

添付資料

1. 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（厚労省提出版）
2. 日本版BMV (LBA) ガイドライン項目案、及び、各項目の概略説明

研究成果発表

誌上発表

1. 「日本におけるバイオアナリシス分析法バリデーションの実施に関する指針（バイオアナリシスフォーラム素案）について」米山智城,井上則子,立木秀尚,富樫一天,中山聡,工藤喬,清水久夫,香取典子;医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス、43(8)、2012
2. 香取典子; 生体試料中薬物濃度測定の規制の最近の動向, Pharm Stage, 12(3) 1-2 (2012)
3. 香取典子、「日本のバイオアナリシスの現状」、PHARM TECH JAPAN, 28(3), 21-24 (2012)

口頭発表

1. 香取典子; 日本におけるBMVの現状およびJBF活動報告, 第2回JBFシンポジウム (2012.3、東京)
2. 香取典子; 日本版バイオアナリシス分析法バリデーション指針案の要点と背景, 第25回バイオメディカル分析化学シンポジウム (BMAS2012)、東京 (2012.08)
3. 香取典子; 生体試料定量分析 (バイオアナリシス) の動向-2012年, 第16回薬物動態談話会セミナー、三島 (2012.08)
4. Katori, N.; "Bioanalytical method validation: Process of preparation and notable points of the draft Japanese guideline", 19th International Mass Spectrometry Conference (IMSC2012), (2012.9) (Kyoto)
5. N. Katori*;; Regulated bioanalysis status in Japan and notable points of the draft Japanese BMV guidelines, 5th EBF Open Symposium (Barcelona, 16 November 2012).

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（案）

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業（H24-医薬 - 指定 - 026）

「医薬品の品質、有効性及び安全性確保のための規制の国際調和の推進に係わる研究」

研究代表者：大野泰雄

分担研究：バイオアナリシス(生体試料分析) バリデーションに関する研究

研究分担者：香取典子

研究協力者：

石井 明子	国立医薬品食品衛生研究所
井上 則子	JCLバイオアッセイ（安研協）
今里 真実	ハルティスファーマ（JBF-LBA）
岩田 大祐	医薬品医療機器総合機構
奥田 晴宏	国立医薬品食品衛生研究所
片島 正貴	アステラス製薬（製薬協）
川崎 ナナ	国立医薬品食品衛生研究所
久世 洋司	武田薬品工業（JBF-LBA）
酒井 和明	帝人ファーマ（製薬協）
佐藤 玲子	医薬品医療機器総合機構
立木 秀尚	東和薬品（日本ジェネリック薬協）
谷口 佳隆	東レリサーチセンター（JBF-LBA）
富樫 一天	住化分析センター（安研協）
中村 隆広	新日本科学（JBF-LBA）
中山 聡	味の素製薬（JBF）
南出 善幸	島津テクリサーチ（JBF-LBA）
宮 和弘	中外製薬（JBF-LBA）
米山 智城	武田薬品工業（JBF）

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
 - 4.1. フルバリデーション
 - 4.1.1. 選択性
 - 4.1.2. 定量下限
 - 4.1.3. 検量線
 - 4.1.4. 真度及び精度
 - 4.1.5. マトリックス効果
 - 4.1.6. 回収率
 - 4.1.7. キャリーオーバー
 - 4.1.8. 希釈の妥当性
 - 4.1.9. 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
 5. 実試料分析
 - 5.1. 実試料分析における分析法の妥当性と再現性
 - 5.1.1. 検量線
 - 5.1.2. QC 試料
 - 5.1.3. ISR
 - 5.1.4. キャリーオーバー
 - 5.2. 注意事項
 - 5.2.1. 定量範囲
 - 5.2.2. 再分析
 - 5.2.3. クロマトグラムの波形処理
 - 5.2.4. システム適合性
 6. 報告書の作成と記録等の保存関連ガイドライン一覧
- 用語解説
- 別添

1 1. はじめに

2

3 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
4 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
5 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
6 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
7 いる。

8 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、
9 十分な再現性及び信頼性を有することが保証されている方法を用いることが必要である。

10 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、生体
11 試料中薬物濃度分析法が十分な再現性及び信頼性を有することを保証するためのバリデー
12 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
13 である。

14 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
15 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
16 が必要である。

17

18 2. 適用

19

20 本ガイドラインは、トキシコキネティクス試験及び臨床試験における薬物又はその代謝
21 物の生体試料中薬物濃度を定量する際に用いられる分析法のバリデーション並びに当該分
22 析法を用いた実試料分析に適用するものとする。対象薬物は低分子化合物を中心とし、主
23 に液体クロマトグラフィー（liquid chromatography: LC）、ガスクロマトグラフィー（gas
24 chromatography: GC）、又はそれらと質量分析法（mass spectrometry: MS）を組み合わ
25 せた分析法を対象とする。

26 なお、「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」（平成 9 年 3 月
27 26 日厚生省令第 21 号）の対象とならない非臨床試験で使用される分析法については、当該
28 ガイドラインの対象ではないが、当該ガイドラインの内容を参考に必要なバリデーション
29 等を実施することを妨げるものではない。

