

Bio-Equivalence Analysis using Linear Mixed Model

Hyungmi An^{a,b,1} · Youngjo Lee^a · Kyung-Sang Yu^b

^aDepartment of Statistics, Seoul National University

^bDepartment of Clinical Pharmacology and Therapeutics,
Seoul National University College of Medicine and Hospital

(Received March 19, 2015; Revised March 30, 2015; Accepted March 30, 2015)

Abstract

Linear mixed models are commonly used in the clinical pharmaceutical studies to analyze repeated measures such as the crossover study data of bioequivalence studies. In these models, random effects describe the correlation between repeated outcomes and variance-covariance matrix explain within-subject variabilities. Bioequivalence analysis verifies whether a 90% confidence interval for geometric mean ratio of Cmax and AUC between reference drug and test drug is included in the bioequivalence margin [0.8, 1.25] performed using linear mixed models with period, sequence and treatment effects as fixed and sequence nested subject effects as random. A Levofloxacin study is referred to for an example of real data analysis.

Keywords: Bioequivalence, repeated measures, linear mixed model, random effects.

1. 서론

생물학적 동등성(bio-equivalence, 이하 생동성)이란 주성분이 전신순환혈에 흡수되어 약효를 나타내는 의약품에 대하여 동일 주성분을 함유한 동일 투여경로의 두 제제가 전신순환혈로 흡수되는 속도와 양의 비율, 즉 생체이용률(bioavailability)에 있어서 통계학적으로 동등하다는 것을 의미한다 (MFDS, 2014). 약동학(pharmacokinetics)적으로 생체이용률, 즉 체내 노출은 대상 약물의 흡수와 정도를 각각 대변한다고 알려진 혈중 최고농도(Cmax)와 농도-시간곡선하면적(area under the concentration-time curve; AUC)으로 제시된다 (Figure 1.1).

생동성 분석은 이미 허가를 받은 기준의약품(reference drug)과 제네릭 의약품에 대하여 두 약품의 Cmax와 AUC의 기하평균비(geometric mean ratio)에 대한 90% 신뢰구간이 [0.8, 1.25] 범위 안에 들면 동등하다고 간주한다 (MFDS, 2014). 이와 같은 형태는 두 약품의 약효가 동등함을 보이는데 있어서 대규모 환자 집단을 대상으로 한 확증적 임상시험의 결과로써 동등함이 아닌, 약물의 체내 노출만을 비교함으로써 두 약품의 동등성을 판단하는 기준으로 받아들여지고 있다.

This work was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) grant funded by the Korea government (MEST) (No. 2011-0030814).

¹Corresponding author: Department of Clinical Pharmacology and Therapeutics, Seoul National University College of Medicine and Hospital, 101 Daehak-ro, Jongno-gu, Seoul 110-744, Korea.

