



日本薬物動態学会 第8回ショートコース  
バイオ医薬品開発を促進する技術基盤  
2014年5月8日（木）学術総合センター 中会議室

# 医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法 （リガンド結合法）のバリデーシオンに関する ガイドライン：策定の背景と論点

国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部

石井明子

# リガンド結合法ガイドライン

薬食審査発0401第1号  
平成26年4月1日

厚生労働省医薬食品局審査管理課長

## 「医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法（リガンド結合法）のバリデーションに関するガイドライン」について

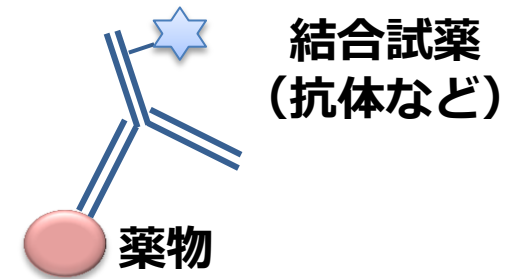
医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法は、臨床薬物動態試験又は非臨床薬物動態試験（トキシコキネティクス試験を含む。）において、体内動態（吸収、分布、代謝及び排泄）、バイオアベイラビリティ、生物学的同等性、薬物間相互作用等の評価に利用されているものですが、一連の分析過程を通して妥当性が適切に確認され、十分な信頼性を有することが必要です。

今般、リガンド結合法による生体試料中薬物濃度分析法が十分な信頼性を有することを保証するためのバリデーション及びその分析法を用いた実試料分析に関して推奨される一般的な指針を、別添のとおりガイドラインとして取りまとめましたので、貴管下関係業者に対して周知方お願いします。

# リガンド結合法： Ligand-Binding Assay (LBA)

薬物（リガンド）に対して特異的に結合する**結合試薬**を利用して，薬物を定量する方法

- 結合試薬として，薬物に対する抗体が用いられることが多い。
- リガンド結合法の多くは，抗原抗体の結合を利用した免疫学的な測定法（イムノアッセイ）である。



## バイオアナリシスに用いられるリガンド結合法の例

放射免疫測定法	RIA	(radio immunoassay)
酵素免疫測定法	EIA	(enzyme immunoassay)
時間分解蛍光免疫測定法	TRFIA	(time-resolved fluorescence immunoassay)
電気化学発光免疫測定法	ECLIA	(electrochemiluminescence immunoassay)

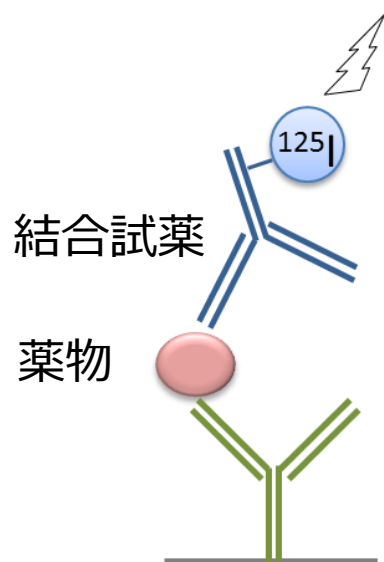
# リガンド結合法の例

RIA

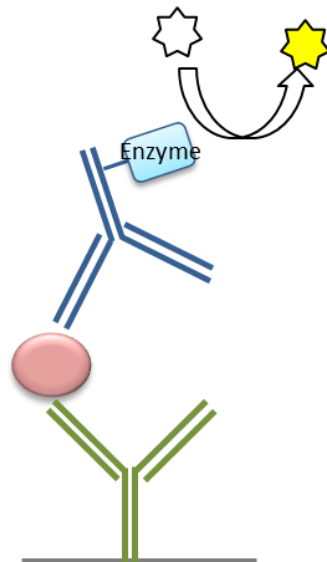
ELISA

TRFIA

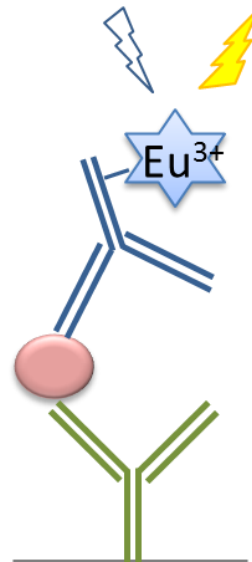
ECLIA



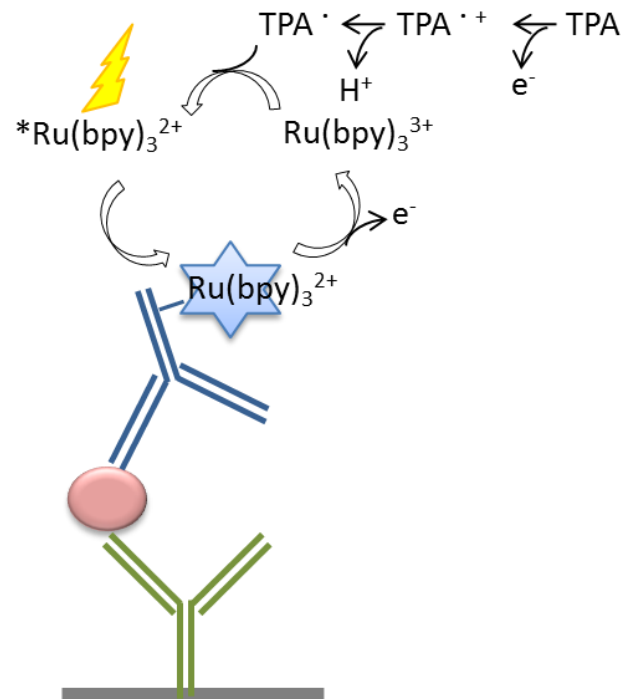
放射  
免疫測定法



酵素  
免疫測定法



時間分解蛍光  
免疫測定法



電気化学発光  
免疫測定法

# 本日の話題

## 1. リガンド結合法ガイドラインの概略

- ガイドライン策定の背景
- 日本のBMV（クロマトグラフィー）ガイドラインとの比較
- 欧米ガイドラインとの比較

## 2. リガンド結合法ガイドラインの要点

- 各項目の具体的内容
- 策定過程での論点

# 薬物動態に関連する規制文書

通知・事務連絡	発出日
トキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンス	厚生省薬務局審査管理課 平成8年7月2日（1996年） 薬審第443号
非臨床薬物動態試験ガイドライン	厚生省医薬安全局審査管理課 平成10年6月26日（1998年） 医薬審第496号
医薬品の臨床薬物動態試験について	厚生労働省医薬局審査管理課 平成13年6月1日（2001年） 医薬審発第796号
医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス（ICH M3(R2)）	厚生労働省医薬食品局審査管理課 平成22年2月19日（2010年） 薬食審査発0219第4号
後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン等の一部改正について	厚生労働省医薬食品局審査管理課 平成24年2月29日（2012年） 薬食審査発第0299第10号
後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドラインに関する質疑応答集（Q&A）について等の改正等について	事務連絡 平成24年2月29日（2012年）

# 生体試料中薬物濃度分析法バリデーション (Bioanalytical Method Validation: BMV) に関連する海外の動向



EMA

Guideline on Bioanalytical  
Method Validation

Concept paper (2008)

→ Guideline draft (2009)

→ Guideline (2011)

FDA



Guidance for Industry  
Bioanalytical Methods  
Validation (2001)

→ revision DRAFT (2013)

規制環境下でのバイオアナリシス  
に関する関心の高まり



Global Bioanalysis Consortium (2010～)

# BMVに関する日本のガイドライン



(2011年)

- ✓ 厚生労働科学研究費補助金研究班でのBMVガイドライン作成に向けた検討開始
- ✓ バイオアナリシスフォーラム (IRE) 設立



クロマトグラフィー

(2013年)

