

DG2022-56

LBAのライフサイクルマネジメント

Lifecycle management of ligand binding assays

DG members

Name	Company
羽成 優 <i>Suguru Hanari</i>	シミックファーマサイエンス株式会社 <i>CMIC Pharma Science Co., Ltd.</i>
木村 竜一郎 <i>Ryuichiro Kimura</i>	シオノギテクノアドバンスリサーチ株式会社 <i>Shionogi TechnoAdvance Research Co., Ltd.</i>
小島 知子 <i>Tomoko Kojima</i>	株式会社サンプラネット <i>Sunplanet Co., Ltd.</i>
清水 浩之 <i>Hiroyuki Shimizu</i>	田辺三菱製薬株式会社 <i>Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation</i>
谷口 由華子 <i>Yukako Taniguchi</i>	株式会社新日本科学 <i>Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.</i>
福田 幸祐 <i>Kosuke Fukuda</i>	住友ファーマ株式会社 <i>Sumitomo Pharma Co., Ltd.</i>
齊藤 哲 (オブザーバー) <i>Tetsu Saito</i>	株式会社サンプラネット <i>Sunplanet Co., Ltd.</i>

活動の内容

- Jun 2022
 - ✓ メンバー募集
- 4 Jul 2022
 - ✓ キックオフミーティング
- Jul 2022～Jan 2023
 - ✓ TCとメールを用いた議論
- Dec 2022～ Feb 2023
 - ✓ ポスター作成

免責事項

本発表における資料等に対する調査等はDGメンバーが行ったものである。

正しくは元の資料等を参照されたい。

本DGの目的

長期間にわたる医薬品開発では、試験中に標準物質や重要試薬などの試験材料や装置並びに測定施設の変更などが生じ得る。

Ligand Binding Assay (LBA) の性能は試験材料に依存することが多く、開発全体を通じたデータの一貫性の担保が重要である。

さらに近年、分析法自体のライフサイクルマネジメント (LCM) として、疾患集団の試料を用いた追加評価等も求められている。

LBAのライフサイクルマネジメントに関する議論を行った。

- ・ 薬物濃度分析

- ✓ ICH M10の内容を議論
- ✓ JBF DGサポーター向けのアンケートにより経験及び考えを調査

- ・ バイオマーカー分析

- ✓ BMV (FDA) 及びAMED留意点文書の内容を議論

- ・ 抗薬物抗体分析

- ✓ FDA Guideline、EMA Guidance及び関連する文献 (White paper) の内容を議論



1. 薬物濃度分析



INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION OF TECHNICAL
REQUIREMENTS FOR PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE

ICH HARMONISED GUIDELINE

**BIOANALYTICAL METHOD VALIDATION AND STUDY
SAMPLE ANALYSIS
M10**

Final version
Adopted on 24 May 2022

薬物濃度分析のLCMについて、ICH M10の内容をDGメンバーでレビュー、議論した。抜粋して重要な点をまとめた。

ICH M10

- It is recommended that the manufacturing batch of the reference standard used for the preparation of calibration standards and QCs is derived from the same batch of drug substance as that used for dosing in the nonclinical and clinical studies whenever possible.
- If the reference standard batch used for bioanalysis is changed, bioanalytical evaluation should be carried out with QCs from the original material and the new material prior to use to ensure that the performance characteristics of the method are within the acceptance criteria.

- ✓ 検量線用標準試料及びQC試料の調製に用いる標準物質の製造バッチは、可能な限り、非臨床試験及び臨床試験での投与に使用されるものと同じ原薬バッチ由来であることが望ましい。
- ✓ 生体試料中薬物濃度分析に用いる標準物質のバッチが変更された場合は、分析法の性能特性が判定基準内にあることを保証するため、使用する前に、生体試料中薬物濃度分析による評価を実施すべきである。

ICH M10

- A critical reagent lifecycle management procedure is necessary to ensure consistency between the original and new batches of critical reagents. **Reagent performance should be evaluated using the bioanalytical method.**
- Minor changes to critical reagents would not be expected to influence the method performance, whereas major changes may significantly impact the performance. **If the change is minor (e.g., the source of one reagent is changed), a single comparative accuracy and precision assessment is sufficient for characterisation. If the change is major, then additional validation experiments are necessary.** Ideally, assessment of changes will compare the method with the new reagents to the method with the old reagents directly.

- ✓ 重要試薬の最初のバッチと新しいバッチとの一貫性を保証するため、重要試薬のライフサイクルマネジメントの手順が必要である。試薬の性能は生体試料中薬物濃度分析法を用いて評価されるべきである。
- ✓ 重要試薬に対する軽微な変更は分析性能に影響を与えないと考えられるが、大きな変更は分析性能に大きく影響を与える可能性がある。軽微な変更（例えば、1つの試薬の入手先の変更）であれば、1回の真度及び精度の比較評価で特徴づけのためには十分である。しかし、大きな変更であれば、追加のバリデーション試験が必要となる。理想的には、新旧試薬を用いた定量の直接比較により、変更前後の評価を行う。

ICH M10

- Retest dates and validation parameters should be documented in order to support the extension or replacement of the critical reagent. Stability testing of the reagents should be based upon the performance in the bioanalytical method and upon general guidance for reagent storage conditions. It can be extended beyond the expiry date from the supplier. The performance parameters should be documented in order to support the extension or replacement of the critical reagent.
- ✓ 重要試薬の使用期間延長及び変更の根拠として、リテスト日とバリデーションパラメータを文書に記録すべきである。試薬の安定性試験は、生体試料中薬物濃度分析法の性能に基づくとともに、試薬の保存条件に関する一般的な指針に基づいて実施することにより、入手先で定められた有効期限を超えて使用することができる。重要試薬の延長又は変更を裏付けるため、分析法の性能に関連するパラメータを文書に記録すべきである。

ICH M10

- Selectivity should be evaluated in lipaemic samples and haemolysed samples (Refer to Section 3.2.1). For lipaemic and haemolysed samples, tests can be evaluated once using a single source of matrix. Selectivity should be assessed in samples from relevant patient populations (e.g., renally or hepatically impaired patients, inflammatory or immunology patients if applicable). In the case of relevant patient populations, there should be at least five individual patients.

- ✓ 選択性は、高脂質性試料及び溶血性試料でも評価すべきである（3.2.1項を参照）。高脂質性試料及び溶血性試料の評価は、1個体のマトリックスを用いた1回の試験で可能である。選択性は、**関連する患者集団**から得た試料を用いて評価すべきである。この場合、**少なくとも5人の患者の試料を用いる必要がある**。

セクション3.2.1

- ✓ 高脂質性マトリックスにおける選択性の評価では、1個体以上のマトリックスを用いるべきである。科学的に意味のあるものとするため、バリデーションに用いるマトリックスは、予測される実試料をできるだけ代表するものである必要がある。
- ✓ 溶血性マトリックスに対する選択性の評価では、1個体以上のマトリックスを用いるべきである。溶血性マトリックスは、溶血を目視で観察できるように、マトリックスに溶血させた全血（少なくとも2%v/v）を添加して調製する。

分析単位の判定基準

ICH M10

- If the rejected calibration standard is the LLOQ, the new lower limit for this analytical run is the next lowest acceptable calibration standard of the calibration curve. If the highest calibration standard is rejected, the new upper limit for this analytical run is the next acceptable highest calibration standard of the calibration curve. **The new lower and upper limit calibration standard will retain their original acceptance criteria (i.e., $\pm 20\%$). The revised calibration range should cover all QCs (low, medium and high).** The study samples outside of the revised assay range should be reanalysed.

- ✓ 改訂された検量線範囲外の試験試料は再分析されるべきである。定量下限の検量線用標準試料が棄却された場合、当該分析単位における新たな下限は、検量線上の次に低い濃度で判定基準を満たす検量線用標準試料とする。最高濃度の検量線用標準試料が棄却された場合、当該分析単位における新たな上限は、検量線上の次に高い濃度で判定基準を満たす検量線用標準試料とする。この新たな下限及び上限検量線用標準試料は、当初の判定基準（すなわち、 $\pm 20\%$ ）を満たすものとする。**変更された定量範囲にはすべてのQC試料濃度（低濃度、中濃度及び高濃度）が含まれなければならない。**変更された定量範囲から外れた実試料については、再分析を実施すべきである。

ICH M10

- At least 2 QC sample levels should fall within the range of concentrations measured in study samples. At the intended therapeutic dose(s), if an unanticipated clustering of study samples at one end of the calibration curve is encountered after the start of sample analysis, the analysis should be stopped and either the standard calibration range narrowed (i.e., partial validation), existing QC concentrations revised, or QCs at additional concentrations added to the original curve within the observed range before continuing with study sample analysis. It is not necessary to reanalyse samples analysed before optimising the calibration curve range or QC concentrations.

- ✓ 少なくとも2つのQC試料濃度が、測定された実試料の濃度範囲内に入らなければならない。予定される臨床用量において、試料分析の開始後に、予期せず実試料の測定値が検量線の一端に集まってしまった場合、分析を中止し、実試料分析を継続する前に、定量範囲を狭めるか（すなわち、パーシャルバリデーション）、QC試料濃度を変更するか、又は設定している検量線の範囲内で追加濃度のQC試料を加えるべきである。検量線の定量範囲又はQC試料濃度の最適化前に分析した実試料を、再分析する必要はない。

ICH M10

- Partial validations evaluate modifications to already fully validated bioanalytical methods. Partial validation can range from as little as one within-run accuracy and precision determination, to a nearly full validation. **If stability is established at one facility it does not necessarily need to be repeated at another facility.**
- For LBAs, typical bioanalytical method modifications or changes that fall into this category include, but are not limited to, the following situations:

- ✓ パーシャルバリデーションは、すでにフルバリデーションを実施した生体試料中薬物濃度分析法の変更について評価する。パーシャルバリデーションは、分析単位内の真度及び精度の1回の評価から、フルバリデーションに近い評価まで、様々な場合がある。**ある施設において安定性が確立された場合、必ずしも他の施設で繰り返す必要はない。**
- ✓ 評価したパラメータがフルバリデーションで設定された判定基準を満たす場合は、パーシャルバリデーションが成立したと認められる。基準が満たされない場合は、追加の検討とバリデーションを実施する必要がある。
 - ・ リガンド結合法に使用する重要試薬の変更（例えば、ロット変更）
 - ・ MRD の変更
 - ・ 試料保存条件の変更
 - ・ 定量濃度範囲の変更
 - ・ 分析手法の変更（例えば検出システム、プラットフォーム）
 - ・ サンプル調製の変更
 - ・ 生体試料中の抗凝固剤の変更（例：ヘパリンからEDTA）
 - ・ 同じ分析法での分析施設の変更（施設間の生体試料中薬物濃度分析法の移管）

ICH M10

- Cross validation is required to demonstrate how the reported data are related when multiple bioanalytical methods and/or multiple bioanalytical laboratories are involved. Cross validation is required under the following situations:
 - Data are obtained from different fully validated methods within a study.
 - Data are obtained within a study from different laboratories with the same bioanalytical method.
 - Data are obtained from different fully validated methods across studies that are going to be combined or compared to support special dosing regimens, or regulatory decisions regarding safety, efficacy and labelling.
- Cross validation should be assessed by measuring the same set of QCs (low, medium and high) at least in triplicate and study samples (if available) that span the study sample concentration range ($n \geq 30$) with both methods, or in both laboratories.

- ✓ 以下の状況では、データを比較するためにクロスバリデーションが必要となる。
 - 同一試験内で、それぞれフルバリデーションされた異なる分析法によりデータを取得する場合
 - 特定の用法用量又は安全性、有効性、添付文書の記載内容に関する規制当局による意思決定を支持するため、統合又は比較される複数の試験間において、それぞれフルバリデーションされた異なる分析法によりデータを取得する場合
 - 同一試験内で、異なる施設から同一の生体試料中薬物濃度分析法を用いてデータを取得する場合
- ✓ クロスバリデーションは、3セットの同一QC試料（低濃度、中濃度及び高濃度）、並びに実試料の濃度範囲全体が含まれるような実試料（可能であれば $n \geq 30$ ）を両方の分析法又は両方の施設において測定して評価すること。

ICH M10

- Although lack of parallelism is a rare occurrence for bioanalytical methods for PK evaluation, **parallelism of LBA should be evaluated on a case-by-case basis, e.g., where interference caused by a matrix component (e.g., presence of endogenous binding protein) is suspected during study sample analysis.**
- Some methods may demonstrate parallelism for one patient population, but lack it for another population. Generally, these experiments should be conducted during the analysis of the study samples due to the unavailability of study samples during method development or validation.
- **The consistency of the back calculated concentrations between samples in a dilution series should not exceed 30% CV.** However, when applying the 30% criterion, data should be carefully monitored as results that pass this criterion may still reveal trends of non-parallelism. In the case that the sample does not dilute linearly (i.e., in a non-parallel manner), a procedure for reporting a result should be defined a priori.

- ✓ PK評価のための生体試料中薬物濃度分析法において平行性の欠如は稀であるが、例えば、実試料分析中にマトリック成分（例えば、内因性結合タンパク質の存在）による**干渉が疑われる場合には、ケースバイケースで評価されるべき**である。
- ✓ メソッドによっては、ある患者集団では平行性を示すが、別の患者集団では示さない場合がある。一般的に、メソッドの開発またはバリデーション中に実試料を使用できないため、これらの確認は実試料分析中に実施されるべきである。
- ✓ **希釈系列内の試料間の定量値の一致度は、30%CVを超えないこと。**ただし、30%の基準を適用する場合、この基準をクリアした結果でも非平行性の傾向が見られることがあるため、データを注意深くモニターする必要がある。試料が直線的に希釈されない（非平行）場合、結果を報告するための手順を事前に定義する必要がある。

ICH M10

- If the reference standard in the kit differs from that of the study samples, testing should evaluate differences in assay performance of the kit reagents. The specificity, accuracy, precision and stability of the kit assay should be demonstrated under actual conditions of use in the facility conducting the sample analysis. Modifications from kit processing instructions should be completely validated.
- Calibration standards and QCs should be prepared in the same matrix as the study samples. Kits with calibration standards and QCs prepared in a matrix different from the study samples should be justified and appropriate experiments should be performed.
- If multiple kit assay lots are used within a study, lot-to-lot variability and comparability should be addressed for any critical reagents included in the kits.

