

JMP トレーニング

JMP による生物検定法

1999 年 12 月 1 日

高橋 行雄

0. JMPで生物検定法	1
1. DIRECT ASSAY, 直接法でJMPに慣れよう	6
1.1. DIRECT ASSAY、FINNEYの文献例	6
1.2. 文献データの入力、直接、MS-EXCEL、MS-WORD、SASから	7
1.3. データのグラフ化	8
1.4. 結果をMS-WORDへ掃出し	11
1.5. データの転置、JMPの標準データ形式へ	12
1.6. 薬剤間の比較、多重比較、分散の比較	16
1.7. 対数変換	19
1.8. 効力比	21
1.9. FIT MODELによる、効力比の95%信頼区間	22
1.10. 解析用変数、ダミー変数	27
1.11. JOINを用いたダミー変数の作成	29
2. 50%有効量の推定	31
2.1. モルヒネの50%鎮痛効果	31
2.2. 有効率を用いた単回帰	31
2.3. ロジットとは何か	32
2.4. シグモイド曲線の直線化	33
2.5. FIT Y BY Xによるロジスティック回帰分析での逆推定	34
2.5.1 反応あり・なしの表	34
2.5.2 ロジスティック回帰分析	34
2.5.3 50%有効量と、その95%信頼区間の計算	36
3. 計量値に対する逆推定	38
4. 効力比の推定	43
4.1 4種の鎮痛薬の効果	43

4.2	ロジットを用いた回帰直線	43
4.3	反応あり・なしの表	44
4.4	平行性の検討	45
4.4.1	FIT MODEL の使用	45
4.4.2	当てはまりの欠如、平行性の欠如	46
4.4.3	分散分析的なまとめ	47
4.5	平行線の当てはめ	48
4.5.1	FIT MODEL	48
4.5.2	4本の回帰直線	49
4.5.3	回帰係数	51
4.5.4	50%有効量の推定	52
4.5.5	効力比の計算	53
4.6	効力比の95%信頼区間	54
4.6.1	ダミー変数の生成	54
4.6.2	切片なしのモデル	55
4.6.3	第2の切片なしモデル	56
5.	複数の誤差を伴う生物検定法	58
6.	JMPによる混合モデルの解析	65

0. JMP で生物検定法

生物検定法 (Biological Assay) とは

生物を用いて未知の化合物の生物活性を
既知の化合物の生物活性に対して
相対的に比較するために体系化された
応用統計学の一つの分野である

代表的な生物検定法 : 50 パーセント致死量の推定

生物検定法は回帰分析の応用

直線の当てはまりの欠如 (Lack of Fit)
非平行性 (Lack of Parallelism)
逆推定とその信頼区間
用量反応関係を論ずるために欠かせない

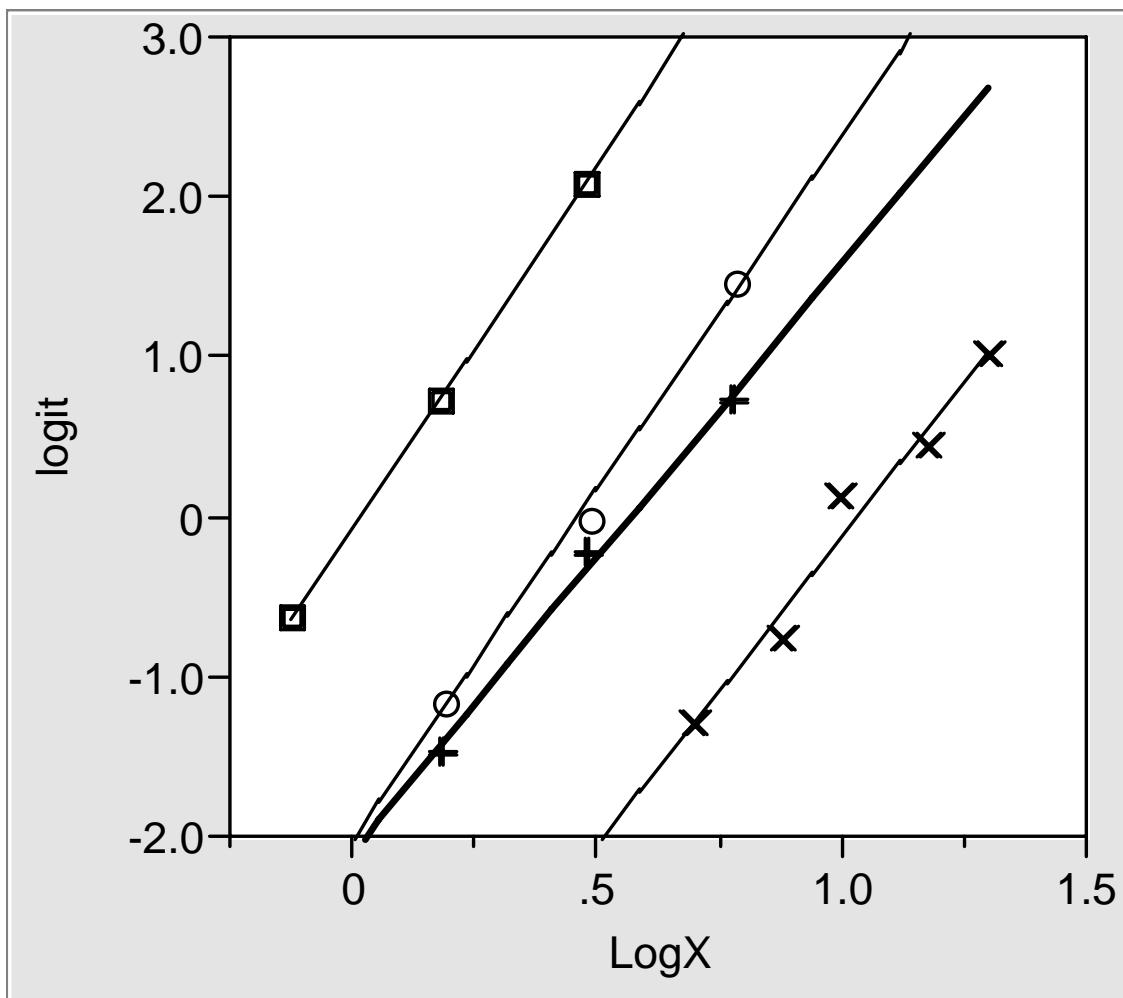
他の応用統計の分野では軽視

生物検定法の典型例

マウスの電気刺激反応による Morphine に対する
3種の鎮痛剤の反応

Drug	Dose	n	r	p	probit	logit
Morphine	0.18	103	19	0.18	4.10	-1.48
	0.48	120	53	0.44	4.85	-0.23
	0.78	123	83	0.67	5.45	0.72
Amidone	0.18	60	14	0.23	4.27	-1.18
	0.48	110	54	0.49	4.98	-0.03
	0.78	100	81	0.81	5.88	1.45
Phenadoxone	-0.12	90	31	0.34	4.60	-0.64
	0.18	80	54	0.67	5.45	0.73
	0.48	90	80	0.88	6.22	2.07
Pethidine	0.70	60	13	0.21	4.22	-1.28
	0.88	85	27	0.31	4.53	-0.76
	1.00	60	32	0.53	5.08	0.13
	1.18	90	55	0.61	5.28	0.45
	1.30	60	44	0.73	5.62	1.01

4種の鎮痛薬の効果



□ : Phenadoxone、○ : Amidone、+ : Morphine、× : Pethidine

SAS とJMPによる生物検定法

SAS: PROC PROBIT

逆推定を取り扱えるのは 1 群の場合

プロビット変換よりむしろロジット変換

ロジスティック回帰分析として定式化

SAS: PROC LOGISTIC、
PROC CATMOD

JMP: “Fit Y by X”、
“Fit Model”

逆推定、 Y_0 となる X は、

生物検定法で常用される逆推定、95%信頼区間

SAS では標準的には求められない

JMP では、Inverse Prediction の問題として対応

生物検定法のための

統計パッケージとして JMP が適している

Finney による相対力価の推定値

Drug	効力比	95%信頼区間	
Morphine	1	-	
Amidone	1.248	1.535,	1.024
Phenadoxone	3.554	4.431,	2.894
Pethidine	0.333	0.401,	0.277

解析手順

- 1) 回帰直線の当てはまりの欠如を評価
- 2) 回帰直線の平行性の欠如を評価
- 3) 50%有効量、 $\text{logit} = 0$ の場合の用量を逆推定
- 4) 標準薬 Morphine との差および 95%信頼区間
- 5) 標準薬に対する効力比を求める

平行性の欠如：薬剤群と用量の交互作用

1. Direct Assay, 直接法で JMP に慣れよう

1.1. Direct Assay、Finney の文献例

Tolerance of cats for tinctures of strophanthus and ouabain

Preparation	Strophanthus 1 ($\mu\text{L}/\text{kg}$)	Strophanthus 2 ($\mu\text{L}/\text{kg}$)	Ouabain ($\mu\text{L}/\text{kg}$)
Tolerances	15.5	24.2	52.3
	15.8	18.5	99.1
	17.1	20.0	47.6
	14.4	22.7	65.1
	12.4	17.0	66.8
	18.9	14.7	57.6
	23.4	22.0	49.3
	.	.	45.8
	.	.	66.9
	Mean	16.8	19.9
Mean(log10)	1.217	1.292	1.774

Finney, D.J. (1978). *Statistical Method in Biological Assay* 3rd ed., Griffin, London.

Strophanthus 2 が標準品、Strophanthus 1 の効力 R は、

$$R = \frac{19.9}{16.8} = 1.18;$$

Ouabain の効力は、

$$R = \frac{19.9}{61.2} = 0.325;$$

である。それぞれの SE は、近似的に、

$$R \pm SE = 1.18 \pm 0.120,$$

$$R \pm SE = 0.325 \pm 0.036$$

となる。

このデータを、対数変換して、差の分散から正確に計算した場合の効力比と 95%信頼区間は、それぞれ、

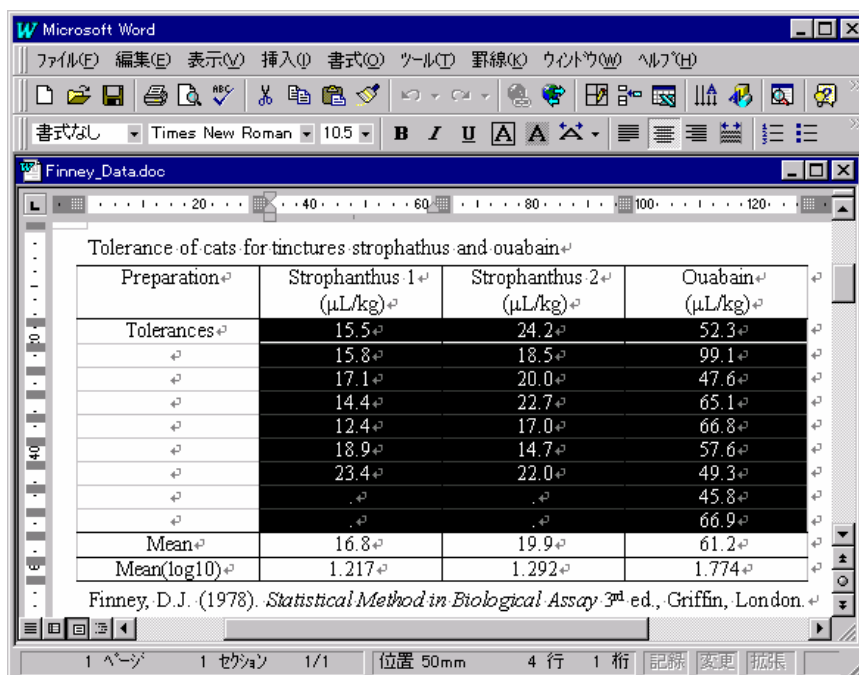
$$1.19 (0.95, 1.51),$$

$$0.330 (0.264, 0.412)$$

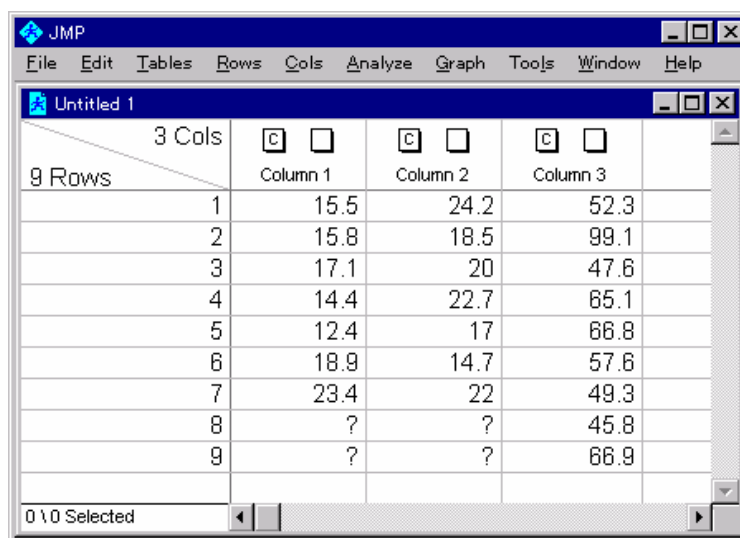
となる。

1.2. 文献データの入力、直接、MS-Excel、MS-Word、SAS から

MS-Word で作成されている表を、JMP に取り込んでみよう。すでに、**Finney_Data.doc** が用意されているので、MS-Word で開いておく。次に、JMP を立ち上げる。

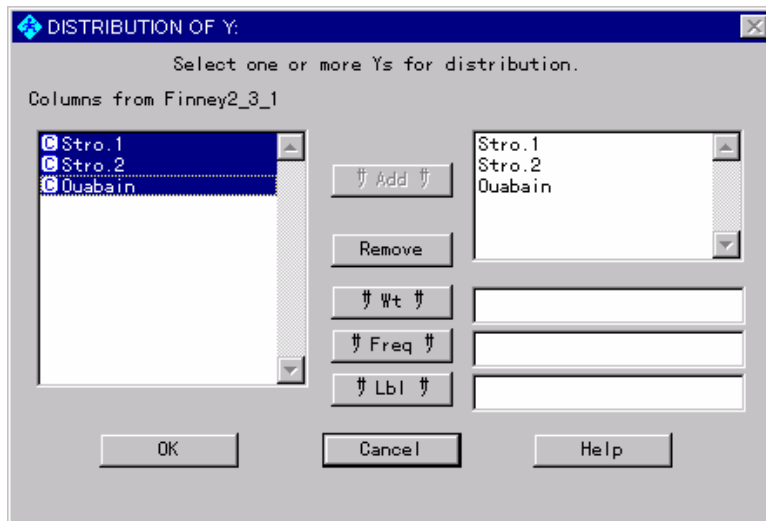


MS-Word でデータ領域をコピーする。次に JMP に移り、白紙のテーブルに貼り付ける。変数名、**Column 1** をダブルクリックして好きなように変更する。うまく行かない場合は、**Finney2_3_1.jmp** ファイルを開く。

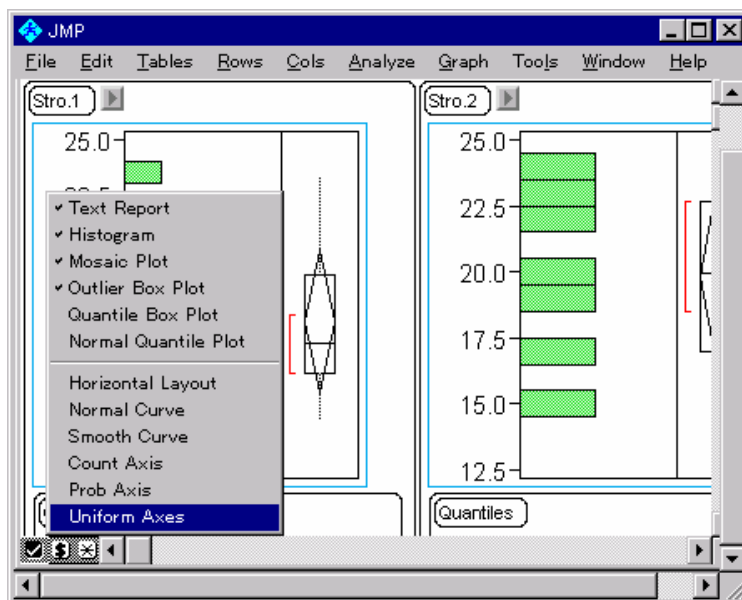


1.3. データのグラフ化

テーブルメニューの **Analyze** から **Distribution of Y** を選択する。3 変数全て **Add** し、**OK** とする。



左隅の をクリックし、**Uniform Axes** を選択し、3 種の棒グラフの目盛りを同じにして比較しやすいようにする。




JMP Help
 ファイル(F) 編集(E) しおり(M) オプション(O) ヘルプ(H)
 目次(C) 検索(S) 戻る(B) 印刷(P) << >> Exit


Outlier Box Plot

The

Outlier Box Plot is a schematic that lets you see the sample distribution and identify points with extreme values, or outliers. The ends of the box are the 25th and 75th quartiles, also called the quartiles. The difference between the quartiles is the interquartile range. The line across the middle identifies the median sample value. The ends of the whiskers are the outer-most data points from their respective quartiles that fall within the distance computed as $1.5 * (\text{interquartile range})$. The bracket along the edge of the box identifies the shortest half, which is the most dense 50% of the observations.

手のツールを選び、棒グラフ上で動かし、見栄えのするグラフにする。

幹葉表示のグラフは、 のプルダウンメニューにある。実行してみよう。

次のような機能が  のプルダウンメニューにある。試してみよう。

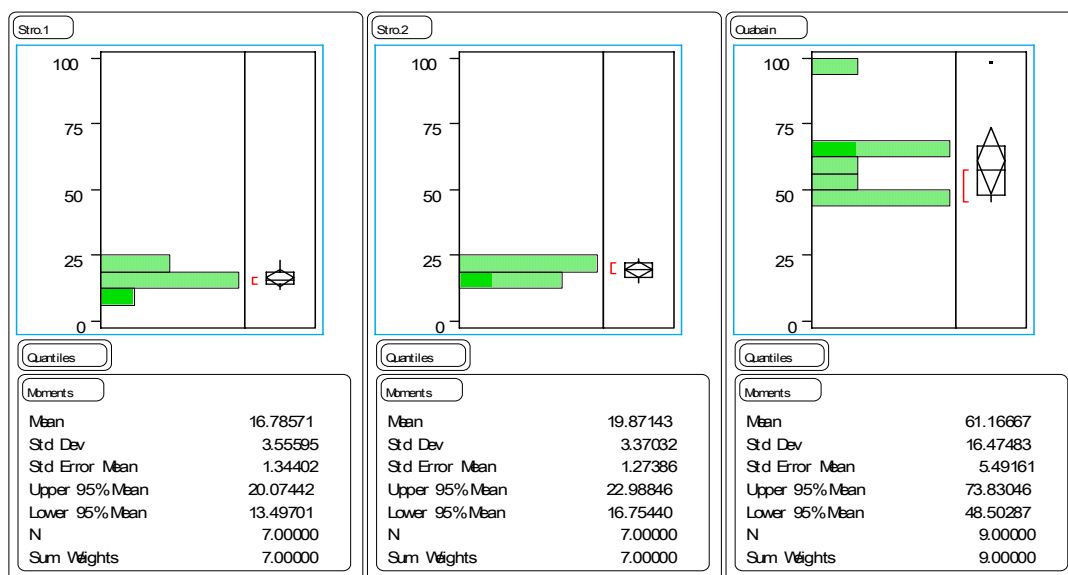
Display Options for Distribution of Y

These options are toggles in the display options  pop-up menu icon on the lower border.

