
各種の効力比の統計を支える 非線形最小2乗法入門

中 外 製 薬
高橋 行雄

チュートリアルの目的

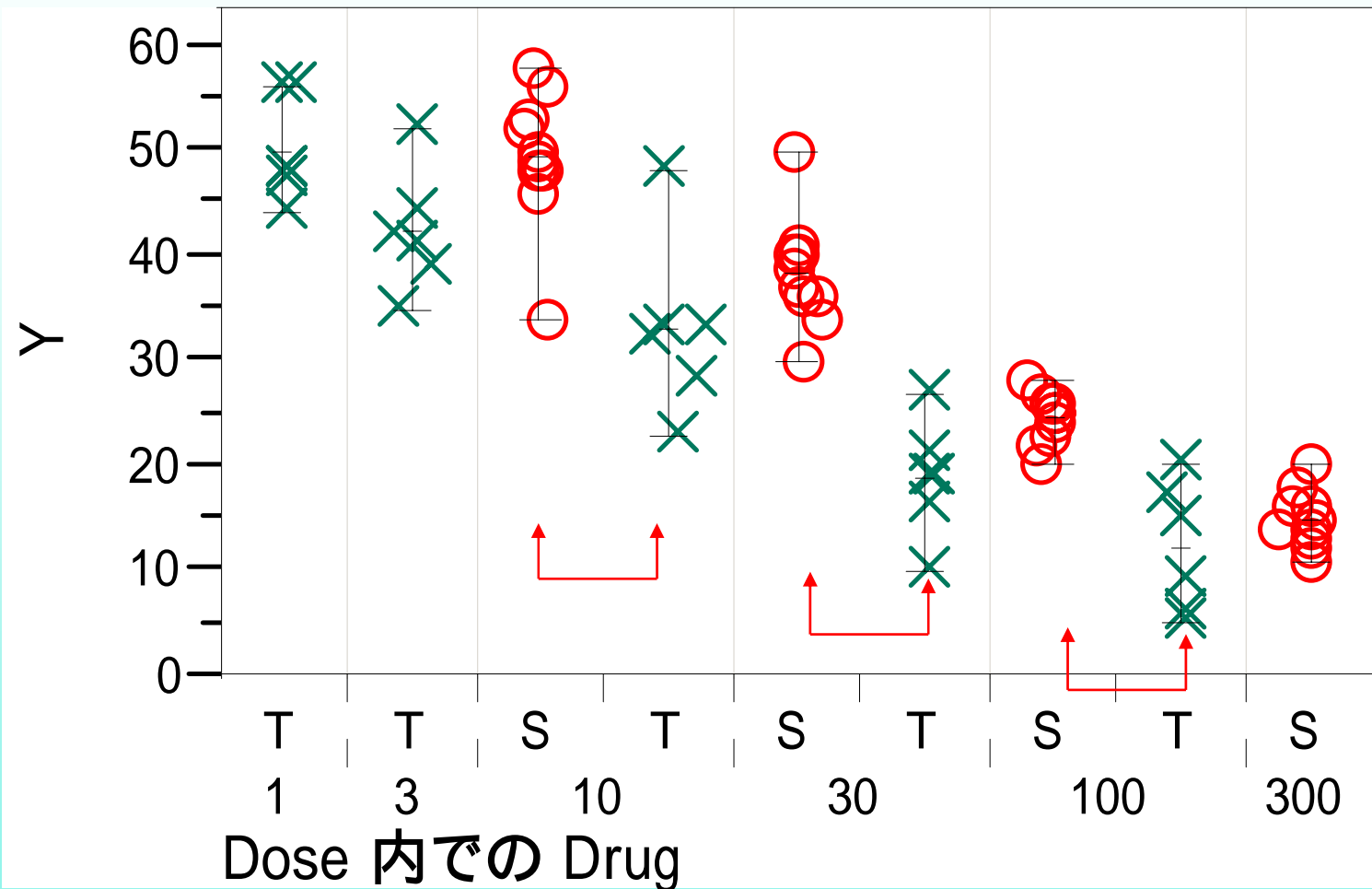
- ◆ 効力比による実験データの要約の必要性
- ◆ 生物検定法のリバイバル
- ◆ Proc NLIN の基礎
 - 線形回帰式 と **非**線形回帰式の区別
 - 線形最小2乗法 と **非**線形最小2乗法の使い分け
- ◆ Proc NLIN によるシグモイド曲線のあてはめ
 - 反応が 計量値の場合 と 2値の場合

用量反応データの解析

アンジオテンシン I 注入後の血圧上昇

<i>drug</i>	<i>dose</i>	データ(mmHg)									
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				

血圧上昇の抑制 S薬 と T薬の比較



皆さま 一緒に考えましょう

- ◆ S薬もT薬も用量が増えるとBPの上昇抑制
- ◆ 共通の用量は3用量のみ
- ◆ 平均値の差は 12 ~ 19 mmHG、有意差あり

dose	Estimate	StdErr	tValue	Probt
<u>10</u>	<u>16.5667</u>	3.7575	<u>4.41</u>	0.0006
<u>30</u>	<u>19.6333</u>	2.7858	<u>7.05</u>	<.0001
<u>100</u>	<u>12.6000</u>	2.1576	<u>5.84</u>	<.0001

検定の多重性の回避はどうする

◆ 2 元配置分散分析の実施

```
data d01b ;  
    set d01 ;  
    if dose<=3 or dose=300 then delete ;  
proc mixed data=d01b ;  
    class drug dose ;  
    model y = drug dose ;  
    lsmeans drug / diff ;
```

