

多水平模型在生物等效性评价中的应用(II)

刘巧兰 沈卓之 李晓松 陈峰 杨珉

【导读】 探讨多变量多水平模型在生物等效性评价中的应用价值。以 4×4 交叉试验设计的国产和进口罗格列酮药物生物等效性评价为研究实例,研究多变量多水平模型在同时评价多个指标等效性时方差分量的分解方式,并探讨在多变量多水平框架下评价平均、群体和个体等效性评价的可行性。多变量多水平模型考虑了罗格列酮药物指标 $\ln(AUC)$ 和 $\ln(C_{max})$ 的相关性,在两个指标出现一个平均等效而另一个平均不等效的矛盾结果时,通过联合检验最终判断两个指标联合具有平均等效性。根据多变量多水平模型方差分量,进一步获得了国产和进口罗格列酮药物具有群体和个体等效性。结论:多变量多水平模型可将多个相关指标纳入同一个模型中,考虑了指标之间的相关性,可改善误差结构,对同时评价多个指标生物等效性提供了统计学方法的发展思路。

【关键词】 多变量多水平模型;生物等效性; 4×4 交叉试验设计;方差分量

Application of multilevel models in the evaluation of bioequivalence (II) LIU Qiao-lan¹, SHEN Zhuo-zhi¹, LI Xiao-song¹, CHEN Feng², YANG Min³. 1 School of Public Health, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2 School of Public Health, Nanjing Medical University; 3 Queen Mary, University of London, UK

Corresponding author: YANG Min, Email: m.yang@qmul.ac.uk

This work was supported by a grant from the China Medical Board of New York (CMB) (No. 00-722)

【Introduction】 The main purpose of this paper is to explore the applicability of multivariate multilevel models for bioequivalence evaluation. Using an example of a 4×4 cross-over test design in evaluating bioequivalence of homemade and imported rosiglitazone maleate tablets, this paper illustrated the multivariate-model-based method for partitioning total variances of $\ln(AUC)$ and $\ln(C_{max})$ in the framework of multilevel models. It examined the feasibility of multivariate multilevel models in directly evaluating average bioequivalence (ABE), population bioequivalence (PBE) and individual bioequivalence (IBE). Taking into account the correlation between $\ln(AUC)$ and $\ln(C_{max})$ of rosiglitazone maleate tablets, the proposed models suggested no statistical difference between the two effect measures in their ABE bioequivalence via joint tests, whilst a contradictive conclusion was derived based on univariate multilevel models. Furthermore, the PBE and IBE for both $\ln(AUC)$ and $\ln(C_{max})$ of the two types of tablets were assessed with no statistical difference based on estimates of variance components from the proposed models. Multivariate multilevel models could be used to analyze bioequivalence of multiple effect measures simultaneously and they provided a new way of statistical analysis to evaluate bioequivalence.

【Key words】 Multivariate multilevel model; Bioequivalence; 4×4 cross-over test design; Variance components

在实际生物等效性评价中常常遇到判断多个变量(指标)同时等效性问题,比如药物浓度与时间曲线下的面积(AUC)和最高血药浓度(C_{max})同时等效才能认为试验药与参比药等效,因此统计学上需要考虑多变量同时检验的问题。特别指出的是当多个

变量不具有独立性,而它们的等效性出现矛盾的时候,如AUC等效而 C_{max} 和达到最高血药浓度的时间(T_{max})不等效,现在多根据专业判断试验药(T)和参比药(R)是否等效^[1],而没有在统计学方法上给出同时等效或不等效的结论。Wang等^[2]根据单变量的拒绝域交集合并方法(intersection-union method)的思想,提出了生物平均等效性中同时检验多个变量的检验假设,并提出几个检验方法,包括矫正检验水准 α 后的Hotelling T^2 置信数据集方法(confidence set approach)、似然比检验(likelihood ratio test)以及多变量交集合并方法,并认为后者是相对较好的方

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2010.03.023

基金项目:美国纽约中华医学基金会(CMB)项目(00-722)

作者单位:610041 成都,四川大学华西公共卫生学院(刘巧兰、沈卓之、李晓松);南京医科大学公共卫生学院(陈峰);英国伦敦大学玛丽女王医学院(杨珉)

通信作者:杨珉,Email:m.yang@qmul.ac.uk

法。闫宇翔等^[3]利用 Hotelling T^2 方法检验多变量平均生物等效性,当结论为多变量平均生物等效时,表示至少有一个变量等效,还需要进一步扣除变量间的相关性,然后构造 t 统计量,以获得具体哪些变量等效的信息。但该方法至今应用不多,可能由于比较复杂,且方法仅局限于多个变量平均生物等效性检验,还没有涉及到对多变量同时检验的群体和个体生物等效性问题。本研究扩展一般多水平模型到多变量多水平模型同时评价多变量生物等效性的研究,主要从统计学角度探讨在一个模型框架内检验平均生物等效性(ABE)、群体生物等效性(PBE)和个体生物等效性(IBE)^[4,5],为研究同时检验多变量生物等效性的统计学方法提供新思路。

