

2値および計量値のシグモイド曲線

- 曲線の推定および逆推定と 95%信頼区間 -

杉山 公仁

馬場 淳

天竺桂 裕一郎

高橋 行雄

昭和薬品化工株式会社

明治製菓株式会社

興和株式会社

中外製薬株式会社

開発研究部

薬事部

医薬事業部

臨床解析部



発表内容

- 2値データのシグモイド曲線
 - プロビット法(プロビット変換)
 - ロジスティック回帰(ロジット変換)
 - D50、D10、D90の逆推定
 - フィラーの定理を用いた反応用量の信頼区間
- 計量値のシグモイド曲線
 - シグモイド曲線のモデル式(E_{\max} モデル)
 - D10、D90の推定
 - 酵素反応におけるシグモイド曲線



$D50$ (50% 反応用量)とは

- いくつかの用量を投与し、測定される反応の大きさを調べる試験において、物質の特徴を表わす指標である。
- 反応の大きさが50%となる投与用量のことで、反応が有効率である場合を ED_{50} という。
- 同一の反応系において、物質に固有の値であり、複数の物質の示す反応の強さを比較することができる。
- 50% 有効量(ED_{50})以外に、50% 致死量(LD_{50})、50% 有効反応濃度(EC_{50})などがあり、以後まとめて“ $D50$ ”と呼ぶことにする。

D50推定の考え方

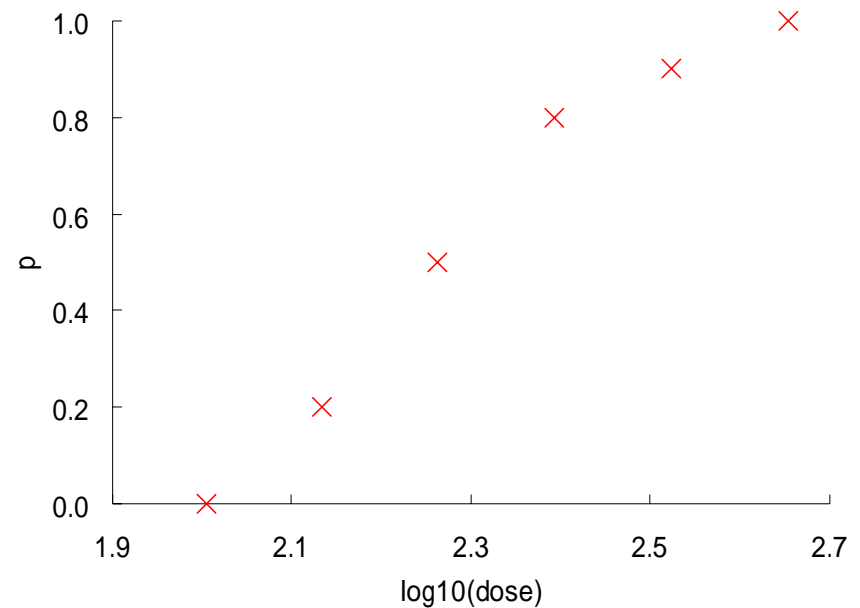
ー 2値データ ー

- データ: $\{\log_{10}(Dose_i), p_i\} \quad i=1, 2, \dots$
- 用量反応曲線のモデル
 - プロビット関数: $\text{probit}(p) = \beta_0 + \beta_1 \cdot \log_{10}(Dose)$
 - ロジスティック関数: $\text{logit}(p) = \beta_0 + \beta_1 \cdot \log_{10}(Dose)$
- パラメータ (β_0, β_1) の推定
- パラメータから任意の p を示す $Dose$ の逆推定

2 値データ 使用するデータ例

用量(mg)	個体数	死亡	死亡率
101	10	0	0.0
136	10	2	0.2
183	10	5	0.5
247	10	8	0.8
333	10	9	0.9
450	10	10	1.0

- 毒性・薬効データの統計解析
(吉村 功 編著 サイエンティスト社)
 - P230 表5-12





用量反応曲線の当てはめ(1)

プロビット法によるプロビット曲線の当てはめ

- 次の分布関数で表せるシグモイド曲線

$$F(x) = p = \int_{-\infty}^x \frac{1}{\sqrt{2\pi} \cdot \sigma} \exp\left(-\frac{1}{2}\left(\frac{t - \mu}{\sigma}\right)^2\right) dt$$

- 次のプロビット関数を使う。

$$\begin{aligned} \text{probit}(p) &= \left\{ p = \int_{-\infty}^y \left\{ \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{x^2}{2}\right) \right\} dx \text{となる} y \text{の値} \right\} \\ &= \beta_0 + \beta_1 \cdot \log_{10} x \end{aligned}$$

標準正規分布を用いて p を \sim の数値へ変換

用量反応曲線の当てはめ(2)

ロジスティック回帰によるロジスティック曲線の当てはめ

- 次の分布関数で表せるシグモイド曲線

$$F(\log_{10} x) = p = \frac{\exp(\beta_0 + \beta_1 \cdot \log_{10} x)}{1 + \exp(\beta_0 + \beta_1 \cdot \log_{10} x)} = \frac{1}{1 + \exp\{-(\beta_0 + \beta_1 \cdot \log_{10} x)\}}$$

