第 2 期 医薬安全性研究会　基礎セミナー
◇ 日時：2014 年 6 月 7 日 （土） 10:00～12:00
◇ 場所：日本科学技術連盟，1 号館，3 階 講堂
協賛：サイエンティスト社

「じっくり勉強すれば身につく統計解析」を副題としたシリーズ全 3 巻がサイエンティスト社から刊行されている．タイトルは「医薬品開発のための統計解析，第 1 部 基礎，第 2 部 実験計画法，第 3 部 非線形モデル」（芳賀グリーン本）である．本シリーズは，「医薬品開発のための統計解析講座」（SAS Institute Japan（株）JMP ジャパン事業部主催，年 12 回）のテキストとして使用されてきた．この本を題材として，基礎セミナーを，第 1 回目：「基本統計量とデータの比較」，第 2 回目：「回帰モデル」，第 3 回目：「共分散分析」，第 4 回目：「多重比較」，第 5 回目：「ロジスティック回帰」，第 6 回目：「効力比」第 7 回目：「回帰分析の基礎の基礎」と題して開催してきた．

第 8 回目の今回は，第 2 部実験計画法の 3.1 節 質的因子の乱塊法，及び 6.4 節 交差試験を元に，午後のテーマである「クロスオーバー法」の基礎を解説する．

クロスオーバー法は，生物学的同等性試験で標準的に用いられている実験計画であり，主に 2×2 のデザインで実施されていて，旧医薬安全性研究会でもしばしばテーマとして取り上げられてきたが，その統計解析については，定式化が行われており，第 2 期医薬安全性研究会では，これまでテーマとして取り上げてこなかった．午後の定例会で取り上げる「大動物を用いたテレメトリー法による QT/QTc 試験」においては，4×4 のクロスオーバー法が標準的に採用されているが，その統計解析については実験者によってまちまちであり定式化が進んでいない．そこで，基礎となる実験計画の考え方，統計解析の考え方を示してから，関連の深い乱塊法に関して次に解説し，最後にラテン方格等のクロスオーバー法の実験デザイン及びデータ解析方法について解説を行う．

じっくり勉強すれば身につく統計入門
クロスオーバー法の基礎

質的因子の乱塊法

2014年6月7日
小野薬品工業（株）
本田主税

はじめに

「じっくり勉強すれば身につく統計入門」の発表も8回目となりました

今回は
『医薬品開発のための統計解析　第**2**部
実験計画法』から「質的因子の乱塊法」及び
「交差試験」をとりあげ，午後のテーマである
「クロスオーバー法」の基礎を解説します

参照するファイルはサイエンティスト社のHPからダウンロードできます

http://www.scientist-press.com/12_287.html

通称：グリーン本

発表内容

（0） 実験計画法の基礎

- Sir R.A.Fisher (1890 – 1962)により確立された

イギリス生まれ, 20世紀最大の統計学者
ロザムステッド農事試験場の統計研究員
遺伝学・進化生物学者でもあった

実験計画法とは
①どのような計画を立てデータを採取すればよいのか
②そのデータをどのように解析すればよいのか
についての統計的方法論の総称です

実験計画法

①どのような計画を立てればよいのか

Fisherの3原則
- 反復 (Replication) →誤差分散の評価
- 無作為化 (Randomization)→系統誤差の偶然誤差への転化
- 局所管理 (Local control) →系統誤差の除去

⇒サンプリング方法の確立 （その集大成が乱塊法）

②そのデータをどのように解析すればよいのか

どの要因が観測値に影響を与えているのか
それがどのくらいの大きさなのか計る方法の定式化

⇒統計モデルと分散分析の方法論の確立

乱塊法に入る前に，統計モデルと分散分析の基礎からお話しします

統計モデル（構造式）とは？

観測値＝ μ ＋ 要因効果の和 ＋ ε

データは統計モデルに基づいて得られた観測値であると考えます

各要因効果の制約式
$\varepsilon \sim N(0, \sigma^2)$

μ 各要因効果の平均をすべて併せたもの
総平均（general mean）と呼びます

要因効果 通常0になるような制約を置きます（以下，効果と記載）
パラメーターの無駄をなくすためです

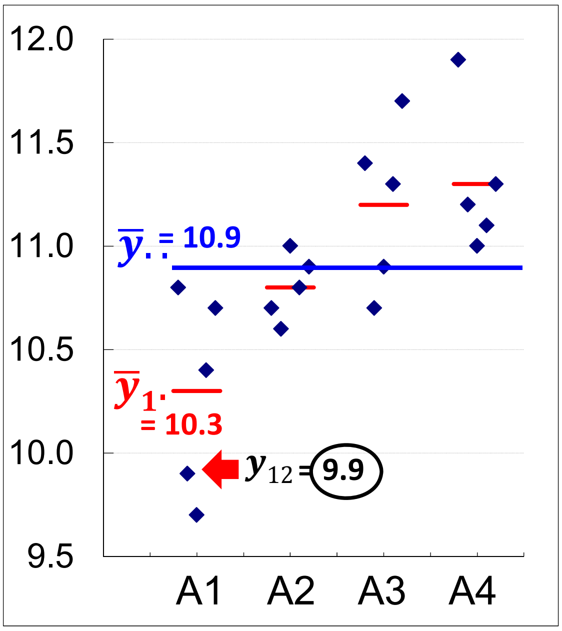
ε 誤差（pure error）
互いに独立に，平均0の同じ分散の正規分布に従うと仮定します

まずは統計モデルに慣れよう

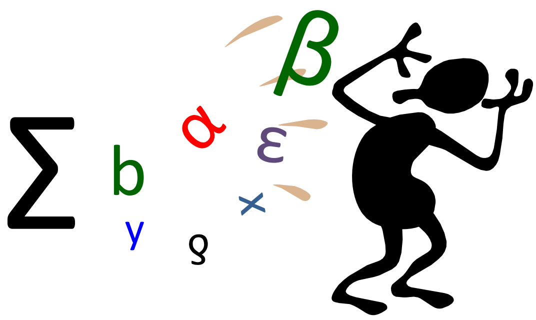
薬剤を4つの群（A1～4），各5匹の動物に投与したデータを考える

y_{ij} 観測値 群数i ↓	繰り返しj 1	2	3	4	5	$\bar{y}_{i\cdot}$
A1	10.8	**9.9**	9.7	10.4	10.7	**10.3**
A2	10.7	10.6	11.0	10.8	10.9	10.8
A3	11.4	10.7	10.9	11.3	11.7	11.2
A4	11.9	11.2	11.0	11.1	11.3	11.3

iは群数
jは繰り返し数



このデータを　一因子（一元配置）
モデルに基づいて分解してみましょう！



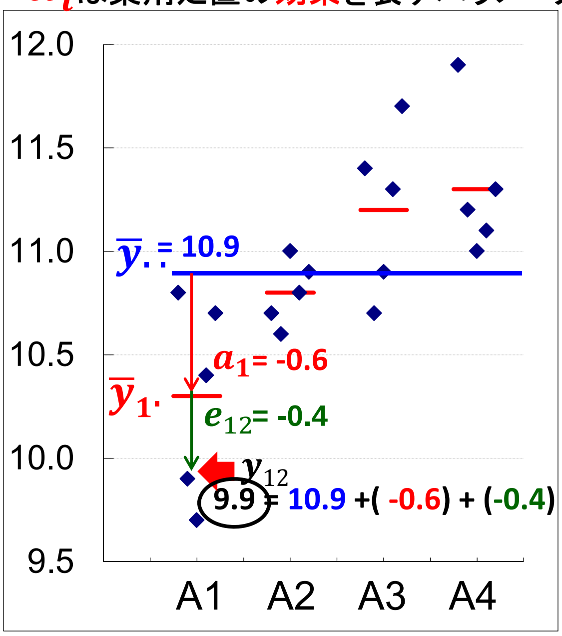
データの構造と分解

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

＝ 総平均 ＋ 効果 ＋誤差

$\sum \alpha_i = 0 \quad \varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$

α_iは薬剤処置の効果を表すパラメータ



$$y_{ij} = \bar{y}_{\cdot\cdot} + \quad a_i \quad + e_{ij}$$
$$= \bar{y}_{\cdot\cdot} + (\bar{y}_{i\cdot} - \bar{y}_{\cdot\cdot}) + (y_{ij} - \bar{y}_{i\cdot})$$

y_{ij} 観測値	1	2	3	4	5	$\bar{y}_{i\cdot}$
A1	10.8	**9.9**	9.7	10.4	10.7	10.3
A2	10.7	10.6	11.0	10.8	10.9	10.8
A3	11.4	10.7	10.9	11.3	11.7	11.2
A4	11.9	11.2	11.0	11.1	11.3	11.3

=

$\bar{y}_{\cdot\cdot}$ 総平均					
A1	10.9	**10.9**	10.9	10.9	10.9
A2	10.9	10.9	10.9	10.9	10.9
A3	10.9	10.9	10.9	10.9	10.9
A4	10.9	10.9	10.9	10.9	10.9

+

a_i 効果					
A1	-0.6	**-0.6**	-0.6	-0.6	-0.6
A2	-0.1	-0.1	-0.1	-0.1	-0.1
A3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
A4	0.4	0.4	0.4	0.4	0.4

