

识别药物最小有效剂量的逐步方法

唐晓清¹, 王汉兴²

1 上海大学 理学院, 上海 200444;

2 上海立信会计学院 数学与信息学院, 上海 201620

摘要: 在药物的第二、三阶段的临床试验时, 药物的安全性和有效性是测验的主要指标。Hsu 和 Berger 在药物各个剂量组的方差 σ^2 都相等这一假设下, 提出一种识别最小有效剂量的逐步置信区间方法。而方差齐性假设条件通常是不合理的, 本文主要利用 Stein 两阶段抽样方法, 给出方差无任何限制条件下识别最小有效剂量 (MED) 的逐步置信区间方法。

关键词: 方差无限制; Stein 两阶段抽样方法; 逐步置信区间方法

中图分类号: 0212 R911 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376 (2010) 01-0058-05

Stepwise confidence interval method for finding drug's minimum effective dose in trial

TANG Xiao-Qing¹, WANG Han-xing²

1 Shanghai University, College of Sciences, Shanghai 200444, China;

2 Shanghai Lixin University of Commerce, School of Mathematics & Information, shanghai 201620, China

Abstract: It is very important to be guaranteed that drug's safety and efficiency to the mankind in Phase II and III clinical trials. Recently Hsu and Berger (1999) proposed a stepwise confidence interval method in dose-finding of minimum effective dose (MED) for dose-response study under equal variances. This is often in doubt. A new way to find MED was proposed by employing the Stein's two-stage sampling method, the stepwise confidence procedure was proposed without any condition imposed on the variance. And the error rate is properly controlled.

Keywords: no condition with variance; Stein's two-stage sampling method; stepwise confidence interval method

剂量—反应研究是要确定随着新药暴露水平的改变, 它的效力发生变化的情况, 该研究对药品临床开发非常重要。其中一个主要目标就是要识别最小有效剂量 (minimum effective dose, MED), 所谓 MED 是指使用的药物的剂量能够开始出现药效, 这种剂量一般比较小, 它仅仅开始发生对疾病的治疗作用, 而未能达到充分的治疗疾病的作用。目前, 对 MED 的识别问题已提出很多检验方法。Hsu 和 Berger (1999)^[1]在药物各个剂量组的方差 σ^2 都相等这一假设下, 提出一种识别 MED 的逐步置信区间方法。而方差齐性假设条件通常是不合理的, 因为获得关于方差的信息少。而通常情况下, 各个剂量组的方差也不一定相等, 由此产生不容忽视的理论

上的误差。本文将要利用 Stein 两阶段抽样方法, 给出一个新的, 方差无任何限制条件下识别 MED 的逐步置信区间方法。既然本方法不需要方差相等的条件, 那么, 这是一个很有现实意义的工作。

1 Stein 两阶段抽样方法

Stein 两阶段抽样方法主要包括下面两步: (i) 从 $k+1$ 个剂量组的每个组中抽取 $n_0 (> 3)$ 个初始样本, 并选取常数 $c > 0$ (在后面将讨论 n_0 和 c 的选取问题), 令 σ_i^2 表示第 i 个剂量组的方差, s_i^2 表示基于抽取的 n_0 个观测值的 σ_i^2 的无偏估计, 且定义

$$N_i = \max \{ n_0 + 1, [s_i^2 / c] + 1 \}$$

其中, $[r]$ 表示小于或者等于 r 的最大整数; (ii)

收稿日期: 2009-07-20

作者简介: 唐晓清 (1972—), 男, 汉族, 湖南邵阳人, 上海大学在读博士, 研究方向是生物统计。

E-mail: tangxiaoqing5168@163.com 电话: 13973969976

再从 $N_i - n_0$ 个观测值 (此时从第 i 个剂量组共抽取了 N_i 个观测值), $Y_{iN_i}, Y_{i1}, \dots, Y_{in_0}, \dots, Y_{iN_i}$, 对每个 i , 定义系数 $a_{i1}, \dots, a_{in_0}, \dots, a_{iN_i}$ 使之满足:

$$\alpha_{i1} = \dots = \alpha_{in_0} = \frac{1 - \beta_i(N_i - n_0)}{n_0} = \alpha_i$$

$$\alpha_{i, n_0+1} = \dots = \alpha_{iN_i} = \frac{1}{N_i} \left\{ 1 + \sqrt{\frac{n_0(N_i c - s_i^2)}{(N_i - n_0)s_i^2}} \right\} = \beta_i$$

