

比の統計学入門

—生物検定法は比の統計学であった—

第 15 回 高橋セミナー

2003 年 11 月 1 日

高橋 行雄

表紙裏

改訂の記録

2003年7月10日，新規作成

目 次

1. はじめに	5
2. 出現率の差および比の信頼区間	6
2.1. 信頼区間の計算、おさらい	6
2.2. 出現率の差および比の信頼区間	8
2.3. ロジスティック回帰分析によるオッズ比の併合	11
2.4. オッズ比の併合	14
2.5. EBM メタ・アナリシスでのオッズ比	17
2.6. コ克蘭・ライブラリ	17
コ克蘭 ライブラリの中身	17
2.7. 丹後のメタ・アナリシスの紹介	23
2.8. Peto の方法	24
2.9. 漸近分散法—オッズ比	26
2.10. Mantel-Haenszel のオッズ比	27
2.11. DerSimonian-Laird—の方法—オッズ比	28
2.12. ロジスティック回帰によるオッズ比の併合	29
PROC GENMOD 母数モデル	29
PORC LOGISTIC 母数モデル	29
JMP によるロジスティック回帰	30
3. 各種の効力比、	31
3.1. 遺伝毒性試験データ	31
3.2. 平均値の比の信頼区間	34
3.3. 効力比の直接推定	36
1 元配置の問題として効力比を求める	36
2 元配置の問題として効力比を求める	37
3.4. 勾配比の推定	37
3.5. 勾配比の推定、重み付き非線形最小 2 乗法の適用	38
3.6. 反応 y が対数変換されている場合	39

3.7. 投与量が対数変換されている場合	40
3.8. 反応が飽和し、用量の増加に伴い分散も大きくなる場合	41

図 表 目 次

表 2.1	タミフルのインフルエンザに対する予防効果.....	6
表 2.2	出現率の差、リスク比、およびオッズ比.....	9
表 2.3	インフルエンザの予防に関するシステムティック・レビュー一覧.....	18
表 2.4	コクラン・ライブラリのワクチンの予防効果に対するメタ・ビュー.....	21
表 2.5	コクラン・ライブラリの Forest plot (森林プロット).....	22
表 2.6	不活性型非経口ワクチンの臨床効果.....	22
表 2.7	丹後本のデータ.....	23
表 2.8	Peto のオッズ比、Excel 計算シート.....	24
表 2.9	漸近分散法の Excel 計算シート.....	27
表 2.10	SAS/FREQ による追試.....	28
表 2.11	文献を変数とする DerSimonian-Laird 法、Excel の計算シート.....	29
表 2.12	JMP によるオッズ比とプロファイル尤度による信頼区間.....	30
表 3.1	変異コロニー数と比活性.....	33
表 3.2	各群の基本統計量.....	33
表 3.3	JMP の非線形回帰による効力比の直接推定.....	36
表 3.4	共通の切片を持つ線形回帰分析.....	37
表 3.5	JMP の非線形回帰による勾配比の推定.....	38
表 3.6	用量の増加に伴う CV の変化.....	38
表 3.7	重み付き非線形回帰.....	39
表 3.8	反応が対数の場合での切片の差の推定.....	40
表 3.9	S 薬の $y = 200$ および T 薬との差の逆推定.....	41
図 2.1	Excel での柏木論文でのタミフル群の発現率の信頼区間.....	7
図 2.2	Excel での柏木論文での発現率の差およびオッズ比の信頼区間.....	10
図 2.3	オッズ比の信頼区間.....	11
図 2.4	データをExcelで準備する.....	12
図 2.5	JMPに貼り付けた結果 (有無が逆).....	12
図 2.6	モデルのあてはめ、変数をドラッグ&ペースト.....	13
図 2.7	信頼区間の設定.....	13
図 2.8	柏木論文のオッズ比の信頼区間.....	14
図 2.9	Drug と 論文の交互作用の確認.....	14

図 2.10	交互作用はない、 $P=0.7402$	15
図 2.11	交互作用なしのモデル	15
図 2.12	3 論文を併合したオッズ比	16
図 2.13	ロジスティック回帰によるオッズ比の併合	16
図 3.1	変異コロニー数の用量反応関係	34
図 3.2	S薬とT薬の比活性比の比較	34
図 3.3	S薬とT薬の比活性のボックスプロット	35
図 3.4	対数変換	39

1. はじめに

テーマは、「比の統計学入門」です。比にはいろいろな意味があります。それらを体系的にまとめたいと思っています。これまで大きなテーマとしていたのは、生物検定法を現代の統計学の進歩を取り入れて刷新することでした。9月の統計連合大会でのテーマ、「シグモイド型用量反応関連の問題」は、旧・生物検定法の時代のホットな話題でありました。ただし、非線形回帰を必要としていたので、この当時には非線形回帰をサポートする一般的な統計ソフトは存在していこともあり、応用統計の問題として取り上げられることが稀になってしまった。

関連する問題を掘り下げてゆくと、「比」がキーワードであることを改めて認識しました。*LD50* は、ロジスティック回帰で推定された切片と傾きの比であるし、「効力比」は、ある効果を示す用量の比であるし、2値データの解析では、ロジスティック回帰で得られたオッズ比をしめすことがメジャーになりました。

比を計算することはたやすいのですが、その95%信頼区間を求めることは容易ではありません。統計ソフトでも「比」はほとんど無視されています。第14回目の高橋セミナーでのテーマは、古典的な生物検定法の課題のすべてが、比の統計モデルにして非線形回帰分析を適用することで、実に簡単に解けることを例示しました。

比の統計学は、臨床試験のメタ・アナリシスの世界では、複数のDBTの効果の有無を併合するための方法としてオッズ比が標準的になっています。

今回は、最初にオッズ比の併合するメタ・アナリシスの実例を示しつつ、有効率の差よりも有効率の比が一般化には適していることを示します。次に、非線形回帰の復習をして、これまで線形回帰の問題として対応してきた様々な生物検定法を比の形とし、非線形回帰分析により、比を直接パラメータとして推定し、同時にその95%信頼区間も同時に推定できることを示します。

2. 出現率の差および比の信頼区間

インフルエンザの予防についてのメタ・アナリシスを、次の 3 つの文献を対象に行なってみよう。

- 1) 柏木征三郎ほか：リン酸オセタミビルのインフルエンザ発症抑制効果に関する検討－プラセボを対象とした第Ⅲ相二重盲検並行群間比較試験－. 感染症学会誌. 2000 ; 74(12) : 1062-1076.
- 2) Hayden FG, et al. Use of the Oral Neuraminidase Inhibitor Oseltamivir in Experimental Human Influenza -- Randomized Controlled Trials for Prevention and Treatment --. JAMA. 1999; 282:1240-1246.
- 3) Hayden FG, et al. Use of the Selective Oral Neuraminidase Inhibitor Oseltamivir to Prevent Influenza. N Eng J Med. 1999; 341:1336-1343.

表 2.1 タミフルのインフルエンザに対する予防効果

論文	薬剤	drug	効果	症例数	計
1:柏木	プラセボ	0	0:有	13	153
			1:無	140	
	タミフル	1	0:有	2	155
			1:無	153	
2:Frederic	プラセボ	0	0:有	25	519
			1:無	494	
	タミフル	1	0:有	13	1040
			1:無	1027	
3:Frederic_Ex	プラセボ	0	0:有	8	12
			1:無	4	
	タミフル	1	0:有	8	21
			1:無	13	

2.1. 信頼区間の計算、おさらい

手計算の時代の教科書： 近似法

- 1) 正規近似

$$\pi \sim \hat{p} \pm 1.96 \sqrt{\frac{\hat{p}(1-\hat{p})}{n}}$$

2) 2次方程式の根

$$\pi \sim \frac{(2\hat{p} + 1.96^2/n) \pm \sqrt{-(2\hat{p} + 1.96^2/n)^2 - 4(1 + 1.96^2/n)\hat{p}^2}}{2(1 + 1.96^2/n)}$$

3) 正確な信頼区間の計算

2項分布の累積確率を F 分布で計算する

$$p_l = \frac{y}{(n-y+1) \cdot F(2(n-y+1), 2y; 0.025) + y}$$

$$p_u = 1 - \frac{n-y}{(y+1) \cdot F(2(y+1), 2(n-y); 0.025) + n-y}$$

自由度の大きい F 表が必要であり、実用的でなかったが、現在は Excel で簡単に計算できる。

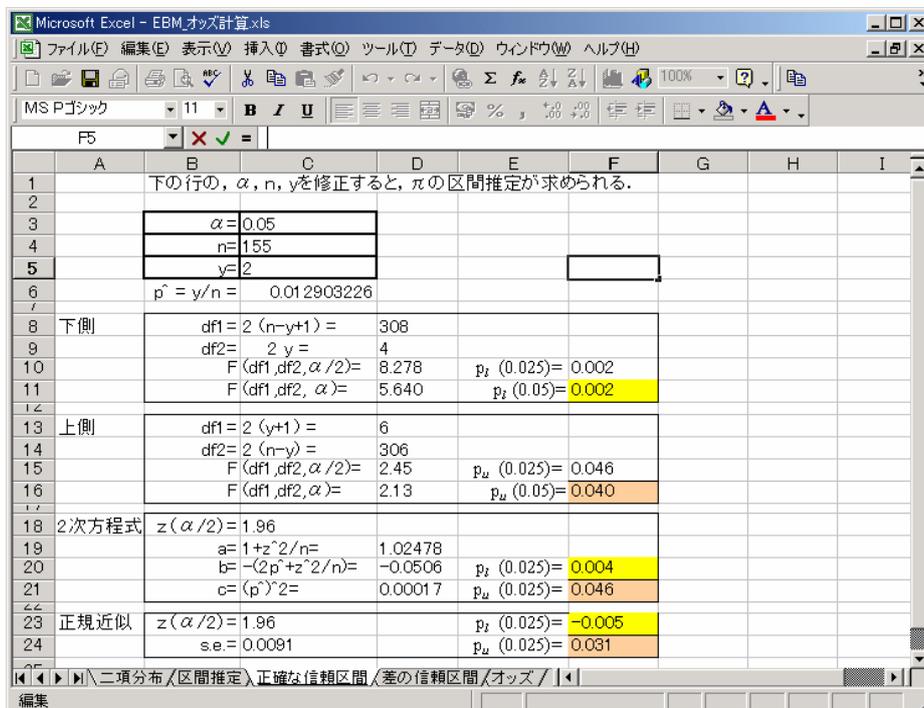


図 2.1 Excel での柏木論文でのタミフル群の発現率の信頼区間

出現率の計算法として、正規近は概算するときの方法として価値はあるが、2次方程

式の解の計算は、概算することは困難であり、計算機を用いる場合には、F分布をもちいた正確な方法を使うべきである。

2.2. 出現率の差および比の信頼区間

1) 正規近似

$$(\hat{p}_1 - \hat{p}_2) \pm 1.96 \sqrt{\frac{\hat{p}_1(1-\hat{p}_1)}{n_1} + \frac{\hat{p}_2(1-\hat{p}_2)}{n_2}}$$

差の信頼区間： 正確な計算方式がない

出現率が異なると分散が異なる

(50 %と 45 %) , (10 %と 5 %) の差

同じ 5%の差でも分散は異なる

2) 「オッズ比」の信頼区間

出現率のオッズの比が救いの神

出現率のオッズの対数を応答変数

2 値データの標準的な解析方法

ロジスティック回帰が普及

応答変数が計量値の回帰分析に対応

出現率のオッズ (odds) は、賭け事の世界でよく用いられている。全体で 25%の人がある馬が勝つことに掛けた場合のオッズは、負けに掛けた人は 75%であり、その比は $0.75/0.25 = 3$ 倍となる。50%の人が掛けた場合には、 $0.5/0.5 = 1$ 倍となる。2つのオッズの比

$$\hat{\psi} = \frac{\hat{p}_1/(1-\hat{p}_1)}{\hat{p}_2/(1-\hat{p}_2)} \tag{2.1}$$

