

# 医薬安全性研究会

会報 No.23

March 1987

## 目次

発癌性試験の評価に関する統計学的検討 [連載第2回] John J. Gart, Kenneth C. Chu, and Robert E. Tarone 著 ライオン(株) 関 康弘 訳.....	1
<i>in vitro</i> 染色体異常試験への統計的アプローチ 帝人(株) 笠原義典...	11
毒性試験における対照群の意義とその取扱いについて 国立衛生試験所 林 真...	20
群分け・シミュレーションのためのパソコンのアセンブリ語による乱数生成プログラム (株)生物科学技術研究所 佐野正樹.....	26
第29回定例会出席者名簿.....	37
事務局だより.....	38

# 発癌性試験の評価に関する統計学的検討<sup>1</sup>

## Statistical Issues in Interpretation of Chronic Bioassay Tests for Carcinogenicity<sup>1</sup>

John J. Gart,<sup>2</sup> Kenneth C. Chu,<sup>3</sup> and Robert E. Tarone<sup>2, 4</sup>

第2回

関 康弘 (ライオン) 訳

### 時間調整分析 (時間的要素を考慮に入れた分析)

C, DおよびG (表3) のような結果に関しては, 腫瘍発生率の時間調整分析がさらに必要となる。この様な場合, 時間調整分析は異なった死亡率に関する偏りを削除するため, 即ち統計学的検定の妥当性を確保するために必要である。著しい腫瘍あるいは急速な致死性腫瘍を含むケースもまた生じるかもしれない。その際は未調整分析が妥当であろうが, 時間調整分析はより適切であり, またより有効であろう。いくつかの方法では計算に時間変数を用いることが提案されている。では, 最も簡単な手順から始めよう。

### 初期死亡の削除

全動物の死亡時期を最短から最長まで順位づける。問題の腫瘍のタイプと部位を持つ全群の最も初期の死亡に注目する。その腫瘍を持つ最も初期に死亡した動物より早く死亡した動物は全て削除する。同じ分子と適切に小さくなった分母により腫瘍の調整比率を作成する。調整比率に対しFisher-Irwin検定および直接あるいは近

似傾向検定が使用される〔方法とコンピュートプログラムの特記について  
は(13)を参照〕。この分析にはバリエーションもまた有り得る。一定期間例えば  
1年以前に死亡した全動物は、それらの動物に腫瘍が発生していなければ先の方式  
が適用され削除される。何人かの実験者は最も初期に腫瘍を持つ動物を分子と分母  
の両方から削除することを好むかもしれない。多くの場合、これらの方式は同様の  
結果を生じる。

### 途中死亡および最終屠殺分析

各群の動物を途中死亡(自然死あるいは事故死)と最終屠殺の2群に分ける。こ  
れらの簡単な比率を各群について求める。Fisher-Irwin検定および直接あるいは近  
似傾向検定を途中死亡と最終屠殺データについて別々に行う。これらの検定は各検  
定に対し1つのP値を得るために結合される(6, 11, 14, 15)。これらの結合された検  
定は2つの期間(途中死亡と最終屠殺)の計算で分母が異なる可能性がある。

途中死亡群は、最初の腫瘍が観察される以前の全初期死亡例の削除あるいは上述  
のある時間以前に死亡した全動物の削除のどちらかにより”初期死亡の削除”と同  
様修正される。これらの修正された途中比率は上で示したように、検定で最終屠殺  
比率と結合される。

この分析と先述した初期死亡削除分析はどちらも”偶発的な腫瘍”に対しPetoが  
提案した分析(16)と同様である。

### 生命表—調整分析

各腫瘍のタイプと部位に関して、”明らかな腫瘍を持たない生存曲線”はKaplan-  
Meierの方法により各群について計算できる。この計算では、腫瘍を持つ死亡動物  
の死亡週は”uncensored”観察として登録し、腫瘍を持たない死亡動物の死亡週は  
”censored”観察として登録する。最終屠殺データは自然死動物のデータとして登録

する。明らかな腫瘍を持たない生存曲線の下ステップは腫瘍が死亡動物に見出された時間を示している。皮膚塗布試験(3)では、これらのステップは腫瘍が肉眼でわかるほど十分大きくなった時間を示している。しかし、多くの摂餌試験では動物の死亡でのみ腫瘍の存在に関する情報が得られ、腫瘍開始時期は判らない。従って、最終屠殺での最終下ステップはしばしば大きくなり、また腫瘍数を示している。この腫瘍数は試験が続けられたなら、もっと後では別なかたちで見出されるかもしれない。

生命表における群間差の検定では、最も初期の死亡から最終屠殺まで動物に順位をつける必要がある。問題の腫瘍が見出された各時点で、簡単な比率が各群について作成される。これらの比率はその時点での腫瘍を持つ死亡動物数とその時点まであるいはそれ以上生存している動物の総数の比である。従って、より長く生存している動物はいろいろな時点の分母に繰り返し現れ、初期に死亡した動物は決して現れない。群間比較および観察時点を通してのデータ結合に対し2つの検定が提案されている。対数順位検定(5,6,13,17)は比例した危険率に対して最良である。概して、いろいろな群の生存曲線は形では同様であるが、時間では異なっている。そのような検定は問題の時点まであるいはそれ以上生存した全群の動物総数により、各事象の時点までの比較に重みをつけている。この検定手順に対しては、適用量に関する線型傾向検定と傾向からの偏差の検定が使用されている(7)。“censored”順位検定(18,19)は各群の生存総動物の平方により各時点での比較に重みをつけており、曲線間の初期の差に対しては、含まれる動物数が大きいいため、より重みを置いている(20)。これらの削除順位検定に対しては、傾向検定と傾向からの偏差の検定が有用である(13,20)。対数順位検定と“censored”順位検定はしばしば良く一致する—特に生存曲線が同様であるときは。文献には、対数順位検定は広く使用されている。



## 腫瘍発生率に対するいろいろな調整検定の検討

生命表検定（対数順位あるいは“censored”順位）の結果と初期死亡の削除分析あるいは途中死亡および最終屠殺分析の結果とでは、時には非常に異なる場合が生じるかもしれない。生命表検定は腫瘍のより初期の観察（発現時期の差）を検出するが、他の検定は主に群間の腫瘍頻度の差を相対的に検出するためである。

観察時点が腫瘍の開始を示すとき、生命表分析は処置がより多くの腫瘍を生じさせるかだけでなく、より初期の腫瘍もまた生じさせるかどうかを検定する。例えば、動物の皮膚に5, 10および15  $\mu\text{g}/\text{day}$  の適用量でbenzo(a)pyreneを塗布したとき、全群のほとんどの動物に腫瘍がみられる。しかし、腫瘍発達の中央時間はそれぞれ、211, 157 および136 日と大変異なっていた。生命表修正検定は高度に有意な結果を示した。よって高用量では、より初期に腫瘍が生じると結論することができる。

一方、多くの内部腫瘍は低用量投与群と高用量投与群での死亡で見出される。従って、生命表曲線および検定は、例えば高用量投与群では腫瘍の初期観察が有意であると示すかもしれない。この事実のみから、高用量はより初期に腫瘍を生じさせるとは誰も推論しないだろう。多分、高用量では観察された腫瘍に無関係に、つまり毒性または他の部位の致死性腫瘍のどちらかで、より初期に多くの死亡が生じているであろう。従って、腫瘍は高用量を投与された死亡動物ではより初期に観察されるが、低用量を投与されまだ死亡していない動物にも同数存在するかもしれない。

数人の著者(16, 21)は、腫瘍を持った動物が腫瘍により死亡したのかどうかを決定すべきであるという要求により、これらの困難な問題を解決しようとしている。他の著者、例えば(22)は大規模な動物摂餌試験ではこの要求の実現性に疑いを持っている。僅かに修正された意見として、ある腫瘍が死亡前のものかを分類すること、そしてこれらの腫瘍に順位検定を使用すること、しかし非致死性または“偶発的な” (Peto(16)の用語) 腫瘍にだけは他の時間調整検定を利用することが提案されている。この意見は途中死亡の分析に関してはいくらか筋が通っている。しかし、最終

屠殺で見出された”致死的な”腫瘍死亡に対してはどうするのだろうか？ これらの腫瘍は確かに動物を殺さなかったが、それらを見捨てるべきでない。我々はそのような場合、最終屠殺時点では対数順位検定または”censored”順位検定を組み込むことを提案する。”致死性”の原則を見捨てることはその適切なデータを捨てることになる。

順位検定は特定の致死性腫瘍の開始に対し進行中の実験を監視するのに大変有用である。表3にみられるように、多くの場合簡単な比率分析あるいは初期死亡削除分析により、完了した実験での腫瘍発生率に対し妥当な判断が得られるだろう。

## ヒストリカルコントロールの使用

発癌性プログラムの発展に伴い、使用されたマウスの系統、(C57BL/6×C3H)F<sub>1</sub>およびラットの4系統、F344,OM,SD,Charles River CD についての陰性対照群のデータが蓄積されつつある(表4参照)。処置群をその対照群と比較することは最初で且つ最も適切なことであるが、処置群の発生率をヒストリカルコントロールの発生率と比較してみることは興味深いことである。時々、処置群の腫瘍発生率はその対照群の発生率より有意に高くなるかもしれないが、この発生率はヒストリカルコントロールの発生率と比較すると小さいかもしれない。そのような有意所見には少ししか重みを置かない。しかしながら、処置群にまれな腫瘍が少数見出される場合には、この発生率はその対照群のゼロの発生率より統計学的には高くないかもしれない。処置群の発生率とヒストリカルコントロールの発生率との非公式な比較により、処置の発癌性に関する洞察が得られるだろう。

時々、処置群と陰性対照群の両方の発生率がヒストリカル陰性コントロールの発生率より非常に低いことがあるかもしれない。そのような場合、同時に実施された陽性対照群すなわち既知発癌物質適用群の結果は有用な情報を与える。陽性対照群の発生率もまた低いなら、何らかの理由により、使用された動物は発癌物質に抵抗

があるのかもしれない、再試験が指摘されるかもしれない。他の場合では、陽性対照群の発生率は試験物質の発癌性能に関する比較水準点として使用される(23)。

一般に、ヒストリカルとしての対照群の発生率は物質が試験された研究所に限定される。公式に有意差検定をそのような”研究所でプールした”対照群を用いて行うなら、普通は、同じ病理学者が対照群と処置群について病理学的検査を行う必要がある。あるいは少なくとも同じ病理学者が全ての場合について吟味する必要がある。全対照群をプールするにはプロトコルの他の仕様が同一か同様なものでなければならない。これらの仕様には試験期間の長さ、供給者および動物の平均出生日が含まれている。プールの候補者である個々の対照群に対する一様性の統計学的検定は生存曲線と腫瘍発生率の両方について行われるべきである。