基本原理

1. 双变量多水平模型结构:交叉试验中对 $j(j=1, 2, \dots, n)$ 个受试对象第 $i(i=1, 2, \dots, k)$ 个阶段进行试验观察,每个受试对象 j 有 k 次重复观察,这是重复测量的一个特例。该设计类型的单指标多水平模型构造及生物等效性评价参阅有关文献^[6-8]。

在生物等效性研究中有时需要同时判断两个指标,如 AUC 和 C_{max} (以下均以这两个指标为例)等效性。当两个指标同时满足等效性时,才能判断 T 与参 R 等效。 AUC 、 C_{max} 存在相关性,单独检验违背了指标独立性的假设,因此,需要拓展一种模型能够同时分析两个指标,且要充分考虑到两指标相互关系的条件下估计效应是否等效。

根据多元分布的理论,两个应变量模型基于对每一个应变量建立一个相似的边际(marginal)两水平模型(1), y_{1ij} 即 $\ln(AUC)$, y_{2ij} 即 $\ln(C_{max})$, $k=1, 2$,

$$\begin{aligned} y_{1ij} &= \beta_{10} + \beta_{11}x_{1ij} + u_{10j} + \varepsilon_{1ij} \\ y_{2ij} &= \beta_{20} + \beta_{21}x_{1ij} + u_{20j} + \varepsilon_{2ij} \end{aligned} \quad (1)$$

这里的 x_{1ij} 为 T 和 R 的指示变量(1=试验药,0=参比药),同时应用于两个指标。在拟合以上两个模型的同时,要考虑到两个应变量的随机误差项在个体间的 u_{10j} 与 u_{20j} 、在试验阶段水平个体内 ε_{1ij} 与 ε_{2ij} 的相关性,通过它们的方差-协方差矩阵表达。另外,需要各变量的指示变量区别边际模型中各成分。模型中由指示变量 z_{1jk} 和 z_{2jk} 区分 $\ln(AUC)$ 和 $\ln(C_{max})$

$$z_{1jk} = \begin{cases} 1 & \ln AUC \\ 0 & \ln C_{max} \end{cases} \quad z_{2jk} = \begin{cases} 1 & \ln C_{max} \\ 0 & \ln AUC \end{cases}$$

两个指标的纳入使得原来是两水平数据结构变为三水平如图 1 所示。每个研究对象的一个观察指标值为水平 1 单位,不同试验阶段的重复测量值为

水平 2 单位,研究对象为水平 3 单位。

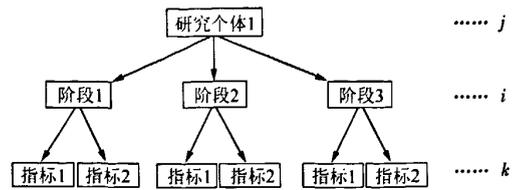


图 1 两指标三水平层次结构示意图

拟合图 1 数据结构的二元多水平联合模型可表达如式(2),由于数据结构改变形成的两水平升级为三水平,边际模型(1)中的原水平 2 的个体间误差项 u 成为联合模型中的水平 3 部分,用 v 表示,同理,式(1)中的 ε 升级为 u 。

$$\begin{aligned} y_{ijk} &= z_{1jk}(\beta_{10} + \beta_{11}x_{1jk} + u_{10jk} + v_{10jk}) \\ &+ z_{2jk}(\beta_{20} + \beta_{21}x_{1jk} + u_{20jk} + v_{20jk}) \end{aligned} \quad (2)$$

其中,个体间(水平 3)两反应变量的方差-协方差成分为

$$\begin{pmatrix} v_{10k} \\ v_{20k} \end{pmatrix} \sim MVN(0, \Omega_v), \quad \Omega_v = \begin{pmatrix} \sigma_{v1}^2 & \\ & \sigma_{v2}^2 \end{pmatrix}$$

个体内阶段间(水平 2)两反应变量的方差-协方差成分为

$$\begin{pmatrix} u_{10jk} \\ u_{20jk} \end{pmatrix} \sim MVN(0, \Omega_u), \quad \Omega_u = \begin{pmatrix} \sigma_{u1}^2 & \\ & \sigma_{u2}^2 \end{pmatrix}$$

可能影响药物效应的其他变量可直接加到式(2)与 z_{1j} 和 z_{2j} 分别相关的括号中。式(2)有两变量个体间的协方差 σ_{v12} 和个体内的协方差 σ_{u12} 反映两者间的相关性。通过相关系数 $r_1 = \frac{\sigma_{u12}}{\sqrt{\sigma_{u1}^2 \times \sigma_{u2}^2}}$ 和 $r_2 = \frac{\sigma_{v12}}{\sqrt{\sigma_{v1}^2 \times \sigma_{v2}^2}}$ 可以获得应变量在试验阶段间和研究个体间的相关强度。

