

불균형 자료의 3×3 교차설계법에서 생물학적 동등성 평가

임남규¹⁾ 박상규²⁾

요약

동일한 유효성분을 가지면서 용량 혹은 형식 만이 다른 제제의 개발이 증가되고 이에 따른 두 제제 이상의 생물학적 동등성시험의 필요성이 제기되었다. 이에 이영주 등 (1998)은 온단세트론 제제에 대한 생물학적 동등성시험에서 3×3 교차설계법을 적용하였다. 그러나 3×3 교차설계법에서 각 순서에 피험자의 수가 다르거나 실험중에 결락(dropout)되는 피험자가 발생하는 경우에는 일반적인 통계적 방법을 적용할 수 없었다. 본 연구에서는 이러한 경우에 제제효과와 추론에 대한 통계적 방법과 생물학적 동등성 시험 방법을 제안하고 모의실험을 통하여 생물학적 동등성평가의 정도를 측정하였다.

Keywords: 생물학적 동등성, 3×3 교차설계법, ± 20 기준, 신뢰구간법.

1. 서론

교차설계법은 각 블록이 다른 기간에 걸쳐서 하나 이상의 제제형식을 복용하는 것으로 확률화 블록계획법의 변형된 형태이다. 여기서 블록은 피험자나 피험자들의 그룹이 된다. 현재 두 제제 즉, 시험제제(test drug)와 대조제제(reference drug)의 생물학적 동등성시험에는 일반적으로 2×2 교차설계법이 사용된다. 그러나 최근 동일한 유효성분을 가지면서 용량 혹은 형식만 다른 제제의 개발이 증가함에 따라 여러 가지 제제에 대한 생체이용률 또는 생물학적 동등성 시험의 필요성이 대두되었고 중앙약심은 동일한 회사에서 개발된 제 품으로서 동일한 유효성분을 함유하고 용량만이 다른 두 시험제제에 대하여 동시에 시험을 행할 경우 3×3 교차설계법을 인정하기로 하였다. 이를 계기로 이영주 등 (1998)은 온단 세트론 제제에 대한 생물학적 동등성시험에 3×3 교차설계법을 적용하였다. 3×3 교차설계법을 잘 활용하면 서로 용량 혹은 형식이 다른 여러제제를 개발하는데 드는 비용을 줄일 수 있는 장점이 있다. 오현숙 등 (1999)과 Ko and Oh (2000)는 3×3 교차설계법에서 세 번의 복용기간(period)이 있기 때문에 실험의 기간이 길어질 뿐만 아니라 이로 인하여 실험의 대상자들이 특히 세 번째 기간에 결락(drop out)되기 쉽고 이런 경우에 교차설계법에서 제제효과와 일반적 통계적 추론을 직접 적용하는 것이 어렵다고 지적하고 있다. Chow and Shao (1997)는 두 제제의 생물학적 동등성 평가를 위한 반복이 있는 교차설계법에서 불완비 또는 결락이 존재하는 경우 통계적 방법을 제시하였고 임남규 (2000)는 3×3 교차설계법에서 자료가 결락이 발생한 경우 혹은 불균형인 경우에 통계적방법을 제시하였다. 그러

1) (156-756) 서울시 동작구 흑석동 221, 중앙대학교 응용통계학과, 강사
E-mail: ala88@netsgo.com

2) (156-756) 서울시 동작구 흑석동 221, 중앙대학교 응용통계학과, 교수
E-mail: spark@chungang.edu

나 제제효과의 통계적 동일성이 생물학적 동등성을 의미하는 것이 아니므로, 본 연구는 세 제제 즉 대조약과 두 개의 시험약의 생물학적 동등성을 보이기 위하여 임남규 (2000)의 연구에 기초로 ± 20 기준을 적용한 신뢰구간법을 이용하여 생물학적 동등성 여부를 결정하는 방법을 제시하고 모의실험을 통하여 그 정도를 알아보았다.

