

PROASTを用いたベンチマークドース法適用ガイドンス

(PROASTは、RIVMのホームページ(<http://www.rivm.nl/en/Library/Scientific/Models/PROAST>)より無償でダウンロードすることができる。プログラムはS言語で書かれているため、使用にあたっては、統計ソフトウェアS plusもしくはRをインストールする必要がある。)

最初に、マニュアルに従って、データファイルを作成する。病理所見の発現頻度等の非連続データの場合は、モデルタイプとしてQuantalを選択し、体重、血液/血液生化学検査値や器官重量等の連続データの場合は、モデルタイプとしてContinuousを選択する。非連続データ及び連続データそれぞれに対する適用方法を以下に示す。なお、基本的なソフトウェアの操作法はここでは記載しない（ダウンロードした圧縮ファイルに同梱されているPROASTマニュアルを参照）。このガイドンスでは、一般的な毒性試験データを無変換で使用する際の原則的な手法としてのBenchmark response (BMR)の設定や最適なモデル及びBenchmark dose lower confidence limit (BMDL)の選定基準について推奨される手法を紹介する。（具体的なBMDLの計算方法についてはAppendix1：「PROAST (version 28.1)を用いた計算手順」及びAppendix2：「PROAST (version 28.1)の計算結果の読み方」を参照。）

非連続データ

1. BMRの設定

10%の過剰リスクを選択することが推奨される。

2. モデルへのフィッティングパラメータとして係数のConstraintの有無

フィッティングパラメータとして係数のConstraintの有無を選択できる。選択したモデルの生物学的意義付けによるConstraintの有無の選択に科学的理由が無い限り、ConstraintがYesとNoの両方でのフィッティングを思考することを推奨する。

3. 適合モデルの選択

選択できるすべてのモデルのフィッティングを試みる。適合モデルの判定結果がyesとなったモデルのみ採用する。

4. BMDLの選定

原則的には、適合したモデルから算出されたBMDLの中から、安全サイドの観点に立って、最も低いBMDLを選定する。しかし、BMD/BMDL比が10以上もしくは最低用量/BMDL比が100以上となる場合は、BMDL値の信頼度が低いことから、除外することを推奨する。

連続データ

1. BMRの設定

デフォルトとして対照群の1SD（1標準偏差）の変化分に対応するリスクを選択することが推奨される（例数が少ない場合等で、対照群の分散が極端に小さくなる場合には、10%の変化分に対応するリスクを選択することも検討する）。

2. 適合モデル及びBMDLの選定

選択できるすべてのモデルのフィッティングを試みる。原則的には、結果が表示されたBMDLの中から、安全サイドの観点に立って、最も低いBMDLを選定する。しかし、BMD/BMDL比が10以上もしくは最低用量/BMDL比が100以上となる場合は、BMDL値の信頼度が低いことから、除外することを推奨する。

<非連続データ (quantal data) の計算手順>

- 使用したソフトウェア : proast28.1、R version 2.13.0
- サンプルとして使用したデータ : BMD_95636_kidney_hyaline_droplet_m.txt

下記のようにデータファイルを作成する

<サンプルデータ (Tab 区切りテキストファイル) >

```
-----  
BMD_95636_kidney_hyaline_droplet_m <1行目:ファイル名>  
3 <2行目:データ列の数>  
0 0 4 <3行目:各列のデータタイプ、4は quantal data>  
Dose n kidney_hyaline_droplet_m <4行目:各列のタイトルを Tab 区切りで入力>  
0 10 2 <5行目以降:各列データを Tab 区切りで入力>  
30 10 7  
100 10 7  
300 10 8  
1000 10 10  
-----
```

以下の記述において、Console 画面に表示される文字は黒字で、ユーザーが行う操作と解説は赤字で記入した。

R を立ち上げて、メニューのパッケージから proast28.1 を読み込む。

Console 画面で、上記のように作成したデータファイルを以下の様なコマンドで R 用に変換する。

```
> BMD_95636_kidney_hyaline_droplet_m.txt<-f.scan('BMD_95636_kidney_hyaline_droplet_m.txt')  
Read 1 item  
Read 1 item  
Read 3 items  
Read 3 items  
[1] "V1" "V2" "V3"
```

Console 画面で以下のコマンドを入力する。上記で変換したファイルを括弧内に引用して PROAST を起動する

```
> f.proast(BMD_95636_kidney_hyaline_droplet_m.txt)
```

```
-----  
<WELCOME to PROAST の画面が表示される (表示内容は省略) >
```

<以下は **constraint no** (≒**restriction 無し**) とする場合の計算過程を例示する。 >

Q1: Which variable do you want to consider as independent variable?