2. 双变量多水平模型的平均等效性评价:根据式(2)评价平均等效性。可以通过联合检验 β_{11} 、 β_{21} 以及 $\beta_{11} - \beta_{21}$ 是否为 0 来判断两个指标同时有统计学意义或相反,即

$$H_0: \begin{cases} \beta_{11} = 0 \\ \beta_{21} = 0 \\ \beta_{11} - \beta_{21} = 0 \end{cases}$$

式中, $\beta_{11} - \beta_{21}$ 可以用广义 Wald 检验推断 β_{11} 和 β_{21} 统计学意义是否一致, $\chi^2_{Wald} = \frac{(\beta_{11} - \beta_{21})^2}{\text{var}(\beta_{11}) + \text{var}(\beta_{21}) + \text{cov}(\beta_{11}, \beta_{21})}$, $v=1$, 当 χ^2_{Wald} 检验有统计学意义,则 β_{11} 和 β_{21} 不等效;而当 χ^2_{Wald} 检验无统计学意义,则 β_{11} 和 β_{21} 表现一致性,即 $\ln(AUC)$ 和 $\ln(C_{max})$ 可能同时等效或同时不等效,此时再结合 β_{11} 和 β_{21} 是否为 0 作为联合判断,最后通过 $\chi^2_{3,0.05(Wald)}$ 值则可以明确判断两指标是否等效或不

等效。

根据双变量多水平模型的构造可知, $\beta_{11} \sim N(0, \sigma_{11}^2)$, $\beta_{12} \sim N(0, \sigma_{12}^2)$, β_{11} 和 β_{21} 服从二元正态分布。设 C 是指示矩阵,在式(2)没有其他协变量时,可以设 $C = \begin{pmatrix} 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$, $f = \begin{pmatrix} \beta_{11} \\ \beta_{12} \end{pmatrix}$ 。在 $H_0: f = k, k = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \end{pmatrix}$ 的条件下

$$(\hat{f} - k)^T [C(X^T V^{-1} X)^{-1} C^T]^{-1} (\hat{f} - k) = \chi_{q, (\alpha)}^2 \quad (3)$$

这里, $q=2, \hat{f} = C\hat{\beta}, \hat{\beta} = \begin{bmatrix} \cos t \tan t \\ \beta_{11} \\ \beta_{12} \end{bmatrix}$, $(X^T V^{-1} X)^{-1}$ 是

固定参数的协方差阵。式(3)是通用式, q 的取值依据变量的个数, $q=1, 2, 3, \dots$, 既是变量个数, 也是 χ^2 分布自由度。则联合置信区间通用公式^[7]:

$$(C_i \hat{\beta} - d_i, C_i \hat{\beta} + d_i), d_i = [C_i (X^T V^{-1} X)^{-1} C_i^T \chi_{q, (\alpha)}^2]^{0.5}$$

式中,若是双变量联合置信区间则 $q=2$,若是三变量联合置信区间则 $q=3$,如此类推。 $\alpha\%$ 为相应自由度下 χ^2 分布尾部面积, α 根据实际需要通常取0.05或0.1。 C_i 是指示矩阵 C 中第 i 行向量,即 $[C_i (X^T V^{-1} X)^{-1} C_i^T]$ 为固定参数标准误。

3. 双变量多水平模型方差分量的分解:在平均等效的基础上,如果进一步判定群体生物等效性,则同时还要比较效应值的方差是否相等。药物效应系数 β_{11} 和 β_{21} 在个体间和个体内的方差分量由式(4)估计(表1):

$$y_{ijk} = z_{1jk}(\beta_{10} + \beta_{11}x_{1jk} + u_{10jk} + u_{11jk}x_{1jk} + v_{10k} + v_{11k}x_{1jk}) + z_{2jk}(\beta_{20} + \beta_{21}x_{1jk} + u_{20jk} + u_{21jk}x_{1jk} + v_{20k} + v_{21k}x_{1jk}) \quad (4)$$

$\ln(AUC)$ 水平3个体间方差:

$$\text{var}(u_{10k} + u_{11k}x_{1ij}) = \sigma_{e1}^2 + \sigma_{e3}^2 x_{1ij}^2 + 2\sigma_{e13} x_{1ij}$$

$\ln(AUC)$ 水平2个体内方差:

$$\text{var}(u_{10jk} + u_{11jk}x_{1ij}) = \sigma_{e1}^2 + \sigma_{e3}^2 x_{1ij}^2 + 2\sigma_{e13} x_{1ij}$$

$\ln(C_{\max})$ 水平3个体间方差:

$$\text{var}(u_{20k} + u_{21k}x_{1ij}) = \sigma_{e2}^2 + \sigma_{e4}^2 x_{1ij}^2 + 2\sigma_{e24} x_{1ij}$$

$\ln(C_{\max})$ 水平2个体内方差:

$$\text{var}(u_{20jk} + u_{21jk}x_{1ij}) = \sigma_{e2}^2 + \sigma_{e4}^2 x_{1ij}^2 + 2\sigma_{e24} x_{1ij}$$