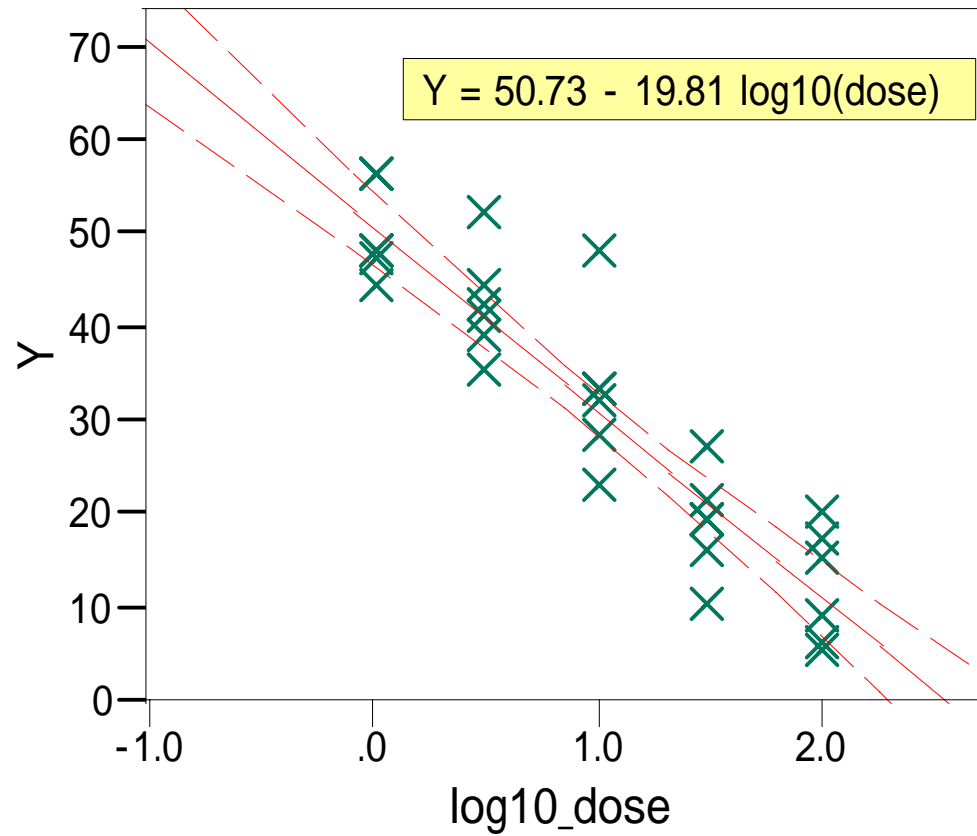
Differences of Least Squares Means

Estimate	SE	DF	t Value	Pr > t
16.2667	1.7328	44	9.39	<.0001

実験データの要約の方法

- ◆ 投与量が10、30、100 mg/kg でT薬はS薬に対して有意な血圧上昇抑制があった。
- ◆ 検定の多重性を考慮した2元配置分散分析によってT薬はS薬に対して平均16.3mmHGの有意な血圧上昇抑制があった。
- ◆ 薬理学的な実験データの要約はいかなるものであろうか。
- ◆ T薬の臨床用量の設定はどうなるのであろうか

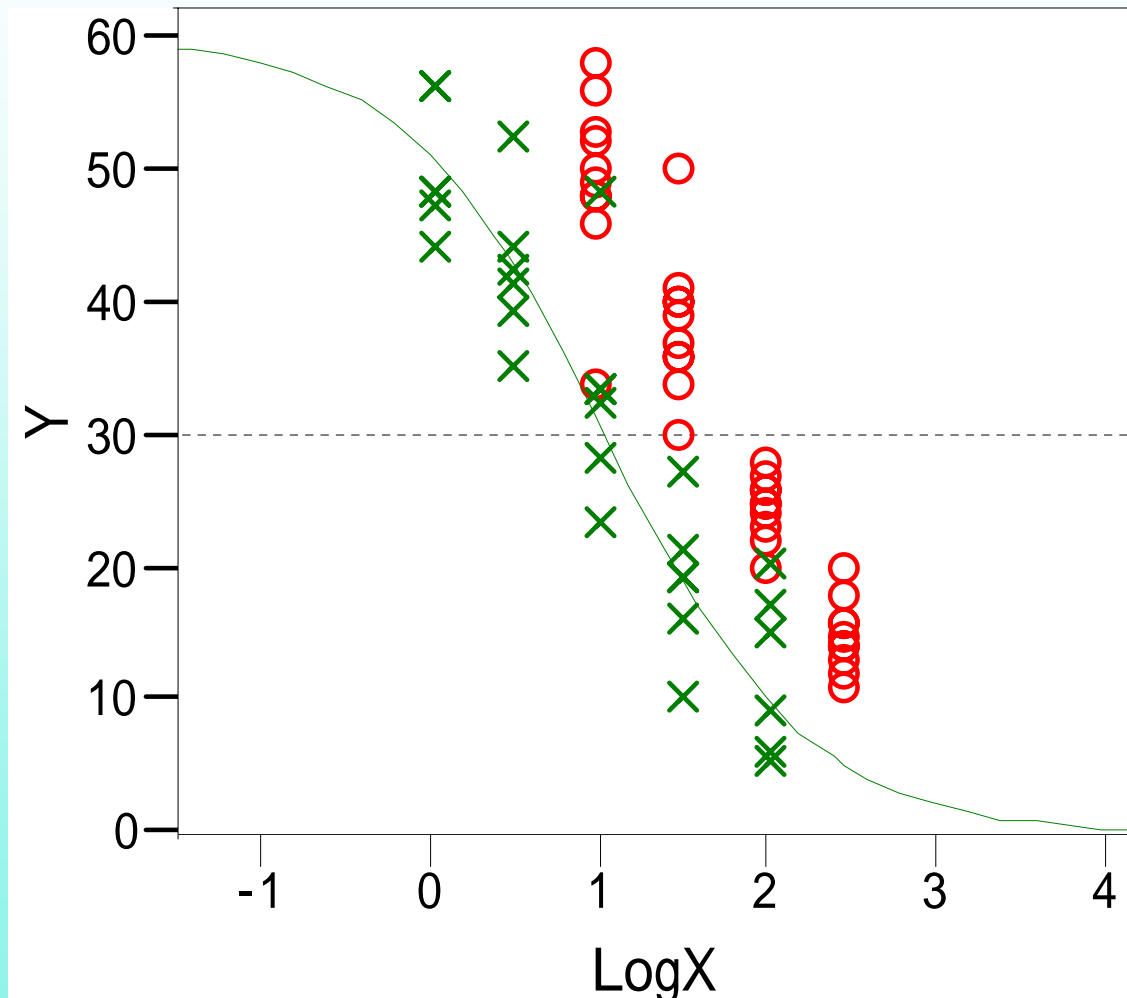
T薬の用量反応関係



回帰直線のあてはめ

- ◆ 実験で設定した用量の範囲で直線
- ◆ しかし、T薬の用量を下げたときに、アンジオテンシンI 注入による血圧の上昇には上限がある
- ◆ 逆に、T薬の用量を上げたときに血圧の上昇抑制の平均値は0 mmHgに近づく

