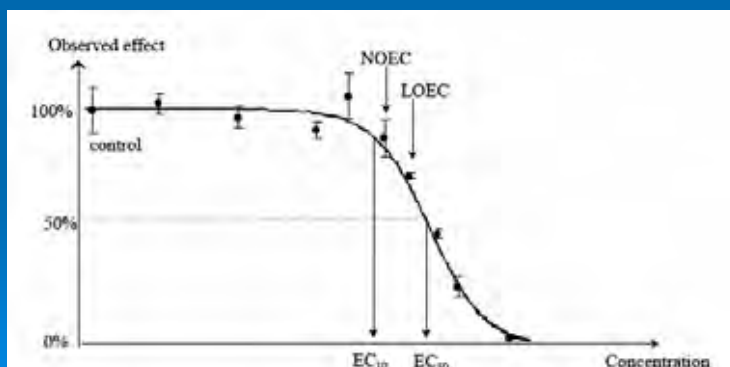


OECD生態毒性試験における統計手法

国立環境研究所 生態リスク評価研究室
立田 晴記

NOEC, LOEC and FOEC

NOEC: No Observed Effect Concentration
LOEC: Lowest Observed Effect Concentration
FOEC: First Observed Effect Concentration



What to do ?

毒性データの取得



Fitting modelの当てはめ



LOEC (FOEC)の検出

離散値 (dead or alive)

連続値 (身長, 体重など)

多重比較法

Data acquisition

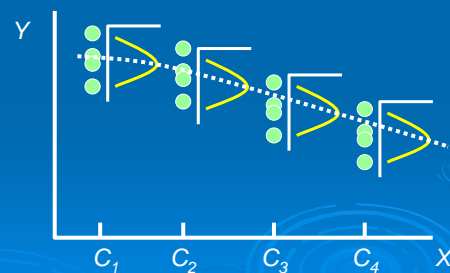
Data types

Scale	Data type
Ratio	Discrete/Continuous
Interval	Discrete/Continuous
Ordinal	Discrete/Continuous
Nominal	Discrete

Data acquisition

安定解を求めるために満たさなければならない条件

1. 比較的大きな繰り返しサイズ
2. 正規性
3. 分散の等質性



Normality and Homogeneity

正規性の検定 (データが正規分布に従うか否か?)

- ・Shapiro-Wilk test
- ・Kolmogorov-Smirnov test

等分散性の検定 (データの母分散が等しいか否か?)

- ・Bartlett test
- ・Hartley test
- ・Levene test

Fitting models

離散変数データの解析

基本モデル: $\Pr(Y_i = 1 | X_i) = F^*(X_i)$

$\Pr(Y_i=1)$ i 番目の個体が死亡する確率

$\Pr(Y_i=0)$ i 番目の個体が生存する確率

F^* をどのように与えるか？

Fitting models

— Probit model —

$$F^*(X_i) = \Phi(\beta_0 + \beta_1 X_i)$$

$$\Phi(z) = \int_{-\infty}^z \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-x^2/2} dx$$

累積密度関数 = 正規分布

Fitting models

—Logit model—

$$F^*(X_i) = \Lambda(\beta_0 + \beta_1 X_i)$$

$$\Lambda(z) = \frac{e^z}{1 + e^z}$$

ここで $\Pr_{0i} = \Pr(Y_i = 0 | X_i), \Pr_{1i} = \Pr(Y_i = 1 | X_i)$

これより
$$\Pr_{0i} = 1 - \Pr_{1i} = \frac{1}{1 + \exp(\beta_0 + \beta_1 X_i)}$$

対数化して整理すると $\log(\Pr_{1i} / \Pr_{0i}) = \beta_0 + \beta_1 X_i$

オッズ(odds)

対数オッズが X_i の線形関数となる！

Fitting models

パラメータの推定: 最尤法 (maximum likelihood method)

標本 Y_1, Y_2, \dots, Y_n を得る同時確率 = 尤度

すなわち

尤度関数
$$L(\beta_0, \beta_1) = \prod_{Y_i=1} F(\beta_0 + \beta_1 X_i) \cdot \prod_{Y_i=0} [1 - F(\beta_0 + \beta_1 X_i)]$$

両辺対数化後

$$\partial \log L(\beta_0, \beta_1) / \partial \beta_0 =, \partial \log L(\beta_0, \beta_1) / \partial \beta_1$$

を解いて推定値 $(\hat{\beta}_0, \hat{\beta}_1)$ が得られる

Fitting models

—各モデルの特徴—

Probit model: 誤差分布が正規分布に従う

Logit model: 関数型が簡単
対数オッズが線形関数となる

Q: どのモデルを選ぶべきか?