ヒストリカルコントロールの腫瘍発生率と腫瘍の発見時期は(C57BL/6×C3H)F<sub>1</sub>マウスとF344ラットについて大変詳細に報告されている(Goodman DG, Ward JM, Squire RA, et al: Submitted for publication)。

## 質疑応答

1. P.961/L.1 : 初期死亡動物を削除することは妥当な考え方か？

この場合、腫瘍の発生率を比較しているのだから、早く死亡した動物はもし生存していたならば腫瘍が発生したかもしれず、それを分母から削除しておかないと腫瘍の発生率を実際より低く評価してしまう。(吉村先生)

2. "censored" ?

censored data : 打ち切りデータ。学習試験では学習が達成されるとエラー数が0になる。そういうものを censored data という。(佐野さん)

統計手法の中ではある述語である。時間を例にとると、ある時点までは観測しているが、それから先は観測していないという時には、実際に死亡するか腫瘍が出来るとかいう時間は判らないが、これから先であるということだけははっきり判っている。そういうデータを censored data という。対意語には "トランケーション" というのがある。"トランケーション" はある所より先へ行ったものの数が判っている場合をいう。

これより先まで生存しているのが何匹いたか判るのが censoring。何匹生存していたかが判るからこれを利用できる場合を censored data という。

censoredを "部分観測" という人もいるが、これが良いという訳はない。

(吉村先生)

3. P.962/R.1 : "The rank tests are most useful in monitoring an ongoing experiment for the onset of a particular lethal tumor." ; 致死的とは？

別の原因で、例えば high doseでは腫瘍ではなく死亡する場合がある。途中死亡したものの腫瘍の発生率は高くなる。

別の原因で死亡した場合、腫瘍があればあるということが判るし、なければ



ないことが判る。別の原因で死亡しなければどちらであるか判らないのが腫瘍がないかのように通過する。その調整が非常に難しく、それで腫瘍により死亡したものとそうでないものを区分けして処理しようということ。

(吉村先生)

4. P.962/L.17: "A slightly modified notion ...." ?

予め腫瘍を致死性があるかを決めてしまおうという考え方ではないか。ある幾つかの腫瘍は最初から致命的なものと決めておけば、つまり判断基準を予め決めておけば致命的であるか非致命的であるかを区分けできるだろう。

(吉村先生)

実際に腫瘍が致命的か非致命的か判るのか？

腫瘍の中で悪性で死亡するものか、良性で致死に到らないものかの腫瘍の区分けはかなり専門家には判るそうです。

5. P.963/L.13 & P.962/R.24 : formalとinformal ?

2種類の意味がある。"公式的と非公式的"という意味と、"形式的と非形式的"という意味がある。"formal significance test"というときには、形式的な有意差検定という主旨ではないか。先程のinformalもそういうことがあるのかも知れない。(吉村先生)

6. 生命表の解析と表3のC, D, Gとの対応は？

C, D, Gのケースの場合、みかけの有意差が本当の差を現していない危険があるから、時間というものに注意して、死亡したかしないかを考慮して解析し直せという意味。

fisherは分割表の検定である。トレンドテストは dose が何水準かあって、

doseが大きくなるに従って比率が大きくなるのではないかということの検定である。fisher の検定は dose の順位を気にしないが、トレンドテストはdoseの順位を気にする。その違いだと思う。(吉村先生)

7. P.961/L.25: "... a single P-value ..."; 片側のP値をとって、それをたしてゆく fisher のやり方をいっているのか?

この場合、途中死亡と最終死亡の2つに分けているから、別々に例えば $X^2$ 検定をすると、1つの $X^2$ が2つできる。そうすると、「片方は有意差あり、もう一方は有意差なし」ということが生じた場合困ってしまう。

$X^2$  検定であるならば、1つめで計算した $X^2$  値と2つめで計算した $X^2$  値を加えると自由度2の $X^2$  検定となる。自由度2の $X^2$  検定を行えば有意性の判断は1回で済む。そういう主旨だと思う。(吉村先生)

表4 NCIの発癌性試験で使用された無処置動物種における一次腫瘍の自然発生率<sup>a</sup>

器官-組織	ラット											
	マウス		F344		OM		SD		Charles River CD			
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀		
	(1,132)	(1,176)	(846)	(840)	(196)	(198)	(215)	(220)	(184)	(184)		
脳	<1.0	-	1.3	<1.0	-	-	1.4	<1.0	2.7	1.6		
皮膚-皮下	1.0	<1.0	5.7	2.5	5.1	4.5	2.8	3.2	6.5	3.8		
乳腺	-	<1.0	-	18.8	2.6	26.8	2.3	36.4	<1.0	45.1		
脾臓	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	3.1	1.5	-	-	<1.0	-		
肺-気管	9.2	3.5	2.4	<1.0	-	-	-	-	1.6	3.8		
心臓	<1.0	-	<1.0	<1.0	-	-	-	-	-	-		
肝臓	15.6	2.5	1.2	1.3	-	-	-	<1.0	1.1	2.2		
脾臓 <sup>b</sup>	<1.0	<1.0	<1.0	-	-	-	-	-	-	-		
胃	1.1	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	-	-	-	-		
腸 <sup>c</sup>	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	3.1	3.5	-	<1.0	1.6	<1.0		
腎臓	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	-	<1.0	-	<1.0	-		
膀胱	-	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	-	4.2	-	4.3	NA		
精巣 <sup>d</sup>	<1.0	NA	76.2	NA	-	NA	NA	NA	NA	NA		
卵巣 <sup>e</sup>	NA	<1.0	NA	<1.0	NA	2.0	NA	-	NA	1.1		
子宮 <sup>f</sup>	NA	1.9	NA	16.8	NA	3.5	NA	4.5	NA	3.3		
脳下垂体	<1.0	3.5	10.2	29.5	8.7	21.2	11.2	37.3	33.2	57.6		
副腎	<1.0	<1.0	8.7	4.0	10.2	2.5	1.4	2.7	7.6	4.3		
甲状腺	1.1	<1.0	5.1	5.6	5.6	11.1	1.9	1.8	3.8	-		
ランゲルハンス島	<1.0	<1.0	3.2	1.3	2.0	1.0	<1.0	<1.0	2.7	-		
体腔 <sup>g</sup>	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	-	1.4	1.8	1.1	1.1		
白血癆-リンパ腫	1.6	6.8	6.5	5.4	2.0	2.0	1.9	1.4	1.6	1.6		

<sup>a</sup> ダッシュ (一) は腫瘍がこの部位に全くみられないことを示す。; NAは該当なし。; 括弧内の値は剖検した全動物数である。

試験はマウスでは21~24か月、ラットでは24か月で終了した。

<sup>b</sup> 腺細胞の腫瘍のみ

<sup>c</sup> 小腸, 大腸, 回腸, 結腸, 十二指腸および盲腸

<sup>d</sup> 精巣, 前立腺, 精囊および陰囊

<sup>e</sup> 卵巣および輸卵管

<sup>f</sup> 子宮, 陰および頸管

<sup>g</sup> 腹腔, 腹腔, 体腔および腸間膜

# i n v i t r o 染色体異常試験への

## 統計的アプローチ

帝人（株）生物医学研究所  
笠原義典

昭和61年7月19日に行われた第27回医薬品安全性研究会で話題とされた「i n v i t r o 染色体異常試験への統計的アプローチ」についての質疑応答について簡単にまとめてみました。また、各々の問題について、その後検討した内容についても 記載してあります。（9月2日 統計数理研究所セミナー，10月3日 第15回日本環境変異学会，MMS研究会発表内容）

### 1. Step1 2枚のシャーレ，2人の観察者の間の検定法について

- ① 今までの検定例から「Fisherの正確確率検定法」を，5%の有意水準で約200回行っているにもかかわらず，有意差がついてこないのは何故か？



大：観察細胞数が50個，異常細胞数が1~2個程度であれば，例えば，1個と2個の間の確率の差が非常に大きく異なり，連続分布の様相とは違う。従って，5%の有意水準を設定したとしても実際にはもっと低い有意水準となっているだろう。

吉：もし，この方法でやるとするならば，5%と厳密に設定するのではなく，5%程度というような設定のほうがよい。離散型変数の場合には，確率を端から足していくとき，例えば，1個目が0.3%であり，2個目になると5%を超えるようなときに有意差がつくのは0.3%の場合だけであり，5%の有意水準を設定したつもりでも実際には0.3%となっている。従って，5%程度という設定をしておけば，5.1%でも5.8%でも「有意差があるだろう」という結論となるはずで，その方がよい。

吉：「Fisherの正確確率検定法」をあまり多用するな，と言われてきているのはそのため，極端な場合以外は，取り除けないという弱点がある。



\* その後の検討で、この段階（ステップ）は、最終的な判定を下すステップではないのだから、有意差が生じたからといって再実験を行う方法をとらず、参考的に用いるべきであるという結論に達した。つまり、あまりにも有意差の生じるペアが多くなってきたならば、実験手技、観察上の相違がなくなるよう努力するというこでこのステップでの有意差の有無を、あまり重要視することはない。

② 1実験32群について、このような検定を繰り返すことに問題はないか？



大：「シャーレをブロックと考えて、解析することは可能だと思うが、1/50というような離散型データの解析に良い方法論があるかは疑問であり、難しいと思う」

吉：「いくつかの要因がある。系列があり、doseがありということで、一種の要因実験のような型式になっている。困るところは、値が正規変数ではないということである。只、これだけ要因が多く、そして、そのうちのいくつかは多分、有意ではないという要因があれば、1つは平方根をとって普通の分散分析をやると、有意である要因が少なければ、割といい線にいくと思う。只、doseも系列も、場合によっては人間も、有意であるという場合には危ないが、誤差的な部分が自由度であれば、うまくいくのではないか？ 調べなければわからない」

