

低用量から発現する薬効・毒性の推定

—極値分布およびゴンペルツ曲線の応用—

—正規分布曲線およびロジスティック曲線への回帰—

第 26 回 高橋セミナー

2007 年 1 月 27 日

高橋 行雄

2007/01/29 13:31

表紙裏

2007 年 1 月 16 日，新規作成，
ファイル名：F:\¥Q7_2007¥Q7_ANZ_S26_シグモイド曲線のあてはめ¥S26_ゴンペルツ曲線の応用_修正版.doc

低用量から発現する薬効・毒性量の推定

目 次

1. はじめに	1
<<< 追加・訂正・修正 >>>	1
1.1. 環境ホルモン	2
1.2. 極値分布曲線とゴンペルツ曲線	4
2. ゴンペルツ曲線	5
2.1. ゴンペルツ曲線の基礎	5
2.2. パラメータを切片 β_0 と傾き β_1 とする場合	5
2.3. ゴンペルツ曲線の回転	7
2.4. 10% 反応量, および, その 95% 信頼区間の推定	8
2.5. 最小値を持つ回転後のゴンペルツ曲線	10
2.6. 定式化	10
基本となるゴンペルツ曲線	10
最小反応が 0 でない場合のゴンペルツ曲線	11
逆推定を伴うゴンペルツ曲線	11
最小反応があり逆推定を伴うゴンペルツ曲線	12
逆推定で対数用量ではなく用量を直接計算する方法	13
2.7. 実データでのあてはめ	13
内臓痛試験, 碓山さんの事例	13
実験結果のあらまし	13
JMP による解析事例	14
3. 極値分布曲線の活用	17
3.1. 極値分布をあてはめた場合の D_{50} および D_{10} の推定	17
3.2. 極値分布を計量値のシグモイド曲線への拡張	19
4. 正規分布を計量値のシグモイド曲線とする拡張 (訂正版)	21

4.1. シグモイド曲線としての正規分布の拡張.....	21
4.2. D_{10} の推定.....	23
5. 誤差分布を考慮したパラメータの推定	25
5.1. 反応が計量値の場合と 2 値の場合の誤差分布.....	25
5.2. シグモイド曲線のパラメータの推定.....	25
2 値の場合.....	25
計量値の場合.....	26
5.3. 陰性対象と陽性対象がある場合の同時推定.....	27
5.4. 各種のシグモイド曲線の活用.....	28
一般化したシグモイド曲線.....	28
ロジスティック曲線の場合.....	29
正規分布の場合.....	29
極値分布の場合.....	30
6. 陰性対象と陽性対象を考慮したシグモイド曲線のあてはめ	31
6.1. 実験データ.....	31
6.2. JMP を用いた推定	31
6.3. 2 値反応での用量反応曲線.....	33

図 表 目 次

表 1.1	Ethinyl estradiol 投与後の平均子宮重量 (blotted, mg)	2
表 2.1	0.5 時間目の内臓痛のデータ	14
表 2.2	JMP データセット, organ_pain_05h_T_gomp.JMP	15
表 2.3	回転後のゴンベルツ曲線による D_{50} の推定	16
表 3.1	極値分布での 10% 点の推定 (C_ex405_CS2_D10x.JMP)	18
表 3.2	D_{10} の推定値 α	19
表 6.1	陰性対象と陽性対象を含めたロジスティック曲線のあてはめ	32
表 6.2	陰性対象と陽性対象を含めたロジスティック曲線の解と 95% 信頼区間	33
表 6.3	τ_{10} の推定, logit_yoshimira_LDp	34
表 6.4	$\hat{p}_i$ についてのロジスティック回帰式の設定	34
表 6.5	負の対数尤度	35
表 6.6	D_{10} の推定	35
図 1.1	ロジスティック曲線を用いた EC_{10} および EC_{90} の推定	3
図 1.2	極値分布の確率密度関数	3
図 2.1	形状パラメータを変えた場合のゴンベルツ曲線	5
図 2.2	位置が異なるゴンベルツ曲線	6
図 2.3	180 度回転後の位置が異なるゴンベルツ曲線	7
図 2.4	下限が 20 に収束する回転後のゴンベルツ曲線	10
図 2.5	生データのプロット	15
図 2.6	計算式 $y1^{\wedge}gomp$	15
図 2.7	内臓痛データに対する回転後のゴンベルツ曲線のあてはめ	16
図 3.1	JMP の非線形プログラムの実行	18
図 3.2	極値分布での D_{10} の推定	19
図 4.1	位置が異なる最大値を 100 とする正規分布曲線の拡張	22
図 4.2	形状が異なる最大値を 100 とする正規分布曲線の拡張	22
図 6.1	JMP による推定式の設定	32
図 6.2	JMP によるロジスティック曲線	33
図 6.3	2 値反応に対する路ロジスティック曲線のあてはめ	35

1. はじめに

皆様へ、

2007年1月27日(土)の108回安全研の前に同じ会場で午前10時から第26回のセミナーを行います。

テーマは、「各種のシグモイド曲線のあてはめと応用」です。108回の定例会で嵯山さんが発表するデータについて、事前に検討する機会がありました。陰性対象と陽性対象をもつ計量値のデータです。この事例の検討に際して、これまでさまざまな課題に対するシグモイド曲線のあてはめを見直し、「基本的な考え方」について整理し直しました。計算の方法についても見直し、応用が簡単に出来るような見通しの良いストーリー作りにチャレンジしています。

このセミナーも、次回3月10日で最後となります。今後も形を変えて活動が続けるつもりです。

高橋行雄

<<< 追加・訂正・修正 >>>

セミナー当日にいくつかの出席者から指摘を受け、いくつかの追加・訂正を行った。全般にわたる事項で、訂正ができきれない点があります。投与量の表記法であります。過去のセミナーを引用したときにこの問題が発生しています。

元の mg/kg などの単位を持つ投与量を使うか、対数用量を使うか、その変数名をどのようにするかが第1の不統一となっています。

第2は、対数の表記表で、常用対数と自然対数の関数名の不統一です。Excel や電卓では、自然対数を $\ln$ 、常用対数を $\log$ としていますが、計算機言語や JMP などの統計ソフトでは、自然対数を $\log$ 、常用対数を $\log_{10}$ が伝統的に使われています。また、数学の世界では、 $\log$ は自然対数であることが常識であります。

用量をあらわすときに、対数用量として x を使うときは、元の用量 $dose$ を、自然対数 $x = \log(dose)$ であることを基本とします。対数用量に常用対数を使う場面がありますが、できる限り $\log_{10}$ を使うこととします。対数用量に自然対数を使うのは、シグモイド曲線の関数に自然対数が使われており、対数用量も自然対数に統一しておきたいからです。

結果をグラフ表示する場合は、自然対数のままでは、元の投与量への換算が困難です。そのために常用対数を積極的につかう必要があります。できるかぎり、この方針で行きたいのですが、一部の表記が不統一となっています。

シグモイド曲線の式の中では、対数用量として x を使うのではなく、 $\log(dose)$ とすることにより、投与量 $dose$ を逆推定することも可能ですが、その 95%信頼区間の結果が x の指数をとった場合に微妙に異なります。結果のわかりやすさは、 $\log(dose)$ を使うことですが、数値計算での解の安定性、計算精度の点から対数用量で数値計算をして、対数用量として得られ推定値と 95%信頼区間から指数をとって元の用量に戻すことを強く薦めます。

1.1. 環境ホルモン

第 12 回のセミナーで、環境ホルモン Ethinyl estradiol が子宮の肥大させる実験から、どのくらいの用量から作用が出始めるのかを、ロジスティック曲線を用いて D10 の推定方法を示した。毒性・薬効が低用量から徐々に出現するような反応の場合に、ロジスティック曲線をあてはめた D10 の推定は、高めに推定しがちになる。

表 1.1 Ethinyl estradiol 投与後の平均子宮重量 (blotted, mg)

x	実験施設			
	1	3	7	11
0.00316	105	105	105	95
0.01	120.	110	110	85
0.0316	110.	115	115	95
0.1	108.1	126.07	164.32	110.35
0.316	215.58	267.58	259.18	217.85
1	347.95	353.92	368.3	359.03
3.16	397.43	376.05	393.82	368.37
10	422.18	412.77	429.95	366.43

このデータは、Kanno.J.(2001), The OECD program to validate the rat uterotrophic bioassay to screen compounds for in vivo estrogenic responses : Phase 1 の Table 6 (x が 0.1 以上) およ Figure 1 D (x が 0.1 未満) より作成した。投与量ごとのラットの数 は 6 匹であり、4 施設での実験結果を示した

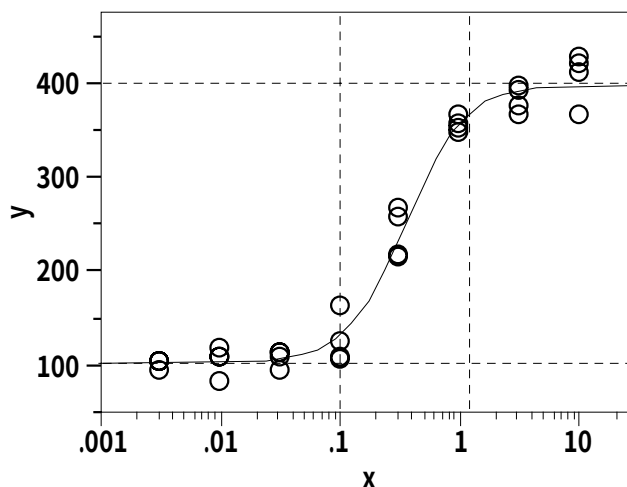


図 1.1 ロジスティック曲線を用いた EC_{10} および EC_{90} の推定

$$D_{10} = 0.103, D_{90} = 1.240$$

反応が 2 値の場合には、第 21 回のセミナーでは、極値分布曲線をあてはめて D_{10} を推定する方法を示した。極値分布は左に裾を引く分布であり、ロジスティック曲線を用いた場合に比べ、 D_{10} を低めの用量を推定する。対象群と平均値の差を比較する有意差検定では、反応がわずかに出始める低用量での反応を検出することは、極めて困難である。極値分布を用いて、実験全体で用量反応関係が統計的に有意であることを確認の上で、毒性・薬効が発現する用量として D_{10} などを推定することが望ましい。さて、反応が子宮重量のように計量値の場合はどうしたらよいのであろうか。