2. 3×3 교차설계법의 모형

대조제제(reference drug)와 두개의 시험제제(test drug)들을 각 순서에서 교차 투여하였을 경우의 3×3 교차설계법은 표 2.1과 같다. y_{ijk} 를 j 번째 기간과 k 번째 순서에서 i 번째 피험자의 생체이용률(bioavailability) 측정치이고, μ 를 전체평균, q_k 를 순서효과, p_j 를 기간효과, $t_{(j,k)}$ 를 제제의 효과라고 할 때 3×3 교차설계법에서 통계적 모형을 (2.1)과 같이 설정할 수 있다.

$$y_{ijk} = \mu + s_{ik} + p_j + q_k + t_{(j,k)} + e_{ijk} \quad (2.1)$$

여기에서 μ 는 전체평균; s_{ik} 는 k 번째 순서에 있는 i 번째 실험단위의 고유효과 ($i = 1, 2, \dots, n_k, k = 1, 2, 3$); p_j 는 j 번째 기간의 고정효과($j = 1, 2, 3$); q_k 는 k 번째 순서의 효과 ($k = 1, 2, 3$); $t_{(j,k)}$ 는 k 번째 순서에서 j 번째 기간에 투여된 제제의 고정효과; e_{ijk} 는 k 번째 순서에서 j 번째 기간에 i 번째 실험 단위에서 발생하는 오차이고 s_{ik} 와 독립이다. 제제효과를 다시 정리하면

$$t_{(j,k)} = \begin{cases} t_R & , (j, k) = (1, 1), (2, 2), (3, 3) \\ t_1 & , (j, k) = (2, 1), (3, 2), (1, 3) \\ t_2 & , (j, k) = (3, 1), (1, 2), (2, 3) \end{cases}$$

이다. 위 모형 (2.1)에서 기간, 순서 그리고 제제효과는 고정효과를 가정하고 다음의 제약식을 만족한다.

$$\sum_j p_j = \sum_k q_k = \sum_{j,k} t_{(j,k)} = 0$$

또한 s_{ik} 와 e_{ijk} 는 랜덤효과로 각각 $s_{ik} \sim iid N(0, \sigma_s^2), e_{ijk} \sim iid N(0, \sigma_e^2)$ 이고 $\{s_{ik}\}$ 와 $\{e_{ijk}\}$ 은 서로 독립을 가정한다.

불균형자료를 가지는 경우 혹은 결락 즉 피험자가 중도에 탈락된 경우의 통계적 추론을 위하여 다음을 가정하자.

1. m_{k1} 은 k 번째 순서에서 세번의 모든 기간에 자료를 가지고 있는 피험자의 수.
2. $m_{k2} - m_{k1}$ 은 k 번째 순서에서 첫번째와 두번째 기간에만 자료를 가지고 있는 피험자의 수.
3. $m_{k3} - m_{k2}$ 은 k 번째 순서에서 두번째와 세번째 기간에만 자료를 가지고 있는 피험자의 수.

표 2.1: 3 × 3 교차설계법

	Period					
	I		II		III	
Sequence 1	Reference	Washout	Test 1	Washout	Test 2	
Sequence 2	Test 2	Washout	Reference	Washout	Test 1	
Sequence 3	Test 1	Washout	Test 2	Washout	Reference	

4. $n_k - m_{k3}$ 은 k 번째 순서에서 첫번째와 세번째 기간에만 자료를 가지고 있는 피험자의 수.

5. 세번의 기간중에서 오직 한번의 기간에만 자료를 가지고 있는 자료는 제외한다.

여기서 모형 (2.1)을 다음과 같이 쓸 수 있다.

$$y = X\beta + Zs + e$$

그리고 X, Z, H 는 적당한 행렬이고 y 와 s 그리고 e 는 각각 y_{ijk} 과 s_{ik} 그리고 e_{ijk} 의 벡터라고 할 때 $HZ = 0$ 이 되는 다음의 적당한 선형결합 Hy 을 고려하자. 만일 $HZ = 0$ 이면 피험자의 고유 랜덤효과의 분포에 관계없이 모수 벡터 β 의 추론이 가능하다. 그러면

$$Hy = HX\beta + He \tag{2.2}$$

이 된다. 그러나 모형 (2.2)하에서는 β 의 모든 원소를 추정 할 수는 없다. 그러나 임상실험 혹은 생체이용률 시험의 관심의 주요한 대상이 되는 모수는 제제의 효과의 차이 $t_R - t_1$ 과 $t_R - t_2$ 이다. 따라서 아래에서 대상내 차이를 취하는 특별한 변환 H 을 고려함으로써 관심의 대상이 되는 모수의 불편추정량들을 구할 수 있다. 여기서 대상내 차는 결락되지 않은 피험자의 경우에는 처음 두 기간의 차이 그리고 마지막 두 기간의 차이를 취하고 결락이 있는 피험자의 경우에는 두 자료의 차이를 취함으로써 얻어진다. d 를 피험자의 순서에 따라 배열된 이러한 차들의 벡터라고 하면 이 벡터의 원소들은

