《短　報》

Radioligandassay の誤差解析

今村　恵子*　　佐々木康人**　　藤井　正道*　　染谷　一彦**

I. はじめに

Radioligandassay において，その標準試料のデータに曲線をあてはめることに関しては多くの研究がなされているが，その曲線を用いて読みとられる未知試料の濃度にまつわる誤差，すなわち，標準曲線の信頼性に関する考察は多くないと思われる．

われわれは，標準曲線を logistic 函数にあてはめて解析しているが，その信頼幅をも同型の logistic 函数で表わすことを試み，適合度も満足できるものであったので報告する．その結果，未知試料の濃度の推定誤差は電算機による一連の解析の中で計算することが可能となった．

II. 方法と結果

標準曲線には logistic 函数，

$$y=\frac{a-d}{1+(x/c)^b}+d \tag{1}$$

をあてはめ[1~3]，濃度 x に対する response y (B/T または F/T) の回帰分析からパラメータ a～d を定めた．未知試料の濃度は式 (1) から導かれる．

$$x=c\left(\frac{a-y}{y-d}\right)^{1/b} \tag{2}$$

により求める．

濃度の推定誤差 $S\hat{x}$ (Fig. 1) を知ることが目的であるが，標準曲線は x に対する y の回帰として定

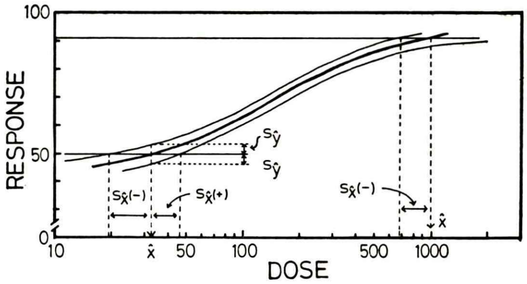

Fig. 1 Standard logistic curve and the curves of 95% confidence limits determined from the statistics of regression analysis. The confidence limits were first derived based on the error of response estimate from dose concentration and fitted by logistic function using the same routine program.

められたものであるから，その信頼幅はある x に対応する response を式 (1) から推定した時の y の推定誤差 $S\hat{y}$ から決定される[4]．

response の推定値 y の誤差分散 $S\hat{y}^2$ は，

$$S\hat{y}^2=\left(Sa\frac{\partial y}{\partial a}\right)^2+\left(Sb\frac{\partial y}{\partial b}\right)^2+\left(Sc\frac{\partial y}{\partial c}\right)^2+\left(Sd\frac{\partial y}{\partial d}\right)^2+\mathrm{var} \tag{3}$$

と表わすことができる．Sa～Sd はパラメータ a～d の標準偏差で，回帰分析において平方和・積和の行列の対角線要素と，残差の積として計算される．第 5 項は最後の iteration で得られた残差分散である．logistic 函数の場合，式 (3) は x について代数的に解くことができないので，任意の y について $S\hat{x}$ を知るには，グラフ上で読みとるか，または，信頼幅を数式で表現する必要がある．われわれは，標準試料の各濃度で $\hat{y}\pm t_{0.05}\,S\hat{y}$ ($t_{0.05}$ は n−4 の自由度に対応) を計算し，それと x との関係に logistic 函数 (1) をあてはめることを試みた．

当核医学検査室では radioligandassay のデータ

---

* 聖マリアンナ医科大学放射線医学教室
** 聖マリアンナ医科大学第 3 内科学教室
受付：53 年 8 月 16 日
最終稿受付：54 年 1 月 16 日
別刷請求先：川崎市高津区菅生 2095　(〒213)
聖マリアンナ医科大学放射線医学教室
今　村　恵　子

は全て電子計算機 (NOVA 01) を用いて処理しており[5]，信頼幅の curve fitting も標準曲線の場合と同様に，前回の残差和との差が 0.001 未満になったとき iteration を打切った．ほとんどの場合4～5回の iteration で収斂し，適合度は非常に良かった．計算結果の出力はインスリンを例にとり Fig. 2 に示した．この誤差解析は当検査室でデータ処理のルチーンとなっている．