- 次のロジスティック関数を使う。

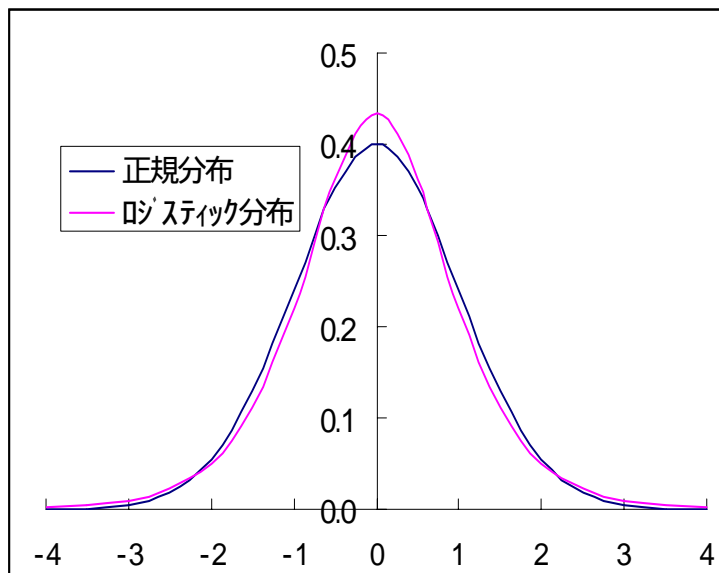
$$\text{logit}(p) = \ln\left(\frac{p}{1-p}\right) = \beta_0 + \beta_1 \cdot \log_{10} x$$

対数オッズを用いて p を ~ の数値へ変換

プロビット曲線とロジスティック曲線の比較

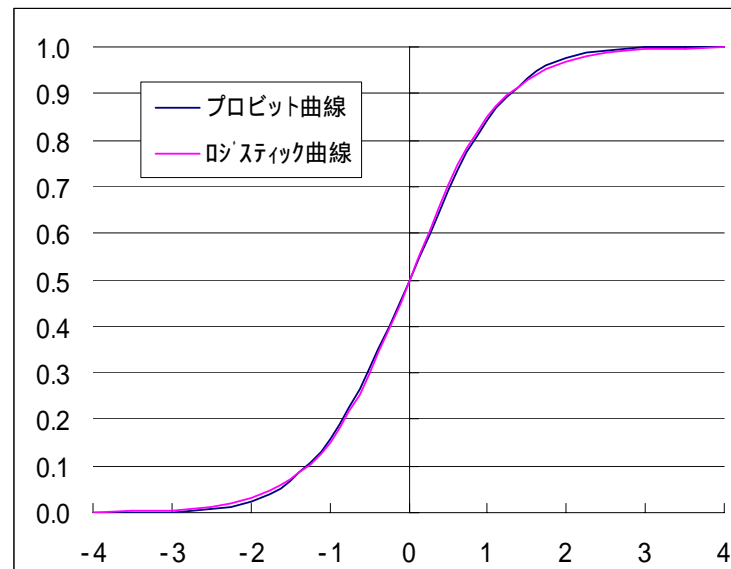
正規分布

ロジスティック分布



プロビット曲線

ロジスティック曲線



ほとんど違いはない



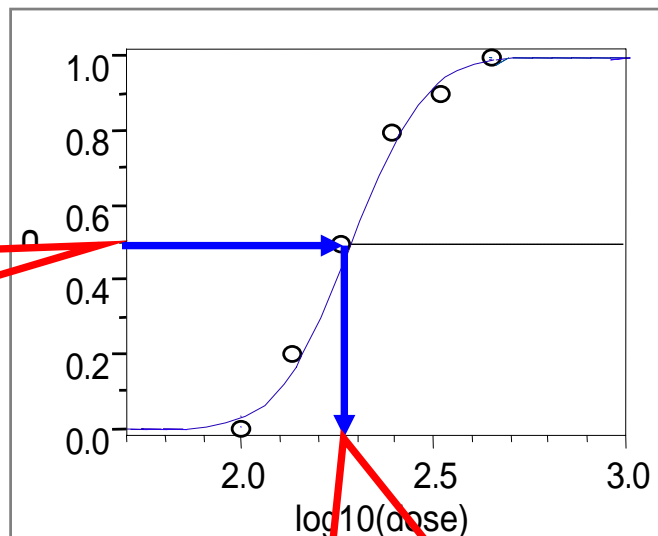
プロビット関数とロジスティック関数はどちらがよいのか？

- 逆累積正規確率関数や積分が必要となるプロビット関数よりロジスティック関数の方が取り扱いが容易
- ロジスティック関数のほうが、統計ソフトウェアのサポートも多い。
- ロジスティック関数では、疫学等の分野で2値データの解析に汎用されているオッズ比の推定が可能なため、有用である。
- 応用として、共変量を入れたいような場合は、プロビット関数ではサポートするソフトがあまりない。