は、疫学研究でオッズ比として常用されている。出現率の差 $(\hat{p}_1 - \hat{p}_2)$ は、 $(-1, 1)$ の範囲であるのに対し、オッズ比 $\hat{\psi}$ (プサイ) は、 $(0, \infty)$ の範囲となる。

ロジスティック回帰においては、オッズの対数 $\ln(\hat{p}/(1-\hat{p}))$ を反応変数とする。ロジスティック回帰では、オッズの対数 $\ln(\hat{p}/(1-\hat{p}))$ をロジット (logit) というので、ここでは、ロジットを用いることにする。

さて、2つのロジット $\ln(\hat{p}_1/(1-\hat{p}_1))$ と $\ln(\hat{p}_2/(1-\hat{p}_2))$ の差は、

$$\ln \hat{\psi} = \text{logit}(\hat{p}_1) - \text{logit}(\hat{p}_2) = \ln \left(\frac{\hat{p}_1/(1-\hat{p}_1)}{\hat{p}_2/(1-\hat{p}_2)} \right) \quad (2.2)$$

対数オッズ比に等しくなり、その範囲は $(-\infty \sim \infty)$ となる。対数オッズ、あるいは、ロジットの差の標準偏差（標準誤差）は、

$$\text{s.e.}(\ln \hat{\psi}) = \text{s.e.}(\text{logit}(\hat{p}_1) - \text{logit}(\hat{p}_2)) \approx \sqrt{\frac{1}{n_1 \hat{p}_1} + \frac{1}{n_1(1-\hat{p}_1)} + \frac{1}{n_2 \hat{p}_2} + \frac{1}{n_2(1-\hat{p}_2)}} \quad (2.3)$$

となることが知られている。ロジットの差の95%信頼区間は、したがって、

$$\ln \hat{\psi} \pm 1.96 \times \text{s.e.}(\ln \hat{\psi}) \quad (2.4)$$

となる。この対数オッズ比の逆対数がオッズ比の95%信頼区間となり、この下限または上限が1.0を超えていれば統計的に差があると判断され、1.0を超えていなければ統計的に有意な差があると判断される。

出現率の差は、柏木論文では、 $8.5\% - 1.3\% = 7.2\%$ であるが、他の論文では、プラセボ群でのインフルエンザの発現率のレベルが異なり、タミフルの発現率との差は、それぞれ3.6%、38.1%と大きくことなり、タミフルのプラセボに対する効果を一律に論ずることができない。このために出現率の比としてリスク比が好んで用いられている。これは、プラセボの出現率を100%としたときのタミフルの出現率を相対的に測るものであり、それぞれ、84.8%、74.15、42.9%となる。逆にタミフルの出現率を100%とすることもでき、リスク比は統計的には扱いにくい。オッズ比は、どちらのオッズを分母にするかでオッズ比は異なるが互いに逆数の関係にあり、統計的に扱いやすい。

表 2.2 出現率の差、リスク比、およびオッズ比

論文	プラセボ			タミフル			出現率 の差	リスク比 RRR	オッズ比 OR
	発現	症例	%	発現	症例	%			
1:柏木	13	153	8.50	2	155	1.29	7.21	84.8	0.141
2:Frederic	25	519	4.82	13	1040	1.25	3.57	74.1	0.250
3:Frederic_Ex	8	12	66.67	8	21	38.10	28.57	42.9	0.308

Excel を用いてそれぞれの論文のオッズ比の95%信頼区間を計算してみよう。

$$\hat{\psi} = \frac{\hat{p}_1/(1-\hat{p}_1)}{\hat{p}_2/(1-\hat{p}_2)} = \frac{0.0129/0.9871}{0.0850/0.9150} = 0.141$$

$$\ln \hat{\psi} = \ln(0.141) = -1.961$$

$$\begin{aligned} \text{s.e.}(\ln \hat{\psi}) &\approx \sqrt{\frac{1}{n_1 \hat{p}_1} + \frac{1}{n_1(1-\hat{p}_1)} + \frac{1}{n_2 \hat{p}_2} + \frac{1}{n_2(1-\hat{p}_2)}} \\ &= \sqrt{\frac{1}{2} + \frac{1}{155-2} + \frac{1}{13} + \frac{1}{153-13}} \\ &= 0.769 \end{aligned}$$

$$\ln \hat{\psi} \pm 1.96 \times \text{s.e.}(\ln \hat{\psi}) = 1.961 \pm 1.96 \times 0.769 = (-3.46, -0.454)$$

$$L95\% = e^{-3.46} = 0.031$$

$$U95\% = e^{-0.454} = 0.635$$

これらの結果をまとめると、オッズ比は0.141、上限が0.635と1.0を超えていないので、プラセボに対してタミフルは統計的に有意な差がある判定される。

Microsoft Excel - EBM オッズ計算.xls							
MSゴシック 11 B I U							
1	比率の差の95%信頼区間						
2							
3	2x2表, 頻度, 出現率, SE					正規近似	logit
4	A	反応(+)	反応(-)	合計	出現率p̂	分散	対数odds
5	1	2	153	155	0.013	0.000082	-4.337
6	2	13	140	153	0.085	0.000508	-2.377
7							
8							
9	A1 と A2i の比率の差と正規近似による95%信頼区間						
10		出現率差	差のSE	L95%	U95%		
11		A1-A2	-0.072	0.024	-0.120	-0.024	
12							
13		ロジット	s.e.	L95%	U95%	逆ロジット %	
14		A2-A1	-1.961	0.769	-3.467	-0.454	-
15		exp(x)=	0.141	0.031	0.635		
16		A1 ± 95%	-4.337	-5.844	-2.831	0.003	0.056
17		A2 ± 95%	-2.377	-3.883	-0.870	0.020	0.295
18							

図 2.2 Excel での柏木論文での発現率の差およびオッズ比の信頼区間

Frederic 論文では、オッズ比=0.250 と柏木論文より大きいですが、症例数が多いために 95% 信頼区間は (0.127, 0.493) と幅が小さくなっている。Frederic の実験論文では、オッズ比 = 0.308 であり、95%信頼区間は (0.069, 1.364) と上限が 1.0 を超えており、統計的には差がない。

これらの3論文のオッズ比を図示してみよう。

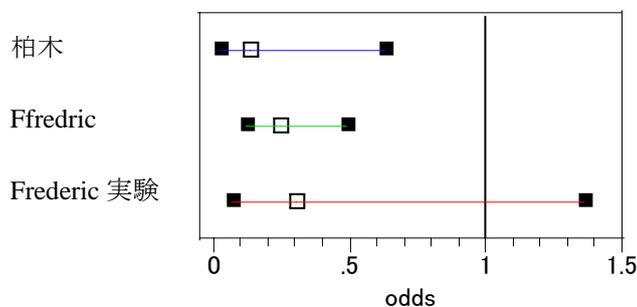


図 2.3 オッズ比の信頼区間

2.3. ロジスティック回帰分析によるオッズ比の併合

複数の論文のオッズ比を併合する方法として、論文を固定効果とする Peto の方法、漸近分散法、Mantel-Haenszel の方法、論文を変数とする DerSimonian-Laird の法などが知られている。これらの方法は、ロジスティック回帰のように繰り返し演算を必要としないのでメタ・アナリシスの標準的な解析法として用いられている。

オッズ比とその 95%信頼区間は、ロジスティック回帰分析の結果と一致することも知られていて、論文を説明変数に加えることにより論文を併合した薬剤間のオッズ比とその 95%信頼区間を求めることができる。ただし、ロジスティック回帰分析はメタ・アナリシスの分野ではマイナーである。これは、かなり煩雑な繰り返し演算を必要とすることが原因である。最近の統計ソフトではロジスティック回帰の説明変数に分類変数を含めることができるようになると、これまでの方法は、統計ソフトでは逆にマイナーであり、ロジスティック回帰の方が手軽に使える。

JMP でのロジスティック回帰は、これまで 2 値データの用量反応曲線から $D50$ を推定するために使ってきたのであるが、操作法をおさらいする。

論文	薬剤	drug	効果	症例数	計
1:柏木	プラセボ	0	0:有	13	
1:柏木	プラセボ	0	1:無	140	153
1:柏木	タミフル	1	0:有	2	
1:柏木	タミフル	1	1:無	153	155
2:Frederic	プラセボ	0	0:有	25	
2:Frederic	プラセボ	0	1:無	494	519
2:Frederic	タミフル	1	0:有	13	
2:Frederic	タミフル	1	1:無	1027	1040
3:Frederic_Ex	プラセボ	0	0:有	8	
3:Frederic_Ex	プラセボ	0	1:無	4	12
3:Frederic_Ex	タミフル	1	0:有	8	
3:Frederic_Ex	タミフル	1	1:無	13	21

図 2.4 データを Excel で準備する

論文	薬剤	drug	効果	症例数	計
1:柏木	プラセボ	0	0:無	13	
1:柏木	プラセボ	0	1:有	140	153
1:柏木	タミフル	1	0:無	2	155
1:柏木	タミフル	1	1:有	153	155
2:Frederic	プラセボ	0	0:無	25	519
2:Frederic	プラセボ	0	1:有	494	519
2:Frederic	タミフル	1	0:無	13	1040
2:Frederic	タミフル	1	1:有	1027	1040
3:Frederic_Ex	プラセボ	0	0:無	8	12
3:Frederic_Ex	プラセボ	0	1:有	4	12
3:Frederic_Ex	タミフル	1	0:無	8	21
3:Frederic_Ex	タミフル	1	1:有	13	21

