

## LBAガイドライン案

### 作成方針

- ❖ 低分子LCガイドラインを基盤に  
(日本におけるBMVに関する考え方の基本を継承)
- ❖ LBAに特有の課題を考慮
- ❖ 国際的整合性を考慮

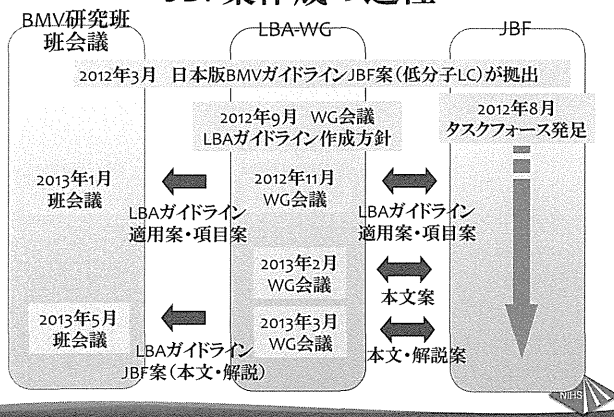


### LBAワーキングの活動(H25年度)

- 2013年4月23日 第1回LBA-WG会議 LBAガイドラインJBF素案を関係団体に送ることとなった。
- 2013年7月初旬 製薬協、GE薬協、安研協などにLBAガイドラインJBF素案へのコメント提出を依頼。
- 2013年9月19日 第2回LBA-WG班会議 各団体からのコメント集積状況を報告。
- 2013年10月22日 第3回LBA-WG班会議 発出までの作業確認。LBAガイドラインのパブリックコメントは今年度末を目指す。
- 2013年10月末 PMDAにLBAガイドラインJBF案改訂版を送付。11/20までに意見をもらう。
- 2013年12月17日 第4回LBA-WG班会議 LBAガイドラインの発出までのスケジュール確定、3月末を目途とする。
- 2013年12月末 LBAガイドライン案(意見公募用)が研究班より厚労省へ提出された。
- 2014年1月10日 LBAガイドライン案パブリックコメント開始(1ヶ月間)。英訳版は1月中旬頃。
- 2014年2月25日 第5回LBA-WG班会議 集まったパブリックコメントへの対応。



### JBF案作成の過程



### 低分子LC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) 発出版	BMVガイドライン(リガンド結合法) 案
1. はじめに	1. はじめに
2. 適用	2. 適用
3. 標準物質(標準品)	3. 標準物質(標準品)
4. 分析法バリデーション	4. 分析法バリデーション
4.1. フルバリデーション	4.1. フルバリデーション
4.1.1. 選択性	4.1.1. 特異性
4.1.2. 定量下限	4.1.2. 選択性
4.1.3. 検量線	4.1.3. 検量線
4.1.4. 真度及び精度	4.1.4. 真度及び精度
4.1.5. マトリックス効果	4.1.5. 希釈直線性
4.1.6. キャリーオーバー	4.1.6. 安定性
4.1.7. 希釈の妥当性	4.2. パーシャルバリデーション
4.1.8. 安定性	4.3. クロスバリデーション
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. 実試料分析
5.1. 実試料分析における分析法の妥当性及再現性	5.1. 実試料分析における分析法の妥当性及再現性
5.1.1. 検量線	5.1.1. 検量線
5.1.2. QC試料	5.1.2. QC試料
5.1.3. ISR	5.1.3. ISR
5.1.4. キャリーオーバー	
6. 注意事項	6. 注意事項
6.1. 定量範囲	6.1. 定量範囲
6.2. 再分析	6.2. 再分析
6.3. クロマトグラムの波形処理	6.3. キャリーオーバー
6.4. システム適合性	6.4. クロストーク
6.5. 回収率	6.5. 重要試薬
	6.6. 干渉物質
7. 報告書の作成と記録等の保存	7. 報告書の作成と記録等の保存

### H25大野班香取分担当バイオアナリシス分科会 高分子LC/MSワーキンググループ

- \* 目的
  - ✓ 高分子LC/MSのBMVガイドラインの作成を行う。
    - 低分子LC/MSと共通する部分が多い場合は、低分子・LCガイドラインを補う形とする。(単独のガイドラインとはしない)
  - ✓ 高分子LC/MSをバイオアナリシスに適用する際の問題点について議論し、論点をまとめる。(ガイドライン以外のアウトプットもあり得る)
    - 前処理にリガンド結合法を用いるので、前処理の検討も重要。
    - 糖鎖の違いはLC/MSでしか検出できないが、糖鎖はPKに影響を与えるためPKを絡めた議論になる。
    - その他
  - ✓ 他の研究班との連携の可能性有り。
- \* 予定
  - ✓ 12月末までメンバーを募集(川崎先生)
  - ✓ 2014年2中にキックオフミーティング
  - ✓ ガイドラインとしてのアウトプットは時期未定(来年度中?)



### Bioanalysis – Global Movement

- 1992 米国のFDAとAAAPS共催で討論(Crystal City)が行われ、バリデーションの基本要件が発表された。
- 2001 米国のFDAから Guidance for Industry (Bioanalytical method validation) が出された。
- 2006 EBF was founded in 2006 at the initiative of 12 pharmaceutical companies.
- 2007 米国のFDAとAAAPS共催で再び討論が行われ、White Paperが出された。ISRの導入。
- 2009 欧州のEMAがDraft Guideline on Validation of Bioanalytical Methodsを出した。
- 2010 欧米のCROと製薬メーカーが中心となってGlobal Bioanalysis Consortium (GBC) が結成された。
- 2011 欧州のEMAがGuideline on Validation of Bioanalytical Methodsを出した。
- 2013 9月に米国のFDAから Guidance for Industry (Bioanalytical method validation) の改訂版ドラフトが出された。
  - 12月にFDAとAAAPS共催のCrystal City Vで改訂版ドラフトについて討論が行われ、日本からの意見を述べた。



## 論文・総説等

- \* Lauren Stevenson, Mario Rocci, Fabio Garofolo, Binodh DeSilva, Lakshmi Amaravadi, Noriko Katori, et al. 2013 White Paper on Recent Issues in Bioanalysis: "Hybrid" - the best of LBA & LCMS. *Bioanalysis*. 5(23), 2903-2918 (2013)
- \* 香取典子; バイオアナリシスフォーラム (JBF) の活動と日本における規制バイオアナリシス, *薬剤学*, 73(5) 296-301 (2013)
- \* Katori N. Regulated bioanalysis in Japan: where do we come from and where are we going?. *Bioanalysis*. 5(11): 1321-1323. (2013)
- \* 香取 典子; 日本におけるバイオアナリシス分析法バリデーションガイドラインについて, *医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス*, 44(7), 453-459 (2013)



## 学会報告

- \* N. Katori\*; Japan's perspective on Partial-validation in Small Molecule Regulated Bioanalysis – Method Transfer and Life Cycle Management –, 8th Workshop on Recent Issues in Bioanalysis (8<sup>th</sup> WRIB), (Los Angeles/Universal City, CA, USA, March 10 - 14, 2014).
- \* A. Ishii; The Japanese Draft BMV Guideline for LBA, , 8th Workshop on Recent Issues in Bioanalysis (8<sup>th</sup> WRIB), (Los Angeles/Universal City, CA, USA, March 10 - 14, 2014).
- \* 香取典子; Involvement in the pharmacokinetics and the history of regulated bioanalysis in Japan, 第28回日本薬物動態学会年会 (JSSX2013), 東京 (2013.10)
- \* 香取典子; 日本におけるBMVガイドラインの状況とこれからの動き, 第26回バイオメディカル分析化学シンポジウム (BMAS2013), 東京 (2013.08)
- \* 香取 典子; 医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法バリデーション (BMV) に関するガイドライン, 日本ジェネリック製薬協会 第19回 製剤研究会, 東京 (2013.07)
- \* 香取 典子; 日本の BMV ガイドライン策定状況, 第 20 回クロマトグラフィーシンポジウム ワークショップ, 神戸 (2013.06)
- \* N. Katori\*; The Guidelines for BMV in Japan - update of status and main items, 7th Workshop on Recent Issues in Bioanalysis (7th WRIB), (Long Beach, CA, USA, April 8 - 11, 2013).