E-mail: june2335@snu.ac.kr

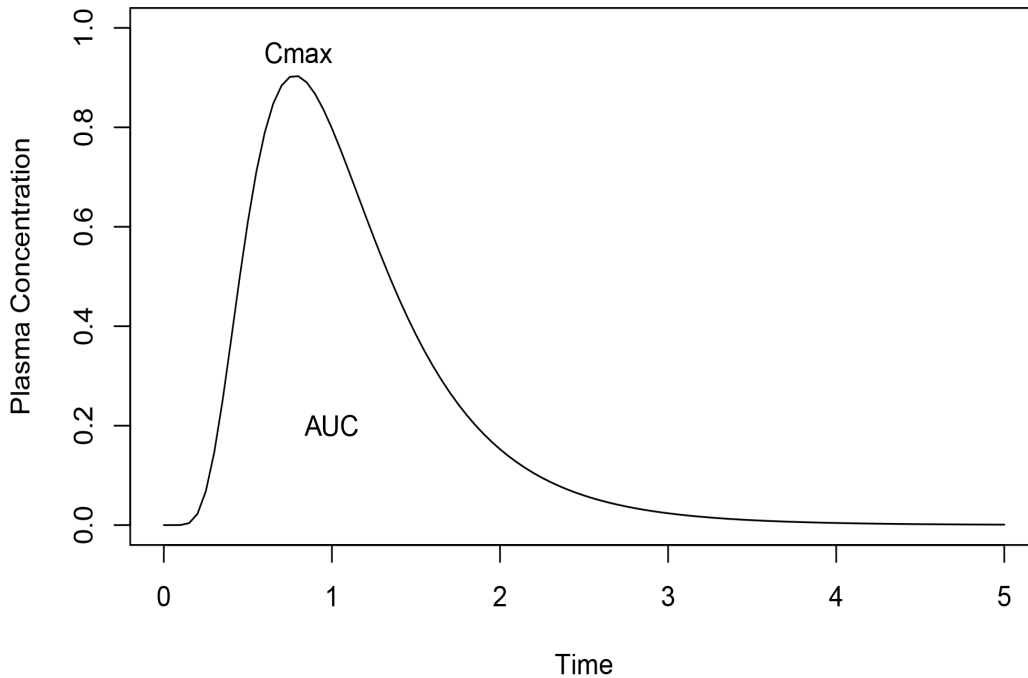


Figure 1.1. The plasma concentration-time profile (including Cmax and AUC).

일반적으로 생동성 시험은 교차연구(crossover study)의 형태로 진행되며, 이러한 교차 설계(crossover design)의 자료는 각 개체(subject)에 대해 매 시기(period) 별로 반복하여 관측되므로 개체-내(within-subjects) 효과를 가지고 있고, 또한 한 개체 내에서 관측된 자료는 서로 관련되어(correlated) 있으므로 선형혼합모형(linear mixed model)을 이용하여 분석하는 것이 적절하다 (Laird와 Ware, 1982). 이 모형의 경우 랜덤효과(random effect)를 이용하여 개체 내 관측 자료 사이의 상관관계를 설명하고, 공분산 행렬은 개체-내 변동을 설명한다.

이 논문에서는 2장에서 선형혼합모형(linear mixed model)에 대하여 소개하고, 3장 일반적인 생동성 분석의 자료 구조와 모형, 그리고 가설검정을 제시하며, 4장에서 실제 자료를 이용한 예제를 보이고, 마지막으로 5장에서 결론을 제시한다.

2. 선형혼합모형

혼합모형(mixed model)이란 고정효과모형(fixed effects model)에 랜덤효과(random effect)가 더해진 모형을 말한다. 이 때, 반응변수(response)와 랜덤효과의 분포가 모두 정규분포를 따르는 경우를 선형혼합모형(linear mixed model)이라 한다. 선형혼합모형에서 개체 i 의 관측치 $y_i = (y_{i1}, \dots, y_{in_i})^T$ 에 대한 모형식은 다음과 같다.

$$y_{ij} = x_{ij}^T \beta + z_{ij}^T v_i + e_{ij}, \quad v_i \sim N(0, \lambda), \quad e_{ij} \sim N(0, \sigma^2),$$

여기서 $\beta = (\beta_1, \dots, \beta_p)^T$ 는 p 개의 고정효과의 계수(coefficients)이고, 랜덤효과 $v_i = (v_{i1}, \dots, v_{iq})^T$ 와 잔차 e_{ij} 는 서로 독립이다.

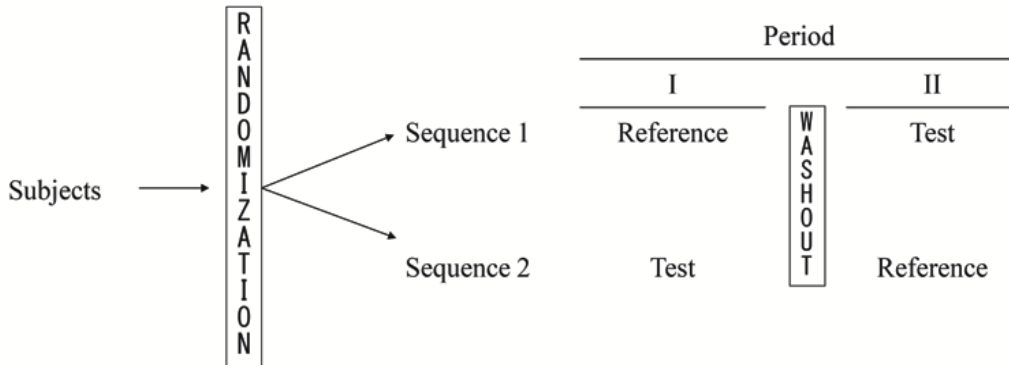


Figure 3.1. The design of 2 × 2 crossover study.

3. 생동성 분석

3.1. 생동성 시험의 자료 구조

대부분의 생동성 시험은 Figure 3.1과 같이 2개의 시기(period)와 2개의 순서군(sequence)를 가지는 2 × 2 교차연구(crossover study)로 진행된다. 각 피험자는 첫 번째 시기에 기준의약품(Reference drug; R)이나 제네릭의약품(Test drug; T)을 복용하고 적절한 휴약기를 거친 후, 두 번째 시기에 나머지 의약품을 복용하며, 이러한 복용 순서는 랜덤하게 배정된다. 각 순서군의 피험자는 최소 12명 이상(총 24명 이상)이어야 하고, 매 시기의 농도-시간곡선으로부터 얻은 Cmax와 AUC를 각각 2개씩 갖게 된다.

