

胃癌患者の免疫能の推定と

その再発予後への影響の検討

野口 千明

①

胃癌患者の免疫能の推定と
その再発予後への影響の検討

野口 千明

目次

| | |
|--------------------|----|
| 1 はじめに | 1 |
| 2 対象 | 2 |
| 3 検査項目 | 2 |
| 4 免疫能の推定 | 3 |
| 4.1 手法 | 3 |
| 4.1.1 解析に用いたモデル | 3 |
| 4.2 結果 | 4 |
| 4.2.1 免疫スコアの推定 | 4 |
| 4.2.2 モデルの検証 | 6 |
| 4.2.3 潜在変数の推定 | 7 |
| 5 免疫能の再発ハザードへの影響 | 8 |
| 5.1 探索的解析 | 8 |
| 5.2 Cox 回帰 | 9 |
| 5.2.1 手法 | 9 |
| 5.2.2 結果 | 9 |
| 5.2.3 モデルの検証 | 10 |
| 6 考察 | 11 |
| 7 まとめ | 15 |
| A 付録 — 共分散構造分析について | 29 |

1 はじめに

近年消化器癌手術後における adjuvant therapy として biochemical response modifier (BRM) を用いた免疫療法が行われることが多くなってきた。BRM を用いた免疫療法においては、high responder と low responder が存在し、宿主によりその予後が異なるという報告はあるが、その予後決定因子については十分な説明はなされていない [10]。

また、早期癌患者においては縮小手術をして「免疫能」を温存し、術後の宿主側の癌に対する反応を期待するケースも増加する傾向にあり、宿主の癌に対する免疫学的反応を再評価しつつある。一般に、郭清範囲を大きくしたり、脾摘をしたりすると「免疫能」が落ちるといわれているが、これを裏付ける報告は少ない。

免疫学的パラメタはその種類も多く、何を指標に「免疫能」を評価するのかはまだ決め手がないのが現状のようである。そこで今回は、胃癌術後患者の予後因子として、免疫学的指標の意義を定量的に評価するため、治癒切除を受けた胃癌患者の「免疫能」について、手術侵襲やリンパ節郭清範囲、脾摘の有無、栄養状態も考慮して共分散構造分析を用いて検討した。

さらに、こうして推定した「免疫能」が、再発予後にどう影響するかを検討した。再発をイベントとして Cox の比例ハザードモデルを用いて、再発のハザードに対する「免疫能」の影響を調べた。

2 対象

1991 年から 1996 年までに東京大学第三外科において胃切除術を施行した進行胃癌患者のうち、つぎの条件をみたす 128 例を対象とした。

1. 治癒切除を施行していること (相対的治癒切除を含む)
2. 他臓器の悪性腫瘍を合併していないこと (胃内の二重癌、三重癌を含む)

stage 4 の症例および残胃癌症例は除外した。

3 検査項目

IAP 濃度、Aib 値、リンパ球数、CD 4 数、CD 8 数、CD 57 数、CD 16 数、ツベルクリン反応について術後 3, 6, 12, 18, 24, 30, 36, 48 ヶ月に測定することを原則とした。IAP は免疫比濁法 (Turbidimetric Immunoassay) により測定した。CD 4, CD 8, CD 57, CD 16 は、fluorescein isothiocyanate (FITC) 標識のモノクローナル抗体を用いて測定した。使用した抗体は、抗 Leu-3a (CD 4)、抗 Leu-2a (CD 8)、抗 Leu-7 (CD 57)、抗 Leu-11c (CD 16) である。

解析の end point は、近年の胃癌の治療成績の向上を考慮して、死亡ではなく再発とした。再発の確認は以下に行った。腫瘍マーカーおよび下記の画像を経時的に follow し、画像上で新たな lesion を 2 人以上の臨床医が再発層と認めた場合を再発と定義した。

1. 腹部超音波検査, 腹部 CT 検査により検索された肝転移およびリンパ節転移
2. 胸部レントゲン検査, 胸部 CT 検査による肺転移

上記の検査は原則として 3 ヶ月毎に施行した。脳転移や骨転移はこれらによると疑われる症状が現れた時点で、頭部 CT 検査や骨シンチグラムを適宜施行して検索している。もちろん、上部消化管内視鏡検査にて局所再発も観察しているが、本研究の対象においてはこの形で再発は認められなかった。

4 免疫能の推定

4.1 手法

まず、「免疫能」を共分散構造分析を用いて推定した。共分散構造分析は、実測可能な変数のほかに、概念的で実測不能な変数(ここでは「免疫能」や「栄養状態」が相当する)をモデルに取り込んで、因果関係の解析、考察を行うことのできる統計的手法である。社会・人文・行動科学領域においてときに用いられるが、数学的扱いの煩雑さやメニュー型の統計パッケージではサポートしていないことから、医学論文の中でこの手法を見出すことは極めてまれである。

多変量解析のひとつではあるが、従来の多変量解析を下位モデルとして表現できる上、「あてはめ」だけの利用であった従来の手法と異なり、解析者が自由にモデルを構築できるという利点があり、第二世代の多変量解析といわれている。従来の多変量解析の中では因子分析が最も近いが、因子分析ではモデルの因果関係の方向が限定されたり、概念的変数間の因果関係を議論できなかったりという欠点がある。パス解析はこの欠点を補うべく開発されたが、実測可能な変数間の因果関係しか扱うことができない。

共分散構造分析は、因子分析とパス解析を統合して、1978 年に Joreskog により理論組みがなされた [8]。このモデルは、Linear Structural RElations を略して、LISREL モデルといわれたが、本研究ではその後 Bentler & Weeks が提案した [2] EQS モデル(後述)をベースに解析している。因子分析やパス解析に比べて、さらに有利なことに、共分散構造分析は学習機能を備えている。すなわち、あるモデルを用いて解析した結果が、新しいモデルの構築に有用である。

本研究においては、共分散構造分析を用いて、IAP 濃度やリンパ球数、リンパ球サブセットの絶対数、ツベルクリン反応、脾臓の有無、リンパ節郭清範囲、

栄養状態(血清アルブミン値で評価)、手術侵襲(手術時間、出血量で評価)などから、免疫能を推定した。

4.1.1 解析に用いたモデル

モデルのパス図を図 1 に示す。パス図に与えられた変数を定義する。

| | |
|------|----------|
| 手術侵襲 | ξ |
| 栄養状態 | η_1 |
| 免疫能 | η_2 |

これらは先に述べた概念上の変数であり、共分散構造分析においては潜在変数といわれる。実測不能であるこれらの変数は、実測可能な変数(観測変数といわれる)と、パス図に与えられる係数(以下因果係数と記す)により推定される。今回は観測変数を列挙する。

| | | | |
|-------|-------|-------|----------|
| リンパ球数 | x_1 | ツ反 | x_7 |
| CD4 | x_2 | Alb | x_8 |
| CD8 | x_3 | 手術時間 | x_9 |
| CD57 | x_4 | 出血量 | x_{10} |
| CD16 | x_5 | 脾摘の有無 | x_{11} |
| IAP | x_6 | 郭清範囲 | x_{12} |

リンパ球数, CD4, CD8, CD57, CD16 数は検査値(個/mm³)を対数変換した。IAP(μ g/ml)も検査値を対数変換している。これは、免疫能の推定(最尤推定法)の際、分布に正規分布を仮定するので、分布の裾の重さを考慮したものである。Alb 値は検査値(g/dl)そのままとした。ツ反は長径(mm)×短径(mm)をやや分布の裾の重さを考え、対数変換している。手術時間は分単位とした。出血量はグラム単位である。脾摘はした場合 1 を、しない場合 0 をとるカテゴリ変数である。郭清範囲は胃腸取り扱い規約の定める D の値とした。

つぎに各変数を標準化するのだが、これはデータセットの型で相関行列を指定するのと同値である。各相関係数は外れ値に対する頑健性を考慮して Spearman の順位相関係数を用いた。さらに、誤差変数をつぎのように定義した。

$$\begin{array}{l} d_i \text{ を } \eta_i \text{ の誤差} \\ e_j \text{ を } x_j \text{ の誤差} \end{array} \quad (i = 1, 2; j = 1, 2, \dots, 6)$$

以上の変数間の因果係数、および、潜在変数、誤差変数の分散の推定には、最尤推定法を用いた。推定の具体的方法に関しては付録に記す。統計ソフトは、SAS institute 社の SAS version 6.11 を使用した。反復計算は、Newton-Raphson 法を指定した。

