

応用ロジスティック回帰  
計量値のシグモイド用量反応

第 12 回 高橋セミナー

高橋 行雄

表紙裏

改訂の記録

2003年1月9日，新規作成

## 目 次

---

1. はじめに .....	1
2. シグモイド曲線 .....	3
2.1. シグモイド曲線のモデル式 .....	3
2.2. 酵素反応におけるシグモイド曲線 .....	5
2.3. ラジオ リガンド バインディング .....	6
3. ロジスティック回帰とE <sub>max</sub> モデルの関係 .....	7
3.1. 2値データのロジスティック回帰モデル .....	7
3.2. 計量値のロジスティックモデル .....	8
3.3. EC <sub>10</sub> の推定 .....	9
3.4. 回帰分析での逆推定 .....	11
4. シグモイド曲線の応用分野 .....	16
4.1. 反応に下限と上限がある場合 .....	16
4.2. 上限に陽性対照がある場合 .....	19
4.3. 下限にブランクの吸光度, 上限に陰性対照の吸光度 .....	21
5. 変数変換によるパラメータの推定 (もう少し調査する) .....	26
6. 各種の統計ソフトによるあてはめ .....	30
6.1. GraphPad Prism .....	30
6.2. WinNonlin .....	33
6.3. SASでの実行結果 .....	38
6.4. JMPによる非線形モデルの練習 .....	40
7. 非線形回帰の計算方式 .....	45
7.1. ガウス・ニュートン法による逐次計算, ドレーパー・スミスの事例 .....	45

7.2. Emaxモデルのガウス・ニュートン法による逐次計算 .....	46
<b>8. 効力比 .....</b>	<b>49</b>
8.1. 反応が直線的な場合 .....	49
8.2. 反応がシグモイド曲線の場合, (未) .....	51

## 図 表 目 次

表 1.1	ヒスタミンによる平滑筋の収縮	1
表 3.1	直線状の用量反応	12
表 3.2	非線形回帰として解いた結果 ( $b3 = x_{y=0}$ )	13
表 3.3	非線形回帰の結果 ( $b4 = x_{y=5}$ )	14
表 4.1	Ethinyl estradiol 投与後の平均子宮重量 (blotted, mg)	16
表 4.2	EC50 の推定	18
表 4.3	EC10 の推定	18
表 4.4	EC90 の推定	19
表 4.5	アゴニスト存在下のヒスタミンによる平滑筋の収縮 (mm)	20
表 4.6	ダミー変数を含むE <sub>max</sub> モデルのあてはめ	21
表 4.7	NR法による細胞毒性験データ	21
表 4.8	EC50 および他のパラメータの同時推定	23
表 4.9	EC10 および他のパラメータの同時推定	23
表 4.10	大森のSASプログラムによるED50 とその信頼区間	24
表 4.11	JMPによる大森らの計算式での検証	25
表 6.1	E <sub>max</sub> モデルのデータ	30
表 8.1	アンジオテンシンI注入後の血圧上昇 (mmHg)	50
表 8.2	S薬とT薬の逆推定、差の逆推定	50
表 8.3	非線形回帰モデルによる 30mmHgでの逆推定	51
表 8.4	非線形回帰モデルによる 30mmHgでの差の逆推定	51
表 8.4	実験デザイン (ラテン方格)	52
表 8.5	モルモット摘出回腸のヒスタミン誘発収縮反応に及ぼすG薬の作用	53
図 2.1	ヒスタミンによる平滑筋の収縮	3
図 2.2	シグモイド曲線の $\gamma$ による形状の変化	4
図 2.3	X軸を実目盛にした場合の反応	5
図 3.1	標準薬と試験薬の効力比	12
図 3.2	回帰直線と 95%信頼幅	13
図 3.3	$y = 5$ の場合の逆推定	15
図 4.1	子宮重量の変化	17
図 4.2	JMPでパラメータの初期値で描いたシグモイド曲線	17

図 4.3	上限と下限を持つシグモイド曲線と $EC_{50}$ の図示	18
図 4.4	$EC_{10}$ および $EC_{90}$ の推定値の図示	19
図 4.5	ダミー変数を含むE <sub>max</sub> モデル	21
図 4.6	NR法による細胞毒性の用量反応データ	22
図 4.7	陰性対照とブランクの吸光度を考慮したシグモイド曲線	23
図 5.1	ヒスタミンによる平滑筋の収縮	26
図 5.2	Lineweaver-Burkeプロット	27
図 5.3	Hans (Woolf) プロット	28
図 5.4	Eadie-Hofsteeプロット, またはScatchardプロット	29
図 6.1	シグモイドE <sub>max</sub> モデル式	40
図 6.2	初期値	40
図 6.3	変数の指定	41
図 6.4	初期値によるシグモイド曲線	42
図 6.5	スクロールバーの移動による曲線の変化	43
図 6.6	逐次計算による逐次	44
図 8.1	直線的な用量反応	50

## 1. はじめに

第3回目および第4回目の高橋セミナーで、モルモットから摘出した平滑筋を用いた薬物 - 受容体モデルの実験データから  $EC50$  の推定について示した。この実験は、摘出した平滑筋を溶液中の懸架して、まずヒスタミン濃度が  $0.01 \mu M$  となるようにヒスタミンを加え、さらに濃度が  $\sqrt{10}=3.16$  倍となるようにヒスタミンを加え、平滑筋の収縮が止まるのを待ち、さらに  $3.16$  倍の濃度に上げる、といった手順により、平滑筋の収縮量を計測する。

表 1.1 ヒスタミンによる平滑筋の収縮

ヒスタミン 薬物濃度 ( $\mu M$ )	平滑筋 収縮量 (mm)
0.0100	1
0.0316	3
0.100	5
0.316	23
1.00	66
3.16	113
10.00	158
31.60	171
100.00	171
316.00	165

この収縮反応は、一般的にシグモイド曲線となり、要約統計量として最大反応の  $50\%$  の収縮量となるような薬物濃度、いわゆる  $EC50$  が要約統計量として用いられている。このシグモイド曲線の当てはめに非線形回帰モデルの一つである  $E_{max}$  モデル、

$$y_i = \frac{E_{max} \cdot x_i^\gamma}{x_i^\gamma + EC50^\gamma} + e_i, \quad i=1,2,\dots,k \quad (1.1)$$

ここで、 $y_i$  は平滑筋の収縮量、

$x_i$  は収縮の作動薬ヒスタミンの濃度、

$E_{max}$  は、収縮量の最大値、データから推定したいパラメータ、

$EC50$  は、最大収縮量の  $1/2$  となるヒスタミンの濃度、データから推定したいパラメータ、

が用いられている。非線形回帰モデルをサポートしている統計ソフトを用いて非線形回帰モデルを解くためには、従来は、 $E_{max}$  モデルの式だけでなく、推定したいパラメータ ( $EC50$ 、 $E_{max}$ 、および  $\gamma$ ) で偏微分した式も合わせて指定する必要があった。さらにパラメータの初期値をすべての指定する必要があり、これらの設定が不適切であると、すぐに計算不能となり解が求まらないことがしばしば起きることが知られている。やっかいなことに、解析しようとするデータに外れ値などが含まれているような場合にも、

解が求まらないことが、しばしば発生するので、これらを考慮せずとも解が求まる線形回帰モデルに比べて、取り扱いが面倒であった。

E<sub>max</sub> モデルなどの非線形回帰の問題を解くために WinNonlin, GraphPad Prism (EnzymeKineticsPro, EnzFitter, SigamPlot, 今後検討) などの専用の統計ソフトが整備されてきた。これらの統計ソフトは、データを Excel 状のシートに入力し、メニューから手法を選択すれば、あらかじめ設定されている偏微分式がセットされ、パラメータの初期値も、解析用のデータから取りうる範囲を含めて自動的に設定するようになっていく。推定結果も自動的にグラフ表示され、手軽に E<sub>max</sub> モデルを適用できるようになってきた。

これに対して、汎用的な統計ソフトにも非線形回帰モデルを使うための手法も含まれてはいたが、偏微分式の設定、初期値の設定を必要としていた。最近、汎用的な統計ソフトも進化し、SAS ではバージョン 6 のリリース 6.12 から、非線形のモデル式からパラメータについての偏微分式を自動的に行う機能が付加されて使い勝手が向上してきた。JMP もバージョン 4 では、偏微分を自動的に行う機能、さらに初期値をスライダーなどで変化させ当てはまり具合を視覚的に確認できる機能も持っている。JMP では、さらに、解を求めるための反復計算過程も視覚的に確認できるようになり、非線形回帰モデルを手軽に使えるようになってきた (S-plus については、今後の検討課題)。

非線形の典型的なモデルを解くだけならば、専用のソフトを用いれば良いのであるが、*EC50* に加えて *EC10* も必要となるような場合、反応の最小値がありそれを考慮したい場合、陰性あるいは陽性対照のデータがあり、それらも含めて E<sub>max</sub> モデルを拡張し、*EC50* を推定したい場合など、専用ソフトでは対応に限界が生ずる。幾つかの実験条件に対して、 $\gamma$  を共通とする平行なシグモイド曲線を当てはめ、*EC50* の比較を行いたい場合もある。このような場合には、ダミー変数を導入した非線形モデルが必要となり、専用のソフトでの対応は困難になる。

今回は、まず、典型的なシグモイド曲線に対する非線形回帰モデルの当てはめを行い、次に、種々の応用問題について非線形回帰モデルの拡張について示す。



## 2. シグモイド曲線

### 2.1. シグモイド曲線のモデル式

表 1.1 のデータをX軸を対数目盛にしてグラフを作成すると 図 2.1 のようにシグモイド状の反応とる. 統計ソフトを用いて式 (1.1) の 3 つのパラメータを推定するとが得られる. 図 2.1には, これらのパラメータの推定値を式 (1.1) に代入して得られた反応 $y$ の推定値を上書きしてある. パラメータ  $E_{max} = 171.58$  は, 式 (2.1) に示すようにヒスタミンの濃度を無限大にしたときの反応である.

$$\lim_{x \rightarrow \infty} \frac{E_{max} \cdot x^\gamma}{x^\gamma + EC50^\gamma} = E_{max}, \quad \gamma \geq 0 \quad (2.1)$$

パラメータ  $EC50$  は,  $E_{max}$  が  $1/2$  となるような  $x$  の値である. これは,  $x$  に  $EC50$  を代入して, 次の様に

$$\frac{E_{max} \cdot EC50^\gamma}{EC50^\gamma + EC50^\gamma} = \frac{E_{max} \cdot EC50^\gamma}{2 \times EC50^\gamma} = \frac{E_{max}}{2} \quad (2.2)$$

整理すると得られる.  $\gamma$  に関わらずシグモイド曲線は,  $x$  が  $EC50$  のとき,  $y$  が  $E_{max}/2$  を通る曲線となることが, 式 (2.2) からわかる.

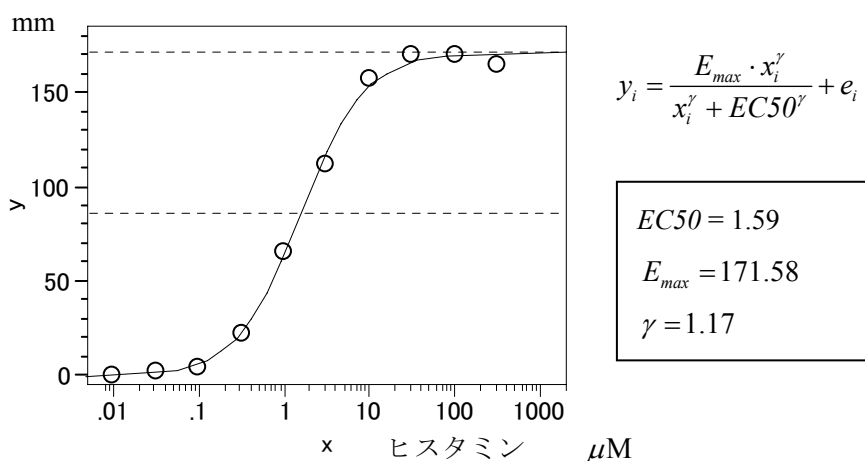


図 2.1 ヒスタミンによる平滑筋の収縮

表 1.1 のデータに非線形回帰モデルで推定した $E_{max}$ モデルのパラメータを代入して得られた推定値を上書きした.

次に  $\gamma$  であるが,  $\gamma$  が (0.5, 1.17, 2.0) の場合について  $x$  が  $EC50$  の 3 倍となる点の  $y$  を計算し, シグモイド曲線の形状の変化を確認してみる.

$$\begin{aligned} \gamma = 0.5 : & \frac{E_{max} (3 \times EC50)^{0.5}}{(3 \times EC50)^{0.5} + EC50^{0.5}} = \frac{1.73 \times E_{max} EC50^{0.5}}{2.73 \times EC50^{0.5}} = 0.63 \times E_{max} \\ \gamma = 1.17 : & \frac{E_{max} (3 \times EC50)^{1.17}}{(3 \times EC50)^{1.17} + EC50^{1.17}} = \frac{3.62 \times E_{max} EC50^{1.17}}{4.62 \times EC50^{1.17}} = 0.78 \times E_{max} \\ \gamma = 2.0 : & \frac{E_{max} (3 \times EC50)^2}{(3 \times EC50)^2 + EC50^2} = \frac{9 \times E_{max} EC50^2}{10 \times EC50^2} = 0.90 \times E_{max} \end{aligned}$$

$\gamma = 0.5$  の場合には  $E_{max}$  の 63% の点を通り、 $\gamma = 1.17$  の場合には  $E_{max}$  の 78% となり、 $\gamma = 2.0$  の場合には  $E_{max}$  の 90% となることから、 $\gamma$  が大きくなるとシグモイド曲線は、速やかに  $E_{max}$  に近づくことがわかる。図 2.2 に  $\gamma$  を変えた場合のシグモイド曲線の变化を示す。 $\gamma = 0.5$  の場合に  $\gamma = 1.17$  に比べてシグモイド曲線が緩やであり、 $\gamma = 2.0$  の場合には、シグモイド曲線が立ち上がっていることが確認される。

これらのことから、Emax モデルにおける  $\gamma$  の役割は、シグモイド曲線の“傾き”に関するパラメータであることがわかる。

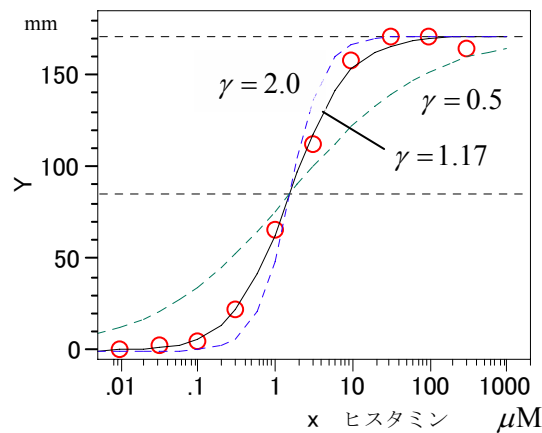


図 2.2 シグモイド曲線の  $\gamma$  による形状の変化

## 2.2. 酵素反応におけるシグモイド曲線

$\gamma=1.0$  の場合に式 (2.1) は、反応が飽和する場合に Michaelis-Menten の酵素反応として知られているの式に一致する.

$$Velocity = \frac{V_{max} \cdot Substrate}{Substrate + K_M} \quad (2.3)$$

ここで、*Velocity* は反応速度：目的変数  $y$ ，  
*Substrate* は、酵素の反応で変化する基質の濃度：説明変数  $x$ ，  
 $V_{max}$  は、反応速度の最大値，データから推定したいパラメータ，  
 $K_M$  は、Michaelis-Menten 定数：“定数” というものの、これは、データから推定したいパラメータ

酵素反応の場合は、基質の濃度  $x$  を対数ではなく実濃度で表すために上に凸な単調増加曲線のように思われるが、実は軸を対数にすると  $EC50$  までは、下に凸なシグモイド曲線である.