(e.g. dose, age)

1: dose

2: n

3: kidney_hyaline_droplet_m

選択 : 1 を選択する (用量データが何列目であることを設定)

What type of response data do you want to consider?

1: continuous

2: binary

3: ordinal

4: quantal

5: continuous, clustered

6: quantal, clustered

7: continuous, summary data

選択 : 4 を選択する (非連続の係数データの選択)

Do you want to fit a set of models, or choose a single model?

1: single model

2: set of models

3: set of models, but change settings first

選択 : 2 を選択する (非連続用のモデルを一度に計算する)

The following responses are quantal:

1

2

3 kidney_hyaline_droplet_m

Which response(s) you want to analyse

by set of models > 3 を選択する (計算対象となる非連続データが何列目であることを設定)

Enter number for the associated sample sizes

1: dose

Appendix 1. PROAST (version 28.1)を用いた計算手順

2: n

3: kidney_hyaline_droplet_m

選択 : 2 を選択する (例数に相当するデータが何列目であるかを設定)

Give number of factor serving as potential covariate (e.g.sex)

-- type 0 if none ---

1: dose

2: n

3: kidney_hyaline_droplet_m

選択 : 0 を選択する (共変数データが何列目であるかを設定するが、この例では無しなので 0 を選択)

Give value for extra risk

type 0 if you do not need conf. interv. > 0.1 (BMR として 0.1 を入力)

Do you want to constrain the models to have finite slope at zero?

1: no

2: yes (not recommended!)

選択 : constrain (restriction) 無しとする場合は 0 を選択、ありとする場合は 1 を選択

What plot do you want ?

1: pi vs. x

2: pi vs. log(x)

3: log(pi) vs. x

4: log(pi) vs. log(x)

5: arcsin.sqrt(pi) vs. x

6: cumulative pi vs. x (do not use for binomial fractions)

7: cumulative pi vs. log-x (do not use for binomial fractions)

選択 : 1 を選択する (表示するグラフの目盛りの設定 : 対数変換等無しの場合 1 を選択)

<計算過程と結果が表示される>

give name for file to store summary table (or 0 if none) > (計算結果を保存するファイル名を入力する : 例 BMD_95636_kidney_hyaline_droplet_m_no.fs)

<以下の最終結果の表示の後に Main Menu が表示される>

Appendix 1. PROAST (version 28.1)を用いた計算手順

endpoint	min-BMDL	max-BMDL	# models
kidney_hyaline_droplet_m	0.000383	21.7	9

MAIN MENU :

What do you want to do ?

- 1: Change settings
- 2: Choose (another) model
- 3: Choose other start values

...<中略>...

14: End session

選択 : 続けて **constraint yes** の計算を行う場合は **2** を選択し **Q1** に戻る、終了する場合は **14** を選択

終了後、**constraint no**の**BMDL**と**constraint yes**の**BMDL**の中から、一番低い値を採用する。
ただし、**BMD/BMDL**比が**10**以上もしくは**最低用量/BMDL**比が**100**以上となる場合は除外する。

<連続データ (continuous data) の計算の流れ>

➤ 使用したソフトウェア : proast28.1、R version 2.13.0

サンプルとして使用したデータ : BMD_101144_albumin.txt

下記のようにデータファイルを作成する

<サンプルデータ (Tab 区切りテキストファイル) >

```
-----  
BMD_101144_albumin          <1行目:ファイル名>  
4                            <2行目:データ列の数>  
0      10      0      0      <3行目:各列のデータタイプ、10はcontinuous data >  
dose   mean   sd    number <4行目:各列のタイトルをTab区切りで入力>  
0      3.32   0.30   5      <5行目以降:各列データをTab区切りで入力>  
0.4    3.25   0.19   5  
2      3.02   0.12   5  
10     2.98   0.14   5  
50     2.45   0.11   5  
-----
```

