

种族对移植患者他克莫司药动学的影响

咎双江^{1*},朱立勤^{2#},段文越³,章袁⁴(1.天津医科大学一中心临床学院,天津 300070;2.天津市第一中心医院,天津 300192;3.天津中医药大学,天津 300193;4.天津医科大学,天津 300070)

中图分类号 R969.1;R979.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)26-2438-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.26.15

摘要 目的:考察口服他克莫司在不同种族移植患者群体中的药动学差异,建立他克莫司药动学模型,为制订他克莫司用于不同移植群体的个体化治疗方案提供科学依据。方法:检索PubMed与万方数据库中关于口服他克莫司药动学的文献,从文献中提取该药在移植患者中的药动学数据,采用非线性混合效应模型(NONMEM)法对获得数据进行统计分析,建立群体药动学模型,并对模型进行图形评价和Bootstrap法验证。结果:他克莫司在移植患者中的群体药动学过程符合一室模型。他克莫司在黄种人中表观清除率(CL/F)为15.7 L/h,高于白种人(11.1 L/h)。他克莫司清除率群体药动学模型为: $CL=[15.7 \times Race + 11.1 \times (1 - Race)] \times (Dose/10)^{0.116}$ 。结论:种族因素会影响移植患者他克莫司的药动学过程。

关键词 种族;他克莫司;群体药动学;非线性混合效应模型法

Effects of Race on the Pharmacokinetics of Tacrolimus in Transplantation Patients

ZAN Shuang-jiang¹, ZHU Li-qin², DUAN Wen-yue³, ZHANG Yuan⁴(1. First Central Clinical College of Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Tianjin First Central Hospital, Tianjin 300192, China; 3. Tianjin University of TCM, Tianjin 300193, China; 4. Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To investigate the population pharmacokinetics of the oral tacrolimus among transplant recipients of different ethnic background, to establish pharmacokinetics model of tacrolimus and provide scientific reference for individual therapy scheme of tacrolimus in different transplant recipients. **METHODS:** The literatures about the pharmacokinetics of tacrolimus were retrieved from PubMed and Wangfang database, and related pharmacokinetics data of transplant recipients were collected from published clinical trials literatures. Nonlinear mixed effects model(NONMEM) was used to analyze the collected data statistically to establish population pharmacokinetics model. Pattern evaluation and Bootstrap validation of model were conducted. **RESULTS:** The population pharmacokinetics of tacrolimus was in line with one-compartment model. The apparent clearance (CL/F) of tacrolimus was lower in the Caucasian subjects (11.1 L/h) than in the Asian subjects (15.7 L/h). The population pharmacokinetics of apparent clearance of tacrolimus: $CL=[15.7 \times Race + 11.1 \times (1 - Race)] \times (Dose/10)^{0.116}$. **CONCLUSIONS:** Population pharmacokinetics of tacrolimus can be affected by race.

KEY WORDS Race; Tacrolimus; Population pharmacokinetics; Nonlinear mixed effect model

试验中加入DTT是为了保护巯基基团不被氧化。笔者取3份不同RBC血样考察DTT加入量对浓度检测的影响,结果表明DTT加入150 μl时,提取回收率最高。此外,本方法是通过6-TGNs的水解产物6-TG定量,因此水解是否充分十分重要。试验中考察了两种加热方式(水浴100℃和烘箱100℃加热)对浓度测定的影响,其结果表明水浴能够使6-TGNs水解充分,而烘箱加热的提取回收率较低。

目前,国外在临床应用此类药物治疗过程中,通过同时测定代谢酶硫嘌呤甲基转移酶(Thiopurine methyltransferase, TPMT)活性和6-TGNs浓度进行临床个体化用药的指导,同时发现RBC中6-TGNs浓度与临床疗效及不良反应的发生有着较大联系^[4-5],国内也有类似报道^[7]。本方法中监测结果也反映了6-TGNs浓度的个体化差异较大,因此,监测RBC中6-TGNs浓度具有十分重要的意义。该方法简便、快捷、准确、灵敏度高、精密度好、回收率稳定、试验成本低,适用于服用AZA或6-MP患者RBC内6-TGNs的浓度监测,有助于指导个体化用药,最终达到提高疗效、减少不良反应发生的目的。