而后, 计算加权平均

$$\tilde{Y}_i = \alpha_i \sum_{j=1}^{n_0} Y_{ij} + \beta_i \sum_{j=n_0+1}^{N_i} Y_{ij}$$

注意: 如此定义的系数 a_{ij} 满足下述两个方程

$$\sum_{j=1}^{N_i} \alpha_{ij} = 1, \quad \alpha_{i1} = \dots = \alpha_{in_0}$$

和

$$s_i^2 \sum_{j=1}^{N_i} \alpha_{ij}^2 = c, \quad i = 0, \dots, k$$

同时使得随机变量 $T_i = (\tilde{Y}_i - \mu_i) / \sqrt{c}$, $i = 0, 1, \dots, k$ 相互独立且服从自由度为 $n_0 - 1$ 的 t -分布 (Stein, 1945) [2]

2 两个相互独立的 t -变量的差的分布

为了提出异方差下逐步置信区间方法, 需要考虑两个相互独立且具有相同自由度的 t -变量的差的分布。

$$P_\mu(T_i - T_0 < Z_{\alpha, n_0-1}) = 1 - \alpha \quad (1)$$

等价于

$$P_\mu(\mu_i - \mu_0 > \tilde{Y}_i - \tilde{Y}_0 - \sqrt{c} z_{\alpha, n_0-1}) = 1 - \alpha \quad (2)$$

其中, z_{α, n_0-1} 表示 $T_i - T_0$ 的分布的分位数。从而 $\tilde{Y}_i - \tilde{Y}_0 - \sqrt{c} z_{\alpha, n_0-1}$ 是 $\mu_i - \mu_0$ 的一个置信水平为 $1 - \alpha$ 得置信下界。

由前面知道 $T_i = (\tilde{Y}_i - \mu_i) / \sqrt{c}$, $i = 0, 1, \dots, k+1$ 相互独立且服从自由度为 $n_0 - 1$ 的 t -分布, 从而, $T_i - T_0$ 的密度函数为

$$f_{n_0-1}(z) = \int_{-\infty}^{+\infty} t_{n_0-1}(x) t_{n_0-1}(x+z) dx \quad (3)$$

其中,

$$t_n(x) = \frac{\Gamma\left(\frac{1}{2}n + \frac{1}{2}\right)}{\sqrt{n\pi}\Gamma\left(\frac{1}{2}n\right)} \left(1 + \frac{x^2}{n}\right)^{-\frac{n+1}{2}}$$

令 $y = (2x+z)^2 / [4(n_0-1)] + z^2$, 则 (3) 可写成

$$f_{n_0-1}(z) = \frac{\Gamma^2\left(\frac{n_0}{2}\right)}{\pi\sqrt{n_0-1}\Gamma^2[(n_0-1)/2]} \left(\frac{4(n_0-1)}{4(n_0-1)+z^2}\right)^{n_0-1/2} \times \int_0^{+\infty} \frac{y^{-1/2}}{(1+y)^{n_0}} \left\{ 1 - \left[\frac{z^2}{4(n_0-1)+z^2} \right] \frac{4y}{(1+y)^2} \right\}^{\frac{n_0}{2}} dy$$

由此易见, 对任意 $n_0 > 1$, $f_{n_0-1}(z)$ 在 $z = 0$ 达到最大, 且对所有 z ,

$$f_{n_0-1}(z) = f_{n_0-1}(-z) \quad (4)$$

该分布的上分位数 z_{α, n_0-1} 定义如下

$$P_\mu(T_i - T_0 < z_{\alpha, n_0-1}) = 1 - \alpha \quad (5)$$

当 $n_0 - 1 \leq 20$ 时, Ghosh (1975) 已给出 z_{α, n_0-1} 的数值表。对 $n_0 - 1 \geq 20$, Ghosh (1975) 提供了一个关于 z_{α, n_0-1} 的近似计算公式, 形式如下:

$$z_{\alpha, n_0-1} = u_\alpha \sqrt{2} \left[1 + \frac{R_1(u_\alpha)}{n_0-1} + \frac{R_2(u_\alpha)}{(n_0-1)^2} + \frac{R_3(u_\alpha)}{(n_0-1)^3} \right] \quad (6)$$