反応が、協調的な場合には、式 (2.1) で用いた冪  $\gamma$  ではなく、Hill slope といわれているパラメータ  $h$  を用いることもある.

$$Velocity = \frac{V_{max} \cdot Substrate^h}{Substrate^h + K_M^h} \quad (2.4)$$

この場合には、Emax モデルと同じ非線形モデルとなる.

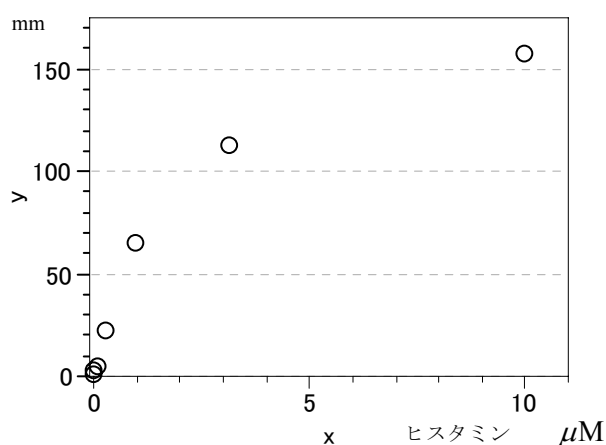


図 2.3 X 軸を実目盛にした場合の反応

10  $\mu$  M 以上は省略

### 2.3. ラジオ リガンド バインディング

飽和ラジオリガンド バインディング試験でも，飽和酵素反応と同様な非線形モデルが用いられている．

$$y = \frac{B_{max} \cdot x}{x + K_d} \quad (2.5)$$

ここで， $y$  は，バインディング量で cpm, cits/cell, あるいは fmol/mg などの単位を持つ測定値，

$x$  は，リガンド（配位子）の濃度，nM, または pM,

$B_{max}$  は， $y$  の最大反応で，データから推定したいパラメータ，

$K_d$  は，平衡分離定数（equilibrium dissociation）：“定数” というものの，これは，データから推定したいパラメータ

酵素反応の場合，あるいは，飽和ラジオリガンド反応の場合に，モデル式を変形し線形化してパラメータの推定を行う Lineweaver-Burke プロット，あるいは Scatcard プロットについては，5章で述べる．

### 3. ロジスティック回帰と Emax モデルの関係

#### 3.1. 2 値データのロジスティック回帰モデル

シグモイド型になる 2 値反応の用量反応データから 50% 反応量  $D50$  を求める問題は、ロジスティック回帰分析の逆推定の問題として一般化されてきた。

$$\eta_i = \ln\left(\frac{r_i/n_i}{1-r_i/n_i}\right) = \beta_0 + \beta_1 \ln(x_i) + \varepsilon_i, \quad i=1,2,\dots,k \quad (3.1)$$

ここで、

$r_i$  は反応ありの例数、

$n_i$  は反応ありの例数、

$x_i$  は薬剤の投与量、

$\varepsilon_i$  は平均が  $\hat{\eta}_i$ 、分散が  $1/(\hat{\pi}_i(1-\hat{\pi}_i)n_i)$ 、ここで  $\hat{\pi}_i = 1/(1+e^{-\hat{\eta}_i})$ 、

$\beta_0$  は、ロジット変換した Y 軸の切片、

$\beta_1$  は、傾き。

ロジスティック回帰は、出現率  $p_i = r_i/n_i$  がシグモイド曲線になる場合に、出現率をロジット変換  $\text{logit}(p_i) = \ln(p_i/(1-p_i))$  し、 $\beta_0$  と  $\beta_1$  を最尤法、または、重み付き最小 2 乗法で推定している。

式 (3.1) を  $p_i$  について解いてみると、

$$\begin{aligned} \ln\left(\frac{p_i}{1-p_i}\right) &= \beta_0 + \beta_1 \ln(x_i) \\ \frac{p_i}{1-p_i} &= e^{\beta_0 + \beta_1 \ln(x_i)} \\ p_i &= e^{\beta_0 + \beta_1 \ln(x_i)} - p_i e^{\beta_0 + \beta_1 \ln(x_i)} \\ p_i(1 + e^{\beta_0 + \beta_1 \ln(x_i)}) &= e^{\beta_0 + \beta_1 \ln(x_i)} \\ p_i &= \frac{e^{\beta_0 + \beta_1 \ln(x_i)}}{1 + e^{\beta_0 + \beta_1 \ln(x_i)}} \end{aligned} \quad (3.2)$$

分子の指数で割ると

$$\frac{e^{\beta_0 + \beta_1 \ln(x_i)}}{1 + e^{\beta_0 + \beta_1 \ln(x_i)}} = \frac{1}{1 + e^{-(\beta_0 + \beta_1 \ln(x_i))}} \quad (3.3)$$

が得られる。反応が 50% となる  $x = \ln(EC50)$  を推定してみよう。  $p_i = 0.5$  を式 (3.1) に代入して、

$$\ln\left(\frac{0.5}{1-0.5}\right) = \beta_0 + \beta_1 \ln(EC50)$$

となる。これを、 $\ln(EC50)$ について解くと、

$$\ln(1) = \beta_0 + \beta_1 \ln(EC50)$$

$$0 = \beta_0 + \beta_1 \ln(EC50)$$

$$\ln(EC50) = -(\beta_0 / \beta_1)$$

が得られる。式 (3.3) に  $\ln(EC50)$  を代入できるように変形すると、

$$\frac{1}{1 + e^{-(\beta_0 + \beta_1 \ln(x_i))}} = \frac{1}{1 + e^{\beta_1(-(\beta_0/\beta_1) - \ln(x_i))}} = \frac{1}{1 + e^{\beta_1(\ln(EC50) - \ln(x_i))}} \quad (3.4)$$

となり、 $EC50$  をパラメータとし直接推定することは、非線形モデルとなり一般的なロジスティック回帰分析では解くことができないが、次節に示す Emax モデルと対比するために示した。

### 3.2. 計量値のロジスティックモデル

次に、Emax のモデル式 (1.1) が、2 値データに対するロジスティック回帰との類似性について示す。

$$y_i = \frac{E_{max} \cdot x_i^\gamma}{x_i^\gamma + EC50^\gamma}$$

Emax 式の分子、分母を、 $x_i^\gamma$  で割り、一部を指数化する。

$$y_i = \frac{E_{max}}{1 + \frac{EC50^\gamma}{x_i^\gamma}} = \frac{E_{max}}{1 + \exp(\ln(\frac{EC50^\gamma}{x_i^\gamma}))} = \frac{1}{1 + e^{\gamma(\ln(EC50) - \ln(x_i))}} E_{max} \quad (3.5)$$

Emax モデルのパラメータ  $\gamma$  は、ロジスティック回帰の式 (3.4) の傾き  $\beta_1$  に対応し、 $\ln(EC50)$  は  $-(\beta_0 / \beta_1)$  に対応することがわかる。 $E_{max}$  はデータから推定するパラメータであるが、その推定値で  $y_i$  を割れば、

$$p'_i = \frac{y_i}{\hat{E}_{max}}$$

となり、2 値データの出現率と同じことである。ただし、2 値データの場合は、出現率が 1.0 を超えること、また 0 以下になることはありえないが、Emax モデルの  $p'_i$  は、1.0 を超えることも、0 以下になることもありえる。Emax モデルでは、ヒスタミンの濃度を 10 を底とする常用対数  $\log(x_i)$  としたので、式 (3.5) は、

$$y_i = \frac{1}{1+10^{\gamma(\log(EC50)-\log(x_i))}} E_{max} \quad (3.6)$$

と書き直せる。

### 3.3. EC10の推定

2値データに対するロジスティック回帰モデルは、線形モデルの流れで開発されたモデルなので、切片と傾きを用いている。これに対して Emax モデルでは、推定したいパラメータが、 $\ln(EC50) = -\beta_0 / \beta_1$  となっている。Emax モデルを2値のロジスティック回帰モデルと同様の考え方で、計量値のシグモイド曲線のあてはめと考えたときに、切片と傾きを推定する非線形モデルとして解くことも可能である。ただし、その場合の EC50 の推定は、推定されたパラメータから再計算して求めることになる。その 95%信頼区間も、デルタ法、あるいはフィラーの式によって計算できる。さらに、EC50 のみならず EC10、あるいは EC90 などと同様に計算できる。

Emax モデルでは、直接 EC50 の推定、および 95%信頼区間が計算されるので、再計算の手間が要らないのであるが、EC10、あるいは EC90 などの計算は別途行わなければならない。この場合には、EC50 を推定するのではなく、直接 EC10 を推定するようにモデル式を変更した方が簡便である。

反応が最大値の 50%となる濃度の推定値は、次のロジスティック回帰式で、

$$\ln\left(\frac{p_i}{1-p_i}\right) = \beta_0 + \beta_1 \ln(x_i)$$

反応  $p_i$  が 0.5 の場合に左辺が 0 となることから、 $\ln(\hat{EC}50) = -(\hat{\beta}_0 / \hat{\beta}_1)$  が求められた。反応が最大値の 10%となる濃度の推定値は、

$$\ln\left(\frac{0.1}{1-0.1}\right) = \beta_0 + \beta_1 \ln(EC10)$$

なので、

$$\ln\left(\frac{0.1}{1-0.1}\right) = \beta_0 + \beta_1 \ln(EC10)$$

$$-2.197 = \beta_0 + \beta_1 \ln(EC10)$$

$$\ln(EC10) = \frac{-2.197 - \beta_0}{\beta_1}$$

となる。反応が最大値の 90%となる濃度の推定値は、

$$\ln\left(\frac{0.9}{1-0.9}\right) = \beta_0 + \beta_1 \ln(EC90)$$

$$2.197 = \beta_0 + \beta_1 \ln(EC90)$$

$$\ln(EC90) = \frac{2.197 - \beta_0}{\beta_1}$$

のように、切片  $\beta_0$  に求めたい反応のパーセント点の  $\text{logit}(p)$  を加えることにより得られる。

$EC10$ 、あるいは  $EC90$  などの推定は、E<sub>max</sub> モデルを次の様に変形すればよい。

$$\ln(EC10) = \frac{-2.197 - \beta_0}{\beta_1} = -\frac{2.197}{\beta_1} - \frac{\beta_0}{\beta_1}$$

であるので、 $\beta_1 = \gamma$ 、 $\ln(EC50) = -\beta_0 / \beta_1$  を代入し、

$$\ln(EC10) = -\frac{2.197}{\gamma} + \ln(EC50)$$

$$\ln(EC50) = \ln(EC10) + \frac{2.197}{\gamma}$$

と式を変形して、式 (3.6) に代入すると、

$$y_i = \frac{E_{max}}{1 + e^{\gamma(\ln(EC10) + 2.197/\gamma - \ln(x_i))}}$$

$$y_i = \frac{E_{max}}{1 + e^{\gamma(\ln(EC10) - \ln(x_i)) + 2.197}}$$

が得られる。同様に  $EC90$  は、

$$y_i = \frac{E_{max}}{1 + e^{\gamma(\ln(EC90) - \ln(x_i)) - 2.197}}$$

となる。任意の最大反応に対するパーセント点  $100 p_0$  となる濃度  $\ln(EC100p_0)$  の逆推定は、

$$\ln(EC100p_0) = -\frac{\ln(p_0/(1-p_0))}{\beta_1} - \frac{\beta_0}{\beta_1}$$

なので、

$$\ln(EC100p_0) = -\frac{\ln(p_0/(1-p_0))}{\gamma} + \ln(EC50)$$



$$\ln(EC50) = \ln(EC100p_0) - \frac{\ln(p_0/(1-p_0))}{\gamma}$$

これを式 (3.4) に代入し,

$$y_i = \frac{E_{max}}{1 + e^{\gamma(\ln(EC100p_0) - \ln(x_i)) - \ln(p_0/(1-p_0))}} \quad (3.7)$$

非線形回帰モデルで推定するパラメータとして  $100 p_0$  となる濃度  $\ln(EC100p_0)$  の推定値が直接得られる.

### 3.4. 回帰分析での逆推定

薬物の反応がシグモイド曲線ではなく、直線関係であることを考えよう. これは、未知物質の薬物濃度を知りたいときに、既知物質の直線状の用量反応により検量線を求め、未知物質の反応  $y_0$  から、未知物質の薬物濃度  $x_0$  を得る場合として定式化されている. さて、その推定された未知物質の薬物濃度  $x_0$  の 95%信頼区間はどうなるのであろうか. この問題は、第 10 回の高橋セミナーで取り上げた、2 値データの用量反応に対する逆推定で示した、デルタ法、あるいは、フィラーの式で求めることができる.

さて、E<sub>max</sub> モデルでは、推定したいパラメータに EC50 を入れて、それを直接求めた. 回帰分析の場合にはどのようにしたら良いのであろうか. E<sub>max</sub> モデルのように推定したいパラメータに EC50 を入れている場合と、ロジスティック回帰モデルのように切片と傾きを用いる 2 通りがあり、どちらでも同じ推定値が得られることを示してきた. 最も基本的な単回帰分析で、これらの 2 通りの解析モデルの適用してみる. これは、反応が直線関係が平行な直線で現される場合に効力比とその 95%信頼区間を直接求めると場合に適用できる.

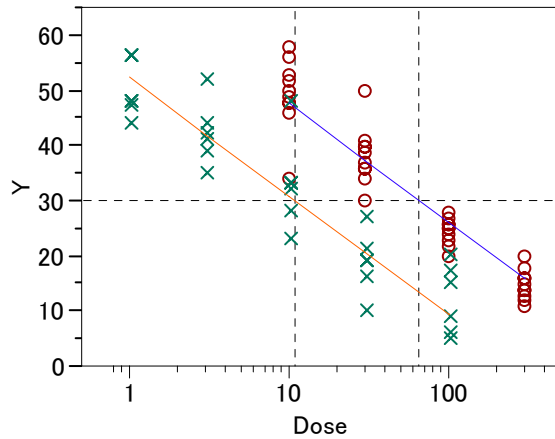


図 3.1 標準薬と試験薬の効力比

反応  $y$  が 30 となる標準薬○印の用量は 66.4, 試験薬×の用量は 11.0, 従って, 効力比は 6.0 倍である. 非線形回帰を用いると効力比と, その 95%信頼区間を直接求めることができる.

表 3.1 に反応  $y$  が  $x$  に対して直線となる例を示す. このデータをプロットして, 回帰直線を求め, その 95%信頼区間を図示している.

表 3.1 直線状の用量反応

$x$	$y$
-4.61	-5.14
-3.45	-4.03
-2.30	-3.51
-1.15	-1.87
0.00	-0.47
1.15	0.66
2.30	2.45
3.45	5.69
4.61	5.69
5.76	3.22

回帰式は,  $y = -0.347 + 1.070x$  であり,  $y = 0$  となる  $x_0$  は,

$$y = \beta_0 + \beta_1 x \quad (3.8)$$

なので,

$$0 = \beta_0 + \beta_1 x_0$$

とにおいて,

$$x_0 = -\frac{\beta_0}{\beta_1}$$

$$\hat{x}_0 = -\frac{\hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} = -\frac{-0.347}{1.070} = 0.324$$

と推定される.