逆推定($D50$ の推定)

$$\text{logit}(p) = \beta_0 + \beta_1 \cdot \log_{10}(\text{Dose})$$

反応率50%
 $p = 0.5$



$$\hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1 \cdot \log_{10}(D50) = 0$$

$$\log_{10}(D50) = -\frac{\hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1}$$

$$D50 = 10^{-\frac{\hat{\beta}_0}{\hat{\beta}_1}}$$



$D10$ と $D90$ の逆推定

$$\text{logit}(p) = \beta_0 + \beta_1 \cdot \log_{10}(\text{Dose})$$

$D10$ の場合: $\text{logit}(0.1) = \ln\left(\frac{0.1}{1-0.1}\right) = -2.197$

$$\log_{10}(D10) = -\frac{\hat{\beta}_0 + 2.197}{\hat{\beta}_1} \quad \Rightarrow \quad D10 = 10^{-\frac{\hat{\beta}_0 + 2.197}{\hat{\beta}_1}}$$

$D90$ の場合: $\text{logit}(0.9) = \ln\left(\frac{0.9}{1-0.9}\right) = 2.197$

$$\log_{10}(D90) = -\frac{\hat{\beta}_0 - 2.197}{\hat{\beta}_1} \quad \Rightarrow \quad D90 = 10^{-\frac{\hat{\beta}_0 - 2.197}{\hat{\beta}_1}}$$

逆推定値の100(1-)%信頼区間 (1)

—Fiellerの方法による信頼区間の算出—

$$\rho = (\hat{\beta}_0 - \underline{k}) / \hat{\beta}_1, \quad k = \ln(p/(1-p))$$

$$v_{00} = V[\hat{\beta}_0], \quad v_{11} = V[\hat{\beta}_1], \quad v_{01} = Cov[\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1]$$

$$(\hat{\beta}_1^2 - \hat{v}_{11} z_{\alpha/2}^2) \rho^2 + (2\hat{v}_{01} z_{\alpha/2}^2 - 2(\hat{\beta}_0 - \underline{k}) \hat{\beta}_1) \rho + ((\hat{\beta}_0 - \underline{k})^2 - \hat{v}_{00} z_{\alpha/2}^2) = 0$$

$$\rho = -\left(-(\hat{\beta}_0 - k) / \hat{\beta}_1\right) = -\log_{10}(D_{100p})$$

一般化した上式より、任意の逆推定値の信頼区間が求められる。

逆推定値の100(1-)%信頼区間 (2)

—Fiellerの方法による信頼区間の算出—

$$a(\log_{10}(D_{100p}))^2 + b \cdot \log_{10}(D_{100p}) + c = 0$$

$$a = \hat{\beta}_1^2 - z_{\alpha/2}^2 \hat{v}_{11}$$

$$b = -\left(2\hat{v}_{01}z_{\alpha/2}^2 - 2(\hat{\beta}_0 - \underline{k})\hat{\beta}_1\right)$$

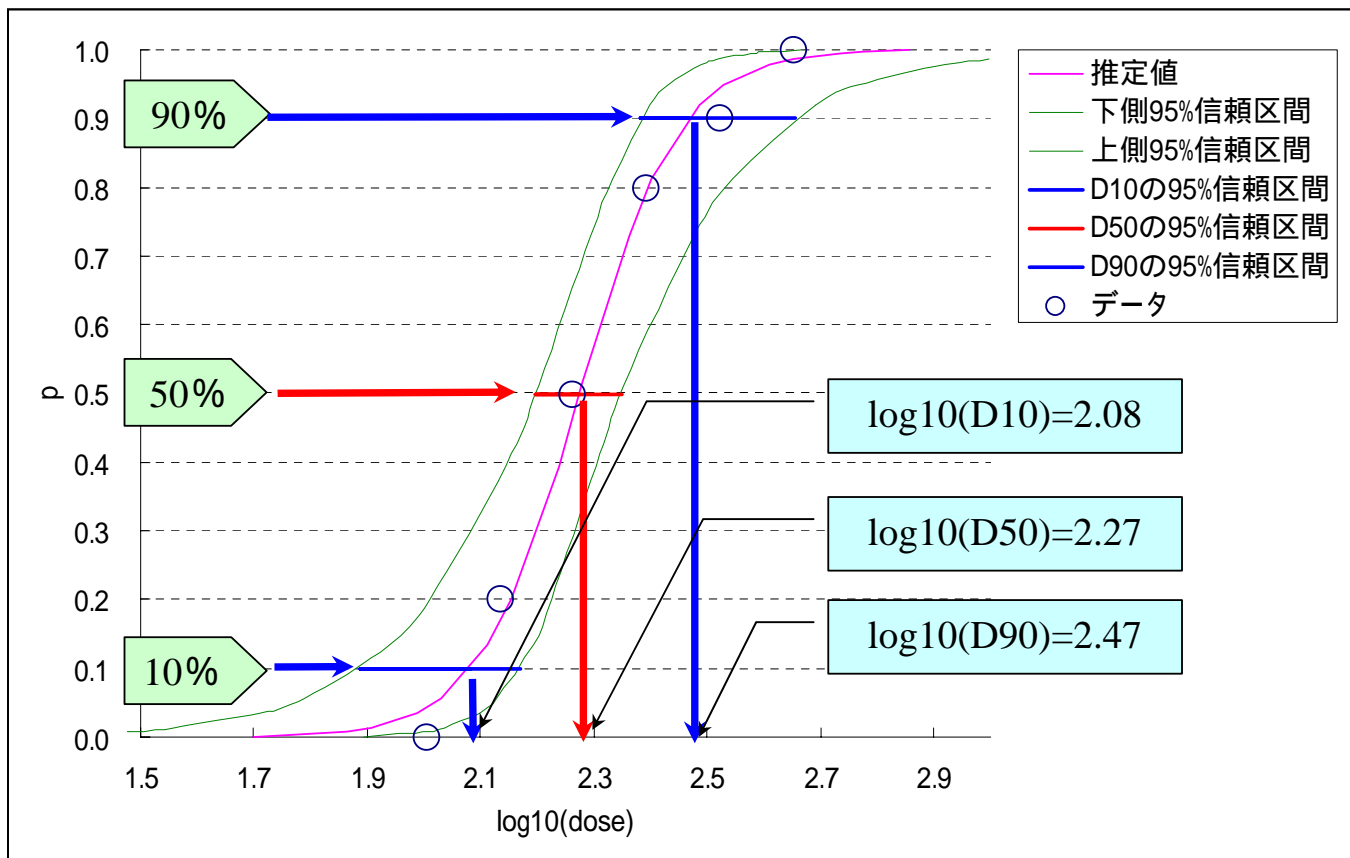
$$c = (\hat{\beta}_0 - \underline{k})^2 - \hat{v}_{00}z_{\alpha/2}^2$$