シグモイド曲線のあてはまりもOK



効力比の定義

用量反応が直線

- ◆ 化合物 S の用量反応

$$y_S = f(x)$$

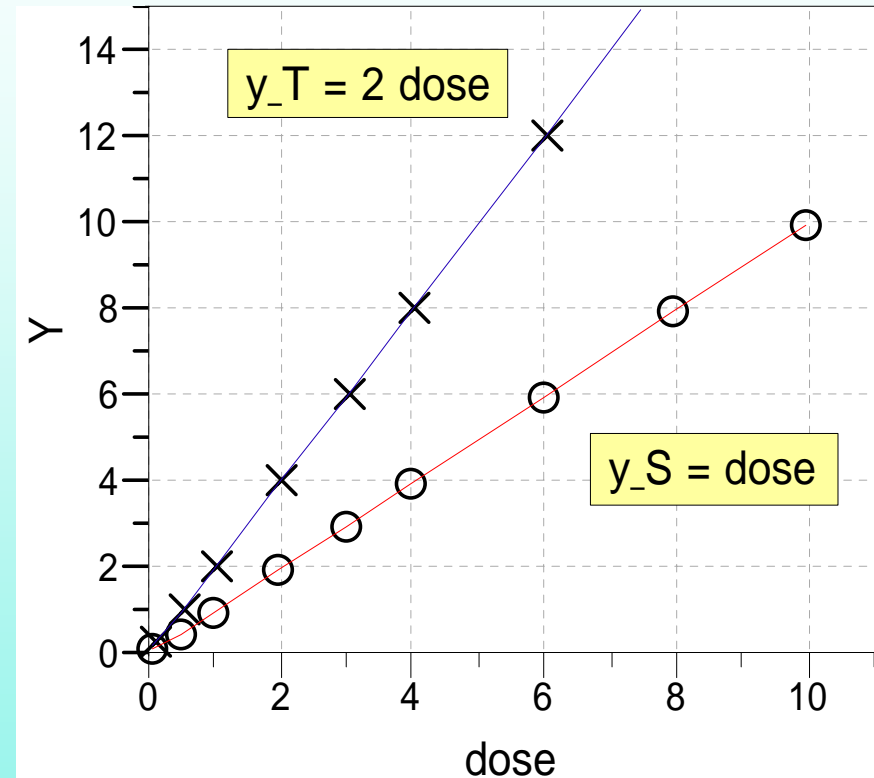
例: $Y_S = x$

- ◆ 化合物 T の用量反応

$$y_T = f(\rho x)$$

例: $Y_T = 2x$

- ◆ $\rho = 2$ が効力比



用量反応が冪モデル

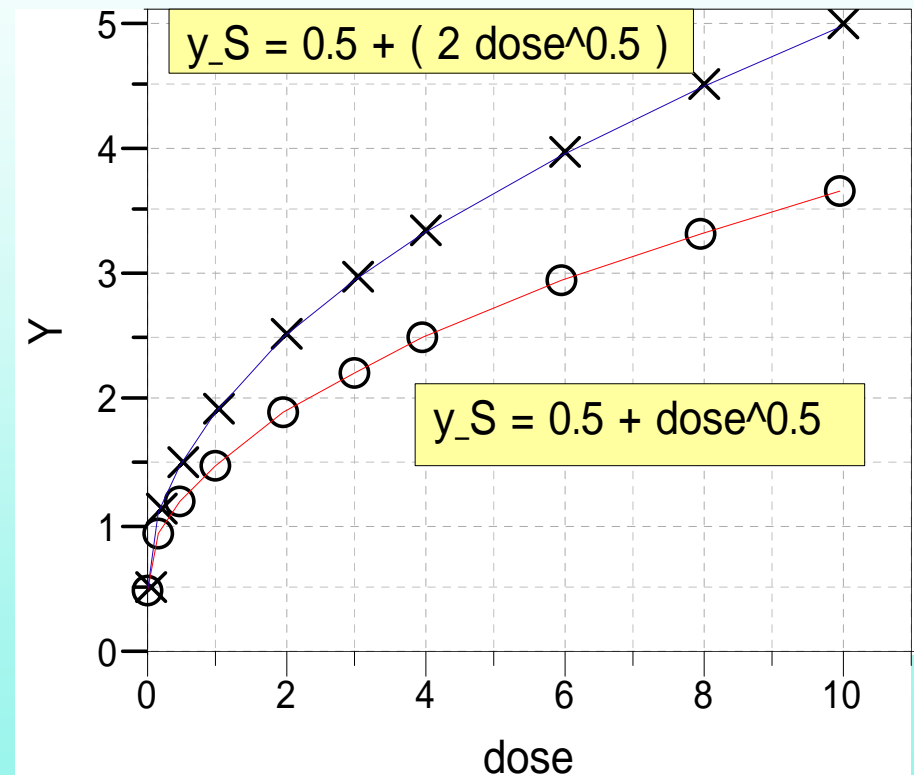
◆ 化合物 S

$$y_S = 0.5 + x^{0.5}$$

◆ 化合物 T

$$y_T = 0.5 + (2x)^{0.5}$$

◆ $\rho = 2$ が効力比



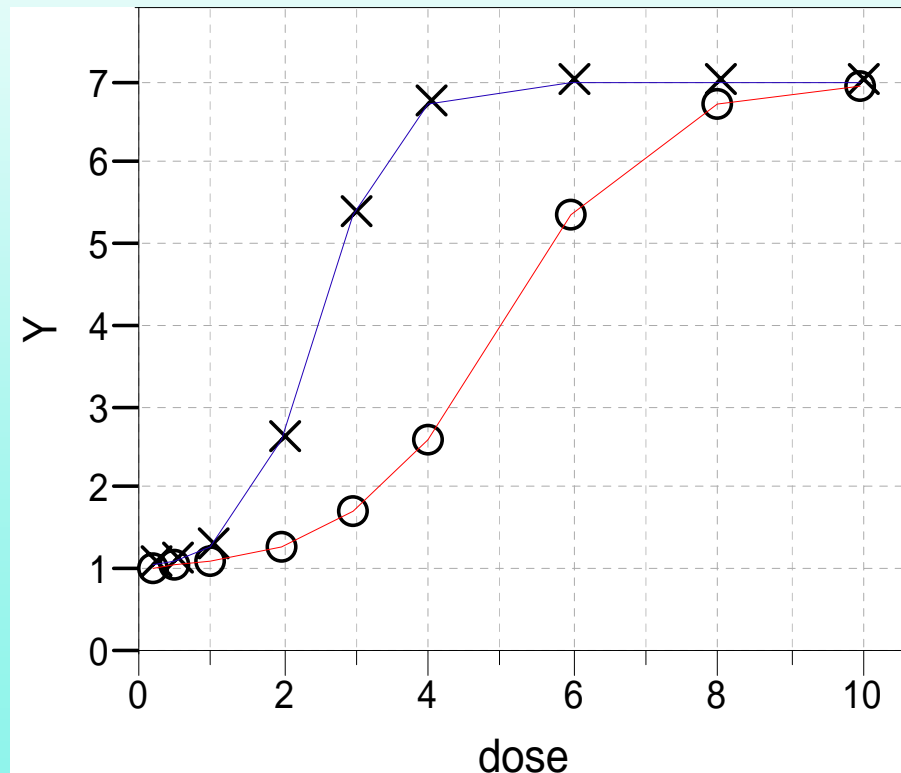
用量に対してロジスティック曲線

化合物 S: $y_S = 1 + (7 - 1) / \{ 1 + \exp(5 - x) \}$

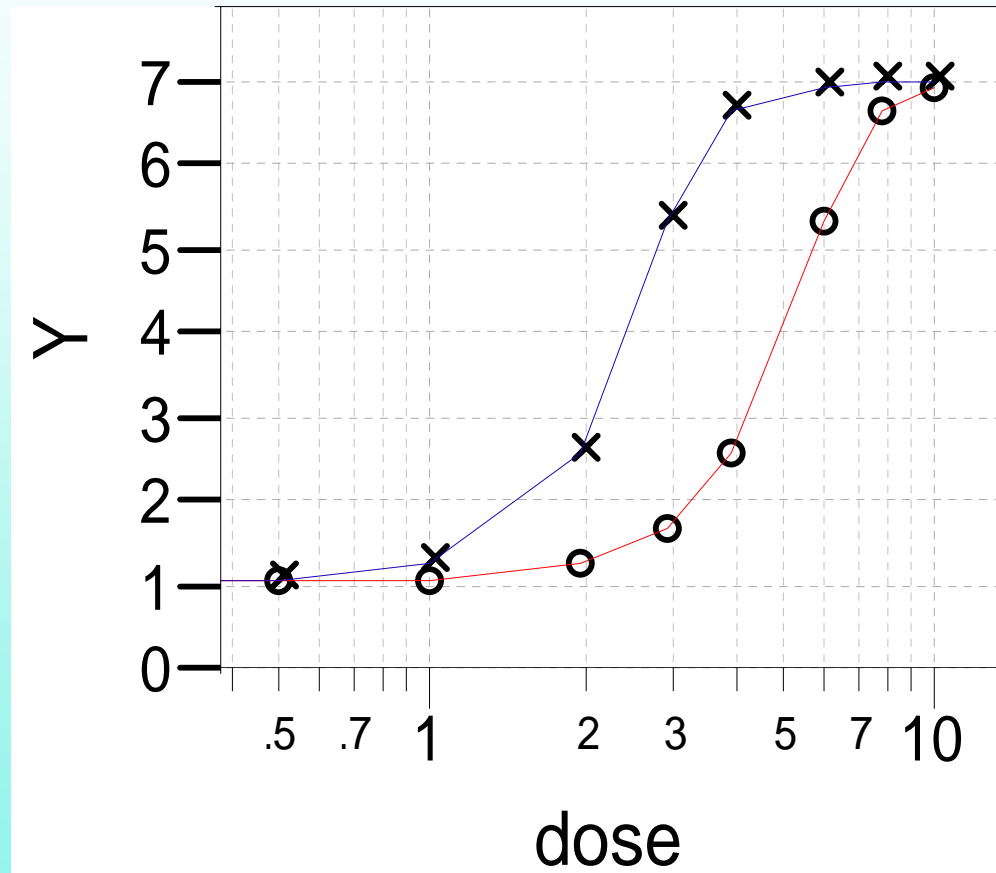
化合物 T: $y_T = 1 + (7 - 1) / \{ 1 + \exp(5 - 2x) \}$

