

3. The acceptance criteria for the quantitation of large molecules by LCMS should be similar to or stringent/tighter than those of LBA. The choices of instruments (HRMS or triple quadrupole), ISs (SIL-intact protein or SIL-flanked peptide), extraction techniques, and signature peptide should all be thoroughly evaluated to optimize method performance. As the parallel development of LBA and LCMS assay strategies is not preferred, cross-validation between LBA and LCMS is generally not recommended.

### Acknowledgements

The authors would like to acknowledge the US FDA, Europe EMA, Health Canada, The Netherlands MEB, Brazil ANVISA, Japan MHLW and UK MHRA for supporting this workshop. L Stevenson (Biogen Idec Inc.) for her major contribution in coordinating this White Paper for the biotherapeutics part. B DeSilva (Bristol-Myers Squibb), L Amaravadi (Biogen Idec Inc.), M Brudny-Kloppel (Bayer Pharma AG), A Musuku, (Pharmascience) and F Garofolo (Algorithme Pharma Inc.) for chairing the workshop. L Stevenson (Biogen Idec Inc.) and M Rocci (ICON Development Solutions) for chairing the White Paper discussions. All the workshop attendees and members of the bioanalytical community who have sent comments

and suggestions to complete this White Paper. I Dumont, S Martinez, C Dicaire, L Wright, L Mayrand-Provencher, M Losauro for collecting the workshop minutes and preparing the first draft of this White Paper. W Garofolo (Meeting Coordinator) for the logistic organization of the event. Future Science Group as a trusted partner.

### Disclosure

The views expressed in this article are those of the authors and do not reflect official policy of the US FDA, EU EMA, Health Canada, MEB (The Netherlands), ANVISA (Brazil), MHLW (Japan) and MHRA (UK). No official endorsement by the FDA, EU EMA, Health Canada, MEB, ANVISA, MHLW or MHRA is intended or should be inferred.

### Financial & competing interests disclosure

The authors have no relevant affiliations or financial involvement with any organization or entity with a financial interest in or financial conflict with the subject matter or materials discussed in the manuscript. This includes employment, consultancies, honoraria, stock ownership or options, expert testimony, grants or patents received or pending, or royalties.

No writing assistance was utilized in the production of this manuscript.

### References

- Savoie N, Booth BP, Bradley T *et al.* 2008 White Paper: the 2nd calibration and validation group workshop on recent issues in good laboratory practice bioanalysis. *Bioanalysis* 1(1), 19–30 (2009).
- Savoie N, Garofolo F, van Amsterdam P *et al.* 2009 White Paper on recent issues in regulated bioanalysis from the 3rd calibration and validation group workshop. *Bioanalysis* 2(1), 53–68 (2010).
- Savoie N, Garofolo F, van Amsterdam P *et al.* 2010 White Paper on recent issues in regulated bioanalysis and global harmonization of bioanalytical guidance. *Bioanalysis* 2(12), 1945–1960 (2010).
- Garofolo F, Rocci M, Dumont I *et al.* 2011 White Paper on recent issues in bioanalysis and regulatory findings from audits and inspections. *Bioanalysis* 3(18), 2081–2096 (2011).
- DeSilva B, Garofolo F, Rocci M *et al.* 2012 White Paper on recent issues in bioanalysis and alignment of multiple guidelines. *Bioanalysis* 4(18), 2213–2226 (2012).
- Lowes S, Jersey J, Shoup R *et al.* Recommendations on: internal standard criteria; stability; ISR and recent 483s by the Global CRO Council (GCC) for Bioanalysis. *Bioanalysis* 3(12), 1323–1332 (2011).
- Lee JW, Devanarayan V, Barrett YC *et al.* Fit-for-purpose method development and validation for successful biomarker measurement. *Pharm. Res.* 23(2), 312–328 (2006).
- Breda M, Garofolo F, Caturla MC *et al.* The 3rd Global CRO Council (GCC) for bioanalysis at the international reid bioanalytical forum. *Bioanalysis* 3(24), 2721–2727 (2011).
- Houghton R, Gouty D, Allinson J *et al.* Recommendations on biomarker bioanalytical method validation by GCC. *Bioanalysis* 4(20), 2439–2446 (2012).
- O'mara M, Hudson-Curtis B, Olson K *et al.* The effect of hematocrit and punch location on assay bias during quantitative bioanalysis of dried blood spot samples. *Bioanalysis* 3(20), 2335–2347 (2011).
- Jonsson O, Villar RP, Nilsson LB *et al.* Capillary microsampling of 25 µl blood for the determination of toxicokinetic parameters in regulatory studies in animals. *Bioanalysis* 4(6), 661–674 (2012).
- Hamilton RA, Garnett WR, Kline BJ. Determination of mean valprolic acid serum level by assay of a single pooled sample. *Clin. Pharmacol. Ther.* 29(3), 408–413 (1981).
- Ji AJ, Jiang Z, Livson Y, Davis JA *et al.* Challenges in urine bioanalytical assays: overcoming nonspecific binding. *Bioanalysis* 2(9), 1573–1586 (2010).
- Ewles M, Goodwin L. Bioanalytical approaches to analyzing peptides and proteins by LCMS/MS. *Bioanalysis* 3(12), 1379–1397 (2011).
- ANVISA. *Manual for Good Bioavailability and Bioequivalence Practices*. Brazilian Sanitary Surveillance Agency, Brazil (2003).
- EMA, Committee for Medicinal Products for Human Use. *Draft Guideline on Validation of Bioanalytical Methods*. London, UK (2009).
- EMA, Committee for Medicinal Products for Human Use. *Guideline on bioanalytical method validation*. London, UK (2011).
- ANVISA. Resolution RDC no. 27, May 17, 2012. Brazilian Health Surveillance Agency, Brazil (2012).

- 19 DeSilva B, Smith W, Weiner R *et al.* Recommendations for the bioanalytical method validation of ligand-binding assays to support pharmacokinetic assessments of macromolecules. *Pharm. Res.* 20, 1885–1900 (2003).
- 20 Rodbard D, Feldman Y, Jaffe ML *et al.* Kinetics of two-site immunoradiometric (sandwich) assays-II. *Immunochem.* 15, 77–82 (1978).
- 21 Kelley M, Ahene AB, Gorovits B *et al.* Theoretical considerations and practical approaches to address the effect of anti-drug antibody (ADA) on quantification of biotherapeutics in circulation. *AAPS J.* 15(3), 646–658 (2013).
- 22 Lee J, Kelley M, King L *et al.* Bioanalytical approaches to quantify “total” and “free” therapeutic antibodies and their targets: technical challenges and PK/PD applications over the course of drug development. *AAPS J.* 13(1), 99–110 (2011).
- 23 Gupta S, Devanarayan V, Finco D *et al.* Recommendations for the validation of cell-based assays used for the detection of neutralizing antibody immune responses elicited against biological therapeutics. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 55, 878–888 (2011).
- 24 Kaur S, Xu K, Saad OM *et al.* Bioanalytical assay strategies for the development of antibody-drug conjugate biotherapeutics. *Bioanalysis* 5(2), 201–226 (2013).
- 25 Gorovits B, Alley SC, Bilic S *et al.* Bioanalysis of antibody-drug conjugates: American Association of Pharmaceutical Scientists Antibody-Drug Conjugate Working Group position paper. *Bioanalysis* 5(9) 997–1006 (2013).
- 26 US Department of Health and Human Services, US FDA, Center for Drug Evaluation and Research. *Guidance for Industry, Investigators, and Reviewers. Exploratory IND Studies.* FDA, Rockville, MD, USA (2006).
- 27 Ramagiri S, Garofolo F. Large molecule bioanalysis using Q-TOF without predigestion and its data processing challenges. *Bioanalysis* 4(5), 529–540 (2012).
- 28 Morin LP, Mess JN, Garofolo F. Large-molecule quantification: sensitivity and selectivity head-to-head comparison of triple quadrupole with Q-TOF. *Bioanalysis* 5(10), 1181–1193 (2013).

## 《最近のトピックス》



## 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

香 取 典 子\* Noriko Katori

国立医薬品食品衛生研究所薬品部

### 1. はじめに

バイオアナリシスとは生体試料中の薬物分析のことであり、薬物動態 (PK) 試験, トキシコキネティクス (TK) 試験および生物学的同等性 (BE) 試験の際には, その分析結果の信頼性を担保するためにきわめて重要である。しかし, 長らく日本ではバイオアナリシス分析法バリデーション (Bioanalytical Method Validation, BMV) が大きな議論の対象として注目を集めてこなかった歴史があり, バイオアナリシスフォーラム (JBF) [<http://bioanalysisforum.jp/>] が設立された 2011 年 8 月から, 初めて日本における本格的な規制バイオアナリシスの議論が始まったと言っても過言ではない。そして, JBF の多大な貢献により, 我が国においても 2013 年 4 月にクロマトグラフィー (低分子) を対象とする BMV ガイドライン「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)」<sup>1)</sup>の意見募集が行われた。

ここでは, JBF の活動を追いながら日本における BMV の状況について述べたいと思う。

### 2. JBF 設立までの状況

すでに海外では分析法の信頼性に関して BMV という概念が確立され, 米国では 2001 年にアメリカ食品医薬品局 (FDA) の BMV ガイドライン, EU では 2011 年に欧州医薬品庁 (EMA) ガイドラインがそれぞれ発出されているが, 日本では出されている分析法バリデーションの行政文書は, 長らく原薬・製剤の品質試験を念頭に置いた「分析法バリデーションに関するテキスト」(1997 年, ICH Q2A, B) のみであり, バイオアナリシスには十分に対応していなかった (表 1)。