Text Report	shows or hides tables and text reports of all responses
Histogram	shows or hides histograms of all responses
Mosaic Plot	shows or hides mosaic plots of nominal/ordinal responses
Outlier box Plot	shows or hides outlier box plot of continuous responses
Quantile Box Plot	shows or hides quantile box plot continuous responses
Normal Quantile Plot	shows or hides normal quantile plot of continuous responses
Smooth Curve	fits a smooth curve to continuous variable histograms using nonparametric density estimation
Horizontal Layout	alternates histograms between vertical and horizontal layout
Normal Curve	imposes a normal curve on continuous response histograms
Count Axis	adds a count axis on nominal/ordinal histograms
Prob Axis	adds a probability (percent) axis on nominal/ordinal responses
Uniform Axes	scales axes of all histograms the same

1.4. 結果をMS-Wordへ掃出し

テーブルメニューの **Edit** で **Copy** を選択し、MS-Word に貼り付ける。次が、その見本である。



テキスト部分のみのコピーもできる。**Copy as Text** でコピーし、MS-Word に張り込み、3段組にし、さらにタブにより書式を整えたものが、次の結果である。

Stro.1	Stro.2	Ouabain
Moments	Moments	Moments
Mean	Mean	Mean
Std Dev	Std Dev	Std Dev
Std Error Mean	Std Error Mean	Std Error Mean
Upper 95% Mean	Upper 95% Mean	Upper 95% Mean
Lower 95% Mean	Lower 95% Mean	Lower 95% Mean
N	N	N
Sum Weights	Sum Weights	Sum Weights

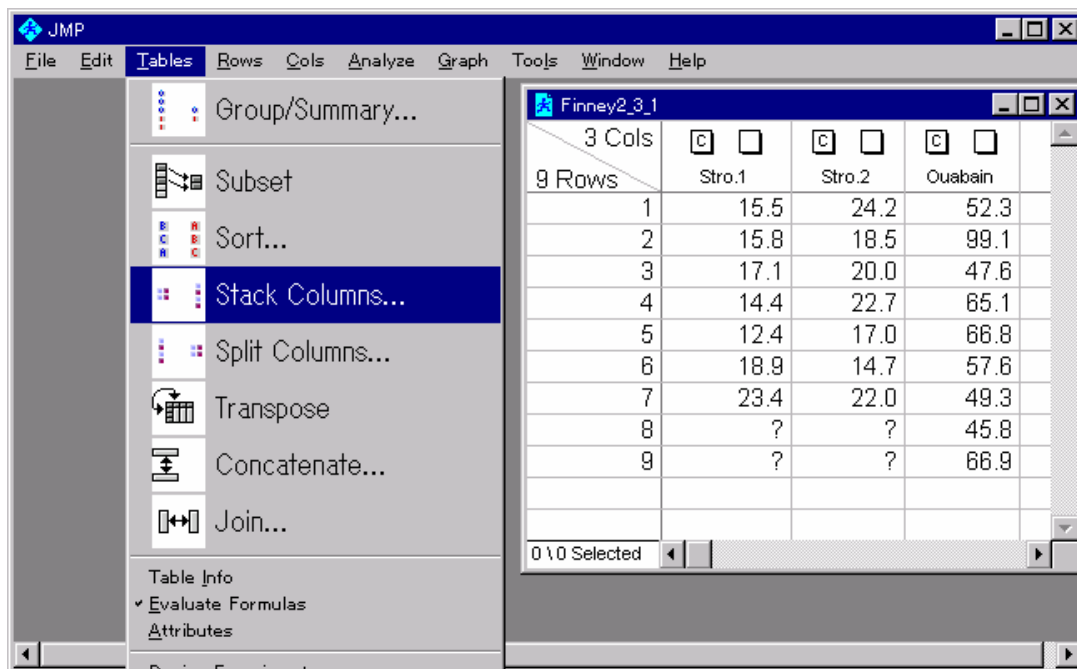
1.5. データの転置、JMPの標準データ形式へ

JMPのデータの標準形は、1動物当たり1行の形式である。

群	Animal No.	共変量		反応
		x_1	x_2	y
A ₁	1	$x_{1,1,1}$	$x_{2,1,1}$	$y_{1,1}$
	2	$x_{1,1,2}$	$x_{2,1,2}$	$y_{1,2}$
	:	:	:	:
A ₂	11	$x_{1,2,11}$	$x_{2,2,11}$	$y_{2,11}$
	12	$x_{1,2,12}$	$x_{2,2,12}$	$y_{2,12}$
	:	:	:	:

論文の表を、JMP形式に整えてみよう。

Stack Columns の機能を使う。これは、横に展開しているデータを縦方向にする。



JMP Help
 ファイル(F) 編集(E) しおり(M) オプション(O) ヘルプ(H)
 目次(C) 検索(S) 戻る(B) 印刷(P) << >> Exit

Stack Columns

The **Stack** command creates a new data table from the active table by stacking specified columns into a single new column. The values in the other columns are preserved in the new data table.

- Select each column to be stacked from the **Columns** list and add it to the **Stacking Columns** list by clicking on the **Add** button.
- All columns in the **Stacking Columns** list are stacked or piled one after another in the order they appear in the list. You can remove a column from the list by selecting its name and clicking on the **Remove** button

Table AB

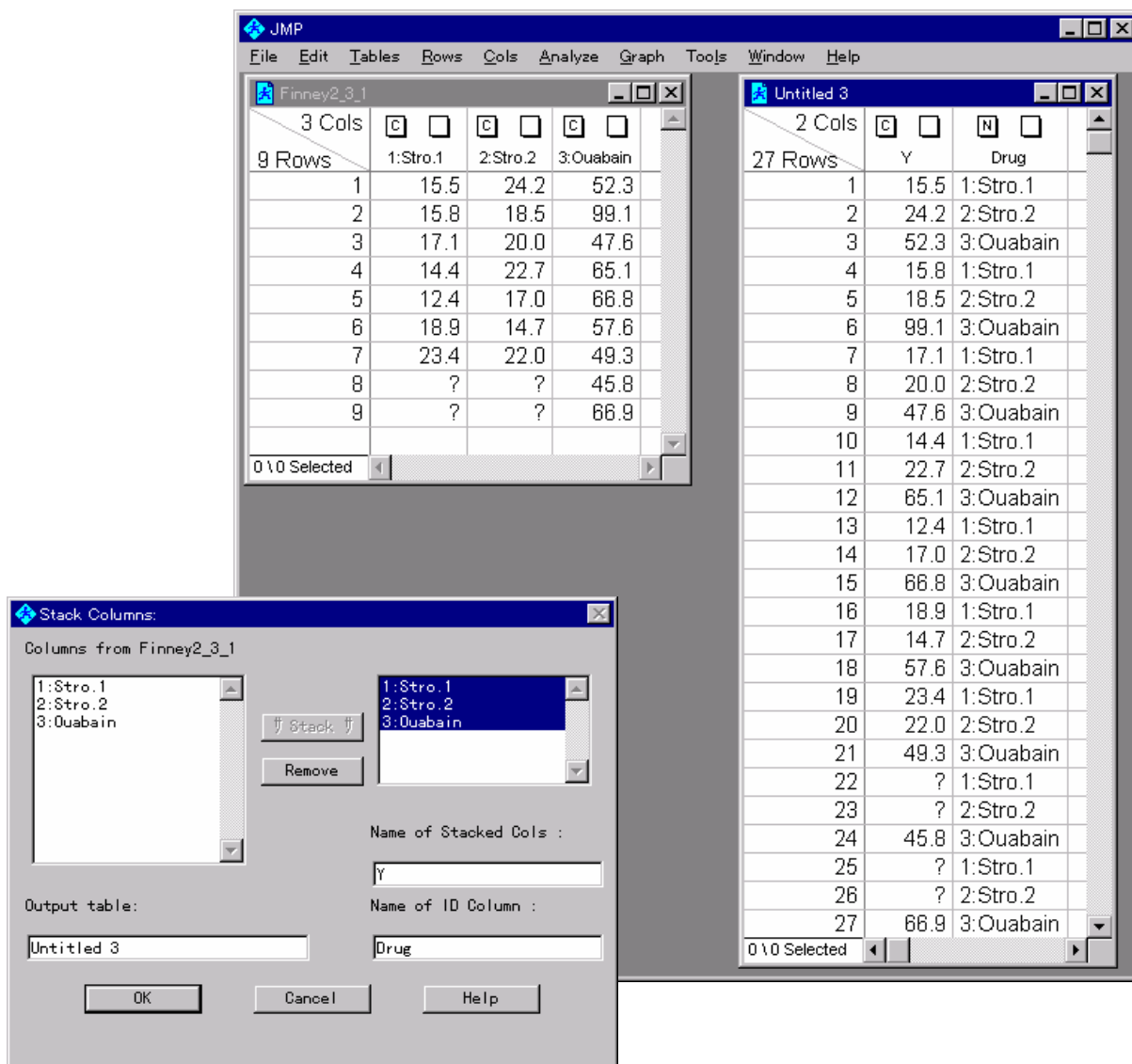
		2 Cols	
		<input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/>
3 Rows		A	B
1		a1	b1
2		a3	b2
3		a4	b3

New table with columns A and B stacked

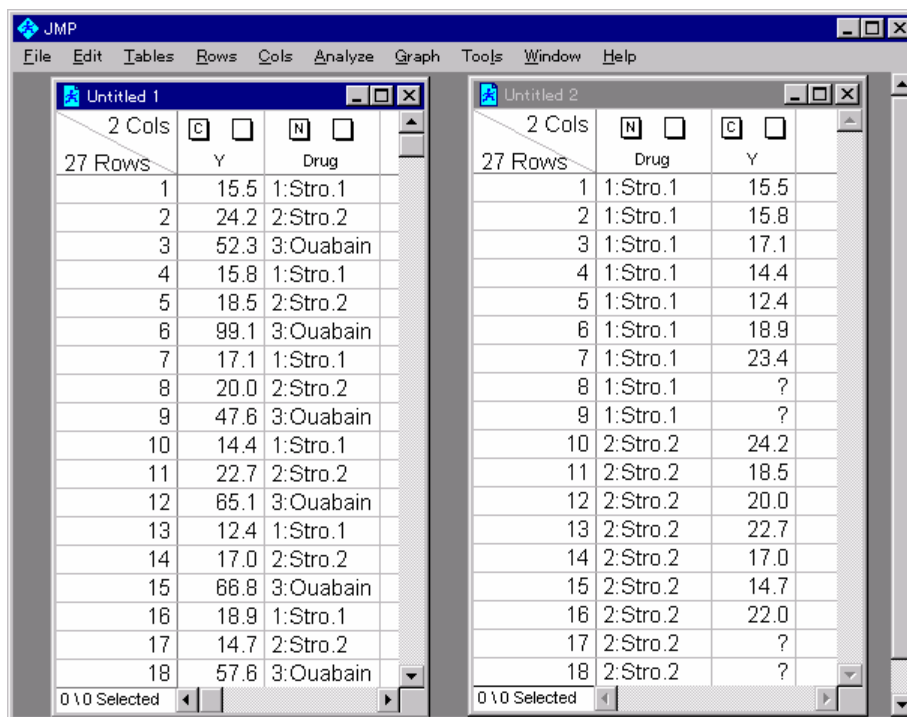
		2 Cols	
		<input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/>
6 Rows		_Stacked_	_ID_
1		a1	A
2		b1	B
3		a3	A
4		b2	B
5		a4	A
6		b3	B

Optionally, enter names in the **Stacked Column Name** and **Type Column** boxes to specify names in the new table for the column of stacked values and the column containing the original column names. By default, these names are `_Stacked_` and `_Type_`.

3変数を選択し、**stack** ボタンをクリック、**Name of Stacked Cols** を Y に変更、**Name of ID Column** に Drug を入力し、**OK** をクリックする。

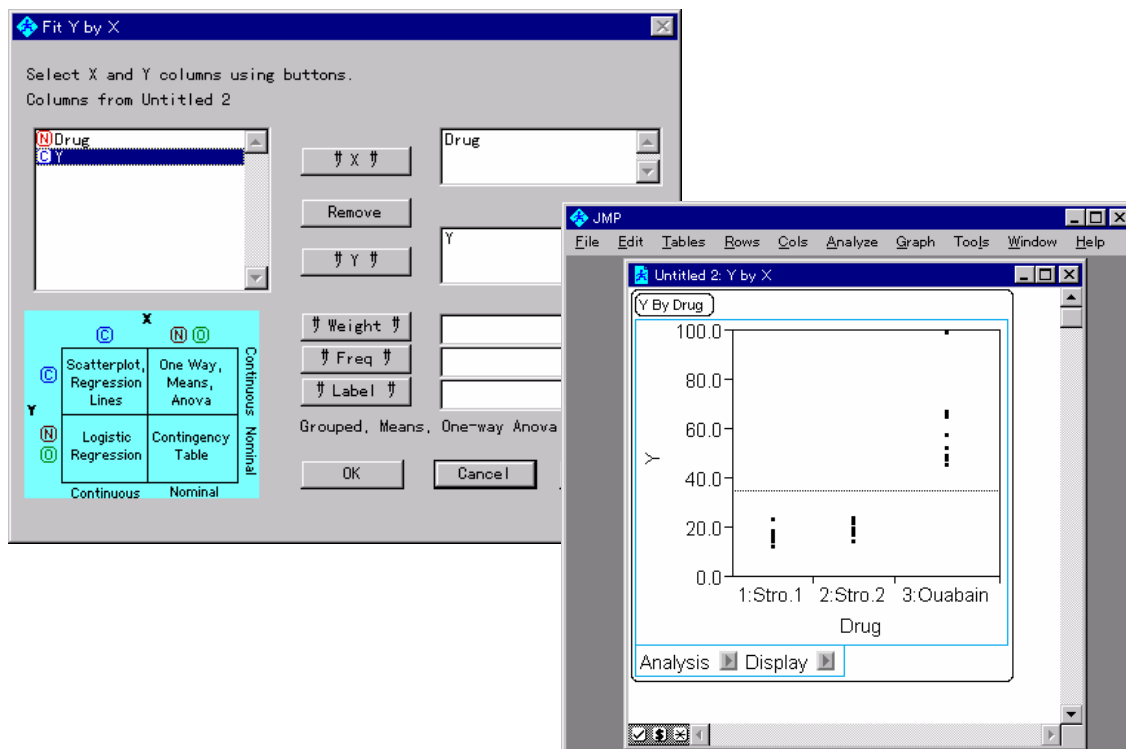



Stack された JMP データを **Tables** メニューの **Sort** を選択し、**Y** を **Cols** テーブルメニューの **Move to Last** により、見やすくする。ファイル名を、好きな名前にして保存する。

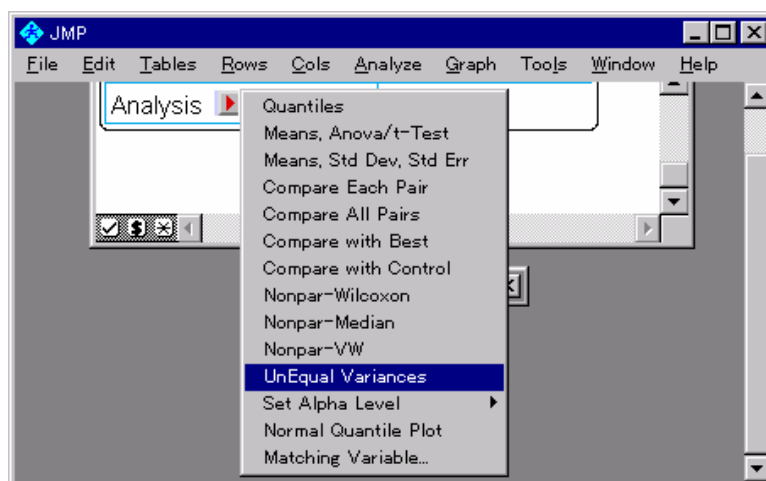


1.6. 薬剤間の比較、多重比較、分散の比較

説明変数が1変数、ここでは薬剤の種類、反応が1変数の場合の統計解析は、**Analyze** テーブルメニューの **Fit Y by X** で実行する。X軸に **Drug** を、Y軸に **Y** を選択し、**OK** をクリックすると、次の散布図を得る。



分散の検定を行う。  ボタンの **Unequal Variances** を選択する。



Copy as Text により結果を MS-Word に張り込み、タブで形式を整える。分散が有意に異なり、このままでは、平均値の比較に問題がある。

Y By Drug

Tests that the Variances are Equal

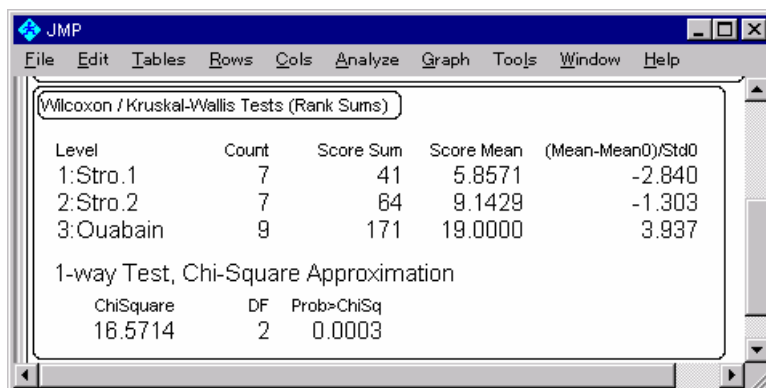
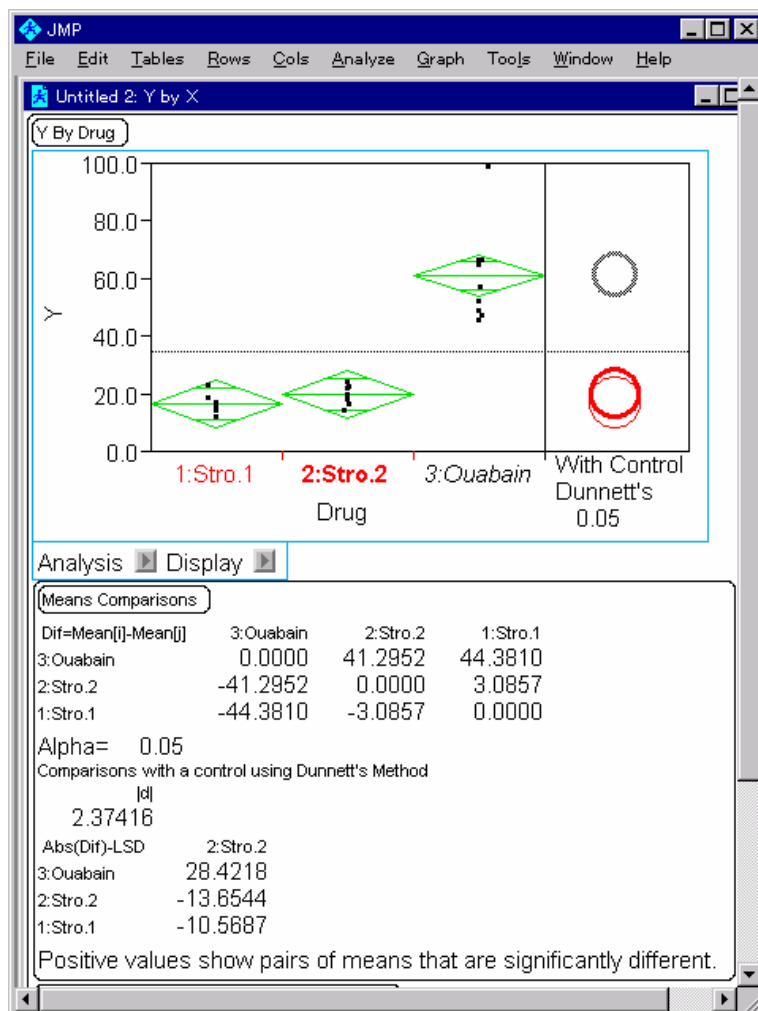
Level	Count	Std Dev	MeanAbsDif to Mean	MeanAbsDif to Median
1:Stro.1	7	3.55595	2.58367	2.48571
2:Stro.2	7	3.37032	2.68980	2.88571
3:Ouabain	9	16.47483	11.82963	12.02222

Test	F Ratio	DF Num	DF Den	Prob>F
O'Brien[.5]	1.5221	2	20	0.2425
Brown-Forsythe	4.4898	2	20	0.0245
Levene	4.8303	2	20	0.0194
Bartlett	9.5496	2	?	<.0001

Welch Anova testing Means Equal, allowing Std's Not Equal

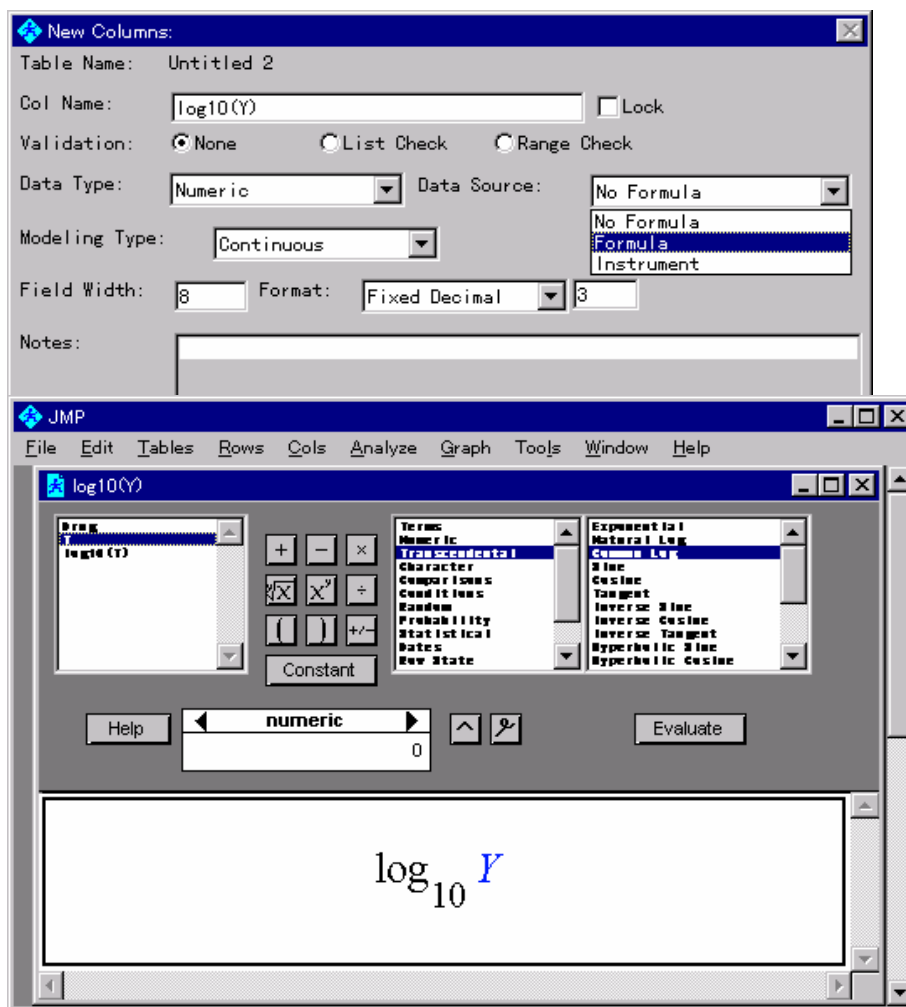
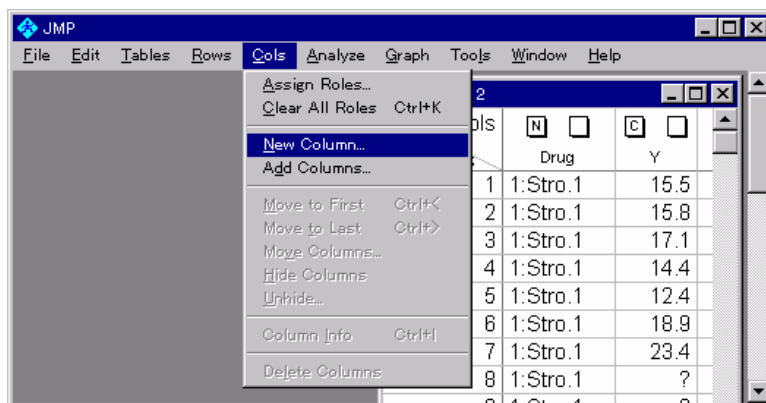
F Ratio	DF Num	DF Den	Prob>F
29.3463	2	12.919	<.0001

