물 용량 설정과 적절한 수준의 면역억제 유지가 어렵다. 체중, 혈색소, *CYP3A4/5* 유전자형, 병용약물 등을 포함한 다양한 임상적 요인들이 TAC의 약동학에 영향을 미치는 것으로 확인되었다. TAC이 MMF와 흔히 병용됨에도 불구하고, TAC과 MMF의 상호작용이 TAC의 약동학에 미치는 영향은 자세히 규명되지 않았다. 또한, MMF와 병용할 때의 TAC의 용량 조절에 대한 정보도 충분하지 않다. TAC과 MMF 사이의 약물 상호작용을 확인하고 상호작용의 영향을 정량하는 것은 TAC과 MMF 조절시 TAC의 미세한 용량 조절을 가능하게 할 수 있다.

본 연구에서는 안정적인 신장이식 환자에서 TAC과 MMF의 상호작용을 확인하였다. 건강한 성인에서 개발된 집단약동학 모델을 기반으로 하여 신장이식 환자에서의 약동학 모델을 개발하였다. 신장이식 환자에서 개발된 집단약동학 모델에서 MMF와의 병용은 TAC의 청소율에 영향을 주는 유의미한 인자로 확인되었다. 기존의 *in vitro* 연구에서도 TAC과 MMF를 인큐베이션 하였을 때 TAC의 청소율이 감소하였다.(33) 또한, 간이식 환자에서 TAC과 MMF를 병용하였을 때 TAC의 AUC 상승이 관찰되었다.(53) 이러한 기존 연구 결과는 TAC과 MMF를 병용하였을 때 TAC의 청소율이 감소한 본 연구 결과와 일관된다. 본 연구에서, 상호작용의 영향은 TAC의 약동학에 영향을 미치는 것으로 알려진 *CYP3A5* 유전자형을 함께 고려하였을 때에도 유지되었다.

최종 집단약동학 모델에서 *CYP3A5* 유전자형이 유의미한 유전자형으로 확인되었다. *CYP3A5* 유전자형은 기존의 TAC에 대한 집단약동학 연구에서 반복적으로 유의미한 인자로 확인된 바 있다.(88) TAC의 알려진 대사 기전과 누적된 약동학 및 약물 유전체 연구를 기반으로, Clinical Pharmacogenomics Implementation Consortium (CPIC) 가이드라인에서는 *CYP3A5* expresser에서 목표하는 혈중 농도 범위에 도달하기 위해 더 많은 시작 용량을 투여할 것을 권고하였다.(78) 본 연구에서도 *CYP3A5* expresser에서 TAC의 청소율이 1.49배 더 큰 것으로 확인되었다.

본 연구에서 개발한 최종 모델을 활용하여 *CYP3A5*의 가능한 유전자형을 포함한 여러 가지 임상적 시나리오에서 TAC의 혈중 농도를 시뮬레이션 하였고, 최저 혈중 농도에 대한 공변량들의 영향을 평가하고자 선형 회귀 분석을 수행하였다. 회귀 분석 결과 *CYP3A5*의 영향이 MMF와의 상호작용에 의한 영향보다 더 큰 것으로 분석되었다. MMF와의 상호작용에 의하여 TAC 혈중 농도의 절대적 변화량은 *CYP3A5* nonexpresser에서 *CYP3A5* expresser와 비교하여 더 크게 나타났다. TAC과 아즐게 항진균제의 상호작용을 평가한 다른 연구에서도 상호작용의 효과는 *CYP3A5* 유전자형에 따라 다르게 관찰되었으며 *CYP3A5* expresser에서 상호작용의 효과가 더 약화되었다.(89)

본 연구에서 개발한 집단약동학 모델에서 TAC의 청소율에 대한 개인간 다양성은 24.4% (RSE 14%)으로 추정되었다. 신장이식 환자 대상의 TAC 모델을 개발한 다른 연구들에서는 TAC의 청소율에 대한 개인간 다양성은 40-50% 이상으로 더 높게 추정된 경우도 있었다.(88)

본 연구에서 TAC의 청소율의 다양성이 기존 연구와 비교하여 더 낮게 추정된 이유로는 다음과 같은 가능성이 있다. *CYP3A5* 유전자형, 병용된 MMF의 영향을 함께 고려하면서 TAC의 청소율의 다양성이 감소하였을 수 있다. 여러 가지 공변량을 함께 고려하면서 과다 추정의 가능성이 있지만, 개발된 모델의 shrinkage 값을 참조하였을 때 TAC 청소율에 대한 shrinkage는 12%로, 20% 미만이므로 과다 추정의 가능성 또한 낮다고 할 수 있다.(90) 두 번째로, 본 연구에서는 TAC의 최저 혈중 농도 뿐만 아니라 투여 후 최대 4시간까지의 혈중 농도 자료를 모두 고려하였다. 최저 혈중 농도 이외의 자료를 추가적으로 활용함으로써 최종 모델의 약동학 파라미터가 안정화되었을 수 있다. 세 번째로, 모집된 연구 대상자가 선택 편향되었을 가능성이 있다. 1개 종합병원 신장내과 외래를 꾸준히 다니던 환자를 연구 대상자 후보 집단으로 하였다. 해당 환자들은 장기간의 이식 후 관리 기간 동안 동일한 시간에 면역억제제를 복용하여 면역억제제에 대한 이해도가 순응도가 매우 높았다. 환자들의 TAC과 MMF 약물 투약력이 정확하였기에 최종 모델에서의 개인간 차이가 다른 연구에 비해 작게 추정되었을 수 있다.

