

医学統計勉強会

第8回 経時的繰り返し測定データの解析

帝京大学臨床研究センター（TARC）・帝京大学大学院公衆衛生学研究科 共催

帝京大学大学院公衆衛生学研究科

宮田 敏

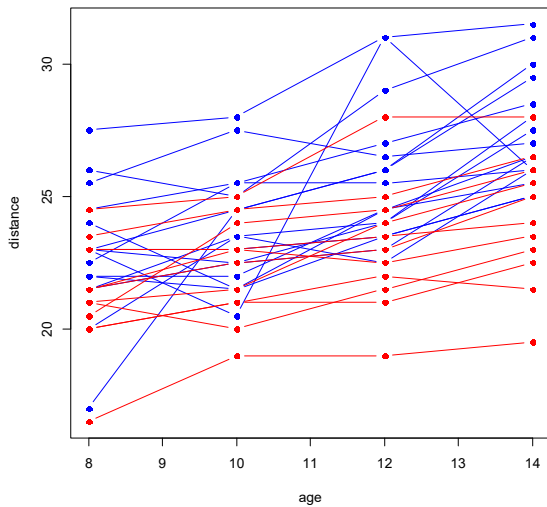
経時的繰り返し測定データの解析

臨床試験や各種の実験では、同じ対象から繰り返してデータを測定する場合がある。

- 同じ実験を3度繰り返して、反応量の平均をとる。
- 薬剤を投与し、投与前、1週間後、... の反応量を測定する。

反復測定データ (repeated measurement data) のうち、経時的に順序を変更出来ないものを経時的測定データ (longitudinal data) と呼ぶ。いくつかの群（プラセボ群 vs. 処置群など）の経時的データを比較する際は、サンプルを各群にランダムに割り付ける。

例：Orthodont—歯列矯正の成長データ



小児27名（男子16名，女子11名）の成長を，8歳から14歳まで追ったデータ。

Potthoff, R. F. and Roy, S. N. (1964) A generalized multivariate analysis of variance model useful especially for growth curve problems, *Biometrika* 51: 313-326

distance: 脳下垂体中心と翼突上顎裂の距離 (mm)

age: 計測時の被験者の年齢 (歳)

Subject: 被験者識別コード

Sex: 被験者の性別

— 男子 — 女子

- ageの上昇と共に，distanceも線形に上昇する正の相関関係がある。
- 男子のほうが，distanceの値が大きい。
- ageが上昇するに伴い，男子のほうがdistanceの上昇の傾きが大きい。