Analyze テーブルメニューの **Fit Y by X** を実行する。 X 軸に **Drug** を、Y 軸に **Y** を選択し、**OK** をクリックし、散布図を作成する。 **Dunnett** の多重比較により平均値の比較をおこなう。さらに、順位和検定も試みてみよう。

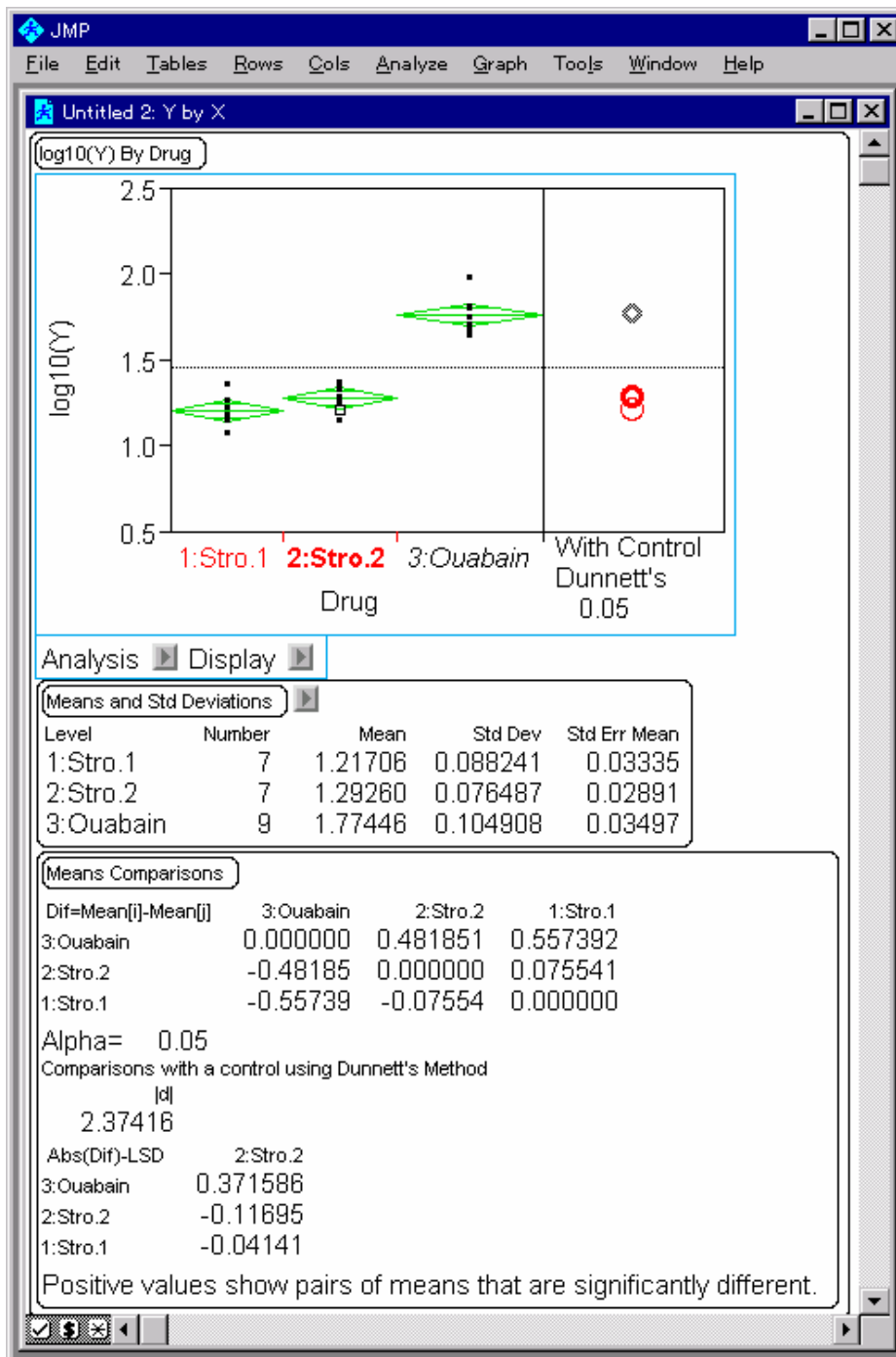


1.7. 対数変換

Y について対数変換を行い解析してみよう。Cols テーブルメニューの New Column を実行し、計算式 Formula を選択する。常用対数の計算式を作成する。うまくできない場合は、Finney2_3_1_T.jmp を開く。



Dunnett の多重比較による平均値の比較を、生データの場合と同じように行ってみよう。



1.8 効力比

対数変換した場合に、生データでの効力比は、 antilog_{10} (差) により計算できる。

log₁₀(Y) By Drug

Means Comparisons

Dif=Mean[i]-Mean[j]	3:Ouabain	2:Stro.2	1:Stro.1
3:Ouabain	0.000000	0.481851	0.557392
2:Stro.2	-0.48185	0.000000	0.075541
1:Stro.1	-0.55739	-0.07554	0.000000

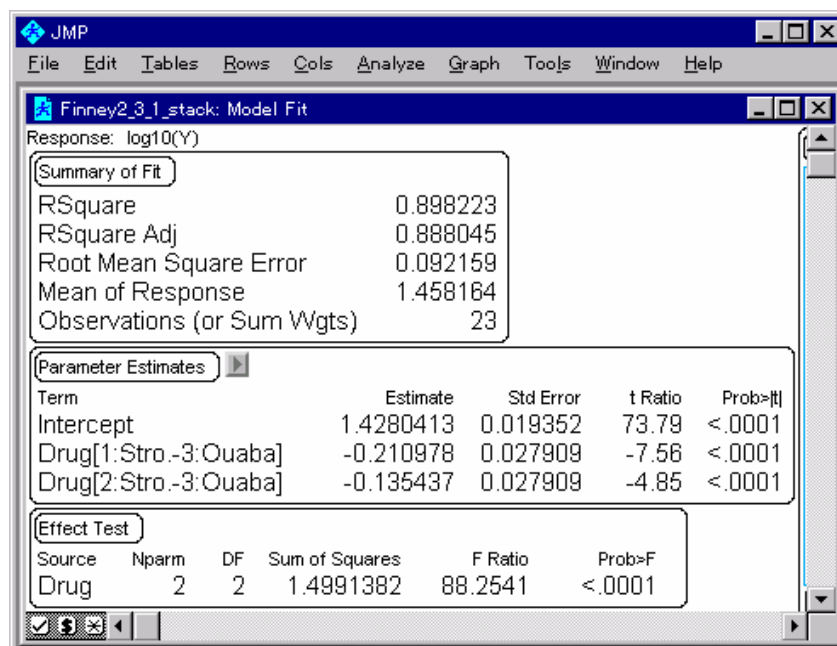
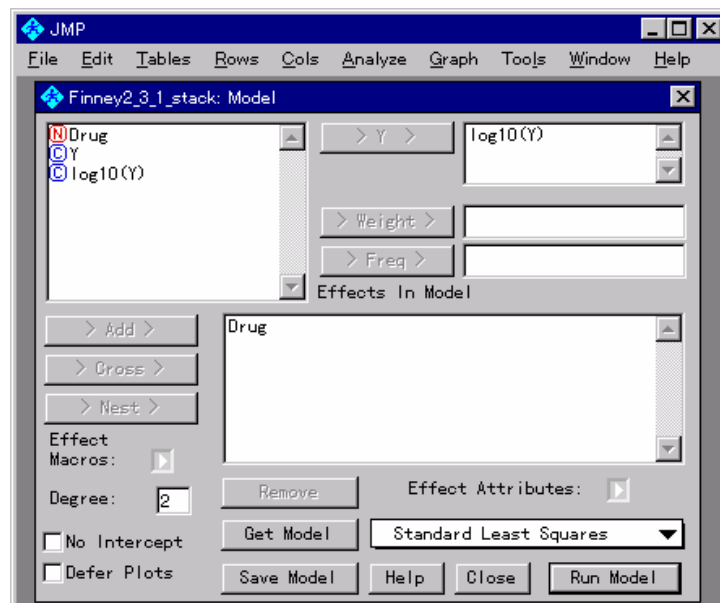
$$R [(2:\text{Stro.2}) - (1:\text{Stro.1})] = 10^{0.075541} = 1.189984$$

$$R [(2:\text{Stro.2}) - (3:\text{Ouabain})] = 10^{-0.48185} = 0.32972$$

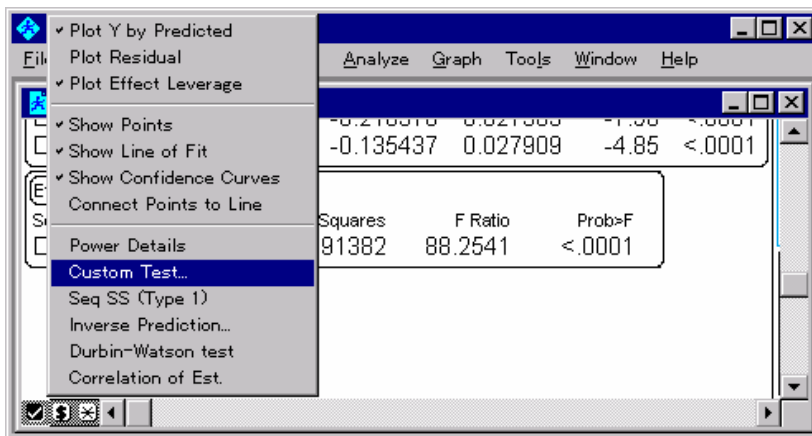
さて、95%信頼区間は、どのようにして求めるのだろうか？

1.9. Fit Model による、効力比の 95%信頼区間

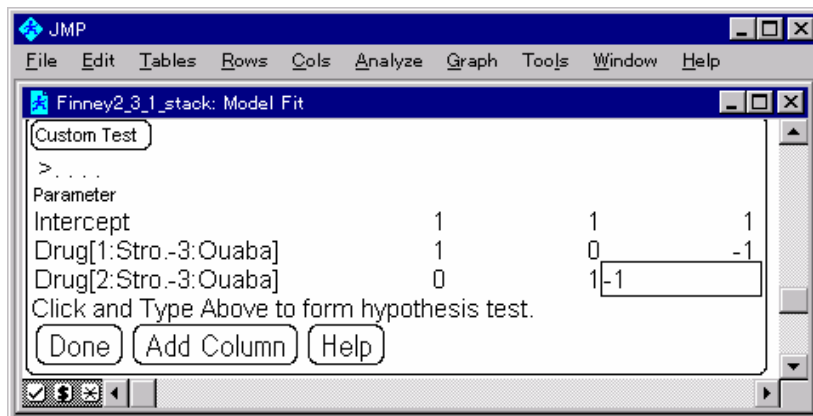
Fit Y by X では、薬剤間の差の検定は実施してくれるが、その分散は表示されない。そこで、**Fit Model** により計算してみよう。Y 軸に **log10(y)** を選択し、説明変数の領域に、**Drug** を **Add** し、**Run Model** をクリックする。これは、1 元配置分散分析を行うことになる。



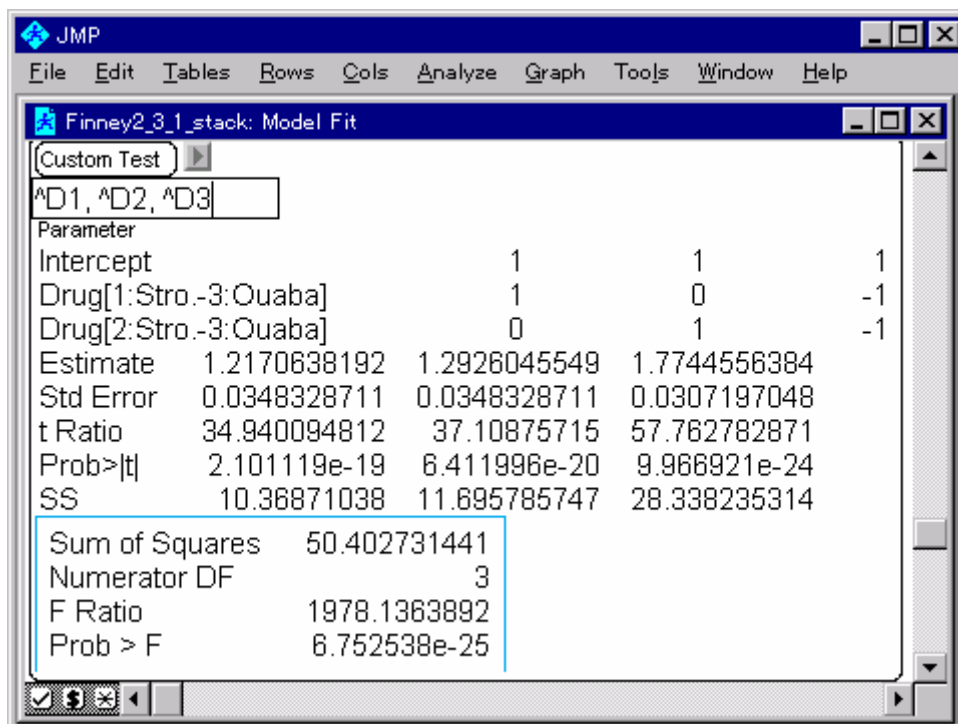
標準出力では、薬剤間の差の分散は得られない。 をクリックし、**Custom Test** を選択する。



次の画面が出てくるので、**Add Column** を2回クリックする。全てのセルが0となっていることを確認し、表示通りに数値を入力する。この意味については、以下に説明する。



Done によって実行する。次の結果が得られる。表示上の Estimate が 3 種の薬剤の平均値の推定値となっている。



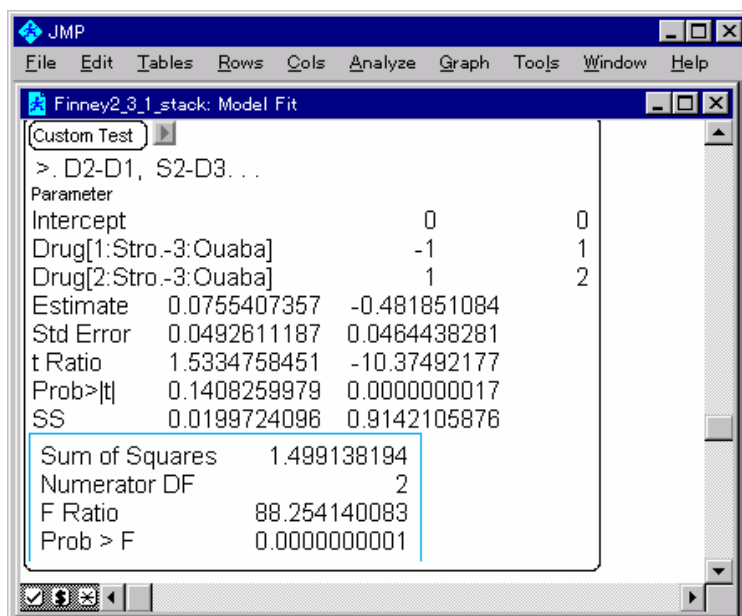
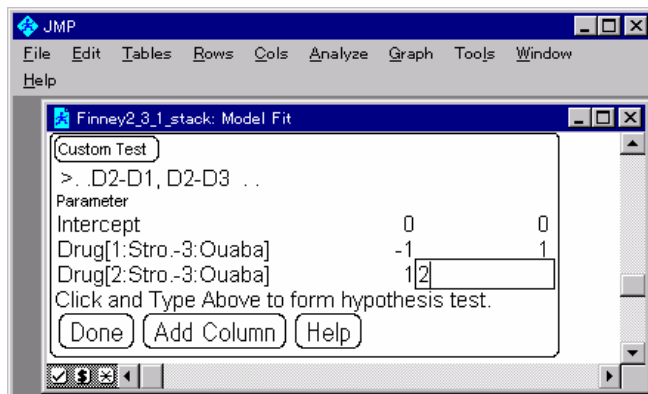
JMP での解析用の変数（ダミー変数）は、次のように定義されている。

	d_1	d_2
1:Stro.1	1	0
2:Stro.2	0	1
3:Ouabain	-1	-1

したがって、薬剤ごとの推定値は、次の式によって求められる。

$$\begin{bmatrix} \hat{D}_1 \\ \hat{D}_2 \\ \hat{D}_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 1 & 0 \\ 1 & 0 & 1 \\ 1 & -1 & -1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1.428 \\ -0.211 \\ -0.135 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1.217 \\ 1.293 \\ 1.774 \end{bmatrix}$$

薬剤間の差、D2-D1 と D2-D3 は、次のようにして求めることができる。



$$\begin{bmatrix} \hat{D}_1 - \hat{D}_2 \\ \hat{D}_3 - \hat{D}_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 & -1 & 1 \\ 0 & 1 & 2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 0.1428 \\ -0.211 \\ -0.135 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0.07554 \\ -0.48185 \end{bmatrix}$$

$$SE(\hat{D}_1 - \hat{D}_2) = 0.04926$$

$$SE(\hat{D}_3 - \hat{D}_2) = 0.04644$$

以上の結果を基に、95%信頼区間を antilog により計算する。

		E	SE	10^E	$10^{(E-SE)}$	$10^{(E+SE)}$
R±SE	D1-D2	0.0755	0.0493	1.1900	1.0624	1.3329
	D3-D2	-0.4819	0.0464	0.3297	0.2963	0.3669

t	95%L	95%U
2.086	0.9393	1.5076
2.086	0.2638	0.4121

1.10. 解析用変数、ダミー変数

薬剤間の差の検定を行うためには、JMPのダミー変数は面倒である。自らダミー変数を作成したほうが簡単に薬剤間の差、および、その分散を求めることができる。

Finney2_3_1_T.jmp を開いてみよ。

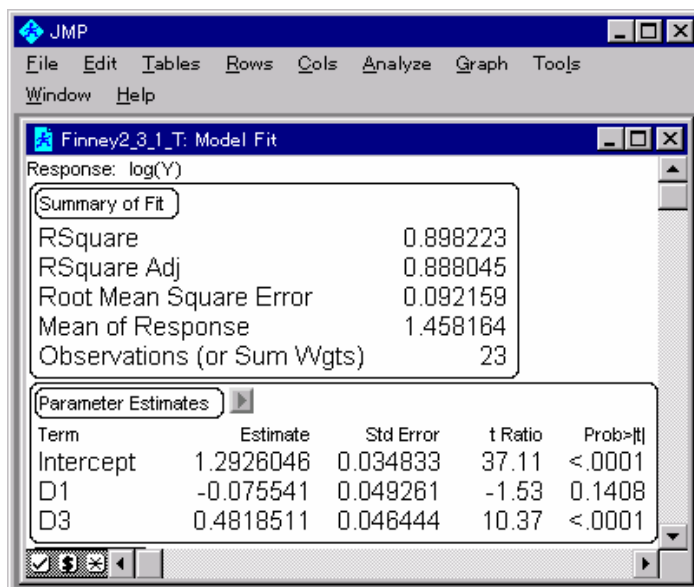
次に、**Fit Model** で、説明変数（独立変数）に **D₁** と **D₃** を **Add** する。

The screenshot displays the JMP interface with two windows. The top window, titled 'Finney2_3_1_T', shows a data table with 27 rows and 6 columns. The columns are Drug, D1, D2, D3, Y, and log(Y). The data is as follows:

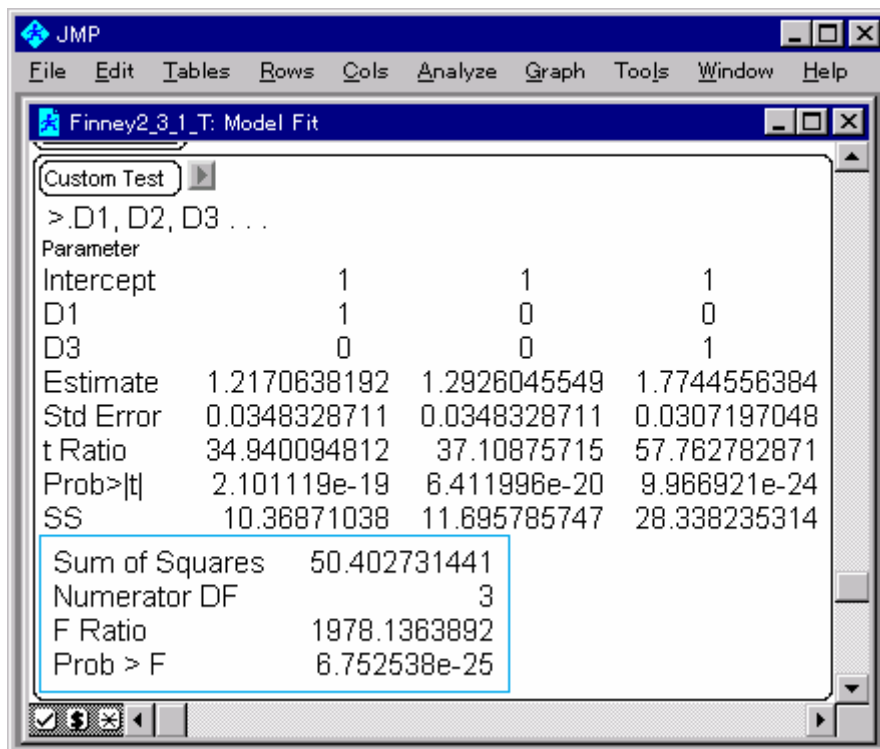
Row	Drug	D1	D2	D3	Y	log(Y)
1	1:Stro.1	1	0	0	15.5	1.190
2	1:Stro.1	1	0	0	15.8	1.199
3	1:Stro.1	1	0	0	17.1	1.233
4	1:Stro.1	1	0	0	14.4	1.158
5	1:Stro.1	1	0	0	12.4	1.093
6	1:Stro.1	1	0	0	18.9	1.276
7	1:Stro.1	1	0	0	23.4	1.369
8	1:Stro.1	1	0	0	?	?
9	1:Stro.1	1	0	0	?	?
10	2:Stro.2	0	1	0	24.2	1.384
11	2:Stro.2	0	1	0	18.5	1.267
12	2:Stro.2	0	1	0	20.0	1.301
13	2:Stro.2	0	1	0	22.7	1.356
14	2:Stro.2	0	1	0	17.0	1.230
15	2:Stro.2	0	1	0	14.7	1.167
16	2:Stro.2	0	1	0	22.0	1.342
17	2:Stro.2	0	1	0	?	?
18	2:Stro.2	0	1	0	?	?
19	3:Ouabain	0	0	1	52.3	1.719
20	3:Ouabain	0	0	1	99.1	1.996
21	3:Ouabain	0	0	1	47.6	1.678
22	3:Ouabain	0	0	1	65.1	1.814
23	3:Ouabain	0	0	1	66.8	1.825
24	3:Ouabain	0	0	1	57.6	1.760
25	3:Ouabain	0	0	1	49.3	1.693
26	3:Ouabain	0	0	1	45.8	1.661
27	3:Ouabain	0	0	1	66.9	1.825

The bottom window, titled 'Finney2_3_1_T: Model', shows the 'Fit Model' dialog box. The 'Y' variable is 'log(Y)'. The 'Effects In Model' list contains 'D1' and 'D3'. The 'Degree' is set to 2. The 'Standard Least Squares' method is selected. The 'Run Model' button is highlighted.

D1 と D3 の推定値が、この場合には、(D2-D1)、および (D2-D3) のなっていることを以前の結果と比較してみなさい。

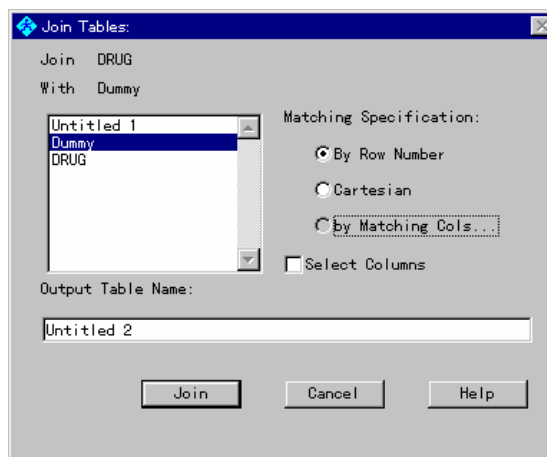
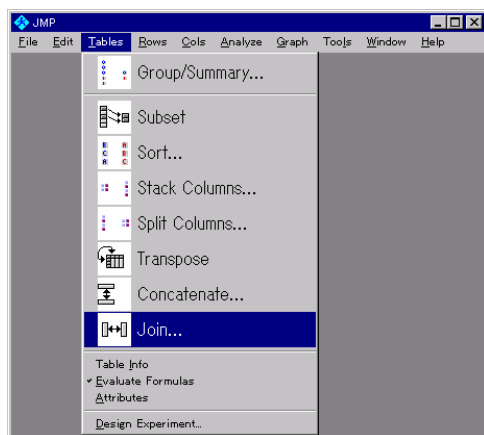
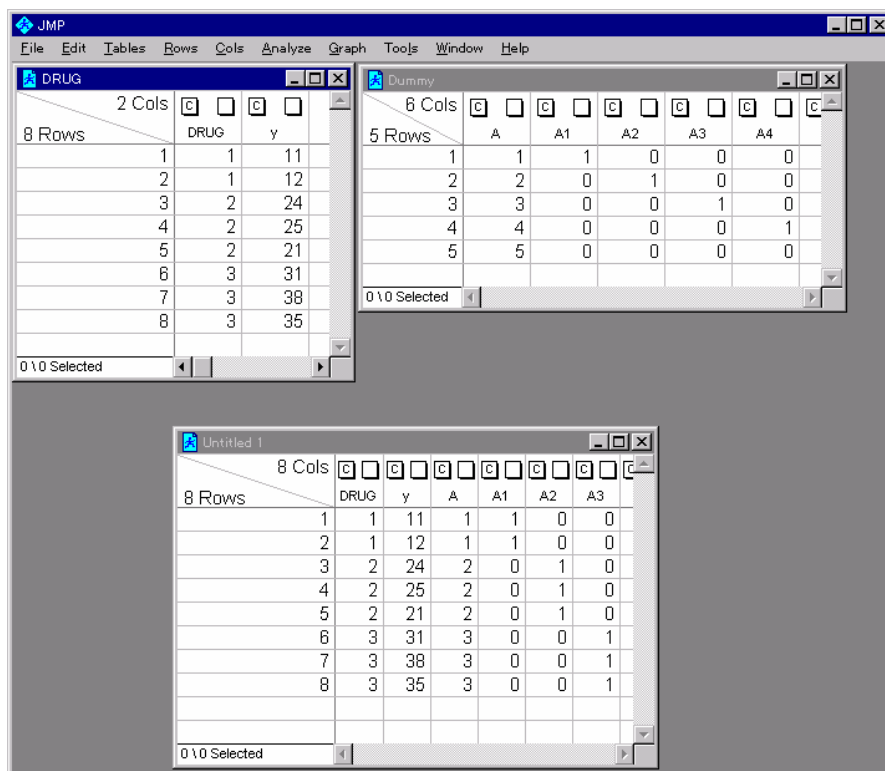


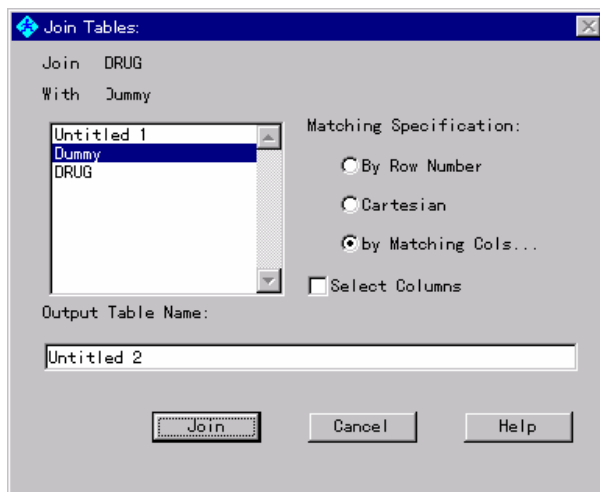
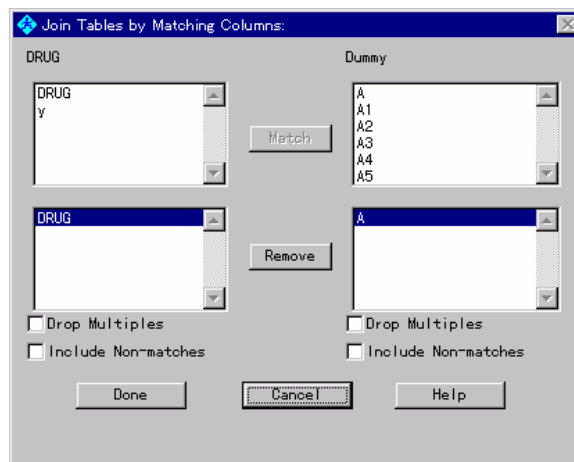
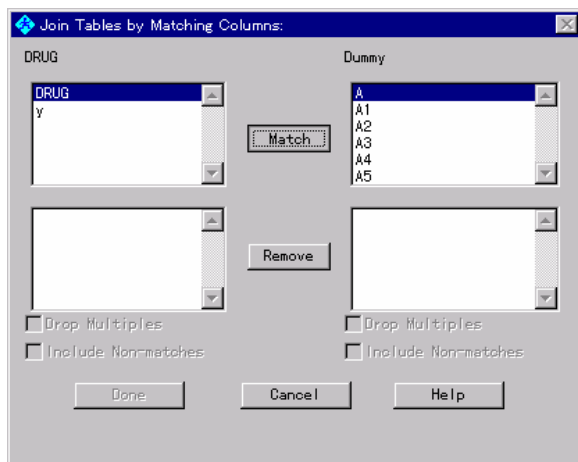
Custom Test で、薬剤ごとの推定値を練習のつもりで計算してみよう。



1.11. Join を用いたダミー変数の作成

Tables テーブルメニューの Join を使うとダミー変数を簡単に正確に作ることができる。DRUG.jmp がダミー変数を作りたい表とする。Dummy.jmp にあらかじめダミー変数行列を定義しておく。



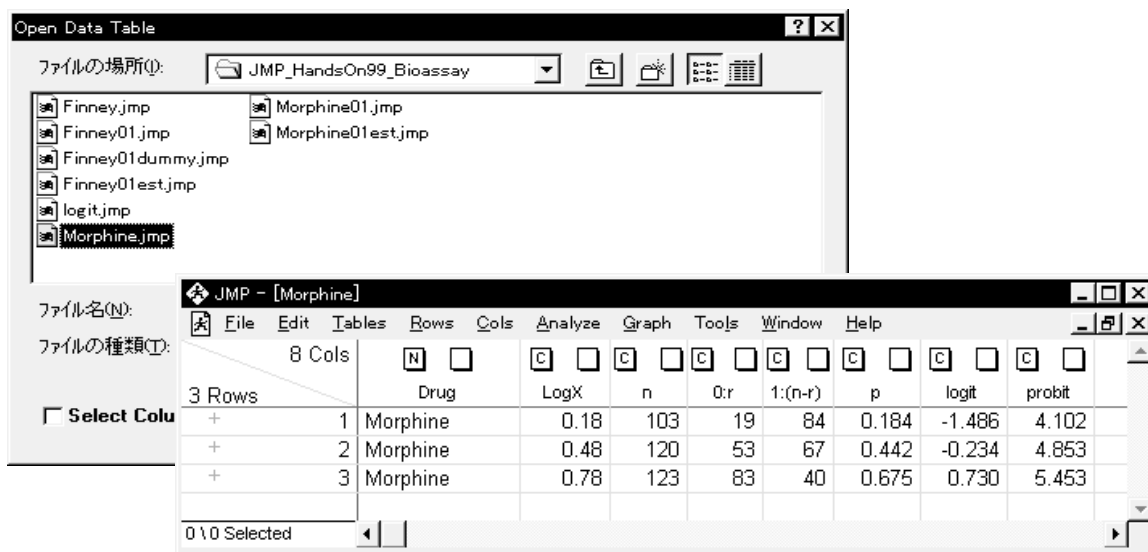


2. 50%有効量の推定

2.1 モルヒネの 50%鎮痛効果

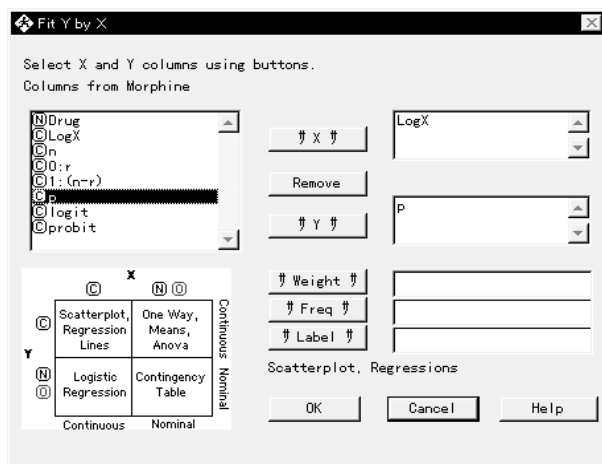
JMP データファイル Morphine.jmp を開く。

Morphine.jmp は、フォルダ c:¥ JMP ¥ HandsOn99 ¥ Bioassay にある。

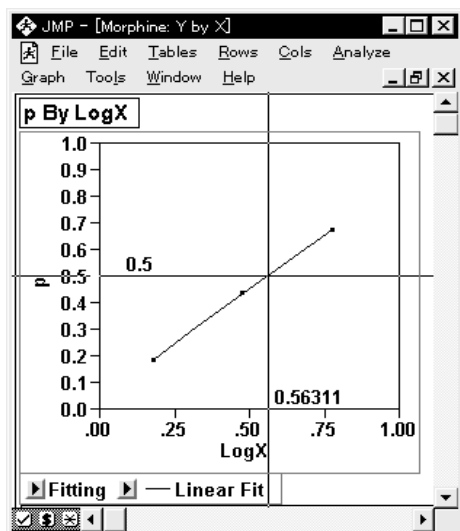


2.2 有効率を用いた単回帰

50%有効量とは、50%のマウスに鎮痛効果が認められる用量である。有効率を用いて単回帰分析を行ってみよう。



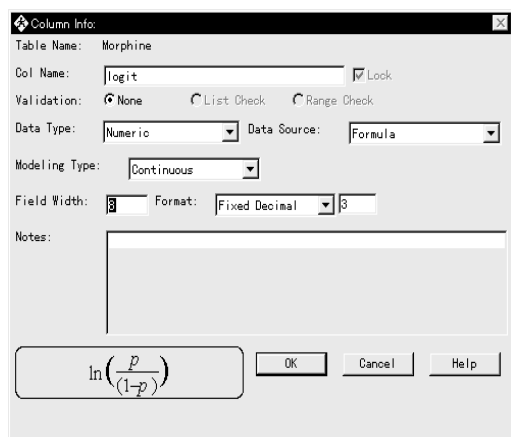
- 1) Analyze テーブルメニューから、Fit Y by X を選択する。
- 2) X 軸に 変数 LogX を、Y 軸に 変数 p を選択する。
- 3) OK ボタンをクリックし、実行する。



- 4) Fitting ボタンを押し、Fit Line を選択する。
- 5) Tools テーブルメニューから + を選択する。
- 6) Y 軸が p=0.5 となるように、クリックしながら、回帰直線上を移動しポイント探索する。
- 7) 50%有効量は、
 $\text{antilog}(0.56311)\text{mg/kg} = 3.65 \text{ mg/kg}$
 となる。

2.3 ロジットとは何か

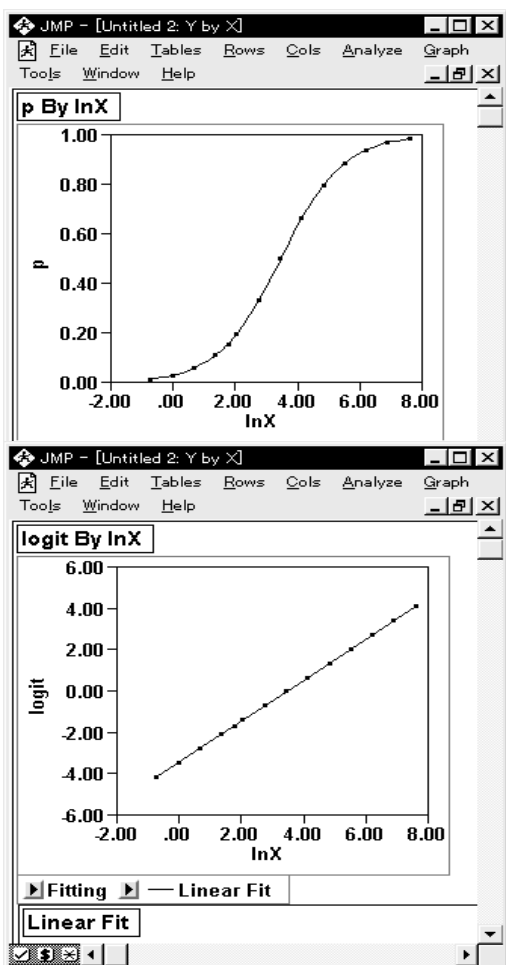
n 匹中 r 匹の「あり・なし」反応 $p=r/n$ は、シグモイド曲線になることが多い。有効率 p のままでは、非線型の問題になり解析しづらい。また、有効率 p では、サンプルサイズが考慮されていない。そこで、有効率 p についてロジット (logit) 変換を行い、直線回帰が行えるようにする。ロジット変換を表示してみよう。



- 1) JMP テーブル変数 logit を選択する。
- 2) Cols テーブルメニューから Column Info を選択する。
- 3) 左隅にロジット $\text{logit} = \ln(p / (1-p))$ が表示されていることを確認すること。なお、この計算式は、変数 logit に前もって計算式を与えてあるが、ここでは計算式の作成手順は省略する。

注) 古典的には、逆正規分布を用いたプロビットが使われていたが、計算のしやすさからロジットが広く使われている。

2.4 シグモイド曲線の直線化



ある薬物に対する多くの生物反応 p は、対数用量に対して左の図のようになる。

有効率 $p=0.20$ に対応するロジットは、

$$\text{logit} = \ln(0.20 / (1-0.20)) = -1.39$$
 となる。

他の p についてもロジット変換し、プロットしたのがこの図である。

The screenshot shows the JMP data table window with 13 rows and 4 columns. The columns are 'x', 'LnX', and 'logit'. The data points are as follows:

Row	x	LnX	logit
1	0.5	-0.69	-4.16
2	1	0.00	-3.47
3	2	0.69	-2.77
4	4	1.39	-2.08
5	8	2.08	-1.39
6	16	2.77	-0.69
7	32	3.47	0.00
8	64	4.16	0.69
9	128	4.85	1.39
10	256	5.55	2.08
11	512	6.24	2.77
12	1024	6.93	3.47
13	2048	7.62	4.16

logit データファイルを開いて図を作成してみよう。手順は、1.1 節と同じである。

注) logit データファイルの変数 q の計算式を確認してみなさい。逆ロジットの計算式が示されている。

2.5 Fit Y by Xによるロジスティック回帰分析での逆推定

2.5.1 反応あり・なしの表

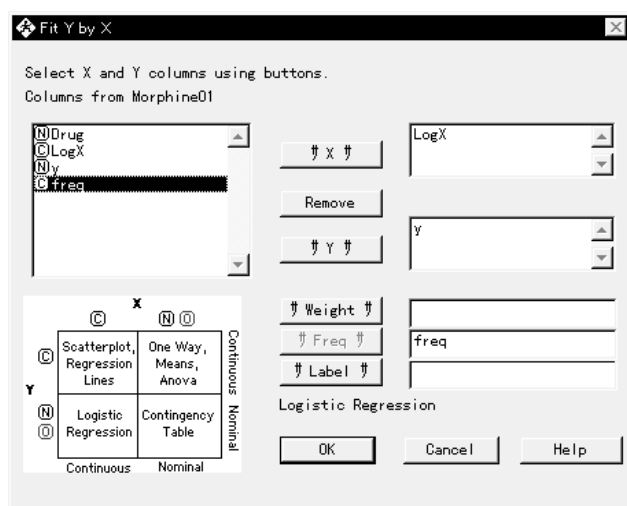
反応ありを 0、反応なしを 1 にした形式の JMP データファイルを作成する。
Morphine01.jmp データファイルを開いてもよい。