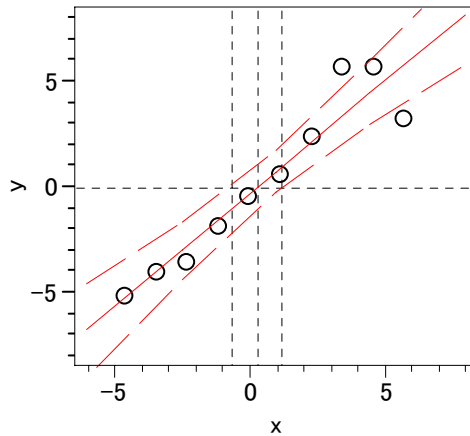


図 3.2 回帰直線と 95%信頼幅

$y = -0.346 + 1.070x$ , 反応が  $y = 0$  となる場合の逆推定

式 (3.7) の傾き  $\beta_1$  の積の形となるように変形し,

$$y = \beta_1 \left( \frac{\beta_0}{\beta_1} + x \right) \quad (3.9)$$

推定したいパラメータを  $\beta_3 = -(\beta_0 / \beta_1)$  と置き換え,

$$y = \beta_1 (-\beta_3 + x)$$

として, 非線形回帰モデルで解くと,  $y = 0$  の場合の  $\beta_3$  の推定値が 0.323 と直接求まり, その近似 SE と正確な 95%信頼区間が求められる

表 3.2 非線形回帰として解いた結果 ( $b_3 = x_{y=0}$ )

解					
	SSE	DFE	MSE	RMSE	
	14.237022758	8	1.7796278	1.3340269	
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
b1	1.0702188163		0.12754627	0.77609659	1.36434104
b3	0.3246495323		0.39531425	-0.6442115	1.25243882

次に、 $y=5$ となる $x_{y=5}$ は、

$$5 = \beta_0 + \beta_1 x_{y=5}$$

とおいて、

$$x_{y=5} = \frac{5 - \beta_0}{\beta_1}$$

$$\hat{x}_{y=5} = \frac{5 - \hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} = \frac{5 - (-0.346)}{1.070} = 4.996$$

である。 $\beta_4 = x_{y=5}$ とおいて、簡単な式の変形を行い、

$$\beta_4 = \frac{5}{\beta_1} - \frac{\beta_0}{\beta_1}$$

式 (3.9) に代入すると次式が得られる。

$$y = \beta_1 \left( \frac{5}{\beta_1} - \beta_4 + x \right)$$

$$y = \beta_1 (-\beta_4 + x) + 5$$

$\beta_1$ と $\beta_4$ を推定するために、非線形回帰モデルで解くと表 3.3 のように $\beta_4$ の推定値が4.995となり、その近似のSEと正確な95%信頼区間が求められる

表 3.3 非線形回帰の結果 ( $b4 = x_{y=5}$ )

解					
	SSE	DFE	MSE	RMSE	
	14.162367883	8	1.770296	1.3305247	
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
b1	1.0702542097		0.12723849	0.77684172	1.3636667
b4	4.9951518556		0.65625979	3.7402694	6.96841636

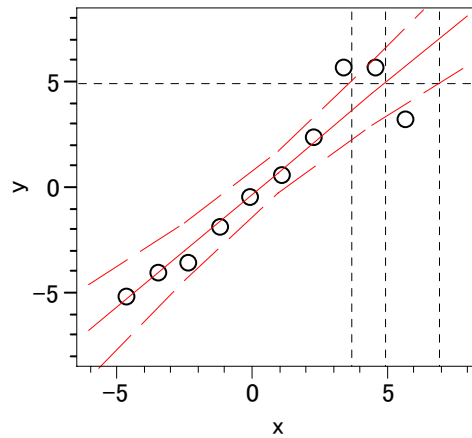


図 3.3  $y=5$  の場合の逆推定

逆推定は表 3.3 で得られた下側と上側信頼限界を図上に書きした。

線形モデルを非線形の問題として扱う例を示したのは、計量値のシグモイド反応を解くために式 (3.4) に示したように

$$\frac{1}{1+e^{-(\beta_0+\beta_1 \ln(x_i))}} = \frac{1}{1+e^{\beta_1(-(\beta_0/\beta_1)-\ln(x_i))}} = \frac{1}{1+e^{\beta_1(\ln(EC50)-\ln(x_i))}}$$

2通りの定式化が行なわれており、その関係を理解するためにの助けとするためである。

## 4. シグモイド曲線の応用分野

### 4.1. 反応に下限と上限がある場合

これまで示してきたEmaxモデルは、反応の上限が飽和するような実験データであった。実験によっては、ある下限が存在する場合もある。環境ホルモンEthinyl estradiolをラットに投与し、子宮の重量の変化より、子宮重量が 10%以上増加するホルモンの濃度を推定したいとしよう。子宮に対して影響が見られない低濃度であっても、子宮は存在し、重量の下限は存在する。また、ある一定量のホルモンを投与しても、子宮の重量はある上限で押えられている。表 4.1のデータは、Kanno (2001) の一部の実験結果を示してある。このデータは、個別データではなく 6 匹の平均値であるが、ここでは、個別データと見なして、シグモイド曲線を当てはめて 10%の反応量の推定を試みる。

表 4.1 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。

Emax モデルを拡張するならば、下限を  $E_{min}$  としても良いのであろうが、下限および上限を、それぞれ *bottom*, および, *top* とする。Emax モデルでは、0 から  $E_{max}$  の間を 0%から 100%になるようなロジスティック曲線を考えたのであるが、下限がある場合は、下限と上限の間でロジスティック曲線のあてはめを行うように式を構成する。

$$y_i = bottom + \frac{top - bottom}{1 + \exp\{\gamma(\ln(EC50) - \ln(x_i))\}} + e_i \quad (4.1)$$

図 4.1 に施設ごとの平均子宮重量の用量反応関係を示す。どの施設でも、下限と上

限をもつシグモイド曲線となっていることが観察される。

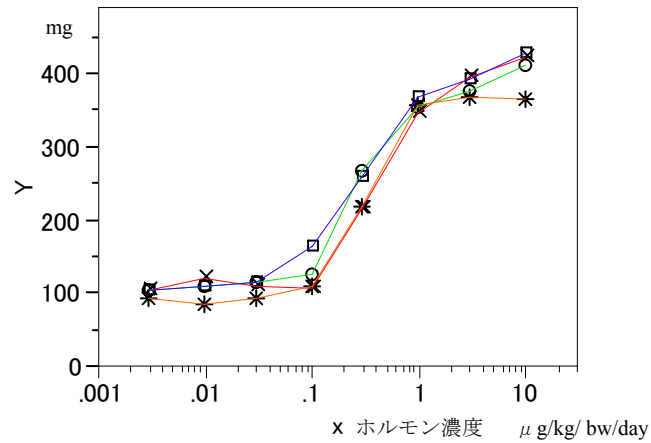


図 4.1 子宮重量の変化

4 施設の平均子宮重量ではあるが、1 用量あたり 4 匹の実験データとみなしてシグモイド曲線のあてはめを行ってみる。図 4.2 に非線形モデルのあてはめ過程を表示する機能を持つ JMP で、パラメータの初期値に対するシグモイド曲線のプロットを示す。

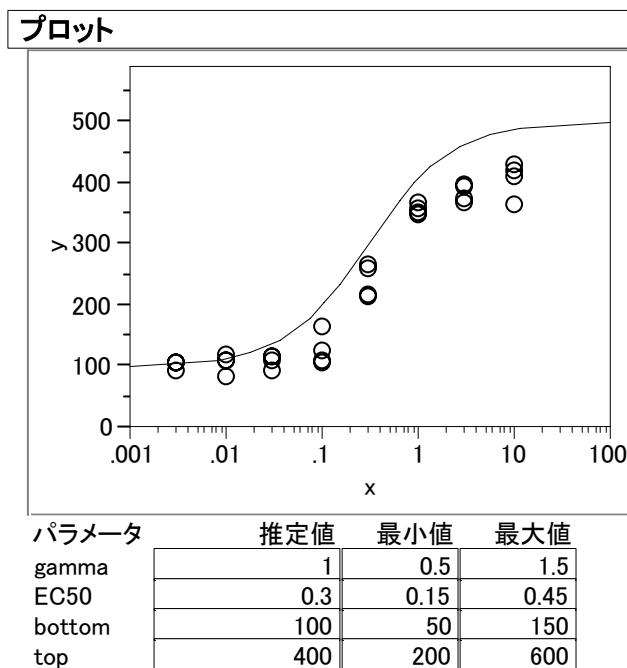


図 4.2 JMP でパラメータの初期値で描いたシグモイド曲線

表 4.2 EC50 の推定

解				
	SSE	DFE	MSE	RMSE
	9368.7977985	28	334.59992	18.292073
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
gamma	1.747067246	0.22433513	1.35137142	2.37641619
EC50	0.3526833472	0.02743941	0.30177699	0.41675851
bottom	103.00472419	5.56365851	91.4939134	113.930795
top	296.54725475	10.0182384	276.677218	318.614567

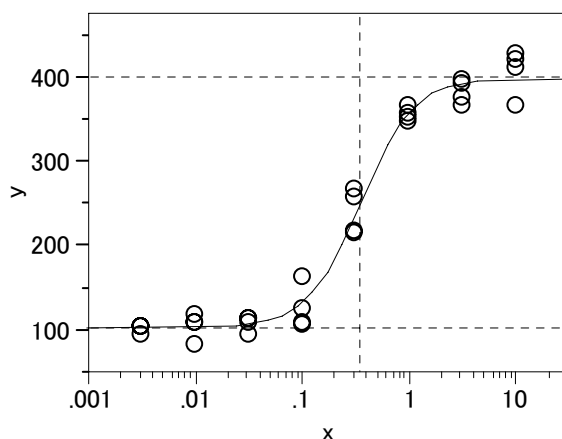


図 4.3 上限と下限を持つシグモイド曲線と EC50 の図示

次に、EC10 の推定を行う。式 (3.7) より、 $\ln(0.1/(1-0.1))$  をロジスティック回帰式に加えることにより EC10 が直接推定できる。

$$y_i = bottom + \frac{top - bottom}{1 + \exp[\gamma\{\ln(EC10) - \ln(x_i)\} - \ln(0.1/(1-0.1))]} + e_i$$

表 4.3 EC10 の推定

解				
	SSE	DFE	MSE	RMSE
	9368.797798	28	334.59992	18.292073
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
gamma	1.7470853245	0.22436579	1.35137093	2.3764135
EC10	0.1003450635	0.01692367	0.06949918	0.13829319
bottom	103.00480656	5.5635355	91.4939126	113.930795
top	296.54667898	10.0177794	276.677274	318.615378

EC90 の推定も EC10 のロジットの部分に次式のように  $\ln(0.9/(1-0.9))$  変えることにより、直接求めることができる。



$$y_i = bottom + \frac{top - bottom}{1 + \exp[\gamma \{ \ln(EC90) - \ln(x_i) \} - \ln(0.9/(1-0.9))] + e_i}$$

表 4.4 EC90 の推定

解				
	SSE	DFE	MSE	RMSE
	9368.797798	28	334.59992	18.292073
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
gamma	1.7470853072	0.2243662	1.35137153	2.37641439
EC90	1.2395653672	0.23442127	0.8362763	1.93094466
bottom	103.00480462	5.56353237	91.4938929	113.930744
top	296.54667865	10.0177735	276.676766	318.614811

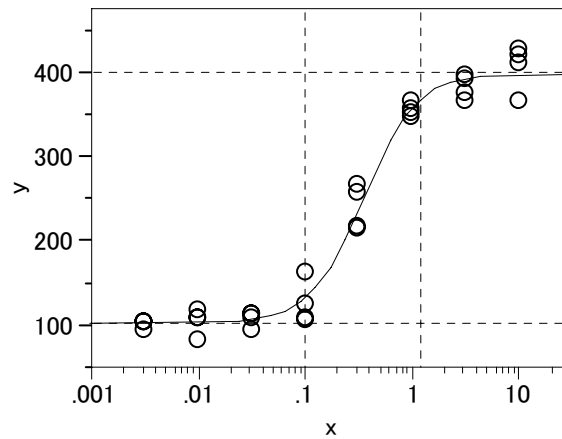


図 4.4 EC10 および EC90 の推定値の図示

## 4.2. 上限に陽性対照がある場合

表 1.1 に薬物 - 受容体モデルの典型的な実験データを示し、EC50 の推定について示した。この実験は、実は“陽性対照”がある。摘出した平滑筋を溶液中の懸架して平滑筋が収縮しきるまでヒスタミンを添加し最大収縮高を求めておくのである。この後、平滑筋を洗浄して、ヒスタミンを除去してから、今度は、段階的にヒスタミンの濃度を上げて行くのである。これは、本来の実験の目的が、ヒスタミンに拮抗するアゴニストを溶液中に添加された状態でのヒスタミンを加えたときの用量反応関係を調べてたいからである。

表 4.5 アゴニスト存在下のヒスタミンによる平滑筋の収縮 (mm)

ヒスタミン 薬物濃度 ( $\mu\text{M}$ )	アゴニスト	
	なし	あり
0.0100	1	-3
0.0316	3	1
0.100	5	-5
0.316	23	4
1.00	66	4
3.16	113	15
10.00	158	10
31.60	171	62
100.00	171	101
316.00	165	143
最大収縮高	165	162

アゴニスト存在下のデータのみではシグモイド曲線というより単調増加曲線であり、このデータのみでは上限が  $E_{max}$  を推定することはできない。最大収縮高のヒスタミンの濃度があれば、このデータを入れて推定することができそうである。その濃度が測定していなかった場合、あるいは、実験の種類によっては、“濃度”がない場合もありうる。その場合に、ダミー変数を使うことにより、2種類の異なるデータに同時推定が可能になる。式 (3.5) の Emax モデルは次のようであった。

$$y_i = \frac{E_{max}}{1 + e^{\gamma(\ln(EC50) - \ln(x_i))}}$$

ここで、 $y_i$  は平滑筋の収縮量、

$x_i$  は収縮の作動薬ヒスタミンの濃度、

$E_{max}$  は、収縮量の最大値、データから推定したいパラメータ、

$EC50$  は、最大収縮量の 1/2 となるヒスタミンの濃度、データから推定したいパラメータ、

この式に最大収縮高のデータの推定式は、

$$y_i^{\text{最大}} = E_{max} + \varepsilon_i^{\text{最大}}$$

となる。この2つの式を一つの式とするために、次のダミー変数を定義する。

ヒスタミンの濃度があるデータ： $d_1=0$ ， $d_2=1$

最大収縮高： $d_1=1$ ， $d_2=0$

$$y_i = \frac{E_{max} \cdot d_2}{1 + e^{\gamma(\ln(EC50) - \ln(x_i))}} + E_{max} \cdot d_1$$

表 4.6 ダミー変数を含む Emax モデルのあてはめ

解				
	SSE	DFE	MSE	RMSE
	307.25085688	8	38.406357	6.1972863
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
EC50	57.731321476	7.5171395	44.0491564	75.6883113
gamma	1.0997744922	0.12097197	0.88404537	1.40093544
Emax	162.53846159	5.8467318	150.596983	174.812545

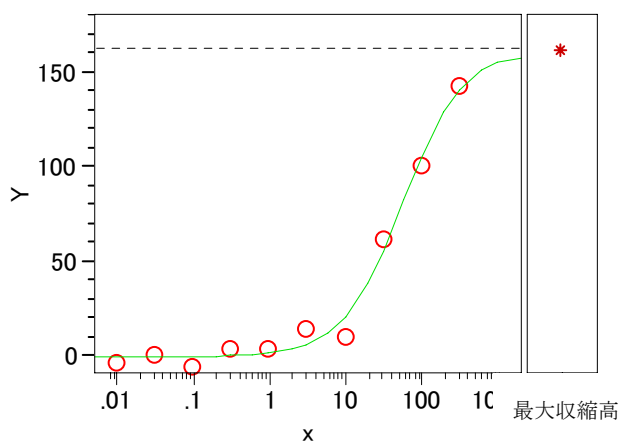


図 4.5 ダミー変数を含む Emax モデル

### 4.3. 下限にブランクの吸光度，上限に陰性対照の吸光度

大森，NR 法，test データでの JMP による追試

表 4.7 NR 法による細胞毒性験データ

検体	陰性	0.02	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.1	0.12	ブランク
1	0.406	0.396	0.318	0.1	0.121	0.086	0.131	0.067	0.047	0
2	0.379	0.318	0.12	0.164	0.086	0.119	0.069	0.044	0.005	0
3	0.417	0.426	0.24	0.23	0.167	0.079	0.113	0.083	0.028	0
4	.	0.376	0.248	0.185	0.142	0.198	0.18	0.074	0.029	0
5	.	0.259	0.197	0.131	0.105	0.148	0.072	0.044	0.029	0
6	.	0.428	0.257	0.209	0.251	0.253	0.176	0.111	0.034	0
7	.	0.426	0.255	0.174	0.251	0.1	0.141	0.149	0.053	.
8	.	0.282	0.2	0.269	0.158	0.19	0.107	0.094	0.027	.
9	.	0.499	0.339	.	0.292	.	0.198	0.116	0.045	.
10	.	0.586	0.473	.	0.234	.	0.175	0.148	0.034	.
11	.	0.298	0.256	.	0.186	.	0.069	0.042	0.004	.
12	.	0.448	0.32	.	0.282	.	0.164	0.117	0.052	.