（注）出現率=0の場合もあり、どう処理するかは疑問点です。



\* 前にも記しましたが、このステップで、つまり、1-Stepで最終的な判定を下そうというわけではないので、検定を繰り返すことには問題はないと思われます。

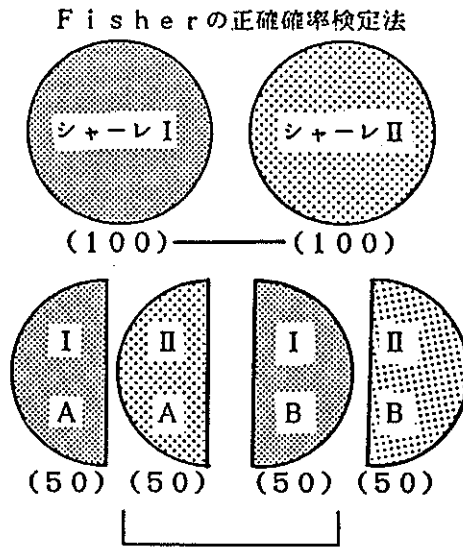
③ シャーレと人というように、区切り方を変えて検定することに問題はないか？

（図①）のような区切り方



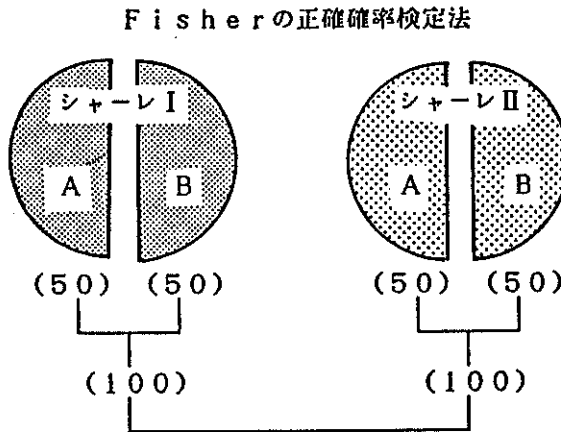
大：「この人は、このシャーレについて多くカウントする」というようなシャーレと人との間の交互反応ということは考えにくい。つまりこの人は、一般的に多くカウントするとか、（この群の）このシャーレは、こっちより多いということは考えられるが …… 従って、この方法に問題はないと思う。

図①



その後、吉村先生から「まず、1シャ-レの中の2つの値を検定し、問題がなければ1シャ-レの値として、今度はシャ-レ間の検定をする」という方法（図②）が良いと指摘されました。現在、検討中ですが、どちらでも良いと思われま

図②





## 2. Step 2 陰性対照群が過去の蓄積データと比較して有意でないことの確認について

吉：これは品質管理の問題である。実験毎に、横軸に実験回数を取り、縦軸に反応数をとってプロットしていく。そして、それがどのように変動していつているのかをみていく。いわゆる管理図を書くわけです。この程度の小さい出現数であれば、ポアソン分布と近似して問題はない。管理図法の教科書の最初に出てくる問題である。そのように管理図を書いていって、極端にアウトになる点や、増加傾向が認められた場合以外は、「OK」とするというやり方で良いと思われる。

## 3. Step 3, Step 4 各系列毎に溶媒対照群と被験物質 4 群との間の有意差検定

①  $\chi^2$  - 検定法は本当に使えないか？



柳： $\chi^2$  - 検定法が使えないという時は、2つの場合がある。

(I) は、 $\chi^2$  - 統計量を計算したとき、それが「 $\chi^2$  - 分布に近似できる」、あるいは「 $\chi^2$  - 分布する」という前提が成り立たないときで、その時は、形式的に  $\chi^2$  - 分布表を基に、棄却値を求めて検定するわけにはいかない。しかし、今の世の中では、近似できなくても自分で確率を計算するか、何らかの近似法を探せば良い。

(II) は、 $\chi^2$  - 統計量を計算することに意味がないときである。この染色体異常試験のように、dose をとっている実験で、 $\chi^2$  - 統計量を計算すること自体、意味があるか疑問である。もし、仮に意味があったとしたら、(I) の問題は計算上の問題だけであり、どうということはない。

もう一つ、多重比較になることを心配していたが、それよりも Sample 1 と Control, Sample 2 と Control というような並列的な比較することに意味があるのか？を考えた方が良い。dose に従って、反応が増えるということ考えた方が良いと思う。dose-response を仮定すると、cell-killing の影響をどう考えたら良いかが問題であるが、killing が起こる前には、どこかの dose で反応が増大している

であろう。それは、non-specificな効果かもしれないが、その増大を検出する検出力の高低で考えると、並列的な比較より dose-responseを仮定したほうが、検出力はより高いだろう。しかし、何か他の理由で、並列的な比較を考えているのかもしれない。だから、比較の方法を考えることの方がはるかに難しく、その後の計算や近似は、数学的な問題にすぎない。

吉：dose-response を入れて考えるという時、今の話では、2通りの場合がある。

1つは、doseに従って単純に増加していく場合、もう1つは、1度上昇して、減少する場合である。他の場合はまずあり得ないとする、方法として、広津流の累積 $\chi^2$ とか、ウィリアムズ流の方法等、色々ある。前記の2通りの場合しかないのであれば、並列的な考え方は得ではない。何故なら、順序を全然意識していないから。

② 適合度 $\chi^2$ ，尤度比検定量は適当か？



柳：「①と同様、適合度 $\chi^2$  値，尤度比検定量を使うこと自体意味があるのか？という問題が、まず挙げられる。それと、多項分布への転換など、数学的な手法を使って $\chi^2$  - 分布への近似性を多少良くしているが、本質的な問題は、 $\chi^2$  - 検定法と大差はない。」

(注) この後、いくつかのコメントが各先生よりありましたが、結局、①の問題に帰結するということとなります。



この医安研が終了した後、先生方のコメントを基に、実際に我々の行っている染色体異常試験のような現象から、算出した $\chi^2$  値が $\chi^2$  - 分布にどのくらい近似できないのかを探ってみることにしました。

ある実験データから期待値が求められます。そして、それを算出してくる順列 (permutation) の数は、10万通りとか20万通りの数となり、その各々の場合について  $\chi^2$  - 値を求めます。そして、ある  $\chi^2$  - 値を算出してくる場合の数が全体の数の内、いくつあるかをプロットすると確率分布となります。これを端の方から累計してやって、実験データから得られた  $\chi^2$  - 値のところ、その累計が5%以上だとか、5%未満だとかで検定することができます。(これが permutation, [直接確率計算] です。)



このとき累計した確率が、 $\chi^2$  - 分布から求められた値と、どの程度 Fit するかを見てみると、図③~図⑦となります。

(注) これはミニコンで計算させました。

この図からやはり、期待値が小さくなるにつれて近似性が悪くなっていることがわかります。しかし、この程度の近似性の悪さは、染色体異常試験のようなデータに限ってはあまり問題にならないかもしれません。このような simulation から生物学的な見解をふまえて、「期待値が、どの程度までなら染色体異常試験の場合には許容できる」ということが推測できると思われれます。



問題は、 $\chi^2$  - 統計量 (あるいは、他の統計量でも dose-response の概念を取り入れていない統計量) を用いてよいかということになってきました。



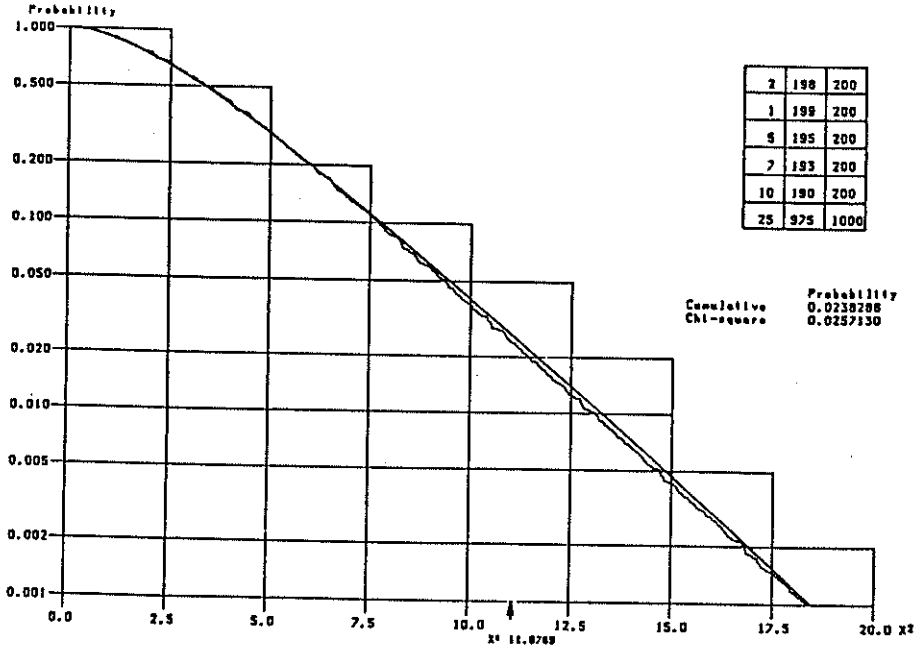
この医安研の時に、大橋先生が御紹介された論文 (Environ. Mutagen. 8:183-204) で Dr. Margolin が提唱している Trend Testss といわれる統計量は、dose-response の概念を取り入れたものであり、 $\chi^2$  - 検定法と比較して極めて検出力が高く、有用であることが述べられています。又、その中で検出力を高くするには、観察細胞数は100個/群ではなく、200個/群にするべきであることも述べられています。



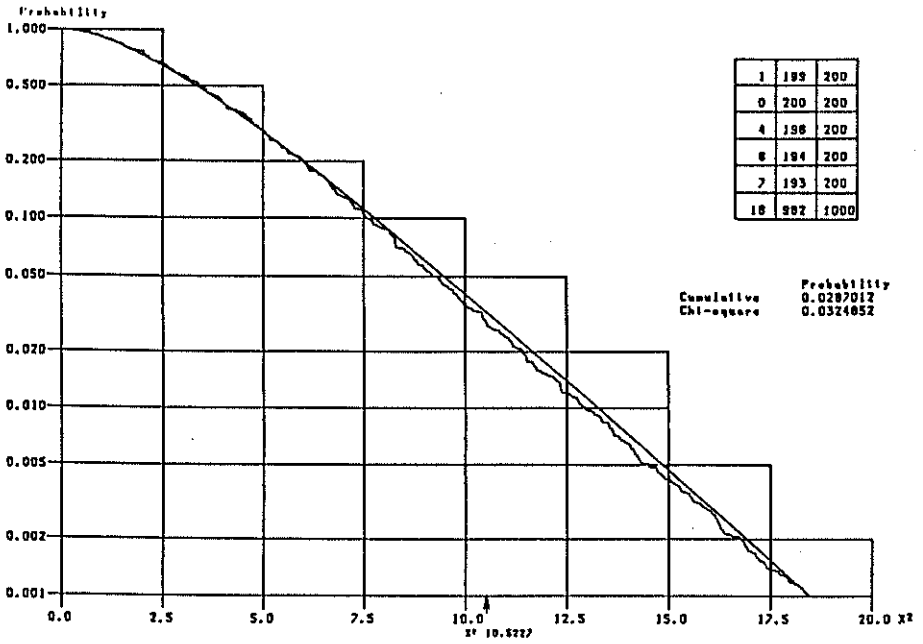
我々も、この方法について検討していますが、in vitro 染色体異常試験の統計的手法としては、我々はこの方法が良いという結論に達しています。