$$\begin{aligned} d_{i1k} &= y_{i1k} - y_{i2k} \\ &= p_1 - p_2 + t_{(1,k)} - t_{(2,k)} + e_{i1k} - e_{i2k}, \quad 1 \leq i \leq m_{k2} \\ d_{i2k} &= y_{i2k} - y_{i3k} \\ &= p_2 - p_3 + t_{(2,k)} - t_{(3,k)} + e_{i2k} - e_{i3k}, \quad 1 \leq i \leq m_{k1}, m_{k2} < i \leq m_{k3} \\ d_{i3k} &= y_{i1k} - y_{i3k} \\ &= p_1 - p_3 + t_{(1,k)} - t_{(3,k)} + e_{i1k} - e_{i3k}, \quad m_{k3} < i \leq n_k \end{aligned}$$

이되며, 여기에서 $k = 1, 2, 3$ 이다. 여기서 $\mathbf{HZ} = \mathbf{0}$ 을 만족하는 \mathbf{H} 가 존재하고 이러한 변환에 의한 벡터 $\mathbf{d} = \mathbf{Hy}$ 는 \mathbf{s} 에 독립이다. 그리고 m_{kl} 들이 \mathbf{e} 에 독립이라고 가정할 때, 다음이 성립한다.

$$\mathbf{d} \sim N(\mathbf{W}\boldsymbol{\theta}, \sigma_e^2 \mathbf{G}) \tag{2.3}$$

여기에서

$$\boldsymbol{\theta} = (p_1 - p_2 \quad p_2 - p_3 \quad t_R - t_1 \quad t_R - t_2)'$$

이고 행렬 \mathbf{G} 는 다음과 같이 주어진다.

$$\mathbf{G} = \begin{bmatrix} \mathbf{I}_{m_{11}} \otimes \mathbf{B} & \mathbf{0} & \mathbf{0} & \mathbf{0} & \mathbf{0} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & 2\mathbf{I}_{n_1 - m_{11}} & \mathbf{0} & \mathbf{0} & \mathbf{0} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{0} & \mathbf{I}_{m_{21}} \otimes \mathbf{B} & \mathbf{0} & \mathbf{0} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{0} & \mathbf{0} & 2\mathbf{I}_{n_2 - m_{21}} & \mathbf{0} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{0} & \mathbf{0} & \mathbf{0} & \mathbf{I}_{m_{31}} \otimes \mathbf{B} & \mathbf{0} \\ \mathbf{0} & \mathbf{0} & \mathbf{0} & \mathbf{0} & \mathbf{0} & 2\mathbf{I}_{n_3 - m_{31}} \end{bmatrix}$$

여기서

$$\mathbf{B} = \begin{pmatrix} 2 & -1 \\ -1 & 2 \end{pmatrix}$$

이고 \mathbf{I}_q 는 차수가 q 인 단위행렬(identity matrix)이고 $\mathbf{0}$ 는 모든원소가 0으로 되어있는 적당한 차수의 행렬이다. \otimes 는 Kronecker 곱을 의미한다. 또한 식 (2.3)에서 \mathbf{W} 는