参考文献

* 药师,硕士研究生。研究方向:药理学。电话:022-26185414。
E-mail:shuangjiang10@126.com
通信作者:主任药师,博士。研究方向:药理学。电话:022-23626417。E-mail:zqlq0713@yahoo.com.cn

- [1] Meyer V, Beissert S. Azathioprine in the treatment of autoimmune blistering diseases[J]. *Immunology and Clinics of North America*, 2012, 32(2):295.
- [2] Barrett G, Levesque, Edward V, Loftus. Initiating Azathioprine for Crohn's Disease[J]. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 2012(10):460.
- [3] Andoh A, Tomoyuki T, Hiromitsu B, et al. Monitoring 6-thioguanine concentrations in Japanese patients with inflammatory bowel disease[J]. *Journal Gastroenterology and Hepatology*, 2008(23):1373.
- [4] Stocco G, Londero M, Campanozzi A, et al. Usefulness of the measurement of azathioprine metabolites in the assessment of non-adherence[J]. *Journal of Crohn's and Colitis*, 2010(4):599.
- [5] Pozler O, Chladek J, Maly J, et al. Steady-state of azathioprine during initiation treatment of pediatric inflammatory bowel disease[J]. *Journal of Crohn's and Colitis*, 2010(4):623.
- [6] 师少军,刘亚妮,吴健鸿,等.高效液相色谱法测定人红细胞硫鸟嘌呤核苷酸的浓度[J]. *医药导报*, 2011, 30(5):5810.
- [7] 邹亚伟,王昭霞,牟德海,等.硫鸟嘌呤核苷酸浓度检测在儿童急性淋巴细胞白血病6-巯嘌呤个体化治疗中的意义[J]. *实用医学杂志*, 2009, 25(21):3688.

(收稿日期:2013-02-28 修回日期:2013-05-16)

他克莫司是一种强效的大环内酯类新型免疫抑制剂。临床研究证明与环孢素A(Cyclosporin A)相比,他克莫司作用更强且更安全,能大大降低免疫抑制剂的临床使用量及药物使用成本。因此他克莫司已经成为临床用于预防和治疗心、肝、肾、肺、小肠等器官移植患者排斥反应的一线用药。目前一些国家报道了本国他克莫司群体药动学参数、推荐剂量、推荐有效浓度和谷浓度范围的研究,但是关于该药在不同种族人群的药动学差异却尚未见报道。本文在多篇文献基础上研究他克莫司在不同种族患者体内的动力学特性差异,为临床提供参考。

1 材料

1.1 研究对象

收集PubMed数据库中关于他克莫司在移植患者中的药动学文献,并以此作为研究对象。

1.2 软件

非成性混合效应模型(NONMEM)软件, Version VI, Level 1.1(GlobomMax Corp MD, USA)。

2 研究方法

2.1 研究资料收集方案

以移植(Transplant)、他克莫司(Tacrolimus)、药动学(Pharmacokinetics)或以移植(Transplant)、他克莫司(Tacrolimus)、监测(Monitoring)为关键词,在万方、PubMed数据库中检索1998年1月1日-2012年2月1日间的文献。

2.2 文献纳入标准和排除标准

文献纳入标准:(1)研究对象为服用他克莫司的成人(>16岁)移植患者;(2)文献包含他克莫司的药动学数据;(3)文献包含用药人群的人口统计学资料;(4)患者按照临床治疗方案服用他克莫司(单用或合并用药);(5)连续用药时间>1周,血药浓度已达到稳态。

文献排除标准:(1)排除非人体临床研究试验,例如动物实验等;(2)排除药动学数据或人口统计学资料严重缺失的文献;(3)排除综述、病例报告、会议报告类等文献;(4)排除与他克莫司血药浓度研究无关的文献;(5)排除造血干细胞移植、肺移植等的特殊患者群体;(6)排除静脉注射使用他克莫司的患者;(7)排除治疗过程中发生患者死亡、严重药品不良反应等情况需停止用药的病例;(8)排除患者移植后中途停止服用他克莫司或换用其他药物以及使用其他免疫抑制剂后换用他克莫司的病例。

2.3 收集内容

文献资料包括文献的来源、发表时间、作者等文献基本信息。人口统计学资料包括患者的移植类型、基因类型、种族、年龄、体质量、移植来源。药动学资料包括移植患者的病例数、服药剂量(mg/d)、服药次数、采样时间(h)、血药浓度($\mu\text{g/ml}$)等相关数据。把数据输入Excel中建立数据库,以供群体药动学模型的建立,并对采集到的数据进行核对、整理。