大森崇，加藤麻矢子，細胞毒性の ED50 推定法—原理，SAS プログラムの使い方，サイエンティ

スト社 (1998).

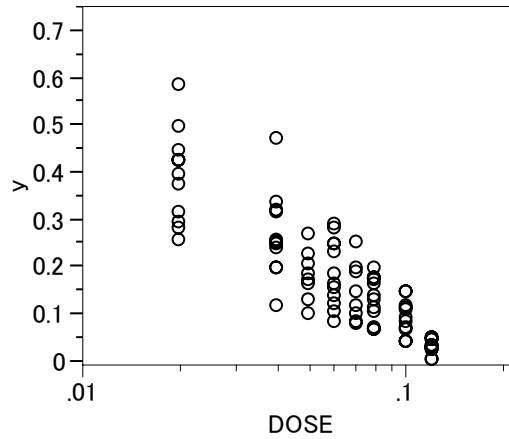


図 4.6 NR 法による細胞毒性の用量反応データ

シグモイド曲線は、実験で設定された薬物濃度以外に、上限と下限データが別途得られる場合もある。この例では、陰性対照として測定された吸光度  $y$  が上限となる場合もある。ただし、このデータにも測定誤差が含まれている場合には、実験した薬物濃度から推定するシグモイド曲線に加えて、陰性対照のデータも同時にシグモイド曲線の上限を推定する際に考慮すべきである。下限が、この実験では、ブランクのデータとして得られている。実験結果は、6 個のデータが全て 0 であったが、実験によっては、ある値を持つ場合もある。上限と同様に下限のデータもシグモイド曲線の下限を推定する際に同時に考慮すべきである。

$$y_i = bottom + \frac{top - bottom}{1 + \exp\{\gamma(\ln(EC50) - \ln(x_i))\}} + e_i$$

$$\text{陰性対照} : y_j^{\text{陰性}} = top + e_j^{\text{陰性}}$$

$$\text{ブランク} : y_k^{\text{ブランク}} = bottom + e_k^{\text{ブランク}}$$

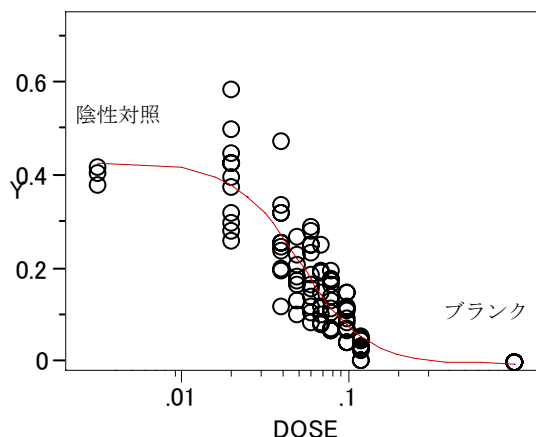


図 4.7 陰性対照とブランクの吸光度を考慮したシグモイド曲線

表 4.8 EC50 および他のパラメータの同時推定

解					
	SSE	DFE	MSE	RMSE	
	0.3611541672	93	0.0038834	0.0623168	
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	
EC50	0.0519276955	0.00470474	0.04304535	0.06193975	
gamma	2.1931700124	0.36788617	1.66658375	2.98874299	
bottom	-0.004190085	0.02326809	-0.0508644	0.03892499	
top	0.4280138301	0.02768794	0.38071678	0.48339885	

表 4.9 EC10 および他のパラメータの同時推定

解					
	SSE	DFE	MSE	RMSE	
	0.3611541674	93	0.0038834	0.0623168	
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	
EC10	0.1414122159	0.02444631	0.10399311	0.19852954	
gamma	2.1932313547	0.3678401	1.66656075	2.988709	
bottom	-0.004188076	0.02326838	-0.0508627	0.0389258	
top	0.4280103149	0.02768962	0.3807182	0.48339699	

### 結果の検証

シグモイド曲線のパラメータの与え方に、切片  $\beta_1$  と傾き  $\beta_2$  とする方式で大森は、この問題を解いている。文献の付録の SAS プログラムを実行した結果と、JMP の結果を対比してみる。大森が用いている式は、次のようである。

$$y_i = \beta_3 + \frac{\beta_4}{1 + \exp\{\beta_1 - \beta_2 x'_i\}} + e_i$$

$$x'_i = \log_{10}(x_i)$$

$$\text{陰性対照} : y_j^{\text{陰性}} = \beta_3 + \beta_4 + e_j^{\text{陰性}}$$

$$\text{ブランク} : y_k^{\text{ブランク}} = \beta_3 + e_k^{\text{ブランク}}$$

表 4.10 大森の SAS プログラムによる ED50 とその信頼区間

File	N	P	Code-A	Code-C	Code-D	Code-E	Code-F	Code-G	ED50
test1	88	8	MET	6	OK	OK	4.3	X	5.193E-02
Low-ED50			Up-ED50		Beta1	Beta2	Beta3	Beta4	
4.348E-02			6.202E-02		6.48697	5.04978	-0.0041926	0.43221	

EC50 は、5.193E-02=0.05193 と出力されている。これは、 $5.193 \times 10^{-2}$ なので、0.05193 と一致する。95%信頼区間は、(0.04348, 0.06202) と出力されているが、表 4.8では、(0.04305, 0.06194) と一致しているとは言い難い。これは、大森らのSASのプログラムでは、デルタ法という近似計算が使われているのに対して、表 4.8 の計算に用いた JMPでは、パラメータの同時信頼区間を考慮した正確な信頼区間が出力されているからである。Beta3 は、*bottom*に対応し、-0.00491 であり、Beta3+Beta4 が*Top*に対応し  $0.43221+(-0.00419)=0.4280$  と一致している。

Beta2 がシグモイド曲線の *gamma* に対応するのであるが、大森らは、用量を常用対数変換しているので、値が大きくなっている。図では、傾きがマイナスなのに、推定値がプラスになっているのは、用いている式で符号を逆にしているからである。

### 大森の SAS の実行結果

#### パラメータの推定

Parameter	Estimate	Asymptotic Std. Error	Asymptotic 95 % Confidence Interval	
			Lower	Upper
B1	6.486971004	1.0630846032	4.3758845347	8.5980574725
B2	5.049781270	0.8470452074	3.3677084875	6.7318540515
B3	-0.004192632	0.0232682070	-0.0503989237	0.0420136589
B4	0.432210921	0.0402677913	0.3522466457	0.5121751954

#### 分散共分散行列

OBS	_TYPE_	_NAME_	_ITER_	_SSE_	B1	B2	B3	B4
9	FINAL		.	0.36115	6.48697	5.04978	-0.004193	0.43221
10	COVB	B1	.	0.36115	1.13015	0.88536	0.018099	-0.03425
11	COVB	B2	.	0.36115	0.88536	0.71749	0.012502	-0.02790
12	COVB	B3	.	0.36115	0.01810	0.01250	0.000541	-0.00070
13	COVB	B4	.	0.36115	-0.03425	-0.02790	-0.000698	0.00162

デルタ法で95%信頼区間を推定する SAS プログラムの一部

```

*****
* 95%シライケカノノ スイテイ ソノ 2 (Delta) *
*****
LOG_ED50=(-BB1/BB2);
V_LOGD=(V_B1+(BB1**2)*V_B2/(BB2**2)-2*BB1*COV_B12/BB2)/(BB2**2);
SE_LOGD=SQRT(V_LOGD);
LOG_LOW=LOG_ED50-1.96*SE_LOGD;
LOG_UP=LOG_ED50+1.96*SE_LOGD;
LOW_ED50=10**LOG_LOW;
UP_ED50=10**LOG_UP;
ED50=10**LOG_ED50;
KEEP ED50 UP_ED50 LOW_ED50 V_LOGD SE_LOGD LOG_LOW LOG_UP;

```

$\beta_0$  が切片,  $\beta_1$  が傾きとする場合のデルタ法

$$\left(\frac{\partial g}{\partial \hat{\beta}_0}\right)^2 \text{Var}(\hat{\beta}_0) + \left(\frac{\partial g}{\partial \hat{\beta}_1}\right)^2 \text{Var}(\hat{\beta}_1) + 2\left(\frac{\partial g}{\partial \hat{\beta}_0} \frac{\partial g}{\partial \hat{\beta}_1}\right) \text{Cov}(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1)$$

モデルが説明変数として用量を含んでいる場合、

$$g = -\frac{\hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1}$$

$$\frac{\partial g}{\partial \hat{\beta}_0} = -\frac{1}{\hat{\beta}_1}$$

$$\frac{\partial g}{\partial \hat{\beta}_1} = \frac{\hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1^2}$$

$$\frac{1}{\hat{\beta}_1^2} \text{Var}(\hat{\beta}_0) + \frac{\hat{\beta}_0^2}{\hat{\beta}_1^4} \text{Var}(\hat{\beta}_1) - 2\left(\frac{\hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1^3}\right) \text{Cov}(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1)$$

表 4.11 JMP による大森らの計算式での検証

解					
	SSE	DFE	MSE	RMSE	
	0.3611541673	93	0.0038834	0.0623168	
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
b1	6.4872495781		1.06308793	4.94514713	8.86357398
b2	5.0500156157		0.84704782	3.83744992	6.88185051
b3	-0.004189303		0.0232682	-0.0508634	0.03892414
b4	0.4322017629		0.04026776	0.36283222	0.50844264

## 5. 変数変換によるパラメータの推定（もう少し調査する）

非線形回帰分析が自由にできない時代には，Michaelis-Menten タイプの酵素反応のパラメータを推定するために，式を線形モデルに変形し回帰分析によって，おおよそのパラメータの推定値を得る方式が幾つか考案された。

非線形での推定値

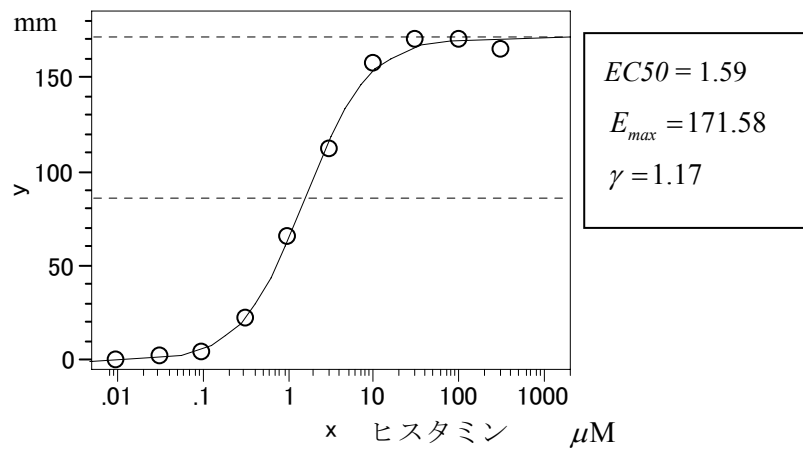


図 5.1 ヒスタミンによる平滑筋の収縮

### Lineweaver-Burke プロット，または，Double-reciprocal プロット

$$y_i = \frac{E_{max} x_i^\gamma}{x_i^\gamma + EC50^\gamma}$$

両辺の逆数を取り，右辺の分子分母を  $x_i^\gamma$  で除し，整理する。

$$\frac{1}{y_i} = \frac{x_i^\gamma + EC50^\gamma}{E_{max} x_i^\gamma} = \frac{1}{E_{max}} + \frac{EC50^\gamma}{E_{max}} \frac{1}{x_i^\gamma}$$

$x_i'^\gamma = 1/x_i^\gamma$  と置き直すと，単回帰分析となる。

$$y_i' = \frac{1}{E_{max}} + \frac{EC50^\gamma}{E_{max}} x_i'^\gamma = \beta_0 + \beta_1 x_i'^\gamma$$



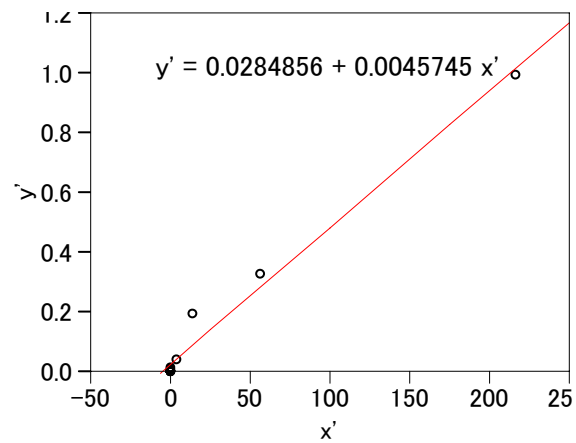


図 5.2 Lineweaver-Burke プロット

$$\hat{E}_{max} = \frac{1}{\hat{\beta}_0} = \frac{1}{0.02849} = 35.1$$

$$EC50^y = \frac{\hat{\beta}_1}{\hat{\beta}_0} = \frac{0.0045745}{0.0284856} = 0.161$$

実験誤差の影響を受けて、推定は失敗している。

### Hans (Woelf) プロット

$$\frac{x}{y} = \frac{EC50}{E_{max}} + \frac{1}{E_{max}} x$$

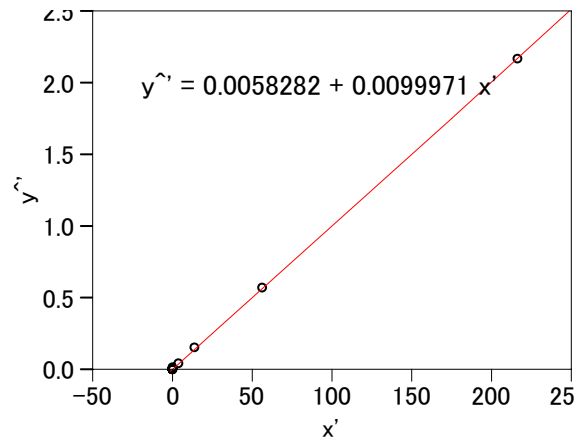


図 5.3 Hans (Woolf) プロット

$$\hat{E}_{max} = \frac{1}{\hat{\beta}_1} = \frac{1}{0.009997} = 100.0$$

$$EC50^y = \frac{\hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} = \frac{0.0058282}{0.0099971} = 0.583$$

これも失敗.