以上

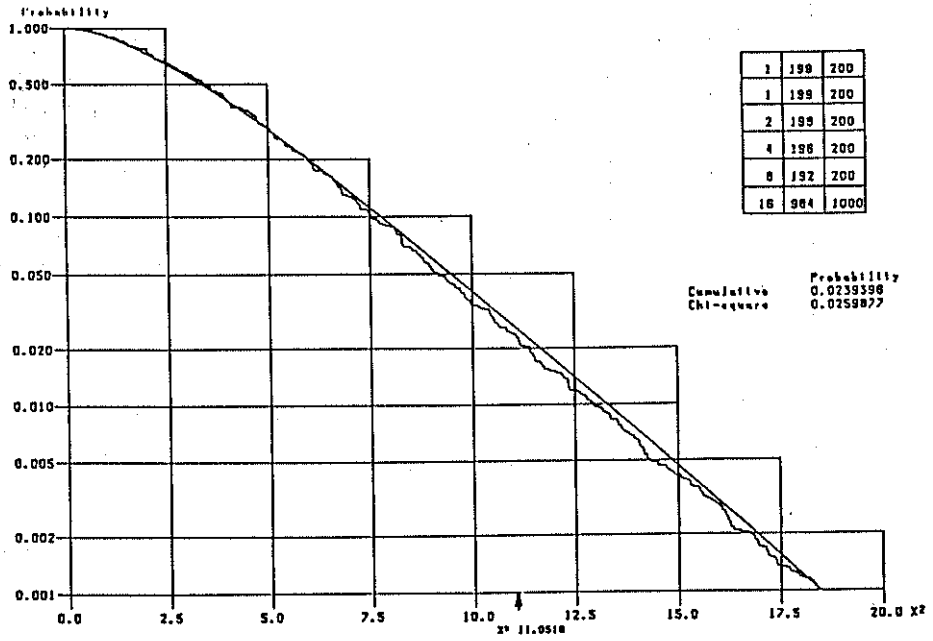
図③. 期待値が5の場合



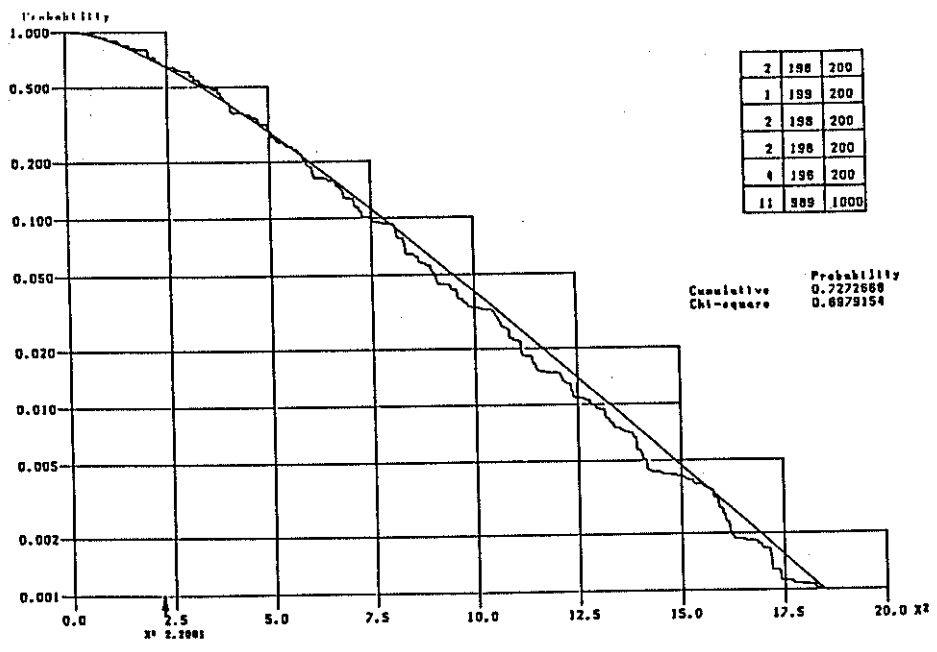
図④. 期待値が3.6の場合



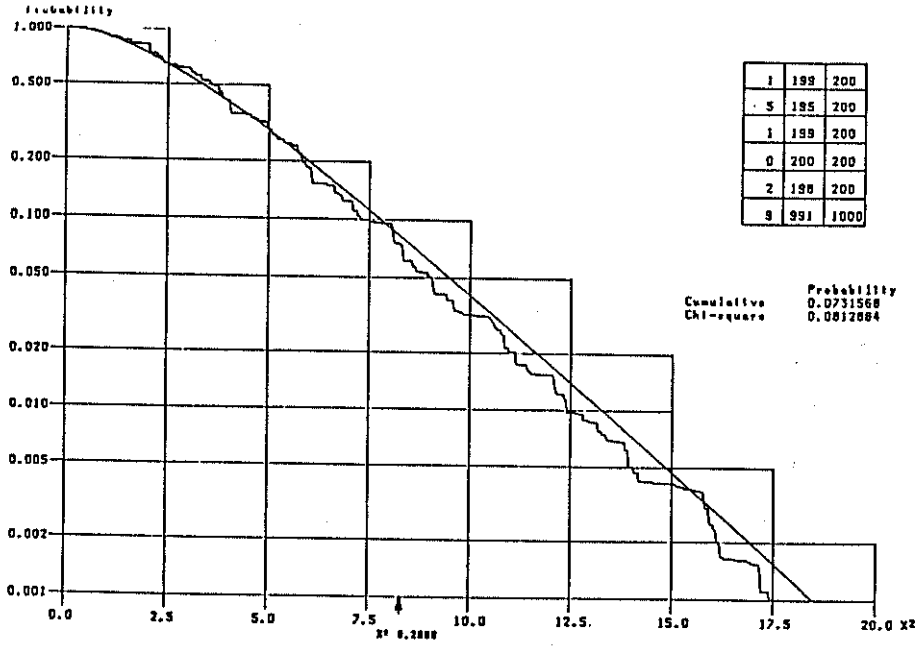
図⑤. 期待値が3.2の場合



図⑥. 期待値が2.2の場合



図⑦. 期待値が1.8の場合



※ 図③～図⑦まで、滑らかな曲線は $\chi^2$ 分布から得られる確率。階段状の曲線は直接計算による累積確率。



# 毒性試験における対照群の 意義とその取扱いについて

—特にマウス骨髄を用いる小核試験の場合—

国立衛生試験所 変異原性部 林 真

医薬品、食品添加物など我々の生活環境に存在する化学物質の安全性を評価するために各種の毒性試験が行われている。これら毒性試験の結果を判定するための基準として対照群が設けられているが、その意義と取り扱いについての議論はあまりなされていない。

毒性試験の結果の判定は、調べようとする化学物質を実験動物に投与したり、菌や細胞をそれで処理した結果が、何も処理しなかった場合や被験物質で処理する時に用いる溶媒のみで処理した場合（陰性対照）と比較して反応に違いがあるかどうかによってなされる。この“違い”の度合を科学的に表現するために統計学的手法を用いることになる。統計学的な差の検定は、被験物質で処理した時の反応が（陰性）対照における反応の偶然のバラツキの範囲内にあるかどうかの確率を元になされる。この確率を正確に計算する、すなわち毒性試験の結果を正しく判定するためには対照となるデータの性質（平均値、分散、分布の型等）を的確に把握しておく必要がある。1回の実験における陰性対照群（同時対照群）のデータだけからではそのデータもバラつくので十分に的確な情報が得られない可能性がある。何回もの実験における陰性対照群のデータを蓄積し、サンプルサイズを大きくしてそのデータの性質を調べることは、陰性対照のデータをよく理解する上で大きな力となるであろう（背景データ）。

本稿では著者の行っているマウス骨髄を用いる小核試験のデータを用いて背景データおよび同時対照群の意義と実際の取り扱いについて述べる。

## 背景データ (historical control data) の意義

毒性試験の結果を科学的に判定するために統計的な方法を用いると述べたが、それには暗黙の前提条件がある。すなわち、その試験が技術的にも実験材料の面からも適切に実施されたものでなければならない。例えばマウスを用いる小核試験においても実験手技の巧拙が結果にも大きな影響を与える。不完全な標本を観察した結果は不完全なものとしかな

り得ない。統計学的な検定の対象となり得るデータを得るためには試験実施者の十分な基礎的、技術的なトレーニングが不可欠であろう。陰性対照群のデータの性質を的確に把握するために、数多くの対照データを蓄積することが役立つと前に述べたが、この背景データの蓄積は同時に技術的なトレーニングを積むことにもなる。

さらに、背景データを蓄積することは、各実験における対照群のデータをそれまでのものと比較することになり、使用動物、使用溶媒、実験手技等の質を常に一定水準に保つための管理をすることもでき（管理図法の適用）、試験の精度、再現性を向上させることにも役立つ。

また背景データを蓄積することにより、それぞれの研究室における実験誤差をはじめ、小核試験や染色体異常試験では異常の判定基準の差による誤差等すべての誤差要因を含めたデータの分布をみることができる。このdata分布はそれぞれの研究室固有のもので文献や教科書からは知り得ないものであり、当該研究室で行われた試験の結果を判定する上で非常に重要な情報である。

ではどれ位のコントロールデータを蓄積すれば良いだろうか。各研究室での技術的な差もあり、一概に何匹とは言えないが、母集団を充分推定できるデータが得られるまで（少なくとも50~100匹）は必要であろう。図1に著者の研究室で行ったマウスを用いる小核試験における陰性対照群の背景データを示す。ヒストグラムが実際に蓄積したデータの分

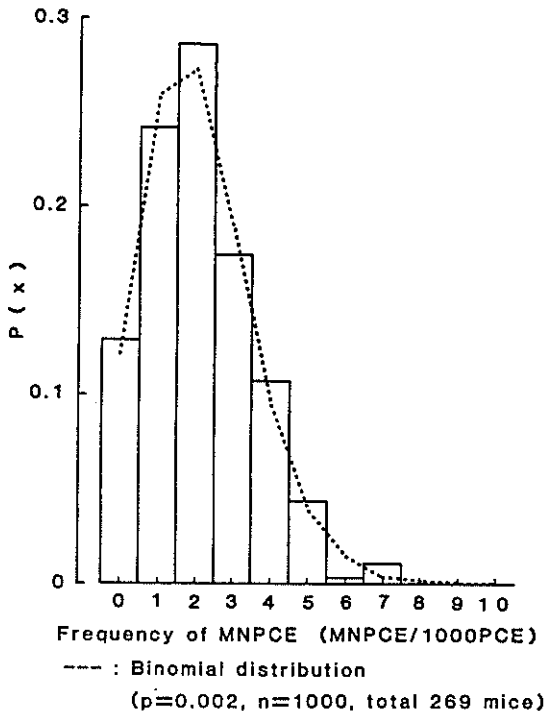


図1 マウスを用いる小核試験における陰性対照群の背景データ。

$p=0.002$ 、 $n=1000$ の2項分布で非常によく近似できる。種類の異なる溶媒対照群を込みにしてある。マウスは静動協より購入した8週令の雄。

布であり、破線は  $p = 0.002$ 、 $n = 1000$  の 2 項分布を示してある。このような背景データを蓄積し始める時にも、管理図法等を用いて実験技術の安定性をもチェックし、ある程度の安定性が得られた後のデータを蓄積することが望ましい。このデータの蓄積は陰性対照群だけでなく陽性対照群についても行うべきであろう。データを蓄積する上からも陽性対照群は、対照物質、投与量、投与経路、処理時間等実験条件はできる限り固定しておくのが良い。上記実験条件の各種組み合わせすべてについて十分なデータを蓄積するのが理想かも知れないが現実的には不可能であろう。小核試験の陽性対照群における背景データの例を図 2 に示す。静岡協より購入した 8 週令の ddY 雄マウスにマイトマイシン C 2 mg/kg を 1 回腹腔内に投与し、投与後 24~30 時間後に動物をと殺し、標本作製したものについてのデータである。陰性対照群のデータ (図 1) に比べて非常にばらつきが大きく、2 項分布では実際の分布を近似することは不可能である。しかし、他の分布をさがすと、多染色性赤血球 1000 個当たりの小核を有する赤血球数の平均値が 61.64 に対して分散が 532.06 と大きく、負の 2 項分布の特徴を示しており、実際にこの分布でかなり良く近似できることがわかる。なおこのデータのばらつきには検体の秤量誤差、標本作製時期の差による誤差等、種々の変動要因のすべてが含まれている。