効力比

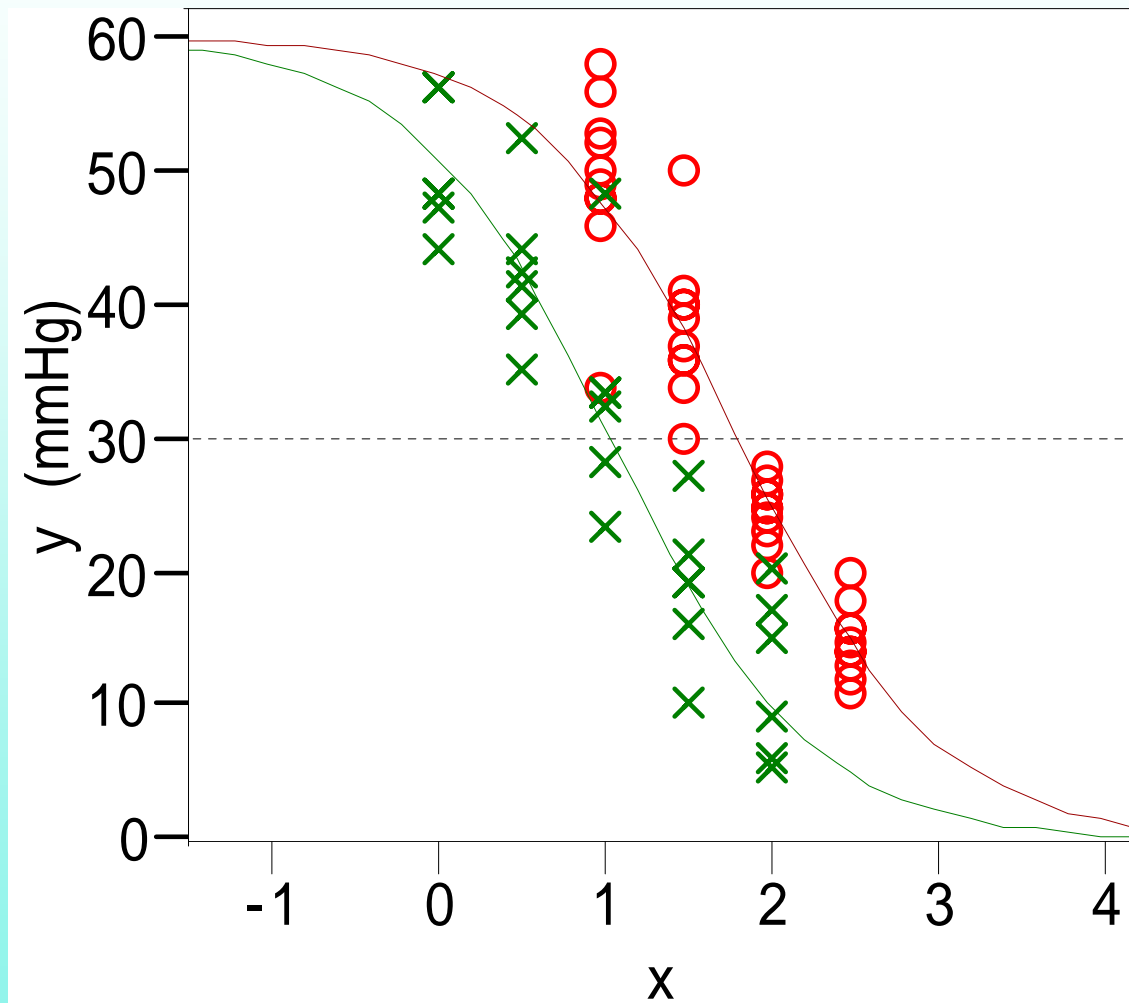
$$\rho = 2$$



用量を対数とした場合



対数用量に対してロジスティック曲線



ロジスティック曲線のあてはめ

◆ 化合物 S:

$$y_S = 0 + 60 / \{ 1 + \exp(-1.67(\underline{1.82 - x})) \}$$

◆ 化合物 T:

$$y_T = 0 + 60 / \{ 1 + \exp(-1.67(\underline{1.05 - x})) \}$$

◆ 効力比

$$\log \rho = \underline{1.82 - 1.05} = 0.77$$

$$\rho = 10^{0.77} = 5.9$$

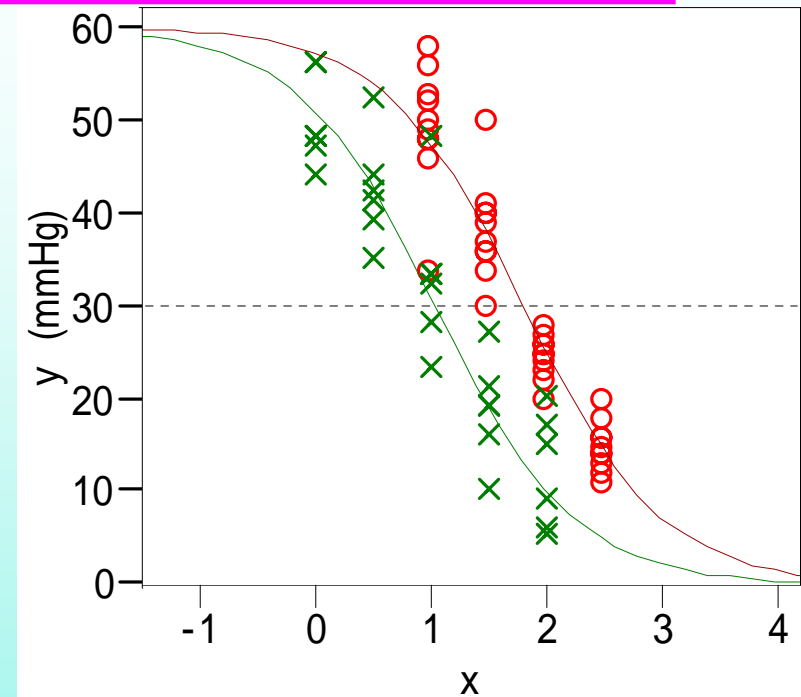
用量が対数の場合の効力比の定義

◆ 化合物 S の用量反応

$$y_S = f(\log(\text{dose}))$$

◆ 化合物 T の用量反応

$$\begin{aligned} y_T &= f(\log(\rho \cdot \text{dose})) \\ &= f(\log \rho + \log(\text{dose})) \end{aligned}$$



$$\begin{aligned} y_T &= 0 + 60 / \{ 1 + \exp(-1.67(1.82 - (0.77 + x))) \} \\ &\quad (\log \rho + \log \text{dose}) \end{aligned}$$