3.2. 생동성 분석 모형

Cmax와 AUC는 항상 양의 값이고 오른쪽으로 꼬리가 긴(right-skewed) 분포를 가지므로, 일반적으로 로그선형분포(log-normal distribution)를 따른다고 가정한다. 순서군(seq) k ($k = 1, 2$) 에 속한 피험자 i ($i = 1, \dots, n_k$)에 대하여 j ($j = 1, 2$)번째 시기(prd)에 관측된 Cmax(또는 AUC)의 로그변환값을 반응변수 y_{ijk} 라 하면,

$$y_{ijk} = \mu + \text{prd}_j + \text{seq}_k + \text{trt}_{\tau(j,k)} + v_{i(k)} + e_{ijk}, \quad v_{i(k)} \sim N(0, \lambda), \quad e_{ijk} \sim N(0, \sigma^2), \quad (3.1)$$

여기서 $\tau(j, k)$ 는 순서군 k 의 j 번째 시기에 복용한 기준의약품(R) 또는 제네릭의약품(T)를 의미하는 지시함수(indicator function)이고, 랜덤효과 $v_{i(k)}$ 와 잔차 e_{ijk} 는 서로 독립이다.

3.3. 생동성 분석의 가설검정

생동성 분석은 기준의약품과 제네릭의약품의 약동학적 특성의 차이가, 그 이상을 넘어서면 유사 또는 비견될 만하다고 간주할 수 없는 어떤 한계보다 작은 경우를 가리켜 동등성(equivalence)이라는 개념으로 정의한다. 그리고 이러한 한계를 ‘동등성한계(equivalence margin)’라고 부른다. 식품의약품안전처(KFDA)에서 정한 생동성 시험의 일반적인 동등성 한계는 20%로, 동등성에 대한 검정의 가설은 다음과 같다.

$$H_0 : (\text{trt}_T - \text{trt}_R) \leq \log(0.8) \quad \text{or} \quad (\text{trt}_T - \text{trt}_R) \geq \log(1.25),$$

v.s. $H_1 : \log(0.8) < (\text{trt}_T - \text{trt}_R) < \log(1.25).$

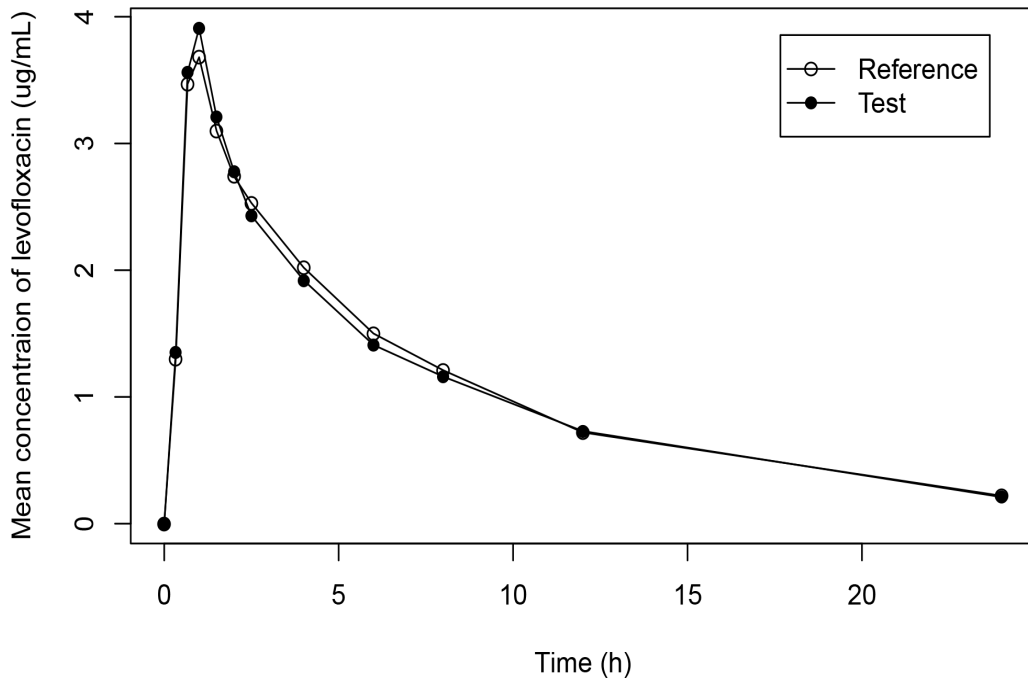


Figure 4.1. The mean concentration-time profile of Levofloxacin data.