2023/12/20

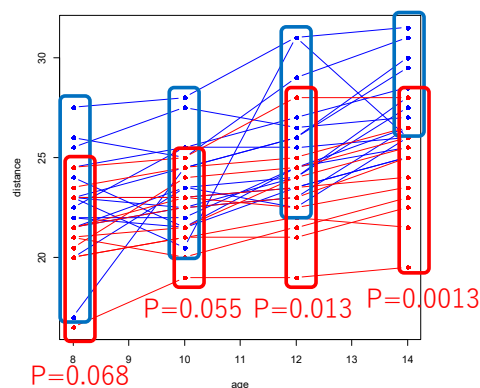
医学統計勉強会 第8回 継時的繰り返し測定データの解析

3

各時点における群間比較

Baselineおよび各観測時点での群間比較が目的。

⇒ Welch's t-test もしくは Mann-Whitney U test により，群間比較を行う。



2023/12/20

医学統計勉強会 第8回 継時的繰り返し測定データの解析

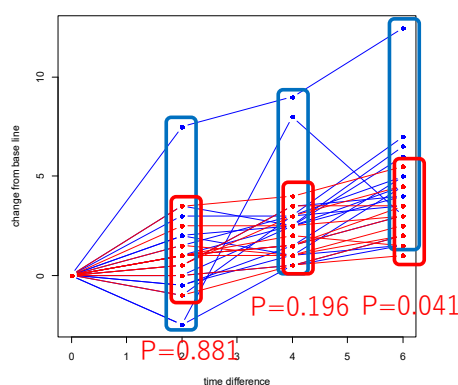
4

各時点における群間比較の問題点・注意点

- 二群比較に用いる **Welch's t-test** もしくは **Mann-Whitney U test** は、分布の形により選択する。(正規分布⇒t検定。非正規分布⇒MW検定)
- 経時測定データは、**baselineの値**に依存する。各群が無作為に割り付けられた場合、baselineの値は誤差を除いて一定のはず。⇒もしbaselineに無視出来ない差があるときは、**個体差を考慮した効果指標**を用いる。

例：**baselineからの差** (change from baseline)
baselineからの比 (percent change from baseline)

各時点における， baselineからの差の検定



- Baselineと各時点の値の差を，各時点で検定した。
- 14歳時（6時点差）の場合のみ，有意となった。
- 元データにおいてそれ以外の時点で差があるかに見えたのは，結局 baselineの値に影響されたもので，性差の成長に与える影響の差ではなかった。

各時点における群間比較の問題点・注意点（続き）

- **多重比較**：経時データの群間比較で複数の検定を同時に検定する場合、多重性を考慮して補正する必要がある。
 - **Bonferroni**の方法： k 個の検定全体の有意水準を α とするには、個々の検定の有意水準を α/k とする。
 - **Holm**の方法：検定の p 値を $p_1 \leq p_2 \leq \dots \leq p_k$ とする。
 1. $p_1 > \alpha/k$ ならば、全ての帰無仮説を棄却しない。
 2. $p_1 \leq \alpha/k$ ならば、最初の帰無仮説を棄却する。
 3. 以降、 $p_i \leq \alpha/(k-i)$ ならば i 番目の帰無仮説を棄却し、 $p_i > \alpha/(k-i)$ ならば i 番目の帰無仮説を棄却せずに終了。

Holmの方法の方が帰無仮説を棄却しやすい。現代においてBonferroniの方法を使う理由は、特にない。

各時点における群間比較の問題点・注意点（続き）

- Orthodontデータの場合、個々の有意水準は $\alpha/k = 0.05/3 = 0.0167$. 14歳時点も有意でなくなる。

```
> ### Bonferroniの方法による多重比較 ###
> p <- c(0.8805, 0.196, 0.04079)
> p.adjust(p, method="bonferroni")
[1] 1.00000 0.58800 0.12237 <----- Bonferroniの方法による修正p値
> ### Holmの方法による多重比較 ###
> p.adjust(p, method="holm")
[1] 0.88050 0.39200 0.12237 <----- Holmの方法による修正p値
```

- 各時点における群間比較の場合、一つのデータが時点を変えて「繰り返して測定される」という性質を使っていない ⇒ **反復測定の分散分析**, **Dunnett**の方法による多重比較（Baselineとの比較）

反復測定分散分析

反復測定の一元配置分散分析：

群が一つしかない場合の、経時データの解析を考える。各時点において、応答変数の平均に有意な差があるかを検定する。

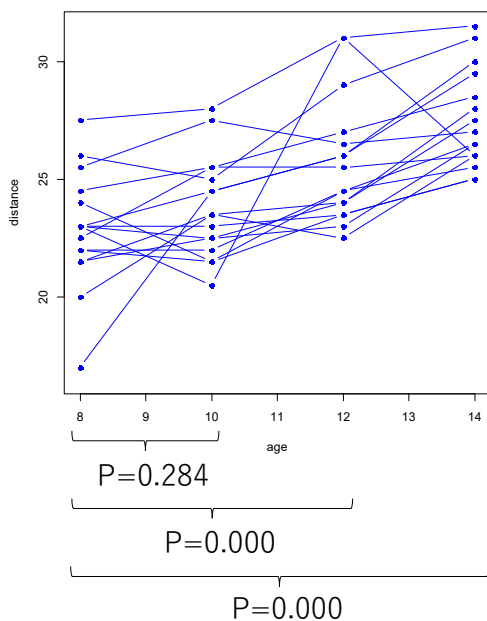
$$X_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}, \varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$$