30

31 3. 標準物質（標準品）

32

33 標準物質（標準品）は、分析対象物質を定量分析する上で基準となるものであり、主に
34 分析対象物質を添加した既知濃度の試料である検量線用標準試料及び Quality Control (QC)
35 試料の調製に用いられる。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
36 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、入手先及び化

37 学構造が明らかである必要がある。ロット番号，有効期限，含量又は純度並びに保存条件
38 等を明らかにした分析証明書が必要である。内標準物質に対する分析証明書は必ずしも必
39 要ではないが，分析対象物質の分析に影響を与えないことを確認した上で内標準物質を用
40 いる必要がある。

41

42 4. 分析法バリデーション

43

44 4.1. フルバリデーション

45

46 ある分析施設において，薬物又はその代謝物の生体試料中薬物濃度を定量する際の分析
47 法を新たに確立する際には，フルバリデーションを実施する。既にフルバリデーションを
48 実施した分析法に，代謝物等を新たな分析対象物質として追加する場合には，フルバリ
49 ーションの実施を考慮する。また，文献等で公表された分析法を使用する場合にも，フル
50 バリデーションの実施が必要である。

51 フルバリデーションでは，選択性，定量下限，検量線，真度，精度，マトリックス効果，
52 回収率，キャリアオーバー，希釈の妥当性及び安定性等を評価する。通常，フルバリデー
53 ションは，分析対象となる種又はマトリックス（主に血漿，血清，全血又は尿）ごとに実
54 施する。

55 分析法バリデーションに用いるマトリックスは，抗凝固剤や添加剤を含め，分析対象の
56 実試料にできるだけ近いものを使用する。希少なマトリックス（組織，脳脊髄液又は胆汁
57 等）を対象とした分析法を確立する場合には，十分な数の個体から十分な量のマトリッ
58 スが得られない状況が問題となる場合がある。そのような場合には，代替マトリックスを
59 使用することができる。代替マトリックスは，検量線を構成する各試料及び QC 試料の調
60 製等に用いられる。ただし，代替マトリックスを使用する場合には，分析法を確立する過
61 程においてその妥当性を可能な限り検証する。

62

63 4.1.1 選択性

64

65 選択性とは，試料中の他の成分の存在下で，分析対象物質及び内標準物質を区別して検
66 出することができる能力のことである。

67 選択性は，少なくとも 6 個体から得られた個別のブランク試料（分析対象物質や内標準
68 物質を添加せずに前処理するマトリックス試料）を用いて評価する。各分析対象物質及び
69 内標準物質に対する妨害作用がないことを確認する。希少なマトリックスを使用する場
70 合には，6 個体よりも少ない個体から得られたマトリックスを使用することも許容される。

71 ブランク試料において妨害物質に由来する応答変数（レスポンス）が認められない，又
72 は妨害物質に由来するレスポンスが定量下限における分析対象物質の 20%以下及び内標準

73 物質の 5%以下でなければならない。

74

75 4.1.2. 定量下限

76

77 定量下限とは、試料中において分析対象物質を信頼できる真度及び精度で定量すること
78 ができる最も低い濃度である。

79 定量下限における分析対象物質のレスポンスは、ブランク試料の 5 倍以上である必要が
80 ある。定量下限における平均真度は、理論値の $\pm 20\%$ 以内、精度は 20%以下でなければなら
81 ない。

82

83 4.1.3. 検量線

84

85 検量線は、分析対象物質の理論値とレスポンスの関係をグラフに示したものである。

86 検量線は、分析対象物質ごとに作成される必要がある。検量線の作成には、可能な限り
87 実試料と同じマトリックスを使用し、既知濃度の分析対象物質を添加して作成する。検量
88 線は、ブランク試料、ゼロ試料（内標準物質を添加したブランク試料）及び定量下限を含
89 む 6 濃度以上の検量線用標準試料から構成する。検量線の回帰式及び重み付け条件には、
90 一般的に濃度とレスポンスの関係を示す最も単純なモデルを用いる。重回帰式を用いても
91 良い。ただし、検量線の回帰式の算出には、ブランク試料及びゼロ試料を用いない。報告
92 書には、用いた回帰式及び相関係数又は決定係数を記載する。

93 回帰式から求められた検量線用標準試料の各濃度の真度は、定量下限において理論値の
94 $\pm 20\%$ 以内とし、定量下限以外においては理論値の $\pm 15\%$ 以内とする。検量線用標準試料の
95 75%以上かつ、定量下限及び検量線の最高濃度を含む少なくとも 6 濃度の標準試料が、上
96 記の基準を満たすものとする。

97

98 4.1.4. 真度及び精度

99

100 真度とは、それぞれの分析対象物質の定量値と理論値との一致の程度のことである。精
101 度とは、それぞれの繰り返し分析によって得られる定量値のばらつきの程度のことである。