ここで、これまでに述べてきた背景データの有用性をまとめておく。

1) 実験結果の評価に際し、同時陰性対照群との比較による判定は偶然変動によって評価が左右される危険性がある。背景データを用いることによりこの偶然変動の影響を排除

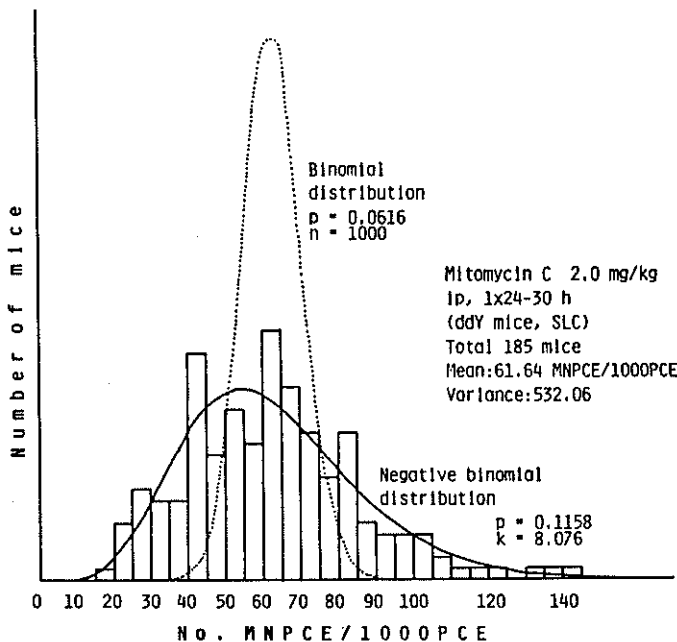


図 2 マウスを用いる小核試験における陽性対照群の背景データ。陰性対照群のデータと異なり裾の広がった分布であり 2 項分布では近似できない。  $p = 0.1158$ 、 $k = 8.076$  の負の 2 項分布で近似できる。

することができる。同時に対照データの性質が充分判明していることにより、適切な統計学的手法を用いることが可能となるのでさらに的確な判定を下せることになる。

2) 背景データを管理図法的に蓄積することは、使用する実験動物や細胞の状態、実験操作等を質的に管理することができ、質の高い安定したデータを得ることができるようになる。

3) 背景データは各研究室固有のものであり、当該研究室での実験誤差、異常の判定基準等あらゆる要因が反映されており、それらは、文献等からは知り得ない情報である。それゆえ、当該研究室で実施された試験結果を判定する上で重要である。

4) 的確な背景データを持つにはデータの蓄積、すなわちそれだけの実験を実施する必要があり、必然的に技術の向上、すなわち実験精度の向上に役立つ。

### 同時対照 (concurrent control) の意義とその取り扱い

一般的に毒性試験においては処理群の他に陰性対照群 (溶媒対照群、無処理対照群) および陽性対照群を設ける。背景データを結果の判定に用いるならば、同時陰性対照群はいらないと考えることもできる。ここでは同時対照群を設けることの意義について述べる。

同時対照群を設けることの目的を当該実験が技術的に成立しているかどうかの判定、および背景データの蓄積に、ほぼ限定してはどうだろうか。同時陰性対照群の値がそれまでに蓄積された背景データから大きくはずれている場合、その実験で使用した動物がすでに小核を誘発するような化学物質に曝露されていた、または飼育環境が適切でなかった (飼育室の温度を高くするだけで小核が誘発されるという報告もある) 等の原因を考えねばならない。また、同時陽性対照群のデータが充分に小核誘発性を示していない場合には当該実験に用いた動物に何らかの欠陥が無かったか、または被験物質の投与ミス等技術的な不都合が無かったかどうかを考えねばならない。このように同時対照群のデータは、当該実験が技術的に成立しているかどうかをみる上で非常に重要であり、もし実験の成立が確認されなければ当該実験を破棄し、再実験を計画すべきであろう。

では実際にどのように同時対照群のデータを評価すれば良いかについて考える。それには管理図法を用いるのが適当であろう。すなわち  $p$ - または  $pn$ -管理図法を用い、背景データより中心線および上限下限を決め、その範囲内に同時対照群の値があるかどうかを先ず見れば良い。この上限、下限の設定はあまりきびしくする必要はなく、例えば  $\pm 3\sigma$  程度で良いと思われる。また同時対照群の値が、例えば単調増加、単調減少のような特定

の傾向を示すようであれば、その原因をつきとめて対策を講じなければならない。

この方法は陰性対照群のデータのみでなく陽性対照群のデータについても適用できる。マウス骨髄を用いる小核試験においてその結果を判定するために最も重要なパラメタである小核を有する多染性赤血球の出現頻度(MNPCE)についての p- 管理図の1例を図3、4に示す。これらは筆者の研究室における1981年以後のデータについてのものである。陰性、陽性対照共に中心線をはさんで上下にランダムに分布しており、単調増加や単調減少のような特定の傾向も認められず、この間当研究室での小核試験は安定した管理状態にあったことがうかがわれる。

対照群の値が上限値または下限値よりはずれた場合の取り扱いを決めておく必要がある。小核試験等やり直しが比較的簡単なものについては、当該実験を破棄し再実験を行う。次に当該実験の対照群のデータは、はずれ値を示した原因が明らかになれば、(例えば、実

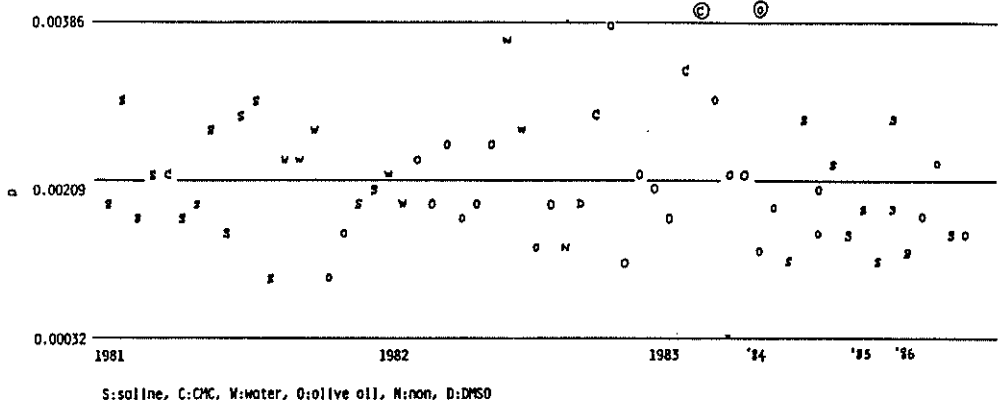


図3 陰性対照群における MNPCE 出現頻度の管理図。

◎、◎の実験は破棄した。

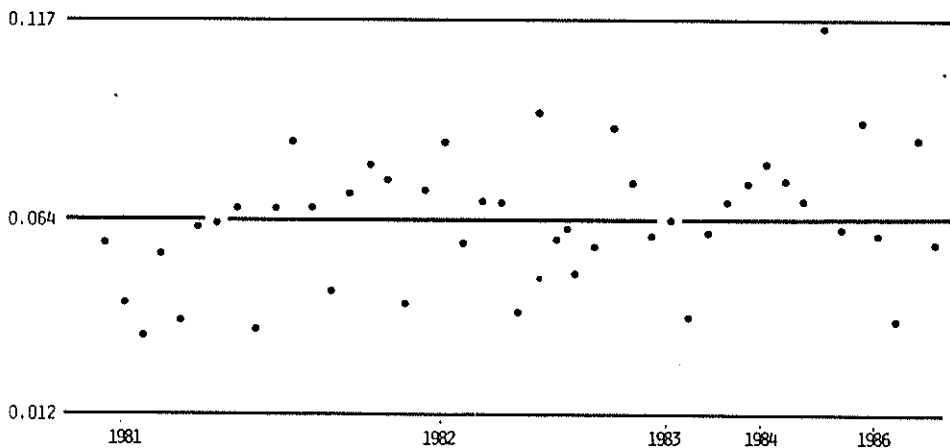


図4 陽性対照群における MNPCE 出現頻度の管理図。

験期間中に飼育温度が急上昇し、陰性対照群の動物に小核の誘発がみられた)、陰性、陽性対照群共に背景データの対象としない。すなわち対照群のデータも明らかな異常値として破棄し、蓄積しない。一方、はずれ値を示した原因が不明の場合には偶然変動とみなし背景データの対象として蓄積する。ここで背景データの更新についてもその方法を前もって決めておく必要がある。すなわち毎回実験終了後に付け加えるのか、それは当該実験の処理群を評価する前か後か、または1年に1度か半年に1度程度にするか。背景データの蓄積量が大きな場合にはそれほど大きな影響は出ないが、データベースがまだ小さい時には1回分の蓄積が結果の判定をかえてしまう場合もある。事前にルールさえ決めておけばどの方法でも良いように思えるが、筆者は今後管理図には毎回プロットするが、背景データの更新は1年に1回行う予定である。なお管理図で何らかの傾向が出て来た場合にはデータ蓄積の期間を過去何年と区切ることがあるかも知れないが、今までのように安定した管理状態が続くならば単に付け加えてゆく予定である。

## おわりに

小核試験における対照群のデータについて筆者が日頃考えていることを中心に述べてきた。これが1つのたたき台となって対照群のデータについての議論が盛んになることを切に期待する。御意見、御批判を是非お聞かせ願いたい。