由上述方差分解式可得到各药物对不同应变量的总方差:

参比药 $\ln(AUC)$ 的总方差:

$$\sigma_{TR}^2 = (\sigma_{e1}^2 + \sigma_{e1}^2)$$

试验药 $\ln(AUC)$ 的总方差:

$$\sigma_{TR}^2 = (\sigma_{e1}^2 + \sigma_{e1}^2) + (\sigma_{e3}^2 + \sigma_{e3}^2) + 2(\sigma_{e13} + \sigma_{e13})$$

参比药 $\ln(C_{\max})$ 的总方差:

$$\sigma_{TR}^2 = (\sigma_{e2}^2 + \sigma_{e2}^2)$$

试验药 $\ln(C_{\max})$ 的总方差:

$$\sigma_{TR}^2 = (\sigma_{e2}^2 + \sigma_{e2}^2) + (\sigma_{e4}^2 + \sigma_{e4}^2) + 2(\sigma_{e24} + \sigma_{e24})$$

$\ln(AUC)$ 的 T 与 R 的水平2(个体内)方差分量之差($\sigma_{WR}^2 - \sigma_{WR}^2$)由($\sigma_{e3}^2 + 2\sigma_{e13}$)估计, $\ln(AUC)$ 的 T 与 R 水平3(个体间)方差分量之差由($\sigma_{e3}^2 + 2\sigma_{e13}$)估计,个体与药物交互作用的方差 σ_b^2 则由 σ_{e3}^2 估计。 $\ln(C_{\max})$ 的 T 与 R 的水平2(个体内)方差分量之差($\sigma_{WR}^2 - \sigma_{WR}^2$)由($\sigma_{e4}^2 + 2\sigma_{e24}$)估计, $\ln(C_{\max})$ 的 T 与 R 水平3(个体间)方差分量之差由($\sigma_{e4}^2 + 2\sigma_{e24}$)估计,个体与药物交互作用的方差 σ_b^2 则由 σ_{e4}^2 估计。

在具体拟合模型时,通过将变量 x_{ijk} 的系数 β_{11} 和 β_{21} 分别设置为随机系数而获得方差分量,则此时模型方差-协方差复杂结构如式(5)。

$$\begin{pmatrix} u_{10k} \\ u_{20k} \\ u_{11k} \\ u_{21k} \end{pmatrix} \sim MVN(0, \Omega_u), \Omega_u = \begin{pmatrix} \sigma_{e1}^2 & & & \\ \sigma_{e12} & \sigma_{e2}^2 & & \\ \sigma_{e13} & \sigma_{e23} & \sigma_{e3}^2 & \\ \sigma_{e14} & \sigma_{e24} & \sigma_{e34} & \sigma_{e4}^2 \end{pmatrix} \quad (5)$$

$$\begin{pmatrix} u_{10jk} \\ u_{20jk} \\ u_{11jk} \\ u_{21jk} \end{pmatrix} \sim MVN(0, \Omega_u), \Omega_u = \begin{pmatrix} \sigma_{e1}^2 & & & \\ \sigma_{e12} & \sigma_{e2}^2 & & \\ \sigma_{e13} & \sigma_{e23} & \sigma_{e3}^2 & \\ \sigma_{e14} & \sigma_{e24} & \sigma_{e34} & \sigma_{e4}^2 \end{pmatrix}$$

4. 双变量多水平模型群体和个体等效性评价:有了方差分量的估计值,理论上可以进行群体和个体生物等效性评价,但FDA没有给出双变量等效性评价的标准。而如何进一步从多水平模型估计 Δ_T 和 Δ_R 的置信区间上限还需要进一步研究。在无其他判断标准情况下,可利用模型获得方差分量的标准误,判断个体内方差分量之差和个体间方差分量之差有

表1 双变量模型的方差分量

指标	方差分量	参比药 R (FDA效应值方差)	试验药 T (FDA效应值方差)	差值($T-R$)
$\ln(AUC)$	个体间(水平3)	$\sigma_{e1}^2 (\sigma_{BR}^2)$	$\sigma_{e1}^2 + \sigma_{e3}^2 + 2\sigma_{e13} (\sigma_{BT}^2)$	$\sigma_{e3}^2 + 2\sigma_{e13}$
	个体内(水平2)	$\sigma_{e1}^2 (\sigma_{WR}^2)$	$\sigma_{e1}^2 + \sigma_{e3}^2 + 2\sigma_{e13} (\sigma_{WT}^2)$	$\sigma_{e3}^2 + 2\sigma_{e13}$
	合计	σ_{TR}^2	σ_{TR}^2	$\sigma_{e3}^2 + \sigma_{e3}^2 + 2(\sigma_{e13} + \sigma_{e13})$
$\ln(C_{\max})$	个体间(水平3)	$\sigma_{e2}^2 (\sigma_{BR}^2)$	$\sigma_{e2}^2 + \sigma_{e4}^2 + 2\sigma_{e24} (\sigma_{BT}^2)$	$\sigma_{e4}^2 + 2\sigma_{e24}$
	个体内(水平2)	$\sigma_{e2}^2 (\sigma_{WR}^2)$	$\sigma_{e2}^2 + \sigma_{e4}^2 + 2\sigma_{e24} (\sigma_{WT}^2)$	$\sigma_{e4}^2 + 2\sigma_{e24}$
	合计	σ_{TR}^2	σ_{TR}^2	$\sigma_{e4}^2 + \sigma_{e4}^2 + 2(\sigma_{e24} + \sigma_{e24})$