102 真度及び精度は、QC 試料、すなわち分析対象物質濃度が既知の試料を分析することによ
103 って評価される。バリデーション時においては、検量線の定量範囲内で、最低 4 濃度（定
104 量下限、低濃度、中濃度及び高濃度）の QC 試料を調製する。QC 試料の濃度については、
105 低濃度は定量下限の 3 倍以内、中濃度は検量線の間付近、高濃度は検量線の最高濃度の
106 75%以上であるものとする。分析単位内の真度及び精度は、各濃度あたり少なくとも 5 回
107 の繰り返し分析をすることによって評価される。分析単位間の真度及び精度は、少なくと
108 も 3 回の分析単位を繰り返し分析することによって評価される。

109 各濃度における平均真度は、理論値の±15%以内でなければならない。ただし、定量下限
110 では±20%以内であるものとする。各濃度における定量値の精度は、15%以下でなければな
111 らない。ただし、定量下限では 20%以下とする。

112

113 4.1.5. マトリックス効果

114

115 マトリックス効果とは、分析対象物質のレスポンスが試料中のマトリックス由来成分に
116 よって影響を受けることである。マトリックス効果の評価は、MS を用いる分析法で実施さ
117 れる。

118 マトリックス効果は、マトリックスファクター (MF) を算出することによって評価され
119 る。MF は、マトリックス存在下での分析対象物質のレスポンスを、マトリックス非存在下
120 でのレスポンスと比較することによって算出される。MF の算出には、少なくとも 6 個体か
121 ら得られたマトリックスを用いる。内標準物質を用いて、MF を補正しても良い。MF の精
122 度は、個体間で 15%以下でなければならない。

123 マトリックスを用いて調製した QC 試料を分析することによっても、マトリックス効果
124 を評価できる。少なくとも 6 個体から得られたマトリックスを用いて調製した QC 試料を
125 分析し、定量値の精度は、個体間で 15%以下でなければならない。

126 なお、希少なマトリックスを使用する場合には、6 個体よりも少ない個体から得られたマ
127 トリックスを使用してよい。

128

129 4.1.6. 回収率

130

131 回収率とは、試料の前処理過程における分析対象物質の回収効率である。

132 回収率は、分析対象物質を生体試料に添加して前処理したときのレスポンスと、ブラン
133 クの生体試料を前処理した後に分析対象物質を添加したときのレスポンスとを比較するこ
134 とによって算出される。最低 3 濃度 (低濃度、中濃度及び高濃度) において少なくとも 3
135 回の繰り返し分析をすることによって、回収率を評価する。回収率は値そのものより各濃
136 度において再現性があることが必要である。

137

138 4.1.7. キャリーオーバー

139

140 キャリーオーバーとは、分析機器に残留した分析対象物質が定量値に影響を与えること
141 である。

142 キャリーオーバーは、最高濃度の検量線用標準試料を測定した後にブランク試料を測定
143 することによって評価される。最高濃度の検量線用標準試料を測定した後のブランク試料
144 のレスポンスは、原則として、定量下限における分析対象物質 20%以下且つ内標準物質の

145 5%以下でなければならない。

146 この基準を満たさない場合には、その程度を検討し、実際の実試料分析に影響を及ぼさ
147 ないような手段を考慮する。

148

149 4.1.8. 希釈の妥当性

150

151 試料を希釈して分析する必要がある場合には、希釈が分析対象物質の定量値に影響を与
152 えないことを確認する。

153 希釈の妥当性は、試料中における分析対象物質の濃度を検量線の定量範囲内となるよう
154 にブランクマトリックスで希釈し、希釈倍率あたり少なくとも 5 回の繰り返し分析をする
155 ことによって評価される。希釈された試料の平均真度は理論値の $\pm 15\%$ 以内、精度は 15%以
156 下でなければならない。

157 試料の希釈に別のマトリックスを用いる場合は、同様にして、当該マトリックスを用い
158 ることが真度又は精度に影響を及ぼさないことを示す。

159

160 4.1.9. 安定性

161

162 分析対象物質の安定性評価は、試料を採取してから分析するまでの各過程が分析対象物
163 質の濃度に影響を及ぼさないことを保証するために実施する。安定性の評価は、実際の保
164 存条件又は分析条件にできる限り近い条件で行う。安定性の評価においては、溶媒又はマ
165 トリックスの種類、容器の材質、保存条件等に留意する。

166 バリデーション試験では、凍結融解安定性、短期保存安定性（室温、氷冷又は冷蔵等）、
167 長期保存安定性、前処理後試料中安定性を評価する。いずれの安定性についても、実際の
168 保存期間を上回る期間で評価する。

169 標準原液及び標準溶液中の安定性の評価には、通常、最高濃度及び最低濃度付近の溶液
170 を用いる。各濃度あたり少なくとも 3 回の繰り返し分析を行う。

171 マトリックス中の安定性の評価には、低濃度及び高濃度の QC 試料を用いる。QC 試料の
172 調製には、抗凝固剤や添加剤を含め、実際の条件にできるだけ近いマトリックスを使用す
173 る。各濃度あたり少なくとも 3 回の繰り返し分析を、QC 試料を保存する前後に行うことで
174 安定性を評価する。各濃度における平均真度は、原則として理論値の $\pm 15\%$ 以内でなければ
175 ならない。