- ✓ キット内の標準物質が実試料の標準物質と異なる場合、キットに含まれる試薬を用いた場合と分析性能の違いを評価すべきである。実試料を分析する施設での使用条件下で、分析法の特異性、真度、精度及び安定性を評価する必要があるキットの取扱説明書に記載されている処理手順を変更する場合は、その内容を完全にバリデートすべきである。
- ✓ 検量線用標準試料及びQC 試料は、実試料と同じマトリックスを用いて調製すべきである。実試料と異なるマトリックスを用いて調製された検量線用標準試料及びQC試料が使われているキットの場合は、その妥当性を検証し、適切な試験を実施すべきである。
- ✓ 1試験中に複数ロットのキットを用いる場合は、キットに含まれる重要試薬について、ロット間のばらつき及び同等性を調べておく必要がある。

懸念点・留意点

□ 使用期限切れの懸念

- 使用期限を更新する必要がある
 - ✓ 新たなCOAを入手して更新する
- 新ロットを入手する必要がある

□ ロット/製造バッチが変更の懸念

- 旧ロットと同等性を確認する必要がある
 - ✓ 日内再現性等を実施して同等性を確認する
 - ✓ COAで旧ロットとの同等性を確認する

重要試薬（抗体・抗原等）

懸念点・留意点

市販品、自社品（標識体含む）問わず、これらの対応が必要との意見が多かった。

□ 使用期限切れの懸念

- ▶ 使用期限を更新する必要がある
 - ✓ 日内再現性等を実施して更新する
 - ✓ 新たなCOA（生物活性情報を含む）を入手して更新する
- ▶ 新ロットを入手する必要がある

□ ロット/製造バッチが変更の懸念

- ▶ 旧ロットと同等性を確認する必要がある
 - ✓ 日内再現性等を実施して同等性を確認する

安定性は不要

□ 販売/製造が終了の懸念

- ▶ 別の重要試薬を使用する場合、フルバリデーションが必要となる

重要試薬（測定用プレート）

懸念点・留意点

□ 使用期限切れの懸念

- ▶ 新ロットを入手する必要がある

測定用プレートのロットにも留意する必要があるという意見が多かった

□ ロット/製造バッチが変更の懸念

- ▶ 旧ロットと同等性を確認する必要がある
 - ✓ 日内再現性等で同等性を確認する

安定性は不要

□ 販売/製造が終了の懸念

- ▶ 同等品でない測定用プレートを使用する場合、フルバリデーションが必要となる場合もある
(例：重要試薬の固相化様式が変更となる場合)



2. バイオマーカー分析



Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry

U.S. Department of Health and Human Services
Food and Drug Administration
Center for Drug Evaluation and Research (CDER)
Center for Veterinary Medicine (CVM)

May 2018
Biopharmaceutics

210326 確定版

AMED 研究班

「医薬品の安全性および品質確保のための医薬品規制に係る国際調和の推進に関する研究」「バイオマーカー分析法バリデーション検討グループ」

医薬品開発ツールとしてのバイオマーカーの分析法バリデーションと実試料分析に関する留意点文書

<http://bioanalysisforum.jp/>

バイオマーカー分析のLCMについて、BMV (FDA) 及びAMED留意点文書の内容をDGメンバーでレビュー、議論した。抜粋して重要な点をまとめた。

BMV (FDA)

- When using expired reference standards, the sponsor should provide an updated CoA or re-establish the identity and purity of the standard. If the reference standard expires, the sponsor should not make stock solutions with this lot of standard unless the standard's purity is re-established. For internal standards (ISs), the sponsor does not have to provide a CoA or evidence of purity if it demonstrates that the IS is suitable for the specific use (e.g., lack of interference with an analyte).

- ✓ 期限切れの標準物質を使用する場合、スポンサーは最新のCoAを提供するか、標準物質の同一性と純度を再確立する必要がある。

標準物質が期限切れの場合、純度が再確立されない限り、スポンサーはこのロットの標準物質で原液を作るべきではない。

内部標準物質 (IS) については、スポンサーは、ISが特定の用途に適していること（例：分析対象物質との干渉がないこと）を証明すれば、CoAや純度の情報を提供する必要はない。

BMV (FDA)

- The sponsor should appropriately characterize and document (i.e., determine the identity, purity and stability) the critical reagents, including – but not limited to – any reference standards, antibodies, labeled analytes, and matrices.
- **Assay validation is important when there are changes to the critical reagents, such as lot-to-lot changes or switches to another reagent.** For example, if there are changes to the labeled analytes, detector reagents, or antibodies, the sponsor should:
 - Evaluate binding and re-optimize assays
 - Verify performance with a standard curve and QCs
 - Evaluate cross-reactivities

- ✓ スポンサーは、標準物質、抗体、標識化合物、マトリックス等の重要試薬を適切に特性評価し、文書化（すなわち、同一性、純度、安定性を決定）する必要がある。
- ✓ **ロット変更や他の試薬への切り替えなど、重要試薬に変更がある場合には、分析法のバリデーションが重要である。**例えば、標識分析物、検出試薬、抗体などに変更があった場合、スポンサーは以下のことを行う必要がある：
 - 結合評価と分析法の再最適化
 - 検量線とQCによる性能確認
 - 交差反応性の評価

選択性、特異性

BMV (FDA)

- For LBAs, it is important to investigate any interference originating from structurally or physiologically similar analytes (i.e., exogenous interference) or matrix effects (i.e., endogenous interference). Investigating exogenous interference involves determining the cross-reactivity of molecules that could potentially interfere with the binding interaction, including molecules structurally related to the drug, any metabolites, concomitant medications (and their significant metabolites), or endogenous matrix components. The sponsor should evaluate each factor individually and in combination with the analyte of interest to determine its ability to cause interference. Matrix effects evaluation involves comparing calibration curves in multiple sources of the biological matrix against a calibration curve in the matrix for parallelism (serial dilution of incurred samples) and nonspecific binding.

- ✓ LBAの場合、構造的または生理学的に類似した分析物（すなわち外因性干渉）またはマトリックス効果（すなわち内因性干渉）に起因する干渉を調査することが重要である。外因性干渉の調査には、薬物と構造的に関連する分子、代謝物、併用薬（およびその重要な代謝物）、内因性マトリックス成分など、結合相互作用を阻害する可能性のある分子の交差反応性を決定することが含まれる。スポンサーは各要因を個別に、また分析対象物質と組み合わせて評価し、干渉を引き起こす能力を判断する必要がある。マトリックス効果の評価では、複数の生体マトリックスの検量線とマトリックス中の検量線を比較し、平行性（発生した検体の連続希釈）および非特異的結合を評価する。

BMV (FDA)

- Partial validations evaluate modifications of already validated bioanalytical methods. Partial validation can range from as little as one intra-assay accuracy and precision determination to a nearly full validation. Raw data on partial validations should be retained at the analytical site for inspection when requested. Typical bioanalytical method modifications or changes that fall into this category include, but are not limited to, the following:

このカテゴリーに分類される典型的な分析法の修正または変更には、以下のものが含まれるが、これらに限定されない。

- 分析法の試験施設間の移管
- サンプル処理手順の変更
- 装置やソフトウェアプラットフォームの変更
- 抗凝固剤の変更
- LBAの重要試薬の変更
- 分析方法の変更
- サンプル量の変更
- アッセイレンジの拡大
- マトリックスの変更

等

BMV (FDA)

- Cross validation is a comparison of validation parameters of two or more bioanalytical methods or techniques that are used to generate data within the same study or across different studies. Also, cross validation is necessary when sample analyses within a single study are conducted at more than one site or more than one laboratory. In such cases, **cross validation with shared matrix QCs and nonpooled subject samples should be conducted** at each site or laboratory to establish interlaboratory reliability. **Pooled incurred samples can be used when insufficient volume exists**. An SOP or validation plan should define the criteria a priori.

- ✓ クロスバリデーションは、同じ試験内または異なる試験間でデータを生成するために使用される2つ以上の分析方法や技法のバリデーションパラメータを比較することである。また、1つの試験内の試料分析が複数の施設または複数の試験場所で行われる場合、クロスバリデーションは必要である。このような場合、試験施設間の信頼性を確立するために、**共通のマトリックスQC及びプールされていない被験者試料を用いたクロスバリデーション**を各施設で実施することが必要である。**十分な量が確保できない場合は、プールされた実試料を使用することができる**。SOPまたはバリデーション計画書で事前に基準を定義する必要がある。

BMV (FDA)

- The recommendations in this guidance only pertain to the validation of assays to measure in vivo biomarker concentrations in biological matrices such as blood or urine.
- For assays intended to support early drug development (e.g., candidate selection, go-no-go decisions, proof-of-concept), the sponsor should incorporate the extent of method validation they deem appropriate. Method validation for biomarker assays should address the same questions as method validation for drug assays. The accuracy, precision, sensitivity, selectivity, parallelism, range, reproducibility, and stability of a biomarker assay are important characteristics that define the method. The approach used for drug assays should be the starting point for validation of biomarker assays, although the FDA realizes that some characteristics may not apply or that different considerations may need to be addressed.

- ✓ 本ガイダンスの推奨事項は、血液や尿などの生体マトリックス中のin vivoバイオマーカー濃度を測定するアッセイのバリデーションにのみ関係するものである。
- ✓ 医薬品開発の初期段階を支援するための試験法については、スポンサーが適切と考える範囲のバリデーションを組み込むべきである。バイオマーカーアッセイのバリデーションは、医薬品アッセイのバリデーションと同じ問題に取り組むべきである。バイオマーカーアッセイの真度、精度、感度、選択性、平行性、範囲、再現性及び安定性は、その方法を定義する重要な特性である。FDAは、一部の特性が適用されない、あるいは異なる考慮事項が必要であることを認識しているが、医薬品アッセイに使用されるアプローチは、バイオマーカーアッセイのバリデーションの出発点となるはずである。

BMV (FDA)

- **Site-specific validation should be performed.** The specificity, accuracy, precision, and stability of the assay should be demonstrated under actual conditions of use.
- Standards and QCs should be prepared in the same matrix as the subject samples. Kits with standards and QCs prepared in a matrix different from the subject samples should be justified, and appropriate cross-validation experiments should be performed.
- **If the analyte source (i.e., reference standard) in the kit differs from that of the subject samples (e.g., the sample is a protein isoform of the reference standard), testing should evaluate differences in assay performance of the kit reagents.**
- If multiple kit lots are used within a study, lot-to-lot variability and comparability should be addressed for any critical reagents.

- ✓ **施設ごとにそれぞれバリデーションを実施すること。** 使用条件下における特異性、真度及び精度、安定性を確認する必要がある。
- ✓ 検量線及びQCは、測定対象と同じマトリックスで調製される必要がある。異なるマトリックスで調製された検量線及びQCを含むキットは、その正当性が認められるような適切なクロスバリデーションを実施する必要がある。
- ✓ **キットの分析対象物の供給源（標準物質）が対象試料と異なる場合（例えば、試料が標準物質のタンパク質のアイソフォーム）、試験はキット試薬の分析性能の違いを評価する必要がある。**
- ✓ 試験で複数のロットのキットを使用する場合、ロット間差を確認し対処する必要がある。

AMED留意点文書

- リン酸緩衝液やこれに牛血清アルブミン等を加えたマトリックス、活性炭やアフィニティカラム等で内因性物質を除去したマトリックス等の代替マトリックスを使用する場合、分析法を確立する過程において、平行性の評価等により、その妥当性を可能な限り検証することを推奨する。また真のマトリックスと代替マトリックス間で、選択性、回収率、マトリックス効果、安定性が異なる可能性があることに留意すべきである。
- 実試料分析においては、バリデーションで妥当性が確認されたマトリックスを用いる。マトリックスのロットを変更する場合には、そのロット間差を確認して使用する。希少マトリックスを用いる場合には、少ないロット数での評価や代替マトリックスの使用を容認する。

AMED留意点文書

- 分析対象物質がタンパク質や高分子ペプチドである場合は、組換え体が代替標準物質として用いられる場合が多いが、分析過程に抗原抗体反応を含む場合（リガンド結合法を含む）、抗体の反応性が内因性物質（真の分析対象物質）と異なる場合があることに留意する。
- **代替標準物質を用いる場合には、代替標準物質と内因性物質の反応性の差異を確認するため、平行性評価等の実施が推奨される。**なお、内因性物質を、標準物質を使った検量線用標準試料を用いて定量し、文献値等との整合性を評価することが、標準物質との反応性の差異の程度の確認に参考になる場合がある。複数の代替標準物質が入手可能な場合は、分析法開発段階で内因性物質の反応性と差異を検討することが望ましい。

AMED留意点文書

- 分析結果に直接影響する試薬を重要試薬とする。一般に検量線やQC試料用マトリックスに用いる生体に由来するマトリックスは重要試薬に該当するほか、リガンド結合法においては抗原・抗体も重要試薬に該当する。
- 上記以外の試薬は、重要試薬に該当するか否かを分析法の開発段階で分析法ごとに検討することが推奨される。
なお、**重要試薬のロットの変化により分析結果に影響を与える可能性があるため、重要試薬のロット間差は確認することが望ましい。**

AMED留意点文書

- 内因性の分析対象物質の濃度が十分低く、検量線用標準試料に真のマトリックスを用いる場合、リガンド結合法では10個体以上のブランクマトリックスを用いて評価することを推奨する。
- 内因性の分析対象物質の濃度が定量下限（LLOQ）より高い場合等で、検量線用標準試料に代替マトリックスを用いる場合、代替マトリックスの評価数は、マトリックスの組成にロット差が少ない場合にはn=1でもよい。代替マトリックスを用いる場合において、**ロット変更の際は以前のロットと同等であることを検証して用いることが望ましい**。また、真のマトリックスに標準物質（代替標準物質を含む）を添加して真度を評価する場合は、内因性物質の濃度を考慮して添加濃度を設定する。
- 対象疾患によりバイオマーカーが変動する可能性がある。**特殊なマトリックスとして入手可能な場合、対象疾患のマトリックスにおける選択性を評価することを推奨**する。別途、真のマトリックスが血漿・血清の場合、**溶血したマトリックス、高脂質性のマトリックスについては、評価することを推奨**する。

AMED留意点文書

- 標準物質の化学構造が内因性物質と同一で真のマトリックスを使用したクロマトグラフ法の場合は平行性の評価は不要であるが、それ以外の場合は実施を検討することが望ましく、特に代替マトリックスや代替標準物質を用いる場合は平行性評価の実施を推奨する。平行性の評価では、既知濃度の実試料を真のマトリックス又は代替マトリックス等を用いて、3段階以上の希釈をした試料を調製する。濃度の評価段階は、実試料の濃度域を考慮して検討することが望ましい。いずれの希釈試料においても、希釈倍率に応じた定量値が得られることを確認する。また、複数の患者試料を用いて評価することが望ましい。各患者試料の評価に当たっては、評価数は $n=1$ 以上とする。判定基準を事前に設定する必要性は低いと考えられる。
- 高濃度の実試料が得られない場合の代替手段としては、低濃度のみで平行性を確認する、標準物質を加えて高濃度試料を作成する等が挙げられる。リガンド結合法の場合は組み替え体の添加を許容する。一方、バリデーションの段階で入手可能な試料に比べ、実試料での分析対象物質の濃度が低い場合は、高濃度試料を代替マトリックスで希釈する方法でバリデーションを行い、後日低濃度試料が入手できた場合は、高濃度側に添加していく方法での評価を検討することが可能である。

AMED留意点文書

- ▶ バイオマーカー分析においては、バリデーション時に入手できる試料が限られる場合もあるため、バリデーションを行う際には、入手可能な試料を用いて可能な範囲で安定性の評価を行い、**実試料分析開始後に、実試料を用いた安定性評価 (incurred sample stability: ISS) 等により確認することが推奨される。**また、実試料の入手前時点での分析法バリデーションにおける安定性の評価には、**代替標準物質を添加した試料も利用できるが、その場合は、対象とする濃度範囲の低濃度・高濃度における安定性評価に関して、実試料分析開始後に、ISS等により確認することが重要である。**
- ▶ 実試料のマトリックスと検量線用標準試料やQC試料に用いるマトリックスが異なる場合には、検量線やQC試料のマトリックスについても、実際に保存される期間における安定性を確認する。**実試料を用いた安定性確認においては、可能な限り採取してから時間が経過していない試料を用いることが望ましい。**採取後に時間が経過した場合等でも、バリデーション時の初回分析値を基準とした残存率で評価することが可能である。

AMED留意点文書

- ▶ バイオマーカー分析においては、検量線範囲に入るよう内因性物質が低濃度の真のマトリックスまたは代替マトリックスを用いて、様々な希釈率で実試料を希釈することが多く行われる。このため、同一分析法でも一律の希釈倍率を適用できない場合が多い。
- ▶ **想定される濃度範囲での希釈の影響を評価することが推奨**される。また、分析法開発段階において検討し、バリデーション段階においても、評価することが望ましい。さらに、実試料分析中にMRDを変更する場合はパーシャルバリデーションが必要である。