さらに, 民間国際団体グローバル・バイオアナリシス・コンソーシアム (GBC) [<http://www.globalbioanalysisconsortium.org/>] は国際共通ガイドライン案作成を目標とし, 2010 年中頃から日本の薬学会に参加を促すアプローチを行った。また, 2011 年 1 月に上海で規制バイオアナリシスに関するアジア太平洋ワークショップが開催され, 日本からも少なからぬ人数の参加者があった。この状況に危機感を抱いた参加メンバーにより日本における規制バイオアナリシスを議論する場の必要性が確認され, 産官学が協力して必要な議論を行うための場が, JBF という形で 2011 年の 8 月に立ち上げられた (表 2)。

### 3. JBF 設立から第 3 回シンポジウムまで

第 1 回の JBF シンポジウム<sup>2)</sup>が 2011 年 8 月 10 日に開かれ, この日が JBF 設立の日とされた。約 200 名という予想を超える参加者を迎え, 盛んな議論がなされた。それまで規制バイオアナリシスに関

\*1980 年 3 月に東北大学大学院薬学研究科を修了し国立医薬品食品衛生研究所に勤務する。薬品部に所属し医薬品の品質規格, 薬物動態などの研究に携わる。2011 年 4 月より薬品部第三室長となり現在に至る。特に, 医薬品等の品質確保のための医薬品の品質システム等, バイオアナリシスガイドラインの制定, PIC/S 等の国際調和に関する研究を行っている。連絡先: 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1 E-mail: katori@nihs.go.jp

表1 日本および欧米における BMV 関連文書

Year	日本	欧米
1991～1992	薬物動態試験ガイドライン (1991)	Shah et al. "Analytical Methods Validation: ..." Pharm. Res., 9, 588-592 AAPS/FDA/FIP/HPB/AOAC (1992)
1996～1998	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 (ICH S3A, 1996) 分析法バリデーションに関するテキスト (ICH Q2A, B, 1997) 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 (Ordinance of MHLW, 21th, 1997) 後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン (1997, Q&A, 1998) 臨床試験の一般指針について (医薬審第 380 号 ICH E 8, 1998) 非臨床薬物動態試験ガイドライン (医薬審第 496 号, 1998)	OECD principle of GLP (1997, revised) ICH Q2A, B ICH E 8
2001	医薬品の臨床薬物動態試験について (医薬審発第 796 号, ICH E8 の参考資料)	FDA, Guidance for Industry (Bioanalytical method validation)
2007～2009	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の一部を改正する省令 (厚生労働省令第 114 号, 2008) 医薬品 GLP 又は医療機器 GLP の実地による調査の実施要領の制定について (薬機発第 0815007 号及び薬機発第 0815008 号, 2008)	AAPS/FDA, White Paper (2007) EMA/CHMP, Draft Guideline on Validation of Bioanalytical Methods (2009) WHO GCLP (Japanese version, by JQA)
2010～2012	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)) 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 「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, 事務連絡	EMA/CHMP, Guideline on Validation of Bioanalytical Methods (September 2011)

して議論の場を持たなかった非臨床および臨床薬物動態関係者にとって, JBF シンポジウムは初めて本格的な議論を行える場であった。これらの議論の盛り上がりに対応するように, 厚生労働省が日本版 BMV ガイドラインを作成するための母体となる研究班を立ち上げた。

続いて半年後の 2012 年 3 月 8 日には第 2 回 JBF シンポジウム<sup>3)</sup>が催され, 海外からの講演者が招聘された。JBF では国内におけるガイドライン作成への貢献だけでなく, 海外の関連団体, GBC, EBF (European Bioanalysis Forum), さらに最近結成された CBF (China Bioanalysis Forum) と常に関わっており, 国際的な発信力を有している (図 1)。これら JBF の影響力を重視した日本薬学会・物理系薬学部会は, 2012 年の第 25 回バイオメディカル分析

科学シンポジウム (BMAS2012) を第 3 回 JBF シンポジウムとの共催とした。

#### 4. 第 3 回 JBF シンポジウムについて

第 3 回 JBF シンポジウムは「バイオアナリシスにおける国際調和の動き」と題して 3 名の海外からの演者を招き, 今里真実氏 (ノバルティス ファーマ) を大会委員長として開催された (表 3)。

シンポジウムでは, 初めに JBF 代表である奥田晴宏氏 (現国立医薬品食品衛生研究所副所長) が挨拶に立ち, 次に大津善明氏 (JBF 副代表, アステラス) が JBF の活動報告を行った。氏は JBF の運営委員会メンバーが 26 名 (製薬企業 14 名, CRO 7 名, 大学 3 名, 行政 2 名) であり, 産官学の全ての分野から参加し, 活動していることを述べた。

表2 JBF 発起人

代表発起人	黒川 達夫 (慶應義塾大学薬学部教授, GBC Steering Committee)
メンバー	
薬学会	升島 努 (広島大学教授) 萩中 淳 (武庫川女子大学教授)
新薬メーカー	中山 聡 (味の素製薬株式会社)
	大津 善明 (アステラス製薬株式会社)
	大住 孝彦 (大塚製薬株式会社)
	八幡 憲治 (サノフィ・アベンティス株式会社)
	小林 信博 (第一三共株式会社)
	近藤 孝浩 (武田薬品工業株式会社)
	神野 文宏 (武田薬品工業株式会社)
	米山 智城 (武田薬品工業株式会社)
	間瀬 雅成 (田辺三菱製薬株式会社)
	松丸 剛久 (日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社)
原 久典 (Novartis Pharma AG)	
ジェネリックメーカー	立木 秀尚 (東和薬品株式会社)
CRO	谷口 昌広 (株式会社住化分析センター)
	井上 則子 (株式会社 JCL バイオアッセイ)
行政	香取 典子 (国立医薬品食品衛生研究所)

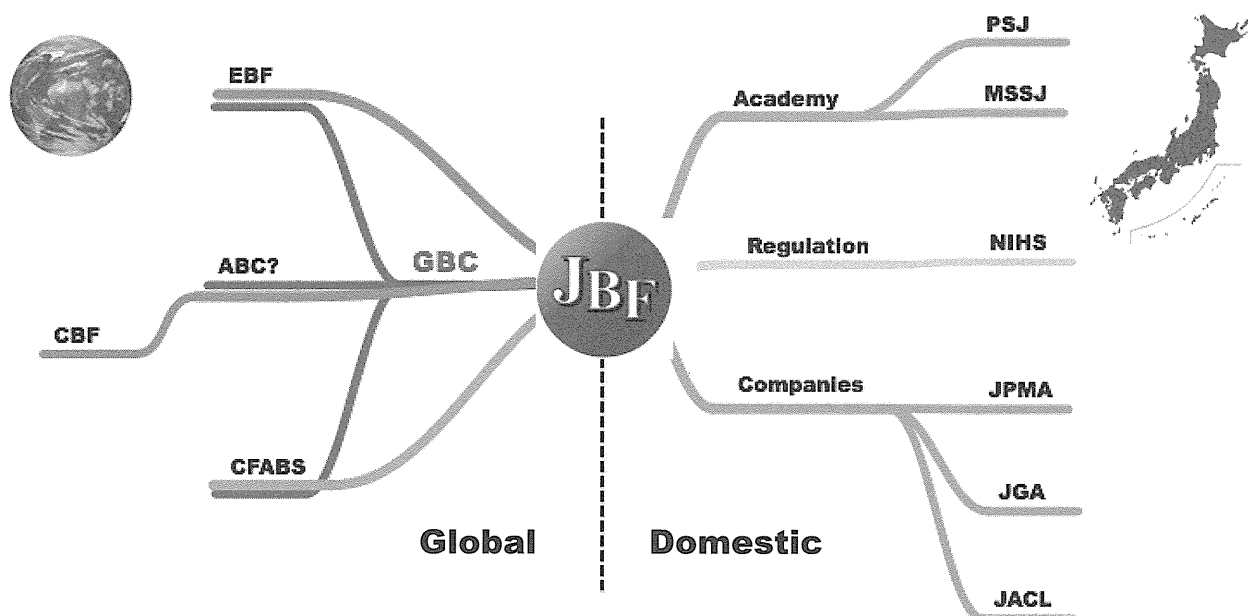


図1 JBF と国内及び海外の関連団体

続いて、GBC 運営委員会 (GBC-SC) 委員の工藤忍氏 (島津テクノロジー) が座長となり、3名の海外演者の講演がなされた。Michaela Golob氏 (GBC-SC, EBF, Merck-Serono, Germany) はリガンド結合法 (Ligand Binding Assay, LBA) の最新のトピックについて、EMA ガイドラインとの関連性を絡めながら発表した。次の海外演者の Fabio

Garofolo 氏 (GBC-SC, Algorithm Pharma, Canada) は規制バイオアナリシスに関するグローバルな議論の最新動向について、「The 6th Workshop on Recent Issues in Bioanalysis」での討議内容に則して発表した。最後の Daniel Tang 氏 (CBF, GBC-SC, Icon Development Solutions, China) は中国における規制バイオアナリシスの現状と SFDA