$$k = \ln(p/(1-p))$$

$\log_{10}(D_{100p})$ の100(1-)%信頼区間

$$\left(\frac{-b - \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a}, \frac{-b + \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a} \right)$$

D50 , D10 , D90 の95%信頼区間





SASプログラム (ロジスティック回帰)

- 逆推定値の出力あり

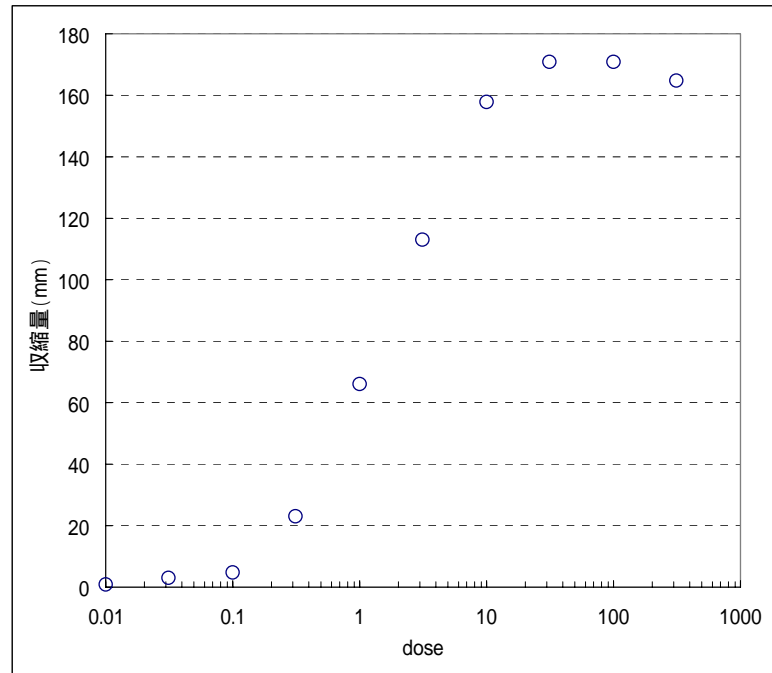
```
proc probit data=d01 log10 inversecl ;  
    model y/n = dose / dist=logistic itprint covb ;  
    output out=out01 p=p std=std xbeta=xbeta ;  
run ;
```

- 逆推定値の出力なし

```
proc logistic data=d01 ;  
    model y/n = log_dose / link=logit itprint covb ;  
run ;
```

計量値データ 使用するデータ例

ヒスタミン濃度 (μM)	平滑筋 収縮量 (mm)
0.01	1
0.0316	3
0.1	5
0.316	23
1	66
3.16	113
10	158
31.6	171
100	171
316	165



- ヒスタミンによる摘出腸管の収縮反応
- 0.01 ~ 316 μM の10用量
- n=1

計量値のシグモイド曲線

■ Emaxモデル

$$f(x) = \frac{Emax \cdot x^\gamma}{x^\gamma + EC50^\gamma}$$

推定されるパラメータ

*Emax*は実験の
最大投与量の
反応量ではあり
ません

Emax: 最大反応量

x : 処置量(投与量あるいは濃度)

γ : 係数(傾き)

$EC50$: 50% 反応量(濃度)= $D50$

ロジスティック回帰とEmaxモデルの比較

■ ロジスティック回帰

- 目的変数: 計数値 反応率(0 ~ 1)