AMED留意点文書

- ▶ フルバリデーションを実施した分析法に関し、軽微な変更を施す場合には、パーシャルバリデーションを実施する。パーシャルバリデーションで評価する項目は、分析法の変更の程度とその性質に応じて設定する。
- ▶ パーシャルバリデーションを実施する典型的な事例として、分析法の他施設への移管、分析機器の変更、定量範囲の変更、分析に使用する試料量の変更、抗凝固剤の変更、前処理法や分析条件の変更、試料の保存条件の変更、希少なマトリックスの新たな使用、重要試薬のロット変更、MRDの変更等が挙げられる。
- ▶ パーシャルバリデーションにおける判断基準には、原則として事前に設定したフルバリデーションの許容基準と同等の基準を用いる。

AMED留意点文書

- クロスバリデーションは、例えば、一つの臨床試験の試料を複数施設で実施する場合や異なるプラットフォームの分析法間で定量値を比較する場合等で実施する。クロスバリデーションによる比較は、それぞれの分析法において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。**QC試料及び実試料を分析し、QC試料の各濃度の平均真度、及び実試料の濃度の乖離度を評価する。**
- クロスバリデーションの具体的な方法としては、室内及び室間再現精度を考慮し、低濃度、中濃度、高濃度の各濃度で3回以上の繰り返し分析によるQC試料の平均真度に関し評価を行うことが推奨される。また、**実試料による評価については、分析対象物質の特性に依存するが、試料数は ≥ 30 を目安とし、試料の選択に当たっては可能な範囲で濃度分布を考慮し、多くの個体からの資料を含めることが望ましい。**実試料の分析回数は1回でも良い。評価値の判定基準は、バイオマーカーの用途・特性等に基づき事前に設定し、試験計画書等に記載する。

AMED留意点文書

- 研究用キットに関しては、キットに付属のバリデーション情報を利用することなく、フルバリデーションを行う。当該キットが当該バイオマーカーの用途・特性に合致するか（検量線範囲や特異性等）、十分検討を行った上で利用を判断することが望ましい。キットの製造元が確認したキットの有効（使用）期限に関する情報を参照してもよい。
- 研究用キットに付属の標準物質は、分析対象とする内因性物質との相違に注意し、必要に応じて別の市販品等での評価が望まれる。キットのロット変更の際には、ロット間において同一試料中の分析対象物質の定量値の差が許容できることを確認することが推奨される。
- 研究用キットは、入手できなくなる可能性があるため、代替方法を考慮しておいたほうが良い。

懸念点・留意点

□ 使用期限切れの懸念

- ▶ 使用期限を更新する必要がある
 - ✓ 日内再現性等を実施して更新する
 - ✓ 内因性試料の定量値が同程度であること（判断基準を満たすこと）を確認して更新する
- ▶ 新ロットを入手する必要がある

□ ロット/製造バッチが変更の懸念

- ▶ 旧ロットと同等性を確認する必要がある
 - ✓ 日内再現性等を実施して同等性を確認する
 - ✓ 内因性試料の定量値が同程度であることを確認する

安定性は不要

□ 販売/製造が終了の懸念

- ▶ 別キットを使用する場合、フルバリデーションが必要となる



3. 抗薬物抗体分析

<http://bioanalysisforum.jp/>



3-1. 規制文書の議論 (FDA・EMA)

Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products — Developing and Validating Assays for Anti-Drug Antibody Detection

Guidance for Industry

U.S. Department of Health and Human Services
Food and Drug Administration
Center for Drug Evaluation and Research (CDER)
Center for Biologics Evaluation and Research (CBER)

January 2019
Pharmaceutical Quality/CMC



EUROPEAN MEDICINES AGENCY
SCIENCE MEDICINES HEALTH

18 May 2017
EMA/CHMP/BMWP/14327/2006 Rev 1
Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP)

Guideline on Immunogenicity assessment of therapeutic
proteins

<http://bioanalysisforum.jp/>

抗薬物抗体分析のLCMについて、FDAおよびEMAの内容を
DGメンバーでレビュー、議論した。抜粋して重要な点をまとめた。

FDA Guidance

J. Selection of Reagents

- Qualification and stability of critical reagents is important for ensuring consistent assay performance.

EMA Guideline

7.2. Assay Controls and Reagents

- Reagents used in assays need to be qualified and acceptance criteria set, at least for those which are most important. They should be stored appropriately (lyophilized or frozen at a suitable temperature) and characterized.

- ✓ 重要試薬の品質と安定性は、一貫したアッセイパフォーマンスを確保するために重要である。
- ✓ 品質が明らかで、許容基準が設定されている必要がある。
- ✓ 適切な温度で保管され（凍結乾燥または凍結）、特徴付けられる必要がある。

FDA Guidance

J. Selection of Reagents

- Many components of the assays for ADA detection may be standard or obtained from commercial sources; for example, microtiter plates.
- Other components, however, including positive control antibodies, negative controls, and system suitability controls, may need to be generated specifically for the assay.

EMA Guideline

7.2. Assay Controls and Reagents

- The identification and/or development of appropriate positive and negative controls is crucial as they are essential for assay validation
- For all controls the characterization data showing their properties and functionality for the intended use should be provided as part of the MAA submission.

- ✓ 陽性対照抗体、陰性対照などは、ADAアッセイ用に適切に作製する必要がある。

FDA Guidance

1. Development of Positive Control Antibodies

- Once a source of a positive control antibody has been identified, the sponsor should use that source to assess assay performance characteristics such as sensitivity, selectivity, specificity, drug tolerance, and reproducibility.
- FDA recommends that sponsors generate and reserve positive control antibody for use as a quality control or system suitability control during routine performance of the assay.

EMA Guideline

7.2. Assay Controls and Reagents

- Ideally, an antibody positive control should be a human preparation with a significant antibody content which is available in sufficient quantity for continued use.

- ✓ 陽性対照は、感度、選択性、特異性、薬剤耐性、再現性などのアッセイパフォーマンスを評価すべきである。
- ✓ 陽性対照は、継続的に使用するために十分な量を確保することを推奨する。

FDA Guidance

2. Development of Negative Controls

- FDA recommends that sponsors establish a negative control for validation studies and subject- sample testing. In this regard, a pool of sera from an appropriate number of treatment-naïve subjects can serve as a negative control.
- Importantly, the value obtained for the negative control should be below but close to the cut-point determined for the assay in the subject population being tested.
- Negative controls that yield values far below the mean value derived from individual serum samples used to establish the cut-point may not be useful in ensuring proper assay performance.

- ✓ バリデーション試験及び臨床試験において、適切な数の非投与検体から採取した血清のプールで陰性対照を設定する。
- ✓ 陰性対照で得られた値は、決定されたカットポイント以下であるが、それに近い値でなければならない。
- ✓ カットポイントよりはるかに低い値を示す陰性対照は、適切なアッセイパフォーマンスを確保するために有用でない場合がある。

EMA Guideline

7.2. Assay Controls and Reagents

- Negative controls are needed to establish assay baselines and characterize/validate the assays.
- Assay baseline for normal (healthy) individuals is clearly fairly easily determined by measuring the assay response using samples derived from an appropriate number of such individuals and analysing this to provide a statistically valid background value.
- However, this may not be representative of the baseline response of samples derived from the patient population, which would therefore need to be established separately, using pre-treatment samples from patients or drug naïve disease patients.

- ✓ 健常人のアッセイベースラインは、適切な数の試料を用いてアッセイ応答を測定し、統計的に有効なバックグラウンド値により決定する。
- ✓ 患者集団に由来する試料のベースライン反応を代表するものではないため、疾患患者の非投与試料を用いて、別途確立する必要がある。

FDA Guidance

3. Controlling Non-Specific Binding

- One of the most critical elements is the selection of the proper assay buffer and blocking reagents used to prevent non-specific binding.
- The sponsor should carefully consider the number and timing of wash steps as well as the detergents added to the assay buffer (for example, blocking or wash buffer) to reduce background noise while maintaining sensitivity.
- Therefore, the sponsor may need to test several blocking agents to optimize assay performance.

EMA Guideline

7.1. Strategy and Antibody Assays

- Assay reagents (e.g. blocking reagents) should be considered carefully.
- Blocking reagents like BSA and milk contain non-human glycans that are sometimes found on proteins produced in non-human animal cells. Thus, antibodies against these glycans may be missed.

✓ アッセイ試薬（ブロッキング試薬など）は慎重に検討する必要がある。

FDA Guidance

A. General Considerations for Assay Validation

- When alternative samples are used to determine the cut-point in the validation exercise, the cut-point should be confirmed once samples from the appropriate population are available; for example, samples from treatment-naïve subjects that are collected, handled, and stored under study conditions.
- If the cut-point established using matrix samples from the treatment-naïve population is significantly different from that obtained during assay validation, the cut-point should be amended.
- The cut-point established using the appropriate samples should be used to determine whether study samples are positive for ADA.

- ✓ バリデーション試験で代替試料を使用する場合、適切な母集団からの試料が入手できた時点でカットポイントを確認する必要がある。
- ✓ 母集団から採取したマトリックス試料を用いて設定したカットポイントが、バリデーションで得られたカットポイントと有意に異なる場合は、カットポイントを修正するべきである。
- ✓ 検体が ADA 陽性であるか否かの判定には、適切な検体を用いて設定されたカットポイントを用いるべきである。

EMA Guideline

7.3. Assay validation and interpretation of results

- It is essential to establish clear criteria for deciding how samples will be considered positive or negative, and also how positive results will be confirmed. The approach taken should be justified by data.
- A common procedure for establishing positive cut-off for immunoassays is to establish assay background using samples from normal healthy controls or diseased individuals (see above).
- A statistical approach could be used to establish the assay cut-off value, where justified. Alternatively, real data (e.g. double background value) can be used to determine what will be considered the lowest positive result.

- ✓ イムノアッセイの陽性カットオフ値を設定する一般的な手順は、健常対照者や疾患患者の検体を用いてアッセイバックグラウンドを設定することである。
- ✓ 正当な理由があれば、統計的手法によりカットオフ値を設定することができる。また、実際のデータ（例えば、2倍のバックグラウンド値）を用いて、最も低い陽性結果とみなされる値を決定することも可能である。

FDA Guidance

C. Confirmation of Cut-Point in the Target Population

- Samples from different populations can have different background activity in ADA assays. Similarly, the background activity can change when samples used to determine the cut-point during assay validation were not obtained and handled in a manner that represents how samples will be obtained and handled in-study.
- Therefore, it is necessary to confirm that the cut-point determined during assay validation is suitable for the population being studied.
- A sufficient number of samples from the target population should be used, and justification for the number used should be provided. If sufficient numbers of samples are not available, agreement with the Agency should be sought for the number of samples to be used.

- ✓ 異なる母集団から採取された試料は、バックグラウンド活性が異なることがある。
- ✓ バリデーションで決定されたカットポイントが、対象集団に適しているかどうかを確認する必要がある。
- ✓ 対象集団から十分な数のサンプルを使用し、使用した数の正当性を示す必要がある。

FDA Guidance

A. General Considerations for Assay Validation

- When changes are made to a previously validated method, the sponsor should exercise judgment as to how much additional validation is needed.
- During a typical product development program, a defined ADA assay may undergo modifications. Occasionally, samples may need to be re-tested with the optimized validated assay.
- Therefore, provisions should be made to preserve sufficient sample volume under conditions that allow for re-testing until the assays have been completely validated and evaluated by the Agency.

- ✓ バリデートされた分析法を変更する場合、どの程度の追加バリデーションを必要とするか判断する必要がある。
- ✓ 最適化された分析法での再バリデーションが必要な場合がある。
- ✓ 分析法が完全にバリデートされ、当局の評価を受けるまで、再試験が可能な条件下で十分な量の試料を保存する。

EMA Guideline

10. Summary of the immunogenicity program

- It is recommended that the applicant will include an integrated summary of immunogenicity in the application, including a risk assessment to support the selected immunogenicity program.
 - This summary with risk assessment can evolve through the lifecycle of the product and may be used to support applications at various steps of product development.
 - Previous experience of the product/product class
 - Physicochemical and structural aspects
 - Does the route and/or the mode of administration raise concerns
 - Patient- and disease-related factors
- ✓ Immunogenicity programをサポートするため、免疫原性の概要を申請書に含めることが推奨される。
- ✓ リスク評価を含む上記概要は、製品のlifecycleを通じて更新する可能性があり、製品開発のさまざまな段階で申請をサポートするために使用する。

重要試薬（抗体・抗原等）

懸念点・留意点

□ PKの標準物質（抗原）のロット変更

- 旧ロットと同等性確認（Confirmatory Assay）
- %Inhibitionの比較

□ 重要試薬の使用期限

- 設定する必要がある
- 延長の方法：日内再現性、シグナル比較、精度（再現性）
- 安定性評価の必要性？

同等性が示されればよい

□ 重要試薬のロット変更

- 標識化効率が同等のものを選択
- 旧ロットと同等性を確認する必要
- シグナル比較（同一プレート内）
- カットポイントの妥当性確認

**AAPS White paper
(P.65, 66),
ケーススタディ①(P.69)**
を参照ください。

患者由来試料を用いた評価、クロスバリデーション

懸念点・留意点

□ 患者由来試料を用いた選択性評価

- Pre-studyまたはin-studyで実施

□ 患者由来試料を用いた感度、薬剤耐性評価

- Pre-studyまたはin-studyで実施
- カットポイントが変わった場合の対応

□ 患者由来試料を用いたカットポイント

- Pre-studyまたはin-studyで実施
- 健常人カットポイントと同等性確認
- 陽性率2-11%であれば健常人カットポイントを使用可能

□ クロスバリデーション（施設間）

- シグナルの同等性確認
- カットポイントの妥当性確認

AAPS White paper
(P.65-68),

ケーススタディ②③(P.70-72)
を参照ください。

AAPS White paper
(P.59-64),

ケーススタディ②③(P.70-72)
を参照ください。

3-2. 文献 (*white paper*) の議論

White Paperの議論

AAPS J (2022) 24:4
<https://doi.org/10.1208/s12248-021-00649-y>



White Paper

Anti-drug Antibody Validation Testing and Reporting Harmonization

Heather Myler^{1,31} · João Pedras-Vasconcelos² · Kelli Phillips¹ · Charles Scott Hottenstein³ · Paul Chamberlain⁴ ·
Viswanath Devanaryan⁵ · Carol Gleason⁶ · Joanne Goodman⁷ · Marta Starcevic Manning⁸ ·
Shobha Purushothama⁹ · Susan Richards¹⁰ · Honglue Shen¹¹ · Jad Zoghbi¹⁰ · Lakshmi Amaravadi¹² ·
Troy Barger⁸ · Steven Bowen² · Ronald R. Bowsher¹³ · Adrienne Clements-Egan¹⁴ · Dong Geng¹⁵ ·
Theresa J. Goletz¹⁶ · George R. Gunn³ · William Hallett² · Michael E. Hodsdon¹⁷ · Brian M. Janelsins² ·
Vibha Jawa¹⁸ · Szilard Kamondi¹⁹ · Susan Kirshner² · Daniel Kramer²⁰ · Meina Liang²¹ · Kathryn Lindley²² ·
Susana Liu²³ · ZhenZhen Liu² · Jim McNally²² · Alvydas Mikulskis²⁴ · Robert Nelson²⁵ · Mohsen Rajabi Ahbari²⁶ ·
Qiang Qu²⁷ · Jane Ruppel²⁸ · Veerle Snoeck²⁹ · An Song³⁰ · Haoheng Yan² · Mark Ware¹⁴

抗薬物抗体分析のLCMに関する記載について、DGメンバーでレビュー、議論した。抜粋して重要な点をまとめた。

- Herein, this team provides testing and reporting strategies and tools for the following assessments: (1) pre-study validation cut point; (2) in-study cut points, including procedures for applying cut points to mixed populations; (3) system suitability control criteria for in-study plate acceptance; (4) assay sensitivity, including the selection of an appropriate low positive control; (5) specificity, including drug and target tolerance; (6) sample stability that reflects sample storage and handling conditions; (7) assay selectivity to matrix components, including hemolytic, lipemic, and disease state matrices; (8) domain specificity for multi-domain therapeutics; (9) and minimum required dilution and extraction-based sample processing for titer reporting.