A: 絶対的基準は存在しない!

Fitting models

良質のデータ: モデルに依存することなく推定解が極めて類似

悪質なデータ: モデルに依存して推定解が大きく異なる



1つのモデルに固執することなく、複数のモデルで解を求めてみる

Example -Acute mortality in *Daphnia magna*-

Table 1. Data input file (as required by PROAST).

Daphnia_magna

Dose	Response	Sample_size	Day
100	20	20	1
50	19	20	1
25	5	20	1
12.5	5	20	1
6.25	6	20	1
3.13	0	20	1
1.56	0	20	1
0.78	0	20	1
0.39	0	20	1
0	0	20	1
100	20	20	2
50	20	20	2
25	20	20	2
12.5	14	20	2
6.25	11	20	2
3.13	7	20	2
1.56	1	20	2
0.78	0	20	2
0.39	0	20	2
0	0	20	2

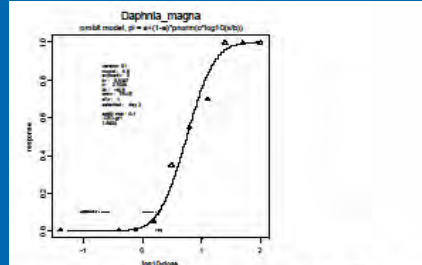


Fig. 1. Probit model fitted to mortality response at day 2. CED = EC10.

Table 2. Summary of results regarding four models fitted to the mortality data in Fig. 1. CI = confidence interval.

Model	Log-lik	EC50		EC10	
		MLE	90%-CI	MLE	90%-CI
Probit	-45.60	5.64	4.53 - 6.93	1.89	1.42 - 2.68
Logit	-46.46	5.63	4.59 - 6.94	1.90	1.36 - 2.72
Weibull	-46.25	6.64	5.36 - 8.17	1.69	1.10 - 2.68
Two-stage	-46.83	7.00	5.59 - 8.46	1.47	1.17 - 1.77

* based on 1000 bootstrap runs

Data from OECD (2004)

Multiple comparison

	Parametric	Nonparametric
Single step (Pairwise comparison)	<ul style="list-style-type: none"> · Dunnet · Poisson comparison 	<ul style="list-style-type: none"> · Mann-Whitney · Chi-squared · Fisher's exact test
Step down (Trend-based method)	<ul style="list-style-type: none"> · Poisson – Williams · Bartholomew · Brown-Forsythe · Linear contrast 	<ul style="list-style-type: none"> · Cochran-Armitage · Jonckheere · Mantel-Haenszel

Multiple comparison

Parametric vs. Nonparametric

パラメトリック検定の利点

誤差分布の形を予め
決定することで誤差の
振る舞いを推定可能



検出力が増大

間違った誤差分布を当てはめると大変な事に...

Multiple comparison

Parametric vs. Nonparametric

ノンパラメトリック検定の利点

- ・誤差分布を予め仮定しておく必要がない
- ・データ精度はそれほど問題ではない(ランク変換するから)
- ・計算が比較的容易

検出力: Parametric > Nonparametric

Hypothesis testing

-Type I & II error-

- Type I error (第1種の過誤)
帰無仮説が正しい時に帰無仮説を棄却してしまう誤り
- Type II error (第2種の過誤)
対立仮説が正しい時に帰無仮説を採択してしまう誤り

		State of the world	
		帰無仮説 H_0 true	対立仮説 H_A true
Result of hypothesis test	not significant	$1 - \alpha$	Type II error β
	significant	Type I error α	$1 - \beta = \text{power}$

Multiple comparison

Dunnet: 対照群とすべての処理群との比較

帰無仮説 H_0 : 母平均値に差はない

帰無仮説 H_1 : 母平均値に差がある

1 個の対照群と p 個の実験群の、合計 $k = 1 + p$ 群のデータがあるとする。
ある実験群の平均値 \bar{y}_0 を、対照群の平均値 \bar{y}_i と比較する。

$$|\bar{y}_i - \bar{y}_0| \quad \text{と} \quad d(\alpha; k, v, \rho) \sqrt{V} \sqrt{1/n_i + 1/n_0} \quad \text{の大小を比較}$$