2.4 他克莫司给药方案及测定方法

移植患者单用他克莫司或与霉酚酸酯、固醇类药物合用,合并用药对他克莫司血药浓度影响无统计学意义。患者服用药物为每日2次服用的Prograf[®](日本藤泽药品公司生产),或者每日1次的Advagraf[®]缓释制剂(阿斯泰来制药公司生产),根据患者血药浓度结果调整给药剂量。血药浓度检测方法为微粒子酶免疫(Microparticle enzyme immunoassay, MEIA)法或液-质联用(LC-MS/MS)法测定他克莫司全血浓度。

2.5 统计学处理

本研究采用NONMEM法计算群体药动学参数并建立药动学模型,并通过Bootstrap法进行验证。

2.5.1 基础药动学模型的建立。以他克莫司药动学吸收速率常数(K_a)、消除速率常数(K_e)及清除率(CL)为主参数,用NONMEM程序进行线性一房室和二房室药动学模型选择。由于临床使用的他克莫司剂型为胶囊,根据文献^[1-2]及实际情况,选择一室开放模型,其数学公式为:

$$c_p = \frac{F \times \text{Dose} \times K_a}{V(K_a - K_e)} [e^{-K_e t} - e^{-K_a t}]$$

其中 c_p 为他克莫司全血浓度, F 为口服生物利用度, Dose 为他克莫司剂量, K_a 为吸收速率常数, V 为表观分布容积, K_e 消除速率常数。

2.5.2 统计学模型的建立。目的是观察个体间变异和残差变异,并用公式拟合。可供选择的公式有加和型、比例型和指数型等形式,但是以比例型或指数型为主。根据本研究数据情况选择比例模型:

$$CL_j = CL(1 + \eta)$$

其中 CL_j 为个体的参数, CL 为群体参数典型值, η 服从均数为0、方差为 ω^2 的正态分布。

2.5.3 固定效应模型的建立。采用逐步回归法建立群体药动学模型,考察年龄(Age)、性别(Gender)、体质量(Weight)、肌酐清除率(Ccr)等固定效应对药动学参数的影响。若将某一个相关因素引入模型后目标函数(Objective function value, OFV)的下降值>3.84,表示该因素的加入使模型拟合优度显著改善($\chi^2, df=1, P<0.05$),模型中保留该因素;再在此基础上引入下一因素。将有显著性影响者保留在模型中,建立全量回归模型。从全量回归模型中每次剔除一个固定效应因素,以考察因素存在的必要性。此时用更严格的统计学标准进行检验($\chi^2, df=1, P<0.01$),若OFV增加值>6.64,该因素的存在具有显著意义,应该留在模型中,否则应从模型中剔除,得到最终回归模型。

2.5.4 统计学模型的建立。个体间变异模型和残差模型分别用加法模型、乘法模型和指数模型进行拟合,取OFV和变异值最小的模型为最终统计学模型。残差指个体间变异以外的变异,包括取样、分析方法、模型等造成的误差。

2.5.5 模型验证。为了估算模型的稳定性,本研究以内部有效性验证法中的自举法(Bootstrap)进行验证,采用400次Bootstrap对最终模型进行验证,对验证成功所得的参数进行统计学计算,得到的最终模型参数中位数和95%的百分位数与最终模型的群体参数进行比较。

3 结果

3.1 文献统计情况

在PubMed数据库中按照关键词Transplant、Tacrolimus、Pharmacokinetics检索到文献980篇,再以Transplant、Tacrolimus、Monitoring为关键词检索到文献784篇。在万方数据库中按照文献纳入、排除标准进行文献筛选,最终纳入来自21份英文杂志的文献61篇。全部为英文文献,涉及21份杂志:《临床药动学杂志》(Clin Pharmacokinet)、《治疗药物监测》(Ther Drug Monit)、《临床药理学》(Clin Pharmac)、《移植全过程》(Transplantation Proceedings)、《肝脏移植》(Liver Transplantation)、《移植学》(Transplantation)、《心肺移植》(Heart Lung Transplant)、《临床移植》(Clin Transplant)、《临床化学》(Clinical