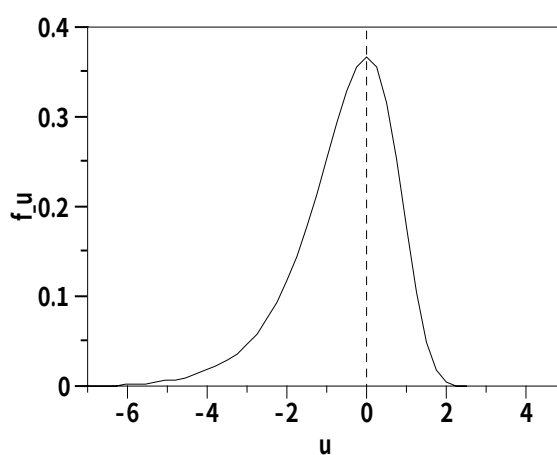


図 1.2 極値分布の確率密度関数

extrem_gumbel_dist.JMP により作成

1.2. 極値分布曲線とゴンペルツ曲線

反応が計量値の場合には、極値分布曲線をそのまま使うことができないので、下限の反応と上限の反応の間でシグモイド曲線となるような拡張が必要となる。生物の成長の経年変化、新製品の売り上げ数の年次変化、新しく作成された大規模なソフトウェアの累積バグ数の経時変化などは、ゴンペルツ曲線に従うことが経験的に知られている。ゴンペルツ曲線は、最初のうちは、伸びが緩やかであるが、ある時点から急激に伸び始め、それが直線的になる時期を向え、次第に伸び悩みが出始め、最終的には天井を打つようなシグモイド曲線である。

ゴンペルツ曲線を 180 度回転すると、極値分布曲線と同様に、最初は緩やかに、次第に立ち上がり、最後は速やかに飽和するシグモイド曲線となる。ゴンペルツ曲線の上限の反応を 1 として、180 度回転すると極値分布となる。ゴンペルツ曲線と極値分布は、異なる分野で定式化されたのであるが、前提とするモデルの考え方が同じであったので、互いに互換性がある。なお、ここで取り上げた極値分布は、ガンベル (Gumbel) 分布、あるいは、補 2 重対数分布ともいわれている。

反応が計量値の場合のシグモイド曲線として、ゴンペルツ曲線を回転して使う方法と、極値分布曲線の (0, 1) の範囲を任意の (下限, 上限) の範囲となるように拡張する 2 通りの方法がある。ここでは、最初にゴンペルツ曲線について取り上げ、それを 180 度の回転した場合のゴンペルツ曲線を示し、実データへのあてはめを示す。

2. ギンペルツ曲線

2.1. ギンペルツ曲線の基礎

ギンペルツ曲線¹は、反応 y の対数用量 x についての変化率が、次の微分方程式

$$\frac{dy}{dx} = ky \log(\alpha / y) \quad (2.1)$$

で表されるとする。式 (2.1) の解は、次式 (2.2)

$$y = \alpha \exp\{-\beta e^{-kx}\} \quad (2.2)$$

となる。単位対数用量 dx に対する反応の変化量 dy は、2つのパラメータ α と k で規定される。パラメータ α は、対数用量 x が ∞ での反応 y の上限値であり、パラメータ k は、反応曲線の立ち上がりの形状を示すもので、パラメータ β は、反応曲線の位置を示すパラメータである。

パラメータを $\alpha = 100$ に固定して、 $\beta = (1/2, 1, 2)$, $k = (1, 2)$ の場合についてギンペルツ曲線を描いてみよう。パラメータ β が大きくなると曲線の位置が右にシフトする様子がわかる。パラメータ k が大きくなると曲線が立ち上がってくる。反応は、0 から始まり、最大値の $\alpha = 100$ に飽和することがわかる。

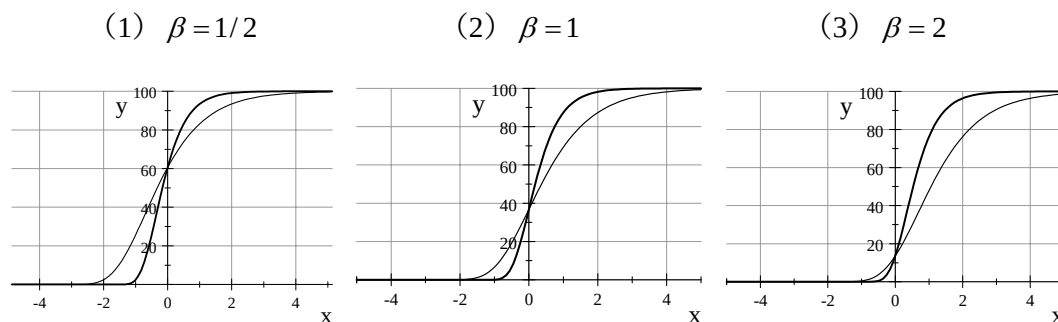


図 2.1 形状パラメータを変えた場合のギンペルツ曲線

$k = 1$ は緩やかな曲線、 $k = 2$ は立ち上がり早い曲線である。

2.2. パラメータを切片 β_0 と傾き β_1 とする場合

式 (2.2) のギンペルツ曲線の指数項 $-\beta e^{-kx}$ の β が x 軸方向の位置を規定するパ

¹ Draper N.R. and Smith H. Applied Regression Analysis 3rd ed., Wiley (1998). P548-549.

ラメータであり， k がシグモイド曲線の立ち上がり型を規定する形状パラメータである．この2つのパラメータをロジスティック曲線で用いてきた1次式で表してみよう． β を指数化した次式，

$$\beta = e^{-\beta_0} \quad (2.3)$$

とおいて指数項に代入し，整理すると，

$$-\beta e^{-kx} = -e^{-\beta_0} e^{-kx} = -e^{-(\beta_0+kx)}$$

が得られる．さらに $k = \beta_1$ と置きなおして，パラメータを切片 β_0 と傾き β_1 となる1次式を用いたゴンペルツ曲線

$$y = \alpha \exp\{-e^{-(\beta_0+\beta_1 x)}\} \quad (2.4)$$

が得られる．

式 (2.4) のゴンペルツ曲線を描いてみよう．パラメータの上限を $\alpha = 100$ ，傾き $\beta_1 = 1$ に固定する． $\beta = (1/2, 1, 2)$ に対応する β_0 は，式 (2.3) を β_0 について解いた

$$\beta_0 = -\log \beta$$

から， $\beta_0 = (0.6932, 0, -0.6935)$ となる．ゴンペルツ曲線は，次に示すように，形状が同じ3本の曲線となる．

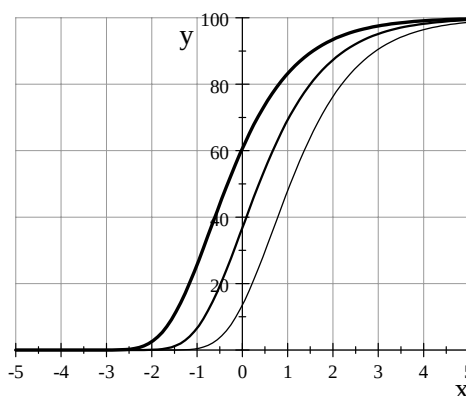


図 2.2 位置が異なるゴンペルツ曲線
左から $\beta_0 = -0.6935$ ， $\beta_0 = 0$ ， $\beta_0 = 0.6935$ ．

式 (2.4) のゴンペルツ曲線の両辺に対数を2回とり整理すると，次式が得られる．

$$\log(\log y - \log a) = \beta_0 + \beta_1 x \quad (2.5)$$

上限値が固定されれば、ゴンペルツ曲線は、2重に対数を取ることで、2つのパラメータ β_0 と β_1 に関して線形な式が導き出される。

2.3. ゴンペルツ曲線の回転

シグモイド曲線として、ゴンペルツ曲線をそのまま使うこともできるが、薬効や毒性の分野の用量反応関係のシグモイド曲線として使うためには、180度回して、薬効が徐々に発現し、速やかに飽和するような場合に対応できるようにする必要がある。そのために、式 (2.4) の両辺を 上限 α から引き、対数用量を $x = -x'$ と反転した次式

$$\alpha - y = \alpha \exp\{-\beta e^{-k(-x')}\}$$

を用いればよい。左辺を $y' = \alpha - y$ と置きなおし、整理すると次式

$$y' = \alpha \{1 - \exp(-\beta e^{kx'})\} \quad (2.6)$$

が得られる。上限を $\alpha = 100$ に、形状パラメータを $k = 1$ と固定して、位置からメータを $\beta = (1/2, 1, 2)$ と変化させた曲線を次に示す。

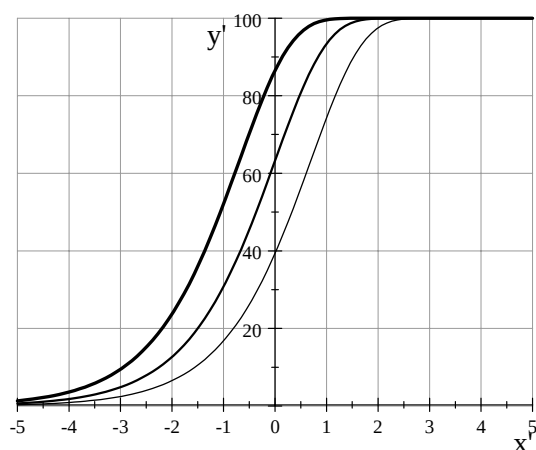


図 2.3 180 度回転後の位置が異なるゴンペルツ曲線
左から $\beta = 2$, $\beta = 1$, $\beta = 1/2$. gompertz_180.JMP で作成。

対数用量 x' が小さいときには、反応が緩やかに立ち上がり、次第に直線的に伸びて、速やかに上限に達する様子が示されている。実験データから推定したいパラメータを式 (2.4) と同様に切片と傾きに置き直してみよう。式 (2.6) の指数項

$$-\beta e^{kx'}$$

の β が位置パラメータ, k が形状パラメータであることから,

$$\beta = e^{\beta'_0} \quad (2.7)$$

と整理すると,

$$-\beta e^{kx'} = -e^{\beta'_0} e^{kx'} = -e^{\beta'_0 + kx'}$$

となり, さらに $k = \beta_1$ と置きなおして, パラメータを切片 β'_0 と傾き β_1 にしたゴンペルツ曲線

$$y' = \alpha \{1 - \exp(-e^{\beta'_0 + \beta_1 x'})\} \quad (2.8)$$

が得られる.