### はじめに

標本抽出を行う際には、無作為性を保証するために、しばしば乱数が使用される。通常、これらの乱数は一様乱数表<sup>1)</sup>から、一連の手続きを経て得られる。しかし、ラットやマウスを群分けする場合など、多数の乱数を消費する時には、乱数を読みだす手間と時間はけっこう無視できない。また、多くの行と列からなる乱数表から、既に選び終った乱数の重複を避けて、乱数を誤りなく選択してゆく作業もかなりの心労を伴う。この対策として、乱数の選びだしをコンピュータに代行させることができれば、ひじょうに好都合である。ところがそうなると今度は、大きな乱数表をコンピュータの外部ファイルとして作るのに、大変な労力を払わなくてはならない。

そこで、外部ファイルとして乱数表を持たせる代わりに、コンピュータ自身に乱数を生成させることが考えられる。そのような乱数生成の方法としては、

1) 乗算合同法  $X_{n+1} \equiv a X_n \pmod{m}$

2) 混合合同法  $X_{n+1} \equiv a X_n + c \pmod{m}$

これら2種の線形合同法がもっとも良く知られている<sup>2)</sup>。おそらく、あなたが使用しておられるパソコンやミニコンにも、RNDなどの形式で乱数生成のための関数やサブルーチンが組み込まれているはずである。ところが、パソコンの乱数には問題のあることが少なくないといわれている<sup>3)</sup>。また、ミニコンのRND関数においても、ときに不適切な乗数aを用いていることが指摘されているが<sup>4)</sup>、この有力ミニコンメーカーは当の乱数生成プログラムをまだ改訂していないようである<sup>5)</sup>。

ここでは、C. E. Haynesによって見いだされた乗数による混合合同法を用いる。というのも、この乗数による方法が、高精度・長周期の乱数を生成し得る、という好ましい特徴を有する<sup>4)</sup>からである。ところが、残念なことに、この方法は64ビット精度の加算と乗算を要求するために、パソコンのBASICやFORTRAN言語では効率のよいプログラミングが困難である。したがって、この乱数の生成に関するプログラムは、アセンブリ語で作成した。もちろん、このプログラムを使うだけなら、アセンブリ語を理解する必要はなく、BASICのCALL文とその引数のルールに関する若干の知識で十分である。

使用したパソコンはNECのPC-9801Fである。アセンブラやBASICシステムは後述する。なお、もし予算が許すのであれば、無償付属のBASICシステムではなく、MS-DOS下で起動するBASICをご利用になることを次の点から勧める。

- ① pコード型のBASICコンパイラを使用すれば、数倍は高速化できる。
- ② 作成されたデータファイルはFORTRANプログラムなどでも処理できる。
- ③ 日本語コードの取扱いが統一される。

そこで、報告にあたり、MS-DOS版のN88-日本語BASICインタプリタ・コンパイラへ移植することも念頭に置いた。また、アセンブラを持っておられない方には、アセンブリ表現はプログラムの理解のため以外には役立たないので、乱数生成プログラムをBASICのDATA文に置き換えたもので示した。

## 1. 機能

乱数を使った本格的な群分けや各種シミュレーションを行おうとするBASICプログラムにおいて、RND関数の代わりにコールされることによって高精度・長周期の一樣乱数を生成する。

当プログラムはBASICプログラムから機械語のサブルーチンとして呼び出される。その初回においては、BASICより引き継がれた文字型変数の内容を10進整数に見立てて乱数の初期値とする。さらに、C. E. Haynesの乗数を使った混合合同法によって生成した64ビット長の整数乱数を、0と1の間の値を持つ倍精度実数に変換してBASICプログラムに返す。

## 2. 方法

### 2.1 計算方法

次式の混合合同法によって一樣乱数を生成する。

$$X_{n+1} \equiv a X_n + c \quad (\text{modulo } m)$$

ただし、

$$\begin{aligned} a &= (6364136223846793005)_{10} \\ &= (5851 \text{ F42D } 4C95 \text{ 7F2D})_{16} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} m &= (2^{64})_{10} \\ &= (1 \text{ 0000 } 0000 \text{ 0000 } 0000)_{16} \end{aligned}$$

$$c = 1$$

ここで、(modulo  $m$ )とは、右辺を $m$ で割った余りを左辺の値とすることである。得られた乱数は、上位64ビット目の左に小数点を置くことにより、0と1の間の値を持つ小数乱数に変換する。

### 2.2 適用機種と使用した基本ソフトウェア

今回のプログラムの作成と実行に使用したパソコンの機種および構成を以下の1)に示す。なお、乱数生成プログラムを使用するだけならば、2)のBASICインタプリタシステム(本体付属)だけがあれば良く、3)で示したアセンブラは必ずしも必要でない。また、MS-DOSを利用する意図のない場合は、4)に示す基本ソフトウェアも必要としない。また、当プログラムはPC-9801VM上でも正常に動作する。

- 1) NEC製パソコン PC-9801F2  
(8086-based system with 384kB free-area of memory)
- 2) N88-日本語BASICインタプリタシステム  
(standalone BASIC by NEC & Microsoft)
- 3) エディタ・アセンブラWACS<sup>6)</sup>  
(screen editor assembler on N88-DISK BASIC by Wakui)
- 4) その他  
MS-DOS版 N88-日本語BASICインタプリタ・コンパイラ

### 3. 計算手順の概要

パソコンPC-9801F2に使用されているMPU (Intel 8086)は、64ビットの加減乗除命令を持っていない。したがって、この機能をソフト的に作り出すため、計算機のレジスターとメモリーの両方に、無符号64ビット長の整数型レジスターを定義する。ここで、4種の16ビットレジスターDX, CX, BX, AXを連結したものをVXレジスターと呼ぶ。また、64ビット長に連結されたメモリから構成される3個の仮想レジスターを、RVX, SVXおよびTVXとしておく。2. 1項の式で示された乗数aとの乗算および加数cとの加算は、すべてこれらの仮想レジスター間で行われる。したがって、目的とする一様乱数は、 $(2^{64})_{10}$ による剰余、すなわち演算後の仮想レジスターに残った64ビット長の整数として得られる。

次に、おもな計算手順を記す。なお、BASICから引き渡された単精度整数変数RND SWの内容が0であると手順0)を、1であれば手順1)から実行する。一般に、初回は手順0)から実行され、2回目以後は手順1)から行われる。

- 0) BASICからの文字型変数RND INT \$の内容(ASCコード)を64ビット長の2進数に変換し、これを初期値/乱数の種( $X_n$ )とする。
- 1) 乱数の種( $X_n$ )をTVXへ、乗数をSVXに転送する。両者間で64ビット長の無符号整数乗算を行い、結果をRVXに得る。
- 2) RVXの内容をVXレジスターに転送し、VXレジスタに1を加算する。
- 3) VXレジスターに求められた乱数( $X_{n+1}$ )を、次の乱数生成のために、乱数の種( $X_n$ )へ戻す。
- 4) VXレジスターの内容をN88-BASICで定められた倍精度浮動小数点実数の形式に変換し、これをRND 01 #に返してBASICに戻る。

### 4. NSチャート

<b>【開始時の管理処理】</b> スタック領域の設定 全レジスターの退避 パラメータテーブルと各引き数の番地を読みだす MBASINT <=== BASINT : RND INT \$のベースアドレス MX <sub>n</sub> <=== RND INT \$ : 初期値 Msw <=== RND SW : 初期化指示SW の順に読みだす	
<u>Msw = 0 ?</u>	
yes	no
<b>【初期値変換ルーチン】</b> RND INT \$を2進数MX <sub>n</sub> へ変換	
<u>Msw = 1 ?</u>	
yes	
no	
正常に変換できなかった? yes   no	
エ ラ ー 処 理	<b>【混合合同法の計算ルーチン】</b> (MX <sub>n-1</sub> ) <=== (MX <sub>n</sub> ) : 前回の乱数の保存 (TVX) <=== (MX <sub>n</sub> ) (SVX) <=== Haynes's constant (RVX) <=== (TVX) × (SVX)
	エ ラ ー 処 理



## 5. プログラムの作成

乱数生成のためのプログラムはアセンブリ語でコーディングされたものであり、WACSやMASMなどのソフトを使用している者ならともかく、その表現は一般に供するには不相当と考えられる。したがって、ここでは、その機械表現をBASICのDATA文として示すことにした。この方法であれば、プログラムの作成環境が通常のN88-BASIC (スタンドアロン) であるか、MS-DOS下のBASICインタプリタ・コンパイラであるかを問わないし、技術的には比較的容易に作成できるという利点もある。ただし、DATA文の内容はBASICによってエラーチェックされないし、しかもここでのタイプミスはまず確実にプログラムの暴走をひき起こすので、注意深くタイプしなければならない。

機能：DATA文から読みだした機械語表現の乱数生成プログラムを、PC-9801のベースアドレス&hA800から始まるVideo-Ram上に、1バイトずつ書き込む。次に、BLOAD文によってVideo-Ramの内容をフロッピディスクに "RND64.MAC" という名で記録する。

このBASICプログラムの実行後、乱数生成プログラムはフロッピディスクに作成される。したがって、今後は、このBASICプログラムを実行する必要はなく、次の6. に示す要領で乱数生成プログラムを呼び出すだけである。

```
1000 '      SAVE "SETRND.BAS",A
1010 '
1020 '      Implemented by Sano Masaki in 1987.1.14
1030 '      Ver 1.0 1987.1.14
1040 '
1050 SCREEN 3,1,0,1: CLS 2
1060 '
1070 DEF SEG=&HA800
1080 RESTORE *RND64.DATA.STATEMENT
1090 K=0
1100 READ D$
1110 WHILE NOT D$="FIN"
1120     POKE K, VAL("&h"+D$)
1130     READ D$
1140     K=K+1
1150 WEND
1160 '
1170 DEF SEG=&HA800
1180 BSAVE "RND64.MAC", 0, K
1190 CLS 2
1200 END
1210 *RND64.DATA.STATEMENT
1220 DATA 2E,8C,16,B9,00,2E,89,26,BB,00,0E,17,BC,FD,00,50
1230 DATA 53,51,52,55,56,57,1E,06,2E,89,1E,FD,00,8C,D9,2E
1240 DATA 89,0E,FF,00,C4,37,2E,89,36,19,01,8C,C1,2E,89,0E
1250 DATA 1B,01,C4,77,04,2E,89,36,13,01,8C,C1,2E,89,0E,15
1260 DATA 01,C4,77,08,2E,89,36,07,01,8C,C1,2E,89,0E,09,01
1270 DATA C4,77,0C,2E,89,36,01,01,8C,C1,2E,89,0E,03,01,0E
```

