



DG2020-45

バイオマーカー定量のバリデーション
～Context of useを踏まえたバリデーション～

DG2020-45

Validation of Biomarker Quantification in Japan
- Context of use for a biomarker assay validation-



DG2020-45 Members

Name	Company
◆ Harue Igarashi	GlaxoSmithKline K. K.
◆ Tatsuya Ikehara	SHIONOGI & CO., LTD.
◆ Kaori Ohka	Sumika Chemical Analysis Service, Ltd.
◆ Kazufumi Kawano	Toray Research Center, Inc.
◆ Yuki Taya	Japan Tobacco Inc.
◆ Sachiko Tosa	CMIC Pharma Science Co., Ltd.
◆ Hisao Nagaya	FBRI (Former: CMIC Pharma Science Co., Ltd.)
◆ Yoshitaka Hashimoto	ONO Pharmaceutical Co., Ltd.
◆ Makoto Yamazaki	Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation

※ ご質問、ご意見はメール(yos.hashimoto@ono.co.jp)でお願いいたします。

(順不同)



Contents

- DG活動の背景
- "Context of Use"の理解度に関するアンケート
- COUの適切な理解と運用
- Points to Consider Documentについて
- DG2020-45からの提言



DG活動の背景

DG活動の背景

JBFのDGで、2019年度より『バイオマーカー（BM）定量のバリデーション』に関して討議している。

DG2019-44の活動の結果、『日本国内におけるBM分析法 Validationの実施状況』及び『BM研究の体制』の状況を把握し、課題として『COUの適切な理解と運用の必要性とその体制の構築』を挙げた。

DG2020-45では、『COUの適切な理解と運用』をテーマに活動した。



背景：2019年度の活動の振り返り

2019年度：

DGメンバーを対象に『日本国内におけるBM分析法 Validationの実施状況』及び『BM研究の体制』に関するアンケートを実施した結果をもとに議論をした。

DG2019-44の成果：BM研究の体制について

	PK/TK	BM
Bioanalysis担当者	両者を兼ねることが多い（特にMS、LBA）	
関わる組織・担当者	少ない（動態、安全性）	多い（動態、安全性、薬理、TR、開発など）
目的	承認申請	多様（探索項目～申請）
データの評価・解析	明確	多様
バリデーション項目・基準	ガイドラインに規定	多様？（FFP）

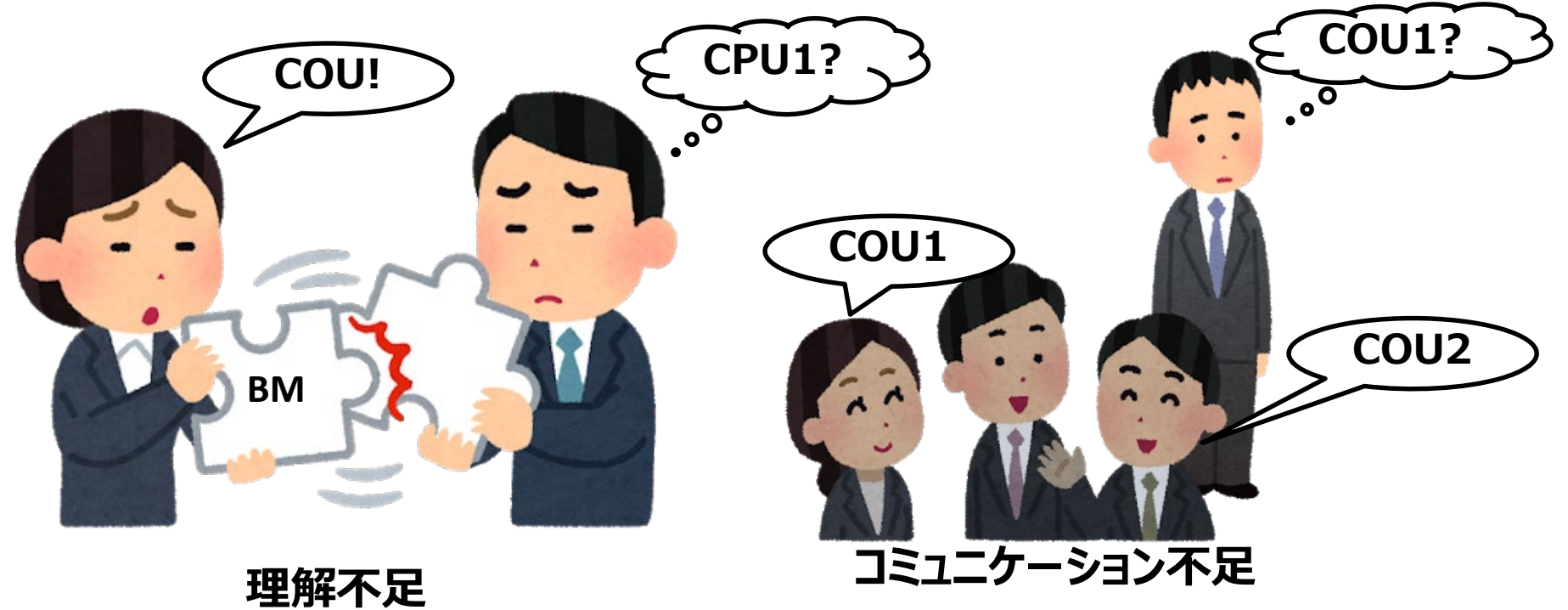
PK/TK分析に比べ、多くのメンバーとの活動
PK/TKが画一的な取り組みであるのに対して、BMは多様

➡ BM研究の体制に課題があると感じている方が多数であった。



DG2019-44の成果：BM研究におけるBAの現状

組織横断的活動
～製薬企業内～
～製薬企業とCRO～



PKではこうやっている！、GXP!、BMV Guideline! Validation!

柔軟性に欠け、保守的な対応



＜バイオアナリストとして達成したい状態は＞

- BM研究に携わるメンバー内でBMの用途や解析・解釈の方針が合意され明確になっている。
- それをふまえて分析法の要件やバリデーション項目を設定し、BM研究に携わるメンバーに合意されている。

→すなわち、『**COUの適切な理解と運用**』ができている状態

理想の達成に向けて、必要なことは

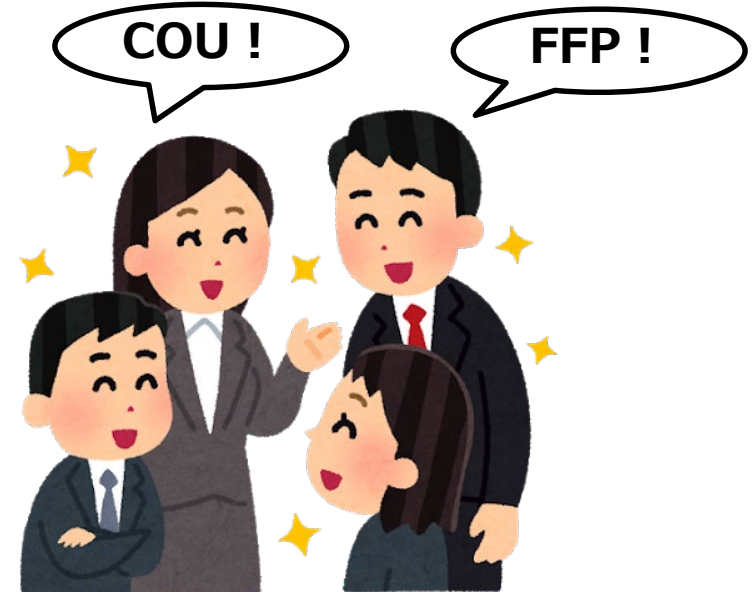
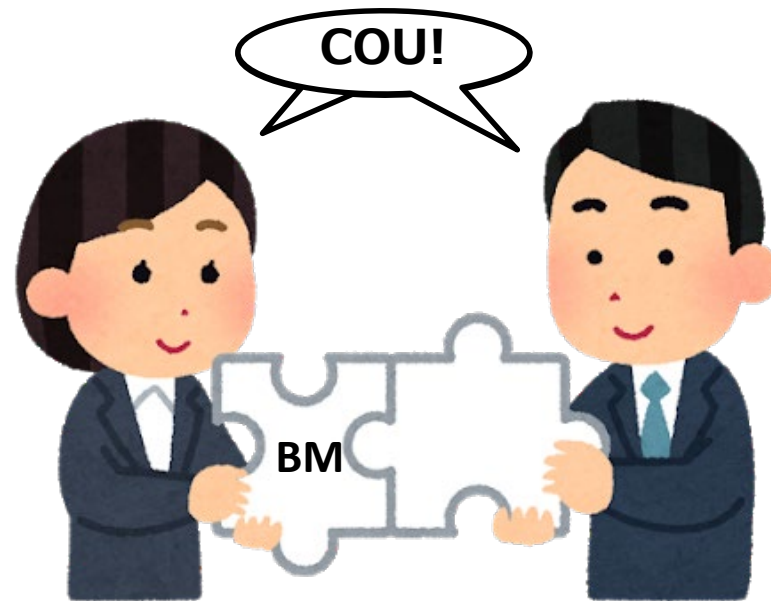
- 組織横断的（例えば、臨床と非臨床、データ取得と解析）に協力体制があり、フランクに議論できる体制・雰囲気醸成。

→**コミュニケーション&コミュニケーション**



DG2019-44の成果：理想的な状況

組織横断的活動
～製薬企業内～
～製薬企業とCRO～



コミュニケーション上手なBA担当者



CoU!, FFP!,
JBF!, DG!,
MoA, PK/PD, TE
Great Idea!

柔軟性のあるBA担当者



背景：2020年の活動について

- DG2020-45では『COUの適切な理解と運用』を具体化するため、
 - 日本国内におけるCOUの理解度・浸透度を把握するためにアンケートを実施した。
 - COUとは何か、COUを分析法開発やバリデーションにどのように活用するのか議論を行った。
 - Points to consider文書を整理しまとめた。

背景：BAにとってのCOUとは何だろうか？

Contextという言葉の定義 = **the information that are related to something and that help you to understand it**

- ロングマン英英辞典から抜粋 (<https://www.ldoceonline.com/jp/dictionary/context>))

では、BA担当者が『Use (of Biomarker)』を理解したいのはなぜでしょうか？

適切な分析法開発やValidationを行いたい。
COUは、そのための情報である。

背景 : Example of COU shown by EBF

- To develop and validate an immunoassay

①分析プラットフォーム

in matrix A on platform B to evaluate the

②マトリクス

①分析プラットフォーム

levels of analyte C in X population to

③分析対象物質

④評価対象集団

enable a change of Y% from baseline to

⑤データ解析方法・判断基準

allow decision Z.

⑥プロジェクトチームがBMデータから判断・決定したいこと

Ref: <https://doi.org/10.4155/bio-2020-0243>

DG2020-45では、EBFの提示したCOUを参考にCOUをどのように明確化していくのか、それを分析法開発やバリデーションにどうつなげていくのか討議した。



"Context of Use"の理解度に関するアンケート

アンケート実施の背景

- 日本国内の分析担当者を対象にCOUの理解度、浸透度及び業務への活用状況を把握するためにアンケートを実施した。
- 期間：2020年12月16日～29日
- 有効回答数
 - 製薬メーカー：25
 - CRO：9
- なお、本アンケートにおいて、『バリデーション』とは、事前に実施項目や判断基準を設定しそれを満たすか否かを確認する試験と定義しております。

アンケート結果からの考察

- COUに対する認識は人それぞれであった。
 - COUを踏まえ、適切な分析法開発やValidationを行うべきという認識はある。
- ただし、製薬企業において、BA担当者のCOUへの取り組みは盛んとは言えず、分析法開発やバリデーション試験に活用できていない。
- 故に、製薬メーカーからCROへの情報提供も不足している。

<目指すべき姿>

- COU = 分析法開発やバリデーションを適切に行うために必要な情報
- BA担当者は必要な情報を得るために積極的な活動を行う
- CROの担当者にもCOUを伝え、達成すべき分析法のイメージを共有する。

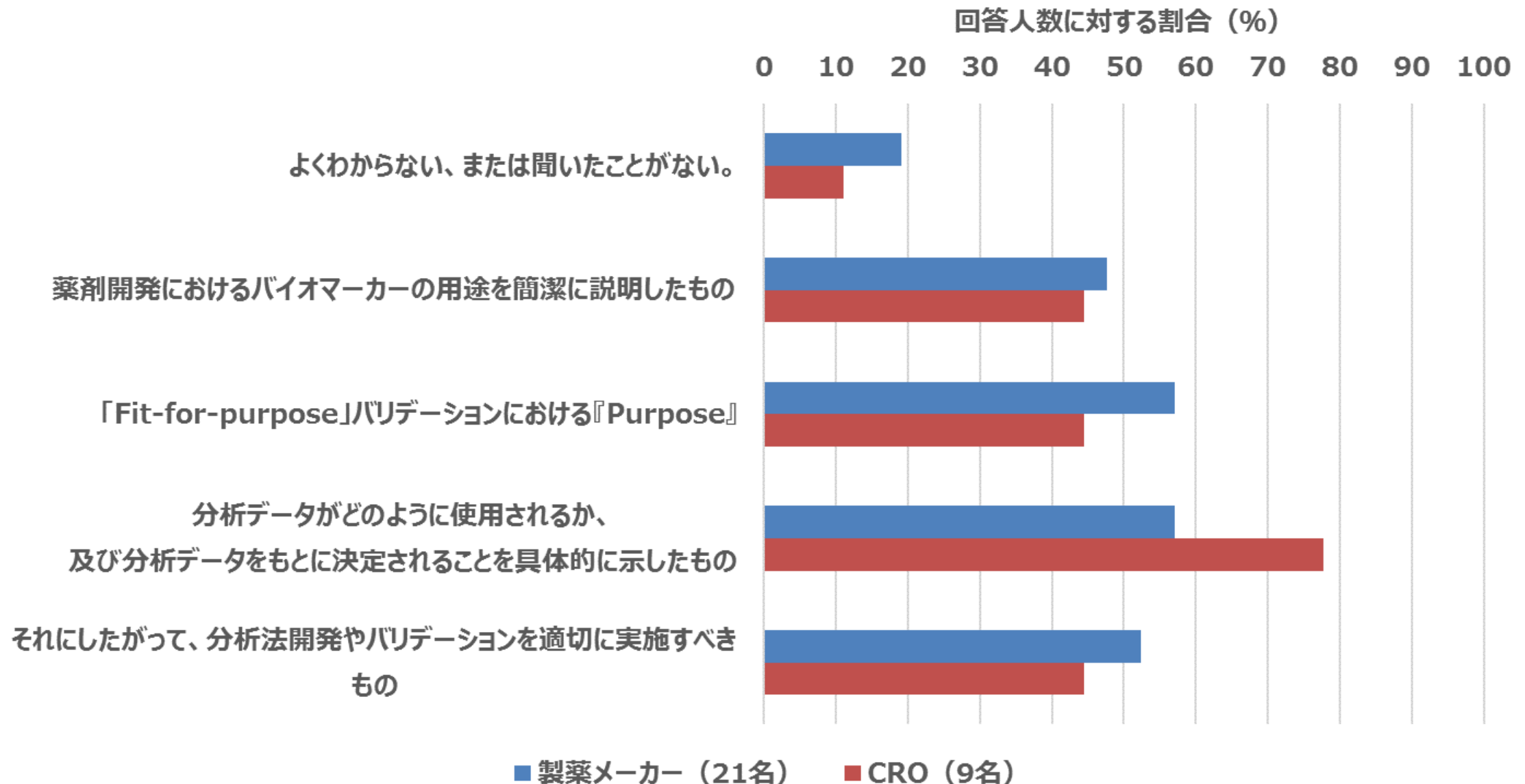


アンケート結果

CoUの認知及び理解度について

CoUの認知度

Q. バイオマーカー又はバイオマーカーアッセイのためのCoUとはどのようなものですか？（複数選択可）



・ CoUに対する認識が人それぞれ一致していない。



Q. 『COUを日本語で表現するとどのようになるでしょうか？』

- **COU = 『使用目的』 というシンプルな回答が大多数。**

- 頂いた回答：

バイオマーカーの使用目的、使用目的、使用目的、使用目的、利用状況、使用用途、使用背景、適切な利用、バイオマーカーの特性や使用目的、用途、規定した利用状況、用法設定根拠、利用の位置づけ・役割・価値、利用の背景と目的：データを活用する上での適用背景に加えてデータをどう使うか・どう解釈するか・何を知りたいか等の明確化