パラメータを $\alpha = 100$, 傾き $\beta_1 = 1$ に固定して, $\beta = (1/2, 1, 2)$ に対応する β'_0 は, 式 (2.7) から, $\beta'_0 = \log(\beta)$ であるので, $\beta'_0 = (-0.6932, 0, 0.6935)$ とすると, 図 2.3 で示した回転後のゴンペルツ曲線が得られる.

2.4. 10% 反応量, および, その 95% 信頼区間の推定

回転後のゴンペルツ曲線を用量反応関係にあてはめる目的は, どのくらいの用量から作用が出始めるかを推定したいことが実験の主な目的の場合に適している. ロジスティック曲線を使った場合は, 回転後のゴンペルツ曲線を使った場合に比べて用量を高めに設定することになり, 化学物質の安全域を高めに設定してしまうことになる.

事前に設定したある反応 y_0 となる対数用量 x_0 の推定値を求めるためには, 式

(2.8) で y' に y_0 を代入して x' について解くと

$$x'_{(y'=y_0)} = \frac{\log(-\log(1 - \frac{y_0}{\alpha})) - \beta'_0}{\beta_1} \quad (2.9)$$

が得られる. 最大反応 $\alpha = 100$, 切片 $\beta'_0 = 0$, 傾き $\beta_1 = 1$ の場合に, 最大反応の 10% となる対数用量は, $y_0 = \alpha \cdot 0.1 = 10$ を代入して,

$$x'_{(y'=10)} = \log(-\log(1 - \frac{10}{100})) = -2.2504$$

が得られる. 最大反応の 50% となる対数用量は, $y_0 = \alpha \cdot 0.5 = 50$ なので

$x'_{(y'=50)} = -0.36651$ が求まる.

数学的には, このような推定で十分なのであるが, 実際の実験データから $D10$ の推定値を求め, 報告書あるいは論文に実験結果として記載する場合には, さらに $D10$ の 95% 信頼区間を付ける必要がある. そのためには, 式 (2.8) の指数項にある線形式 $\eta = \beta'_0 + \beta_1 x'$ よりも, 座標 (η_0, x_0) を通る傾きが β_1 であるような回帰式

$$\eta - \eta_0 = \beta_1(x' - x_0)$$

を用いたほうが見通しがよい. 左辺の η_0 を右辺に移項して次式

$$\eta = \beta_1(x' - x_0) + \eta_0 \quad (2.10)$$

が得られる.

反応 y' が y_0 となる η_0 は, 式 (2.8) を η について解いて

$$\eta = \log(-\log(1 - \frac{y_0}{\alpha}))$$

から, 反応の上限 50% となる対数用量に推定は, $y' = \alpha \cdot 0.5$ とおいて,

$$\eta_0 = \log(-\log(0.5)) = -0.36651$$

となる. 反応 y' が上限の 10% となるときは,

$$\eta_0 = \log(-\log(0.9)) = -2.2504$$

となる. 式 (2.8) の回転後のゴンペルツ曲線で, 指数項の 1 次式を, 式 (2.10) で置きなおした次式が,

$$y' = \alpha \{1 - \exp(-e^{\beta_1(x' - x_0) + \eta_0})\} \quad (2.11)$$

実際の実験データから推定したいパラメータを用いた式となる. これは, 反応の上限が α で, ある反応となる対数用量 が x_0 で, 形状パラメータ が β_1 となる 3 つのパラメータを用いたシグモイド曲線である. ただし, η_0 は, 反応 y' が最大反応 α の $p\%$ となるときに, 次式

$$\eta_0 = \log(-\log(1 - \frac{p}{100}))$$

で与えられる.

2.5. 最小値を持つ回転後のゴンペルツ曲線

低用量でも反応があるような場合は、反応が 0 に収束する式 (2.8) を使うことはできない。低用量の収束値を α_{bottom} , 高用量での収束値を α_{top} としたときに、式 (2.8) を、 $y' - \alpha_{\text{bottom}}$ が、0 から上限を $(\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}})$ とする回転後のゴンペルツ曲線を考え、次式

$$y' = \alpha_{\text{bottom}} + (\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}})(1 - \exp\{-e^{\beta'_0 + \beta_1 x'}\}) \quad (2.12)$$

が得られる。この式は、4つのパラメータで構成されるシグモイド曲線である。

下限値を $\alpha_{\text{bottom}} = 20$, 上限値を $\alpha_{\text{top}} = 100$, 傾きを $\beta_1 = 1$ に固定して、 $\beta'_0 = (-0.6932, 0, 0.6935)$ と変化させたシグモイド曲線を次に示す。

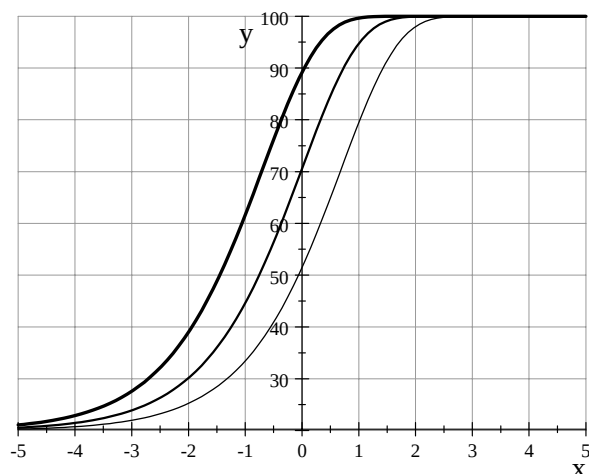


図 2.4 下限が 20 に収束する回転後のゴンペルツ曲線
左から $\beta = 2$, $\beta = 1$, $\beta = 1/2$. gompertz_180.JMP で作成.

2.6. 定式化

対数用量 : $\exp(x)$ または 10^x となる対数用量 x

反応 : y , 2 値の場合は π と読み替える.

基本となるゴンペルツ曲線

推定したいパラメータ

位置パラメータ： β_0

形状パラメータ： β_1

下限パラメータ：定数, 0

上限パラメータ： β_4 または α_{top}

基本のゴンペルツ曲線

$$y = \beta_4 \exp(-\exp(-(\beta_0 + \beta_1 x))) \quad (2.13)$$

回転後のゴンペルツ曲線

$$y = \beta_4 \{1 - \exp(-\exp(\beta_0 + \beta_1 x))\} \quad (2.14)$$

最小反応が 0 でない場合のゴンペルツ曲線

推定したいパラメータ

位置パラメータ： β_0

形状パラメータ： β_1

下限のパラメータ： β_3 または α_{bottom}

上限パラメータ： β_4 または α_{top}

基本のゴンペルツ曲線

$$y = \beta_3 + (\beta_4 - \beta_3) \exp(-\exp(-(\beta_0 + \beta_1 x))) \quad (2.15)$$

回転後のゴンペルツ曲線

$$y = \beta_3 + (\beta_4 - \beta_3) \{1 - \exp(-\exp(\beta_0 + \beta_1 x))\} \quad (2.16)$$

逆推定を伴うゴンペルツ曲線

逆推定したいパーセント点： $p\%$

推定したいパラメータ

形状パラメータ： β_1

$p\%$ 点となる対数用量のパラメータ： β_2 または x_0

上限パラメータ： β_4 または α_{top}

基本のゴンペルツ曲線

$$\eta_0 = -\log(-\log \frac{p}{100}) \quad (2.17)$$

$$y = \beta_4 \exp(-\exp(-\beta_1(x - \beta_2) + \eta_0)) \quad (2.18)$$

回転後のゴンペルツ曲線

$$\eta_0 = \log(-\log(1 - \frac{p}{100})) \quad (2.19)$$

$$y' = \beta_4 \{1 - \exp(-\exp(\beta_1(x - \beta_2) + \eta_0))\} \quad (2.20)$$

最小反応があり逆推定を伴うゴンペルツ曲線

逆推定したいパーセント点： $p\%$

推定したいパラメータ

形状パラメータ： β_1

$p\%$ 点となる対数用量のパラメータ： β_2 または x_0

下限のパラメータ： β_3 または α_{bottom}

上限パラメータ： β_4 または α_{top}

基本のゴンペルツ曲線

$$y = \beta_3 + (\beta_4 - \beta_3) \exp(-\exp(-\beta_1(x - \beta_2) + \eta_0)) \quad (2.21)$$

$$\eta_0 = -\log(-\log \frac{p}{100})$$

回転後のゴンペルツ曲線

$$y' = \beta_3 + (\beta_4 - \beta_3) \{1 - \exp(-\exp(\beta_1(x - \beta_2) + \eta_0))\} \quad (2.22)$$

$$\eta_0 = \log(-\log(1 - \frac{p}{100}))$$

逆推定で対数用量ではなく用量を直接計算する方法

対数用量 x の代わりに, $\log(\text{dose})$ とし,

$$\eta = \beta_1(x - \beta_2)$$

に変えて,

$$\eta = \beta_1(\log(\text{dose}) - \log \beta_2) \quad (2.23)$$

とする. $\log$ は常用対数でも, 自然対数でもどちらでもよい.