	Drug	LogX	y	freq
1	1:Morphine	0.18	0	19
2	1:Morphine	0.18	1	84
3	1:Morphine	0.48	0	53
4	1:Morphine	0.48	1	67
5	1:Morphine	0.78	0	83
6	1:Morphine	0.78	1	40

投与量 $\text{LogX}=0.18$ で反応があったマウスは 19 匹なので、 $y=0$ に対して $\text{freq}=19$ とする。反応がないラットは $y=1$ に対して $\text{freq}=103 - 19 = 84$ とする。

2.5.2 ロジスティック回帰分析

1.1 節では、有効率 p に対して単回帰分析を行ったのであるが、変数 y と変数 freq を用いてロジスティック回帰分析を行う。



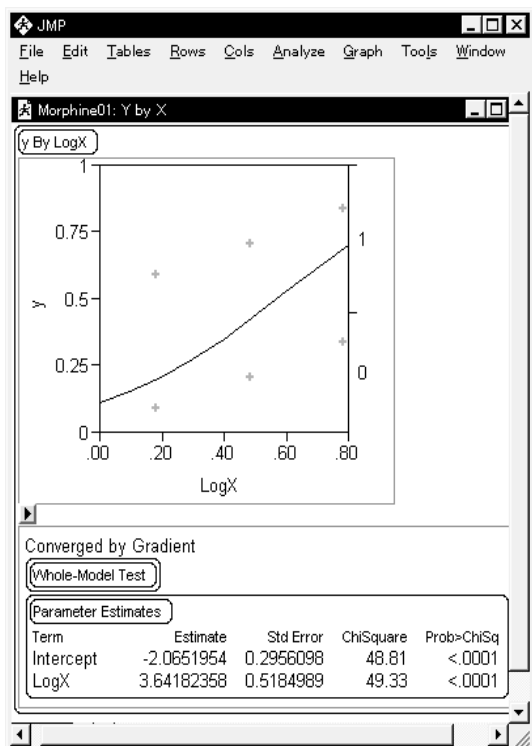
1) Analyze テーブルメニューより、Fit Y by X を選択する。

2) X 軸に 変数 LogX を、Y 軸に 変数 y を、Freq に 変数 freq を選択する。

3) OK ボタンのすぐ上に

Logistic Regression

が自動選択されている。これは、変数 y が名義データと定義されているために自動的に表示されている。



4) 結果が、左の図の表示されている。

5) Parameter Estimates をクリックし、回帰係数を表示する。

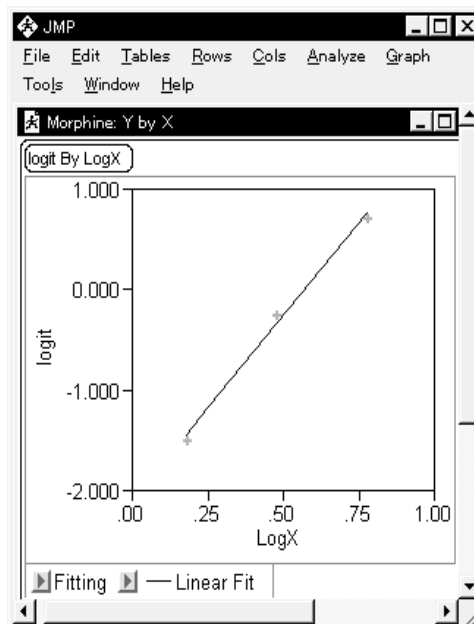
6) 切片 -2.0651 、傾き 3.6418 が得られている。

7) 図のY軸は、有効率であり、ロジスティック曲線が表示されている。

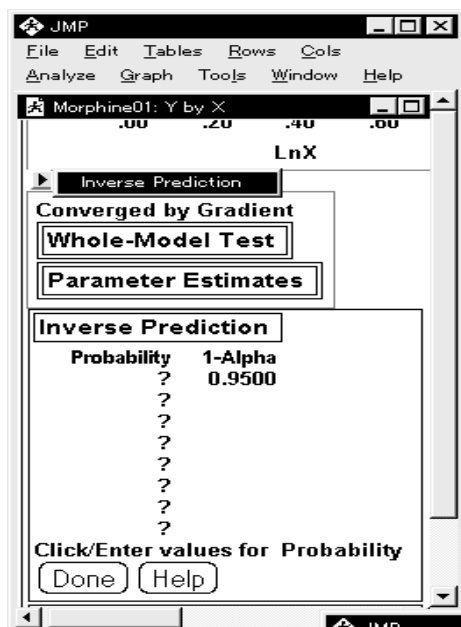
8) 右の図は、回帰係数の理解を深めるために計算した変数 logit で回帰直線を引いたものである。

LogX がゼロのときに切片が -2.0651 となり、 LogX の増分 1 に対して 3.6418 logit が増えていることを、読み取ってもらいたい。

注) この図は、正しいロジスティック回帰の結果ではないことに注意されたい。ロジスティック回帰係数を用いた方法については、2.5.4 節を参照のこと。



2.5.3 50%有効量と、その95%信頼区間の計算

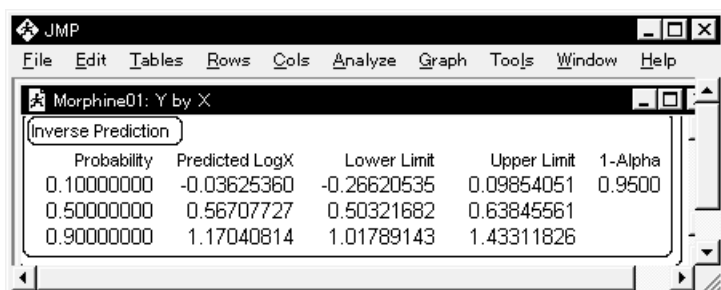
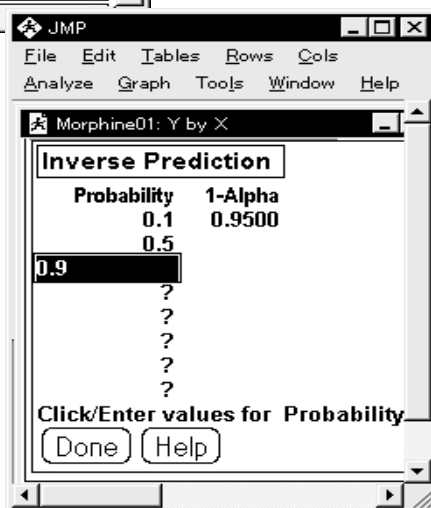


8) 図の左隅の矢印ボタンをクリックす。

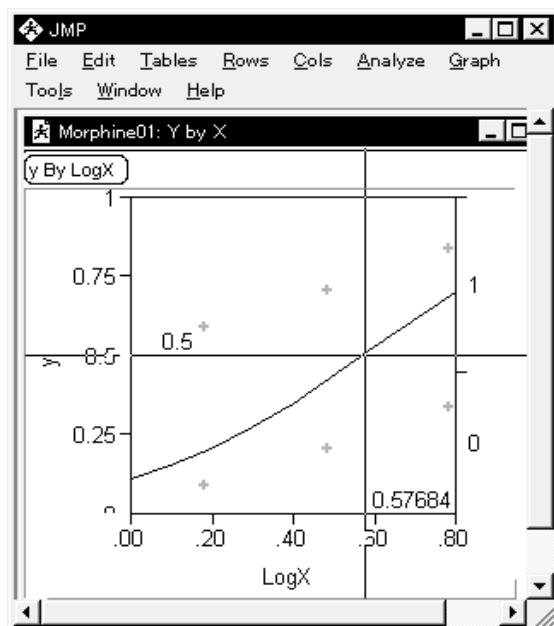
9) Inverse Prediction が表示される。

10) ? が表示されている場所に、逆推定したい反応率を入力する。

11) 有効率 0.1、0.5、0.9 を入力し、Done をクリックする。他にも逆推定したい有効率を順次入力してみよう。



12) Probability が 0.5 の場合に、Predicted LogX が 0.567 と推定されている。



13) Tools テーブルメニューから + を選択する。

14) Y 軸が $p=0.5$ となるように、回帰直線上のポイントをクリックしながら移動する。

15) 計算された有効量 $\text{antilog}(0.567)$ にぴったりの数字は、表示はされていないが、近い数字となっている。

3. 計量値に対する逆推定

SAS の計量値に対する回帰分析は、PROC REG、PROC GLM、PROC MIXED、PROC NLIN など多彩であるが、生物検定法が要求する逆推定に対応できるプロシジヤは存在しない。どうしても求めたい場合は、それぞれの回帰直線の推定値と 95%信頼区間を、それが存在する範囲の投与量 X を細分化して SAS データセットを追加し、予測値の出力機能、OUTPUT オプションなどを使用すれば可能である。その結果は膨大になるので、その出力ファイルから必要なものだけ拾い出してくるといった SAS プログラム 2 に示すようなアルゴリズムを用いた方法により対応できる。

他方、JMP では、計量値の解析についても逆推定が標準的な機能としてサポートされている。その機能を紹介しよう。事例として、Hubert ら (1988) のラットに対する降圧薬の研究を取り上げる。

アンジオテンシン I をラットの大腿静脈に注入すると、血圧上昇が起きる。降圧薬は、これを阻害し血圧を下げる。したがって、血圧上昇が少ないほど降圧効果があると判断する。

表 5. アンジオテンシン I 注入後の血圧上昇 (mmHg)

Drug	Dose (mg/kg)	データ									
S	10	48	49	52	53	34	50	58	48	46	56
	30	50	37	36	39	34	36	41	40	30	40
	100	26	20	25	26	27	24	28	25	22	23
	300	20	14	12	16	15	11	18	16	14	13
T	1	44	48	48	56	47	56				
	3	35	39	42	52	41	44				
	10	23	32	33	48	33	28				
	30	10	19	19	27	21	16				
	100	6	5	20	17	15	9				

解析の目的は、標準的な薬物 S に対する試験薬物 T の相対力価と、その 95%信頼区間を求めることである。JMP で解析するためには、データがすべて行方向に展開していただなければならない。表 5 のような形式データのままでは対処できない。この形式のデータを、行方向に展開する機能が“Tables”メニューの“Stack Columns...” コマンドである。これは、列方向に展開している 1 行分のデータを、1 カラムの行方向に展開する（この逆は“Split Columns...” コマンドである）。

データを概観するためには、図 5 に示すように“Fit Y by X” の機能を使うと良い。この図から、降圧剤を増やすと血圧の上昇が小さくなり、S および T がほぼ平行であることがわかる。ほぼ平行であることを統計的にみるのは、投与量と薬剤間の交互作用が無いことを示せば良い。生物検定法では、前節の 2 値データでも示したが、この交互作用のことを Lack of Parallelism、非平行性、または平行性の欠如と言っている。JMP では、“Fit Model” によって解析できる。この結果を出力 3 に示す。

非平行性の P 値は 0.0624 ときわどい値となっている。Lack of Fit から自由度が 5、F 値が 0.6848、P 値が 0.6367 であることから、直線の当てはまりは問題ないことがわかる。これらのことと、LogX の P 値が極めて小さいことを総合して、交互作用は量的であり、S と T に平行線を当てはめて逆推定を行うことは問題ないと判断する。

Bivariate Y By LogX

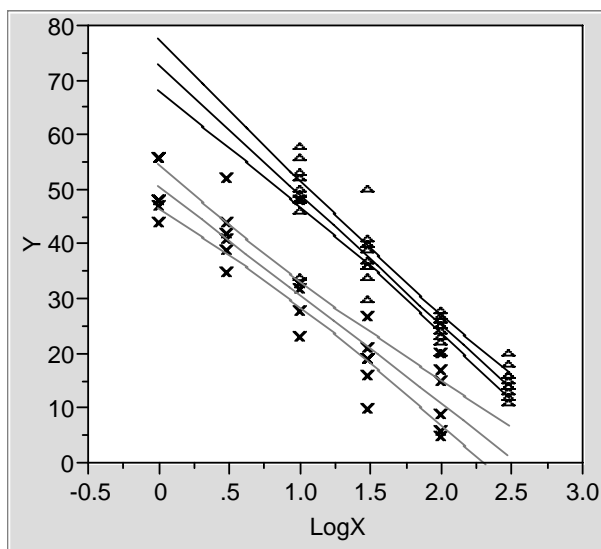


図 5. S 薬と T 薬の降圧効果

△ : Linear Fit Drug=S $Y = 72.957 - 23.673 \text{ LogX}$
 × : Linear Fit Drug=T $Y = 50.734 - 19.816 \text{ LogX}$

出力 3. JMP による非平行性の検討と Lack of Fit の解析

Response: Y				
Summary of Fit				
RSquare				0.8738
RSquare Adj				0.868064
Root Mean Square Error				5.288258
Mean of Response				31.5
Observations (or Sum Wgts)				70
Lack of Fit				
Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio
Lack of Fit	5	98.1012	19.6202	0.6848
Pure Error	61	1747.6333	28.6497	Prob>F
Total Error	66	1845.7345		0.6367
Parameter Estimates				
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	61.845744	1.608317	38.45	<.0001
Drug[S-T]	11.111241	1.608317	6.91	<.0001
LogX	-21.74444	1.017583	-21.37	<.0001
Drug[S-T]*LogX	-1.928588	1.017583	-1.90	0.0624

JMP で生成されるデザイン行列は、

S : 1

T : -1

のような対比なっているので、逆推定には、この値を用いる。

出力 4. JMP による降圧効果が 40、30、および 20 mmHg の場合の逆推定

Response: Y				
Parameter Estimates				
Term	Estimate	Std Error	t Ratio	Prob> t
Intercept	60.861602	1.55135	39.23	<.0001
Drug[S-T]	8.407206	0.756594	11.11	<.0001
LogX	-21.55163	1.031884	-20.89	<.0001

Inverse Prediction /* S薬の逆推定 */				
Y	Predicted LogX	Lower Limit	Upper Limit	1-Alpha
40.000000	1.35807889	1.26720455	1.44193909	0.9500
30.000000	1.82208101	1.74315611	1.90254559	
20.000000	2.28608312	2.19586683	2.38639295	

X Values				
Y	Predicted LogX	Lower Limit	Upper Limit	1-Alpha
40.000000	0.57788662	0.47423915	0.67392117	0.9500
30.000000	1.04188873	0.95067469	1.13404370	
20.000000	1.50589085	1.40647751	1.61479896	

Inverse Prediction /* T薬の逆推定 */				
Y	Predicted LogX	Lower Limit	Upper Limit	1-Alpha
40.000000	0.57788662	0.47423915	0.67392117	0.9500
30.000000	1.04188873	0.95067469	1.13404370	
20.000000	1.50589085	1.40647751	1.61479896	

X Values				
Y	Predicted LogX	Lower Limit	Upper Limit	1-Alpha
40.000000	0.57788662	0.47423915	0.67392117	0.9500
30.000000	1.04188873	0.95067469	1.13404370	
20.000000	1.50589085	1.40647751	1.61479896	

結果を表 6 に整理する。30mmHg の効果を得るために S 薬は、 $10^{1.822} = 66.4 \text{ mg/kg}$ を必要とし、T 薬では $10^{1.041} = 11.0 \text{ mg/kg}$ と少量であることが示されている。

表 6. S 薬と T 薬の逆推定、差の逆推定

降圧効果 Y	S 薬 dose (95% cl)	T 薬 dose (95% cl)	差の逆推定(S - T) dose (95% cl)
40 mmHg	1.358 (1.267, 1.441)	0.577 (0.474, 0.673)	0.781 (0.659, 0.902)
30	1.822 (1.743, 1.902)	1.041 (0.950, 1.134)	0.781 (0.659, 0.902)
20	2.286 (2.195, 2.386)	1.505 (1.406, 1.614)	0.781 (0.659, 0.902)

差の 95%信頼区間は、計量値の場合 JMP では、切片を除くモデルを指定しても、1 が強制的に含められ、計算不能であり、PROC MIXED により計算した。

出力 5. PROC MIXED による S 薬の 30mmHg、S 薬と T 薬の差の逆推定と 95%信頼区間

LOGX	D1	D2	Y	_PRED_	_SEPRD_	_L95_	_U95_	PRED	L95	U95
0.65934	1	-1	.	2.6046	1.3049	-0.0000	5.2091	2.60478	0.00019	5.20937
0.78020	1	-1	.	-0.0002	1.3021	-2.5992	2.5989	0.00005	-2.59903	2.59913
0.90165	1	-1	.	-2.6176	1.3114	-5.2351	-0.0001	-2.61740	-5.23489	0.00009

L95 と L95 の符号が変化したときの LOGX が 95%信頼区間の下限 0.65934 となる。同様に、差の推定値 Y の符号が変化したときの 0.78020 は X 軸に平行な差の推定値となる

4. 効力比の推定

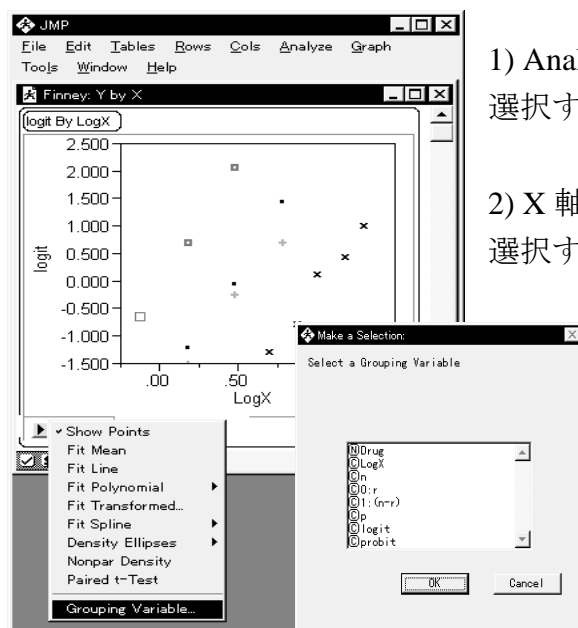
4.1 4種の鎮痛薬の効果

JMP データファイル Finney.jmp を開く。

JMP データファイルは、フォルダ c:\¥ JMP ¥ HandsOn99 ¥ Bioassay にある。

	8 Cols	N	C	C	C	C	C	C	C
14 Rows	Drug	LogX	n	0:r	1:(n-r)	p	logit	probit	
+	1 Morphine	0.18	103	19	84	0.184	-1.486	4.102	
+	2 Morphine	0.48	120	53	67	0.442	-0.234	4.853	
+	3 Morphine	0.78	123	83	40	0.675	0.730	5.453	
▪	4 Amidone	0.18	60	14	46	0.233	-1.190	4.272	
▪	5 Amidone	0.48	110	54	56	0.491	-0.036	4.977	
▪	6 Amidone	0.78	100	81	19	0.810	1.450	5.878	
□	7 Phenadoxone	-0.12	90	31	59	0.344	-0.644	4.600	
□	8 Phenadoxone	0.18	80	54	26	0.675	0.731	5.454	
□	9 Phenadoxone	0.48	90	80	10	0.889	2.079	6.221	
×	10 Pethidine	0.70	60	13	47	0.217	-1.285	4.216	
×	11 Pethidine	0.88	85	27	58	0.318	-0.765	4.526	
×	12 Pethidine	1.00	60	32	28	0.533	0.134	5.084	
×	13 Pethidine	1.18	90	55	35	0.611	0.452	5.282	
×	14 Pethidine	1.30	60	44	16	0.733	1.012	5.623	

4.2 ロジットを用いた回帰直線

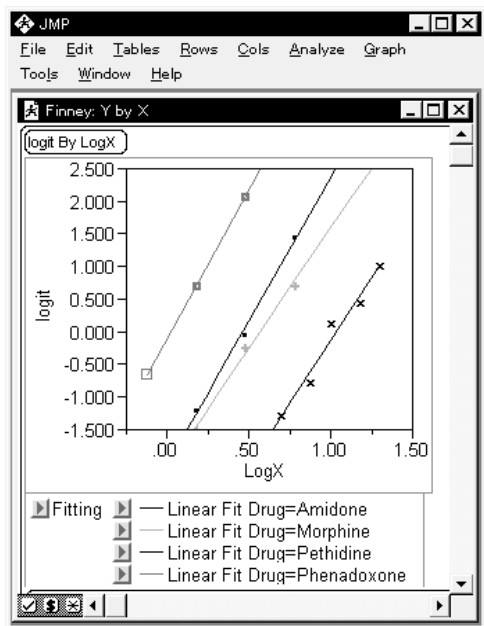


1) Analyze テーブルメニューの Fit Y by X を選択する。

2) X 軸に 変数 LogX を、Y 軸に 変数 p を選択する。

3) Fitting ボタン、Grouping Variable を選択する。

4) Grouping Variable として変数 Drug を選択する



5) 再度 Fitting ボタン、Fit Line を選択する。

6) Tools テーブルメニューから + を選択し、Y 軸が $p=0.5$ となるように回帰直線上のポイント探索してみよう。

7) 4 種の鎮痛薬ごとに回帰直線の傾きは、統計的に平行といえるのであろうか。

4.3 反応あり・なしの表

Drug	LogX	y	freq
1: Morphine	0.18	0	19
1: Morphine	0.18	1	84
1: Morphine	0.48	0	53
1: Morphine	0.48	1	67
1: Morphine	0.78	0	83
1: Morphine	0.78	1	40
2: Amidone	0.18	0	14
2: Amidone	0.18	1	46
2: Amidone	0.48	0	54
2: Amidone	0.48	1	56
2: Amidone	0.78	0	81
2: Amidone	0.78	1	19
3: Phenadoxone	-0.12	0	31
3: Phenadoxone	-0.12	1	59
3: Phenadoxone	0.18	0	54
3: Phenadoxone	0.18	1	26
3: Phenadoxone	0.48	0	80
3: Phenadoxone	0.48	1	10
4: Pethidine	0.70	0	13
4: Pethidine	0.70	1	47
4: Pethidine	0.88	0	27
4: Pethidine	0.88	1	58
4: Pethidine	1.00	0	32
4: Pethidine	1.00	1	28
4: Pethidine	1.18	0	55
4: Pethidine	1.18	1	35
4: Pethidine	1.30	0	44
4: Pethidine	1.30	1	16

