

Simulation of Pharmacokinetics and Receptor Occupancy of Monoclonal Antibody Exhibiting Target-Mediated Drug Disposition

박완수, 임동석*

서울특별시 서초구 반포대로 222, 가톨릭대학교 약리학교실

E-mail: wansu.park@catholic.ac.kr, yimds@catholic.ac.kr*

초록 본 연구의 목적은 단클론항체 (mAb) 약동학적 특성을 보다 쉽게 이해하고자 문헌에 보고된 mAb의 PK 모델을 구현할 수 있도록 시뮬레이션 모델을 만드는 것이다. 본 연구결과를 바탕으로 약물의 용법/용량, 각각의 모델 파라미터의 변화에 따른 혈중농도, 수용체 점유 등의 변화를 다양하게 시뮬레이션 해볼 수 있다.

서론

단클론항체 (monoclonal antibody; mAb) 약물의 개발이 많아지고 있으며 이에따라 mAb 약동학 (pharmacokinetics; PK)의 특징을 잘 파악하는 것은 신약개발 과정 중 PK의 예측이나 용량/용법 선정에서 있어 매우 중요하다. 많은 mAb들이 약물의 타겟에 의해 약물 소실에 영향을 받는 타겟-매개 약물배치 (target-mediated drug disposition; TMDD) 현상을 보이며 따라서 TMDD 모델을 이용하여 mAb의 PK 특성을 좀더 정량적으로 파악할 수 있다. 모델을 통해 약물의 혈중농도와 타겟이 얼마나 점유되어 있는지 예측이 가능하다. 이 연구의 목적은 기존에 보고된 문헌의 TMDD 모델 [1]을 예로 이용하여 mAb의 PK 및 수용체 점유 (receptor occupancy; RO)를 시뮬레이션을 통해 재현해 보는 것이다.

이론

TMDD 모델에 대한 좀더 상세한 내용은 이전 논문에서 자세히 소개되어 있다. [2] 이 연구에서 참고로 한 약물의 모델 구조는 Figure 1

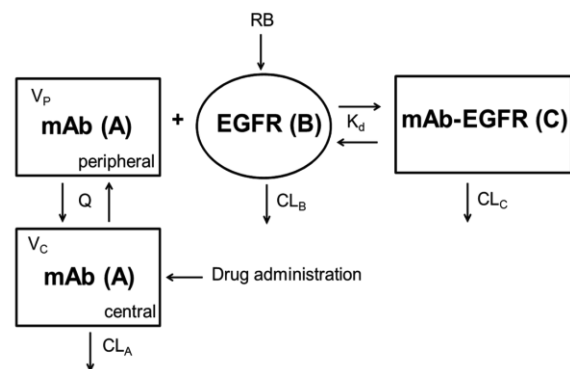


Figure 16. Strucutrure of TMDD Model

과 같다. 이 약물은 상피세포성장인자 수용체 (Endothelial Growth Factor Receptor, EGFR)의 길항제로 EGFR은 주로 말초조직에 많이 발현이 되어 있기 때문에 약물과 타겟이 주로 말초조직에서 결합하는 것을 가정으로 한 모델이다. 모델 파라미터는 free mAb의 clearance (CL_A), volume of distribution (V_c , V_p), intercompartment clearance (Q), target synthesis rate (RB), target clearance (CL_B), equilibrium binding constant (K_d), complex clearance (CL_C) 등이 있다.