4.2 結果

4.2.1 免疫スコアの推定

因果係数の推定 まず、各観測変数間の相関係数を相関行列のイメージで示す。対称性から明らかな成分は省略している。前述のように、解析には Spearman の順位相関係数を用いた。リンパ球数、ツベルクリン反応、手術時間、出血量、脾摘の有無、郭清範囲を、それぞれ Lymph, Tbc, time, bleed, spl, D で表す。相関係数は、128 例 × 8 時点のデータをプールして計算した。再発や打ち切りの時点でそのオブザベーションは解析から除かれるので、のべ 628 時点が対象であった。このうち、168 時点が欠測値となっており、のべ 460 時点 (73.2%) のデータを用いた。

| | Lymph | CD4 | CD8 | CD57 | CD16 | IAP |
|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Lymph | 1.000 | 0.819 | 0.727 | 0.553 | 0.483 | 0.108 |
| CD4 | | 1.000 | 0.481 | 0.239 | 0.183 | 0.024 |
| CD8 | | | 1.000 | 0.653 | 0.403 | 0.230 |
| CD57 | | | | 1.000 | 0.635 | 0.237 |
| CD16 | | | | | 1.000 | 0.025 |
| IAP | | | | | | 1.000 |

| | Tbc | Alb | time | bleed | spl | D |
|-------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|
| Lymph | 0.070 | 0.107 | 0.205 | 0.129 | 0.207 | 0.078 |
| CD4 | 0.088 | 0.092 | 0.144 | -0.001 | 0.092 | 0.024 |
| CD8 | 0.089 | 0.001 | 0.224 | 0.322 | 0.360 | 0.230 |
| CD57 | 0.093 | 0.013 | 0.166 | 0.280 | 0.201 | 0.237 |
| CD16 | 0.015 | 0.208 | 0.151 | 0.113 | 0.071 | 0.151 |
| IAP | 0.008 | -0.339 | 0.001 | 0.163 | 0.077 | -0.210 |

| | Tbc | Alb | time | bleed | spl | D |
|-------|-------|-------|--------|--------|--------|-------|
| Tbc | 1.000 | 0.102 | 0.209 | 0.176 | 0.006 | 0.038 |
| Alb | | 1.000 | -0.108 | -0.003 | -0.067 | 0.017 |
| time | | | 1.000 | 0.602 | 0.401 | 0.382 |
| bleed | | | | 1.000 | 0.412 | 0.264 |
| spl | | | | | 1.000 | 0.408 |
| D | | | | | | 1.000 |

表 1: 測定変数間の相関係数

この相関行列から推定した因果係数およびその標準誤差、 t 値を表 2 に示す。標準誤差は Fisher の情報行列の対角成分から近似的に求めている。因果係数の notation は図 1 および付録に示した。* は有意水準 0.05 で、** は有意

水準 0.01 で因果係数が 0 であるという帰無仮説が棄却されることを示す。この有意水準は多重性を考慮していない。図 2 にこれらの推定値を記入したパス図を示す。

さて、因果係数の推定値はこのままでは各変数の分散が異なるので分析結果の解釈が困難である。そこで、各変数の分散を 1 に標準化する。標準化の方法は付録に記した。この標準化された因果係数を表 3 に示す。図 3 に標準化された推定値を記入したパス図を示す。

| parameter | estimates | std. error | t value | significance |
|-----------|-----------|------------|---------|--------------|
| k_{12} | -0.4300 | 0.4344 | -0.9899 | |
| k_{22} | 0.0676 | 0.4655 | 0.1453 | |
| k_{32} | -1.4887 | 0.3819 | -3.8977 | ** |
| k_{42} | -1.3724 | 0.3940 | -3.4834 | ** |
| k_{52} | 0.3473 | 0.4822 | 0.7201 | |
| k_{62} | -2.8493 | 0.3495 | -8.1514 | ** |
| k_{72} | -0.1030 | 0.4314 | -0.2387 | |
| l_9 | 1.0263 | 0.0692 | 14.8400 | ** |
| l_{10} | 0.9333 | 0.0711 | 13.1201 | ** |
| l_{11} | 0.7722 | 0.0765 | 10.0983 | ** |
| l_{12} | 0.5899 | 0.0853 | 6.9128 | ** |
| b_{21} | 0.1154 | 0.0243 | 4.7399 | ** |
| g_1 | -0.1148 | 0.0993 | -1.1563 | |
| g_2 | -0.0562 | 0.0291 | -1.9334 | * |

表 2: 因果係数の推定値

| parameter | estimates | parameter | estimates |
|-----------|-----------|-----------|-----------|
| k_{12} | -0.0917 | l_9 | 0.8015 |
| k_{22} | 0.0144 | l_{10} | 0.7288 |
| k_{32} | -0.3174 | l_{11} | 0.6030 |
| k_{42} | -0.2926 | l_{12} | 0.4607 |
| k_{52} | 0.0740 | b_{21} | 0.5092 |
| k_{62} | -0.6076 | g_1 | -0.0953 |
| k_{72} | -0.0220 | g_2 | -0.2059 |

表 3: 標準化された因果係数の推定値

4.2.2 モデルの検証

共分散構造分析においては各パラメタの推定値が一意に定められることを識別されるという。本研究では、モデルは識別されている。

まず、潜在変数間の因果係数が識別されることは、潜在変数間に双方向の因果関係が仮定されていないことと、誤差変数が互いに無相関であることから導かれる。この条件は逐次条件といわれ、識別の十分条件である [9] ことが知られている。潜在変数と測定変数の間の識別のための十分条件もいくつか報告されているが、本モデルはそれらは満たしていない。本モデルにおけるこの因果係数の識別性は、因果係数の近似的な分散共分散行列が正定値であることから保証される [2]。

つぎにモデルの適合性を検討した。適合度 Goodness of Fitness Index (GFI) は

$$GFI = 1 - \frac{\text{trace}(\hat{\Sigma}_{\theta}^{-1}S - I)}{\text{trace}(\hat{\Sigma}_{\theta}^{-1}S)}$$

で定義される。ただし、 $\hat{\Sigma}_{\theta}$ は Σ_{θ} に θ の最尤推定値を代入して得られる、モデルのもとでの推定分散共分散行列である。

本モデルにおいては $GFI = 0.906$ であり、モデルはデータを 90.6% 説明していることになる。一般に、GFI の値としては 0.90 以上が推奨されている。

4.2.3 潜在変数の推定

最後に、最小二乗法にて潜在変数の推定を行った。これは潜在変数を観測変数の線型和として表し、その係数を推定するものである。推定方法の詳細は付録に記した。

以下に、重み行列の推定値を示す。

| | 栄養状態 | 免疫能 | 手術侵襲 |
|-------|----------|----------|----------|
| L | 0.00121 | 0.00335 | -0.00076 |
| CD4 | 0.00743 | 0.02055 | -0.00465 |
| CD8 | -0.01440 | -0.03980 | 0.00900 |
| CD57 | -0.01777 | -0.04913 | 0.01110 |
| CD16 | 0.01844 | 0.05098 | -0.01152 |
| IAP | -0.03211 | -0.08876 | -0.02006 |
| Tbc | -0.00073 | -0.00203 | 0.00046 |
| Alb | 0.86984 | 0.06202 | -0.02006 |
| time | -0.00182 | -0.01275 | 0.36432 |
| bleed | -0.00120 | -0.00884 | 0.25278 |
| spl | -0.00077 | -0.00539 | 0.15407 |
| D | -0.00047 | -0.00333 | 0.09508 |

表 4: 潜在変数の推定—重み行列の推定値

たとえば、栄養状態は

$$0.00121 \times \text{リンパ球数} + 0.00743 \times \text{CD4 数} - 0.01440 \times \text{CD8 数} \\ - \dots - 0.00047 \times \text{郭清範囲}$$

で推定する、という意味である。

これを用いて計算した免疫能の推定量(以下、免疫スコアと表記)の要約統計量を測定時期別に示す。

| month | Mean | SD | Min | Max |
|-------|--------|-------|--------|-------|
| 3 | 0.019 | 0.139 | -0.405 | 0.163 |
| 6 | 0.001 | 0.145 | -0.403 | 0.238 |
| 12 | 0.000 | 0.164 | -0.412 | 0.205 |
| 18 | 0.008 | 0.115 | -0.218 | 0.295 |
| 24 | -0.012 | 0.128 | -0.312 | 0.188 |
| 30 | -0.000 | 0.138 | -0.317 | 0.180 |
| 36 | -0.008 | 0.113 | -0.205 | 0.158 |
| 48 | 0.061 | 0.057 | -0.029 | 0.128 |