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

に関する意見の募集に対して寄せられた御意見について

厚生労働省医薬食品局審査管理課

平成24年4月5日から6月4日までのパブリックコメント募集の期間に、ガイダンス案全般にわたっての多くの貴重なご意見が寄せられました。ご意見を集約すると28件の質問、コメントがあり、以下の表にご意見の内容等を整理して公表することとしました。ご協力いただいた皆様に感謝します。なお、重複した御意見、ガイダンス案の内容や趣旨に変更を与えない語句の修正のご指摘、御意見の趣旨が不明なものは省きましたことをご了承下さい。

意見番号	頁	項目番号	行	該当する箇所	御意見		回答
					御提案のあった修正案	コメント	
1						各項目についてもう少し具体的な解説を示した解説書あるいはQ&A集を作成しないし添付していただけないでしょうか。記載内容について詳細な判断に迷う場合等の方向性を示されるものとして有用であると考えます。	Q&Aで解説しました。
2						本ガイドラインが施行される前に、既にFDAやEMAのガイドラインに沿ってバリデーションされ、既にいくつかの試験において実試料分析の実績がある分析法を、本ガイドライン施行以降の実試料分析に適用する際の留意点についてご教示いただけないでしょうか。	当該ガイドラインの通知を御覧下さい。
3	1	1.はじめに	行4-5	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。)	臨床薬物動態試験、非臨床薬物動態試験及びトキシコキネティクス試験		本文の趣旨を考慮し、原案のままとしました。
4	1	1.はじめに	15-17	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	「段階的アプローチ」という用語をここに含めることを提案致します。	この段落は生体試料中薬物濃度分析法バリデーションの、段階的アプローチの原則について記載している物と思われる。しかし、具体的に「段階的アプローチ」という用語が用いられていない。	本段落は、段階的アプローチのみを想定しているものではありません。
5	2	2.適用	21-23	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析法を用いた実資料分析に適用するものとする。	「トキシコキネティクス試験」を「非臨床薬物動態試験(トキシコキネティクス試験を含む)」に修正する。	トキシコキネティクス試験では、通常、血漿中又は血清中の薬物濃度を測定しますが、当該ガイドラインの適用をトキシコキネティクス試験に限定すると、非臨床薬物動態試験における尿中、胆汁中又は糞便中薬物濃度測定は適用外であるとの誤解を招く可能性があります。	本ガイドラインは、医薬品の承認申請に添付する試験成績を適用対象とすることを明確にするためGLPで実施されるトキシコキネティクス試験を明示しました。
6	2	3.標準物質(標準品)	39-41	使用する標準物質については、入手先及び化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等を明らかにした分析証明書が必要である。	認定された局方標準品(USP等)は分析証明書を必要とせずに使用できることを考慮していただきたい。	この記述はUnited States Pharmacopeia (USP)のような組織から提供された標準品の使用について、考慮されていないと思われる。USPでは純度の明らかな標準品が提供されるが、分析証明書(COA)は通常、提供されません。COAを別途、要求することは、追加試験や追加費用の発生を伴うものの、標準品や得られるデータの品質の向上に寄与するとは考えられない。	御指摘を踏まえ、以下のように変更しました。また、Q&AのQ1を御覧下さい。【変更後】使用する標準物質については、ロット番号、含量又は純度、及び保存条件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。入手先、化学構造及び有効期限等を明らかにしておくことが望ましい。
GROでは、化学構造情報が必ずしも入手できない現状がある。分析証明書への記載は必要ないとの理解で良いか。他 類似意見1件					記載内容からは標準物質の品質保証書について有効期限が記載されなければならないことになっていますが、実施試験内での安定性保証する方法として試験実施後に標準物質の安定性を確認することも可能と考えます。		
分析証明書に有効期限が明らかになっていない物質も多くあるが、その場合は標準物質として使用できないのか。自社規定などで定めて用いて良いか。他、類似意見2件							
7					開発初期のTK測定時では、特に代謝物標準品の有効期限を予め明らかにすることは困難な状況があります。測定後に再評価して安定であったことを確認するなどの対応でも良いでしょうか。また、その旨も含まれるようにBMVガイドラインに記述戴けないでしょうか。他、類似意見3件		
8							
9	2	3.標準物質(標準品)	41-43	内標準物質に対する分析証明書は必ずしも必要ではないが、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いる必要がある。		「分析対象物質の分析に影響を与えないことを確認」は、具体的にどのような対応を示していますか、具体的には選択性試験として実施することと理解していますが問題ないでしょうか。	Q&AのQ1を御覧下さい
					分析に影響を与えないことの確認方法として、内標準物質の添加によってもクロマトグラム上の分析対象物質の溶出位置近傍にレスポンスを生じない(ピークが出ない)ことの確認がよく実施されていると思いますが、そのみで十分でしょうか。その他に確認すべき事項があれば例示できないでしょうか。		
10	3	4.分析法バリデーション	45	堅牢性はバリデーション項目として必要はないのか。(同一施設での同一機種間)についての堅牢性は必要ないのか)			生体試料分析においては、実試料測定時に分析単位ごと検量線、QC試料の測定を行って分析法の妥当性を確認しているため、バリデーション試験において堅牢性の確認は求めないこととします。
11	3	4.分析法バリデーション	45	4.分析法バリデーション		内標準溶液の安定性はバリデーション項目として必須では無いとの判断でよいか。他 類似意見1件	内標準物質は、前項3で分析対象物質の分析に影響を与えないことを確認することとされています。
12	3	4.1.フルバリデーション	47	4.1.フルバリデーション	代謝物追加時のバリデーション試験の項目についてもう少し具体的に記載いただけないでしょうか。もしくは解説書等での説明をお願いします。	既にバリデーション実施済みの方に代謝物を追加する際のフルバリデーションについては、例えば分離方法等変らない場合には、同時定量であっても代謝物のみフルバリデーションを行うことで問題はないと考えています。しかしながら、その判断の根拠となるものはありません。	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、他の分析対象物質等への影響を考慮した上で、フルバリデーションの実施の必要性を検討して下さい。

意見番号	頁	項目番号	行	該当箇所	御意見		回答
					御提案のあった修正案	コメント	
13	3	4.1. フルバリデーション	49-51	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法を新たに確立するには、フルバリデーションを実施する。	「ある分析施設において、」は不要ではないでしょうか。この記載のために分析法を他施設へ移管する際にもフルバリデーションが必要との印象を受け、後にパーソナルバリデーションの要件として「分析法の他施設への移管」と記載されていることとの矛盾が感じられるように思います。		科学的根拠に基づき必要な分析法バリデーションを求める趣旨が伝わるよう、本文を削除し、4. 分析法バリデーションに以下を追加しました。 【追加内容】 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薬物濃度を定量する際の分析法を確立するには、施設ごとに分析法バリデーションを実施する。
14	3	4.1. フルバリデーション	52-55	また、文献等で公表された分析法を使用する場合にも、フルバリデーションの実施が必要である。	文献でバリデーション結果(保存時安定性含む)が公表されている場合、長期安定性(例えば-20℃で6か月)の結果は利用できると考えます。		御提案の内容では、妥当性が確保されないと考えます。原案のままとしました。
15	3	4.1. フルバリデーション	57-58	通常、フルバリデーションは、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)ごとに実施する。	薬物開発における主要なPK評価のためのマトリックスのみをフルバリデーションの対象とすることを提案します(例えば、尿や組織が副次的なマトリックスとして評価に用いられる場合はこれらをフルバリデーションの対象より除外する)。	4.1項(フルバリデーション)は4.2項(パーソナルバリデーション)と矛盾しているように見えます。他 類似意見1件	本文はそのままにしましたが、誤認を与えることのないよう、パーソナルバリデーションの項から該当部分を削除しました。
16	3	4.1. フルバリデーション	59-60	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、分析対象の実試料にできるだけ近いものを使用する。		「添加剤(additives)」という用語が、分析対象物質の安定性を高めるためにマトリックスに加える化学物質のことを指しているかと理解します。	添加物は化学物質に限りませんが、分析対象物質の安定性を高めるためにマトリックスに加える物質のことを意味します。
17	3	4.1. フルバリデーション	59-60			「できるだけ近いもの」とは、どのような項目に基づいて判断すればよいのか例示できないでしょうか(性、年齢(週齢)、食習慣、基礎疾患など)。	実試料分析に影響を及ぼすことのないよう、できるだけ近いマトリックスを使用することを求める趣旨です。
18	3	4.11. 選択性	68	4.11. 選択性		代謝物や併用薬が存在することが分かっている場合には、選択性への影響を評価する必要があると思われれます。	本ガイドラインは推奨される一般的な指針を示すものであり、他にも測定データに影響を与える要因がある場合には必要に応じて評価して下さい。
19	3	4.11. 選択性				MS測定で分析対象物質が限られている場合「特異性」としても良いか。	Q&AのQ2で解説しました。
20	3	4.11. 選択性	72-73		本ガイドラインにおいて、評価に用いる試料を「ブランク試料」と限定している。「ゼロ試料(内標準物質を添加したブランク試料)」を評価する必要はないか。	内標準物質が分析対象物質の検出に影響を及ぼさないかを評価する必要があると考える。	本ガイドラインは推奨される一般的な指針を示すものであり、他にも測定データに影響を与える要因がある場合には必要に応じて評価して下さい。
21	3	4.11. 選択性	72-73	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。		ブランク試料の背景(性別、年齢、健康人が患者かなど)を実試料と合わせる必要があるのか。	実試料分析に影響を及ぼすことのないよう、できるだけ近いマトリックスを使用することを求める趣旨です。
22	3	4.11. 選択性	72-73		個体数の多さよりも、例えば「分析時間を分析対象物質および内標準物質のRTの2倍以上」など分析時間を長くして保持時間の長い物質が測定に影響を与えないことを確認したほうがよいのではないかと。	5個体で承認しているものもあるので、5個体以上とし、あえて6個体とする必要はないと思う。また、ブランク血漿などは複数個体をプールして作製しているのでも、5個体以上をプールして作製したブランク血漿1例で実施しても、5個体を別々にしても選択性の評価は同じではないかと。	選択性を評価するので、ブランク血漿は使用しないことが前提です。
23	3	4.11. 選択性	74	各分析対象物質及び内標準物質に対する妨害作用がないことを確認する	「作用」とは力を及ぼすなど動作を伴う言葉と捉えますので「妨害作用」ではなく「妨害」としたほうが適切ではないでしょうか。		御指摘のとおり修正しました。
24	3	4.11. 選択性	75-76	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トリックスを使用することも許容される。	希少なマトリックスでは6個体未満が許容されているが、最低個体数が記載されていないため1個体でも許容されてしまうが、最低個体数は記載すべきでは？		最低個数を規定するのは困難なので、原文のままとします。
25	3	4.11. 選択性	77-79	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%以下及び内標準物質の5%以下でなければならない	「レスポンス」とは、分析対象物質又は内標準物質の平均レスポンス又は最低レスポンスのいずれを示すかを明確にして下さい		誤認される可能性は低いので、原文のままとしました。
26					「変数」とは変わらう値という意味なので、ここでは「応答変数」ではなく「応答」としたほうが適切ではないでしょうか。		応答変数が「適当」と考えますので、原文のままとします。
27	3	4.1.2. 定量下限	81	4.1.2. 定量下限		「定量限界」としても良いか。	定量下限が「適当」と考えますので、原文のままとします。
28	4	4.1.2. 定量下限	85-87	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ある。	「定量下限試料において妨害物質に由来するレスポンスが認められない、又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%以下でなければならない。」	通常、これは実施する項目として入れておくべきものでしょうか。LC-MS/MSのSRMやMRM測定の場合、夾雑ピークは「ゼロ」となる場合がほとんどです。細かい話で恐縮ですが、「レスポンス=ゼロ」の場合、数字の0を何倍しても「ゼロ」のままですのでも、「5倍以上」が計算上、求められません。この解釈は常識的な判断でよろしいでしょうか。なお、ピークが認められた場合にのみ、この評価(5倍以上かどうかの計算)を実施することでも問題ないと思いますが、いかがでしょうか。あるいは、文案を78行目の「選択性」から引用してはいかがでしょうか。意味としては全く同じです。一つのガイドラインの中で同じ意味の内容を異なる表現で規定するのは好ましくないと思いますので、改訂案ではいかがでしょうか。他 類似意見1件	ブランク試料のレスポンスは認められないことは考えにくく、原文の記載が「適当」と考えます。