위의 동등성에 대한 양측검정은 아래 두 개의 단측검정(Two one-sided tests; TOST)을 동시에 실시하는 것과 같다 (Schuirmann, 1987).

$$H_{01} : (\text{trt}_T - \text{trt}_R) \leq \log(0.8) \quad \text{v.s.} \quad H_{11} : (\text{trt}_T - \text{trt}_R) > \log(0.8),$$

$$\text{and } H_{02} : (\text{trt}_T - \text{trt}_R) \geq \log(1.25) \quad \text{v.s.} \quad H_{12} : (\text{trt}_T - \text{trt}_R) < \log(1.25).$$

따라서 생동성시험에서 두 약물의 C_{\max} 와 AUC의 기하평균비 $\exp(\text{trt}_T - \text{trt}_R)$ 에 대한 90% 신뢰구간이 모두 동등성 한계 범위인 $[0.8, 1.25]$ 에 포함되는 경우에 두 약물이 서로 동등하다고 간주할 수 있다.

일반적인 가설 검정이 95% 신뢰구간을 바탕으로 이루어지는데 반하여, 생동성 분석은 90% 신뢰구간을 가지고 위의 가설을 검정하고 있다. TOST 방법은 Intersection-Union Tests(IUT)의 특별한 경우로 신뢰도 90%인 신뢰구간을 사용하여 생동성을 검정하는 경우, 이 검정방법의 신뢰구간의 신뢰도는 90%임에 반하여 유의수준과 size는 0.1이 아닌 0.05이다 (Kang, 2008). 따라서 국내외의 생동성 시험에 대한 가이드라인은 90% 신뢰구간을 이용한 생동성 검정을 권장하고 있다 (MFDS, 2014).

4. 레보플록사신 연구의 데이터분석

레보플록사신(Levofloxacin)은 그람양성균(Gram-positive pathogens)과 그람음성균(Gram-negative pathogens) 모두에 폭넓게 쓰이는 항생제이다. 이미 시판되고 있는 레보플록사신 기준의약품인 제일약품(주) 크라비트정과 제네릭의약품인 유니메드(주)의 렉타신정의 생동성을 보이기 위하여, 무작위배정, 단회투여, 대조약비교의 2×2 교차연구가 시행되었다 (Chung 등, 2014). 총 26명의 피험자에 대하여 각 순서군에 13명씩 무작위 배정되고, 한 군은 1기에 기준의약품, 2기에 제네릭의약품을, 다른 한 군은

Table 4.1. The analysis results of Levofloxacin data

| Response | Parameter | Estimate | Std.Error | DF | <i>t</i> -value | <i>p</i> -value |
|--|-------------------------------|----------|-----------|-------------------------|-----------------|-----------------|
| log(Cmax) | $\text{trt}_T - \text{trt}_R$ | 0.0062 | 0.0436 | 24 | 0.14 | 0.8878 |
| log(AUC) | $\text{trt}_T - \text{trt}_R$ | -0.0190 | 0.0203 | 24 | -0.94 | 0.3583 |
| Geometric Mean Ratio ($\exp(\text{trt}_T - \text{trt}_R)$) | | | | 90% Confidence Interval | | |
| Cmax | | 1.0060 | | | (0.9339-1.0842) | |
| AUC | | 0.9810 | | | (0.9476-1.0159) | |

1기에 제네릭의약품, 2기에 기준의약품을 각각 250mg씩 투여 받았다. 따라서 각각의 피험자는 두 약물의 Cmax와 AUC를 모두 가지고 있으며, 이는 한 개체 내에서 반복하여 측정된 자료이다. Figure 4.1에서 시간에 따른 두 약물의 혈중 농도 곡선이 거의 일치하는 것으로 보아 생동성을 추측할 수 있다.

로그 변환한 Cmax와 AUC를 모형 (3.1)에 적용한 결과는 Table 4.1에서 확인할 수 있다. 기준의약품과 제네릭의약품의 Cmax와 AUC의 기하평균비에 대한 90% 신뢰구간이 모두 동등성한계인 [0.8, 1.25]범위에 포함되므로 두 약물이 생물학적으로 동등하다고 간주할 수 있다.