176

177 4.2. パーシャルバリデーション

178

179 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は、パーシャルバ
180 リデーションを実施する。パーシャルバリデーションで評価する項目は、分析法の変更の

181 程度とその性質に応じて設定する。

182 パーシャルバリデーションを実施する典型的な事例として、分析法の他施設への移管、
183 分析機器の変更、定量範囲の変更、分析に使用する試料量の変更、抗凝固剤の変更、前処
184 理法や分析条件の変更、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又は希
185 少なマトリックスの使用等が挙げられる。分析対象となる種やマトリックスの変更につい
186 て適用される場合もある。

187 パーシャルバリデーションにおける判断基準には、原則としてフルバリデーションと同
188 様の判断基準を設定する。

189

190 4.3. クロスバリデーション

191

192 クロスバリデーションは、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
193 なる試験間で使用された分析法を比較する場合に実施する。

194 比較する分析施設若しくは分析法においてそれぞれフルバリデーション又はパーシャル
195 バリデーションを実施した上で、クロスバリデーションを実施する。分析対象物質を添加
196 した同一の QC 試料又は実試料を、それぞれの分析施設又は分析法で分析し、QC 試料の
197 各濃度の平均真度を評価又は実試料の濃度の乖離度を評価する。

198 同一の試験内で複数の分析施設を用いる際のクロスバリデーションにおいては、室内
199 及び室間再現精度を考慮し、低濃度、中濃度及び高濃度各濃度の QC 試料の平均真度は、
200 原則として理論値の $\pm 20\%$ 以内でなければならない。実試料を使用する場合には、少なくと
201 も 3 分の 2 の試料の乖離度が $\pm 20\%$ 以内でなければならない。

202 異なる分析法等を用いる際のクロスバリデーションにおいては、分析法の性質を考慮し
203 た上で、科学的な判断に基づき、個別にその実施方法及び許容できる乖離度による基準を
204 設定して評価する。

205

206 5. 実試料分析

207

208 実試料とは、トキシコキネティクス試験又は臨床試験等から得られる試料のうち、生体
209 試料中薬物濃度分析に供する試料のことである。実試料分析には、分析法バリデーション
210 によって確立された分析法を用いる。実試料分析では、分析法バリデーションで安定性が
211 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検量線（ブランク試
212 料、ゼロ試料及び 6 濃度以上の検量線用標準試料）及び QC 試料と共に実試料を分析する。

213

214 5.1. 実試料分析における分析法の妥当性と再現性

215

216 実試料分析での分析法の妥当性は、分析単位ごとに検量線、QC 試料で評価する。更に薬

217 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
218 して 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
219 単位で投与後試料を再分析すること) を実施し、分析法の再現性を確認する。

220 なお、キャリーオーバーが懸念される実試料分析では、妥当性の評価項目にキャリーオ
221 ーバーを加える。

222

223 5.1.1. 検量線

224

225 検量線は、実試料中の分析対象物質の濃度を算出するために用いられる。実試料分析に
226 用いる検量線は、分析法バリデーションで確立した方法によって、分析単位ごとに作成さ
227 れる必要がある。検量線の回帰式及び重み付け条件には、分析法バリデーションのときと
228 同様のモデルを用いる。

229 回帰式から求められた検量線用標準試料の各濃度の真度は、定量下限においては理論値
230 の $\pm 20\%$ 以内、定量下限以外においては理論値の $\pm 15\%$ 以内でなければならない。検量線用標
231 準試料の 75%以上かつ少なくとも 6 濃度の検量線用標準試料が上記基準を満たさなければ
232 ならない。

233 実試料分析において、検量線用標準試料の定量下限又は検量線の最高濃度が基準を満た
234 さなかった場合には、これらの次の濃度の検量線用標準試料を定量下限又は検量線の最高
235 濃度としてもよい。その場合、変更された検量線の濃度範囲は、少なくとも 3 濃度 (低濃
236 度、中濃度及び高濃度) の QC 試料を含まなければならない。

237

238 5.1.2. QC 試料

239

240 QC 試料は、検量線や実試料の分析に用いられた分析法の妥当性を評価するために分析さ
241 れる。

242 検量線の濃度範囲内で、少なくとも 3 濃度 (低濃度、中濃度及び高濃度) の QC 試料を
243 分析単位ごとに分析する。通常、低濃度は定量下限の 3 倍以内、中濃度は検量線の間
244 付近、高濃度は検量線の最高濃度の 75%以上と設定される。分析する QC 試料の数とし
245 ては、各濃度あたり 2 試料又は分析単位内の実試料数の 5%以上のいずれか多い方とする。
246 QC 試料は、少なくとも実試料の前後で測定される必要がある。

