

れた際、顎口虫症に関する会議が2日間にわたり開催されたが、その会議で、メキシコでは過去10年間に症例が1500例以上に達するとみられるとの報告がベラクルス大学のDr. J.M. Martinez C.からなされたほか(図)、

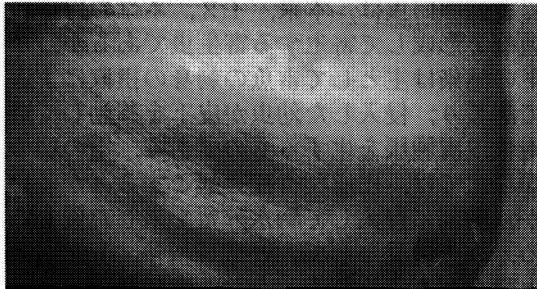


図5 メキシコに多発している皮膚顎口虫症

ナヤリット市テピク総合病院のDr. M.M. Roblesから過去10年間の皮膚科外来患者12574例中、767例が顎口虫症であったことが報告された。メキシコでは、数種類の顎口虫の存在が知られているが、このような人体症例がどのような種類によるものであり、どのような生活史を経て、ヒトの間に感染を起しているのか、興味ある問題である。おそらく、成虫は、野生動物に寄生するものであろうが、たとえばピューマなどが終宿主になっているものが、人体感染を起しているのではないだろうか、と仮に想定してみる。そうすると、アステカ文明の遺跡にこの動物がよく出てくるので、その頃はこういう人体例はなかったのだろうか、などと夢のような想いが膨らんでくるのを覚える。

5) 包虫症(エキノコックス症)

ところで、北海道では、キタキツネの増加によって、かつては根室地方に限局されていた包虫症汚染地帯が全域に拡大している。本症は、キタキツネの小腸に寄生する多包条虫の虫卵をヒトが経口的に摂取することによって感染するもので、虫卵が小腸に達すると六鉤幼虫が孵化し、小腸粘膜から侵入して、門脈を経て肝・肺などの臓器に達し、包虫を形成する。最近の報告によると、道内のキタキツネの感染率は39.5%にも達しているとされ、それには本条虫の中間宿主たるエゾヤチネズミなどの野ネズミの繁殖と汚染が大きな要因となっているという¹⁰⁾。また、1965年

に根室で最初の患者が発生したが、その後の30年間、1996年までに認定された北海道在住の認定患者と、要観察者、血清検査陽性者の総数は617名にもものぼっている¹⁰⁾。青函トンネルで北海道と本州がつながった現在、本症の流行は、今後本州でも大いに警戒を要することである。

おわりに

以上、新興・再興感染症としての原虫病及び寄生虫病について概略を述べた。これらのなかには、人獣共通感染症(zoonosis)であるものも多い。そして、これらの流行の背景には、日本人特有の食習慣や嗜好の影響というものもあるが、それに加えて大きな要因としては、野生動物の間の寄生虫病を制御する手だてがいまのところ全くなされていないということがある。今後も、ヒトと動物の接点が多くなることを考えられるところから、エボラ出血熱に象徴されるように、病原体がウイルスであれ、寄生虫であれ、いつ、何時、新型の感染症がわれわれの身近に発生するかも知れない可能性がある。一方、マラリアや住血吸虫症など、現在、世界で流行している感染症は、地球がますます狭くなり、感染症には国境がなくなってきたことを示している。

また、「静岡実験動物」という言葉から、20年前、米国留学から帰国した頃、純系マウスの入手にどんなに苦労したかを思い出す。これらの新興・再興感染症の研究のために、いかに実験用動物が重要であるか、またその有用性について、われわれが行っているマラリアや住血吸虫症の防御免疫発現機構の解明をめざした研究の一端を講演では紹介したが、本稿では割愛した。

[参考文献]

- 1) 埼玉県衛生部：クリプトスポリジウムによる集団下痢症報告書，p200，1997。
- 2) 相川正道，永倉貢一：現代の感染症，p222，岩波書店，1997。
- 3) 横川宗雄，小島莊明(訳)：R.ロス マラリアに関する研究，川喜田愛郎ほか編

