

原理等が異なる分析法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平均真度又は乖離度による基準を設定して評価する。

## 5. 実試料分析

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。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。実試料分析では、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検量線（ブランク試料、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。

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 ; 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) を実施し、分析法の再現性を確認する。

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ーバーを加える。

### 5.1. 検量線

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同様のモデルを用いる。

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、定量下限においては理論値の $\pm 20\%$ 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。

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。

### 5.2. QC 試料

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。

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。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。

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。

### 5.3. ISR (Incurred samples reanalysis)

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、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。

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、並びに生物学的同等性試験で実施される。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。

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。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。

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、再分析値へ置き換える又は棄却してはならない。

## 5.4. キャリーオーバー

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合には、実試料分析中に 4.1.6 と同様の手法を用いてキャリーオーバーを評価し、定量値への影響について考察する。

## 6 注意事項

### 6.1. 定量範囲

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。

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、検量線の定量範囲又は QC 試料の濃度又は数を変更する前に分析した実試料を、これらの変更後に再分析する必要はない。

### 6.2. 再分析

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。

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。

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。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。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分析することは制限されない。

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、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。

### 6.3. クロマトグラムの波形処理

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。

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必要がある。

#### 6.4. システム適合性

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。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検量線及び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。

#### 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。

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。

### 7. 報告書の作成と記録等の保存

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。

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。

#### バリデーション報告書

- バリデーションの要約
- 標準物質に関する情報
- ブランクマトリックスに関する情報
- 分析方法
- バリデーションの評価項目と判断基準
- バリデーションの結果及び考察
- 分析の棄却及びその理由

- 再分析に関する情報
- 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
- 参照する別試験，手順書及び参考文献の情報
- 代表的なクロマトグラム

#### 実試料分析報告書

- 実試料分析の要約
- 標準物質に関する情報
- ブランクマトリックスに関する情報
- 実試料の受領及び保存に関する情報
- 分析方法
- 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
- 実試料分析の結果及び考察
- 分析の棄却及びその理由
- 再分析に関する情報
- 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
- 参照する別試験，手順書及び参考文献の情報
- 必要に応じて代表的なクロマトグラム

#### 関連ガイドライン一覧

- 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日薬食審査発0219第4号（ICH M3(R2)）
- 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
- 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年6月26日医薬審第496号
- 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
- 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）について」等の改正等について，平成24年2月29日
- 6) 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13年6月1日医薬審発第796号
- 7) US FDA: Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation, U.S. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research, Center for Veterinary Medicine(2001)

8) EMA: Guideline on bioanalytical method validation,  
EMA/CHMP/EWP/192217/2009, Committee for Medicinal Products for  
Human Use(2011)

## 用語解説

**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される.

**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面積値 (あるいはピーク高さ値) で表す.

**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.  
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.

**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. 両者の平均に対する両者の差をパーセント表記したもの.

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.

**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.

**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ること.

**クロスバリデーション Cross validation** : 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パーシャルバリデーションを実施した上で実施する.

**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の. 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) から構成される.

**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出する.

**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.

**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分析機器が適切に動作していることを確認すること.

**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, 生体試料中薬物濃度分析に供する試料.

**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(%) = ((定量値) / (理論値)) × 100

**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 (CV) または相対標準偏差 (RSD) のパーセント表記で表される。

精度(%) = ((標準偏差) / (平均値)) × 100

**ゼロ試料 Zero sample** : 内標準物質を添加したブランク試料。

**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摘もある。この指摘を踏まえると、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。

**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) のため量に限りがある場合等, 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。

**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。(附録参照)

**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る真度及び精度で定量することができる最も低い濃度。

**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。

**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。

**特異性 Specificity** : 「選択性」の用語解説を参照。

**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位体でラベル化した物質が用いられる。

**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。



**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立証すること。

**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ックス溶液。

**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。

**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。

**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ックス試料。

**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, 定量下限, 検量線, 真度, 精度, マトリックス効果, キャリーオーバー, 希釈の妥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。

**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。

**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体, 代謝物, 分解産物等。

**分析単位 Analytical run** : 検量線, QC 試料及び実試料等から成る試料群。通常, 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理された一連の試料群 (バッチ) を 1 つの単位として分析する。

**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, 生体試料を前処理することによって得られる。

**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。マトリックス中の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。

**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レスポンスへの影響。

**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。

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

**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単位で投与後試料を再分析すること。

**QC 試料** Quality control (QC) sample : 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. 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.