247 QC 試料の真度は理論値の $\pm 15\%$ 以内であるものとし、全 QC 試料の 3 分の 2 以上かつ各
248 濃度の 2 分の 1 以上の QC 試料が上記基準を満たさなければならない。

249

250 5.1.3. ISR (Incurred samples reanalysis)

251

252 生体試料中薬物濃度分析においては、分析法バリデーションや実試料分析に用いられる

253 検量線用標準試料及び QC 試料による分析法の妥当性確認を実施しても、実試料を用いた
254 分析結果に再現性がない事例が少なくない。実試料の不均一、コンタミネーションのよう
255 な操作誤りに基づくものから実試料に特有の生体由来成分や未知代謝物の影響に至るまで、
256 その原因には様々なものが想定される。ISR とは、定量値の再現性確認のため、異なる日
257 に別の分析単位で投与後試料を再分析することであり、ISR を実施して、再現性を確認し
258 ておくことが分析値の信頼性を高めるものとなる。また、ISR で再現性が確認できない分
259 析法がある場合に、その原因を調査し、改善策を講じる契機となる。

260 通常、ISR は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
261 表的な試験を選択して実施される。例えば、非臨床試験ではトキシコキネティクス試験の
262 異なる動物種ごとに、臨床試験においては、健康被験者、腎機能又は肝機能異常のある被
263 験者を対象とするそれぞれの薬物動態試験から代表的な試験、並びに生物学的同等性試験
264 で実施される。なお、非臨床試験の ISR を実施する実試料には、採取条件が同等である非
265 臨床試験の予備試験等から得られる実試料を活用することもある。

266 ISR を実施する試料は、できるだけ多くの個体から通常最高血中濃度及び消失相付近の
267 試料を含むよう選択し、安定性が保証された期間内に ISR を実施する。ISR を実施する実
268 試料数は、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、
269 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を目安とする。

270 ISR の評価には、乖離度を用いる。乖離度は、ISR により得られた定量値と初回の定量
271 値の差を両者の平均値で除した値に 100 を乗じることで算出される。ISR を実施した試料
272 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 $\pm 20\%$ 以内でなければならない。
273 ISR の結果が上記基準を満たさなかった分析法では、その原因を調査し、実試料分析への
274 影響を考察して必要に応じた対応を取らなければならない。

275 なお、ISR は、乖離度のばらつきを評価するために実施しているものであり、個別の実
276 試料において ISR の結果が $\pm 20\%$ を超えても、その初回の定量値を再分析値に置き換えた
277 り棄却してはならない。

278

279 5.1.4. キャリーオーバー

280

281 キャリーオーバーが実試料中の分析対象物質の定量分析に影響を及ぼすと懸念される場
282 合には、実試料分析中に 4.1.7 と同様の手法を用いてキャリーオーバーを評価し、定量値へ
283 の影響について考察する。

284

285 5.2. 注意事項

286

287 5.2.1. 定量範囲

288

289 実試料分析によって得られる定量値が、検量線の定量範囲の中で狭い範囲を推移する場
290 合には、それに応じて QC 試料濃度の再設定を行うことが望ましい。

291 検量線の定量範囲を変更する場合には、パーシャルバリデーションを実施する。ただし、
292 検量線の定量範囲又は QC 試料の濃度や数を変更する前に分析した実試料を、これらの変
293 更後に再分析する必要はない。

294

295 5.2.2. 再分析

296

297 サンプルの分析を実施する前に、あらかじめ再分析を実施する場合の理由、再分析の手
298 順及び再分析を行った場合の定量値の取扱いに関する事項を計画書又は手順書に設定する。

299 再分析を実施する際の例として、検量線又は QC 試料が分析法の妥当性の基準を満たさ
300 なかった場合、定量値が検量線の最高濃度以上であった場合、投与前試料又は実薬非投与
301 群の試料中に分析対象物質が認められた場合、前処理操作又は分析機器の不具合、クロマ
302 トグラムの異常等が発生した場合に実施される他、異常値の原因追求等が挙げられる。

303 薬物動態学的な理由による再分析については、可能な限り実施しないことが望ましい。
304 特に生物学的同等性試験においては、薬物動態的に不自然という理由のみで再分析を実施
305 して定量値を変更してはならない。ただし、臨床試験において、患者の安全性に影響を及
306 ぼす可能性がある予期しない結果又は異常な結果が確認された場合に、特定の試験サンプ
307 ルを再抽出又は再分析することは制限されない。

308 いずれにせよ、再分析を実施した場合には、用いた試料の情報、再分析を実施した理由、
309 初回の定量値が得られている場合には初回定量値、再分析によって得られた定量値並びに
310 採用値及びその選択理由と選択方法を報告書に記載することが必要である。