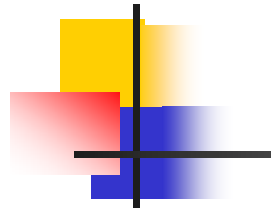
$$p = f(\ln(x)) = \frac{\exp(\beta_0 + \beta_1 \cdot \ln(x))}{1 + \exp(\beta_0 + \beta_1 \cdot \ln(x))} = \frac{1}{1 + \exp(-(\beta_0 + \beta_1 \cdot \ln(x)))}$$
$$= \frac{1}{1 + \exp(\beta_1 (\ln(D50) - \ln(x)))}$$

■ Emaxモデル

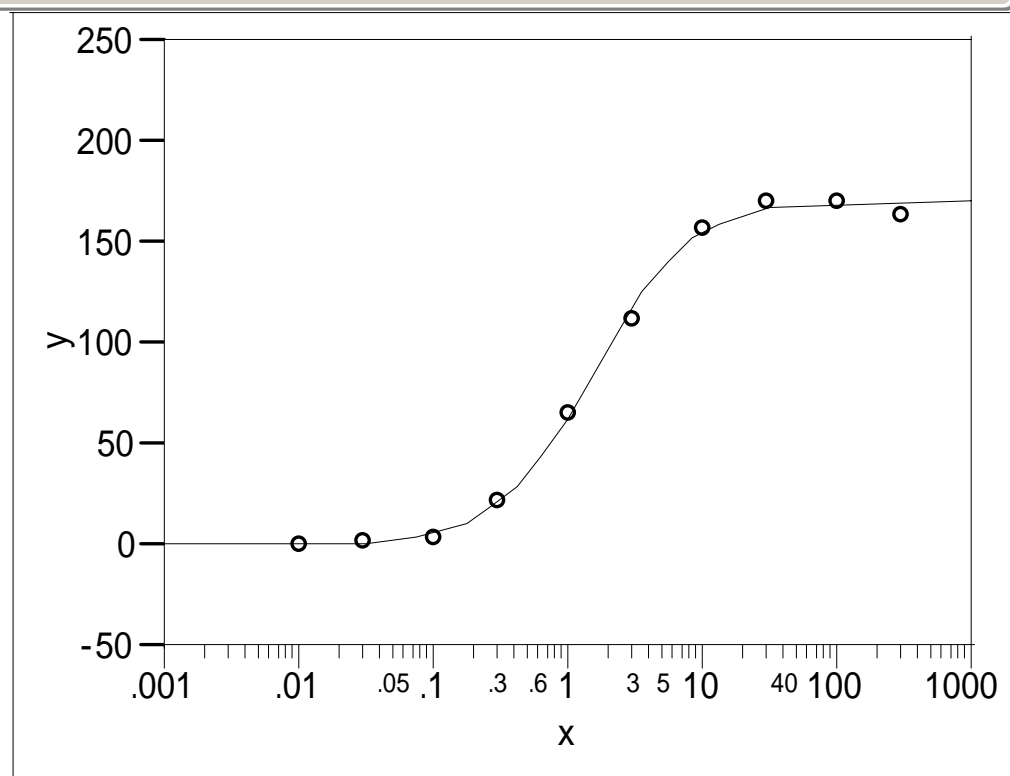
- 目的変数: 計量値 = 反応量(0 ~ +)

$$y = f(x) = \frac{Emax \cdot x^\gamma}{x^\gamma + D50^\gamma} = \frac{1}{1 + \exp(\gamma (\ln(D50) - \ln(x)))} \cdot Emax$$

JMPで確かめるパラメーターの意味



プロット



パラメータ	推定値	最小値	最大値
D50	1.579245283	0.1	10
Gamma	1.2065106136	-1	1.75165
E _{max}	171.57994908	85.79	257.37