1280 DATA 1F,C4,36,01,01,26,8B,0C,89,0E,05,01,83,F9,01,74  
1290 DATA 11,83,F9,00,75,29,E8,30,01,8B,0E,05,01,83,F9,01  
1300 DATA 75,1D,E8,4D,02,E8,BA,02,E8,1B,03,07,1F,5F,5E,5D  
1310 DATA 5A,59,5B,58,2E,8E,16,B9,00,2E,8B,26,BB,00,CF,8D  
1320 DATA 36,0B,01,C7,04,FF,FF,C7,44,02,FF,FF,C7,44,04,FF  
1330 DATA FF,C7,44,06,FF,FF,E9,CF,FF,00,00,00,00,00,00,00  
1340 DATA 00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00  
1350 DATA 00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00  
1360 DATA 00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00  
1370 DATA 00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00  
1380 DATA 00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00  
1390 DATA 00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00  
1400 DATA 00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00  
1410 DATA 00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00  
1420 DATA 00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,2D  
1430 DATA 7F,95,4C,2D,F4,51,58,20,2F,20,52,4E,44,36,34,20  
1440 DATA 3A,20,52,61,6E,64,6F,6D,20,4E,75,6D,62,65,72,20  
1450 DATA 47,65,6E,65,72,61,74,6F,72,20,69,6D,70,6C,65,6D  
1460 DATA 65,6E,74,65,64,20,62,79,20,53,61,6E,6F,20,4D,61  
1470 DATA 73,61,6B,69,20,69,6E,20,31,39,38,37,2E,31,20,56  
1480 DATA 65,72,20,32,2E,30,20,2F,20,C4,36,13,01,26,8A,04  
1490 DATA 84,00,A3,17,01,26,8B,4C,02,89,0E,13,01,C4,36,19  
1500 DATA 01,26,8B,0C,89,0E,15,01,8B,3E,17,01,C7,06,05,01  
1510 DATA FF,FF,83,FF,05,7C,4A,C7,06,05,01,FE,FF,83,FF,13  
1520 DATA 7F,3F,C4,36,13,01,C7,06,1D,01,00,00,C7,06,1F,01  
1530 DATA 00,00,C7,06,21,01,00,00,C7,06,23,01,00,00,C7,06  
1540 DATA 05,01,FD,FF,83,FF,00,74,6B,4F,26,8A,04,46,A2,35  
1550 DATA 01,3C,20,74,EF,3C,2B,74,EB,3C,30,72,04,3C,39,76  
1560 DATA 03,E9,AD,00,A1,1D,01,8B,1E,1F,01,8B,0E,21,01,8B  
1570 DATA 16,23,01,E8,3C,02,E8,39,02,E8,42,02,E8,33,02,FF  
1580 DATA 36,35,01,8F,06,1D,01,81,26,1D,01,0F,00,C7,06,1F  
1590 DATA 01,00,00,C7,06,21,01,00,00,C7,06,23,01,00,00,E8  
1600 DATA 1C,02,A3,1D,01,89,1E,1F,01,89,0E,21,01,89,16,23  
1610 DATA 01,E9,90,FF,C7,06,05,01,FC,FF,A1,1D,01,0B,06,1F  
1620 DATA 01,0B,06,21,01,0B,06,23,01,3D,00,00,74,43,A1,1D  
1630 DATA 01,8D,36,37,01,8D,3E,3F,01,8D,2E,47,01,89,04,89  
1640 DATA 05,89,46,00,8B,1E,1F,01,89,5C,02,89,5D,02,89,5E  
1650 DATA 02,8B,0E,21,01,89,4C,04,89,4D,04,89,4E,04,8B,16  
1660 DATA 23,01,89,54,06,89,55,06,89,56,06,C7,06,05,01,01  
1670 DATA 00,C3,8D,36,3F,01,8D,3E,47,01,8B,05,A3,2D,01,89  
1680 DATA 04,8B,45,02,A3,2F,01,89,44,02,8B,45,04,A3,31,01  
1690 DATA 89,44,04,8B,45,06,A3,33,01,89,44,06,A1,4F,01,A3  
1700 DATA 25,01,A1,51,01,A3,27,01,A1,53,01,A3,29,01,A1,55  
1710 DATA 01,A3,2B,01,E8,BC,00,A1,1D,01,8B,1E,1F,01,8B,0E  
1720 DATA 21,01,8B,16,23,01,05,01,00,83,D3,00,83,D1,00,83  
1730 DATA D2,00,8D,3E,47,01,89,05,89,5D,02,89,4D,04,89,55  
1740 DATA 06,C3,83,FA,00,75,0F,83,F9,00,75,0A,83,FB,00,75  
1750 DATA 05,3D,00,00,74,40,C6,06,35,01,81,83,FA,00,75,12  
1760 DATA 89,CA,89,D9,89,C3,80,F0,00,06,35,01,88,00,00,E9  
1770 DATA E9,FF,F8,72,0A,E8,FA,00,FE,0E,35,01,E9,F4,FF,88  
1780 DATA E0,88,DC,88,FB,88,CF,88,E9,88,D5,88,F2,B6,00,E8

```

1790 DATA D4,00,8A,36,35,01,8D,36,0B,01,89,04,89,5C,02,89
1800 DATA 4C,04,89,54,06,C3,C4,3E,01,01,A1,05,01,26,89,05
1810 DATA 8D,36,0B,01,C4,3E,07,01,8B,04,26,89,05,8B,44,02
1820 DATA 26,89,45,02,8B,44,04,26,89,45,04,8B,44,06,26,89
1830 DATA 45,06,C3,FA,8B,1E,25,01,A1,2D,01,F7,E3,89,D1,A3
1840 DATA 1D,01,A1,2F,01,F7,E3,01,C8,A3,1F,01,83,D2,00,89
1850 DATA D1,A1,31,01,F7,E3,01,C8,A3,21,01,83,D2,00,89,D1
1860 DATA A1,33,01,F7,E3,01,C8,A3,23,01,8B,1E,27,01,A1,2D
1870 DATA 01,F7,E3,01,06,1F,01,83,D2,00,89,D1,A1,2F,01,F7
1880 DATA E3,01,C8,83,D2,00,01,06,21,01,83,D2,00,89,D1,A1
1890 DATA 31,01,F7,E3,01,C8,01,06,23,01,8B,1E,29,01,A1,2D
1900 DATA 01,F7,E3,01,06,21,01,83,D2,00,89,D1,A1,2F,01,F7
1910 DATA E3,01,C8,01,06,23,01,8B,1E,2B,01,A1,2D,01,F7,E3
1920 DATA 01,06,23,01,FB,C3,F8,FA,D1,DA,D1,D9,D1,DB,D1,D8
1930 DATA FB,C3,F8,FA,D1,DO,D1,D3,D1,D1,D1,D2,FB,C3,F8,FA
1940 DATA 03,06,1D,01,13,1E,1F,01,13,0E,21,01,13,16,23,01
1950 DATA FB,C3,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00,00
1960 DATA FIN

```

## 6. 呼び出し方法(動作試験)

乱数を生成するためには初期値が欠かせない。初期値としては、日付(年号・月・日)や時刻、等を組み合わせて用いるのが普通である。したがって、初期値はしばしば長い数字の列となり、これを単精度や倍精度の実数に変換するために特別な工夫をしなければならぬ。そこで、この乱数生成プログラムでは、BASICの文字列を使用することにより、初期値を5桁から19桁までの10進表現として定義できるようにしてある。

以下に、初期値の設定と呼び出し方法をBASICプログラムで示す。例題のプログラムは、時刻・日付から初期値を定め、10回ほど乱数を捨てて安定化させたのち、1000個の倍精度乱数を初期値とともにフロッピディスクに記録するものである。実行前に注意すべき点として、プログラムのなかでif文を伴った注釈文が3種類ある。自分が使用するBASICシステムの環境に合わせてこれらのうち1つだけを選び、注釈記号<'>を取り除いて有効な実行文に変えなければならない(現在は、MS-DOS版BASICインタプリタ用に選択されている)。これは、文字列変数のベースアドレスを示すリロケーションコードの意味がBASICシステムによって違っているためである。

```

1000 '      SAVE "TESRND.BAS",A
1010 '
1020 '      Implemented by Sano Masaki
1030 '      Ver 1.0
1040 '      1987.1.17
1050 '
1060 '      $FILE 2, 256
1070 DEFINT A-Z
1080 OPTION BASE 1
1090 DEF FNSEC1(TIM$)=( VAL(LEFT$(TIM$,2))*60 + VAL(MID$(TIM$,4,2)) )#60
          +VAL(RIGHT$(TIM$,2))
1100 MXREC=1000: MXTIM=10000

```

```

1110 '
1120 RNDINT$=STR$(FNSEC!(TIME$)) ' ---- get Initial value & Base address
1130 RNDINT$=RNDINT$ + (RIGHT$(DATE$,2)+MID$(DATE$,4,2)+LEFT$(DATE$,2))
1140 'RNDINT$="1234567890987654321" ' <===== Initial Value for testing
1150 DEF SEG=VARPTR(RNDINT$,1)
1160 RELOC=PEEK(VARPTR(RNDINT$,0)+1)
1170 '< get the Base-Address of RNDINT$ on standalone N88-BASIC >
1180 'IF RELOC=0 THEN BASINT=VARPTR(RNDINT$,1)
        ELSE BASINT=&H60
1190 '< get the Base-Address of RNDINT$ on N88-BASIC(MS-DOS) >
1200 IF RELOC=0 THEN BASINT=VARPTR(RNDINT$,1)
        ELSE BASINT=SEGPTR(6) ' ---- SEGPTR(7) for file-buffer
1210 '< get the Base-Address of RNDINT$ on N88-BASIC Compiler(MS-DOS) >
1220 'IF RELOC=1 THEN BASINT=SEGPTR(8)
        ELSE BASINT=SEGPTR(7)
1230 '
1240 CONSOLE 0,25,1,1 ' ---- load, initial and stabilizing of RND64
1250 SCREEN 3,1,0,1: CLS 2
1260 DEF SEG=&HA800: RND64=0: BLOAD "RND64.MAC"
1270 RNSW=0: RND64=0
1280 FOR J=1 TO 10
1290     CALL RND64( RNSW, RND01#, RNDINT$, BASINT )
1300 NEXT
1310 '
1320 COLOR 6
1330 PRINT: PRINT "---- recording computed Random Numbers !"
1340 COLOR 7
1350 OUTPUT$ ="SCRN:"
1360 FILENAME$="RND01#.DAT"
1370 OPEN OUTPUT$ AS #1
1380 OPEN FILENAME$ AS #2: LOF2=LOF(2): CLOSE #2
1390 IF LOF2=0 THEN OPEN FILENAME$ FOR OUTPUT AS #2
        ELSE OPEN FILENAME$ FOR APPEND AS #2
1400 PRINT #1, RNDINT$
1410 PRINT #2, RNDINT$
1420 FOR J=1 TO MXREC
1430     CALL RND64( RNSW, RND01#, RNDINT$, BASINT )
1440     PRINT #1, USING "####: .#####";J;RND01#
1450     PRINT #2, USING "####: .#####";J;RND01#
1460 NEXT
1470 '
1480 COLOR 6
1490 PRINT: PRINT "---- measuring the calculating time of a Random !"
1500 COLOR 7
1510 STRSEC!=FNSEC!(TIME$)
1520 FOR J=1 TO MXTIM
1530     CALL RND64( RNSW, RND01#, RNDINT$, BASINT )
1540 NEXT
1550 FINSEC!=FNSEC!(TIME$)
1560 PRINT #1, USING "Elapsed time : #.### ms";
        ((FINSEC!-STRSEC!)/MXTIM)*1000