*SLCO1B3*와 *UGT2B7* 유전자형이 MPAG의 분포 용적과 AcMPAG로의 대사 속도 상수에 유의미한 공변량으로 확인되었다. *SLCO1B3* 유전자형과 MPA 및 MPAG의 약동학의 관계는 이전에도 연구된 바 있다. Picard 등의 연구에서 *SLCO1B3* 334T>G (rs4149117)의 T carrier에서 MPAG의 hepatic uptake가 증가하고 투여 용량으로 보정한 혈중농도가 감소하였다.(91) Miura 등의 신장이식 환자를 대상으로 한 연구에서도 T carrier에서 MPAG의 혈중 농도가 감소하는 현상이 동일하게 관찰되었다.(92) *UGT2B7*

유전자형에 관하여, 802T 유전자형을 갖는 human liver microsome을 이용한 *in vitro* 연구에서 T carrier에서 AcMPAG의 생성 속도가 낮게 관찰되었다.(93) 본 연구에서 최종적으로 개발한 모델에 *SLCO1B3*와 *UGT2B7* 유전자형을 고려함으로써 종합적으로 MMF의 약동학 모델을 개선하였지만, 시뮬레이션 결과를 참고하였을 때 *SLCO1B3*와 *UGT2B7*의 유전자형은 TAC의 약동학에는 영향이 없었다.

최종적으로 개발된 모델에 MMF의 용량-농도에 대한 변수가 TAC의 청소율과 연관된 것으로 포함되어 서로 다른 MMF의 용량 수준에서 적절한 TAC의 용량 요구량을 확인할 수 있었다. 전통적인 연구에서는 MMF를 고정 용량으로 처방하였으나, 최근에는 MMF의 적절한 노출을 보장하기 위하여 강화된 MMF 요법이 일부 임상시험에서 시도된 바 있다.(84, 86, 94) 또한, MMF는 여러가지 이상반응 등으로 인하여 중단이나 감량이 흔한 약물이므로,(52) 임상 상황에서 MMF의 투여 여부나 용량이 변화할 때 그에 맞는 면역억제 수준을 유지하기 위해 유연하게 TAC의 용량을 조절할 수 있을 것으로 생각된다.

상호작용을 고려한 모델에서 상호작용은 MMF의 혈중 농도에 대한 inverse exponential 형태로 반영되었다. 만약 혈중 MMF 농도가 극단적으로 무한대의 값을 가지면 TAC CL/F의 상호작용 항의 분모가 0이 되므로 수리적으로는 논리가 맞지 않게 된다. 환자에서 측정된 MPA의 농도 범위는 0.464~33.844 이므로 분모는 1.03~7.62의 범위로 움직이기 때문에 TAC의 CL/F가 0이 되지는 않는다. 극단적인 값에서 생리적이지 못한 모델로 자료가 설명되었지만, 모델을 구축한 자료의 농도 범위가 분모를 0으로 할 만큼 극단적이지는 않기 때문에, 해당 농도 범위에서 TAC과 MPA의 약동학적 상호작용을 설명하는

역할을 하기에는 무리가 없다. 기존에 약물 상호작용을 집단약동학 모델로 설명한 경우에도 선형, 지수형, 시그모이드형의 모델을 모두 평가하였다.(95)

MMF와의 병용으로 인하여 TAC의 노출이 증가할 수 있다는 사실은 신장이식 후 TAC의 최저 혈중 농도를 모니터링하며 관리하는 측면에서 안전성과 관련된 새로운 관점을 제시한다. TAC의 노출 정도에 따라 신경 독성, 신장 독성 등이 발생할 수 있음이 알려져있다.(96) 본 연구 결과는 신장이식 후 MMF의 복용 용량을 증량하거나, MMF를 중단하였다가 재개하는 경우에 함께 복용하고 있는 TAC의 약물 농도가 MMF로 인해 상승할 수 있음을 제시하였다. 따라서, 이식 후 외래에서 환자를 추적할 때 MMF의 복용량을 증량하는 경우에는 TAC의 상승된 노출에 의해 부작용 위험이 상승할 수 있음을 인식하고, 신경 독성 또는 신장 독성 등의 TAC 관련 부작용 발생에 주의해야 한다.