- 「ノーベル賞講演：生理学・医学」1：63
 -180, 講談社, 1984.
- 4) Talla, I., et al. : Outbreak of intestinal schistosomiasis in the Senegal River Basin, Ann. Soc. Belg. Med. Trop., 70, 173-180 (1990)
 - 5) Kojima S, Niimura M, Kobayashi M, et al. : A newly discovered habitat of *Oncomelania* snails in the Obitsu River Basin of the Central Boso Peninsula, Japan. Jpn J Parasitol 34, 419-421, 1985.
 - 6) Kojima S, Kanazawa T, Kobayashi M, et al. : Epidemiologic studies on schistosomiasis japonica in a newly found habitat of *Oncomelania* snails in Japan, Am J Trop Med Hyg 38, 92-96, 1988.
 - 7) Ogata K, et al : Three confirmed and five suspected human cases of *Gnathostoma doloresi* infection found in Miyazaki Prefecture, Kyushu. Jpn J Parasitol 37, 358-364, 1988.
 - 8) Ando K, et al. : Two human cases of gnathostomiasis and discovery of a second intermediate host of *Gnathostoma nipponicum*, J Parasitol 74, 623-627, 1988.
 - 9) 名和行文 : ドロレス顎口虫症. 最新医学, 44, 807-814, 1989.
 - 10) 神谷正男 : 新たな様相を示すエキノコックス症-感染源対策へ向けて, 最新医学, 52, 81-92, 1997.

《 学術論文 》

バートレットの等分散検定に対する一考察
— 少数例を用いた毒性試験データから —

財団法人 食品農医薬品安全性評価センター 小林克己・三浦大作・渡 修明
山本利男・庄子明德・北島省吾

化工部農薬安全性評価監督検閲中心(沈陽,中国) 謝 明・安 麗・姚 宝玉

東京農業大学 高崎興平

はじめに

近年本邦で実施されるげっ歯類を用いた毒性試験から得られる定量値の統計処理は、第一種の過誤を防ぐために、 t -検定に代わってダネットの多重比較検定などの多重性を考慮した手法が多くなってきた。これら多重性を考慮した検定を実施する場合、等分散性(一様性)の必要から^{1,2)} 一般的にバートレットの等分散性検定(BT-検定)で各群間の分散の等分散性を吟味している。もし等分散性が認められなければ順位和検定または等分散性になるように数値を対数や平方根などに交換した後、ダネットなどの多重比較検定で実施している。小林らは³⁾ げっ歯類を用いた毒性試験から得られる定量データのうち、一群10匹程度の13週間の反復投与試験では18%、一群50から70匹のがん原性試験を含めた長期反復投与試験では35-50%がBT-検定によって有意差を示し順位和検定を選択せざるを得ないこと、またイヌなどを用いた一群4から6匹程度の動物数が少ない試験では、全定量値のうち8%がBT-検定によって有意差を示すことを報告している。

またイヌ試験では群内動物数が少ないことから、その統計手法はげっ歯類と異なる。最近、イヌを用いた毒性試験では統計を実施しない場合も多々見受けられる^{4,5)}。イヌ試験の特徴は、げっ歯類と異なって同一個体から初回値を含めて経時的に定量値が得られる。これらの特性を応用して最近では、二元配置(用量群間と測定ポイント)を利用した手法

が多く見られる^{6,7)}。しかし、これらの論文では等分散性が吟味されていない。

一方ダネットの原著論文[1]では、等分散性が検定されていないが、一様性を前提としている。この理由は、例数が少ないことによるものと思う。また、Dr. Fenneyによると、BT-検定は、誤差分布の非正規性の検出力の低さの点で悪名の高いもので、データについて等分散性が認められるか、認められないかを判定するには信頼性に欠ける方法であり、また分散に一様性のないことは、驚くべきことではないと述べている⁸⁾。一様性を検定する手法は、一般的に明確にされていないがリーベンの検定、BT-検定、F-検定及びカイ二乗検定を用いた適合度検定が一般化している。今回、毒性試験の統計処理で重要な位置を占めているBT-検定法がどのような性質を持っているものか、例数の少ない試験例のデータを使用して検索し、より適正な統計手法を確立する一つの材料として本調査結果を示した。

調査方法および解析法

1. 一定群数で群内個体数の違いによるBT-検定の有意差検出パターンの変化
イヌを用いた反復投与試験、1群4頭、計4群から得られた総コレステロール値を用いて、これを基礎数値としてほぼ同様な分散を設定し1群10頭及び1群30頭の場合の仮想データを用いて各々BT-検定を実施した。
2. 群数一定で、分布の大小による有意差検

出パターン

1群4匹, 6群を設定した毒性試験から得られたGPTの定量値を利用して, 対照群の値を分散の小さい例に, また高用量群の値を分散の大きい例に設定して, BT-検定による実質有意差を計算した. 設定例は, 分散が小さい例と分散が大きい例を5:1, 4:2, 3:3, 2:4および1:5とした. その他に各群間の分散がほぼ同一の例を参考例とした.