Figure 1의 모델의 미분방정식은 다음과 같다.

$$\frac{dA}{dt} = -\frac{A \cdot Q}{V_c} + \frac{A_p \cdot Q}{V_p} - \frac{A \cdot CL_A}{V_c} \quad (1)$$

$$\frac{dTAP}{dt} = \frac{A \cdot Q}{V_C} - \frac{A_P \cdot Q}{V_P} - \frac{C \cdot CL_C}{V_P} \quad (2)$$

$$A_P = TA_P - C_P \quad (3)$$

$$C_P = \frac{K_d \cdot V_P + TA_P + TB_P - \sqrt{(K_d \cdot V_P + TA_P + TB_P)^2 - 4 \cdot TA_P \cdot TB_P}}{2} \quad (4)$$

$$TB_P = \frac{V_P \cdot RB}{CL_B} \quad (5)$$

A 는 free antibody in central compartment, A_P 는 free antibody in peripheral compartment, C_P 는 target-antibody complex in the peripheral compartment, TA_P 는 total antibodies in the peripheral compartment, TB_P 는 total target amount in peripheral compartment를 의미한다.

결과 및 논의

이 연구에서는 원숭이에서 얻은 PK 파라미터와 체중의 차이를 고려하여 사람의 PK 파라미터를 예측한 연구이며 사람의 파라미터는 사람의 체중 (70 kg)과 원숭이 체중 (3 kg)을 고려하여 아래와 같은 식으로 계산되었고 시뮬레이션에 사용된 파라미터는 Table 1에 요약되어 있다.

$$Parameter_{human} = Parameter_{monkey} \times (70/3)^{exponent}$$

Parameters	Exponent	GC1118	
		Monkey	Human ^a
CL_A (ml/h)	0.75	0.975	10.4
V_C (ml)	1.0	141	3290
Q (ml/h)	0.75	3.87	41.1
V_P (ml)	1.0	90.4	2109
RB (pmol/h)	0.85	284	4131
CL_B (ml/h)	0.75	1.66	17.6
K_d (nM)	-	0.533	0.16 ^b

Table 8. TMDD parameters used for simulation

모델을 이용하여 사람에게 400 mg/m²를 1시간 동안 정맥주입 하였을 때 시간에 따른 혈중농도와 수용체 점유를 시뮬레이션 해본 결과는 Figure 2와 같다.

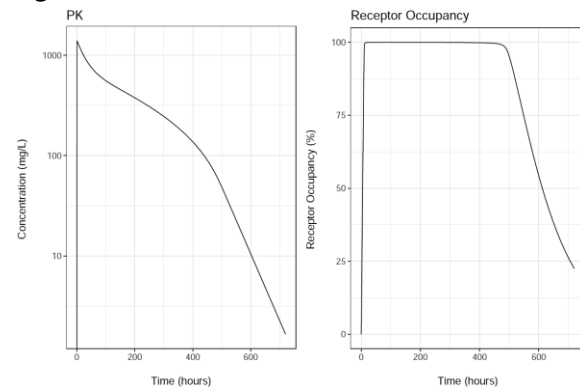


Figure 17. Simulated serum concentration (left) and receptor occupancy (right) versus time profiles of mAb following single intravenous infusion

결론

TMDD를 보이는 약물의 용량, 각 파라미터의 변화에 따른 PK와 RO의 변화를 시뮬레이션 해봄으로써 TMDD 모델 및 mAb PK의 특성을 파악해 볼 수 있었다.

감사의 글

본 논문은 2016년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단 첨단 사이언스·교육 허브 개발 사업의 지원을 받아 수행된 연구임(NRF-2016-936606).

참고문헌

- [1] WS Park, S. Han, J. Lee, T. Hong, J. Won, Y. Lim, et al. Basic Clin. Pharmacol. Toxicol. 120:243 (2017)
- [2] D. E. Mager and W. J. Jusko. J. Pharmacokinet. Pharmacodyn. 28:507 (2001)