BAにとってのCOUとは何だろうか？

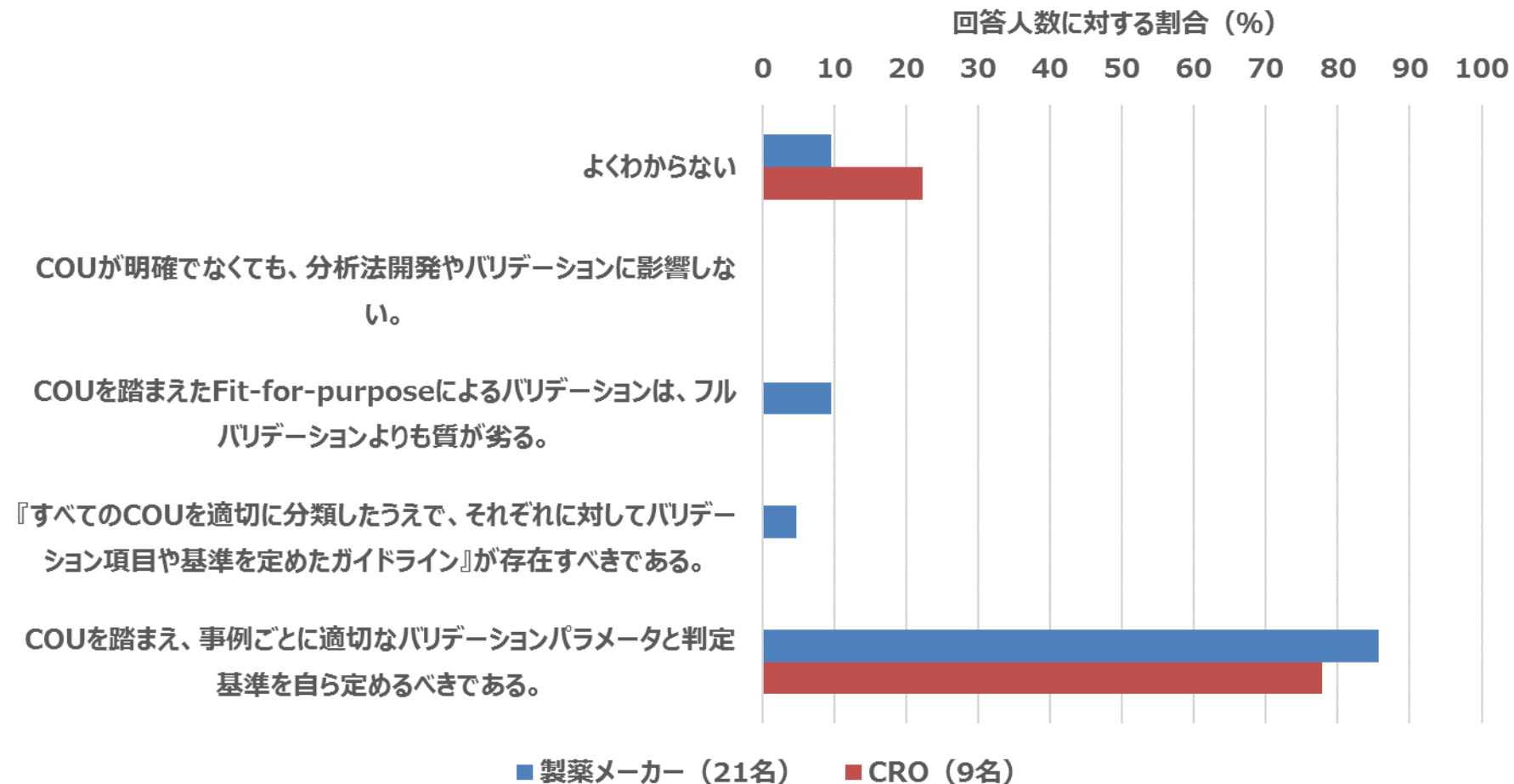
Context = **the information** that are related to something and that **help you to understand it**

– ロングマン英英辞典から抜粋 (<https://www.ldoceonline.com/jp/dictionary/context>))

- そのヒトにとって『BMの用途の理解に役立つ情報』
- では、BA担当者は、何故BMの用途を理解したいのでしょうか？

なぜ、*Use of Biomarker*を理解したいのか？

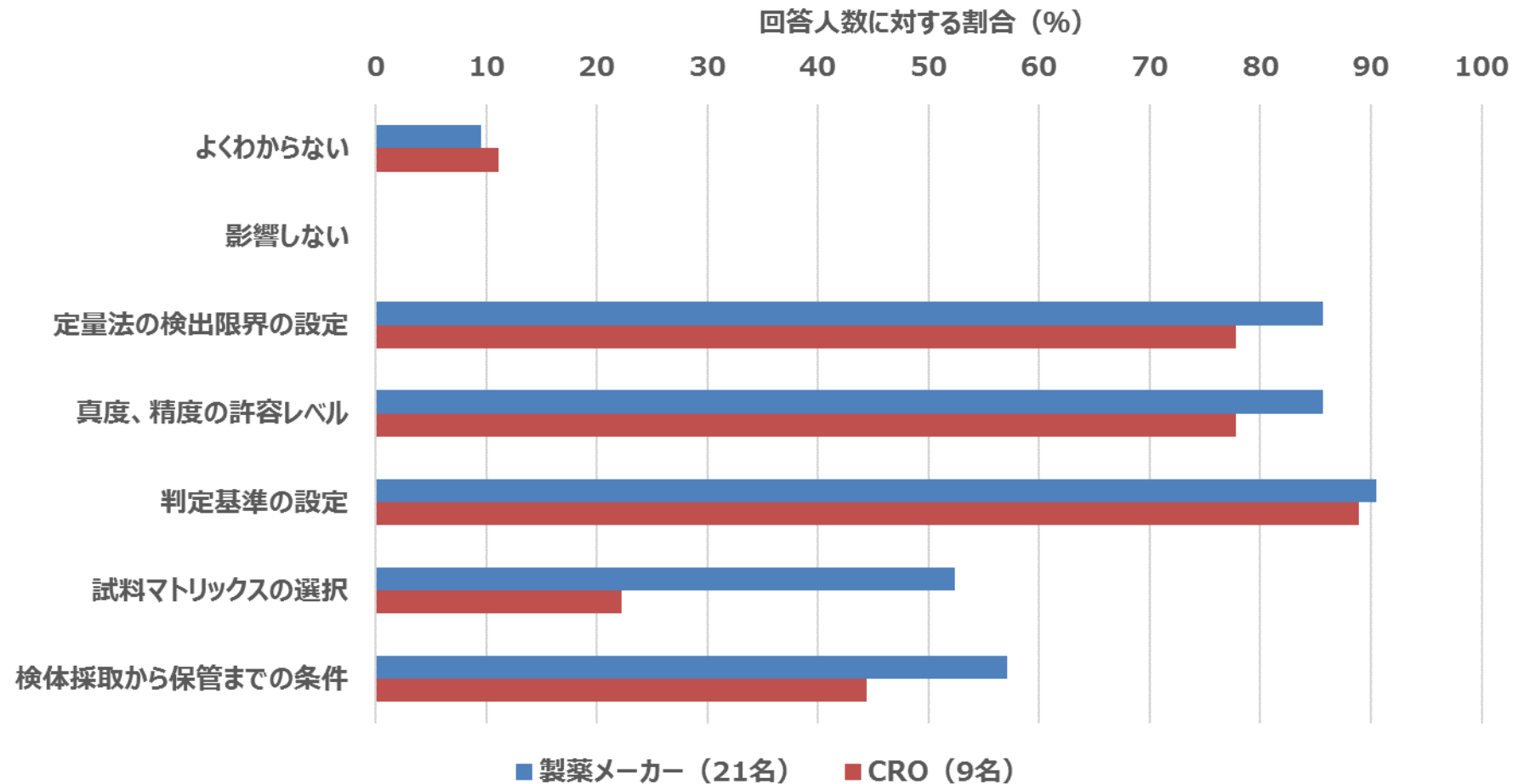
Q. COUを踏まえた分析法開発やバリデーションについて、あなたの考えに近いものを選択してください。（複数回答可）



