

Estimation of Threshold Dose Using a Change-Point Regression Model —Application for the Safety Assessment of Amino Acids by Systematic Review—

(変化点回帰モデルを用いた閾値量推定 -システムティックレビューによるアミノ酸の安全性評価への応用)

現在, サプリメントや機能性表示食品でアミノ酸の利用が世界中で増加している. 一方, これらの使用に際し安全性を考慮した摂取上限量のガイドラインはない. 食品添加物の安全性を評価する指標として, 1日許容摂取量 (ADI) が用いられる. しかし, 食品添加物としてアミノ酸にこの一般的な ADI を用いると, ヒトにおける必要量とほとんど同じ値となる. そのため, ヒトを対象とした介入試験から得られたデータによる評価が重要となる.

近年, システムティックレビュー (SR) は有効性, 有用性の評価方法としてだけでなく安全性の評価にも用いられている. 我々は, 必須アミノ酸の一つである L-Lysine (L-Lys) について SR による安全性評価を行い, NOAEL, LOAEL の推定値を報告している. しかし, これらの値は, 観察された安全性レベル (OSL) と同等であり, 閾値量を探索する手法が課題として残っている. この閾値量の探索は, 有害事象 (AE) 発生の用量反応性における発現ポイントの推定である. そこで, 近年毒性学において使用されているホッケースティックモデル (Fig. 1) を応用し, Change-Point Regression Model (CPRM) による閾値探索を行う事とした.

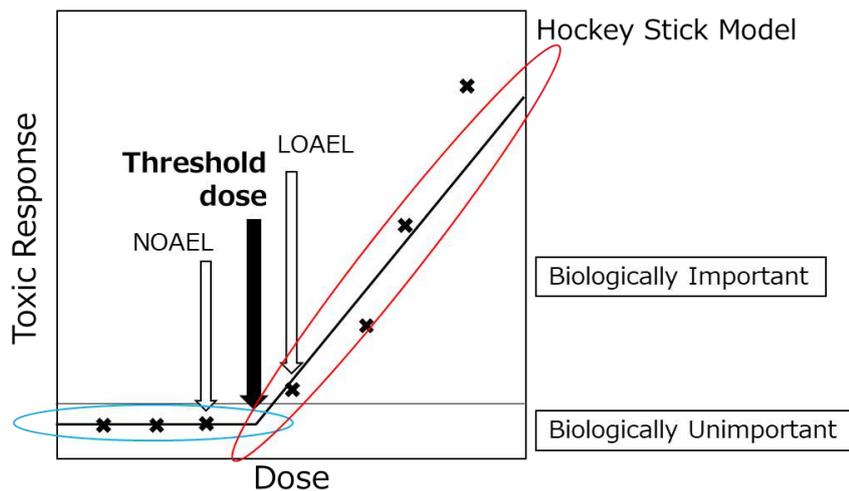


Fig. 1 An example of hockey stick model.

The model is characterized by a biphasic manner, with regions that are not dose-responsive and regions that are dose-responsive. Theoretically, threshold dose should be between NOAEL and LOAEL.

ところで, SR で実施されるメタアナリシス (MA) では, Fixed-effects model や Random-effects model で各研究に重み付けを行い, 統合解析を行う. そこで, CPRM の実行においても,

各研究の重み付けをモデルに組み込む必要があると考えた。また、L-Lys では無作為化比較試験 (RCT) の報告が少ないことから、比較的 RCT の報告が多い L-Arginine (L-Arg) の臨床試験を対象に検討した。AE に関しては、最も報告件数の多かった消化器症状を対象にした。また、消化器症状は急性症状と考えられるため、1日摂取用量だけでなく1回あたりの摂取用量についても検討した。

【weighted Change-Point Regression Model】

i 番目の研究における、L-Arg 群と対照群の AE 発現率の差を y_i 、L-Arg の 1 回投与量を χ_i とした時、CPRM は、

$$y_i = \beta I(\chi_i > \chi_{cp})(\chi_i - \chi_{cp}) + \varepsilon_i$$

となる。ただし、 χ_{cp} は未知の AE 発現ポイントであり、 $I(\cdot)$ は指示関数で、 $\chi_i > \chi_{cp}$ の時 1、それ以外は 0 を取る。