3. 群数の増加によるBT-検定の有意差検出パターン

通常のイヌ試験の群数は4である. しかし, 多元配置によるダネット検定では, 用量群に加えて性差および測定ポイントが加わり16群を一括処理して分散分析の表を作成して誤差項の分散を算出しダネットの多重比較検定を行う場合がある. もしBT-検定が群数の増加によって有意差の検出が低下すればBT-検定の必要がなくなることが考えられることから, GOTの定量値を利用して群数の増加によるBT-検定の有意差検出パターンを調査した.

4. 統計処理法

BT-検定はユックムス(株)(東京)のMuscot CAT Vol.1を使用しておこない, その際有意水準はすべて0.05とした. 一部の例は手計算で実施した.

結 果

1. 一定群数で群内個体数の違いによるBT-検定の有意差検出パターンの変化

一群内の頭数の変化によるBT-検定の実質有意差の変化を表1に示した. 1群4頭の場合は, 実質水準が24%, 1群10頭の場合は実質水準が0.4%, 1群30頭の場合は実質水準が<0.000%で不等分散を示した.

2. 群数一定で, 分布の大小による有意差検出パターン

群数一定で, 分布の大小による有意差検出パターンを表2に示した. 6群設定によるBT-検定による実質有意差は, 分散の大きい群が1群存在の場合が1.1%, 分散の大きい

群が2群存在の場合が0.5%, 分散の大きい群が3群存在の場合が1.8%, 分散の大きい群が4群存在の場合が5.8%, 分散の大きい群が5群存在の場合が31%, 6群とも分散の小さい場合が99%をそれぞれ示した. 以上の結果から, BT-検定は, 大きい分散を示した群が1ないし2群のみ存在する場合が最も高い有意水準で有意差を示した.

3. 群数の増加によるBT-検定の有意差検出パターン

群数の増加によるBT-検定の有意差検出パターンを表3に示した. 1群4匹の3群設定のデータを用いて, 同一試験群の2倍の6群, 3倍の9群及び4倍の12群設定したデータを想定して各々に対してBT-検定を行い実質有意水準を算出した結果, 実質有意水準は3群の場合に35%, 6群の場合に51%, 9群の場合に60%および12群の場合には70%で群数が増加するにしたがって有意差の検出率が低下する傾向を示した.

考 察

げっ歯類を用いた毒性試験の統計解析は, いかなるデータにも対応することができるように決定樹⁹⁾を使用して以来約17年が経過した. これら決定樹の最初のBT-検定によって有意差が認められた場合には定量値を順位和検定によって吟味する. また定量値の統計処理の前提としては群間の均一性が条件となる. 最近一部の多重性を考慮した順位和検定の検出力の低さ, またはパラメトリック法がそれに比較して理論的であるという理由で^{10, 11)}, このBT-検定に対して疑問が生じている. BT-検定を実施するにあたり吉村らは²⁾, 1群内の動物数については10例以上あれば十分である, またGadらは¹²⁾ BT-検定について1群内の動物数4ないし5例を使用した試験を用いて説明している.

今回, 特に少数例の実験動物を使用した毒性試験に対してBT-検定が必要か否か検討するために幾つかのデータを設定して検討した. BT-検定は, 1群の頭数が4頭と小さい場合には有意差検出効率が低く, 一群内の頭数が増加することによって有意差検出効率が

高くなること、また分散が大きい群が多く存在する場合に比較して大きい分散が1群存在する場合には有意差の検出されやすいことが判明した。イヌ等の試験で多元配置を利用した場合(4用量×2性×2測定ポイント=16)には多くの群が計算の対象となる、しかし、群数の増加によってBT-検定の実質有意水準は低下することが分かった。