反応ありを 0、反応なしを 1 にした形式の表を作成する。

Finney データファイルからテーブルメニューの Stack Columns を用いて、列方向の変数“0”、“1”のデータを行方向に並べ変えることにより作成できる。各自チャレンジしてみてください。

ここでは、Finney01.jmp を開く。

4.4 平行性の検討

モルヒネを基準とした他の鎮痛薬の効力比を求めるためには、それぞれの鎮痛薬のロジスティック回帰直線が統計的に平行であることが必要である。

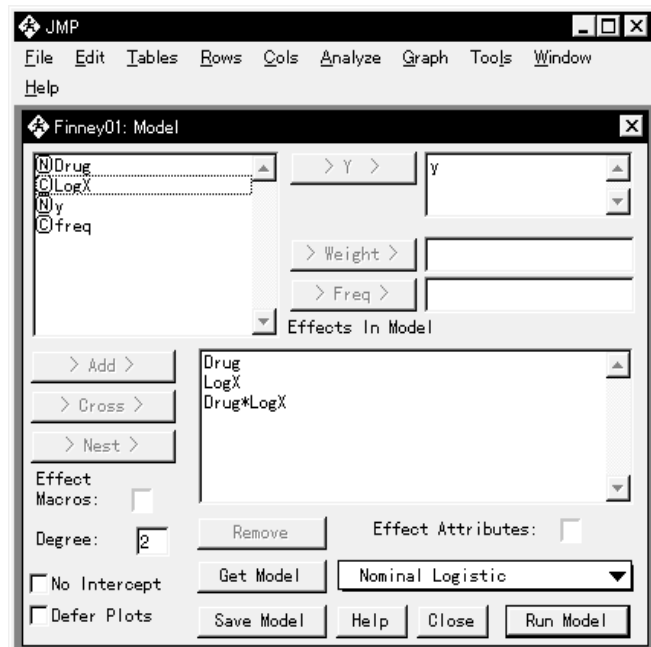
4.4.1 Fit Model の使用

これまでは、Fit Y by X によりロジスティック回帰分析を行ってきたのであるが、これは、基本的に単回帰分析のための手法である。

Fit Model は、重回帰分析、分散分析、共分散分析、ロジスティック回帰分析など多彩なモデル・ベースの統計手法を含んでいる。

ここでは、層別因子を含むロジスティック回帰分析を行う。

4種の鎮痛薬の用量反応がロジット変換後に統計的に平行であるとき、標準薬モルヒネに対する他の鎮痛薬の効力比が求められる。



1) Analyze テーブルメニューの Fit Model を選択する。

2) Y 軸に 変数 y を選択する。

3) Freq に 変数 freq を選択する。

4) Effects In Model に、独立変数として Drug、LogX、Drug * LogX を選択する。

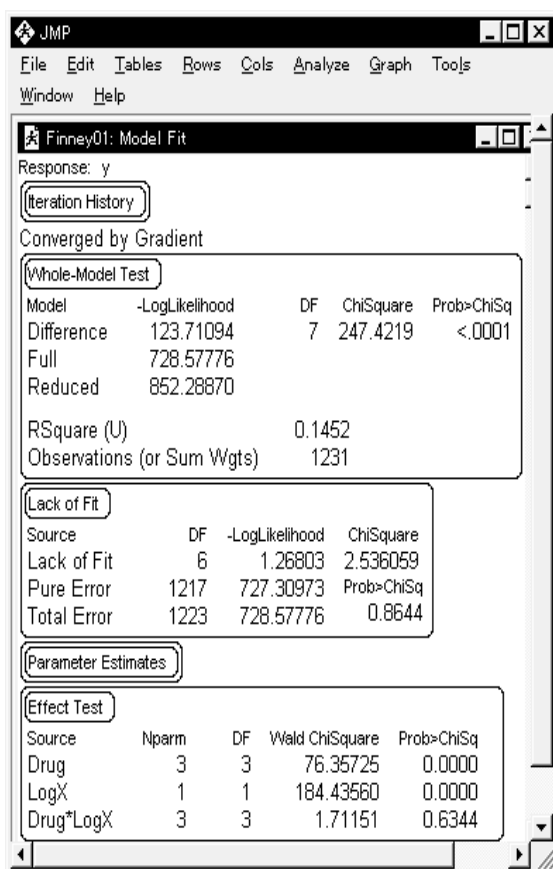
5) 右隅の解析手法の表示が、自動選択され Nominal Logistic となっている。

6) 独立変数の作成手順

- (1) Drug を選択、Add をクリックする。
- (2) LogX を選択、Add をクリックする。

- (3) 再度 Drug を選択、Add をクリックする。
 - (4) 再度 LogX を選択、Cross をクリックする。交互作用 Drug*LogX ができる。
- 7) Run Model をクリックする。

4.4.2 当てはまりの欠如、平行性の欠如



1) Whole-Model Test をクリックして結果を展開する。

2) モデルの当てはまりは、Reduced と Full の対数尤度の差の 2 倍、247.4219 が自由度 7 のカイ 2 乗分布に従うことから検定している。

結果は、 $P < 0.0001$ なのでモデルの当てはまりは良好である。

3) Lack of Fit をクリックして結果を展開する。

4) Lack of Fit が有意でなければ、直線の当てはめが妥当と判断される。

結果は、自由度が 6、カイ 2 乗が 2.536、p 値が 0.8644 と有意でないため、4 本の直線の当てはめは妥当である。

5) 平行線の当てはめの妥当性は、Effect Test の交互作用 Drug*LogX が、有意でないことで判断する。

$P = 0.6344$ と大きいので異なる傾きを持つ直線の当てはめの妥当性は支持されない。

4.4.3 分散分析的なまとめ

Effect Test & Lack of Fit				
Source	Nparm	DF	Wald ChiSquare	Prob>ChiSq
Drug	3	3	76.35725	0.0000
LogX	1	1	184.43560	0.0000
Drug*LogX	3	3	1.71151	0.6344
Lack of Fit		6	2.5360	0.8644
Pure Error		1217	727.30973	
Observations	1231			

**平行性の欠如
当てはまりの欠如**

これは、JMPの結果をジャーナルに落とし、MS-Wordに取り込み、整理したものである。

自由度の確認をしよう。

全サンプルは 1231、

測定ポイントは 14、

$1231 - 14 = 1217$ が Pure Error、

モデルの自由度は、 $3 + 1 + 3 = 7$ 、

総平均の自由度 1 を加えて、

$14 - (7 + 1) = 6$ が Lack of Fit

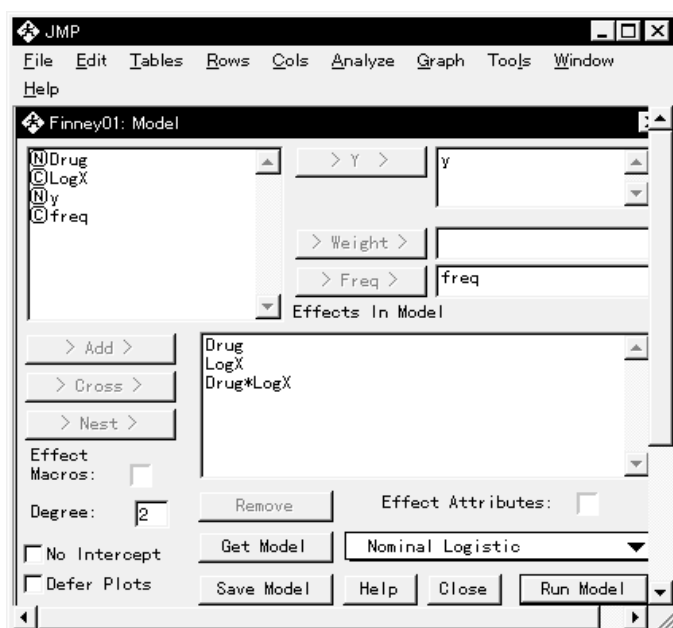
の自由度になっている。

4.5 平行線の当てはめ

4種の鎮痛剤に傾きが同じで切片が異なる4本の用量反応直線、すなわち平行な直線引いてみよう。

そして、それぞれの鎮痛薬の50%有効量を逆推定してみよう。

4.5.1 Fit Model



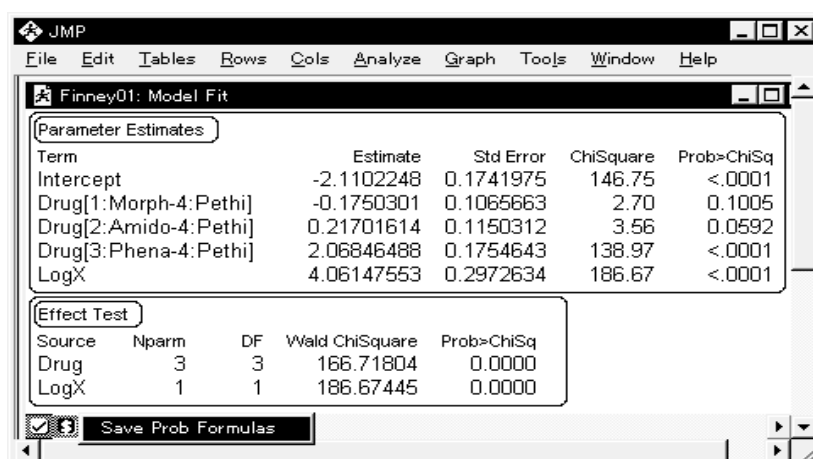
1) Window テーブルメニューから Finney01:Model を選択する。

2) 交互作用 Drug*LogX を選択し、Remove ボタンをクリックする。

3) Effects In Model に Drug と LogX が残っていることを確認し、Run Model をクリックする。

4.5.2 4本の回帰直線

- 1) Parameter Estimates をクリックし、結果を展開する。
- 2) 左隅の \$ ボタンをクリックし、Save Prob Formulas を選択する。



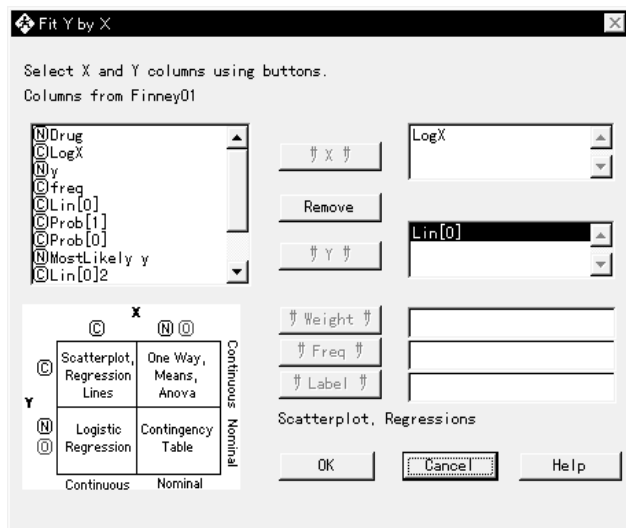
Drug	LogX	y	freq	Lin[0]	Prob[1]	Prob[0]
1:Morphine	0.18	0	19	-1.55419	0.825518	0.174482
1:Morphine	0.18	1	84	-1.55419	0.825518	0.174482
1:Morphine	0.48	0	53	-0.33575	0.583157	0.416843
1:Morphine	0.48	1	67	-0.33575	0.583157	0.416843
1:Morphine	0.78	0	83	0.882696	0.292619	0.707381
1:Morphine	0.78	1	40	0.882696	0.292619	0.707381
2:Amidone	0.18	0	14	-1.16214	0.761722	0.238278
2:Amidone	0.18	1	46	-1.16214	0.761722	0.238278
2:Amidone	0.48	0	54	0.0563	0.485929	0.514071
2:Amidone	0.48	1	56	0.0563	0.485929	0.514071
2:Amidone	0.78	0	81	1.274742	0.218447	0.781553
2:Amidone	0.78	1	19	1.274742	0.218447	0.781553
3:Phenadoxone	-0.12	0	31	-0.52914	0.629282	0.370718
3:Phenadoxone	-0.12	1	59	-0.52914	0.629282	0.370718
3:Phenadoxone	0.18	0	54	0.689306	0.334188	0.665812
3:Phenadoxone	0.18	1	26	0.689306	0.334188	0.665812
3:Phenadoxone	0.48	0	80	1.907748	0.129234	0.870766
3:Phenadoxone	0.48	1	10	1.907748	0.129234	0.870766
4:Pethidine	0.70	0	13	-1.37764	0.798612	0.201388
4:Pethidine	0.70	1	47	-1.37764	0.798612	0.201388
4:Pethidine	0.88	0	27	-0.64658	0.656239	0.343761
4:Pethidine	0.88	1	58	-0.64658	0.656239	0.343761
4:Pethidine	1.00	0	32	-0.1592	0.539716	0.460284
4:Pethidine	1.00	1	28	-0.1592	0.539716	0.460284
4:Pethidine	1.18	0	55	0.571865	0.360807	0.639193
4:Pethidine	1.18	1	35	0.571865	0.360807	0.639193
4:Pethidine	1.30	0	44	1.059242	0.257454	0.742546
4:Pethidine	1.30	1	16	1.059242	0.257454	0.742546

3) Windows テーブルメニューから Finney01 を選択すると、

変数 Lin[0]、
 変数 Prob[1]、
 変数 Prob[0]

が、JMP テーブルに付加されている。

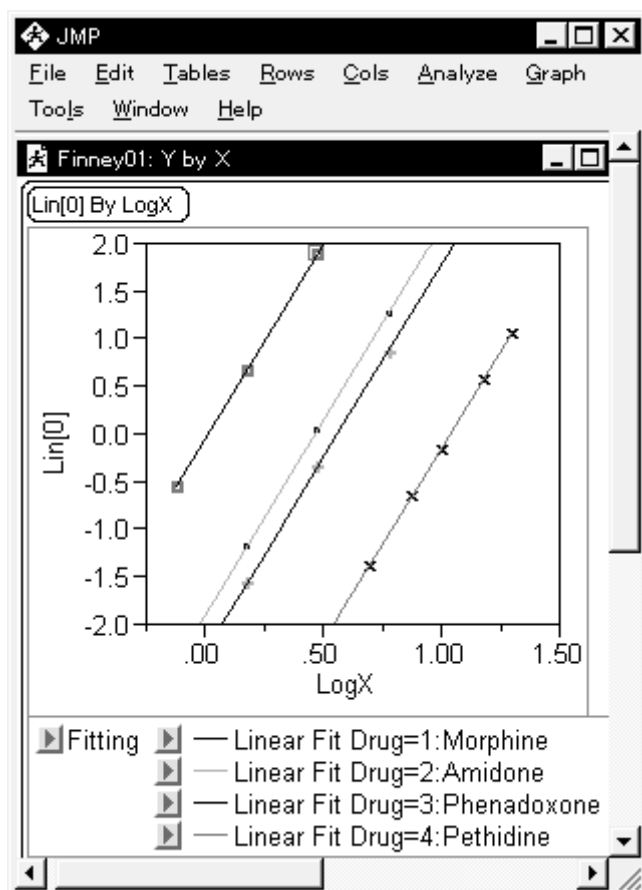
4) Lin[0] に、4本の平行な反応直線上の予測値が推定されている。



5) Fit Y by X を用いて確認してみる。

6) X 軸に、変数 LogX を、Y 軸に変数 Lin[0]を選択し、OK ボタンをクリックする。

7) プロット図があらわれたならば、左隅の Fitting ボタンをクリックし、Grouping Variable をオンにし、変数 Drug を選択する。



8) 再度、左隅の Fitting ボタンをクリックし、Fit Line を選択する。

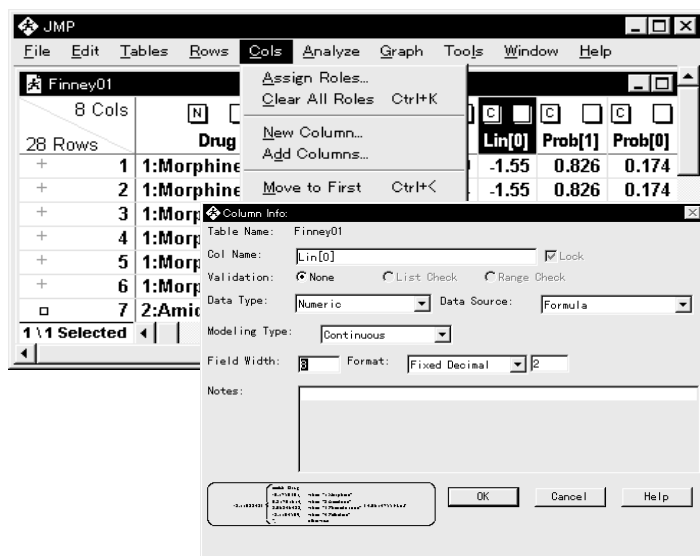
9) Tool テーブルメニューから、+ ツールを選択する。

10) Y 軸が 0 となるようなモルヒネの線上をクリックしながらに探索する。

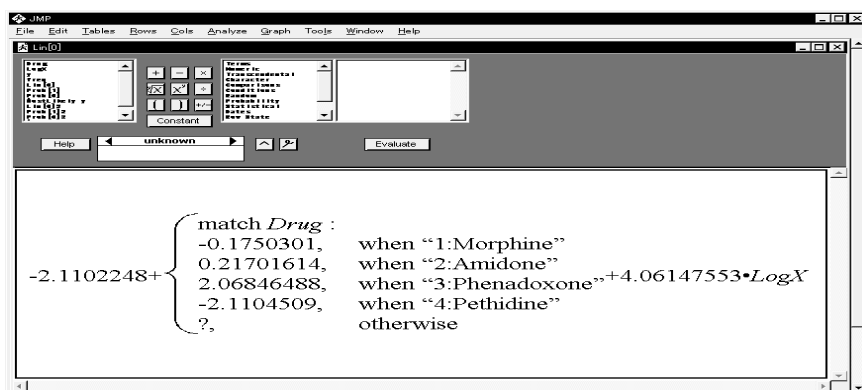
11) LogX が 0.55704 と推定されている。他の鎮痛剤についても推定してみよう。

4.5.3 回帰係数

4本の回帰直線の回帰係数を、求めてみよう。



- 1) Lin[0]カラムを選択する。
- 2) Cols テーブルメニューより、Column Info を選択する。
- 3) Column Info ウィンドウが開く。
- 4) 左隅の数式らしきものをクリックする。



5) モルヒネの切片は、

$$-2.1102 - 0.1750 = -2.2852$$

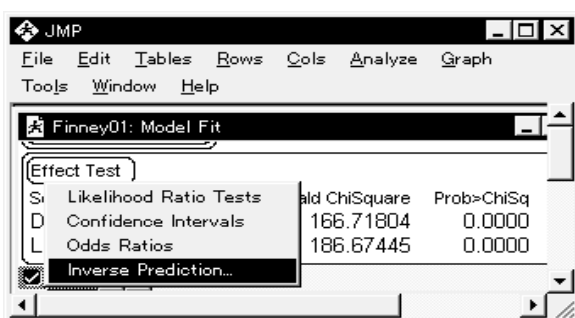
であり、傾きは -4.0615 であることがわかる。アミドネ、ペナドキシオネも同様に計算できる。各自、計算し、図から得られる結果と対比してみよ。

6) ペチジンの場合は、他の鎮痛剤と異なり、切片は、

$$-2.1102 - (-0.1750 + 0.2170 + 2.0689) = -4.2211$$

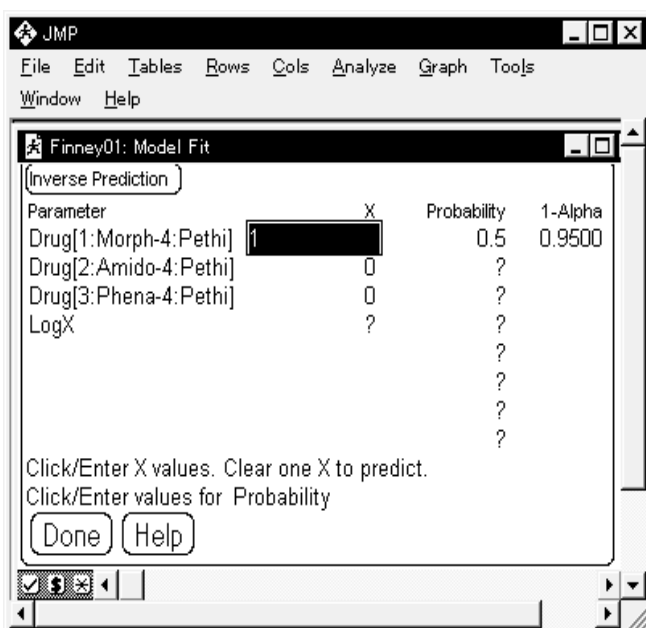
となる。JMP が対比型のダミー変数を自動生成していることによるが、ここでは、その内容には触れない。

4.5.4 50%有効量の推定



1) Model Fit ウィンドウの左隅にある ✓ をクリックする。

2) Inverse Prediction をクリックし、逆推定の画面を出す。



3) モルヒネの 50% 有効量を求めるためには、名義尺度データである鎮痛薬で生成されているダミー変数が、対比型であることから、

$$\text{Drug}[1:\text{Morph-4:Pethi}] = 1、$$

$$\text{Drug}[2:\text{Amido-4:Pethi}] = 0、$$

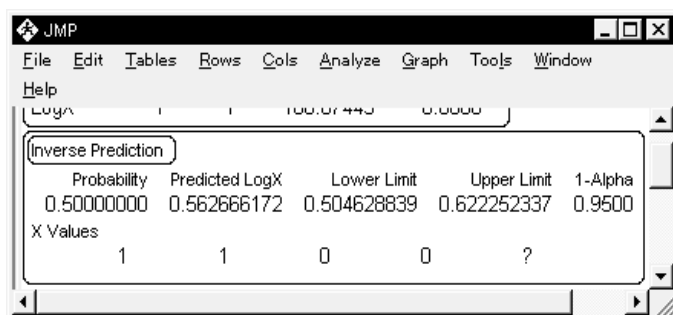
$$\text{Drug}[3:\text{Phena-4:Pethi}] = 0、$$

$$\text{LogX} = ?$$

を入力する。

4) Probability は、縦に ? が並んでいる、先頭に、0.5 を入力する。隣の列の行とは関連がない。

5) Done をクリックする。



6) 逆推定の結果、50% 有効量として $\text{antilog}(0.5627)$ が得られ、その 95% 信頼区間は (0.5046、0.6223) である。

7) アミドネは [0, 1, 0]、ペナドキシオネは [0, 0, 1]、ペチジンは [-1, -1, -1] で逆推定できる。

The screenshot shows the JMP software interface with three stacked 'Inverse Prediction' tables. Each table has the following columns: Probability, Predicted LnX, Lower Limit, Upper Limit, and 1-Alpha. The 'X Values' are listed below each table.