図 2.5 JMP に貼り付けた結果（有無が逆）

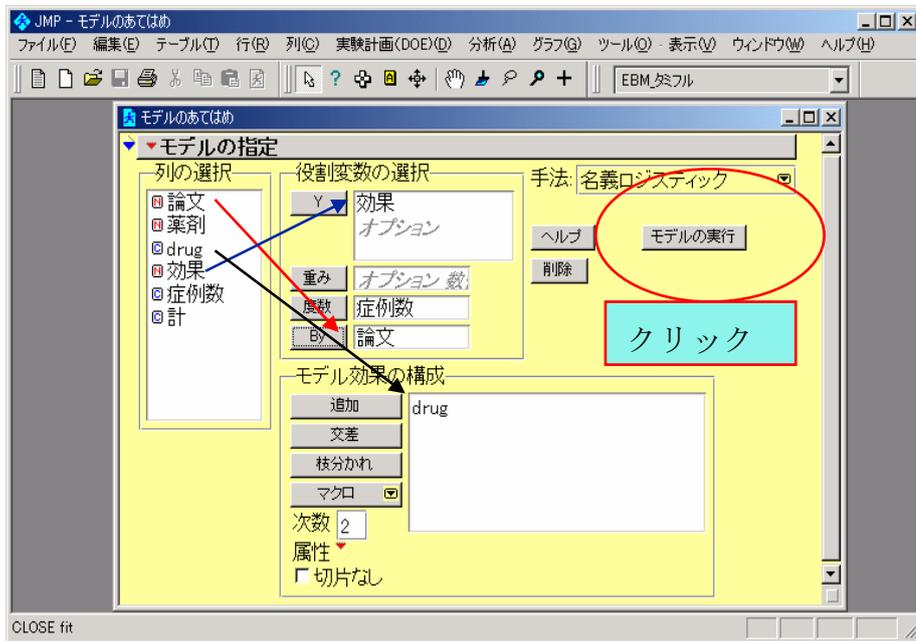


図 2.6 モデルのあてはめ、変数をドラッグ&ペースト

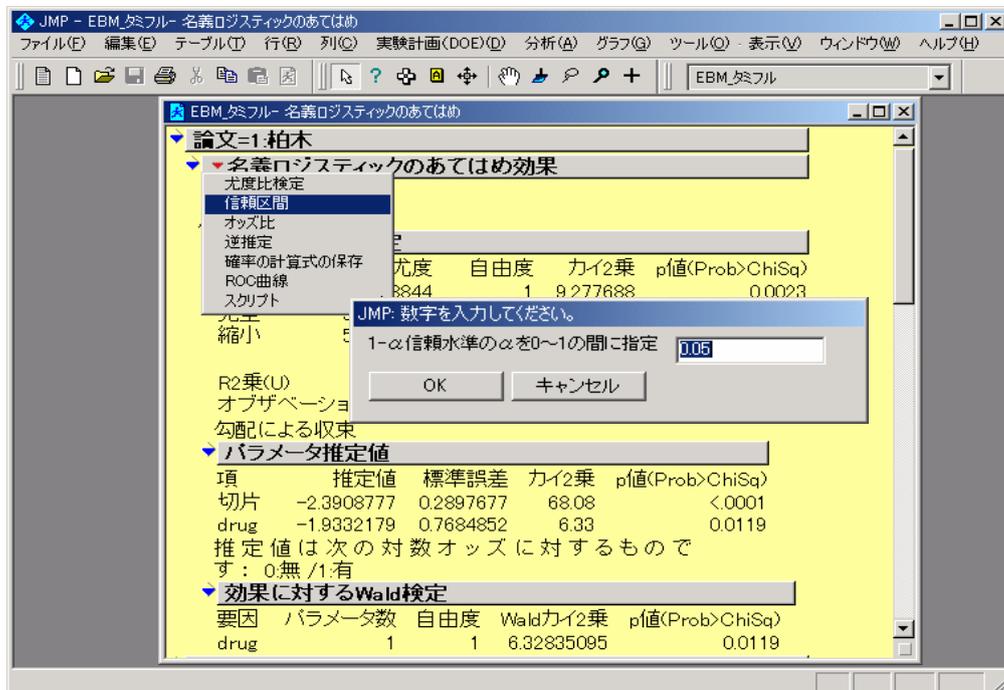


図 2.7 信頼区間の設定

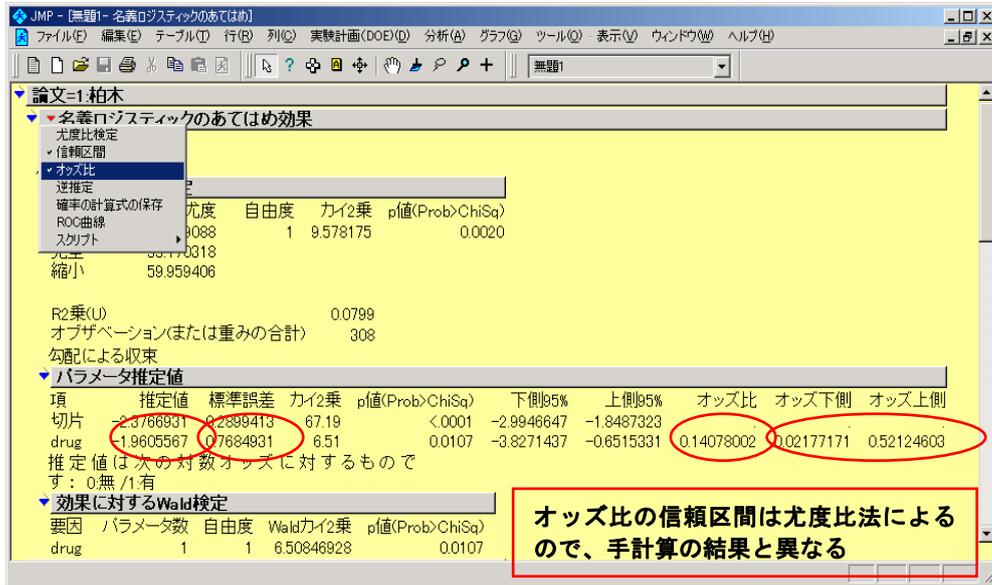


図 2.8 柏木論文のオッズ比の信頼区間

2.4. オッズ比の併合

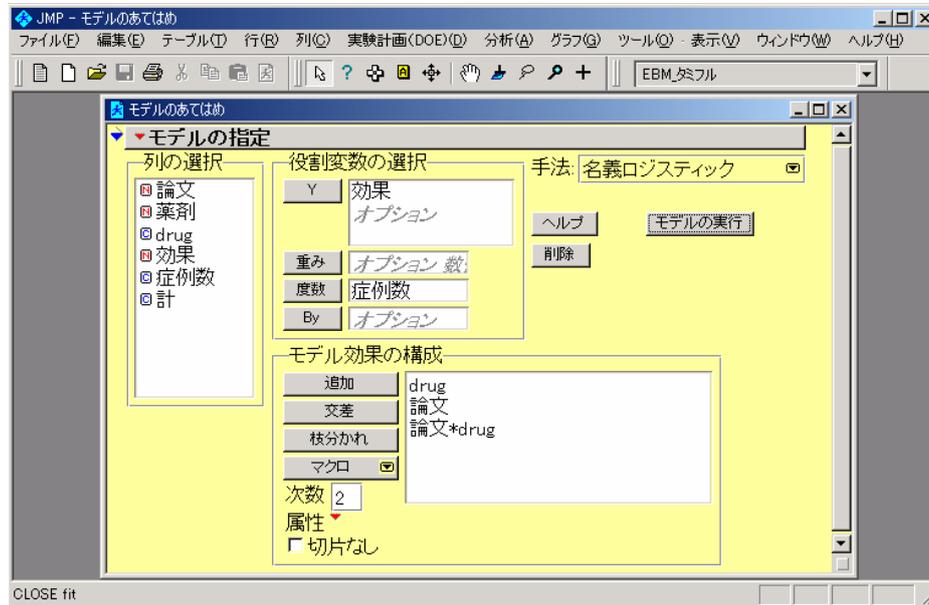


図 2.9 Drug と論文の交互作用の確認

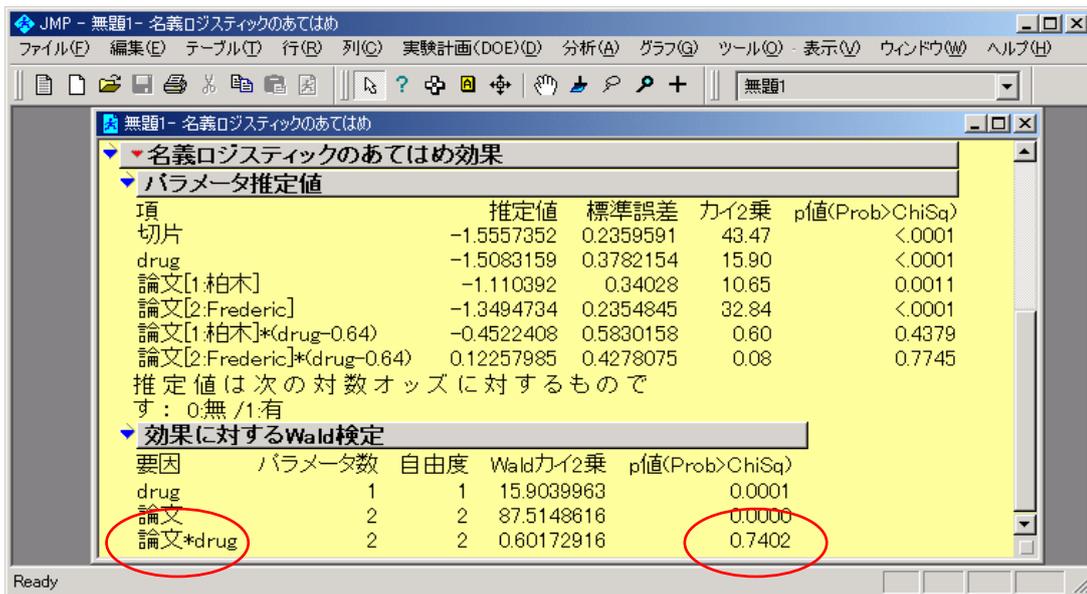


図 2.10 交互作用はない、P=0.7402

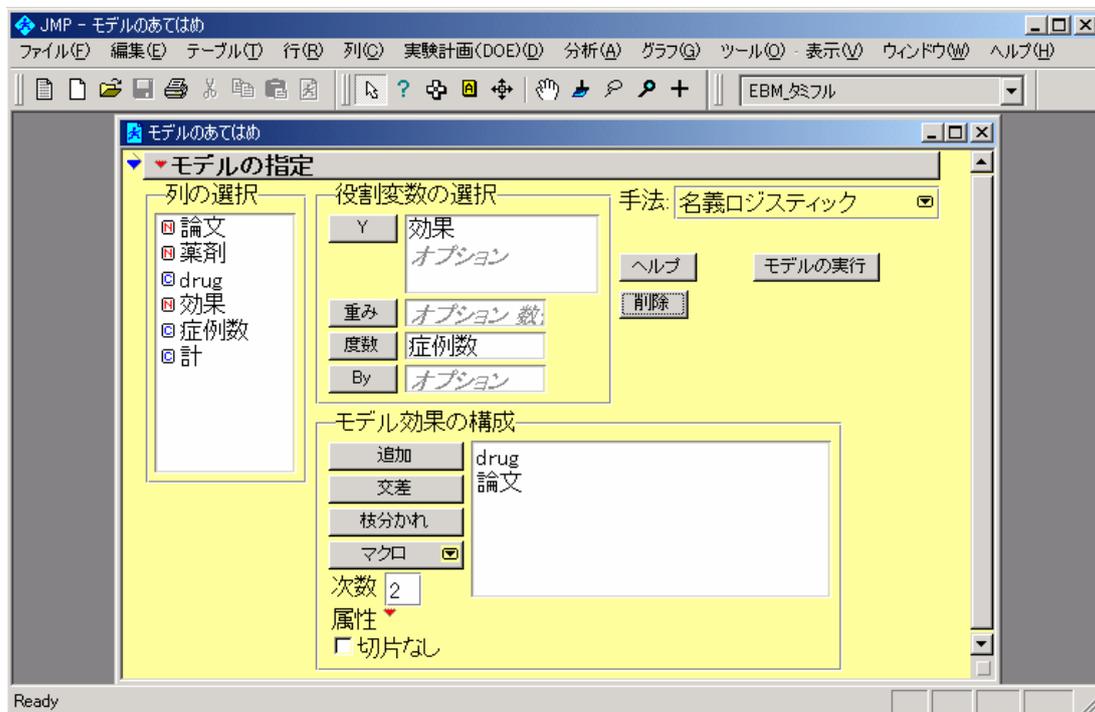


図 2.11 交互作用なしのモデル

項	推定値	標準誤差	カイ2乗	p値(Prob>ChiSq)	下側95%	上側95%	オッズ比	オッズ下側	オッズ上側
切片	-1.5177966	0.1988642	58.37	<.0001	-1.9113991	-1.1298086			
drug	-1.4530779	0.2869598	25.64	<.0001	-2.0376645	-0.9064631	0.23384941	0.13033275	0.40395044
論文[1: 柏木]	-0.9478104	0.2300946	16.97	<.0001	-1.4185375	-0.5123105	0.15022512	0.05859681	0.3588025
論文[2: Frederic]	-1.4427613	0.188705	58.46	<.0001	-1.81506	-1.0727008	0.05582561	0.02651301	0.11702102

図 2.12 3 論文を併合したオッズ比

オッズ比の 95%信頼区間の計算は、JMP ではプロファイル尤度を用いているので、対数オッズの推定値と標準誤差から再計算し、併合したメタ・アナリシスの図に書き込んでみよう。オッズ比 = $e^{0.2338} = 0.234$ 、下限 = $e^{0.2338 - 1.96 \times 0.2869} = 0.133$ 、上限 = $e^{0.2338 + 1.96 \times 0.2869} = 0.410$ 。