본 연구는 이식 후 최소 6개월이 경과한 안정적인 환자들을 대상으로 하였기 때문에, 이식 직후나 사구체 여과율 또는 혈색소 수치가 감소된 환자 집단에는 본 연구 결과를 직접 적용하기 어렵다. 또한, 신장이식 환자만을 대상으로 하였기 때문에, TAC과 MMF를 기반으로 한 면역억제 요법을 받는 다른 장기이식 환자 집단에 연구 결과를 일반화 할 수 있는지는 확인되지 않았다. 추가적으로, MMF의 용량-노출 반응이 실제로는 비선형임에도 불구하고,(97) TAC과 MMF의 상호작용을 반영한 모델에는 비선형 관계가 완벽히 반영되지 않았다. 다른 장기이식 환자 집단, 극단적인 용량에서 TAC과 MMF의 상호작용의 영향이 어떻게 변화하는지 확인하기 위해서는 추가적인 연구가 필요하다.

결론

결론적으로, 건강한 성인 대상으로 TAC과 MMF의 상호작용을 고려한 집단약동학 모델을 개발하였고 신장이식 환자에서도 상호작용을 확인하였다. 신장이식 환자 대상 임상시험을 기반으로 개발된 약동학 모델에서 TAC에 대해 *CYP3A5* 유전자형과 MMF와의 병용이 유의미한 인자로 도출되었다. 개발된 모델은 고용량의 MMF를 병용할 때, MMF를 중단 또는 재개할 때, *CYP3A5* 유전자형을 이미 알고 있을 때 TAC의 용량 요구량을 결정하는데 유용하게 활용될 수 있다.

References

1. Dong M, Fukuda T, Vinks AA. Optimization of mycophenolic acid therapy using clinical pharmacometrics. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2014;29(1):4–11.
2. Wagner JG. History of pharmacokinetics. *Pharmacol Ther*. 1981;12(3):537–62.
3. Peck CC, Barr WH, Benet LZ, Collins J, Desjardins RE, Furst DE, et al. Opportunities for integration of pharmacokinetics, pharmacodynamics, and toxicokinetics in rational drug development. *J Clin Pharmacol*. 1994;34(2):111–9.
4. Guidance for industry: population pharmacokinetics. Food and Drug Administration. 1999.
5. Guidance for industry: exposure–response relationships — study design, data analysis, and regulatory applications. Food and Drug Administration. 2003.
6. Jones H, Rowland–Yeo K. Basic concepts in physiologically based pharmacokinetic modeling in drug discovery and development. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2013;2:e63.
7. Gobburu JV, Lesko LJ. Quantitative disease, drug, and

- trial models. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2009;49:291–301.
8. Holford N, Ma SC, Ploeger BA. Clinical trial simulation: a review. *Clin Pharmacol Ther.* 2010;88(2):166–82.
 9. Bonate PL, Ahamadi M, Budha N, de la Pena A, Earp JC, Hong Y, et al. Methods and strategies for assessing uncontrolled drug–drug interactions in population pharmacokinetic analyses: results from the International Society of Pharmacometrics (ISOP) Working Group. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2016;43(2):123–35.
 10. Chow AT, Earp JC, Gupta M, Hanley W, Hu C, Wang DD, et al. Utility of population pharmacokinetic modeling in the assessment of therapeutic protein–drug interactions. *J Clin Pharmacol.* 2014;54(5):593–601.
 11. Wang DD, Yu Y, Kassir N, Zhu M, Hanley WD, Earp JC, et al. The Utility of a Population Approach in Drug–Drug Interaction Assessments: A Simulation Evaluation. *J Clin Pharmacol.* 2017;57(10):1268–78.
 12. Zhou H. Population–based assessments of clinical drug–drug interactions: qualitative indices or quantitative measures? *J Clin Pharmacol.* 2006;46(11):1268–89.
 13. Samaniego M, Becker BN, Djamali A. Drug insight: maintenance immunosuppression in kidney transplant

- recipients. *Nat Clin Pract Nephrol*. 2006;2(12):688–99.
14. Hart A, Smith JM, Skeans MA, Gustafson SK, Stewart DE, Cherikh WS, et al. OPTN/SRTR 2015 Annual Data Report: Kidney. *Am J Transplant*. 2017;17 Suppl 1:21–116.
 15. Glynn AM, Slaughter RL, Brass C, D'Ambrosio R, Jusko WJ. Effects of ketoconazole on methylprednisolone pharmacokinetics and cortisol secretion. *Clin Pharmacol Ther*. 1986;39(6):654–9.
 16. Lee KH, Shin JG, Chong WS, Kim S, Lee JS, Jang IJ, et al. Time course of the changes in prednisolone pharmacokinetics after co-administration or discontinuation of rifampin. *Eur J Clin Pharmacol*. 1993;45(3):287–9.
 17. Ho S, Clipstone N, Timmermann L, Northrop J, Graef I, Fiorentino D, et al. The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Clin Immunol Immunopathol*. 1996;80(3 Pt 2):S40–5.
 18. Matsuda S, Koyasu S. Mechanisms of action of cyclosporine. *Immunopharmacology*. 2000;47(2–3):119–25.
 19. Crettol S, Venetz JP, Fontana M, Aubert JD, Pascual M, Eap CB. CYP3A7, CYP3A5, CYP3A4, and ABCB1 genetic polymorphisms, cyclosporine concentration, and dose requirement in transplant recipients. *Ther Drug Monit*.