以上の結果、イヌ試験等の少数例を用いた毒性試験から得られる定量データに対しては、バートレットの等分散検定は必要ないものと考えられる。

引用文献

- 1) Dunnett, C.W.: New tables for multiple comparisons with a control, *Biometrics*, 20, 482 - 491, 1964.
- 2) 吉村 功(編): 毒性・薬効データの統計解析, pp45, 62, サイエンス社, 東京, 1987.
- 3) 小林克己, 北島省吾: ビーグル犬を用いた安全性試験から得られる定量データ, *静岡実験動物研究会会報*, 22, 21 - 24, 1995.
- 4) 大西瑞男, 上田隆弘, 大町勝美ほか: LACTITOL (NS-4) のイヌにおける52週間反復経口投与試験ならびに9週間回復試験, *日本毒科学会誌特別掲載*, 19, 405 - 427, 1994.
- 5) Iwase, T, Sano, F, Murakami, T and Inazawa, k.: Male reproductive toxicity of ethinylestradiol associated with 4 weeks daily dosing prior to mating in rats, *J. Toxicol. Sci.*, 20, 265 - 279, 1995.
- 6) Beekman, M.J., Maurissen, J.P. and Johnson, K.A.: 4-Phenylclohe zene: 2-Week Inhalation Toxicity and Neurotoxicity Studies in Swiss-Webster Mice, *Food and Chemical Toxicology*, 34, 873 - 881, 1996.
- 7) Peters - volleberg, G.W.M., Beemsr, B. and Speijersg, J.A: Subacute Toxicity of Ergometrine Maleate in Rats, *Food and Chemical Toxicology*, 34, 951 - 958, 1996.
- 8) Fenney D.J.: Thoughts suggested by a recent paper: Questions on non-parametric analysis of quantitative data (Letter to editor), *The Journal of toxicological Sciences*, 20, 165 - 170, 1995.
- 9) 山崎 実, 野口雄次, 丹田 勝, 新谷 茂: ラット一般毒性試験における統計的手法の検討, *武田研究所年報*, 163 - 187, 武田製薬(株), 大阪, 1981.
- 10) 小林克己: ゲツ菌類を用いた長期安全性試験から得られる定量データの取り扱い, *浜松医科大学紀要*, 7, 105 - 111, 1993.
- 11) Katsumi Kobayashi, Koji Watanabe and Hiroyuki Inoue: Questioning the usefulness of the non-parametric analysis of quantitative data by transformation into ranked data in toxicity studies, *J Toxicological Sciences*, 20, 47 - 53, 1995.
- 12) Gad, S. and Weil, C. S.: Decision tree for selecting hypothesis - testing procedures, *Statistics and experiment design for toxicologists*, 43 - 45, Telford Press, New Jersey, 1986.

表1. 同一分散で各群内動物数が異なった場合にみられるバートレットの等分散検定による有意差検出の変化

イヌ (生後9ヶ月) の総コレステロール値 (mg/dl)									
群内動物数	群	個 体 数				分 散	平均値±標準偏差	実質水準	
4	対 照	213	185	177	96	2574	168±51	24.778%	
	低用量	108	153	124	95	624	120±25		
	中用量	113	125	142	112	194	123±14		
	高用量	200	116	139	116	1523	144±38		
10	対 照	213	185	177	96	23	2476	0.356%	
		185	177	96	213	96			
	低用量	108	153	124	95	108	606		121±25
		153	124	95	153	95			
	中用量	113	125	142	112	113	183	124±14	
		125	142	112	142	112			
	高用量	200	116	139	116	200	1523	144±38	
		116	139	119	200	116			
30	対 照	213	185	177	96	213	2367	165±49	
		185	177	96	213	96			
		213	185	177	96	213			
		185	177	96	213	96			
		228	200	192	111	198			
		170	162	81	213	96			
	低用量	108	153	124	95	108	788	124±28	
		153	124	95	153	95			
		108	153	124	95	108			
		153	124	95	183	95			
		123	168	139	110	93			
		168	139	80	153	95			
	中用量	113	125	142	112	113	232	124±15	
		125	142	112	142	112			
		113	125	142	112	113			
		125	142	112	142	112			
128		140	157	127	98				
	110	127	97	142	112				
高用量	200	116	139	116	200	1407	146±38		
	116	139	119	200	116				
	200	116	139	119	200				
	116	139	119	200	116				
	215	131	154	134	185				
	101	124	104	200	116				