『経営学論集』第27巻第４号，67-72頁，2017年３月
KYUSHU SANGYO UNIVERSITY, *KEIEIGAKU RONSHU*（*BUSINESS REVIEW*）Vol. 27, No. 4，67-72，2017

〔論　説〕

順序制約情報に基づくミカエリス・メンテン式のパラメータの推定について

孫　　宏　傑

［要　旨］

本稿はミカエリス・メンテン式のパラメータの推定に使われる Direct Linear Plot を順序制約情報に基づいて改良し，Direct Linear Plot 法の分散の非収束性を解決できることを明示する。また，この改良法は正規分布理論に基づいているので，ミカエリス・メンテン式のパラメータの推定は非線形回帰を使わなくても解決できることを明示する。

１．はじめに

ミカエリス・メンテン式[2]（MM 式）は酵素反応速度理論の基本的な公式である。酵素反応速度 ν は式

$$\nu = \frac{V_{\max} s}{K_m + s} \tag{1}$$

で表れる。ここで，s は基質濃度，$V_{\max}$ は基質濃度が無限大のときの反応速度である。また，K_m は $\nu = V_{\max}/2$ を与える基質濃度である。MM 式は $s << K_m$ のとき，$\nu \approx (V_{\max}/K_m)s$，すなわち，$\nu$ が s と比例して変化する。また，$s >> K_m$ のとき，$\nu \approx V_m$，すなわち，ν が飽和状態になり，s の効用がなくなる。MM 式で記述できる事象が自然界に多く存在し，応用範囲が広い。また，統計理論の分野では，MM 式が線形に変形できるので，非線形理論ではなく，線形理論でパラメータのよい推定と解釈ができるかと注目され，特別な存在になっている。

MM 式のパラメータの推定問題とは実験データ (s_i, ν_i), $\nu_i = E(\nu_i) + e_i$, $Var(\nu_i) = \sigma^2$, $i = 1, \cdots, n$ から $V_{\max}$ と K_m を推定することである。現在，実際の応用において，ほとんどコンピュータを用いて非線形回帰で $V_{\max}$ と K_m の推定を行う。非線形回帰は適用の条件が揃う場合，最適な解を返すが，外れ値などがある場合，解のロバスト性が影響されやすいという特徴がある。このため，ロバスト性のよい推定方法が求められている。Direct Linear Plot 法[3,4]（DLP 法）は1970年代に提案された１つのロバスト方法で，$V_{\max}$ と K_m の推定にミディアン値を使う。ミディ

アン値を求めるには，まず実験データを(s, v)空間の代わりに(K_m, V_{max})空間に変換する。すなわち，

$$V_{max} = \frac{K_m + s}{s} v = \frac{v}{s} \times K_m + v \tag{2}$$

を通し，n 組のデータを n 本の直線に変換し，$n^*(n-1)/2$ 個の交差点を生成する。理論上，もしデータに誤差がない場合，n 本の直線が一つの点に収束し，この収束点が真の V_{max} と K_m である。しかし，実際のデータに誤差があるため，$n^*(n-1)/2$ 個の交差点が存在する。DLP 法は V_{max} と K_m の両軸上の $n^*(n-1)/2$ 個の交差点のミディアンを推定値とする。ミディアンはロバスト性があるため，DLP 法もロバスト方法といえる。DLP 法は誤差の構造が元のままで，V_{max} と v の確率構造は変わらない。また，ミディアンの求め方もシンプルで分かりやすい。しかし，DLP 法はミディアンの分散が非収束的という大きな問題がある。これは，s の一定範囲内で標本サイズ n が増えると，n 本の直線の中に平行になる直線が出てくる可能性も増え，結果的に $n^*(n-1)/2$ の交差点の範囲が広くなると考えれば理解できる。