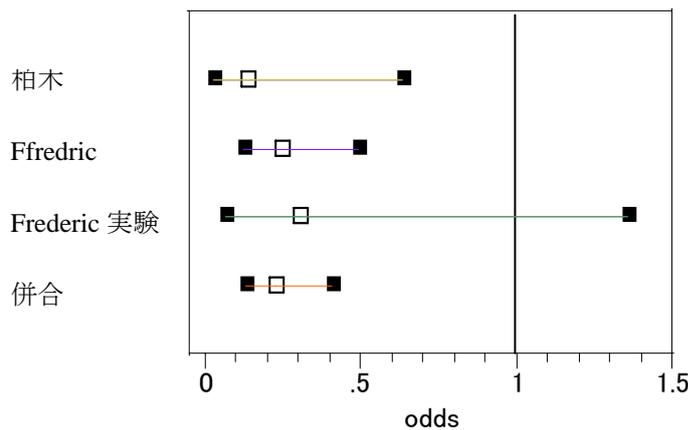


図 2.13 ロジスティック回帰によるオッズ比の併合

2.5. EBM メタ・アナリシスでのオッズ比

ある治療法がエビデンスとしての証拠があるかを、複数の DBT の結果を併合する方法としてメタ・アナリシスが盛んに行なわれるようになってきた。結果が 2 値反応の場合に、結果を併合する統計的方法として、個々の臨床試験のプラセボ群に対する新規治療法（薬剤）の効果のオッズ比を計算し、それらのオッズ比を併合し、オッズ比の点推定とその 95%信頼区間を計算する。そして、その新規治療法がどのくらいの効果があるのか総合的に判断するのである。

出現率の差は、メタ・アナリシスでは使われていない。これは、出現率の差は、基準となる標準治療法（プラセボ群）の出現率が異なる場合に出現率の差を互いに比較することができないからである。

オッズ比は、疫学のケース・コントロール研究におけるリスク比の代用統計量として細々と用いられてきたのですが、いまや 2 値の応答変数を扱うロジスティック回帰分析の普及で“花形”になっています。

2.6. コクラン・ライブラリ

表 2.1 でインフルエンザの予防薬としてのタミフルの治療効果を示したが、インフルエンザの予防といえばワクチンが古くから使われてきています。ワクチンの予防効果を EBM の本家、コクラン・ライブラリで調べて見ましょう。ついでに、他のインフルエンザの予防薬についても調べてみます。ここでの第 1 の目的は、EBM の本家で実際に使われている統計手法を知ることである。しかし、その作業を行なうためには、特定のテーマがないと実施できないので、身近なインフルエンザを事例としました。

コクラン ライブラリの中身

1) システマティック レビューのデータベース

年 4 回の改訂、大幅な追加が毎回ある。年間 500 件
最新版、2003 年 10 月 Issue 4。

The Cochrane Database of Systematic Reviews (3181)

Complete reviews (1837)

Protocols (1344)

2) ヨーク大学提供の総説

総説、メタアナリシスのデータベース

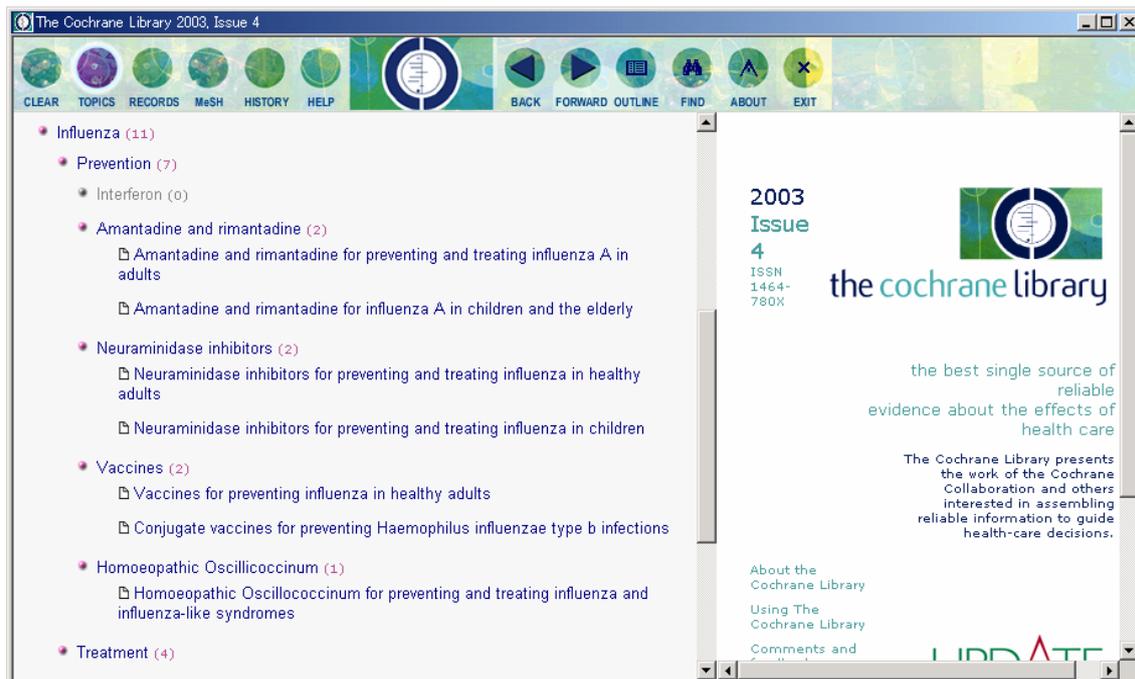
3) 臨床試験のデータベース

数十万件におよぶ臨床試験研究

MEDLINE に未収載のものも載っている

4) システマティック・レビューのための論文集

表 2.3 インフルエンザの予防に関するシステマティック・レビュー一覧



Influenza (11) *印がシステマティック・レビュー結果

Prevention (7)

Interferon (0)

Amantadine and rimantadine (2)

*Amantadine and rimantadine for preventing and treating influenza A in adults

* Amantadine and rimantadine for influenza A in children and the elderly

Neuraminidase inhibitors (2)

*Neuraminidase inhibitors for preventing and treating influenza in healthy adults

*Neuraminidase inhibitors for preventing and treating influenza in children

Vaccines (2)

*Vaccines for preventing influenza in healthy adults

*Conjugate vaccines for preventing Haemophilus influenzae type b infections

Issu4 での新テーマ

Homoeopathic Oscillococcinum (1)

*Homoeopathic Oscillococcinum for preventing and treating influenza and influenza-like syndromes

Treatment (4)

Antibiotics (0)

Symptomatic therapy (0)

Amantadine and rimantadine (2)

*Amantadine and rimantadine for preventing and treating influenza A in adults

*Amantadine and rimantadine for influenza A in children and the elderly

Interferon (0)

Other (1)

Homoeopathic Oscillococcinum (1)

*Homoeopathic Oscillococcinum for preventing and treating influenza and influenza-like syndromes

Prescribed rest (0)

Neuraminidase inhibitors (1)

*Neuraminidase inhibitors for preventing and treating influenza in healthy adults

健康成人でのインフルエンザ予防のためのワクチン

Vaccines for preventing influenza in healthy adults

Demicheli V, Rivetti D, Deeks JJ, Jefferson TO

Date of most recent amendment: 28 August 2001

Date of most recent substantive amendment: 03 August 2001

This review should be cited as: Demicheli V, Rivetti D, Deeks JJ, Jefferson TO. Vaccines for preventing influenza in healthy adults (Cochrane Review). In: The Cochrane Library, Issue 3, 2003. Oxford: Update Software. CD001269

ABSTRACT

Background

Three different types of influenza vaccines are currently produced world wide. None is traditionally targeted to healthy adults. Despite the publication of a large number of clinical

trials, there is still substantial uncertainty about the clinical effectiveness of influenza vaccines and this has negative impact on the vaccines acceptance and uptake.

Objectives

To identify, retrieve and assess all studies evaluating the effects of vaccines on influenza in healthy adults.

To assess the effectiveness of vaccines in preventing cases of influenza in healthy adults.

To estimate the frequency of adverse effects associated with influenza vaccination in healthy adults.

Search Strategy

MEDLINE was searched using the strategy of the Cochrane Acute Respiratory Infections Group. The bibliography of retrieved articles, the Cochrane Controlled Trials Register (CCTR), and EMBASE (1990 to 1997) were also searched. Handsearch of the journal *Vaccine* from its first issue to the end of 1997 (Jefferson and Jefferson, 1996; Jefferson, 1998). We wrote to vaccine manufacturers and first or corresponding authors of studies in the review.

Selection Criteria

Any randomised or quasi-randomised studies comparing influenza vaccines in humans with placebo, control vaccines or no intervention, or comparing types, doses or schedules of influenza vaccine. Live, attenuated or killed vaccines or fractions thereof administered by any route, irrespective of antigenic configuration were considered. Only studies assessing protection from exposure to naturally occurring influenza in healthy individuals aged 14 to 60 (irrespective of influenza immune status) were considered.

Data collection and analysis

Both clinically defined cases and serologically confirmed cases of influenza were considered as outcomes according to the authors' definitions. Time off work, complication and hospitalisation rates were considered, together with adverse effects. Vaccine schedules were analysed including one component matching the recommended vaccine (WHO or government recommendations) for the year of the study, and whether they matched the circulating viral subtypes.

Main Results

The recommended live aerosol vaccines reduced the number of cases of serologically confirmed influenza A by 48% (95% confidence interval 24% to 64%), whilst recommended inactivated parenteral vaccines had a vaccine efficacy of 68% (95% confidence interval 49% to 79%).

The vaccines were less effective in reducing clinical influenza cases, with efficacies of 13% and 24% respectively. Use of the vaccine significantly reduced time off work, but only by 0.4 days for each influenza episode (95% confidence interval 0.1 to 0.8 days). Analysis of vaccines matching the circulating strain gave higher estimates of efficacy, whilst inclusion of all other vaccines reduced the efficacy.

Reviewers' conclusions

Influenza vaccines are effective in reducing serologically confirmed cases of influenza A.

However, they are not as effective in reducing cases of clinical influenza. The use of WHO recommended vaccines appears to enhance their effectiveness in practice.

表 2.4 コクラン・ライブラリのワクチンの予防効果に対するメタ・ビュー

The screenshot shows a software window titled "Meta-analysis" with a menu bar containing "File" and "Help". The main content area is titled "Review: Vaccines for preventing influenza in healthy adults" and has tabs for "Comparisons and outcomes", "Forest plot", and "Sensitivity analysis".

Comparisons in this review

#	Comparison name	# outcomes
01	Vaccine versus placebo	7
02	At least one vaccine recommended for that year versus placebo or other vaccine	3
03	Vaccine matching circulating strain versus placebo or other vaccine	2

Outcomes for this comparison

#	Outcome name	# Subgroups	Data type
01	Influenza cases (clinically defined)	6	Dichotomous
02	Influenza cases (serologically confirmed)	3	Dichotomous
03	Working days lost	3	Continuous
04	Complications	3	Dichotomous
05	Hospital admissions	3	Dichotomous
06	Adverse effects for live aerosol vaccines	9	Dichotomous
07	Adverse effects for inactivated parenteral vaccines	10	Dichotomous

表 2.5 コクラン・ライブラリの Forest plot (森林プロット)