表 5: 免疫スコアの要約統計量

5 免疫能の再発ハザードへの影響

5.1 探索的解析

前節で推定した免疫スコアの予後への影響をまず探索的に解析する。

まず、各オブザベーションごとに免疫スコアを時間に対してプロットする。全オブザベーションを同時にプロットすると見にくいので、8 のグループに分割し、グループごとにプロットした(図 4 ~ 11) 実線は再発群、点線は打ち切り群を表す。

再発症例においては低めのスコアが、非再発症例においては高めのスコアが与えられているように思われる。また、時間の経過とともに、免疫スコアの低い症例が(再発して)解析から除かれている傾向があるようである。

そこで、この免疫スコアの再発ハザードへの影響を考察した。交絡因子を取り除くため、年齢、性別、組織型、化学療法の有無、stage を共変量として、再発を end point とした Cox 回帰を用いた。Cox の比例ハザードモデルは、すでに、生存時間解析において広く用いられているが、そのほとんどが、研究の end point を死亡にしており、再発を event としている報告は(消化器癌領域においては)まれである。また、Cox の原論文においては共変量は時間依存性のものをも考慮できるものであったが、時間依存性の共変量を解析に取り入れた研究はきわめて少ない。リンパ球数、IAP、ツベルクリン反応など免疫能の指標

は術後の時間経過とともに値が大きく変化するので本研究においては、免疫能を時間依存性共変量として扱った。免疫スコアは、その時点のデータが欠測値になっている場合は、直前の値で代用した。また、時間が事実上離散値をとるので、通常の比例ハザードモデルのほかに、「比例オッズモデル」における解析も行っている。

5.2 Cox 回帰

5.2.1 手法

共分散構造分析推定した免疫スコア、年齢、性別、組織型、化学療法の有無、stage を共変量として、再発を end point とした Cox 回帰を用いて解析した。変数選択は、変数減少法を指定した。 $p > 0.10$ を変数を取り除く際の基準とした。もちろん、stage はダミー変数を用いて表現している。すなわち、変数 (S_2 , S_3) の値の組は、stage 1 なら (0, 0), stage 2 なら (1, 0), stage 3 なら (0, 1) とした。stage 4 は本研究では解析から除外している。組織型は、分化型の場合 0 を、未分化型の場合 1 をとるダミー変数である。年齢は手術時のもので、この変数は時間依存性の変数としていない。

変数減少法による変数選択では、最初に性別を表す共変量が、つぎに化学療法の有無を表す共変量が除外された。最後に、年齢を表す共変量が除かれ、免疫スコア、組織型、stage はモデルに取り込まれた。タイの処理は Breslow の部分尤度を用いた。なお、本研究では時間を表す変数が事実上離散変数であるので、ハザード比をオッズ比で置き換えた解析も行ったが、結果はほぼ同じであった¹。この「比例オッズモデル」はつぎのように定義される。

$$\frac{h(t|z)}{1 - h(t|z)} = \exp(\beta'z) \frac{h_0(t|z)}{1 - h_0(t|z)}$$

z は共変量ベクトル、 β は回帰係数ベクトル、 $h(t|z)$ は z を与えたときの時刻 t における再発確率、 $h_0(t|z)$ は $z = 0$ のときの $h(t|z)$ である。

5.2.2 結果

Breslow の部分尤度を用いた結果を上、オッズ比による解析の結果を下に示す。

| Covariate | Estimate | SE | χ^2 value | p value | RR |
|-----------|----------|-------|----------------|---------|-------|
| Immune | -5.213 | 1.367 | 14.50 | 0.0001 | 0.005 |
| patho | 0.960 | 0.385 | 6.140 | 0.0132 | 2.612 |
| S_2 | 0.943 | 0.545 | 2.996 | 0.0835 | 2.507 |
| S_3 | 1.877 | 0.492 | 14.55 | 0.0001 | 6.532 |

¹推定しているパラメタは別物である。

| Covariate | Estimate | SE | χ^2 value | p value | OR |
|-----------|----------|-------|----------------|---------|-------|
| Immune | -5.547 | 1.431 | 15.01 | 0.0001 | 0.004 |
| patho | 1.035 | 0.403 | 6.595 | 0.0102 | 2.817 |
| S_2 | 0.977 | 0.556 | 3.091 | 0.0787 | 2.657 |
| S_3 | 1.978 | 0.506 | 15.28 | 0.0001 | 7.231 |

表 6: ハザード比の推定値

Estimate は Cox 回帰における回帰係数の推定値, SE はその標準誤差, χ^2 value は各回帰係数が 0 であるという帰無仮説を検定するときに用いる χ^2 統計量の値, p value はこの検定の p 値である. RR (OR) は, 比例ハザードモデルにおけるハザード比 (オッズ比) である. これは, 共変量の値が 1 大きくなるとハザード比 (オッズ比) が RR (OR) 倍になることを示す.

5.2.3 モデルの検証

モデル全体の評価 まず, モデルの正当性を尤度比検定を用いて評価した. モデルのもとでの最大対数尤度と, 共変量をすべて取り除いたモデルのもとでの最大対数尤度の差を示す.

| Model | With Covariates | Without Covariates | Difference |
|----------|-----------------|--------------------|------------|
| PH model | - 271.662 | - 307.199 | 37.094 |
| PO model | - 223.914 | - 261.003 | 35.537 |

(PH model: 比例ハザードモデル, PO model 比例オッズモデル)

表 7: モデルの意義の検討

最大対数尤度の差が自由度の 9 倍程度と, 満足できる結果が得られる. もちろん, 両者とも p 値は 0.0001 と高度に有意である.

交互作用項の検討 交互作用項のモデルへの取り込みを考察したが, これは有意水準 0.05 で棄却された. すなわち, 考えられるすべての交互作用をひとつずつ取り込んだモデルと前節のモデルを比較し, 交互作用のないモデルが支持された.

比例ハザード性の検証 本研究においては, 取り込まれた time-fixed な共変量はすべてカテゴリ変数であったので, これらの値でそれぞれ群分けし, 各群の対数累積ハザード関数を Kaplan-Meier 法にて推定した. これらに対数時間に対してプロットした図を図 12, 13 に示す. 比例ハザード性のもとでは, これらは平行な曲線になる.

また,人工的に対数時間をモデルに取り込み,比例ハザード性を検証した.それぞれの共変量ごとに対数時間の影響が0であるという帰無仮説のもとでの p 値を調べたが, p 値は大きく,比例ハザード性が消極的に支持された.

| Covariates | PH model | PO model |
|------------|----------|----------|
| patho | 0.986 | 0.993 |
| S_2 | 0.253 | 0.244 |
| S_3 | 0.320 | 0.325 |

表 8: 比例ハザード性の検討

時間依存性の共変量のハザードに与える影響が時間により一定であることを検証するのは簡単ではない.本研究では, follow 期間別に,その期間の最初の時点において観測された免疫スコアを共変用として, time-fixed な Cox モデルを用いて回帰係数を求めてみた.

| time | Estimate | SE |
|--------------------|----------|------|
| $t \leq 12m$ | -3.00 | 1.57 |
| $12m < t \leq 36m$ | -3.01 | 1.11 |
| $36m < t$ | -2.59 | 1.09 |

表 9: 時間固定モデルでのハザード比の推定値

回帰係数はほぼ一定で,免疫スコアのハザードに与える影響は時間により一定であることが示唆される.この回帰係数は, time-dependent モデルにおける回帰係数より小さ目の値になっているが,一般に, time-dependent モデルは time-fixed モデルより (time-dependent な共変量に対しては) 絶対値の意味で大きめの値の与える [1] ことが知られている.

6 考察

近年消化器癌手術後における adjuvant therapy として biochemical response modifier (BRM) を用いた免疫療法が行われることが多くなってきた. レンチナンなど, 癌細胞に対して直接細胞障害性のない薬剤が有効であるのは, 宿主側の免疫機構の賦活化により癌細胞が攻撃されるからだと考えられている [8]. しかし, 免疫学的治療の適応は癌の進行度により決定されることが多く, 宿主側の因子が検討されることは少ない.

一般に, 担癌生体においては, 細胞性免疫能は低下し, この傾向は, 癌の進展とともに顕著になるといわれている [4]. この際, CD4 に属する helper T cell の減少と CD8 に属する suppressor T cell の増加がみられることが多いとの報告がある [4].