### Eadie-Hofstee プロット, または Scatchard プロット

$$y = E_{max} - EC50^y \frac{y}{x}$$

これは, Lineweaver-Burk の式

$$\frac{1}{y_i} = \frac{1}{E_{max}} + \frac{EC50^y}{E_{max}} \frac{1}{x_i^y}$$

この式の両辺に  $y \cdot E_{max}$  を掛けて整理

$$E_{max} = y + EC50^y \frac{y}{x_i^y}$$

$$\frac{y}{x_i^y} = \frac{E_{max}}{EC50^y} - \frac{1}{EC50^y} y$$

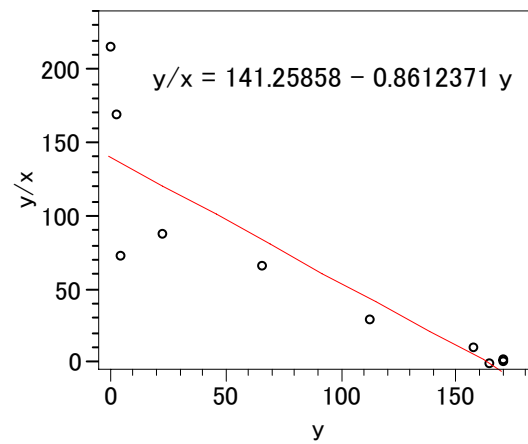


図 5.4 Eadie-Hofstee プロット, または Scatchard プロット

$$\frac{y}{x} = \frac{E_{max}}{EC50} - \frac{1}{EC50} y$$

$$EC50^y = -\frac{1}{\hat{\beta}_1} = -\frac{1}{-0.8612371} = 1.16$$

$$\hat{E}_{max} = -\frac{\hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1} = \frac{141.25858}{-0.8612371} = 164.0$$

このデータでは、まともな推定値となっているが、良いといえない代物である。

## 6. 各種の統計ソフトによるあてはめ

### 6.1. GraphPad Prism

表 6.1 Emax モデルのデータ

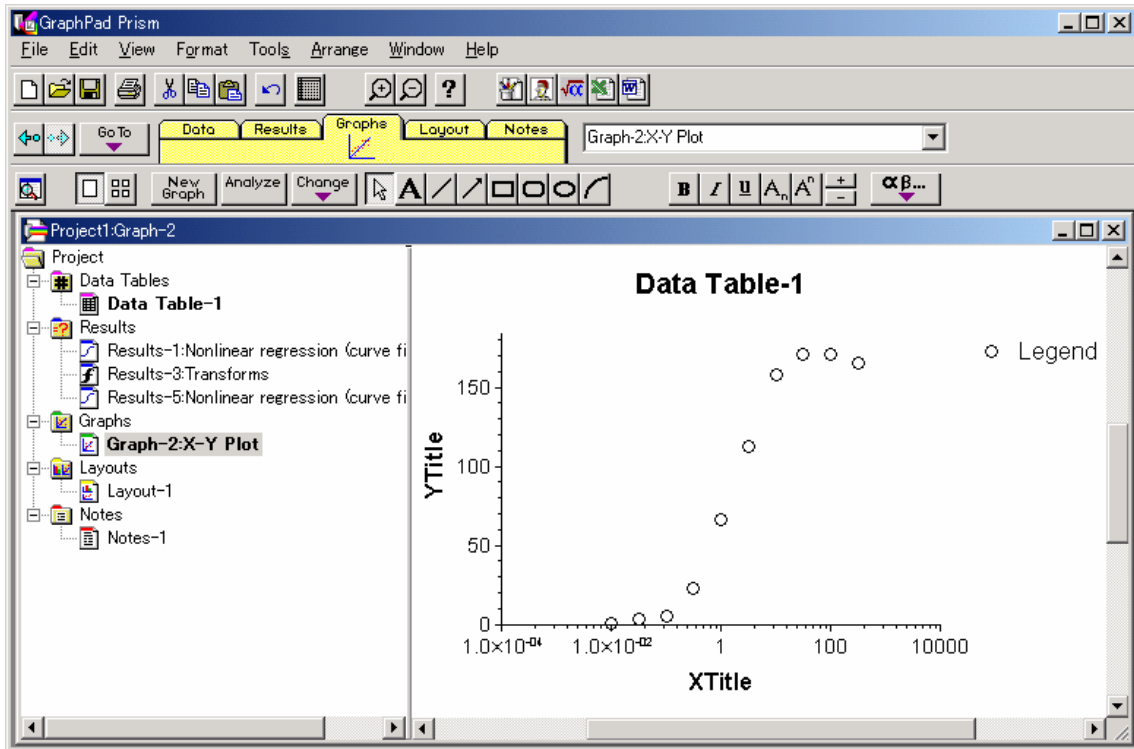
ヒスタミン 薬物濃度 ( $\mu$ M)	平滑筋 収縮量 (mm)
0.0100	1
0.0316	3
0.100	5
0.316	23
1.00	66
3.16	113
10.00	158
31.60	171
100.00	171
316.00	165

GraphPad Prism 画面 1 データシート

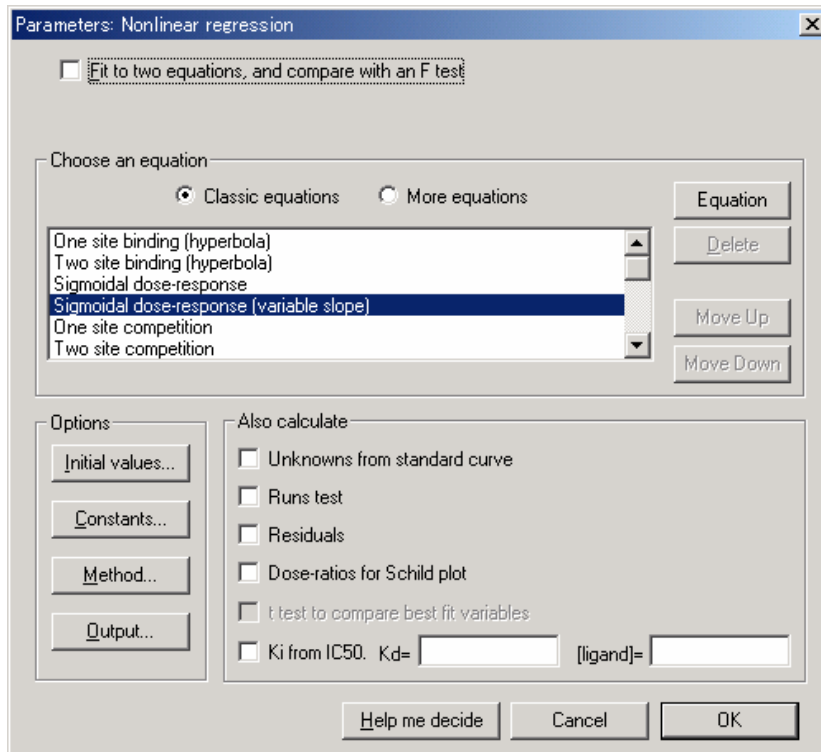
The screenshot shows the GraphPad Prism interface with the 'Data Table-1' window open. The table contains the following data:

	X Values	A			B	
	X Title	Data Set-A			Title	
	X	Y1	Y2	Y3	Y1	Y2
1	0.01000	1.0				
2	0.03160	3.0				
3	0.10000	5.0				
4	0.31600	23.0				
5	1.00000	66.0				
6	3.16000	113.0				
7	10.00000	158.0				
8	31.60000	171.0				
9	100.00000	171.0				
10	316.00000	165.0				
11						

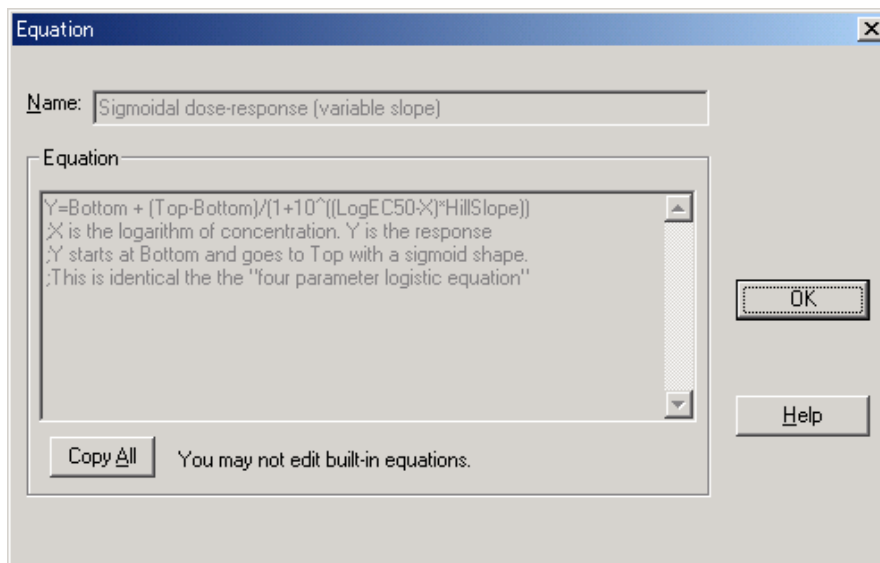
GraphPad Prism 画面 .2 データのプロット



GraphPad Prism 画面 3 手法の選択



GraphPad Prism 画面 4 モデル式



GraphPad Prism 画面 5 Emax モデルの推定結果

	X Labels	A	B
		Data Set-A	Title
	X	Y	Y
1	Equation 1		
2	Best-fit values		
3	BOTTOM (Constant)	0.0	
4	TOP	171.6	
5	LOGEC50	0.2007	
6	HILLSLOPE	1.168	
7	EC50	1.587	
8	Std. Error		
9	TOP	2.682	
10	LOGEC50	0.03097	
11	HILLSLOPE	0.08213	

## 6.2. WinNonlin

### WinNonlin 画面 1 データの入力

	x (umol)	log_x	y (mm)	D	E	F	G	H	I	J
1	0.01	-2	1							
2	0.032	-1.49	3							
3	0.1	-1	5							
4	0.316	-0.5	23							
5	1	0	66							
6	3.16	0.5	113							
7	10	1	158							
8	31.6	1.5	171							
9	100	2	171							
10	316	2.5	165							
11										
12										
13										
14										
15										
16										
17										
18										
19										
20										

### WinNonlin 画面 2 手法の選択

Select a Pharmacodynamic model.

$$E = \frac{E_{max} \cdot C^{\gamma}}{C^{\gamma} + EC50^{\gamma}}$$

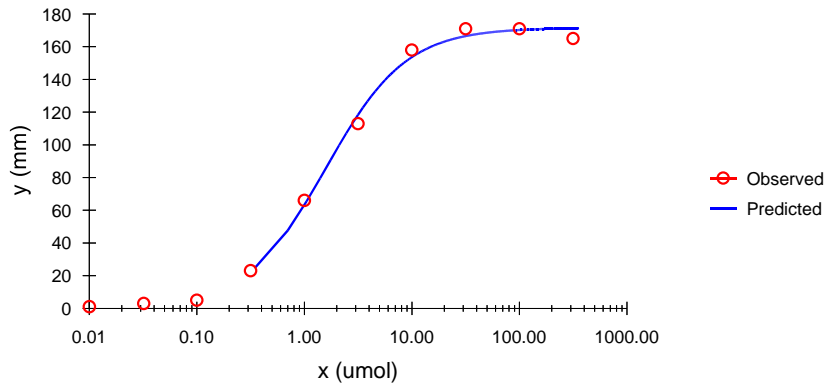
**Sample Graph**

Effect vs Concentration graph showing a sigmoidal curve.

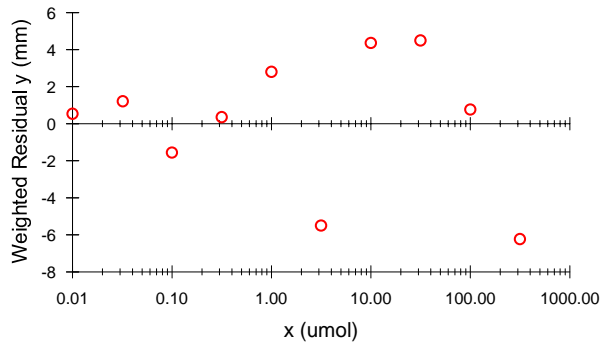
Model	Description	Effect at C=0	Effect at C=inf	Shape Parameter
103	Inhibitory Effect Emax Model	Emax	0	N/A
104	Inhibitory Effect Emax Model	Emax	E0	N/A
105	Sigmoid Emax Model	0	Emax	Gamma
106	Sigmoid Emax Model	E0	Emax	Gamma
107	Inhibitory Effect Sigmoid Emax	Emax	0	Gamma

Buttons: Help, < Back, Next >, Finish, Cancel

WinNonlin 画面 3 推定結果のグラフ，低用量の線が出ていないのはバグ？



WinNonlin 画面 4 残差プロット



WinNonlin 画面 6 パラメータの推定

Parameter	Units	Estimate	StdError	CV%	UnivarCI_Lower	UnivarCI_Upper
1 Emax	mm	171.586713	2.681523	1.56	165.245868	177.927557
2 EC50	umol	1.587832	0.113329	7.14	1.319850	1.855815
3 Gamma		1.166820	0.082061	7.03	0.972776	1.360864
4						
5						
6						



WinNonlin 画面 7 推定値の出力

	log_x	x(Obs) (umol)	y(Obs) (mm)	x (umol)	y (mm)	Predicted (mm)	Residual (mm)	Weight	SE_Yhat	Standard Res
1	-2	0.01	1	0.0100	1.0000	0.4628	0.5372	1.0000	0.1872	0.1293
2	-1.49	0.032	3	0.0320	3.0000	1.7841	1.2159	1.0000	0.5521	0.2950
3	-1	0.1	5	0.1000	5.0000	6.5531	-1.5531	1.0000	1.4085	-0.3970
4	-0.5	0.316	23	0.3160	23.0000	22.6435	0.3565	1.0000	2.7237	0.1135
5	0	1	66	1.0000	66.0000	63.1960	2.8040	1.0000	3.0422	0.9891
6	0.5	3.16	113	3.1600	113.0000	118.5008	-5.5008	1.0000	3.2237	-2.0942
7	1	10	158	10.0000	158.0000	153.6399	4.3601	1.0000	2.3999	1.2839
8	1.5	31.6	171	31.6000	171.0000	166.5066	4.4934	1.0000	2.0702	1.2459
9	2	100	171	100.0000	171.0000	170.2324	0.7676	1.0000	2.3999	0.2260
10	2.5	316	165	316.0000	165.0000	171.2309	-6.2309	1.0000	2.5847	-1.9128
11										

WinNonlin 画面 7 推定値の出力ログ+結果

Input File: Workbook - [V:\STAT\_PRC\anz2002semi...Emax.pwo]

Date: 01/13/2003

Time: 16:31:13

WINNONLIN NONLINEAR ESTIMATION PROGRAM (V03.1A)

Core Version 06Oct1999

Listing of input commands

```

MODEL 105
N VARIABLES 3
NPOINTS 1000
XNUMBER 1
YNUMBER 3
METHOD 2 'Gauss-Newton (Levenberg and Hartley)
ITERATIONS 50
MISSING 'Missing'
DATA 'WINNLIN.DAT'
BEGIN
    
```

Computation of initial estimates completed.