ただし、 $\alpha_i, i=1, \dots, n$: 各サンプルの母数効果,

$\beta_j, j=0, \dots, T$: 時点の母数効果

この場合、各時点において各サンプルの値は一つしかないので繰り返しのない二元配置分散分析になる。(交互作用は想定しない)

Rによる反復測定分散分析



```
> ##### 反復測定の一元配置分散分析 #####
>
> Orthodont$age <- as.factor(Orthodont$age)
> fit.aov <- aov(distance ~ age + Subject, data=Orthodont,
+ subset = Sex == "Male")
> summary(fit.aov)
```

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
age	3	200.5	66.84	23.369	2.86e-09 ***
Subject	15	200.7	13.38	4.677	2.79e-05 ***
Residuals	45	128.7	2.86		

```
> ### Dunnettの方法による多重比較 (baselineと各時点の比較) ###
>
> library(multcomp)
> fit.dunnett.mc <- glht(fit.aov, linfct = mcp(age = "Dunnett"))
> summary(fit.dunnett.mc)
```

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Dunnett Contrasts

```
Fit: aov(formula = distance ~ age + Subject, data = Orthodont, subset = Sex == "Male")
```

```
Linear Hypotheses:
```

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
10 - 8 == 0	0.9375	0.5980	1.568	0.284
12 - 8 == 0	2.8438	0.5980	4.756	<1e-04 ***
14 - 8 == 0	4.5938	0.5980	7.682	<1e-04 ***

反復測定 of 二元配置分散分析

$$X_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \delta_{jk} + \varepsilon_{ijk}, \varepsilon_{ijk} \sim N(0, \sigma^2)$$

ただし、 α_i : 各サンプルの母数効果、 β_j : 時点の母数効果、 γ_k : 性別の母数効果、 δ_{jk} : 時点と性別の**交互作用**。

性別の母数効果 γ_k は、baselineにおける性別の差を示しているが、本当に必要なのは時間経過と共に応答変数の値に変化があるかを示す**交互作用項 δ_{jk} の有意性**。

反復測定 of 二元配置分散分析では、交互作用項の有意性検定が本質。

Rによる反復測定 of 二元配置分散分析

```
> ##### 反復測定 of 二元配置分散分析 #####
>
> fit.aov2 <- aov(distance ~ age*Sex + Subject, data=0rthodont)
> summary(fit.aov2)
```

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
age	3	237.2	79.06	40.032	1.49e-15 ***
Sex	1	140.5	140.46	71.120	1.79e-12 ***
Subject	25	377.9	15.12	7.654	3.04e-12 ***
age:Sex	3	14.0	4.66	2.362	0.0781 .
Residuals	75	148.1	1.98		

時間経過の中で有意差あり (age)

性差間で有意差あり (Sex)