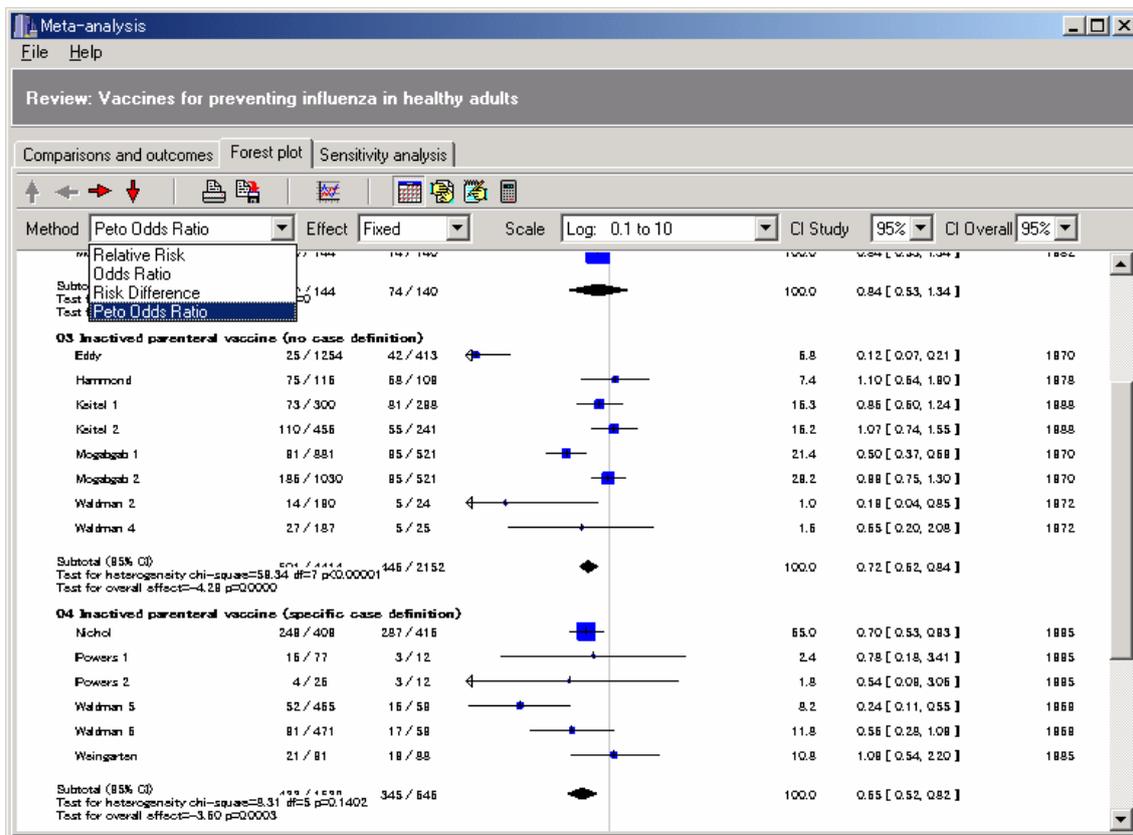


表 2.6 不活性型非経口ワクチンの臨床効果

case definition	文献	年	ワクチン群		プラセボ群		
			発現	症例数	発現	症例数	
no	Eddy	1970	25	1254	42	413	
	Hammond	1978	75	116	68	109	
	Keite1 1	1988	73	300	81	298	
	Keite1 2	1988	110	456	55	241	
	Mogabgab 1	1970	91	881	95	521	
	Mogabgab 2	1970	186	1030	95	521	
	Waldman 2	1972	14	190	5	24	
	Waldman 4	1972	27	187	5	25	
	Subtotal (95% CI)			446	2152	0.72	[0.62, 0.84]
specific	Nichol	1995	249	409	287	416	
	Powers 1	1995	16	77	3	12	
	Powers 2	1995	4	26	3	12	
	Waldman 5	1969	52	465	16	59	
	Waldman 6	1969	91	471	17	59	
	Weingarten	1985	21	91	19	88	
	Subtotal (95% CI)			345	646	0.65	[0.52, 0.82]

コクラン・ライブラリでの臨床効果のメタ・アナリシスの統計的方法は、表 2.5 に

示すように、Petoのオッズ比、オッズ比 (Mantel-Haenszel法)、相対リスク、リスク差の4種類から選べるようになっており、文献を固定効果または変量効果とするか選択もできるようになっている。どの方法が良いかの議論は様々であるが、デフォルトの表示は、最も古典的なPetoのオッズ比で、文献を固定効果とする場合である。

これらの方法については、丹後俊郎 (2002) が詳しい。

丹後俊郎 (2002). メタ・アナリシス入門. 朝倉書店.

2.7. 丹後のメタ・アナリシスの紹介

丹後著のメタ・アナリシスの例題で各種の共通オッズ比の計算法を追試し、SASでの計算例として用いる。この項は、まだつぎはぎだらけであり、さらに手直しをする予定である。事例としては、インフルエンザの予防効果にしたいと考えている。

表 3.2 心筋梗塞後 2 次予防への β ブロッカーの長期投与の治療効果 (死亡率リスク減少) に関する 17 の RCT のメタ・アナリシスのデータ. 表 1.3 の 15 の試験に最後の二つの試験を追加したもの.

表 2.7 丹後本のデータ

Source Trial	Beta blockade		Control	
	Event	Total	Event	Total
5.1 Reynolds (1y)	3	38	3	39
5.2 Wilhelmsson (2y)	7	114	14	116
5.3 Ahlmark (2y)	5	69	11	93
5.4 Multicentre Int.	102	1533	127	1520
5.5 Baber (3-9 mo)	28	355	27	365
5.6 Rehnqvist	4	59	6	52
5.7 Norwegian	98	945	152	939
5.8 Taylor (mean 4 y)	60	632	48	471
5.9 Hansteen (1 y)	25	278	37	282
5.10 BHAT (median 2 y)	138	1916	188	1921
5.11 Julian (1 y)	64	873	52	583
5.12 Australian/Swedis	45	263	47	266
5.13 Manger Cats (1 y)	9	291	16	293
5.14 EIS (1y)	57	858	45	883
5.15 Rehnqvist (3 y)	25	154	31	147
5.16 LIT	65	1195	62	1200
5.17 Boissel	17	298	34	309

2.8. Peto の方法

本の中の記述

[例題]: 心筋梗塞後の2次予防βブロッカーの長期投与第1章の図1.1の17のRCTのメタ・アナリシスを再現してみよう。データは表3.2に掲載してある。計算の概略は次のようになる。まず各試験毎の結局, $OR_p=0.782$, $95\%CI:0.706\sim0.866$, $Q_1=21.38(df=16, p=0.164)$. $Q_2=22.27(df=1, p<0.0001)$ となる。図3.1にはS-Plusを利用して解析した結果を示す。付録B.3のプログラム「peto.s」を利用したもので、変数outで推定値, 95%信頼区間, Outq11で Q_1 に関する χ^2 値, 自由度, p値outq2で Q_2 に関する χ^2 値, 自由度, p値が出力されている。

表 2.8 Peto のオッズ比、Excel 計算シート

試験	Beta blockade			Control			N_k	単独 odds	Peto odds			
	x_k	-	n_k	y_k	-	m_k			x_k	E(x_k)	O-E	V(x_k)
1	3	35	38	3	36	39	77	1.03	3	2.961	0.039	1.401
2	7	107	114	14	102	116	230	0.48	7	10.409	-3.409	4.791
3	5	64	69	11	82	93	162	0.58	5	6.815	-1.815	3.548
4	102	1431	1533	127	1393	1520	3053	0.78	102	114.988	-12.988	52.972
5	28	327	355	27	338	365	720	1.07	28	27.118	0.882	12.715
6	4	55	59	6	46	52	111	0.56	4	5.315	-1.315	2.286
7	98	847	945	152	787	939	1884	0.60	98	125.398	-27.398	54.235
8	60	572	632	48	423	471	1103	0.92	60	61.882	-1.882	23.859
9	25	253	278	37	245	282	560	0.65	25	30.779	-5.779	13.808
10	138	1778	1916	188	1733	1921	3837	0.72	138	162.788	-24.788	74.595
11	64	809	873	52	531	583	1456	0.81	64	69.552	-5.552	25.648
12	45	218	263	47	219	266	529	0.96	45	45.739	-0.739	19.035
13	9	282	291	16	277	293	584	0.55	9	12.457	-3.457	5.993
14	57	801	858	45	838	883	1741	1.33	57	50.268	6.732	24.015
15	25	129	154	31	116	147	301	0.73	25	28.651	-3.651	11.427
16	65	1130	1195	62	1138	1200	2395	1.06	65	63.367	1.633	30.079
17	17	281	298	34	275	309	607	0.49	17	25.038	-8.038	11.694
計							19350	13.31	752	843.525	-91.525	372.101
								単純平均=	1.21	ln(Peto_odds)=	-0.2460	
										Peto_odds=	0.7819	
										L95%=	0.7064	
										U95%=	0.8656	

シートは配布資料の中の「丹後_odds_MH_W_Peto.xls」に含まれている。

丹後のSプログラム、Sでは未実施

```
# peto.s: Petp's method
#
dat<-scan("d:/splus/beta2.prn", list(a=0, n1=0>c=0, n0=0, d=0))
```

```

ai <-dat$a
bi<-dat$n1-dat$a
ci <-dat$c
di<-dat$n0-dat$c
tn<-dat$n1+dat$n0
n1<-dat$n1
n0<-dat$n0
m1<-ai+ci
m0<-bi+di
o<-ai
e<-n1*m1/tn
v<-n1*n0*m1*m0/tn/tn/(tn-1)
lgor<-(o-e)/v
se<-1/sqrt(v)
w<-1/se/se
low<-exp(lgor-1.96*se)
upp<-exp(lgor+1.96*se)
# ----- individual graph -----
k<-length(ai)
id<-k:1
plot(exp(lgor), id, ylim=c(-2, 20), pch=15,
     log="x", xlim=c(0.1, 10), yaxt="n", pch=" ",
     ylab="Citation", xlab="Odds ratio")
title(main=" Peto's method ")
symbols(log10(exp(lgor)), id, squares==sqrt(tn) ,
        add=T, inches=0.25, log="x", ylim=c(0, 20),
        xlim=c(log10(0.1), log10(10)) )
for (i in 1:k) {
  j<-k-i+1
  x<-c(low[i], upp[i])
  y<-c(jj)
  lines(x, y, type="l" )
  text(0.1, i, j)
}
# ----- fixed effects -----
sw<-sum(w)
peto <- exp( sum( lgor*w )/sw )
petol<- exp( log(peto)-1.96*sqrt(1/sw) )
petou<- exp( log(peto)+1.96*sqrt(1/sw) )
q1<-sum( w*(lgor-log(peto))^2 )
df1 <-k-1
pval1<- 1-pchisq(q1, df1)
q2<-(abs( sum(o-e) ) -0.5)^2/sum(v)
df2<-1
pval2<- 1-pchisq(q2, df2)
# ----- graph -----
x<-c(petol, petou)
y<-c(-1, -1)
lines(x, y, type="b" , lty=1)
abline(v=c(peto), lty=2)
abline(v=1)
text(0.3, -1, "Combined")
# ----- output variables -----
out <- round( c(peto, petol, petou), 4)

```

```
outqK← round( c(q1, df1, pval1), 6)
outq2← round( c(q2, df2, pval2), 6)
```

2.9. 漸近分散法—オッズ比

本の中の記述

母数モデルのオッズ比の推定については、ほとんどの場合、Peto 法や、後で紹介する Mantel-Haenszel 法が利用されているが、 β ブロッカーのメタ・アナリシスのように各研究の症例数が大きい場合にはオッズ比の対数村数が漸近的に正規近似できることから漸近的な意味での最尤推定量を計算することができる。この方法を漸近分散法 (variance-based method) という。その計算法はアルゴリズム 3.2 に示す通りである。表 3. 2 の β ブロッカーのデータに適用してみると、

$$\text{OR}^v = 0.7831$$

$$95\% \text{CI} : 0.7067 \sim 0.8677$$

$$Q_1 = 21.48 \quad (\text{df}=16, p=0.1608)$$

$$Q_2 = 21.81 \quad (\text{df}=1, p<0.0001)$$

となり、漸近分散法の結果は Peto の方法の結果とほとんど同じであった。なお、S-Plus を利用して解析した結果を図 3.2 に示す。

表 2.9 漸近分散法の Excel 計算シート

試験	Beta blockade			Control			N _k	単独 重み付きodds			
	x _k	—	n _k	y _k	—	m _k		odds	w _k	ln φ _k [^] /w _k	1/w _k
1	3	35	38	3	36	39	77	1.03	0.72	0.04	1.3831
2	7	107	114	14	102	116	230	0.48	0.23	-3.17	4.2838
3	5	64	69	11	82	93	162	0.58	0.32	-1.70	3.1375
4	102	1431	1533	127	1393	1520	3053	0.78	0.02	-12.89	52.3708
5	28	327	355	27	338	365	720	1.07	0.08	0.88	12.6955
6	4	55	59	6	46	52	111	0.56	0.46	-1.28	2.1902
7	98	847	945	152	787	939	1884	0.60	0.02	-26.64	51.9904
8	60	572	632	48	423	471	1103	0.92	0.04	-1.89	24.0313
9	25	253	278	37	245	282	560	0.65	0.08	-5.65	13.3225
10	138	1778	1916	188	1733	1921	3837	0.72	0.01	-24.43	72.9661
11	64	809	873	52	531	583	1456	0.81	0.04	-5.62	26.3330
12	45	218	263	47	219	266	529	0.96	0.05	-0.74	18.9926
13	9	282	291	16	277	293	584	0.55	0.18	-3.28	5.5320
14	57	801	858	45	838	883	1741	1.33	0.04	6.67	23.6923
15	25	129	154	31	116	147	301	0.73	0.09	-3.63	11.2828
16	65	1130	1195	62	1138	1200	2395	1.06	0.03	1.63	30.0505
17	17	281	298	34	275	309	607	0.49	0.10	-7.49	10.4788
計							19350	13.31	2.51	-89.18	364.7331
単純平均=								1.21		ln(W _{odds})=	-0.2445
										W _{odds} =	0.7831
										L95%=	0.7067
										U95%=	0.8677