其中, u_α 定义如下

$$\int_{-\infty}^{u_\alpha} \phi(x) dx = 1 - \alpha, \quad \text{而 } \phi(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-x^2/2},$$

$$R_1(u) = \frac{1}{8}(u^2 + 5),$$

$$R_2(u) = \frac{1}{768}(37u^4 + 200u^2 + 171) -$$

$$\frac{1}{256}(9u^4 - 24u^2 + 7),$$

$$R_3(u) = \frac{1}{4096}(81u^6 + 349u^4 - 293u^2 - 1153) -$$

$$\frac{1}{12288}(231u^6 - 773u^4 - 499u^2 - 2871)$$

3 探寻最小有效剂量的逐步置信区间方法

3.1 基本步骤

为了提出方差未知条件下逐步置信区间方法, 令 $u = (u_0, u_1, \dots, u_k) \in \Theta$, 其中, μ_0 是服用安慰剂组的平均反应; u_1, \dots, u_k 是新药各剂量组的平均反应, 考虑如下单因子模型

$$Y_{ij} = u_i + \varepsilon_{ij}, i = 0, 1, 2, \dots, k; j = 1, \dots, N_i$$

这里 Y_{ij} 是第 i 个剂量水平下第 j 个个体的反应, 同时 $\varepsilon_{i1}, \dots, \varepsilon_{iN_i}$ 相互独立且具有均值为 0, 方差为未知 σ_i^2 的正态变量, $i = 0, 1, \dots, k$ 药物的 MED 定义如下

$$MED = \min\{d_i : \mu_i - \mu_0 > \delta\}$$

这里 δ 是一个预先指定的非负阈值, 该值定义了一个实际显著性差异, 通常, δ 由基于原先研究议定的标准草案或专家的经验确定, 在剂量反应研究中, 期望提出的检验方法满足: 若该方法不断言一个较高剂量是有效的, 则它一定不断言一个较低剂量是有效的^[4]。为达到这一目的, 可以用逐步方式: 仅当 $\mu_i - \mu_0 > \delta$ 成立时, 则执行下一步; 否则, 终止。提出异方差下逐步置信区间方法如下:

第 0 步:

若 $\tilde{Y}_k - \tilde{Y}_0 - \sqrt{c}z_{\alpha, n_0-1} \geq \delta$, 则断言 $\mu_k - \mu_0 > \delta$ 且执行第 1 步;

否则断言 $\mu_k - \mu_0 > \tilde{Y}_{k+1} - \tilde{Y}_0 - \sqrt{c}z_{\alpha, n_0-1}$ 且没有任何剂量被推荐为是有效的并终止。

第 1 步:

若 $\tilde{Y}_{k-1} - \tilde{Y}_0 - \sqrt{c}z_{\alpha, n_0-1} \geq \delta$, 则断言 $\mu_{k-1} - \mu_0 > \delta$ 且执行第 2 步;

否则断言 $\mu_{k-1} - \mu_0 > \tilde{Y}_{k-1} - \tilde{Y}_0 - \sqrt{c}z_{\alpha, n_0-1}$ 且推荐 d_k 为 MED, 然后终止。

...

第 $k-1$ 步:

$\tilde{Y}_1 - \tilde{Y}_0 - \sqrt{c}z_{\alpha, n_0-1} \geq \delta$, 则断言 $\mu_1 - \mu_0 > \delta$ 且执行第 k 步;

否则断言 $\mu_1 - \mu_0 > \tilde{Y}_1 - \tilde{Y}_0 - \sqrt{c}z_{\alpha, n_0-1}$ 且推荐 d_2 为 MED, 然后终止。

第 k 步:

断言所有剂量均有效且推荐 d_1 为 MED 然后终止。

3.2 n_0 和 c 的选取

初始样本容量 n_0 的选取由具体试验涉及确定, 而且, n_0 的最优选取依赖未知方差的先验知识。

常数 c 的选取很重要, 先证明 c 的值与加权平均 \tilde{Y}_i 的方差有关^[3]。为此, 令 $\tau_i = (\mu_i, \sigma_i^2)$, 从而有

$$E_{\tau_i}(\tilde{Y}_i | Y_{i1}, Y_{i2}, \dots, Y_{iN_i}) = E_{\tau_i} \left(\alpha_i \sum_{j=1}^{n_0} Y_{ij} + \beta_i \sum_{j=n_0+1}^{N_i} Y_{ij} | Y_{i1}, Y_{i2}, \dots, Y_{iN_i} \right) = \alpha_i \sum_{j=1}^{n_0} Y_{ij} + \beta_i (N_i - n_0) \mu_i \quad (7)$$

又 α_i 与 $\sum_{j=1}^{n_0} Y_{ij}$ 相互独立, 有

$$\begin{aligned} E_{\tau_i}(\tilde{Y}_i) &= E_{\tau_i} [E_{\tau_i}(\tilde{Y}_i | Y_{i1}, Y_{i2}, \dots, Y_{iN_i})] \\ &= \mu_i + E_{\tau_i} \left[\alpha_i \left(\sum_{j=1}^{n_0} Y_{ij} - n_0 \mu_i \right) \right] \\ &= \mu_i \end{aligned} \quad (8)$$