注:模型各方差分量的相应标准误见参考文献[6]

无统计学意义,由此判断不同药物的变异是否相同。即在平均等效性的基础上,通过广义 *Wald* 统计量同时检验 $\sigma_{a3}^2 = 0, \sigma_{a4}^2 = 0, \sigma_{a13} = 0$ 和 $\sigma_{a13} = 0$ 有无统计学意义而获得 $\ln(AUC)$ 指标个体间和个体内在 *T* 和 *R* 中的变异是否相同。如果均无统计学意义,则可以判定 *T* 与 *R* 的 $\ln(AUC)$ 指标具有群体等效性;同理用广义 *Wald* 检验同时判断 $\sigma_{a4}^2 = 0, \sigma_{a24}^2 = 0, \sigma_{a24} = 0$ 和 $\sigma_{a24} = 0$ 有无统计学意义而获得 $\ln(C_{max})$ 指标个体间和个体内在不同药物中的变异是否相同,如果均无统计学意义,则可以判定 *T* 与 *R* 的参比药 $\ln(C_{max})$ 指标具有群体等效性。当 $\ln(AUC)$ 和 $\ln(C_{max})$ 同时具有群体等效性,才能判断 *T* 与 *R* 具有群体等效性。

在群体等效性的基础上,根据 FDA 判断个体等效性的一般准则,对于 $\ln(AUC)$ 指标,检验 σ_{a3}^2 [即 $\ln(AUC)$ 指标在个体间部变异 σ_b^2]、 σ_{a13} 和 σ_{a3}^2 [$(\sigma_{a3}^2 + 2\sigma_{a13})$ 即 $\ln(AUC)$ 指标的个体内变异之差 ($\sigma_{wT}^2 - \sigma_{wR}^2$)] 与 0 相比有无统计学意义,以上条件均满足时即可以判定 *T* 与 *R* 的 $\ln(AUC)$ 指标具有个体等效性^[4,6]。对于 $\ln(C_{max})$ 指标,则检验 σ_{a4}^2 、 σ_{a4}^2 和 σ_{a24} [$(\sigma_{a4}^2 + 2\sigma_{a24})$ 即 $\ln(C_{max})$ 指标在个体内的变异之差]与 0 相比有无统计学意义,即可以判定 *T* 与 *R* 的 $\ln(C_{max})$ 指标是否具有个体等效性^[4,6]。只有当 $\ln(AUC)$ 和 $\ln(C_{max})$ 同时具有个体等效性,才能判断 *T* 与 *R* 具有个体等效性。

在判断群体和个体等效性时,当 $\ln(AUC)$ 和 $\ln(C_{max})$ 指标出现一个等效另一个不等效的情况,仍然可以通过联合 *Wald* 检验,最终给出明确的结论即群体(或个体)等效或不等效。

如果在进行等效性检验时候还要考虑协变量的影响,则模型可以很方便地将协变量引入到模型中。协变量可以引入到不同层次中,比如影响研究对象的年龄、性别可以引入到个体即水平 3,而测量方法或时间可为水平 2 协变量。值得指出的是,当应变量的影响因素相同时,可从共同协变量引入;当影响因素不同的时候,可以同时引入,但作用于不同的应变量。

实例分析

24 名志愿者随机分为 4 组,每组 6 人,进行 4×4 交叉试验设计研究国产与进口罗格列酮(rosiglitazone maleate tablets)的生物等效性。试验安排:A-D-B-C, B-A-C-D, C-B-D-A, D-C-A-B。其中 A 表示进口

罗格列酮 2 mg 片剂, B 国产罗格列酮 2 mg 片剂, C 进口罗格列酮 4 mg 片剂, D 国产罗格列酮 4 mg 片剂。每名受试者参加 4 个阶段服药,每个阶段所服药物按设计中字母所示,按照 FDA 建议^[4]将 *AUC* 和 C_{max} 进行对数转换(具体数据参阅参考文献[7])。

该例设计为 4×4 的拉丁方设计,且同时考察两个指标 *AUC* 和 C_{max} , FDA 没有提供该设计方案方差分量分解的方法。根据前述的理论,这里直接用多水平模型进行等效性检验。