シートは配布資料中の「丹後_odds_MH_W_Peto.xls」に含まれている。

2.10. Mantel-Haenszel のオッズ比

Mantel-Haenszel の方法はもともと疫学データの交絡因子の調整のための方法として導入されたものであるが、その小標本に対する性質の良さから臨床試験のメタ・アナリシスにおいても Peto の方法に代わって利用されることが多い。しかし、単純な 2×2 分割表による比較であるので交絡因子の調整はできないことに注意したい。

SAS プログラムは、配布資料の「丹後_メタ.sas」に含まれている。

```
proc freq data=d01 order=data ;
  weight n ;
  table Trial*G*Y / CMH nopercnt nocol norow;
run;
```

表 2.10 SAS/FREQ による追試

研究の種類	調整方法	値	95% 信頼区間	
ケースコントロール研究 (オッズ比)	Mantel-Haenszel	0.7816	0.7058	0.8655
	ロジット	0.7831	0.7067	0.8677

注) ロジットは、(Woolf 1955) の adjusted logit estimate である。

2.11. DerSimonian-Laird の方法—オッズ比

変量モデルの代表的な方法である。基本的には漸近分散法に基づいているが、研究間の無視できない heterogeneity の推定にモーメント法を利用した方法である。計算式は、アルゴリズム 3.4 に示す通りである。

表 3.2 の β ブロッカーの臨床試験データへの適用結果は次の通りである。S-Plus のプログラムは先程のプログラム「varor.s」の中に含まれている。図 3.2 をもう一度見ると、OutR で推定値、95%信頼区間、Outq2R で Q_2 に関する χ^2 値、自由度、p 値が出力されている。また、 τ^2 の推定値は tau2 で出力されている。

```

tau^2 =          0.01686
OR_DL  =  0.7908
95%CI  :  0/6949~0.8998
Q2 =  12.68 (df=1, p<0.0004)
    
```

DerSimonian-Laird の方法の結果は母数モデルの結果に比べると無視できない研究間のバラツキの大きさによって信頼区間の幅が少々広がっているのが観察できるだろう。

注意 均質性の仮定が正しければ Q_1 の期待値がちょうど $K-1$ となり、 $\tau^2=0$ となり、母数モデルと一致する。また、この方法はモーメント法であるため、バラツキの変動が大きいときには変量モデルでの制限付き最尤推定法を適用した方がよい(第 5 章参照)。

SAS によるプログラム例は、浜田研究室から入手できる。

[変量効果モデルによるメタ・アナリシス DerSimonian-Laird法のSASマクロの作成\(3KB\)](#)

(中西 : SASプログラム)

<http://www.rs.kagu.tus.ac.jp/hamada/gakkai.html>

変量効果モデルを SAS で行なうためには、NLMIXED プロシジャを使う必要がある。

今回は割愛する。

表 2.11 文献を変量とする DerSimonian-Laird 法、Excel の計算シート

試験	Beta blockade			Control			N _k	単独					重み付きodds					DerSimonian-Laird				
	x _k	y _k	n _k	y _k	m _k	N _k		odds	w _k	w _k lnφ _k [^]	w _k	Q1 _k	w _k ²	w _k *	w* _k lnφ _k [^]	odds	w _k	w _k ²	w _k *	w* _k lnφ _k [^]		
1	3	35	38	3	36	39	77	1.03	1.38	0.04	1.3831	0.1028	1.91	1.3516	0.0381							
2	7	107	114	14	102	116	230	0.48	4.28	-3.17	4.2838	1.0560	18.35	3.9952	-2.9605							
3	5	64	69	11	82	93	162	0.58	3.14	-1.70	3.1375	0.2751	9.84	2.9798	-1.6109							
4	102	1431	1533	127	1393	1520	3053	0.78	52.37	-12.89	52.3708	0.0001	2742.70	27.8105	-6.8449							
5	28	327	355	27	338	365	720	1.07	12.70	0.88	12.6955	1.2515	161.18	10.4569	0.7263							
6	4	55	59	6	46	52	111	0.56	2.19	-1.28	2.1902	0.2527	4.80	2.1122	-1.2338							
7	98	847	945	152	787	939	1884	0.60	51.99	-26.64	51.9904	3.7306	2703.00	27.7029	-14.1946							
8	60	572	632	48	423	471	1103	0.92	24.03	-1.89	24.0313	0.6613	577.51	17.1012	-1.3446							
9	25	253	278	37	245	282	560	0.65	13.32	-5.65	13.3225	0.4300	177.49	10.8785	-4.6144							
10	138	1778	1916	188	1733	1921	3837	0.72	72.97	-24.43	72.9661	0.5951	5324.06	32.7140	-10.9534							
11	64	809	873	52	531	583	1456	0.81	26.33	-5.62	26.3330	0.0255	693.43	18.2355	-3.8914							
12	45	218	263	47	219	266	529	0.96	18.99	-0.74	18.9926	0.8029	360.72	14.3853	-0.5597							
13	9	282	291	16	277	293	584	0.55	5.53	-3.28	5.5320	0.6728	30.60	5.0600	-3.0018							
14	57	801	858	45	838	883	1741	1.33	23.69	6.67	23.6923	6.5566	561.32	16.9288	4.7662							
15	25	129	154	31	116	147	301	0.73	11.28	-3.63	11.2828	0.0666	127.30	9.4792	-3.0460							
16	65	1130	1195	62	1138	1200	2395	1.06	30.05	1.63	30.0505	2.6833	903.03	19.9440	1.0831							
17	17	281	298	34	275	309	607	0.49	10.48	-7.49	10.4788	2.3169	109.81	8.9052	-6.3649							
計							19350	13.31	364.73	-89.18	364.7331	21.4798	14507.04	230.04	-54.0072							
単純平均=							0.78		ln(W _{odds})=	-0.2445				ln(W _{odds})=	-0.2348							
									W _{odds} =	0.7831		τ = 0.016863		W _{odds} =	0.7908							
									L95%=	0.7067				L95%=	0.6949							
									U95%=	0.8677				U95%=	0.8998							

シートは配布資料の中の「丹後_odds_MH_W_Peto.xls」に含まれている。

2.12. ロジスティック回帰によるオッズ比の併合

SAS プログラムは、配布資料の「丹後_メタ.sas」に含まれている。

PROC GENMOD 母数モデル

```
proc genmod data=d01 ;
  class Trial G ;
  model Y = G Trial / dist=binomial link=logit type3 lrci /*wald*/ ;
  lsmeans G / diff cl ;
  estimate 'Cont vs beta' G -1 1 / exp ;
  freq n ;
run ;
```

Label	Contrast Estimate Results		Alpha	Confidence Limits	
	Estimate	Standard Error			
Cont vs beta	-0.2466	0.0520	0.05	-0.3486	-0.1446
Exp(Cont vs beta)	0.7814	0.0407	0.05	0.7057	0.8654

PORC LOGISTIC 母数モデル

```
proc logistic data=d01 ;
  class G      (param=reference ref=first)
        Trial  (param=reference ref=last ) ;
  model Y = G Trial / link=logit clparm=pl clodds=pl ;
  freq  n ;
run ;
```

Profile Likelihood Confidence Interval for Adjusted Odds Ratios

Effect	Unit	Estimate	95% Confidence Limits
G 1 vs 0	1.0000	0.781	0.706 0.865

JMPによるロジスティック回帰

JMP のプログラムは、JMP データセット「丹後_odds_ロジスティック.JMP」に張り付いている。

表 2.12 JMP によるオッズ比とプロファイル尤度による信頼区間

Parameter Estimates					
Term	Estimate	Std Error	Odds Ratio	Odds Lower	Odds Upper
Intercept	-2.2044	0.0514	.	.	.
試験[1]	-0.1512	0.4022	0.7390	0.1235	3.0557
試験[2]	0.0226	0.2199	1.0462	0.4186	2.3683
試験[3]	0.0925	0.2517	1.2032	0.4174	3.0433
試験[4]	-0.1904	0.0790	0.6833	0.5012	0.9314
試験[5]	-0.1729	0.1395	0.7076	0.4020	1.2030
試験[6]	0.0167	0.3149	1.0340	0.2667	3.2331
試験[7]	0.4452	0.0784	2.4359	1.7911	3.3129
試験[8]	0.1190	0.1056	1.2688	0.8324	1.9073
試験[9]	0.2374	0.1346	1.6078	0.9343	2.6879
試験[10]	-0.0555	0.0710	0.8949	0.6775	1.1820
試験[11]	-0.1008	0.1019	0.8174	0.5446	1.2114
試験[12]	0.7639	0.1171	4.6078	2.8871	7.2388
試験[13]	-0.7869	0.1974	0.2072	0.0912	0.4316
試験[14]	-0.4577	0.1062	0.4004	0.2618	0.6026
試験[15]	0.8499	0.1466	5.4725	3.0333	9.5914
試験[16]	-0.5618	0.0971	0.3251	0.2222	0.4731
d	-0.2466	0.0520	0.7814	0.7057	0.8654

For log odds of 0/1

試験番号 17 が表示されていないのは、JMP が自動生成するダミー変数は、対比型であり試験 17 に対応するダミー変数がないため出力されていない。

3. 各種の効力比、

3.1. 遺伝毒性試験データ

医薬品の遺伝毒性試験は、1999年11月1日に「遺伝毒性試験に関するガイドライン」がだされた。これは、1998年7月9日付けでステップ5となったICH-S2B「遺伝毒性試験：医薬品の遺伝毒性試験の標準的組合せ」、および、1997年10月31日付「新規化学物質に係る試験の方法について」（化審法ガイドライン）を基本的に取り込んだものである。このガイドラインでは、

1. 細菌を用いる復帰突然変異試験
2. ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験
3. マウスリンフォーマ TK 試験
4. げっ歯類を用いる小核試験

の4種類が、試験法として示されている。この中の細菌を用いる復帰突然変異試験データについて取り上げる。

細菌を用いた *in vitro* の毒性試験は、医薬品のみならず、医療材料、化粧品、様々な化学物質についての *in vivo* 毒性試験の代替の試験法として注目を集めている。ウサギを用いた眼刺激試験（ドレイズテスト）、モルモットあるいはマウスを用いた光刺激試験などの *in vivo* 毒性試験の *in vitro* の代替法が開発されてきた。残念ながら、これらの実験データの統計的な扱いは混沌としている。

ガイドラインでも、「細菌を用いる復帰突然変異試験」の中でも、統計的な方法として、2倍法がガイドライン中に見られるが、これは、「化学物質の用量の増加とともに復帰変異コロニー数が溶媒対照値の2倍に増加を示しかつ、再現性が得られる場合に陽性と判定する」というような趣旨で、生物学的な判断基準である。