311

312 5.2.3. クロマトグラムの波形処理

313

314 クロマトグラムの波形処理及び再波形処理の手順は、あらかじめ計画書又は手順書等に
315 設定しておく必要がある。

316 再波形処理を実施した場合には、再波形処理を実施した理由及び再波形処理を行う前後
317 のクロマトグラムを保存しておく必要がある。

318

319 5.2.4. システム適合性

320

321 生体試料中薬物濃度分析には、適切に維持及び管理された分析機器を用いるべきである。
322 このため、機器の定期点検に加えて、生体試料中薬物濃度分析に用いる機器が適切に動作
323 していることを、システム適合性の確認として測定前に確認することが望ましい。ただし、

324 生体試料中薬物濃度分析においては、システム適合性の確認とは別に、通常分析単位ごと
325 に分析法の妥当性を確認するため、システム適合性の確認は必須ではない。

326

327 6. 報告書の作成と記録等の保存

328

329 十分な再現性及び信頼性を有することを保証するため、分析法バリデーション及び実試
330 料分析によって得られた結果を、以下に示すバリデーション報告書及び実試料分析報告書
331 として作成し、関連の記録や生データと併せて適切に保存することが必要である。

332 また、関連の記録や生データは、標準物質及びブランクマトリックスに関する授受、使
333 用及び保存の記録、試料に関する授受、調製及び保存の記録、分析の実施記録、装置の校
334 正記録及び設定値、逸脱の記録、通信の記録、並びに分析結果及びクロマトグラム等の生
335 データは、棄却された分析単位において得られたデータも含めて全て保存する。

336

337 バリデーション報告書

338

- 339 ● バリデーションの要約
- 340 ● 標準物質に関する情報
- 341 ● ブランクマトリックスに関する情報
- 342 ● 分析方法
- 343 ● バリデーションの評価項目と判断基準
- 344 ● バリデーションの結果及び考察
- 345 ● 分析の棄却及びその理由
- 346 ● 再分析に関する情報
- 347 ● 計画書及び手順書からの逸脱事項並びに試験結果に対する影響
- 348 ● 参照する別試験、手順書及び参考文献の情報
- 349 ● 代表的なクロマトグラム

350

351 実試料分析報告書

352

- 353 ● 実試料分析の要約
- 354 ● 標準物質に関する情報
- 355 ● ブランクマトリックスに関する情報
- 356 ● 実試料の受領及び保存に関する情報
- 357 ● 分析方法
- 358 ● 分析の妥当性に関する評価項目と判断基準及びその結果
- 359 ● 実試料分析の結果及び考察

- 360 ● 分析の棄却及びその理由
361 ● 再分析に関する情報
362 ● 計画書及び手順書からの逸脱事項並びに試験結果に対する影響
363 ● 参照する別試験, 手順書及び参考文献の情報
364 ● 必要に応じて代表的なクロマトグラム
365
366
367 関連ガイドライン一覧
368 1) 厚生労働省医薬食品局審査管理課長:「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のため
369 の非臨床安全性試験の実施についてのガイダンス」について,平成22年2月19日薬食審
370 査発0219第4号(ICH M3(R2))
371 2) 厚生省薬務局審査管理課長:「トキシコキネティクス(毒性試験における全身的暴露の
372 評価)に関するガイダンス」について,平成8年7月2日薬審第443号
373 3) 厚生省医薬安全局審査管理課長:「非臨床薬物動態ガイドライン」について,平成10
374 年6月26日医薬審第496号
375 4) 厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知:「後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドラ
376 イン等の一部改正について」,平成24年2月29日薬食審査発第0299第10号
377 5) 事務連絡:「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)
378 について」等の改正等について,平成24年2月29日
379 66) 厚生労働省医薬局審査管理課長通知:「医薬品の臨床薬物動態試験について」,平成
380 13年6月1日医薬審発第796号
381 7) US FDA: Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation, U.S. Department
382 of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research,
383 Center for Veterinary Medicine(2001)
384 8) EMA: Guideline on bioanalytical method validation,
385 EMEA/CHMP/EWP/192217/2009, Committee for Medicinal Products for Human
386 Use(2011)
387

388 用語解説

389 安定性 Stability : 所定の時間, 特定の条件下での溶媒中又はマトリックス中における分析
390 対象物質の化学的又は生物学的安定性. 分析対象物質の安定性評価は, 試料を採取してか
391 ら分析するまでの各過程が分析対象物質の濃度に影響を及ぼさないことを保証するために
392 実施される.

393 応答変数 (レスポンス) Response variable : 分析機器の検出器から得られた応答のこと
394 であり, 通常, 応答を電気信号に変換して記録されたクロマトグラムから得られるピーク
395 面積値 (あるいはピーク高さ値) で表す.

396 回収率 Recovery : 生体試料の前処理過程における分析対象物質の回収効率.
397 回収率(%) = (分析対象物質を生体試料に添加して前処理した後のレスポンス)/(ブランクの
398 生体試料を前処理した後に分析対象物質を添加した時のレスポンス)×100.

399 乖離度 Assay variability : 同じ試料を用いて行った定量値間の相違の程度. 両者の平均に
400 対する両者の差をパーセント表記したもの.