Probability	Predicted LnX	Lower Limit	Upper Limit	1-Alpha
0.50000000	0.466138147	0.399221549	0.531062390	0.9500
X Values				
1	0	1	0	?

Probability	Predicted LnX	Lower Limit	Upper Limit	1-Alpha
0.50000000	0.010281961	-0.06328981	0.079513521	0.9500
X Values				
1	0	0	1	?

Probability	Predicted LnX	Lower Limit	Upper Limit	1-Alpha
0.50000000	1.03919764	0.983434817	1.09551263	0.9500
X Values				
1	-1	-1	-1	?

7) アミドネの 50%有効量は、

$$\text{antilog}(0.4661)$$

である。

8) ペナドキシオネの 50% 有効量は、

$$\text{antilog}(0.0103)$$

である。

9) ペチジンの 50% 有効量は、

$$\text{antilog}(1.0392)$$

である。

4.5.5 効力比の計算

モルヒネに対してアミドネの効力比 40 は、

$$\rho = \frac{\text{標準検体の 50\%有効量}}{\text{未知検体の 50\%有効量}}$$

と定義されているので、モルヒネを標準検体とした場合のアミドネの効力比は、 $\text{antilog}(0.5627) / \text{antilog}(0.4661) = 1.22$ 倍 となる。

ペナドキシオネの効力は、 $\text{antilog}(0.5627) / \text{antilog}(0.0103) = 3.57$ 倍、ペチジンの効力は、 $\text{antilog}(0.5627) / \text{antilog}(1.0392) = 0.33$ 倍となる。

4.6 効力比の95%信頼区間

2.5 節では、効力比の95%信頼区間を示さなかった。これには、理由がある。逆推定に際して、切片が1に固定され、差の推定で切片を0する必要があるの
 であるが、現在の JMP のバージョンでは変更できないためである。

この JMP の制約を回避するために、ダミー変数を自前で生成し、切片なしの
 ロジスティック回帰モデルを用いる。

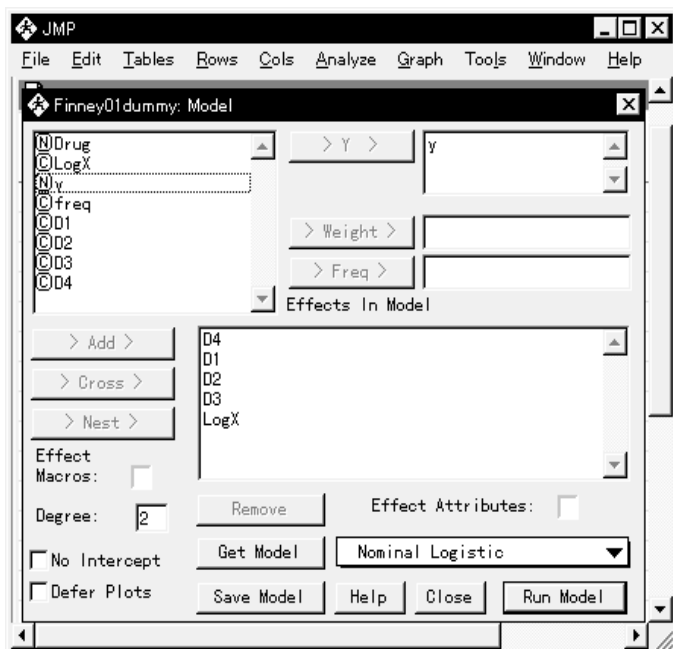
4.6.1 ダミー変数の生成

8 Cols	N	C	N	C	C	C	C	C
28 Rows	Drug	LogX	y	freq	D1	D2	D3	D4
+	5 1:Morphine	0.78	0	83	1	0	0	0
+	6 1:Morphine	0.78	1	40	1	0	0	0
□	7 2:Amidone	0.18	0	14	0	1	0	0
□	8 2:Amidone	0.18	1	46	0	1	0	0
□	9 2:Amidone	0.48	0	54	0	1	0	0
□	10 2:Amidone	0.48	1	56	0	1	0	0
□	11 2:Amidone	0.78	0	81	0	1	0	0
□	12 2:Amidone	0.78	1	19	0	1	0	0
□	13 3:Phenadoxone	-0.12	0	31	0	0	1	0
□	14 3:Phenadoxone	-0.12	1	59	0	0	1	0
□	15 3:Phenadoxone	0.18	0	54	0	0	1	0
□	16 3:Phenadoxone	0.18	1	26	0	0	1	0
□	17 3:Phenadoxone	0.48	0	80	0	0	1	0
□	18 3:Phenadoxone	0.48	1	10	0	0	1	0
×	19 4:Pethidine	0.70	0	13	0	0	0	1
×	20 4:Pethidine	0.70	1	47	0	0	0	1
×	21 4:Pethidine	0.88	0	27	0	0	0	1
×	22 4:Pethidine	0.88	1	58	0	0	0	1
×	23 4:Pethidine	1.00	0	32	0	0	0	1
×	24 4:Pethidine	1.00	1	28	0	0	0	1
×	25 4:Pethidine	1.18	0	55	0	0	0	1
×	26 4:Pethidine	1.18	1	35	0	0	0	1
×	27 4:Pethidine	1.30	0	44	0	0	0	1
×	28 4:Pethidine	1.30	1	16	0	0	0	1

Finney01dummy.jmp
 ファイルを開く。

ダミー変数は、D1、
 D2、D3、D4 のようにす
 る。

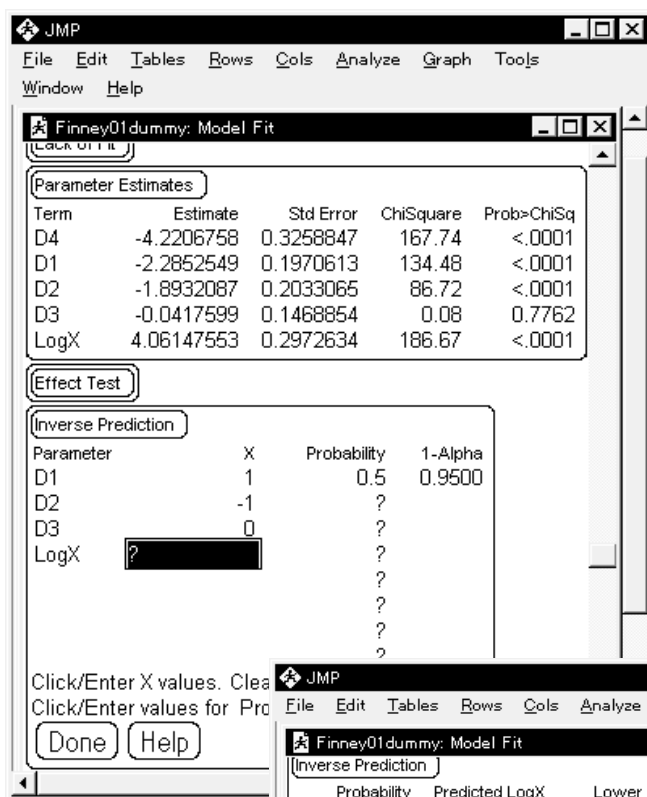
4.6.2 切片なしのモデル



1) 独立変数に、D4、D1、D2、D3、LogX を与える。この順番が大切である。

2 番目以降に標準薬を置くこと。

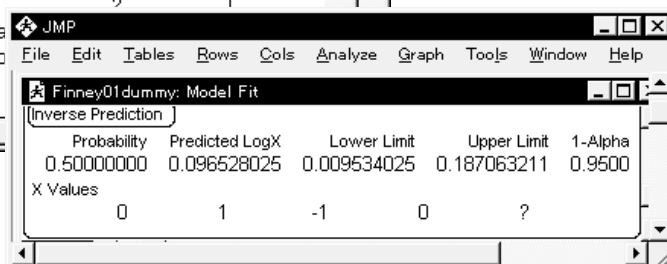
2) No Intercept をオンにする。



3) D1 - D2 の対比を与える。

4) LogX は ? とする。

5) Probability は、0.5 とする。



6) 標準約モルヒネと未知検体アモドネの効力比は、

$$\rho = \text{antilog}(0.56267 - 0.46614) = \text{antilog}(0.09653) = 1.25$$

となる。2.5 節の効力比 1.22 と異なるが、計算精度の問題が起きており、こちらが計算上は正確である。

7) 効力比の 95%信頼区間の下限と上限は、

$$\rho_{95L} = \text{antilog}(0.00953) = 1.02$$

$$\rho_{95U} = \text{antilog}(0.18706) = 1.54$$

となる。

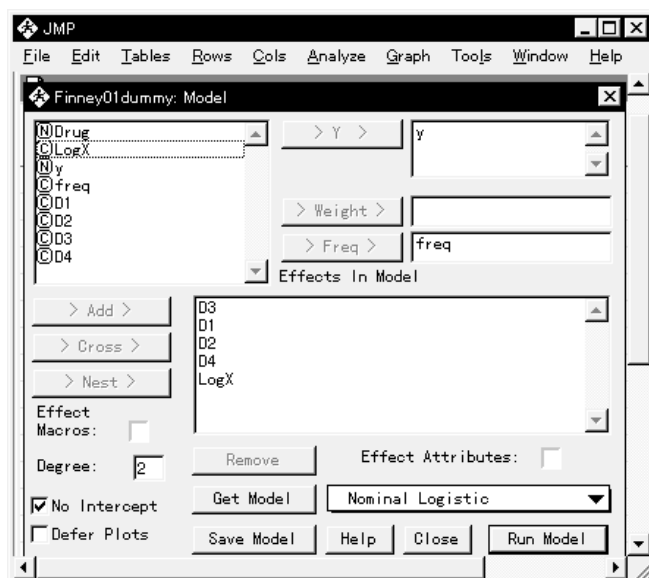
8) D1 - D3、ペナドキシオネの log (効力比)

Probability	Predicted LnX	Lower Limit	Upper Limit	1-Alpha
0.50000000	0.552384211	0.461947630	0.648709831	0.9500

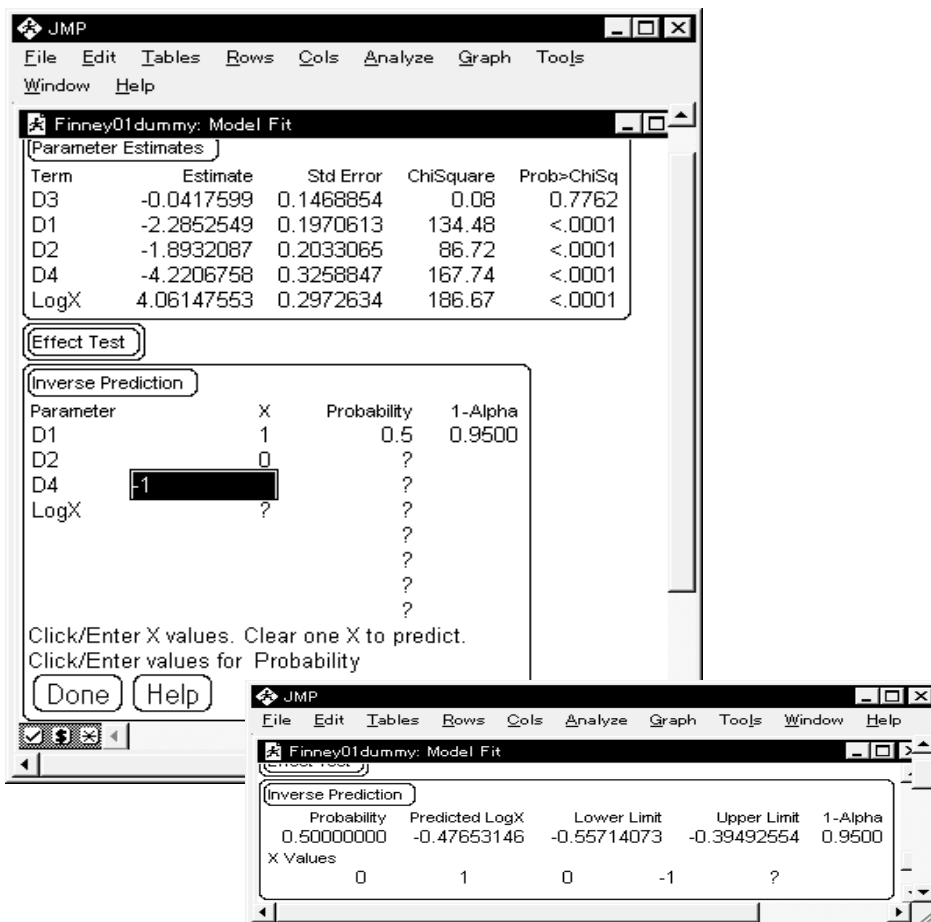
X Values: 0, 1, 0, -1, ?

4.6.3 第 2 の切片なしモデル

独立変数の順番を、D3、D1、D2、D4、LogX とする。



Inverse prediction で、D1 - D4 の効力の差を推定している。
 ペチジンの $\log(\text{効力比})$ と、その 95%信頼区間を次に示す。



5. 複数の誤差を伴う生物検定法

医薬安全性研究会 77 回定例会 (1999) で取り上げられた *in-vitro* 薬効薬理試験における実験計画並びに統計解析の事例「ヒト白血球の LPS 刺激における D 薬のサイトカイン産生抑制作用」が複数の誤差を伴う生物検定法の例である。表 7 にデータを示す。課題の提示者は、「グラフから、D 薬について濃度依存的なヒトの白血球からのサイトカイン産生抑制作用が認められた。しかし、LPS 対照群と D 薬の各濃度群間との Dunnett 型あるいは Williams 型検定では、いずれの群間にも、統計的有意差が認められなかった」と結論し、「本試験における適切な統計解析法はなにか、本実験において、計画段階での不備があったとすれば、本来、どう計画するのが適切であったか。」との質問をしている。

実験は、第 1 日目に A 氏の分離した白血球を、1 つのプレート上 (例えば 96 ウェル) で、LPS を無添加 (-) の 3 つのウェル (くぼみ)、LPS 添加 (+) を 15 ウェルに、その内 12 ウェルに D 薬の 4 用量をそれぞれ 3 つのウェルに添加し、全体で 18 個のウェルの中で産生されたサイトカインを一括測定した。第 2 日目に B 氏、第 3 日目に C 氏の白血球について実験が行われた。

表 7 サイトカイン産生抑制

(pg/mL)

G	DOSE	SBJ	LPS	Y1	Y2	Y3
1	0	A	-	27.3	24.4	22.5
	0	B	-	66.4	80.6	46.2
	0	C	-	14.4	18.3	19.9
2	0	A	+	1410.0	1260.4	1325.3
	0	B	+	8908.6	7361.1	6735.0
	0	C	+	282.8	282.2	233.4
3	0.1	A	+	1076.9	1132.6	960.0
	0.1	B	+	6617.3	5866.2	5919.6
	0.1	C	+	80.5	65.9	64.8
4	0.3	A	+	680.9	903.7	966.1
	0.3	B	+	3316.1	2451.0	3700.7
	0.3	C	+	22.4	14.4	18.8
5	1	A	+	821.5	637.5	653.9
	1	B	+	1838.9	1274.3	1227.5
	1	C	+	9.6	5.8	8.6
6	3	A	+	170.5	132.1	212.7
	3	B	+	890.3	709.7	1201.1
	3	C	+	11.0	7.2	4.9

この薬理試験において検証したいこと何であろうか。その目的に合致した統計解析はどのよなものであろうか。幾つかの統計解析の考え方、それに対する問題点を示そう。

表7の結果だけを見ただけでは、6群 × 3人 × 3測定 = 54個のデータが完全ランダムであるのか、あるいは、ランダム化が制約された分割実験となっているの判断できない。実験手順から、Aさん、Bさん、およびCさん別にデータを並べ替えてみるとよい。その中で、ランダム化がされていることに注意が向くであろう。言い換えると、6群 × 3測定 = 18個のデータの中でランダム化が行われている。その18個のデータ間には、個体ごとの本質的な血液学的な反応差のみならず、様々な実験操作に伴う誤差が複合して入り、それらは、この実験データからは、特定できないのである。

次に、1群当たり3個のデータについて考えてみよう。各ウェルに注入する順番、測定順番など幾つかのランダム化が制約されているかもしれない。ただし、Aさん、Bさん、2人のデータでは、異なる用量間で同程度の大きさのデータが存在しているので、それらのランダム化の制約が無視できると判断される。言い換えると、18個のデータは、完全にランダム化されていると見なして差し支えない。

以下に5つの解析事例を示す。同じ実験データであっても、まったく異なる結果が得られる。正解とは言わないまでも、解析事例4による用量反応の解析と解析事例5に示した第2群(LPS添加)を基準としたサイトカインの産生抑制が発現する用量の推定が、この実験の解析方法として妥当と考える。

解析事例1. 54個のデータが完全ランダム化されたとした1元配置分散分析

方法：6群間でTukeyの多重比較を行う。

model $\log(Y) = \text{Group}$;

問題点：個体間と個体内の誤差で検定しているので有意差が出難い

比較の基準群が不明瞭、生物学的な判定基準がない

群間の分散が明らかに異なるので1元配置分散分析の適用は不適当

結果：群1に対して群2のみが有意

個体ごとの用量反応関係は、統計解析を行わずとも明らかにある。

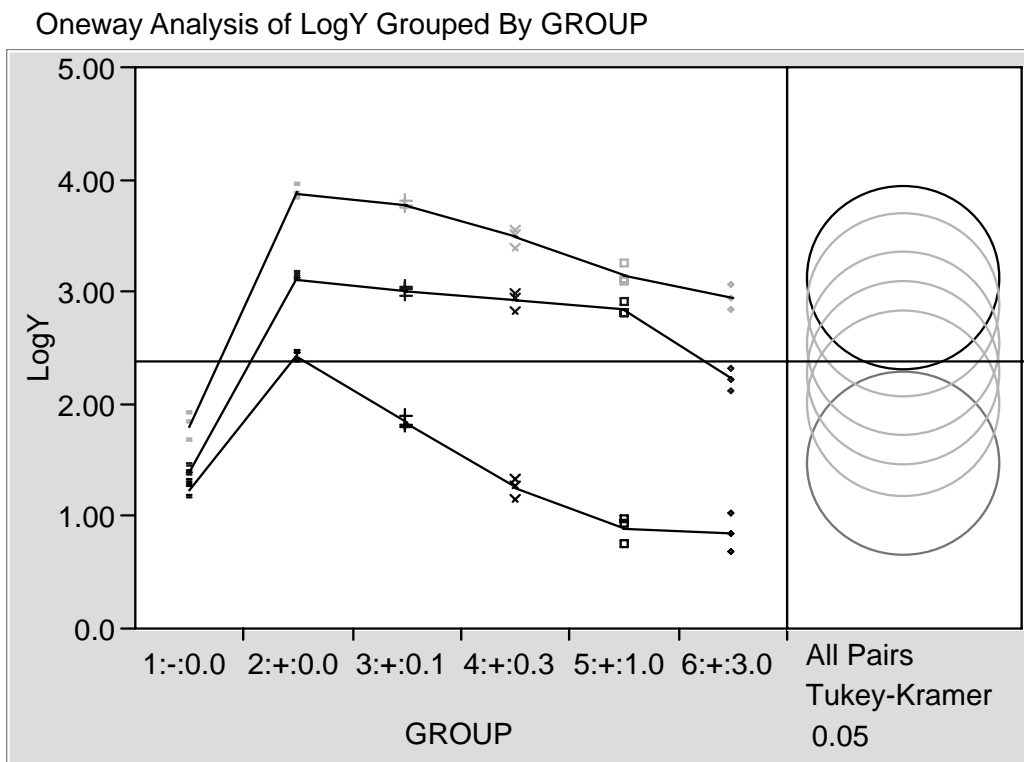


図 6. 各個人ごとの散布図および Tukey の多重比較

解析 2. 各個体別に求めた 3 個のデータの平均値に対する用量反応性の検討

方法：LPS 添加 5 群に対して回帰分析

model log(Y)_mean = Dose ;