$$\mathbf{W} = \begin{bmatrix} \mathbf{1}_{m_{11}} \otimes \begin{pmatrix} 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & 1 \end{pmatrix} \\ \mathbf{1}_{m_{12} - m_{11}} \otimes \begin{pmatrix} 1 & 0 & 1 & 0 \end{pmatrix} \\ \mathbf{1}_{m_{13} - m_{12}} \otimes \begin{pmatrix} 0 & 1 & -1 & 1 \end{pmatrix} \\ \mathbf{1}_{n_1 - m_{13}} \otimes \begin{pmatrix} 1 & 1 & 0 & 1 \end{pmatrix} \\ \mathbf{1}_{m_{21}} \otimes \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & -1 \\ 0 & 1 & 1 & 0 \end{pmatrix} \\ \mathbf{1}_{m_{22} - m_{21}} \otimes \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & -1 \end{pmatrix} \\ \mathbf{1}_{m_{23} - m_{22}} \otimes \begin{pmatrix} 0 & 1 & 1 & 0 \end{pmatrix} \\ \mathbf{1}_{n_2 - m_{23}} \otimes \begin{pmatrix} 1 & 1 & 1 & -1 \end{pmatrix} \\ \mathbf{1}_{m_{31}} \otimes \begin{pmatrix} 1 & 0 & -1 & 1 \\ 0 & 1 & 0 & -1 \end{pmatrix} \\ \mathbf{1}_{m_{32} - m_{31}} \otimes \begin{pmatrix} 1 & 0 & -1 & 1 \end{pmatrix} \\ \mathbf{1}_{m_{33} - m_{32}} \otimes \begin{pmatrix} 0 & 1 & 0 & -1 \end{pmatrix} \\ \mathbf{1}_{n_3 - m_{33}} \otimes \begin{pmatrix} 1 & 1 & -1 & 0 \end{pmatrix} \end{bmatrix}$$

이다. 여기에서 $\mathbf{1}_q$ 는 차원이 q 이며 모든원소가 1로 되어있는 벡터이다. 이때 \mathbf{G} 는 양정치행렬으로 $\mathbf{G} = \mathbf{K}\mathbf{K}'$ 을 만족하는 정칙행렬 \mathbf{K} 가 존재한다. 이를 이용하여 식 (2.2)를 선형변환하면 θ 를 추정하는데 BLUE(best linear unbiased estimator)인 일반화최소제곱추정량을 다음과 같이 구할 수 있다.

$$\hat{\theta} = (\mathbf{W}'\mathbf{G}^{-1}\mathbf{W})^{-1}\mathbf{W}'\mathbf{G}^{-1}\mathbf{d}$$

추정량 $\hat{\theta}$ 의 기대값벡터와 분산-공분산 행렬은 다음과 같다.

$$\begin{aligned} E(\hat{\theta}) &= \theta \\ Var(\hat{\theta}) &= (\mathbf{W}'\mathbf{G}^{-1}\mathbf{W})^{-1}\sigma_e^2 \end{aligned} \tag{2.4}$$

그리고 GLS 추정방법에 의하여 발생되는 잔차제곱합(RSS)은

$$RSS = \mathbf{d}\mathbf{G}^{-1}[\mathbf{I} - \mathbf{W}(\mathbf{W}'\mathbf{G}^{-1}\mathbf{W})^{-1}\mathbf{W}'\mathbf{G}^{-1}]\mathbf{d} \tag{2.5}$$

이고 기대값은

$$E(RSS) = (n_1 + n_2 + n_3 + m_{11} + m_{21} + m_{31} - 4)\sigma_e^2$$

이 된다. 따라서 σ_e^2 의 불편추정량은 다음과 같이 구할 수 있다.

$$\hat{\sigma}_e^2 = \frac{RSS}{n_1 + n_2 + n_3 + m_{11} + m_{21} + m_{31} - 4}$$

따라서

$$\chi^2 = \frac{(n_1 + n_2 + n_3 + m_{11} + m_{21} + m_{31} - 4)RSS}{\sigma_e^2}$$

는 자유도 $n_1 + n_2 + n_3 + m_{11} + m_{21} + m_{31} - 4$ 를 가지는 χ^2 분포를 따른다.

3. 제제효과의 검정

제제효과의 검정을 위하여 다음의 가설

$$H_0 : t_R = t_1 = t_2, \quad H_1 : \text{not } H_0 \tag{3.1}$$

은 선형결합 $\mathbf{A}\theta = \mathbf{c}$ 으로 표현할 수 있다. 여기서 \mathbf{A} 는 계수(rank) p 를 갖는 $p \times q$ 행렬이고 \mathbf{c} 은 $q \times 1$ 벡터이다. 즉 \mathbf{A} 와 \mathbf{c} 를 다음과 같이

$$\mathbf{A} = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}, \quad \mathbf{c} = \mathbf{0}$$