表3 第3回JBFシンポジウムプログラム

概要	日時：2012年8月8日(水) 9:30~17:50
	場所：慶應義塾大学薬学部 芝共立キャンパス
開会の挨拶	奥田 晴宏 (国立医薬品食品衛生研究所, JBF 代表)
1. JBF 活動報告	大津 善明 (アステラス製薬株式会社)
2. 招待講演	座長：工藤 忍 (株式会社島津テクノリサーチ)
招待講演 1:	“Current topics on regulated bioanalysis in the Ligand Binding Assay area, such as the EMA guideline” Michaela Golob (European Bioanalysis Forum, GBC-SC, Merck-Serono)
招待講演 2:	“Updates on Global Harmonization of Bioanalytical Guidance/Guidelines and Current Hot Topics in Regulated Bioanalysis: Impact of Hemolysis on Drug Stability” Fabio Garofolo (Canadian Forum for Analytical and Bioanalytical Sciences, GBC-SC, Algorithme Pharma)
招待講演 3:	“Regulated Bioanalysis in China” Daniel Tang (Shanghai/Beijing Bioanalytical Discussion Group, GBC-SC, Icon Development Solutions, APAC)
3. GBC 進捗報告	中井 恵子 (三菱化学メディエンス株式会社), 大住 孝彦 (大塚製薬株式会社), 谷口 佳隆 (株式会社東レリサーチセンター)
4. ポスターセッション	GBC Harmonization Team
5. 総合討論	司会進行：間瀬 雅成 (田辺三菱製薬株式会社), 松丸 剛久 (日本ベーリンガーインゲルハイム株式会社)
閉会の挨拶	萩中 淳 (武庫川女子大学教授, JBF 顧問)
総合司会	今里 真実 (ノバルティス ファーマ株式会社)

の動向について発表した。これらの演者の発表内容は他の国内の学会等ではなかなか得られないものであり、本シンポジウムの重要性を示したものであった。

また、第3回JBFシンポジウムではポスターセッションが行われ、GBCで各論を議論するハーモナイゼーション・チーム (HT) への参加メンバーから、各HT毎の議論の経過について発表が行われた。HTは大きくA (all molecule), S (small molecule), L (large molecule) と全部で20にわかれており、その全てのチームに日本人が1名参加している (表4)。2011年に開始されたHTメンバーの募集には、東日本大震災の直後にもかかわらず、多くの企業から意欲的な参加が行われた。そのポスターセッションは盛況で、ポスターの前は多くの人であふれかえり、海外からの演者も熱心な議論を見て感銘を受けたということである。また、これらの議論はまとめられ、パネルディスカッションという形で共有された。最後に閉会の挨拶を武庫川女子大学の萩中淳教授 (JBF 顧問) が行い、シンポジウムは終了した。このカンファレンスレポート<sup>4)</sup>は雑誌 Bioanalysis

に掲載された。

また、JBFシンポジウムに加え、BMAS2012では「日本のバイオアナリシスにおけるレギュラトリーの現状」と題したミニシンポジウムが行われ、厚生労働省の光岡俊成氏、国立医薬品食品衛生研究所の香取典子、日本製薬工業協会の角尾浩幸氏らの講演があり、行政サイドおよび産業界からのバイオアナリシスの現状と将来の展望について意見が述べられた。さらに慶應大薬学部の黒川達夫教授から「Bio-analysisに期待される役割とRegulatory Science」と題する依頼講演がなされた。

#### 5. BMVガイドライン日本版作成への協力

厚生労働省は、2011年10月にBMVガイドライン案を作成するための研究グループ (BMV研究班) を立ち上げ、その方向性を議論し、JBFに原案の作成を依頼した (図2)。

BMV研究班よりBMVガイドライン素案作成の依頼を受けたJBFは、直ちにJBFガイドラインタスクフォース (GL-TF) を結成した。GL-TFのメンバーは、BMV研究班のメンバーでもある5名で結成

表4 第3回 JBF シンポジウム, GBC Harmonization Team ポスターセッション: 演題・発表者一覧

HT	日本人メンバー
A1: Scope and regulations	荒川 朋子 (ファイザー株式会社)
A2: Tiered approaches for method validation	米山 智城 (武田薬品工業株式会社)
A3: Method transfer, partial/cross validations	間瀬 雅成 (田辺三菱製薬株式会社)
A4: Reference standards and reagents	大住 孝彦 (大塚製薬株式会社)
A5: Sample Management	五十嵐 春江 (グラクソ・スミスクライン株式会社)
A6: Stability	大津 善明 (アステラス製薬株式会社)
A7: Repeat analysis and ISR	谷口 昌広 (株式会社住化分析センター, SCAS-BTT Bioanalysis Co., Ltd.)
A8: Documentation	原 久典 (Novartis Pharma AG)
A9: Analytical Instrument quantification	丹羽 誠 (日本化薬株式会社)
A10: New frontiers	中井 恵子 (三菱化学メディエンス株式会社)
A11: Biomarkers	山本 有一 (ファイザー株式会社), 久世 洋司 (武田薬品工業株式会社)
S1: Small molecule specific run acceptance	井上 則子 (株式会社 JCL バイオアッセイ)
S2: Small molecule specific assay operation	富樫 一天 (株式会社住化分析センター)
S3: Chromatographic run quality assessment	駒場 淳二 (小野薬品工業株式会社)
L1: Large molecule specific run acceptance	山本 勝彦 (協和発酵キリンカリフォルニア)
L2: Large molecule specific assay operation	南出 善幸 (株式会社島津テクノリサーチ)
L3: Assay formats	谷口 佳隆 (株式会社東レリサーチセンター)
L4: Reagents and their stability link with tiered approach	今里 真実 (ノバルティス ファーマ株式会社)
L5: Automation practices in LM bioanalysis	中村 隆広 (株式会社新日本科学)
L6: Immunogenicity (effect on PK)	曾根原 和彦 (株式会社住化分析センター)

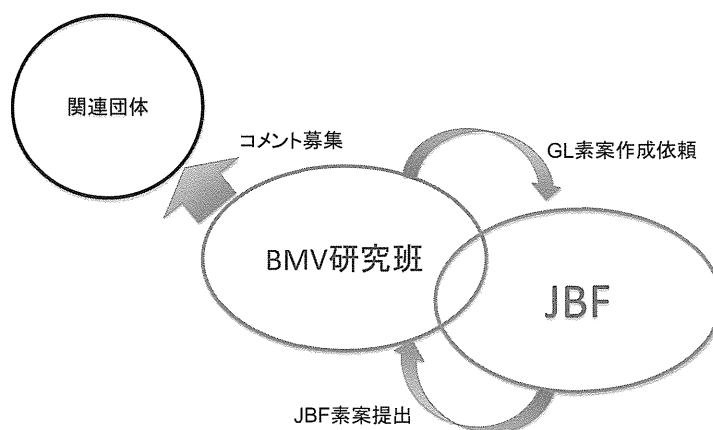


図2 BMV 研究班と JBF のガイドライン作成に関する役割

され、速やかに素案の作成に取りかかった。なお、最初の BMV 指針の素案作成に関しては、低分子化合物に対するクロマトグラフィーを用いた分析法を対象としたバリデーションおよび実試料分析を適用範囲とした。また、素案の作成には、国際調和の観点から、すでに発出済みの FDA ガイダンスや EMA ガイドラインとの整合性も踏まえ、本文の記載内容

は必要最小限の骨子とし、本文以外の詳細な解説は Q&A へ盛り込むことが計画されている。

JBF GL-TF は、メールや電話会議による議論を中心にたたき台を作成し、JBF メンバーのメールベースでのレビューも参考にしながら、2012年3月、BMV 研究班へ「日本版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 (JBF 素案)」<sup>5)</sup>を

提出した。半年という作成期間はこのようなガイドラインにおいては異例の早さであり、関係者の精力的な働きで達成されたと思われる。作成されたJBF素案は、日本製薬工業協会、日本ジェネリック製薬協会、安全性試験受託研究機関協議会などの関連団体に配布され、意見の募集がなされた。その後、BMV研究班において集められたコメントを参考に、1年近くにわたり十分な内容の検討がなされた上で、指針のドラフト版を公表し、パブリックコメントの募集<sup>1)</sup>を行った。現在、LBAを対象としたガイドライン案の作成が進行中である。今後は高分子LC/MSおよびバイオマーカーなどを対象としたBMVガイドラインの検討が予定されている。

## 6. JBF を取り巻く状況

JBFでは引き続き日本におけるガイドライン作成への協力を行いつつ、国内における規制下定量バイオアナリシスの議論の場を確立する目的で、様々な問題点について項目を掘り下げて議論を行うディスカッショングループ(DG)の準備を進めており、現在3つのDGが試行されている。2013年8月の第4回JBFシンポジウムは再びBMASとの共催で行われる予定であるが、主な議題の一つは試行中のDGからの報告が準備されている。さらに第5回JBFは単独開催であるが、規制当局を含めた海外からの演者を招き、グローバルシンポジウムとされることになっている。

## 7. おわりに

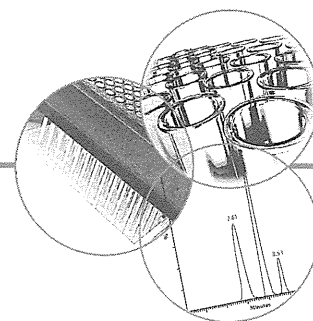
日本におけるBMVガイドラインの「開始、スタート」は決して早いものではなかったが、低分子/LCを対象としたガイドラインがほぼ完成し、続いてLBAを対象としたガイドラインもゴールが近づいている。今後は、高分子/LCやバイオマーカーなどを対象としたガイドラインも射程距離内に入っており、JBFの協体制度がキーポイントになると共に、規制当局とのコミュニケーションを軸とした活動もますます重要性を増してくると思われる。

## 引用文献

- 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(案)」に関するご意見・情報の募集について。 <http://www.nihs.go.jp/drug/BMV/index-j.html>
- 2) 大津善明, 生体試料中薬物濃度分析に関する規制の世界調和とJBFの発足, *ぶんせき*, **1**, 52 (2012).
- 3) 富樫一天, 第2回バイオアナリシスフォーラムシンポジウムカンファレンス・レポート—規制バイオアナリシスの国際調和と国内ガイドラインの状況について—, *Chromatography*, **33** (2), 117–121 (2012).
- 4) M. Imazato, Conference Report: International harmonization of bioanalysis regulation: discussion in Global Bioanalysis Consortium harmonization teams, *Bioanalysis*, **5** (3), 281–283 (2013). <http://www.future-science.com/doi/pdf/10.4155/bio.12.323>
- 5) 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, 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, *医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス*, **43** (8), 750–760.