2.7. 実データでのあてはめ

内臓痛試験, 碓山さんの事例

- ・動物: Male SD rats (術時:240-270g)5 群 (Sham, TNBS, 3dose), 各群 $n=8$ で計 $n=40$
- ・モデルの作成: ケタミン/キシラジン (ketamine/xylazine) 麻酔下でラット結腸起始部内にトリニトロベンゼンスルホン酸 (TNBS, 50mg/kg, with 30% EtOH) を投与し作成した.
- ・薬剤: Alosetron (5-HT₃ アンタゴニスト) 0.003, 0.03, 0.3 mg/kg を経口投与
- ・内臓痛閾値の測定: 閾値の測定には CRD(colorectal balloon-distension)法を用い, 結直腸内に挿入したバルーン内に 5mmHg の間隔で段階的に圧を負荷し, ラットが疼痛行動(abdominal cramp: α -position)を示した時点での圧力 (mmHg) を内臓痛閾値とする. 測定は薬剤投与の直前, 30 分後および 2 時間後に実施した.

実験結果のあらまし

表 2.1 に実験結果を示す. データは, 5mmHg 単位で測定されている. アンタゴニストとしての Alosetron 投与後には, バルーンの圧を高めることにより, 0.5 時間後に疼痛行動が観察され, 2 時間後には疼痛が弱まるが, 高用量群では疼痛が残っている. Sham 群は, 投与前値からバルーンの圧を高めないと疼痛が発生せず, 0.5 時間後, および 2 時間後でも投与前と同様の経過を示している.

表 2.1 0.5 時間目の内臓痛のデータ

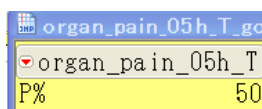
Group	動物番号, 対応はない							
	1	2	3	4	5	6	7	8
0 μ g/kg	30	20	25	20	25	30	25	20
3 μ g/kg	30	20	20	35	30	25	30	25
30 μ g/kg	40	45	30	40	35	25	40	45
300 μ g/kg	35	45	35	40	50	45	50	40
Sham	55	40	45	50	60	45	45	50

単位:mmHg

この実験から、疼痛が発現する用量 D_{10} を、陰性対象：0 μ g/kg 群の投与量は、最低用量の 1/1000 倍、陽性対象：Sham 群の用量は、高用量の 1000 倍として、回転後のゴンペルツ曲線を用いて推定してみよう。推定式は、最小反応があり逆推定を伴うゴンペルツ曲線の式 (2.22) を用いる。なお、1/1000 倍したり、1000 倍としたりするのは、解析を簡単にするための便宜的な方法である。正しくは、陰性対象と陽性対象、投与群の 3 群に対して、非線形式の同時あてはめが必要である。この方法については、第@@節を参照のこと。

JMPによる解析事例

JMP ファイル organ_pain_05h_T_gomp.JMP に 0.5 時間後の 40 症例のデータと計算式が設定されている。対数用量 x は $dose$ の常用対数として計算され、 $y1^{\wedge}gomp$ に式 (2.22) によるパーセント点の推定式が、 $y2^{\wedge}gomp$ には、 η を式 (2.23) とした推定式が設定されている。パーセント点は、JMP のテーブル変数として、



のように、50%点が設定されているが、自由に変更できるようになっている。 D_{10} を求めたいときは、50 を 10 に変更すればよい。

表 2.2 JMP データセット, organ_pain_05h_T_gomp.JMP

organ_pain_05h_T_gomp									
organ_pain_05h_T_gomp		Group	k	No	dose	x	y	y1^gomp	y2^gomp
PX	50	1: 0 μg	1	1	0.003	-2.52	30	23.42	23.39
Overlay Plot 2		2: 0 μg	1	2	0.003	-2.52	20	23.42	23.39
Oneway		3: 0 μg	1	3	0.003	-2.52	25	23.42	23.39
		4: 0 μg	1	4	0.003	-2.52	20	23.42	23.39
Columns (8/0)		5: 0 μg	1	5	0.003	-2.52	25	23.42	23.39
Group		6: 0 μg	1	6	0.003	-2.52	30	23.42	23.39
k		7: 0 μg	1	7	0.003	-2.52	25	23.42	23.39
No		8: 0 μg	1	8	0.003	-2.52	20	23.42	23.39
dose		9: 3 μg	2	1	3	0.48	30	29.27	39.61
x		10: 3 μg	2	2	3	0.48	20	29.27	39.61
y		11: 3 μg	2	3	3	0.48	20	29.27	39.61
y1^gomp									
		38: 5:Sham	3	6	300000	5.48	45	50.00	48.44
y		39: 5:Sham	3	7	300000	5.48	45	50.00	48.44
y1^gomp		40: 5:Sham	3	8	300000	5.48	50	50.00	48.44

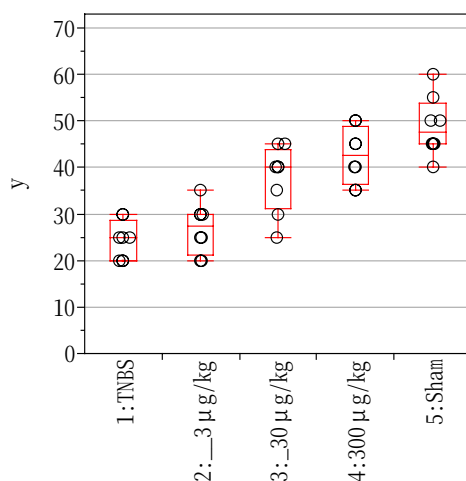


図 2.5 生データのプロット

$$\text{beta3} + \text{beta4} - \text{beta3} * \left(1 - \exp \left(- \exp \left(\text{beta1} * \left(x - \text{beta2} \right) + \log \left(1 - \frac{P\%}{100} \right) \right) \right) \right)$$

図 2.6 計算式 y1^gomp

JMP の非線形プログラムで 2 階の偏微分式のオプションを付けて得られた結果を表 2.3 に示す. D_{50} は, $\text{beta2} = 1.5534$ から $10^{1.5534} = 35.76 \text{ mg/kg}$ が得られる.

表 2.3 回転後のゴンペルツ曲線による D_{50} の推定

Solution					
	SSE	DFE	MSE	RMSE	
	1294.1805386	36	35.949459	5.9957868	
Parameter	Estimate	ApproxStdErr	Lower CL	Upper CL	
beta1	0.942726	0.348381	0.415895	.	
beta2	1.553437	0.325327	0.773659	2.140485	
beta3	23.350389	2.661651	16.927044	.	
beta4	48.435372	2.042043	.	52.844473	
Solved By: Analytic NR					

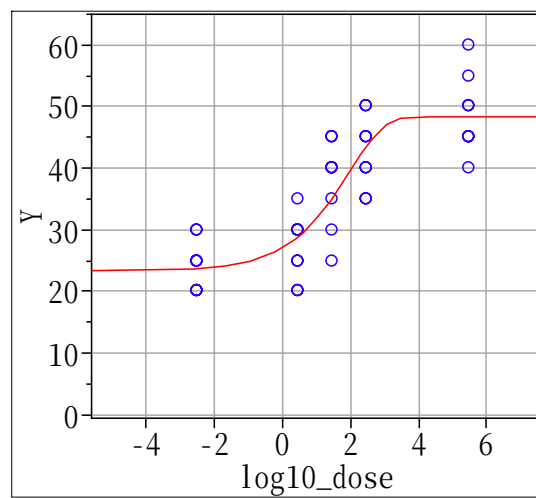


図 2.7 内臓痛データに対する回転後のゴンペルツ曲線のあてはめ

3. 極値分布曲線の活用

3.1. 極値分布をあてはめた場合の D_{50} および D_{10} の推定

極値分布をシグモイド曲線として用いる方法は、第 21 回のセミナーで取り上げている。5.5 節では次のように述べている。表記法が若干異なるが、そのまま引用する。

極値分布は、

$$\pi = 1 - \exp \left\{ - \exp \left(\frac{\log x - \alpha}{\kappa} \right) \right\} \quad (3.1)$$

であり、 $\eta = \frac{\log x - \alpha}{\kappa}$ とおいて、 η について解くと、

$$\eta = \log \{ -\log(1 - \pi) \} \quad (3.2)$$

を得る。正規分布をあてはめて LD_{10} など任意のパーセント点の推定と同様に、極値分布をあてはめたときに、 $\pi = 1 - \exp \{ -\exp(\eta) \} = p$ となる x の推定値は、 $\hat{\eta} = \log \{ -\log(1 - p) \}$ であり、 D_{50} は、 $\hat{\eta} = -0.3665$ 、 D_{10} は、 $\hat{\eta} = -2.2504$ となる。一般的に D_{100-p} 点を z_p としたときに、

$$\pi = 1 - \exp \left\{ - \exp \left(\frac{\log x - \alpha}{\kappa} + z_p \right) \right\} \quad (3.3)$$

極値分布の η に z_p を加えたばあい、 z_p となるような $\hat{\alpha}'$ を $\log x$ に代入すると $\hat{\eta} = (\hat{\alpha}' - \alpha) / \kappa = -z_p$ となり、 $\eta' = (\log x - \alpha) / \kappa + z_p$ とおくと、 $\log x = \hat{\alpha}'$ のとき、 $\eta' = 0$ となる。したがって、極値分布の下側 p % 点 z_p に対し、 α の推定値が D_p の推定値になる。

表 3.1 極値分布での 10%点の推定 (C_ex405_CS2_D10x.JMP)