意見番号	頁	項目番号	行	該当する箇所	御意見		回答
					御提案のあった修正案	コメント	
29	4	4.1.2.定量下限				「レスポンスは、ブランク試料の5倍以上である必要がある」は、試験時に基準として設定する必要があるか？	必要があると考えます。
30	4	4.1.2.定量下限		具体的に何に対して5倍以上と記載した方が分かり易いと考え。		用語解説(426行目)にレスポンスはピーク面積値(あるいはピーク高さ値)とあるが、ブランク試料における妨害物質由来のレスポンスが定量下限における分析対象物質の20%以下という意味合いで述べているのか、それともシグナルノイズ比が5倍以上と述べているのか不明瞭である。	原文の記載で十分と考えます。
31	4	4.1.3.検量線	93	検量線は、分析対象物質ごとに作成される必要がある。	検量線作成の基準は、検量線試料を各濃度n=1で測定することしか想定されていません。1回の測定で各濃度n=2やそれ以上で測定した場合の基準についても記載していただきたい。	EMA-BMV-GLでは、各濃度n=2やそれ以上で測定した場合の基準について明記されているため。他 類似意見3件	分析単位毎に検量線を評価するため、その必要はないと考えます。
32	4	4.1.3.検量線	95-97	検量線は、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、定量下限を含む6濃度以上の検量線用標準試料から構成する。	「検量線は、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)、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から構成する。」ではないでしょうか。他 類似意見1件		定量上限の意味が不明瞭なので、原文のままとします。
33	4	4.1.3.検量線			ブランク試料およびゼロ試料の評価について記載がない。定量値に影響を与えるものがないことを確認するためだと思うが、選択性と同様の評価を入れるべきではないか。	評価の判断基準の記載がなければ、ブランク試料およびゼロ試料に定量値に影響を与えるものが検出されても問題ないこととなる。また、検出されても問題としないのであれば、測定する意味はないのではないかと。	ゼロ試料等の評価の必要性は低いと考えます。
34	4	4.1.3.検量線			基準から外れた標準試料の扱いを明確に記載するべきではないか。検量線に使用するのか、しないのか。どちらでもよいならば、それを明記すべき。		科学的妥当性を考慮し、必要に応じて、あらかじめ各施設のSOP、各試験の計画書等で定めておくべきです。
35	4	4.1.3.検量線	97-98	検量線の回帰式及び重み付け条件には、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。	回帰式及び重み付けはプレバリテーションで決定すれば(バリテーション内で他の回帰式及び重み付けと比較する必要はないと考えます。		一般的に、回帰式及び重み付け条件には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ものであり、バリテーション内で他の回帰式又は重み付けと比較することを意図したものではありません。
36	4	4.1.3.検量線	98	重回帰式を用いても良い。	通常、クロマトグラフィーを利用した測定法の場合には重回帰式を用いる事はないと思います。どのような場合を想定されていますか？例外的な事例について記載されているようでしたら削除されたほうが良いと思います。	「重回帰式(multiple regression equation)」という用語から、本ドラフトガイダンスは、(必要に応じて)線形以外の回帰モデルの使用も許容していると理解します。他 類似意見2件	最も単純なモデルを用いることとしますが、現在の科学的水準を考慮し、重回帰式を用いることが適当なケースもあります。
37	4	4.1.3.検量線	99-100	報告書には、用いた回帰式及び相関係数又は決定係数を記載する。	報告書には、用いた回帰モデル及び相関係数又は決定係数を記載する。		回帰式で誤認を与えないので、原文のままとしました。
38	4	4.1.3.検量線			相関係数や決定係数の報告書への記載を不要とはいかがでしょうか。	検量線式から得られる逆回帰値がクリテリアを満たすことで十分に高値(0.99以上)を示すことが予想され、相関係数や決定係数を示すことはあまり意味がないと考えられます。他 類似意見2件	御指摘のとおり削除しました。
39	4	4.1.3.検量線	103-104	検量線用標準試料の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、上記の基準を満たすものとする。	少なくとも6濃度(ブランク試料及びゼロ試料を除く)の標準試料が……	判定基準をより明確にするために、「ブランク試料及びゼロ試料を除く」ことを追記してはいかがでしょうか。	御指摘を踏まえ、95-97行目を以下のとおり変更しました。 【変更後】 検量線は、定量下限を含む6濃度以上の検量線用標準試料、ブランク試料及びゼロ試料(内標準物質を添加したブランク試料)から構成する。
40	4	4.1.4.真度及び精度	111-112	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って評価される。	QC試料に添加する標準溶液の割合を規定すべきと思います(例:標準溶液の添加割合はマトリックスに対して5%以下を最大とするなど)。ご検討ください。		標準溶液の最大濃度を一律に示すことはできませんが、溶媒等の影響が出ないような濃度で使用して下さい。
41	4	4.1.4.真度及び精度		…最低4濃度(定量下限、低濃度、中濃度及び高濃度)のQC試料…	「最低4濃度」の中に検量線の最高濃度が含まれておりません。検量線用試料とQC試料の調製法が異なる事を想定し、実試料を疑似したQC試料で、検量線の最高濃度までの真度及び精度を確認する必要があります。例えば、高濃度の設定を最高濃度の85%以上とした場合には、検量線の定量範囲内で定量可能ですので、できるだけ最高濃度付近の真度、精度を確認するような記載への変更をご検討願います。		最高濃度の設定は現実的ではないため、原文の記載が適当と考えます。
42	4	4.1.4.真度及び精度			検量線試料及びQC試料を準備するために、独立した標準原液をそれぞれに調製・使用する必要はないと思います(しかし、これは多くの研究室で標準的な慣行となっています)。著者の意図が、1又は2つの独立した標準原液を準備することを科学者の裁量に任せることであるならば、まったく異存はありません。	必ずしも、バリテーションで標準原液を評価する必要はないと思われませんが、標準原液の調製誤差のリスクはなるべく低くすべきです。	