年齢と性差の交互作用項
P = 0.0781 で微妙であるが、時間経過の中での**応答変数の変化パターン**に、性差間で差があると解釈すべき。

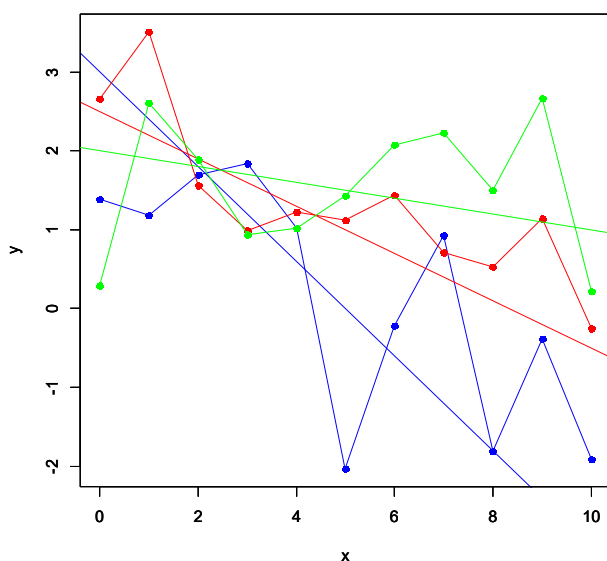
正規混合効果モデル

反復測定データに対する分散分析モデルは

1. 各個体を識別するため**多数のパラメータ**が必要 ⇒ 推定の「切れ味」が下がる。
2. 「時間」が、時点の主効果の水準として扱われ、**実数値としての意味を持たない**。

という欠点を持つ。

それぞれの個体の持つ個体差を、群ごとの平均的トレンドからのランダムな (=変量効果) 乖離としてモデル化する ⇒ **正規線型混合効果モデル**



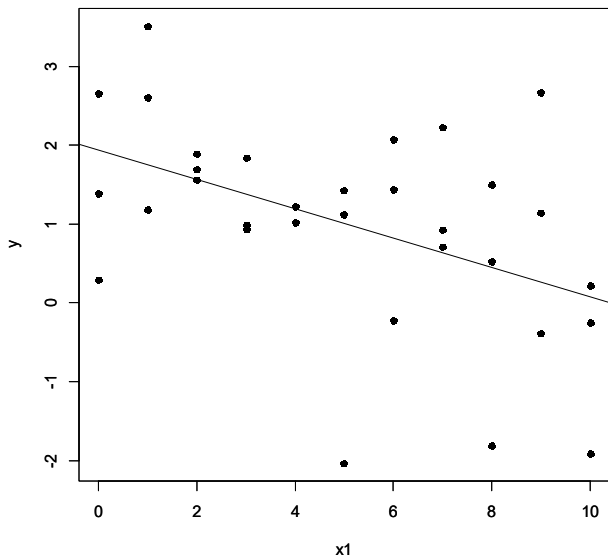
いま仮に、以下Model 1, 2, 3のデータがあったとする。

$$\text{Model1: } y = 3 - 0.6x + \varepsilon$$

$$\text{Model2: } y = 2.5 - 0.3x + \varepsilon$$

$$\text{Model3: } y = 2 - 0.1x + \varepsilon$$

1. それぞれのモデルは、線形で近似できる。
2. それぞれ切片と傾きは異なる。
3. 全体としては、右下がりの傾向がある。



```

Coefficients:
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  1.9365    0.3739    5.179 1.28e-05 ***
x1          -0.1863    0.0632   -2.948 0.00604 **
  
```

もし、モデルを無視してデータをすべてまとめてしまうと、

1. 当然のことながら、各モデルの特徴は失われる。
2. この場合、傾きが小さ目に推定される。
3. 全てのモデルを推定するには (切片, 傾き) × 3 = 6個のパラメーターが必要。

多くのパラメーターを推定することの問題点

1. 多くのものを一度に推定すると、推定の分散が大きくなる（自由度が小さくなる） ⇒ 有意差が出にくくなる。
2. 全体としての傾向は、推定できない。

$$\text{Model1: } y = 3 - 0.6x + \varepsilon$$

$$\text{Model2: } y = 2.5 - 0.3x + \varepsilon$$

$$\text{Model3: } y = 2 - 0.1x + \varepsilon$$

必要なパラメーター数

= 7

モデル数が増えると、この差は大きくなる



線形混合効果モデル (linear mixed effect model)