「医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに関するガイドライン」

平成25年7月11日 薬食審査発0711第1号  
厚生労働省医薬食品局審査管理課

(2014年)

「医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法  
(リガンド結合法) のバリデーションに関する  
ガイドライン」

平成26年4月1日 薬食審査発0401第1号  
厚生労働省医薬食品局審査管理課



# リガンド結合法に関するガイドライン関連文書

文書	発出日	通知番号等
ガイドライン本文 意見公募	平成26年1月10日 ～2月10日	e-Gov
ガイドライン本文	平成26年4月1日	厚生労働省医薬食品局 審査管理課 薬食審査発0401第1号 通知
質疑応答集(Q&A)	平成26年4月1日	厚生労働省医薬食品局 審査管理課 事務連絡
意見公募回答表	平成26年4月23日	e-Gov
ガイドライン本文 及びQ&A 英文版	(作成中)	

# リガンド結合法 ガイドラインの作成方針

- ① 先行して作成が進められている日本のBMVガイドライン（クロマトグラフィー）の考え方を基盤とする。  
＜日本におけるBMVに関する考え方の基本を継承＞
- ② リガンド結合法に特有の課題を適切に取り入れる。
- ③ 国際的整合性を考慮する。



目標：科学的に妥当であり，実践的なガイドライン

# リガンド結合法 ガイドラインの目次

1. はじめに
2. 適用
3. 標準物質（標準品）
4. 分析法バリデーション
5. 実試料分析
6. 注意事項
7. 報告書の作成と記録等の保存  
用語解説

# BMV(クロマトグラフィー)ガイドラインとの比較

BMVガイドライン (クロマトグラフィー)	BMV ガイドライン (リガンド結合法)
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. はじめに</li> <li>2. 適用</li> <li>3. 標準物質 (標準品)</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. はじめに</li> <li>2. 適用</li> <li>3. 標準物質 (標準品)</li> </ol>
<p><b>4. 分析法バリデーション</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>4.1. フルバリデーション               <ol style="list-style-type: none"> <li>4.1.1. <b>選択性</b></li> <li>4.1.2. 定量下限</li> <li>4.1.3. 検量線</li> <li>4.1.4. 真度及び精度</li> <li>4.1.5. マトリックス効果</li> <li>4.1.6. キャリーオーバー</li> <li>4.1.7. 希釈の妥当性</li> <li>4.1.8. 安定性</li> </ol> </li> <li>4.2. パーシャルバリデーション</li> <li>4.3. クロスバリデーション</li> </ol>	<p><b>4. 分析法バリデーション</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>4.1. フルバリデーション               <ol style="list-style-type: none"> <li>4.1.1. <b>特異性</b></li> <li>4.1.2. <b>選択性</b></li> <li>4.1.3. 検量線</li> <li>4.1.4. 真度及び精度</li> <li>4.1.5. 希釈直線性</li> <li>4.1.6. 安定性</li> </ol> </li> <li>4.2. パーシャルバリデーション</li> <li>4.3. クロスバリデーション</li> </ol>
<p><b>5. 実試料分析</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>5.1. 実試料分析における分析法の妥当性と再現性               <ol style="list-style-type: none"> <li>5.1.1. 検量線</li> <li>5.1.2. QC試料</li> <li>5.1.3. ISR</li> <li>5.1.4. キャリーオーバー</li> </ol> </li> </ol> <p><b>6. 注意事項</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>6.1. 定量範囲</li> <li>6.2. 再分析</li> <li>6.3. クロマトグラムの波形処理</li> <li>6.4. システム適合性</li> <li>6.5. 回収率</li> </ol>	<p><b>5. 実試料分析</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>5.1. 実試料分析における分析法の妥当性と再現性               <ol style="list-style-type: none"> <li>5.1.1. 検量線</li> <li>5.1.2. QC試料</li> <li>5.1.3. ISR</li> </ol> </li> </ol> <p><b>6. 注意事項</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>6.1. 定量範囲</li> <li>6.2. 再分析</li> <li>6.3. キャリーオーバー</li> <li>6.4. <b>クロストーク</b></li> <li>6.5. <b>重要試薬</b></li> <li>6.6. <b>干渉物質</b></li> </ol>
<p><b>7. 報告書の作成と記録等の保存</b></p>	<p><b>7. 報告書の作成と記録等の保存</b></p>

# 欧米ガイドラインとの比較

MHLW (LBA) 2014年	EMA (7. LBA) 2011年	FDA (IV. LBA) draft 2013年
1. はじめに 2. 適用 3. 標準物質 (標準品)		
<b>4. 分析法バリデーション</b> 4.1. フルバリデーション 4.1.1. 特異性 4.1.2. 選択性 4.1.3. 検量線 4.1.4. 真度及び精度 4.1.5. 希釈直線性 4.1.6. 安定性 4.2. パーシャルバリデーション 4.3. クロスバリデーション <b>5. 実試料分析</b> 5.1. 検量線 5.2. QC試料 5.3. ISR <b>6. 注意事項</b> 6.1. 定量範囲 6.2. 再分析 6.3. キャリーオーバー 6.4. クロストーク 6.5. 重要試薬 6.6. 干渉物質	<b>7.1 Method validation</b> 7.1.1 Full validation 7.1.1.1 Reference standards 7.1.1.2 Specificity 7.1.1.3 Selectivity 7.1.1.4 Carry-over effect 7.1.1.5 Matrix selection 7.1.1.6 Minimum required dilution 7.1.1.7 Calibration curve 7.1.1.8 Precision and accuracy 7.1.1.9 Dilutional linearity 7.1.1.10 Parallelism 7.1.1.11 Stability of the sample 7.1.1.12 Reagents 7.1.1.13 Commercial kits <b>7.2 Partial validation and cross-validation</b> <b>7.3 Analysis of study samples</b> 7.3.1 Analytical run 7.3.2 Acceptance criteria for study sample analysis 7.3.3 ISR	<b>A. Key reagents</b>  <b>B. Bioanalytical method development and validation</b> 1. Selectivity 2. Accuracy, precision and recovery 3. Calibration curve 4. Sensitivity 5. Reproducibility 6. Stability  <b>C. Validation method: Use, Data analysis, and Reporting</b>
7. 報告書の作成と記録等の保存		13

# 本日の話題

## 1. リガンド結合法ガイドラインの概略

- ガイドライン策定の背景
- 日本のBMV（クロマトグラフィー）ガイドラインとの比較
- 欧米ガイドラインとの比較

## 2. リガンド結合法ガイドラインの要点

- 各項目の具体的内容
- 策定過程での論点

# 1. はじめに

医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析は、対象薬物やその代謝物の有効性及び安全性を評価する上で、臨床薬物動態試験や非臨床薬物動態試験（トキシコキネティクス試験を含む。）に活用され、得られた生体試料中薬物濃度は、体内動態（吸収、分布、代謝及び排泄）、バイオアベイラビリティ、生物学的同等性及び薬物間相互作用等の評価に利用されている。

一方、生体試料中薬物濃度分析には、一連の分析過程を通して妥当性が適切に確認され、十分な信頼性を有する方法を用いることが必要である。

本ガイドラインは、医薬品の製造販売承認申請に用いる試験成績の評価のために、リガンド結合法による生体試料中薬物濃度分析法が十分な信頼性を有することを保証するためのバリデーション及びその分析法を用いた実試料分析に関して推奨される一般的な指針を示したものである。

そのため、特別な分析法を用いる場合や得られた濃度情報の使用目的によっては、科学的な判断に基づき、あらかじめ妥当な判断基準を設定する等、柔軟な対応を考慮することが必要である。

