

最优子集回归模型在预测肝移植受者他克莫司血药浓度中的应用

傅晓华^{1*}, 洪晓丹², 罗美娟², 叶毅芳², 陈小陆², 姚秋燕², 任斌^{2#}(1. 广州新海医院, 广州 510300; 2. 中山大学附属第一医院, 广州 510080)

中图分类号 R969.1; R979.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)18-1670-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.18.15

摘要 目的: 建立肝移植受者他克莫司血药浓度简易估算方法。方法: 收集37例肝移植受者口服他克莫司的176份稳态全血浓度数据, 采用最优子集回归法建立他克莫司稳态血药浓度简易估算公式。结果: 以浓度测定前4日他克莫司累积剂量预测他克莫司血药浓度的准确性及精密度较好, 平均预测误差 (0.04 ± 2.5) ng/ml, 平均绝对误差 (2.00 ± 1.45) ng/ml, 80.8%的血药浓度数据绝对预测误差 ≤ 3.0 ng/ml。结论: 本方法预测他克莫司血药浓度准确性和精密度较好, 简便快捷。

关键词 他克莫司; 肝移植; 最优子集回归

Application of Best Subset Multiple Regression Model in Prediction of Tacrolimus Blood Concentration in Liver Transplantation Recipients

FU Xiao-hua¹, HONG Xiao-dan², LUO Mei-juan², YE Yi-fang², CHEN Xiao-lu², YAO Qiu-yan², REN Bin²(1. Guangzhou Xinhai Hospital, Guangzhou 510300, China; 2. The First Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510080, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To establish a simple method for predicting tacrolimus blood concentration in liver transplantation recipients. METHODS: The 176 data samples of steady blood concentration of tacrolimus were collected from 37 liver transplantation recipients. Best subset multiple linear regression method (MLR) was used to establish the simple formula for predicting tacrolimus concentration. RESULTS: The blood concentration of tacrolimus could be predicted by accumulative dose of tacrolimus in 4 days before determined accurately and precisely. Mean prediction error and mean absolute prediction error were (0.04 ± 2.5) ng/ml and (2.00 ± 1.45) ng/ml, respectively. The absolute prediction error of 80.8% of concentration data was less than 3.0 ng/ml. CONCLUSIONS: The method is accurate and precise, simple and convenient to predict tacrolimus blood concentration.

KEY WORDS Tacrolimus; Liver transplantation; Best subset multiple regression

3 讨论

笔者选择的有机溶剂为乙腈, 无机溶剂为0.02 mol/L的磷酸盐缓冲液, 两者体积比为18:82, 结果表明药物峰与内标峰有较好的分离; 再加入0.5%三乙胺改善峰形, 之后拖尾现象消失。样品的提取采用液-液萃取后流动氮气吹干的方法, 萃取液预选了常规应用的二氯甲烷, 然而提取物在低浓度下无法检出, 故选用了三氯甲烷和异丙醇(95:5)混合液为萃取液。

本试验中的高效液相色谱图可见有明显的代谢产物色谱峰, 该峰随多索茶碱的增高而增高, 呈现出明显的相关性。此峰可能为代谢产物的混合峰, 在本试验条件下, 几种代谢产物单一的色谱峰不能分开。本试验用茶碱标准品加入法, 证实了其中包括活性代谢产物茶碱, 该结果与Grosa G等^[5]的结果基本一致; 但其浓度较低, 是否有临床意义有待于进一步探讨。研究表明, 多索茶碱在健康人体内药动学呈一级吸收-室开放模型, 达峰时间、达峰浓度、血中药物浓度水平与文献报道非常相似^[6]。与NM441合用并不改变多索茶碱药-时曲线的轮廓, 但在两药合用时, 多索茶碱达峰时间后移, 吸收半衰期延长, 最低稳态血药浓度比单用时高出很多, 最大血药浓度具有显著性差异, 消除率下降。虽然多索茶碱和NM441

的代谢均在肝微粒体中进行, 但代谢的酶系不同^[6-7], 因此互不影响, 此现象认为可能与两药的蛋白结合率有关。在该给药剂量下, 两药合用药动学上无明显的相互作用, 提示两药临床上可以合用, 但应注意监测多索茶碱的血药浓度。