意見番号	頁	項目番号	行	該当箇所	御意見		回答
					御提案のあった修正案	コメント	
43	4	4.1.4.真度及び精度	114-115	…、中濃度は検量線の中間付近、…	QC試料の濃度について、「中濃度は検量線の中間付近」と記載されているが、どのような濃度が具体的に示した方が分かり易いと考え。他 類似意見4件	検量線の中間としては、種々の考え方ができるため、共通認識を持つことが望ましいと考え。種々の考え方の事例としては、定量下限と最高濃度の幾何平均値、定量下限と最高濃度の算術平均値、最高濃度の1/2、検量線用試料の真ん中の濃度(7濃度設定した場合の下から4番目)などがある。	検量線範囲や実測定で推定される濃度などから判断して下さい。
44	4	4.1.4.真度及び精度	115-117	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回の繰り返し分析をすることによって評価される		「5回の繰り返し分析」とは、1回につき各濃度1試料の前処理を行うものとして、1回目の前処理がすべて終了した後2回目の前処理を開始するといった順番で5回まで行うという意味なのか、あるいは、1回で各濃度5試料を同時に前処理することも「5回の繰り返し分析」の範囲に入るのかが分からない。測定において、各濃度1試料を1つの測定単位としてこれを5回測定するの、濃度毎に5試料をまとめて測定してもよいのかが分からない。他 類似意見1件	「分析単位」及び「分析」の用語解説において、1回で各濃度5試料を同時に前処理することが記載されています。
45	4	4.1.4.真度及び精度	117-118	分析単位間の真度及び精度は、少なくとも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。	日間変動についての記載がありません。日間変動の実施について、具体的に記載していただきたい。他 類似意見2件	EMA-BMV-GLでは、少なくとも2日以上と明記されているため。	実試料分析の変動要因を考慮して、判断すべきと考えます。
46	5	4.1.5マトリクス効果	128-130	マトリクス効果は、マトリクスファクター(MF)を算出することによって評価される。MFは、マトリクス存在下での分析対象物質のレスポンスを、マトリクス非存在下でのレスポンスと比較することによって算出される。	Q&A集で具体例を示して解説して頂けるとありがたい存じます。	例えば、マトリクスが血漿である場合、「マトリクス存在下での分析対象物質のレスポンス」とは、血漿を前処理後、分析対象物質を添加したもの(抽出によるロスの影響を排除し、マトリクスの影響のみを評価するため)のレスポンスを、「マトリクス非存在下でのレスポンス」とは、非マトリクス溶液(例えば超純水)に分析対象物質を添加したもののレスポンスと理解しましたが、この理解で間違いはないでしょうか。	マトリクスの有無以外を同じ条件として分析するものです。
47	5	4.1.5マトリクス効果		マトリクス効果の検討を行なう濃度数及び濃度について、具体的に記載していただきたい。他 類似意見11件	EMAガイドラインとは異なり、マトリクスファクター試験の推奨濃度についての記載がありませんが、本ガイドラインのような柔軟性を歓迎します。	御意見ありがとうございます。	
48	5	4.1.5マトリクス効果	131-132	マトリクス効果の検討を行なう濃度数及び濃度について、具体的に記載していただきたい。他 類似意見11件	「内標準物質を用いて、MFを補正しても良い」とは、推奨は内標準物質を用いない方法なのか？	EMA-BMV-GLでは、マトリクス効果の検討は2濃度(LOQの3倍以内とULOQ付近)と明記されているため。	マトリクスの影響は、一般に濃度が低いほうが強く出ることが多いですが、イオン化状態の変化等により高濃度で影響がでることもあり得る等、様々な場合が想定されるので、回収率や直線性とあわせて、複数濃度での評価を行うことが必要です。
49	5	4.1.5マトリクス効果		内標準物質を用いて、MFを補正しても良い。	MS測定において内標準物質に分析対象物質の安定同位体を使用する場合、「マトリクス効果」の項目は省略してよいか(省略できることを加えて欲しい)。他 類似意見2件		記載は御指摘の意図を意味しているものではありません。
50	5	4.1.5マトリクス効果	132-133	MFの精度は、個体間で15%以下でなければならない。	QC試料でマトリクス効果を評価する際、精度に加え、真度の評価も必要ではないか。	精度が15%以下であっても真度が±15%以内になるとは限らないため、真度を評価する必要があると考える	安定同位体で補正しきれない場合もあるので評価は必要です。
51	5	4.1.5マトリクス効果		マトリクスを用いて調製したQC試料を分析することによって、マトリクス効果を評価できる。少なくとも6個体から得られたマトリクスを用いて調製したQC試料を分析し、定量値の精度は、個体間で15%以下でなければならない。	4.1.1 選択性と同様に6個体より少なくとも3個体で十分に評価できるのではないかと。		個体差の程度を評価することが目的なので、精度での評価を行うことを求めているものです。
52	5	4.1.5マトリクス効果	134-137	マトリクスを用いて調製したQC試料を分析することによって、マトリクス効果を評価できる。少なくとも6個体から得られたマトリクスを用いて調製したQC試料を分析し、定量値の精度は、個体間で15%以下でなければならない。	4.1.1 選択性と同様に6個体より少なくとも3個体で十分に評価できるのではないかと。		最低6個体が必要と考えます。
53	5	4.1.5マトリクス効果	138-140	なお、希少なマトリクスを使用する場合には、6個体より少ない個体から得られたマトリクスを使用して下さい。	特別なマトリクス(溶血、高脂質)の使用を必須項目として規定しない。	これらの検討をすべてのバリデーションで加える	本ガイドラインは推奨される一般的な指針を示したものであり、他にも測定データに影響を与える要因がある場合には必要に応じて検討して下さい。
54	5	4.1.6.回収率	141	4.1.6.回収率		内部標準物質は評価対象ではないと考えてもよろしいでしょうか。	内部標準物質は評価対象とまでしなくてもよいと判断しました。
55	5	4.1.6.回収率	141-148	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。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、ブランクの生体試料を添加したときのレスポンスとを比較するこ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、バリデーション項目として不要ではないか。他類似意見4件	回収率の再現性は、日内、日間再現性におけるQC試料の精度でも評価可能(回収率の再現性が悪い場合、必然的に日内日間再現精度も悪くなる)であるため、回収率の評価は不要と考えます。もし、回収率をバリデーション項目として残す場合には、再現性の基準を示していただきたいと思えます。	分析法バリデーションの評価項目とほしくないこととしましたが、注意事項に以下の記載を加えました。再現性を確認するために有用であるとの趣旨です。【追加内容】6.5 回収率 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。
56	5	4.1.6.回収率		EUのガイダンスに準じ、「最低2濃度(低濃度及び高濃度)」とすべきである。			回収率は、分析法の特性を明らかにするために評価することが望ましい。 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とによって算出される。回収率は、値そのものより再現性があることが重要である。
57	5	4.1.6.回収率	148-149	回収率は値そのものより各濃度において再現性があることが必要である。	回収率において、『再現性があることが必要である。』とあるが、判断基準は設定しないのか(精度が15%以内など)。他 類似意見5件		
58	5	4.1.7キャリアオーバー	155-158	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%以下かつ内標準物質の5%以下でなければならない。		「キャリアオーバー」のn数の規定はないか？	確認を行うものであり、数の規定までは設定しないこととしました。
59	5	4.1.7キャリアオーバー				検討時に確認することでよいのではないかと。	バリデーションでの評価は必要と考えます。

意見番号	頁	項目番号	行	該当する箇所	御意見		回答
					御提案のあった修正案	コメント	
60	5	4.1.8.希釈の妥当性	166-168	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にプ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ことによって評価される。		実測定(主にTK)において、例えば、10倍、100倍、1000倍の希釈が必要な場合、そのそれぞれの希釈物について5回の分析が必要と読めました。これは実際問題として、意義が薄いと考えます。例えば、10倍の段階希釈を3回行なって1000倍希釈する場合、10倍希釈の検討のみを実施するだけで十分と考えますがいかがでしょうか。他 類似意見1件	御指摘を踏まえ、以下のように変更しました。 【変更後】 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にプランクマトリックスで希釈する場合、実試料分析における希釈方法を考慮した適切な希釈倍率を選択し、それぞれを少なくとも5回の繰り返し分析をすることによって評価する。
					希釈試験の希釈倍率と実温度測定時の希釈可能倍率について記載いただけないでしょうか。もしくは解説書等での説明をお願いします。類似意見3件	希釈倍率については、実施倍率が例えば10倍であれば、その倍率を超えない倍率(2倍や5倍)を使用して希釈試験を実施することも可能であると考えますが、その可否の根拠となるものはありません。	
					最大希釈倍率について5回の繰り返し分析をすることによって評価される。他 類似意見1件	希釈倍率ごとに評価する必要はなく、用いた最大希釈倍率について確認するだけでよい。	
					現記載では、希釈操作を1回実施しその希釈された試料を5回分析するようにも解釈できます。希釈の妥当性では、希釈操作の繰り返し再現性を確認する必要があると考えられることから、希釈倍率あたり少なくとも5回の希釈操作を実施するよう明記してはどうでしょうか。他 類似意見1件		
61	6	4.1.8.希釈の妥当性	168-169	希釈された試料の平均真度は理論値の±15%以内、精度は15%以下でなければならない。		この理論値は希釈後の理論値、それとも希釈前の理論値のどちらを基準とすべきでしょうか。	理論値は希釈前後で変わりません。
62	6	4.1.8.希釈の妥当性	170-171	試料の希釈に別のマトリックスを用いる場合には、同様にして、当該マトリックスを用いることが真度又は精度に影響を及ぼさないことを示す。		別のマトリックスについて、別個体のマトリックスという意味か、あるいは代替マトリックスという意味か。	代替マトリックスであることを明示するため、以下のように変更しました。 【変更後】 試料の希釈に代替マトリックスを用いる場合には、……
63	6	4.1.9.安定性	173	4.1.9.安定性		このパラグラフが正確な科学実験が行われることを可能にする実用的なアプローチであると考えます。このガイダンスの理念に従った場合の科学的に裏打ちされたデータが受理されることを歓迎します。	御意見ありがとうございます。
64	6	4.1.9.安定性	176-177	実際の保存条件または分析条件に近い条件で行われる必要がある。	低分子化合物が測定対象の場合には、長期保存安定性が確認された温度条件よりも低温条件に保存して差し支えないと考える(例:-20°Cでの安定性情報を、-80°Cでの保存やドライアイスでの輸送に適用とする)他 類似意見1件	低分子化合物は、安定性が確認されている温度より低温においても安定であると考えられるため。	長期保存のデータは実際に保管する条件で取得することが基本と考えますが、低分子化合物の場合で輸送などのケースで短期間、すでに凍結されたサンプルをより低温の状態でも保管することも考えられ、その場合、改めてバリデーションを実施する必要はないと考えます。ただし、凍結・融解時に影響が与えられる可能性があるため、QC試料と実試料を同時に保管して安定性を確認したり、実保存条件で凍結融解安定性を確認しておくとう万全です。
65	6	4.1.9.安定性	180-182	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)、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、実際の保存期間を上回る期間で評価する。	実施法の具体的な内容は示されていないことから、実施者の判断にお任せいただけるという理解でよろしいでしょうか。他 類似意見1件	安定性の項目については、例えば凍結融解安定性の場合、凍結と融解の間の時間については、他国のガイドラインでは12時間以上等の設定がありますが、ここには記載がありません。その他安定性の実施方法も含め、明確な記載がありません。	Q&AのQ4を御覧ください。
66	6	4.1.9.安定性	180-182	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)、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、実際の保存期間を上回る期間で評価する。	長期保存安定性について、EMAガイドラインでは試料保存温度にブラケット法が適用できることが明記されています。本邦においても、試料の保存温度が各種実験施設・医療機関で多様であることを鑑みると、ブラケット法を適用することは非常に有用と考えられますので、本ガイドラインにも明記できないでしょうか。		ブラケット法を使用することは差し支えありません。本文への記載の必要性は低いので、原文のまましました。
67	6	4.1.9.安定性		「前処理後試料中安定性」については再注入した結果と初回測定結果を比較するの、保存していた前処理後試料を新たに調製した検量線試料で定量するのかが対応が分かれる可能性があります。前者は「再注入の妥当性」、後者は「前処理後試料中の安定性」と考えますので、「安定性」の評価としては後者を明確に記載していただくと思います。		実試料分析で前処理後試料の想定される使用方法を考慮して、適切な安定性を評価して下さい。	
68	6	4.1.9.安定性	183-184	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を用いる	標準原液および標準溶液の安定性の評価基準を明らかにしていただくと思います。他 類似意見6件		判定基準を満たせば「安定」ではなく、測定の際につき安定性を評価し、最終的には測定の目的に照らし合わせて評価を行わなければならないと考えます。
69	6	4.1.9.安定性	185	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。	検量線上限を超える濃度の試料の安定性評価についても記載が必要ではないでしょうか。		濃度依存がなければ特に必要ないと考えます。