$$y = \beta_0 + b_0 + (\beta_1 + b_1)x + \varepsilon,$$

必要なパラメーター数

$$b_0 \sim N(0, \sigma_{b_0}^2), b_1 \sim N(0, \sigma_{b_1}^2), \varepsilon \sim N(0, \sigma^2), = 5$$


```

> item <- c(rep("I", 11), rep("II", 11), rep("III", 11))   モデルのindicator
> Data <- cbind.data.frame(y, x1, item)
>
> library(lme4)
>
> fit.lme0 <- lmer(y ~ x1 + (1 + x1 | item), data=Data)
>
>
> summary(fit.lme0)
Linear mixed model fit by REML ['EigenMod']
Formula: y ~ x1 + (1 + x1 | item)
Data: Data

REML criterion at convergence: 95.1

Scaled residuals:
   Min       1Q   Median       3Q      Max
-2.61999 -0.55320 -0.09196  0.64546  1.82209

Random effects:
 Groups   Name      Variance Std.Dev. Corr
 item    (Intercept) 0.09340  0.3056
        x1          0.02681  0.1637  -0.56
 Residual                0.78417  0.8855
Number of obs: 33, groups: item, 3

Fixed effects:
              Estimate Std. Error t value
(Intercept)   1.9365     0.3381   5.728
x1            -0.1863     0.1064  -1.752

Correlation of Fixed Effects:
(Inter)
x1 -0.589

```

切片 独立変数 混合効果を設定する変数

正規混合効果モデル（例題に戻る）

$$y_{ijk} = \beta_0 + \beta_1 x_i + \beta_2 t_j + \gamma(x_i t_j) + \varepsilon_{ijk}, \varepsilon_{ijk} \sim N(0, \sigma^2)$$

$$x_i = \begin{cases} 1: female \\ 0: male \end{cases}, t_j : time, (x_i t_j) : interaction$$



$$y_{ijk} = (\beta_0 + \beta_1) + (\beta_2 + \gamma)t_j + \varepsilon_{ijk} : female$$

$$y_{ijk} = \beta_0 + 0 + \beta_2 t_j + 0 + \varepsilon_{ijk} : male$$

各個体間の個体差（この場合は切片）を，上の母数効果モデルからのランダムな乖離として表現するため，変量効果 b_{ij} を導入する。

$$y_{ijk} = \beta_0 + \beta_1 x_i + \beta_2 t_j + \gamma(x_i t_j) + b_{ij} + \varepsilon_{ijk}, \varepsilon_{ijk} \sim N(0, \sigma^2), b_{ij} \sim N(0, \sigma_b^2)$$

混合効果 (random effect)
この場合，各サンプルは切片方向にランダムに乖離する。

まず、混合効果を無視した、母数モデルを推定してみる。

$$y_{ijk} = \beta_0 + \beta_1 x_i + \beta_2 t_j + \gamma(x_i t_j) + \varepsilon_{ijk}, \varepsilon_{ijk} \sim N(0, \sigma^2), b_{ij} \sim N(0, \sigma_b^2)$$

$$y_{ijk} = 20.25 + 0.80x_i + 0.96t_j + 0.61(x_i t_j)$$

```
> ### 通常の固定効果モデル ###
>
> Orthodont$age <- as.numeric(Orthodont$age)
> fit.lm <- lm(distance ~ age*Sex, data=Orthodont)
> summary(fit.lm)
```

```
Call:
lm(formula = distance ~ age * Sex, data = Orthodont)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-5.6156 -1.3219 -0.1682  1.3299  5.2469

Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  20.2500    0.8334   24.297 < 2e-16 ***
age           0.9591    0.3043    3.152  0.00212 **
SexMale      0.7969    1.0827    0.736  0.46337
age:SexMale  0.6097    0.3953    1.542  0.12608
```