参考文献

- [1] 李峰, 阚全程, 聂会娟. 稳态时甲磺酸帕珠沙星对兔体内多索茶碱药物动力学的影响[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2010, 45(2): 222.
- [2] 贺娟, 夏培元. 普卢利沙星: 新一代氟喹诺酮类抗菌药[J]. 抗感染药学, 2006, 3(1): 5.
- [3] 刘保光, 徐利纳. 喹诺酮类药物的研究进展[J]. 兽医导刊, 2009(9): 192.
- [4] 李艳萍, 刘明亮, 郭慧元. 抗结核药物研究进展[J]. 国外医药: 抗生素分册, 2009, 30(6): 241.
- [5] Grosa G, Franzone JS, Biglino G. Metabolism of doxophylline by rat liver microsomes[J]. *Drug Metab Dispos*, 1986, 14(2): 267.
- [6] 李朵璐, 阚全程, 刘玲. 左氧氟沙星对多索茶碱在健康人体内药动学的影响[J]. 中国新药与临床杂志, 2008, 27(9): 680.
- [7] 杨国宏, 张晓, 王丽娜, 等. 细辛脑联合多索茶碱治疗慢性阻塞性肺病疗效观察[J]. 现代生物医学进展, 2011, 11(16): 3 143.

(收稿日期: 2012-06-10 修回日期: 2013-03-03)

* 主管药师。研究方向: 医院药学与药事管理。电话: 020-84105083。E-mail: fuxiaohua3118@sina.com

通信作者: 副主任药师, 硕士研究生导师。研究方向: 临床药学。电话: 020-87755766-8430。E-mail: renbinsys@sina.com

他克莫司(Tacrolimus, FK506)属大环内酯类免疫抑制剂,作用机制与环孢素相似,但免疫抑制效果较环孢素强10~100倍,目前已成为肝移植后免疫排斥反应的一线用药。他克莫司有效血药浓度范围较窄(5~15 ng/ml),药动学个体差异大,且易受到其他药物联合应用的影响。血药浓度过高,有可能出现过度免疫抑制及其他毒副作用,过低则可能出现排斥反应。因此临床多通过治疗药物监测来调整给药剂量,达到有效浓度范围,实现个体化给药,以确保用药的安全、有效^[1]。本研究以37例肝移植受者口服他克莫司的176份稳态全血浓度数据为分析对象,采用最优子集回归法建立了他克莫司稳态血药浓度简易估算公式,旨在帮助临床预测肝移植受者的他克莫司血药浓度,为临床快速、有效地制订个体化给药方案提供依据。

1 资料与方法^[2]

1.1 研究对象

研究对象来源于肝移植术后进行他克莫司血药浓度监测的肝移植术受者,并回顾性收集其临床资料,包括他克莫司血药浓度、患者性别、年龄、体质量、身高、术后时间、浓度测定前7天内他克莫司每日剂量或累积剂量、免疫抑制方案、浓度测定前3或4天各项实验室检查结果以及合并用药等。

1.2 免疫抑制治疗方案

患者肝移植术后接受他克莫司+激素二联免疫抑制方案或他克莫司+霉酚酸酯+激素三联免疫抑制方案。他克莫司起始剂量为0.15 ng/(kg·d),q12h,然后根据血药浓度监测结果调整他克莫司剂量。

1.3 血样采集及血药浓度测定

患者在不同的术后时间段(连续用药>4 d达到稳态),于服药前(0 h)抽取外周静脉血1~2 ml,置于乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管中,置-37℃保存。采用微粒子酶免疫法测定他克莫司全血浓度。

1.4 数据处理

1.4.1 影响因素筛选。以他克莫司血药浓度为输出变量,患者性别、年龄、体质量、身高、术后时间、浓度测定前7天内他克莫司每日剂量或累积剂量、免疫抑制方案(二联/三联)、浓度测定前3或4天各项实验室检查结果以及合并用药等为输入变量,采用最优子集法^[2],筛选他克莫司血药浓度的影响因素。