```

<p><b>注意 !</b>  RNSW 整数型  BASINT 变数</p>
---



```

1570 PRINT #2, USING "Elapsed time : #.### ms";
      ((FINSEC!-STRSEC!)/MXTIM)*1000
1580 PRINT #1, : PRINT #1, "Completed !!"
1590 CLOSE #1
1600 CLOSE #2
1610 '
1620 END

```

検査のため、初期値を"1234567890987654321"として、上のプログラムをMS-DOS下のBASICインタプリタとコンパイラで実行した結果の一部を示す。当然ながら、生成された乱数は両者で完全に一致する。

MS-DOS BASIC インタプリタ	MS-DOS BASIC コンパイラ
初期値：1234567890987654321	初期値：1234567890987654321
1: .82241532	1: .82241532
2: .02171910	2: .02171910
3: .13896664	3: .13896664
4: .41399830	4: .41399830
5: .13316354	5: .13316354
6: .03384663	6: .03384663
7: .62266216	7: .62266216
8: .34841609	8: .34841609
9: .28065445	9: .28065445
10: .51414484	10: .51414484
...	...
991: .63199100	991: .63199100
992: .19461573	992: .19461573
993: .52337295	993: .52337295
994: .38594035	994: .38594035
995: .22358346	995: .22358346
996: .26377171	996: .26377171
997: .03089381	997: .03089381
998: .55068455	998: .55068455
999: .40073873	999: .40073873
1000: .08289801	1000: .08289801
Elapsed time : 3.000 ms	Elapsed time : 1.800 ms

この結果の最後に示された Elapsed time は、ループに要する時間も含んでいる。したがって、その時間を差し引くと、乱数1個の生成(そのCALL文の実行)に要する時間はインタプリタでは2.5msで、コンパイラにおいては1.5msであった(8MHz)。PC-9801VM(10MHz)上で実行すれば、さらに40%程度短縮されよう。

## 7. 生成乱数の検定

このようにして生成された乱数（乱数列）が十分にでたらめであるかを調べるには、頻度検定、系列検定、間隔検定、ポーカー検定、連の検定、系列相関検定などが使われる。ここでは、よく知られている“頻度検定”と比較的強力であると考えられている“連の検定”の結果の一部を示す。

検定のためのプログラムは紙面の都合で成書<sup>7)</sup>にゆずるが、いずれも 6. 呼び出し方法 の項で示したプログラムの行番号1310までを含んでいる。つまり、時刻と日付を初期値とし、10個の乱数を捨てた後、生成される乱数列について目的の検定を実施した。

### 7. 1 頻度検定

群分けには100匹位の動物を扱うこともあるので、ここでは[0, 1)の値をとる実数乱数を1から128までの整数乱数に変換( $i = \text{FIX}(\text{RND}01\#*128) + 1$ )して検定に付した。

Initial Value= 43692210187 Sample Size= 12800 Expected Frequency= 100

Trial	Random Number										Chi-sq.	Significance	
	1	2	3	4	5	...	124	125	126	127			128
1	103	79	117	95	101	...	93	104	95	95	110	101.14	0.9559
2	99	96	106	104	102	...	105	96	91	99	86	142.42	0.1654
3	102	97	99	102	112	...	91	102	119	83	95	125.64	0.5175
4	91	93	111	108	103	...	106	109	81	107	115	132.12	0.3599
5	107	110	115	109	103	...	119	98	103	94	110	126.06	0.5069
6	92	109	109	89	105	...	81	101	98	91	97	106.90	0.9019
7	103	94	96	97	100	...	99	103	88	93	110	129.94	0.4111
8	99	90	99	117	101	...	115	106	98	103	100	135.10	0.2948
9	111	99	98	114	105	...	100	85	102	121	90	138.68	0.2257
10	103	101	102	112	102	...	98	104	84	104	96	129.18	0.4294
11	129	107	88	109	95	...	91	103	92	94	96	135.60	0.2845
12	118	111	100	97	100	...	98	99	86	99	107	112.56	0.8161
13	109	108	101	107	121	...	85	117	92	104	109	118.06	0.7028
14	94	87	95	98	94	...	94	103	90	116	110	113.74	0.7941
15	102	94	104	84	98	...	111	90	92	99	102	123.78	0.5643
16	103	98	92	108	117	...	118	107	100	103	93	129.54	0.4207
17	97	96	95	99	98	...	89	102	86	111	89	116.08	0.7466
18	119	100	103	104	116	...	82	108	95	90	106	156.08	0.0407*
19	96	84	99	113	116	...	75	86	91	112	98	146.10	0.1181
20	114	97	94	91	94	...	102	106	117	100	89	116.14	0.7453

### 7. 2 連の検定

上り・下りの連の長さ計数の検定の結果を以下に示す。

Initial Value= 51408210187 Sample Size= 10000 Length of Runs= 1,,5,6~

Trial	Expected length						Empirical length						Chi-sq.	Significance
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6		
1	4197	1846	531.5	115.9	20.5	3.5	4229	1835	518	114	13	4	3.49	.6248
2	4190	1843	530.6	115.7	20.4	3.5	4220	1835	506	120	18	3	1.92	.8607



★★★★★★第29回定例会出席者名簿★★★★★★

日時：1987年1月24日(土) 11:00~12:00 基礎講座

場所：総評会館 (途中昼食)

13:00~17:00 定例会

御出席頂いた先生方

\* 伊藤秀博 (三井製薬工業 開発部)

\* 柳本武美 (統計数理研究所)

\* 堀井郁夫 (日本ロシュ 研究所)

\* 吉村 功 (名古屋大学 工学部)

- |                         |                       |
|-------------------------|-----------------------|
| 1 高橋行雄 (日本ロシュ)          | 47 野儀裕之 (フナイ薬品工業)     |
| 2 下井信夫 (ユックムス)          | 48 安田広行 (住友製薬)        |
| 3 瀬川美秀                  | 49 東宮秀夫 ( " )         |
| 4 中嶋康彦 (キッコーマン)         | 50 温井一彦 ( " )         |
| 5 堀江 (参天製薬)             | 51 酒井芳紀 (小野薬品)        |
| 6 福本 ( " )              | 51 浜田知久馬 (東京理科大)      |
| 7 北山英太 (日本新薬)           | 53 滝沢 毅 (日本ロシュ)       |
| 8 齋城 豊 (ライオン)           | 54 井野裕子 ( " )         |
| 9 田中 健 (日本生物科学研)        | 55 内田 ( " )           |
| 10 大窪 (東菱薬品工業)          | 56 三浦昌己 (東洋醸造)        |
| 11 中瀬 ( " )             | 57 今溝 裕 (東洋醸造)        |
| 12 村野弘行 (持田製薬)          | 58 佐野正樹 (生物科学技術研)     |
| 13 阿部俊一 (ミドリ十字)         | 59 長谷文雄 (日本ルセル)       |
| 14 金子泰久 (アップジョン)        | 60 菅井象一郎 (クミア化学工業)    |
| 15 田中光男 (田辺製薬)          | 61 半田 淳 (日本化薬)        |
| 16 渡辺敏彦 (科研製薬)          | 62 高橋昌三 (日本チバガイギー)    |
| 17 多田芳晴 (大塚製薬)          | 63 永見俊之 (日本農薬)        |
| 18 小島 暁 (養命酒製造)         | 64 岡崎 篤 (山内製薬)        |
| 19 中村良治 (日本アップジョン)      | 65 団迫 裕 (万有製薬)        |
| 20 大川 豊 (浅田船本舗)         | 66 伊藤英司 (日本ハイボックス)    |
| 21 玉田誠宏 (丸石製薬)          | 67 沢井正治 (三井製薬工業)      |
| 22 渡辺伸一 (中外製薬)          | 68 塚田良雄 (ヘキストジャパン)    |
| 23 五島滋喜 (大鵬薬品工業)        | 69 河村 寿 (ブリストルマイヤーズ研) |
| 24 " ( " )              | 70 福田武司 (日本生物化学)      |
| 25 秦 正弘 (鳥居薬品)          | 71 大導寺俊平 (科研製薬)       |
| 26 平尾昭法 (日研化学)          | 72 石原敦信 (小野薬品工業)      |
| 27 樋口史郎 (わかもと製薬)        | 73 荻原孝一 (セローノジャパン)    |
| 28 飯島謙丈 (台糖ファイザー)       | 74 内山 武 (津村順天堂)       |
| 29 舟喜光一 (持田製薬)          | 75 村上 ( " )           |
| 30 山本明義 (日本バイオリサーチセンター) | 76 渡辺雄二 (富士生物科学研)     |
| 31 高木 悟 (ヘキストジャパン)      | 77 岡崎正光 (大塚製薬)        |
| 32 阿部節子 ( " )           | 78 野口知雄 (アップジョン)      |
| 33 池田正己 (日本ハイボックス)      | 79 出来俊昭 (シーエステー)      |
| 34 石塚修治 (エスエス製薬)        | 80 大滝 清 ( " )         |
| 35 白橋賢二 (エッセクス日本)       | 81 林 真 (国立衛試)         |
| 36 横井義之 (鐘紡)            | 82 戸塚和男 (東菱薬品工業)      |
| 37 沢田隆博 (信州動物実験センター)    | 83 河上喜之 (実中研)         |
| 38 小池 敏 (アップジョン)        | 84 尾上正治 (ヤクルト)        |
| 39 桑山典之 (帝国臓器製薬)        | 85 今井 (動物繁殖研)         |
| 40 恩田威俊 (第一製薬)          | 86 小林高之 (鳥居薬品)        |
| 41 徳田 淳 (協和発酵工業)        | 87 奥村絃二 (ヒューマンライフ)    |
| 42 坂本達哉 (ロート製薬)         | 88 " ( " )            |
| 43 東野浩司 (大五栄養化学)        | 89 " ( " )            |
| 44 山下哲司 (ロート製薬)         | 90 塩崎裕通 (日本ロシュ)       |
| 45 兼沢 敦 (湧永製薬)          | 91 (アップジョン)           |
| 46 大塚芳正 (持田製薬)          |                       |