—unknown samples—

No	Response	Dose	+Sigma	−Sigma
C	4562	24.7643	+5.46205	−4.9173
	4639	23.4499	+5.30791	−4.7986
	Mean=	24.1071	+3.80815	−3.43534
C	3450	49.319	+9.39603	−7.91235
	3349	52.3076	+10.0108	−8.36531
	Mean=	50.8133	+6.86478	−5.75725
3	6034	3.31081	+4.0824	−0
	5684	8.08226	+4.06103	−4.04731
	Mean=	5.69654	+2.87915	INF
3	5440	11.3889	+4.21857	−4.04019
	5437	11.4301	+4.22004	−4.04117
	Mean=	11.4095	+2.98315	−2.85719
5	4437	26.9757	+5.73501	−5.1282
	4671	22.9138	+5.24669	−4.75169
	Mean=	24.9447	+3.88646	−3.49561
6	4564	24.7296	+5.45793	−4.91408
	4650	23.265	+5.28668	−4.78233
	Mean=	23.9973	+3.79928	−3.42852
7	4405	27.5584	+5.80972	−5.18596
	4365	28.2968	+5.90599	−5.26051
	Mean=	27.9276	+4.14227	−3.69348
8	5493	10.6633	+4.17579	−4.02625
	5713	7.69302	+4.84923	−4.0649
	Mean=	9.17815	+2.90833	−2.86068
9	5580	9.48237	+4.11615	−4.01947
	5529	10.1732	+4.14971	−4.82077
	Mean=	9.8278	+2.92245	−2.84266
10	4503	25.7956	+5.58728	−5.02393
	4522	25.4611	+5.54626	−4.98225
	Mean=	25.6283	+3.93633	−3.5342

Good bye . . .
Stop at 1640
*

Fig. 2 Printout of computer analysis of the unknown samples from the radioimmunoassay of insulin. Dose estimate error shown was calculated from the confidence curves fitted by logistic function.

III. 考　　察

標準曲線とその信頼幅の関係は Fig. 1 に模式的に示したが，濃度の推定誤差の相対値 $S\hat{x}/\hat{x}$ は曲線の中央付近に最小値をもち，高濃度域では高濃度側の誤差が大きくなり，低濃度域では低濃度側の誤差が大きくなる (Fig. 3)．その傾向は，Fig. 2 の検体番号3の例にみられるように濃度が漸近値 (a または d) に近づくと顕著になる．

Radioligandassay での濃度の推定誤差に関する従来の報告をみると，Burger ら[1] は式(1) と若干異なる logistic 函数，$y=A/(C+x^{E})$ を標準曲線のあてはめに用い，濃度推定誤差を式 $x=(A/y-C)^{1/E}$ から直接求める方法を示しているが，標準曲線自体が x に対する y の回帰として求めたものであるから，その方法には困難があると思われる．

Wilson ら[6] は，一次の質量作用の法則に基づいて標準曲線の解析を行ない，計数誤差とその他の実験誤差から濃度の推定誤差を算出しているが，測定方法に含まれる誤差の見積りには事前の知識が必要とされる．

Robdard らの方法[7] では，±t×(平均残差) (=a) を response の不確かさと考え，y±a に相当する濃度を標準曲線上に読みとり，濃度推定の誤

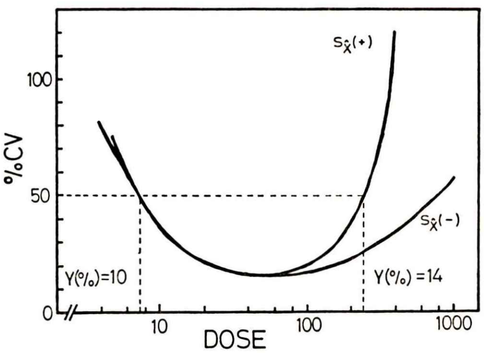

Fig. 3 Relation between the dose concentration and the dose estimate error in %CV. In the high dose region, the estimtae error for the higher dose side ($s\hat{x}(+)$) largely exceeds that for the lower dose side ($s\hat{x}(-)$). Y (%) is the absolute of $(a-y)/(a-d)$ or $(y-d)/(a-d)$ multiplied by 100.