また、NK cell は、非特異的な抗腫瘍作用をもつといわれている。NK 活性もまた、癌患者においては一般に低下しており、癌の進展するほど、さらに低下傾向を示すとの報告がある [5]。CD57 抗原、CD16 抗原はともに NK cell に存在する。CD16 は強い NK 活性を示すが、CD57 のそれは弱く、逆に、B cell の分化抑制を介してグロブリンの産生を抑制する [6]。

IAP については、国枝 [7] らが PSK と OK-432 を併用した免疫化学療法において IAP 580 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を cut off 値とし、IAP 580 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下群では免疫化学療法の生存率が優れていたが、IAP 580 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上群では無効または逆効果を示したと報告しており、胃癌患者の予後因子として位置づけられている。

ツベルクリン反応に関しても、進行胃癌患者において低下するという報告があり [3]、以上の理由から、東京大学第三外科教室では、胃癌患者の術後に、リンパ球数、CD4、CD8、CD57、CD16、IAP、ツベルクリン反応を測定することを routine としている。本研究でも、これらの項目を用いて免疫能を推定した。

1995 年に浜田 [10] らは IAP および免疫学的パラメタの間には相関がみられなかったと報告した。今回の study ではリンパ球数、CD4、CD8、CD57、CD16、IAP、ツ反間の相関を検討したが、IAP と CD57、IAP と CD16 間の相関係数は小さな p 値 ($p < 0.001$) を与えた。ツ反は細胞免疫の指標になるとされているが、今回の study では、他のパラメタとの相関は小さかった。

栄養状態は免疫能と密接な関係があると報告されている。今回の共分散構造分析では、観測変数から潜在変数を推定する際、Alb の寄与は大きかった。また、栄養状態の指標として、今回は Alb のみを用いたが、この栄養状態から免疫能への因果係数は、大きな値を与えた。

手術侵襲により免疫能が低下することは一般に予想されている。本研究では手術侵襲の指標として、手術時間と出血量を選んだ。脾臓の有無と郭清範囲も手術侵襲からのパスを仮定したが、これらはより直接的に免疫能に影響すると考えた方が自然かもしれない。共分散構造分析においては、パス係数から推定される観測変数の分散共分散行列と、実際に得られた標本分散共分散行列を等しいと仮定する。このとき脾臓や郭清範囲を手術侵襲と独立であるとする、パス係数から推定される観測変数の分散共分散行列のある成分が 0 に固定され、標本分散共分散行列と等しいという仮定に反するので図のようなパスを考えた。手術侵襲という内在変数からの各観測変数への因果係数は、手術時間が最も大きく ($t = 13.12$)、ついで出血量であった ($t = 10.10$)。脾臓は $t = 6.91$ と大きな t 値を与えたが、脾臓症例は全例術式が胃全摘であり、リンパ郭清の範囲も大きい場合が多かったので、このような結果になったのであろう。郭清範囲に与えられた因果係数の t 値は最も小さく、 $t = 4.74$ であった。

こうして推定した手術侵襲から、さらに免疫能へのパスを仮定し、その評価を行った。この因果係数は $t = -1.93$ を与えた。これは有意水準を 0.05 とし

て、片側検定を行う—興味は負の値をとるかどうかにある—と有意と判定される。なお、前述の理由で、手術侵襲から、栄養状態の低下を介する免疫能へのパスを仮定した。これによる効果は、直接的な効果による因果係数 -0.0562 に対して、 $-0.1148 \times 0.1154 = -0.0132$ と比較的小さな因果係数を与えた。

今回の共分散構造分析では、最終的な目標は免疫能を観測変数の線型和として推定することであった。手術侵襲に関する観測変数は、手術時間、出血量、脾摘、郭清範囲がこの順に絶対値の大きな負の係数を与えた。免疫能の直接的な指標としては、リンパ球数、CD4、CD8、CD57、CD16、IAP、ツ反を考えた。IAP が大きな負の寄与を与えた。CD8、CD57 の絶対数も比較的絶対値の大きな負の寄与を与えた。前述したように、CD8 に属する helper T cell の増加、CD57 は NK cell としての抗腫瘍効果よりもグロブリン産生抑制効果のほうが大きく影響しているであろう。なお、手術侵襲を表す内変数においては、手術時間、出血量、脾摘、郭清範囲がこの順に大きな寄与を与え、他の観測変数の影響は小さかった。栄養状態を表す内変数においては、Alb が大きな寄与を与え、他の観測変数の寄与はほぼ 0 に近い値であり、これらは一般に考えられている概念と compatible な結果であった。

最後に、比例ハザードモデルによる解析を行った。上の共分散構造分析を用いて推定した免疫能は時間依存性の共変量として解析した。Cox 回帰は消化器領域において最もポピュラーな手法のひとつになってきているが、時間依存性の共変量をモデルに取り込んだ解析はきわめてまれである [1]。実際、図 4~11 で示したように本モデルにおける観測変数は、時間的にかなり値が変化している。

変数選択は、変数減少法を指定した。変数をモデルから取り除く基準として、 p 値を 0.10 に指定した。この結果、性別、化学療法の有無、年齢の順に共変量が取り除かれた。化学療法の有無が予後に影響しないのは不自然であるが、今回の研究は randomized study でなく、stage と confound していたためにこの結果が得られたのであろう。実際、再発の可能性が極めて少ないと判断された症例のみ、化学療法を行わず、他の症例にはほとんど同じ化学療法(CDDP)が行われている。

免疫能のハザード比(オッズ比)に与える影響はかなり大きかった。免疫能は最大値と最小値の差が 0.6 程度であった。この結果、免疫能(を表すスコア)が最もよかった症例は、最も悪かった症例に対して、ハザード比(オッズ比)が 0.044 (0.036) 倍程度になることがわかる。免疫スコアが 0.500 大きくなったときのハザード比(オッズ比)およびその 95% 信頼区間を下表に示す。

| | Estimate | Lower CL | Upper CL |
|--------------|----------|----------|----------|
| Hazard Ratio | 0.07379 | 0.01933 | 0.2817 |
| Odds Ratio | 0.06244 | 0.01536 | 0.2546 |

その他の共変量に対しても、Cox 回帰の結果は予想と compatible なもので

あった。未分化癌は分化型の癌に比べて、ハザード比(オッズ比)は2.6 (2.8) 倍であった。stage 2 の症例は stage 1 の症例に比べて、ハザード比(オッズ比)は2.5 (2.7) 倍であった。stage 3 は、stage 1 と比し、6.5 (7.2) 倍のハザード比(オッズ比)を与えた。

最後に、免疫スコアのカットオフ値を -0.3 から 0.1 まで 0.1 ごとに変動させ、それぞれについて感度および特異性の比較検討を行った。免疫スコアは follow 期間中の最小値、end point は 1 年以内の再発としている。

| cut off 値 | 感度 (%) | 特異性 (%) |
|-----------|--------|---------|
| -0.3 | 81.8 | 0.0 |
| -0.2 | 57.5 | 16.4 |
| -0.1 | 27.2 | 37.6 |
| 0.0 | 3.0 | 65.9 |
| 0.1 | 0.0 | 83.5 |

さらに、上表をベースにして免疫スコアによる predictivity の評価を行った。もちろんこの値は再発率に依存するが、ここでは再発率を 10% と仮定して推定している。下表は 100 人あたりの頻度を表す。

cut off 値 -0.3

| | 再発 | 非再発 | 予測精度 |
|-------|-----|------|-------|
| スコア低値 | 1.8 | 0.0 | 0.000 |
| スコア高値 | 8.2 | 90.0 | 0.084 |

cut off 値 -0.2

| | 再発 | 非再発 | 予測精度 |
|-------|-----|------|-------|
| スコア低値 | 4.2 | 14.8 | 0.779 |
| スコア高値 | 5.8 | 75.2 | 0.072 |

cut off 値 -0.1

| | 再発 | 非再発 | 予測精度 |
|-------|-----|------|-------|
| スコア低値 | 7.3 | 33.8 | 0.822 |
| スコア高値 | 2.7 | 56.2 | 0.046 |

cut off 値 0

| | 再発 | 非再発 | 予測精度 |
|-------|-----|------|-------|
| スコア低値 | 9.7 | 59.3 | 0.859 |
| スコア高値 | 0.3 | 30.7 | 0.010 |

cut off 値 0.1

| | 再発 | 非再発 | 予測精度 |
|-------|------|------|-------|
| スコア低値 | 10.0 | 75.2 | 0.883 |
| スコア高値 | 0.0 | 14.8 | 0.000 |

予後因子に対する研究の常として、今回の免疫スコアおよびその再発に対するハザードの再評価を新たな症例に対して行わなければならないであろう。この研究については現在検討中である。