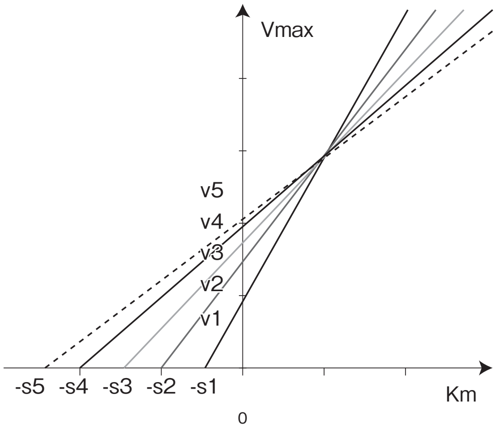

図 1．理想状況

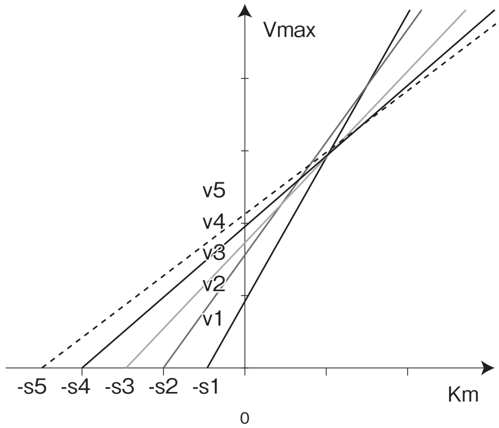

図 2．現実状況

DLP 法は V_{max} と K_m の解を(K_m, V_{max})空間で処理する発想がよいが，(K_m, V_{max})空間での直線の順序関係を利用していない。幾何学的に，図 2 の現実状況を図 1 の理想状況に訂正できれば，分散の非収束性も解決できる。本稿は(K_m, V_{max})空間での直線の順序関係を注目し，DLP 法の改良を試みる。第 2 節で順序制約情報に基づく DLP 法の改良を理論の面から紹介する。第 3 節で，例を中心に，DLP 法，改良 DLP 法，非線形回帰法の解を比較し，改良 DLP 法が DLP 法より一定の改善が得られた。おわりに，改良 DLP 法を簡単にまとめ，これからの課題を触れておく。

2．順序制約情報に基づく DLP 法の改良

本稿で提案する DLP 法の改良の基本的な考え方は，幾何学的に，図２の現実状況を図１の理想状況に訂正することである。具体的に言うと，$\nu_1, \nu_2, \cdots, \nu_n$ を訂正して真の値に接近させることである。これを実現するため，順序制約情報に基づく訂正が必要である。

まず，表示法を明記する。K_m 軸上の $n^*(n-1)/2$ 個の交差点をと $k_1, k_2, \cdots, k_{n^*(n-1)/2}$ 表し，$k_1, k_2, \cdots, k_{n^*(n-1)/2}$ を大小順序に整理し，結果を $k_{[1]} \leq k_{[2]} \leq \cdots \leq k_{[n^*(n-1)/2]}$ とする。また，式(2)の直線 $V_{\max}$ が K_m 軸上の k_m 点において，平均と分散は以下のとおりである。

$$E(V_{\max}) = \frac{(k_m + s)}{s} E(\nu) \tag{3}$$

$$Var(V_{\max}) = (\frac{k_m + s}{s})^2 Var(\nu) = (\frac{k_m + s}{s})^2 \sigma^2 \tag{4}$$

次に，図３の交差点 $k_{[1]}$ と $k_{[2]}$ について考える。真の K_m が $k_{[2]}$ より右のほうにあると仮定する。$k_{[1]}$ は２つの直線 l_q と l_t の交差点で，$k_{[1]}$ の左側においては l_q が l_t の上方に，右側においては l_q が l_t の下方にある。一方，$k_{[2]}$ においては，l_q が少なくとも $k_{[2]}$ までに l_t の上方にあるべきで，現在の下方にあるのは順序の違反であり，訂正が必要である。