簡便法としての平行線検定法

用量反応曲線を直線とみなす

- ◆ 反応がロジスティック曲線となる場合
- ◆ 最大反応の半分あたり
- ◆ 用量反応関係は、ほぼ直線的
- ◆ 線形最小2乗法により
 - 切片は異なる、傾きは同じ 直線
 - 最大反応の半分程度の反応
 - S薬とT薬の用量を逆推定
 - 効力比の計算

傾きが共通な2つの回帰直線

◆ 化合物 S: 印

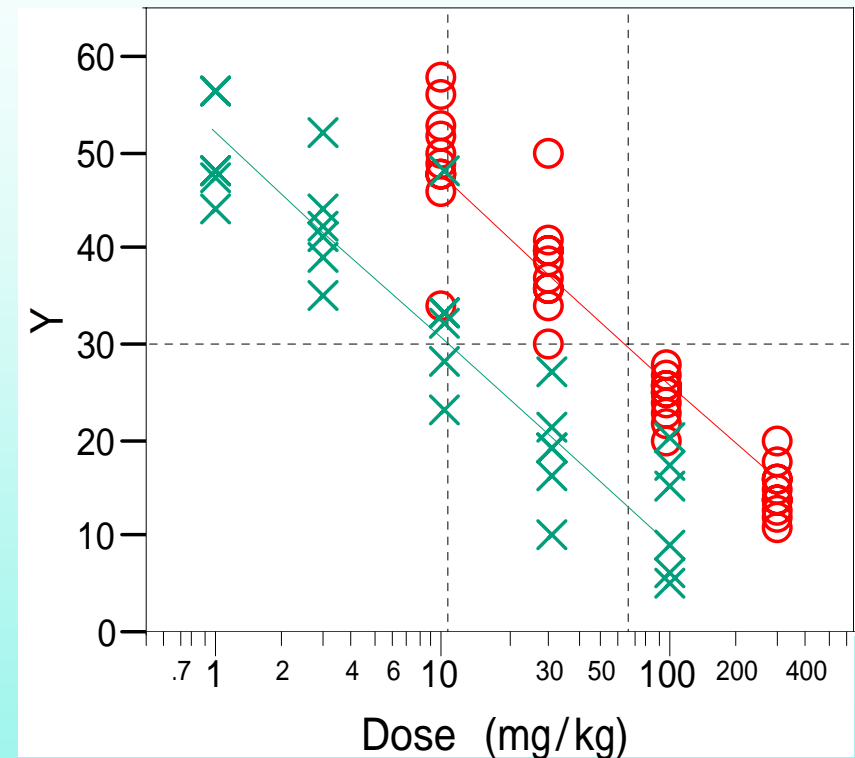
$$y_S = \alpha_S + \beta x$$

$$y_S = 69 - 21.6 x$$

◆ 化合物 T: × 印

$$y_T = \alpha_T + \beta x$$

$$y_S = 52 - 21.6 x$$



反応が 30 mmHGとなる用量

◆ 化合物 S:

$$x_S = (y_0 - \alpha_S) / \beta$$

$$x_S = (30 - 69) / (-21.6) = 1.82$$

$$10^{1.82} = 66.4 \text{ mg/kg}$$

◆ 化合物 T:

$$x_T = (30 - 52) / (-21.6) = 1.04$$

$$10^{1.04} = 11.0 \text{ mg/kg}$$

平行線検定法による効力比

◆ 化合物Sの x_S と x_T 差のantilog

$$\begin{aligned}x_S - x_T &= (y_0 - \alpha_S) / \beta - (y_0 - \alpha_T) / \beta \\&= (-\alpha_S + \alpha_T) / \beta \\&= (-69 + 52) / (-21.6) = 0.78\end{aligned}$$

$$10^{0.78} = 6.02 \text{ 倍}$$

効力比の信頼区間

- ◆ 推定されたパラメータの比のSEを知りたい
 - SASのプロシジャは、パラメータの線形和のみ
 - 比の推定はサポートされていない
- ◆ デルタ法による推定が必要
 - テイラー展開の1次までを使った近似
- ◆ フィラーの式による推定
 - 2次式の根を用いて精度を高める方法

非線形最小2乗法で直接推定

Program 4 < <NLINプロシジャによる効力比の直接推定> >

```
data d02 ;  
  set d01 ;  
  z0 = 1 ;  
  z1 = (drug = 'S') ;  
  z2 = (drug = 'T') ;  
  
proc nlin data=d02 ;  
  parms b1 -21 b2T 1.0 b2diff 0.5 ;  
  model y = - b1 * ( (b2T + b2diff*z1) - x ) + 30 ;
```

定義式 $y_T = f(\log \rho + \log(dose))$

$$= -\beta_1 (\beta_2 - (\log \rho + \log(dose)))$$
$$= -(-21.55 (1.82 - (0.78 + \log(dose))))$$

NLINプロシジャ入門

S薬について REG プロシジャ

◆ 対数用量: $x = \log_{10}(dose)$

```
proc reg    data=d01 ;  
  model    y = x ;
```

パラメータは省略されている

Variable	Parameter Estimate	Standard Error
Intercept	72.95699	2.35115
x	-23.67302	1.28852

S薬について NLIN プロシジャ

```
proc nlin data=d01 ;  
    parmeters b0 50 b1 -20 ;  
    model y = b0 + b1 * x ;
```