시뮬레이션을 이용한 배아줄기세포 유래 심근세포의 페이스메이커 기전 연구

김원배[†], 김민철[†], 최성우^{††}, 김성준^{††}, 염재범^{*}

[†]인제대학교 컴퓨터공학과, ^{††}서울대학교 의과대학 생리학교실, ^{*}인제대학교 의과대학 생리학교실

E-mail: youmjb@inje.ac.kr

초록 배아줄기세포 유래 심근세포는 심근경색 등으로 심장이 제 기능을 다 하지 못할 때 치료적 목적으로 주사하여 환자의 심기능을 정상화 시키는 데에 쓰인다. 배아줄기세포 유래 심근세포는 페이스메이커 활동을 보이면서 막전압 고정상태에서도 주기적인 일과성 내향전류를 보이는 특징을 갖고 있다. 본 연구는 기존에 발표된 배아줄기세포 유래 심근세포의 시뮬레이션 모델을 이용하여 어떻게 하여 페이스메이커 활동이 나타나는지 그 기전을 밝히고자 하였다. 세포내 모든 이온을 고정하였을 때 모델 세포는 여전히 페이스메이커 활동을 보였다. 근장그물내 칼슘 이온을 고정하였을 때도 모델 세포는 페이스메이커 활동을 보였다. 그러나 Na-Ca 교환 전류를 차단하였을 때는 모델 세포의 페이스메이커 활동이 사라졌는데, 여기서 L-type Ca^{2+} 전류의 칼슘 의존성 비활성화 기전을 제거하자 페이스메이커 활동이 지속되었다. 또한 Na-Ca 교환전류와 L-type Ca^{2+} 전류만으로는 페이스메이커 활동이 보이지 않았으나 L-type Ca^{2+} 전류의 크기를 3 배로 증가시키자 페이스메이커 활동이 다시 나타남을 확인하였다. 따라서, 배아줄기세포 유래 심근세포의 페이스메이커 활동은 Na-Ca 교환전류와 L-type Ca^{2+} 전류의 역할이 매우 중요하며, Na-Ca 교환전류는 L-type Ca^{2+} 전류가 비활성화되지 않도록 칼슘 이온의 농도를 조절하는 데에 큰 역할을 하는 것으로 결론을 내렸다.

서론

배아줄기세포에서 유래된 심근세포 (embryonic stem cell-derived cardiomyocytes) 는 심근경색 등으로 심장의 펌프 기능이 더 이상 정상적으로 작동하지 않을 때 치료적 목적으로 외부에서 주입하여 심기능을 정상에 가까운 수준으로 회복시키기 위한 목적으로 쓰이기 시작했다 [1, 2].

심장에 주입된 배아줄기세포 유래 심근세포는

각기 동방결절 타입, 심방근 타입, 심실근 타입으로 분화된다. 흥미롭게도 이들 중 일부는 막전압 고정법 (patch clamp technique)을 이용하여 막전압을 -20 mV에 고정한 채로 놓아두면 주기적으로 일과성 내향전류가 발생하는 것이 관찰된다 [3]. 이는 이미 분화된 심근세포에서는 매우 특수한 조건[4]이 아니고서는 관찰되지 않는 현상으로 매우 흥미로운 현상이 아닐 수 없다.

미분화 심근세포와 성숙한 심근세포가 이러한 차이를 보이는 이유로서는 칼슘 이온을 동원하는

기전의 차이에서 비롯된 것으로 보인다 [5]. 미분화 심근세포의 경우 주로 세포막을 통한 칼슘 이온의 유입과 inositol trisphosphate에 의해 매개되는 칼슘 방출 (IP_3 -induced Ca^{2+} -release)을 주된 동원기전으로 삼는 반면, 성숙한 심근세포의 경우에는 잘 발달된 T-tubule (transverse-tubule)의 리아노딘 수용체 매개 칼슘 방출 (ryanodine receptor-mediated Ca^{2+} release)과 L-type Ca^{2+} channel의 coupling을 주된 동원기전으로 삼고 있다.

