

実験動物を用いた毒性試験に使用される統計処理について

第二報 定量データに対する種々の検定法による有意差検出数の差異

○小林 克己^{1,3}・大堀 兼男²・竹内 宏一³
 (1) 財団法人 食品農医薬品安全性評価センター,
 (2) 静岡産業大学, (3) 浜松医大公衆衛生)

【はじめに】農薬・医薬品に対する毒性試験に用いられる統計手法は、*t*-検定法、多重比較検定法およびノンパラメトリック検定を含めた種々の決定樹方式等が使用されているが、これら適切な検定法については種々の議論がなされている。これら検定手法によって有意差検出数の差異を調査し、分布表の違い即ち、片側検定と両側検定との違いによる有意差検出数の差異も併せて検討した。

【材料および方法】財) 食品農医薬品安全性評価センターで実施したF344ラットを用いた農薬に対する慢性毒性/癌原性併合試験(雌雄各80頭の5群, 投薬後26, 52, 78週で各10頭屠殺解剖検査, 104週で全生存動物を屠殺解剖検査)の内, 比較的有意差の多く出ている1試験を選び, 図1に示した3種類の検定手法を使用した即ち, 1) *t*-検定(スチューデント, アスピン・ウエルチまたはコクラン), 2) ダンネットの多重比較検定法, 3) 自動判別方式(最初にバートレットの等分散検定を実施した。等分散の場合は一元配置の分散分析を行った。分散が有意で各群の標本数が同数の場合はダンネットの多重比較検定, 各群の標本数が異なる場合はダンカンの多重範囲検定で, またバートレットの等分散検定で不等分散の場合はクラスカル・ワイリスの順位検定を実施し, 有意の場合はノンパラメトリックのダンネットの多重比較検定)で対照群と各投薬群間の有意差を検定した。検定法1)および2)は各々片側および両側検定で, 3)のダンネットの多重比較検定は片側検定を用い, 有意水準は全て5%で吟味した。