Parameter	Approx Estimate	Std Error
b0	72.9570	2.3512
b1	-23.6730	1.2885

REG と NLIN の違い

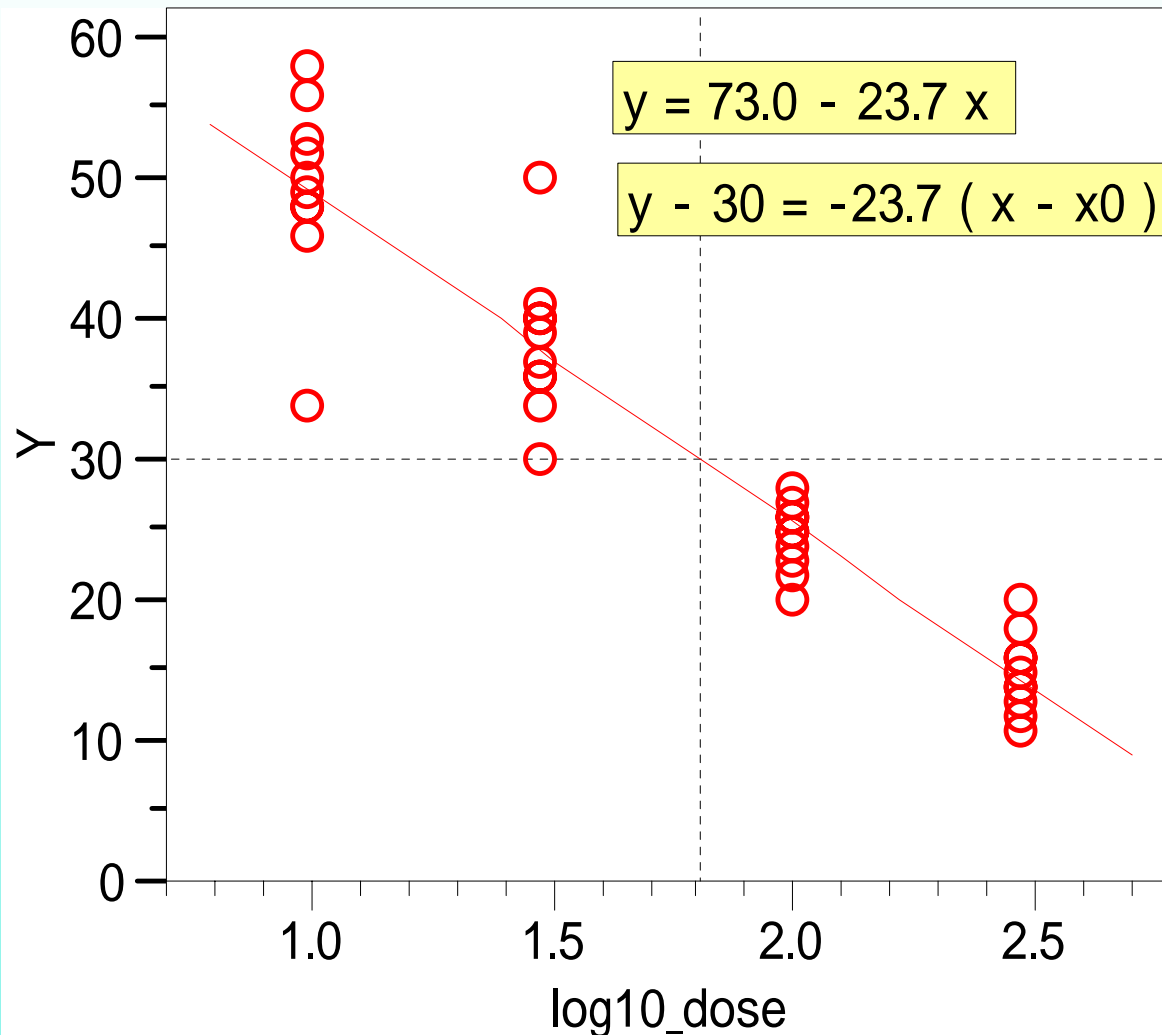
◆ REG

- 変数のみを指定, パラメータは省略
- 結果は, 変数に対応するパラメータの推定値

◆ NLIN

- パラメータと変数を合わせて指定
- 結果は, パラメータの推定値

逆推定値をパラメータ化



逆推定値をパラメータ化

◆ 単回帰式

$$y = \beta_0 + \beta_1 x$$

◆ (x_0, y_0) を通る回帰直線

$$y - y_0 = \beta_1 (x - x_0)$$

◆ x_0 を推定したい. β_2 とおき直す.

$$y = \beta_1 (x - \beta_2) + y_0$$

線形 と 非線形

◆ 線形

$$y = \beta_0 + \beta_1 x$$

◆ 非線形, 2次式

$$y = \beta_0 + \beta_1 x + \beta_2 x^2$$

◆ パラメータに関して線形

(あるパラメータで偏微分したときに, パラメータが残らない)

2次式は線形最小2乗法で解ける

線形式を変形すると非線形に

◆ 線形

$$y = \beta_0 + \beta_1 x$$

◆ (x_0, y_0) を通る回帰式を変形し、 x_0 を β_2 に

$$y = \beta_1 (x - \beta_2) + y_0$$

◆ パラメータに関して非線形

(パラメータで偏微分したときに、パラメータが残る)

線形最小2乗法では解けない

非線形最小2乗法を使う必要がある

平行な直線のあてはめ

◆ 切片が異なるとした場合

$$y = \beta_0^S + \beta_1 x, \quad y = \beta_0^T + \beta_1 x$$

◆ β_2 を用いた場合

$$y = \beta_1 (x - \beta_2^S) + y_0, \quad y = \beta_1 (x - \beta_2^T) + y_0$$

◆ T 薬を基準にダミー変数

$$y = \beta_1 \{ x - (\beta_2^T + \beta_2^{\text{diff}} z_1) \} + y_0$$

z_1 : S 薬のとき 1, T 薬のとき 0

◆ 非線形最小2乗法を用いてパラメータの推定

$$y = -21.55 \{ x - (1.042 + 0.782z_1) \} + 30$$

なぜ非線形化するのか

◆ 効力比の95%信頼区間を統計ソフトで計算

Parameter	Estimate	Approx Std Error	Approximate 95% Confidence Limits	
b1	-21.5516	1.0319	-23.6113	-19.4920
b2T	1.0419	0.0457	0.9506	1.1332
b2diff	<u>0.7802</u>	0.0604	<u>0.6596</u>	<u>0.9008</u>

◆ x は対数用量

$$\text{antilog}(\beta_2^S) / \text{antilog}(\beta_2^T) = \text{antilog}(\beta_2^S - \beta_2^T)$$

各種の生物検定法・直接法

直接法

- ◆ 同じ反応が得られまで投与量を増加する
- ◆ S薬の投与量の平均値とU (Unknown) 薬の平均値を求める
- ◆ 効力比: \bar{x}_S / \bar{x}_U
- ◆ 効力比の基本
- ◆ 投与量の対数をとれば, 差の95%信頼区間のantilogから効力比の95%信頼区間が求まる

平均値の比を直接推定

◆ ダミー変数: z_1

S薬のとき 1, U薬のとき 0

◆ 回帰分析

$$y = \beta_0 + \beta_1 z_1$$

S薬の平均値: $\hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1$ U薬の平均値: $\hat{\beta}_0$

◆ 効力比: $(\hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1) / \hat{\beta}_0 = 1 + \hat{\beta}_1 / \hat{\beta}_0$