また、試験間の異質性で重み付け補正した CPRM は、weighted Change-Point Regression Model (w-CPRM) と呼び、 ω_i を各研究の重みとして以下のように定義した。

$$\omega_i y_i = \omega_i \beta I(\chi_i > \chi_{cp})(\chi_i - \chi_{cp}) + \omega_i \varepsilon_i$$

各モデルの比較と χ_{cp} の決定は、最尤度法で行った。

重み付け補正の必要性については、既報のオメガ 3 PUFA の摂取による循環器疾患の予防を評価した SR の結果を用い、検証した。その結果、重み付けにより、モデルの fitting は改善し、重み付け補正の必要性が確認された(Kuramochi et al. JCBN 2023)。

ところで、我々は、SR の評価対象となった研究において、The Cochrane Collaboration と Jadad らの方法でリスクバイアス (RoB) 評価を用いて研究の質の評価を行っている。L-Arg の安全性評価においては、試験デザインを最も質の高い RCT に絞っているが、いずれの評価においてもばらつきが見られ、同等とはいえない結果であった。そこで、今回は、SR で広く用いられている The Cochrane Collaboration の RoB の結果を利用し、これを ω_{2i} とした。

【L-Arg の閾値量】

健康なヒトを対象とした L-Arg 経口摂取による消化器症状の SR の結果を以下に示す。AE の有無に関して報告がある 24 件の研究のうち、1 回用量の報告があった 23 件が本研究の評価対象となった。その RoB 評価の結果を Fig. 2 に示す。

	(A)	(B)	(C)	(D)	(E)	(F)	(G)
Adams 1995	7	7	7	7	7	7	7
Aguiar 2016	7	7	7	7	7	7	7
Alvarez 2012(1)	7	7	7	7	7	7	7
Alvarez 2012(2)	7	7	7	7	7	7	7
Alvarez 2014	7	7	7	7	7	7	7
Andrade 2018	7	7	7	7	7	7	7
Ast 2011	7	7	7	7	7	7	7
Ast 2011b	7	7	7	7	7	7	7
Bieri 2019	7	7	7	7	7	7	7
Blum 2000	7	7	7	7	7	7	7
Bode-Böger 1998	7	7	7	7	7	7	7
Bode-Böger 2003	7	7	7	7	7	7	7
Chin-Dusting 1996	7	7	7	7	7	7	7
Fahs 2009	7	7	7	7	7	7	7
Forbes 2011	7	7	7	7	7	7	7
Forbes 2011b	7	7	7	7	7	7	7
Forbes 2013	7	7	7	7	7	7	7
Forbes 2014	7	7	7	7	7	7	7
Fricke 2008	7	7	7	7	7	7	7
Lulking 1998	7	7	7	7	7	7	7
Mansoor 2005	7	7	7	7	7	7	7
Meirelles 2018	7	7	7	7	7	7	7
Pathlavani 2014	7	7	7	7	7	7	7
Robinson 2003	7	7	7	7	7	7	7
Savoie 2006	7	7	7	7	7	7	7
Savoie 2006b	7	7	7	7	7	7	7
Schwedhelm 2008	7	7	7	7	7	7	7
Schwedhelm 2008b	7	7	7	7	7	7	7
Streeter 2019	7	7	7	7	7	7	7
Suzuki 2017	7	7	7	7	7	7	7
Ueno 2018	7	7	7	7	7	7	7
Vanhatalo 2013	7	7	7	7	7	7	7
Vignini 2010	7	7	7	7	7	7	7
Voletic 2013	7	7	7	7	7	7	7

- (A) random sequence generation : 割付表の生成は適切か ?
 (B) allocation concealment : 割付情報の隠蔽方法は適切か ?
 (C) blinding of participants and personnel } 対象者、介入者、評価者は
 (D) blinding of outcome assessment } 盲検化されているか ?
 (E) incomplete outcome data : 不十分なアウトカムデータへの対処は適切か ?
 (F) selective reporting: 選択的アウトカム報告になっていないか ?
 (G) other sources of bias : バイアスリスクになり得るものは他にないか ?

Fig. 2 Assessment of risk of bias for 30 selected human studies: summary of items of bias. Risk of bias for all trials is presented as percentages of trials with low, high, or unclear risk of bias in each assessment item.