2008;30(6):689–99.

20. de Jonge H, de Loor H, Verbeke K, Vanrenterghem Y, Kuypers DR. In vivo CYP3A4 activity, CYP3A5 genotype, and hematocrit predict tacrolimus dose requirements and clearance in renal transplant patients. *Clin Pharmacol Ther.* 2012;92(3):366–75.

21. Dai Y, Iwanaga K, Lin YS, Hebert MF, Davis CL, Huang W, et al. In vitro metabolism of cyclosporine A by human kidney CYP3A5. *Biochem Pharmacol.* 2004;68(9):1889–902.

22. Dai Y, Hebert MF, Isoherranen N, Davis CL, Marsh C, Shen DD, et al. Effect of CYP3A5 polymorphism on tacrolimus metabolic clearance in vitro. *Drug Metab Dispos.* 2006;34(5):836–47.

23. Fahr A. Cyclosporin clinical pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet.* 1993;24(6):472–95.

24. Mahalati K, Belitsky P, Sketris I, West K, Panek R. Neoral monitoring by simplified sparse sampling area under the concentration–time curve: its relationship to acute rejection and cyclosporine nephrotoxicity early after kidney transplantation. *Transplantation.* 1999;68(1):55–62.

25. Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ

- transplantation. *Clin Pharmacokinet.* 2004;43(10):623–53.
26. Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, Jain A, Zuckerman S, Warty V, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. *Clin Pharmacokinet.* 1995;29(6):404–30.
27. Aouam K, Chadli Z, Hammouda M, Fredj NB, Aloui S, May ME, et al. Development of Limited Sampling Strategies for the Estimation of Tacrolimus Area Under the Curve in Adult Kidney Transplant Recipients According to the Posttransplantation Time. *Ther Drug Monit.* 2015;37(4):524–30.
28. Mardigyan V, Tchervenkov J, Metrakos P, Barkun J, Deschenes M, Cantarovich M. Best single time points as surrogates to the tacrolimus and mycophenolic acid area under the curve in adult liver transplant patients beyond 12 months of transplantation. *Clin Ther.* 2005;27(4):463–9.
29. Satoh T, Taylor P, Bosron WF, Sanghani SP, Hosokawa M, La Du BN. Current progress on esterases: from molecular structure to function. *Drug Metab Dispos.* 2002;30(5):488–93.
30. Allison AC, Eugui EM. Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action. *Immunopharmacology.* 2000;47(2–3):85–118.

31. Bernard O, Guillemette C. The main role of UGT1A9 in the hepatic metabolism of mycophenolic acid and the effects of naturally occurring variants. *Drug Metab Dispos.* 2004;32(8):775–8.
32. Picard N, Ratanasavanh D, Premaud A, Le Meur Y, Marquet P. Identification of the UDP–glucuronosyltransferase isoforms involved in mycophenolic acid phase II metabolism. *Drug Metab Dispos.* 2005;33(1):139–46.
33. Picard N, Cresteil T, Premaud A, Marquet P. Characterization of a phase I metabolite of mycophenolic acid produced by CYP3A4/5. *Ther Drug Monit.* 2004;26(6):600–8.
34. Byrne R, Yost SE, Kaplan B. Mycophenolate mofetil monitoring: is there evidence that it can improve outcomes? *Clin Pharmacol Ther.* 2011;90(2):204–6.
35. Daher Abdi Z, Essig M, Rizopoulos D, Le Meur Y, Premaud A, Woillard JB, et al. Impact of longitudinal exposure to mycophenolic acid on acute rejection in renal–transplant recipients using a joint modeling approach. *Pharmacol Res.* 2013;72:52–60.
36. van Gelder T. Therapeutic drug monitoring for mycophenolic acid is value for (little) money. *Clin Pharmacol Ther.* 2011;90(2):203–4.

37. Kuypers DR, Le Meur Y, Cantarovich M, Tredger MJ, Tett SE, Cattaneo D, et al. Consensus report on therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid in solid organ transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5(2):341–58.
38. de Winter BC, Mathot RA, Sombogaard F, Neumann I, van Hest RM, Doorduijn JK, et al. Differences in clearance of mycophenolic acid among renal transplant recipients, hematopoietic stem cell transplant recipients, and patients with autoimmune disease. *Ther Drug Monit*. 2010;32(5):606–14.
39. de Winter BC, Monchaud C, Premaud A, Pison C, Kessler R, Reynaud–Gaubert M, et al. Bayesian estimation of mycophenolate mofetil in lung transplantation, using a population pharmacokinetic model developed in kidney and lung transplant recipients. *Clin Pharmacokinet*. 2012;51(1):29–39.
40. Dong M, Fukuda T, Cox S, de Vries MT, Hooper DK, Goebel J, et al. Population pharmacokinetic–pharmacodynamic modelling of mycophenolic acid in paediatric renal transplant recipients in the early post–transplant period. *Br J Clin Pharmacol*. 2014;78(5):1102–12.
41. Han N, Yun HY, Kim IW, Oh YJ, Kim YS, Oh JM.