細菌を用いる復帰突然変異試験は、ガイドラインの要約すると次のようである。

- 1) 細菌を用いて、被験物質の遺伝子突然変異誘発性の有無を検索する。
- 2) 使用する菌はネズミチフス菌または、大腸菌である。
- 3) 適切な用量間隔（原則として公比 $\sqrt{10}$ 以下）で5段階以上の解析できる用量を用いる。
- 4) 陰性対照として溶媒処理群を、陽性対照として適切な既知の変異原物質による処理群を設ける。
- 5) 原則としてそれぞれ2枚以上のプレートを用いる。

- 6) 全てのプレート为原则として 37℃で 48~72 時間培養した後に、プレート毎に復帰変異コロニー数を計測し、記録する。同時に生育阻害を観察し、それが認められた場合には、その用量を記録する。また、被験物質の析出が認められた場合にも記録する。
- 7) 復帰変異コロニー数が陰性対照に比較して明らかに増加し、かつ、その増加に用量依存性あるいは再現性が認められた場合に陽性と判定する（注 6）。明確に陽性あるいは陰性と結論づけられない場合には、適切な実験条件で確認試験を実施する。
- 8) 各プレートの復帰変異コロニー数を示すと共に、各用量毎にその平均値を表示する。また、処理終了時（または変異コロニー計測時）の被験物質の析出並びに生育阻害も表示する。

復帰変異コロニー数を用量で割った比活性も用いられている。溶媒処理群に変異コロニーが観察される場合は、この平均値を各用量の変異コロニー数から差し引いて単位用量あたりのコロニー数が計算されている。これは比活性と呼ばれている。

ある化学物質に復帰突然変異が陽性であるのかの判定は、2 倍法、あるいは一般的な用量反応関係を検討するために、多くの統計手法が開発されてきた。さて、復帰突然変異が陽性である 2 つの化学物質の相対的な比較を行ないたい。どのような方法があるのだろうか。表 3.1 に復帰突然変異が陽性の物質 S と陽性であることは予備実験でわかったので、復帰突然変異の程度を物質 S と比較したい。

変異コロニー数の用量反応関係を 図 3.1 に示す。S 薬の用量反応関係は自由度 5 の lack of fit の P 値が 0.291 であり、きれいに直線に乗っているが、T 薬は $P=0.0093$ とややシグモイド曲線状であり、2 次式のあてはめでも自由度 4 の lack of fit の P 値が 0.0398 とあてはまりが今ひとつよくない。これは、各用量での検体間の変動が小さいために直線のあてはめが悪いとの結果になったとも思われる。投与量が 0 の点は、陰性対照であるが、2 つの直線の切片における 95% 信頼区間は互いにかぶっており、S 群と T 群の陰性対照を区別する必要がないことが示されている。これらのことから、S 群と T 群は、共通の切片をもつ傾きが異なる直線があてはめられるとして先にすすめる。この場合に、1 単位用量あたりの変異コロニー数の増加量としての“比活性”にすることは、S 群と T 群の比較をするための変数変換の方法としては適している。

次の課題は両群の 1 単位用量あたりの増加量の比較であるが、平均値の差とするのか、

比とするのかの選択である。S 薬と T 薬の比較を幾つかの実験で行なう場合に、それらの実験結果をサマリーしたいときに、平均値の比にして無単位することにより、各実験での結果を比較しやすくなる。

表 3.1 変異コロニー数と比活性

溶液濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	変異コロニー数		比活性	
	Test drug	Standard	Test drug	Standard
0	23	27	.	.
	26	33	平均 = 26.6667	
	26	25	.	.
50	68	68	0.827	0.827
	82	89	1.107	1.247
	72	81	0.907	1.087
75	99	131	0.964	1.391
	85	130	0.778	1.378
	115	117	1.178	1.204
100	137	144	1.103	1.173
	131	157	1.043	1.303
	134	159	1.073	1.323
125	189	199	1.299	1.379
	177	208	1.203	1.451
	168	198	1.131	1.371
150	197	260	1.136	1.556
	195	229	1.122	1.349
	220	228	1.289	1.342
300	335	427	1.028	1.334
	332	407	1.018	1.268
	348	456	1.071	1.431

表 3.2 各群の基本統計量

Means and Std Deviations						
Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
S	18	1.30074	0.160009	0.03771	1.2212	1.3803
T	18	1.07085	0.139373	0.03285	1.0015	1.1402

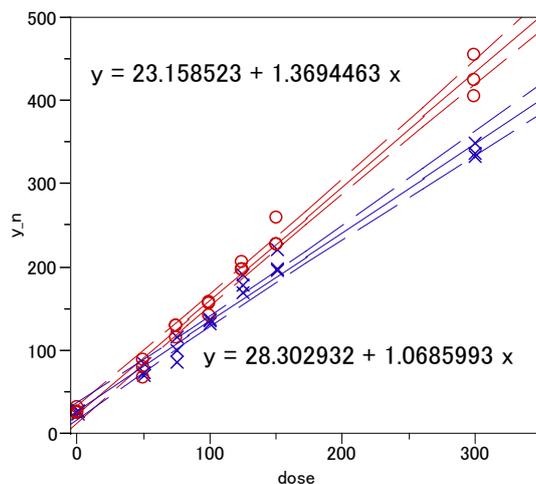


図 3.1 変異コロニー数の用量反応関係

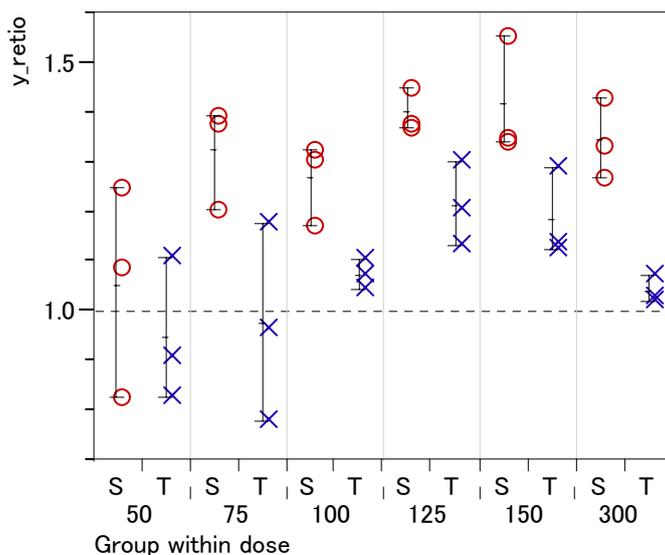


図 3.2 S薬とT薬の比活性比の比較

3.2. 平均値の比の信頼区間

平均値の比の信頼区間を出すためには、比の分散が必要である。平均値の差の分散は、多くの統計の教科書で取り上げられているが、比の分散については稀である。医薬系の統計学の教科書では、Armitage・Berry 著、椿美智子・椿広計訳（2001）、医学研究のための統計的方法、の 83 ページに 2 つの平均値の比、積、および、一般の関数の場合が示されている。この方法は、テイラー級数展開の近似から誘導されるデルタ法として

知られている。第9回の高橋セミナーでも2つの推定されたパラメータの比の分散を求める方法として取り上げている。ここでは、Armitageの本の記載を示す。

y が変数 x_1 と x_2 の2変数関数の場合、

$$\text{var}(y) \approx \left(\frac{\partial y}{\partial x_1}\right)^2 \text{var}(x_1) + 2\left(\frac{\partial y}{\partial x_1}\right)\left(\frac{\partial y}{\partial x_2}\right) \text{cov}(x_1, x_2) + \left(\frac{\partial y}{\partial x_2}\right)^2 \text{var}(x_2) \quad (1)$$

となる。ここで、 $\partial y/\partial x_1$ と $\partial y/\partial x_2$ は y と x_1 と x_2 に関する偏微分であり、これらもまた期待値において評価される。微積分について若干の知識のある読者は、 $\text{cov}(x_1, x_2) = 0$ のとき、平均値の和の分散が、この一般式の特別な場合として導き出すことができよう。

$\rho = \bar{x}_1/\bar{x}_2$ の場合で、 \bar{x}_1 と \bar{x}_2 が独立、言い換えると $\text{cov}(\bar{x}_1, \bar{x}_2) = 0$ の場合であり式(1)の偏微分は $\partial y/\partial \bar{x}_1 = 1/\bar{x}_2$ 、 $\partial y/\partial \bar{x}_2 = \bar{x}_1/\bar{x}_2^2$ であるので、

$$\text{var}(\hat{\rho}) = \left(\frac{1}{\bar{x}_2}\right)^2 \cdot \text{var}(\bar{x}_1) + \left(\frac{\bar{x}_1}{\bar{x}_2^2}\right)^2 \cdot \text{var}(\bar{x}_2) \quad (2)$$

になる。データを対数変換した場合には、対数変換後データの平均値の差が、生データの平均値の比に対応するので、差の逆対数を求めることにより比が推定できる。データが対数正規分布になるような場合は、この方法により、比の推定および比の95%信頼区間を求めることができる。

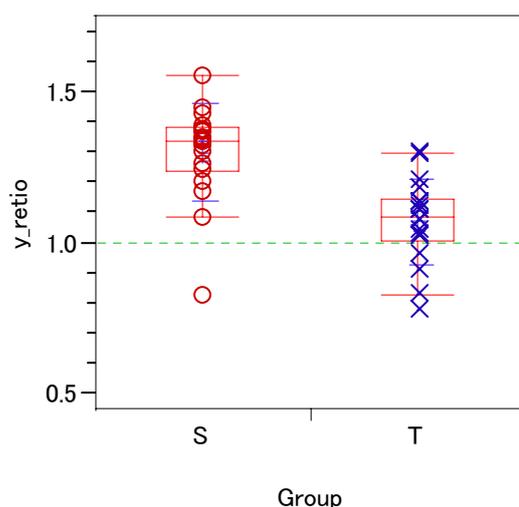


図 3.3 S薬とT薬の比活性のボックスプロット

このボックスプロットから、比活性は対数正規分布に従うとの仮説は立てがたい。そこで、T薬のS薬に対する平均値の比は、

$$\hat{\rho} = \frac{\bar{x}_T}{\bar{x}_S} = \frac{1.0708}{1.3007} = 0.823$$

となる。分散は、

$$\begin{aligned} \text{var}(\hat{\rho}) &= \left(\frac{1}{\bar{x}_S}\right)^2 \cdot \text{var}(\bar{x}_T) + \left(\frac{\bar{x}_T}{\bar{x}_S^2}\right)^2 \cdot \text{var}(\bar{x}_S) \\ &= \left(\frac{1}{1.3007}\right)^2 \cdot 0.03771 + \left(\frac{1.0708}{1.3007^2}\right)^2 \cdot 0.03285^2 = 0.001273 \end{aligned}$$

と求められるので、比の分散の自由度は $17 + 17 = 34$ となるので、比の 95%信頼区間は、次式のごとく求められる。

$$\hat{\rho} \pm t(34, 0.05) \cdot \text{var}(\hat{\rho})^{1/2} = 0.8233 \pm 2.0322 \times 0.001273^{1/2} = (0.751, 0.896)$$

95%信頼区間が 1.0 を超えないので統計的に有意な差があるといえる。

3.3. 効力比の直接推定

1元配置の問題として効力比を求める

2 群の活性比の平均を直接推定する回帰式は、 z_1 および z_2 をインディケータ型ダミー変数とすると次式で与えられる。

$$y_i = \beta_{0,1}z_1 + \beta_{0,2}z_2 + \varepsilon_i \quad (3)$$

回帰係数 $\beta_{0,1}$ の推定値が T 薬の活性比の平均値、 $\beta_{0,2}$ の推定値が S 薬の活性比の平均値となる。式 (3) を変形して効力比 $\rho = \beta_2 = \beta_{0,1} / \beta_{0,2}$ が得られるように式を次のように変形する。

$$y_i = \beta_{0,2} \left(\frac{\beta_{0,1}}{\beta_{0,2}} z_1 + z_2 \right) + \varepsilon_i$$