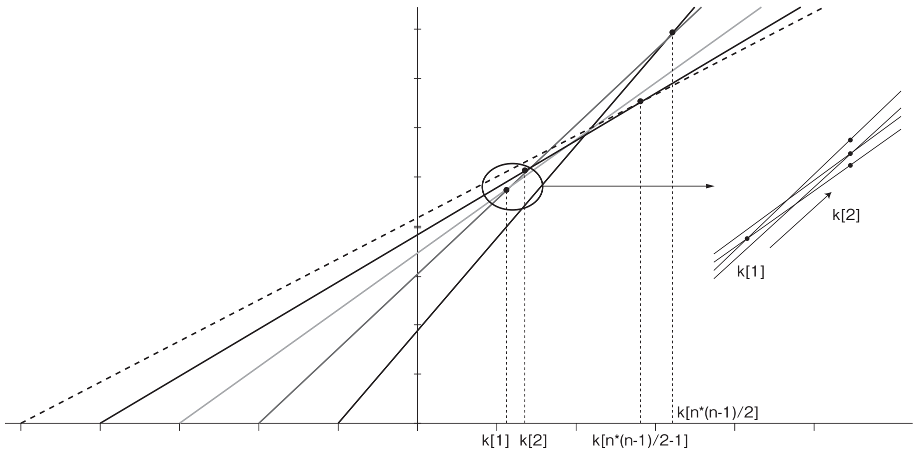

図３．順序違反の訂正

訂正は順序制約情報[1]に基づいて行う。$k_{[2]}$ において，l_q と l_t の $V_{\max}$ 値は記号 $V_{\max,q}$ と $V_{\max,t}$ で表すと，

$$V_{\max,q} = \frac{k_{[2]} + s_q}{s_q} \nu_q = \frac{\nu_q}{s_q} \times k_{[2]} + \nu_q$$

$$V_{\max,t} = \frac{k_{[2]} + s_t}{s_t} \nu_t = \frac{\nu_t}{s_t} \times k_{[2]} + \nu_t$$

である。また，分散は

$$Var(V_{\max,q}) = (\frac{k_{[2]}+s_q}{s_q})^2\sigma^2$$

$$Var(V_{\max,t}) = (\frac{k_{[2]}+s_t}{s_t})^2\sigma^2$$

である。$k_{[2]}$における訂正後の $V_{\max}$ 値は記号 $V'_{\max}$ で表し，$V_{\max,q}$ と $V_{\max,t}$ の重み付け平均で与える。

$$V'_{\max} = w_q \times V_{\max,q} + w_t \times V_{\max,t}$$

$$w_q = \frac{Var(V_{max,q})^{-1}}{Var(V_{max,q})^{-1} + Var(V_{max,t})^{-1}}$$

$$w_t = \frac{Var(V_{max,t})^{-1}}{Var(V_{max,q})^{-1} + Var(V_{max,t})^{-1}}$$

$V'_{\max}$ を求めた後，次に v_q と v_t を訂正する。

$$v'_q = \frac{s_q}{k_{[2]}+s_q}V'_{\max}$$

$$v'_t = \frac{s_t}{k_{[2]}+s_t}V'_{\max}$$

これで，一つの訂正がおわる。訂正の結果，$v'_q \geq v_q,\ v'_t \leq v_t$ となる。

同じように，右側からの違反があれば，同様に訂正を行う。

DLP 改良法のアルゴリズム

1．実験データから$(K_m, V_{\max})$空間上の $n^*(n-1)/2$ 個の交差点を求める。計算式は下記のとおりである。

$$V_{ij} = \frac{s_i - s_j}{\frac{s_i}{v_i} - \frac{s_j}{v_j}},\quad K_{ij} = -\frac{v_i - v_j}{\frac{v_i}{s_i} - \frac{v_j}{s_j}},\quad i, j = 1, \cdots, n,\ i \neq j$$

2．K_m 軸上の $n^*(n-1)/2$ 個の交差点 $k_1, k_2, \cdots, k_{n^*(n-1)/2}$から，$k_{[1]} \leq k_{[2]} \leq \cdots \leq k_{[n^*(n-1)/2]}$を求める。

3．左側から 1 番目と 2 番目の距離を計算し，また右側からも 1 番目と 2 番目の距離を計算する。もし，左側の距離が大きい場合，左側から訂正する。逆の場合は，右側から訂正する。