・ COUを踏まえて、
適切な分析法開発やValidationを行いたい！

CoU = 適切な分析法開発やValidationを行うための情報とすると

Q. COUは分析法の開発及びバリデーションパラメータにどのように影響しますか？(複数回答可)



- これらすべての項目を適切に設定するための情報
= CoUではないでしょうか？

アンケート結果

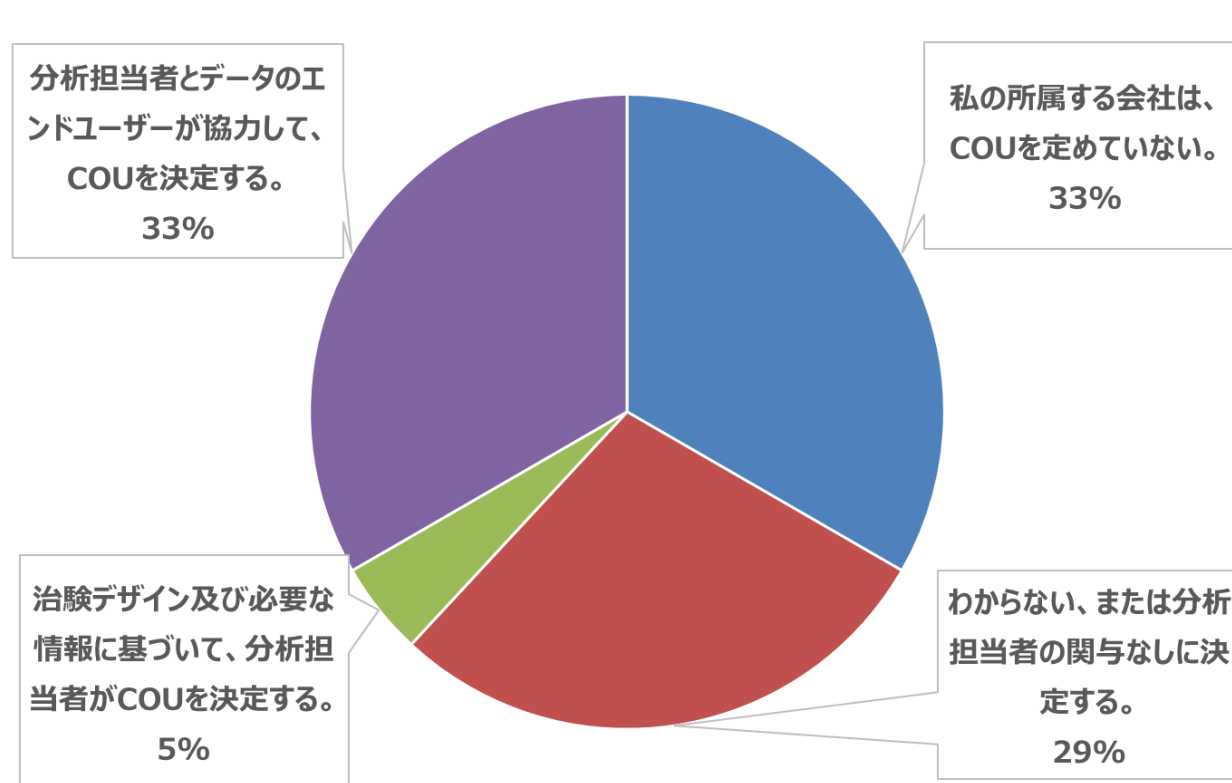
BA担当者のCoUへの関与及び運用
&
製薬企業からCROへの情報の共有



CoU設定への関与

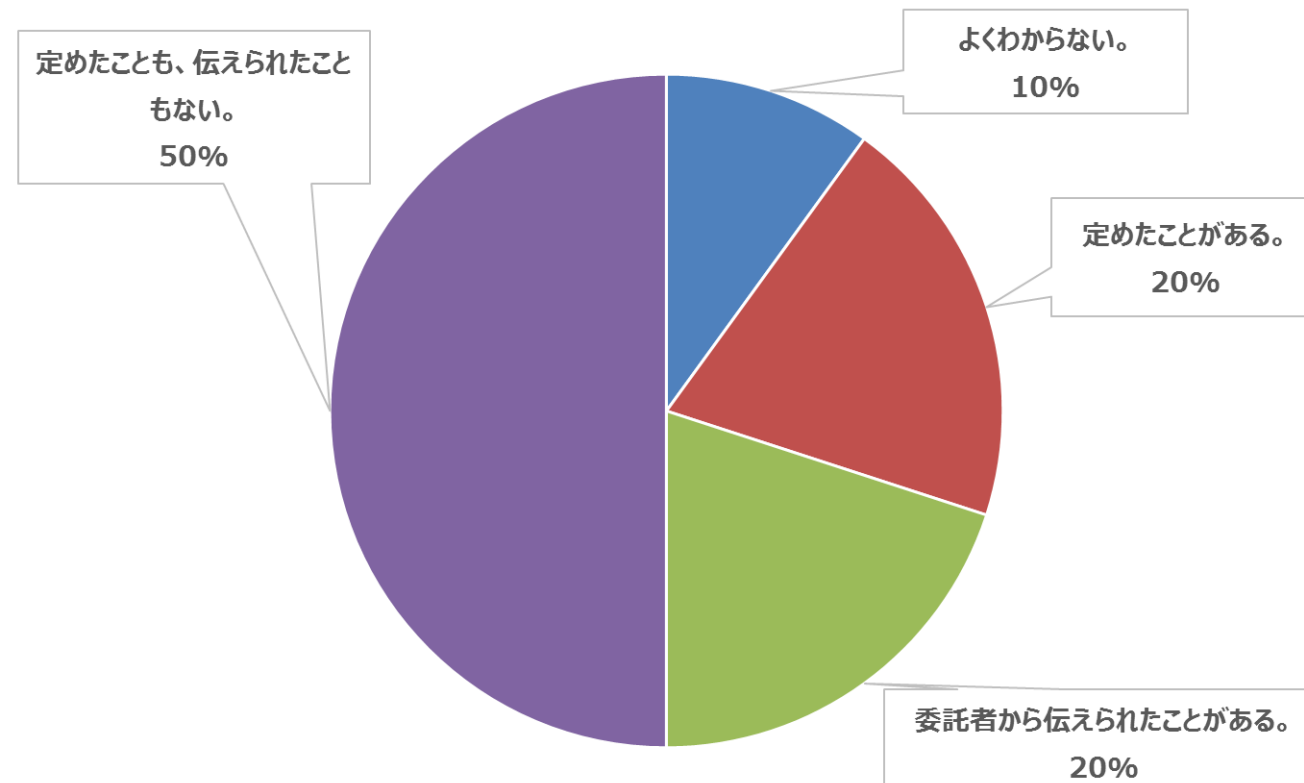
製薬企業

Q: 分析担当者はバイオマーカーアッセイに必要なCOUの決定にどのようにかかわっていますか？最も近いものを選択してください。



CRO

Q: COUを定めたことがありますか？あるいはCOUを伝えられたことがありますか。



- ・ 製薬の分析担当者のCOU設定への寄与が低い（40%弱）。
- ・ CROでは半数以上でCoUが設定されていない

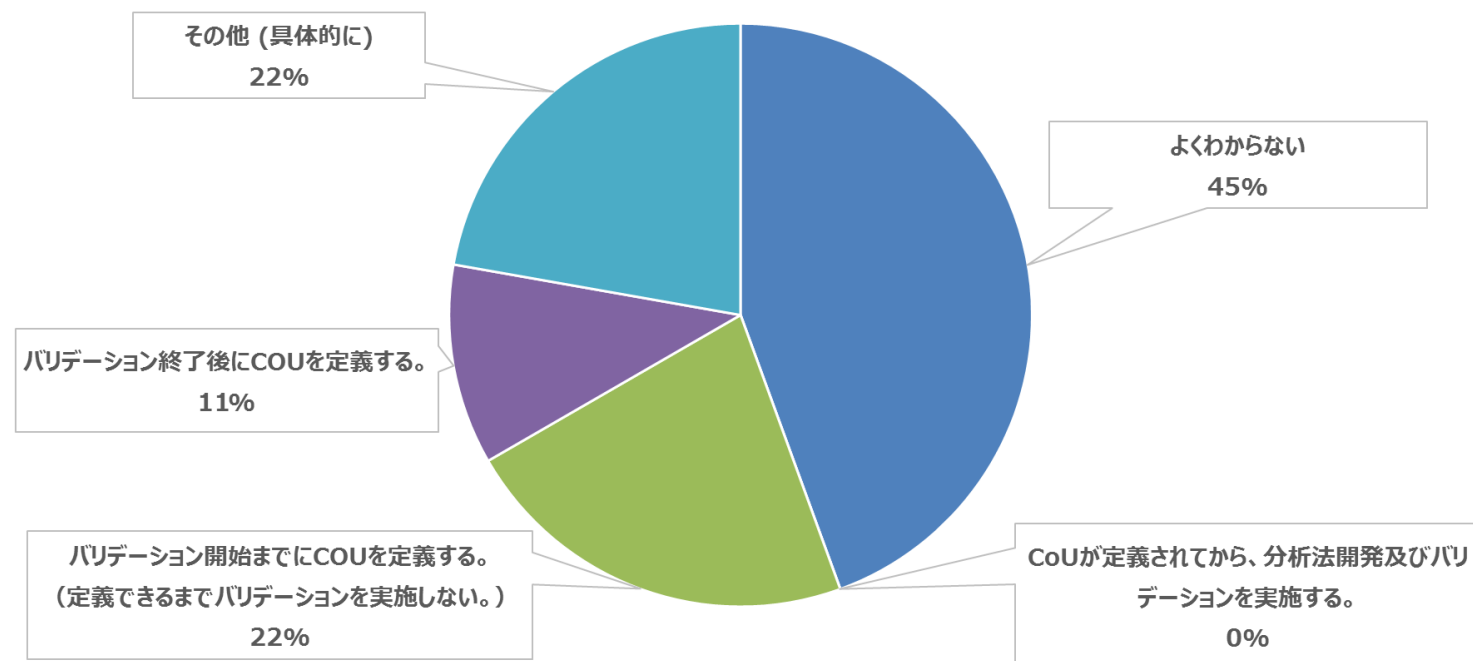
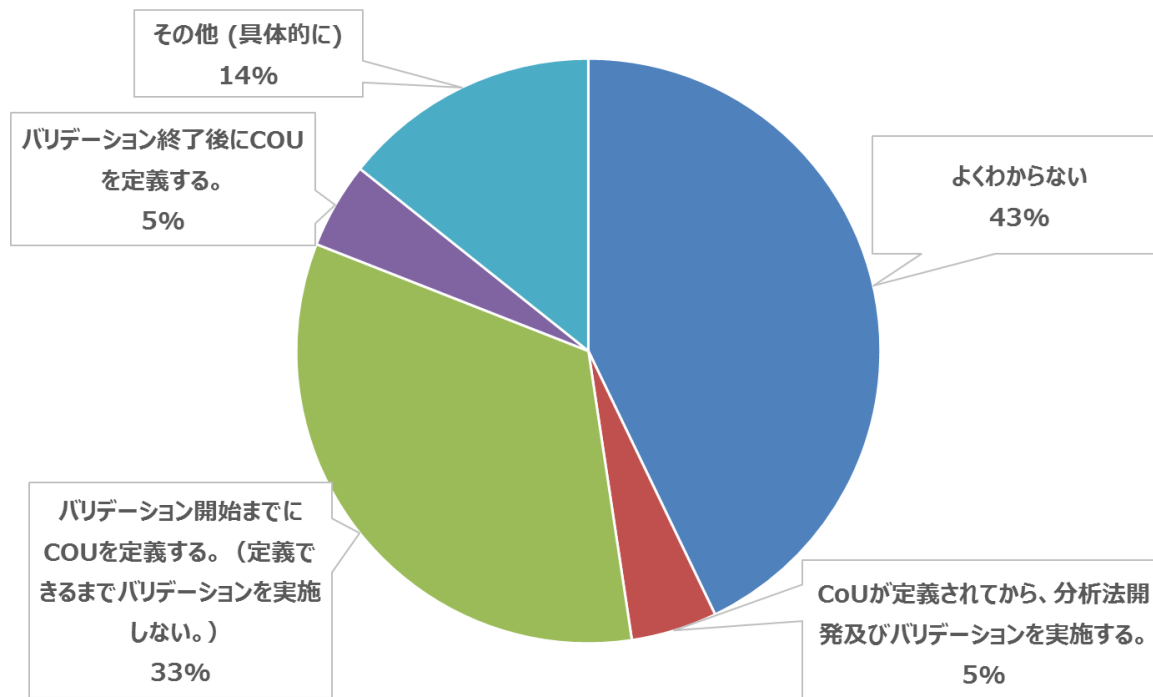


バイオマーカーバリデーションに対する組織の現状

製薬企業

CRO

Q: 分析法開発及びバリデーション実施に関して、あなたの組織の現状に最も近いものを選択してください。

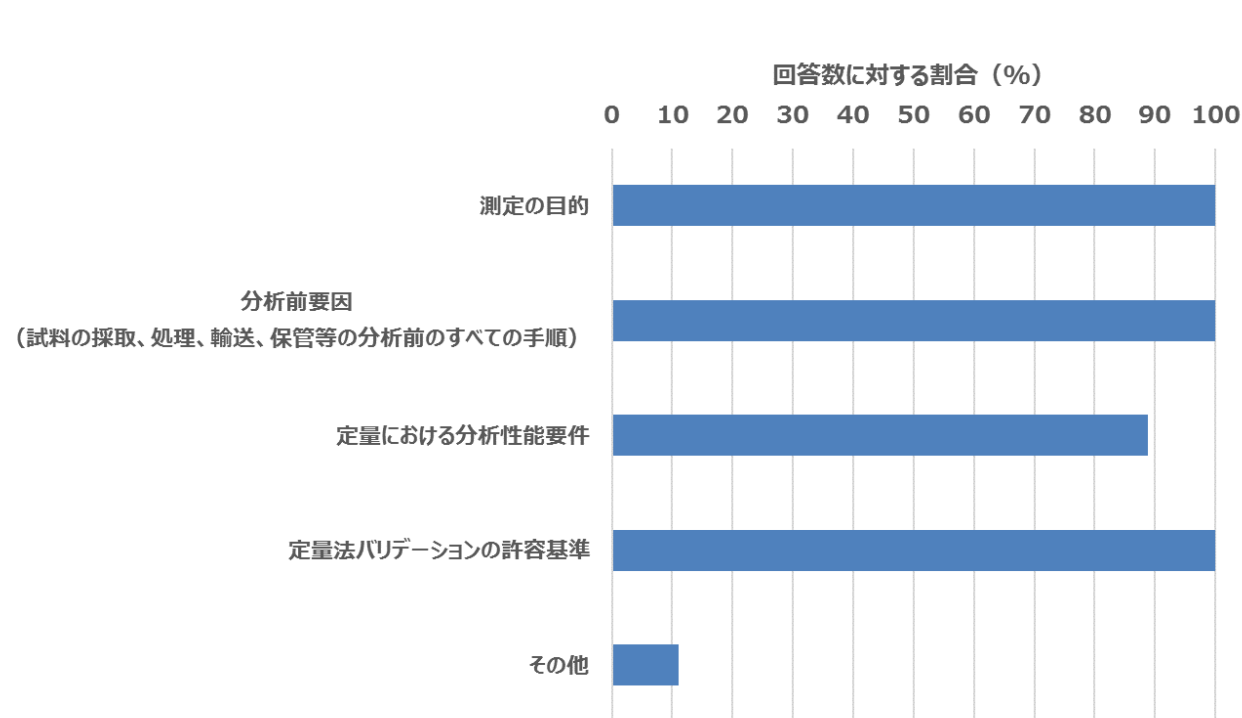


- COUを定義したうえでValidationを実施するケース（製薬：38%、CRO：22%）、分析法開始を実施するケース（製薬：5%、CRO：0%）は少ない。

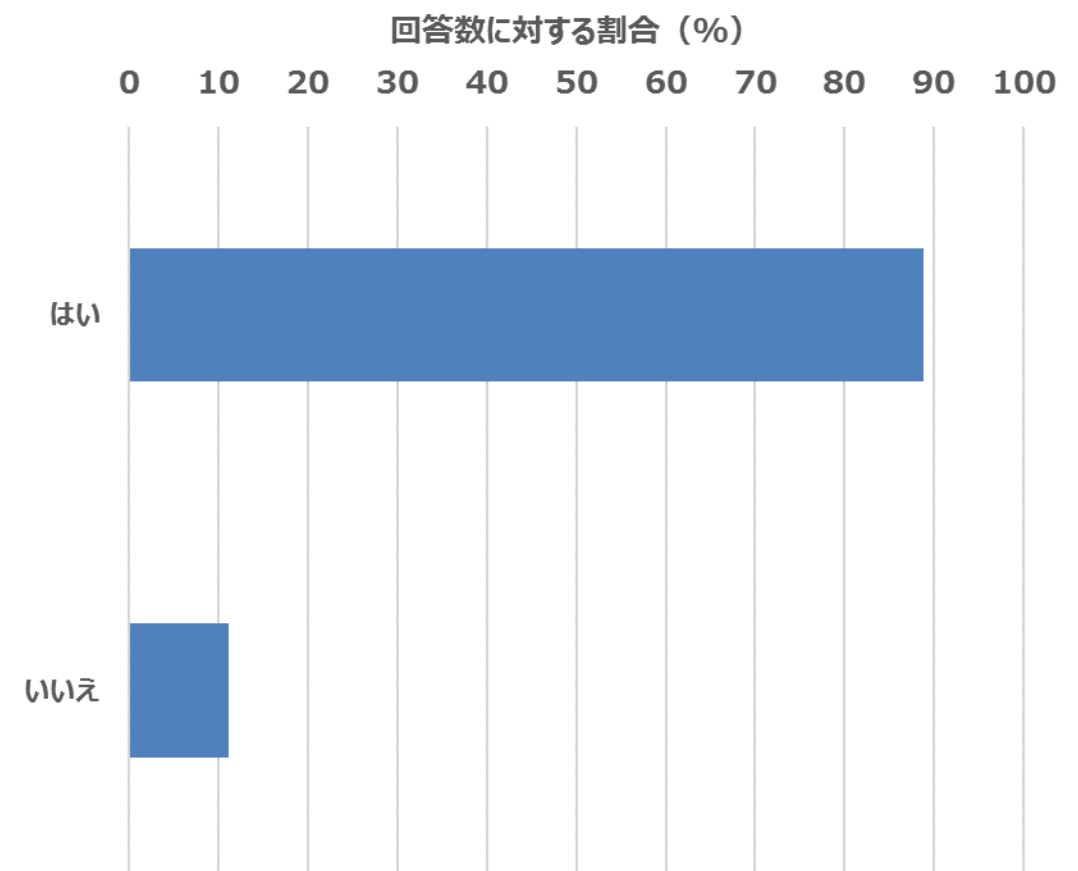


製薬企業からCROへの情報共有

Q: バイオマーカーバリデーションを行うために、どのような情報の入手や共有が必要だとおもいますか。（複数回答可）



Q: 委託者からの情報が不足していると思うことはありますか。



- ・ 製薬企業からCROへの十分な情報共有がされていない

製薬企業からCROへの情報共有における課題

CROの方から寄せられた自由コメント

- 測定を重視する物質が**打ち合わせの度に変更**された。
- バリデーションをガイドラインに従った基準で実施するか否か、**製薬企業が判断できていなかった**。
- **期待される生体反応が開示されなかった**ため、必要な感度がわからずキットの選定が困難であった。
- **COUは伝えられたことがない**のでよく分からない。

製薬企業でのCOUの設定・理解が十分でないのではないか。
或いは、COUをCROに伝えていないのではないか。

COUの適切な理解と運用

メンバーディスカッションの成果



EBFの定義したCOUとその要素

Example of COU shown by EBF

- To develop and validate an immunoassay in matrix A on platform B to evaluate the levels of free (unbound) analyte C in X population to enable a change of Y% from baseline to allow **decision Z**.