Chemistry)、《药物遗传学及基因组学》(Pharmacogenetics and Genomics)、《美国移植学杂志》(American Journal of Transplantation)、《纽约·斯密特博格药理学》(Naunyn-Schmied Arch Pharmacol)、《国际移植学杂志》(Transplant International);《实验与临床移植学》(Experimental and Clinical Transplantation);《临床药理学》(Clin Pharmacol)、《基础及临床药理学》(Fundamental & Clinical Pharmacology)、《美国肾脏病协会杂志》(J Am Soc Nephrol)、《药物遗传学杂志》(Pharmacogenomics)、《英国临床药理学杂志》(Br J Clin Pharmacol)、《临床药物治疗学》(Clinical pharmacology & Therapeutics)、《甾体化学杂志》(Steroids)。在万方中以关键词未检索到符合要求的中文文献。

3.2 样本量与取样点数

本次研究共纳入患者6522人,其中黄种人767例,白种人5481例,黑种人274例。共收集血药浓度样本数396个,涉及数据组数117,详见表1。

表1 人群及血样统计数据

Tab 1 Statistics of population and blood sample

项目	种族			合计
	黄种人	白种人	黑种人	
患者总数	767	5481	274	6522
数据组数	27	85	5	117
样本数	79	289	28	396

3.2 人口统计学资料

入选患者的年龄、体质量、每日他克莫司服药剂量、他克莫司血药浓度资料见表2。

表2 人口统计学资料

Tab 2 Demography information

种族	年龄,岁	体质量,kg	日服药剂量,mg	血药浓度,μg/ml
黄种人	40.7	59.8	8.0	9.0
白种人	48.2	71.1	9.2	10.7
黑种人	44.0	76.2	11.2	9.3
平均值($\bar{x} \pm s$)	46.4±6.78	69.2±8.68	9.1±3.96	10.2±3.25

3.3 他克莫司群体药动学模型

3.3.1 基础药动学模型的建立。由于本研究中临床使用的他克莫司剂型为胶囊,根据文献及实际情况,选择一室开放模型。为避免 K_a 的波动给模型稳定性造成影响,在计算中,将其固定为 4.5 h^{-1} [2]。本研究数据处理中,根据本研究数据的特点和拟合的优度选用指数模型、比例模型分别来表征个体间、个体内变异参数,得到基础药动学房室模型选择的结果见表3。

表3 他克莫司基础药动学房室模型参数值

Tab 3 Parameters of compartment model of basic pharmacokinetics of tacrolimus

参数	估计值	标准误
CL/F,L/h	13.3	0.0966
V/F,L	93.9	1.27
K_a, h^{-1}	4.5	
$\omega \text{ CL/F, \%}$	3.65	0.996
$\omega \text{ V/F, \%}$	4.09	3.21
$\sigma^2, \%$	2.24	0.383

3.3.2 固定效应参数的建立。运用逐步递加、逐步排除的方法分别考察了种族(Race)、剂量(Dose)等协变量加入药动学基础模型后对OFV的影响,结果显示剂量和种族影响药物的CL。各变量对分布容积无影响。因此,最终模型为:

$$\text{CL} = [15.7 * \text{Race} + 11.1 * (1 - \text{Race})] * (\text{Dose}/10)^{0.116}$$

其中,CL为他克莫司在不同种族的清除率(L/h);Race为患者种族,0为黄种人,1为白种人;Dose为他克莫司药物日剂量(mg/d)。

3.3.3 群体药动学参数。保留有显著意义的固定效应参数,从而确定他克莫司的回归模型,并估算出各项群体参数值,其结果见表4。

表4 群体药动学模型的参数值

Tab 4 Parameters of population pharmacokinetics model

参数	估计值	标准误
CL/F(Race=1),L/h	15.7	1.09
CL/F(Race=0),L/h	11.1	1.17
V/F,L	70.5	11.8
K_a	4.5	
$\theta \text{ Dose-CL}$	0.116	
$\omega \text{ CL/F, \%}$	0.764	0.802
$\omega \text{ V/F, \%}$	8.71	2.81
$\sigma, \%$	2.01	0.346

由表4可知,黄种人的他克莫司清除率群体典型值为15.7 L/h、白种人他克莫司清除率群体典型值为11.1 L/h,表观分布容积的群体典型均值为70.5 L。他克莫司最终群体药动学模型的各项药动学参数符合实际意义,标准误、个体间变异、个体内变异均在允许的误差范围之内,模型的最终拟合优度良好。