◆ 効力を含む式: $y = \beta_0 (1 + (\beta_1 / \beta_0 - 1) z_1)$

◆ 効力比: $\beta_2 = 1 + \beta_1 / \beta_0$

NLINによる推定

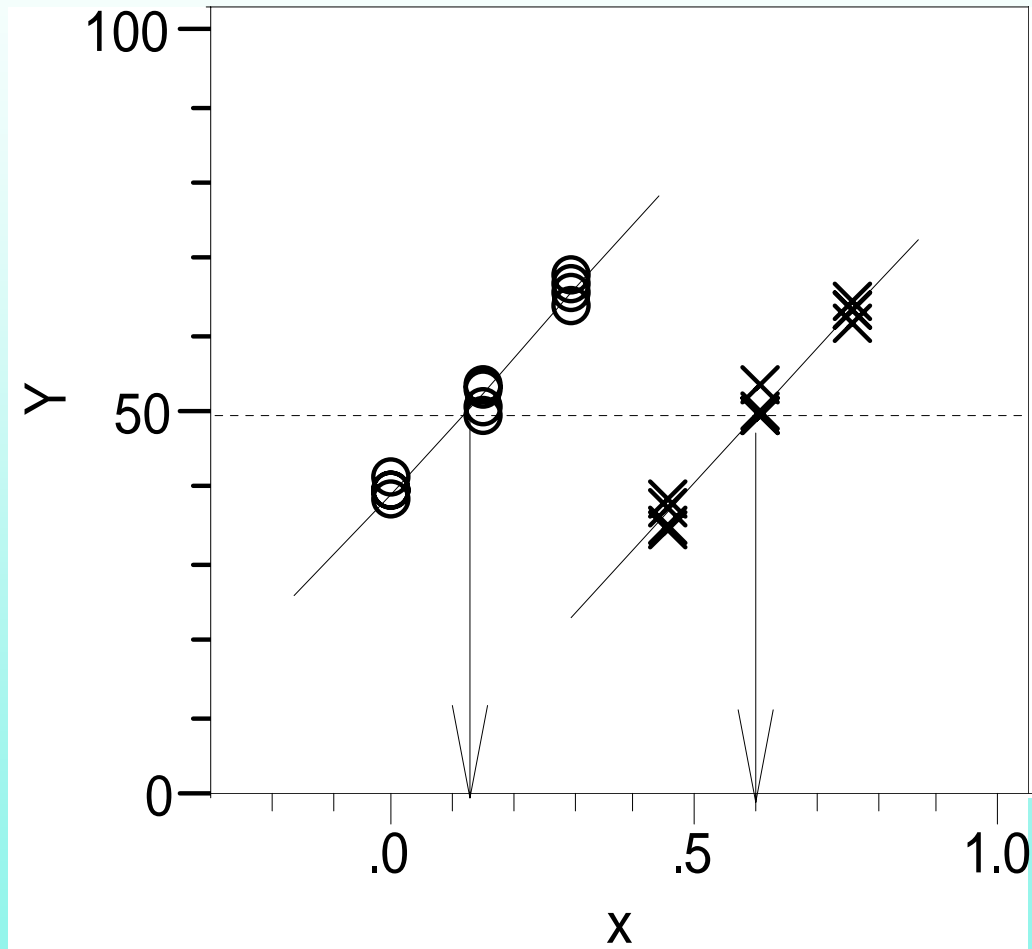
```
proc nlin data=d01 ;  
    parms b0_U 7 b2_r 1 ;  
    model y = b0_U * (1 + (b2_r - 1) * z1 ) ;  
run ;
```

計算の簡便化した平行線検定法

モルモット回腸の収縮量

substanse	dose	log10: x	1	2	3	4
histamine	1.00	0.000	42	40	39	40
	1.41	0.149	51	53	50	54
	2.00	0.301	67	68	66	64
u_histamine	2.83	0.452	37	38	35	34
	4.00	0.602	49	50	49	53
	5.66	0.753	63	61	64	63

平行線のあてはめ



対称計画

- ◆ 2×3 点法, 2×2 点法など
 - 標準検体Sと未知検体Uの用量数を等しく
 - 用量の公比を等しく
 - 各用量での繰り返し数が等しい
 - 対称計画 Symmetric design
- ◆ 直交多項式を用いて計算を簡素化
- ◆ 多くの実験計画で使われていた古典的方法
- ◆ 通常の平行線検定法を行なえばよい

変則的な2x3点法

- ◆ 一方の検体の量が少ない
- ◆ 実験上の誤り,あるいは直線性のくずれ
- ◆ $2 \times k$ 点法を利用できない
- ◆ この場合も通常の平行線検定法を行なえばよい

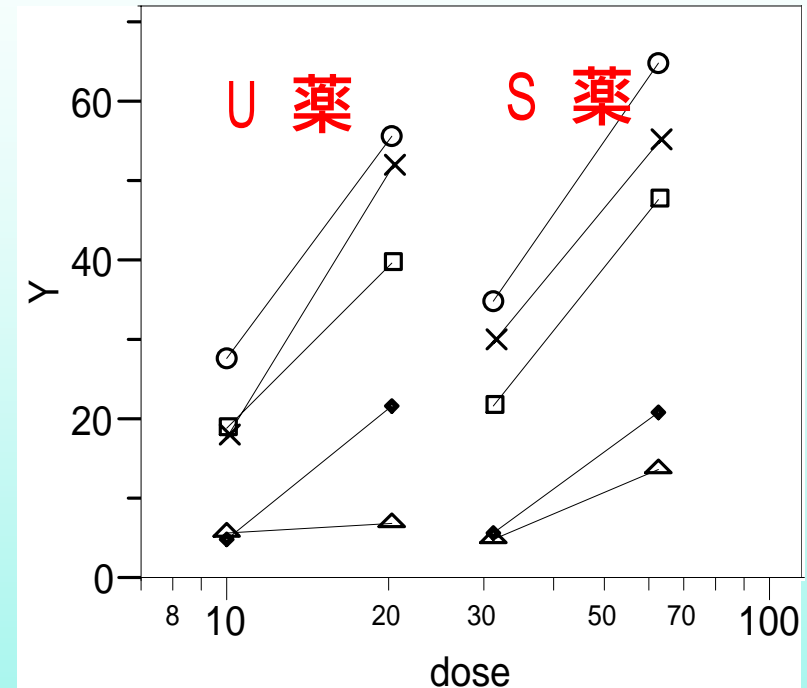
乱塊法による平行線検定

◆ Thiopentalの点滴注入の例

substance	dose	症例				
		1	2	3	4	5
thiopental (S)	31.5	35	30	5	22	6
	63.0	65	55	14	48	21
metohexital (U)	10.2	28	18	6	19	5
	20.4	56	52	7	40	22

解析の考え方

- ◆ 症例についてインディケータ型のダミー変数を使って非線形最小2乗法で解ける



```
proc nlin data=d02 ;
  parms  b1 -21      b2T 1.0      b2diff 0.5 ;
  model  y = - b1 * ( ( b2U + b2diff*z1 ) - x ) + 30 ;
```

ここに症例のダミー変数

勾配比検定法

菌の増殖の例

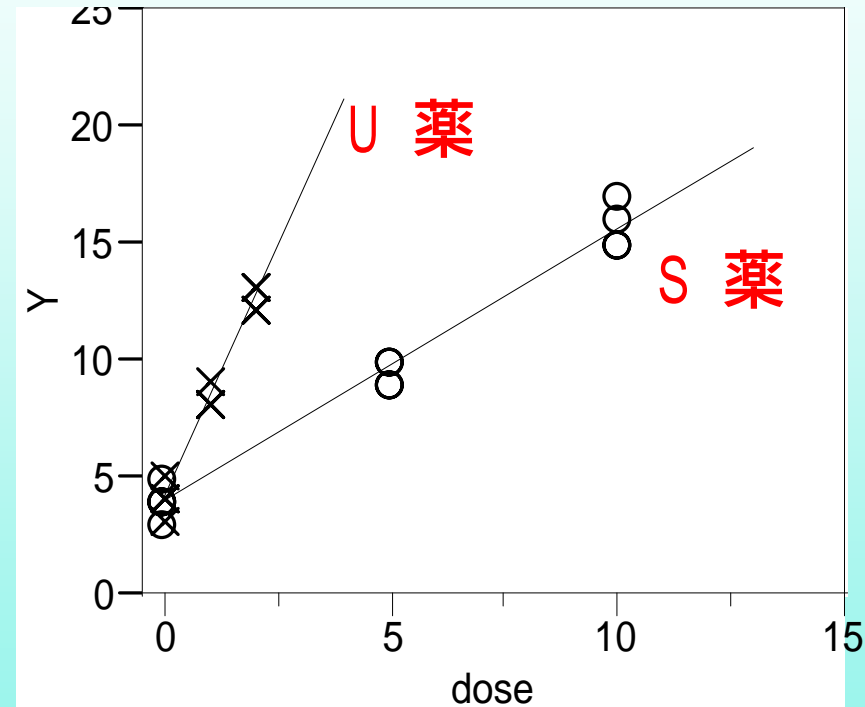
substance	dose	繰返			
		1	2	3	4
blank	0	3	4	4	5
nicotinic acid	5	10	9	9	10
	10	17	16	15	15
unknown	1	8	8	9	8
	2	12	13	12	13