1. 单变量两水平边际模型:先只考虑剂型(dome; 0=进口, 1=国产)用式(1),分别对 $\ln(AUC)$ 和 $\ln(C_{max})$ 进行单个指标拟合边际模型,结果列于表 2 的第 3 和第 4 列。由于没有考虑剂量(dose)等因素,水平 2 随机效应没有估计出来,且固定效应中剂型的标准误远大于估计值,提示该模型拟合不好。进一步将剂量和剂量与剂型的交互项作为协变量引入模型,结果列于表 2 的第 5 和第 6 列, $\ln(AUC)$ 和 $\ln(C_{max})$ 单指标模型的 -2loglikelihood 分别减少了 223.6870 和 235.6662,提示模型有很大的改进。方差分量列于表 2 的第 8 和第 9 列。剂量的系数在两个模型中都有统计学意义,提示必须要在考虑剂量影响的条件下判断两种药物是否等效。对固定效应进行 *Wald* 检验,发现 $\ln(C_{max})$ 的剂型有统计学意义,也即 $\ln(C_{max})$ 指标不存在平均等效性,而 $\ln(AUC)$ 的剂型无统计学意义。余固定效应统计学检验都无统计学意义。

此时从统计角度分析国产和进口罗格列酮出现 $\ln(AUC)$ 具有平均等效性而 $\ln(C_{max})$ 不具有平均等效性的矛盾情况,只有当 $\ln(AUC)$ 和 $\ln(C_{max})$ 同时具有平均等效性,才能判断国产与进口罗格列酮具有平均等效性,因此,从统计学意义上给出的总体结论是两种药不等效。

2. 双变量 3 水平模型:根据专业经验, $\ln(AUC)$ 和 $\ln(C_{max})$ 存在一定的相关,而原始数据 $r=0.9282$ ($P<0.05$)。拟合式(4),同时考虑两个指标,并将两个协变量剂量、剂量与剂型的交互项引入模型,结果见表 3。模型的固定效应估计值与表 2 的第 5 和第 6 列基本相同,其标准误有微小的变化。单独检验各指标的结论与单变量两水平模型结论一致。通过随机效应项可以获得个体间(水平 3) $\ln(AUC)$ 和 $\ln(C_{max})$ 两指标的相关系数

$$r_1 = \frac{\sigma_{a12}}{\sqrt{\sigma_{a1}^2 \times \sigma_{a2}^2}} = 0.5674$$

阶段水平相关系数

对于 $\ln(AUC)$ 指标, σ_{s3}^2 、 σ_{u13} 和 σ_{s3}^2 都为 0, 而 σ_{u13} 为 0.0046 (0.0022), 与 0 相比有统计学意义, 提示 $\ln(AUC)$ 指标群体不等效。对于 $\ln(C_{max})$ 指标, σ_{u4}^2 、 σ_{u24} 、 σ_{u24} 和 σ_{u4}^2 与 0 的差异均无统计学意义, 则提示具有群体等效性。此时出现了 $\ln(AUC)$ 指标群体不等效而 $\ln(C_{max})$ 指标等效的矛盾情况。用 Wald 联合检验 $\ln(AUC)$ 和 $\ln(C_{max})$ 指标各方差分量, $\chi^2_{6,0.05(Wald)} = 9.0219, P > 0.05$, 提示两指标在个体间和个体内变异无统计学意义, 综合判断国产和进口罗格列酮具有群体等效性。

在群体等效性的基础上, 进一步判断个体等效性, 对于 $\ln(AUC)$ 和 $\ln(C_{max})$ 指标的方差分量 σ_{s3}^2 [即 $\ln(AUC)$ 指标在个体间部变异 σ_D^2]、 σ_{u13} 、 σ_{s3}^2 、 σ_{u4}^2 [即 $\ln(C_{max})$ 指标在个体间部变异 σ_D^2]、 σ_{u4}^2 和 σ_{u24} 进行联合检验, $\chi^2_{6,0.05(Wald)} = 5.6552, P > 0.05$, 提示 $\ln(AUC)$ 指标和 $\ln(C_{max})$ 指标具有个体等效性。综合判断国产和进口罗格列酮具有个体等效性。

讨 论

1. 多变量多水平模型评价生物等效性的优势: 在研究药物生物等效性时, 常需要多指标同时判断等效性, 而多个指标之间可能存在相关性, 如果忽略这种关系单独检验可能会带来偏差^[8]。多变量多水平可以很好地解决该问题, 一方面可以获得多个指标之间的关系, 改善模型误差结构, 减少一个模型错误的概率并增强统计效能^[9-11], 另外一方面可以综合检验多个指标在一个模型框架下的平均、群体和生物等效性。对于本例, 当用单变量两水平模型分析时, $\ln(AUC)$ 具有平均等效性, 而 $\ln(C_{max})$ 不具有平均等效性; 利用双变量三水平模型获得了这两个变量间有一定的相关关系, 改善了误差结构, 联合分析获得了这两个指标同时具有等效性的结论; 通过双变量三水平随机效应模型获得的方差分量及标准误, 进一步获得了群体和个体等效性的结论。特别指出的是将平均等效、群体等效和个体等效纳入同一个模型框架中进行, 一般不可能出现群体不等效而个体等效的问题。如果变量多于 2 个, 模型很容易拓展, 比如加上 T_{max} , 假设该指标取对数仍然服从正态分布, 指示变量 x_{1ij} 的系数为固定效应, $k=1, 2, 3$, 则

$$y_{ijk} = z_{1jk}(\beta_{10} + \beta_{11}x_{1jk} + u_{10jk} + v_{10k}) + z_{2jk}(\beta_{20} + \beta_{21}x_{1jk} + u_{20jk} + v_{20k}) + z_{3jk}(\beta_{30} + \beta_{31}x_{1jk} + u_{30jk} + v_{30k})$$