7 まとめ

1. 治癒切除を施行した進行胃癌患者に対し、その免疫能について共分散構造分析を用いて考察した。
2. 免疫学的パラメタの中では、IAP が免疫能に対し、大きな負の寄与を与えた。CD8, CD57 も有意な負の寄与を与えた。
3. Alb を指標とした栄養状態は、免疫能に対して有意な正の影響を与えた。
4. 手術時間や出血量を指標とした手術侵襲は免疫能に対して有意な負の影響を与えた。
5. 推定した免疫スコアは再発のハザードに大きく影響した。免疫スコアの最も高かった症例は最も低かった症例に比べ、ハザード比が 0.04 倍程度であった。

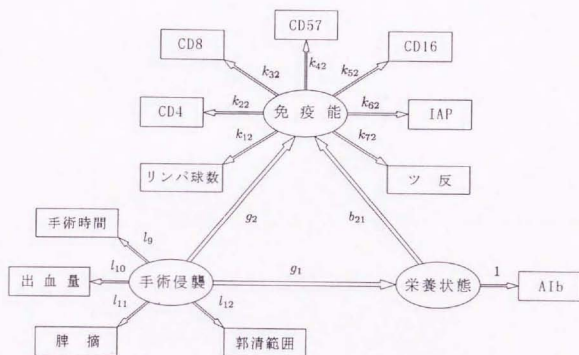


図 1: モデルのパス図

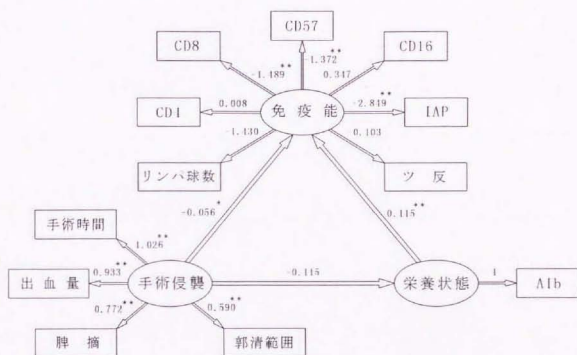


図 2: 因果係数の推定値

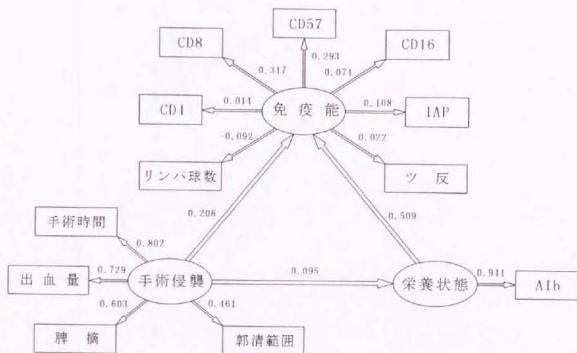


図 3: 標準化された因果係数

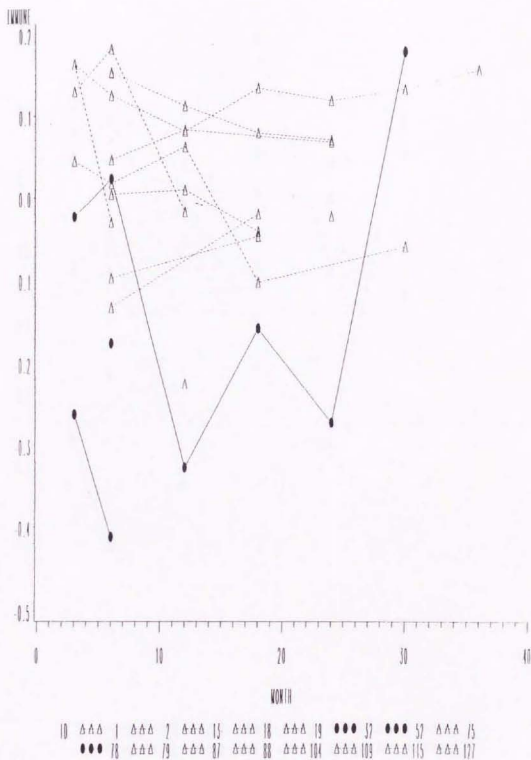


図 4: 免疫スコアの時間的変化(1)

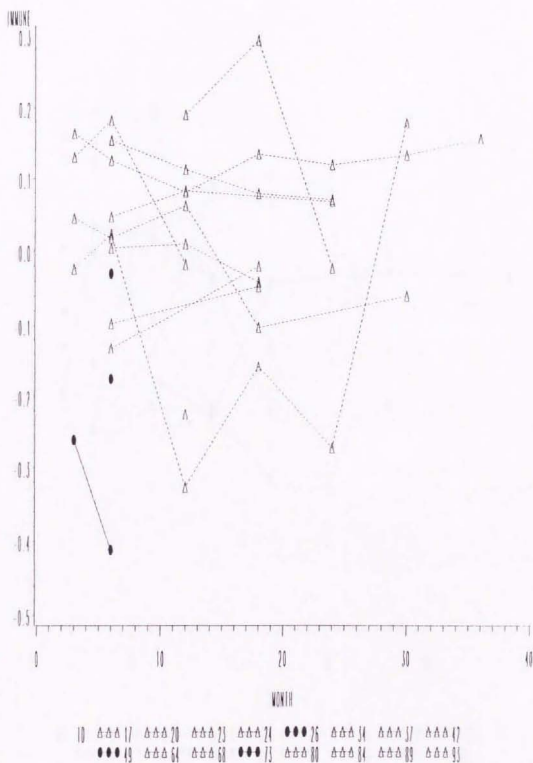


図 5: 免疫スコアの時間的変化(2)

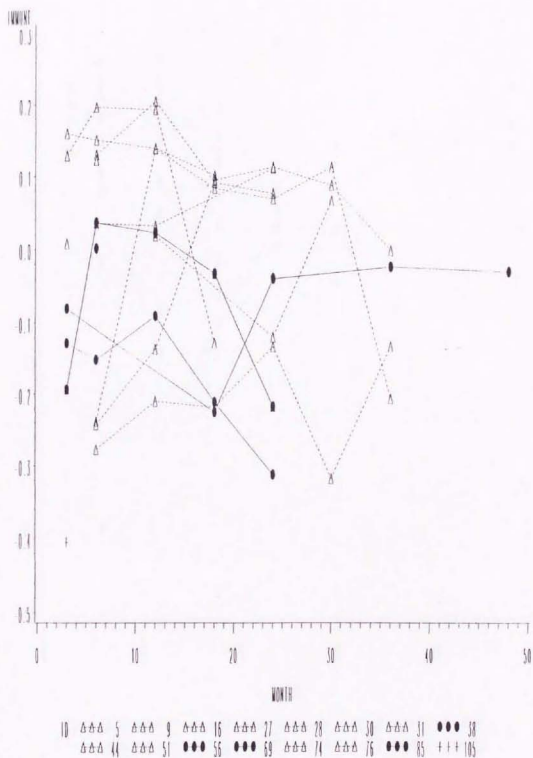


図 6: 免疫スコアの時間的変化(3)

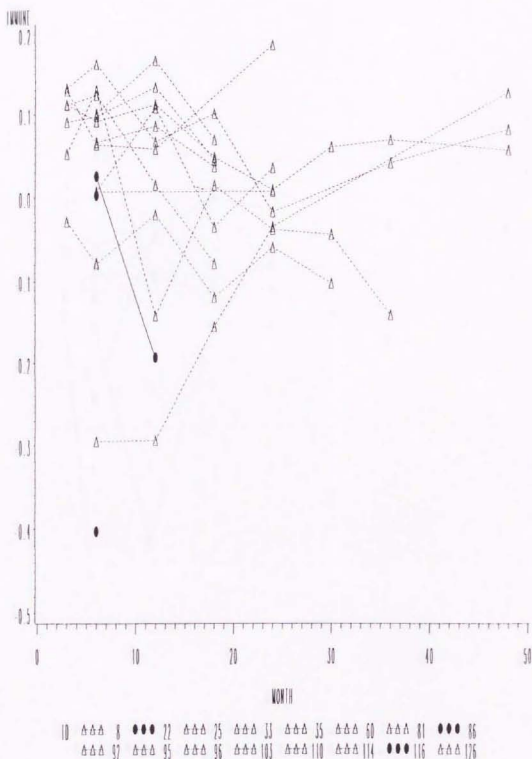


図 7: 免疫スコアの時間的変化(4)