The following default parameter boundaries were generated.

Parameter	Lower Bound	Upper Bound
Emax	0.000	1710.
EC50	0.000	1580.
Gamma	0.000	10.00

ITERATION	WEIGHTED_SS	Emax	EC50	Gamma
0	72510.4	171.0	158.0	1.000

RANK = 3 CONDITION NO. = 21.26

1	36747.8	248.5	117.3	0.6373
		RANK = 3 CONDITION NO. = 25.52		
2	8852.99	304.6	92.34	0.2733
		RANK = 3 CONDITION NO. = 78.35		
3	7347.55	341.1	88.43	0.3230
		RANK = 3 CONDITION NO. = 54.35		
4	6957.80	316.7	56.07	0.3281
		RANK = 3 CONDITION NO. = 44.30		
5	6375.67	291.7	31.63	0.3544
		RANK = 3 CONDITION NO. = 32.16		
6	5577.40	264.1	16.78	0.3900
		RANK = 3 CONDITION NO. = 23.09		
7	4572.76	239.0	9.154	0.4425
		RANK = 3 CONDITION NO. = 16.19		
8	2360.10	196.5	2.886	0.5750
		RANK = 3 CONDITION NO. = 8.743		
9	957.734	172.9	1.490	0.7956
		RANK = 3 CONDITION NO. = 6.202		
10	152.938	168.8	1.494	1.154
		RANK = 3 CONDITION NO. = 6.600		
11	121.117	171.7	1.584	1.165
		RANK = 3 CONDITION NO. = 6.586		
12	121.073	171.6	1.585	1.165
		RANK = 3 CONDITION NO. = 6.587		
13	121.048	171.6	1.588	1.166
		RANK = 3 CONDITION NO. = 6.590		

CONVERGENCE ACHIEVED

RELATIVE CHANGE IN WEIGHTED SUM OF SQUARES LESS THAN 0.000100

13	121.042	171.6	1.588	1.167
----	---------	-------	-------	-------

PARAMETER	UNITS		ESTIMATE	STANDARD_ERROR	CV%	UNIVAR_CI_LOW	UNIVAR_CI_UPP	
PLANAR_CI_LOW	PLANAR_CI_UPP							
Emax	mm	171.586713	2.681523	1.56	165.245868	177.927557	161.625221	181.548204
EC50	umol	1.587832	0.113329	7.14	1.319850	1.855815	1.166831	2.008834
Gamma	~	1.166820	0.082061	7.03	0.972776	1.360864	0.861976	1.471664

\*\*\* VARIANCE - COVARIANCE MATRIX OF THE ESTIMATES \*\*\*

PARAMETER	Emax	EC50	Gamma
Emax	7.19056		
EC50	0.170980	0.128435E-01	
Gamma	-0.111835	-0.266236E-02	0.673395E-02

\*\*\* CORRELATION MATRIX OF THE ESTIMATES \*\*\*

PARAMETER	Emax	EC50	Gamma
Emax	1.00000		
EC50	0.562629	1.00000	
Gamma	-0.508229	-0.286280	1.00000

\*\*\* EIGENVALUES OF (Var - Cov) MATRIX \*\*\*

NUMBER	EIGENVALUE
1	3463.
2	1971.
3	2.403

Condition\_number= 37.96

\*\*\* SUMMARY OF NONLINEAR ESTIMATION \*\*\*

FUNCTION 1						
X	OBSERVED Y	PREDICTED Y	RESIDUAL	WEIGHT	SE-PRED	STANDARDIZED RESIDUAL
0.1000E-01	1.000	0.4628	0.5372	1.000	0.1872	0.1293
0.3200E-01	3.000	1.784	1.216	1.000	0.5521	0.2950
0.1000	5.000	6.553	-1.553	1.000	1.409	-0.3970
0.3160	23.00	22.64	0.3565	1.000	2.724	0.1135
1.000	66.00	63.20	2.804	1.000	3.042	0.9891
3.160	113.0	118.5	-5.501	1.000	3.224	-2.094
10.00	158.0	153.6	4.360	1.000	2.400	1.284
31.60	171.0	166.5	4.493	1.000	2.070	1.246
100.0	171.0	170.2	0.7676	1.000	2.400	0.2260
316.0	165.0	171.2	-6.231	1.000	2.585	-1.913

CORRECTED SUM OF SQUARED OBSERVATIONS = 51622.4  
 WEIGHTED CORRECTED SUM OF SQUARED OBSERVATIONS = 51622.4  
 SUM OF SQUARED RESIDUALS = 121.042  
 SUM OF WEIGHTED SQUARED RESIDUALS = 121.042  
 S = 4.15833 WITH 7 DEGREES OF FREEDOM  
 CORRELATION (OBSERVED,PREDICTED) = 0.9988

AIC criteria = 53.96136  
 SC criteria = 54.86912

AUC (0 to last time) computed by trapezoidal rule = 52691.5

NORMAL ENDING

### 6.3. SAS での実行結果

```

Title1 'Emax 2003-1-18 Y.Takahashi ' ;

data d01 ;
  input x ln_x y ;
  datalines ;
  0.01 -2.00 1
  0.0316 -1.50 3
  0.1 -1.00 5
  0.316 -0.50 23
  1 0.00 66
  3.16 0.50 113
  10 1.00 158
  31.6 1.50 171
  100 2.00 171
  316 2.50 165
  ;

Title2 '<<< Emax, gamma >>>' ;
proc nlin data=d01 list method=gauss ;
  parms Emax=170 gamma=1 EC50= 5 ;
  model y = Emax*x**gamma / (x**gamma + EC50**gamma) ;
run ;

Title2 '<<< logistic, EC50 >>>' ;
proc nlin data=d01 list method=gauss;
  parms Emax=170 gamma=1 EC50= 5 ;
  model y = Emax / (1 + exp(gamma*(log(EC50) - log(x)))) ;
run ;

Title2 '<<< logistic, EC10 >>>' ;
proc nlin data=d01 list method=gauss;
  parms Emax=170 gamma=1 EC10= 1 ;
  model y = Emax / (1 + exp(gamma*(log(EC10) - log(x)) + 2.197 )) ;
run ;

Title2 '<<< logistic, EC90 >>>' ;
proc nlin data=d01 list method=gauss;
  parms Emax=170 gamma=1 EC90= 10 ;
  model y = Emax / (1 + exp(gamma*(log(EC90) - log(x)) - 2.197 )) ;
run ;

```

<<< Emax, gamma >>>

Parameter	The NLIN Procedure			
	Estimate	Std Error	Approximate 95% Confidence Limits	
Emax	171.6	2.6814	165.2	177.9
gamma	1.1678	0.0821	0.9735	1.3620
EC50	1.5874	0.1132	1.3197	1.8550

<<< logistic, EC50 >>>

Parameter	Estimate	Approx		Approximate 95% Confidence Limits	
		Std Error			
E <sub>max</sub>	171.6	2.6814	165.2	177.9	
gamma	1.1678	0.0821	0.9735	1.3620	
EC50	1.5874	0.1132	1.3197	1.8550	

<<< logistic, EC10 >>>

Parameter	Estimate	Approx		Approximate 95% Confidence Limits	
		Std Error			
E <sub>max</sub>	171.6	2.6814	165.2	177.9	
gamma	1.1678	0.0821	0.9735	1.3620	
EC10	0.2419	0.0317	0.1669	0.3169	

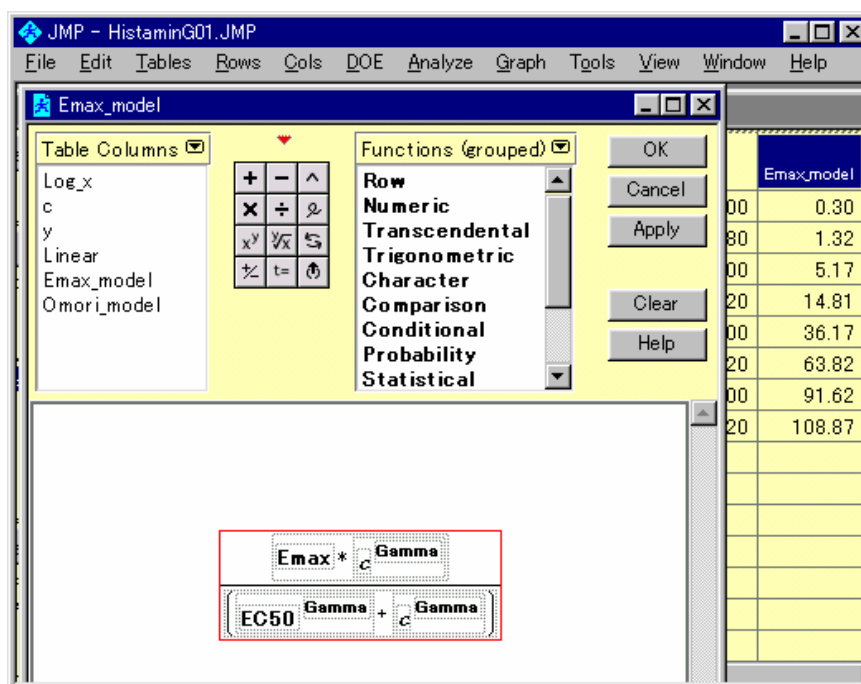
<<< logistic, EC90 >>>

Parameter	Estimate	Approx		Approximate 95% Confidence Limits	
		Std Error			
E <sub>max</sub>	171.6	2.6814	165.2	177.9	
gamma	1.1678	0.0821	0.9735	1.3620	
EC90	10.4171	1.7432	6.2951	14.5390	

## 6.4. JMP による非線形モデルの練習

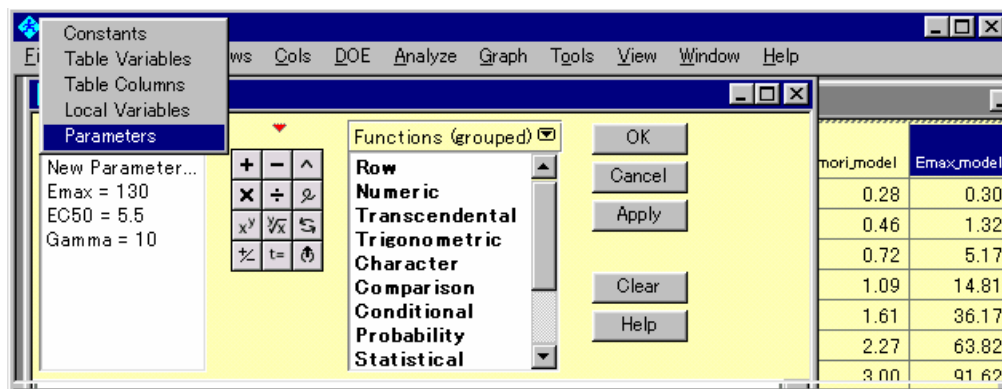
シグモイド Emaxモデルは、図 6.1 に示すモデルで定義されている。練習用の JMP ファイルには、予め定義式が与えられている。推定したいパラメータとして、50%反応量：EC50、最大反応量：Emax、曲線の傾斜：Gamma の初期値は、図 6.2 に示すように予め与えられている。