縦方向に足すと0

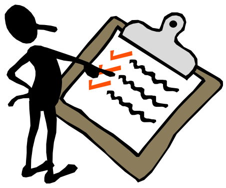
+

e_{ij} 残差 ＝ 誤差の推定値					
A1	0.5	**-0.4**	-0.6	0.1	0.4
A2	-0.1	-0.2	0.2	0.0	0.1
A3	0.2	-0.5	-0.3	0.1	0.5
A4	0.6	-0.1	-0.3	-0.2	0.0

横方向に足すと0

分散分析

要因効果の大きさを総合的にみるために
分散分析を行います



手順
①各成分の平方和を計算する(平方和の分解)
②各成分の平方和を自由度で割って平均平方(分散)を算出する
③残差と群効果の平均平方の比(分散比)をとり,F検定する

解析手順

①平方和の計算

y_{ij} = $\bar{y}..$ + a_i + e_{ij}

y_{ij}

	1	2	3	4	5
A1	10.8	9.9	9.7	10.4	10.7
A2	10.7	10.6	11.0	10.8	10.9
A3	11.4	10.7	10.9	11.3	11.7
A4	11.9	11.2	11.0	11.1	11.3

= $\bar{y}..$

10.9	10.9	10.9	10.9	10.9
10.9	10.9	10.9	10.9	10.9
10.9	10.9	10.9	10.9	10.9
10.9	10.9	10.9	10.9	10.9

+ a_i

-0.6	-0.6	-0.6	-0.6	-0.6
-0.1	-0.1	-0.1	-0.1	-0.1
0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
0.4	0.4	0.4	0.4	0.4

+ e_{ij}

0.5	-0.4	-0.6	0.1	0.4
-0.1	-0.2	0.2	0.0	0.1
0.2	-0.5	-0.3	0.1	0.5
0.6	-0.1	-0.3	-0.2	0.0

y_{12} = 9.9= 10.9 +(-0.6) + (-0.4) でしたね

$\bar{y}..$ を左辺に移項

$y_{ij} - \bar{y}..$ = a_i + e_{ij}

$y_{ij} - \bar{y}..$

-0.1	-1.0	-1.2	-0.5	-0.2
-0.2	-0.3	0.1	-0.1	0.0
0.5	-0.2	0.0	0.4	0.8
1.0	0.3	0.1	0.2	0.4

= a_i

-0.6	-0.6	-0.6	-0.6	-0.6
-0.1	-0.1	-0.1	-0.1	-0.1
0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
0.4	0.4	0.4	0.4	0.4

+ e_{ij}

0.5	-0.4	-0.6	0.1	0.4
-0.1	-0.2	0.2	0.0	0.1
0.2	-0.5	-0.3	0.1	0.5
0.6	-0.1	-0.3	-0.2	0.0

見やすさのため
途中の計算は
桁丸めしています

各成分を個々に2乗する

0.01	1.00	1.44	0.25	0.04
0.04	0.09	0.01	0.01	0.00
0.25	0.04	0.00	0.16	0.64
1.00	0.09	0.01	0.04	0.16

0.36	0.36	0.36	0.36	0.36
0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
0.16	0.16	0.16	0.16	0.16

0.25	0.16	0.36	0.01	0.16
0.01	0.04	0.04	0.00	0.01
0.04	0.25	0.09	0.01	0.25
0.36	0.01	0.09	0.04	0.00

jは5個なので
n=5ですよね

2乗した各成分を合計する

5.28 = **3.10** + **2.18**

S_T = S_A + S_e

$$\sum\sum(y_{ij} - \bar{y}..)^2 = \sum\sum(\bar{y}_{i\cdot} - \bar{y}..)^2 + \sum\sum(y_{ij} - \bar{y}_{i\cdot})^2$$

$$\sum\sum(\bar{y}_{i\cdot} - \bar{y}..)^2 = n\sum a_i^2, \quad \sum\sum(y_{ij} - \bar{y}_{i\cdot})^2 = \sum\sum e_{ij}^2$$

Sは平方和
(Sum of Square)
の略号です

解析手順

②平方和を自由度で割って平均平方（分散）を算出

自由度 νとは　自由に動ける個数（母数から拘束される数を差し引く）

$y_{ij} - \bar{y}_{..}$ = a_i + e_{ij}

-0.2	-1.0	-1.2	-0.5	-0.2
-0.2	-0.3	0.1	-0.1	0.0
0.5	-0.2	0.0	0.4	0.8
1.0	0.3	0.1	0.2	0.4

=

-0.6	-0.6	-0.6	-0.6	-0.6
-0.1	-0.1	-0.1	-0.1	-0.1
0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
0.4	0.4	0.4	0.4	0.4

+

0.5	-0.4	-0.6	0.1	0.4
-0.1	-0.2	0.2	0.0	0.1
0.2	-0.5	-0.3	0.1	0.5
0.6	-0.1	-0.3	-0.2	0.0

20個　　4個　　5個

20個算出するが，
1個は自動で定まる
20個-1個 = 19

iは4個あるが，和が
0と制約したから，
1個は自動で定まる
4個-1個　=　3

jは5個あるが，横の
和は0なので，
1個は自動で定まる．
(5-1)個×4個　=　16

ν_T　　ν_A　　ν_e

19　=　3　+　16

解析手順

②平方和を自由度で割って平均平方（分散）を算出

	S_T	S_A	S_e
平方和	5.28	3.10	2.18
自由度	ν_T 19	ν_A 3	ν_e 16
平均平方	MS_T = 0.278	MS_A = 1.033	MS_e = 0.136

平方和はデータ数が多くなれば必ず大きくなる

自由度で割ることで，要因のばらつきの大きさを比較できるようにする

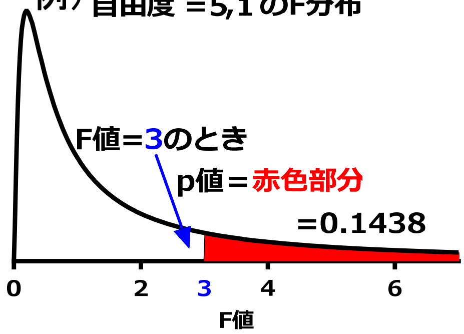
解析手順

③残差と効果の平均平方の比をとり，F検定する

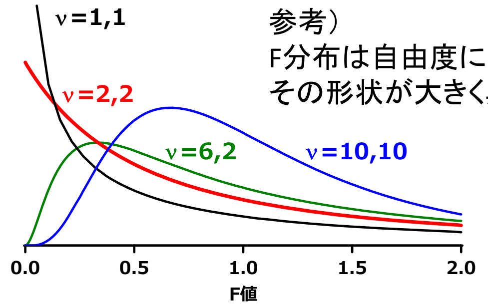
平均平方の比（MSA / MSe）を
F比 という

帰無仮説
$\alpha_1=\alpha_2=\cdots=0$が正しいとき，
このF比は理論的に自由度ν_A，ν_eの
F分布に従う．
この理論を用いて，調べたい要因が
有意かどうか検定する

例）自由度 =5,1 のF分布



数理の詳細及び
正確な記述は
グリーン本を参照
してください

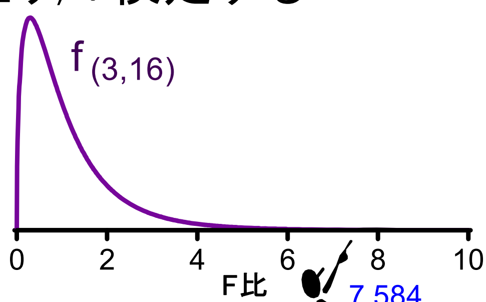


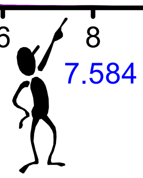
参考）
F分布は自由度によって
その形状が大きく異なる

解析手順

③残差と効果の平均平方の比をとり，F検定する

F比 （MSA / MSe ）
= 1.033/0.136
= 7.584





分散分析表

要因	平方和	自由度	平均平方	F比	p値
効果 A	3.10	3	1.033	7.584	0.0022
残差 e	2.18	16	0.136	1.000	
全体	5.28	19	0.278		