C_ex405_CS2_D10x		EX	conc	logX	n	r	p	p ^{extrem}	like
p_point 0.1	○ 1	1	49.06	1.69	29	2	0.07	0.0948	7.5867
	○ 2	1	52.99	1.72	30	7	0.23	0.1880	16.4205
	○ 3	1	56.91	1.76	28	9	0.32	0.3379	17.5888
	○ 4	1	60.84	1.78	27	14	0.52	0.5422	18.6979
	○ 5	1	64.76	1.81	30	23	0.77	0.7584	16.3380
	○ 6	1	68.69	1.84	31	29	0.94	0.9177	7.4764
	○ 7	1	72.61	1.86	30	29	0.97	0.9857	4.9083
	○ 8	1	76.54	1.88	29	29	1.00	0.9991	0.0058
	○ 9	2	49.06	1.69	30	4	0.13	0.0948	11.8449
	× 10	2	52.99	1.72	30	6	0.20	0.1880	15.0131
	× 11	2	56.91	1.76	34	9	0.26	0.3379	20.0050
	× 12	2	60.84	1.78	29	14	0.48	0.5422	20.1815
	× 13	2	64.76	1.81	33	29	0.88	0.7584	14.0161
	× 14	2	68.69	1.84	28	24	0.86	0.9177	12.0798
	× 15	2	72.61	1.86	32	32	1.00	0.9857	0.3163
	× 16	2	76.54	1.88	31	31	1.00	0.9991	0.0062
	17	.	49.3497	1.69	.	.	.	0.1000	.

$$p^{\text{extrem}} = 1 - \exp \left(- \exp \left(\frac{\log X - \alpha}{\kappa} \right) + \log \left(- \log (1 - p_{\text{point}}) \right) \right)$$

$$\text{like} = - \left(r * \log(p^{\text{extrem}}) + (n - r) * \log(1 - p^{\text{extrem}}) \right)$$

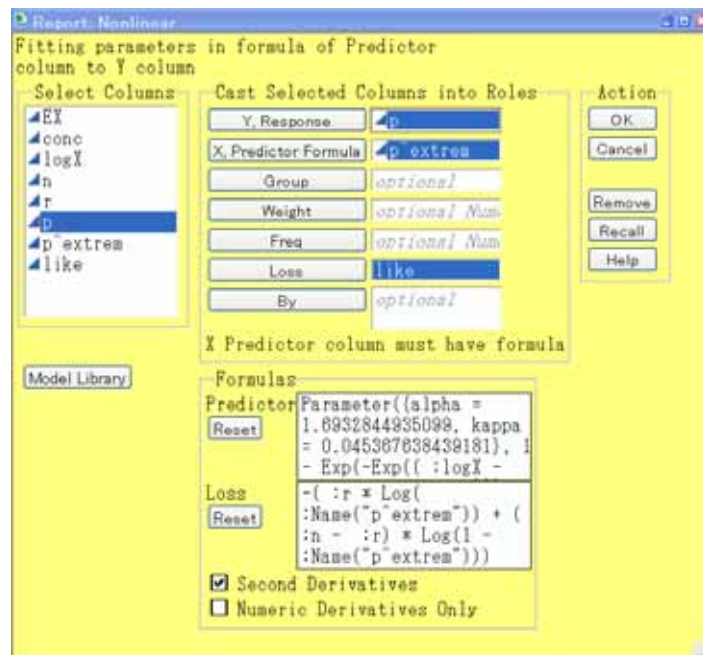
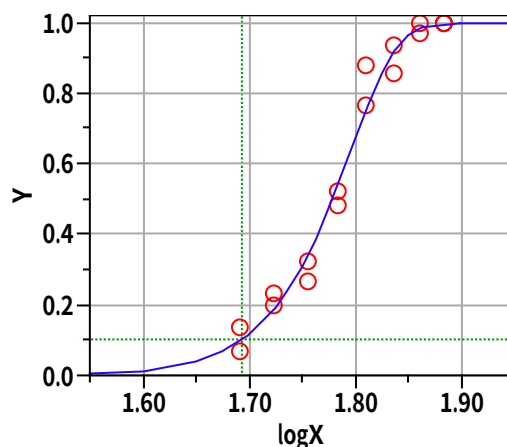


図 3.1 JMP の非線形プログラムの実行
JMP データにプログラムが張りつけてある。

表 3.2 D_{10} の推定値 alpha

パラメータ	推定値	近似標準誤差	下側信頼限界	上側信頼限界
alpha	1.6932844935	0.00942037	1.67275913	1.71007956
kappa	0.0453676384	0.00369052	0.03887678	0.05349997

$$\text{antilog}(1.6932) = 49.3497$$

図 3.2 極値分布での D_{10} の推定

ロジスティック曲線をあてはめると低用量群へのあてはめが悪くなる。

3.2. 極値分布を計量値のシグモイド曲線への拡張

正規分布でも極値分布でも，計量値のシグモイド曲線へ拡張することができる．一般的に分布関数を $F(x)$ としたときに， $F(x)$ は，下限を 0，上限を 1 とする単調増加関数である．下限を 0，上限を α_{top} とするようなシグモイド曲線としては，単に分布関数を α_{top} 倍した関数 $y = \alpha_{\text{top}} F(x)$ を用いればよい．下限を α_{bottom} ，上限を α_{top} とするようなシグモイド曲線は， $y - \alpha_{\text{bottom}}$ が，0 を下限として， $\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}}$ を上限とするシグモイド曲線は，次式となるので，

$$y - \alpha_{\text{bottom}} = (\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}}) F(x)$$

α_{bottom} を右辺に移項して，次式

$$y = \alpha_{\text{bottom}} + (\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}}) F(x) \quad (3.4)$$

が導き出される．

実際のデータに式 (3.4) をフィットさせるためには，位置パラメータと形状パラメータが必要で，通常は 1 次式 $\eta = \beta_0 + \beta_1 x$ が用いられる．パーセント点の推定を直接行う

ためには、 $\eta = \beta_1(x - \beta_2)$ を使って、非線形回帰分析プログラムにより、95%信頼区間も同時に推定できることを示してきた。

極値分布の式 (3.1) を下限として α_{bottom} ，上限として α_{top} とするようなシグモイド曲線にするためには、式 (3.4) から

$$y = \alpha_{\text{bottom}} + (\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}}) \left[1 - \exp \left\{ -\exp \left(\frac{\log x - \alpha}{\kappa} \right) \right\} \right] \quad (3.5)$$

となり、指数項の表記を、

$$\eta = \frac{\log x - \alpha}{\kappa} = \frac{1}{\kappa} \log x - \frac{\alpha}{\kappa}$$

として、 $\beta_1 = 1/\kappa$ ， $\beta_0 = -\alpha/\kappa$ ， $\log x$ を改めて x とおけば、 $\eta = \beta_0 + \beta_1 x$ の形式となる。

$$y = \alpha_{\text{bottom}} + (\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}}) \left[1 - \exp \left\{ -\exp(\beta_0 + \beta_1 x) \right\} \right] \quad (3.6)$$

下限のパラメータを $\beta_3 = \alpha_{\text{bottom}}$ ，上限のパラメータを $\beta_4 = \alpha_{\text{top}}$ とすると、式 (2.16) で示した回転後のゴンペルツ曲線、

$$y' = \beta_3 + (\beta_4 - \beta_3) \{ 1 - \exp(-\exp(\beta_0 + \beta_1 x)) \}$$

に一致する。

4. 正規分布を計量値のシグモイド曲線とする拡張（訂正版）

4.1. シグモイド曲線としての正規分布の拡張

極値分布に限らず正規分布を計量値のシグモイド曲線として用いることも同様に拡張できる．平均が μ ，標準偏差が σ の正規分布は，

$$\pi = \int_{-\infty}^x \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \exp\left\{-\frac{1}{2}\left(\frac{x-\mu}{\sigma}\right)^2\right\} = \int_{-\infty}^x \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \exp\left\{-\frac{1}{2}\left(\frac{1}{\sigma}x - \frac{\mu}{\sigma}\right)^2\right\} \quad (4.1)$$

となるので， $\beta_1 = 1/\sigma$ ， $\beta_0 = -\mu/\sigma$ と置き換えれば，

$$\begin{aligned} \times \times \times \quad \pi &= \int_{-\infty}^x \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \exp\left\{-\frac{1}{2}(\beta_0 + \beta_1 x)^2\right\} \quad \times \times \times \\ \pi &= \int_{-\infty}^x \frac{\beta_1}{\sqrt{2\pi}} \exp\left\{-\frac{1}{2}(\beta_0 + \beta_1 x)^2\right\} \end{aligned} \quad (4.2)$$

となる．極値分布と同様にパラメータ化することができそうなのであるが，指数項の前に β_1 があり，さらに，正規分布は積分が含まれており，簡単化することができない．

しかし，JMP では，標準正規分布関数 Normal Distribution (x) がサポートされているので，位置パラメータ μ と形状パラメータ σ を用いて

$$\eta = \frac{x - \mu}{\sigma} \quad (4.3)$$

となる．極値分布と同様にパラメータ化することができそうなのであるが，指数項の前に β_1 があり，さらに，正規分布は積分が含まれており，簡単化することができない．

しかし，JMP では，標準正規分布関数 Normal Distribution (x) がサポートされているので，位置パラメータ μ と形状パラメータ σ を用いて

$$\eta = \frac{x - \mu}{\sigma} \quad (4.4)$$

と基準化することによって，任意の位置パラメータと形状パラメータに Normal Distribution (η) のように使うことができる．位置パラメータ μ と形状パラメータ σ に変えて，一次式 $\eta = \beta_0 + \beta_1 x$ ，または， $\eta = \beta_1(x - \beta_2)$ を使うことも可能となる．

第 10 回のセミナーでは，2 値反応について，正規分布およびロジスティック曲線を用いた解析について詳しく論じたので，ここでは，下限を 0 とし，上限を 100 とするシグモイド曲線への拡張を行う．

$$y = 100 \cdot \text{Normal Distribution}(\beta_0 + \beta_1 x) \quad (4.5)$$

形状パラメータ $\beta_1 = 1$ としたときに $\beta_0 = (0, 1, 2)$ と変えたグラフを次に示す．

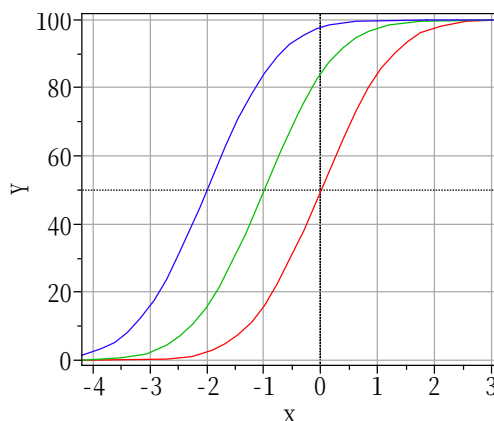


図 4.1 位置が異なる最大値を 100 とする正規分布曲線の拡張

左から $\beta_0 = 2$, $\beta_0 = 1$, $\beta_0 = 0$ の場合, $\beta_1 = 1$ に固定. NormDist_beta0.JMP で作成.