## 2. 適用

	BMVガイドライン (クロマトグラフィー)	BMVガイドライン (リガンド結合法)
分析法	液体クロマトグラフィー(LC) ガスクロマトグラフィー(GC) 又は、それらと質量分析法 (MS)を組み合わせた分析法	リガンド結合法
分析対象 物質	低分子化合物が中心 (内因性物質を除く) 	ペプチド及びタンパク質が中心 リガンド結合法を用いて分析する 低分子化合物  Q&A : 内因性物質とアミノ酸配列が同じ薬 物も対象となる 
試験	トキシコキネティクス試験 臨床試験	トキシコキネティクス試験 臨床試験

対象外：非臨床薬物動態試験，バイオマーカー分析，抗薬物抗体分析



# バイオ医薬品と内因性物質

リガンド結合法が用いられる薬物には、目的物質のアミノ酸配列が、内因性物質と同じであるものが少なくない。

例	薬物	内因性物質
	インスリン ヒト（遺伝子組換え）	インスリン
	ソマトロピン（遺伝子組換え）	成長ホルモン
	エポエチン アルファ（遺伝子組換え） エポエチン ベータ（遺伝子組換え）	エリスロポエチン
	セルモロイキン（遺伝子組換え）	インターロイキン-2
	ホリトロピン アルファ（遺伝子組換え） フォリトロピン ベータ（遺伝子組換え）	卵胞刺激ホルモン

- 最近の開発品目では抗体医薬品が多く、内因性物質を考慮すべきケースは少なくなってきたが、内因性物質と同じアミノ酸配列を持つバイオ医薬品は、決して例外的な存在ではない。



内因性物質と同じアミノ酸配列を持つ薬物もガイドラインの適用対象とし、留意点をQ&Aに記載。（検量線、真度の評価）

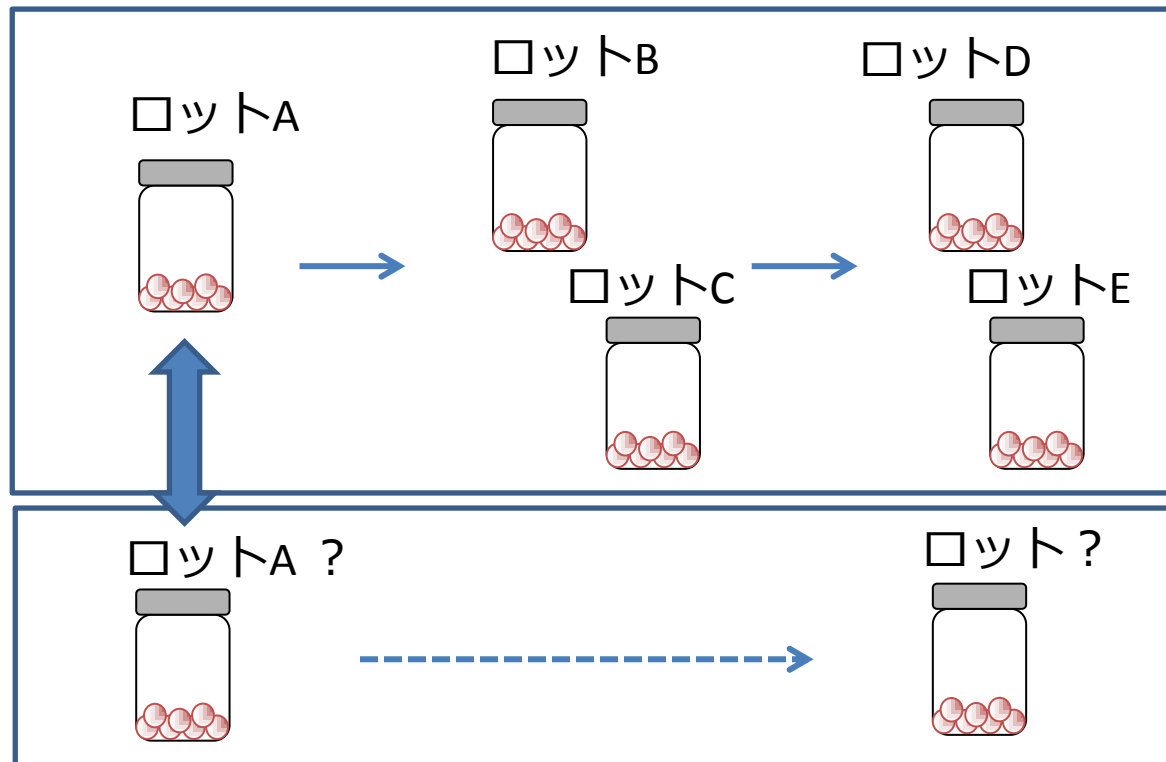
### 3. 標準物質（標準品）

- 標準物質の品質は測定データに影響を及ぼすため、品質が保証された標準物質を使用しなければならない。
- 使用する標準物質については
  - ・ロット番号
  - ・含量（物質質量，純度又は力価）
  - ・保存条件等を明らかにした分析証明書又はそれに代わる文書が必要である。
- 有効期限等を明らかにしておくことが望ましい。
  - 有効期限を設定できない場合は，リテスト日を設定
- 標準物質は，その入手先が明らかにされ，かつその品質が適切に管理されている必要がある。

# 標準物質（標準品）

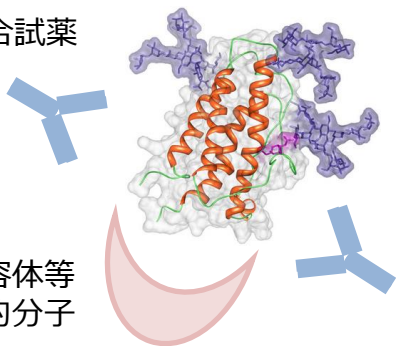
非臨床・臨床試験

投与ロット  
(原薬／製剤ロット)



薬物濃度分析  
標準物質ロット  
(原薬ロット)

結合試薬



受容体等  
標的分子

**標準物質のロットは，非臨床試験及び臨床試験の  
投与薬物ロットと同じにする必要があるか？**

EMAガイドラインでは，標準物質のロットと，非臨床試験  
及び臨床試験の投与薬物ロットの一致が推奨されている。

有効成分の構造に分子多様性があるバイオ医薬品に特有の懸念。

# 標準物質（標準品）Q&A

## Q4.

標準物質のロットは、非臨床試験及び臨床試験の投与薬物ロットと同じにする必要があるか？

## A4.

分析証明書等の内容から同一の品質規格に適合していることが確認できれば、異なるロットを使用することも可能である。

品質規格が定まっていない初期の非臨床試験では標準物質ロットと投与薬物ロットを同じにすることが望ましく、異なるロットを使用する場合には、それぞれのロットで同等の結果が得られることをリガンド結合法により確認する必要がある。

## 4. 分析法バリデーション

薬物又はその代謝物の生体試料中濃度を定量するための分析法を確立する際には、**施設ごとに分析法バリデーション**を実施する。

### 4.1 フルバリデーション

#### 評価項目

- 特異性
- 選択性
- 検量線
- 真度及び精度
- 希釈直線性
- 安定性

- ✓ **文献等で公表された分析法**を使用する場合や、**市販されているキット**を使用する場合にも実施
- ✓ 分析対象となる**種**又は**マトリックス**ごとに実施

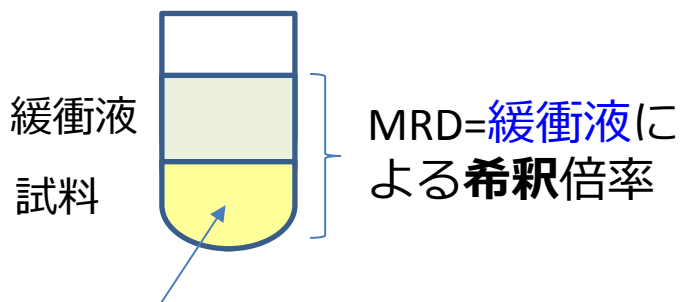
# フルバリデーション： リガンド結合法に特有の留意点

リガンド結合法では、分析法を確立する過程において設定されたMRD (minimum required dilution) に従い緩衝液で希釈した試料を調製し、フルバリデーションを実施する。