1を記載することで
F比の分母を明示
↓
誤差が複数ある
分析表の場合に
誤差項を特定しやすい

MSe/MSe
=0.136/0.136
=1.000

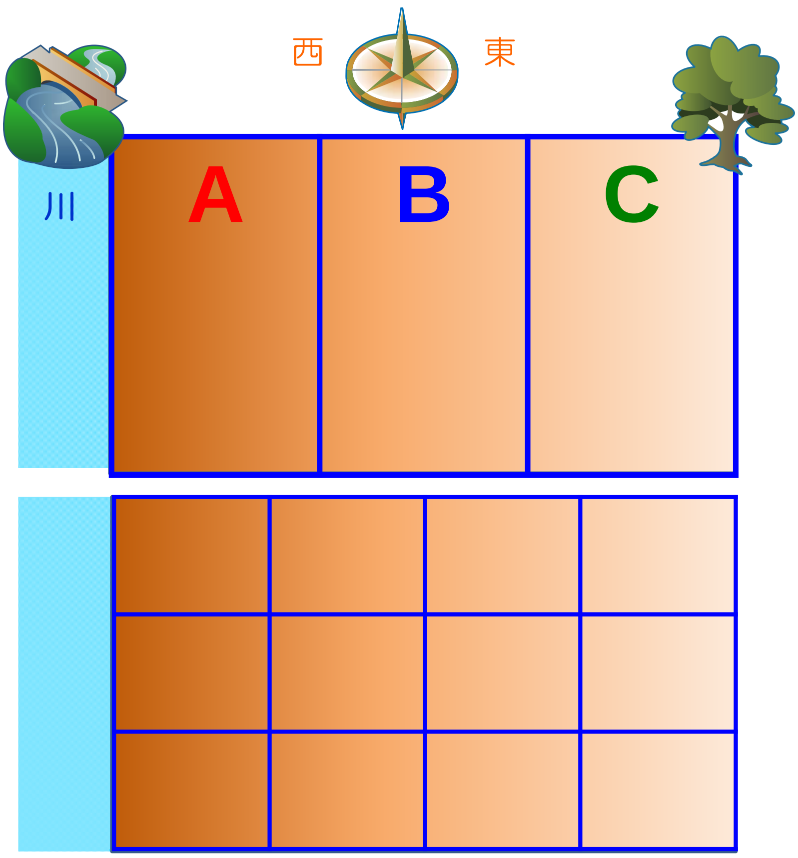
グリーン本の
特長

後半（福島さんのパート）で出てきます

群の平均平方は誤差のそれより
はるかに大きく　　　このことが
偶然で起こる確率は非常に小さい

(1) 乱塊法について

乱塊法実験



3種類の肥料A, B, C の効果を比較したい

実験農場は広いので場所によって水はけのよさや土地の肥沃の程度にはムラがある

そこで農場を12の区画に分け, それぞれの肥料を4つの区画で使用して栽培実験を行なうことにした. 各肥料を施す4つの区画をどのように割付けるかはランダムに決める

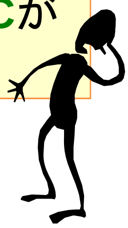
乱塊法実験の計画

西　東

A	B	C	C
B	C	B	B
A	A	A	C

偶然, 西に肥料A, 東に肥料Cが偏ってしまった！

そこで, Fisher は



農場全体を4**ブロック**にわけ, (ブロック間は条件が違う,局所管理)
ブロックを3**区分**にして, (ブロック内は均一, 反復)
肥料をブロック毎に1回ずつ**ランダム**に(無作為化) 割り当てた.

1	2	3	4
C	B	C	A
B	A	A	B
A	C	B	C

肥料 A, B, C の比較に与える
農地条件の違いの影響を小さくできた

このように
ランダム化にブロックを導入した実験方法を
乱塊法 (Randomized Block Design)
という.

(2)乱塊法の実験とデータ

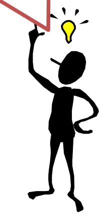
薬剤（A）を4群で各5匹の動物に投与する場合を考える
個体差を小さくするため, 同腹の新生仔を用いる
5匹の母獣から生まれた各4匹, 計20 匹の新生仔を準備する
同じ母獣から生まれた4 匹の新生仔をブロック（B）とし,
4群の内のどの群に割り当てるかはランダムに決める

ブロック(母獣)B →

薬剤 A

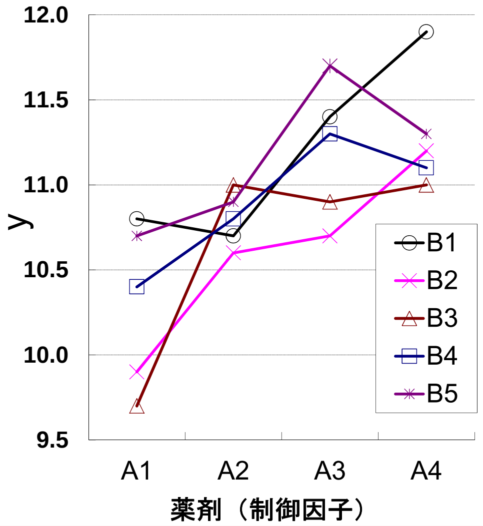
	B1	B2	B3	B4	B5	行平均
A1	10.8	9.9	9.7	10.4	10.7	10.30
A2	10.7	10.6	11.0	10.8	10.9	10.80
A3	11.4	10.7	10.9	11.3	11.7	11.20
A4	11.9	11.2	11.0	11.1	11.3	11.30
列平均	11.20	10.60	10.65	10.90	11.15	10.90

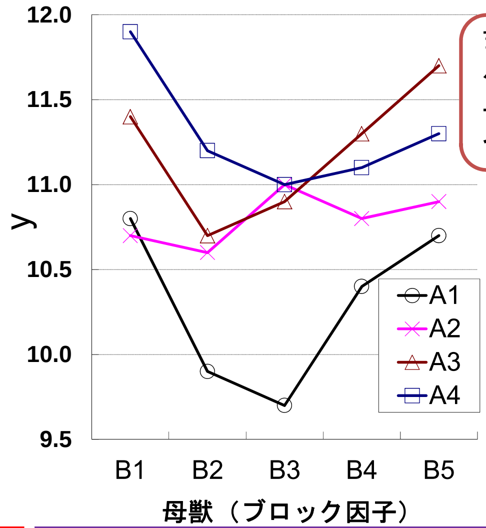
一因子実験と
数字は同じに
してあります



- この実験は薬剤の比較が目的であり,ブロック（母獣）は実験の誤差を小さくするために取り上げた因子である
- 本来の比較目的因子（ここでは薬剤）を制御因子,
- 制御因子の推定精度を上げるための因子をブロック因子という

乱塊法の実験とデータ(グラフ化)





薬剤 (制御因子) によって反応 y が どのように変化するか, ブロック毎に 線を結んだグラフ

母獣 (ブロック因子) によって反応 y が どのように変化するか, 薬剤毎に 線を結んだグラフ

母獣ごとに反応は違うが
薬剤A1→A4の方向で反応yが増加

薬剤ごとに反応は違うが
母獣B2, B3は反応が低くB1,B5は高い

(3) 乱塊法モデルとデータの分解

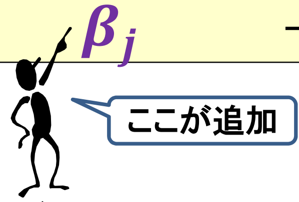
モデル

観測値＝総平均 ＋ 薬剤効果 ＋ブロック(母獣)効果＋誤差

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

制約条件 $\sum \alpha_i = 0$

$\beta_j \sim N(0, {\sigma_b}^2)$ $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$



乱塊法ではブロックの効果を追加したモデルを設定する
ブロック効果を表わす記号を β_jとする

ブロック効果にも合計＝0という制約を置くが, ブロック効果には 再現性がないので, 平均0, 分散${\sigma_b}^2$の正規分布に従うと考える

データの分解

薬剤 ＋ ブロック(母獣) ＋ 残差

$$y_{ij} = \bar{y}_{..} + a_i + b_j + e_{ij}$$

$$= \bar{y}_{..} + (\bar{y}_{i.} - \bar{y}_{..}) + (\bar{y}_{.j} - \bar{y}_{..}) + (y_{ij} - (\bar{y}_{..} + \bar{y}_{i.} + \bar{y}_{.j}))$$

$$y_{ij} - (\bar{y}_{..} + a_i + b_j)$$

解析手順（データに欠損がない場合のみ）

①平方和の計算

※データが群間でアンバランスな場合はこの手順は使えません

$$
\underset{y_{ij}}{\begin{bmatrix} 10.8 & 9.9 & 9.7 & 10.4 & 10.7 \\ 10.7 & 10.6 & 11.0 & 10.8 & 10.9 \\ 11.4 & 10.7 & 10.9 & 11.3 & 11.7 \\ 11.9 & 11.2 & 11.0 & 11.1 & 11.3 \end{bmatrix}}
=
\underset{\bar{y}..}{\begin{bmatrix} 10.9 & 10.9 & 10.9 & 10.9 & 10.9 \\ 10.9 & 10.9 & 10.9 & 10.9 & 10.9 \\ 10.9 & 10.9 & 10.9 & 10.9 & 10.9 \\ 10.9 & 10.9 & 10.9 & 10.9 & 10.9 \end{bmatrix}}
+
\underset{a_i}{\begin{bmatrix} -0.60 & -0.60 & -0.60 & -0.60 & -0.60 \\ -0.10 & -0.10 & -0.10 & -0.10 & -0.10 \\ 0.30 & 0.30 & 0.30 & 0.30 & 0.30 \\ 0.40 & 0.40 & 0.40 & 0.40 & 0.40 \end{bmatrix}}
+
\underset{b_j}{\begin{bmatrix} 0.30 & -0.30 & -0.25 & 0.00 & 0.25 \\ 0.30 & -0.30 & -0.25 & 0.00 & 0.25 \\ 0.30 & -0.30 & -0.25 & 0.00 & 0.25 \\ 0.30 & -0.30 & -0.25 & 0.00 & 0.25 \end{bmatrix}}
+
\underset{e_{ij}}{\begin{bmatrix} 0.20 & -0.10 & -0.35 & 0.10 & 0.15 \\ -0.40 & 0.10 & 0.45 & 0.00 & -0.15 \\ -0.10 & -0.20 & -0.05 & 0.10 & 0.25 \\ 0.30 & 0.20 & -0.05 & -0.20 & -0.25 \end{bmatrix}}
$$