意見番号	頁	項目番号	行	該当箇所	御意見		回答
					御提案のあった修正案	コメント	
70	6	4.1.9.安定性	188-189	各濃度における平均真度は、原則として理論値の±15%以内でなければならない。		理論値±15%の評価基準の適切性に疑問を感じます。初期値の実測値を基準にする可能性を否定すべきでないと考えます。例えば、初期値の実測値が理論値の-4.5%であった場合、下側には-10.5%の許容幅しかないこととなります。一方、測定の実度、精度は±15%でフルバリデーションします。このため、理論値を基準にすると、保存したサンプルが実際には安定でも、不安定と誤って評価する可能性が生じるというパラドックスにならないでしょうか(ガイドライン内のダブルスタンダードにならないでしょうか)。	御指摘の意見を踏まえ、以下のように変更しました。 【変更内容】 原則として各濃度における平均真度を指標として、理論値の±15%以内でなければならないこととする。なお、分析対象物質の特性等を考慮し、他の指標等が科学的により適切に評価できる場合には、当該指標を用いても良い  また、残存率を用いることも可能であることをQ3に記載しました。
					原則としての表現があるものの語尾が「なければならない」としており、強制力が強い印象を持った。語尾の表現を「望ましい」等の表現に緩和できないか。	JBFでも議論があったように安定性は、初期値と保存値で評価することと平均真度が理論値の±15%に入るこの両方が記載されている。	
					安定性の評価は初期値と比較して算出する「残存率」を使うことが多いと思うので、「真度」ではなく「残存率」としてはいいでしょうか。		
71	6	4.1.9.安定性		内因性物質の場合、理論値との比較は困難と考えます。JBF素案にあった文章「ただし、分析対象物質の特性を考慮した上で妥当と判断される場合には、科学的な判断に基づき、上記とは異なる判断基準を設定することができる」を残してほしい。		内因性物質は、本ガイドラインの適用対象外であることを明示するため、2.適用対象の項を以下のように変更しました。【変更後】 対象薬物は低分子化合物(内因性物質を除く。)を中心とし、……	
72	6	4.2. パーシャルバリデーション	194-195	パーシャルバリデーションで評価する項目は、分析法の変更の程度とその性質に応じて設定する。	Q&A集に参考情報として「分析法の変更の程度とその性質」ごとに「評価が必要な分析能パラメータ」を目安で横わらないで解説して頂けるとありがたい存じます。	科学的な妥当性を考慮して、評価項目を決定して下さい。	
73	6	4.2. パーシャルバリデーション		パーシャルバリデーションを実施する事例がいくつか挙げられているが、定義が不明瞭である。分析データの質を統一するために、実例や具体例を挙げることは可能か。	①「分析機器の変更」：検出方法の変更(UV検出器から質量分析器への変更)、機種の変更(質量分析器Aから質量分析器Bへの変更)、同一機種の別機種への変更(質量分析器Aの1号機から2号機への変更)のいずれが対象か 他類似意見1件 ②「抗凝固剤の変更」：抗凝固剤の塩の変更も含むか否か、また、上記①②以外の項目についても実例や具体例を挙げることは可能か。	科学的な妥当性を考慮して、評価項目を決定して下さい。	
74	6	4.2. パーシャルバリデーション	196-199	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、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少なマトリックスの使用等が挙げられる	「定量範囲の変更」については、フルバリデーションの検査線濃度範囲内での変更を意図していると思いますので、定量下限を低濃度側にシフトするあるいは定量上限を高濃度側にシフトすることのないような記載が必要と思います。	御指摘の内容までを記載する必要は低いと考えます。	
75	6	4.2. パーシャルバリデーション		分析に使用する試料量の変更について、「試料量を増加する場合」と限定してはどうでしょうか。	定量範囲の変更を伴わずに試料を減量する場合にはマトリックス成分の分析への影響は低減され、パーシャルバリデーションを実施する必要性は低いと考えられる。	試料量を減量する場合にも、定量値への影響を勘考の上、パーシャルバリデーションの実施を考慮する必要があると考えます。	
76	6	4.2. パーシャルバリデーション			「抗凝固剤の変更」とあるが、塩違いの場合(ヘパリンNaとLiなど)はこの限りではないとの理解で良いか?	基本的にバリデーションに用いた抗凝固剤を用いるべきですが、抗凝固剤の塩のような軽微な変更の場合にはその影響を勘考の上、パーシャルバリデーションの実施を考慮して下さい。	
77	6	4.2. パーシャルバリデーション			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、測定者の変更が挙げられていませんが、この場合はパーシャルバリデーションを実施しなくていいとの理解で問題ないでしょうか。	同一施設で分析手順の一貫性が確保されているなら、測定者の変更によるパーシャルバリデーションは不要です。	
78	6	4.2. パーシャルバリデーション	199-200	分析対象となる種やマトリックスの変更についても適用される場合がある。	分析対象となる(動物)種が変更となる場合において、パーシャルバリデーションで可とされるケースとしてどのようなものがあるか、例を示していただきたい。他 類似意見3件	種が変更となる場合において、フルバリデーションを行わずによいケースが思い当たりませんでした。	当該部分は記載の必要性が低いので、原文から削除しました。
79	6	4.3. クロスバリデーション	206-207	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される	「異なる分析施設」「異なるメソッド」を使用した場合と「同じメソッド(分析法のトランスなど)」を使用した場合、が考えられますが、いずれの場合も必要なのか、「同じメソッドの場合」は不要なのかを明記されると良いと思います。 他 類似意見2件	Q&AのQ5を御覧下さい。	
80	7	4.3. クロスバリデーション			必要最少限の繰り返し回数を記載することを提案します。		御指摘を踏まえ、以下のとおり変更しました。 【変更後】 室内及び室内再現精度を考慮し、低濃度、中濃度及び高濃度各濃度のQC試料の平均真度は、原則として理論値の±20%以内でなければならない。
81	7	4.3. クロスバリデーション	213-214	室内及び室内再現精度を考慮し、低濃度、中濃度及び高濃度各濃度のQC試料の平均真度は、原則として理論値の±20%以内でなければならない。	EMAの“Guideline on bioanalysis method validation”では、±15%以内で設定している。グローバル開発における測定データの相互利用に際し、不具合の原因となり得ることから、基準は同一であることが望ましいと考える。	バリデーション試験の中では、真度の基準を理論値の±15%と設定しているのに対し、本項目においてはQC試料の真度を理論値の±20%に設定している。他の項目と基準が異なる根拠や理由を示されたい。また、原則として、分析法は標準物質の調製や前処理、測定等、関連する全過程の誤差を含めて理論値に対して±15%の精度を有するものであることから、クロスバリデーションにおいてのみ±20%以内とするのは根拠に乏しいと考える。	Q&AのQ6を御覧下さい。