막전압 고정법에서 기록된 배아줄기세포 유래 심근세포의 주기적 일과성 내향전류는 KB-R7943에 의해 사라졌으므로 Na-Ca 교환전류에 의한 것으로 보인다[3]. 그리고 시뮬레이션을 이용한 연구에 의하면 아직 분화가 덜 된 배아줄기세포 유래 심근세포는 L-type Ca^{2+} channel과 Na-Ca 교환기가 T-tubule 이외의 부위에 여전히 분포하는데 바로 그러한 특징으로 인해 막전압이 고정된 상태에서도 주기적인 근장그물의 칼슘 오실레이션이 발생하고 이것이 Na-Ca 교환전류를 발생시켜 결과적으로 주기적 일과성 내향전류가 나타나는 것이다[3].

본 연구에서는 시뮬레이션 모델을 이용하여 배아줄기세포 유래 심근세포가 어떤 기전으로 페이스메이커 활동을 보이는지 그 기전을 제시하고자 하였다.

이론 및 계산방법

연구에 이용한 모델 세포의 구조를 Figure 1에 도식적으로 나타냈다. 모델의 기본 구조는 M&L 모델[6]을 선택하였고 막전압 고정상태에서 발생하는 주기적 일과성 내향전류를 재현하기 위하여 L-type Ca^{2+} channel과 Na-Ca exchanger의 분포를 세포막 아래 공간과 세포질 공간으로 나누어 배치하였다. 그 외 모델에 이용한 모든 상세한 수식은 Choi 등 [3]의 논문을 그대로 따랐다.

결과에서 보여준 모든 막전압과 이온전류는 막전류 고정 기법을 시뮬레이션 하여 얻은 것이다.

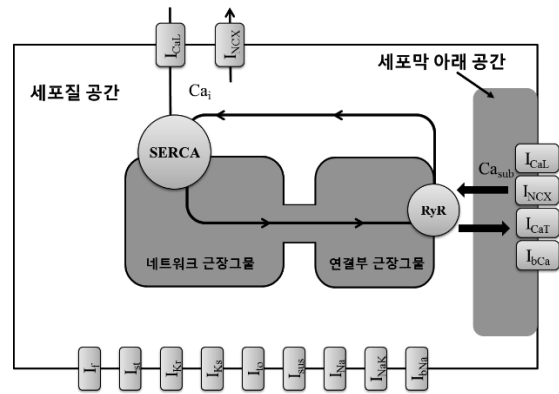


Figure 1. 모델 세포의 구조. Ca_{sub} 는 세포막 아래 공간의 칼슘 이온 농도(mM unit)를, Ca_i 는 세포질 공간의 칼슘 이온 농도(mM unit)를 가리킨다. SERCA(sarcoendoplasmic reticulum Ca^{2+} -pump)는 근장그물 막에 존재하는 칼슘 통로를 가리키고, RyR은 리아노딘 수용체 (ryanodine receptor)를 가리킨다.

결과 및 논의

반복적으로 나타나는 일과성 내향전류 (repetitive transient inward current)와 페이스메이커 활동 (pacemaker activity)의 관계를 확인하기 위하여 동물실험에서는 불가능한 여러 가지 조건을 적용하여 시뮬레이션을 실행하였다.

우선 근장그물 (sarcoplasmic reticulum)의 칼슘 오실레이션을 없애기 위한 방법으로 세포내 모든 이온을 초기값에서 변하지 않게 고정한 조건에서 시뮬레이션을 실행하였다 (Figure 2).

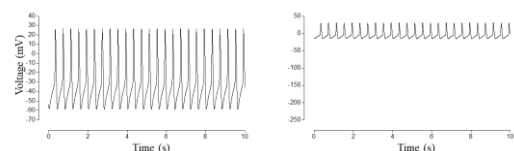


Figure 2. 세포내 모든 이온을 고정한 조건에서

얻은 막전압과 Na-Ca 교환 전류.