$\bar{y}..$を左辺に移項

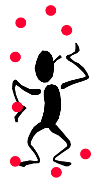
$$
\underset{y_{ij} - \bar{y}..}{\begin{bmatrix} -0.1 & -1.0 & -1.2 & -0.5 & -0.2 \\ -0.2 & -0.3 & 0.1 & -0.1 & 0.0 \\ 0.5 & -0.2 & 0.0 & 0.4 & 0.8 \\ 1.0 & 0.3 & 0.1 & 0.2 & 0.4 \end{bmatrix}}
=
\underset{a_i}{\begin{bmatrix} -0.60 & -0.60 & -0.60 & -0.60 & -0.60 \\ -0.10 & -0.10 & -0.10 & -0.10 & -0.10 \\ 0.30 & 0.30 & 0.30 & 0.30 & 0.30 \\ 0.40 & 0.40 & 0.40 & 0.40 & 0.40 \end{bmatrix}}
+
\underset{b_j}{\begin{bmatrix} 0.30 & -0.30 & -0.25 & 0.00 & 0.25 \\ 0.30 & -0.30 & -0.25 & 0.00 & 0.25 \\ 0.30 & -0.30 & -0.25 & 0.00 & 0.25 \\ 0.30 & -0.30 & -0.25 & 0.00 & 0.25 \end{bmatrix}}
+
\underset{e_{ij}}{\begin{bmatrix} 0.20 & -0.10 & -0.35 & 0.10 & 0.15 \\ -0.40 & 0.10 & 0.45 & 0.00 & -0.15 \\ -0.10 & -0.20 & -0.05 & 0.10 & 0.25 \\ 0.30 & 0.20 & -0.05 & -0.20 & -0.25 \end{bmatrix}}
$$

各成分を個々に2乗して足し合わせると

総平方和 = 薬剤効果の平方和 ＋ブロック（母獣）効果の平方和 ＋ 残差平方和

$$S_T = S_A + S_B + S_e$$

$$5.28 = 3.10 + 1.22 + 0.96$$



自由度 ν の計算

$$\nu_T = \nu_A + \nu_B + \nu_e$$

$$5 \times 4 - 1 \quad 4-1 \quad 5-1 \quad (4-1) \times (5-1)$$

$$19 = 3 + 4 + 12$$

解析手順（データに欠損がない場合のみ）

※データが群間でアンバランスな場合はこの手順は使えません

②平均平方の計算

$$\frac{S_T}{\nu_T} \; \frac{5.28}{19} \qquad \frac{S_A}{\nu_A} \; \frac{3.10}{3} = MS_A = 1.033 \qquad \frac{S_B}{\nu_B} \; \frac{1.22}{4} = MS_B = 0.305 \qquad \frac{S_e}{\nu_e} \; \frac{0.96}{12} = MS_e = 0.080$$

F比の計算

$$\frac{MS_A}{MS_e} \; \frac{1.033}{0.080} = F_A = 12.92 \qquad \frac{MS_B}{MS_e} \; \frac{0.305}{0.080} = F_B = 3.81$$

p値の計算

p_A FDIST(12.92,3,12) =0.0005

p_B FDIST(3.81,4,12) =0.0318

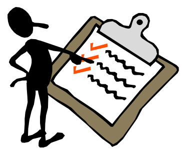
FDIST：F分布の確率関数の上側確率を返すExcel関数
Excel 2010以降は FDIST⇒F.DIST.RT

分散分析を行う前に　分解したデータをじっくり見てみよう

データの分解を簡潔にした表

薬剤＼ブロック	B1	B2	B3	B4	B5	薬剤効果 a_i
A1	0.20	-0.10	-0.35	0.10	0.15	-0.60
A2	-0.40	0.10	0.45	0.00	-0.15	-0.10
A3	-0.10	-0.20	-0.05	0.10	0.25	0.30
A4	0.30	0.20	-0.05	-0.20	-0.25	0.40
ブロック効果 b_j	0.30	-0.30	-0.25	0.00	0.25	10.90　総平均 $\bar{y}_{..}$

ここで，A1B1 のデータを見てみると…



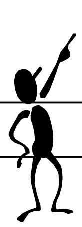
$$\underset{y_{11}}{10.8} - (\underset{\bar{y}_{..}}{10.90} + (\underset{a_1}{-0.60}) + \underset{b_1}{0.30}) = \underset{e_{11}}{0.20}$$

この値は，先の一元配置分散分析で計算された残差**0.50**から
ブロックの**0.30**を引いた値と同じである
つまり，1因子実験では残差とされた **0.50**のうち **0.30** は
ブロックの効果として説明できたことになる

(4) 乱塊法の分散分析表

③分散分析表の作成

要因	平方和	自由度	平均平方	F比	p値
薬剤 A	3.10	3	1.033	12.92	0.0005
ブロック B	1.22	4	0.305	3.81	0.0318
残差 e	0.96	12	0.080	1.00	
全体	5.28	19			



ブロック効果が大きい

系統的な誤差が含まれることが予想されるとき，それをブロック因子として実験を計画すると，F比の分母から系統的な誤差を除くことができ，制御因子の効果の検出力を高められる

(5) 乱塊法と一因子実験の比較

乱塊法

観測値＝総平均＋薬剤効果＋ブロック効果＋誤差

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$$

$\sum \alpha_i = 0 \quad \beta_j \sim N(0, \sigma_b^2) \quad \varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$

ブロック →

薬剤	B1	B2	B3	B4	B5
A1	10.8	9.9	9.7	10.4	10.7
A2	10.7	10.6	11.0	10.8	10.9
A3	11.4	10.7	10.9	11.3	11.7
A4	11.9	11.2	11.0	11.1	11.3

数字は同じ
構造異なる

要因	平方和	自由度	平均平方	F比	p値
薬剤 A	3.10	3	1.033	12.92	0.0005
ブロック B	1.22	4	0.305	3.81	0.0318
残差 e	0.96	12	0.080	1.00	
全体	5.28	19			

平方和 1.22+ 0.96 = 2.18

自由度 4+12 = 16

一因子実験

観測値＝総平均＋ 効果 ＋ 誤差

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

$\sum \alpha_i = 0 \quad \varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$

効果					
A1	10.8	9.9	9.7	10.4	10.7
A2	10.7	10.6	11.0	10.8	10.9
A3	11.4	10.7	10.9	11.3	11.7
A4	11.9	11.2	11.0	11.1	11.3

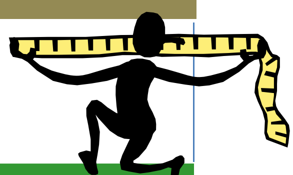
要因	平方和	自由度	平均平方	F比	p値
効果 A	3.10	3	1.033	7.58	0.0022
残差 e	2.18	16	0.136	1.00	
全体	5.28	19			

平方和と自由度の関係

全体

全体

S_T 5.28 (ν=19)



一因子実験

効果 | 残差

S_A 3.10 (ν=3) | S_e 2.18 (ν=16)

乱塊法

薬剤 | ブロック | 残差

S_A 3.10 (ν=3) | S_B 1.22 (ν=4) | S_e 0.96 (ν=12)

この関係は群間で例数がアンバランスな場合は成立しない
アンバランスの場合の解析については書籍を参照

（6）平均値の差の検定

①2群の平均値の差の標準誤差を計算する

乱塊法

要因	平方和	自由度	平均平方	F比	p値
薬剤 A	3.10	3	1.033	12.92	0.0005
ブロック B	1.22	4	0.305	3.81	0.0318
残差 e	0.96	12	0.080	1.00	
全体	5.28	19			

一因子実験

要因	平方和	自由度	平均平方	F比	p値
効果 A	3.10	3	1.033	7.58	0.0022
残差 e	2.18	16	0.136	1.00	
全体	5.28	19			

標準誤差の計算

- ✓ 残差の平均平方を 群内データの個数b =5で割る
- ✓ 2倍する（分散の加法性）
- ✓ 平方根を取る

乱塊法：

$$\sqrt{\frac{2\times MS_e}{b}} = \sqrt{\frac{2\times \boxed{0.080}}{5}} = \mathbf{0.179}$$

一因子実験：

$$\sqrt{\frac{2\times \boxed{0.136}}{5}} = \mathbf{0.233}$$

アンバランスの場合は別の計算が必要です
（本セミナーでは扱いません）

（6）平均値の差の検定

②計算した標準誤差からt値を算出し，検定する

乱塊法

ブロック効果を除いた平均値の差の検定

vs	差	標準誤差	t値	p値
A1 A2	-0.50	0.179	-2.80	0.0160
A1 A3	-0.90	0.179	-5.03	0.0000
A1 A4	-1.00	0.179	-5.59	0.0000
A2 A3	-0.40	0.179	-2.24	0.0450
A2 A4	-0.50	0.179	-2.80	0.0160
A3 A4	-0.10	0.179	-0.56	0.5860