位置パラメータを $\beta_0 = 1$ と固定したときに, 形状パラメータを $\beta_1 = (0.5, 1, 2)$ と変化させてみよう.

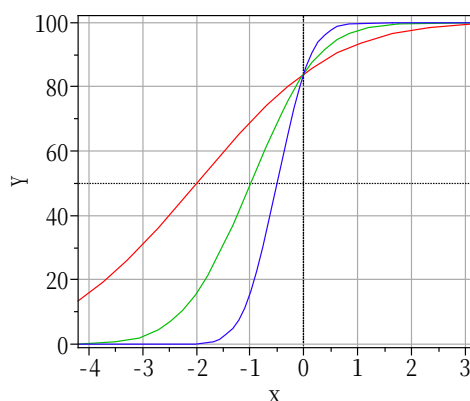


図 4.2 形状が異なる最大値を 100 とする正規分布曲線の拡張

左から $\beta_1 = 0.5$, $\beta_1 = 1$, $\beta_1 = 2$ の場合, $\beta_0 = 1$ に固定. NormDist_beta1.JMP で作成

下限のパラメータを β_3 または a_{bottom} , 上限のパラメータを β_4 または a_{top} としたとき

に正規分布曲線を計量値のシグモイド曲線とするためには, 式 (3.5) と同様に

$$y = \alpha_{\text{bottom}} + (\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}}) \cdot \text{Normal Distribution}(\beta_0 + \beta_1 x) \quad (4.6)$$

とすればよい.

4.2. D10 の推定

事前に設定したある反応 y_0 となる対数用量 x の推定値を求めるためには、式 (4.6) を y に y_0 を代入して x について解くと、

$$x_{(y=y_0)} = \frac{\text{Normal Quantile}\left(\frac{y_0 - a_{\text{bottom}}}{a_{\text{top}} - a_{\text{bottom}}}\right) - \beta_0}{\beta_1} \quad (4.7)$$

が得られる。ただし、Normal Quantile 関数は、Normal Distribution 関数の逆関数である。上限と下限の間の p パーセント点となるような y_0 は、

$$y_0 = \alpha_{\text{bottom}} + (\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}}) \frac{p}{100} \quad (4.8)$$

であるで、式 (4.7) に代入すると、

$$x_{(y=y_0)} = \frac{\text{Normal Quantile}\left(\frac{p}{100}\right) - \beta_0}{\beta_1} \quad (4.9)$$

が得られる。切片 $\beta_0 = 0$ 、傾き $\beta_1 = 1$ の場合に、下限と上限の反応の 10% となる対数用量は、

$$x_{(y_0 \sim 10\%)} = \frac{\text{Normal Quantile}\left(\frac{10}{100}\right) - 0}{1} = \text{Normal Quantile}(0.1) = -1.64$$

が得られる。ただし、Normal Quantile(0.1) は、正規分布の下側 10% 点であるので、-1.64 となる。統計ソフトで、直接 p パーセント点となる対数用量を推定するために、式 (4.6)

ので、 $\eta = \beta_0 + \beta_1 x$ を、座標 (η_0, x_0) を通る傾きが β_1 であるような回帰式を

$$\eta - \eta_0 = \beta_1 (x - x_0)$$

として、 η_0 を右辺に移項し、 x_0 は推定したいパラメータなので、 β_2 において次式

$$\eta = \beta_1 (x - \beta_2) + \eta_0$$

が得られる。

反応 y が y_0 となる η_0 は、式 (4.6) を η について解いて

$$\frac{y - \alpha_{\text{bottom}}}{\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}}} = \text{Normal Distribution } (\eta) \quad (4.10)$$

から, Normal Distribution 関数の逆関数を Normal Quantile 関数として,

$$\eta = \text{Normal Quantile} \left(\frac{y - \alpha_{\text{bottom}}}{\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}}} \right) \quad (4.11)$$

となるので, 下限と上限の反応の $p\%$ となるの η_0 は,

$$\eta_0 = \text{Normal Quantile} \left(\frac{p}{100} \right)$$

となる. したがって,

$$y = \alpha_{\text{bottom}} + (\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}}) \cdot \text{Normal Distribution} \{ -\beta_1(x - \beta_2) + \eta_0 \} \quad (4.12)$$

と, 極値分布曲線を拡張した場合と同様の定式化ができる.

5. 誤差分布を考慮したパラメータの推定

5.1. 反応が計量値の場合と 2 値の場合の誤差分布

シグモイド曲線として極値分布, 正規分布を反応が計量値の場合にも使えるように一般化する方法を示してきた. あてはめるシグモイド曲線の下限あるいは上限は, 対数用量を $\pm\infty$ した場合の反応の推定値であり, 個々の反応は下限を下回ること, 上限を上回することを前提としている. 2 値データの場合は, 反応の下限を 0%, 上限を 100%としたときに, 実験データがこれらを下回ったり, 上回ったりすることはない,

実験データにシグモイド曲線をあてはめる際に, 推定するシグモイド曲線からの誤差分布を設定する必要がある. 2 値データの場合は, 対数用量 x_i に対する n_i 個中 r_i の反応が推定値 $\hat{p}_i$ に対して, 二項分布の確率関数

$$\text{Binomial Probability}(\hat{p}_i, n_i, r_i) \quad (5.1)$$

に従うことを前提にする.

計量値の場合は, 対数用量 x_i に対する n_i 個の反応の y_{ij} , $j=1,2,\dots,n_i$ が推定値 $\hat{y}_i$ に対して, 平均が $\hat{y}_i$, 分散が $\hat{\sigma}^2$ となる正規分布の確率密度関数に従うことを前提とする.

$$\text{Normal Density}\left(\frac{y_{ij} - \hat{y}_i}{\hat{\sigma}}\right) \quad (5.2)$$

ただし, $\hat{\sigma}^2$ は, 全ての用量水準 i から推定される形状パラメータであり, ここで用いている正規分布は, 式 (4.5) ど用いているシグモイド曲線としての正規分布曲線ではなく, 誤差関数としての正規分布である. 推定したいパラメータは, 通常シグモイド曲線の位置パラメータと形状パラメータによって規定される.

なお, 分散が, 対数用量の水準ごとに大きく異なる実験系の場合は, 分散の逆数を重みとする非線形最小 2 乗法の適用することになる. 実際には, それぞれの用量群の分散 V_i を前もって計算しておき, その逆数をそれぞれのデータにマージしておく. 非線形のプログラムで Weigt のチェックボックスがあるので, $1/V_i$ を設定する. この方法により, 各用量での分散を均一化することになる.

5.2. シグモイド曲線のパラメータの推定

2値の場合

シグモイド曲線の位置パラメータを β_0 , 形状パラメータを β_1 とする 1 次式を $\eta = \beta_0 + \beta_1 x$ とする. 推定したいシグモイド曲線を

$$\alpha_{\text{bottom}} + (\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}})F(\eta)$$

とする．対数用量 x_i に対して，2 値反応のシグモイド曲線場合は，

$$\hat{p}_i = \alpha_{\text{bottom}} + (\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}})F(\eta) + \varepsilon_i \quad (5.3)$$

の誤差 ε_i が 2 項分布に従うとすれば，次に示す尤度関数 L または，対数尤度関数 $\log L$ を最大にするようなパラメータ β_0 ， β_1 ， α_{bottom} ， α_{top} を数値計算によって求める．

$$L = \prod_{i=1}^k \text{Binomial Probability}(\hat{p}_i, n_i, r_i) \quad (5.4)$$

$$\log L = \sum_{i=1}^k \log\{\text{Binomial Probability}(\hat{p}_i, n_i, r_i)\} \quad (5.5)$$

関数 Binomial Probability $(\hat{p}_i, n_i, r_i)$ は，JMP の確率関連の関数一覧から選択することができる．JMP で 2 値データについて，非線形最小 2 乗法のプログラムで，尤度を最大にする機能が備わっている．図 3.1 のチェックボックスで loss または 損失関数 にデータテーブルで計算式をしめした尤度または対数尤度関数を指定する．

計量値の場合

反応が計量値で，誤差が正規分布に従うシグモイド曲線の場合も同様に，

$$\hat{y}_i = \alpha_{\text{bottom}} + (\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}})F(\eta) + \varepsilon_{ij}$$

があてはまるように，尤度関数 L または，対数尤度関数 $\log L$ を最大にするようなパラメータを，数値計算によって推定することができる．

$$L = \prod_{i=1}^k \prod_{j=1}^{n_i} \text{Normal Density}\left(\frac{y_{ij} - \hat{y}_i}{\hat{\sigma}}\right) \quad (5.6)$$

$$\log L = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} \log\left\{\text{Normal Density}\left(\frac{y_{ij} - \hat{y}_i}{\hat{\sigma}}\right)\right\} \quad (5.7)$$

誤差分布に正規分布を仮定するような，計量値のデータの場合に，個々の反応 y_{ij} ， $j=1,2,\dots,n_i$ がシグモイド曲線の推定値 $\hat{y}_i$ に対する偏差平方和

$$S = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (y_{ij} - \hat{y}_i)^2 \quad (5.8)$$

を最小にする非線形最小 2 乗法をこれまで示してきた．非線形最小 2 乗法によりパラメータの推定値と，尤度を最大にする最尤法による方法が一致することは，理論的に知られている．計量値の場合に，数値計算の量が少ない非線形最小 2 乗法を用いるのが現実的である．

5.3. 陰性対象と陽性対象がある場合の同時推定

投与量が溶媒のみで試験薬が投与されていない場合を, 0mg/kg としよう. シグモイド曲線は, X 軸を対数用量とした場合に $\log(0) = -\infty$ となり, 0mg/kg 群の反応を含めたシグモイド曲線をあてはめることができない. 同様に上限の反応が, 陽性対象の反応となるような場合にも対数用量が定義できないために, これまで示してきたシグモイド曲線の推定に使えない.