$D10$ 、 $D90$ の推定

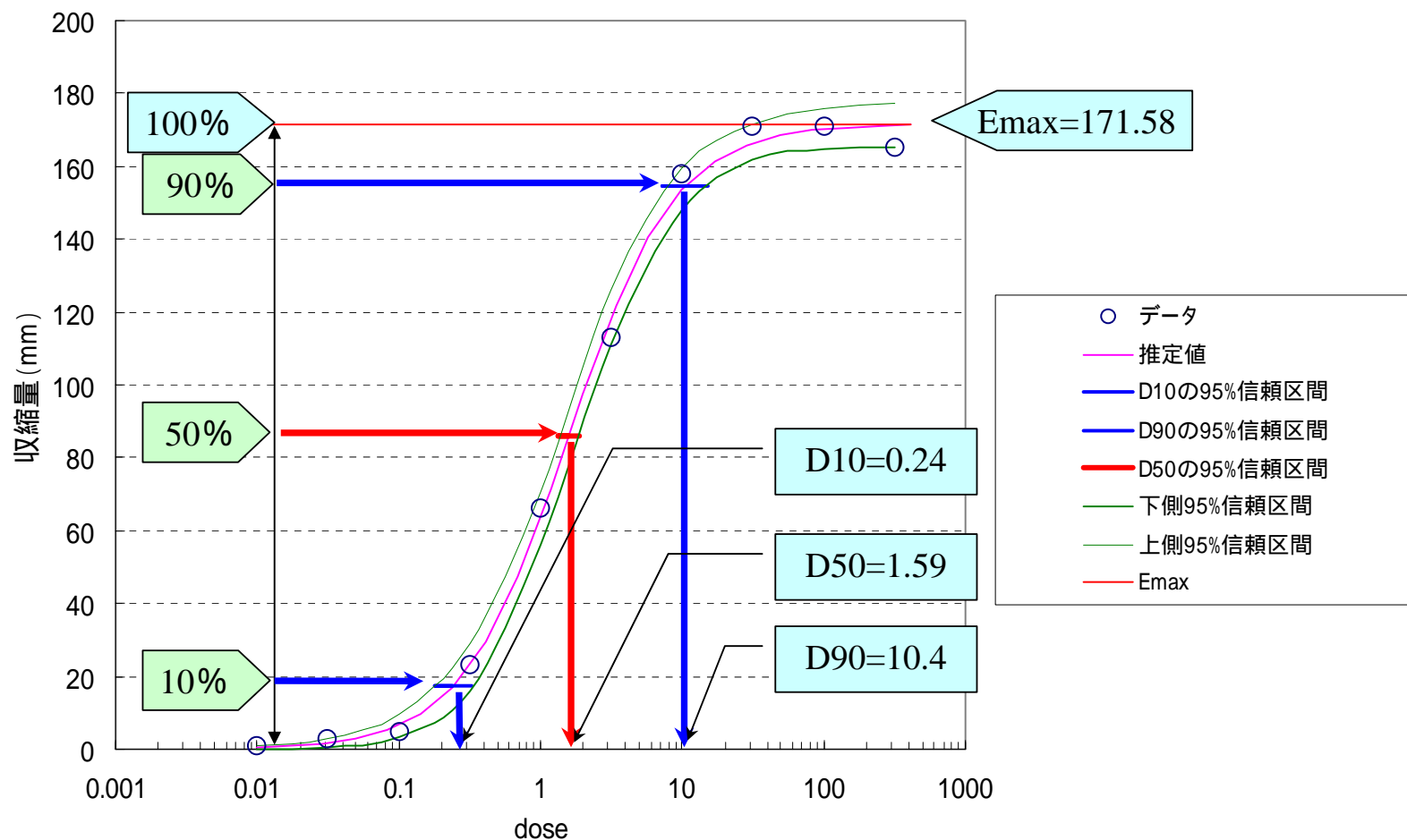
非線形回帰モデルに下記式を設定して解析する。

$$f(x) = \frac{Emax}{1 + \exp(\gamma(\ln(\underline{D10}) - \ln(x)) + \underline{2.197})}$$

$$f(x) = \frac{Emax}{1 + \exp(\gamma(\ln(\underline{D90}) - \ln(x)) - \underline{2.197})}$$