For reprint orders, please contact [reprints@future-science.com](mailto:reprints@future-science.com)



## Regulated bioanalysis in Japan: where do we come from and where are we going?

*“Japan had a late start in regulated bioanalysis; fortunately, however, by a great deal of effort by the people in this area (e.g., the Japan Bioanalysis Forum), the first guideline was finalized within a shorter period than expected ... Our next step will be setting a wider area for discussion of regulated bioanalysis in Japan.”*

**Keywords:** bioanalytical method validation ■ Japan Bioanalysis Forum ■ Japanese regulations ■ method validation guidelines

The first draft guideline for chromatographic small-molecule analysis is scheduled to be published in the first quarter of 2013 [101]. Then, a draft guideline on ligand binding assays (LBAs) is expected to be issued towards the end of March 2014. The Japanese guidelines are categorized, not by molecular size, but by analytical methods. The Japan Bioanalysis Forum (JBF) [102], the first scientific group dedicated to regulated bioanalysis in Japan, was inaugurated in early 2011, which participates in collaboration with the bioanalytical method validation (BMV) study group in the Ministry of Health, Labor and Welfare (MHLW), for the elaboration of the Japanese guidelines for BMV. The history of discussion around regulated bioanalysis, the preparation process of the Japanese BMV guidelines and the future direction are as follows.

### Recent history of regulated bioanalysis in Japan

Regulated bioanalysis has been discussed in Japan since the 1990s. Although there was no society specialized for the regulated bioanalysis in Japan, seminars and ad-hoc symposia were held, as well as several books being published. In the late 2000's, one of the major milestones for regulated BMV in Japan was the workshop titled 'Discussion on AAPS/US FDA White Paper for bioanalytical method validation' held in The 56th Annual Conference on Mass Spectrometry (Tsukuba, Japan) in 2008, where Viswanathan (UD FDA) was invited. The concept of ISR in the AAPS/FDA White Paper gave Japanese bioanalysts an impact [1]. After the symposium, the interest towards regulated BMV increased in Japan, year by year.

The organization of the Global Bioanalysis Consortium (GBC) [103] and the First Asia Pacific Conference on Recent Issues in Regulated

Bioanalysis (Shanghai, China) [104], knocked on the next door and triggered a formation of the first, and only, association for scientific discussion of regulated bioanalysis and BMV in Japan; the JBF, which has helped to assign Japanese representatives for the Harmonization Team (HT) in the GBC. Despite the great East Japan Earthquake in March 2011, many Japanese bioanalysts (or scientists) applied to the HTs of the GBC with willingness. At the same time, the JBF created a discussion group to support all Japanese HT members in the GBC. The first Symposium of the JBF was held in August 2011 in Tokyo, and full-fledged discussions of regulated bioanalysis have also started in Japan. Till now, the JBF symposia have been held every 6 months. The conference report of the 3rd JBF symposium was published by Imazato [2].

Responding to the enthusiastic discussion around BMV, the Japanese regulatory authority prepared a study group in which BMV has been discussed among regulatory sides and companies in September 2011. The BMV study group consists of members from Japanese pharmaceutical and CRO associations, regulators and the representatives of the JBF – five members representing three organizations: Japan Pharmaceutical Manufacturers Association; Japan Generic Medicines Association; and Japan Association of Contract Laboratories for Safety Evaluation; and seven members come from regulatory authorities: National Institute of Health Sciences; Pharmaceuticals and Medical Devices Agency; and MHLW. Two scientists came from the JBF. The number of JBF members in the BMV study group increased from two to nine after the LBAs working group became active. The study group has been preparing the draft Japanese guidelines on BMV based on the tremendous contributions by the JBF.



**Noriko Katori**

Project Team for Pharmacogenetics,  
National Institute of Health  
Sciences, 1-18-1 Kamiyoga,  
Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan  
E-mail: [katori@nihs.go.jp](mailto:katori@nihs.go.jp)

### Regulatory circumstances in Japan

The Japanese law of GLP inspection was enacted in 1997 and updated in 2008. The major change was the application for multi-site studies. Before establishing the law, the implemented guideline for toxicology tests had been effective from 1989. Besides, around 1997, several related guidances were established, such as TK [3], general considerations for clinical trials [4], the guideline for nonclinical PK tests [5], and guidelines for bioequivalence studies of generic products [6]. Some of these were the results of ICH harmonization with the USA and EU. ‘The Guidance for Analytical Validation’ was formulated in 1997 [105]. This guidance was not for bioanalysis, but became a solid basis of analytical method for many areas containing bioanalysis in Japan. Until the new BMV guideline is released, this has been only a guide for BMV in Japan.

\*\*\*\*\*

“A draft guideline on LBAs is expected to be issued towards the end of March 2014.”

\*\*\*\*\*

The foreign guidelines have also affected Japan. The Q&A for bioequivalence guidance in 1997 (revised in 2012) [106] contained a question: “Q27 Please describe the analytical validation in detail”, and the answer refers to the article by Shah *et al.* [7]. Till now, especially for internationally active companies, the FDA guidance in 2001 [107] and the EMA guideline in 2011 [108] are the de-facto standards.

### The BMV guidelines in Japan

The scope of the first Japanese BMV guideline is ‘LC analysis for small molecule’. This guideline covers MS and also covers optical detectors (UV and fluorescence).

A preliminary proposal of the draft guideline was provided by the JBF in March 2012 [8]. The five members of the guideline taskforce in the JBF made up this draft with the efforts of the other JBF members. The proposal by the JBF was handed out to the related three associations, Japan Pharmaceutical Manufacturers Association, Japan Generic Medicines Association and Japan Association of Contract Laboratories for Safety Evaluation, to seek comments. More than 400 comments were gathered from these associations. Most of the comments were related to practical procedure being contained in the draft. On the basis of these comments, we have been preparing Q&A text, which will be released accompanying the document of the BMV

guideline. Following further discussions for 6 months, the draft guideline on BMV (LC/small molecule) was submitted to the MHLW on 14 March 2013. The preparation process and a part of contents were presented in the 2nd and 3rd JBF symposia, as well as in the EBF Open Symposium in 2012 [109].

Simultaneously, a working group for LBAs guideline was inaugurated from September 2012 under the BMV study group. The LBAs working group asked the JBF to provide a proposal of the draft guideline on validation for LBAs in bioanalysis. The guideline on validation of LBAs for bioanalysis has followed almost the same process as the guideline for LC and small molecules. The draft items for LBAs guideline provided by JBF are listed in **Box 1**.

A task force of JBF with seven members has been in charge of the proposal of LBAs guideline. The experts with experience in LBAs have formed the task force of JBF. The text of the draft LBAs guideline will be prepared and will be sent to related organizations to seek comments until June 2013. A draft guideline on LBAs is expected to be issued towards the end of March 2014.

#### Box 1. Preliminary Japanese ligand binding assay-bioanalytical method validation guideline (proposed by the Japan Bioanalysis Forum).

1. Scope
2. Reference standards
3. Method validation
  - 3-1. Full validation
    - 3-1-1. Specificity
    - 3-1-2. Selectivity
    - 3-1-3. Calibration curve
    - 3-1-4. Accuracy and precision
    - 3-1-5. Dilutional linearity
    - 3-1-6. Stability
  - 3-2. Partial validation
  - 3-3. Cross validation
4. Analysis of study samples
  - 4-1. Validity of the method
    - 4-1-1. Calibration curve
    - 4-1-2. QC samples
    - 4-1-3. ISR
  - 4-2. Notice
    - 4-2-1. Calibration range
    - 4-2-2. Re-analysis
    - 4-2-3. Carry-over effect
    - 4-2-4. Cross talk
    - 4-2-5. Critical reagents
    - 4-2-6. Commercial kits
    - 4-2-7. Parallelism
    - 4-2-8. Interfering substances
5. Documentation definitions

Japan had a late start in regulated bioanalysis; fortunately, however, by a great deal of effort by the people in this area (e.g., the JBF), the first guideline was finalized within a shorter period than expected. Following LBA, the next theme of this area may be 'LC-MS for large molecule' or 'BMV for biomarkers'. Our next step will be setting a wider area for discussion of regulated bioanalysis in Japan.