로 놓으면 우리가 원하는 제제효과에 대한 가설 (3.1)을 검정할 수 있다. $H_0 : \mathbf{A}\theta = \mathbf{c}$ 을 θ 에 관한 제약조건(restriction)이라 하면, 이 조건을 만족시키는 $\tilde{\theta}$ 중에서 오차제곱합을 최소로 하는 $\tilde{\theta}$ 를 찾기위하여 Lagrange 배수법을 사용하여 구하면

$$\begin{aligned} \tilde{\theta} &= \{\mathbf{I} - (\mathbf{W}'\mathbf{G}^{-1}\mathbf{W})^{-1}\mathbf{A}'(\mathbf{A}(\mathbf{W}'\mathbf{G}^{-1}\mathbf{W})\mathbf{A}')^{-1}\}\hat{\theta} \\ &+ (\mathbf{W}'\mathbf{G}^{-1}\mathbf{W})^{-1}\mathbf{A}'(\mathbf{A}(\mathbf{W}'\mathbf{G}^{-1}\mathbf{W})\mathbf{A}')^{-1}\mathbf{c} \end{aligned}$$

이 되고 θ 가 $\hat{\theta}$ 를 취할 때 잔차제곱합(RSS_H)를 구해보면

$$RSS_H = RSS + (\mathbf{A}\hat{\theta} - \mathbf{c})' [\mathbf{A}(\mathbf{W}'\mathbf{G}^{-1}\mathbf{W})^{-1}\mathbf{A}'] (\mathbf{A}\hat{\theta} - \mathbf{c})$$

을 얻는다. 제약조건을 가하여 얻은 것이 RSS_H 이므로 제약조건이 없이 얻어진 RSS 보다 RSS_H 가 크거나 같거나 할 것이며, 그 차이를 Q 로 놓으면

$$\begin{aligned} Q &= RSS_H - RSS \\ &= (\mathbf{A}\hat{\theta} - \mathbf{c})' [\mathbf{A}(\mathbf{W}'\mathbf{G}^{-1}\mathbf{W})^{-1}\mathbf{A}']^{-1} (\mathbf{A}\hat{\theta} - \mathbf{c}) \end{aligned}$$

이 된다. 여기에서

$$\begin{aligned} \mathbf{d} &\sim N(\mathbf{W}\theta, \mathbf{G}\sigma_e^2) \\ \hat{\theta} &\sim N(\theta, (\mathbf{W}'\mathbf{G}^{-1}\mathbf{W})^{-1}\sigma_e^2) \\ \mathbf{A}\hat{\theta} - \mathbf{c} &\sim N(\mathbf{A}\theta - \mathbf{c}, \mathbf{A}(\mathbf{W}'\mathbf{G}^{-1}\mathbf{W})^{-1}\mathbf{A}'\sigma_e^2) \end{aligned}$$

이므로

$$\frac{Q}{\sigma_e^2} = (\mathbf{A}\hat{\theta} - \mathbf{c})' [\sigma_e^2 \mathbf{A}(\mathbf{W}'\mathbf{G}^{-1}\mathbf{W})^{-1}\mathbf{A}']^{-1} (\mathbf{A}\hat{\theta} - \mathbf{c})$$

는 자유도는 2 이고 비심도(noncentrality parameter)는

$$\lambda = (\mathbf{A}\theta - \mathbf{c})' [\mathbf{A}(\mathbf{W}'\mathbf{G}^{-1}\mathbf{W})^{-1}\mathbf{A}']^{-1} (\mathbf{A}\theta - \mathbf{c})/2\sigma_e^2$$

인 비중심 χ^2 -분포를 따른다. RSS 의 분포는 식 (2.5)으로 부터

$$\frac{RSS}{\sigma_e^2} \sim \chi^2(n_1 + n_2 + n_3 + m_{11} + m_{21} + m_{31} - 4)$$

이다. 또한 RSS 와 Q 가 독립이므로

$$\begin{aligned} F &= \frac{Q/p\sigma_e^2}{RSS/\sigma_e^2\eta} \\ &= \frac{(\mathbf{A}\hat{\theta} - \mathbf{c})' [\mathbf{A}(\mathbf{W}'\mathbf{G}^{-1}\mathbf{W})^{-1}\mathbf{A}']^{-1} (\mathbf{A}\hat{\theta} - \mathbf{c})}{pRSS/(n_1 + n_2 + n_3 + m_{11} + m_{21} + m_{31} - 4)} \end{aligned} \quad (3.2)$$

는 비중심모수

$$\lambda = (\mathbf{A}\theta - \mathbf{c})' [\mathbf{A}(\mathbf{W}'\mathbf{G}^{-1}\mathbf{W})^{-1}\mathbf{A}']^{-1} (\mathbf{A}\theta - \mathbf{c})/2\sigma_e^2$$

을 갖는 $F_{p,\eta}$ 분포를 따른다. 여기서 $\eta = (n_1 + n_2 + n_3 + m_{11} + m_{21} + m_{31} - 4)$ 이다. 따라서 식(3.2)를 이용하여 가설 (3.1)을 검정할 수 있다.