- ✓ Cut point (pre-study及びin-study) 、 sensitivity、 drug & target tolerance、 selectivity (disease state matrices) に関してLCMを考慮すべきと考えられた。

Pre-study validation cut point assessments

- Separate pre-study validation experiments may not be necessary for each different disease population as the distribution of data (means and variances) may not be significantly different between populations.
 - A simple approach would be to compare the data distributions from pre-study validation experiments versus data from at least 20 subjects tested over two or more assay runs from the clinical population.
- ✓ 疾患集団間でデータ分布（meanとvariance）がnot significantlyに異なっていなければ、異なる集団ごとにpre-study validationは必要ないかもしれない。
 - ✓ シンプルなアプローチは、pre-study validationと疾患集団のデータ（少なくとも20例、2ラン）の分布を比較すること。

Pre-study analysis of clinical subpopulations

- If different clinical subpopulations (e.g., healthy and disease subjects, or multiple disease subpopulations) are included in the same cut point experiment and they are stratified approximately equally on each assay plate, then the means and variances can be compared to determine whether a common SCP can be applied for all clinical subpopulations or separate SCP are needed.
- When possible, a minimum of 20–25 samples per patient population is recommended. The means can be compared using an appropriate analysis of variance (ANOVA) model and the variances can be compared via Levene's test. Visual assessments to compare the distributions (e.g., side-by-side box-plots and superimposed histograms as shown in Figs. 1 and 2) are also recommended to support the statistical comparisons.

- ✓ 異なる臨床集団（健常者と疾患集団）を同じcut pointの実験に含める場合、meanとvarianceを比較して全ての臨床集団に共通のSCPを適用できるか、もしくは別のSCPが必要か判断できる。
- ✓ 可能であれば、20-25例の疾患集団が推奨される。MeanはANOVA、varianceはLevene's testなどの適切な方法で比較を行う。統計学的な比較を裏付けるため、分布を比較するための視覚的評価も推奨される。

SCP: screening cut point

Pre-study analysis of clinical subpopulations

- If the means and variances are not different among the clinical subpopulations, a common SCP can be used for all subpopulations (Fig. 1). If the means or variances are different, then separate SCPs should be determined for each subpopulation (Fig. 2).
- If the difference in the means or variances among subpopulations are mostly due to one or two subpopulations, then separate SCPs can be calculated for these subpopulations and a common SCP can be applied to the other subpopulations where the means and variances are not different.
- The same procedure/process described above can be applied for the evaluation of CCPs when multiple clinical subpopulations are included in the same experiment.

- ✓ Meanとvariance
 - 臨床集団で異なっていない：全ての集団に共通のSCPを使用できる。
 - 臨床集団で異なっている：各集団で個別のSCPを設定すべきである。
- ✓ 臨床集団間のmeanもしくははvarianceの差が主に1つもしくはは2つの集団に起因する場合、これらの集団については個別のSCPを算出し、meanもしくははvarianceが異なる集団には共通のSCPを適用できる。
- ✓ 上述した方法と同じ方法をCCPの評価にも適用できる。

CCP: confirmatory cut point

Pre-study analysis of clinical subpopulations

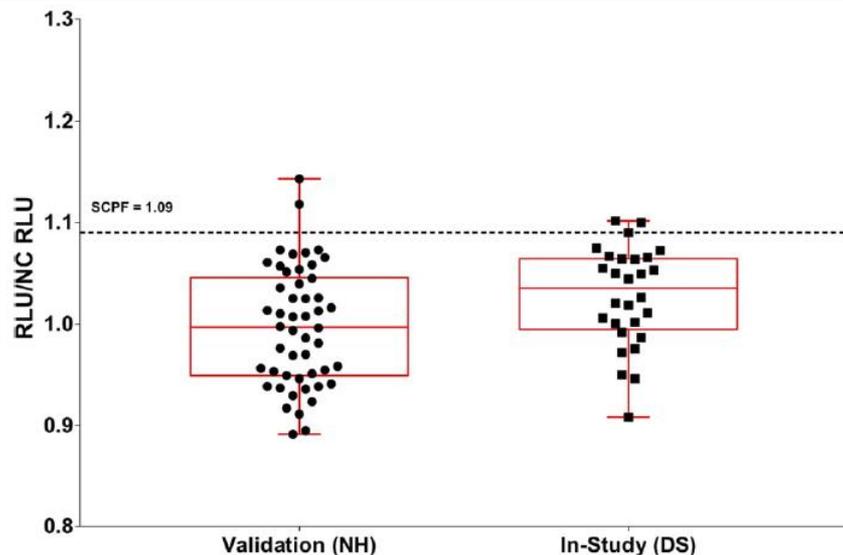


Fig.1

Mean: significantly different

Variance: not significantly different

- ✓ NH (50例) のSCPでin-study DS (28例) のFPRが10%
- ✓ 2-11% criteriaに入っているため、NHのSCPをin-studyサンプルの評価に可能

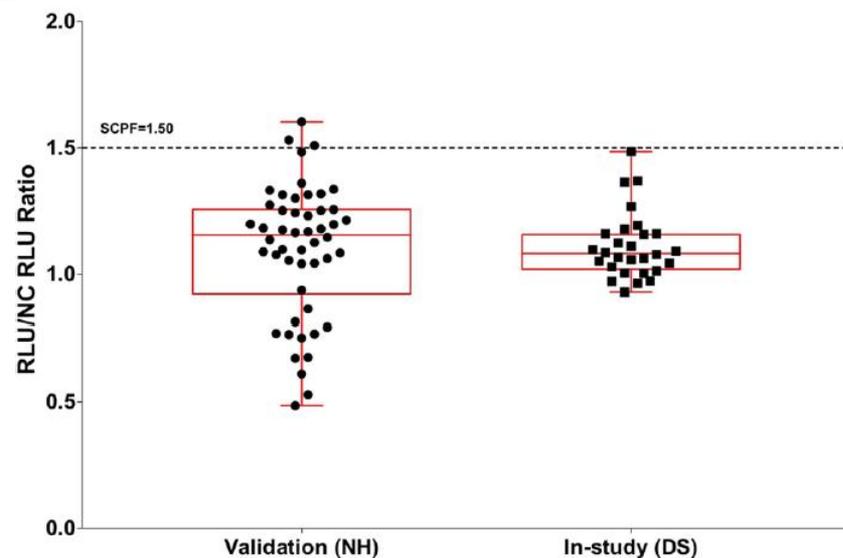


Fig.2

Mean: not significantly different

Variance: significantly different

- ✓ NHのSCPでin-study DSのFPRが0%
- ✓ In-study SCPの個別の評価が必要

NH: normal healthy

DS: disease state

FPR: false positive rate

In-study cut points

- An in-study cut point may be needed, if the putative positive rate among the pre-dose samples for the patient population being evaluated is outside of the expected false positive rate, which is usually preferred to be within 2–11% range, after the exclusion of confirmed positive samples. It should be noted that a reasonable size population is needed to reliably assess the false positive rate.
- The pre-dose sample results for the current patient population can be compared to those from the pre-study validation (healthy human), or from a previously evaluated disease, using similar methods as described previously for the validation and analysis of clinical subpopulations.

- ✓ 疾患集団のpre-dose sampleにおける推定陽性率が、confirmed positive sampleを除外した後の予想FPR（通常2～11%の範囲内であることが望ましい）から外れている場合、in-study cut pointが必要となることがある。

以下の例では $(12-3)/120*100=7.5\%$

Screening	Screening でpotential positive	Confirmatory でnegative	Confirmatory でpositive
120 本	12 本	9 本	3 本

- ✓ 疾患集団のpre-dose sampleの結果は、pre-study validation（健常者）もしくは過去に評価された疾患集団の結果と比較できる。

In-study cut points

- When possible, a minimum of 50 baseline subject samples representing the diversity of the population is recommended. For larger studies such as those in phase III that tend to be more diverse in terms of demographics and disease characteristics, a minimum of 100 baseline subject samples representing the diversity of the population is recommended.
- While each subject sample is only tested once, these samples should be distributed and tested across multiple plates and days by at least two analysts. The variability estimate calculated from all sample data will capture both the analytical and biological variation and can therefore be used in the calculation of the cut point.

- ✓ 可能であれば、50例以上のbaselineのsubject sampleが推奨される。Phase 3のような大規模試験では100例以上が推奨される。
- ✓ Subject sampleを用いたテスト
 - 1回のみ
 - 複数のプレートに分散
 - 少なくとも2名の分析者
 - 複数日にわたって試験
- ✓ すべてのデータから算出したvariabilityは、分析学的及び生物学的変動の両方を捉えるため、cut point算出に使用できる。

Sensitivity assessment and selection of positive control concentrations

Assay sensitivity life cycle management

- Various factors can attribute to changes in response including the degradation of capture and detection reagents, the introduction of a new NC pool, and the introduction of new capture and detection reagents all of which have the potential to impact assay sensitivity and require adequate bridging and potentially partial validation.
- If the NC pool used in validation is available and is performing as originally established, the replacement NC pool can be qualified by demonstrating comparability of the responses using multiple replicates of the validation NC pool and replacement NC pool run on the same plate.

- ✓ 様々な要因がレスポンス変化を引き起こす可能性があり、sensitivityへも影響を及ぼす可能性がある。適切なbridgingやpartial validationが必要である。
 - 捕捉および検出抗体の分解
 - 新しいNCや検出試薬
- ✓ Validationに使用したNCが利用できる場合、新たなNCとvalidationで使用したNCを同じプレート上で複数繰り返し実験を行うことでレスポンスの同等性を検証し、適格性を確認できる。

Sensitivity assessment and selection of positive control concentrations

Assay sensitivity life cycle management

- Or, more comprehensively, comparison of the distribution of results for the replacement NC pool run on several plates to the distribution of results of the validation NC pool across many assays may be done to assure they cover a similar range. To account for any response variance in the NC pool, it is recommended that PCs be prepared in the same pool as the NC.
 - A new lot of PC will not impact the interpretation of validation results. However, a formal reagent qualification procedure of a new PC lot should be performed to ensure the LPC continues to have the same raw response as the LPC used to set assay acceptance limits.
 - In scenarios when the new lot of PC does not have comparable raw responses, the PC may be titered to match the validated LPC response.
- ✓ または、より包括的には、新たなNCとvalidation NCの結果の分布を比較して、類似した範囲をカバーすることを確認する。
 - ✓ 新ロットのPCは、validation結果の解釈に影響を及ぼさない。ただし、新ロットのPCの適格性評価を実施し、許容限度値の設定に使用したLPCと同じレスポンスを維持することを確認すべきである。
 - ✓ 新ロットのPCの反応性が同等でない場合、バリデートされたLPCレスポンスに合うようにPCのタイターを調整してもよい。

Drug tolerance & Target tolerance

- The evaluation of drug tolerance in different populations is only recommended when these different populations require the use of population-specific cut points. Drug tolerance does not necessarily need to be re-determined experimentally in matrix from the intended population. Drug tolerance can be calculated by applying the population-specific cut points to existing drug tolerance validation data.
- In cases when sensitivity curve performance is vastly different in healthy human matrix compared to diseased state matrix, it is advisable to determine drug tolerance in specific populations experimentally.

- ✓ 異なる集団のdrug tolerance評価は、異なる集団特異的なcut pointの使用が必要な場合にのみ推奨される。目的とする集団から得られたマトリックス中で、drug toleranceを必ずしも実験的に再設定する必要はない。Drug toleranceは、既存のデータに集団特異的なcut pointを適用し、算出できる。
- ✓ 疾患集団のマトリックスと比較して健康者のマトリックスでsensitivity curveが大きく異なる場合、集団特異的なdrug toleranceを実験的に決定することが推奨される。
- ✓ Target toleranceも同様の記載。

- Endogenous and exogenous components may include free hemoglobin (hemolysis), lipids (lipemia), bilirubin, soluble target, rheumatoid factors, Fc receptors, drug, concomitant medications, and pre-existing antibodies.
- It is important to consider that samples from disease populations may contain different components from those in healthy matrix and that each disease population may be different. As a result, selectivity testing should be considered when changing into a disease population or between disease populations.
- Variables such as ethnicity and age are not typically included in selectivity testing but if population differences are observed in study samples, in-study cut point/s and selectivity testing may be warranted.

- ✓ 内因性および外因性因子がselectivityに影響を与える。
 - 遊離ヘモグロビン（溶血）
 - 脂質（脂質血症）
 - ビリルビン
 - 可溶性標的タンパク
 - リウマトイド因子
 - Fc受容体
 - 薬剤
 - 併用薬および既存抗体
- ✓ 健常者から疾患集団への変更や疾患集団間の変更においては、selectivityの検討を考慮すべきである。
- ✓ 民族や年齢の違いなどは通常selectivityには含めないが、in-study sampleで違いが認められる場合は、in-study cut pointやselectivityが必要となる場合がある。

ケーススタディ①（重要試薬の変更）DG内での議論

重要試薬（陽性対照，標識薬物，陰性対照）変更で再評価が必要なvalidation項目

Validation項目	重要試薬の変更 (○：再評価実施を検討)			実施内容例 (基本的にはpre-study validation時と同じ)
	陽性対照	標識薬物	陰性対照	
Cut point	-	○	○*	50例×6ラン
Selectivity	-	○	-	10例
Sensitivity	○	○	-	3～6ラン
Drug tolerance	○	○	-	-
Precision	○	○	-	3～6ラン

<http://bioanalysisforum.jp/>

- ✓ Cut point再評価が必要な場合に、他の項目の再評価が必要となる意見があった。
- ✓ *：変更前後の陰性対照の同等性を示すことができれば、再評価は不要かもしれない。