プレートを使用するリガンド結合法では、通常、1調製試料あたり少なくとも2穴で測定し、各穴より得られた応答変数の平均値から試料の定量値を算出する、あるいは各穴の応答変数から算出された定量値を平均して試料の定量値とする。

# MRD (Minimum Required Dilution)

リガンド結合法での分析用に調製された試料において、緩衝液により生体試料が希釈されている倍率



薬物濃度が高い場合、試料を  
ブランクマトリックスで“希釈”  
→希釈直線性の評価

MRDはガイドライン上でも  
日本語に訳さない

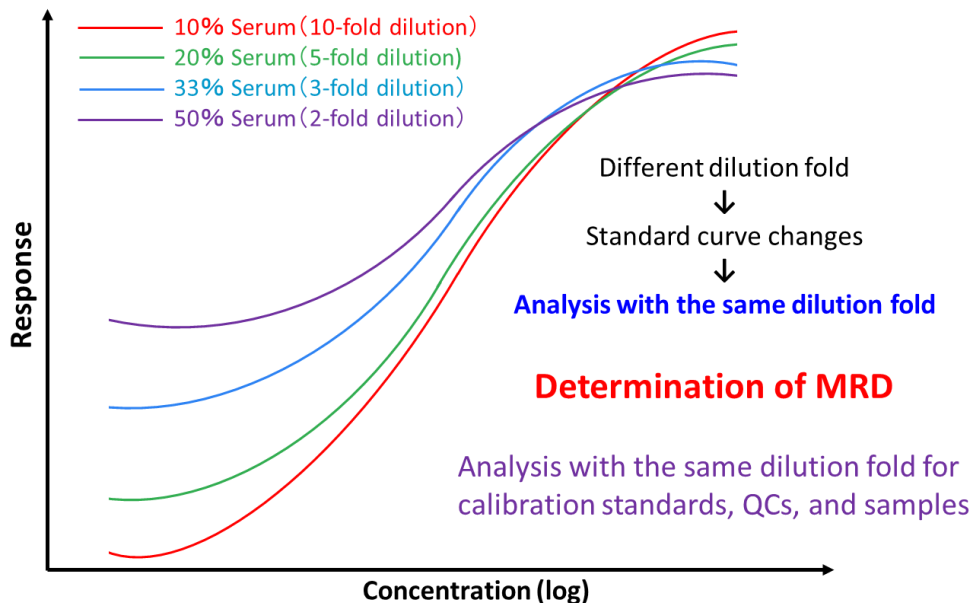
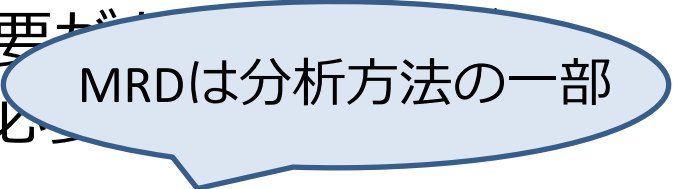


Fig: Nakamura T. at 5<sup>th</sup> JBF symposium

MRDは、検量線用標準試料やQC試料も含め、全ての試料で同一でなければならない。

# MRD (Minimum Required Dilution)

- MRDはすべての試料で同一である必要がなく、  
しも最小 (minimum) の倍率である必要はない。  

- MRDはバリデーションで評価されるものではなく、  
分析法確立の際に決定されるものである。

リガンド結合法のバリデーションにおける評価項目

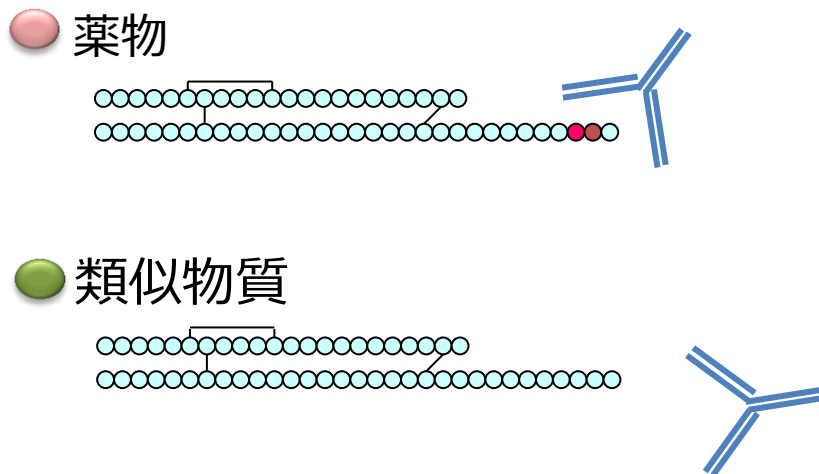
MHLW (LBA) 2014	EMA (7. LBA) 2011
特異性 選択性	Specificity Selectivity Carry-over effect
検量線 真度及び精度 希釈直線性	<b>Minimum required dilution</b> Calibration curve Precision and accuracy Dilutional linearity
安定性	Parallelism Stability

- MRDを変更する際には、パーシャルバリデーション  
が必要である。



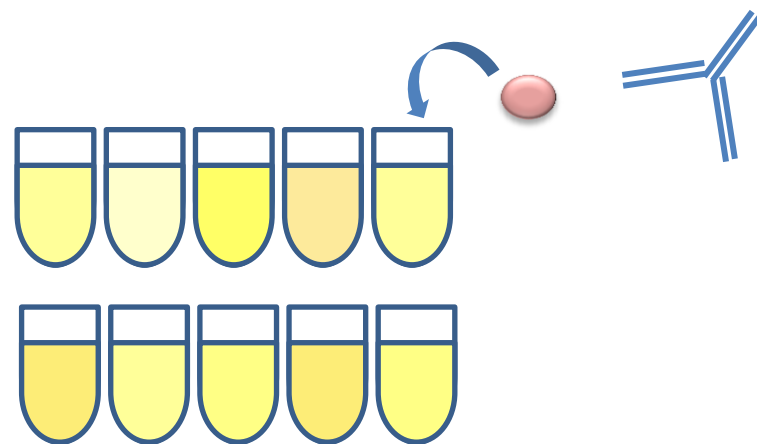
## 4.1.1 特異性

分析対象物質を**類似物質**  
(分析対象物質と構造的に類似した物質) と識別して検出する能力



## 4.1.2 選択性


試料中の**他の成分**の存在下で、分析対象物質を区別して検出することができる能力

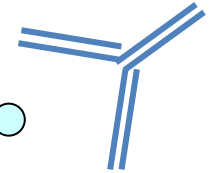
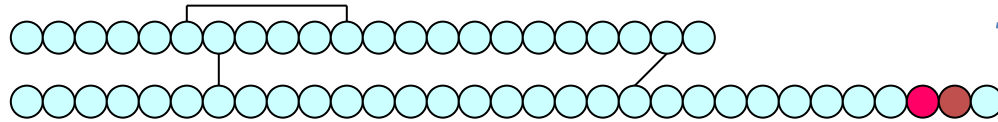


少なくとも10個体から得られた  
ブランク試料

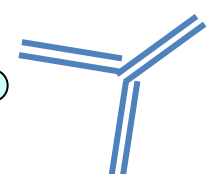
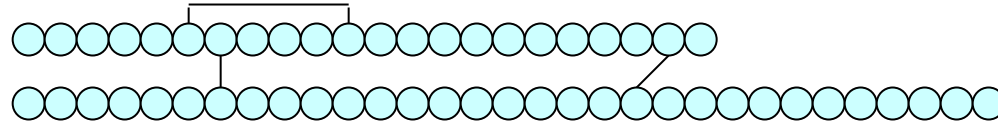
# 特異性の評価