표 3.1: 3 × 3 교차설계법의 모의실험 결과(결락비율 5%일 때)

Reference mean	Test1 mean	Test2 mean	CV ^(*) (%)	B.E Rate ^(**) (Test1)	B.E Rate ^(***) (Test2)	Rejection rate of testing (3.1)
100	100	100	5	1.000	1.000	0.110
			10	1.000	1.000	0.090
			15	1.000	1.000	0.094
			20	0.984	0.988	0.094
100	110	90	5	1.000	1.000	1.000
			10	0.981	0.994	1.000
			15	0.836	0.892	0.999
			20	0.692	0.694	0.968
100	120	80	5	0.055	0.014	1.000
			10	0.081	0.032	1.000
			15	0.080	0.046	1.000
			20	0.105	0.033	1.000

(*) : $(\sigma_e/\mu_R) \times 100$

(**) : 대조제제와 시험제제1과의 생물학적 동등성 판정비율

(***) : 대조제제와 시험제제2와의 생물학적 동등성 판정비율

표 3.2: 3 × 3 교차설계법의 모의실험 결과(결락비율 10%일 때)

Reference mean	Test1 mean	Test2 mean	CV (%)	B.E Rate (Test1)	B.E Rate (Test2)	Rejection rate of testing (3.1)
100	100	100	5	1.000	1.000	0.090
			10	1.000	1.000	0.104
			15	0.993	0.996	0.101
			20	0.973	0.976	0.113
100	110	90	5	1.000	1.000	1.000
			10	0.935	0.968	1.000
			15	0.802	0.810	0.998
			20	0.640	0.670	0.979
100	120	80	5	0.004	0.004	1.000
			10	0.030	0.009	1.000
			15	0.055	0.020	1.000
			20	0.054	0.034	1.000

표 3.3: 3 × 3 교차설계법의 모의실험 결과(결락비율 15%일 때)

Reference mean	Test1 mean	Test2 mean	CV (%)	B.E Rate (Test1)	B.E Rate (Test2)	Rejection rate of testing (3.1)
100	100	100	5	1.000	1.000	0.109
			10	1.000	1.000	0.097
			15	0.988	0.991	0.118
			20	0.945	0.941	0.109
100	110	90	5	0.999	0.998	1.000
			10	0.877	0.897	1.000
			15	0.698	0.700	0.994
			20	0.505	0.504	0.942
100	120	80	5	0.001	0.000	1.000
			10	0.015	0.003	1.000
			15	0.027	0.015	1.000
			20	0.053	0.025	1.000

4. 생물학적 동등성 시험

지금까지 세 제제효과의 동일성에 대한 통계적 검정에 대하여 살펴보았다. 그러나 제제효과의 동일성에 대한 귀무가설을 기각하는데 실패한것이 제제들간에 생물학적 동등성을 의미하는것은 아니며 따라서 동일성검정은 제제들간의 생물학적 동등성을 평가하는 사전분석 정도로 이용된다. 평균생체이용률의 생물학적 동등성을 보이기 위해서는 대조제제와 시험제제의 평균의 비가 (80%, 120%)에 포함되거나 혹은 대조제제와 시험제제의 차이가 대조제제의 $\pm 20\%$ 안에 있으면 생물학적으로 동등하다고 인정된다. 그동안 이러한 생물학적 동등성을 보이기 위한 여러 가지 통계적 방법들이 제안되어 왔는데 신뢰구간접근법으로 Westlake (1972)와 Metzler (1974)가 제안한 신뢰구간법과 Fieller 정리에 기초한 Locke (1984)의 방법과 Chow and Shao (1990)가 제안한 신뢰영역을 이용한 방법 등이 있고 구간가설검정법과 관련하여 Schuirmann (1981, 1987)이 제안한 두 단측검정을 이용한 방법과 Anderson and Hauck (1983)가 제안한 방법 등이 있다. 신뢰구간법은 $\pm 20\%$ 기준 하에서 대조제제와 시험제제의 평균생체이용률의 차이 즉, $(\mu_R - \mu_T)$ 의 $100 \times (1 - \alpha)\%$ 신뢰구간이 대조제제의 평균의 $\pm 20\%$ 이내에 있으면 두 제제가 생물학적으로 동등하다고 결론내리는 방법이다. 본 연구에서는 이 신뢰구간법을 이용하여 불균형자료를 가지는 3×3 교차설계법에서의 생물학적 동등성을 평가하는 방법을 살펴보고자 한다. 식 (2.4)에서 ψ_{ii} 를 $(\mathbf{W}'\mathbf{G}^{-1}\mathbf{W})^{-1}$ 의 i 번째 대각선상의 값이라고 하면 $Var(\hat{\theta}_i) = \psi_{ii}\sigma_e^2$ 이므로 대조제제와 시험제제들간의 평균생체이용률의 차이 즉 $(\mu_R - \mu_{t_1})$ 과 $(\mu_R - \mu_{t_2})$ 의 신뢰계수 $(1 - \alpha) \times 100\%$ 의 Dunnett 동시 신뢰구간은