A1とA2の差の検定の計算式

t値
＝ -0.50 / **0.179** ＝ -2.80

p値※
＝ TDIST(ABS(-2.80),12,2) ＝0.0160

一因子実験

平均値の差の検定（分散はプール）

vs	差	標準誤差	t値	p値
A1 A2	-0.50	0.233	-2.14	0.0479
A1 A3	-0.90	0.233	-3.86	0.0014
A1 A4	-1.00	0.233	-4.28	0.0006
A2 A3	-0.40	0.233	-1.71	0.1059
A2 A4	-0.50	0.233	-2.14	0.0479
A3 A4	-0.10	0.233	-0.43	0.6741

A1とA2の差の検定の計算式

t値
＝ -0.50 / **0.233** ＝-2.14

#丸め誤差あり

p値
＝ TDIST (ABS(-2.14),16,2) =0.0479

t分布の確率関数　絶対値　ve 残差の自由度　両側確率の指定

ブロック効果を除くことで
検出力が向上した

t値の二乗の平均12.92は薬剤AのF値に一致

t値の二乗の平均は7.58は効果AのF値に一致

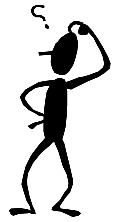
※Excel2010以降はT.DIST.2T関数

（7）乱塊法計画の留意点

✓ 乱塊法を用いても検出感度が上がらない場合がある

どんなとき？

個体差がとても小さい とき
誤差の自由度がとても小さい
（群数，例数がともに少ない）とき



乱塊法

要因	平方和	自由度	平均平方	F比	p値
薬剤 A	3.10	3	1.033	12.92	0.0005
ブロック B	1.22	4	0.305	3.81	0.0318
残差 e	0.96	**12**	**0.080**	1.00	
全体	5.28	19			

一因子実験

要因	平方和	自由度	平均平方	F比	p値
効果 A	3.10	3	1.033	7.58	0.0022
残差 e	2.18	**16**	**0.136**	1.00	
全体	5.28	19			

残差の平均平方が小さくなる点では，乱塊法は検定精度が高い
誤差の自由度が小さくなる点では，乱塊法は検定精度が低い

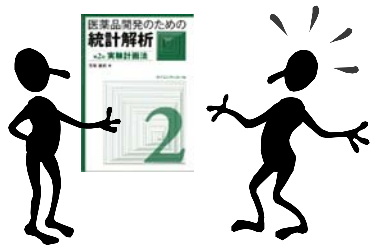
一般に

誤差の自由度を 10以上確保できるなら，ほとんどの場合　乱塊法が有利
10未満だからダメというわけではない！ブロック効果の大きさに依存する

対象とする実験の性質をじっくりと考察して決めましょう

（8）コメント

- 本セミナーでは，質的因子の乱塊法のみ紹介しました．量的因子への拡張も可能ですが，時間とレベルの関係で割愛しました
- 乱塊法は例数がアンバランスの場合，本日お話ししたようなデータの分解ができません．実際の解析はJMPなどのソフトウェアで行うことになります
- ソフトウェアを使った解析は，解析の前提や過程がブラックボックス化されがちで，解析者は数値の意味を考えなくなる危険があります．グリーン本はその点を実務家目線でじっくりと丁寧に解説しており，大変優れています
- 統計モデルを理解すれば，より柔軟な発想で，目的に適した実験と解析が合理的に行えます．この後お話しする交差試験もその好例です．
  グリーン本を手に取り，じっくり学習した読者には，そのチャンスが訪れることでしょう



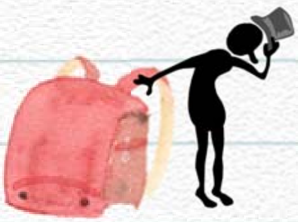
（9）まとめ

今回の基礎セミナーは

クロスオーバー法の基礎をつける目的で企画されました

前半のパートでは

- ✓ 実験計画法の基礎をじっくり，模式的に解説しました
- ✓ 興味ある処置の効果を精度よく見積もるために，乱塊法の実験計画と解析を解説しました
- ✓ ブロック効果を誤差から分離するという発想は，交差試験の計画と解析に応用することができます



福島さん
引き続き，ラテン方格と交差
試験の解説をお願いします

補足資料　統計モデルと用語の整理

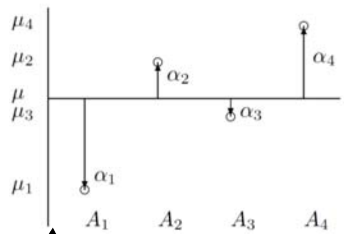
統計モデル

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

観測値＝総平均 ＋ 効果 ＋ 誤差

制約条件 $\sum \alpha_i = 0$　$\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$

パラメータの無駄をなくすため



用語の整理

統計モデルの分布を特徴づける要素を**パラメータ**（**Parameter**）といい，慣例的に**ギリシャ文字**で表す

パラメータを推定するときに使う統計量を**推定量**（**Estimator**）といい，慣例的に**ローマ字**で表す．　実際の観測値から計算した値は**推定値**（**Estimate**）という

μ　：総平均を表すパラメータ
$\bar{y}_{..}$ ：総平均の推定量

α_i　：効果を表すパラメータ
a_i　：効果の推定量

ε_{ij}　：誤差を表すパラメータ
e_{ij}　：誤差の推定量⇒推定値を残差とよぶ

モデルに基づいたデータの分解

$$y_{ij} = \bar{y}_{..} + a_i + \underbrace{e_{ij}}_{\text{残差}}$$
$$= \bar{y}_{..} + (\bar{y}_{i\cdot} - \bar{y}_{..}) + (y_{ij} - \bar{y}_{i\cdot})$$

補足資料　添字の説明

水準	繰り返し						
	1	2	…	j	…	n	平均
A_1	y_{11}	y_{12}	…	y_{1j}	…	y_{1n}	$\bar{y}_{1\cdot}$
A_2	y_{21}	y_{22}	…	y_{2j}	…	y_{2n}	$\bar{y}_{2\cdot}$
…	…	…	…	…	…	…	…
A_i	y_{i1}	y_{i2}	…	y_{ij}	…	y_{in}	$\bar{y}_{i\cdot}$
…	…	…	…	…	…	…	…
A_a	y_{a1}	y_{a2}	…	y_{aj}	…	y_{an}	$\bar{y}_{a\cdot}$

第 i 水準の平均を $\bar{y}_{i\cdot}$で表す　　$\bar{y}_{i\cdot} = \dfrac{\sum_{j=1}^{n_i} y_{ij}}{n_i}$

添え字の ．は y_{ij} の i について平均したことを表す

$\bar{y}_{\cdot\cdot}$ 添え字の ．.は ij すべてについて平均したことを表す

じっくり勉強すれば身につく統計解析入門 クロスオーバー法の基礎：ラテン方格

2014年6月7日
アステラスリサーチテクノロジー株式会社
研究管理部
福島 慎二

発表内容

1. 交差試験とは
2. 簡単な例
3. 3つの薬剤の比較
4. 本日のまとめ

後半の部のはじめに

交差試験（Crossover Test）

- 前半で紹介した乱塊法をより高度にした方法
- 検定に用いる残差の平方和から，被験者間のばらつき，投与順序の影響などを取り除くことで，実験の効率を高める（検出力の向上）

後半では「グリーン本」第2部6.4節「交差試験」を参照しながら，詳細を紹介する

3

1. 交差試験とは

1因子実験：複数の薬剤（=1因子）の比較

- 誤差には，被験者間のばらつきが含まれる

乱塊法：被験者をブロックとし，同一被験者に複数の薬剤を投与し比較

- 誤差から被験者間のばらつきが除かれる
- ブロック内の実験順序はランダムに決定（全ての被験者の投与が A1→A2→A3→A4 も有り得る）

薬剤＼ﾌﾞﾛｯｸ						行平均
A1	10.8	9.9	9.7	10.4	10.7	10.30
A2	10.7	10.6	11.0	10.8	10.9	10.80
A3	11.4	10.7	10.9	11.3	11.7	11.20
A4	11.9	11.2	11.0	11.1	11.3	11.30
列平均	11.20	10.60	10.65	10.90	11.15	10.90

4

1. 交差試験とは

交差試験（Crossover Test）：同一被験者に時期を変えて異なる薬剤を投与し，その効果の違いを比較

- 投与順序はランダムに決定ではなく，バランスをとる（全被験者で A1→A2→A3→A4 にならないようにデザインする．以下への対応）
  - 前の薬剤の効果が残っている可能性
  - 投与による衰弱や馴化，ある特定の時期のノイズの可能性（時期効果）
  - 後半では脱落が増える可能性

1. 交差試験とは

非臨床試験で，複数の投与量で効果を検討する際にも交差試験は役立つ

- 投与順序はランダムに決定ではなく，バランスをとる（全被験者で 0→3→10 にならないようにデザインする．以下への対応）
  - ある特定の時期のノイズの可能性（時期効果）．左の用量漸増デザインでは投与量の効果と時期効果を区別できない
  - 後半では脱落が増える可能性