↑
Dunnet統計量分布の%点

V : 自由度 v の平均平方誤差

n_p, n_0 : サンプル数

Multiple comparison

Jonckheere test

帰無仮説 H_0 : 水準 A_1, A_2, \dots, A_n 間に差はない

対立仮説 H_1 : 水準 A_1 水準 A_2 ... 水準 A_n

全てのデータ組 (x_{ik}, x_{jl}) ($1 \leq k \leq n_i, 1 \leq l \leq n_j$)における x_{ik} と x_{jl} の大小関係を調べ、 $x_{ik} < x_{jl}$ となる組の数を W_{ij} とおく。統計検定量 J_0 は

$$J_0 = 2 \left(\sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n W_{ij} \right) - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n n_i n_j$$

有意水準 $P(J \leq J_0)$ ならば有意水準 $100 \times$ %で帰無仮説を棄却する

Example -Growth rate-

Conc	REPLICAT E	G_Rate	Conc	REPLICAT E	G_Rate
0	A	0.07082	0.03	B	0.06269
0	B	0.07010	0.06	A	0.05860
0	C	0.06886	0.06	B	0.05387
0	D	0.06911	0.1	A	0.04688
0	E	0.07050	0.1	B	0.04599
0	F	0.06714	0.2	A	0.02929
0.01	A	0.06831	0.2	B	0.02840
0.01	B	0.06628	0.3	A	0.01631
0.02	A	0.06608	0.3	B	0.01435
0.02	B	0.06692	0.6	A	0.00490
0.03	A	0.06476	0.6	B	0.00409

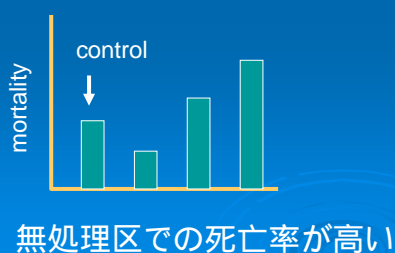
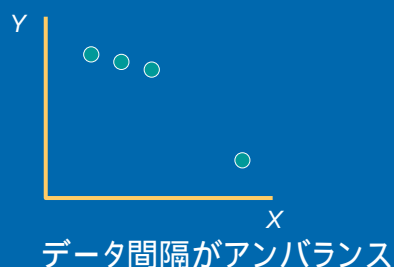
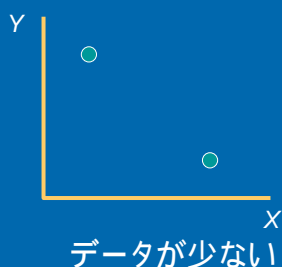
```

ESTIMATED DOSE EFFECTS & DUNNETT FOR Decreasing ALTERNATIVE
USING ALPHA=.05 FOR COMPARISONS TO CONTROL

      Estimate      SIGNIF      Dunnett      Test
      Estimate      SIGNIF      1-sided      Group
      Estimate      SIGNIF      p-value      Mean      N

DOSE TREND      **      0.00000      .      .
DOSE QUAD      **      0.00000      .      .
DOSE 2-1      *      0.16679      0.067294      2
DOSE 3-1      *      0.04470      0.066500      2
DOSE 4-1      **      0.00035      0.063729      2
DOSE 5-1      **      0.00000      0.057236      2
DOSE 6-1      **      0.00000      0.046432      2
DOSE 7-1      **      0.00000      0.028843      2
DOSE 8-1      **      0.00000      0.015327      2
DOSE 9-1      **      0.00000      0.004497      2
  
```

Bad Data



実験者サイドの問題を出来るだけ避けなくてはならない

Bad Data

Note that statisticians should be consulted before beginning the experiment to ensure proper design, sample size, limitations, and to be sure that the study will actually be able to answer the research question that the experimenter poses. **ONCE BAD DATA HAVE BEEN COLLECTED, THERE IS LITTLE A STATISTICIAN CAN DO TO RECTIFY THE PROBLEM.**

OECD (2003)

Computer Software

Commercial software

- SAS (Statistical Analysis System: SAS Institute)
- JMP (SAS Institute)
- SPSS (SPSS Inc.)
- SYSTAT (SPSS Inc.)
- S-Plus (Mathematical Systems Inc.)