세포내 이온 농도를 모두 고정함에 따라 Na-Ca 교환전류는 더 이상 농도 변화에 의한 주기적 변화를 보일 수는 없었으나, 여전히 작은 크기의 오실레이션을 보이고 있었다. 이는 막전압의 주기적 변화에 의해 나타난 오실레이션으로서 Na-Ca 교환 전류는 이온 농도와 막전압 모두에 의존적이기 때문이다. 이를 반영하듯이 모델 세포는 세포내 이온 농도를 고정하지 않은 경우와 다름 없이 페이스 메이커 활동을 보이고 있었다. Na-Ca 교환 전류가 페이스 메이커 활동에 필수적인 조건이 아님을 보여주는 결과로서 이온농도의 변화 자체도 페이스 메이커 활동에 필수적이지는 않을 가능성을 제시하는 결과이다.

다음으로 다른 모든 이온은 고정하지 않고 칼슘 이온만 1 nM 수준에 고정한 조건에서 시뮬레이션을 실행하였다 (Figure 3).

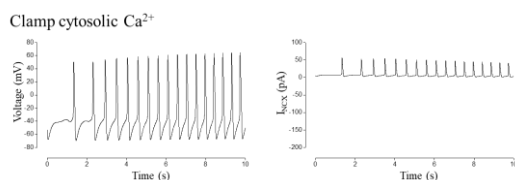


Figure 3. 세포내 칼슘 이온만 1 nM에 고정하였을 때의 막전압과 Na-Ca 교환 전류

세포내 모든 이온을 초기값에 고정하였을 때와 마찬가지로 모델 세포는 여전히 페이스 메이커 활동을 보이고 있으며, Na-Ca 교환 전류도 작지만 주기적인 변동을 보이고 있다.

다음으로 다른 모든 세포내 이온은 고정하지 않고, 근장그물내 칼슘 이온의 농도만 1nM에 고정한 조건에서 시뮬레이션을 실행하였다 (Figure 4).

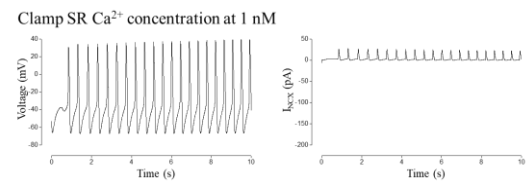


Figure 4. 근장그물내 칼슘 이온만 1 nM에 고정하였을 때의 막전압과 Na-Ca 교환 전류

이 경우에도 역시 모델 세포는 페이스 메이커 활동을 보였으며, Na-Ca 교환 전류는 작지만 주기적인 변동을 보이고 있다. 위의 3가지 조건에서의 결과를 근거로 세포내 칼슘 오실레이션은 모델 세포의 페이스메이커 활동에 필수적이지는 않다는 결론을 얻게 되었다.

다음으로 Na-Ca 교환 전류를 차단하였을 때 모델 세포의 페이스메이커 활동에 어떤 변화가 생기는가를 시뮬레이션을 통해 확인하였다 (Figure 5). L-type Ca^{2+} 전류는 세포내 칼슘 이온에 의존적으로 비활성화되는 현상을 보이는 것이 잘 알려져 있어[7], 모델에서도 이러한 관계를 적용하였다.

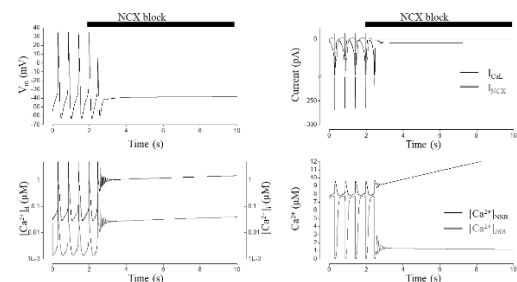


Figure 5. Na-Ca 교환 전류의 차단이 모델 세포의 페이스메이커 활동과 세포내 칼슘 이온에 미치는 영향

Na-Ca 교환 전류를 차단하면 모델 세포의 페이스 메이커 활동이 중단된 것을 확인할 수 있다. 그리고 세포내 칼슘 이온의 기저 수준이 점차 증가하면서 오실레이션이 중단되었으며 근장그물내 칼슘 이온의 오실레이션도 마찬가지로 중단된 것을 확인할 수 있다.