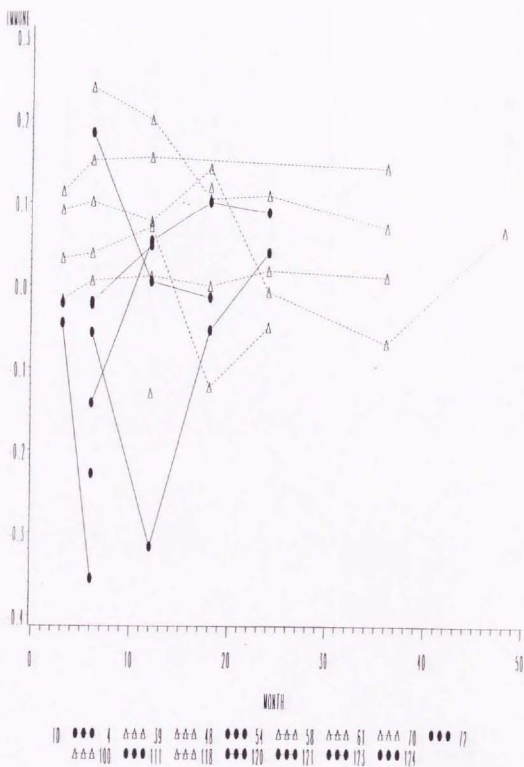


図 8: 免疫スコアの時間的変化(5)

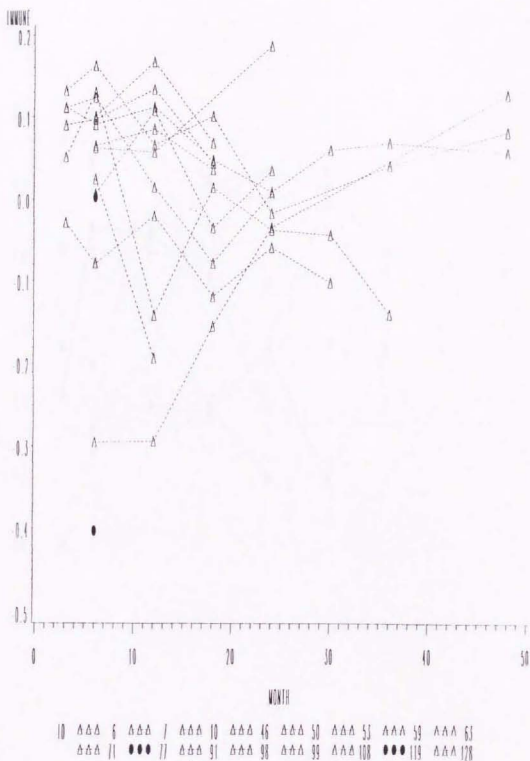


図 9: 免疫スコアの時間的変化(6)

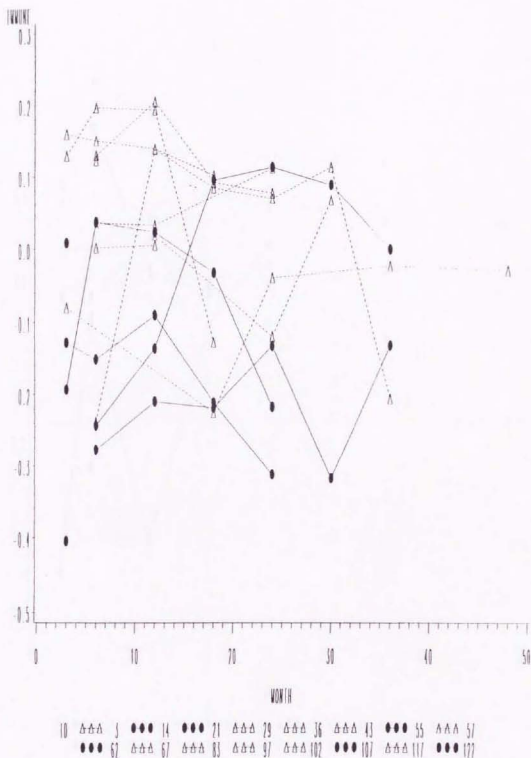


図 10: 免疫スコアの時間的変化(7)

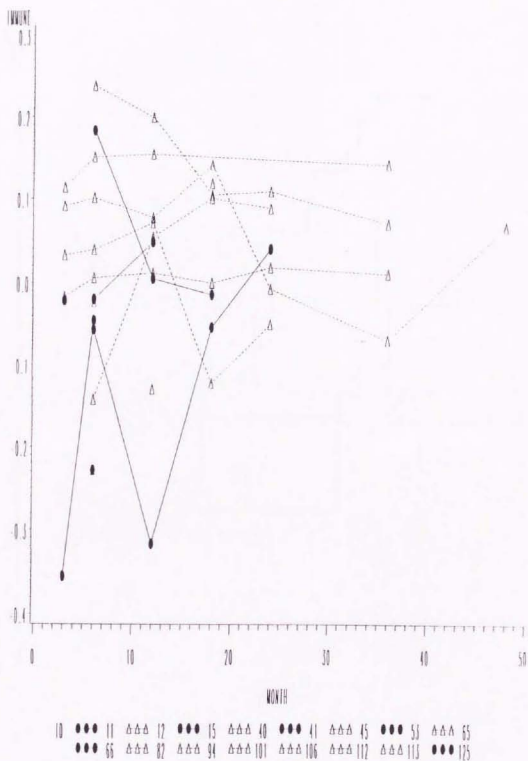


図 11: 免疫スコアの時間的変化(8)

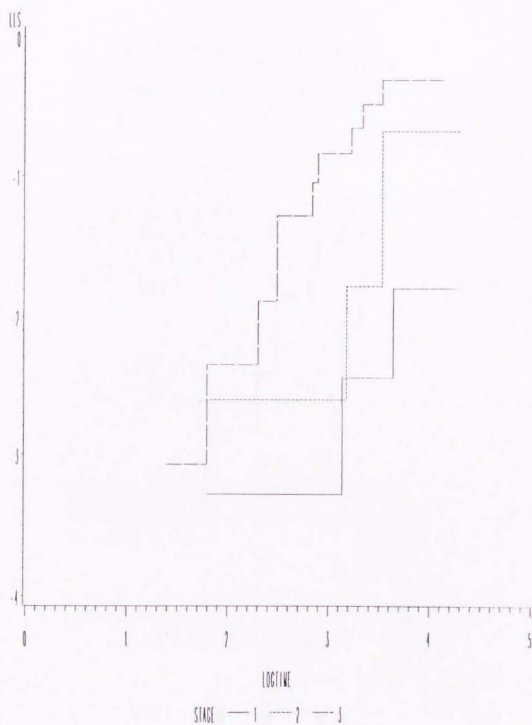


図 12: 比例ハザード性の確認 — ステージ

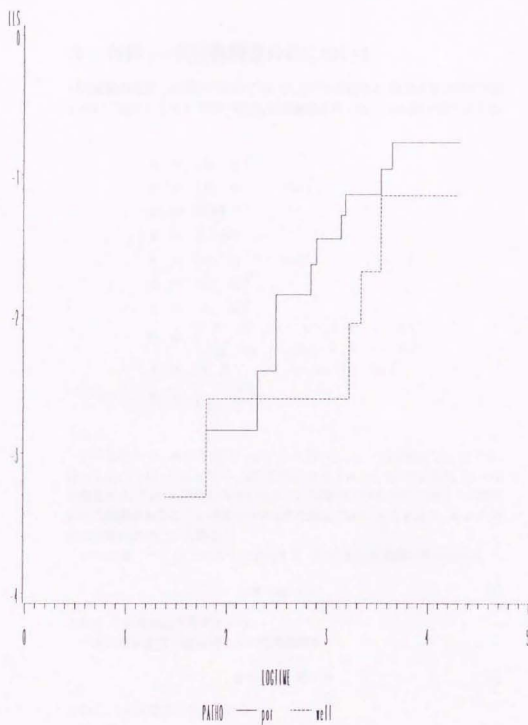


図 13: 比例ハザード性の確認 — 組織型

A 付録 — 共分散構造分析について

パス係数の推定 本研究において用いたモデルの詳細と、因果係数の推定方法について補足しておく。簡単のため、行列表現を用いる。' は転置を表すとする。

$$\begin{aligned}\eta &= (\eta_1 \ \eta_2)'\ \\ x &= (x_1 \ x_2 \ \cdots \ x_{12})'\ \\ \mu &= E(x) \\ y &= x - \mu \\ e &= (e_1 \ e_2 \ \cdots \ e_{12})'\ \\ d &= (d_1 \ d_2)'\ \\ g &= (g_1 \ g_2)'\ \\ K &= \begin{pmatrix} 0 & 0 & \cdots & 0 & 1 & 0 & \cdots & 0 \\ k_{12} & k_{22} & \cdots & k_{72} & 0 & 0 & \cdots & 0 \end{pmatrix}' \\ l &= (0 \ 0 \ \cdots \ 0 \ l_9 \ l_{10} \ l_{11} \ l_{12})'\ \\ B &= \begin{pmatrix} 0 & 0 \\ b_{21} & 0 \end{pmatrix}\end{aligned}$$