D10及び D90が推定されるだけでなく、それぞれの95%信頼区間も直接推定される。

D50 , D10 , D90 の95%信頼区間



酵素反応速度論

《線形プロットによる解析 Lineweaver-Burk Plot》

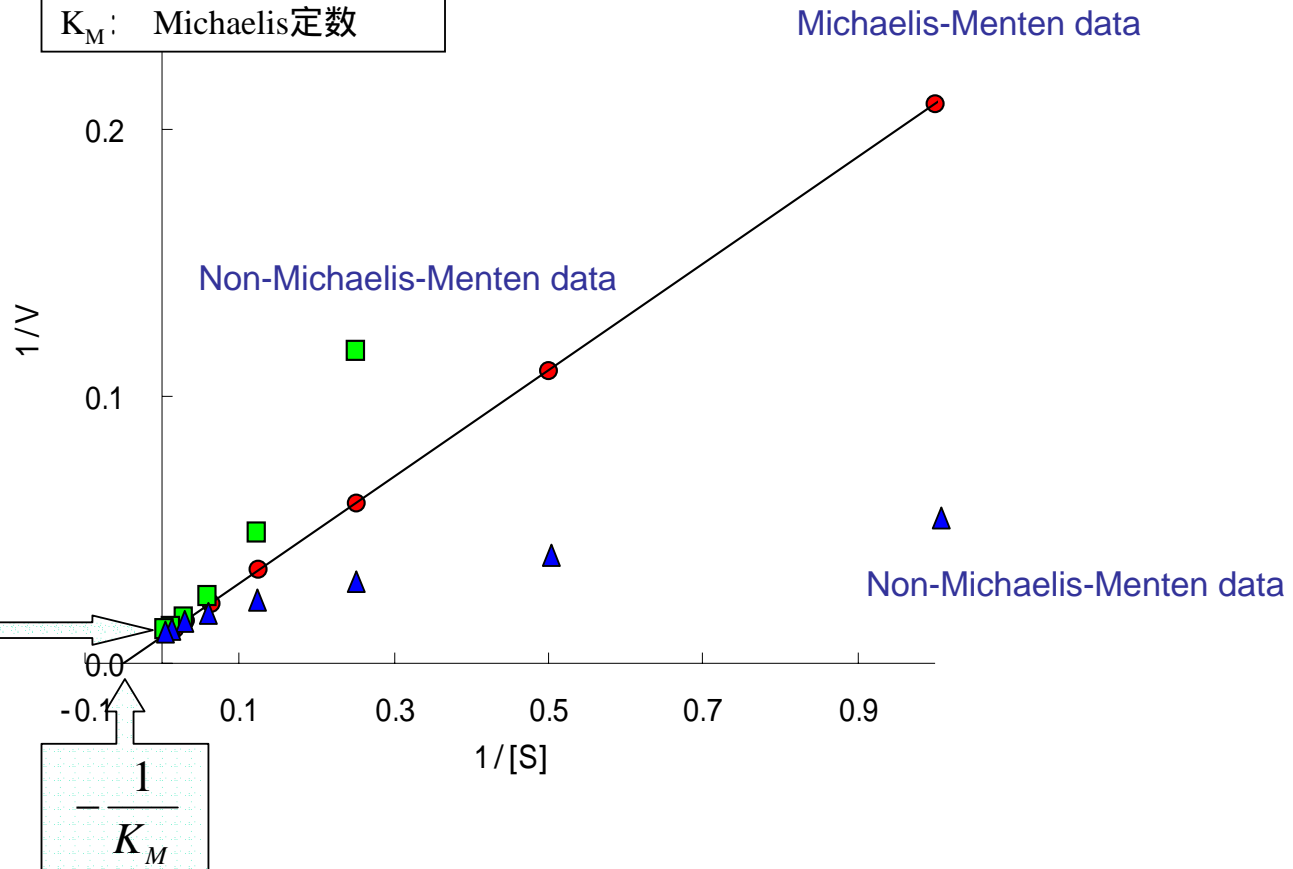
Michaelis-Menten の式

$$V = \frac{V_{max} \cdot [S]}{[S] + K_M}$$



$$\frac{1}{V} = \frac{K_M}{V_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