Population pharmacogenetic pharmacokinetic modeling for flip–flop phenomenon of enteric–coated mycophenolate sodium in kidney transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol.* 2014;70(10):1211–9.

42. Musuamba FT, Mourad M, Haufroid V, Demeyer M, Capron A, Delattre IK, et al. A simultaneous d–optimal designed study for population pharmacokinetic analyses of mycophenolic Acid and tacrolimus early after renal transplantation. *J Clin Pharmacol.* 2012;52(12):1833–43.

43. Velickovic–Radovanovic RM, Jankovic SM, Milovanovic JR, Catic–Dordevic AK, Spasic AA, Stefanovic NZ, et al. Variability of mycophenolic acid elimination in the renal transplant recipients – population pharmacokinetic approach. *Ren Fail.* 2015;37(4):652–8.

44. Ekberg H, Tedesco–Silva H, Demirbas A, Vitko S, Nashan B, Gurkan A, et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med.* 2007;357(25):2562–75.

45. Grinyo JM, Ekberg H, Mamelok RD, Oppenheimer F, Sanchez–Plumed J, Gentil MA, et al. The pharmacokinetics of mycophenolate mofetil in renal transplant recipients receiving standard–dose or low–dose cyclosporine, low–dose

- tacrolimus or low-dose sirolimus: the Symphony pharmacokinetic substudy. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24(7):2269-76.
46. Matsunaga N, Suzuki K, Nakanishi T, Ogawa M, Imawaka H, Tamai I. Modeling approach for multiple transporters-mediated drug-drug interactions in sandwich-cultured human hepatocytes: effect of cyclosporin A on hepatic disposition of mycophenolic acid phenyl-glucuronide. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2015;30(2):142-8.
47. Johnson C, Ahsan N, Gonwa T, Halloran P, Stegall M, Hardy M, et al. Randomized trial of tacrolimus (Prograf) in combination with azathioprine or mycophenolate mofetil versus cyclosporine (Neoral) with mycophenolate mofetil after cadaveric kidney transplantation. *Transplantation.* 2000;69(5):834-41.
48. Ojo AO, Meier-Kriesche HU, Hanson JA, Leichtman AB, Cibrik D, Magee JC, et al. Mycophenolate mofetil reduces late renal allograft loss independent of acute rejection. *Transplantation.* 2000;69(11):2405-9.
49. Shapiro R, Jordan ML, Scantlebury VP, Vivas C, Marsh JW, McCauley J, et al. A prospective, randomized trial of tacrolimus/prednisone versus

- tacrolimus/prednisone/mycophenolate mofetil in renal transplant recipients. *Transplantation*. 1999;67(3):411–5.
50. Shuker N, van Gelder T, Hesselink DA. Intra-patient variability in tacrolimus exposure: causes, consequences for clinical management. *Transplant Rev (Orlando)*. 2015;29(2):78–84.
51. van Gelder T, Hesselink DA. Mycophenolate revisited. *Transpl Int*. 2015;28(5):508–15.
52. Vanhove T, Kuypers D, Claes KJ, Evenepoel P, Meijers B, Naesens M, et al. Reasons for dose reduction of mycophenolate mofetil during the first year after renal transplantation and its impact on graft outcome. *Transpl Int*. 2013;26(8):813–21.
53. Cellcept® [Summary of Product Characteristics]. Roche Pharma, Inc.; 2016.
54. Kagaya H, Miura M, Satoh S, Inoue K, Saito M, Inoue T, et al. No pharmacokinetic interactions between mycophenolic acid and tacrolimus in renal transplant recipients. *J Clin Pharm Ther*. 2008;33(2):193–201.
55. Braun F, Schocklmann H, Ziegler E, Kunzendorf U, Armstrong VW, Renders L. Increased mycophenolic acid exposure in stable kidney transplant recipients on tacrolimus

- as compared with those on sirolimus: implications for pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther.* 2009;86(4):411–5.
56. Zucker K, Tsaroucha A, Olson L, Esquenazi V, Tzakis A, Miller J. Evidence that tacrolimus augments the bioavailability of mycophenolate mofetil through the inhibition of mycophenolic acid glucuronidation. *Ther Drug Monit.* 1999;21(1):35–43.
57. FDA Guidance for Industry Drug Interaction Studies – Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations. 2012. Available at <http://www.fda.gov>.
58. Alloway RR, Sadaka B, Trofe–Clark J, Wiland A, Bloom RD. A randomized pharmacokinetic study of generic tacrolimus versus reference tacrolimus in kidney transplant recipients. *Am J Transplant.* 2012;12(10):2825–31.
59. World Medical A. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA.* 2013;310(20):2191–4.
60. de Loor H, Naesens M, Verbeke K, Vanrenterghem Y, Kuypers DR. Stability of mycophenolic acid and glucuronide metabolites in human plasma and the impact of deproteinization methodology. *Clin Chim Acta.* 2008;389(1–

2):87–92.

61. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med.* 1999;130(6):461–70.

62. Khandelwal A, Harling K, Jonsson EN, Hooker AC, Karlsson MO. A fast method for testing covariates in population PK/PD Models. *AAPS J.* 2011;13(3):464–72.

63. Lindbom L, Pihlgren P, Jonsson EN. PsN–Toolkit – a collection of computer intensive statistical methods for non-linear mixed effect modeling using NONMEM. *Comput Methods Programs Biomed.* 2005;79(3):241–57.

64. Bergstrand M, Karlsson MO. Handling data below the limit of quantification in mixed effect models. *AAPS J.* 2009;11(2):371–80.

65. Byon W, Smith MK, Chan P, Tortorici MA, Riley S, Dai H, et al. Establishing best practices and guidance in population modeling: an experience with an internal population pharmacokinetic analysis guidance. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol.* 2013;2:e51.

66. Jonsson EN, Karlsson MO. Xpose – an S-PLUS based

population pharmacokinetic/pharmacodynamic model building aid for NONMEM. *Comput Methods Programs Biomed.*

1999;58(1):51–64.

67. Bergstrand M, Hooker AC, Wallin JE, Karlsson MO.

Prediction–corrected visual predictive checks for diagnosing nonlinear mixed–effects models. *AAPS J.* 2011;13(2):143–51.

68. Jiao Z, Ding JJ, Shen J, Liang HQ, Zhong LJ, Wang Y, et

al. Population pharmacokinetic modelling for enterohepatic circulation of mycophenolic acid in healthy Chinese and the influence of polymorphisms in UGT1A9. *Br J Clin Pharmacol.* 2008;65(6):893–907.

69. Colom H, Lloberas N, Andreu F, Caldes A, Torras J,

Oppenheimer F, et al. Pharmacokinetic modeling of enterohepatic circulation of mycophenolic acid in renal transplant recipients. *Kidney Int.* 2014;85(6):1434–43.

70. Sherwin CM, Sagcal–Gironella AC, Fukuda T, Brunner

HI, Vinks AA. Development of population PK model with enterohepatic circulation for mycophenolic acid in patients with childhood–onset systemic lupus erythematosus. *Br J Clin Pharmacol.* 2012;73(5):727–40.

71. Shipkova M, Armstrong VW, Weber L, Niedmann PD,

Wieland E, Haley J, et al. Pharmacokinetics and protein adduct formation of the pharmacologically active acyl glucuronide metabolite of mycophenolic acid in pediatric renal transplant recipients. *Ther Drug Monit.* 2002;24(3):390–9.

72. Han N, Ha S, Yun HY, Kim MG, Min SI, Ha J, et al. Population pharmacokinetic–pharmacogenetic model of tacrolimus in the early period after kidney transplantation. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2014;114(5):400–6.

73. Han N, Yun HY, Hong JY, Kim IW, Ji E, Hong SH, et al. 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.* 2013;69(1):53–63.

74. Shi XJ, Geng F, Jiao Z, Cui XY, Qiu XY, Zhong MK. Association of ABCB1, CYP3A4*18B and CYP3A5*3 genotypes with the pharmacokinetics of tacrolimus in healthy Chinese subjects: a population pharmacokinetic analysis. *J Clin Pharm Ther.* 2011;36(5):614–24.

75. Xue L, Zhang H, Ma S, Rui JZ, Miao LY. Population pharmacokinetics and pharmacogenetics of tacrolimus in healthy Chinese volunteers. *Pharmacology.* 2011;88(5–6):288–94.

76. Jeong H, Kaplan B. Therapeutic monitoring of mycophenolate mofetil. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2007;2(1):184–91.
77. Svensson EM, Aweeka F, Park JG, Marzan F, Dooley KE, Karlsson MO. Model-based estimates of the effects of efavirenz on bedaquiline pharmacokinetics and suggested dose adjustments for patients coinfecting with HIV and tuberculosis. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(6):2780–7.
78. Birdwell KA, Decker B, Barbarino JM, Peterson JF, Stein CM, Sadee W, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP3A5 Genotype and Tacrolimus Dosing. *Clin Pharmacol Ther.* 2015;98(1):19–24.
79. Imamura CK, Furihata K, Okamoto S, Tanigawara Y. Impact of cytochrome P450 2C19 polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus when coadministered with voriconazole. *J Clin Pharmacol.* 2016;56(4):408–13.
80. Itagaki F, Homma M, Yuzawa K, Nishimura M, Naito S, Ueda N, et al. Effect of lansoprazole and rabeprazole on tacrolimus pharmacokinetics in healthy volunteers with CYP2C19 mutations. *J Pharm Pharmacol.* 2004;56(8):1055–9.
81. Zuo XC, Zhou YN, Zhang BK, Yang GP, Cheng ZN, Yuan

H, et al. Effect of CYP3A5*3 polymorphism on pharmacokinetic drug interaction between tacrolimus and amlodipine. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2013;28(5):398–405.