$$\begin{aligned} (\widehat{\mu_R - \mu_{t_1}}) \pm d(2, \eta, \alpha/2) \sqrt{\psi_{33}RSS/\eta} \\ (\widehat{\mu_R - \mu_{t_2}}) \pm d(2, \eta, \alpha/2) \sqrt{\psi_{44}RSS/\eta} \end{aligned}$$

으로 구할 수 있으며 이 신뢰구간이 대조약의 평균 즉 μ_R 의 $\pm 20\%$ 안에 포함되면 두 제제가 생물학적으로 동등하다고 결론을 내리게 된다.

5. 모의실험

본 모의실험에서는 앞에서 제안한 불균형과 불완비 자료를 가지는 3×3 교차설계법에서의 통계적 방법과 신뢰구간법을 이용하여 세 제제효과의 동일성검정과 생물학적 동등성 평가의 정도를 확인해 보았다. 세 번의 순서에서 각 순서에 피험자의 수가 다른 경우를 고려하기 위하여 피험자의 수를 10 ~ 14에서 임의로 추출하여 배정하였고 불완비를 고려하기 위하여 각 기간에 불완비 자료의 비율을 5%, 10%, 15%로 하여 추출하였다. 전체평균 $\mu = 100$ 으로하고 대조제제효과 $t_R = 0$ 으로 하고 $t_R + t_1 + t_2 = 0$ 을 만족하도록 t_1 과 t_2 를 변화해가며 생물학적 동등성의 판정비율을 구하였다. 즉, 평균생체이용률의 비 μ_{t_1}/μ_R 과 μ_{t_2}/μ_R 를 각각 0.8 ~ 1 과 1 ~ 1.2 로 변화하였고 변동계수(CV)를 5 ~ 20으로 변화해가며 1,000번 반복실험하였다. 여기에서 $CV = (\sigma_e/\mu_R) \times 100$ 이고 가설 (3.1)의 검정의 유의수준과 신뢰구간법의 α 는 0.1로 하였다. 표 3.1, 표 3.2와 표 3.3에서 대조제제와 시험제제의 평균 생체이용률이 같을 경우, 가설 (3.1)의 검정 결과가 유의수준을 잘 맞추고 있음을 알 수

있다. 표 3.1에서 결락비율이 5%이고 CV 가 5%, 10%, 15% 일 때 신뢰구간이 생물학적 동등구간에 포함될 확률이 100%이고 반면에 CV 가 20%로 커지면 98.4%, 98.8% 로 동등구간에 포함될 확률이 떨어짐을 알 수 있다. 또한 동일한 변동계수 CV 하에서 시험제제들의 생체이용률과 대조제제의 생체이용률의 차가 커지면서 신뢰구간이 생물학적 동등구간에 포함될 확률이 작아지고 있음을 알 수 있다. 또한 결락의 비율을 5%, 10%, 15%로 증가함에 따라서 생물학적 동등구간에 포함되는 비율이 점차로 감소함을 알 수 있다.