と置く。

ξ の分散を ϕ , d_i の分散を ψ_i ($i = 1, 2$), e_j, e_k の共分散を δ_{jk} とする。
($j = 1, 2, \dots, 12$; $k = 1, 2, \dots, 12$) ただし, $6 \leq j \neq k \leq 12$ のときは, $\delta_{jk} = 0$ を仮定する。これは、同時に測定したリンパ球数およびそのサブセットの誤差にのみ相関があることと同値なので自然な仮定であろう。これから、 d, e の分散共分散行列 Ψ, Δ を得る。

パスに関しては、以下のように表現する。まず、潜在変数間の因果関係を

$$\eta = g\xi + d \quad (1)$$

とかく。これを構造方程式という。

つぎに潜在変数と観測変数との因果関係を

$$y = K\eta + l\xi + e \quad (2)$$

とかく。これを測定方程式という。

ここで、

$$E(\eta) = o, \quad E(\xi) = 0 \quad (3)$$

を仮定しておく。これを仮定しても一般性を失わない。

行列のブロック分割を用いると, (1)式と(2)式をまとめて

$$\begin{pmatrix} y \\ \eta \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} O & K \\ O & O \end{pmatrix} \begin{pmatrix} y \\ \eta \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} I & O & I \\ O & O & g \end{pmatrix} \begin{pmatrix} e \\ d \\ \xi \end{pmatrix} \quad (4)$$

と書くことができる. ただし, I は単位行列である.

これからただちに

$$\begin{pmatrix} y \\ \eta \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} I & -K \\ O & I \end{pmatrix}^{-1} \begin{pmatrix} I & O & I \\ O & O & g \end{pmatrix} \begin{pmatrix} e \\ d \\ \xi \end{pmatrix} \quad (5)$$

$$= \begin{pmatrix} I & K \\ O & I \end{pmatrix} \begin{pmatrix} I & O & I \\ O & O & g \end{pmatrix} \begin{pmatrix} e \\ d \\ \xi \end{pmatrix} \quad (6)$$

を得る. この式を恒等式

$$y = (I \ O) \begin{pmatrix} y \\ \eta \end{pmatrix} \quad (7)$$

に代入すると²

$$y = (I \ O) \begin{pmatrix} I & K \\ O & I \end{pmatrix} \begin{pmatrix} I & O & I \\ O & O & g \end{pmatrix} \begin{pmatrix} e \\ d \\ \xi \end{pmatrix} \quad (8)$$

となる. これから

$$\begin{aligned} P &= (I \ O) \\ B_0 &= \begin{pmatrix} I & K \\ O & I \end{pmatrix} \\ G_0 &= \begin{pmatrix} I & O & I \\ O & O & g \end{pmatrix} \\ \Lambda &= \begin{pmatrix} \Delta & O & O \\ O & \Psi & O \\ \sigma' & \sigma' & \phi \end{pmatrix} \end{aligned}$$

とおくと y の分散共分散行列は

$$\Sigma_\theta = E(yy') = PB_0G_0\Lambda G_0'B_0'P' \quad (9)$$

となる. これと, 標本分散共分散行列 S を等しいとおいた

$$\Sigma_\theta = S \quad (10)$$

²これが前述の EQS モデルの特徴である.

という条件のもとでデータの得られる確率を最大にするように θ を推定するのである。(最尤推定法) ただし, θ は推定すべき因果係数および潜在変数の分散共分散行列の各成分を縦に並べて得られるベクトルとする。

それには, まず, 多変量正規分布

$$\begin{pmatrix} e \\ d \\ \xi \end{pmatrix} \sim N(\mu, \Lambda)$$

を仮定する。これからただちに

$$x \sim N(\mu, \Sigma_\theta)$$

を得る。このとき, x の従う密度関数は

$$f(x|\mu, \theta) = (2\pi)^{-n_x/2} |\Sigma_\theta|^{-1/2} \exp\left(-\frac{1}{2}(x-\mu)' \Sigma_\theta^{-1} (x-\mu)\right) \quad (11)$$

である。 n_x は観測変数の個数である。(いまの場合 $n_x = 12$)

N 個のデータ x_i ($i = 1, 2, \dots, N$) が得られた時点 (いまの場合 $N = 128$) で

$$f(x|\mu, \theta) = \prod_{i=1}^N f(x_i|\mu, \theta) \quad (12)$$

を最大にする μ, θ を定め, これを推定値とするのである。なお, 本研究では, x を標準化しているので, $\mu = 0$ である。

因果係数の標準化 因果係数の標準化の方法を示す。以下, 推定すべきベクトル, に対して, その各成分の分散が 1 になるように標準化したベクトルを η, ξ, d, y で表す。

$$\eta_* = (\text{diag} \Sigma_\eta)^{-\frac{1}{2}} \eta \quad (13)$$

$$\xi_* = (\text{diag} \Sigma_\xi)^{-\frac{1}{2}} \xi \quad (14)$$

$$d_* = (\text{diag} \Sigma_d)^{-\frac{1}{2}} d \quad (15)$$

$$y_* = (\text{diag} \Sigma_y)^{-\frac{1}{2}} y \quad (16)$$

ただし, $\text{diag} \Sigma$ は確率変数ベクトル, の分散共分散行列 Σ , の対角成分のみを残し, 非対角成分を 0 とした対角行列である。

これらの式を(1)式および(2)式に代人, 整理すると

$$\begin{aligned}\eta_s = & \left(\text{diag} \Sigma_{\eta}\right)^{-\frac{1}{2}} B \left(\text{diag} \Sigma_{\xi}\right)^{\frac{1}{2}} \xi_s + \left(\text{diag} \Sigma_{\eta}\right)^{-\frac{1}{2}} d \left(\text{diag} \Sigma_{\xi}\right)^{\frac{1}{2}} \xi_s \\ & + \left(\text{diag} \Sigma_{\eta}\right)^{-\frac{1}{2}} \left(\text{diag} \Sigma_d\right)^{\frac{1}{2}} d_s\end{aligned}\quad (17)$$

$$\begin{aligned}y_s = & \left(\text{diag} \Sigma_y\right)^{-\frac{1}{2}} k \left(\text{diag} \Sigma_{\eta}\right)^{\frac{1}{2}} \eta_s \\ & + \left(\text{diag} \Sigma_y\right)^{-\frac{1}{2}} L \left(\text{diag} \Sigma_{\xi}\right)^{\frac{1}{2}} \xi_s \\ & + \left(\text{diag} \Sigma_y\right)^{-\frac{1}{2}} \left(\text{diag} \Sigma_d\right)^{\frac{1}{2}} d_s\end{aligned}\quad (18)$$

を得る。(17)式および(18)式の右辺の係数行列が標準化された因果係数を与える。

潜在変数の推定方法

$$f = \begin{pmatrix} \eta \\ \xi \end{pmatrix}$$

とおくと(2)式は

$$y = (K \quad I) f + e \quad (19)$$

と書くことができる。

f の推定値 \hat{f} を y の線形和として

$$\hat{f} = W y \quad (20)$$

と表現し, (W は重み行列) 最小二乗基準

$$S = \frac{1}{N} \text{trace} \left\{ (f - \hat{f})(f - \hat{f})' \right\} \quad (21)$$

を考える。(19)式および(20)式を(21)に代入すると, 簡単な計算の後,

$$S = \text{trace} \left\{ \Sigma_f + W \Sigma_y W' - 2W(K \quad I)' \Sigma_f \right\} \quad (22)$$

を得る。これを最小にする W を求めればよいから,

$$\frac{\partial S_{SL}}{\partial W} = 2 \left(W \Sigma_y - \Sigma_f (K \quad I)' \right) = 0 \quad (23)$$