#### Financial & competing interests disclosure

*The author has no relevant affiliations or financial involvement with any organization or entity with a financial interest in or financial conflict with the subject matter or materials discussed in the manuscript. This includes employment, consultancies, honoraria, stock ownership or options, expert testimony, grants or patents received or pending, or royalties. No writing assistance was utilized in the production of this manuscript.*

#### References

- 1 Viswanathan CT, Bansal S, Booth B *et al.* Bioanalytical method validation and implementation: best practices for chromatographic and ligand binding assays. *AAPS J.* 9(1), E30–E38 (2007).
  - 2 Imazato M. Conference Report: International harmonization of bioanalysis regulation: discussion in Global Bioanalysis Consortium harmonization teams. *Bioanalysis* 5(3), 281–283 (2013).
  - 3 Ministry of Health, Labor and Welfare. *Note for Guidance on Toxicokinetics: The Assessment of Systemic Exposure in Toxicity Studies*. PAB/ELD Notification No. 443, 2 July 1996, MHLW, Japan.
  - 4 Ministry of Health, Labor and Welfare. *Note on Clinical Pharmacokinetic Studies of Pharmaceuticals*. PFSB/ELD Notification No. 796 1 June 2001, MHLW, Japan.
  - 5 Ministry of Health, Labor and Welfare. *Guideline on Nonclinical Pharmacokinetics*. PNSB/ELD Notification No. 496. 26 June 1998, MHLW, Japan.
  - 6 Ministry of Health, Labor and Welfare. *Partial Revision of the Guideline on Bioequivalence Studies for Generic Pharmaceuticals*. PFSB/ELD Notification No. 0299-10, 29 February 2012, MHLW, Japan.
  - 7 Shah VP, Midha KK, Dighe S, McGilveray JJ, Skelly JP. Analytical methods validation: bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies. *Pharm. Res.* 9, 588–592 (1992).
  - 8 Yoneyama T, Inoue N, Tachiki H *et al.* Draft guideline on bioanalytical method validation in Japan by Japan Bioanalysis Forum. *Pharm. Med. Device Regul. Sci.* 43 (8), 750–760 (2012).
- **Websites**
- 101 Draft Guideline on Bioanalytical Method Validation for LC/small molecule. (Public comment period: from 5th April to 4th June, 2013, only in Japanese). [www.nihs.go.jp/drug/DrugDiv-E.html](http://www.nihs.go.jp/drug/DrugDiv-E.html)
  - 102 Japan Bioanalysis Forum. <http://bioanalysisforum.jp/en>
  - 103 Global Bioanalysis Consortium. [www.globalbioanalysisconsortium.org](http://www.globalbioanalysisconsortium.org)
  - 104 The 1st Workshop in Asia Pacific on Recent Issues in Regulated Bioanalysis. [www.cfabs.org/bioanalysis\\_asia\\_workshop.php](http://www.cfabs.org/bioanalysis_asia_workshop.php)
  - 105 ICH Q2(R1), Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology (November 2005). [www.ich.org/LOB/media/MEDIA417.pdf](http://www.ich.org/LOB/media/MEDIA417.pdf)
  - 106 Guideline for Bioequivalence Studies of Generic Products (2012/02/29), Q&A. [www.nihs.go.jp/drug/be-guide\(e\)/Generic/QA-E\\_120229\\_BE.pdf](http://www.nihs.go.jp/drug/be-guide(e)/Generic/QA-E_120229_BE.pdf)
  - 107 US FDA, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Veterinary Medicine (CVM). *Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation*. US FDA, MD, USA (2001). [www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070107.pdf](http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070107.pdf)
  - 108 EMA/CHMP Guideline on Validation of Bioanalytical Methods (September 2011). [www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2011/08/WC500109686.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/08/WC500109686.pdf)
  - 109 EBF 5th Open Symposium: Old Battles, New Horizons. <http://bcn2012.europeanbioanalysisforum.eu/Slides>

# 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

香取 典子\*

The Bioanalytical Method Validation Guidelines in Japan

Noriko KATORI\*

## 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法のバリデーションに関するガイドライン(案)」のパブリックコメント募集<sup>1)</sup>が、厚労省によって平成25年4月5日より開始された。バイオアナリシス、すなわち生体試料中の薬物、バイオマーカー等の定量分析技術は、現在の創薬や臨床開発過程に欠くことのできない科学技術として重要性を増している。薬物動態(PK)試験、トキシコキネティクス(TK)試験及び生物学的同等性(BE)試験の際には、血漿や組織中の薬物濃度を求めるため、LC/MS/MSや免疫学的測定法が用いられるが、生体由来成分が測定に影響を与えるため、分析結果が大きな変動を示す。特に、LC/MSでは、このような現象を「Matrix Effect」と呼んでいる。この生体試料中の薬物定量分析は、医薬品開発において安全性と有効性を判定する上で重要であり、高い信頼性が要求されるため、分析法の適格性の確保が重要となる。

既に海外では分析法の信頼性に関して「バイオアナリシス分析バリデーション(Bioanalytical Method Validation, BMV)」という概念が確立され、米国及びEUではBMVのアメリカ食品医薬品局(FDA)ガイダンス<sup>2)</sup>、欧州医薬品庁(EMA)ガイドライン<sup>3)</sup>がそれぞれ発出されている。更に、民間国際団体グローバル・バイオアナリシス・コンソーシアム(GBC)<sup>4)</sup>は国際共通ガイドライン案作成を検討中である。日本においては、約2年前に規制バイオアナリシス及びBMVガイドラインに関しての初めての学術団体「バイオアナリシスフォーラム(JBF)」<sup>5)</sup>が立ち上げられ、それ

から2年を経て、やっと日本のBMVガイドラインが策定されようとしている。ここでは、日本においてガイドラインが策定されるまでの経緯とその内容、今後の状況などについて述べたいと思う。

## 2. ガイドライン策定の経緯

### 2.1 国内での議論とJBF設立の経緯

現在まで、日本で出されている分析法バリデーションの行政文書(Table 1)には、「分析法バリデーションに関するテキスト」(1997年, ICH Q2A, B)及び日本薬局方の参考情報「分析法バリデーション」があるが、これらは原薬・製剤の品質試験を念頭に置いたものであり、生体試料中の薬物濃度分析には十分対応していない。医薬品開発においてバイオアナリシスの規制(レギュレーション)は、これまで欧米を中心に議論されてきた。日本においても規制バイオアナリシスについての欧米の議論はある程度共有され、技術レベルは欧米に引けを取らない状況であったが、ガイドライン自体の作成は遅れていた。日本においてガイドライン作成がなされてこなかった理由の一つには、ICHに規制バイオアナリシスに関するトピックがなかったことが挙げられる。このような事情からか、2001年にFDAがBMVに関するガイダンスを出した後も、規制当局における規制バイオアナリシスに関する認識は余り高いものではなかった。

2007年には、BMVの信頼性をより高め、かつ最新の分析技術を取り入れた案を提示する目的で、米国薬学会

\* 国立医薬品食品衛生研究所薬品部 東京都世田谷区上用賀 1-18-1 (〒158-8501)

National Institute of Health Sciences, Division of Drugs, 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

(AAPS)/FDA から White Paper<sup>9)</sup> が出された。ここで ISR (incurred sample reanalysis), すなわち実サンプルを用いた再現性確認というコンセプトが初めて導入され、日本の製薬企業の薬物動態の関係者に大きな衝撃を与えた。

このインパクトに対し、2008年5月に筑波で行われた第56回質量分析総合討論会 (Table 2) では、原久典氏 (ノバルティスファーマ) がコーディネーターとなり「生体試料中濃度測定に関する AAPS/FDA White Paper に対するディスカッション」と題するワークショップが行われ

た。ここでは、ISR の伝道師と呼ばれた FDA の Dr. Viswanathan (GLP 査察官) を招聘し、事前アンケートを元に、パネルディスカッションが実施され、ISR の他、Tiered Approach など国内にあまり知られていない概念と、FDA のスタンスを直接知る貴重な機会となった。しかし、この時点では ISR に対して「そこまで必要なのか」とか、「日本では分析技術が優れているため、データの品質は確保されている」といった意見が主流を占め、ISR への意識の高まりは海外に比較的高いとはいえなかった。し

Table 1 国内における BMV, PK, TK 及び GLP 関連の主な文書

年	文書	機関
1991	「薬物動態試験ガイドライン」	厚生省
1994	ICH において TK ガイダンス (ICH S3A) が最終合意 (Step 4)	ICH
1995	製薬協 医薬品評価委員会 基礎研究部会第4分科会資料 66 「トキシコキネティクス試験における生体試料中薬物濃度の測定に関する手引書 (分析法バリデーション)」	日本製薬工業協会
1996	「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	厚生省
1997	「分析法バリデーションに関するテキスト」(ICH Q2A,B)	厚生省
1997	「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」(GLP 省令, 平成 9 年 3 月, 厚生省令第 21 号, 改正: 平成 12 年 10 月, 厚生省令第 127 号)	厚生省
1997	「後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン」及び「Q&A」	厚生省
1998	「臨床試験の一般指針について」(医薬審第 380 号, ICH E8)	厚生省
1998	「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	厚生省
2001	「医薬品の臨床薬物動態試験について」(医薬審第 796 号, ICH E8 の参考資料)	厚生労働省
2008	「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の一部を改正する省令」(厚生労働省令第 114 号, 2008)	厚生労働省
2008	「医薬品 GLP 又は医療機器 GLP の実地による調査の実施要領の制定について」(薬機発第 0815007 号及び薬機発第 0815008 号, 2008)	医薬品医療機器総合機構
2010	「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))	厚生労働省
2012	「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	厚生労働省
2012	「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、事務連絡	厚生労働省