다음으로 Na-Ca 교환 전류를 차단하되 L-type Ca^{2+} 전류가 세포내 칼슘 이온에 의존적으로 비활성화되는 현상은 모델에 적용하지 않은 경우를 시뮬레이션 하였다 (Figure 6).

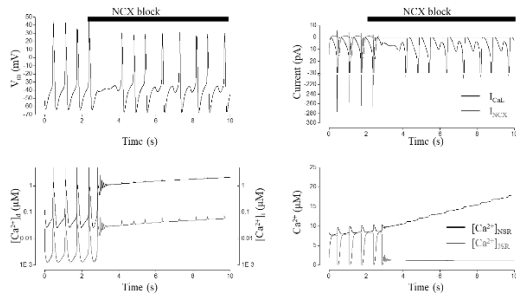


Figure 6. 칼슘 의존적인 비활성화 기전이 없는 L-type Ca^{2+} 전류를 적용한 조건에서 Na-Ca 교환 전류를 차단하였을 때 나타난 모델 세포의 페이스메이커 활동과 세포내 칼슘 이온의 변화

그 결과 모델 세포의 페이스메이커 활동은 Na-Ca 교환 전류를 차단한 후에도 여전히 지속되었는데, 다만 세포내 칼슘이온의 오실레이션은 사라진 것을 확인하였다. 따라서 Na-Ca 교환 전류를 차단하였을 때 모델 세포의 페이스메이커 활동이 중단된 것은 세포내 칼슘 이온의 오실레이션이 중단되어서라기보다는, 세포내 칼슘 이온의 농도가 증가되면서 L-type Ca^{2+} 전류가 비활성화되어 일어난 결과로 보는 것이 타당하다.

다음으로 Na-Ca 교환전류가 막전압에 영향을 주지 않고 Na^+ , Ca^{2+} 의 이동만 일으키는 경우를 모델에 적용하여 시뮬레이션을 실행하였다 (Figure 6).

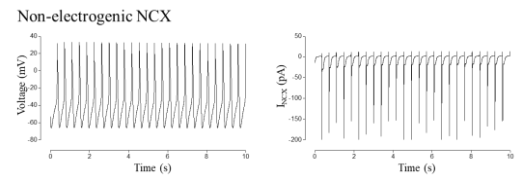


Figure 6. 막전압에는 영향을 주지 않고 Na^+ , Ca^{2+} 의 이동만 일으키는 Na-Ca 교환전류를 적용한 모델 세포에서의 페이스메이커 활동과 Na-Ca 교환전류

그 결과 페이스메이커 활동은 정상적으로 일어나서 Na-Ca 교환전류는 막전압보다는 이온 유지를 통해 세포 모델의 페이스메이커 활동에 기여하는 것으로 확인되었다.

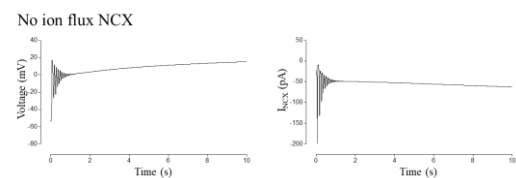


Figure 7. Na^+ , Ca^{2+} 의 이동은 일으키지 않고 막전압에만 기여하는 Na-Ca 교환전류를 적용한 모델 세포에서의 페이스메이커 활동과 Na-Ca 교환전류

다음으로 Na^+ , Ca^{2+} 의 이동은 일으키지 않고 막전압에만 기여하는 Na-Ca 교환전류를 모델 세포에 적용하여 시뮬레이션을 실행하였다 (Figure 7). 그 결과 모델 세포의 페이스메이커 활동이 사라져서 앞서 위의 결과에서 얻은 결론을 뒷받침하고 있다.