図 6.1 シグモイド Eamx モデル式



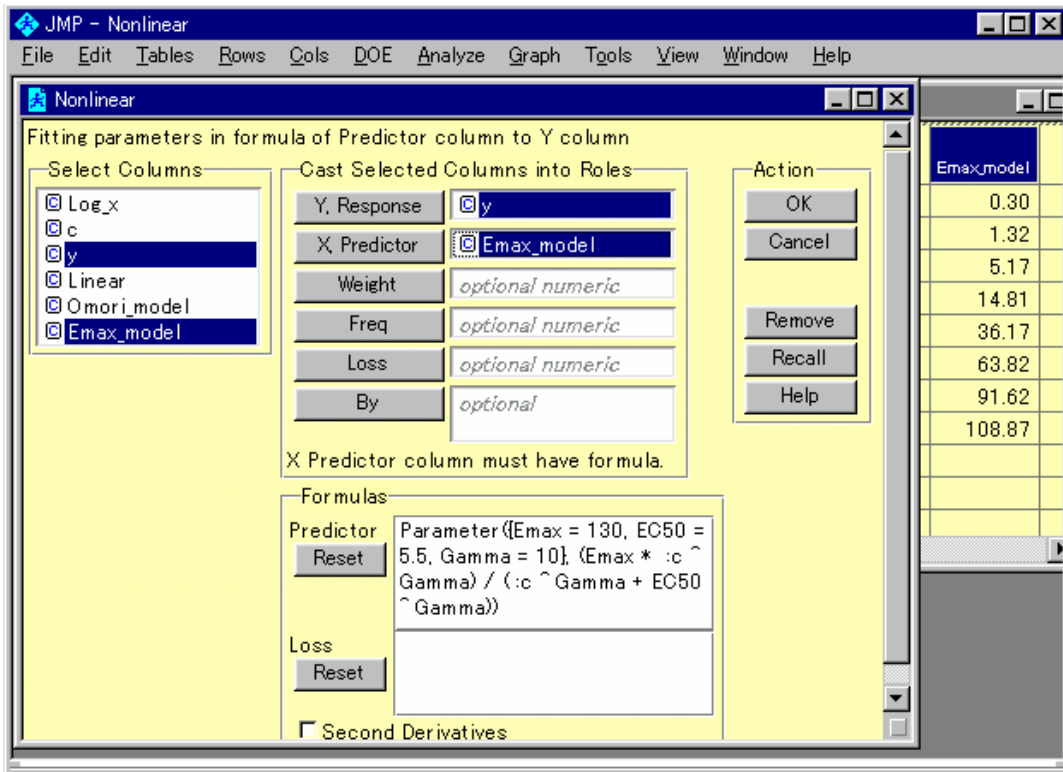
操作手順：変数を選択して、右クリックし、「Formula」を選択する。

図 6.2 初期値



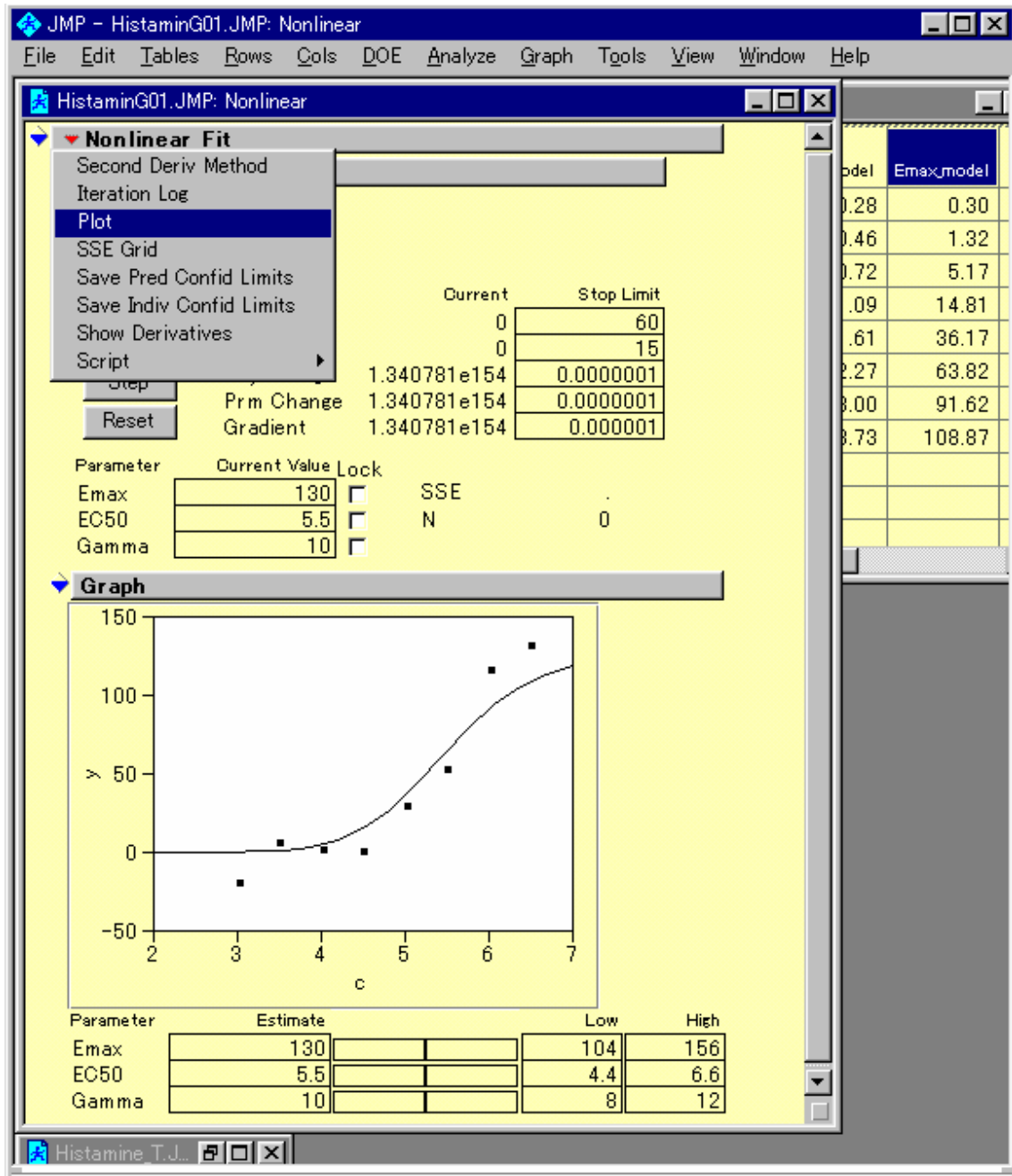
操作手順：「TableColumns」をクリックして Parameter を選択する。

図 6.3 変数の指定



- 操作手順
- 1) JMPのメニュー「Analyze」の選択
  - 2) プルダウン・メニュー「Nonlinear Fit」の選択
  - 3) 変数 y を **Y, Response** に、変数 Emax\_model を **Y, Predictor** に指定し、**OK** を押す。

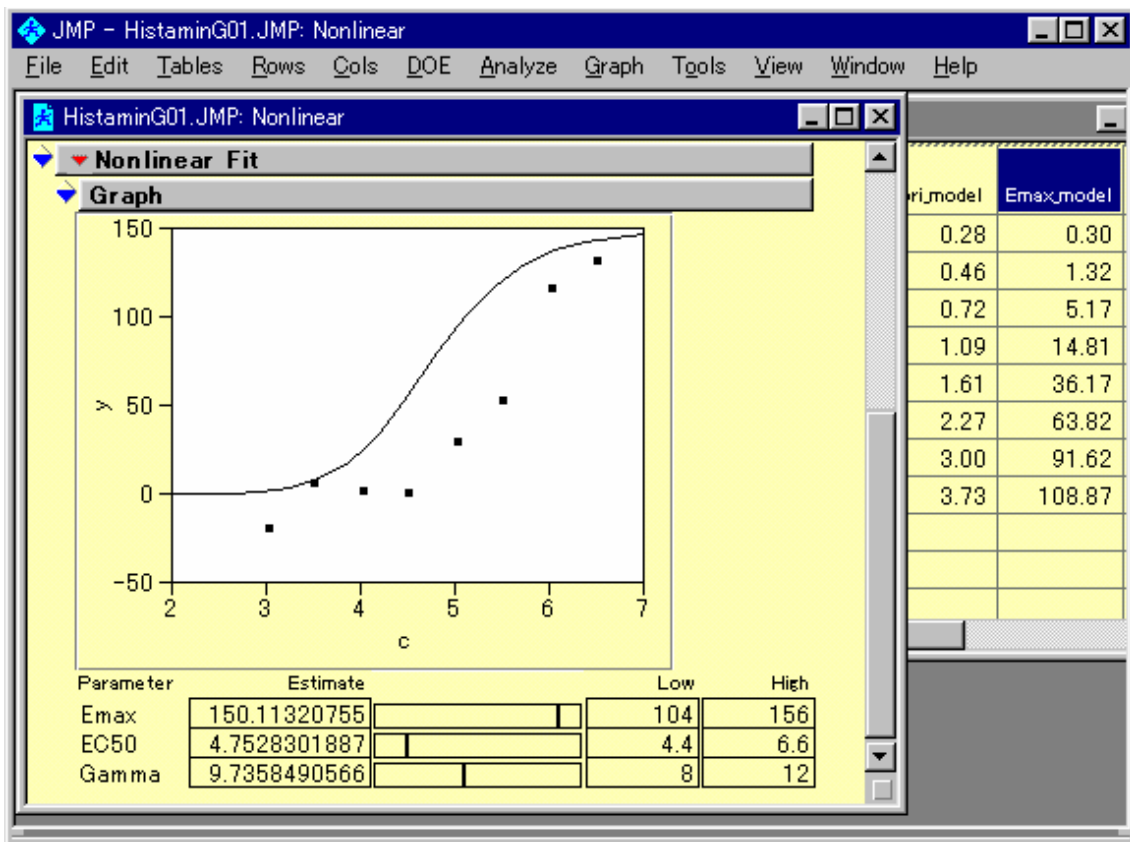
図 6.4 初期値によるシグモイド曲線



- 4) **Nonlinear Fit...** をクリックし、プルダウン・メニューより「Plot」を選択する。

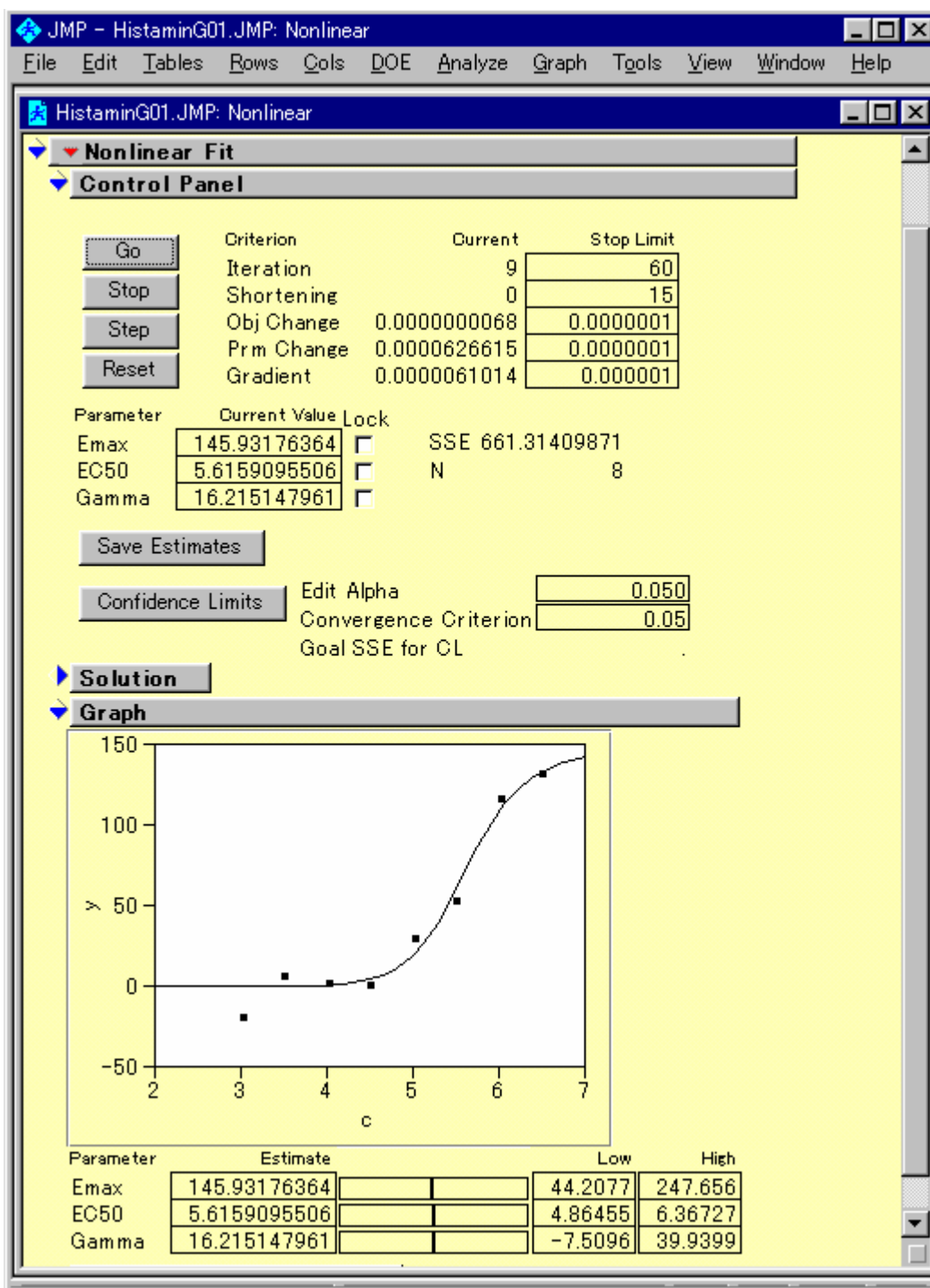


図 6.5 スクロールバーの移動による曲線の変化



- 操作手順
- 1) 変数 Emax を変化させると、曲線高が上下する。
  - 2) 変数 EC50 を変化させると、曲線が左右に動く。
  - 3) 変数 Gamma を変化させると、曲線の立ち上がりが変化する。

図 6.6 逐次計算による逐次



- 操作手順 1) **Step** を何回も押しながら、SSE が減少する過程と図の当てはまり状況を確認してみよう。
- 2) くたびれたら、**Go** を押して御覧なさい。

## 7. 非線形回帰の計算方式

### 7.1. ガウス・ニュートン法による逐次計算, ドレーパー・スミスの事例

```
// The Nonlinear regression model Dreper & Smith    2003-1-21    Y.Takahashi

x=[8, 8, 10, 10, 10, 10, 12, 12, 12, 12, 14, 14, 14, 16, 16, 16, 18, 18, 20, 20, 20, 22, 22, 22, 24, 24, 2
4, 26, 26, 26, 28, 28, 30, 30, 30, 32, 32, 34, 36, 36, 38, 38, 40, 42] ;

y=[0.49, 0.49, 0.48, 0.47, 0.48, 0.47, 0.46, 0.46, 0.45, 0.43, 0.45, 0.43, 0.43, 0.44, 0.43, 0.
43, 0.46, 0.45, 0.42, 0.42, 0.43, 0.41, 0.41, 0.4, 0.42, 0.4, 0.4, 0.41, 0.4, 0.41, 0.41, 0.4, 0.
4, 0.4, 0.38, 0.41, 0.4, 0.4, 0.41, 0.38, 0.4, 0.4, 0.39, 0.39] ;

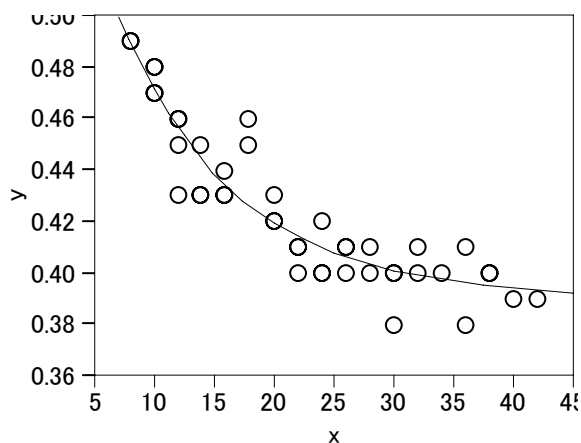
A = x || y ;
b = [0.30 , 0.02 ] ;    show(round(b, 4)) ;

for( i=1, i<=4, i++,
    alpha=b[1] ;
    beta=b[2] ;

    fx      = alpha+(0.49-alpha) :* exp(-beta :* (x-8)) ;
    d_alpha = 1-exp(-beta :* (x-8)) ;
    d_beta  = -(0.49-alpha) :* (x-8) :* exp(-beta :* (x-8)) ;
    z = d_alpha || d_beta ;

    delta=inverse(z`*z)*z`*(y-fx) ;
    b=b+delta ; show(round(b, 4)) ;
);
```

```
Round(b, 4) : [0.3, 0.02]
Round(b, 4) : [0.8416, 0.1007]
Round(b, 4) : [0.3901, 0.1004]
Round(b, 4) : [0.3901, 0.1016]
Round(b, 4) : [0.3901, 0.1016]
           alpha  beta
```



JMPの非線形モデルでの結果

**解**

	SSE	DFE	MSE	RMSE	
	0.0050016796	42	0.0001191	0.0109127	
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		0.3901398407	0.00504641	0.37794914	0.39916741
beta		0.1016321795	0.01335831	0.07679523	0.13207624

## 7.2. Emax モデルのガウス・ニュートン法による逐次計算

パラメータによる偏微分：SAS の proc NLIN 機能を使うと解が得られる。

$$\text{Emax モデル} \quad y = \frac{E_{max} \cdot x^\gamma}{x^\gamma + EC50^\gamma}$$

Listing of Compiled Program Code  
Statement as Parsed

Stmnt	Line:Col	Statement as Parsed
1	228:5	MODEL. y = (Emax * x ** gamma) / (x ** gamma + EC50 ** gamma);
1	228:5	@MODEL. y/@Emax = x ** gamma / (x ** gamma + EC50 ** gamma);
		$\frac{\partial y}{\partial E_{max}} = \frac{x^\gamma}{x^\gamma + EC50^\gamma}$
1	228:5	@MODEL. y/@gamma = (Emax * LOG(x) * x ** gamma - (LOG(x) * x ** gamma + LOG(EC50) * EC50 ** gamma) * MODEL. y) / (x ** gamma + EC50 ** gamma);
		$\frac{\partial y}{\partial \gamma} = \frac{E_{max} \cdot \ln(x) \cdot x^\gamma - (\ln(x) \cdot x^\gamma + \ln(EC50) \cdot EC50^\gamma \cdot y)}{x^\gamma + EC50^\gamma}$
1	228:5	@MODEL. y/@EC50 = (0 - gamma * EC50 ** (gamma - 1) * MODEL. y) / (x ** gamma + EC50 ** gamma);
		$\frac{\partial y}{\partial EC50} = \frac{-\gamma \cdot EC50^{(\gamma-1)} \cdot y}{x^\gamma + EC50^\gamma}$