ケーススタディ②（疾患集団の変更）DG内での議論

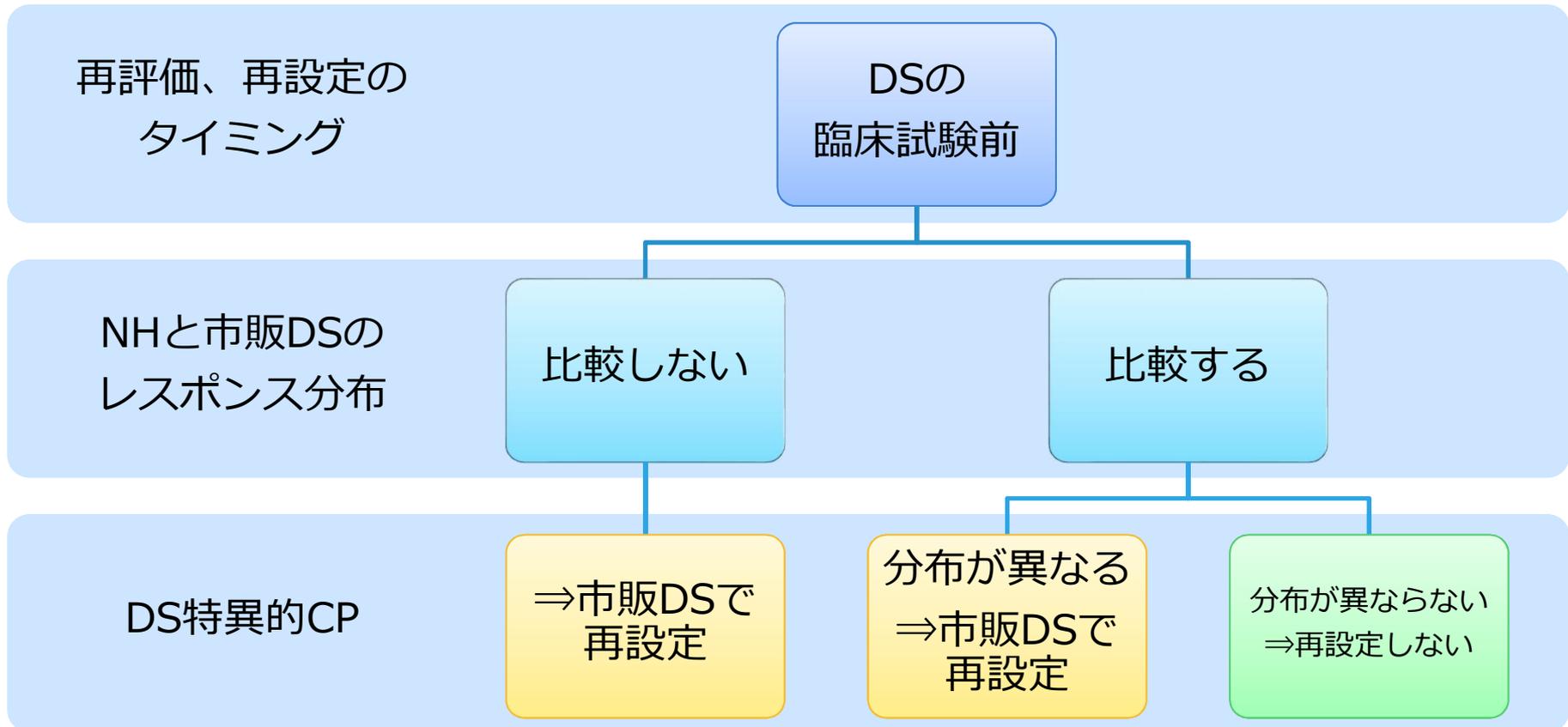
疾患集団（DS）変更で再評価が必要なvalidation項目

Validation項目	疾患集団の変更 (○：再評価実施を検討)	実施内容例
Cut point	○	ケーススタディ③参照
Selectivity	○	臨床試験前に市販DS（10例） 又は／及び 臨床試験中に投与前DS（10例）
Sensitivity	-	ただし、cut point変更時は再評価 実施を検討
Drug tolerance	-	
Precision	-	-

<http://bioanalysisforum.jp/>

✓ Cut point再評価が必要な場合に、他の項目の再評価が必要となる意見があった。

疾患集団 (DS) 特異的なcut point再評価、再設定



✓ 上記のようなフローになると考えられた。

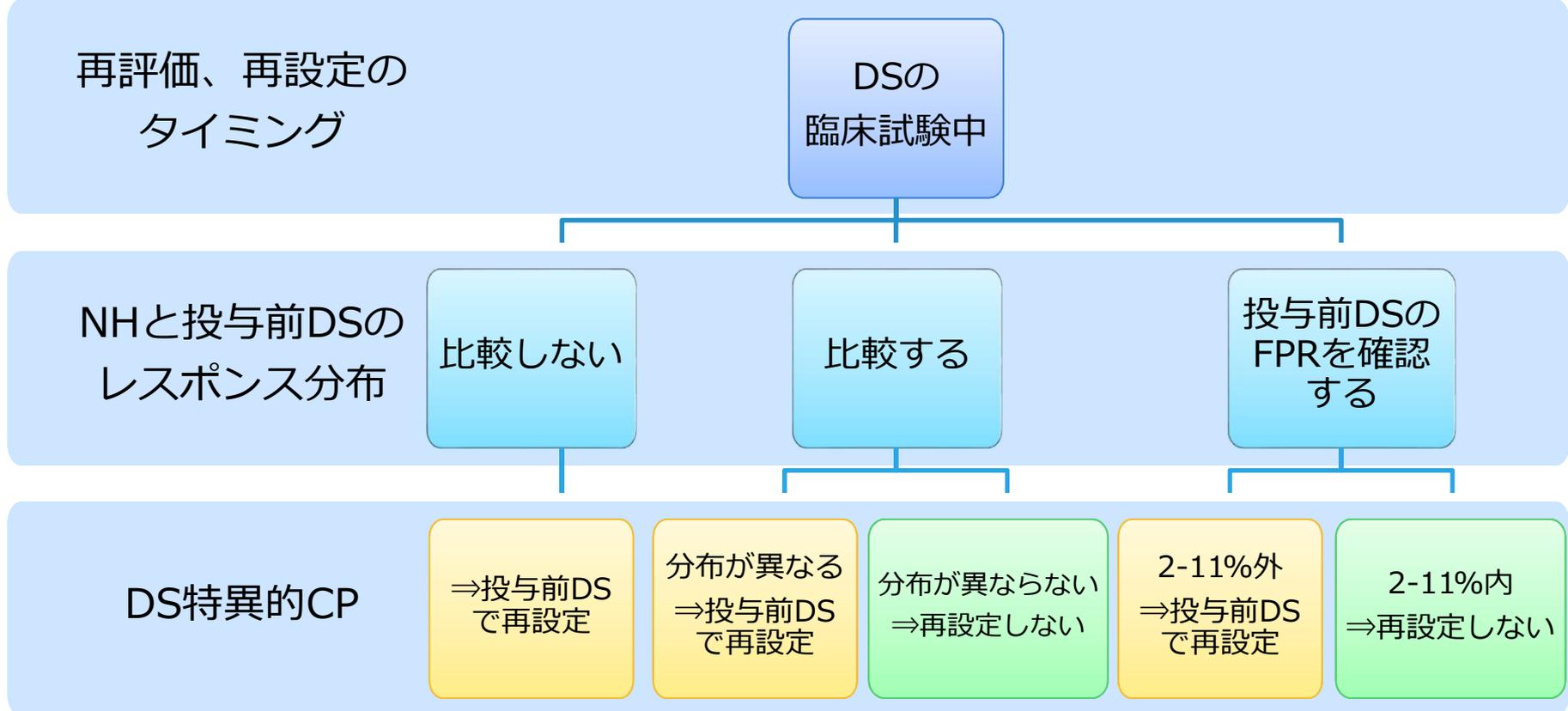
NH: normal healthy
CP: cut point

DS: disease state
FPR: false positive rate



ケーススタディ③ (cut point再設定) DG内での議論

疾患集団 (DS) 特異的なcut point再評価、再設定



http://bioanalysisforum.jp/

✓ 上記のようなフローになると考えられた。

NH: normal healthy CP: cut point DS: disease state FPR: false positive rate

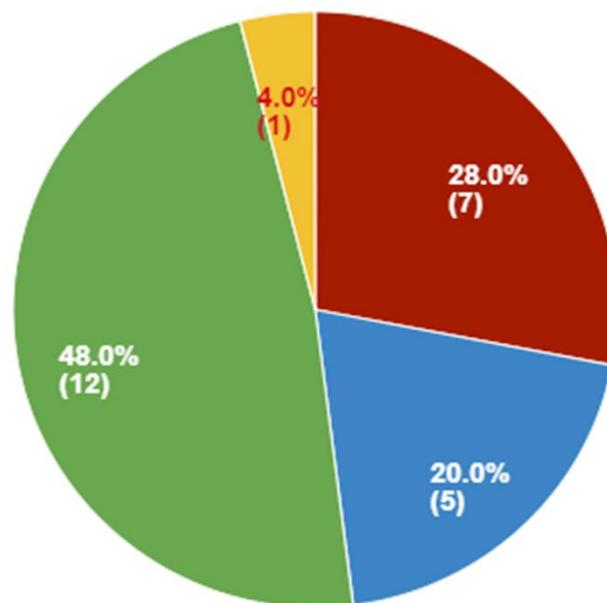
4. 薬物濃度分析に関するアンケート結果

LBAのLCMに関する議論を深めるために、LBAの薬物濃度測定（TK・PK）に関するアンケートを行った。その結果を報告する。

自由記載箇所につきましてはスペースの都合上一部要約となることをご了承ください。
アンケートへのご協力ありがとうございました。

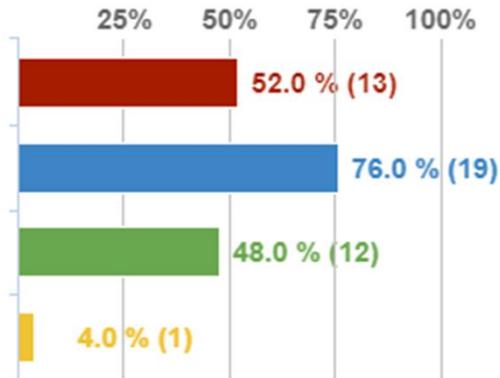
Q1. 所属について教えてください。

■ 内資系製薬企業 ■ 外資系製薬企業 ■ 内資系CRO ■ 外資系CRO



Q2. 生体試料中薬物濃度分析に用いる標準物質の製造バッチの変更は、何の変更と考えていますか？（複数選択）

■ 発現細胞の変更 ■ 発現細胞は同じで、原薬ロットの変更
■ 発現細胞、原薬ロットは同じで、製剤ロットの変更 ■ その他：自由記載

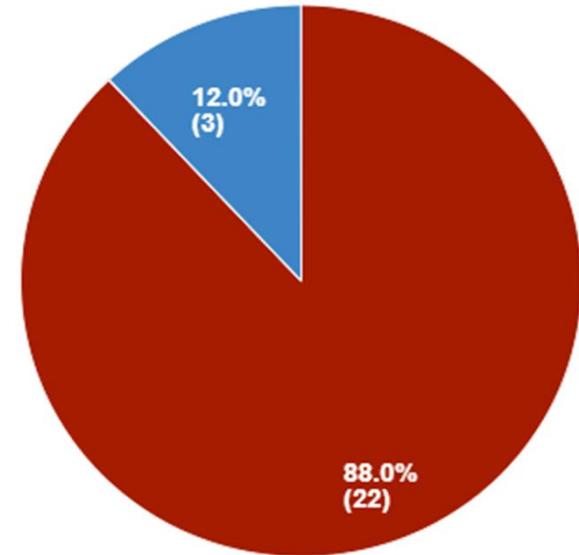


自由記載：

- 発現細胞は同じで、製造場所や培養条件変更など、CMCで変更による品質評価が実施される場合

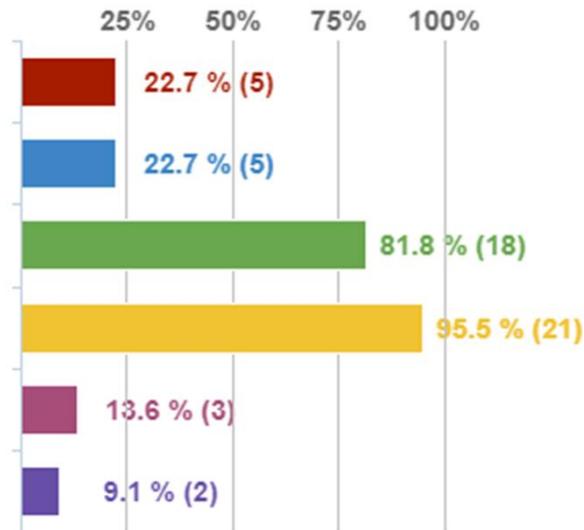
Q3. 生体試料中薬物濃度分析に用いる標準物質の製造バッチを変更した場合、変更により生じる影響の確認を実施しますか？

■ はい ■ いいえ



Q4. 問3ではいと回答した方
どのような評価項目で
確認しますか？（複数選択）

■ 特異性 ■ 選択性 ■ 検量線 ■ 分析単位内真度精度
■ 分析単位間真度精度 ■ その他：自由記載

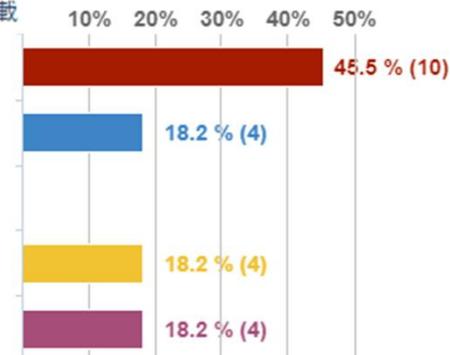


自由記載（一部要約）：

- 分析単位内度制度真度精度を検討し、問題があればさらにほかの項目も調べる

Q5. 問3ではいと回答した方
具体的にどのように確認
しますか？

■ 旧ロットの検量線及び新ロットのQC試料を同一バッチで比較
■ 新ロットの検量線及び旧ロットのQC試料を同一バッチで比較
■ 旧ロットの検量線及び旧ロットのQC試料で比較（新ロットは同一バッチに入れない）
■ 新ロットの検量線及び新ロットのQC試料で比較（旧ロットは同一バッチに入れない）
■ その他：自由記載

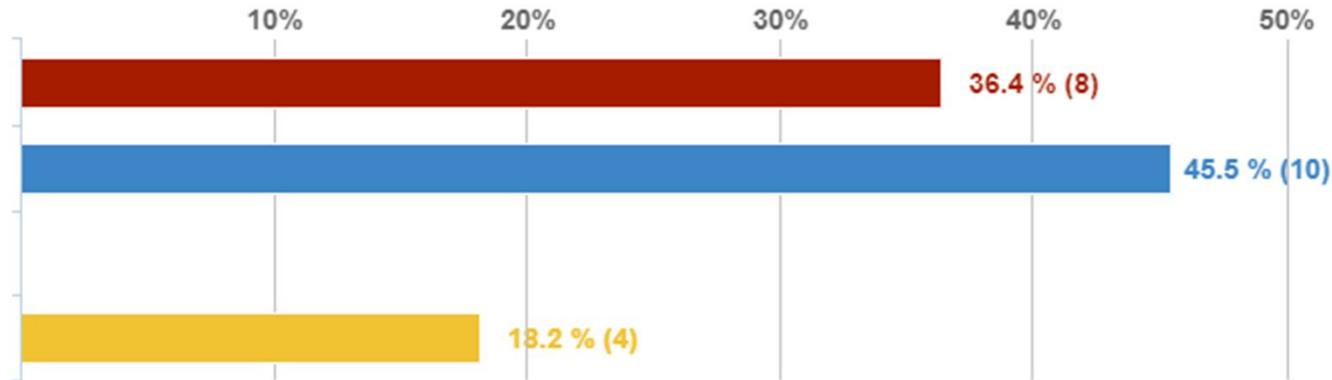


自由記載（一部要約）：

- 可能であれば、新ロットの検量線及び新旧両ロットのQC試料を同一バッチで比較したいが、旧ロットがすでにない場合が想定されるので、現実的には、新ロットで検量線及びQC試料を測定することになる。
- 新旧の検量線、QCを同一バッチ内で比較