実験で得られた陰性対象のデータ, 陽性対照から得られた実験データは, それぞれ, 下限の反応, および, 上限の反応の推定値である. 2 値反応の場合に, 用量が 0mg/kg でも反応が出る場合は, 自然反応がある場合として知られており, 未知の自然反応 α_{bottom} とし, 陰性対象の実験例数を n_0 としたときに, 反応数 r_0 が, 二項分布に従うとすれば, 陰性対象の確率関数は,

$$\hat{p}_0 = \text{Binomial Probability}(\hat{\alpha}_{\text{bottom}}, n_0, r_0) + \varepsilon_0$$

となる. 陽性対象がある場合も同様に実験例数を n_{k+1} としたときに, 反応数 r_{k+1} が, 二項分布に従うとすれば, 未知の免疫反応 α_{top} としたときの陽性対象の確率関数は,

$$\hat{p}_{k+1} = \text{Binomial Probability}(\hat{\alpha}_{\text{top}}, n_{k+1}, r_{k+1}) + \varepsilon_{k+1}$$

となる. この確率を対数用量について定義されている尤度関数に加えて, 数値計算を行う.

$$\begin{aligned} \log L_1 &= \log\{\text{Binomial Probability}(\hat{\alpha}_{\text{bottom}}, n_0, r_0)\} \\ \log L_2 &= \sum_{i=1}^k \log\{\text{Binomial Probability}(\hat{p}_i, n_i, r_i)\} \\ \log L_3 &= \{\text{Binomial Probability}(\hat{\alpha}_{\text{top}}, n_{k+1}, r_{k+1})\} \\ \log L &= \log L_1 + \log L_2 + \log L_3 \end{aligned} \quad (5.9)$$

反応が計量値の場合は, 最小 2 乗法の場合について示そう. 陰性対象の例数に対して下限値 α_{bottom} からの最小 2 乗和を考え, 陽性対象 $k+1$ 群について場合には, α_{top} からの平方和を定義し,

$$\begin{aligned} S_1 &= \sum_{j=1}^{n_0} (y_{0j} - \hat{\alpha}_{\text{bottom}})^2 \\ S_2 &= \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^{n_i} (y_{ij} - \hat{y}_i)^2 \\ S_3 &= \sum_{j=1}^{n_{k+1}} (y_{k+1,j} - \hat{\alpha}_{\text{top}})^2 \end{aligned}$$

$$S = S_1 + S_2 + S_3 \quad (5.10)$$

全ての平方和を最小にするように数値計算式を構成すればよい。

5.4. 各種のシグモイド曲線の活用

用量反応関係を表す曲線に、どのような関数を用いるかは統計的には制約がないことを示してきた。理論的にどのような用量・反応があるのか、その発生メカニズムが生物学的に裏付けられるような関数をもちいるべきである。シグモイド曲線として、歴史的には正規分布曲線が用いられ数値計算のも手順化されていったのであるが、生物学的なメカニズムとは残念ながらリンクしていない。しかし、正規分布の性質は良く知られているので、シグモイド曲線のあてはめの入門としては適している。

正規分布曲線を使うより、ロジスティック曲線、あるいは、極値分布曲線は、ベースに生物学的メカニズムが想定されていることもあり、そのどちらかを使うことを薦める。ロジスティック曲線の活用には、これまでのセミナーでしばしば取り上げてきたのであるが、さまざまな定式化を試行錯誤的に行ってきたので、正規分布曲線、および、極値分布曲線と同等な考え方で定式化を示す。

一般化したシグモイド曲線

シグモイド曲線として分布曲線 $F(\eta) = F(g(x))$, $\eta = g(x)$ を考える。 $g(x)$ は、 $g(x) = \beta_0 + \beta_1 x$, または、 $g(x) = \beta_1(x - \beta_2)$ とし、反応の下限を β_3 または α_{bottom} , 反応の上限を β_4 または α_{top} とする。 $F(\eta)$ は、下限を 0, 上限を 1 とする単調増加曲線なので、

$$y = \alpha_{\text{bottom}} + (\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}}) \cdot F(\eta) \quad (5.11)$$

とすることにより、一般化でききる。下限と上限の $p\%$ 点となるような反応を

$$y_{(p\%)} = \alpha_{\text{bottom}} + \frac{p/100}{\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}}}$$

としたときの、対数用量 $x_{p\%}$ または β_2 は、 $F(\eta)$ の逆関数を $F^{-1}(\eta)$ としたときに、式 (5.11) に $y_{p\%}$ を代入し η について解くと、

$$y_{(p\%)} = \alpha_{\text{bottom}} + (\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}}) \cdot F\{\eta\}$$

$$\frac{y_{(p\%)} - \alpha_{\text{bottom}}}{\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}}} = F\{\eta\}$$

$$\eta_{(p\%)} = F^{-1}\left(\frac{p}{100}\right) \quad (5.12)$$

となる．また，

$$\eta - \eta_{(p\%)} = \beta_1(x - x_{(p\%)})$$

の関係から，

$$\eta = \beta_1(x - x_{(p\%)}) + \eta_{(p\%)} \quad (5.13)$$

が得られ，式 (5.13) を式 (5.11) に代入すると

$$y = \alpha_{\text{bottom}} + (\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}}) \cdot F(\beta_1(x - x_{(p\%)}) + \eta_{(p\%)}) \quad (5.14)$$

となる．推定したいパラメータをすべて β_i であらわすと，一般式

$$y = \beta_3 + (\beta_4 - \beta_3) \cdot F\{\beta_1(x - \beta_2) + \eta_{(p\%)}\} \quad (5.15)$$

が導きだされる．ただし， $\eta_{(p\%)}$ は，分布関数 $F(\eta)$ の逆関数を $F^{-1}(\eta)$ としたときの，

$$\eta_{(p\%)} = F^{-1}\left(\frac{p}{100}\right)$$

である．

ロジスティック曲線の場合

ロジスティック分布の分布関数は，

$$\pi = \frac{e^\eta}{1 + e^\eta} = \frac{1}{1 + e^{-\eta}} \quad (5.16)$$

で，逆関数は，

$$\eta = \log \frac{\pi}{1 - \pi} \quad (5.17)$$

なので， $\eta_{(p\%)}$ は，

$$\eta_{(p\%)} = \log \frac{p}{100 - p} \quad (5.18)$$

となる．したがって，ロジスティック曲線をつかった，一般化したシグモイド曲線は，

$$y = \beta_3 + \frac{(\beta_4 - \beta_3)}{1 + \exp\{\beta_1(x - \beta_2) + \log(p/(100 - p))\}} \quad (5.19)$$

である．

正規分布の場合

正規分布をシグモイド曲線とした場合は，

$$y = \alpha_{\text{bottom}} + (\alpha_{\text{top}} - \alpha_{\text{bottom}}) \cdot \text{Normal Distribution} \{ -\beta_1(x - \beta_2) + \text{Normal Quantile} \left(\frac{p}{100} \right) \} \quad (5.20)$$

となる.

極値分布の場合

極値分布をシグモイド曲線とした場合は,

$$y = \beta_3 + (\beta_4 - \beta_3) \exp(-\exp(-\beta_1(x - \beta_2) + \log(-\log \frac{p}{100}))) \quad (5.21)$$

となる.

6. 陰性対象と陽性対象を考慮したシグモイド曲線のあてはめ

6.1. 実験データ

用量を何段階かに固定し生体の反応を観察し、最大反応に対してその半分の反応を起こすような用量がどのくらいかを推定したい。どのくらいの反応が起きるか、実験者、実験場所、実験条件によって異なるような場合に、シグモイド曲線状の用量反応関係が得られたならば、その実験での最大反応の半分反応が起きるような用量、 D_{50} がどのくらいかを推定することにより、実験に用いた薬物の薬効を計量できる。その化合物が、既存の薬物に対して、少ない用量で同等の薬効を示すのか、逆に多く必要とするのかなどの検討が容易にできる。疼痛を軽減する薬理作用がどのくらいの用量から起きるのかを推定するために、 D_{10} も合わせて推定したいとしよう。

実験は表 2.1 で示した 5 水準の 1 元配置型実験である。群構成は、溶媒のみの対照群、アンタゴニストである Alosetron の 3 用量、陽性対照としての Sham 群であり、それぞれの群は 8 症例である。反応の下限を β_3 、反応の上限 β_4 は、実際に投与された用量から推定する回帰係数であれ、陰性対照と陽性対照として実験された群ではない。用量 x は対数変換されていることが前提であるので、陰性対照の用量は 0 mg とすると $\log(0) = \infty$ であり、陽性対照の用量は設定できない。

そこで、推定したい回帰式を別々に設定し、統計ソフトで、最小 2 乗法による回帰係数の同時推定を用いることにする。陰性対照群を $i = 1$, Alosetron 投与 $3\mu\text{g/kg}$ 群、 $30\mu\text{g/kg}$ 群、 $300\mu\text{g/kg}$ 群をそれぞれ $i = 2, 3, 4$ としてロジスティック曲線をあてはめ、陽性対象群を $i = 5$ としたときに、

$$\begin{aligned} y_{ij} &= \beta_3 + e_{ij}, & i = 1, j = 1, 2, \dots, 8, \\ y_{ij} &= \beta_3 + \frac{\beta_4 - \beta_3}{1 + e^{-\beta_1(x - \beta_2)}} + e_{ij}, & i = 2, 3, 4, j = 1, 2, \dots, 8, \\ y_{ij} &= \beta_4 + e_{ij}, & i = 5, j = 1, 2, \dots, 8, \end{aligned} \quad (5.22)$$