Ref: <https://doi.org/10.4155/bio-2020-0243>

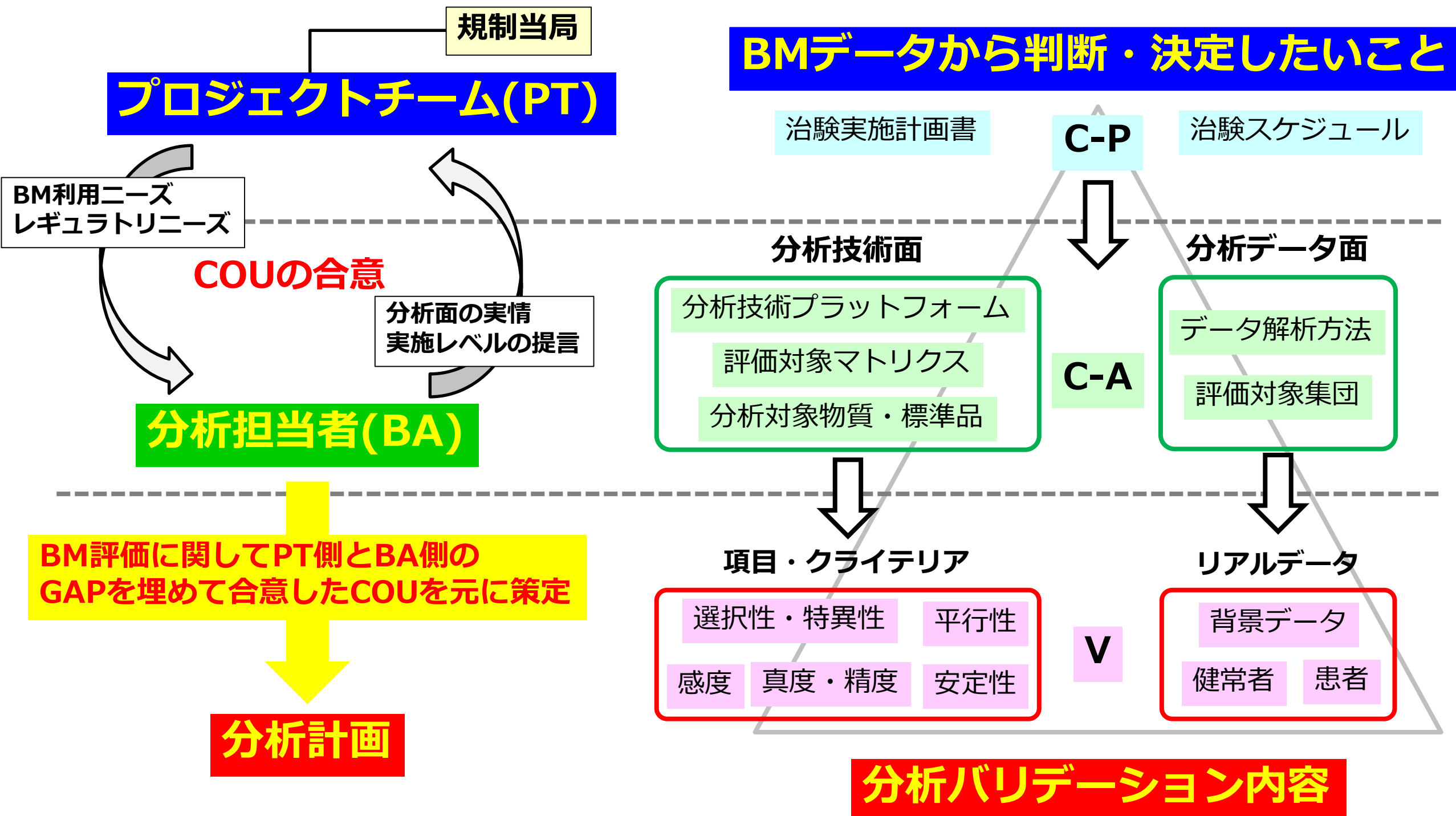


COUの要素は・・・

- 1層目
- BMデータから判断・決定したいこと
 - 『治験実施計画書上の分類（規制上の期待）』
 - データが要求される時期・検体入手からデータアップまでの期間
- 2層目
- 分析技術・プラットフォーム
- 評価対象マトリクス
- 分析対象物質
 - 標準品
 - 分析対象物質の既知のリスク
- 評価対象集団
- 分析値の評価・解析の仕方



COUからのつながり



<http://bioanalysisforum.jp/>



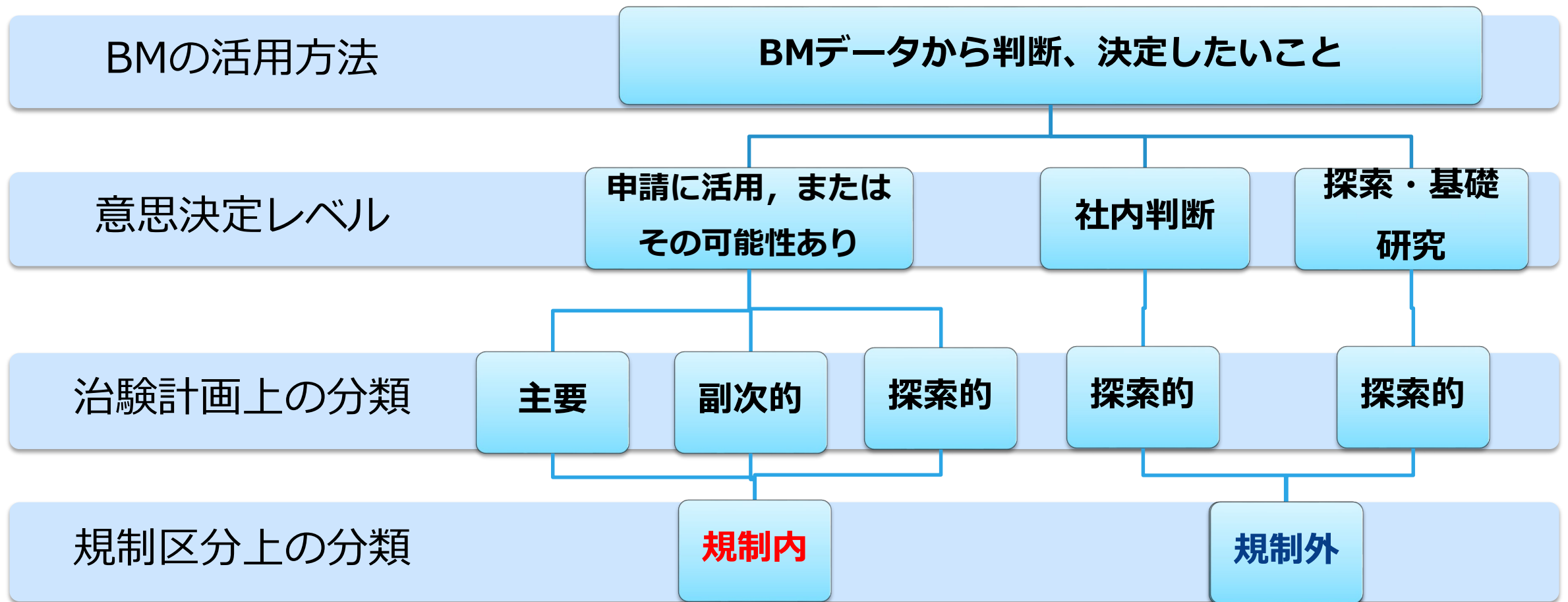
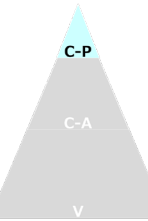
COUからのつながり

	ラベル	項目	ポイント
C-P	C-P	プロジェクトチームからのCOU	C-P1:BMデータから判断・決定したいこと C-P2:治験実施計画書 C-P3:治験スケジュール
C-A	C-A	分析担当者からのCOU	C-A1:分析技術プラットフォーム C-A2:評価対象マトリクス C-A3:分析対象物質・標準品 C-A4:データ解析方法 C-A5:評価対象集団
V	V	COUを考慮したバリデーション項目	V1:選択性・特異性 V2:平行性・直線性 V3:感度 V4:真度・精度 V5:安定性 V6:背景データ

<http://bioanalysisforum.jp/>



BM試験骨子のPTとの合意形成



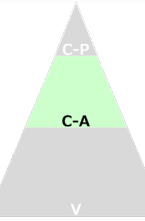
<http://bioanalysisforum.jp/>

BM測定試験の信頼性要求レベルのPT合意

治験実施計画書, 治験スケジュールへの反映



合意形成のポイント：分析技術面

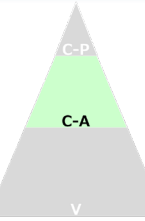


<http://bioanalysisforum.jp/>

考慮するポイント	PTからの情報	分析の留意点	バリデーション項目
分析技術・プラットフォーム	<ul style="list-style-type: none"> ●分析対象の種類 ●BMの挙動/予想濃度 	<ul style="list-style-type: none"> ●文献情報/キットの有無 ●必要感度を満たす技術 	分析法の決定 濃度範囲
分析対象物質・標準品	<ul style="list-style-type: none"> ●BM選定の根拠 ●BMのBiology ●測定値のアウトプット 	<ul style="list-style-type: none"> ●実試料中のBM変動を反映できること ●検量線の要否 ●標準品・代替標準品の有無 	平行性 直線性
分析対象マトリックス	<ul style="list-style-type: none"> ●BM選定の根拠 ●BMのBiology ●添加剤, 併用薬 	<ul style="list-style-type: none"> ●実試料中のBM変動を測定できるマトリックス ●安定性 ●入手可否、代替マトリックスの利用 	平行性 選択性 特異性 安定性



合意形成のポイント：分析データ面



考慮するポイント	PTからの情報	分析の留意点	バリデーション項目
データ解析方法	<ul style="list-style-type: none"> ●統計解析手法 ●分析値の利用方法 ●他試験との比較の有無 	<ul style="list-style-type: none"> ●ニーズに応じた感度・真度・精度・希釈倍率の設定 	感度 真度 精度 平行性
評価対象集団	<ul style="list-style-type: none"> ●疾患や治療・病状の程度 ●年齢・性別・人種等背景情報 	<ul style="list-style-type: none"> ●文献またはバイオバンク等の試料からの情報収集 ●健常人との違いを考慮 	背景データ (健常者、患者)

<http://bioanalysisforum.jp/>



COU合意形成の詳細

C-P1 『BMデータから判断・決定したいこと』

PTからの情報：

- 意思決定の目的
 - 用量設定, 薬効・安全性モニタリング, 疾患マーカー, 患者層別化・除外基準・コンパニオン診断, 仮説検証, 基礎研究, 意思決定なし, 等
- 意思決定レベル
 - 当局に提出. または, 提出する可能性あり.
 - 社内判断
 - 基礎研究
- 目的を達成するためのマーカーの選定
 - マーカー候補としての科学的根拠, 変動幅, 変動方向, 等

PTからの情報：

- 評価項目上の分類
 - 主要評価項目：当局から認定されたマーカーや診断マーカーが該当すると考えられる。
 - 副次的評価項目：主要評価項目を補足する項目，もしくは，主要評価項目とは異なる観点から有効性を評価する項目
 - 探索的評価項目：バイオマーカーとして新たな可能性を検証するための項目
- データの活用先：申請資料に使用有無，CSR掲載有無，参考データ扱い

PTからの情報：

- 治験計画（リクルート開始～初回投薬～サンプリング回数～最終投薬等の検体が発生するスケジュール）、計画から逆算したバリデーション完了時期
- データ要求時期（採取毎か、コホート毎か、一括か？）
- 治験サイトのラボマニュアル（サンプリング～保管条件～検体送付計画、検体送付時の手続き期間）

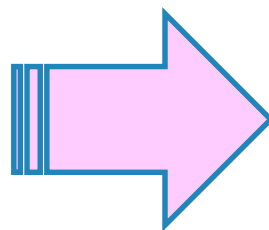
C-A1 『分析技術・プラットフォーム』

PTからの情報

- 分析対象物質（タンパク（Subclassなど）、ペプチド、低分子）
- BMの挙動（主にBMの上昇or減少するか）
- 予想濃度

BAが考慮すべきこと

- 分析対象物質，分析対象数，必要とされる定量下限・定量範囲を満たせる分析技術を選択
- 期待するBMの変化が報告されている分析技術・プラットフォームを選択するのが望ましい
 - LBAの場合：市販キットの場合は，再現性が高い製品を選択する。適切な製品が無ければ自社開発する
 - MSの場合：文献情報を参考にしつつ，分析対象の化学的特徴を考慮し測定法を設定する



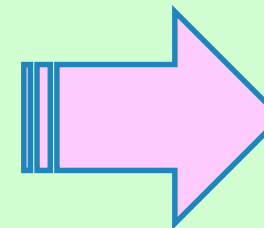
Validation項目: 分析法の決定, 濃度範囲

PTからの情報

- BM選定の根拠（論文情報のみか、報告数、作者など）
- Biology（分析対象物質の体内での状態、正式名称、類似物質やバリエーションなど）
- 分析対象物質の数
- 測定値のアウトプット：定量、相対比較、定性

BAが考慮すべきこと

- 実試料中のBM変動を把握できる分析法
- 検量線の要否
- 標準品、内標準物質の必要性和入手可否



Validation項目：
平行性
直線性

C-A2 『分析対象物質・標準品』

BAが考慮すべきこと

- 標準品そのものがある
 - 内在濃度よりも低濃度域の信頼性担保の検討
 - 代替マトリックスとの組み合わせ
- 内因性を代替する適切な標準品がある
 - 代替標準品の妥当性評価.
- 内因性の変化を反映しない, または代替性を証明できない.
 - 標準品のうち, リコンビナントタンパクでは, 内在濃度を反映しないこともあることを注意.
 - 代替性を証明できない中で社内判断可能と考えられる分析法の設定.
 - 検量線を作成しない内標準との比で算出

Validation項目:
平行性

C-A3 『分析対象マトリクス』

PTからの情報

- BM選定の根拠（論文情報のみか、報告数、作者など）
- Biology（分析対象物質の体内での状態、健常人、病態、年齢、性別、食事、薬etc. BM評価への影響があるか、など）
- マトリクスの種類（血漿、血清、尿、CSF、組織等）、添加剤、抗凝固剤、併用薬

BAが考慮すべきこと

- 実試料中のBM変動を測定可能なマトリクスか
- 代替マトリクスを使用するか
 - 標的分析対象物を除去した生体マトリクスや生物学的対照マトリクスを組成的に模した化学合成混合物までさまざま。評価対象集団と同一または近似のマトリクスを準備するのがベター。
- バリデーションに用いるマトリクスが入手可能か（購入、自社バンキング、Biobank、共同研究、etc）
 - 入手時期
 - 入手可能なマトリクスはBM評価の代表的なマトリクスとなりうるか。
 - 採取方法、採取量、採取から保存までの時間、保存温度、輸送温度、容器も含め

Validation項目:
平行性
選択性
特異性
安定性

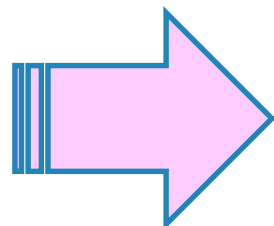
C-A4 『データ解析方法』

BAからPTへの確認

- 試験内で完結するか、他試験との比較をするか。
- 分析値をどのように利用するか（定量値が必要か、定性的な判断か）
- 期待するデータ変動（個体ごとのPre/Postの変動率, Placeboとの比較, など）
- 分析値がいつまでに必要か（中間解析の有無など）
- 統計解析の手法

BAが考慮すべきこと

- 個体差、試料中の妨害物質の有無と程度
- BMの変動を評価する場合：期待する変化率を踏まえてそれを検出可能な希釈範囲・真度・精度を設定する。
- 定量値が基準値を超えるか否か、もしくは定量値によって層別したい場合：検出したい差異と基準値あるいは個体間変動をもとに希釈倍率・感度・真度・精度を設定する。



Validation項目:感度, 真度, 精度, 平行性

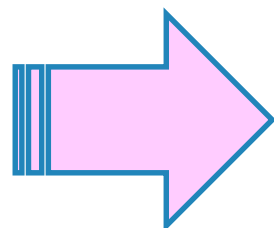
C-A5 『評価対象集団』

BAからPTへの確認

- 評価対象集団の情報（疾患，治療・病状の程度，様々な背景情報：年齢層，人種，性別など）
- 評価対象集団における分析対象物質の定量データ（基準値、個体間、個体内変動、疾患の状態や治療による変動）の有無