## 附録 段階的アプローチの利用

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。

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。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、効率的な医薬品の研究開発につながるものと期待される。

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妥当な判断基準を設定することが望ましい。

- 1) Viswanathan, C.T., Bansal, S., Booth, B., DeStefano, A.J., Rose, M.J., Sailstad, J., Shah, V.P., Skelly, J.P., Swann, P.G. and Weiner, R.: *AAPS J.*, 9(1), E30-E42(2007)
- 2) Timmerman, P., Kall, M.A., Gordon, B., Laakso, S., Freisleben, A. and Hucker, R.: *Bioanalysis*, 2(7), 1185-1194(2010)
- 3) US FDA: Guidance for Industry, Safety Testing of Drug Metabolites, U.S. Department of Health and Human Services, FDA, Center for Drug Evaluation and Research(2008)

事 務 連 絡  
平成25年7月11日

各都道府県薬務主管課 御中

厚生労働省医薬食品局審査管理課

「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質疑応答集（Q&A）」について

標記について、別添のとおり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。

## 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質疑応答集 (Q&A)

### 《標準物質（標準品）》

- Q1. 標準物質の有効期間が明らかでない場合には、どのように対応したらよいか？
- A1. 有効期間が設定できない場合には、リテスト日を設定するなどして品質管理を行う。

### 《選択性》

- Q2. 分析法バリデーションで取得する項目として選択性が挙げられているが、特異性とは異なるか？
- A2. 本ガイドラインでは、分析法バリデーションで確認すべき項目として、試料中の他の成分の存在下で分析対象物質等を区別して検出できる能力である「選択性」は、「分析法バリデーションに関するテキスト（実施項目）について」（平成7年7月20日付け薬審第755号厚生労働省薬務局審査課長通知）に記載されている「特異性」に相当する評価項目である。クロマトグラフィーを用いた生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションにおいては、「選択性」という用語が広く使用され、海外の関連ガイドラインでも「選択性 (Selectivity)」という用語が採用されているものである。したがって、既已取得した資料中、特異性という用語が使用されていても、本ガイドラインの選択性に相当する評価項目として取扱うことができる。

### 《安定性》

- Q3. 安定性の評価に平均真度以外の指標を用いることは可能か？
- A3. 安定性の評価には、保存前試料の定量値に与える分析法のばらつきを考慮して、原則として平均真度を用いる。ただし、分析法の精度を考慮してより適切に評価できると考えられる場合には、残存率等の他の指標を用いて安定性を評価しても良い。安定性の評価に残存率等を用いる場合にも、評価方法及び判断基準を事前に当該分析実施に関する計画書又は手順書に設定する。

Q4. 凍結融解安定性はどのように評価したらよいか？

A4. QC 試料を目的の温度で凍結保存した後、実試料の取扱いと同じ条件で融解させる。完全に融解したことを確認した後に、同じ条件で再凍結させる。凍結保存の時間は 12 時間以上とする。凍結から融解までの一連の操作を 1 回とし、実試料での凍結融解の回数と同じ、又はそれ以上の回数を繰り返した後分析を行い、理論値に対する真度が  $\pm 15\%$  以内であるときに安定であると判断する。

《クロスバリデーション》

Q5. 異なる試験間で使用された分析法を比較する場合とは、どのような場合か？

A5. 測定原理の異なる分析法（例えば LC-MS/MS 法と ELISA 法）を比較する場合等が想定される。その場合、分析法の性質を考慮した上で、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平均真度又は乖離度による基準を設定して評価することが必要となる。

なお、異なる試験間において軽微な変更を施した同一の測定原理の分析法を用いる場合には、通常パーシャルバリデーションで分析法変更の妥当性を確認しているため、クロスバリデーションを実施しないことが多い。

Q6. 判断基準が「各濃度における平均真度が原則として理論値の  $\pm 20\%$  以内」となっている理由はあるか？

A6. 本ガイドラインでは分析法における平均真度において、理論値の  $\pm 15\%$  であることを求めている。クロスバリデーションにおいては、さらに室内及び室間再現精度の要素が加わることから、判断基準を  $20\%$  とした。

なお、同一試験から得られる実試料を複数の施設で分析する場合には、分析法バリデーションとは別に、実試料や標準物質の取扱いを当該分析実施に関する計画書または手順書で規定する等、実試料分析においても施設間差を最小限にすることの配慮が必要である。

《ISR》

Q7. 尿試料の ISR は必要か？

A7. 血中に薬物が検出されないため、尿中濃度を重要なエンドポイントとする生物学的同等性試験等では、尿試料についても ISR は必須である。いずれにせよ、尿中濃度の意義を考慮して ISR の実施の要否を判断する。

Q8. トキシコキネティクス試験の ISR はどのように実施したらよいか？

A8. トキシコキネティクス試験の場合には、1 動物種、1 マトリックスあたり、1 回 ISR を実施すれば良い。ただし、分析方法に変更があった場合、分析施設が変わった場合などは改めて ISR を実施する。

トキシコキネティクス試験に先立って行われる用量設定試験等の非 GLP 試験から得られる実試料を用いて、分析法バリデーション試験の中で ISR を実施する方法も認められる。ただし、この場合には、用量や投与方法等の試験デザインが GLP 試験と同等であることが求められる。

Q9. 臨床試験において、ISR はどのように実施したらよいか？

A9. ISR は薬物動態を主要なエンドポイントする代表的な試験で実施される。分析法の妥当性を早期に評価するために、なるべく医薬品開発の早い段階で実施する。

マトリックスの組成に差があると考えられる被験者群の臨床試験においては再度 ISR を実施する。また、薬物動態学パラメータが主要評価項目となる生物学的同等性試験では、試験ごとに ISR を実施する。