5. 결론

이 논문에서 우리는 선형혼합모형을 이용한 생동성 분석의 자료구조, 분석모형, 그리고 가설검정에 대하여 살펴보고, 실제 생동성시험의 데이터인 레보플록사신 데이터를 활용하여 분석에 적용하였다. 임상약리학 분야에서 생동성 시험과 같은 교차연구의 자료는 한 개체에 대하여 시기에 따라 여러 번 반복하여 측정되는 반복측정자료로 개체-내 효과와 자료간의 상관관계가 존재하므로 선형혼합모형을 이용하여 분석하는 것이 보편적이다. 이와 같은 선형혼합모형은 생동성 연구 뿐만 아니라 비교약동학 연구(comparative pharmacokinetics study), 약물상호작용 연구(Drug-drug interaction study), 음식물 영향평가 연구(food effect study) 등 반복측정자료를 사용하는 많은 연구에 활용되고 있다. Cmax와 AUC 이외의 약동학적 변수(pharmacokinetic parameter)인 혈중 최고농도에 도달하는 시간(Tmax)과 혈중 소실반감기($t_{1/2}$)는 일반적으로 정규분포 혹은 로그정규분포를 따르지 않는다고 알려져 있다. 이와 같이 반응변수가 비정규분포를 따르는 경우, 일반화선형혼합모형(generalized linear mixed effect model; Breslow와 Clayton, 1993)이나 다단계일반화선형모형(hierarchical generalized linear model; Lee와 Nelder, 1996)을 활용한 분석이 필요하다. 이러한 분석을 앞으로의 연구과제로 생각할 수 있다.

References

- Breslow, N. E. and Clayton, D. G. (1993). Approximate inference in generalized linear mixed models, *Journal of the American Statistical Association*, **88**, 125-134.
- Chung, I., Yoon, S., Yi, S., Kim, B.-H., Yim, S.-V., Jang, I.-J. and Lee, H. (2014). A bioequivalence study of two levofloxacin tablets in healthy male subjects, *Traditional and Clinical Pharmacology*, **22**, 102-105.
- MFDS (2014). *Guideline for the Drug Equivalence Test* (Notification No. 2014-188, 2014.11.24) (Korean).
- Kang, S. (2008). Why is 90% confidence interval used when confidence interval approach is used for testing equivalence?, *The Korean Journal of Applied Statistics*, **21**, 867-873.
- Lee, Y. and Nelder, J. A. (1996). Hierarchical generalized linear models (with discussion), *Journal of the Royal Statistical Society B*, **58**, 619-656.
- Laird, N. M. and Ware, J. H. (1982). Random-effects models for longitudinal data, *Biometrics*, **38**, 963-974.
- Schuurmann, D. J. (1987). A comparison of the two one-sided test procedure and the power approach for assessing the equivalence of average bioavailability, *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, **15**, 657-680.

선형혼합모형을 활용한 생물학적 동등성 분석

안형미^{a,b,1} · 이영조^a · 유경상^b

^a서울대학교 통계학과, ^b서울대학교 의과대학 임상약리학교실/서울대학교병원 임상약리학과

(2015년 3월 19일 접수, 2015년 3월 30일 수정, 2015년 3월 30일 채택)

요약

생동성 시험과 같은 임상약리학분야의 연구는 일반적으로 한 개체 내에서 반복하여 측정된 자료구조를 사용하므로 선형혼합모형을 이용하여 분석하는 것이 보편적이다. 이러한 모형에서 랜덤효과는 개체 내 관측 자료 사이의 상관관계를 설명하고, 공분산행렬은 개체-내 변동을 설명한다. 생동성 분석은 두 약물의 약동학적 변수인 C_{max} 와 AUC의 기하평균비에 대한 90% 신뢰구간이 동등성 한계인 $[0.8, 1.25]$ 범위에 드는지 알아보는 분석으로, 고정효과에는 시기, 순서군, 치료효과를, 랜덤효과에는 개체효과를 가지는 선형혼합모형을 이용하여 분석한다. 이러한 분석이 적용된 실제 예를 살펴보기 위하여 레보플록사신 연구의 자료를 활용하였다.

주요용어: 생물학적동등성, 반복측정자료, 선형혼합모형, 랜덤효과.

이 연구는 2011년 정부(미래창조과학부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업입니다 (No. 2011-0030814).

¹교신저자: (110-744) 서울특별시 종로구 대학로 101, 서울대학교 의과대학 임상약리학교실/서울대학교병원 임상약리학과. E-mail: june2335@snu.ac.kr