故 \tilde{Y}_i 是 μ_i 的无偏估计, 同样, 有

$$E_{\tau_i}(\tilde{Y}_i^2) = \mu_i^2 + E_{\tau_i} \{ [n_0 \alpha_i^2 + (N_i - n_0) \beta_i^2] \sigma_i^2 \} \quad (9)$$

$$Var_{\tau_i}(\tilde{Y}_i) = E_{\tau_i} \{ [n_0 \alpha_i^2 + (N_i - n_0) \beta_i^2] \sigma_i^2 \} = \frac{c(n_0 - 1)}{n_0 - 3} \quad (10)$$

可以看到, 对任意给定的 n_0 , \tilde{Y}_i 的方差的最小值不存在。事实上, c 值越小, 方差越小, 从而估计的精度越高。遗憾的是, 随着 c 值的减小, s_i^2 的增加, 样本容量 N_i 会变得很大。在使用时, 可以指定一个合适的精度^[3] (选取某个 ε), 并由此达到预期精度的 c 值。或者说, c 由下式确定

$$\frac{c(n_0 - 1)}{n_0 - 3} = \varepsilon \quad (11)$$

并且, 从理论上来说, 对于剂量的组数, 并无苛刻的要求, 它可以是大样本的, 也可以是小样本的实验。当然, 从直观来看, 概率统计研究的对象, 最好是样本数大一点要好一些。

4 实例应用

为更好地理解上述方法的实际应用, 笔者找到一个比较而言很近似的例子, 即牛生长激素 (bGH)

的毒性研究，用本方法来做这一已知结论的数据，而且，此数据组没有方差同性，得到很好的结果。

牛生长激素 (bGH) 是一种能促进牛生长和奶汁分泌的激素。通常 bGH 在牛体内的量低，人工注射后，能够显著促进牛的生长和产奶量。

给牛的饲料中添加 bGH 这一举措，很长时间成为美国公众争论的焦点，因为担心这些激素对人体有害。Juskevich 和 Guyer (1990) 作了大量的实验，在提交给 FDA 的报告中指出，实验数据未表明人类喝了在饲料中添加 bGH 的奶牛所产的奶对人体健康是有害的。笔者针对一组数据加以分析，这是一组关于老鼠经过 bGH 处理后的试验数据。本试验中，包含了 *po* bGH 4 种不同剂量水平的实验组 (以下标注为：水平 1-4)，还有一组安慰剂组 (以下标注为：水平 0)，另有一组阳性对照组 (以下标注为：水平 5)。经过持续 90 d 的试验，老鼠的肝脏质量数据如表 1。

在该实验中，将阳性对照组与阴性对照组相比较时，预期它的统计推断为显著性差异推断，它朝着阳性对照组促进肝脏质量增加这一方向。该试验包含阳性对照组的原因在于判断实验设计是否足以

表 1 bGH 对大鼠肝质量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 30$)
Table 1 Effect of bGH on liver weight of rats
($\bar{x} \pm s, n = 30$)

组别	给药方法	剂量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	肝质量/g
安慰剂组	<i>po</i>	0	16.55 ± 3.00
牛生长激素组	<i>po</i>	0.1	15.61 ± 1.47
	<i>po</i>	0.5	15.74 ± 1.39
	<i>po</i>	5.0	15.99 ± 1.94
	<i>po</i>	50.0	15.10 ± 2.21
阳性对照组	注射	1.0	20.36 ± 2.22

识别已知的差异。所以，只须作出是否有显著性指向差异就可。另一方面，将 *po* bGH 的 4 个剂量组与阴性对照组相比较^[4]，预期的统计推断为实际等效性推断。如实验结果表明 *po* bGH 的老鼠肝脏重量与阴性对照组的差的置信区间围绕在 0 附近时，就可以作出实际等效这一断言。

为了使用 Stein 两阶段抽样方法，借助 Juskevich 和 Guyer 的原始数据，利用 Monte Carlo 方法模拟产生第二阶段所需数据^[2]。表 2 给出经过计算得到的统计量。