ロジスティック・モデル

$$y_i = \frac{E_{max}}{1 + e^{\gamma(\ln(EC50) - \ln(x_i))}}$$

Listing of Compiled Program Code

Stmt	Line:Col	Statement as Parsed
1	235:5	MODEL. y = Emax / (1 + EXP(gamma * (LOG(EC50) - LOG(x))));
1	235:5	@MODEL. y/@Emax = 1 / (1 + EXP(gamma * (LOG(EC50) - LOG(x))));
$\frac{\partial y}{\partial E_{max}} = \frac{1}{1 + e^{\gamma(\ln(EC50) - \ln(x_i))}}$		
1	235:5	@MODEL. y/@gamma = (0 - (LOG(EC50) - LOG(x)) * EXP(gamma * (LOG(EC50) - LOG(x))) * MODEL. y) / (1 + EXP(gamma * (LOG(EC50) - LOG(x)))));
$\frac{\partial y}{\partial \gamma} = \frac{(-\ln(EC50) - \ln(x_i)) \cdot e^{\gamma(\ln(EC50) - \ln(x_i))} \cdot y}{1 + e^{\gamma(\ln(EC50) - \ln(x_i))}}$		
1	235:5	@MODEL. y/@EC50 = (0 - gamma * 1 / EC50 * EXP(gamma * (LOG(EC50) - LOG(x))) * MODEL. y) / (1 + EXP(gamma * (LOG(EC50) - LOG(x)))));

$$\frac{\partial y}{\partial EC50} = \frac{-\frac{\gamma}{EC50} \cdot e^{\gamma(\ln(EC50) - \ln(x_i))} \cdot y}{1 + e^{\gamma(\ln(EC50) - \ln(x_i))}}$$

JMP のスクリプト言語によるガウス・ニュートン法による Emax モデル

ロジスティック式を使用

```
// The Nonlinear regression model Emax    2003-1-30  Y.Takahashi

x=[0.01, 0.0316, 0.1, 0.316, 1, 3.16, 10, 31.6, 100, 316] ;
y=[1, 3, 5, 23, 66, 113, 158, 171, 171, 165] ;

A = x || y ;
b =[1.6 , 160, 1.3] ; show(round(b,4)) ;

for( i=1, i<=7, i++,
  EC50=b[1] ;
  Emax=b[2] ;
  gamma=b[3];

  fx      = Emax / (1 + exp(gamma  :* (log(EC50) - log(x)) ));

  d_EC50 = ( - gamma / EC50 :* exp(gamma :* (log(EC50) - log(x))) :* fx ) :*
            ( 1 / (1 + exp(gamma :* (log(EC50) - log(x)) )) ) );

  d_Emax = 1 / (1 + exp(gamma  :* (log(EC50) - log(x)) ));

  d_gamma = ( - (log(EC50) - log(x)) :* exp(gamma :* (log(EC50) - log(x))) :* fx ) :*
            ( 1 / (1 + exp(gamma :* (log(EC50) - log(x)) )) ) );

  z = d_EC50 || d_Emax || d_gamma ;

  delta = inverse(z`*z)*z`*(y-fx) ;
  b      = b + (delta) ; show(round(b,4)) ;
);
```

実行結果

```
Round(b, 4):[1.6,    160,    1.3]
Round(b, 4):[1.5972, 171.7816, 1.1284]
Round(b, 4):[1.5822, 171.446,  1.1721]
Round(b, 4):[1.5878, 171.5932, 1.167]
Round(b, 4):[1.5873, 171.5778, 1.1679]
Round(b, 4):[1.5874, 171.5803, 1.1677]
Round(b, 4):[1.5874, 171.5799, 1.1678]
Round(b, 4):[1.5874, 171.58,   1.1678]
```

次の結果が、推定されている。他の統計ソフトと同じ結果である。

EC50 = 1.5874

Emax = 171.58

gamma= 1.1678

## 8. 効力比

### 8.1. 反応が直線的な場合

標準の化合物に対して、新しい化合物の効力を比較するために、標準の化合物の用量反応関係から、ある反応となる用量を逆推定し、同様に新しい化合物でも同じ反応となる用量を逆推定し、その比あるいは差から、化合物間の効力を比較をする。用量反応関係が直線的で、それぞれの化合物の傾きが同じとみなすことができれば、さらに一般的に、新しい化合物は、標準の化合物に対して、 $m$  の効力効力があると、実験結果を要約できる。

この問題は、生物検定法で平行性検定といわれて定式化されている。この方法は、共分散分析の応用問題として簡単に解くことができるのであるが、効力比と、その 95% 信頼区間を出すためには、デルタ法、あるいは、フィラーの式を用いて計算する必要がある。多くの統計ソフトは、この問題をサポートしていない。

さて、3.4節で、回帰直線のあてはめを非線形回帰モデルで行った結果を示したが、この方法に、ダミー変数を用いることにより共分散分析に拡張し、逆推定も同時に行うことができる。効力比とその 95% 信頼区間も、ダミー変数の与え方により標準的な非線形回帰モデルの統計ソフトを用いて得ることができる。

第 1 回目の高橋セミナーで取り上げた例を再度用いる。なお、この時は、共分散分析でのアプローチを取った。

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。

(Hubert ら (1988) のラットに対する降圧薬のデータ)。

表 8.1 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					

表 8.2 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)

結果を 表 8.2 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。

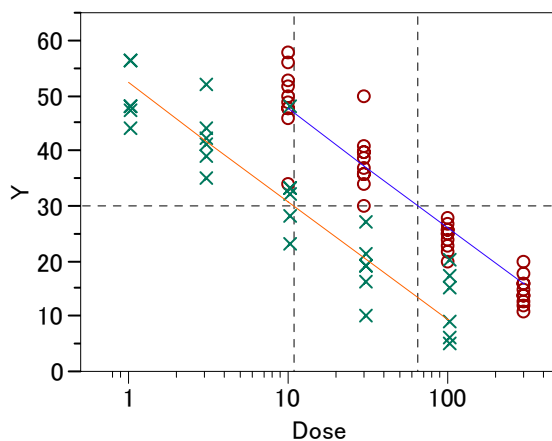


図 8.1 直線的な用量反応

○ : 標準の化合物 S, × : 新しい化合物 T



表 8.3 非線形回帰モデルによる 30mmHg での逆推定

解					
	SSE	DFE	MSE	RMSE	
	1946.1877765	67	29.047579	5.3895806	
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	
b1	-21.55162599	1.03188445	-23.611276	-19.491976	
X_s	1.8220810077	0.03974245	1.74315249	1.90254559	
X_t	1.0418887343	0.04572308	0.95067424	1.1340437	

表 8.4 非線形回帰モデルによる 30mmHg での差の逆推定

解					
	SSE	DFE	MSE	RMSE	
	1946.1877765	67	29.047579	5.3895806	
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	
b1	-21.55162599	1.03188445	-23.611276	-19.491976	
X_s	1.8220810077	0.03974245	1.74315249	1.90254559	
Xs_Xt	-0.780192273	0.06041951	-0.9016366	-0.6593412	

効力比 =  $10^{0.78019} = 6.02$

95%ci = (4.56, 7.97)

## 8.2. 反応がシグモイド曲線の場合, (未)

シグモイド曲線の拡張, 共通の傾き

これを書き直す.

モルモット摘出回腸のヒスタミン誘発収縮反応に及ぼす G 薬の実験について取り上げる。実験は、表 1 に示すように 4×4 のラテン方格で行われた。実験データの解析は、ランダム化の手順を正確に把握することから始まる。これは、実験データの誤差構造がランダム化の手順により明らかに異なり、それを正確に反映しないと誤った統計的な結論を導いてしまうからである。

表 8.5 実験デザイン（ラテン方格）

実験日	モルモット 番号	標本			
		胃側	<----->		肛門側
		部位 1	部位 2	部位 3	部位 4
1	1	A: 水	B: 0.01 $\mu$ M	C: 0.1 $\mu$ M	D: 1 $\mu$ M
1	2	B: 0.01 $\mu$ M	C: 0.1 $\mu$ M	D: 1 $\mu$ M	A: 水
2	3	C: 0.1 $\mu$ M	D: 1 $\mu$ M	A: 水	B: 0.01 $\mu$ M
2	4	D: 1 $\mu$ M	A: 水	B: 0.01 $\mu$ M	C: 0.1 $\mu$ M

## 実験手順

- 手順 1) 1 匹目のモルモットから回腸を摘出し、一本の長さが約 20mm となるように 4 本の標本を作製する。標本は、胃側から肛門側へ 1~4 の番号を付与する。
- 手順 2) 4 連のマグヌス装置に標本を 1 ずつ懸垂し、それぞれヒスタミン濃度が 300  $\mu$  M となるまで累積的に添加し、懸垂した回腸の最大収縮高を添加前値とする。
- 手順 3) 回腸中のヒスタミンを洗浄する。
- 手順 4) 4 連のマグヌス装置に、それぞれ蒸留水、D 薬の 0.01、0.1、1.0  $\mu$  M の順にする。
- 手順 5) マグヌス装置にヒスタミン濃度が 0.01  $\mu$  M となるように添加し、回腸の収縮が止まったら、次にヒスタミン濃度が 0.03  $\mu$  M となるように添加する。この累積的添加をヒスタミン濃度が 300  $\mu$  M となるまで繰り返す。この間の回腸の収縮高をキモグラフ (kymograph、筋肉の運動や心臓の拍動などを記録する装置) に連続的に記録する。
- 手順 6) 2 匹目のモルモットについて手順 1 からの操作を繰り返す。ただし、注入順は表 1 に示した手順 4 で、G 薬の 3 用量を先に行い、蒸留水は最後とする。

## 統計解析の考え方

実験に用いた 4 匹のモルモットから摘出された回腸には、それぞれのモルモット固有の性質を持っていて、薬物に対する反応に違いがあると考えられる。摘出した回腸の 4 つの標本間にも反応の違いがあるかも知れない。この違いの一部は、摘出部位による差で説明できるかもしれない。実験は 2 日間に渡って実施されていて、実施日間に何らかの違いがあるかもしれない。しかし、異なるモルモットの標本が使用されているので、実施日の違いは、モルモットに交絡して分離できない。

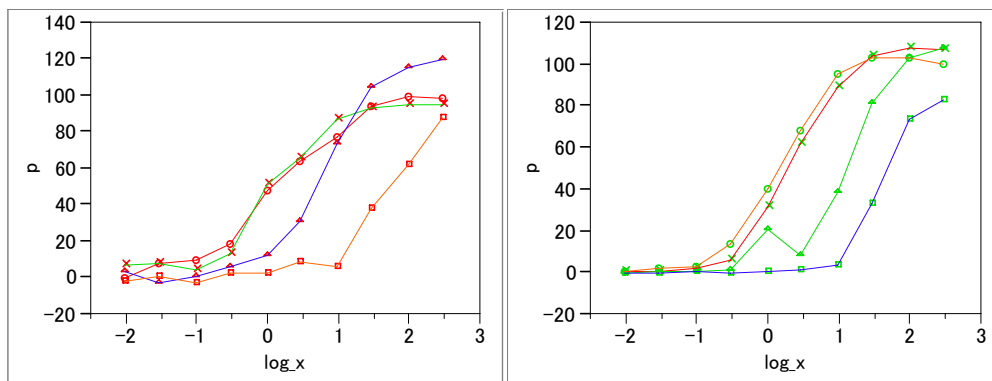
ヒスタミンは 0.01  $\mu$  M から逐次的に 3.3 倍の濃度となるように、300  $\mu$  M まで 10 段階の回腸の収縮高が得られる。ただし、実験に先立って、ヒスタミンの 3.3 倍の逐次増量は、ランダムな単回投与の結果が一致し、増量前の影響の持ち越し効果がないことが確かめられて

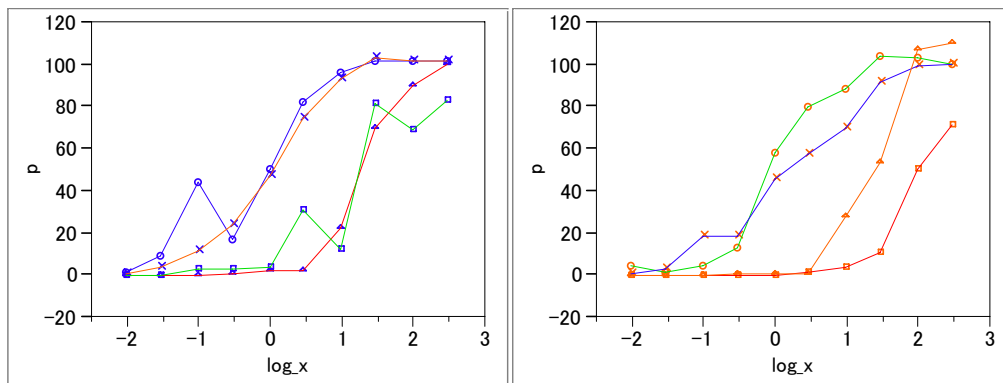
いるとする。

表 8.6 モルモット摘出回腸のヒスタミン誘発収縮反応に及ぼす G 薬の作用

モルモット番号	回腸部位	処置	最大収縮高	ヒスタミンによる収縮(収縮高(mm)) 処置後									
				300 $\mu$ M	0.01 $\mu$ M	0.03 $\mu$ M	0.1 $\mu$ M	0.3 $\mu$ M	1 $\mu$ M	3 $\mu$ M	10 $\mu$ M	30 $\mu$ M	100 $\mu$ M
1	1	蒸留水	84	0	7	8	16	40	54	65	79	84	83
	2	D-0.01 $\mu$ M	148	10	12	7	20	76	97	129	138	141	141
	3	D-0.1 $\mu$ M	133	5	-3	1	8	16	41	98	139	154	160
	4	D-1 $\mu$ M	162	-3	1	-5	4	4	15	10	62	101	143
2	1	D-0.01 $\mu$ M	158	1	1	3	9	50	98	141	165	170	169
	2	D-0.1 $\mu$ M	118	0	1	1	2	25	10	46	96	122	127
	3	D-1 $\mu$ M	163	0	0	1	0	1	2	6	54	120	136
	4	蒸留水	165	1	3	5	23	66	113	158	171	171	165
3	1	D-0.1 $\mu$ M	141	0	0	0	1	3	3	32	99	127	141
	2	D-1 $\mu$ M	107	0	0	3	3	4	33	13	87	74	89
	3	蒸留水	119	2	11	53	20	60	98	115	121	121	121
	4	D-0.01 $\mu$ M	113	1	4	13	27	53	84	105	117	115	115
4	1	D-1 $\mu$ M	85	0	0	0	0	0	1	3	9	43	61
	2	蒸留水	69	3	1	3	9	40	55	61	72	71	69
	3	D-0.01 $\mu$ M	114	1	3	21	21	52	65	80	104	113	114
	4	D-0.1 $\mu$ M	111	0	0	0	1	1	1	31	59	119	122

log<sub>x</sub>とpの二変量の関係





この実験データは、実験計画的にいえば1次単位がラテン法格である分割実験といえる。

1次単位：ラテン法格で割り付け

モルモット：変量効果

回腸部位：固定効果

D薬の濃度：固定効果

2次単位：回腸片ごとにランダムに実験されたと見なす

ヒスタミンの濃度：固定効果

この実験で知りたいことは、ヒスタミンを完全活性薬 (agonist) としたときに、D薬の存在下での、ヒスタミンによる回腸の収縮の用量反応が、

- 1) 平行移動
- 2) 傾きが平坦化

のどちらであるかを知りたいのである。そして、平行移動ならば、D薬が存在しないときのヒスタミンの用量反応曲線を基準にして、常用対数目盛りで0.3010右にシフトさせるD薬のモル濃度 ( $pA_2$ ) を推定したいとののである。

データを見たときに、ヒスタミンの濃度ごとに、回腸の収縮高を蒸留水とD薬の濃度間で統計的に比較したくなるが、実験の目的には合致しない見方である。