3.4 模型拟合效果图形评价及模型验证

3.4.1 群体血药浓度预测值图形评价。利用总模型组数据在药动学模型和回归模型拟合出的群体及个体预测值结果与观测值散点图以评价拟合结果,其结果分别见图1、图2。

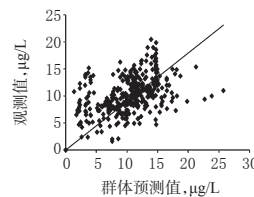


图1 模型群体预测值与观测值相关趋势

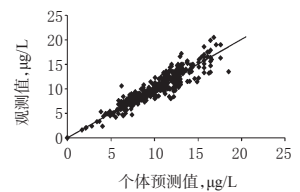


图2 模型个体预测值与观测值相关趋势

Fig 1 Relationship of population predicted value and observed value of model

Fig 2 Relationship of individual predicted value and observed value of model

由图1、图2可知,群体、个体预测值与观测值有较好的相关性,趋势线同对角线接近,因此模型能很好地拟合观测值;且他克莫司血药浓度在5~15 μg/L时预测比较好,预测浓度在实测浓度的上下均匀分布。通过NONMEM法把固定效应和随机误差加入药动学模型的方法,能使得血药浓度的预测更为准确、可靠。

3.4.2 加权残差与群体预测值的关系。根据加权残差的计算公式得出每个数据点的误差,并绘制最终模型加权残差(WRES)与群体、个体预测值的散点图,分别见图3、图4。

由图3、图4可知,WRES值绝大部分分布于±2之间,且均匀分布于坐标轴上下两侧,未见显著变化,模型拟合效果理想。

3.4.3 模型验证。本研究采用400次Bootstrap对最终模型进行验证,验证结果见表5。

Bootstrap验证结果显示,西方人表观清除率、亚洲人表观清除率、表观分布体积、药物清除率、药物剂量计算结果较可靠(Bootstrap计算值和模型计算值的差值相差较小),表观分

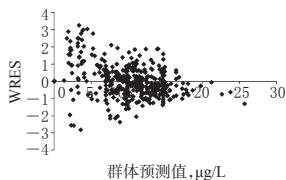


图3 WRES与群体预测值散点图

Fig 3 Scatter diagram of WRES and population predicted value

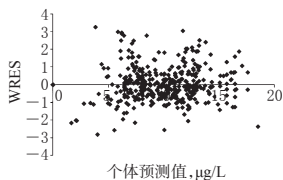


图4 WRES与个体预测值散点图

Fig 4 Scatter diagram of WRES and individual predicted value

表5 Bootstrap验证结果

Tab 5 Results of Bootstrap validation

参数	中位数	百分位数	
		5%	95%
CL/F(Race=1), L/h	16.7	6.12	17.9
CL/F(Race=0), L/h	10.1	5.17	14.8
V/F, L	80.5	51.8	139.3
K _e	fixed		
θ Dose-CL	0.126	0.098	0.312

布体积的模型计算结果稍差(Bootstrap计算值和模型计算值的差值相差较大),但无统计学差异。上述结果表明,本研究建立的药动学模型有效,并具有一定代表性。

4 讨论

4.1 本研究中的种族分类

根据体质特征的差异,文献中普遍将人种大致上分为三大人种,即蒙古人种(黄色人种)、高加索人种(白色人种)、尼格罗人种(黑色人种)。但是随着人类历史的发展,人类的生产活动能力的提高,人类交流日益频繁,各人类集团间不断发生混杂,混杂现象越来越广泛,因此,世界上几乎没有一个绝对的纯种的国家。所以对于种族分类,本文以普遍认同的种族定义为主,同时对国家、地域等因素综合考虑,例如一般认为高加索人种主要分布于欧洲、美洲、大洋洲、非洲北部以及亚洲南部和西部,所以文献中报道的这些地区的国家(德国、法国、英国、印度、荷兰、瑞典、意大利、南斯拉夫、加拿大等)患者归为高加索人;而蒙古人种即黄色人种主要分布在东亚的中国、韩国、日本、南亚等,所以把这些国家患者归为蒙古人种;最后尼格罗人种(黑色人种),泛指世界各地的黑人,也指分布在非洲大陆撒哈拉以南的黑人居民,所以文献中报道的非洲人、美籍黑人等归为此类^[3]。本文因涉及黑种人例数非常少,所以忽略,主要比较白种人和黄种人他克莫司药动学的差别。