1.4.2 多元线性回归(MLR)模型。将他克莫司血药浓度数据随机分为2组:训练组、测试组。采用Minitab 16.0统计软件,以训练组他克莫司血药浓度为输出变量,“1.4.1”项下他克莫司血药浓度影响因素为输入变量,进行MLR分析,公式如下:

$$c = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_{n-1} x_{n-1} + \beta_n x_n$$

式中, c 为他克莫司血药浓度, β_0 为截距, x_1, \dots, x_n 为血药浓度影响因素, β_1, \dots, β_n 为计算参数。

1.4.3 模型验证。以测试组数据为验证数据,以遴选出的多元线性回归方程估算测试组他克莫司血药浓度,考察他克莫司血药浓度估算值与实测值之间的相关性,并作相关性散点图。同时计算预测误差(Prediction error, PE),以平均预测误差(Mean prediction error, MPE)评价模型的准确性,平均绝对误差(Mean absolute prediction error, MAE)评价模型的精确度,并计算绝对预测误差(|PE|)≤3.0 ng/ml的数据百分率。

$$PE = c_{\text{预测}} - c_{\text{实测}}$$

$$MPE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n PE_i$$

$$MAE = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |PE_i|$$

2 结果

2.1 临床资料

共收集37例肝移植受者,其中男性31例,女性6例,年龄(49.3±9.0)岁,体质量(62.3±7.6)kg,术后时间(26.9±22.6)d,他克莫司给药剂量1~16 mg/d,稳态全血药物浓度样本176份。患者资料详见表1。肝移植受者在免疫抑制治疗的基础上都合用其他药物,其中钙通道拮抗药19例/次,更昔洛韦89例/次,奥美拉唑65例/次,多潘立酮42例/次,氟康唑71例/次,氧氟沙星32例/次,甲硝唑45例/次,乌司他丁46例/次。

表1 肝移植受者资料

Tab 1 Information of liver transplantation recipients

项目	数据值
性别(女/男),例	6/31
年龄,岁	49.3±9.0(30~73)
体质量,kg	62.3±7.6(48~77)
身高,cm	168.2±4.7(150~175)
术后时间,d	26.9±22.6(3~138)
样本数(二联/三联免疫抑制方案),份	176(115/61)
他克莫司剂量,mg/d	6.3±2.7(1~16)
他克莫司血药浓度,ng/ml	9.2±4.8(1.4~32.1)

2.2 血药浓度影响因素

经采用最优子集法分析,患者术后时间(Posttransplantation days, PTD)、浓度测定前 n 天累积剂量(Dose_n, $n=2\sim7$)、免疫抑制方案(Immunosuppression regimens, IMMR, 二联为0、三联为1)与碱性磷酸酶(ALP)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)、间接胆红素(IBIL)、总蛋白(TP)、血糖(GLU)、红细胞(RBC)检查值以及合用奥美拉唑(Omeprazole, OME)、氟康唑(Fluconazol, FLU)、乌司他丁(Ulinastain, ULI)(合用为1,未合用为0)等组成最佳子集,所建立回归方程具有最大的校正 R^2 ,最小估计标准误 s ,马罗斯C-p统计量(Mallows C-p)与子集变量数最接近。

2.3 模型建立

肝移植受者他克莫司血药浓度数据共176例/次,随机分为训练组与测试组,资料见表2。

表2 训练组与测试组资料

Tab 2 Data of training group and test group

项目	训练组($n=150$)	测试组($n=26$)
他克莫司血药浓度,ng/ml	9.2±4.9(1.4~32.1)	9.1±4.5(3~22)
术后时间,d	27.3±23.3(3~138)	24.8±18(7~73)
他克莫司剂量,mg/d	6.1±2.8(1~16)	7.1±2.1(1~10)
样本数(二联/三联免疫抑制方案),份	95/55	20/6