この式の $\beta_{0,1} / \beta_{0,2}$ を β_2 に置き換えて、

$$y_i = \beta_{0,2}(\beta_2 z_1 + z_2) + \varepsilon_i \quad (4)$$

を得る。式 (4) は線形回帰式ではないので、非線形回帰モデルにより解く。表 3.3 に

表 3.3 JMP の非線形回帰による効力比の直接推定

Solution				
	SSE	DFE	MSE	RMSE
	0.7654745606	34	0.022514	0.1500465
Parameter	Estimate	ApproxStdErr	Lower CL	Upper CL
b0_2	1.3007404	0.0353663	1.22926243	1.37221837
b2	0.8232630517	0.03521796	0.75442712	0.89708605

比の推定値は $\hat{\beta}_2 = 0.823$ として直接推定され、その 95%信頼区間は、プロフィール尤度により、(0.754, 0.897) と直接計算されている。

2元配置の問題として効力比を求める

用量ごとに比活性の T 薬の S 薬に対する効力比を求めることは、用量反応関係が直線的でないが、高用量で変異コロニーの数が飽和するような場合に原点を通る冪モデル $y = \beta_0 x^{\beta_1}$ となる場合に応用できる。比活性の差であれば一般的な 2 元配置分散分析の問題となるが、効力比の場合には、用量についてダミー変数を別途作成する必要があるが、非線形の問題として解くことができる。

3.4. 勾配比の推定

勾配比の意味。

勾配は、1 単位用量の増加に伴う反応の増加である。従って、2 つの勾配の比は、反応の比である。勾配の差は、1 単位用量の反応の差となる。陰性対照は T 薬および S 薬で共通なので、

勾配比を求める線形回帰式は、切片が共通な、異なる傾きを持つ次の回帰式をあてはめることにより得られる。

$$y = \beta_0 + \beta_{1,1} x z_1 + \beta_{1,2} x z_2 \quad (5)$$

表 3.4 共通の切片を持つ線形回帰分析

Parameter Estimates				
Term	Estimate	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
Intercept	25.730727	3.463613	18.724909	32.736546
z1*dose	1.0826695	0.028097	1.0258383	1.1395008
z2*dose	1.3553761	0.028097	1.2985448	1.4122073

$$\text{勾配比 (T) / (S) : ratio} = 1.0827 / 1.3554 = 0.823$$

さて 95%ci は、どのようにしたら求めることができるのであろうか？ 平均値の比の場合と同様に式 (5) を変形して、

$$y = \beta_0 + \beta_{1,2} \left(\frac{\beta_{1,1}}{\beta_{1,2}} z_1 x + z_2 x \right) \quad (6)$$

非線形回帰で、効力比を直接推定するために線形回帰式を次のように変形する。この式の $\beta_{1,1}/\beta_{1,2}$ を β_2 と置き換え非線形回帰を行ない、表 3.5 を得る。

表 3.5 JMP の非線形回帰による勾配比の推定

Solution				
	SSE	DFE	MSE	RMSE
	7365.9211467	39	188.86977	13.74299
Parameter	Estimate	ApproxStdErr	Lower CL	Upper CL
b0	25.73072747	3.46361289	18.7249091	32.7365458
b1_2	1.3553760777	0.02809685	1.29854483	1.41220733
b2	0.7987963952	0.0197929	0.75932682	0.83947617

この結果から、勾配比は 0.799、95%信頼区間は、(0.759, 0.839) が得られる。比活性の平均値のから求めた効力比に比べ SE が 0.0352 から 0.0198 と小さくなっている。これは、比活性を計算するときに、陰性対照の平均で割っているために誤差が相対的に大きく推定されるためである。

3.5. 勾配比の推定、重み付き非線形最小 2 乗法の適用

用量の増加と共に変異コロニー数のSDが大きくなる場合に、重み付き最小 2 乗法の適用しなければならない。CVが一定の場合は、観測値 y_i の逆数 $w_i = 1/y_i$ を重みにするとよい。用量ごとの変異コロニー数のデータは各々3例しかないがCVを計算した結果を表 3.6 に示すがデータ数が各群 $n = 3$ と小さいので確かなことは言えないが、S薬についてみればSDがやや用量の増加に伴い大きくなっているが、CVが一定とはいえない。

表 3.6 用量の増加に伴う CV の変化

dose	T 薬			S 薬		
	mean	SD	CV	mean	SD	CV
0	25.0	1.7	6.9	28.3	4.2	14.7
50	74.0	7.2	9.7	79.3	10.6	13.4
75	99.7	15.0	15.1	126.0	7.8	6.2
100	134.0	3.0	2.2	153.3	8.1	5.3
125	178.0	10.5	5.9	201.7	5.5	2.7
150	204.0	13.9	6.8	239.0	18.2	7.6
300	338.3	8.5	2.5	430.0	24.6	5.7

各群 $n = 3$

したがって、重みを考慮した解析は必要としないが、重み付き非線形回帰の練習問題

として結果を表 3.7 に示す。

表 3.7 重み付き非線形回帰

Solution				
	SSE	DFE	MSE	RMSE
	46.338791699	39	1.1881741	1.090034
Parameter	Estimate	ApproxStdErr	Lower CL	Upper CL
b0	24.327837651	2.00098085	20.2804719	28.3752034
b1_2	1.3491164349	0.03116247	1.28608439	1.41214848
b2	0.8110285231	0.02493155	0.76182665	0.86282786

$ratio = 0.811, 95\%cl = (0.762, 0.863)$ 、重み = $1/y$

この例では、効力比の SE が少し大きくなっていて、この面からも重みを考慮することは指示されない。

3.6. 反応 y が対数変換されている場合

反応 y が対数変換されている場合で、S薬の反応とT薬の反応に切片は同じであるが傾きが異なる直線があてはまり、かつ用量が等比で設定されている場合は、反応 y および用量 x について対数をとることにより図 3.4 に示すように平行な直線関係となる。

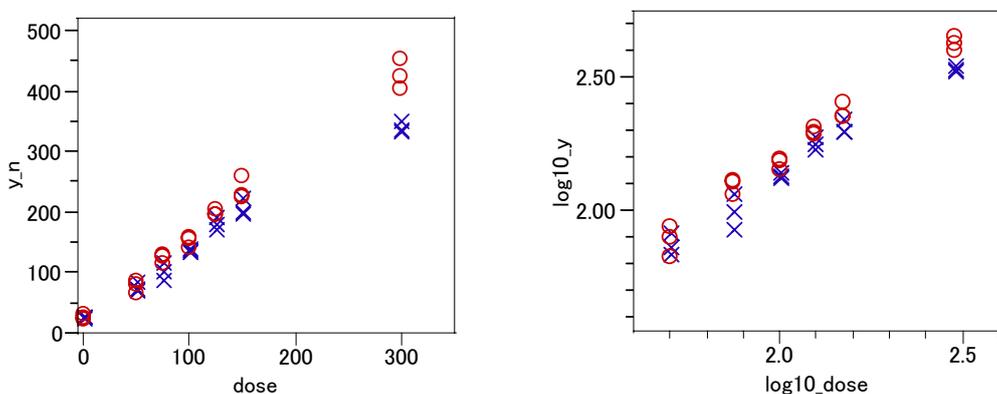


図 3.4 対数変換

反応を対数として S 薬と T 薬の用量反応に平行な直線があてはめられる場合には、その直線の差の逆対数が効力比となる。それぞれの薬剤の回帰式は、切片が異なるが傾きは β_1 と共通である回帰式を求め、切片の差を求める問題である。

$$T \text{ 薬} : y^{(T)} = \beta_{0,1} + \beta_1 x$$

$$S \text{ 薬} : y^{(S)} = \beta_{0,2} + \beta_1 x$$

この2つの回帰式を同時に推定するためにダミー変数を用いた

$$y_i = \beta_{0,2} + \beta_{0,(1-2)} z_1 + \beta_1 x_i + \varepsilon_i$$

を考える。ここで、 $\beta_{0,(1-2)} = \beta_{0,1} - \beta_{0,2}$ である。

表 3.8 反応が対数の場合での切片の差の推定

Parameter Estimates				
Term	Estimate	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
Intercept	0.3812	0.0518	0.2758	0.4866
z1	-0.0698	0.0121	-0.0945	-0.0451
log10_dose	0.9096	0.0249	0.8589	0.9602

回帰直線

$$S \text{ 薬の切片} : \hat{\beta}_{0,2} = 0.3812$$

$$\text{切片の差} : \hat{\beta}_{0,(1-2)} = -0.0698$$

$$T \text{ 薬の切片} : \hat{\beta}_{0,1} = \hat{\beta}_{0,2} + \hat{\beta}_{0,(1-2)}$$

$$T \text{ 薬} : y = (0.3812 - 0.0698) + 0.9096x$$

$$S \text{ 薬} : y = 0.3812 + 0.9096x$$

ある用量における反応の差(対数)は一定であり、このことから、効力比: $10^{-0.0698} = 0.852$ 、95%信頼区間は (0.805, 0.9014) と推定される。

3.7. 投与量が対数変換されている場合

投与量が等比で設定されていて、S薬とT薬の用量反応が平行な直線である場合に、反応yが対数変換されていない場合には、平行線のY軸方向の距離は、反応の差であり、これからは効力比を求めることができない。しかし、用量についてのX軸が対数となっていれば、こちらの平行線の距離の逆対数は、同じ反応が得られるT薬のS薬に対する効力比となる。この考え方は、平行線検定法として生物検定法の代表的な解析方法として知られている。

効力比の推定は、あるコロニー数、例えば200個としたときに、200個となる両群の投与量を逆推定し、その用量の差と信頼区間を求める問題となる。この問題は、前節の

線形回帰ではなく、非線形回帰が必要となる。

非線形回帰式は、次の線形回帰式

$$y - \log_{10}(200) = \beta_{0,2} + \beta_{0,(1-2)}z_1 + \beta_1 \log_{10}(x)$$

を考え、 β_1 を共通項として取り出すことにより、次式を得る。

$$y = \beta_1 \left(\frac{\beta_{0,2}}{\beta_1} + \frac{\beta_{0,(1-2)}}{\beta_1} z_1 + x \right) + \log_{10}(200)$$

S 薬の回帰式 $y^{(S)} - \log_{10}(200) = \beta_{0,2} + \beta_1 \log_{10}(x)$ で、 $y^{(S)}$ が $\log_{10}(200)$ となる x の逆推定値は、 $\log_{10}(x) = -\beta_{0,2}/\beta_1$ となるので、 $\beta_{0,2}/\beta_1$ を $-\beta_S$ と置き換えて S 薬の逆推定用量値を作り、 $\beta_{0,(1-2)}/\beta_1$ を β_{S-T} と置き換えて S 薬と T 薬の差を直接推定する。なお、この方法は、投与量が 0 であるような陰性対照を含む場合は、0 の対数はマイナス無限大となり、解析に含めることができない。

表 3.9 S 薬の $y = 200$ および T 薬との差の逆推定

Solution				
	SSE	DFE	MSE	RMSE
	0.0437366784	33	0.0013254	0.0364054
Parameter	Estimate	ApproxStdErr	Lower CL	Upper CL
b1	0.9095681726	0.02488295	0.85923765	0.9598987
b_s	2.1106937811	0.0095605	2.09149902	2.1302356
b_s_t	-0.076704423	0.01350566	-0.1042999	-0.0495787

$\hat{\beta}_{S-T} = -0.0767$ が対数用量の差の推定値である。この逆対数 $10^{-0.0767} = 0.838$ 倍となる。95%信頼区間は、(0.787, 0.892) となる。

3.8. 反応が飽和し、用量の増加に伴い分散も大きくなる場合

*****以後未完*****

陰性対照がある場合にこれを含めた解析は、冪モデルをそのまま使うことになる。

T 薬 : $y^{(T)} = \beta_{0,1}x^{\beta_1}$

S 薬 : $y^{(S)} = \beta_{0,2}x^{\beta_1}$

同時推定 : $y = \beta_{0,1}z_1x^{\beta_1} + \beta_{0,2}z_2x^{\beta_2}$

$$y = \beta_{0,2} \left(\frac{\beta_{0,1}}{\beta_{0,2}} z_1 x^{\beta_1} + z_2 x^{\beta_2} \right)$$