Q10. 臨床試験において、分析法バリデーションを行う際に既に臨床試験から取得した実試料が存在する場合には、それを ISR の試料として利用できるか？

A10. 代謝物を分析対象物質として追加する場合や ISR の基準を満たさず分析法を改良して再分析を行う場合等、分析法バリデーションを行う際に既に臨床試験から取得した実試料が存在する場合には、それを ISR の試料として利用することができる。ただし、このような場合でも実試料の提供者への同意取得は必須であり、ISR の実施の手順等はあらかじめ定めておかなければならない。

Q11. ISR 全体として判断基準を満たしている場合に、乖離度が±20%以内との判断基準を逸脱した個別の実試料について、再分析は必要か？

A11. ISR の目的は実試料を用いた分析法の妥当性の確認である。このため、個別の乖離度で±20%を超える実試料があった場合にも、全体として ISR の判断基準を満たしている場合には再分析を実施する必要はない。

Q12. ISR の結果は報告書のどこに記載すべきか？

A12. 実試料分析においては ISR を実施した場合には実試料分析報告書における分析法の妥当性に関する結果として、分析法バリデーションにおいては ISR を実施した場合にはバリデーション報告書におけるバリデーションの結果として ISR の結果を報告し、分析法の妥当性について考察をする。

《実試料分析でのキャリーオーバー》

Q13. 分析法バリデーションでキャリーオーバーを検証しているのに、実試料分析でも評価を繰り返す必要はあるか？

A13. キャリーオーバーの程度は、分析機器の状態や測定試料数などによって変化すると考えられる。このため、分析法バリデーションで妥当性が確認された後でも、キャリーオーバーについては注意を払う必要がある。特に分析法バリデーションにおいてキャリーオーバーの回避が困難であった分析法については、実試料分析においても、適宜キャリーオーバーを評価することが望ましい。

なお、実試料分析の報告書内で測定単位毎のキャリーオーバーについて報告する必要はない。

《再分析》

Q14. 薬物動態学的な理由での再分析ではどのようなことに注意すべきか？

A14. 薬物動態学的な理由等、取得した分析結果を理由とした再分析は、客観性を維持することが難しいため、可能な限り実施しないことが望ましい。このような再分析を実施する場合には、再分析を行う実試料の選定についても、必要に応じて前後の採血時点の実試料を含めるなど、慎重に行うべきである。加えて、再分析における繰り返し分析の回数や採用値の選択方法等の手順をあらかじめ計画書又は手順書等で定めてお



く必要がある。

生物学的同等性試験等、生体試料中の濃度が重要なエンドポイントとなる試験においては、原則、取得した分析結果を理由とした再分析は認められない。ただし、定量値の入れ替えを想定しない、原因追及や検証を目的とした再分析の実施を妨げるものではない。

《その他》

Q15. 内因性物質の分析法バリデーションはどのように行えば良いか？

A15. ビタミンやアミノ酸などの内因性物質を薬剤として投与する場合の生体試料中濃度分析法のバリデーションは、本ガイドラインで定める内容を実施することが適当ではない項目もあるために本ガイドラインの対象とはならないが、本ガイドラインの内容を参考に必要なバリデーションを実施することが望ましい。

内因性物質の生体試料中濃度分析には、適切な代替マトリックスを使用しても差し支えない。ただし、分析法バリデーションにおいて、使用した代替マトリックスの妥当性を示す必要がある。

事 務 連 絡  
平成25年9月13日

各都道府県薬務主管課 御中

厚生労働省医薬食品局審査管理課

「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」等の英文版の送付について

標記について、別添1及び2のとおり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。

別添1 Guideline on Bioanalytical Method Validation in Pharmaceutical Development  
別添2 Questions and Answers (Q&A) for the Guideline on Bioanalytical Method  
Validation in Pharmaceutical Development

**Guideline on Bioanalytical Method Validation in  
Pharmaceutical Development**

## **Table of Contents**

### **1. Introduction**

### **2. Scope**

### **3. Reference Standard**

### **4. Analytical Method Validation**

#### **4.1. Full validation**

##### **4.1.1. Selectivity**

##### **4.1.2. Lower limit of quantification**

##### **4.1.3. Calibration curve**

##### **4.1.4. Accuracy and precision**

##### **4.1.5. Matrix effect**

##### **4.1.6. Carry-over**

##### **4.1.7. Dilution integrity**

##### **4.1.8. Stability**

#### **4.2. Partial validation**

#### **4.3. Cross validation**

### **5. Analysis of Study Samples**

#### **5. 1. Calibration curve**

#### **5. 2. QC samples**

#### **5. 3. Incurred samples reanalysis (ISR)**

#### **5. 4. Carry-over**

### **6. Points to note**

#### **6.1. Calibration range**

#### **6.2. Reanalysis**

#### **6.3. Chromatogram Integration**

#### **6.4. System suitability**

#### **6.5. Recovery**

### **7. Documentation and Archives**

### **List of Relevant Guidelines**

### **Glossary**

### **Annex**