Q6. 問3ではいと回答した方 確認方法及びその結果はどのように管理しますか？

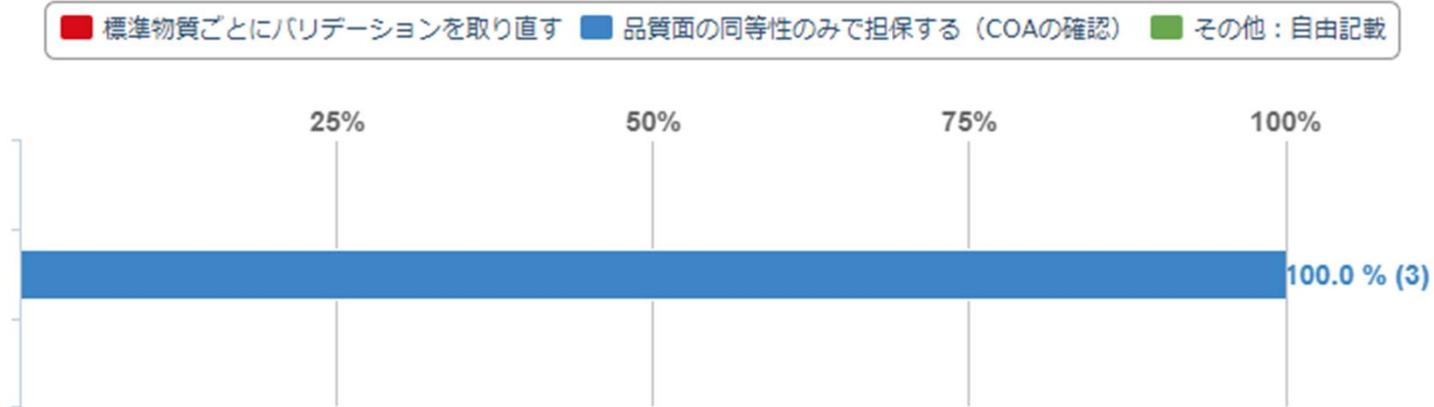
■ パーシャルバリデーションとして別試験内で管理
 ■ 測定試験内で実施。実施方法を計画書に規定し報告書に記載
■ SOPに確認方法を規定し試験外で実施。報告書への記載はしない
 ■ その他：自由記載



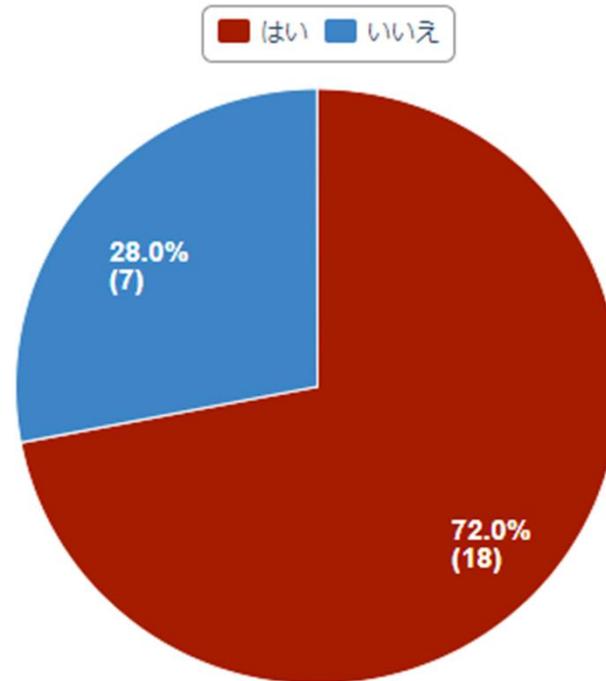
自由記載：

- ・ パーシャルバリを測定試験内、別試験の両方経験あり
- ・ 以前は測定試験内で計画し報告書記載していたが、現在は試験外で実施、別文書で報告し、試料分析試験の報告書でその結果（文書番号）を参照させている
- ・ ロットチェンジの程度と新旧ロットの検量線の差異により対応を考える。
- ・ 委託者と協議し、上記選択肢のうちどれにするか決める

Q7. 問3でいいえと回答した方
新旧の標準物質で確認しないを理由をご教示ください。

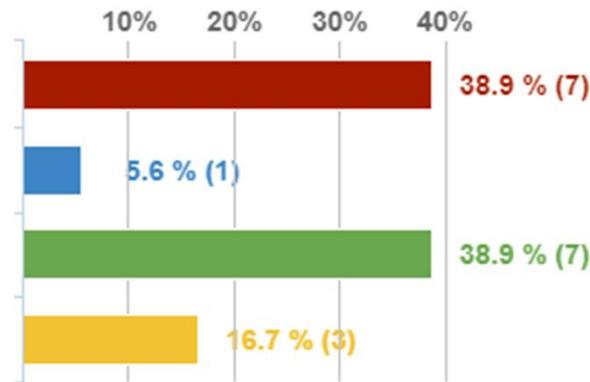


Q8. 将来の製造バッチの変更に備えて、
旧製造バッチの一部を保存しますか？



Q9. 問8ではいと回答した方
どの程度の期間まで保存
しますか？

- 新製造バッチが使用できるようになるまで旧製造バッチの使用期限を延長して保存
- 事前に期間を決めて保存し、期間が過ぎたら廃棄
- 旧製造バッチの使用期限が切れるまで保存
- その他：自由記載

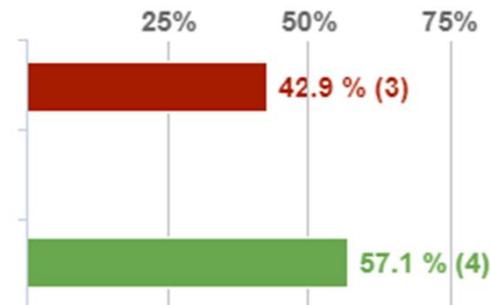


自由記載（一部要約）：

- 新バッチが使用できるようになるまで旧製造バッチの使用期限を延長せずに保存（必要時にCoA取得）

Q10. 問8でいいえと回答した方
保存しない理由を教えてください。

- 旧製造バッチは既にあるデータを用いる
- 製造変更が生じた場合であっても、その影響は確認しない
- その他：自由記載

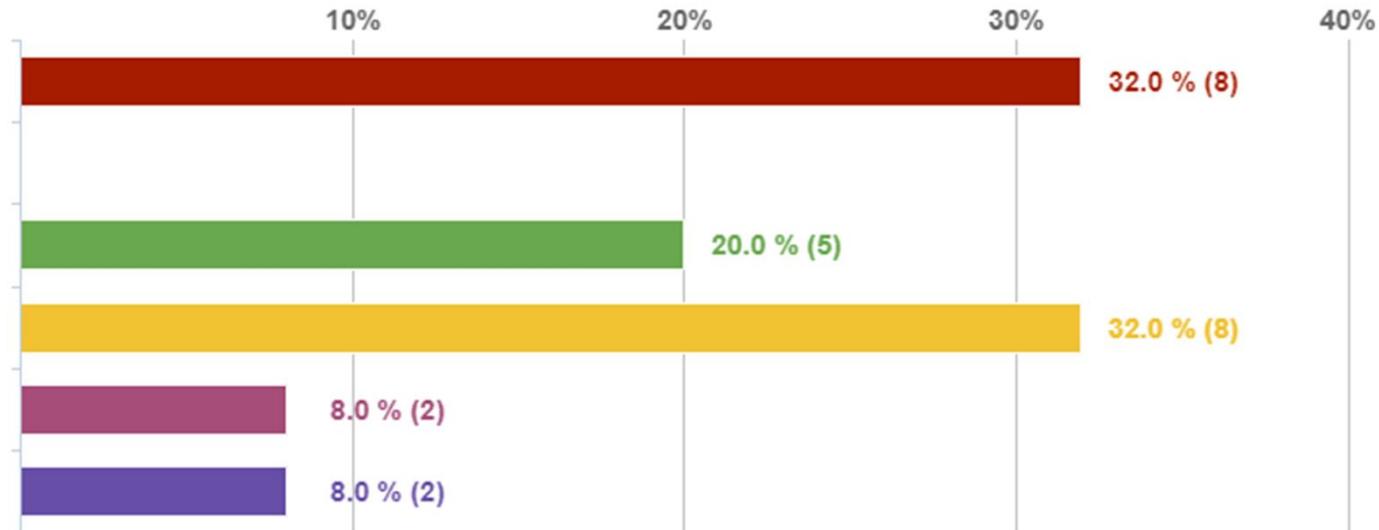


自由記載（一部要約）：

- ロット内及びロット間の同質性／均一性の確保はCMCの責任で実施されるべきである。
- 旧製造バッチの保存は製造者側の責任で実施すべき。

Q11. 凍結保存した検量線試料・QC試料を使用していますか？

■ 検量線試料・QC試料の両方を使用
 ■ 検量線試料のみを使用
 ■ QC試料のみを使用
■ 使用していない
 ■ 使用していないが今後使用する予定がある
 ■ その他：自由記載



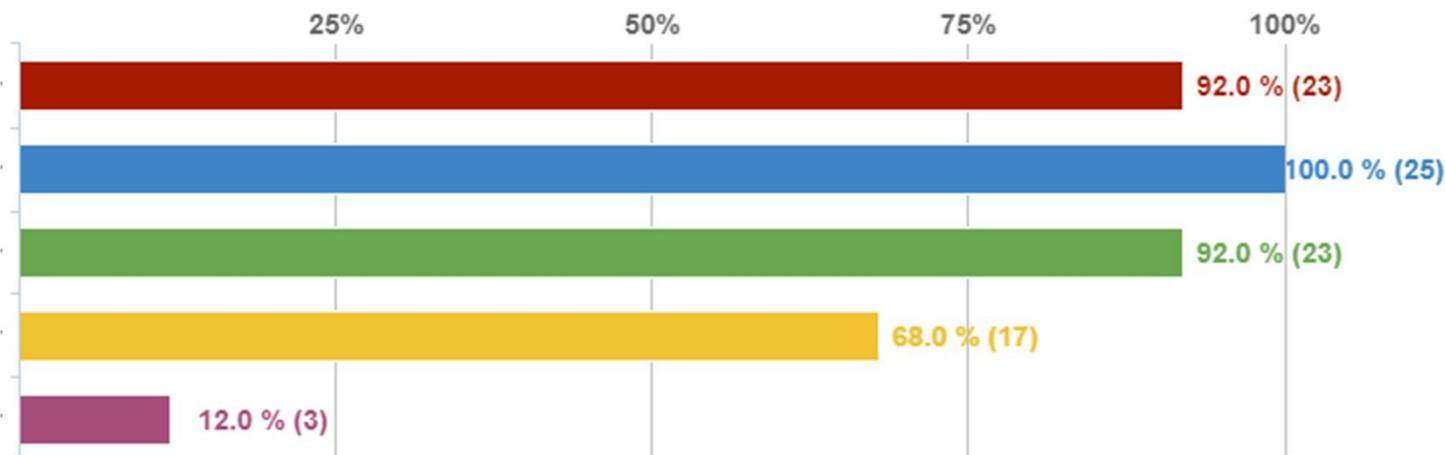
自由記載：

- バリデーションで保存安定性が担保されていれば担保期間及び凍結融解担保回数内で使用する。
- 原則、フレッシュだが、QCに関しては希少性（価格）と安定性を考慮した上で臨床検査の管理血清と同じように凍結品を用いることもある。

重要試薬

Q12. 次のうちどれを重要試薬として取り扱いますか？（複数選択）

- (測定対象に対する) 抗原
 ■ 抗イディオタイプ抗体
 ■ 測定対象に対する抗イディオタイプ抗体以外の抗体 (Anti-human IgG等)
■ 1次抗体 (測定対象に対する抗体) に結合する2次抗体
 ■ その他：自由記載



自由記載：

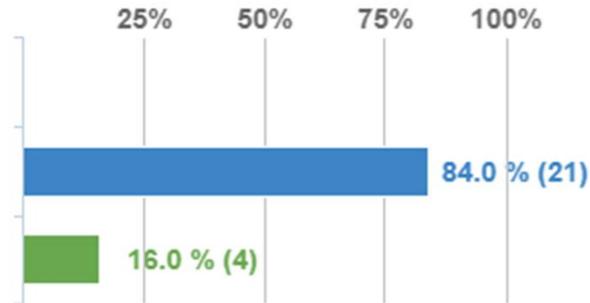
- 上記分類だけではなく、SOPで重要試薬の定義を定めている
- 3つ目の選択肢で抗体製剤のLBAに限定しているようにも感じられたので念のためですが、あらゆる一次抗体（抗原キャプチャー抗体）
- Conjugated materials

重要試薬

Q13. 重要試薬の安定性評価はどのように実施していますか？

Q14. 重要試薬のロットを変更した場合、ロット間の確認を行いますか？

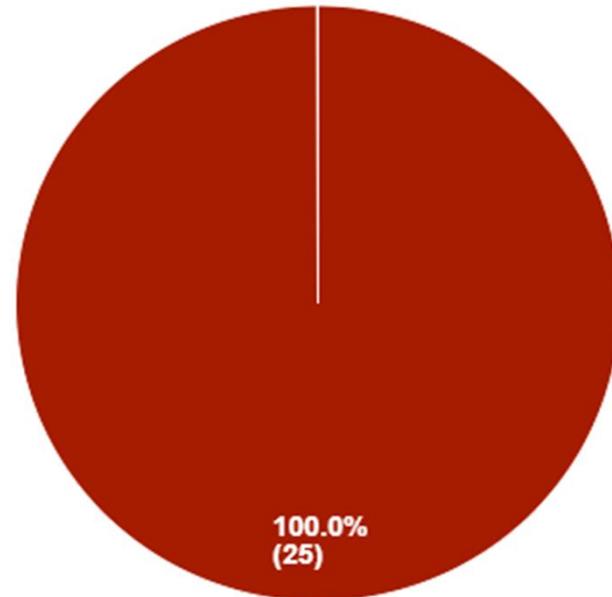
- 個々の重要試薬について品質試験として蛋白濃度測定、純度、SDS-PAGE等の確認を行う
- 個々の重要試薬について安定性評価は行わないがバイオアナリシスの結果で評価を行う
- その他：自由記載



自由記載（一部要約）：

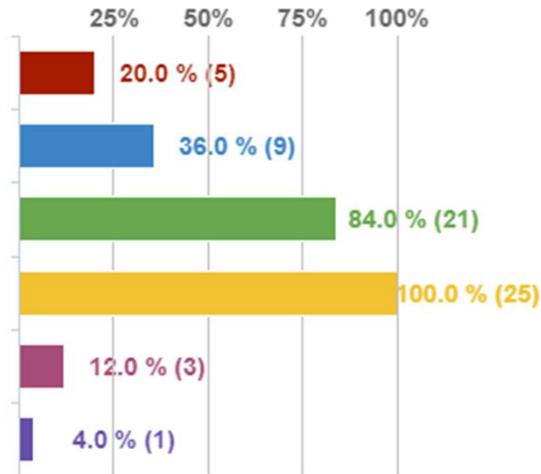
- ・ 市販品（製造・出荷で品質試験が実施されている場合）はバイオアナリシスの方法で検量線・QCの再現性から判断する。自作要素のある重要試薬は含量（タンパク濃度）、純度、構造確認（SDS-PAGE）の3点セットを実施する。