分别以训练组他克莫司血药浓度测定前2、3、4、5、6、7天他克莫司累积剂量及其他影响因素建立多元回归方程,预测他克莫司血药浓度,其中采用浓度测定前4天累积剂量Dose₄建立的他克莫司血药浓度MLR估算公式MLR_{Dose₄}如下:

$$c = -6.19 + 0.086 \text{ PTD} + 0.102 \text{ Dose}_4 - 0.003 \text{ 83ALP} - 0.003 \text{ 73ALT} + 0.010 \text{ 1AST} - 0.005 \text{ 61LDH} + 0.047 \text{ 7TP} + 0.499 \text{ GLU} + 0.013 \text{ 2IBIL} + 1.12 \text{ RBC} + 0.430 \text{ IMMR} + 2.50 \text{ OME} + 1.40 \text{ FLU} - 2.80 \text{ ULI}$$

2.4 方案评估

将测试组数据以多元线性回归方程处理,并对预测结果进行验证,结果见表3。测试组他克莫司血药浓度预测值与实

测值之间相关系数为0.834 2~0.856 1,采用不同天数他克莫司累积剂量预测的相关系数相当。MLR_{Dose1}法预测值和实测值相关性散点图见图1。以Dose₄、Dose₅预测他克莫司血药浓度的准确性及精密度均较好,MLR_{Dose4}法的MPE与MAE分别为(0.04±2.5)ng/ml和(2.00±1.45)ng/ml,21例(21/26,80.8%)血药浓度数据|PE|≤3.0 ng/ml;MLR_{Dose5}法的MPE与MAE

分别为(-0.04±2.50)ng/ml和(2.00±1.44)ng/ml,20例(20/25,80.0%)血药浓度数据|PE|≤3.0 ng/ml。以Dose₂、Dose₃预测他克莫司血药浓度的准确性及精密度略有下降,仅76.9%的血药浓度数据|PE|≤3.0 ng/ml。以Dose₆、Dose₇预测他克莫司血药浓度的准确性及精密度明显下降,MPE为-0.28~-0.50 ng/ml,MAE为2.10~2.19 ng/ml。

表3 测试组他克莫司血药浓度预测效果

Tab 3 Prediction performance of tacrolimus concentration in test group

模型	相关系数	预测值(范围),ng/ml	PE(范围),ng/ml	PE (范围),ng/ml	PE ≤3.0 ng/ml数据百分率,%
MLR _{Dose2}	0.836 4	9.11±3.10(4.6~17.5)	0.02±2.53(-5.0~3.7)	2.02±1.47(0.02~5.0)	76.9(20/26)
MLR _{Dose3}	0.834 2	9.13±3.10(4.7~17.5)	0.05±2.54(-4.9~3.7)	2.03±1.48(0.02~4.9)	76.9(20/26)
MLR _{Dose4}	0.841 6	9.13±3.09(4.7~17.5)	0.04±2.50(-4.8~3.2)	2.00±1.45(0.02~4.8)	80.8(21/26)
MLR _{Dose5}	0.856 1	9.07±3.07(4.8~17.1)	-0.04±2.50(-4.9~3.1)	2.00±1.44(0.00~4.9)	80.0(20/25)
MLR _{Dose6}	0.856 1	8.83±2.80(5.1~16.6)	-0.28±2.60(-5.4~2.9)	2.10±1.50(0.20~5.4)	84.0(21/25)
MLR _{Dose7}	0.839 8	8.61±2.55(5.0~15.0)	-0.50±2.78(-7.0~2.8)	2.19±1.74(0.10~7.0)	84.0(21/25)

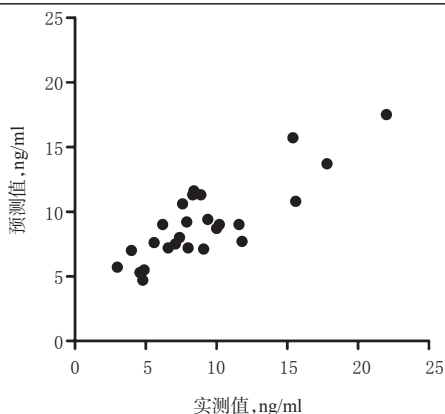


图1 测试组他克莫司血药浓度预测值与实测值相关性散点图
Fig 1 Scatter plots of the relationship between the actual concentration and the predicted concentration in test group