ただし、 $e_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$,

の 3 式の同時に成り立つように、 $\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4$ を推定すればよい。

6.2. JMP を用いた推定

次のような JMP データセット `organ_pain_05h_logistic.JMP` を用意する。反応 y の予測値 $y1^\wedge$ が、陰性対象を $3\mu\text{g/kg}$ より常用対数で -3 小さくし、陽性対照を $300\mu\text{g/kg}$ より常用対数で $+3$ 大きくした場合の推定結果である。予測値 $y2^\wedge$ は、式 (5.22) で推定した結果である。

表 6.1 陰性対象と陽性対象を含めたロジスティック曲線のあてはめ

organ_pain_05h_T_logistic										
		Group	k	dose	log10_dose	No	time	y	y1^	y2^
○	1	1: __0 μg	1	0.003	-2.52	1	0.5	30	20.70	23.84
○	2	1: __0 μg	1	0.003	-2.52	2	0.5	20	20.70	23.84
○	3	1: __0 μg	1	0.003	-2.52	3	0.5	25	20.70	23.84
○	4	1: __0 μg	1	0.003	-2.52	4	0.5	20	20.70	23.84
○	5	1: __0 μg	1	0.003	-2.52	5	0.5	25	20.70	23.84
○	6	1: __0 μg	1	0.003	-2.52	6	0.5	30	20.70	23.84
○	7	1: __0 μg	1	0.003	-2.52	7	0.5	25	20.70	23.84
○	8	1: __0 μg	1	0.003	-2.52	8	0.5	20	20.70	23.84
×	9	2: __3 μg	2	3	0.48	1	0.5	30	30.58	28.19
×	10	2: __3 μg	2	3	0.48	2	0.5	20	30.58	28.19

●	38	5: Sham	3	300000	5.48	6	0.5	45	59.26	48.22
●	39	5: Sham	3	300000	5.48	7	0.5	45	59.26	48.22
●	40	5: Sham	3	300000	5.48	8	0.5	50	59.26	48.22

予測値 $y2^{\wedge}$ は、計算式で次のように定義され、推定されたパラメータ（回帰係数）は、適当な初期値をあたえ、JMP の非線形回帰モデルのニュートン・ラフソン法によって推定された最小 2 乗解である。

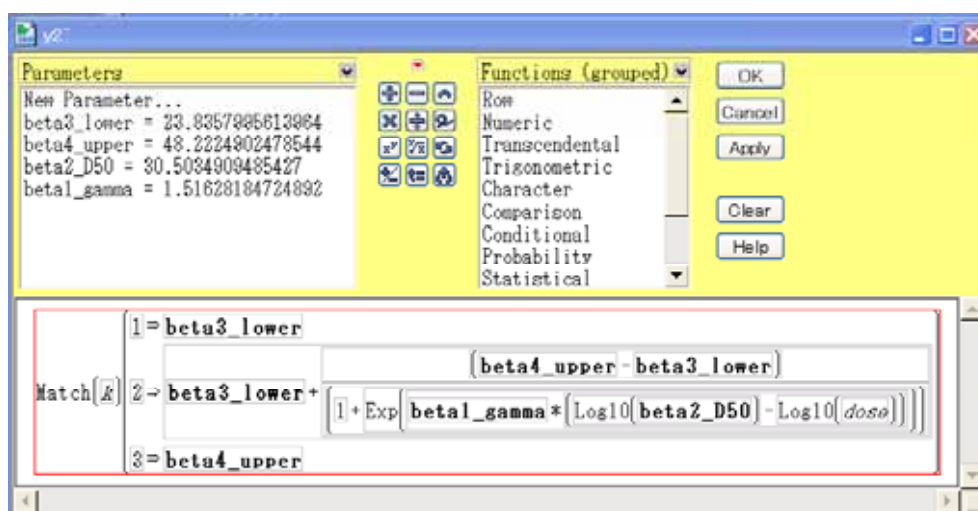


図 6.1 JMP による推定式の設定

表 6.2 陰性対象と陽性対象を含めたロジスティック曲線の解と 95%信頼区間

Solution					
	SSE	DFE	MSE	RMSE	
	1256.8501954	36	34.912505	5.9086805	
Parameter	Estimate	ApproxStdErr	Lower CL	Upper CL	
beta3_lower	23.8358	2.1877	19.7945	.	
beta4_upper	48.2225	1.9563	43.8652	52.6070	
beta2_D50	30.5035	19.0631	9.1333	118.1815	
beta1_gamma	1.5163	0.5072	0.7890	.	
Solved By: Analytic NR					

これらの結果から, $\widehat{D50} = 30.5\mu \text{ g/kg}$, 95% 信頼区は (19.1, 118.2) となる. これは, 反応の下限と上限の平均値, $(23.8358 + 48.2225)/2 = 36.03$ となるような用量の推定値となっている. 常用対数では, $\log_{10}(36.0292) = 1.48$ となる.

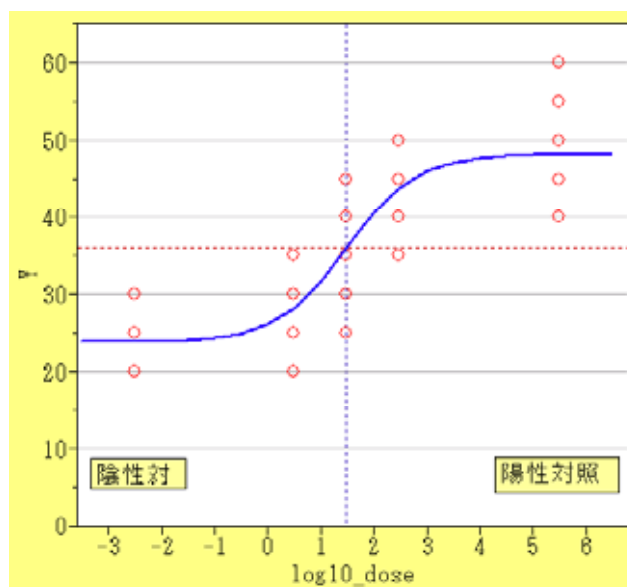


図 6.2 JMP によるロジスティック曲線

6.3. 2 値反応での用量反応曲線

反応が 2 値の場合のシグモイド曲線のあてはめを考えよう. ある用量で n_i 症例に対して r_i 症例に反応が出るような場合を考えよう. 反応を $p_i = r_i/n_i$ としたときに p_i は 0 から 1 の間でシグモイド曲線となる. 計量値の場合にあてはめの誤差に正規分

布を仮定したのであるが、2 値反応の場合は、 p_i に正規分布を仮定することは非現実的であるので、 n_i 個中 r_i 個が出現率の推定値 $\hat{p}_i$ にかんして、2 項分布 $r_i \sim B(\hat{p}_i, n_i)$ に従うことを仮定して、最尤法によって推定する。

統計ソフトによっては非線形モデルで最小 2 乗法だけでなく最尤法をサポートするものもある。JMP の場合についての事例を示す。吉村本の事例を用いる。

表 6.3 D10 の推定 , logit_yoshimira_LDp

logit_yoshimira_LDp										
	i	x	r	n	p	log_x	p_logit [^]	like	z_alpha	
○	1	1	101	0	10	0.00	2.0043	0.0425	0.4338	-2.1972
○	2	2	136	2	10	0.20	2.1335	0.1643	5.0481	-2.1972
○	3	3	183	5	10	0.50	2.2625	0.4647	6.9565	-2.1972
○	4	4	247	8	10	0.80	2.3927	0.7957	5.0046	-2.1972
○	5	5	333	9	10	0.90	2.5224	0.9455	3.4143	-2.1972
○	6	6	450	10	10	1.00	2.6532	0.9874	0.1268	-2.1972

表 6.4 $\hat{p}_i$ についてのロジスティック回帰式の設定

The screenshot shows the 'p_logit^' dialog box in JMP. The 'Table Columns' list on the left includes i, x, r, n, p, log_x, p_logit^, like, and z_alpha. The 'Functions (grouped)' list on the right includes Row, Numeric, Transcendental, Trigonometric, Character, Comparison, Conditional, Probability, and Statistical. The formula editor at the bottom displays the following expression:

$$\frac{1}{1 + \exp(\beta_1 * (\log_x - \beta_2) + \log\left(\frac{p\%}{100 - p\%}\right))}$$

表 6.5 負の対数尤度

$$-\left[r * \text{Log}(p_logit) + (n - r) * \text{Log}(1 - p_logit) \right]$$

対数尤度は、式 (5.5) の定数項を省いている。D10 の推定 JMP では、負の対数尤度を損失関数として追加設定

表 6.6 D10 の推定

Solution					
	Loss	DFE	Avg Loss	Sqrt Avg Loss	
	20.984204862	4	5.2460512	2.290426	
Parameter	Estimate	ApproxStdErr	Lower CL	Upper CL	
beta1	11.522919549	2.78041331	6.89364422	18.0685481	
beta2	2.0840452792	0.05814372	1.92988933	2.17706232	
Solved By: Analytic NR					

beta2 が D10 の推定値となっている。

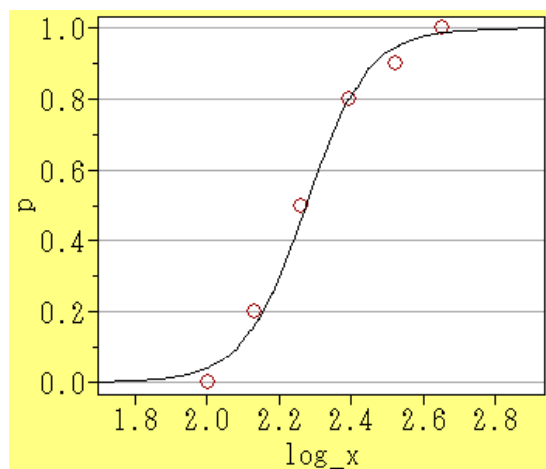


図 6.3 2 値反応に対する路ロジスティック曲線のあてあてはめ