意見番号	頁	項目番号	行	該当する箇所	御意見		回答	
					御提案のあった修正案	コメント		
82	7	4.3.クロスバリデーション				「室内再現精度」及び「室間再現精度」の言葉の定義用語解説に追加してはいかがでしょうか。		広く使用されている用語であり、改めて用語の定義は不要と考えます。
83	7	4.3.クロスバリデーション	214-216	実試料を使用する場合は、少なくとも3分の2の試料の乖離度が±20%以内でなければならない		実試料をクロスバリデーションに用いる際の検体数の目安を提示していただきたい。		実試料の場合には、QC試料のように目安を示すことは難しいため、原文のままとします。
84	7	4.3.クロスバリデーション	217-219	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設定して評価する		不要な実験を行い時間を費やさないために、「基準」についての考え方を例示してはいかがでしょうか。		異なる分析法等を用いる際のクロスバリデーションでの基準を設定は難しいので、原文のままとします。
85	7	5.実試料分析	223-224	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、生体試料中薬物濃度分析に供する試料のことである		「トキシコキネティクス試験」ではなく「非臨床薬物動態及びトキシコキネティクス試験」とすることを提案します。		トキシコキネティクス試験以外の非臨床薬物動態試験は本ガイドラインの対象外です。
86	7	5.実試料分析	224-225	実試料分析には、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。		例えば、バリデーションで安定性が確認されていない濃度の試料が出現する等、実試料分析後に追加でバリデーションが必要となる事例も想定されますが、そのような方法の妥当性について言及するの必要はないでしょうか。		例外的な事例についてまで記載することは難しいので、原文のままとしました。
87	7	5.実試料分析		安定性が確認された期間内に検量線(フランク試料、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。			「6濃度以上」となっているが「定量下限および6濃度以上」でなくともよいか。	4.1.3の記載とおり、定量下限を含む6濃度以上を意味します。
88	7	5.実試料分析	226-228				「安定性が確認された期間内」とあるが、保存温度など保存状態に問題ないことを担保するものは、保存期間中の保存温度のみでよいのか。QC試料を実試料の保存と同時、またはそれ以前から保存して保存状態を担保しないのか。	安定性はサンプリングから分析までを担保することが原則です。
89	7	5.1.実試料分析における分析法の妥当性と再現性	230	5.1.実試料分析における分析法の妥当性と再現性		記載順序を検量線(現在5.1.1項)、QC試料(現在5.1.2項)、キャリアオーバー(現在5.1.4項)、ISR(現在5.1.3項)に変更してはいかがでしょうか。		本項目が分析法の妥当性と再現性についての議論であることから、妥当性について全て論じた後で再現性を議論する論法が「理解しやすい」と感じました。妥当性については検量線、QC試料、キャリアオーバーが該当し、再現性はISRであると考えます。
90	7	5.1.実試料分析における分析法の妥当性と再現性	237-238	なお、キャリア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アオーバーを加える。		バリデーションにおいてキャリアオーバーが問題とならなかった場合でも、少なくとも最初の実試料分析においてキャリアオーバーを確認すべき。		QCサンプルと実試料では状況が異なる事を想定すべき。
91	7	5.1.実試料分析における分析法の妥当性と再現性						実試料分析におけるキャリアオーバーの確認は、分析単位ごとではなく、どこかで一度確認すれば良いか？
92	7	5.1.1.検量線	246-249	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の±20%以内、定量下限以外においては理論値の±15%以内でなければならない。検量線用標準試料の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ならない。		明確化のための提案ですが、国際的な一貫性を保つために、本項の検量線用試料の繰り返し分析の許容基準については、EMA bioanalytical method validation guidelineと類似の言い回しにした方がよりよいかと思われ(たとえばat least 50% calibration per concentration level)。		分析単位毎に検量線を評価するため、その必要はないと考えます。
93	7	5.1.1.検量線				検量線作成の基準は、検量線試料を各濃度n=1で測定することしか想定されていません。1回の測定で各濃度n=2やそれ以上で測定した場合の基準についても記載していただきたい。		EMA-BMV-GLでは、各濃度n=2やそれ以上測定した場合の基準について明記されているため。
94	7	5.1.1.検量線	250-254	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(低濃度、中濃度及び高濃度)のQC試料を含まなければならない。		実試料分析において、定量下限又は定量上限が基準を満たさなかった場合、検量線範囲が狭められ、狭められた検量線範囲となった試料については再測定を行わなければならないことを明記することを提案します。他 類似意見3件		定量範囲の中に、3濃度のQC試料が入っていればよく、定量範囲が狭まったことで、範囲外となるサンプルは再分析の対象となることは自明なので、御指摘の内容を明記する必要は低いと考えます。
95	8	5.1.2.QC試料	263-264	分析するQC試料の数としては、各濃度あたり2試料又は分析単位内の実試料数の5%以上のいずれが多い方とする。		[各濃度2試料]と[実試料数の5%以上]を比べると[実試料数の5%以上]というのは120検体測定して6試料ということになるので、120検体を超えるごとに1セット(各濃度1試料)ずつ追加すると、記載した方がわかりやすい		原文の記載で問題はないと考えます。
96	8	5.1.2.QC試料	264-265	QC試料は、少なくとも実試料の前で測定される必要がある			検体数に応じて9試料以上のQC試料を用いる場合には、3濃度1試料を1セットとし、1セットずつを実試料の前後に測定し、残りのセットを検体数に応じて均等に測定することが想定される。この場合、同一セット全体、例えば、実試料の後に測定した1セットのQC試料すべての真度が理論値の±15%以内を満たさなかったとしても、全QC試料の3分の2以上かつ各濃度の2分の1以上が基準を満たしていれば、分析単位としては採用基準を満たすと判定して良いか。	実試料後の測定で3濃度すべてが外れている場合は、何らかの異常があると判断すべきと考えます。
97	8	5.1.2.QC試料				QC試料は、分析単位内でまばらに測定されることが望ましく、少なくとも試料の前後で測定される必要がある。		QC試料は、分析単位内でまばらに測定するのが望ましいという考えが前提にあるようでしたら、それを明確に記載するのはいかがでしょうか。
98	8	5.1.3.ISR	277-278	ISRとは、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であり、...		「投与後試料」は、他の箇所に合わせて「実試料」でよいと思います。		用語解説にて「投与後試料」とは、実試料のうち実薬を投与した後で得られる試料と記載されています。
99	8	5.1.3.ISR						「薬物動態を主要なエンドポイントとする試験」というのは、代謝物毒性評価(MIST)のための代謝物測定も含まれるのでしょうか。