82. EMA Guideline on the Investigation of Drug Interactions. 2012. Available at <http://www.ema.europa.eu>.

83. Tortorici MA, Parks V, Matschke K, Korth–Bradley J, Patat A. The evaluation of potential pharmacokinetic interaction between sirolimus and tacrolimus in healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol*. 2013;69(4):835–42.

84. Gourishankar S, Houde I, Keown PA, Landsberg D, Cardella CJ, Barama AA, et al. The CLEAR study: a 5–day, 3–g loading dose of mycophenolate mofetil versus standard 2–g dosing in renal transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5(7):1282–9.

85. Kamar N, Rostaing L, Cassuto E, Villemain F, Moal MC, Ladriere M, et al. A multicenter, randomized trial of increased mycophenolic acid dose using enteric–coated mycophenolate sodium with reduced tacrolimus exposure in maintenance kidney transplant recipients. *Clin Nephrol*. 2012;77(2):126–36.

86. van Gelder T, Silva HT, de Fijter JW, Budde K, Kuypers D, Tyden G, et al. Comparing mycophenolate mofetil

regimens for de novo renal transplant recipients: the fixed-dose concentration-controlled trial. *Transplantation*. 2008;86(8):1043–51.

87. Lim MA, Kohli J, Bloom RD. Immunosuppression for kidney transplantation: Where are we now and where are we going? *Transplant Rev (Orlando)*. 2017;31(1):10–7.

88. Brooks E, Tett SE, Isbel NM, Staatz CE. Population Pharmacokinetic Modelling and Bayesian Estimation of Tacrolimus Exposure: Is this Clinically Useful for Dosage Prediction Yet? *Clin Pharmacokinet*. 2016;55(11):1295–335.

89. Vanhove T, Bouwsma H, Hilbrands L, Swen JJ, Spriet I, Annaert P, et al. Determinants of the Magnitude of Interaction Between Tacrolimus and Voriconazole/Posaconazole in Solid Organ Recipients. *Am J Transplant*. 2017;17(9):2372–80.

90. Savic RM, Karlsson MO. Importance of shrinkage in empirical bayes estimates for diagnostics: problems and solutions. *AAPS J*. 2009;11(3):558–69.

91. Picard N, Yee SW, Woillard JB, Lebranchu Y, Le Meur Y, Giacomini KM, et al. The role of organic anion-transporting polypeptides and their common genetic variants in mycophenolic acid pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther*. 2010;87(1):100–8.

92. Miura M, Satoh S, Inoue K, Kagaya H, Saito M, Inoue T, et al. Influence of SLCO1B1, 1B3, 2B1 and ABCC2 genetic polymorphisms on mycophenolic acid pharmacokinetics in Japanese renal transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2007;63(12):1161–9.
93. Djebli N, Picard N, Rerolle JP, Le Meur Y, Marquet P. Influence of the UGT2B7 promoter region and exon 2 polymorphisms and comedications on Acyl-MPAG production in vitro and in adult renal transplant patients. *Pharmacogenet Genomics*. 2007;17(5):321–30.
94. Kiberd BA, Lawen J, Daley C. Limits to intensified mycophenolate mofetil dosing in kidney transplantation. *Ther Drug Monit*. 2012;34(6):736–8.
95. Zhou D, Lu Z, Sunzel M, Xu H, Al-Huniti N. Population pharmacokinetic modelling to assess clinical drug–drug interaction between AZD7325 and midazolam. *J Clin Pharm Ther*. 2014;39(4):404–10.
96. Staatz C, Taylor P, Tett S. Low tacrolimus concentrations and increased risk of early acute rejection in adult renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2001;16(9):1905–9.
97. de Winter BC, Mathot RA, Sombogaard F, Vulto AG,

van Gelder T. Nonlinear relationship between mycophenolate mofetil dose and mycophenolic acid exposure: implications for therapeutic drug monitoring. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6(3):656–63.

Abstract

Investigation of Drug–Drug Interactions between Tacrolimus and Mycophenolate Mofetil with Pharmacometric Approach

Jae Hyun Kim

College of Pharmacy, Clinical Pharmacy

The Graduate School

Seoul National University

1. Identification of Drug–Drug Interaction between Tacrolimus and Mycophenolate in Healthy Volunteers

Tacrolimus (TAC) and mycophenolate mofetil (MMF) are the most frequently administered immunosuppressants to prevent rejection in solid organ transplant. The objective of the study was to investigate the pharmacokinetic drug–drug interactions between

tacrolimus (TAC) and mycophenolate mofetil (MMF) in healthy Korean male volunteers.