問題点：各個体の対応関係を無視していることになり、15 人分のデータと見なしたと同じである。

結果：用量反応が有意でない (P=0.1138)

Bivariate Mean(LogY) By Mean(LnX)

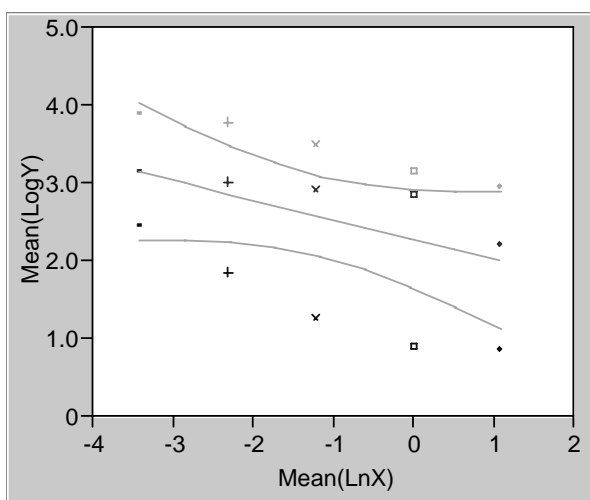


図 7. 個体の平均値の散布図

Linear Fit Mean(LogY) = 2.2883542 - 0.2512466 Mean(LnX)

この回帰直線は、それぞれ独立な測定結果とみなした場合に相当する。回帰直線の 95%信頼区間が共に水平となっているので、回帰が有意でないことがわかる。

解析 3. 混合モデルを前提に LPS 無添加群を基準とした群間の比較

方法：個体と群を固定効果、個体と群の交互作用を変量効果とした混合モデル
同一個体内の 3 回の測定は、繰返し測定誤差と見なす

群 1 (LPS 無添加群) に対して各群との比較を Dunnett 行う

model log(Y) = Subject Group ;

random Subject * Group

問題点 実験の目的は、LPS 添加に拮抗する D 薬の量を、統計的に差が無くなる用量をもって同定しようとする解析方法となる。3 例程度では、検出力が低く、統計的に差が無いことの強調は困難である

結果 群 1 に対して群 5 (D 薬 1.0 nM 群) より Dunnett 法で有意差が出なくなる

出力 6. PROC MIXED によるダネットの多重比較

GROUP	GROUP	Differences of Least Squares Means					Adjustment	Adj P
		Difference	Std Error	DF	t	Pr > t		
2:+:0.0	1:-:0.0	1.6665246	0.3161088	10	5.27	0.0004	Dunnett-Hsu	0.0015
3:+:0.1	1:-:0.0	1.4086180	0.3161088	10	4.46	0.0012	Dunnett-Hsu	0.0049
4:+:0.3	1:-:0.0	1.0829562	0.3161088	10	3.43	0.0065	Dunnett-Hsu	0.0247
5:+:1.0	1:-:0.0	0.8205668	0.3161088	10	2.60	0.0267	Dunnett-Hsu	0.0943
6:+:3.0	1:-:0.0	0.5401066	0.3161088	10	1.71	0.1183	Dunnett-Hsu	0.3557

解析 4. 個体ごとの用量反応の検討

方法：個体ごとに回帰直線を同時に当てはめ用量反応関係を検討

model log(Y) = Subject Subject*LnDOSE / noint ;

問題点：そもそも実験の目的は何か。この範囲の用量で直線的な用量反応があるか調べることなのか。あるいは、各個体間の反応の平行性を調べたいのか、はっきりしない。

結果 それぞれの被験者の用量反応、直線の傾きは、-0.174、-0.219、および -0.379 とすべて有意である。図 8 にサイトカイン量の常用対数を取った散布図に個人ごとにあてはめた回帰直線と、その 95%信頼区間を表示した。

出力 7. PROC MIXED による回帰係数の推定と 95%信頼区間

Effect	SBJ	Solution for Fixed Effects							
		Estimate	Std Error	DF	t	Pr > t	Alpha	Lower	Upper
SBJ	A	2.626000	0.051631	39	50.86	0.0001	0.05	2.5216	2.7304
SBJ	B	3.199796	0.051631	39	61.97	0.0001	0.05	3.0954	3.3042
SBJ	C	1.039265	0.051631	39	20.13	0.0001	0.05	0.9348	1.1437
LNDOSE*SBJ	A	-0.174419	0.026126	39	-6.68	0.0001	0.05	-0.2273	-0.1216
LNDOSE*SBJ	B	-0.219583	0.026126	39	-8.40	0.0001	0.05	-0.2724	-0.1667
LNDOSE*SBJ	C	-0.359737	0.026126	39	-13.77	0.0001	0.05	-0.4126	-0.3069

一般的に、個体差の大きい実験では、同一個体内で処理間の比較を行うのが鉄則である。この実験では、3人の被験者の白血球を使用しており、比較すべき全ての処理が一被験者の中で行われている。このように観点から、用量反応関係を含む結果の生物学的な解釈は、個人間の誤差を考慮すべき課題と、個人内の誤差で判定すべき課題をはっきりと区別して論じなければならない。

この問題は、実験計画法でいうところの分割実験になっている。結果の一般化可能性という観点からは、被験者を固定効果と見なすか変量効果と見なすかの問題となる。固定効果と見なす場合は、この実験の3人での実験の再現性を考えることに対応し、変量効果とすることは、他の被験者の場合にも当てはめられる結論を言いたいときに必要である。

Bivariate LogY By LnX

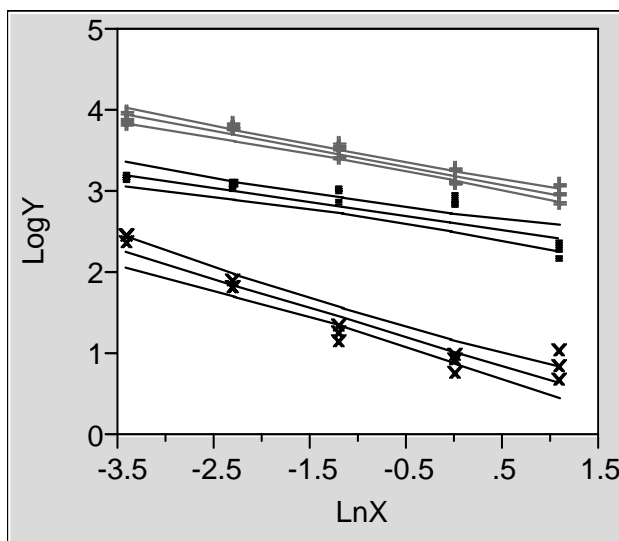


図 8. 個体ごとの回帰直線とその 95%信頼区間

- : Linear Fit SBJ = A $\text{LogY} = 2.6260004 - 0.1744194 \text{LnX}$
- + : Linear Fit SBJ = B $\text{LogY} = 3.1997964 - 0.2195832 \text{LnX}$
- × : Linear Fit SBJ = C $\text{LogY} = 1.0392657 - 0.3597373 \text{LnX}$

解析 5. 第 2 群 (LPS 添加) を基準として、サイトカインの産生抑制が発現する用量
 方法：用量群を固定効果、被験者を変数効果、被験者と用量群の交互作用を変
 量効果とした線形混合モデルによる解析をおこなう

```
model logY = Group ;
random Subject Subject*Group ;
```

問題点 統計的な有意差検定のみで判定するのは例数が少ないので、抑制する
 用量を大き目に判定しがちになる。平均値、および、その 95%信頼区
 間をみながら、過少評価・過大評価をしないようにする必要がある。

結果 第 4 群 (D 薬 0.3 nM) より LSD 法により有意差 (P=0.0209) が出る。
 ただし、被験者間の変動が大きいため、固定用量でのサイトカイン
 産生抑制の平均値の 95%信頼区間は、最高用量の 3.0 nM 群の場合、

$$10^{-0.3735} \sim 10^{4.4067}$$

と非常に広いことに注意を要する。

出力 8. PROC MIXED による個体を変量効果としたモデル

Covariance Parameter Estimates (REML)

Cov Parm	Estimate		
SBJ	1.03155794	/* 個体間の誤差分散	*/
GROUP*SBJ	0.05945078	/* 群間の差の検定のための誤差分散	*/
Residual	0.00781063	/* 個体内の誤差分散	*/

Tests of Fixed Effects

Source	NDF	DDF	Type III F	Pr > F
GROUP	4	8	9.77	0.0036

Least Squares Means

Effect	GROUP	LSMEAN	Std Error	DF	t	Pr > t	Alpha	Lower	Upper
GROUP	2:+:0.0	3.1430298	0.6037693	2.19	5.21	0.0287	0.05	0.7529	5.5331
GROUP	3:+:0.1	2.8851232	0.6037693	2.19	4.78	0.0342	0.05	0.4950	5.2752
GROUP	4:+:0.3	2.5594614	0.6037693	2.19	4.24	0.0436	0.05	0.1694	4.9496
GROUP	5:+:1.0	2.2970720	0.6037693	2.19	3.80	0.0541	0.05	-0.0930	4.6872
GROUP	6:+:3.0	2.0166118	0.6037693	2.19	3.34	0.0697	0.05	-0.3735	4.4067

Differences of Least Squares Means

GROUP	_GROUP	Difference	Std Error	DF	t	Pr > t	Alpha	Lower	Upper
3:+:0.1	2:+:0.0	-0.2579065	0.2033950	8	-1.27	0.2405	0.05	-0.7269	0.2111
4:+:0.3	2:+:0.0	-0.5835684	0.2033950	8	-2.87	0.0209	0.05	-1.0526	-0.1145
5:+:1.0	2:+:0.0	-0.8459578	0.2033950	8	-4.16	0.0032	0.05	-1.3150	-0.3769
6:+:3.0	2:+:0.0	-1.1264180	0.2033950	8	-5.54	0.0005	0.05	-1.5954	-0.6574

Tests of Fixed Effects : NDF は分子の自由度、DDF は分母の自由度、これから群間の検定は、GROUP*SBJ で行われていることがわかる。

Least Squares Means: 群の SE は、3 種の誤差分散を合成その自由度 2.19 は、Satterthwaite の自由度の調整法を用いている。このために 95%信頼区間は、非常に広がっている。ここに示されている t 検定は、群の平均値に対するもので、全く意味がない。

Differences of Least Squares Means : 第 2 群との差であり、この場合の Std Error は、2 つの誤差分散 GROUP*SBJ と Residual の分散を合成したものである。

6. JMPによる混合モデルの解析

前節に示した混合モデルは、バージョン3のJMPには含まれていない。現在開発中のバージョン4から利用できそうである。以下に、前節の解析事例5の出力にβ4版の出力とを対比する。

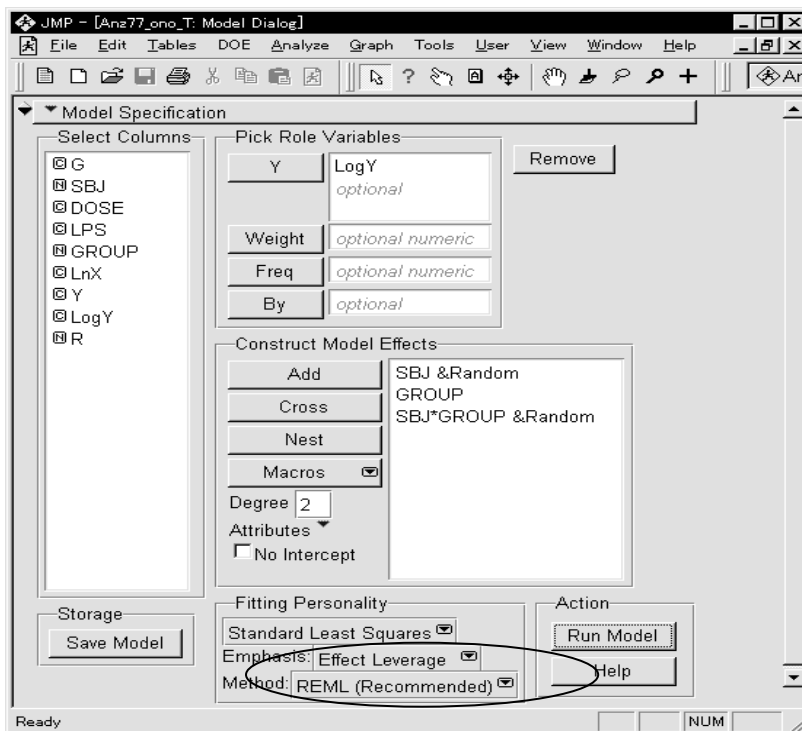


図9. JMPによる固定効果とランダム効果の指定

ML, および REML による解析が、新しいバージョンで追加された。

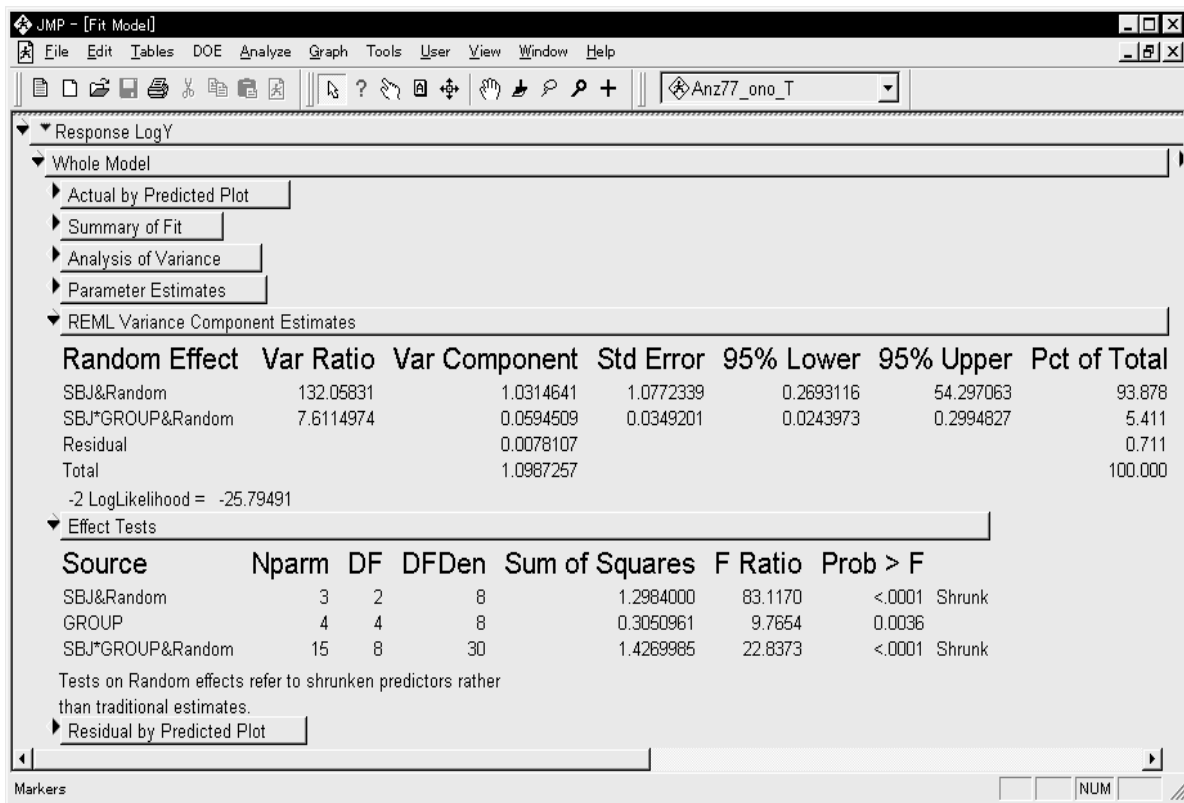


図 10. JMP による混合モデルの分散成分、および分散分析表

VAR Component は、PROC MIXED の分散成分、1.03155, 0.05945, 0.00781 に一致している。分散分析表の GROUP の F 値 9.7654 も一致している

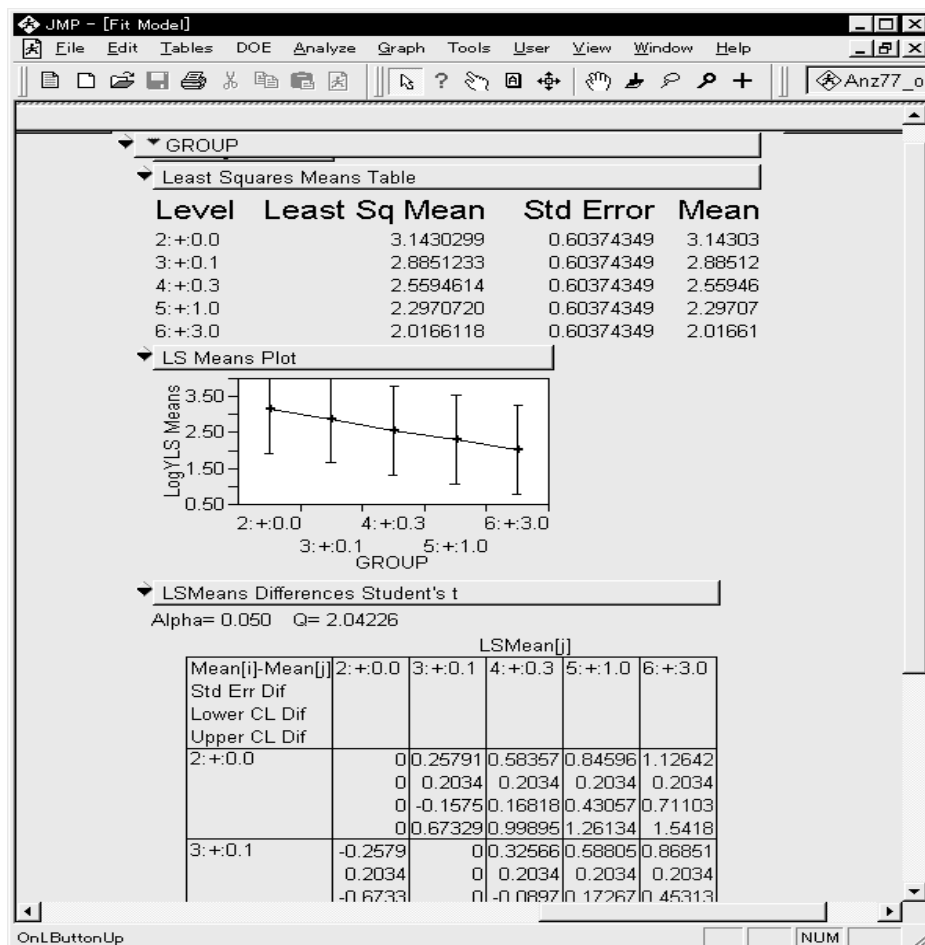


図 11. 群の LSMEAN、LSD 法による差の推定と信頼区間

Least Sq Mean と Std Error は、PROC MIXED の LSMEAN と Std Error に一致している。差の Std Err Dif は一致しているが、信頼区間は一致しない。JMP は小さ目になっている。これは、誤差の自由度を、個体内の誤差分散の自由度 30 を用いているからである。自由度が大きい場合には、大きな問題とならないが、この例のような少数例の場合に問題である。PROC MIXED の初期のリリースも同じ問題があったので、解決されることを期待したい。

文献

Finney, J. D. (1971), Probit analysis 3rd ed., Cambridge, London.

Hubert, J. J., Bihidar, M. R., Peace, K.E. (1988), Assessment of Pharmacological Activity. in *Biopharmaceutical Statistics for Drug Development* (83-148), Dekker.

中上節夫、森川敏彦監訳 (1992) 医薬統計学、サイエンティスト社.

小野秀樹、山田俊介 (1999)、In vitro 薬効薬理試験における実験計画並びに統計解析、医薬安全性研究会 77 回定例会資料 (1999).