生体試料中に存在することが想定される類似物質を使用

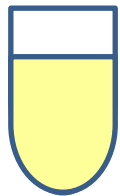
 分析対象物質



 類似物質



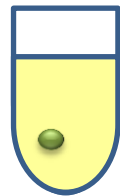
ブランク試料



定量下限未満

ブランク試料

+ 類似物質



定量下限未満

定量下限付近の  
QC試料

+ 類似物質



真値の±20%以内  
(定量下限のQC : ±25%以内)

定量上限付近の  
QC試料

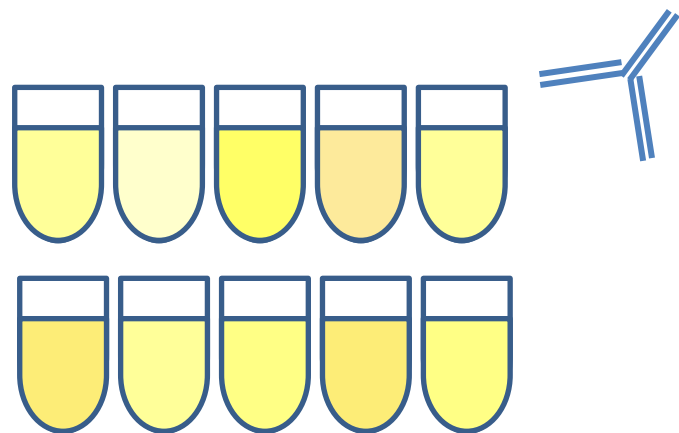
+ 類似物質



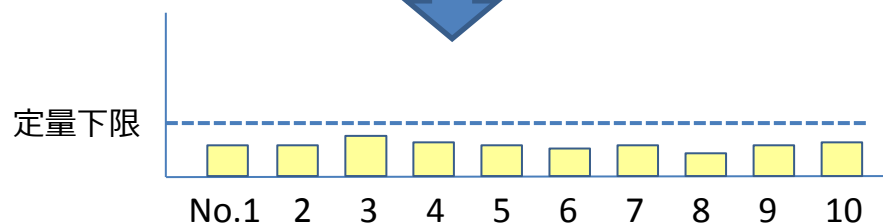
真値の±20%以内  
(定量上限のQC : ±25%以内)

# 選択性の評価

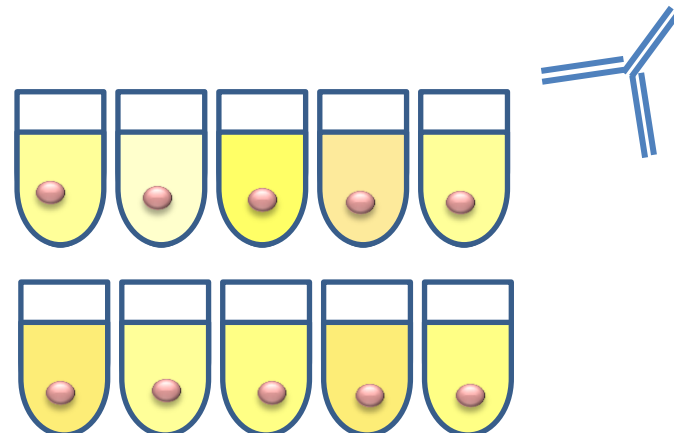
少なくとも10個体から得られた個別のブランク試料を使用



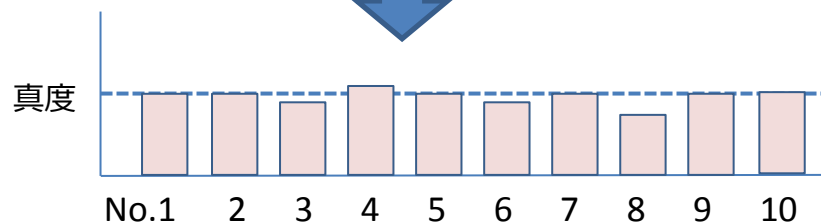
ブランク試料



ブランク試料の80%以上が  
定量下限未満



定量下限付近のQC試料



QC試料の80%以上で真度が±20%以内  
(定量下限のQC試料：±25%以内)

## 4.1.3 検量線

	MHLW (LBA) 2014	EMA (7. LBA) 2011	FDA (IV. LBA) draft 2013
標準試料	<p>定量下限及び定量上限を含む6濃度以上の検量線用標準試料</p> <p>ブランク試料</p> <p>アンカーポイントを用いてもよい</p>	<p>6濃度以上の検量線用標準試料</p> <p>アンカーポイントを用いてもよい</p>	<p>定量下限を含む6濃度以上の検量線用標準試料</p>
判定基準	<p>各濃度の真度<math>\pm 20\%</math>以内 (定量上限・下限では25%以内)</p> <p>検量線用試料の75%以上、かつ、<b>定量上限・下限を含む6濃度以上</b>が上記の基準を満たす。</p> <p>(アンカーポイントには基準なし)</p>	<p>各濃度の真度<math>\pm 20\%</math>以内 (定量上限・下限では25%以内)</p> <p>検量線用試料の75%以上が上記の基準を満たす。</p> <p>(アンカーポイントには基準なし)</p>	<p>各濃度の真度<math>\pm 20\%</math>以内 (定量下限では25%以内)</p> <p>定量下限を含む検量線用試料の75%以上が上記の基準を満たす。</p> <p>Total error 30%以下</p>