Seventeen volunteers participated in a three-period of single-dose, and fixed sequence study. They sequentially received MMF, TAC, and the combination. Concentrations of TAC, mycophenolic acid (MPA), and its metabolites MPA 7-O-glucuronide and MPA acyl glucuronide were measured. The variants of *CYP3A4*, *CYP3A5*, *SLCO1B1*, *SLCO1B3*, *ABCC2*, *UGT1A9*, and *UGT2B7* were genotyped. Drug interaction was evaluated with a non-compartmental analysis and population pharmacokinetic modelling to quantify the magnitude of interaction effect. One or multi compartment models were tested to explain drug pharmacokinetics with population pharmacokinetic model. Relationship between parameters and covariates was explored with a stepwise covariate model procedure. To estimate the effect of interaction between TAC and MPA, linear, sigmoid, and exponential model was tested. Determination of model improvement was guided by objective function value, goodness-of-fit, and visual predictive check.

A total of 1,082 concentrations of those analytes were analysed. $AUC_{0-\infty}$ of TAC increased by 22.1% (322.4 ± 174.1 to 393.6 ± 121.7 ng·h/mL; $P < 0.05$) when co-administered with MMF, whereas the pharmacokinetic parameters of MPA and its metabolites were not changed by TAC. Apparent clearance (CL/F) of TAC was 17.8 L/h [relative standard error (RSE) 11%] or 13.8 L/h (RSE 11%) without

or with MMF, respectively. Interaction was explained by the exponential model. The *CYP3A5* genotype was the only significant covariate; the population estimate of CL/F of TAC was 1.48-fold (RSE 16%) in *CYP3A5* expressers when compared to nonexpressers. CL/F of TAC was decreased when co-administered with MMF in these subjects.

In conclusion, this study identified the interaction between TAC and MMF with the integrated population pharmacokinetic model. Concentrations of TAC can be increased with co-administration with MMF. Considering that recent clinical trials evaluate various combinations of TAC and MMF, characterising the pharmacokinetic interaction between these two drugs is important. A developed population pharmacokinetic model can be used to predict the concentration of TAC and MMF in various dosage combinations while considering the effect of interaction at the same time. However, further research is necessary to confirm whether the effect of drug-drug interaction persists in the target patient population.

2. Validation of Population Pharmacokinetic Model Derived from Healthy Volunteers with Kidney Transplant Recipients

TAC and MMF are the most frequently administered immunosuppressants to prevent rejection in kidney transplant recipients. Possibility of interaction between TAC and MMF has been

raised based on previous in vitro studies. In Section I, the magnitude and the characteristics of interaction were evaluated in healthy volunteers. The purpose of the research was to confirm the effect of interaction in kidney transplant recipients with population pharmacokinetic models developed from healthy volunteers.

Thirty-two kidney transplant recipients participated in the study. Blood samples were drawn up to maximum of 4 hours after drug administration. Concentrations of TAC, mycophenolic acid (MPA), MPA 7-O-glucuronide (MPAG), and MPA acyl glucuronide (AcMPAG) were analyzed. Genotypes including *CYP3A4*, *CYP3A5*, *SLCO1B1*, *SLCO1B3*, *ABCC2*, *UGT1A9*, and *UGT2B7* were determined. Population pharmacokinetic model from healthy volunteers were served as a base structure model of kidney transplant recipients. Covariates including clinical variables and genotypes were tested. With final population pharmacokinetic model, the trough level of TAC was simulated in various clinical scenarios.

A total of 562 concentrations were analyzed and used for model development. Effect of interaction was described as inverse exponential relationship between the concentration of MPA and the apparent clearance of TAC. *CYP3A5*, *SLCO1B3*, and *UGT2B7* genotypes were found to be significant covariates in the final model. Typical value of CL/F of TAC was 21.9 L/h and increased to 1.49-fold in *CYP3A5* expressers. Volume of distribution of MPAG was 1.2-fold in T carriers of *SLCO1B3*. Formation rate of AcMPAG was

decreased in T carriers of *UGT2B7*. Simulated concentrations of tacrolimus were obtained under the combination of administered dose of immunosuppressants and variants (*CYP3A5*, *SLCO1B3*, *UGT2B7*). Higher trough levels of tacrolimus were observed in *CYP3A5* nonexpressers with high dose of MMF. Levels of TAC were not affected by genotypes of *SLCO1B3* and *UGT2B7*.

This study is the first study to confirm the effect of interaction between TAC and MMF in kidney transplant recipients with population pharmacokinetic model derived from healthy volunteers. Major determinants of trough concentration of TAC were drug interaction with MMF and *CYP3A5* genotypes. In clinical situations which MMF is co-administered or the dose of MMF changes, dose of TAC can be adjusted with developed population pharmacokinetic model.

keywords : Drug–Drug Interaction, Tacrolimus, Mycophenolate, Pharmacometrics, NONMEM