Table 2 2008 年以降に行われた BMV に関する主な会合

年月	会合	主催
2008 年 5 月	第 56 回質量分析総合討論会 (つくば) 「生体試料中濃度測定に関する AAPS/FDA White Paper に対するディスカッション」	日本質量分析学会
2009 年 10 月	Dr. Vishwanasan 氏講演会	日本 QA 研究会
2009 年 11 月	第 119 回質量分析関西談話会「ISR の最前線」	日本質量分析学会
2010 年 2 月	製薬協セミナー・製薬協基礎研究部会 「Incurred Sample Reanalysis (ISR) 対応の現状と課題」	製薬協
2011 年 3 月 ⇒ 中止	安研協・製薬協共同セミナー 製薬協医薬品評価委員会基礎研究部会の発表 「ISR の規制要件と課題」	安研協・製薬協
2011 年 8 月	第 1 回 JBF シンポジウム	JBF
2011 年 8 月	BMAS2011	日本薬学会 物理系薬学部会
2012 年 3 月	第 2 回 JBF シンポジウム	JBF
2012 年 8 月	第 3 回 JBF シンポジウム (BMAS2012 と共催)	JBF

製薬協：日本製薬工業協会，安研協：安全性試験受託研究機関協議会，JBF：バイオアナリシスフォーラム

かし、既にFDA, EMA のガイダンス、ガイドラインが出揃い、欧米のみならず中国、インド、ブラジルなどがこれに追随しようという状況では、日本においても BMV ガイドライン策定に関して早急な取り組みが必要であった。

転機が訪れたのは、2010 年後半の GBC からの日本への働きかけであった。GBC は日本薬学会に GBC への参加を要請した。日本薬学会では物理系薬学部の萩中教授(武庫川女子大学)、升島教授(広島大学)がこれに対応した。また、2011 年 1 月には上海で規制バイオアナリシスに関するアジア太平洋会ワークショップが開催され、日本からも少なからぬ人数の参加者があった。上海ワークショップ参加者を中心に、産官学が協力して必要な議論を行うための場が、JBF という形で 2011 年の 8 月に黒川教授(現慶應大教授)を代表として立ち上げられた。なお、現在の JBF 代表は国立医薬品食品衛生研究所奥田副所長が務めている。

日本で本格的な議論が始まったのはこの JBF が誕生してからである。JBF は産官学を巻き込んだ BMV に関する議論を行うための団体で、同時に多数のメンバーが GBC の議論に積極的に参加している。JBF が結成されるに至った原動力は、日本が BMV に関して他国から取り残されているという、大きな危機感であったことは確かである。JBF のシンポジウムは第 1 回から第 3 回までほぼ半年ごとに行われており、それぞれ約 200 名を超える参加者を迎え、活発な議論がなされた。また、JBF は GBC 以外にも EBF (European Bioanalysis Forum), CBF (China Bioanalysis Forum) 等の海外の関連団体と連携を取っている。現在のところ、JBF は日本においては唯一の規制バイオアナリシスに関する学術団体であり、日本版 BMV ガイドラインの元となった素案を作成している。

## 2.2 BMV 研究班とガイドラインの作成過程

厚生労働省は、2011 年 10 月に BMV ガイダンス案を作成するための研究グループ (BMV 研究班) を立ち上げ、その方向性を議論し、JBF に原案の作成を依頼した (Fig. 1)。BMV 研究班より BMV 指針素案作成の依頼を受けた JBF は、直ちに JBF ガイドラインタスクフォース (GL-TF) を結成した。GL-TF のメンバーは、BMV 研究班のメンバーでもある 5 名で結成され、速やかに素案の作成に取りかかった。なお、最初の BMV 指針の素案作成に関しては、低分子化合物に対するクロマトグラフィーを用いた分析法を対象としたバリデーション及び実試料分析を適用範囲とした。また、素案の作成には、国際調和の観点から、既に発出済みの FDA ガイダンスや EMA ガイドラインとの整合性も踏まえ、本文の記載内容は必要最小限の骨子とし、本文以外の詳細な解説は Q&A へ盛り込むなどの配慮がな

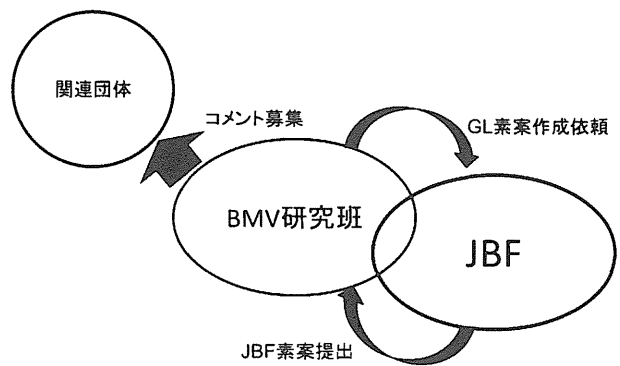


Fig.1 BMV 研究班と JBF のガイドライン作成に関する役割

されている。

JBF GL-TF は、メールや電話会議による議論を中心にたたき案を作成し、JBF メンバーのメールベースでのレビューも参考にしながら、2012 年 3 月、BMV 研究班へ日本版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 (JBF 素案)<sup>7)</sup> を提出した。半年という作成期間はこのようなガイドラインにおいては異例の早さであり、関係者の努力が伺い知れる。作成された JBF 素案は、日本製薬工業協会、日本ジェネリック製薬協会、安全性試験受託研究機関協議会などの関連団体に配布され、意見の募集がなされた。その後、BMV 研究班において集められたコメントを参考に、1 年近くにわたり十分な内容の検討がなされた上で、指針のドラフト版を公表し、パブリックコメントの募集を行った。

現在、リガンド結合法 (Ligand Binding Assay, LBA) を対象とした指針案の作成が進行中である。今後は、高分子 LC/MS 及びバイオマーカーなどを対象とした指針案の作成が予定されている。

## 3. 海外における規制バイオアナリシスの状況

### 3.1 米国における規制バイオアナリシス

1992 年に FDA と AAPS 共催シンポジウムの報告書<sup>8)</sup>として、生体試料中の定量分析の適格性を担保するための基本要件が出され、この文書をきっかけに生体試料中の薬物濃度測定に対するバリデーションの概念が広まった。

この文書は日本においても 1997 年の BE 試験ガイドラインの Q&A (Table 1) に引用された。更に、2001 年には FDA が規制バイオアナリシスのための初めての明確なガイダンスとして “Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation”<sup>9)</sup> を出した。このガイダンスは FDA の申請に用いられるデータはもちろんのこと、欧州などにおいても長きにわたってデファクトスタンダードとして用いられてきた。米国ではその後も BMV に関する議論が

FDA と AAPS を中心に行われ、2007 年には議論をまとめた White Paper<sup>6)</sup> が出され、2001 年のガイダンスを補うように ISR や高分子に対応した項目などが取り入れられた。ISR は先に述べたように薬物投与後の試験サンプルを取って置いて、再度分析を行い、値の一致度を確認する方法である。FDA はあるカナダのラボの BE 試験サンプルについて、同じ試料の測定値が大きく異なるケースを発見し、これを問題視した結果、ISR の導入に踏み切ったといわれている。

なお、2001 年に発表された FDA ガイダンスの改訂版が出るのが 2012 年に発表されたが、発表時期については未定である。

### 3.2 欧州における規制バイオアナリシス

EMA からは "Guideline on bioanalytical method validation" が 2009 年にドラフト、2011 年 7 月に正式版<sup>3)</sup> が出され、米国に追いつく形となった。EMA の BMV ガイドラインは 2001 年の FDA ガイダンスにはなかった ISR や LBA など高分子分析に関する項目を含んでおり、2007 年の FDA/AAPS Whitepaper の内容もカバーしている。

また、FDA ガイダンスでは PK 試験一般に対する適用であったのに対し、EMA のガイドラインでは適用範囲は GLP の対象となるトキシコキネティクスとヒト臨床試験における PK 試験に絞られている。また、判定基準についても FDA ガイダンスより詳細に規定されており、より規制に重きを置いた内容になっている。

### 3.3 GBC と規制バイオアナリシスの国際調和

世界各国の製薬会社及び受託機関のバイオアナリシスの専門家より構成された民間国際団体の GBC<sup>4)</sup> は、規制バイオアナリシスの国際調和に関する文書を作成し、国や地域によりギャップのない規制を行うよう各規制当局へ働きかけることを目的としている。JBF からは GBC 運営委員 (Steering Committee, SC) として 1 名が参加している他、多数のメンバーが各論を議論するハーモナイゼーション・チーム (HT) に参加している。

2011 年に開始された HT メンバーの募集には、東日本大震災の直後にもかかわらず、多くの企業から意欲的な参加が行われた。現在、各チーム 1 名の日本人が参加している。HT において議論を行うメンバーは世界中から集まっているため、電話会議の時間設定に苦慮したとのことである。現在では、議論が収束し既に文書化したチームも多く、webinar などで成果の発表が行われているチームもある。まとまった成果は The AAPS Journals に発表される予定である。

## 4. 日本版 BMV ガイドライン (LC / 低分子) の概要

4 月 5 日に意見公募に付された「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)」<sup>1)</sup> の内容の主な部分について、以下に解説を行う。