モデル式

切片が共通
傾きが異なる

$$y = \beta_0 + (\beta_{1(S)} z_1 + \beta_{1(U)} z_2) x$$

$$y = \beta_0 + \beta_{1(S)} \left(z_1 + \frac{\beta_{1(U)}}{\beta_{1(S)}} z_2 \right) x$$



ここを β_2 とする

反応が2値の場合の応用

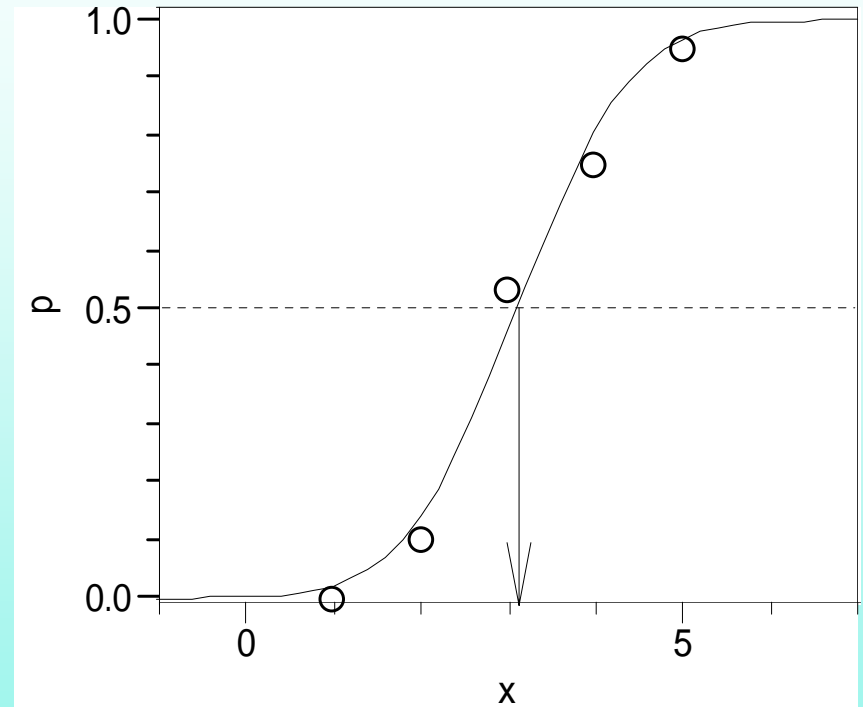
NLIN による最尤法

***D50* の推定はプロビット法**

- ◆ 反応が2値の場合の代表的な生物検定法
- ◆ 反応率に正規分布をあてはめて反応が50%となる用量を逆推定する
- ◆ SASではPROBITが専用のプロシジャ
- ◆ 複数の化合物の50%反応量から効力比とその信頼区間の計算は、PROBITプロシジャではサポートされていない

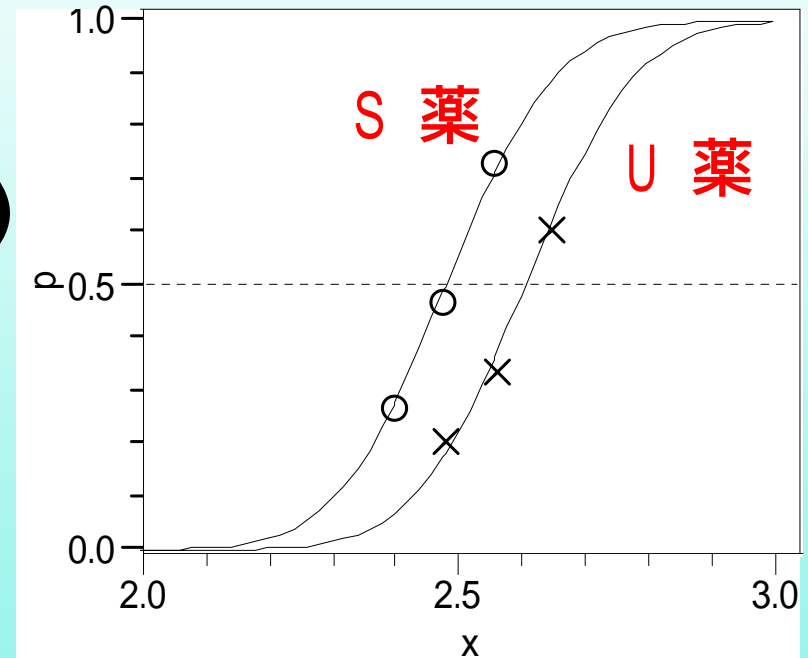
2値データの用量反応曲線

- ◆ 正規分布のあてはめ
 - プロビット法
- ◆ ロジスティック曲線
 - ロジット法
- ◆ 反応が2項分布
 - 最小2乗法が使えない
 - 最尤法の使用



効力比と95%信頼区間の例

- ◆ U薬 (×) の $D50$
 $\text{antilog}(2.6084)$
- ◆ S薬 (○) の $D50$
 $\text{antilog}(2.6084 - 0.1255)$
- ◆ 効力比
 $D50_S / D50_U$
 $\text{antilog}(-0.1255)$
0.749 倍



NLIN で最尤法

- ◆ 負の対数尤度を最小化することで実現
- ◆ 用量反応曲線
 - 正規分布でもロジスティック曲線どちらでも可
- ◆ ロジスティック回帰(2値反応)で効力比は不可
- ◆ パラメータについて線形でなければならない
 - $\log (p / (1-p)) = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2$
- ◆ 効力比の推定は、非線形となる

NLINで最尤法による効力比

```
proc nlin data=d01 method=newton sigsq=1;  
  parms b1 10 b2U 2.6 b2diff -0.1 ;  
  eta = b1*(-(b2U + b2diff*z1) + x ) ;  
  pai = probnorm(eta); /* こちらは probit */  
  * pai=1/(1+exp(-eta)); /* こちらは logit */  
  model.like = sqrt( -2*(r*log(pai)  
                      + (n-r)*log(1-pai)) ) ;  
  ods output ParameterEstimates=parm ;
```


NLIN の95%信頼区間

- ◆ 誤差の自由度を考慮した t 分布を使用
- ◆ 2値反応は正規分布を過程
- ◆ 95%信頼区間の計算で正規分布を使用
 - 再計算が必要となる

```
data parm ;  
set parm ;  
z05 = probit(0.975) ;  
L95 = Estimate - z05*StdErr ;  
U95 = Estimate + z05*StdErr ;
```

応用範囲の拡大

◆ 自然反応がある場合

- 反応が 0% ではなく 10% から始まるような場合

◆ 免疫反応があるような場合

- 反応が 100% ではなく、90% のように用量をあげても 100% 反応しない場合

まとめ

- ◆ 生物検定法は 逆推定と効力比の統計
- ◆ SASの生物検定法はPROBITプロシジャのみ
- ◆ ダミー変数を用いたNLINプロシジャで、生物検定法の全ての問題が解ける
- ◆ 非線形最小2乗法の基本的な使い方を線形最小2乗法と対比した

ご清聴ありがとうございました