# 検量線

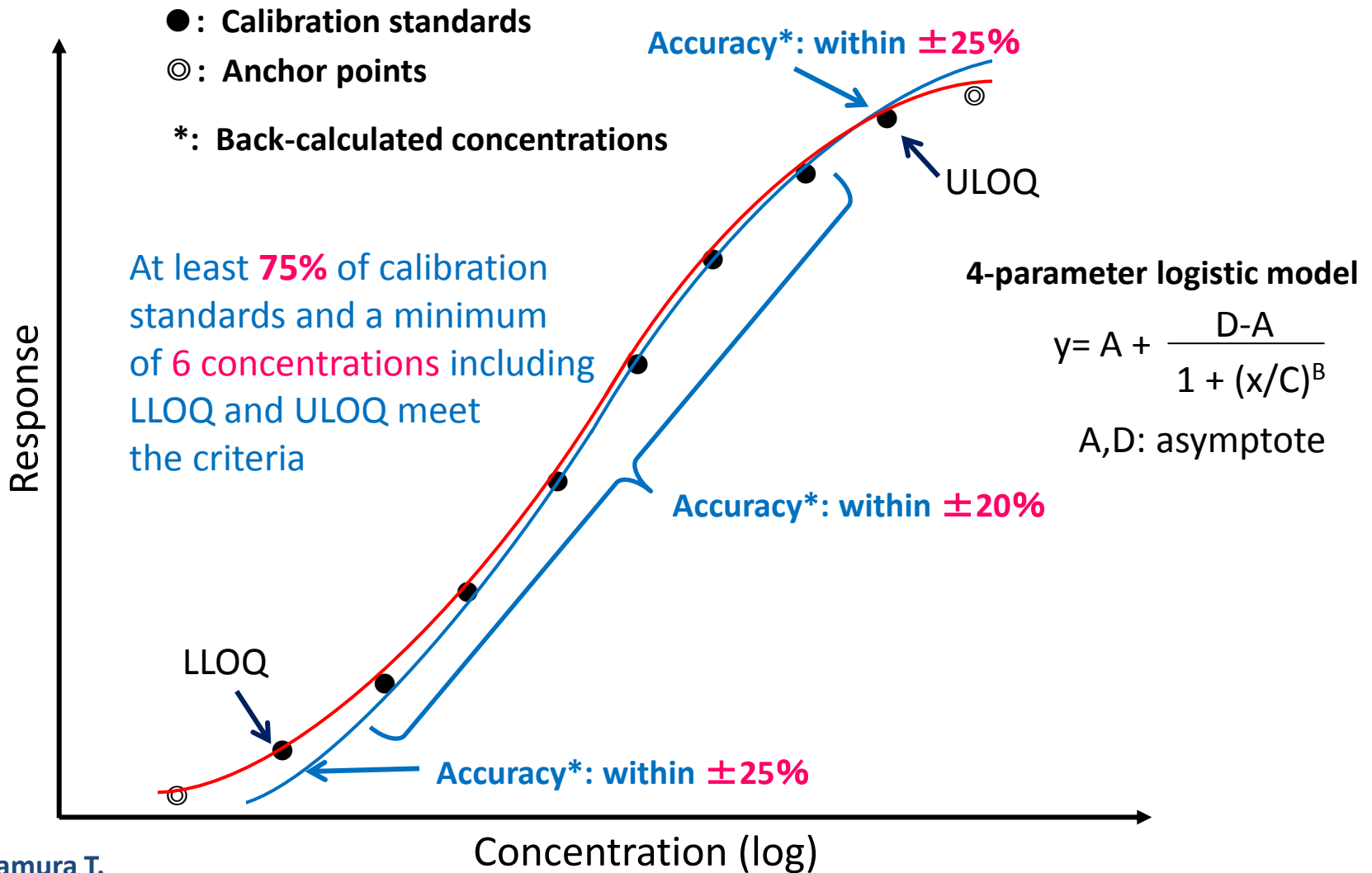


Fig: Nakamura T.  
at 5<sup>th</sup> JBF symposium

## 4.1.4 真度及び精度

	MHLW (LBA) 2014	EMA (7. LBA) 2011	FDA (IV. LBA) draft 2013
QC試料	<p>検量線の定量範囲内で、最低5濃度（定量下限、低濃度、中濃度、高濃度及び定量上限）のQC試料</p> <p>低濃度：定量下限の3倍以内 中濃度：検量線の間近 高濃度：検量線の定量上限の3分の1以上</p>	<p>最低5濃度（定量下限、低濃度、中濃度、高濃度及び定量上限）のQC試料</p> <p>低濃度：定量下限の3倍以内</p>	<p>実試料で想定される濃度の範囲内で最低3濃度のQC試料</p>
真度及び精度	<p>各濃度における平均の真度 <math>\pm 20\%</math> 以内 (定量上限・下限では25%以内)</p> <p>各濃度における定量値の精度 <math>20\%</math> 以下 (定量上限・下限では25%以下)</p> <p>各濃度における Total error <math>30\%</math> 以下 (定量上限・下限では40%以下)</p>	<p>各濃度における平均の真度 <math>\pm 20\%</math> 以内 (定量上限・下限では25%以内)</p> <p>精度 <math>20\%</math> 以下 (定量上限・下限では25%以下)</p> <p>Total error <math>30\%</math> 以下 (定量上限・下限では40%以下)</p>	<p>真度 <math>\pm 20\%</math> 以内 (定量下限では25%以内)</p> <p>精度 <math>20\%</math> 以下 (定量下限では25%以下)</p>

# 真度及び精度(QC試料)

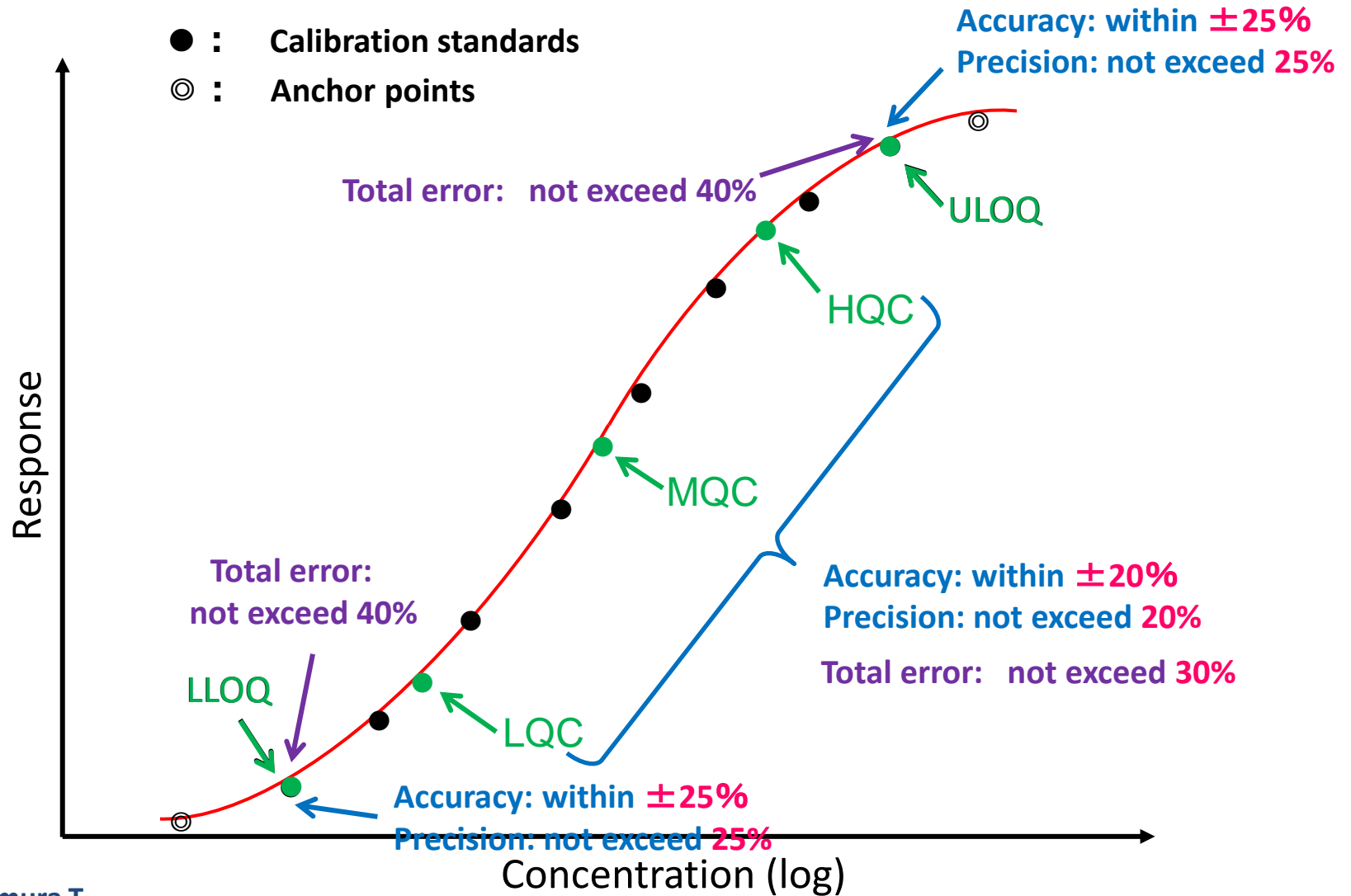


Fig: Nakamura T.  
at 5<sup>th</sup> JBF symposium

# トータルエラー

日本のBMVガイドラインにおける真度及び精度の判定基準

## クロマトグラフィー

真度：理論値の**±15%**以内  
(定量下限では ±20% 以内)

精度：**15%**以下  
(定量下限では20%以下)

## リガンド結合法

真度：理論値の**±20%**以内  
(定量下限及び定量上限では ±25% 以内)

精度：**20%**以下  
(定量下限及び定量上限では25%以下)

**トータルエラー**：**30%**以下  
(定量下限及び定量上限では40%以下)

$$\text{Total error} = |\text{Relative Error (accuracy-100)}| + \text{CV}$$

例. 真度：115%, 精度：15% → トータルエラー = (115-100) + 15 = 30 (%)