其中,

$$\begin{pmatrix} u_{10k} \\ u_{20k} \\ u_{30k} \end{pmatrix} \sim MVN(0, \Omega_u), \Omega_u = \begin{pmatrix} \sigma_{u1}^2 & & \\ \sigma_{u12} & \sigma_{u2}^2 & \\ \sigma_{u13} & \sigma_{u23} & \sigma_{u3}^2 \end{pmatrix}$$

$$\begin{pmatrix} u_{10jk} \\ u_{20jk} \\ u_{30jk} \end{pmatrix} \sim MVN(0, \Omega_u), \Omega_u = \begin{pmatrix} \sigma_{u1}^2 & & \\ \sigma_{u12} & \sigma_{u2}^2 & \\ \sigma_{u13} & \sigma_{u23} & \sigma_{u3}^2 \end{pmatrix}$$

$$z_{1ijk} = \begin{cases} 1 & \ln AUC \\ 0 & \ln C_{max} \\ 0 & \ln T_{max} \end{cases} \quad z_{2ijk} = \begin{cases} 1 & \ln C_{max} \\ 0 & \ln AUC \\ 0 & \ln T_{max} \end{cases} \quad z_{3ijk} = \begin{cases} 1 & \ln T_{max} \\ 0 & \ln AUC \\ 0 & \ln C_{max} \end{cases}$$

该模型参数解释以及方差分量的获得都类似于式 (4) 和 (5)。

目前 FDA 未提供多个指标同时评价等效性的标准, 类似这种方法学的研究也比较少。本研究从统计学角度给出了多个指标同时评价 ABE、PBE 和 IBE 的统计学方法, 为多个指标同时评价生物等效性提供了方法学的借鉴。

2. 多变量多水平模型评价生物等效性下一步研究方向: 根据 FDA 的思想, 用于平均等效性评价的等效范围是将统计学方法给出的 95% 或 90% 置信区间进行调整, 调整的依据主要根据临床实际中可容许的误差大小, 以获得符合临床评价需要的等效范围, 其主要原因是统计学方法获得的置信区间过于严格, 不符合临床应用^[4, 6]。同理, 同时评价多指标等效性时也需要确定多指标联合等效范围。在多变量多水平模型中, 联合分布置信区间很容易获得, 如何在多变量多水平框架下调整置信区间以获得临床平均等效范围将是下一步研究的课题。另外, 参照 FDA 推荐的方法用置信区间的上限来判断群体和个体等效性^[11], 则应该在多变量多水平框架下研究多指标群体等效性 Δ 和个体等效性 Δ 的 95% 置信区间, 而多变量多水平模型提供了方差分量的标准误, 为其进一步研究提供了可能。

总之, 本文从统计方法学角度给出了研究多指标生物等效性评价的思路, 尽管还不能作为临床生物等效性评价的标准方法, 但在没有临床标准评价方法选择时, 可以用来评价多指标生物等效性。多变量多水平模型在平均等效性上能获得多指标联合可信区间, 在群体和个体等效性上能获得方差分量及其相应的标准误, 因此, 本文多变量多水平模型为临床多指标生物等效性评价提供了进一步研究的平台。

参 考 文 献

[1] Li G. Use of Bayesian method in bioequivalence assessment. Chin J Hosp Pharm, 1997, 17(2): 53-55. (in Chinese)