BAが考慮すべきこと

- 既知の定量データ（基準値・個体内/個体間変動など）は目標感度や精度を設定する上で有用だが過信は禁物
 - 特に分析技術・プラットフォームが異なる場合，評価対象集団の背景情報が不十分な場合は注意が必要
- 評価対象集団の差異を把握するために必要な背景情報が十分揃っているかを確認する。



Validation項目:背景データの取得



COUからバリデーションへのつながり



V-1 選択性

【目的】 対象マトリックス中に存在が予想される妨害物質又は構造的に関連しない成分の存在下で分析対象物質を正確に測定できるか

【方法】 健常人及び対象被験者集団など個体差等を考慮（健常人と被験者集団で大きな差が無いようであれば健常人で可）し、入手可能な複数個人のマトリックスを使用する。

個々の試料に含まれる分析対象物質を測定し、また、個々の試料から調製した低濃度QC及び高濃度QCを測定し、真度による評価を行う。

【例数】 各群10例（少なくとも3例）：内因性濃度から評価可能な個体を選択。

【判定基準・考え方】

- ①計算式：真度 = (測定値 - 理論値) / 理論値 × 100
- ②判定基準は分析対象物質の変動幅を検出できるなど評価目的により定める。
- ③必要に応じin studyにおける被験者サンプルでも評価する。



V-1 特異性

【目的】 LBAにおいて、分析対象物質と構造的に類似した物質と識別して検出できるか

【方法】 生体マトリックス、もしくは代替マトリックスに類縁物質を添加し、測定対象物質への影響度を評価する。

【例数】 少なくとも3例：類縁物質の添加濃度は、生体内の存在量を考慮して設定する。

【判定基準・考え方】

①判定基準は分析対象物質と類縁物質の存在比に応じて適宜設定する。

V-2 平行性

【目的】 実試料を正しく測定できるように、適切な希釈範囲を設定する

【方法】 高濃度の分析対象物質を含む検体を段階希釈し分析する

【例数】 6例以上が望ましい（個体間差が大きい場合は例数を追加）

【希釈範囲の選択方法】

- ①BMの定量値が判断基準となる場合：定量可能（真度・精度共に許容範囲）な希釈範囲
- ②BMの変化率が判断基準となる場合：求められる変化率を検出可能な希釈範囲
（シグナルが低すぎない程度に設定）
- ③BMによる判断基準が不明確な場合：分析測定範囲全体及び/又は試料の予想濃度範囲全体を網羅し、少なくとも4回の段階希釈を実施（可能であれば6~10回の希釈）

【補足】

・高濃度の検体入手できない場合は実試験の中で平行性を確認するケースもある。

また、COUによってはリコンビナント添加等で高濃度試料を調製して平行性を実施しなくても良い場合もある。

・選択性の評価の中で、個体別マトリクスを取捨選択のために10例以上測定、段階希釈できそうな試料を6例選択し、平行性を実施



V-2 直線性

【目的】 分析対象物質の定量範囲を決定する。

【方法】 実試料を安定して定量できる生体マトリックス, もしくは代替マトリックスを選択する。複数濃度の標準物質を添加して添加濃度とレスポンスの直線性を確認する。代替マトリックスを使用する場合は平行性の確認は必須とする。

【例数】 1例以上。

【判定基準・考え方】

①各濃度における逆回帰値の真度を求め、評価目的に応じて判定基準を設定する。

【目的】 分析対象物質の濃度や変動を適切に検出できるような測定法を設定する

【方法】 ①健常人及び患者由来試料を入手し濃度を確認する

②治験薬による濃度変動を考慮し、十分な感度を担保する

【例数】 6例以上が望ましい

【判定基準・考え方】

①健常人及び患者試料中濃度の分布と最低濃度を把握する

②治験薬投与により濃度が低下する場合は、想定される濃度領域を良好な精度で検出できる感度を担保する

- ・ BMの数値が必要な場合：低濃度領域に関して、評価目的に適した真度/精度の基準を設定する
- ・ BMの変化の傾向や変化率を把握する場合：低濃度領域の測定において、真度/精度の基準は必ずしも厳しい数値でなくても構わない。また、NDでも可の場合は、想定濃度を全てカバーする定量範囲とする必要が無い時もある。



V-4 真度・精度

【目的】 BMの有意な変動を捉えられる測定法を設定する

【方法】 真度(%) = (測定値 - 理論値) / 理論値 × 100

精度(%) = 測定値誤差 / 測定値平均 × 100

【例数】 LBA : 複数濃度を6回繰り返し測定

LC-MS : 複数濃度で日内n=5, 日間3バッチ測定

ただし, 濃度範囲や目的に応じて設定濃度・n数・回数は減らしても良い

【判定基準・考え方】

分析技術を考慮し, 評価目的集団におけるBMの変動を検出しうる基準を設定する。各cohortのn数と検出したいBMの変動幅, 分析技術自身のばらつきから, 真度・精度を設定するのが理想である。



V-5 安定性

【目的】 実試料の取り扱い条件を設定する。

【方法】 評価項目：凍結融解、ベンチトップ、長期保管安定性

安定性試料：実検体を使用，高濃度試料は分析対象物質の標品を添加して調製。標品が無い場合は代替物質（リコンビナントなど）を添加。1~3濃度を設定（評価するBMの濃度範囲をできるだけ広く網羅できるように設定）

【判定基準・考え方】 N=3以上（分析方法のバラつきを考慮して設定する）の平均値を用いて評価する。

- ✓ 添加試料を用いる場合、添加濃度からの変動率が分析方法の仕様の範囲内であること。
- ✓ 実検体を用いる場合、初期測定値からの変動率がBMの評価目的を達成可能な範囲内であること。

【注意点】

- 実検体を用いて全条件を検討できない場合でも、安定性の傾向をつかむために凍結融解、ベンチトップなどは実施するのが望ましい。
- 以下のリスクについてデータ使用者と合意すべきである
 - 実検体のすべての取り扱い条件を保証可能な安定性情報が得られない場合の対応
 - リコンビナントを用いた安定性の評価結果は、実検体の安定性を反映しない可能性がある。
- 安定性情報が事前に得られない場合は、
 - 凍結融解を避けるよう分注本数を増やし、できるだけ低温で保管する。
 - リスクの許容度によって、分析時期を設定する。

例) 採取後速やかに分析を行う。/検体採取から分析までの期間を一定にする（ただし、バッチ間差が小さい場合に限る。）/全検体を集積後まとめて分析をする。

V-6 背景データ

【目的】 健常者，患者における濃度差の確認

(求められる測定レンジの設定，治療効果による変動幅の推定)

【方法】 バリデーション時に市販検体を用いて確認

(検体購入に際して想定患者層の臨床スコアの指定が必要)

【例数】 健常者，患者共に10以上

(入手しやすい疾患・検体種に依存，入手できないケースあり)

【判定基準・考え方】

① 想定変動(疾患で増減・治療で増減) 情報を既報から把握してまずは条件設定

② 選択性項目にて各症例濃度を確認し，幅が大きい場合は低高濃度でのQC(内在濃度QC)を設定

③ 高濃度を把握してパラレルリズム条件を設定

④ 検体入手が難しい場合は添加試料調製も考慮 (LBAの場合はリコンビナント-内在の反応性違いがあることあり)



テストケース



テストケース

COUの3段階の考え方に従って、プロジェクトチームからの要望を測定法バリデーションに落とし込んでみた。

ケース	目的	規制区分	測定対象	測定方法	実施場所
1	社内判断	探索-規制外	低分子	LC-MS/MS	自社
2	探索研究	探索-規制外	低分子	LC-MS/MS	自社
3	申請用	副次項目-規制内	タンパク質	LBA	委託
4	社内判断	探索-規制外	タンパク質	LBA	委託

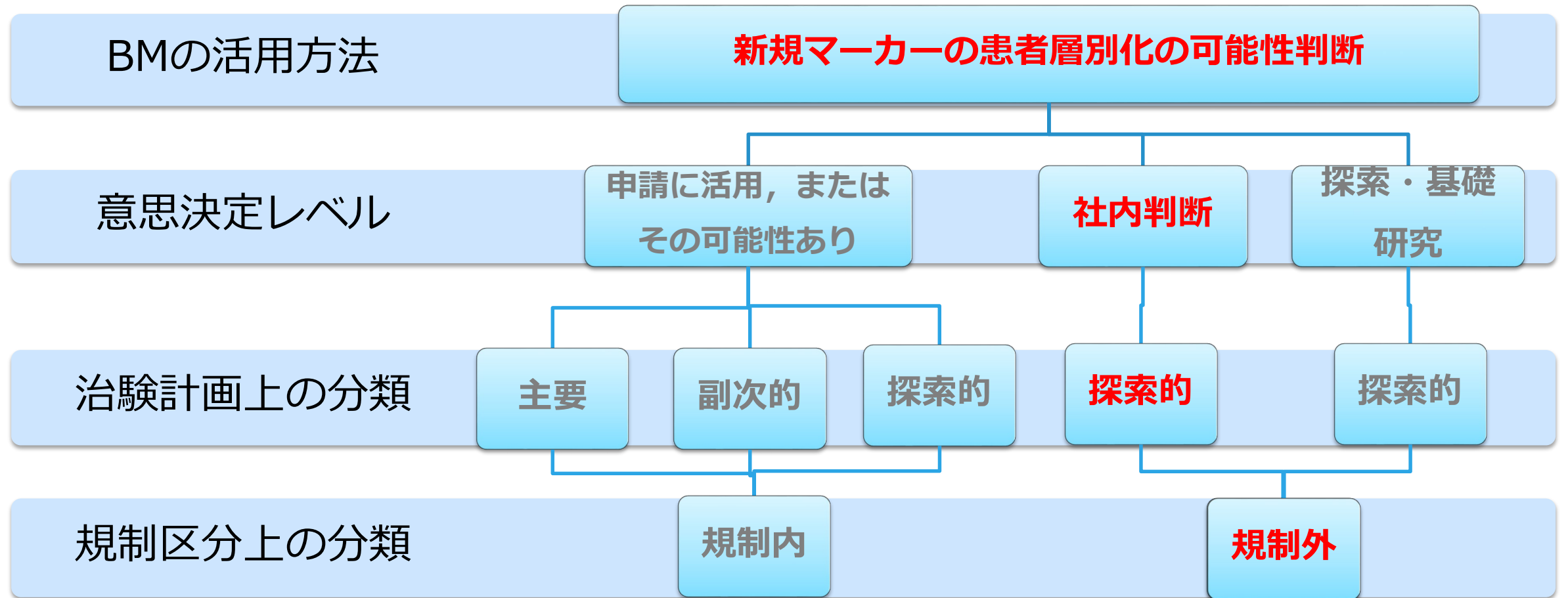
プロジェクトチームからのリクエスト

<プロジェクトチームからのリクエスト&情報>

- 第二相試験にて疾患Aの患者血漿で上昇することが期待される脂質 Bを測ってほしい。
- 投与前濃度と薬効との相関、投与による減少の有無を確認し、患者層別化の可能性を確認したい。
- マーカーの有用性についての社内判断に用いる。
- 社内研究により見いだされた分子であり、論文情報に乏しい。



BM試験骨子のPTとの合意形成



分析信頼性要求レベル：結果の判断に影響が無い程度の分析信頼性があればよい。

スケジュール：検体がある程度まとまった段階で測定。それまでに必要な分析法を確保しておく。評価は長期に及ぶ可能性。

合意形成のポイント：分析技術面



考慮するポイント	PTからの情報	分析の留意点	バリデーション項目
分析技術・プラットフォーム	<ul style="list-style-type: none"> ●脂質B ●BMの挙動は不明 	<ul style="list-style-type: none"> ●LC/MS法一択 ●必要感度を満たす測定条件 	分析法の決定 濃度範囲
分析対象物質・標準品	<ul style="list-style-type: none"> ●非臨床データによるBM選定の妥当性 ●ヒトでの挙動は不明 ●測定値は定量的な指標が必要 	<ul style="list-style-type: none"> ●実試料中のBM変動を反映できること ●検量線が必要 ●標品は確保可能だが、安定同位体は入手不可 	平行性 直線性
分析対象マトリックス	<ul style="list-style-type: none"> ●非臨床モデルでの変動はあまり大きくない ●ヒトでの挙動は不明 ●添加剤，併用薬なし 	<ul style="list-style-type: none"> ●患者血漿 ●ヒト血漿中安定性 ●血漿は入手可能。代替マトリックスを利用する。 	平行性 選択性 特異性 安定性



合意形成のポイント：分析データ面



考慮するポイント	PTからの情報	分析の留意点	バリデーション項目
データ解析方法	<ul style="list-style-type: none"> 薬効との相関解析、群間の有意差検定やROC解析を実施。 他試験と比較する可能性あり 	<ul style="list-style-type: none"> 変動幅が不明であるため、精密な定量は求めないが、再現性は重視したい。 	感度 真度 精度 日内/日間再現性
評価対象集団	<ul style="list-style-type: none"> 疾患や治療・病状の程度 年齢・性別・人種等背景情報 	<ul style="list-style-type: none"> 患者検体入手し、濃度幅を検討 健常人値と日内変動や食事の影響を考慮 	背景データ (健常者、患者)