401 乖離度(%) = {(比較する分析の定量値)-(基準となる分析の定量値)}/(両者の平均値)×100.

402 希釈の妥当性 Dilution integrity : 試料を希釈して分析する場合に, 希釈が分析対象物質
403 の定量値に影響を与えないことを確認するために評価される.

404 キャリーオーバー Carry over : 分析機器に残留した分析対象物質が定量値に影響を与え
405 ること.

406 クロスバリデーション Cross validation : 単一又は複数の試験を通じて複数の分析法を用
407 いる場合, 測定原理の異なる分析法 (例えば LC/MS/MS 法と ELISA 法) を用いる場合等
408 に実施するバリデーション.

409 検量線 Calibration curve : 分析対象物質の濃度とレスポンスの関係を示したもの. ブラン
410 ク試料, ゼロ試料及び定量下限を含む 6 濃度以上の検量線用標準試料から構成される.

411 検量線用標準試料 Calibration standard : 検量線の作成に用いる分析対象物質を添加した
412 既知濃度の試料. 検量線用標準試料を用いて検量線を作成し, QC 試料や実試料の濃度を算
413 出する.

414 再測定 Repeat measurement : 一度測定した前処理後試料に対し, 分析機器による測定操
415 作から再度実施すること.

416 再分析 Reanalysis : 試料の前処理から測定までの一連の操作を再度行うこと.

417 システム適合性 System suitability : 測定前に, 分析対象物質の標準試料溶液等を用いて

- 418 分析機器が適切に動作していることを確認すること。
- 419 実試料 Study sample : トキシコキネティクス試験又は臨床試験等から得られる試料のうち、
420 生体試料中薬物濃度分析に供する試料。
- 421 真度 Accuracy : 定量値と理論値との一致の程度。理論値を 100%としたときの、パーセント
422 表記で表される。
- 423 真度(%) = ((定量値) / (理論値)) × 100
- 424 精度 Precision : 繰り返し分析して得られる定量値間の一致のばらつきの程度。変動係数
425 (CV) または相対標準偏差 (RSD) のパーセント表記で表される。
- 426 精度(%) = ((標準偏差) / (平均値)) × 100
- 427 ゼロ試料 Zero sample : 内標準物質を添加したブランク試料。
- 428 選択性 Selectivity : 試料中の他の成分の存在下で、分析対象物質及び内標準物質を区別し
429 て検出することができる能力。しばしば特異性と同義語のようにも使われるが、特異性は
430 選択性の究極の形としてこれらを区別する指摘もある*。この指摘を踏まえると、特異性は
431 一般的に一つの成分のみを検出することができる能力である一方で、選択性とはある特性
432 を持った一群の物質を検出する能力と定義できる。すなわち、選択性とは分析対象物質及
433 び内標準物質以外の成分を検出する可能性もあるが、比較的これらの物質を区別して定量
434 できる能力を意味する。
- 435 測定 Measurement : 分析機器による前処理後試料の測定以降のプロセス。
- 436 測定単位 Analytical run : 検量線、QC 試料及び実試料等から成る試料群。通常、1つの
437 分析単位から得られた前処理後試料を1つの測定単位として測定する。
- 438 代替マトリックス Surrogate matrix : 希少なマトリックス (組織、脳脊髄液、胆汁等)
439 のため量に限りがある場合、本来のマトリックスの代わりとして用いられるマトリックス。
- 440 段階的アプローチ Tiered approach : 分析法の妥当性の検証を限定的な内容とするもので
441 あり、開発の段階が進むにつれて、検証内容をフルバリデーションに近づけていく手法。(別
442 添参照)
- 443 定量下限 Lower limit of quantification (LLOQ) : 試料中において分析対象物質を信頼でき
444 る真度及び精度で定量することができる最も低い濃度。
- 445 定量範囲 Quantification range : 試料中において分析対象物質を信頼できる真度及び精度
446 で定量することができる濃度の範囲。生体試料中薬物濃度分析に用いる分析法の定量範囲
447 は、検量線の定量範囲及び希釈の妥当性によって保証される。