- 李高. 贝叶斯方法评价药物制剂生物等效性的实验及其应用. 中国医院药学杂志, 1997, 17(2): 53-55.
- [2] Wang WH, Hwang JT, Dasgupt Q. Statistical tests for multivariate bioequivalence. *Biometrika*, 1999, 86: 395-402.
- [3] Yan YX, Wang HY, Wang RA. Statistical test on multivariable in therapeutical equivalence analysis. *Chin J Epidemiol*, 2003, 24(10): 935-938. (in Chinese)
闫宇翔, 王洪源, 王仁安. 多临床终点的等效性检验方法探讨. 中华流行病学杂志, 2003, 24(10): 935-938.
- [4] Guidance for Industry. Statistical approach to establishing bioequivalence. U.S. DHHS, FDA, CDER, 2001.
- [5] Chen F, Yu H, Lv JJ, et al. Statistical approaches to establishing bioequivalence. *Chin J Clin Pharmacol Ther*, 2004, 9(8): 949-953. (in Chinese)
陈峰, 于浩, 吕静静. 生物等效性评价的统计分析方法. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(8): 949-953.
- [6] Liu QL, Shen ZZ, Chen F, et al. Application multilevel models in evaluation of bioequivalence (I). *Chin J Epidemiol*, 2009, 30(12): 1302-1306. (in Chinese)
刘巧兰, 沈卓之, 陈峰, 等. 多水平模型在生物等效性评价中的应用(I). 中华流行病学杂志, 2009, 30(12): 1302-1306.
- [7] Yang M, Li XS. Multilevel models in medical and public health research. Beijing: Peking University Health Science Press, 2007. (in Chinese)
杨珉, 李晓松. 医学和公共卫生研究常用多水平统计模型. 北京: 北京大学医学出版社, 2007.
- [8] Goldstein H. Multilevel statistical models. 3rd ed. Arnold. London, 2003.
- [9] Griffiths PL, Brown JJ, Smith PW. A comparison of univariate and multivariate multilevel models for repeated measures of use of antenatal care in Uttar Pradesh. *J Royal Stat Soc: Series A*, 2004, 167(4): 597-611.
- [10] Grilli LD, Rampichini C. Alternative specifications of multivariate multilevel probit ordinal response models. *J Educ Behav Stat*, 2003, 28(1): 31-44.
- [11] Müller HP, Stadermann S. Multivariate multilevel models for repeated measures in the study of smoking effects on the association between plaque and gingival bleeding. *Clin Oral Investig*, 2006, 10(4): 311-317.

(收稿日期: 2009-08-25)

(本文编辑: 张林东)

· 征订启事 ·

本刊2010年征订启事

《中华流行病学杂志》是由中华医学会主办的流行病学及其相关学科的高级专业学术期刊、国内预防医学和基础医学核心期刊、国家科技部中国科技论文统计源期刊, 2004—2008年被中国科学技术信息研究所定为“百种中国杰出学术期刊”, 并被美国国立图书馆医学文献联机数据库(Medline)和美国化学文摘社(CAS)收录。读者对象为医学(预防医学、临床医学、基础医学及流行病学科研与教学)和健康相关学科的科研、疾病控制、临床、管理和教学工作者。刊稿范畴: 重点或新发传染病现场调查与控制; 慢性病的病因学及流行病学调查(含社区人群调查)、干预与评价; 伤害的流行病学与防控; 环境污染与健康; 食品安全与食源性疾病; 临床流行病学和循证医学; 流动人口与疾病; 行为心理障碍与疾病; 分子和遗传流行病学与疾病控制; 我国西部地区重点疾病的调查与控制; 理论流行病学; 流行病学教学与实践等。本刊设有述评、论著(原著)、现场调查、监测、实验室研究、临床研究、疾病控制、基础理论与方法、国家课题总结、国外杂志华人研究导读(科海拾贝)、文献综述、问题与探讨等重点栏目。

全年出版12期, 每期定价9元(含邮费), 全年108元, 由全国各地邮局统一订阅, 邮发代号: 2-73。本刊编辑部常年办理邮购。地址: 北京昌平流字五号《中华流行病学杂志》编辑部, 邮编: 102206, 电话(传真): 010-61739449, Email: lxonly@public3.bta.net.cn 欢迎广大读者踊跃投稿(<http://www.cma.org.cn>), 积极订阅。

本刊编辑部

· 消息 ·

本刊现已实行“中华医学会信息管理平台”在线投稿

2010年中华医学会信息管理平台升级, 本刊登录网址更新为中华医学会网站: <http://www.cma.org.cn>。在线投稿请点击首页上方“业务中心”。新老用户使用过程中具体注意如下: (1)第一次使用本系统进行投稿的作者, 必须先注册, 才能投稿。注册时各项信息请填写完整。作者自己设定用户名和密码, 该用户名和密码长期有效。(2)已注册过的作者, 请不要重复注册, 否则将导致查询稿件时信息不完整。如果遗忘密码, 可以从系统自动获取, 系统将自动把您的账号信息发送到您注册时填写的邮箱中。向中华医学会系列杂志中不同杂志投稿时无须重复注册, 进入系统后即可实现中华医学会系列杂志间的切换。本刊的审稿专家可使用同一个用户名作为审稿人进行稿件审理和作者投稿。(3)作者投稿请直接登录后点击“个人业务办理”, 然后点击左上角“远程稿件处理系统”, 在页面右上角“选择杂志”对话框中的“中华流行病学杂志”再点击“作者投稿”。投稿成功后, 系统自动发送回执邮件。作者可随时点击“在线查稿”, 获知该稿件的审稿情况、处理进展、审稿意见、终审结论等; 有关稿件处理的相关结果编辑部不再另行纸质通知。投稿成功后请由邮局寄出单位介绍信, 来稿需付稿件处理费20元/篇(邮局汇款), 凡未寄单位介绍信和稿件处理费者, 本刊将对文稿不再做进一步处理, 视为退稿。如有任何问题请与编辑部联系, 联系电话: 010-61739449, Email: lxonly@public3.bta.net.cn。

本刊编辑部