다음으로 다른 모든 leak current를 제거하고 Na-Ca 교환전류와 L-type Ca^{2+} 전류만을 남겼을 때 모델 세포의 페이스메이커 활동이 지속되는지를 확인하였다.

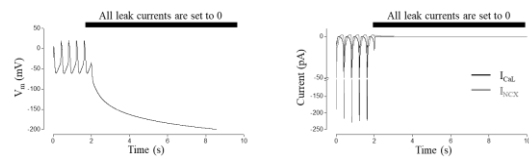


Figure 8. Leak current를 모두 제거하였을 때의 페이스메이커 활동

그 결과 페이스메이커 활동이 바로 사라져서 페이스메이커 활동에는 Na-Ca 교환전류와 L-type Ca^{2+} 전류 외에도 다른 leak 전류가 필요함을 확인하였다 (Figure 8).

그러나 L-type Ca^{2+} 전류의 density를 3배로 높이자 Na-Ca 교환 전류를 제외한 다른 모든 전류를 제거한 상태에서도 페이스메이커 활동이 나타남을 확인하였다 (Figure 9). 이는 비록 leak 전류가 페이스메이커 활동에 필요하긴 하지만 L-type Ca^{2+} 통로가 비정상적으로 커지면 leak 전류 없이도 페이스메이커 활동이 일어날 수 있음을 시사하고 있다.

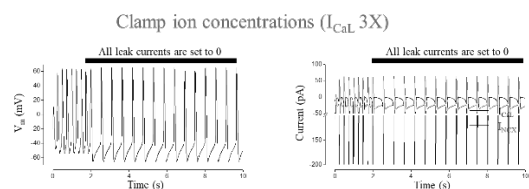


Figure 9. L-type Ca^{2+} 전류를 3배로 하였을 때의 leak 전류 제거의 영향

결론

반복적으로 나타나는 일과성 내향전류 (repetitive transient inward current)는 근장그물 내 칼슘 이온의 오실레이션에 의해 나타나는 전류이지만 그 자체가 페이스메이커 활동을 일으키는 것은 아닐 가능성이 크다.

일과성 내향전류는 Na-Ca 교환전류에 의해 나타나는 전류로서 막전압을 변화시켜 페이스메이

커 활동에 기여하기보다는 세포내 칼슘이온을 병적으로 높게 올라가는 것을 방지하여 L-type Ca^{2+} 전류의 비활성화를 막는 방식으로 페이스메이커 활동이 지속되는 것에 기여하는 것으로 보인다.

이와 같은 결론은 실제 세포를 이용한 실험으로 확인하여야 할 것으로 사료된다.

감사의 글

본 논문은 2016년도 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단 첨단 사이언스·교육 허브 개발 사업의 지원을 받아 수행된 연구임(NRF-2016-936606)

참고문헌

- [1] A. M. Wobus, G. Wallukat and J. Hescheler. Differentiation 48, 173–182 (1991) (**Journal Article**)
- [2] V. A. Maltsev, J. Rohwedel, J. Hescheler and A.M. Wobus. Mech. Dev. 44, 41–50 (1993) (**Journal Article**)
- [3] S. W. Choi, H. A. Lee, S. H. Moon, S. J. Park, H. J. Kim, K. S. Kim, Y. H. Zhang, J. B. Youm and S. J. Kim. Pflugers Arch. 468, 609–622 (2016) (**Journal Article**)
- [4] P. Lipp and L. Pott. J Physiol. 397, 601–630 (1988) (**Journal Article**)
- [5] J. B. Youm. Integ Med Res. 5, 3–10 (2016) (**Journal Article**)
- [6] V. A. Maltsev and E. G. Lakatta. Am J Physiol Heart Circ Physiol. 296, H594–H615 (2009) (**Journal Article**)
- [7] P. Brehm and R. Eckert. Calcium entry leads to inactivation of calcium channel in Paramecium. Science 202, 1203–1206 (1978) (**Journal Article**)