用量漸増法

	時期1	時期2	時期3
群1	0	3	10
群2	0	3	10
群3	0	3	10

クロスオーバー法

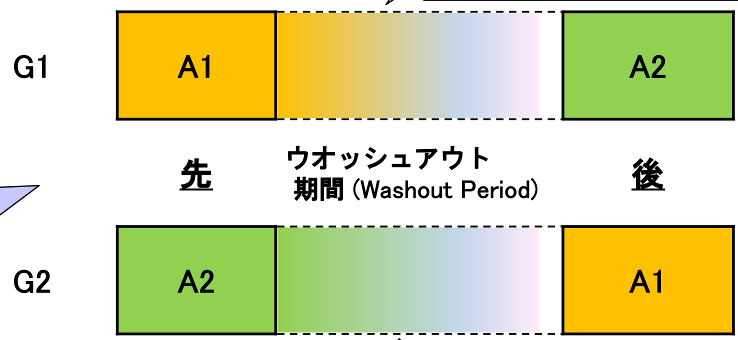
	時期1	時期2	時期3
群1	0	3	10
群2	10	0	3
群3	3	10	0

2. 簡単な例

- **2X2 Crossover Design (薬剤 A1 と A2 の比較)**
  2 群は無作為に割付ける

先の薬剤の効果が後の効果に与える影響が小さくなるように配慮する必要がある

第1群はA1 ⇒ A2,
第2群はA2 ⇒ A1の
順序で投与する



表示6.4.1 の左に, 10人の被験者を5人ずつの2群に分けて実施した実験データを示す

7

2. 簡単な例

- **A1とA2の比較**

「先・後」の 2 つの列には, 2 つの要因が関連しているので, 解析には注意が必要である

この解析は後にし, 群ごとに, 制御因子が 2 水準でブロック因子が 5 水準の乱塊法データと見て解析する

( )は投与薬剤

現実のデータでは ID 番号

表示6.4.1 交差試験データの解析(1)

群	被験者	先	後	平均
A1=>A2		(A1)	(A2)	
	1	32	37	34.5
	2	27	29	28.0
	3	32	36	34.0
	4	32	40	36.0
	5	37	40	38.5
	平均	32.0	36.4	34.2
A2=>A1		(A2)	(A1)	
	6	33	32	32.5
	7	32	30	31.0
	8	33	31	32.0
	9	25	26	25.5
	10	40	35	37.5
	平均	32.6	30.8	31.7

8

2. 簡単な例

各要因効果の和を 0 とする制約をおいている
(被験者効果のみは各群内での和が0)

■ データの構造と分解

データ

群	被験者	先	後
A1=>A2	1	32	37
	2	27	29
	3	32	36
	4	32	40
	5	37	40
A2=>A1	6	33	32
	7	32	30
	8	33	31
	9	25	26
	10	40	35

= 総平均 + 薬剤効果 + 時期(先後)効果

総平均		薬剤効果		時期(先後)効果	
32.95	32.95	−1.55	1.55	−0.65	0.65
32.95	32.95	−1.55	1.55	−0.65	0.65
32.95	32.95	−1.55	1.55	−0.65	0.65
32.95	32.95	−1.55	1.55	−0.65	0.65
32.95	32.95	−1.55	1.55	−0.65	0.65
32.95	32.95	1.55	−1.55	−0.65	0.65
32.95	32.95	1.55	−1.55	−0.65	0.65
32.95	32.95	1.55	−1.55	−0.65	0.65
32.95	32.95	1.55	−1.55	−0.65	0.65
32.95	32.95	1.55	−1.55	−0.65	0.65

\+ 群効果 + 被験者効果 + 残差

群効果		被験者効果		残差	
1.25	1.25	0.30	0.30	−0.30	0.30
1.25	1.25	−6.20	−6.20	1.20	−1.20
1.25	1.25	−0.20	−0.20	0.20	−0.20
1.25	1.25	1.80	1.80	−1.80	1.80
1.25	1.25	4.30	4.30	0.70	−0.70
−1.25	−1.25	0.80	0.80	−0.40	0.40
−1.25	−1.25	−0.70	−0.70	0.10	−0.10
−1.25	−1.25	0.30	0.30	0.10	−0.10
−1.25	−1.25	−6.20	−6.20	−1.40	1.40
−1.25	−1.25	5.80	5.80	1.60	−1.60

9

2. 簡単な例

■ モデル

データ y_{ijkl}(i:薬剤, j :時期, k:群, l:被験者)は次のモデルで表わされる

$$y_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \varepsilon_{(1)kl} + \varepsilon_{(2)ijkl}$$

$$\varepsilon_{(1)kl} \sim N(0, {\sigma_1}^2)$$

$$\varepsilon_{(2)ijkl} \sim N(0, {\sigma_2}^2)$$

ここでα, β, γはそれぞれ薬剤, 時期, 群の効果, $\varepsilon_{(1)}$, $\varepsilon_{(2)}$はそれぞれ被験者の効果(被験者間のばらつき), 個々の観測値の誤差(被験者内のばらつき)である

なお, 本日は時間の関係で変量模型(グリーン本第2部 § 6.1)及び枝分かれ実験(グリーン本第2部 § 6.2)には触れずに説明を省略する

10

2. 簡単な例

■ **モデル**

このモデルに従って，観測値y_{ijkl}をモデルのパラメータの推定値に分解し，さらに，それを推定する式に置き換える

＾は推定値を示す

各要因の効果は総平均との差として表す

$$
\begin{aligned}
y_{ijkl} &= \hat{\mu} + \hat{\alpha}_i + \hat{\beta}_j + \hat{\gamma}_k + e_{(1)kl} + e_{(2)ijkl} \\
&= \bar{y}_{....} + (\bar{y}_{i...} - \bar{y}_{....}) \\
&\quad + (\bar{y}_{.j..} - \bar{y}_{....}) + (\bar{y}_{..k.} - \bar{y}_{....}) \\
&\quad + [\bar{y}_{..kl} - (\hat{\mu} + \hat{\gamma}_k)] \\
&\quad + [y_{ijkl} \\
&\quad - (\hat{\mu} + \hat{\alpha}_i + \hat{\beta}_j + \hat{\gamma}_k + e_{(1)kl})]
\end{aligned}
$$

総平均

残差

表示6.4.1 交差試験データの解析(1)

					②	③	
群	被験者	先	後	平均	個人差	残差	
A1=>A2		(A1)	(A2)				
	1	32	37	34.5	0.3	-0.3	0.3
	2	27	29	28.0	-6.2	1.2	-1.2
	3	32	36	34.0	-0.2	0.2	-0.2
	4	32	40	36.0	1.8	-1.8	1.8
	5	37	40	38.5	4.3	0.7	-0.7
①	平均	32.0	36.4	34.2	2乗和	10.60	
A2=>A1		(A2)	(A1)				
	6	33	32	32.5	0.8	-0.4	0.4
	7	32	30	31.0	-0.7	0.1	-0.1
	8	33	31	32.0	0.3	0.1	-0.1
	9	25	26	25.5	-6.2	-1.4	1.4
	10	40	35	37.5	5.8	1.6	-1.6
①	平均	32.6	30.8	31.7	2乗和	9.40	

表示6.4.2 交差試験データの解析(2)

	先	後	平均	効果	
A1=>A2	32.00	36.40	34.20	1.25	$\bar{y}_{..k.}$
A2=>A1	32.60	30.80	31.70	-1.25	
平均	32.30	33.60	32.95	$\bar{y}_{....}$	
効果	-0.65	0.65			
	$\bar{y}_{.j..}$				

A1	A2
32.0	36.4
30.8	32.6
31.40	34.50
-1.55	1.55
$\bar{y}_{i...}$	

11

2. 簡単な例

群ごとに，制御因子が 2 水準でブロック因子が 5 水準の乱塊法データと見て解析

表示6.4.1 交差試験データの解析(1)

群	被験者	先	後	平均	個人差	残差	
A1=>A2		(A1)	(A2)				
	1	32	37	34.5	0.3	-0.3	0.3
	2	27	29	28.0	-6.2	1.2	-1.2
	3	32	36	34.0	-0.2	0.2	-0.2
	4	32	40	36.0	1.8	-1.8	1.8
	5	37	40	38.5	4.3	0.7	-0.7
	平均	32.0	36.4	34.2	2乗和	10.60	
A2=>A1		(A2)	(A1)				
	6	33	32	32.5	0.8	-0.4	0.4
	7	32	30	31.0	-0.7	0.1	-0.1
	8	33	31	32.0	0.3	0.1	-0.1
	9	25	26	25.5	-6.2	-1.4	1.4
	10	40	35	37.5	5.8	1.6	-1.6
	平均	32.6	30.8	31.7	2乗和	9.40	

残差

= 観測値 −（総平均 + 列効果 + 行効果）

= 観測値 −（列平均 + 行効果）

例）左上の観測値 32 の残差：
32 − (34.2 + (32.0 − 34.2) + 0.3)
= 32 − (32.0 + 0.3) = −0.3

個人差（行効果）
= 被験者平均 − 総平均

S（被験者）= 2 × $(0.3^2+(-6.2)^2+\ldots+0.8^2+5.8^2)$ = **267.20**
ν（被験者）= 2 × (5-1) = 8

S（残差）= 10.60 + 9.40 = **20.00**，ν（残差）= 2 × (5-1) × (2-1) = 8

12

2. 簡単な例

■ 群，先後（時期），薬剤の平方和

群ごとの列平均を用いて計算

表示6.4.2 交差試験データの解析(2)

	先	後	平均	効果
A1=>A2	32.00	36.40	34.20	1.25
A2=>A1	32.60	30.80	31.70	-1.25
平均	32.30	33.60	32.95	
効果	-0.65	0.65		