差としている．標準曲線の信頼性に関してはそのプロットのみで，数式化することは行なわれておらず，標準曲線の信頼性に由来するところの濃度の推定誤差に関する評価は行なわれていない．

Radioligandassay の結果は，主に正常範囲にあるか否か，また，経時的変化という面から検討されることが多く，特に，精度が得られにくい濃度領域にある結果の検討には，濃度の推定誤差に関する知識が役立つと考える．また，コントロール血清を用いた assay の品質管理や，2重測定の一致度のチェックにおいて，濃度の推定誤差はある目安を与えるものと思われる．

IV. おわりに

1) logistic 函数をあてはめた radioligandassay の標準曲線の信頼幅を数式で表わすことを試み，標準曲線の場合と同一の曲線回帰ルチーンを用いて curve fitting を行なった．

2) 未知試料の濃度の推定誤差は，信頼幅をプロットしたグラフから読み取る必要はなく，濃度の計算に引続いて計算・出力できる．

3) 濃度にその推定誤差を付けることは，結果の評価と，それを用いての種々の判定に役立つと考える．

文　献

1) Burger HG, Lee VWK, and Rennie GC: A generalized treatment of data from competitive protein-binding assays including radioimmunoassays. J Lab Clin Med **80**: 302–312, 1972
2) Healy MJR: Statistical analysis of radioimmunoassay data. Biochem J **130**: 207–210, 1972
3) Rodbard D and Hutt DM: Statistical analysis of radio-immunoassays and immunoradiometric (labeled antibody) assays: A generalized, weighted, iterative, least-squares method for logistic curve fitting. In Symposium on RIA and Related Procedures in Medicine, Int. Atomic Energy Agency, Vienna, 1974, pp. 165–192.
4) スネデカー，コクラン(畑村，奥野，津村訳)：統計的方法，原著第6版，岩波書店(株)，東京，1974, pp. 131–165.
5) 今村恵子，杉山　捷，藤井正道他：Four parameter logistic 函数を用いた radioassay のデータ解析 Radioisotopes **26**: 554–556, 1977
6) Wilson D, Sarfaty G, Clarris B et al: The prediction of standard curves and errors for the assay of estradiol by competitive protein binding. Steroid **18**: 77–90, 1971
7) Computer program "WHAMBAM" (Four parameter sigmoidal curve fitting program with variable weighting for radioimmunoassay, immunoradiometricassay and bioassay data) by Rodbard D, Hutt DM (adapted in BASIC by Grotjan Jr. HE), 1974

Summary

Error analysis in radioligandassay

Keiko IMAMURA, Yasuhito YASAKI*, Masamichi Fujii and Kazuhiko Someya*

*Department of Radiology, and *Department of the Third Internal Medicine*
St. Marianna University School of Medicne, 2095 Sugao, Takatsu-ku, Kawasaki-city Japan 213

Although the standard curves for radioligandassays have been successfully fitted by a logistic function, the confidence limit of the fitted curve has been scarecely treated from the standpoint to calculate the dose estimate error of unknowns. As the equation of the confidence limits cannot be resolved algebraically for dose in case of the logistic function, computation of the dose estimate error requires to describe the confidence curve by some mathematical function. The model of logistic function was found to give a satisfactory good fit for a confidence curve also. Thus, it no longer needs to plot the confidence limits on a graph, with subsequent reading of dose estimate errors for unknowns.

The relation between the dose concentration and dose estimate error (in %CV) was approximately symmetrical around the midrange. For most of the radioligandassays, the dose estimate error increases to more than 50% (2σ) when the relative difference between the observed response and the fitted asymptote is less than 10%. The dose estimate errors for higher and lower doses are nearly equal around the midrange, and the one for higher dose side becomes dominant in the high dose region and the one for lower dose side in the low dose region.

Key words: radioligandassay, data analysis logistic function.