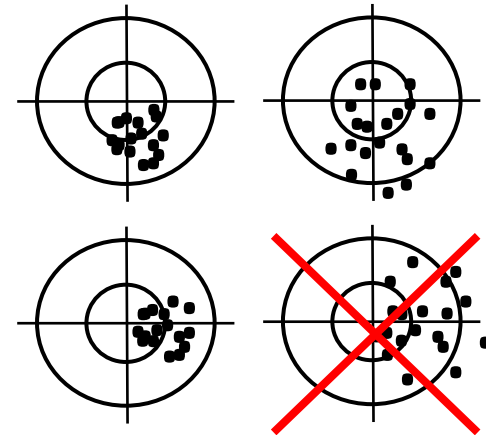


# トータルエラー (Q&A)

Q12. トータルエラーを必要とする根拠は何か？

A12. 真度から100%を引いた値の絶対値は測定における系統的誤差 (systematic error) , 精度は偶然誤差 (random error) を反映し, トータルエラーの評価によって, 各定量値の真値からの乖離やばらつきが大きくその信頼性に問題を有するような分析法を早期に排除することができる. <中略> 分析結果の信頼性を確保する上で, 真度及び精度の双方が許容基準値に近い分析法を極力排除するために設定した.

$$\text{Total error} = |\text{RE}| + \text{CV}$$



Modified from B. DeSilva *et al.*, *Pharm. Res.*, 20: 1885-1900 (2003)

Fig: Nakamura T.  
at 5<sup>th</sup> JBF symposium

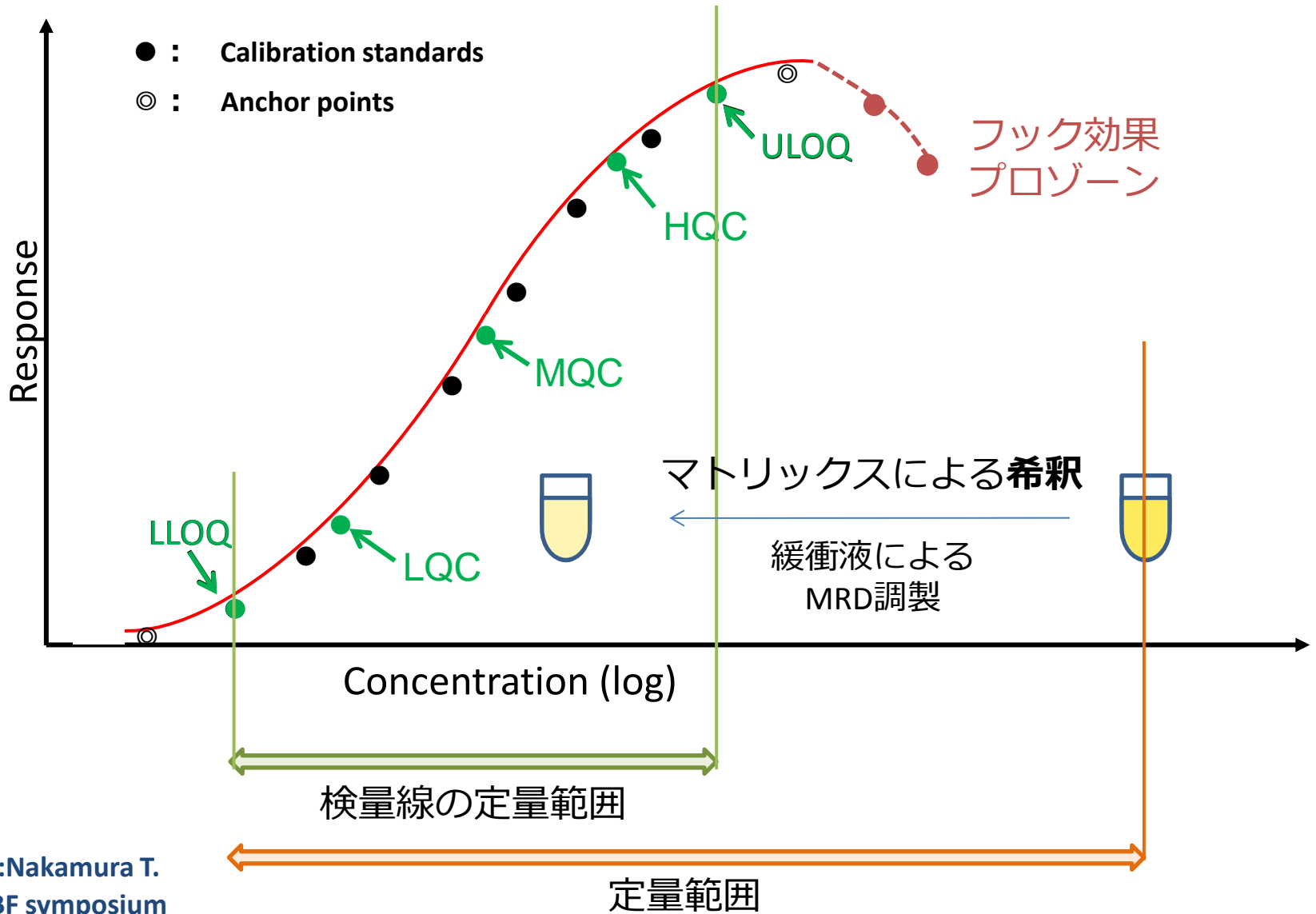
## 4.1.5 希釈直線性

希釈直線性の評価は、検量線の定量上限を超える濃度の試料がフック効果又はプロゾーンの影響を受けずに適切に分析できること、及び、検量線内においても定量値に希釈による影響がないことを確認するために実施する。

希釈直線性は、検量線の定量上限を超えるQC試料及びこの試料を段階希釈した複数濃度の試料を分析して評価する。

試料の定量値を希釈倍率で補正した後の真度は理論値の $\pm 20\%$ 以内、精度は $20\%$ 以下でなければならない。

# 希釈直線性



検量線: Nakamura T.  
at 5<sup>th</sup> JBF symposium

# 4.1.6 安定性

## 試験項目

- ・凍結融解安定性
- ・短期保存安定性（室温，氷冷又は冷蔵等）
- ・長期保存安定性

→実際の保存期間を上回る期間で評価

## 評価方法

標準原液及び標準溶液中の安定性：

実際に保存する溶液のうち，最高濃度付近及び最低濃度付近の溶液

マトリックス中の安定性：

低濃度及び高濃度のQC試料

- ✓ QC試料を保存する前後で，各濃度あたり少なくとも3回の分析

## 判定基準

- ✓ 各濃度における平均真度を指標として，理論値の±20%以内

## 4.2 パーシャルバリデーション

既にフルバリデーションを実施した分析法に**軽微な変更**を施す場合に実施

### パーシャルバリデーションを実施する典型的な事例

- ✓ 分析法の他施設への移管
- ✓ 分析機器の変更
- ✓ **重要試薬のロットの変更**
- ✓ 定量範囲の変更
- ✓ **MRDの変更**
- ✓ 抗凝固剤の変更
- ✓ 分析条件の変更
- ✓ 試料の保存条件の変更
- ✓ 併用薬の分析に与える影響の確認
- ✓ 希少なマトリックスの使用

**評価項目**：分析法の変更の程度とその性質に応じて設定

**判断基準**：原則としてフルバリデーションと同様の判断基準を設定

## 4.3 クロスバリデーション

主に同一の試験内で複数の分析施設で分析する場合，又は異なる試験間で使用された分析法を比較する場合に実施

### 評価方法

分析対象物質を添加した同一のQC試料 又は  
同一の実試料を分析

### 判定基準

低濃度，中濃度，高濃度の各QC試料

→少なくとも3回の繰り返し分析

→平均真度 理論値の $\pm 30\%$ 以内

実試料

→少なくとも3分の2の試料の乖離度が $\pm 30\%$ 以内

## 5. 実試料分析

- 分析法バリデーションによって確立された分析法を用いる.
- 分析法バリデーションで安定性が確認された条件下で実試料を取り扱い, 安定性が確認された期間内に分析する.
- 薬物動態を主要な評価項目とする試験では, 異なるマトリックスごとに代表的な試験を選択して **ISR (incurred sample reanalysis)** を実施し, 分析法の再現性を確認する.