とおくと,

$$W = \Sigma_f (K \quad I)' \Sigma_y^{-1} \quad (24)$$

となり, これに因果係数の推定値を代入すると重み行列が得られる。

引用文献

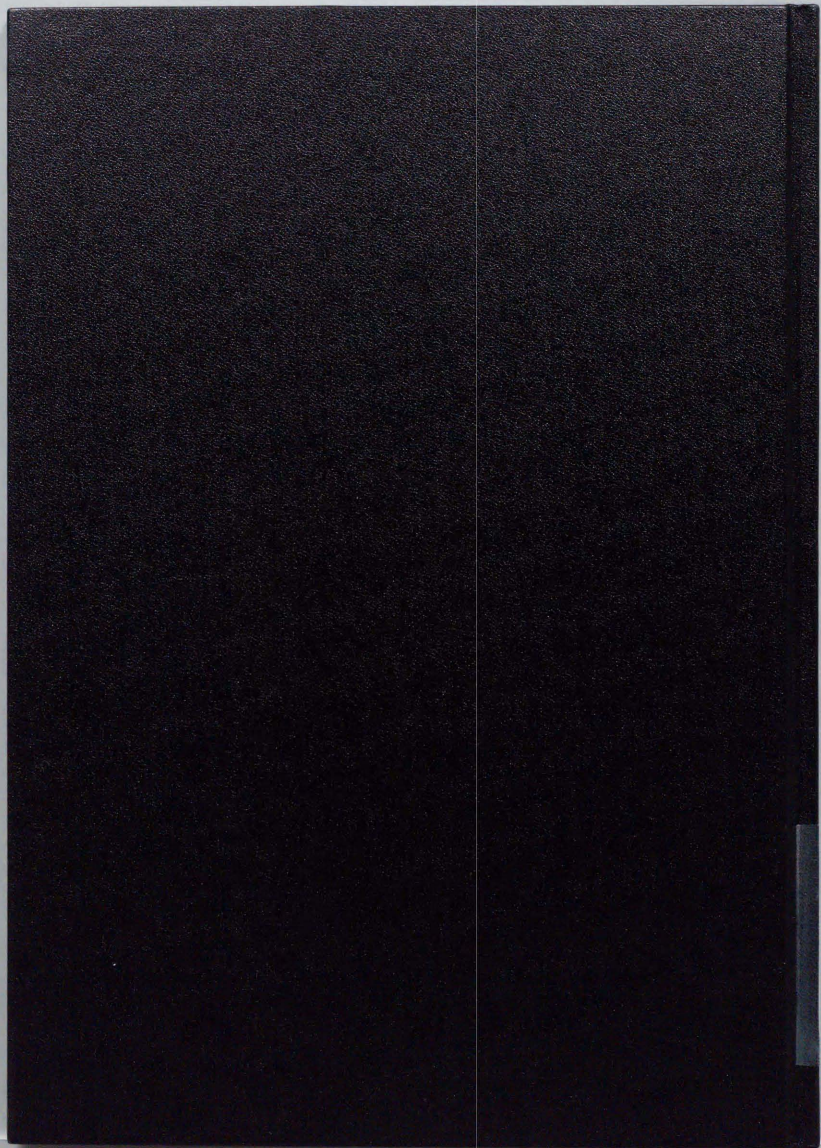
- [1] Altman, D. G. & Destavola, B. L. (1994) Practical problems in fitting a proportional hazards model to data with updated measurements of the covariates. *Statistics in Medicine*, 17 301-341
- [2] Bollen, K. A. (1989) Structural equations with latent variables. New York: Wiley.
- [3] Orita K, Miwa H, Fukuda H, Yumura M, Uchida Y. (1976) Preoperative cell-mediated immune status of gastric cancer patients. *Cancer* 38(6), 2343-2348
- [4] Pillai MR, Balaram P, Padmanabhan TH, et al. (1989) Immunocompetence in lung cancer. Relationship to extent of tumor burden and histologic type. *Cancer*, 64, 1853-1858
- [5] Pross HF, Baines MG. (1976) Spontaneous human lymphocyte-mediated against tumor target cells I. The effect of malignant disease. *Int. J. Cancer*, 18, 593-604
- [6] Tilden AB, Abo T and Balch CML (1983) Suppressor Cell function of human granular lymphocytes identified by the HNK-1 monoclonal antibody. *J. Immunology*, 130, 1171-1175
- [7] 国枝 克行他. (1991) 「胃癌術前血清 IAP からみた術後 BRM 療法の適応について」 *Biotherapy*, 5, 959-961
- [8] 田辺 博他. (1993) 「胃癌術後の免疫科学療法におけるリンパ球サブセットの予後因子としての検討」 *Jpn. J. Cancer. clin.* 39(5):541-547
- [9] 豊田 秀樹. (1992) 「SAS による共分散構造分析」, 東京大学出版会
- [10] 浜辺 豊他. (1995) 「胃癌患者の QOL, 免疫能と IAP との相関性の検討」 *Biotherapy* 9(4) 541-547, April

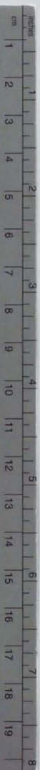
参考文献

- [1] Akaike, H. (1974) A new look at the statistical model identification. *IEEE Transactions on Automatic Control*, AC-19, 716-723
- [2] Bentler, P. M. & Weeks, D. G. (1980) Linear structural equations with latent variables. *Psychometrika*, 45, 289-308

- [3] Balaram P, Pillai MR, Padmanabhan TH, et al. (1988) Immune function in malignant cervical neoplasma: A multiparameter analysis. *Gynecol. Oncol.*, **31**, 409-432
- [4] Breslow, N. E. (1974) Covariance analysis of censored survival data, *Biometrics*, **30**, 89-99
- [5] Cox, D. R. (1972) Regression models and life tables. *J. Royal Stat. Soc. Series B34* 187-220
- [6] Cox, D. R. (1975) Partial likelihood *Biometrika*, **62** 269-276
- [7] Haggglund, G.(1982) Factor analysis by istrumental variable methods. *Psychometrika*, **47** 209-222
- [8] Joreskog, K. G.& Sorbom, D. (1978) LISREL4: Analysis of linear structural relationships by the method of maximum likelihood (Release2) Chikago: Natinal Educational Resources, Inc.
- [9] Joreskog, K. G.& Sorbom, D. (1979) *Advances in factor analysis and structural equation models* (pp.285-325).Amsterdam:North-Holland
- [10] Joreskog, K. G.& Sorbom, D. (1984) LISREL4 User's Guide:Analysis of linear structural relationships by the method of maximam likelihood (Release2) Chikago:Natinal Educational Resources,Inc
- [11] Mantel, N.(1966) Evalation of survival data and two new rank order statistics in its consideration . *Cancer Chemotherapy. Rep***50** 167-170
- [12] McDonald, R. P. (1978) A simple comprehensive model for the analysis of covariance structures.*British Journal of Mathematical and Stastical Psychology*, **31**,59-72
- [13] 秋山 由紀雄他. (1981) 「多糖の抗腫瘍性発現の機序と免疫学的性状の特徴. 蛋, 核, 酵」 **26**,16-32
- [14] 稲垣宣生.(1990) 「数理統計学」 裳華房
- [15] 今井 豊.(1994) L^AT_EX エラーマニュアル. カットシステム
- [16] 漆崎 一朗他編 (1982) 「癌と生体のかかわりあい、免疫療法への展開」 ライフサイエンス, 東京, p97
- [17] 大橋 靖雄他.(1987) 「SAS によるデータ解析入門」, 東京大学出版会
- [18] 大橋 靖雄他.(1987) 「SAS による生存時間解析」, 東京大学出版会

- [19] 奥野 忠一他.(1981)「多変量解析法」日科技連出版社
- [20] 奥村 晴彦.(1991) \LaTeX 美文書作成入門. 技術評論社
- [21] 小平 邦彦.(1991)「解析入門」岩波書店
- [22] 小山 次郎.(1989)「免疫学の基礎」,東京化学同人
- [23] 斎藤 正彦.(1966)「線型代数入門」東京大学出版会
- [24] 塩谷 實.(1990)「多変量解析概論」朝倉書店
- [25] 杉浦 光夫.(1980)「解析入門 I」東京大学出版会
- [26] 竹内 啓.(1994)「数理統計学の理論と応用」東京大学出版会
- [27] 富永 祐民.(1980)「治療効果判定のための実用統計学」蟹書房
- [28] 長岡 亮介.(1992)「線型代数学入門と展望」ブレーン出版
- [29] 林 知己夫編.(1991)「統計学の基本」朝倉書店
- [30] 柳井 晴夫他.(1983)「射影行列,一般逆行列,特異値分解」東京大学出版会
- [31] SAS institute Japan「SAS ユーザーズガイド」
- [32] SAS institute Japan「LIFETEST PHREG プロシージャ」





Kodak Color Control Patches

© Kodak, 2007 TM Kodak

Blue Cyan Green Yellow Red Magenta White 3/Color Black



Kodak Gray Scale



© Kodak, 2007 TM Kodak

A 1 2 3 4 5 6 M 8 9 10 11 12 13 14 15 B 17 18 19