6. 결론

3 × 3 교차설계법은 각 순서의 피험자의 수가 다른 경우에 혹은 실험의 중간에 결락이 발생하는 경우에 기존의 방법으로는 σ_e^2 의 불편추정량을 구하기 어려워 피험자의 수를 동일하게 유지해야하고 임상실험에서 발생할 수 있는 결락을 허용하지 않았다. 본 연구에서 결락 혹은 불균형이 발생한 경우 관측치의 차이에 기초한 방법을 이용한 세 제제의 효과에 대한 검정방법을 제안하였고 신뢰구간법을 이용하여 생물학적 동등성을 평가하는 방법을 제시하였다. 또한 모의실험을 통하여 그 정도를 평가하여 보았다.

참고문헌

- [1] 오현숙, 고승곤, 김정일, 박상규 (1999). 두 개의 제제형식과 기존 제제간의 생물학적 동등성 검증, <응용통계연구>, 제12권, 제1호, 241-251.
- [2] 이영주, 이명걸, 정석제, 이민화, 심창구 (1998). 3 × 3 라틴방격법 모델에 따른 생물학적 동등성 시험의 통계적 해석: 온단세트론 제제에 대한 적용의 예, *J. Kor. pharm. Sci.*, **28**, 35-42.
- [3] 임남규 (2000). 새로운 두 제제와 대조제제의 생물학적 동등성 평가를 위한 교차설계법, 박사학위논문, 중앙대학교.
- [4] Anderson, S. and Hauck, W.W. (1983). A new procedure for testing equivalence in comparative bioavailability and other clinical trials, *Communications in Statistics - Theory and Methods*, **12**, 2663-2692.
- [5] Chow, S.C. and Shao, J. (1990). An alternative approach for the assessment of bioequivalence between two formulations of a drug, *Biometrical Journal*, **32**, No. 8, 969-976.
- [6] Chow, S.C. and Shao, J. (1997). Statistical methods for two-sequence three-period cross-over designs with incomplete data, *Statistics in Medicine*, **16**, 1031-1039.
- [7] Ko, S.G. and Oh, H.S. (2000). Assessing bioequivalence with two new drug formulation and a reference formulation. *Journal of the Korean Statistical Society*, **29**, 219-229.

- [8] Locke, C.S. (1984). An exact confidence interval for untransformed data for the ratio of two formulation means. *J. Pharmacokin. Biopharm*, **12**, 649-655.
- [9] Metzler, C.M. (1974). Bioavailability : A problem in equivalence. *Biometrics*, **30**, 309-317.
- [10] Schuirmann, D.J. (1981). On hypothesis testing to determine if the mean of a normal distribution is contained in a known interval. *Biometrics*, **37**, p. 617 (Abstract).
- [11] Schuirmann, D.J. (1987). A comparison of the two one-sided tests procedure and the power approach for assessing the equivalence of average bioavailability. *J. Pharmacokin. Biopharm*, **15**, 657-680.
- [12] Westlake, W.J. (1972). Use of confidence intervals in analysis of comparative bioavailability trials. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. **61**, 1340-1341.
- [13] Westlake, W.J. (1973). Symmetrical confidence intervals for bioequivalence trials *Biometrics*, **32**, 741-744.

[2001년 4월 접수, 2001년 6월 채택]

Assessing Bioequivalence in 3×3 Cross-over Design with Unbalanced Data

Nam-kyoo Lim¹⁾ Sang-gue Park²⁾

ABSTRACT

In recent years, the generic drug products which provide the same therapeutic effect with an innovator drug product have become very popular in pharmacokinetic area. Since assessing bioequivalence of a generic drug with the innovator is required prior to distribution in markets, bioequivalence studies in comparing several generic drugs simultaneously with the innovator is highly interested. In such circumstance, the Korean Drug Administration announces officially the partial acceptance regulation for the bioequivalence with the results from a 3×3 cross-over designs when the generic drugs which contain same active ingredients and are produced by a same company are compared with the innovator in a experiment. Lee et al.(1998), motivated from this new policy, try to assess bioequivalence of Ondansetron drugs using the 3×3 latin squares. But when 3×3 cross-over design have dropout or is unbalanced, standard statistical methods may not apply directly. For drug and period effects, we propose a method based on difference of the observations that eliminates the random subject effects.

Keywords: Bioequivalence; 3×3 cross-over design; ± 20 rule; Confidence interval approach.

1) Lecturer, Department of Applied Statistics, Chung-ang University.

E-mail: ala88@netsgo.com

2) Professor, Department of Applied Statistics, Chung-ang University.

E-mail: spark@chungang.edu