A1	A2
32.0	36.4
30.8	32.6
31.40	34.50
-1.55	1.55

S（群）= $2\times5\times(1.25^2+(-1.25)^2)$ = **31.25**，ν（群）= 2-1 = 1

S（先後） = $2\times5\times((-0.65)^2+0.65)^2)$ = **8.45**，ν（群）= 2-1 = 1

S（薬剤）= $2\times5\times((-1.55)^2+1.55)^2)$ = **48.05**，ν（薬剤）= 2-1 = 1

- 上記の 3 種類の平方和の合計：31.25+8.45+48.05=87.75
- 上の表の 4 つの平均値間の平方和

  $5\times((32.00-32.95)^2+(36.40-32.95)^2+(32.60-32.95)^2+(30.80-32.95)^2)$=87.75
- すなわち，4 つの平均値間の平方和が 3 つの成分に分解された

13

2. 簡単な例

- **S（先後）が大きい**ときは，先に投与される薬剤の効果が後に投与される薬剤の効果に対して影響を与えないように，適当な間隔を空けるという配慮をしたにもかかわらず，**影響を与えているかも知れないという疑問が生じる**．あるいは，**特定の時期に測定値に影響する何らかの事象**が発生した可能性もある．
- **S（群）の意味**を考える．これらの平均値は別々の被験者 5 人の平均値であるから，この差には，**被験者間のばらつきの成分が含まれる**．

  また，**前に投与された薬剤が後に投与された薬剤の効果に与える影響が，被験者や薬剤によって異なる差も含まれる**．

  この点については，後にさらに詳しく取り上げる．

	先	後	平均	効果
A1=>A2	32.00	36.40	34.20	1.25
A2=>A1	32.60	30.80	31.70	-1.25
平均	32.30	33.60	32.95	
効果	-0.65	0.65		

S（先後） = $2\times5\times((-0.65)^2+0.65)^2)$ = **8.45**

S（群）= $2\times5\times(1.25^2+(-1.25)^2)$ = **31.25**

14

2. 簡単な例

グリーン本の特徴
F比を求める際の分母が何か，F=1.00 となっている行を見れば容易に分かる

分散分析表と結果の解釈

表示 6.4.3 交差試験の分散分析表 (1)

	平方和	自由度	平均平方		F比	p 値
群	31.25	1	31.3		0.94	0.362
被験者	267.20	8	33.4	13.36	1.00	0.001
薬剤	48.05	1	48.1	19.22		0.002
時期	8.45	1	8.5	3.38		0.103
残差	20.00	8	2.5	1.00		
全体	374.95	19				
検算	374.95	19				

群間の平方和には被験者間のばらつきが含まれる
⇒被験者間の平均平方でF比を求める必要あり

薬剤，時期（先後），被験者は被験者内のばらつき（残差）で評価可能

- **薬剤効果**
  薬剤 A1 と A2 では効果に統計学的な有意差あり（P<0.05）
- **被験者間ばらつき**
  個体差が大きいことが認められた（P<0.05）
  ※個体差が小さい場合，クロスオーバーの利点があまりない
- **時期効果**
  先と後の投与で大きな差は認められない（P>0.05）
- **群効果**
  投与順序（A1⇒A2又はA2⇒A1）に大きな差は認められなかった（P>0.05）

2. 簡単な例

交差試験としての解析と仮に 1 因子実験として解析した結果の比較

交差試験としての解析（再掲）

表示 6.4.3 交差試験の分散分析表 (1)

	平方和	自由度	平均平方		F比	p 値
群	31.25	1	31.3		0.94	0.362
被験者	267.20	8	33.4	13.36	1.00	0.001
薬剤	48.05	1	48.1	19.22		0.002
時期	8.45	1	8.5	3.38		0.103
残差	20.00	8	2.5	1.00		
全体	374.95	19				
検算	374.95	19				

1 因子実験としての解析（仮）

	平方和	自由度	平均平方	F比	p 値
薬剤	48.05	1	48.1	2.65	0.121
残差	326.90	18	18.2	1.00	
全体	374.95	19			
検算	374.95	19			

交差試験として解析することにより，1 因子実験として解析した際の残差平方和が群，被験者，時期と純粋誤差（残差）の平方和にさらに分解され，目的とする薬剤効果の解析の効率が高まる

2. 簡単な例

例：片方の群はスポーツ選手，
もう一方の群は一般人

■ **群間に有意差が認められた場合**

もし，**群間に有意差があったとき**には，どのように解釈したら良いであろうか？
2 つの群の実験環境や被験者に何らかの違いがあったか，以下に説明する
残存効果　があったのではないかが疑われる．

1 群，2 群の平均値に含まれる成分について考えると，**A1・A2，先・後の効果は共通であるが**，**第 1 群には先に処置した A1 の残存効果**が，**第 2 群には先に処置したA2 の残存効果が含まれるという違い**がある．すなわち，2 つの群の平均値の差は残存効果の違いを表わす．

残存効果[*1]**（Carry-over Effect）**については，これまで，どの薬剤も同じであると考えてきた．もし，**群間に有意差があるとき**は，いずれかの**薬剤の残存効果が大きい**ことが疑われる．これはウォッシュアウト期間が短いことが原因である可能性が高い．

群効果と残存（持越し）効果は分離できない
⇒ 2×2デザインの欠点である[*2]

*1　持越し効果とも言われる
*2 「後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドラインに関する質疑応答集」Q-37 も参考になる

17

2. 簡単な例

以上，Excel を用いて解析方法を示してきたが，解析の実務では統計ソフトを用いるのが良い．以下，JMP を用いた方法を例示する

このデータを JMP で解析して，Excel の結果と比較する．
表示 6.4.4 の左のようなデータ（一部のみ）を準備する（6-交差 2.jmp）．

表示 6.4.4　JMP 用データとモデルの指定

群	被験者	時期	薬剤	効果
$A_1 \Rightarrow A_2$	1	前	A1	32
$A_1 \Rightarrow A_2$	2	前	A1	27
$A_1 \Rightarrow A_2$	3	前	A1	32
$A_1 \Rightarrow A_2$	4	前	A1	32
$A_1 \Rightarrow A_2$	5	前	A1	37
$A_2 \Rightarrow A_1$	6	前	A2	33

以下省略

モデル効果の構成
群
被験者 [群]& 変量効果
時期
薬剤

本日は詳細説明を省略するが，
被験者は群の枝分かれで，かつ，
変量効果として指定

18

2. 簡単な例

「モデルのあてはめ」画面で，表示6.4.4 右のように，モデルを指定して，[EMS(従来)] を実行すると，以下の結果が得られる

応答 効果

分散分析

要因	自由度	平方和	平均平方	F値
モデル	11	354.95000	32.2682	12.9073
誤差	8	20.00000	2.5000	p値(Prob>F)
全体(修正済み)	19	374.95000		0.0006*

F検定の分母

要因	分母平均平方	分母自由度	分母平均平方合成
群	33.4	8	被験者[群]&変量効果
時期	2.5	8	残差
薬剤	2.5	8	残差
被験者[群]&変量効果	2.5	8	残差

変量効果を考慮した検定

要因	平方和	分子平均平方	分子自由度	F値	p値(Prob>F)
群	31.25	31.25	1	0.9356	0.3617
時期	8.45	8.45	1	3.3800	0.1033
薬剤	48.05	48.05	1	19.2200	0.0023*
被験者[群]&変量効果	267.2	33.4	8	13.3600	0.0007*

表示 6.4.3 交差試験の分散分析表 (1)

	平方和	自由度	平均平方	F比		p 値
群	31.25	1	31.3		0.94	0.362
被験者	267.20	8	33.4	13.36	1.00	0.001
薬剤	48.05	1	48.1	19.22		0.002
時期	8.45	1	8.5	3.38		0.103
残差	20.00	8	2.5	1.00		
全体	374.95	19				
検算	374.95	19				

- JMP の出力をExcel による分散分析表と比較すると，同じ結果が得られていることがわかる．F 検定の分母は独立の出力として別個に表示される．
- なお，実際の解析においてはしばしば用いられる REML 法は詳細説明を省略し，次のスライドで解析結果にのみ触れる

19

2. 簡単な例

EMS(Expectation of Mean Square)

応答 効果

分散分析

要因	自由度	平方和	平均平方	F値
モデル	11	354.95000	32.2682	12.9073
誤差	8	20.00000	2.5000	p値(Prob>F)
全体(修正済み)	19	374.95000		0.0006*

F検定の分母

要因	分母平均平方	分母自由度	分母平均平方合成
群	33.4	8	被験者[群]&変量効果
時期	2.5	8	残差
薬剤	2.5	8	残差
被験者[群]&変量効果	2.5	8	残差

変量効果を考慮した検定

要因	平方和	分子平均平方	分子自由度	F値	p値(Prob>F)
群	31.25	31.25	1	0.9356	0.3617
時期	8.45	8.45	1	3.3800	0.1033
薬剤	48.05	48.05	1	19.2200	0.0023*
被験者[群]&変量効果	267.2	33.4	8	13.3600	0.0007*