■ はい ■ いいえ



Q15. 問14ではいと回答した方
どのような評価項目で
確認しますか？（複数選択）

■ 特異性 ■ 選択性 ■ 検量線 ■ 分析単位内真度精度
■ 分析単位間真度精度 ■ その他：自由記載

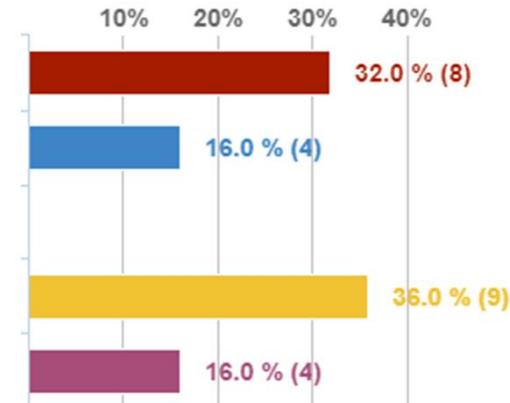


自由記載：

- in house で確認し差がなければ試験では確認しない

Q16. 問14ではいと回答した方
具体的にどのように確認
しますか？

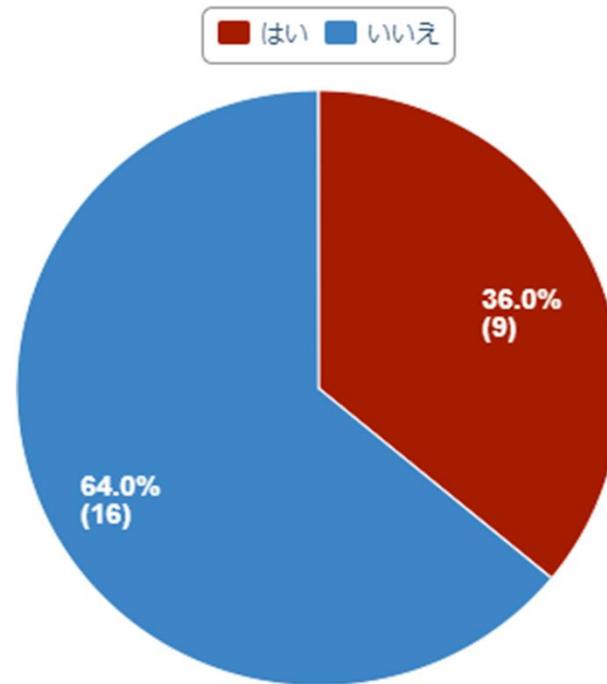
■ 旧ロットの検量線及び新ロットのQC試料を同一バッチで比較
■ 新ロットの検量線及び旧ロットのQC試料を同一バッチで比較
■ 旧ロットの検量線及び旧ロットのQC試料で比較（新ロットは同一バッチに入れない）
■ 新ロットの検量線及び新ロットのQC試料で比較（旧ロットは同一バッチに入れない）
■ その他：自由記載



自由記載（一部要約）：

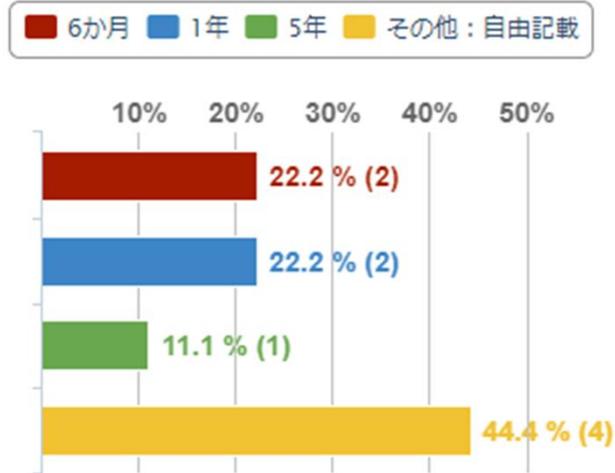
- 新ロットの検量線および新旧ロットのQC試料で比較

Q17. 購入品を除く重要試薬（例：自社調製の抗体、自社標識の抗体）
について、使用期限を設定していますか？



重要試薬

Q18. 問17ではいと回答した方
使用期限はどの程度の
期間ですか？

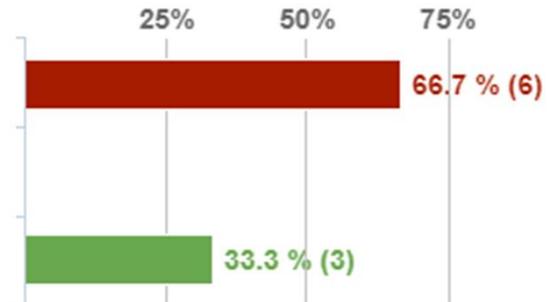


自由記載：

- 使用実績などケースに応じて
- 10年
- 化合物の構造と性質によって異なる。
(抗体なら1年ごとにリテストを設定、
酵素標識体なら3ヶ月とか6か月)

Q19. 問17ではいと回答した方
使用期限切れが発生した際
はどのように対応しますか？

■ 使用期限を延長し継続使用する ■ 新たに再調製を行う
■ その他:自由記載

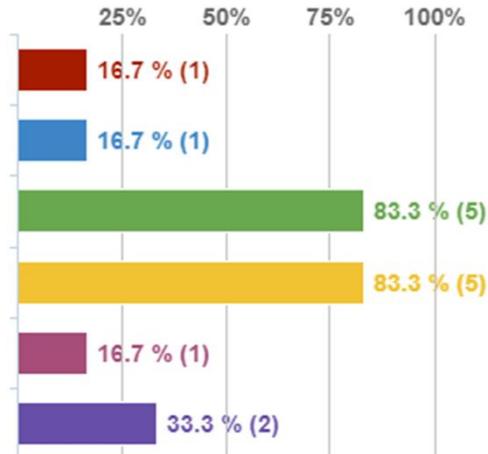


自由記載 (一部要約)：

- 期限切れの前に延長のための評価を行うのが理想、切れてしまった場合も、継続できるか過去のデータと評価して検討する
- 抗体など安定な物質はリテストで延長、経時的に品質低下が考えられる物質は再調製。

Q20. 問19で使用期限を延長すると回答した方
使用期限を延長する際に
どの項目を確認しますか？
(複数選択)

■ 特異性 ■ 選択性 ■ 検量線 ■ 分析単位内真度精度
■ 分析単位間真度精度 ■ その他：自由記載

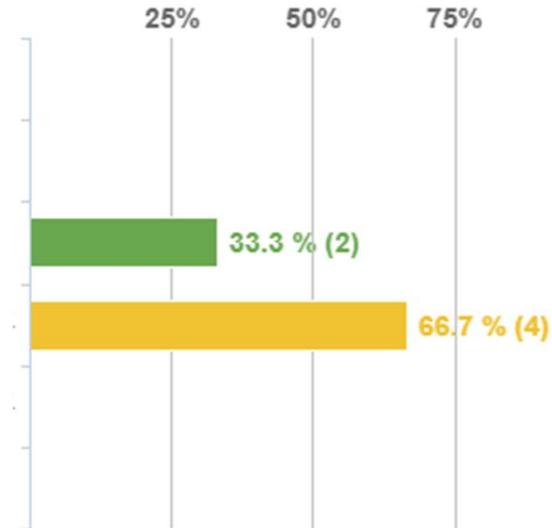


自由記載：

- 精度管理QC試料（3濃度、n=2）で実施したこともある
- 確認しない

Q21. 問19で使用期限を延長すると回答した方
判断基準を満たした場合、
使用期限をどの程度
延長しますか？

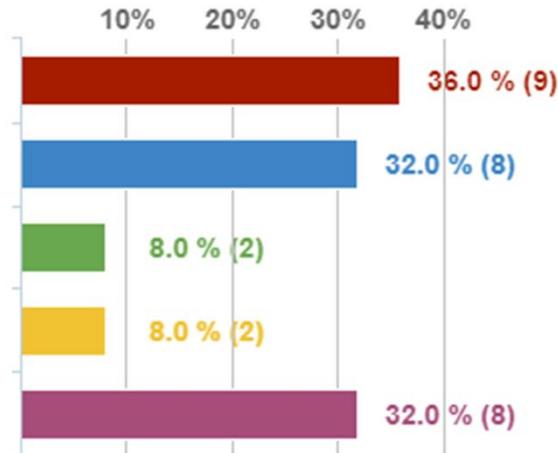
■ 1か月 ■ 3か月 ■ 6か月 ■ 1年 ■ 5年 ■ その他：自由記載



ブランクマトリックス

Q22. 使用期限の基準を
設けていますか？ (複数選択)

- 基準は設けない
- 納品または採取後1年以内
- 納品または採取後3年以内
- 納品または採取後5年以内
- その他：自由記載

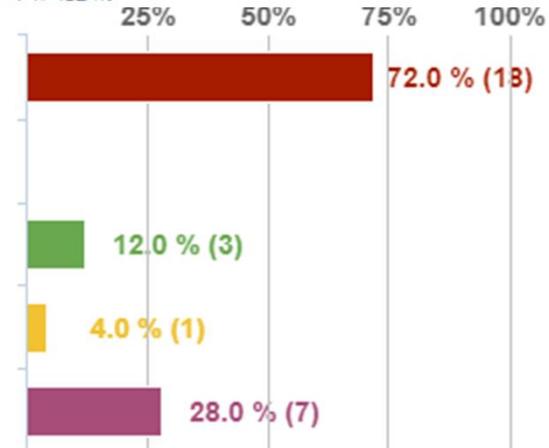


自由記載 (一部要約) :

- 納入元のPackage Insertにしたがう。
- 希少性が高い場合は別途設定することもあるが、期間の根拠はない。

Q23. 凍結融解回数の基準を
設けていますか？ (複数選択)

- 基準は設けない
- 凍結融解3回以内で使い切る
- 凍結融解5回以内で使い切る
- 凍結融解10回以内で使い切る
- その他：自由記載



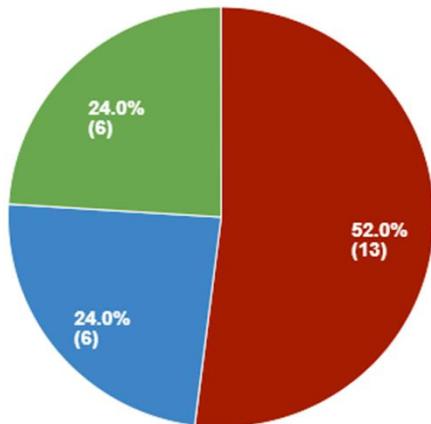
自由記載 (一部要約) :

- 凍結融解安定性の情報があればその回数以内で使用、情報がなければ1回使用量に小分け凍結保存し凍結融解は繰り返さない。
- 可能な限り少なくする

バリテーション (選択性)

Q24. 高脂血症や溶血試料の選択性を実施していますか？

■ はい ■ いいえ ■ その他：自由記載

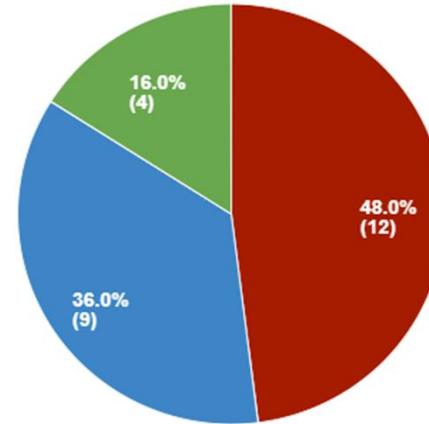


自由記載（一部要約）：

- 今後実施予定
- 非臨床試験については、今後対応を予定。
- 非臨床はいいえ、臨床ははい

Q27. 患者由来試料の選択性を実施していますか？

■ はい ■ いいえ ■ その他：自由記載



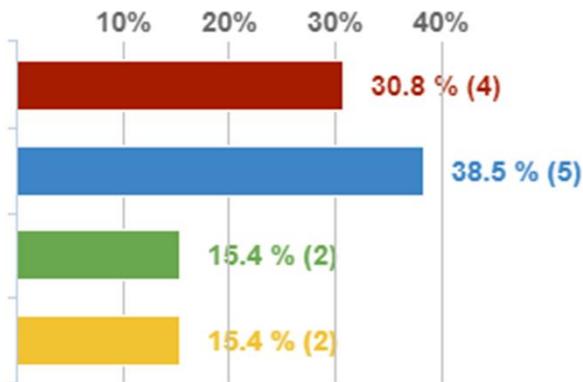
自由記載（一部要約）：

- 通常実施しているが、入手困難なものは利用可能になった後に実施
- 非臨床試験が主のため該当なし

バリデーション（高脂血症、溶血試料）

Q25. 問24ではいと回答した方
個体数は何個体で評価して
いますか？

■ 1個体 ■ 3~5個体 ■ 6個体以上 ■ その他：自由記載

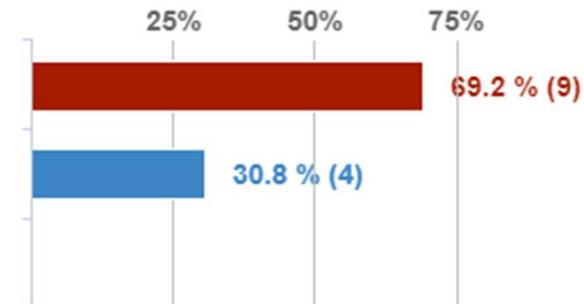


自由記載：

- プール
- それぞれ10個体

Q26. 問24ではいと回答した方
実施時期はいつですか？

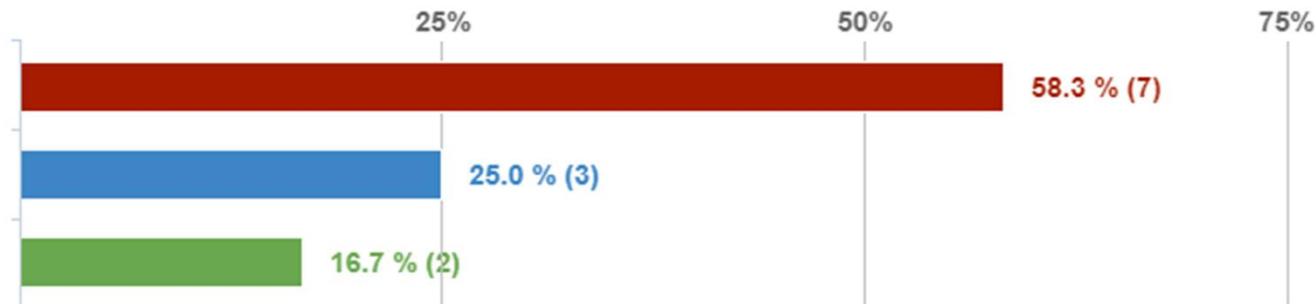
■ Pre-study validationで実施 ■ In-study validationで実施 ■ その他：自由記載



バリデーション（患者由来試料の選択性）

Q28. 問27ではいと回答した方
実施時期はいつですか？

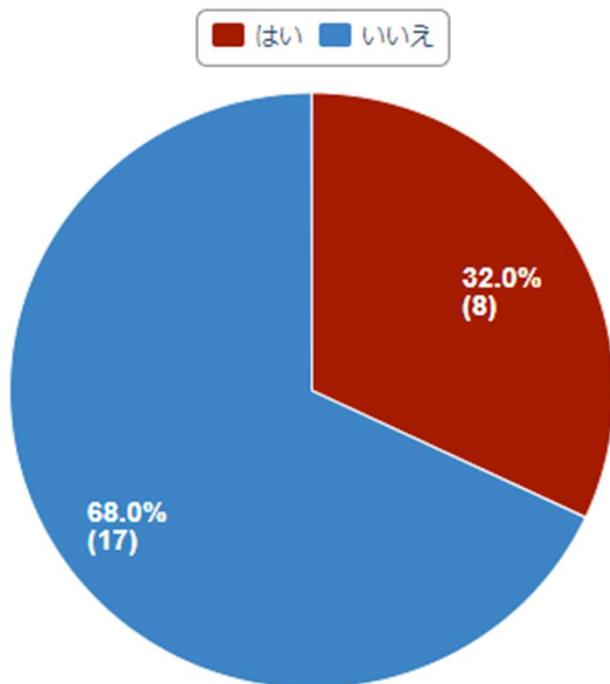
■ 市販患者由来試料を用いてpre-study validationで実施 ■ 治験投与前試料を用いてin-study validationで実施 ■ その他：自由記載