意見番号	頁	項目番号	行	該当箇所	御意見		回答	
					御提案のあった修正案	コメント		
100	8	5.1.3.ISR		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で実施される。	通常、比較的均一な被験者を対象とし、管理された条件で試験を実施し、測定までの保管条件、保管期間もほぼ共通している同一被験者の相対的な結果が最終的に重要となる生物学的同等性試験で、一律にISRを要求する必要は少ないと思う。記載を再考していただきたい。 他 類似意見1件		全ての生物学的同等性試験で、ISRが必要と考えます。	
			281-285		例えば、非臨床試験では異なる動物種ごとのトキシコキネティクス試験から、臨床試験においては、異なる被験者層(健康被験者、腎機能又は肝機能異常のある被験者等)を対象とする薬物動態試験から、それぞれ代表的な試験を選択する。また、臨床試験においては、生物学的同等性試験でも実施される。	現記載からは、患者を対象とした薬物動態試験ではISRを実施しなくてもよいとも解釈できます。また、生物学的同等性試験は「異なるマトリックスごと」で示すべき範囲からは外れると思います。		
101	8	5.1.3.ISR			ISRの実施時期については、各対象群の試験での最初が望ましいと考えますので、「代表的な」から「最初の」へ変更することが望ましいと考えます。	海外ガイドラインでのfirst clinical trial in subjects等(EMAガイドライン)、First-in-human(FDAガイドライン)と乖離していると思います。		Q&AのQ9及びQ10を御覧下さい。
						ISRでは腎機能又は肝機能異常のある被験者での測定が必要とされていますが、バリデーションの段階からそのような情報を加味して実施しておく必要はありますか。例えば、絶食、非絶食、もしくは高脂血症状態でのマトリックスファクター(MF)の検討は必要でしょうか。		
102	8	5.1.3.ISR		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		ISRを「非臨床試験の予備検討試験等から得られる実試料を活用」とは、具体的にどのような場合か？		Q&AのQ10を御覧下さい。
103	8	5.1.3.ISR		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、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。		母数となる実試料数についての考え方を教えて下さい。 例えば、長期にわたる試験の場合、試料が複数回に分けて発生し、安定性保証期間の関係上、その都度試料を測定することもあると思います。そのような場合、母数となる実試料数は「とある1回に発生した試料」という考え方も可能でしょうか(試料数が極端に少なくないという前提で)。		ISRの実施試料数は全体の10%としますが、実施時期の選択数は妥当性を判断して、判断して下さい。
104	8	5.1.3.ISR		288-292	ISRを実施する実試料数は、1000以下の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を目安とする。	1000個体ちょうどどのときにどうすべきかが明確でない。		原文の記載の方が適切と考えます。
105	8	5.1.3.ISR				ISRを実施する実試料数について、ISRを実施する実試料数は安定性が保証されている期間内であれば生物学的同等性試験における予備試験と本試験を合わせたものであるという認識でよいのか。		試験毎になるので、本試験で実施することで差し支えありません。
106	8	5.1.3.ISR			「最高血中濃度及び消失相付近」ではなく「最高血中濃度付近及び消失相中」のほうが適切ではないでしょうか。	「消失相付近」という表現は消失相を含まないと考えられる。		誤認される可能性は低いので、原文のままとしました。
107	8	5.1.3.ISR		293-294	乖離度は、ISRにより得られた定量値と初回の定量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。	乖離度の詳細は、本文中では説明しないことを提案いたします。	乖離度の具体的な説明については、項目間の記載内容のバランスが取れていないと感じます。一方、乖離度について用語解説433行目にて説明が記載されていますので、本文中での説明は必須ではないと考えます。	削除する必要性は低いので、原文のままとしました。
108	9	5.1.3.ISR		295-298	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±20%以内でなければならない。	「乖離度が±20%以内」はFDA、EMAと同じ基準だが、この値の設定根拠があれば教えていただきたい(基準をクリアできない場合の対処法に役立つかもしれない)。		実態を踏まえつつ、国際的整合性も加味したものです。
109	9	5.1.3.ISR				ISR実施において定量限界未満の試料については対象外として良いか。例えば100試料中90試料が定量限界未満の場合は、全試料の10%にあたる10試料として検出された10試料について行うのか、それとも、定量限界未満の試料を含めた10試料とするのか。		ISRの対象はLOQ以上の試料です。
110	9	5.1.3.ISR		300-301	個別の実試料においてISRの結果が±20%を超えても、その初回の定量値を、再分析値へ置き換える又は棄却してはならない。	例えば、ISRの結果が基準を満たさなかった原因が、サンプルの不十分な攪拌によるものなどであった場合には、初回測定結果と再測定値を置き換えるべきであると思います。そのような対応を許容するような記載にしていた方がよいと思います。他 類似意見1件		Q&AのQ11を御覧下さい。
111	9	5.1.4.キャリアオーバー		305-307	キャリア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合には、試料分析4.1.7と同様の手法を用いてキャリアオーバーを評価し、定量値への影響について考察する。	バリデーションにおいてキャリアオーバーが問題とならなかった場合でも、少なくとも最初の実試料分析においてキャリアオーバーを確認すべき。		科学的妥当性を考慮して実施の要否を判断して下さい。
112	9	5.2.2.再分析		329-331	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。	分析結果が非合理的であることに基き、特定の条件下でサンプルを再分析することを考慮すべきと考え、再分析を選択し、実施する枠組みを明確にすることを検討していただきたい。他 類似意見3件	生体試料分析プロセスに、ISRを含むすべての確固たる操作手順を設定していても、分析の実施やその記録から過誤を検出できず、予想される薬物動態とは全く合致しない非合理的な結果を導く場合がある。このような疑わしい結果について再分析によって間違いの可能性を確認する手段をなくすことは、最終的に算出される薬物動態パラメータにバイアスが生じるかもしれない。そして、このバイアスは試験結果の解釈に影響するかもしれない。	Q&AのQ14を御覧下さい。

意見番号	頁	項目番号	行	該当する箇所	御意見		回答
					御提案のあった修正案	コメント	
113	9	5.2.2.再分析	330-331	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して定量値を変更してはならない。	原則、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して定量値を変更してはならない。	生物学的同等性試験においては、前段で記載の再分析を実施する際の例(投与前試料又は実薬非投与前試料中に分析対象物質が認められた場合、異常値の原因追求等)は許容されないでしょうか。また、薬物動態的に不自然(実薬投与前試料のCmaxにおいて定量値が得られないなど)という理由、且つ分析上の不具合などが否定できないことを理由に再測定をすることは可能でしょうか。もし、原文の記載が、このような再測定を許容しないのであれば、必要な再測定の実施が許容されるような記載にしていかがでしょうか。	Q&AのQ14を御覧下さい。
114	9	5.2.2.再分析	332-334	ただし、臨床試験において、患者の安全性に影響を及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、特定の試験サンプルを再抽出又は再分析することは制限されないと考えます。	予期しない結果又は異常な結果かどうかにより再分析を行うか、といった判断は分析者自身が行うべきではありません。予期しない結果又は異常な結果による再分析は、他の関係者からの判断又は承認に基づいてなされうと考えます。		原文の趣旨は、御指摘の内容について言及しているものではありません。
115	9	5.2.2.再分析			「再抽出」と「再分析」の言葉の定義を明確にしていかがでしょうか。		本文から「再抽出」を削除しました。
116	10	5.2.2.再分析	336-338	再分析によって得られた定量値並びに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。	予めSOPに定めるか、又は報告書に記載することが必要である。	SOPで規定することも認めるべきである。	SOPは、資料として提出することが必須ではないことから、報告書に含めてください。
117	10	5.2.2.再分析			最終報告書には再分析を行った事実、その理由などを記載すればよく、数値は採用値を記載するのみで十分と考える。	医薬品・医療機器改正GLP解説、医薬品・医療機器GLPガイドブックには、初回定量値を報告書に記載することを求めているのではない。	再分析を行ったこと自体の妥当性を示すために必要な情報ですので、御理解下さい。
118	10	5.2.4. 報告書の作成と記録等の保存	336-338	また、関連の記録や生データは、…通信の記録…全て保存する。	通信の記録(例:GLP試験では試験責任者と分析施設の担当者、外注試験ではスポンサーとCRO、など)他 類似意見1件	「通信の記録」が意味するものを例示頂きたい。	特段の記載は必要ないと考えます。
119	10	5.2.3.クロマトグラムの波形処理	342-343	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設定しておく必要がある。		「あらかじめ計画書又は手順書等に設定しておく必要がある」波形処理の手順は、どの程度の記載が必要か？ 使用するソフトウェアを計画書又は手順書等に記載することで良いか。	どのような場合に実施するのか、後付けで実施するのではないことが明確になるように設定しておく必要があります。
120	10	5.2.3.クロマトグラムの波形処理	344-345	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のクロマトグラムを保存しておくことが必要である。	「再波形処理」とは、一連の波形処理の後、検査線で定量値を求めた後に再波形処理の処理を示していると思いますので、それを明記されると良いと思います。		特段の記載は必要ないと考えます。
121	10	5.2.4. システム適合性	349-352	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、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。	「生体試料中薬物濃度分析においては、通常分析単位ごと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。生体試料中薬物濃度分析に用いる機器が適切に動作するよう、分析機器は適切に維持及び管理されなければならない。」		御提案の内容に変更する必要性は低いので、原文のままとします。
122	10	5.2.4. システム適合性	352-354	ただし、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。		「分析単位ごとに分析法の妥当性を確認するため」とは、7ページ232行に記載の内容、すなわち、検査線及びQC試料の評価によって、分析法の妥当性が示されるためとの理解でよいでしょうか。	御指摘の趣旨を踏まえ、以下のように修正しました。 【変更後】 通常分析単位ごとに検査線及びQC試料の評価によって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。
123	10	5.2.4. システム適合性			…通常分析単位ごとに分析法の妥当性を確認するため、分析単位ごとのシステム適合性の確認は必須ではない。	生体試料中薬物濃度分析において、測定前のシステム適合性は実施が望ましいが、生体試料分析の各分析単位ごとに必須ではないという点でしょうか？明確にするために、下記修正案はいかがでしょうか。	誤認される可能性は低いので、原文のままとしました。
124	10	5.2.4. 報告書の作成と記録等の保存	361-365	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。	分析結果及びクロマトグラム等の生データには棄却された分析単位において得られたデータも含めることを分けた記載にしていかがでしょうか。		誤認される可能性は低いので、原文のままとしました。
125	10	5.2.4. 報告書の作成と記録等の保存	362	試料に関する授受	「試料に関する授受」とありますが、「実試料に関する授受」を明記されると良いと思います。		実試料以外にも、QC試料(並行QC等)の授受もあるので、原文のままとしました。
126	10	5.2.4. 報告書の作成と記録等の保存	372,387	分析方法		どの程度の分析方法の情報を記載すべきでしょうか。バリデーション報告書の記載と実試料分析報告書の記載は同程度必要でしょうか。 分析方法の概略(LC/MS/MS法程度)の記載でよろしいでしょうか。バリデーション報告書に方法の詳細を記載し、実試料分析報告書には、概略の記載で十分と考えます。	記載方法の詳細については、その必要性を考慮して判断して下さい。