COUからバリデーションへのつながり



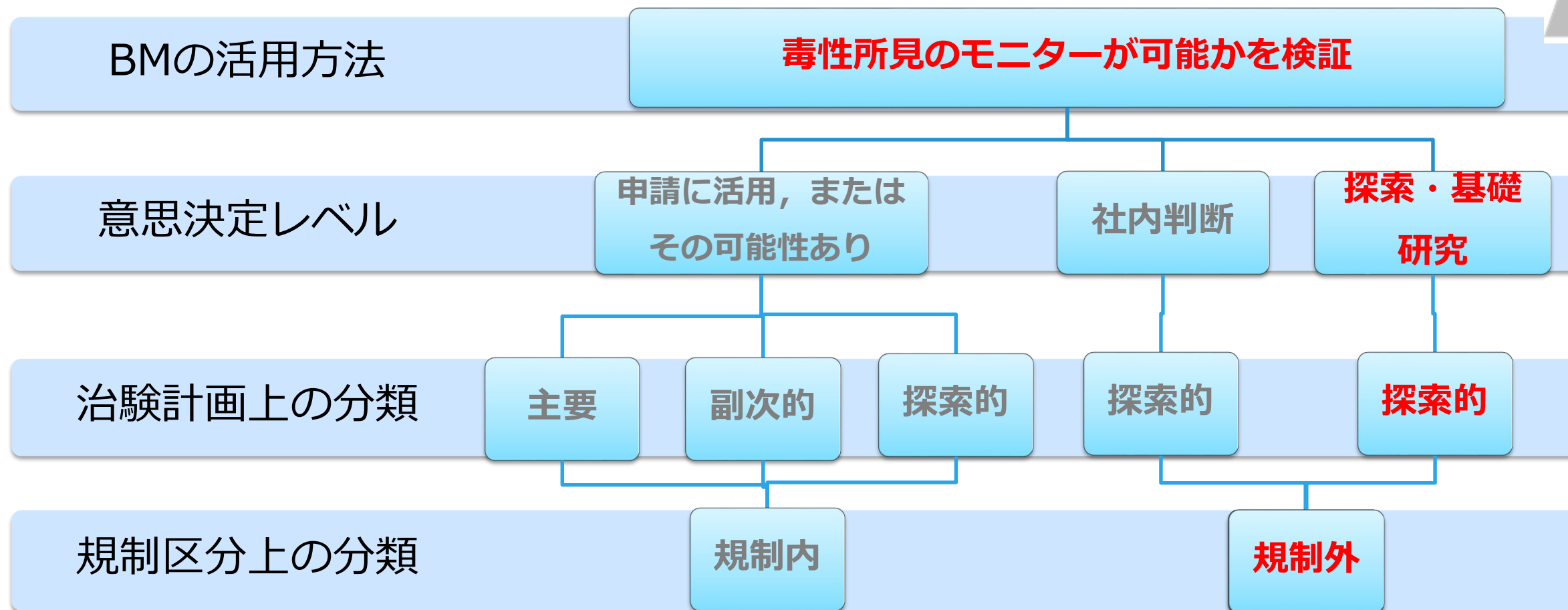
	バリデーション	設定の背景
選択性	3ロットの健常人プール血漿を使用し、添加濃度は1濃度。必要に応じて、MS条件（MRM or HRMS）、LC条件を最適化。	健常人と患者で大きく選択性は変わらないことが想定されるため、健常人プール血漿で代用。
平行性	実施しない	—
感度	健常人、患者血漿を用い、必要な濃度範囲の確認。	変動幅を考慮した濃度範囲設定
真度・精度	代替マトリックスの妥当性検証。 健常人プール血漿に1濃度添加し、真度精度を確認。簡易的な日間再現性も取得。判定基準は20%とする。	想定される濃度範囲がそれほど広くないため、1濃度で十分とした。複数回の評価に渡るため、日間再現性は確認する。
安定性	健常人血漿を用いたベンチトップの安定性を確認。長期安定性用サンプルを仕込んでおき、必要に応じて適宜確認。	非臨床データでも安定性に問題がなく、ベンチトップの安定性の結果でリスク判定できると判断
背景データ	健常人検体を用いて日内、日間変動、食事の影響を確認する。	脂質は変動要因のリスクがあるため、背景情報を得ておく。

プロジェクトチームからのリクエスト

<プロジェクトチームからのリクエスト&情報>

- 第一相試験にて、ある毒性リスクをモニターするため低分子化合物Aを測定したい。
- 治験薬投与により、Aの濃度は上昇すると考えられる。
- 目的は基礎研究で、別のプロジェクトでもデータを取得し、毒性マーカーとしての有用性を検証する。
- 論文情報によるとAはLC-ESI-MS/MSで測定されている。

BM試験骨子のPTとの合意形成



分析信頼性要求レベル：基礎研究だが、プロジェクト横断的にデータを取得する必要があり、将来的に毒性リスク判断の基準を設ける可能性があるため、再現性の高い分析法が必要

治験実施計画書：探索的に内因性代謝物を測定する可能性があることを記載
スケジュール：第一相試験終了後に測定

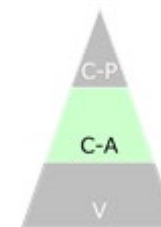


合意形成のポイント：分析技術面



考慮するポイント	PTからの情報	分析の留意点	バリデーション項目
分析技術・プラットフォーム	<ul style="list-style-type: none"> 低分子化合物A 治験薬投与により濃度は上昇 	<ul style="list-style-type: none"> 文献情報を参考にLC/MS測定法を設定 内因性濃度が低いため高感度分析が必要 	分析法の決定 濃度範囲
分析対象物質・標準品	<ul style="list-style-type: none"> 毒性所見と化合物Aの関連を報告する文献が多数 治験薬投与前後で経時的に濃度を取得 	<ul style="list-style-type: none"> 検量線は作成する 文献に記載されているメーカーから標準品を購入 	平行性 直線性
分析対象マトリックス	<ul style="list-style-type: none"> PhIで血漿中濃度を測定 抗凝固剤はEDTA 	<ul style="list-style-type: none"> 安定性が悪いという報告あり 社内ボランティア血漿を使用 	平行性 選択性 特異性 安定性

合意形成のポイント：分析データ面



考慮するポイント	PJからの情報	分析の留意点	バリデーション項目
データ解析方法	<ul style="list-style-type: none"> ● 治験薬投与前と投与後におけるAの濃度推移を比較 ● 複数の臨床試験で取得したデータを比較し考察予定 	<ul style="list-style-type: none"> ● 他試験と比較するため、ある程度の真度・精度は必要 ● 濃度が低いため試料の希釈は不要、感度は必要 	感度 真度 精度 平行性
評価対象集団	<ul style="list-style-type: none"> ● 健常人 ● 一般的なPhIのリクルート条件 	<ul style="list-style-type: none"> ● 文献で濃度範囲を確認 ● PhIのみで測定するため健常人のマトリックスを使用 	背景データ (健常者、患者)



COUからバリデーションへのつながり



	バリデーション	設定の背景
選択性	6ロットの健常人個別別血漿を使用。異性体と分離できるLC条件を設定。	測定はPhIのみのため健常人の試料を使用。
平行性	実施しない	—
感度	健常人の個別別血漿を用い、必要な濃度範囲を確認。	変動幅を考慮して濃度範囲を設定。LLOQは最も濃度が低い試料濃度の約1/4に設定。
真度・精度	代替マトリックスは4濃度，健常人プール血漿は3濃度のQC試料を調製し、真度・精度を確認。血漿試料は日間再現性も取得。判定基準は20%（LLOQは25%）とした。	LLQCは代替マトリックスのみで調製。実測は複数バッチに渡るため、血漿試料は日間再現性を確認。想定されるBMの変動率と分析の難易度を考慮し基準を設定。
安定性	健常人血漿及び代替マトリックスを用いた短期及び長期保存安定性を実施。	文献情報で安定性に懸念があったため、実測前にしっかり安定性データを取得した
背景データ	社内ボランティアによる健常人血漿で個体間差を確認。日内、日間変動、人種差は文献情報で確認。食事の影響は不明。	文献情報のある程度信用し、事前の確認は個体間差のみとした。ただ、実測定の際はプラセボ試料も測定して自社でデータを取得した。

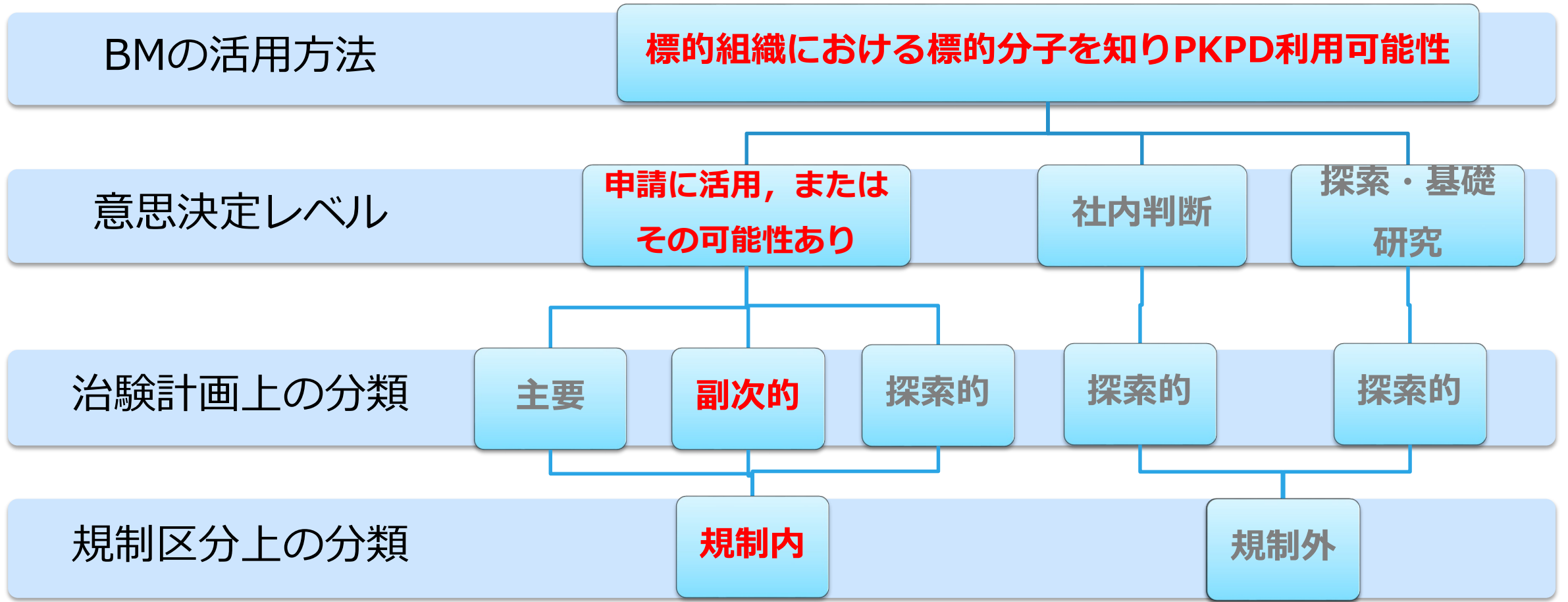
プロジェクトチームからのリクエスト

<プロジェクトチームからのリクエスト&情報>

- 第一相試験にて、標的組織における標的分子の薬剤投与による変動を知りたい。
- 治験薬投与により、Aの濃度は低下すると考えられる。
- 目的は探索だが、PKPDとしての用量設定に使用する可能性がある。
- 非臨床試験では評価実績があるが、ヒトにおいては論文含めて情報がほとんどない。



BM試験骨子のPTとの合意形成



分析信頼性要求レベル：次試験における用量設定根拠データになる可能性があるため、当局説明が可能なレベルの信頼性が必要

試験実施計画書：Secondaryとして評価項目に記載
 スケジュール：CSR記載に間に合うように試験完了

<http://bioanalysisforum.jp/>



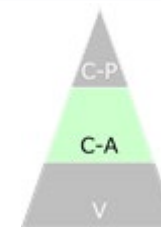
合意形成のポイント：分析技術面



考慮するポイント	PTからの情報	分析の留意点	バリデーション項目
分析技術・プラットフォーム	<ul style="list-style-type: none"> 標的タンパク質A 治験薬投与により濃度は低下 	<ul style="list-style-type: none"> ELISAキットは市販されている ELISAキットのスペック情報あり 	分析法の決定 濃度範囲
分析対象物質・標準品	<ul style="list-style-type: none"> 非臨床では薬剤投与による低下を確認 非臨床での濃度レベルはデータあり 	<ul style="list-style-type: none"> 検量線は作成する 標的組織中濃度は検討確認する必要あり 	平行性 直線性
分析対象マトリックス	<ul style="list-style-type: none"> 生検を計画 	<ul style="list-style-type: none"> 標的組織入手方法 健常者での発現有無 研究倫理対応 	平行性 選択性 特異性 安定性



合意形成のポイント：分析データ面



考慮するポイント	PJからの情報	分析の留意点	バリデーション項目
データ解析方法	<ul style="list-style-type: none"> ● 治験薬投与前後の濃度推移を比較 ● 治験薬用量依存性 	<ul style="list-style-type: none"> ● 真度・精度はLBAガイドラインを前提に内在濃度レベルを考慮して決定 ● 薬理作用による低下時に濃度検出できるかどうか 	感度 真度 精度 日内/日間再現性
評価対象集団	<ul style="list-style-type: none"> ● 健常人 	<ul style="list-style-type: none"> ● バリデーション試験前に濃度確認検体試験を実施 ● P2以降も考慮して患者試料データも取得確認 	背景データ (健常者、患者)



COUからバリデーションへのつながり



	バリデーション	設定の背景
選択性	事前に健常者，患者試料にて内在組織濃度を 確認し，使用試料を決定。 6試料（両性各n=3）を使用し、添加濃度は 内在濃度を考慮して2濃度設定。	事前に健常者，患者を事前に 各10症例内在濃度を確認。
平行性	高値の内在濃度が確認された6試料（両性 各n=3）を利用して5段階希釈を設定（内在 濃度が低い場合はリコンビナント標品を添 加）	内在濃度が高値であれば，そ のまま利用することが望まし い。
感度	ELISAキットスペックに準ずる，平行性確 認時に検出できることが前提。	ELISAキットスペック通りか どうか。
真度・精度	代替マトリクスでLLOQと3濃度及び内在濃 度が確認された6試料（両性各n=3）を利用。	薬剤投与により低下するため、 代替マトリクスでは実濃度よ りも低い範囲を担保。
安定性	内在濃度が確認できた試料（両性n=1）で 実施。	実際は凍結組織試料保管だが、 ホモジネートを使用。
背景データ	健常者と患者を事前確認し，可能であれば 両者を用いる。	P2以降も同バリデーションを 利用することを想定し，患者 データも取得。



バリデーション実施に向けて



<分析担当者からCRO委託に際して伝えること>

- 市販ELISAキット情報を提供，CROでも調査を依頼。
- ヒト組織試料利用実績がないことを伝える。
- 検討試験を準備し，複数キットのフィージビリティとヒト組織中濃度検出確認を行い，バリデーション試験実施可否を含めた計画を立てる。
- バリデーション試験項目の実施基準を伝える。
- 検討試験-バリデーション試験のスケジューリングをし，治験実施計画に間に合うように調整する。

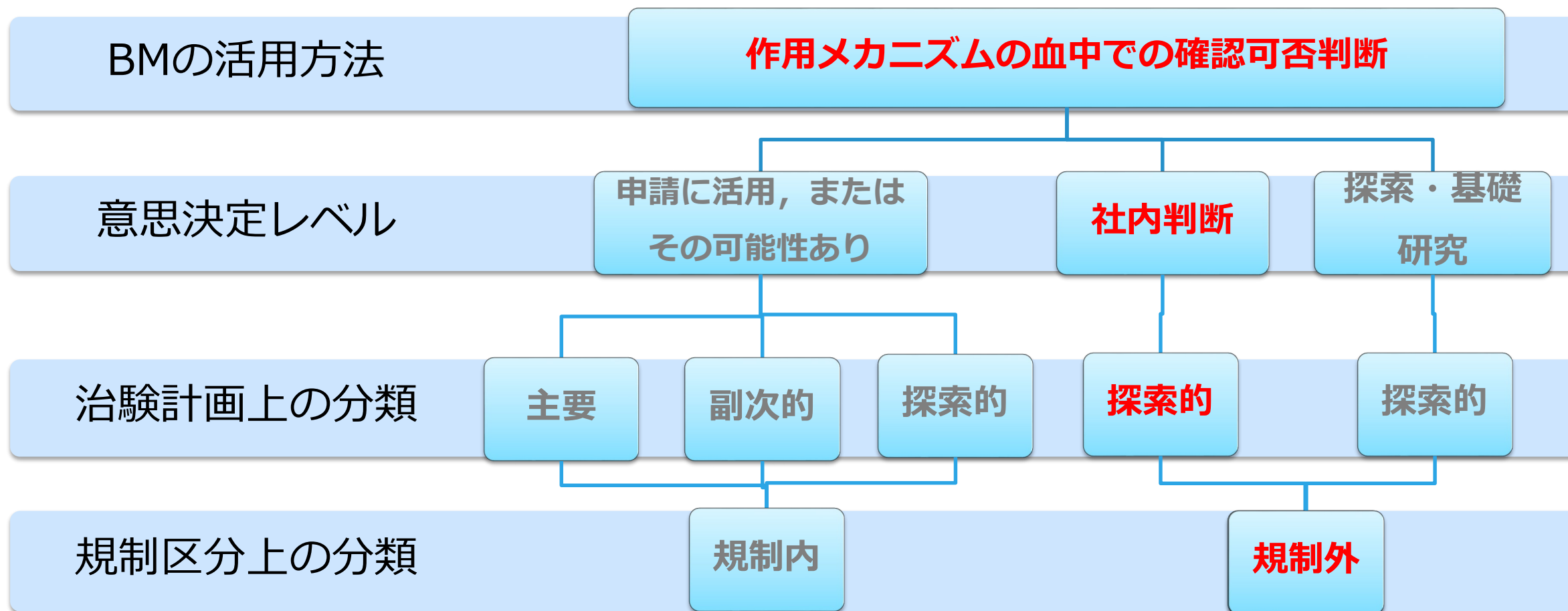
プロジェクトチームからのリクエスト

<プロジェクトチームからのリクエスト&情報>

- 第一相試験にて、開発品候補の薬剤投与による標的分子タンパクAの変動メカニズムを血中で確認したい。
- 標的分子は組織中に特異的に発現する分子であり、血中には極微量にしか存在しないと想定。タンパクAもしくは、一部成熟体となったタンパクBとして血中に存在する
- 生検は倫理的に難しい。
- 目的は作用機序確認を血中でできるかどうかの社内可否判断。
- 非臨床試験ではマウス用の良い抗体が存在しなかったため、血中での検出はできなかった。
- 超高感度なLBAを強みにしているC社がCRO候補として挙がっている。