The Cochrane Collaboration の RoB は全 7 項目で低リスク, 高リスク, 不明瞭の 3 段階で評価されるので, 各々 +1, -1, 0 とし, 7 点満点で $score_i$ とした. この $score_i$ を用い, ω_{2i} を以下のように定めた.

$$\omega_{2i} = \omega_{1i} + RS_i = \frac{1}{SE_i^2 + \tau^2} + RS_i, \quad RS_i = \frac{score_i}{(\sum_{i=1}^n score_i)}$$

一方, 森實らは, RCT を評価する方法として一般的には用いられていない Chalmers らのスコアを用いた方法を利用し, MA におけるバイアスの調整方法を提案している. そこで, 現在, 標準的に用いられている The Cochrane Collaboration の RoB を使用し, 森實らの変法として, 重み付けを計算する方法を以下の通り検討した.

$$\omega_{3i} = \omega_{1i} * RS_i = \frac{1}{SE_i^2 + \tau^2} * RS_i, \quad RS_i = \frac{score_i}{14}$$

ただし, ω_{3i} では, 低リスク, 不明瞭, 高リスクをそれぞれ, +2, +1, 0 とし総計した値を $score_i$ とした. L-Arg の SR における, w-CPRM の結果を以下に示す.

Table 1 Results of w-CPRM on each weight.

Weight	X_{cp}	β	AIC_{min}	P-value
ω_1	7531	2.716e-05	-62.31	4.26e-09
ω_2	10912	3.196e-05	-52.10	2.06e-08
ω_3	8754	2.912e-05	-61.77	2.5e-09

加算型 (ω_2) と補正型 (ω_3) は同じ RoB 評価の結果を利用したが、結果は大きく異なった。 ω_2 と比較し、 ω_3 の閾値量はより低用量の 8754 mg/one-time dose であったが、 ω_3 の方が ω_2 よりもモデルの改善が確認された (Table 1)。閾値探索の AIC プロットでもより閾値量を判定しやすい明瞭なグラフが得られたことを確認した。

L-Arg の閾値量は、従来の方法で 12000mg/day (4000mg×3 times) と推定された (OSL)。しかし、 ω_1 を重み付けとして使用した w-CPRM の AIC プロファイルから 4000 mg/time の時の AIC は、-52.83 であった。7531mg/one-time dose と推定された時の AIC は-62.31 であり、今回推定された閾値量はより真の値に近づいていると考えられる。通常メタ解析で使用される重み付け ω_1 を利用した結果は、今回使用した他の 2つの重み付けと比較しても、AIC が最も小さく、モデルの当てはまりがよかった。そのため、健康なヒトを対象とした L-Arg 経口摂取における消化器症状の閾値量は、7531 mg/one-time dose と判断した (Kuramochi et al. Amino Acids 2023 (online ahead))。

しかし、RoB 評価の結果を取り入れた ω_2 、 ω_3 については、これらの評価方法や重み付けをモデルに組み込む方法などで推定用量が大きく変わる可能性があり、今後さらなる検討が必要と思われる。

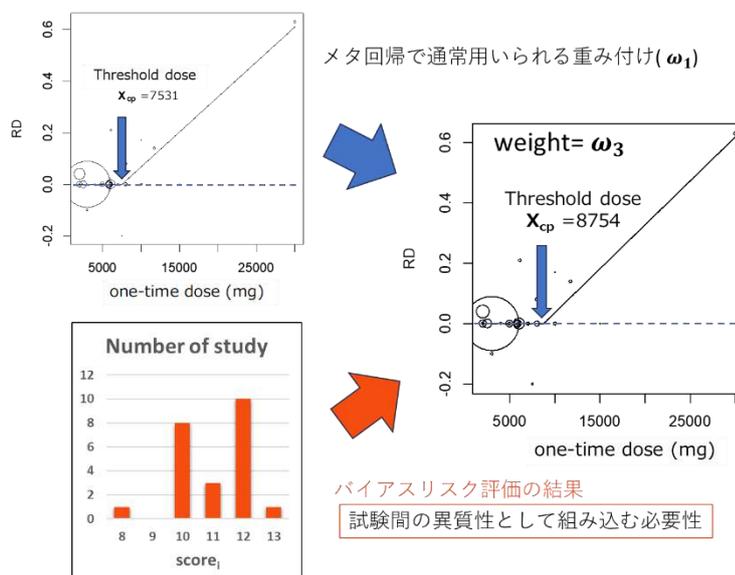


Fig. 3 Interpretation of the w-CPRM assessment reflecting the heterogeneity of each study.