4．訂正は例えば左側から行う場合，訂正の後，交差点を計算しなおしてから，右側から訂正を行う。最初右側から行う場合，訂正の後，交差点を計算しなおしてから，左側から訂正を行う。

5．$k_{[1]}$と$k_{[n^*(n-1)/2]}$の距離が指定の値より大きい場合，2.に戻して繰り返し訂正を行う。もし，指定の値より小さい場合，その時点，訂正を終了し，K_mと$V_{\max}$のミディアンを推定値とする。

DLP改良法は元のDLP法と比べると，K_mと$V_{\max}$の求め方が煩雑になる。また，DLP改良法は真のK_mが$k_{[1]}$と$k_{[n^*(n-1)/2]}$の中央部にあると仮定したので（DLP法と同じ仮定），両側から範囲を狭めるアプローチを取っている。このアプローチがK_mと$V_{\max}$への接近と同時に，分散の非収束性の問題も解決できた。また，DLP法と同様に，もしすべての直線が平行の場合，解はない。

3．例

DLP改良法，DLP法と非線形回帰の比較を行うため，R.J. Ritchie and T. Prvan[5]のデータ（表1）を利用する。このデータセットの真のK_m値が0.560～0.766の間にあると上記の論文が記した。

表1．反応速度と基質濃度のデータセット

基質濃度s	反応速度v
0.138	0.148
0.220	0.171
0.291	0.234
0.560	0.324
0.766	0.390
1.460	0.493

DLP法，DLP改良法と非線形回帰の結果が表2にまとめた。改良DLP法で得られたK_m値は区間0.560～0.766に入ったことに対し，DLP法のK_m値は入らなかった。また，DLP法より，DLP改良法のK_mと$V_{\max}$の値が非線形回帰の解に近いが，予見したほどではなかった。この原因が両側から1回ずつ接近させることから来たかもしれない。継続研究の必要がある。また，DLP改良法で処理中，1回目の交差点の計算のとき，K_mと$V_{\max}$の値がともにマイナスのケースが発生し，改良DLP法によりプラスに訂正できた。

表2．DLP 法，DLP 改良法と非線形回帰の結果

	DLP 法	改良 DLP 法	非線形回帰
Km	0. 529	0. 567	0. 597
Vmax	0. 660	0. 675	0. 690

4．おわりに

ミカエリス・メンテン式を変形し，線形回帰の方法でパラメータを求める方法として，Lineweaver-Burk plot，Hanes-Woolf plot がよく知られている。この両方法は変形によって元の確率構造が破壊され，確率構造に基づく改良は不可能である。一方，Direct Linear Plot 法は元の確率構造が維持され，その確率構造に基づく改良が考えられる。

本稿は順序制約情報に基づいてミカエリス・メンテン式のパラメータの推定する Direct Linear Plot の改良を試みた。まだ初歩的な研究で，方向性的に行けるということが確認できた。アルゴリズムの再検討，推定量の評価方法等々の課題がまだ多くあり，継続研究の必要がある。

参考文献

1．R.E. Barlow, D.J. Bartholomew, J.M. Bremner and H.D. Brunk (1972), Statistical Inference under Order Restrictions, John Wiley & Sons, New York

2．D.M. Bates (1988), Nonlinear Regression Analysis and Its Applications, 33-36. John Wiley & Sons, New York

3．A. Cornish-Bowden (1981), *Robust Estimation in Enzyme Kinetics,* in *Kinetic Data Analysi: Design and Analysis of Enzyme and Pharmaco-kinetic Experiments,* edited by L. Endrenyi, Plenum Press, New York and London, 105-119.

4．R. Eisenthal and A. Cornish-Bowden(1974), *The Direct Linear Plot,* Biochem. J.139, 715-720

5．R.J. Ritchie and T. Prvan (1996), Current Statistical Methods for Estimating the Km and Vmax of Michaelis-Menten Kinetics, Biochemical Education, 24(4), 196-206