BM試験骨子のPTとの合意形成



<http://bioanalysisforum.jp/>

分析信頼性要求レベル：非常に高感度な測定法が要求され、検出の難易度が高いため、相応の定量性があれば十分。

治験実施計画書：探索的な項目として記載。CSRには記載しない。

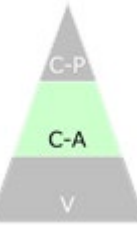
スケジュール：治験とは別試験として、全検体収集後に測定。

合意形成のポイント：分析技術面



考慮するポイント	PTからの情報	分析の留意点	バリデーション項目
分析技術・プラットフォーム	<ul style="list-style-type: none"> タンパクA（前駆体）、B（成熟体）はごく微量である 測定法は感度を重視 高感度測定技術に定評のあるC社が委託先として有望 	<ul style="list-style-type: none"> C社がタンパクA, Bの高感度測定法をバリデーション済みかどうか。 C社がタンパクA, Bの特異的アッセイ法（抗体）を保有しているかどうか 	分析法の決定濃度範囲 特異性
分析対象物質・標準品	<ul style="list-style-type: none"> 分子メカニズムとして薬剤投与により上昇することを想定 非臨床での濃度レベルデータなし 	<ul style="list-style-type: none"> 検量線はA, B共に作成する 	平行性 直線性
分析対象マトリックス	<ul style="list-style-type: none"> 健常人血漿を評価する。 EDTA血漿 	<ul style="list-style-type: none"> 健常者でのタンパクA, Bの想定濃度域の推定。 安定性情報の確認 	平行性 選択性 特異性 安定性

合意形成のポイント：分析データ面



考慮するポイント	PJからの情報	分析の留意点	バリデーション項目
データ解析方法	<ul style="list-style-type: none"> ● 治験薬投与前後の濃度推移を比較 ● 治験薬用量依存性 	<ul style="list-style-type: none"> ● 真度・精度はLBAガイドラインを前提に内在濃度レベルを考慮して決定 	感度 真度 精度 日内/日間再現性
評価対象集団	<ul style="list-style-type: none"> ● 健常人 	<ul style="list-style-type: none"> ● バリデーション試験前に濃度確認検体試験を実施 ● P2以降も考慮して患者試料データも取得確認 	背景データ (健常者、患者)



COUからバリデーションへのつながり



	バリデーション	設定の背景
選択性	事前に健常者の血中濃度を確認し、使用試料を決定 6試料を使用し、添加濃度は内在濃度を考慮して1濃度設定。	事前に健常者10症例以上を確認。
特異性	高濃度のタンパクA(B)を添加し、タンパクB(A)の検量線で定量した時の交叉性を確認。	タンパクAとBがお互いの定量に与える影響を精査。
平行性	高値の内在濃度試料があれば、そちらを利用して5段階を設定（内在濃度が低い場合はリコンビナント標品を添加）	内在濃度が高値であれば、そのまま利用することが望ましい。
感度	C社のスペックに準ずる、平行性確認時に検出できることが前提。	スペック通りかどうか。
真度・精度	血漿で1濃度設定	マトリクスは低濃度試料を使用
安定性	内在濃度が確認できた試料（可能であれば両性n=1）で実施、低濃度の場合は選択性で設定した添加試料を利用。	必要最低限の安定性項目とする。
背景データ	健常者と患者を事前確認し、可能であれば両者を用いる。	P2以降も同バリデーションを利用することを想定し、患者データも取得。



バリデーション実施に向けて



<分析担当者からCRO委託に際して伝えること>

- 条件検討, バリデーションのために必要なCOUを伝達する。
- 既にC社にてバリデーション実施済みであれば, そのデータを最大限活用し, COUの実現のために追加で必要なバリデーション項目について協議する。
- 追加の分析法設定が必要であれば, 検討試験-バリデーション試験のスケジューリングをし, 治験実施計画に間に合うように調整する。

DG2020-45

Points to Consider Document

生体マトリクス中バイオマーカーの適格性承認のための
定量分析法バリデーションに関する
科学的及び規制上の留意事項



Foreword (序文)

- 序文
- 適格性評価において考慮すべき4領域
- 主要な7つのバリデーションパラメーター

Foreword(序文)-1

経緯

- 規制当局へDDT(Drug Development Tool)の適格性承認*に必要な測定法バリデーションで期待される事項についてのコンセンサスの確立
- バリデーションでの科学的及び規制上の考慮事項を定義

現在

- 当初の目的と適用範囲が拡大
- 医薬品開発におけるバイオマーカー分析の包括的ユーザーガイドになっている

未来

- 科学技術の発展に伴い、定期的に更新
- バイオマーカー分析において、バリデーションを支援するための有益な情報源となること

* 適格性申請/承認: DDTとしてのバイオマーカーの FDAによる承認

Foreword(序文)-2

【Points to Consider Documentを読み解くに当たって注意すべきこと】

書いてあるパラメーター全て実施せよ、とは言っていない

- COUに従って、適切なバリデーションを実施すべきである。
パラメータを選別することが、分析の目的を明確にすることもある。また実施するパラメータ、しないパラメータについて説明できることが重要である

FFP (Fit-for-Purpose) とは、必要とするバリデーションレベルがCOUに対して十分なものであるかどうか

- COUを明確にしたうえで必要なバリデーションレベルを決める。
それが「目的に合致した方法で (FFP) 」実施したバイオマーカー分析である。



Foreword(序文)-3

バイオマーカーを分析する際には、使用するプラットフォームの種類に関わらず、以下 **4** つの領域について常に考慮すべき

1

事前に分析条件を決める

Defining pre-analytical conditions

2

分析に求められる性能の設定

Setting analytical performance requirements for assay

3

分析法の評価及び記録

Characterizing and documenting assay performance

4

クライテリアの設定

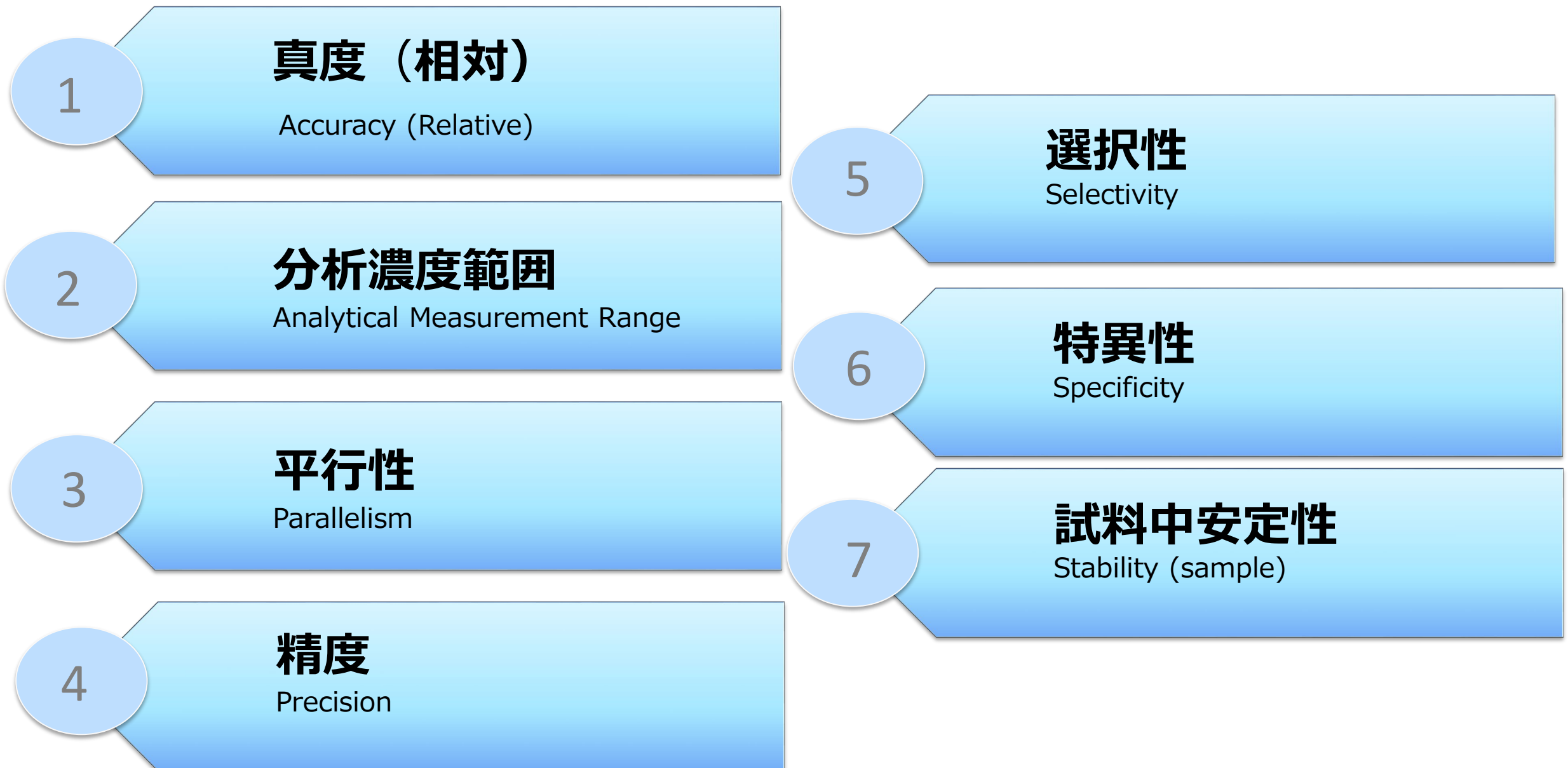
Establishing assay validation acceptance criteria



Foreword(序文)-4

バイオマーカーの分析法バリデーションで考慮すべきパラメーター **7**つ

→ 全て実施することを推奨しているわけではなく、COUによって適切に評価すべき

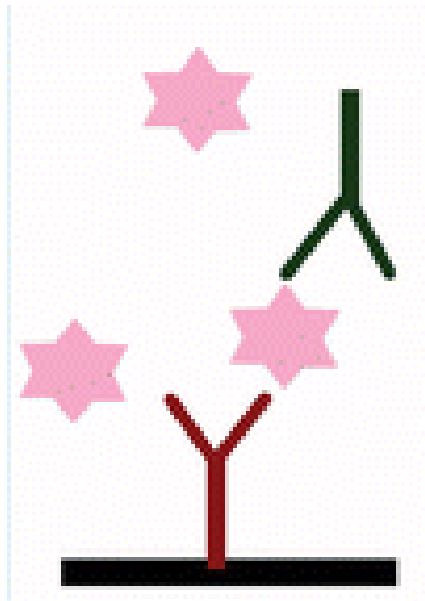


Introduction (序論)

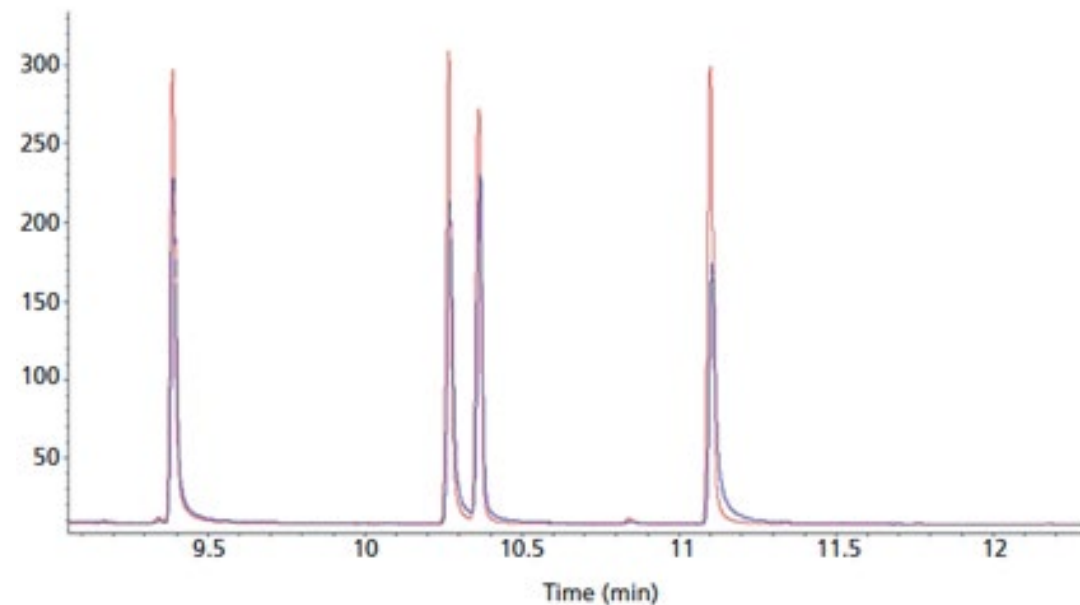
- Analytical Validation vs Clinical Validation
- Biomarker Assay Validation and the Fit-for-Purpose Paradigm

Points to Consider Document の対象

以下を用いた可溶性バイオマーカー*の分析



Ligand Binding Assays
Single plex



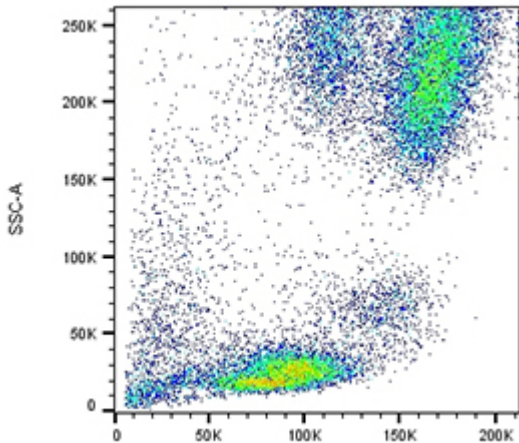
Chromatographic Assays
LC, GC-MS, LC-MS

* 血漿、尿、唾液等に存在するタンパク、ペプチド、脂質、可溶性化学物質など



対象外

以下はPoints to Consider Document の**対象範囲外**である。
 (qPCRについて記載はなかった)