4.2 种族对他克莫司药动学影响原因的探究

一些研究中发现黑人种族患者与黄种人、白种人患者相比,在达到相同他克莫司血药浓度时,他克莫司体质量与药物剂量的比和药物清除率均更高,而且即使在移植6~12个月之后他克莫司血药浓度较低时,黑种人需要的药物剂量也比其他种族的患者高。本研究显示,黄种人CL为15.7 L/h,高于白种人(11.1 L/h),与文献一致。虽然对于出现这种差异性现象的确切原因还不清楚,但目前研究认为他克莫司种族间差异主要因为种族间代谢基因的差异。出于这种考虑,近几年有许多关于种族间代谢基因差异的研究,这些研究发现他克莫司进入体循环内主要被肠黏膜细胞中存在的P糖蛋白(P-glycoprotein)转运和肠壁及肝脏细胞中存在的细胞色素P₄₅₀(CYP)3A代谢、分解。进一步研究也发现他克莫司代谢的主要酶系是CYP3A酶系的CYP3A5基因型。CYP3A5的不同类型基因型对他克莫司的代谢是不同的,CYP3A5表达型能增加信使核糖核酸(mRNA)和P糖蛋白在空肠与回肠的表达,从而增强克莫司的代谢、排泄;相反CYP3A5不表达型则代谢较慢、清除率较低,即达到一定目标血药浓度时CYP3A5表达型需要的剂量比CYP3A5不表达型的剂量要大。所以普遍认为CYP3A5基因型和P糖蛋白表达的差异导致了他克莫司个体间血药浓度的巨大差异^[4]。而且在一些药物代谢基因调查发现,对于不同种族人群中CYP3A5基因型的出现频率是具有明显种族差异的,美籍黑人CYP3A5表达型(CYP3A5*1/*1与*1/*3)出现频率为85%,亚洲人的CYP3A5表达型的出现频率为56%,而西方人(白人为主)的CYP3A5表达型出现的频率却为16%,因此可以认为亚洲人他克莫司药物代谢率高于西方人而低于美籍黑人。在本研究中所得出的模型也体现出与上述观点相一致的结论。

参考文献

- [1] Xia DY, Jiang L, Qiu S, *et al.* Monitoring of tacrolimus in 448 samples from renal transplant recipients by ELISA [J]. *Chin Pharm J*, 2004, 39(10): 778.
- [2] 张关敏, 李良, 陈文倩, 等. 他克莫司在中国肾移植患者中的群体药物动力学研究[J]. *药理学学报*, 2008, 43(7): 695.
- [3] Barry A, Levine M. A systematic review of the effect of CYP3A5 genotype on the apparent oral clearance of tacrolimus in renal transplant recipients[J]. *Ther Drug Monit*, 2010, 32(10): 708.
- [4] Canaparo R, Finnstrom N, Serpe L, *et al.* Expression of CYP3A isoforms and P-glycoprotein in human stomach, jejunum and ileum[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2007, 34(11): 1138.

(收稿日期:2013-02-19 修回日期:2013-05-15)

中日笹川医学合作项目协议书签署仪式在京举行

本刊讯 2013年5月17日,中日笹川医学合作项目协议书签署仪式在京举行。国家卫生和计划生育委员会副主任马晓伟出席仪式并与日本财团理事长尾形武寿签署协议书。

本次签署的项目为期5年,主要分为派遣人员赴日进修和在中国国内为中国西部地区培养医务人员、举办培训活动。

中日笹川医学合作项目的前身是中日笹川医学奖学金项目。该项目自1987年正式启动,先后开展过3期。25年来,共

派出2000多名进修生到日本学习进修,内容包括基础、临床医学等8个大学科,是我国改革开放以来卫生领域双边合作重要的智力引进项目之一。许多进修生回国之后已经成为本单位的技术骨干和学科带头人。

中国国家卫生和计划生育委员会、中国国际友好联络会、日本驻华大使馆、日本财团、日中医学协会、笹川医学奖学金进修生代表等70人出席了会议。