REML (Restricted Maximum Likelihood) 制限付き最尤法

応答 効果

パラメータ推定値

項	推定値	標準誤差	分母自由度	t値	p値(Prob>|t|)
切片	32.95	1.292285	8	25.50	<.0001*
群[A1==>A2]	1.25	1.292285	8	0.97	0.3617
時期[後]	0.65	0.353553	8	1.84	0.1033
薬剤[A1]	-1.55	0.353553	8	-4.38	0.0023*

REML法による分散成分推定値

変量効果	分散比	分散成分	標準誤差	95%下側	95%上側	全体に対する百分率
被験者[群]	6.18	15.45	8.373358	6.6930654	65.735785	86.072
残差		2.5	1.25	1.1406055	9.1754452	13.928
合計		17.95	8.373358	8.5464459	58.859996	100.000

-2対数尤度= 92.787735212

注：「合計」は、分散成分のうち、正のものだけを足した和です。

負の推定値も含めた合計= 17.95

固定効果の検定

要因	パラメータ数	自由度	分母自由度	F値	p値(Prob>F)
群	1	1	8	0.9356	0.3617
時期	1	1	8	3.3800	0.1033
薬剤	1	1	8	19.2200	0.0023*

- REML で解析すると，群，時期，薬剤の F 比，p 値は同じ値が得られる
- ここには示さないが，パラメータの標準誤差には相違が見られる

20

3. 3つの薬剤の比較

3つの薬剤（A1：新しい薬剤，A2：既存の薬剤，A3：プラセボ）の交差試験のデザインを考える

- 被験者を 3 群に分け，3×3のクロスオーバー試験をデザインする

	時期1	時期2	時期3
群1	A1	A2	A3
群2	A3	A1	A2
群3	A2	A3	A1

- ラテン方格

n 行 n 列の表に n 個の異なる記号を，各記号が各行および各列に1回だけ現れるように並べたもの

	時期1	時期2	時期3
群1	A	B	C
群2	C	A	B
群3	B	C	A

- 上記のデザインはラテン方格 Latin Square とも呼ばれる
- なお，非臨床試験の場合，各群に複数の被験者が含まれるのではなく，各群の動物数が n=1 の場合もある．その場合は，分散分析表において，群の効果と被験者（動物）の効果を区別できない．

21

3. 3つの薬剤の比較

A1：新薬，A2：既存薬，A3：プラセボ

表示 6.4.6 交差試験のデータと解析過程

（観測値は総睡眠時間）：解析方法は前と同じ

第1群
A1⇒A2
⇒A3

第2群
A3⇒A1
⇒A2

第3群
A2⇒A3
⇒A1

群	被験者	投与順序 B1	B2	B3	平均	個人差	薬剤 B1	B2	B3
G1	P1	7.2	6.6	7.9	7.23	-0.98	A1	A2	A3
	P2	8.4	8.0	7.1	7.83	-0.38	A1	A2	A3
	P3	9.2	10.7	8.8	9.57	1.36	A1	A2	A3
G2	P4	7.9	8.2	9.2	8.43	-0.29	A3	A1	A2
	P5	7.8	9.7	10.1	9.20	0.48	A3	A1	A2
	P6	6.0	9.4	10.2	8.53	-0.19	A3	A1	A2
G3	P7	5.6	6.8	9.2	7.20	-0.23	A2	A3	A1
	P8	6.4	6.2	8.6	7.07	-0.37	A2	A3	A1
	P9	7.3	7.3	9.5	8.03	0.60	A2	A3	A1

	B1	B2	B3	平均	群効果	A1	A2	A3
G1	8.27	8.43	7.93	8.21	0.09	8.27	8.43	7.93
G2	7.23	9.10	9.83	8.72	0.60	9.10	9.83	7.23
G3	6.43	6.77	9.10	7.43	-0.69	9.10	6.43	6.7[illegible]
平均	7.31	8.10	8.96	8.12		8.82	8.23	7.31
効果	[illegible]	-0.02	0.83			0.70	0.11	-0.81

グリーン本
誤記訂正

新薬 A1 の睡眠時間が最も長く，プラセボ A3 が最も短い

時期効果
前の薬剤の残存効果？，もしくは，実験に対する慣れによる効果？

22

3. 3つの薬剤の比較

分散分析表と結果の解釈

表示 6.4.7 交差試験の分散分析表(2)

要因	平方和	自由度	平均平方	F比		p値
群	7.582	2	3.791		1.978	0.2188
時期	12.176	2	6.088	10.016		0.0020
被験者	11.498	6	1.916	3.153	1.000	0.0359
薬剤	10.442	2	5.221	8.590		0.0037
誤差	8.509	14	0.608	1.000		
全体	50.207	26				

- **薬剤効果**
  3 薬剤で睡眠時間に有意な違いあり(P<0.05, 対比較ではないことに注意)
- 被験者間ばらつき
  個体差が認められた(P<0.05)
- 時期効果
  3 期で睡眠時間に違いあり(P<0.05). 前のスライドで述べた通り, その意味を考えることは貴重な情報を得る機会を与えてくれるであろう
- 群効果
  投与順序に大きな違いは認められなかった(P>0.05)

23

3. 3つの薬剤の比較

群の効果の解釈と薬剤の投与順序

- 群 1 の平均には最後に投与した A3 の残存効果が含まれていない. 同様に, 群 2 には A2, 群 3 には A1 の残存効果が含まれていない
- 群間の平方和には残存効果の違いも含まれているため, その可能性も検討しなければならない
- 2×2の場合は, A1⇒A2, A2⇒A1の両方の順序が実験されていたが, この例(3×3)では A1 の後はいつも A2 が投与されている
- A1 の後が A3 になるような順序も含めた方が良いであろう

	時期1	時期2	時期3
群1	A1	A2	A3
群2	A3	A1	A2
群3	A2	A3	A1

24

3. 3つの薬剤の比較

Williams デザイン

- ラテン方格デザインの 1 種．投与順序の対称性を考慮したバランスの良いデザイン．残存効果の違いがあった場合も影響を軽減できる．

- 3 剤 3 期の場合

	時期1	時期2	時期3
群1	A1	A2	A3
群2	A3	A1	A2
群3	A2	A3	A1
群4	A3	A2	A1
群5	A2	A1	A3
群6	A1	A3	A2

下半分は上半分と投与順序が逆

- 4 剤 4 期の場合

	時期1	時期2	時期3	時期4
群1	A1	A2	A3	A4
群2	A2	A4	A1	A3
群3	A3	A1	A4	A2
群4	A4	A3	A2	A1

⇒ 午後の定例会で実例

25

3. 3つの薬剤の比較

表示 6.4.6 のデータを JMP で解析するために，表示 6.4.8 のように整理する (6-交差 3.jmp).

表示 6.4.8 の右のようにモデルを指定して [EMS (従来)] で解析すると，表示 6.4.9 の出力が得られる.

表示 6.4.8　JMP 用データとモデルの指定

群	時期	被験者	薬剤	効果
G1	B1	P1	A1	7.2
G1	B1	P2	A1	8.4
G1	B1	P3	A1	9.2
G2	B1	P4	A2	7.9
G2	B1	P5	A2	7.8
G2	B1	P6	A2	6.0
G3	B1	P7	A3	5.6
G3	B1	P8	A3	6.4
G3	B1	P9	A3	7.3

以下省略

モデル効果の構成
群
時期
被験者 [群]& 変量効果
薬剤

26

3. 3つの薬剤の比較

応答 y

分散分析

要因	自由度	平方和	平均平方	F値
モデル	12	41.697778	3.47481	5.7172
誤差	14	8.508889	0.60778	p値(Prob>F)
全体(修正済み)	26	50.206667		0.0014*

F検定の分母

要因	分母平均平方	分母自由度	分母平均平方合成
群	1.9163	6	被験者[群]&変量効果
時期	0.60778	14	残差
薬剤	0.60778	14	残差
被験者[群]&変量効果	0.60778	14	残差

変量効果を考慮した検定

要因	平方和	分子平均平方	分子自由度	F値	p値(Prob>F)
群	7.58222	3.79111	2	1.9784	0.2188
時期	12.1756	6.08778	2	10.0165	0.0020*
薬剤	10.4422	5.22111	2	8.5905	0.0037*
被験者[群]&変量効果	11.4978	1.9163	6	3.1530	0.0359*

27

4. 本日のまとめ

- 交差試験（Crossover Test）は乱塊法をより高度にした方法
  - 投与順序のバランスをとるように，試験の計画の段階から，デザインを工夫する
  - 検定に用いる残差の平方和から，被験者のばらつき，投与順序の影響などを取り除くことで，実験の効率を高める（検出力の向上）
- 分散分析表では，全体の平方和が 5 つの成分に分解された
  - 成分：群，被験者，薬剤，時期，残差（グリーン本で最も多い）
  - 分散分析表を作成するために各要因の平方和を求める手順もかなり面倒
    ⇒自分で計算し，計算過程を 1 つ 1 つ追って理解しないと使いこなすことはできない

28

出典及び謝辞

本日の発表は「医薬品開発のための統計解析（グリーン本）」第2部実験計画法 第6章4節「交差試験」及び過去の SAS Institute Japan JMP 事業部主催セミナー「医薬品開発のための統計解析」講師資料を元に，構築させていただきました

ご指導いただきました，JMP セミナー講師陣の皆様に厚く御礼申し上げます

29