時間 age の係数が $0.96 > 0$ であることから、時間経過と共に distance が増加する。

性別の主効果は Male で $0.78 > 0$ より、男性で大き目の傾向があるが有意でない。

交互作用は $0.61 > 0$ より、差が開く傾向があるが有意ではない。

R (lmer/パッケージ) による混合効果モデルの推定結果

```
> fit.lme1 <- lmer(distance ~ age * Sex + (1 | Subject), data=Orthodont)
> summary(fit.lme1)
Linear mixed model fit by REML t-tests use Satterthwaite approximations
lmerMod)
Formula: distance ~ age * Sex + (1 | Subject)
Data: Orthodont

REML criterion at convergence: 431

Scaled residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-3.5980 -0.4546  0.0158  0.5024  3.6862

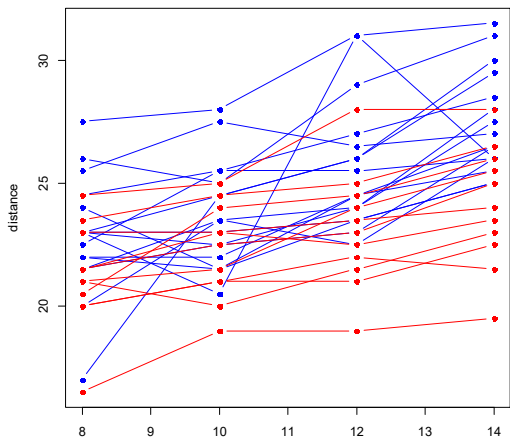
Random effects:
 Groups Name Variance Std.Dev.
 Subject (Intercept) 3.299  1.816
 Residual           1.922  1.386
Number of obs: 108, groups: Subject, 27

Fixed effects:
            Estimate Std. Error   df t value Pr(>|t|)
(Intercept)  20.2500    0.7496 59.3100  27.013 < 2e-16 ***
age           0.9591    0.1869 79.0000   5.130 2.02e-06 ***
SexMale      0.7969    0.9738 59.3100   0.818  0.4165
age:SexMale  0.6097    0.2428 79.0000   2.511  0.0141 *
```

- 性別の差は有意では無い。登録時（8歳）では、有意差がなかったことを示す。
- ageは有意。係数が正であるから、加齢に伴い、yが増加する。
- 交互作用が有意。交互作用の係数が正の値であるから、男性の場合yの増加率が大きいことを意味する。

係数の推定値は、固定効果モデルと全く同じ。しかし変量効果を導入したことで、ageの主効果と交互作用が**有意**に推定されている。

混合効果モデルの続き



```
> confint(fit.lme2)
Computing profile confidence intervals ...
                2.5 %      97.5 %
.sig01      0.86960714  2.7500615
.sig02     -1.00000000  1.0000000
.sig03      0.00000000  0.6771261
.sigma      1.09703160  1.5884953
(Intercept) 18.79934057 21.7006594
age          0.55353088  1.3646509
SexMale     -1.08758687  2.6813369
age:SexMale  0.08282116  1.1364970
2023/12/20
```

前項までのモデルは、全被験者共通の傾き、すなわち共通の成長速度を仮定していた。

改めて元データを見ると、被験者によって傾きも違って見える。

切片と傾きの両方に、変量効果を仮定することも出来る。

この場合は、あまり変わらなかった。

混合効果モデルの、その他の使い方

今回は、経時データに対して被験者のbaselineの値に変量効果を入れた。他に、混合効果モデルの使い方には以下のようなものがある。

- 被説明変数と説明変数の関係が線形ではない場合、非線形モデルに拡張する場合にも、変量効果を考えられる。

⇒ **Non-linear Mixed-effect Model**

- 被説明変数が実数の場合だけでなく、二値の場合（ロジスティック回帰）やその他の分布を持つ場合でも、変量効果を考えられる。

⇒ **Generalized Linear Mixed-effect Model (GLMM)**

非線形混合効果モデル

東日本大震災に被災した七ヶ浜町民のうち大規模半壊以上の家屋被災にあわれた方を対象とするメンタルヘルス調査を毎年10年間実施（非公表データ）

AIS	indx	age	sex	year	id
	1	76	女	2011	S00548
NA	0	44.5	女	2011	S02343
NA	1	31	男	2011	S01903
NA	1	59.9	男	2011	S02226
NA	0	57.7	男	2011	S01901

TSUNAMI_AIS.txt

- AIS アテネ不眠尺度の点数
- indx 津波目撃. 1..目の前で見た. 飲み込まれた.
- age 年齢
- sex 性別
- year 年
- id 対象者ID