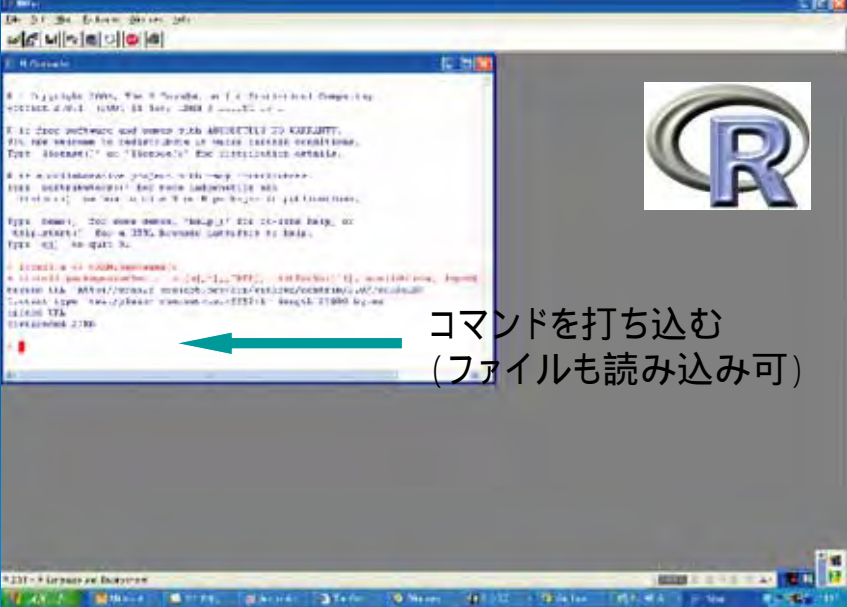
Computer Software

➤ R (R Development Core Team)



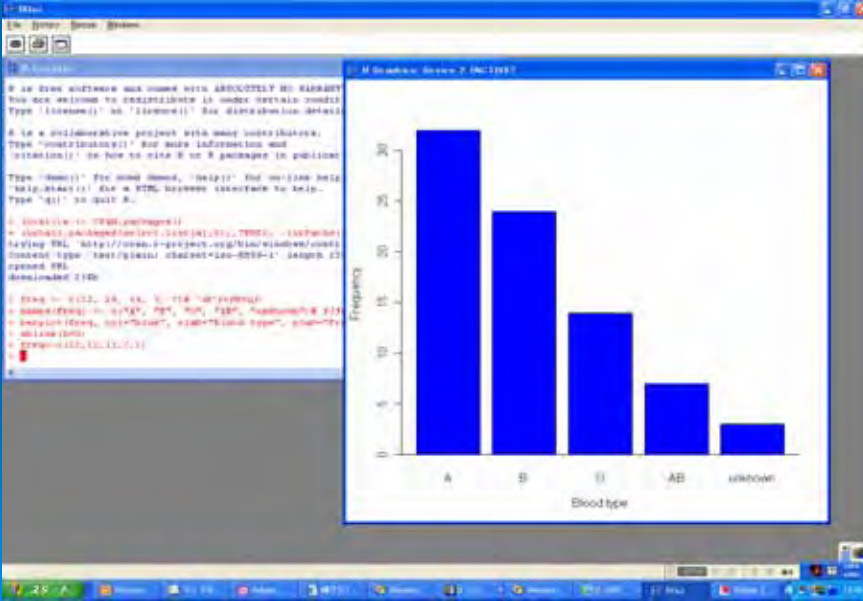
- ・完全無料
- ・ソースコードが公開
- ・S言語と高い互換性
- ・既存プログラム(C/C++等)の移植が容易
- ・プラットフォームに依存しない柔軟性
(Windows, Mac, Linux)

Computer Software



コマンドを打ち込む
(ファイルも読み込み可)

Example using R



Frequency

Blood type

Blood type	Frequency
A	35
B	25
O	15
AB	10
unknown	5

Computer Software

Rの参考文献



著者 Peter Dalggaard 2002.
書名 **Introductory Statistics with R**
刊行 2002年
出版 Springer Verlag, New York
ISBN 0-387-95475-9



著者：東京大学生物測定学研究室編
書名 実践生物統計学
出版：朝倉書店
サイズ：A5判 / 186p
ISBN: 4-254-42027-7



著者：岡田 昌史編
書名 The R Book
出版：九天社
サイズ：B5変形 / 435p
ISBN：4-901676-97-0

Internet resource

Rの公式サイト

<http://cran.r-project.org/>

The End