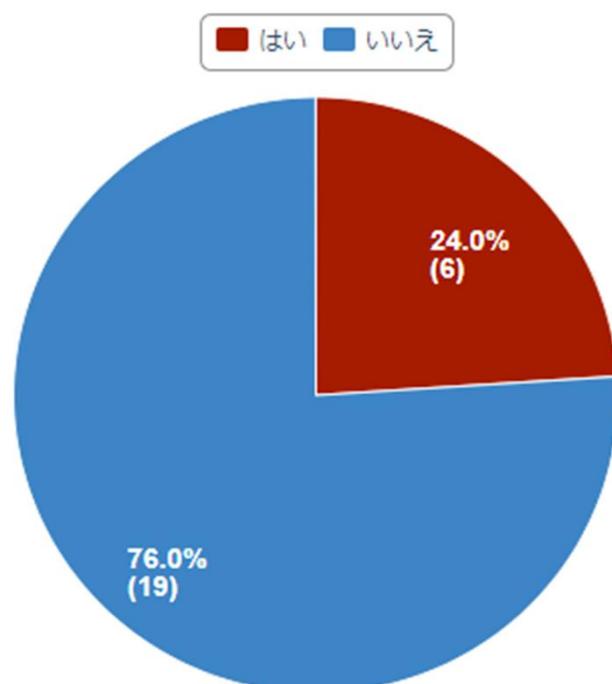
自由記載：

- Case by Caseで上記の混在です。しかし、市販患者由来試料が必ずしも該当の臨床試験内の同一患者群を代表していない結果も散見され、可能な限り市販の患者試料は使用しない方向です。
- Case by case。ただし、市販患者試料は時として信頼できないことも確認している。

Q29. 同一形式間で機種変更を行う場合の性能確認を実施した経験はありますか？



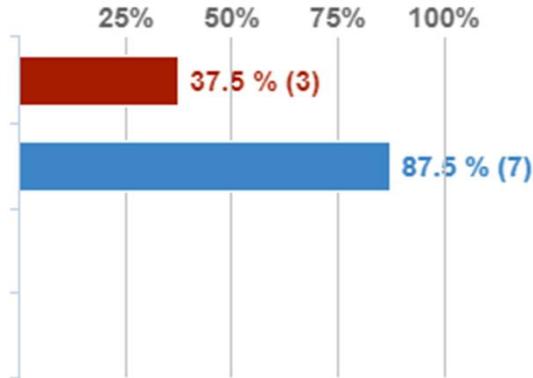
Q32. 解析ソフトを変更した経験はありますか？



分析機器（機器変更）

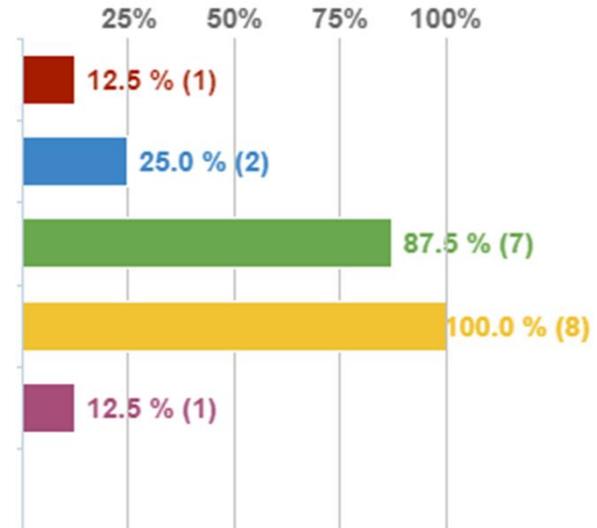
Q30. 問29ではいと回答した方
どの機器で確認した経験が
ありますか？（複数選択）

■ プレートリーダー ■ MSD ■ Gyrolab ■ その他：自由記載



Q31. 問29ではいと回答した方
分析機器について、同一型
式間の確認はどのように行
いましたか？（複数選択）

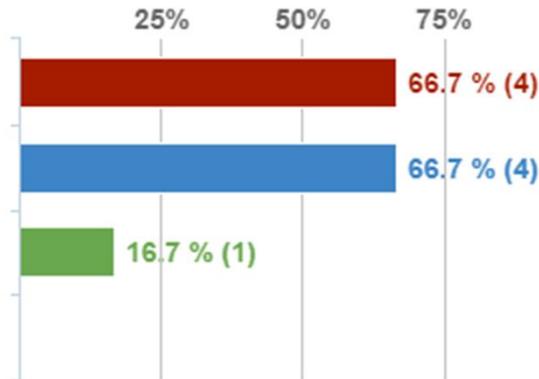
■ 特異性 ■ 選択性 ■ 検量線 ■ 分析単位内真度精度
■ 分析単位間真度精度 ■ その他：自由記載



分析機器（解析ソフト変更）

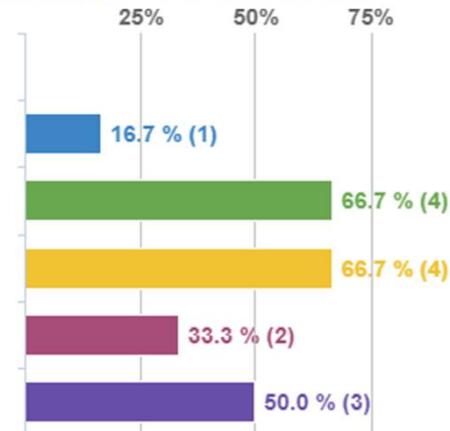
Q33. 問32ではいと回答した方
どの機器で変更した経験が
ありますか？（複数選択）

■ プレートリーダー ■ MSD ■ Gyrolab ■ その他：自由記載



Q34. 問32ではいと回答した方
分析機器について、同一型
式間の確認はどのように行
いましたか？（複数選択）

■ 特異性 ■ 選択性 ■ 検量線 ■ 分析単位内真度精度
■ 分析単位間真度精度 ■ その他：自由記載



自由記載（一部要約）：

- ・ 同一データの再解析
- ・ 特に確認は行っていない。新たな解析ソフトの結果を使用する。

Q35. LBAのライフサイクルマネジメントで
困っていること・疑問点を教えてください。

薬物濃度測定 (PK・TK)



疑義事項

重要試薬を標識して使用する場合には、
標識体のみの安定性や使用期限を設定すれば良いか？
それとも、標識前の重要試薬と両者が必要か？



DGの考え

試験内で使用する対象が標識体のみである場合には、
標識体のみの安定性や使用期限を設定すればよいと
考えます。

Q35. LBAのライフサイクルマネジメントで困っていること・疑問点を教えてください。

薬物濃度測定 (PK・TK)



疑義事項

大規模臨床試験において、ポリクローナル抗体を重要試薬として使わざるを得ない場合に、ロット間差をどのように保証する？



DGの考え

基本的にロット変更時と同じ検証で問題ないと考えます。
(再現性の確認等、アンケートQ15、Q16 (P.84) 参照)

ただし、ロット変更時の確認に加え、結果次第では選択性を考慮する必要があると考えます。

Q35. LBAのライフサイクルマネジメントで困っていること・疑問点を教えてください。

薬物濃度測定 (PK・TK)



疑義事項

- ◆ 古い分析法をupdateしたほうが良いと思われるが、その機会がない。
- ◆ 継続している臨床試験にどのようにM10を反映させるか？もしくは反映させないか。



DGの考え

今後始まる継続試験においては、反映可能な箇所は反映をした方がよいと考えます。

また、現在進行中で反映が難しい試験においてもM10で変更になった箇所を気にかける必要はあると考えます。

Q35. LBAのライフサイクルマネジメントで困っていること・疑問点を教えてください。

薬物濃度測定 (PK・TK)



疑義事項

- ◆ 試薬に生もの (タンパク・ペプチド) が多い場合、Lot間の繋ぎが頻繁になってコストがかさむ。
- ◆ 重要試薬を調達する時点で、臨床適応などが未確定のことが多く、臨床試験規模が定まらないことから、重要試薬の調達については中長期的な計画を立てにくい。



DGの考え

ライフサイクルマネジメントの考え方が重要になってくると考えます。

使用頻度の高いものについては、特にしっかりと計画を考える必要があると考えます。

Q35. LBAのライフサイクルマネジメントで困っていること・疑問点を教えてください。

バイオマーカー



疑義事項

- ◆ キットメーカーの製造法変更によりバリデーション済みの分析法が使えなくなった事例あり。メーカーによると、EUの環境基準に適合させるため溶媒を変更したそうだが、発色度のvariabilityが大きく使えなかった。別のメーカーに切り替えた場合の対応は？
- ◆ 市販キットを用いた測定において、旧ロットの使用期限が切れた後に、新ロットを使う場合のロット間のつなぎの試験をどうするか？
- ◆ 市販キットのロット変更はどう対応する？
- ◆ 市販キットを用いた測定で、旧ロットの使用期限が切れた後に、新ロットを使う場合のロット間のつなぎの試験をどうするか？
- ◆ 研究の進捗により、バイオマーカー自体の意義や位置づけが変わるので、ずっと同じ方法を維持するわけにもいかない。市販キットや試薬の製品としてのライフサイクルが短いので、同じ分析法が続けられなくなることが多いが、どう対応する？



DGの考え

必要に応じて、前キット（旧ロット）とのパーシャルバリデーションやクロスバリデーションの実施を検討する必要があると考えます。

ポスター（P.25、26、28、36～39）も参照ください。

Q35. LBAのライフサイクルマネジメントで困っていること・疑問点を教えてください。

バイオマーカー



疑義事項

- ◆ 標準品の制定（同じ配列であってもホストにより反応性が異なるケースなどは、何をよりどころにしたらよいのか悩みます）。
- ◆ 市販キットとRecombinant品の反応性の違いはどうする？



DGの考え

反応性の乖離度合いにより、判断する必要があると考えます。二つの標準品を用いたパーシャルバリデーションの実施を検討する必要があると考えます。

Q35. LBAのライフサイクルマネジメントで
困っていること・疑問点を教えてください。

バイオマーカー



疑義事項

Fit-for-purposeで設定したクライテリアの見直しについてはどのように考えるべきか？



DGの考え

生物学的に意義のある変動をとらえることができる分析法が求められ、それに従い基準を設定すべきと考えます。

例えば、より小さい変動をとらえる必要がある場合は、分析法の変更

(ELISA→より高感度なアッセイ、LBA→クロマトグラフィー)
も視野に入れる必要があると考えます。

Q35. LBAのライフサイクルマネジメントで困っていること・疑問点を教えてください。

バイオマーカー



疑義事項

納期・製造の遅れが懸念される場合の対応は？

再分析、不測の事態のためのリスクヘッジとして、使用しない可能性のある余剰のキットをどのくらい用意するか？

市販キットを使用することが多いと考えるが、その選択方法。また、選択したキットの妥当性をどう評価すればよいか？

高濃度の内因性物質を含むマトリックスの入手、または調製は？



DGの考え

納期・キット：

入手できなくなる可能性も考慮し、常にバックアップを意識しておく必要があると考えます。複数在庫を用意する場合は納期に注意し、シングルベンダーを避けることも必要かもしれません。

内因性物質を含むマトリックス：

ポスター（P.29、33）を参照ください。

Q35. LBAのライフサイクルマネジメントで困っていること・疑問点を教えてください。

抗薬物抗体分析 (ADA)



疑義事項

既に申請/承認取得済みの古い薬剤・分析方法の場合、現在のガイドラインに合わないことが多いため、もし用法用量追加/変更等で申請する場合には、新たに分析法を変更しなおす必要があると思われる。

しかし、その場合には免疫原性の結果自体が、初回申請と大きく異なると考えられる。

初回申請とは切り離して評価するしかないと考えるのがいかがでしょうか？



DGの考え

初回申請と切り離して考えることができるかどうかは、ADAの産生が有効性、安全性等へ与える影響の大きさによると考えます。

また、分析法の違いによりADAの結果に違いが生じた際は、その違いを説明することが必要であると考えます。

Q35. LBAのライフサイクルマネジメントで
困っていること・疑問点を教えてください。

抗薬物抗体分析 (ADA)



疑義事項

Positive Controlの安定性評価の方法について社内基準を設けているが、皆さんの運用方法を知りたい。



DGの考え

他の重要試薬と同様、バイオアナリシスの結果で評価を行うことで問題ないと考えます。

ポスター (P.54、69) も参照ください。

Q35. LBAのライフサイクルマネジメントで困っていること・疑問点を教えてください。

抗薬物抗体分析 (ADA)



疑義事項

薬物サンドイッチの分析試験において、標識体の安定性が保証されていても薬物（開発品）の使用期限が切れている場合の考え方に迷う。

新たに薬物のCoAを取得し延長する？
保証期限内のロットで標識体を再調製する？



DGの考え

バイオアナリシスに使用するものは標識体となるため、新たに薬物のCoAを取得することは不要と考えます。

標識体の安定性が確認出来ていれば使用に問題ないと考えます。

Q35. LBAのライフサイクルマネジメントで
困っていること・疑問点を教えてください。

抗薬物抗体分析 (ADA)



疑義事項

Fit-for-purpose ADA validationも提唱されていますが、どのステージでどこまでADA測定法を改善すべきか？

どこまで (Drug/Target tolerance等) をめざすべきか？

これもCase by Caseなのでしょうが。



DGの考え

少なくとも、Drugのトラフ濃度やTargetタンパク濃度以上の耐性を目指す必要があると考えます。

バリデーション段階での想定が重要になると考えます。

Q35. LBAのライフサイクルマネジメントで困っていること・疑問点を教えてください。

抗薬物抗体分析 (ADA)



疑義事項

n-factorが極端に低くなってしまった場合はどのように対応したほうがよいか？



DGの考え

n-factorが低くなった場合でも、確認試験において判定できれば問題ないと考えます。

また、ブランクマトリックスをscreeningし外れ値を除いてからNegative controlを作成することが重要と考えます。

Q35. LBAのライフサイクルマネジメントで困っていること・疑問点を教えてください。

抗薬物抗体分析 (ADA)



疑義事項

- ◆ Positive controlの確保、ロット変更時の対応はどのようにしたらよいか？
- ◆ 陽性抗体の入手と維持（量）に制限があり、開発途中で手に入ったり、途中で使い切ったりと、申請までが長期戦になると悩ましい。
- ◆ 重要試薬のロット変更の対応、カットポイントはどうすべきか？



DGの考え

ポスター（P.54、69）を参照ください。

Q35. LBAのライフサイクルマネジメントで
困っていること・疑問点を教えてください。

抗薬物抗体分析 (ADA)



疑義事項

健常人カットポイントを患者集団に適用できるかのrationale (2-11%ルールの適用), 患者カットポイントの設定 (例数が少ない場合など) についての考え方は?



DGの考え

ポスター (P.55、59~64、71、72) を参照ください。

Q35. LBAのライフサイクルマネジメントで
困っていること・疑問点を教えてください。

抗薬物抗体分析 (ADA)



疑義事項

非臨床試験においてカットポイント設定時の統計解析の実施の必要性があるか？



DGの考え

正規分布などの検定までは不要と考えますが、
MeanやSDを使用しての計算は実施可能であると考えます。

Q36. ICH M10ガイドラインが国内で施行された後、これまでと変更する箇所について教えてください。

- 併用療法で使用される薬剤の場合（添付文書で規定される場合）、その併用薬も添加したマトリクスでの長期保存安定性を実施する
- 非臨床試験で未実施であった、溶血血漿で選択性の実施検討中
- カスタム品の重要試薬（抗イディオタイプ抗体や抗原タンパク等）の有効期限の設定を検討中
- 希釈QC、重要試薬の管理、高脂血症や溶血試料の選択性等
- 高脂血症・溶血試料の組み込み、凍結standard・QCやQCトレンドはこれから議論
- Dilution QCの設定
- 選択性
- 平行性
- 報告書に記載する内容
- 選択性：非臨床でも溶血サンプルを追加
- 希釈再現性：希釈サンプルの精度・真度評価
- 安定性：希釈倍率挟み込みの安定性評価を追加
- ISの変動を指標にしたバッチ安定性評価
- 実サンプル測定時の希釈QCの設定

（変更箇所がないとの意見もあり）

- 弊社は日本国内でBioanalysisを実施することはまずないのですが、弊社としてはICHM10の内容をすでにほぼ実施してきているので、大きな変更はないと考えています。
- LBAのライフサイクルマネジメントに関しては、特に変更ないように考えている。