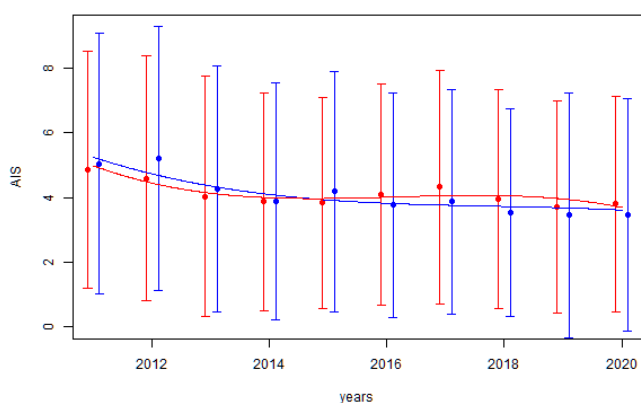
2023/12/20

医学統計勉強会 第8回 継続的繰り返し測定データの解析

23

Non-linear mixed effect model

Witness.of.Tsunami..1..Just.in.front.of..or.swallown..2..Others.



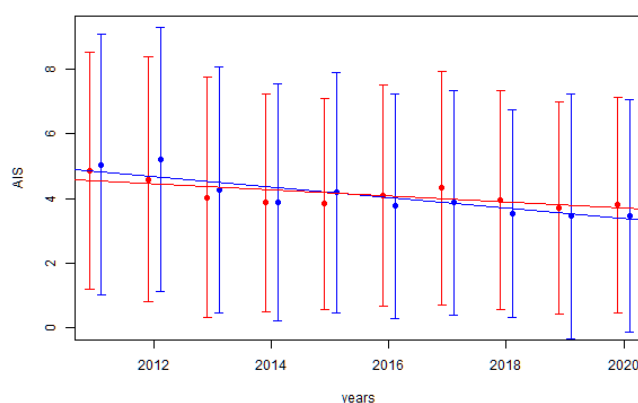
	Estimate	Std. Error	df	t value	Pr(> t)	
(Intercept)	5.2443	0.2367	1068.666	22.152	< 2e-16	***
indx	-0.2616	0.2723	1072.443	-0.961	0.336979	
bSpline(ye	-1.7692	0.4887	1033.394	-3.62	0.000309	***
bSpline(ye	-1.3574	0.3605	1309.689	-3.765	0.000174	***
bSpline(ye	-1.6298	0.2583	1082.045	-6.309	4.10E-10	***
indx:bSpli	-0.2357	0.5619	1031.084	-0.419	0.674981	
indx:bSpli	1.1401	0.4146	1308.52	2.75	0.006047	**
indx:bSpli	0.3462	0.297	1081.824	1.166	0.244073	

2023/12/20

Table 2

Liner mixed effect model

Witness.of.Tsunami..1..Just.in.front.of..or.swallown..2..Others.



	Estimate	Std. Error	df	t value	Pr(> t)	
(Intercept)	331.8572	36.95749	7651.969	8.979	< 2e-16	***
indx	-144.555	42.41369	7651.909	-3.408	0.000657	***
year	-0.16262	0.01834	7651.904	-8.867	< 2e-16	***
indx:year	0.07173	0.02105	7651.852	3.408	0.000657	***

— 津波経験無し
— 津波経験あり

医学統計勉強会 第8回 継続的繰り返し測定データの解析

24

生存時間データと混合効果モデル

生存時間データの多変量解析には、Cox比例ハザードモデルが用いられる。Coxモデルの共変量は、基本的には登録時のもののみを用いる。

しかし、観察期間中も身長、体重等の値を継続的に測定する場合がある。被験者に対して変量効果を考える必要がある。

⇒ Joint Model

Dimitris Rizopoulos “Joint Models for Longitudinal and Time-to-Event Data: With Applications in R (Chapman & Hall/CRC Biostatistics Series)” ISBN-13: 978-1439872864