- 448 投与後試料 Incurred sample : 実試料のうち、実薬を投与した後に得られる試料.
- 449 特異性 Specificity : 「選択性」の用語解説を参照.
- 450 内標準物質 Internal standard (IS) : 分析対象物質の前処理中の回収率や分析機器による
451 レスポンスの補正を目的に添加される物質. 分析対象物質に構造の類似した物質や安定同
452 位体でラベル化した物質が用いられる.
- 453 パーシャルバリデーション Partial validation : 既にフルバリデーションを実施した分析
454 法に軽微な変更を施す場合に実施するバリデーション. パーシャルバリデーションで評価
455 する項目は、分析法の変更の程度とその性質に応じて考慮する必要があり、その範囲は日
456 内の真度及び精度のみの評価からほとんどフルバリデーションに至るまで多岐にわたる.
- 457 バリデーション Validation : 種々の評価を通じて十分な再現性及び信頼性を有することを
458 立証すること.
- 459 標準原液 Stock solution : 標準物質を適切な溶媒に溶解して調製した最高濃度の非マトリ
460 ックス溶液.
- 461 標準物質 (標準品) Reference standard : 分析対象物質を定量分析する上で基準となる
462 ものであり、主に検量線用標準試料や QC 試料の調製に用いられる.
- 463 標準溶液 Working solution : 標準原液を適切な溶媒で希釈して調製した非マトリックス溶
464 液. 主として、検量線用標準試料や QC 試料を調製するため、マトリックスに添加する.
- 465 ブランク試料 Blank sample : 分析対象物質や内標準物質を添加せずに前処理するマトリ
466 ックス試料.
- 467 フルバリデーション Full validation : すべてのバリデーション項目、即ち、選択性、定
468 量下限、検量線、真度、精度、マトリックス効果、回収率、キャリーオーバー、希釈の妥
469 当性及び安定性を評価する. 通常、分析法を新たに確立する際に実施する.
- 470 分析 Analysis : 前処理から分析機器による測定までを含めた一連の分析のプロセス.
- 471 分析対象物質 Analyte : 試料中の分析の対象となる物質. 医薬品、生体分子又はその誘導
472 体、代謝物、分解産物等.
- 473 分析単位 Batch : 同時に前処理される試料群であり、検量線、QC 試料及び実試料等から
474 成る. 同一条件のもと、同じ試薬を用いて同じ試験実施者により中断されることなく前処
475 理された一連の試料群であり、通常、1つの分析単位から得られた前処理後試料を1つの測
476 定単位として測定する.

477 前処理後試料 Processed sample : 分析装置による測定に供される試料であり, 生体試料
478 を前処理することによって得られる.

479 マトリックス Matrix : 分析のために選択された全血, 血漿, 血清, 尿又は他の体液や組
480 織. 組織外因性化学物質 (抗凝固剤を除く) 及びその代謝物を含まないものをブランクマ
481 トリックス (blank matrix) と呼ぶ.

482 マトリックス効果 Matrix effect : 試料中のマトリックス由来成分による分析対象物質の
483 レスポンスへの影響.

484 マトリックスファクター Matrix factor (MF) : マトリックス非存在下での分析対象物質
485 のレスポンスに対するマトリックス存在下での分析対象物質のレスポンスの割合.

486 $MF = (\text{マトリックス存在下での分析対象物質のレスポンス}) / (\text{マトリックス非存在下での分}$
487 $\text{析対象物質のレスポンス}).$

488 **ISR** Incurred sample reanalysis (ISR) : 定量値の再現性確認のため, 異なる日に別の分析
489 単位で投与後試料を再分析すること.

490 **QC 試料** Quality control (QC) sample : 分析法のパフォーマンスや信頼性を評価するため
491 に用いる分析対象物質を添加した既知濃度の試料. 実試料分析において **QC 試料**は, 検量
492 線や実試料の分析に用いられた分析法の妥当性を評価するために分析される.

493

494 * Vessman, J., Stefan, R.I., Van Staden, J.F., Danzer, K., Lindner, W., Burns, D.T.,
495 Fajgelj, A. and Muller, H.: *Pure Appl. Chem.*, 73(8) 1381-1386(2001)

496

497 別添

498

499 段階的アプローチの利用

500 臨床薬物動態試験で分析の対象とするヒトでの代謝物は、臨床試験の早期段階では必ず
501 しも明らかにならないことが多く、標準物質としてバリデーションに供するために十分な
502 量を準備するにはある程度の期間が必要なため、医薬品開発の効率化を考慮し、分析法バ
503 リデーションを段階的アプローチと呼ばれる方法を採用して進めることがある。

504 段階的アプローチとは、分析法の妥当性の検証を限定的な内容とするものであり、開発
505 の段階が進むにつれて、確認項目及びその内容をフルバリデーションに近づけていく手法
506 である。医薬品の開発の初期から中期に段階的アプローチを利用することによって、開発
507 の早期段階での評価を可能とし、医薬品開発の見通しを立てやすくすることにより、効率
508 的な医薬品の研究開発につながるものと期待される。

509 ただし、段階的アプローチを用いる場合においても、得られる濃度データの再現性及び
510 信頼性を高めるために、分析法の妥当性の検証には、科学的な判断に基づいてあらかじめ
511 妥当な判断基準を設定することが望ましい。

512 1) Viswanathan, C.T., Bansal, S., Booth, B., DeStefano, A.J., Rose, M.J., Sailstad, J.,
513 Shah, V.P., Skelly, J.P., Swann, P.G. and Weiner, R.: *AAPS J.*, 9(1),
514 E30-E42(2007)

515 2) Timmerman, P., Kall, M.A., Gordon, B., Laakso, S., Freisleben, A. and Hucker, R.:
516 *Bioanalysis*, 2(7), 1185-1194(2010)

517 3) US FDA: Guidance for Industry, Safety Testing of Drug Metabolites, U.S.
518 Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug *Evaluation*
519 and Research(2008)

520