### 4.1 適用範囲

BMV 研究班から JBF へ素案作成を依頼する際、素案の適用範囲として、まずは低分子化合物に対するクロマトグラフィーによる分析法のバリデーション及び実試料分析を対象とした。これは、バリデーションに必要な項目は低分子分析にすべて含まれており、ICH Q2A の概念を基本としていること、また、高分子の特に免疫学的測定法 (LBA) に関しては議論に時間がかかることが予想されたためである。海外のガイダンス/ガイドラインにおいては、ガイドラインの内容を低分子と高分子で区分けしているが、日本では LC と LBA というように分析手法で区分けすることとした。

また、EMA ガイドラインと同じく適用範囲は、GLP の対象となるトキシコキネティクスとヒト臨床試験における PK 試験とし、動物を用いた非臨床 PK 試験は対象外となった (Fig. 2)。JBF はまず項目名と適用範囲の文案を 2011 年 12 月までに、続いて素案本文を翌年 3 月末までに提出した。

### 4.2 試験前の分析バリデーション

BMV には試験前に行われる分析バリデーションと、試験中に行われる実試料分析の適格性要項が含まれる。原薬や製剤の品質試験を含む CMC (Chemistry, Manufacturing and Control) 領域の分析バリデーションとは幾つか異なる点がある (Table 3)。

その代表的なものがマトリックス効果である。通常の PK 試験で多用される LC/MS<sup>5)</sup> 分析においては、分析対象物のイオン化率が重要である。様々な夾雑物質が存在する生体組織においては、イオン化率に影響を与える妨害物質の影響をマトリックスファクター (MF) によって評価している。MF は、様々な個体から得られたマトリックスについて、マトリックス存在下のレスポンスとマトリックス非存在下でのレスポンスとの比で算出され、6 個体間で 15% 以下でなければならないと規定されている。また、安定性も生体成分の影響を受けやすいため、CMC 領域に対して重要性が増している。

逆に、回収率は CMC では変動要因として重要視されているが、BMV では他の要因の方が精度への影響が大きい

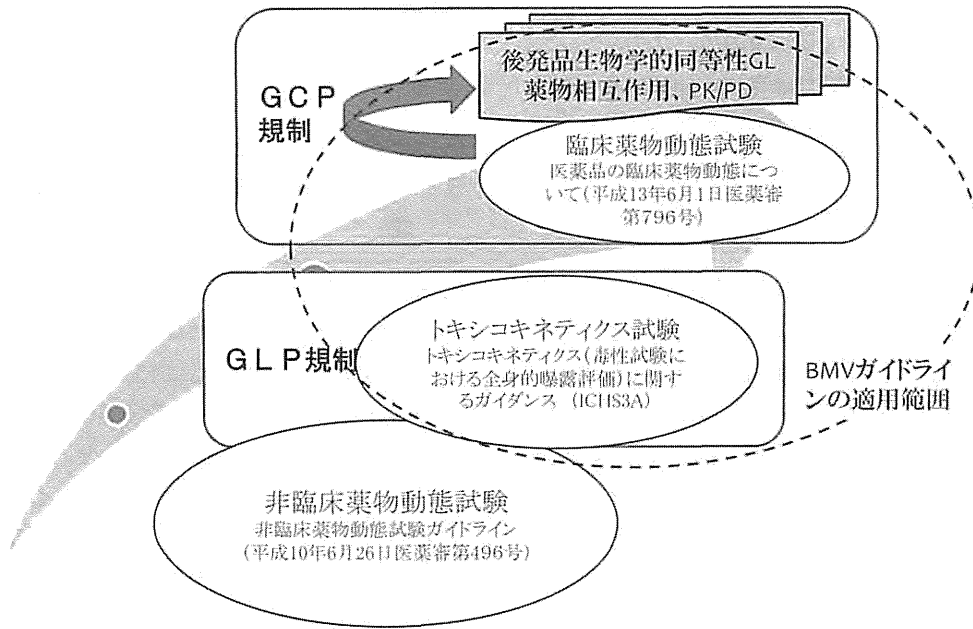


Fig.2 BMV ガイドラインと関連するガイドライン及び適用範囲

Table 3 原薬・製剤の分析法バリデーションと生体試料バリデーションの違い

項目	原薬・製剤 (CMC)	生体試料 (バイオアナリシス)
妥当性の確認 Validity for what?	分析法自体(method)の妥当性を証明する。 • 装置, カラムロットなどの変更の頑健性を示す • 「室内再現性」のデータが必須.	• 分析法だけでなくラボの system の妥当性を証明している。 • バリデーションをした装置で実測定を実施することが前提 • 「室内再現性」の概念はあまりない
技術移管 Method Transfer	可能 (室間再現性で担保)	基本的にバリデーションはやり直し • 安定性など項目を減らす場合⇒Partial Validation • 異なる施設のデータを比較する場合は評価を追加することがある⇒Cross-Validation
安定性 Stability	主に測定対象物質に依存する • 標準溶液の安定性 • 調製後試料の安定性	マトリックスの影響大, 添加サンプルと実試料で差が出るケースあり • 短期安定性 • 長期安定性, 凍結融解安定性 • 標準溶液の安定性 • 実試料での安定性 (ISS)
規格外への対応 Deviation	OOS (Out of Specification) として重大に扱われ, 逸脱処理 (再測定, 原因究明など) が行われる.	• OOT (Out of Trend) として, 測定をやり直すことはあまりしない。 • 倫理上の問題から, 十分なサンプルを準備できない.
事前の検討 Pre-study	• バリデーション試験で十分なリスク評価が行える • 影響を与える項目は評価可能 (であることが前提)	• 実試料で完全なバリデーションをすることは困難 (バリデーションのために臨床サンプルは準備できない) • 目的濃度域のサンプルを準備することが難しい
実測定 Study	実測定でのトラブルは比較的少ない	実測定で初めて問題が生じるケースが多い • 個体差 (妨害ピーク, マトリックス効果など) • 代謝物の影響 (逆変換) • 実試料濃度が範囲を超える

ため, あまり重要視されない。また, BMV ではラボや処理方法などの変更による影響が CMC 領域に比べ大きい。ため, 一度バリデートされた手法であっても, これらの変更によりフル又はパーシャルバリデーションを行うケースが多い。更に, 必要な場合は同じサンプルを用いて行った分

析結果を比較する, クロスバリデーションを実施することもある。どのような時にクロスバリデーションを行うかについては, 未だに多くの議論がなされている。



### 4.3 実試料分析時のバリデーション

ICH Q2 の分析バリデーションは事前のバリデーションを主に規定しているが、BMV では実試料分析の際も結果の評価を行い、個々の測定に適否をその都度判断する。具体的には、検量線の他に濃度既知の QC サンプルを測定し、真度が理論値と大きく変わらない ( $\pm 15\%$ 以内) ことを確認する。

ISR は先に述べた通り 2007 年の Whitepaper<sup>6)</sup> から提唱されている方法である。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。判定は初回の定量値からの解離度でなされる。ISR による不適が起きる原因としては、代謝物の逆変換による主薬の生成、未知の代謝物、安定性の個体差、ヒューマンエラー等が知られている。

日本においてガイドライン作成の過程で議論になったのは再分析の可否についてである。特に、BE 試験のように PK の結果が判定などに直結する場合の再分析に関しては、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、恣意的に定量値を変更してはならないとされた。ただし、臨床試験などで異常な Cmax を示した場合などは、安全性の面から患者への対応が必要になるため、確認のための再分析、再測定は制限されないとなっている。

CMC 領域で必須とされるシステム適合性は、BMV では逆に重要視されていない。それは、バイオアナリシスにおいては、システム適合性の確認とは別に、通常、分析単位ごとに QC サンプル等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とはならないためである。

### 4.4 他国のガイドラインとの違い

ガイドライン作成時の条件として FDA や EMA との違いが大きくなりすぎないとしたが、幾つかの点において差が見られる。その一つはクロスバリデーションにおける判定基準で、ラボが変更になった場合の QC サンプルの平均真度は、原則として理論値の  $\pm 20\%$  以内でなければならないとされた。これは EMA の判定基準の  $\pm 15\%$  以内より緩いが、 $\pm 15\%$  以内ではラボを変更しない通常の基準と同じであり、施設間変動を加味して、5%規格値を広げた。

2013 年 4 月に行われた北米でのバイオアナリシス・ワークショップ<sup>9)</sup>において、日本において BMV ガイドラインの意見公募を報告したところ、大変な反響があった。今回は意見公募とほぼ同時に英語版も発表され、海外からもコメントが集まると思われる。ワークショップにおいて日本のガイドラインが高評価だったのは、他のガイドラインは低分子ガイドライン、高分子ガイドラインのように分析対

象物質の分子量でカテゴライズされていたが、日本では分子量ではなく分析法の手法でカテゴライズしたことによると思われる。

## 5. リガンド結合アッセイ (LBA) ガイドラインの作成

低分子 / LC を対象とした BMV ガイドラインの作成と並行して、2012 年 9 月には LBA を対象としたガイドラインを作成するため新たに LBA ワーキンググループを BMV 研究班の下に立ち上げた。第 1 回の打合せ会議で、先行する低分子 LC ガイドラインと同じく、JBF に LBA ガイドライン素案の作成を依頼することが決められた。依頼を受けた JBF からは、同年 12 月までに項目名 (Table 4) が出され、2013 年 2 月末には LBA ガイドライン素案の大部分が提出された。今後は本文の素案を完成後、低分子 / LC ガイドラインと同じく関連団体への意見を収集する予定である。