以下の記述において、Console 画面に表示される文字は黒字で、ユーザーが行う操作と解説は赤字で記入した。

R を立ち上げて、メニューのパッケージから proast28.1 を読み込む。

Console 画面で、作成したデータファイルを以下の様なコマンドで R 用に変換する。

```
> BMD101144_albumin.txt<-f.scan('BMD101144_albumin.txt')
```

```
Read 1 item
```

```
Read 1 item
```

```
Read 4 items
```

```
Read 4 items
```

```
[1] "V1" "V2" "V3" "V4"
```

以下のコマンドで PROAST のプログラムを変換したファイルを用いて起動する

```
> f.proast(BMD101144_albumin.txt)
```

```
-----  
<WELCOME to PROAST の画面が表示される>  
-----
```

Q1: Which variable do you want to consider as independent variable?

(e.g. dose, age)

Appendix 1. PROAST (version 28.1)を用いた計算手順

- 1: dose
- 2: mean
- 3: sd
- 4: number

選択： 1 を選択する（用量データが何列目であるかを設定）

What type of response data do you want to consider?

- 1: continuous
- 2: binary
- 3: ordinal
- 4: quantal
- 5: continuous, clustered
- 6: quantal, clustered
- 7: continuous, summary data

選択： 7 を選択する（連続の係数データの選択）

Do you want to fit a nested set of models

- 1: single model
- 2: nested set of models
- 3: nested set of models, but change settings first
- 4: selection of model 5

選択： 2 を選択する（非連続用のモデルを一度に計算する）

※通常 2 を選択するが対数変換等を行う場合は、ここで 3 を選択して、計算条件を変更できる

The following responses are continuous:

- 1
- 2 mean
- 3
- 4

Appendix 1. PROAST (version 28.1)を用いた計算手順

Give number(s) of the response(s) you want to analyse by set of models

----- > 2 を選択する (計算対象となる連続データが何列目であるかを設定)

Give value for CES (always positive)

type 0 if none > BMR を入力する。1 SD の場合は"sd/mean"の計算値を、10%の場合は 0.1 を入力する。 上記サンプルデータの場合は $0.30 / 3.32 = 0.09$ を入力

Do you want to include Hill model family?

1: yes

2: no

選択 : 1 を選択して Hill モデルも計算させる

Give number of factor serving as potential covariate (e.g.sex)

-- type 0 if none ---

1: dose

2: mean

3: sd

4: number

選択 : 0 を選択する (共変数データが何列目であるかを設定するが、この例では共変数データは無いので 0 を選択)

Which plot type do you want ?

1: x-y

2: log(x)-y

3: x-log(y)

4: log(x)-log(y)

5: sqrt(x)-y

6: sqrt(x)-log(y)

7: x-sqrt(y)

8: log(x)-sqrt(y)

選択 : 2 を選択する (表示するグラフの目盛りの設定 : x 軸を対数目盛で表示する場合は 2)

Give number of the variation statistic associated to mean

1: dose

2: mean

3: sd

4: number

選択 : 3 : 分散値が入力された列を指定する

Do you have standard deviations or standard errors associated with the means?

1: standard deviations

2: standard errors

選択 : 1 : 上記の分散値が SD であるか SE であるかを選択する。

Give the associated sample size

1: dose

2: mean

3: sd

4: number

選択 : 4 : 群あたりの動物数が入力された列を指定する

<Hill モデル以外の計算過程と結果が表示される>

response: mean

ANALYSIS WITH EXPONENTIAL MODELS

model	converged	npar	loglik
full	1	6	38.12
m1-	1	2	17.74
m2-	1	3	35.01
m3-	1	4	36.58
m4-	1	4	35.68

selected model: m2-

re-fitting selected model m2-

m2-	1	3	35.01
-----	---	---	-------

calculating C.I.....

the CED (in orig. units) and the 90 % confidence interval for group 1 is:

17.497	→	BMD
14.63348	→	BMDL
21.75598	→	BMDU (Benchmark dose upper confidence limit)

before fitting Hill model

give name for file to store results (or type 0 if none) > 0 を入力、※結果を保存する場合は
ファイル名を入力するが、proast28.1 ではうまく機能しない
<続いて Hill モデルの計算過程と結果が表示される>

response: mean

ANALYSIS WITH HILL MODELS

model	converged	npar	loglik
full	NA	6	38.12
m1-	1	2	17.74
m2-	1	3	35.22
m3-	1	4	36.47
m4-	1	4	35.74

selected model: m2-

re-fitting selected model m2-

m2-	1	3	35.22
-----	---	---	-------

calculating C.I.....

the CED (in orig. units) and the 90 % confidence interval for group 1 is:

15.831	→	BMD
12.89235	→	BMDL
20.19156	→	BMDU

<結果の表示の後に Main Menu が表示される>

※結果ファイルの保存ができないので、上記 Log をコピーペーストとして、文書ファイル等に保存する。

MAIN MENU :

What do you want to do ?

- 1: Change settings
- 2: Choose (another) model
- ...<中略>...
- 12: End session

Appendix 1. PROAST (version 28.1)を用いた計算手順

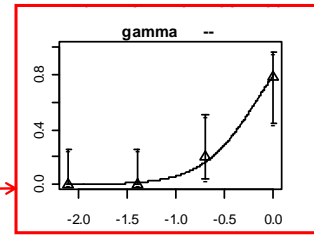
選択：終了する場合は **12** を選択。同じデータセットで条件を変えて計算を行う場合は、**1** を選択、他のモデルで計算するときは **2** を選択。

終了後 **EXPONENTIAL MODELS** の **BMDL** と **HILL MODELS** の **BMDL** を比較し、低い方の値を採用する。ただし、**BMD/BMDL** 比が **10** 以上もしくは最低用量/**BMDL** 比が **100** 以上となる場合は除外する。

Appendix 2. PROAST (version 28.1)の計算結果の読み方

quantal data (非連続データ)

BMD_98839_kidneys_basophilic_change_of_the_tubular_epithelium							
model	npar	loglik	acc	constraint	BMD	BMDL	BMDU
null	1	-21.07	--	no	NA	NA	NA
full	4	-9.77	--	no	NA	NA	NA
one-stage	2	-10.38	yes	no	81.4	47.5	153
two-stage	3	-10.12	no	no	128	NA	NA
log-logist	3	-9.92	yes	no	139	44.1	274
Weibull	3	-10.03	yes	no	136	34.8	296
log-prob	3	-9.83	yes	no	139	48.4	257
gamma	3	-9.98	yes	no	139	34	280
logistic	2	-11.2	yes	no	292	173	466
probit	2	-11.03	yes	no	266	NA	415
E2:	2	-11.03	yes	no	266	NA	NA
H2:	2	-9.84	yes	no	132	NA	NA
BMR: 0.1							
P-value GoF: 0.05							



採用したモデルのプロット

算出されたBMDLの中から最も低いBMDLを選定。ただし、BMD/BMDL比が10以上もしくは最低用量/BMDL比が100以上となる場合は除外。

continuous data (連続データ)

ANALYSIS WITH EXPONENTIAL MODELS

```

model converged npar loglik
full 1 6 38.12
m1- 1 2 17.74
m2- 1 3 35.01
m3- 1 4 36.58
m4- 1 4 35.68
selected model: m2-
re-fitting selected model m2-
m2- 1 3 35.01
calculating C.I.....
    
```

the CED (in orig. units) and the 90 % confidence interval for group 1 is:

```

19.547 → BMD
16.348 → BMDL
24.305 → BMDU
    
```

before fitting Hill model

give name for file to store results (or type 0 if none) > 0

response: mean

ANALYSIS WITH HILL MODELS

```

model converged npar loglik
full NA 6 38.12
m1- 1 2 17.74
m2- 1 3 35.22
m3- 1 4 36.47
m4- 1 4 35.74
selected model: m2-
re-fitting selected model m2-
m2- 1 3 35.22
calculating C.I.....
    
```

the CED (in orig. units) and the 90 % confidence interval for group 1 is:

```

17.785 → BMD
14.484 → BMDL
22.6844 → BMDU
    
```

両モデルから算出されたBMDLの中から最も低いBMDLを選定。ただし、BMD/BMDL比が10以上もしくは最低用量/BMDL比が100以上となる場合は除外。

採用したモデルのプロット