Red Blood Cell Distribution Width Is Longitudinally Associated With Mortality and Anemia in Heart Failure Patients

Julio Núñez, MD; Eduardo Núñez, MD, PhD; Dimitris Rizopoulos; Gema Miñana, MD; Vicent Bodí, MD; Lourdes Bondanza, MD; Oliver Husser, MD; Pilar Merlos, MD; Enrique Santas, MD; Domingo Pascual-Figal, MD; Francisco J. Chorro, MD; Juan Sanchis, MD

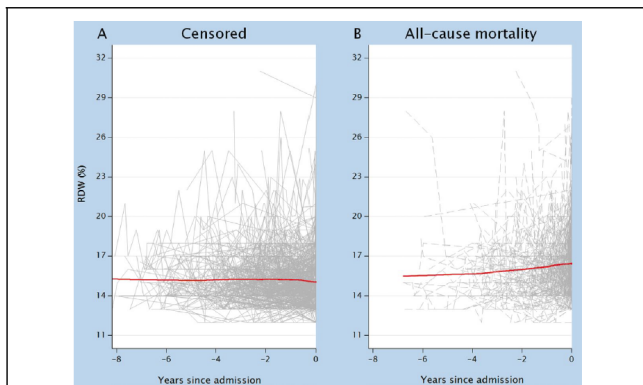


Figure 1. Subject-specific longitudinal trajectories of red blood cell distribution width (RDW) for patients who died or were censored. Solid line, fit of the loess smoother. Time scale is adjusted by taking away each patient's survival time. (A) Longitudinal trajectories across censoring; (B) longitudinal trajectories across death status. In patients who did not reach the endpoint, RDW (%) level remains relatively stable over time. In contrast, in patients who died, RDW (%) level steadily increases with time, closer to the event.

Model [†]	Exposure	Interacting variable	HR (95% CI)	P-value	P-value for interaction
1	RDW (%) [‡]	No anemia [‡]	1.11 (1.05–1.19)	0.001	0.049
		Anemia [‡]	1.04 (1.00–1.07)	0.032	
2	RDW (%) [‡]	No anemia [‡]	1.31 (1.22–1.42)	<0.001	<0.001
		Anemia [‡]	1.08 (1.04–1.13)	<0.001	
3	RDW (%) [‡]	No anemia [‡]	1.48 (1.33–1.64)	<0.001	<0.001
		Anemia [‡]	1.12 (1.06–1.18)	<0.001	
4	RDW slope [§]	No anemia [‡]	1.02 (0.98–1.07)	0.343	0.276
		Anemia [‡]	0.98 (0.92–1.04)	0.494	
5	RDW (%) [‡]	Hb<9.5g/dl [¶]	1.00	NA	0.062
		9.5≤Hb<11.0g/dl [¶]	1.09 (0.99–1.19)	0.066	
		Hb≥11.0g/dl [¶]	1.20 (1.14–1.27)	<0.001	

[†]All models included the following as baseline covariates: age>65 years (0/1), gender (M/F), logBUN, serum sodium ≤135mEq/L (0/1), logBNP, LVEF<50% (0/1) interacting with %SBP, and AF (0/1) interacting with %heart rate. [‡]Baseline variable; [§]time-varying variable. Model 1, baseline RDW (%) interacting with baseline anemia status (0/1); model 2, cumulative longitudinal RDW (%) interacting with time-varying anemia status (0/1); model 3, last RDW (%) predicted value interacting with time-varying anemia status (0/1); model 4, last RDW (%) predicted slope interacting with time-varying anemia status (0/1); model 5, last RDW (%) predicted value interacting with time-varying categories of anemia severity. AF, atrial fibrillation; CI, confidence interval; Hb, hemoglobin; HR, hazard ratio; NA, not applicable. Other abbreviations as in Table 1.

Circ J. 2014;78(2):410-8. Epub 2013 Nov 29.