LBA ガイドラインは EMA のガイドラインの一項目と

Table 4 LBA ガイドライン項目 JBF 案  
(2012 年 12 月提出)

1. 適用
2. 標準物質 (標準品)
3. 分析法バリデーション
3.1. フルバリデーション
3.1.1 特異性 *
3.1.2 選択性
3.1.3 検量線
3.1.4 真度及び精度
3.1.5 希釈直線性 *
3.1.6 安定性
3.2. パーシャルバリデーション
3.3. クロスバリデーション
4. 実試料分析
4.1. 分析法の妥当性
4.1.1 検量線
4.1.2 QC 試料
4.1.3 ISR
4.2. 注意事項
4.2.1 定量範囲
4.2.2 再分析
4.2.3 キャリーオーバー *
4.2.4 クロストーク *
4.2.5 重要試薬 *
4.2.6 平行性 *
4.2.7 干渉物質 *
5. 文書化
5.1. バリデーション報告書
5.2. 実試料分析報告書
5.3. 記録の保存

用語解説

\* は LBA に特有な項目

して存在するが、単独でリリースされるものは初めてであり、海外から注目を集めている。今後はLBAガイドラインの完成を目指すと共に、低分子LCガイドラインについてのQ&A作成を行う予定である。

## 6. 規制当局にとってのガイドラインの意義

日本の規制当局にとってBMVの概念はまだまだ新しいものであるといえる。海外ではGLP、GCP査察時には、施設のBMVへの取り組みが査察対象となっているが、日本では査察の対象とはっきり認定されておらず、BMVガイドライン発出後に改めて、PMDA等の査察との関連性を明らかにしていく必要があると思われる。また、審査時においても何を要求して何をしないかを明確にしておく必要があると思われる。今後、FDAやEMAともコミュニケーションを取り、BMVへの理解を深める機会を持つべきではないかと思われる。

### 文 献

- 1) 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(案)」に関するご意見・情報の募集について、平成25年4月5日、<http://www.nihs.go.jp/drug/BMV/index-j.html>
- 2) US FDA, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Veterinary Medicine (CVM). Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation (May 2001). <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070107.pdf>
- 3) EMA/CHMP Guideline on Validation of Bioanalytical Methods (September 2011). [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2011/08/WC500109686.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/08/WC500109686.pdf)
- 4) Global Bioanalysis Consortium. <http://www.globalbioanalysisconsortium.org/>
- 5) バイオアナリシスフォーラム (Japan Bioanalysis Forum, JBF). <http://bioanalysisforum.jp/>
- 6) Viswanathan, C.T.; Bansal, S.; Booth, B. *et al.* Bioanalytical method validation and implementation: best practices for chromatographic and ligand binding assays. *AAPS J.* 2007, 9 (1), E30-E38.
- 7) 米山智城, 井上則子, 立木秀尚, 富樫一天, 中山聡, 工藤番, 清水久夫, 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. 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス. 2012, 43 (8), p.750-760.
- 8) Shah, V.P.; Midha, K.K.; Dighe, S.; McGilveray, I.J.; Skelly, J.P. Analytical methods validation: bioavailability, bioequivalence and pharmacokinetic studies. *Pharm. Res.* 1992, 9, p.588-592.
- 9) 7th Workshop on Recent Issues in Bioanalysis (7th WRIB), April 8-11, 2013, Long Beach, CA, USA. <http://www.cfabs.org/7thWRIB-LongBeach2013.php>

オピニオン

## わが国の薬事上の取り扱いにおける アジュバントの位置づけについての考察

### Consideration of the Regulatory Issues for Vaccine Adjuvants in Japan

松本 峰男

Mineo MATSUMOTO

#### Abstract

In Japan, the position of the vaccine adjuvants in the pharmaceutical regulation has not been established, although both the EU and the US have adopted specific positions with regard to the regulation of vaccine adjuvants. In Japan, adjuvants are currently classified into excipients according to the Japanese Pharmacopoeia. However, the novel adjuvants that exceed category of excipients (which must be harmless and should not show any pharmacological effects) have induced regulatory problems. These include 1) the necessity of a statement in every review report that the adjuvant should not be used in other drug products like a general excipient, but used only for vaccine products, 2) limitation of the safety information assigned for adjuvants in the common technical document (CTD), 3) no requirement of GMP compliance, 4) concerns about requiring excessive, or conversely, insufficient toxicological evaluation for adjuvants, and 5) concerns about the delay of the timing of toxicity studies needed for adjuvants (e.g., genotoxicity studies) as compared with the stages of clinical trials of vaccines. It should be noted that no vaccine adjuvant has yet been authorized in its own right; adjuvants have been approved as components of vaccine products in all three regions. Therefore, it does not seem realistic to regard adjuvants as one of the active components of a vaccine. Instead, we hereby propose that the appropriate position for adjuvants as different from excipients be newly established in Japan, which is consistent with the regulation of both the EU and the US.

#### 抄 録

わが国のワクチン規制においては、解決すべき問題が存在する。それは、薬事上の取り扱いにおいてアジュバントの位置付けが確立していないという問題である。これは既にアジュバントがワクチン有効成分に並んだそれ独自の位置づけを有する欧米とは対照的な状況にある。わが国においてアジュバントに与えられているのは添加物という位置づけであるが、これはもっぱら旧来の日本薬局方の記載に依ったものである。しかしながら近年、添加物の範疇（薬理作用を示さず、無害）を超えたアジュバントが登場してきたことで、ワクチン規制において以下に述べるような問題が提起されている。すなわちアジュバントについて、1) 分類上は添加物ではありながらも、一般的な使用前例としては扱わない旨の但し書きを毎度審査報告書に記載する必要が生じる、2) CTDで割り当てられる記載範囲が限られる、3)

GMP 準拠を求める法的根拠がない、4) 要求される毒性評価項目が過剰、あるいは逆に不十分となる恐れがある、及び 5) 毒性試験（例；遺伝毒性試験）を行うタイミングが遅れる恐れがあるという問題である。アジュバントはそれ単独で承認されるべき性質のものではなく、各国ともワクチン製剤の承認の一環として扱っている。ワクチン製剤の有効成分として、アジュバントを取り扱うということは適切でないため、本グループとしては今後の薬事上の取り扱いにおいて欧米同様に、添加物でない、アジュバント独自の位置づけが確立されるべきと考える。

**Key words:** vaccine, adjuvant, regulatory affairs, excipient, toxicological evaluation

## I. 背 景

アジュバント（免疫補助剤）は、ワクチンの有効成分である抗原の投与部位における保持及び免疫原性の増強を目的にワクチン製剤中に加えられる成分の総称であり、その多くは免疫賦活作用を有する。本邦では、不活化ワクチンに添加されてきたアジュバントはアルミニウム化合物に限定されていた（従って本稿においては、従来用いられていたアジュバントをアルミニウムアジュバントと呼称することにする）。しかし、近年、免疫効果の増強を目的として多彩なアジュバントが開発され、平成19年以降に承認された13品目（うち、2品目は特例承認）の中には、アルミニウムアジュバント以外の新たなアジュバントが用いられているものもある。

現在、わが国において、アジュバントに対してはその免疫賦活作用という特性を踏まえた薬事上の位置づけが与えられておらず、アジュバントは便宜的に医薬品添加物（以下、添加物）に位置づけられている。具体的にはまず、アジュバントはワクチンの免疫原性を増強する役割を担うものの、それ単独でワクチンの意図する薬理作用である免疫応答を惹起する作用は有しておらず、したがってこれを有効成分とみなすことは難しいという考え方が存在する。次に、この考え方の帰結として、第16改正日本薬局方の製剤総則製剤通則(6)項に基づき、製剤中に存在する有効成分以外の物質は添加物とみなされるため、アジュバントに対しては添加物としての位置づけが与えられて

いる。

しかし、現在では、アルミニウムアジュバントについても、抗原を投与部位に長く留めるという作用のみでなく、NOD様受容体（Nucleotide binding oligomerization domain-like receptor）を介した薬理作用も示唆されている。また、新たに開発されたアルミニウムアジュバント以外のアジュバントについても、Toll様受容体（TLRs）等の自然免疫受容体（pattern recognition receptors）を活性化するものが多い。このように、何らかの薬理作用を有する新規のアジュバントが多く開発されつつあり、一般的な添加物の範疇に当てはめることが難しくなるケースが、今後増えるものと予想される。更に、海外では、DNAワクチンにおけるサイトカインの併用等、明白な薬理作用を有するものをアジュバントとして利用することが既に試みられている。

医薬品添加物の定義は、「製剤に含まれる有効成分以外の物質で、有効成分及び製剤の有用性を高める、製剤化を容易にする、品質の安定化を図る、又は使用性を向上させるなどの目的で用いられる。製剤には必要に応じて適切な添加剤を加えることができる。ただし、添加剤はその製剤の投与量において薬理作用を示さず、無害でなければならない。また、添加剤は有効成分の治療効果を妨げるものであってはならない<sup>1)</sup>」というものである。平成19年以降に承認されたワクチン2品目（沈降新型インフルエンザワクチン「ビケン」及び「北研」）中のアルミニウム化合物を主体としたアジュバントは、抗原性を増す目的で投与局所