意見番号	頁	項目番号	行	該当する箇所	御意見		回答
					御提案のあった修正案	コメント	
127	10	5.2.4. 報告書の作成と記録等の保存	367,381		バリデーション報告書及び実試料分析報告書に、標準物質及びQC試料の保存条件を追記することを提案します。		「標準物質の情報」等に記載される内容であるため、追記は不要と考えます。
128	10	5.2.4. 報告書の作成と記録等の保存	367,381		バリデーション報告書、実試料分析報告書のいずれにもISRが項目として記載されていません。ISRの報告方法について本項に記載していただきたい。	ガイドライン案でISRの実施について規定されているが、その結果を報告書への記載についても規定していただきたい。なお、JBF素案にはバリデーション報告書、実試料分析報告書のいずれにも記載する場合は明記されている。	「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」等に記載して下さい。Q & AのQ13をご覧ください。
129	11	5.2.4. 報告書の作成と記録等の保存	379,394	必要に応じて代表的なクロマトグラム	実試料分析報告書に載せる「代表的なクロマトグラム」の選択基準及び掲載数を提示していただきたい。他 類似意見4件	本邦においては書面調査が実施されるため、EUや米国のように多くのクロマトグラムを添付する必要はないと考えるが、報告書に掲載する場合の基準が不明確であるため。	数による一律の基準を設定しませんが、それぞれの実態に応じて判断して下さい。
130	12	用語解説	421		前処理後試料(515行)を、再び分析装置に注入する再注入という手段は、通常行われているもので、用語解説を含めて何らかの記載を追加することを検討頂きますと幸いです。他 類似意見2件		再注入という用語を解説する必要性は低いと考えます。
131	12	用語解説	441-443	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)を用いる場合等に実施するバリデーション。	「単一又は複数の試験を通じて複数の分析法を用いる場合、又は1つの申請に複数の分析法が用いられる場合、クロスバリデーションを行う」とすることを提案します。		本文との内容と一致させるため、以下のとおり変更しました。 【変更後】 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されるバリデーション、クロスバリデーションによる比較は、それぞれのフルバリデーション又はバーンシャルバリデーションを実施した上で実施する。
132	12	用語解説	455-456	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、パーセント表記で表される。		真度はパーセント表記で表されると定義されていますが、相対誤差で表すことは避けるべきなのではないかと、また、本ガイドライン全般で、真度の基準については「理論値の±15%(又は20%)以内」と記載されていますが、「100±15%以内(100±20%以内)」又は「85~115%(80~120%)」との記載の方が適切ではないでしょうか。	御提案の内容に変更する必要性は低いので、原文のままとしました。
133	12	用語解説	462-469	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、特異性は選択性の究極の形としてこれらを区別する指標もある。この指標を踏まえ、特異性は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できる能力を意味する。	選択性及び特異性については、EMAの定義を用いることを提案します。		原文は理解しやすいように用語の概念を整理したものであり、原文のままとしました。
134	12	用語解説	512	分析単位 (Analytical run)	「分析単位」より英語 (Analytical run) に合わせて「分析ラン」あるいは「分析バッチ」が良いと思います。「単位」にはunitの意味もあるため紛らわしいと思いますので。		誤認される可能性は低いので、原文のままとしました。
135	12	用語解説	517-519	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トリックス (blank matrix) と呼ぶ。	「分析対象物質を含まないものをブランクマトリックスと呼ぶ」とすることを提案します。		御指摘の趣旨を踏まえ、以下のとおり変更しました。 【変更後】 ……マトリックス中の組織外因性化学物質(抗凝固剤を除く)……
136	12	用語解説	529-532	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。	意味が不明瞭なので、修正を提案します。		御指摘の趣旨を踏まえ、以下のとおり変更しました。 【変更後】 分析法の信頼性を評価するために用いる分析対象物質を添加した既知濃度の試料。……
137	16	附録	535	附録 段階的アプローチの利用		生体試料中薬物濃度分析法バリデーションにおける段階的アプローチの原則の採用を歓迎し、感謝致します。	御意見ありがとうございます。
138	16	附録	542-544	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である。		本ガイドラインの8行目以降に「生体試料中……保証されている方法を用いることが必要である」と記載されている。それに対して、段階的アプローチにおいては、「分析法の妥当性の検証を限定的な内容とするもの」とされている。上記を併せると、段階的アプローチで取得したデータは、承認申請に用いるための要件を満たしていないと考えてよいか。	申請資料となりうるが、必要な項目について科学的妥当性を示す必要があります。
139	16	附録	540~	「内因性物質の分析」に関する記載を附録に記載していただきたい。		JBF素案時には記載のあった「内因性物質の分析」が削除されていますが、この内容については参考になるため、記載を要望します。	内因性物質は、本ガイドラインの適用対象外であることを明示するため、2. 適用対象の項を以下のように変更しました。Q & AのQ15をご覧ください。 【変更後】 対象薬物は低分子化合物(内因性物質を除く。)を中心とし、……

薬食審査発 0711 第 1 号  
平成 25 年 7 月 11 日

各都道府県衛生主管部（局）長 殿

厚生労働省医薬食品局審査管理課長  
（公印省略）

「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」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、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。

## 記

### 1. 本ガイドラインの要点

- (1) 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する指針を示したものであること。
- (2) トキシコキネティクス試験及び臨床試験における生体試料中の薬物又はその代謝物の濃度を定量する際に用いられる分析法であって、低分子化合物（内因性物質を除く。）の液体クロマトグラフィー、ガスクロマト

グラフィー、又はそれらと質量分析法を組み合わせた分析法に適用するものであること。

- (2) ISR (Incurred samples reanalysis)、段階的アプローチ等の欧米のガイドライン等に取り込まれている考え方を導入したこと。
- (3) リガンド結合法（免疫学的分析法等）に関する生体試料中薬物濃度分析法についても、同様のガイドラインを整備する予定であること。

## 2. 今後の取扱い

平成 26 年 4 月 1 日以降に開始される本ガイドラインの適用範囲となる生体試料中薬物濃度試料分析法は、本ガイドラインの基準に基づくものであること。なお、当該分析法を活用した試験成績は、医薬品の製造販売承認申請に際し添付すべき資料とすることができる。

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

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. キャリーオーバー
      - 4.1.7. 希釈の妥当性
      - 4.1.8. 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. 検量線
    - 5.2. QC 試料
    - 5.3. ISR
    - 5.4. キャリーオーバー
  6. 注意事項
    - 6.1. 定量範囲
    - 6.2. 再分析
    - 6.3. クロマトグラムの波形処理
    - 6.4. システム適合性
    - 6.5. 回収率
  7. 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  
附録 段階的アプローチの利用

## 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、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

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（内因性物質を除く。）を中心とし、主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 chromatography: GC）、又はそれらと質量分析法（mass spectrometry: MS）を組み合わせた分析法を対象とする。

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は、当該ガイドラインの適用対象ではないが、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等を実施してよい。

## 3. 標準物質（標準品）

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) 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、含量又は純度、及び保存条件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。入手先、化学構造及び有効期限等を明らかにしておくことが望ましい。内標準物質に対する分析証明書等は必ずしも必要ではないが、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いる必要がある。



## 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薬物濃度を定量する際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

分析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。

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、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）ごとに実施する。

既にフルバリデーションを実施した分析法に、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、フルバリデ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、フルバリデーションの実施が必要である。

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ク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程においてその妥当性を可能な限り検証する。

#### 4.1.1 選択性

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出することができる能力のことである。

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内標準物質に対する妨害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。

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%以下及び内標準物質の 5%以下でなければならない。

#### 4.1.2 定量下限

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

量することができる最も低い濃度である。

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ない。

#### 4.1.3. 検量線

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。

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。検量線は、定量下限を含む 6 濃度以上の検量線用標準試料、ブランク試料及びゼロ試料（内標準物質を添加したブランク試料）から構成する。検量線の回帰式及び重み付け条件には、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。報告書には、用いた回帰式を記載する。

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 $\pm 20\%$ 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 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、上記の基準を満たすものとする。

#### 4.1.4. 真度及び精度

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程度のことである。

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、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 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。

各濃度における平均真度は、理論値の $\pm 15\%$ 以内でなければならない。ただし、定量下限では $\pm 20\%$ 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%以下でなければならない。ただし、定量下限では 20%以下とする。

#### 4.1.5. マトリックス効果

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れる。

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 の精度は、個体間で 15%以下でなければならない。

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、マトリックス効果の評価できる。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。

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トリックスを使用してよい。

#### 4.1.6. キャリーオーバー

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である。

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 5%以下でなければならない。

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ないような手段を考慮する。

#### 4.1.7. 希釈の妥当性

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えないことを確認する。

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にブランクマトリックスで希釈する場合、実試料分析における希釈方法を考慮した適切な希釈倍率を選択し、それぞれを少なくとも 5 回の繰り返し分析をすることによって評価する。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%以下でなければならない。

試料の希釈に代替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ることが真度又は精度に影響を及ぼさないことを示す。

#### 4.1.8. 安定性

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、溶媒又はマトリックスの種類、容器の材質、保存条件等に留意する。

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）、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、実際の保存期間を上回る期間で評価する。

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。

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安定性を評価する。原則として各濃度における平均真度を指標として、理論値の $\pm 15\%$ 以内でなければならない。なお、分析対象物質の特性等を考慮し、他の指標が科学的により適切に評価できる場合には、当該指標を用いても良い。

#### 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は、パーシャルバ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、分析法の変更の程度とその性質に応じて設定する。

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、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少なマトリックスの使用等が挙げられる。

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様の判断基準を設定する。

#### 4.3. クロスバリデーション

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、又は異なる試験間で使用された分析法を比較する場合に実施される。クロスバリデーションによる比較は、それぞれのフルバリデーション又はパーシャルバリデーションを実施した上で実施する。分析対象物質を添加した同一のQC試料又は実試料を分析し、QC試料の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。

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で少なくとも3回の繰り返し分析によるQC試料の平均真度は、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。