表 2 中间统计量的模拟计算结果

Table 2 Simulation results of intermediate statistics

组别	给药方法	剂量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	中间统计量				
			s_i^2	N_i	α_i	β_i	\tilde{Y}_i
安慰剂组	<i>po</i>	0	9.00	34	0.027	0.041	15.858
牛生长激素组	<i>po</i>	0.1	2.16	31	0.022	0.332	15.733
	<i>po</i>	0.5	1.93	31	0.021	0.355	16.449
	<i>po</i>	5.0	3.76	31	0.025	0.228	15.919
	<i>po</i>	50.0	4.88	31	0.027	0.181	15.493
阳性对照组	注射	1.0	4.93	31	0.027	0.180	20.836

在本例中，取 $\alpha = 0.05$ ，由 (5) 得 $u_{0.05} = 1.64$ 和 $u_{0.025} = 1.96$ 。又由 (6) 得到 $z_{0.05,29} = 2.41$ 和 $z_{0.025,29} = 2.88$ 。如认为两个剂量水平的平均反应之差位于 $-\delta_L = \delta_U = 3.0$ 之间是等效的话，则 $l = 3.0$ ，所以， $c = 0.27$ 。

所以，有：

$$\tilde{Y}_5 - \tilde{Y}_0 - \sqrt{c}z_{0.05,29} = 3.73$$

$$D_1(Y) = (-1.62, 1.38)$$

$$D_2(Y) = (-0.91, 2.10)$$

$$D_3(Y) = (-1.44, 1.56)$$

$$D_4(Y) = (-1.86, 1.14)$$

因为 $\tilde{Y}_5 - \tilde{Y}_0 - \sqrt{c}z_{0.05,29} > 0$ ，这表明试验是灵敏的。又由于 $D_i(Y)$ ($i=1, 2, 3, 4$) 都位于 (δ_L, δ_U) 之内，所以实际等效性确实成立，这一结果与专家的结论一致，即在奶牛饲料中添加 bGH 不会对人类健康构成危害。

这里，本文通过给出一个实际的例子，通过计算来实际比较，这样，让人印象深刻一些。通过这

样一个已知可信结论的药物的例子，而且已知的一些方差不齐的数据，根据本文的方法来做，得出很好的结果，能让别人更信服^[5]。这些，涉及比较检验，工作庞大而篇幅大增。由于本文侧重于理论探讨，所以，对这些例子具体的计算过程没有给出，只给出计算的结果。

5 小结与讨论

到目前为止，方差未知且不相等条件下得多重比较理论仍很不完善^[4]，是困扰 statisticians 的一个难题，从统计理论出发，本文提出的逐步置信区间方法给出了处理这一问题的精确方法。然而，该方法存在的主要问题是其相对复杂性。与之相比，采用 Welch 逼近方法相对简单一些，但 Welch 方法有一个棘手的悬而未决的理论问题，即采用此种逼近方法后逐族的误差率的控制问题。

使用本文的方法优势在于：这种方法在使用时对方差不加任何限制条件。当然，在方差齐性这一

假设可接收时，笔者仍推荐使用 Hsu 和 Berger^[1]提出的逐步置信区间方法。另外，对这个方法，有进一步研究使之简化的价值。

参考文献:

- [1] Hsu J C, Berger R L. Stepwise confidence intervals without multiplicity adjustment for dose-response and toxicity studies [J]. *J Amer Statist Assoc*, 1999, 50: 468-481.
- [2] Shi N Z, Jiang D Q. Maximum likelihood estimation of isotonic normal means with unknow variances [J]. *J Multivariate Anal*, 1998, 64:183-195.
- [3] Jian Tao, Ning-Zhong Shi. Stepwise procedures under unknown variances for toxicological evaluation [J]. *Biometrics Journal*, 2002, 44:149-160.
- [4] Tamhane A C, Hochberg Y. Multiple test procedures for dose-finding [J]. *Biometrics*, 1996, 52:21-37.
- [5] 唐晓清, 陶 剑, 谭明纯. 毒性评价的逐步置信方法 [J]. *邵阳学院学报*, 2007, 1,31-34.

《中草药》、《中国药学杂志》及陈新谦、陈常青 荣获“新中国 60 年有影响力的期刊及期刊人”

为纪念新中国诞辰 60 周年，表彰和鼓励对期刊事业做出重要贡献的期刊和期刊工作者，总结经验，促进期刊行业健康发展，中国期刊协会、中国出版科学研究所联合举办了“新中国 60 年有影响力的期刊及期刊人”推选活动。经过各地、各行业期刊协会和专家评审委员会的严格评审，中国药学会主办期刊《中草药》、《中国药学杂志》及《中国药学杂志》副主编陈新谦编审、《中草药》杂志执行主编陈常青研究员分别荣获“新中国 60 年有影响力的期刊及期刊人”称号。

(本刊讯)