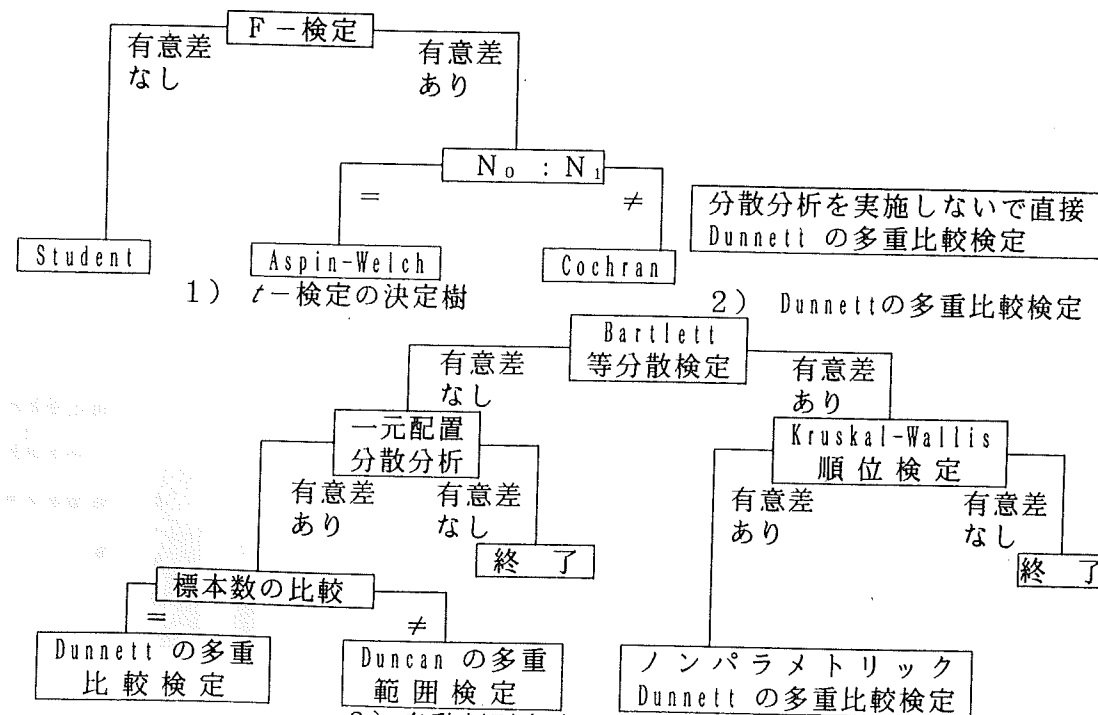


図1. 各種の検定法

表1 対照群を含め5群を設定した慢性毒性/癌原性併合試験から得られる定量データに対する各種検定法による有意差検出数の差異

項目	総組合せ 検定回数	<i>t</i> -検定		Dunnettの多重比較検定		Bartlettの等分散検定		多群間の決定樹による有意差数		合計 有意差数
		片側検定 有意差数	両側検定 有意差数	片側検定 有意差数	両側検定有 意差数	検定回数	有意差数	Parametric 検定有意差数	Non-parametric 検定有意差数	
体重	528	246	233	223	212	132	109	54	159	213
飼料摂取量	832	349	279	235	189	208	94	154	248	402
血液学的検査	352	159	126	123	105	88	37	77	42	119
生化学的検査	576	272	235	215	181	144	74	107	104	211
尿検査	64	11	10	7	5	16	3	4	0	4
臓器重量	224	80	61	47	42	56	17	32	13	45
臓器重量体重比	224	104	89	82	67	56	24	48	32	80
合計 (%)	2800	1221 (100)	1033 (85)	932 (100)	801 (86)	700 (100)	358 (51)	476 (44)	598 (56)	1074 (100)

【結果】調査結果は表1に示した。

1. ダンネットの多重比較検定法は *t*-検定に比較して有意差検出数が少なく, 片側および両側検定とも *t*-検定に比べて各々76-78%を示した。
2. *t*-検定およびダンネットの多重比較検定法の両側検定は片側検定に比較して有意差検出数が少なく片側検定の約85%を示した。
3. バートレットの等分散検定の結果, 半数の定量データが不等分散を示した。
4. 最も多く有意差を示した手法は *t*-検定の片側検定で, 次いでノンパラメトリックのダンネットの多重比較検定を含んだ自動判別方式, *t*-検定の両側検定, ダンネットの多重比較検定法の片側検定, 同じく両側検定の順であった。

【考察】実験動物を用いた安全性試験から得られる定量データの有意差検定に用いる分布表は, 両側と片側の二種類の分布表がある。しかしながら, この場合どちらの分布表を用いるかは研究者によって明解でなく, 試験責任者の判断で決められるとも述べられている¹⁾。実際の試験報告書を調査したところ片側検定は極めて少なかった²⁾。これら文献の中には, 用量設定試験のような予備試験の場合は, 対照群に対して各定量値が高いか低いか不明なため両側検定で実施し, 本試験では対照群に対して一定方向に傾くことが分っていることから片側検定で実施する, またはするべきとの報告もあった^{3, 4, 5)}。一方, 5群を設定した慢性毒性/癌原性併合試験の実数値から有意差の検出動向を検索した結果では, 全検定項目700の中で対照群に対し一定方向に有意差を示したものが578項目(83%), 対照群に対し高値と低値が混在して有意差を示したものが39項目(6%)で, ほとんど対照群に対し一定方向に有意差を示した²⁾。上記の試験結果について片側検定と両側検定の両者による有意差検出数の違いを *t*-検定およびダンネットの多重比較検定を用い比較検討した結果, 両側検定による有意差検出数は片側検定の85%前後を示した。片側検定は両側検定に比べて有意差が出やすいこと, 安全性試験から得られたデータは, 医薬品ではヒトに対する投薬の安全量を算定する基礎数値に, また農薬では一日最大摂取許容量等の決定の基盤となるもので, これらヒトに対する厳密な毒性チェックが必要となることから実験動物を用いた安全性試験から得られる定量データに対する有意差検定の判定は, 検出力の高い片側検定用の分布表を使用することを推奨したい。

- 1) Dunnett C. W. : J. Am. Stat. Assoc. 1955;50:1096-1121.
- 2) 小林克己・大堀兼男・竹内宏一 : 第40回東海公衆衛生学会, 1994, 講演集, 104頁.
- 3) Drewitt, P. N. et al. : Fd Chem. Toxic. 1993;31:19-23.
- 4) Shertzer, H. G. et al. : Fd Chem. Toxic. 1991;29:391-400.
- 5) 吉村・大橋 : 毒性試験データの統計解析, 地人書館, 東京, 1992, p. 92 and 110.