# 5.1 検量線 5.2 QC試料

- 検量線（ブランク試料及び6濃度以上の検量線用標準試料）及びQC試料（3濃度以上）と共に実試料を分析
- 分析法の妥当性は、分析単位（プレート）ごとに検量線，QC試料で評価

	MHLW (LBA) 2014	EMA (7. LBA) 2011	FDA (IV. LBA) draft 2013
検量線 標準試 料	<p>各濃度の真度±20%以内 (定量上限・下限では25%以内)</p> <p>検量線用試料の75%以上、 かつ、6濃度以上が上記 の基準を満たす。</p> <p>(アンカーポイントには基準なし)</p>	<p>各濃度の真度±20%以内 (定量上限・下限では25%以内)</p> <p>検量線用試料の75%以上 かつ、6濃度以上が上記 の基準を満たす。</p> <p>(アンカーポイントには基準なし)</p>	
QC試料	<p>真度±20%以内</p> <p>全QC試料の3分の2以上、 かつ、各濃度の2分の1 以上のQC試料が上記の 基準を満たす。</p>	<p>真度±20%以内</p> <p>全QC試料の67%以上、 かつ、各濃度の50%以上 のQC試料が上記の基準 を満たす。</p>	<p>真度±20%以内</p> <p>全QC試料の67%以上、 かつ、各濃度の50%以上 のQC試料が上記の基準 を満たす。</p>



## 5.3 ISR (Incurred sample reanalysis)

定量値の再現性確認のため、異なる日に別の分析単位で  
投与後試料を再分析すること

### 対象となる試験

薬物動態を主要なエンドポイントとする試験で異なるマトリックスごとに  
代表的な試験を選択して実施

例) 非臨床試験・・・TK試験の異なる動物種ごと

臨床試験・・・健康被験者、腎機能又は肝機能低下のある被験者を対象  
とするそれぞれの薬物動態試験のうち代表的な試験、生物学的同等性試験

### 試料数

ISRを実施する実試料数の目安

- ・ 1000を超えない実試料数に対してその約10%
- ・ 1000を超えた実試料数では、それに1000の超過数に対して約5%に相当する  
試料数を加えた数

### 判定基準

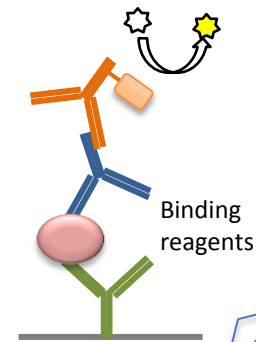
ISRを実施した試料のうち、少なくとも3分の2以上の試料において、  
乖離度が±30%以内。 乖離度 = (定量値の差 / 定量値の平均) x100

# 6. 注意事項

- 6.1. 定量範囲
- 6.2. 再分析
- 6.3. キャリーオーバー
- 6.4. クロストーク
- 6.5. 重要試薬
- 6.6. 干渉物質

## 6.5 重要試薬

重要試薬とは、リガンド結合法による生体試料中薬物濃度分析において分析結果に直接影響する試薬を指し、主に結合試薬（抗体及びその標識体等）が該当する。

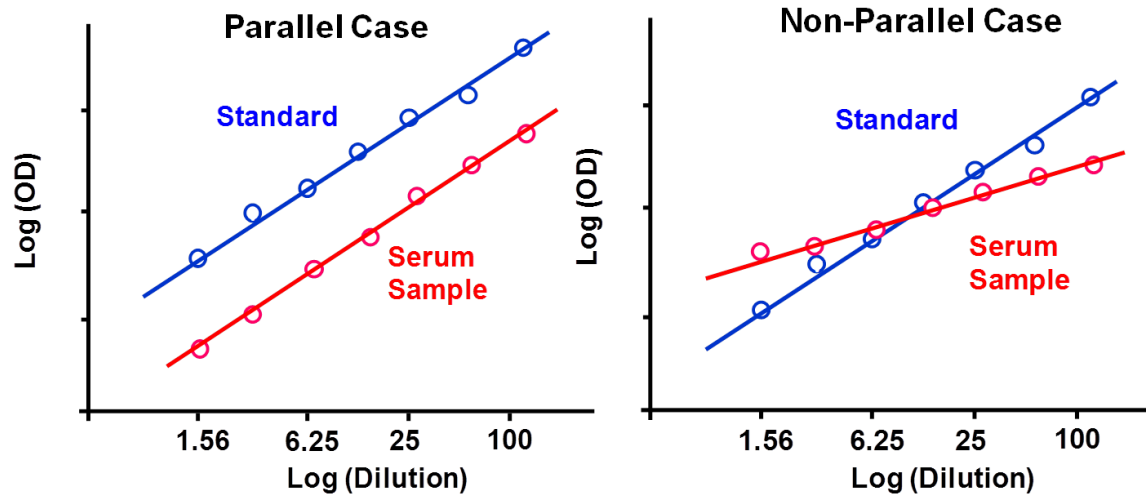


- 重要試薬は、分析対象物質に対する特異性等に留意して選択し、品質が維持できる条件で保存する。
- 重要試薬の品質は、分析法バリデーション並びに実試料分析に使用される期間を通じて適切に確保される必要がある。
- 重要試薬のロット変更の際には原則としてパーシャルバリデーションが必要である。

# 平行性 (Parallelism)

## 実試料分析におけるマトリックス中の妨害物質の評価

実試料の希釈系列における用量反応曲線と検量線系列の用量反応曲線が平行であり、実試料の数段階の希釈における換算値に希釈倍率による差が認められないとき、平行性が成立していると定義される。



Modified from Plikaytis BD et al. J Clin Microbiol. 32, 2441, 1994

Fig: Nakamura T.  
at 5<sup>th</sup> JBF  
symposium

- ▶ バイオマーカー分析では、平行性の確認が重要と思われる。
- ▶ 薬物濃度測定では、平行性の評価を要求する根拠となる十分な事例がない。

# 平行性 (Q&A)

## Q17.

平行性 (Parallelism) の評価は必要ないか？

## A17.

本ガイドライン発出の時点では、平行性が成立しなかった事例、平行性不成立の原因、平行性の不成立が医薬品開発に与える影響の程度等について、国内外ともに十分な知見が蓄積され議論が成熟している状況ではないことから、必ずしもすべての分析について平行性を評価する必要はない。

ただし、分析対象物質や分析法の特性、あるいは、医薬品開発の過程で集積されたデータから、平行性が問題になる可能性が疑われる際には、可能な範囲で科学的に妥当な評価を行い定量値への影響を考察すべきである。

# 謝辞

## リガンド結合法ワーキンググループ



JBF-LBAタスクフォース

谷口 佳隆  
今里 真実  
掛樋 真彰  
中村 隆広  
南出 善幸  
宮 和弘  
細木 淳

(株)東レリサーチセンター  
ノバルティスファーマ(株)  
武田薬品工業(株)  
(株)新日本科学  
(株)島津テクノリサーチ  
中外製薬(株)  
協和発酵キリン(株)



日本製薬工業協会

片島 正貴  
前川 浩太郎

アステラス製薬(株)  
久光製薬(株)



国立医薬品食品衛生研究所

奥田 晴宏  
香取 典子  
川崎 ナナ  
新見 伸吾

副所長  
薬品部  
生物薬品部  
医療機器部



厚生労働省

光岡 俊成

医薬食品局審査管理課



# ご静聴ありがとうございました