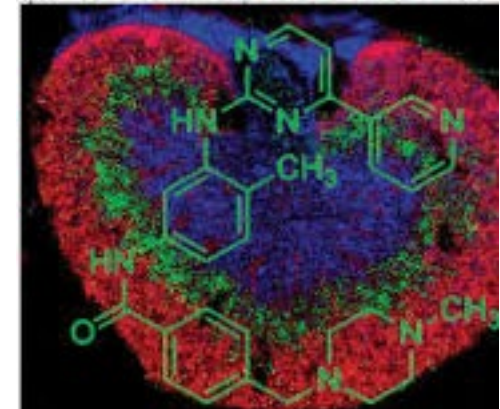


フローサイトメトリー

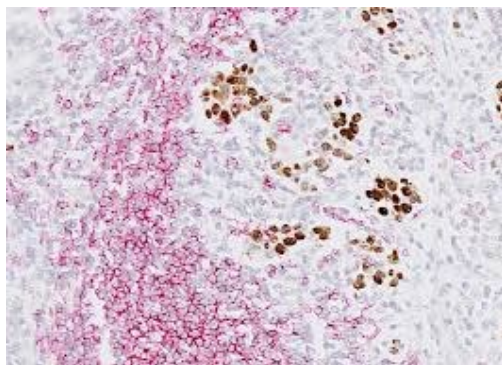


LBA_Multi plex

(基本的にはSingle plexに従うが、追加でバリデートすべきことがあるがこの文書ではその件について記載しない)



イメージング



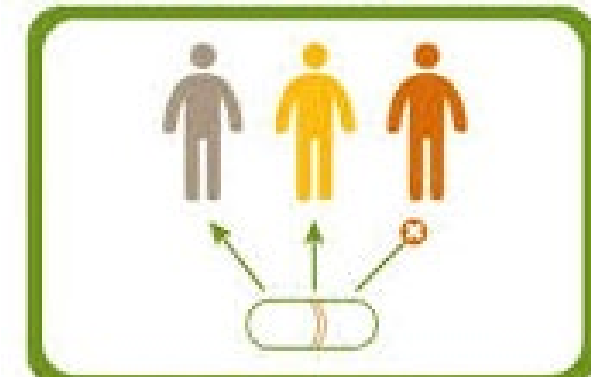
免疫染色



ゲノミクス



臨床検査



コンパニオン
診断薬

<http://bioanalysisforum.jp/>

Introduction(序論)-1

【医薬品開発におけるバイオマーカー測定法の位置づけ】

最終的に適格性申請に用いられるバイオマーカーはフルバリデーションが実施されたバイオマーカー測定法*を利用しなければならない。

* この測定法の性能特性はFDAが定義するDDTとして標的バイオマーカーに対する測定法の適格性をよく理解したものでなければならない。

Introduction(序論)-2

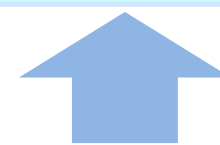
【医薬品開発におけるバイオマーカー測定法の位置づけ】

分析法及びその測定結果が、
分析法の目的に適していることが重要である。

・バイオマーカーのデータの信頼性と再現性を保証する

分析バリデーション

バイオマーカーアッセイの性能特性（例えば、精度、精度、選択性、感度、安定性、および再現性）が適合していることを保証



試験中に測定法に変更があった場合、
 分析的バリデーションを再度行う

臨床バリデーション

設定したCOUに対して、バリデートされたバイオマーカー測定が適切な結果をえることができるかの検証。ただし臨床的有用性と混同してはならない

Introduction(序論)-3

■ バイオマーカー分析法の特性

- 様々な要因による個体差のために変動する分子の内因性レベルの増加又は減少を測定すること

■ バイオマーカーサンプルについての課題



サンプルは手に入りやすい？
流体ベースのような扱いやすい形状？
対象バイオマーカーは？

以上の要因を考慮すると

バイオマーカーの適格性承認に使用される分析法の判定基準と期待値は以下の点を考慮しなければならない

- 測定される分子のタイプ
- バイオマーカーが医薬品開発や規制上の意思決定に適用されているかどうか。

Introduction(序論)-4

【バイオマーカー測定法とほかの測定法との関係】

薬物動態(PK)測定法の分析法バリデーション

≠ バイオマーカー測定法の分析法バリデーション

➔ バイオマーカーの適格性承認のための分析バリデーションは、医薬品の開発状況に合わせて改良しなければならない。

- 薬物動態(PK)測定法の分析法バリデーションは医薬品開発ツールとしてバイオマーカー測定法に普遍的に適用できるものではない。これは、バイオマーカーの適格性確認に用いる分析法に期待されるものが異なるためである。
- 薬物動態(PK)測定法のバリデーションの基準は、バイオマーカーのバリデーションの基準に一部利用することはできるが、バイオマーカー測定に利用されている技術は多岐にわたっており、それぞれが異なる技術的要件を有しているため、基準をすべて受け入れることはできない。

Introduction(序論)-5

【本留意事項の目的】

DDTの承認に使用される可溶性バイオマーカー*の分析法妥当性を確認するためには、
科学的及び規制上の考慮事項を定義すること

* 血漿、尿、唾液などに溶解しているタンパク質、ペプチド、脂質、その他の化学物質

【本留意事項で議論されるトピック】

- 分析法の設計及び技術選択
- 試料採取から分析までの作業（輸送、保管、前処理など）の最適化
- 主要な分析法の期待される性能
- 最低限許容できる分析法の性能基準の設定

分析法バリデーションに関する ガイドライン

- 2001: Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation
- 2013: Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation(draft)
- 2015: Evidentiary Considerations for Integration of Biomarkers in Drug Development
- 2018: Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation

バリデーションのガイドライン-1

発表年	2001（ガイダンス）
題名	Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation
概要	<p>○メソッドバリデーション</p> <ul style="list-style-type: none"> ・臨床試験PK評価における薬効、バイオアベイラビリティ、生物学的同等性について ・対象：フルバリデーション、パーシャルバリデーション、クロスバリデーション ・推奨キーパラメーター：選択性、真度、精度、回収率、検量線、安定性（スパイクサンプル）
発表年	2013（ガイダンス（ドラフト））
題名	Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation(draft)
概要	<p>○2001年のガイダンスの改定案</p> <ul style="list-style-type: none"> ・生物分析法の妥当性確認に関連する最近の科学技術の進歩に対応。 ・基本的なパラメーターの確認：真度、分析測定範囲、平行性、精度、選択性、特異性、安定性（サンプル）

バリデーションのガイドライン-2

発表年	2015 (シンポジウム)
題名	Evidentiary Considerations for Integration of Biomarkers in Drug Development
概要	<p>○シンポジウムの目的</p> <ul style="list-style-type: none"> ・バイオマーカーの認定に対する科学的および規制上の期待を定義し、最終的に体系化すること。

発表年	2018 (ガイダンス)
題名	Guidance for Industry Bioanalytical Method Validation
概要	<p>○業界向けガイダンス「生物学的分析法バリデーション」の最終版</p> <ul style="list-style-type: none"> ・バイオマーカー測定法のための分析法バリデーションは、薬物測定法の分析法バリデーションと同じようにするべきである。 ・バイオマーカーアッセイのバリデーションの出発点として薬物アッセイに用いるアプローチを用いるべきであるが、FDAはすべて適用できるわけではないことを認識している。

分析法をデザインし、構築し、 そしてバリデーションを行う

- Key assumption
- Assay Design and Technology Selection
- Assay Validation Acceptance Criteria



Key assumption-1

~C-Path文章における適格性承認のための分析に関する重要な仮定

分析法デザイン

- ・ 分析法構築における要求や考慮すべき事項は『COU（また最終的には医薬品開発への適応内容）』に基づく

Validation parameters

PK・TK測定法の分析法バリデーション

≠

バイオマーカー測定法の分析法バリデーション



Key assumption-2

~C-Path文章における適格性承認のための分析に関する重要な仮定

バイオマーカーの適格性承認

『バイオマーカーの適格性を評価できる』ことが重要

- ・ 『バイオマーカーの適格性承認があればCDRH (Center for Devices and Radiological Health) が承認しているまたは認可している』 わけではない
- ・ 『FDAの承認または認可された分析法』 はCOUに適さない (適応外) 可能性がある

* 『CDRHの認可なしに規制対象の臨床診療に使用』 できるものではない

COU = 分析法の選択とデザインのために、最も重要な前提条件

【考慮すべき事項】

- COUを十分に検討し、分析法をデザインするために、実際的な留意事項を考える
(例) リスクを考慮し、標準的な方法で試料を採取すると、分析法のデザインの見直しが必要になる)
- COUによっては、測定法を繰り返し見直す必要がある (例 ; 試験規模、単一施設か複数施設か、医薬品開発が進むにつれて異なる/改良される分析性能)。

【注意事項】

- バイオマーカー分析法を選択する際に影響を与える事柄
 - 測定対象バイオマーカーの種類 (タンパク質、脂質等)
 - 必要となる感度及び選択性
 - 分析法の使いやすさ
- 現在の自動化された技術は、判断基準を満たす精度を示すことがほとんどである。よって入手しやすい試薬を用いて、分析パラメータを比較し、分析法を選択することが重要になる。
- 高度な専門性が必要となる分析法やデータ処理ではグローバルに展開しにくいいため、バイオマーカー分析は汎用性があることが重要。



Assay Design and Technology Selection-3

【考慮すべき項目】

大項目	小項目
Biomarker	Stability of biomarker if known in disease conditions Biology, structure and isoforms
Context of Use	Application requirements, Test population (e.g., human (healthy, disease), animal), Patient population comorbidities, Sample acquisition
Use Environment	Lab vs. field, Ruggedness / Robustness , User training, Maintenance, Sample collection (timing, methods, transport and storage), Immediate vs stored analyses, Sample preservation, Single/multiple sites, Single/multiple use (aliquot size; storage stability and freeze/thaw) , Contamination effects (e.g., blood in CSF)
Assay features	Analyte(s) selection (measurands), Qualitative/ Semi-Quantitative/Quantitative , Calibrators/ reference material, Controls (external, internal) , Reportable range, Reference interval, Specimen volume/quantity requirements, Desired analytical precision and aTAE, desired detection sensitivity – upper and lower limits and putative detection range, Selectivity and specificity considerations including probable interference factors in endogenous matrix, Results turn-around time, Batch mode vs random access performance in automated clinical analyzers, Automation, Process software, Analyte or reagent carry-over, Analytical software, user interface, Waste/hazard containment, Cost, Technical support requirements
Iteration (versioning, Platform/technology migration, convergence)	Interim data evaluation, Assay refinement

Assay Validation Acceptance Criteria-1

バイオマーカー分析において クライテリアを設定することは最も難しい

【理由】

低分子、高分子のPK試験で確立しているクライテリアとは異なり、バイオマーカーの分析では、生理学的挙動によってクライテリアを変える必要がある。また、バリデーションに用いることができるサンプルの特性によっては、クライテリアの設定にさらなる影響を及ぼす。

【注意事項】

- バイオマーカー分析法がFit for purposeであるかどうかは、バイオマーカーの変動を統計的有意差としてとらえることができるか、が重要になる
 - ＜有意差がない場合、以下が考えられる＞
 - その分析法は適切な分析特性を欠いている
 - バイオマーカーがCOUに適していない
 - 試験の規模/被験者の選択が不適切
- バリデーションが妥当である、と判断するため必要なこと
 - 分析法の適切に評価する（主要な7つのバリデーションパラメータと相対真度）
 - 健常人で存在する濃度範囲をとらわれずにバイオマーカーの変化を明確に区別できること



Assay Validation Acceptance Criteria-3

項目	概要
真度 (相対)	理論値に対する測定値の程度 (%) バイオマーカーで標準物質の入手が難しいことが多く、『相対真度』が利用されることが多い
測定範囲	LLOQ ~ ULOQ <ul style="list-style-type: none"> 希釈が必要な場合は、希釈倍数を乗じる 内部標準を用いない分析法の場合、n=2でデータを取得する r値による相関関係の解釈はLBAとクロマトグラフ法で異なる TAE (total analytical error) を計算する
平行性	<ul style="list-style-type: none"> 主にLBAで必須。希釈直線性とは異なる。 代替と生体マトリクスが、測定範囲内で同じ挙動を示すかの検証
精度	バッチ内/間での測定値の同一性。バリデーション実施前に確認しておくことが望ましい
選択性	マトリックス由来成分と分析対象物質を区別し、測定する能力
特異性	類似物質と分析対象物質を区別し、測定する能力
(試料中) 安定性	可能な限り臨床検体 (生体マトリックス、内因性物質) を用いる。化学的根拠があれば代替でもよい。初期値を取るのが難しい場合、経時変化を追う

○バイオマーカーとは、低分子、高分子を問わず生体の内因性化合物である。健常人と患者ではその値が大きく異なることがあるので、注意を要する。

○バイオマーカーの適格性承認において、分析法バリデーションは不可欠であり、分析法はCOUに適合した基準で定義されることが必要である。これには、4つの考慮すべき領域及び主要な7つのパラメーターなどが含まれている。

以下の場合、その分析性能は許容可能であると考えられる。

- 1) 適切な分析法の特性評価方法が適用されている
(分析法の精度、精度、定量下限値/上限値、特異性、直線性、平行性、堅牢性)
- 2) バイオマーカーの変化を正確に区別可能な分析法である
(通常の変動の範囲外にある場合や、変化が微小の場合)。

○分析法バリデーションのためのガイダンスがでていますが、完全に合致させる必要はない。



DG2020-45からの提言

まとめ：COUの理解と運用①

- **BA担当者にとってのCOUは、『分析法開発やバリデーションを適切に行うために必要な情報』である。**
 - 主たる要素は、①分析プラットフォーム、②マトリクス、③分析対象物質、④評価対象集団、⑤データ解析方法・判断基準、⑥プロジェクトチーム（PT）がBMデータから判断・決定したいことである。
- **COUの理解と運用のため、BA担当者はPTメンバーと積極的にコミュニケーションすべきである。PTからの情報取得だけでなく、BAに関するCOUやリスクの情報提供を行い相互理解を深める。**
 - COUが明確でない場合、それで生じるリスクをチームに共有し分析法開発をどのように進めるのか合意をすべきである。特に、感度や精度の基準設定に必要な情報が欠落している場合、過剰・過少対応とならないようにする。
 - COUは文書化する。データや情報の追加・更新に合わせて改訂しチーム合意する。

まとめ：COUの理解と運用②

- BA担当者は、PTと合意したCOUをもとに分析法開発の戦略・計画を立てる。
- BA担当者は、CRO担当者にもCOU及び分析法開発の戦略・計画を共有する。また、CRO担当者からの助言も参考に戦略・計画を改善する。



COU



適切な分析法

臨床開発を促進させる
BMデータ革新的な医薬品を
いち早く