3 讨论

他克莫司是目前肝移植术后常规使用的免疫抑制剂,它大大减少了肝移植术后排斥反应的发生,提高了患者的存活率。但其治疗窗窄,血药浓度个体差异非常大,口服生物利用度在4%~89%,因此肝移植受者需要经常监测血药浓度来调整给药剂量,确保用药的安全、有效。临床医师可根据血药浓度监测结果,反复调整他克莫司剂量,以达到有效浓度范围。但是,该方法往往需要多次调整剂量,耗时较长,如能在调整他克莫司剂量后,即可迅速预测该剂量下的稳态血药浓度,无疑将显著缩短肝移植受者达到有效浓度的时间,迅速取得满意的免疫抑制疗效。

目前多采用非线性混合效应模型法考察他克莫司在肝移植受者的群体药动学特征,并通过Bayesian反馈法预测个体血药浓度,为临床制订个体化给药方案提供依据^[3-6]。Sam WJ等^[6]建立了20例亚洲儿童肝移植患者他克莫司群体药动学模型,平均预测误差1.4 ng/ml, RMSE 6.7 ng/ml。Staatz CE等^[3]采用非线性混合效应模型法预测34例成人肝移植受者血药浓度, MPE 0.56 ng/ml,均方根预测误差(RMSE)4.81 ng/ml。非线性混合效应模型法计算过程复杂,需要应用人员具备较高的药动学研究水平,同时需要专用的NONMEM药动学程序,应用单位较少。本文采用最优子集线性回归法,筛选出最佳输入变量组合,尝试建立了肝移植受者他克莫司血药浓度的估算公式,结果血药浓度预测值与实测值之间相关系数达0.841 6,

MPE 0.04 ng/ml,平均|PE| 2.00 ng/ml,80.8%血药浓度数据|PE|≤3.0 ng/ml。提示在不能开展群体药动学研究的单位,可以考虑采用最优子集线性回归法筛选他克莫司血药浓度影响因素并建立血药浓度估算公式,作为替代措施预测他克莫司血药浓度。

本研究176例他克莫司稳态全血浓度数据经最优子集回归分析,患者性别、年龄、体质量、身高、活化部分凝血酶原时间、血尿素氮、肌酐、平均红细胞血红蛋白浓度及合用钙拮抗药(地尔硫草或硝苯地平)、多潘立酮、氧氟沙星、甲硝唑对他克莫司血药浓度无明显影响。他克莫司体内代谢及吸收与细胞色素P₄₅₀(CYP)3A4和/或P糖蛋白(P-gp)有关。研究发现钙拮抗药可抑制CYP3A4和/或P-gp,从而导致他克莫司血药浓度升高^[7]。本研究未发现合用钙拮抗药对他克莫司血药浓度有显著影响,可能与合用钙拮抗药的样本数过少有关(19/176)。

参考文献

- [1] 丁春雷,刘丽宏,马萍,等.他克莫司治疗药物监测研究进展[J].中国药房,2008,19(20):1580.
- [2] 李长平,职心乐,刘晓红,等.AIC结合最优子集法构建logistic回归模型在预测2型糖尿病并发末梢神经病变中的应用[J].中国卫生统计,2010,27(6):594.
- [3] Staatz CE, Willis C, Taylor PJ, et al. Toward better outcomes with tacrolimus therapy: population pharmacokinetics and individualized dosage prediction in adult liver transplantation[J]. *Liver Transpl*,2003,9(2):130.
- [4] Sam WJ, Tham LS, Holmes MJ, et al. Population pharmacokinetics of tacrolimus in whole blood and plasma in Asian liver transplant patients[J]. *Clin Pharmacokinet*,2006,45(1):59.
- [5] Sam WJ, Aw M, Quak SH, et al. Population pharmacokinetics of tacrolimus in Asian paediatric liver transplant patients[J]. *Br J Clin Pharmacol*,2000,50(6):531.
- [6] 张弋,付鹏,郑虹,等.他克莫司在151例肝移植受者的常规监测的群体药动学研究[J].中国药学杂志,2008,43(24):1897.
- [7] 周永恒,石磊,唐镜波.影响他克莫司血药浓度的因素[J].中国药房,2005,16(24):1909.

(收稿日期:2012-05-28 修回日期:2012-06-30)