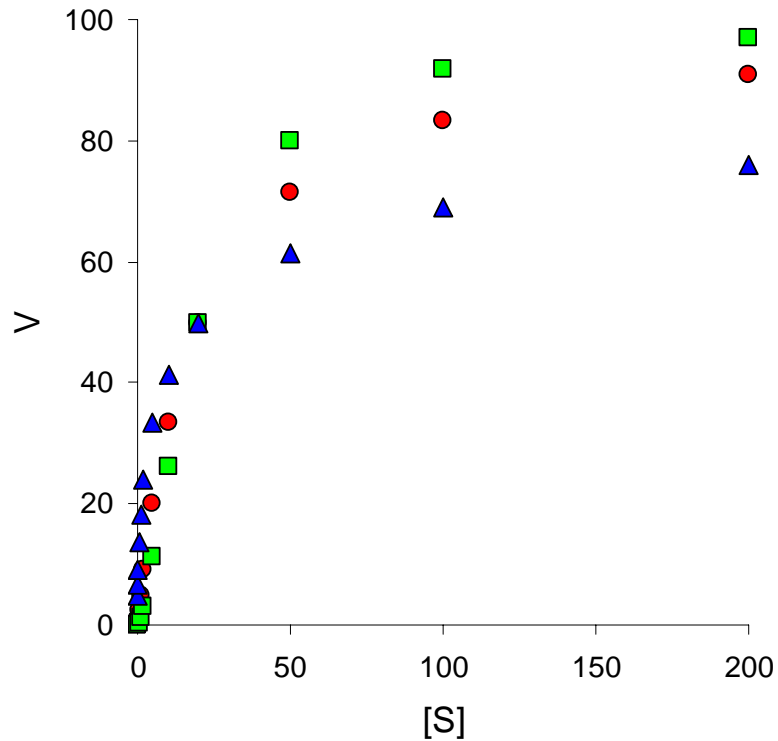
V_{max} : 最大反応速度
 K_M : Michaelis定数



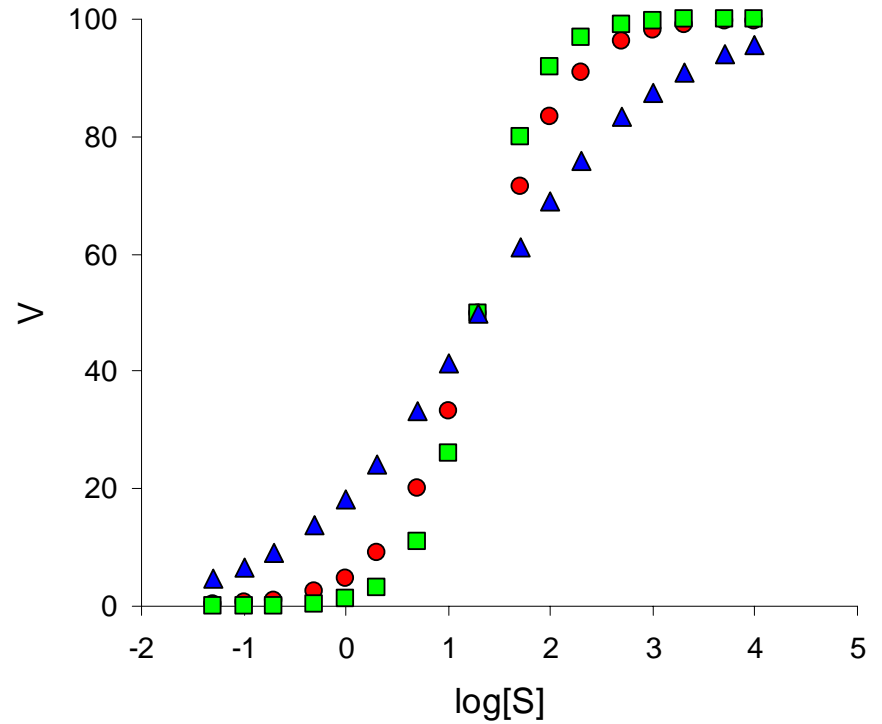
Michaelis-Menten 理論に従わない反応



Non-Michaelis-Menten

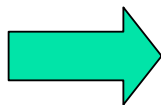


Non-Michaelis-Menten

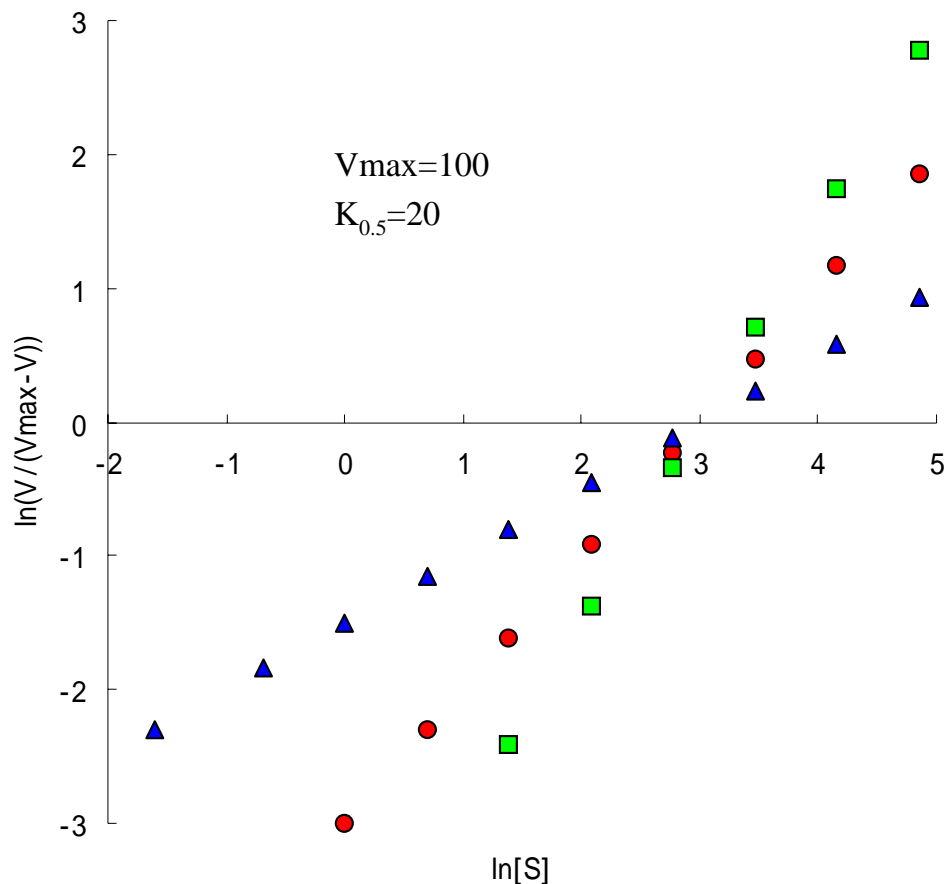


Hill の式 に基づく線形プロット (Hill Plot)

$$V = \frac{V_{max} \cdot [S]^h}{[S]^h + K_{0.5}^h}$$



$$\ln \frac{V}{V_{max} - V} = h \cdot \ln[S] - h \cdot \ln K_{0.5}$$





用量反応関係式の類似性

$$y = \frac{Emax \cdot x^{\gamma}}{x^{\gamma} + D50^{\gamma}}$$

Emax理論

$$V = \frac{V_{\max} [S]^h}{[S]^h + K_{0.5}^h}$$

酵素反応速度論

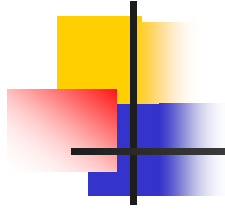
$$[L_B] = \frac{B_{\max} [L_F]^n}{[L_F]^n + K_D^n}$$

受容体結合実験



まとめ

- 2値データではロジスティック回帰でD50だけでなく、任意の反应用量が逆推定できた。
- フィラーの式により、任意の反应用量の信頼区間が求められた。
- Emaxモデルでもロジスティック回帰の式変形により、任意の反应用量が直接推定できた。
- Emaxモデルで、酵素反応速度論などの解析ができることを示した。



ご清聴ありがとうございました。