



THE 10TH JBF SYMPOSIUM

~ OPEN TO THE PUBLIC ~



FEBRUARY 12-14, 2019

PACIFICO YOKOHAMA, KANAGAWA, JAPAN

プログラム

第10回記念 JBF シンポジウム プログラム

日時： 2019年2月12日（火）－14日（木）
場所： パシフィコ横浜 会議センター（横浜市西区みなとみらい）
口頭発表：501/502（全日）、303/304（2月14日のみ）
ポスター発表：301/302（全日）

第1日：2月12日（火）

- 11:30** 受付開始
- 12:30-12:45** ご挨拶 バイオアナリシスフォーラム代表／国立医薬品食品衛生研究所 斎藤 嘉朗
第10回記念 JBF シンポジウム実行委員長／サンプラネット 佐野 善寿
- 12:45-14:15** バイオアナリシスの将来展望（パート1）
座長： 大津 善明 [アステラス製薬]
掛樋 真彰 [武田薬品工業]
➤ 生体試料測定の辿った跡 [横河電機・工藤 忍]
ーパネル討論ー 生体試料分析に関連する技術およびサービスの今後への期待
パネリスト： L S I メディエンス・新井 浩司
住化分析センター・田中 照久
新日本科学・中村 隆広
シミックファーマサイエンス・水落 正慶
東レリサーチセンター・安田 穰
- 14:30-15:30** 特別講演 九州大学 馬場 健史
「メタボローム分析の最新動向と今後の課題」
座長： 佐野 善寿 [サンプラネット]
- 16:30-18:30** バイオマーカーの分析バリデーションの現状
座長： 香取 典子 [国立医薬品食品衛生研究所]
丹羽 誠 [日本化薬]
➤ バイオマーカー測定における留意点文書の策定状況と今後の展望 [国立医薬品食品衛生研究所・斎藤 嘉朗]
➤ バイオマーカー（内因性化合物）の定量における代替マトリックスの選択法と妥当性評価の推奨方法（DG2015-15） [グラクソ・スミスクライン・若松 明]
➤ 医薬品開発におけるバイオマーカー分析技術 [中外製薬・宮山 崇]
➤ イムノアッセイプラットフォームを用いた非臨床及び臨床バイオマーカーの分析法バリデーションの事例 [田辺三菱製薬・辻本 景英]
ーパネル討論ー
パネリスト： 国立医薬品食品衛生研究所・斎藤 嘉朗
グラクソ・スミスクライン・若松 明
中外製薬・宮山 崇
田辺三菱製薬・辻本 景英
武田薬品工業・清水 久夫
第一三共・小熊 敏弘

第2日：2月13日（水）

9:00-10:10 抗体医薬品分析の最近の話題

座長： 細木 淳 [協和発酵キリン]
中村 隆広 [新日本科学]

- Challenges and opportunities in developing a sound bioanalytical strategy for PK assessment of Antibody Drug Conjugate Therapeutic [Pfizer・Boris Gorovits]
- "Total"および"Free"抗体医薬品定量のための技術的課題 [中外製薬・大浪 一生]
- 中外製薬の抗体医薬品開発における抗薬物抗体分析の最近の実績と現状 [中外製薬・宮 和弘] (演者都合により、この発表は第3日 11:20 からに変更になりました [501/502]。代わりにここでは座長から ADA 測定に関する簡単な紹介を行います。)

10:15-11:15 スポンサーセミナー

- A 会場 (303) : BioAgilytix

10:45-11:45 バイオアナリシスの将来展望 (パート2)

座長： 大津 善明 [アステラス製薬]
掛樋 真彰 [武田薬品工業]

- Challenges for the 21st Century Bioanalyst [EBF・Philip Timmerman]
- バイオアナリシスの将来展望 [バイオアナリシスフォーラム副代表/アステラス製薬・大津 善明]

12:00-13:00 ランチョンセミナー

- A 会場 (303) : SCIEX
- B 会場 (304) : 住化分析センター
- C 会場 (311+312) : 日本ウォーターズ

13:15-15:15 JBFー日本薬物動態学会 共催セッション

「薬物相互作用リスク評価におけるバイオマーカーの活用と分析法バリデーション」

座長： 齊藤 公亮 [国立医薬品食品衛生研究所]
駒場 淳二 [小野薬品工業]

- 薬物トランスポーターの内在性基質を用いた薬物相互作用リスクの評価 [東京大学・楠原 洋之]
- 内因性物質を指標とした腎不全時の CYP3A 活性の評価 [明治薬科大学・鈴木 陽介]
- Bioanalysis of endogenous biomarkers for transporters-mediated DDI evaluation – method development, validation and implementation consideration [Bristol-Myers Squibb・Jianing Zeng]
- CYP3A 活性のバイオマーカーの分析法設定とバリデーション [塩野義製薬・竹田 友理]

ーパネル討論ー

15:15-16:00 ICH 及び FDA ガイダンス報告

座長： 間渕 雅成 [田辺三菱製薬]

- ICH M10 and FDA 2018 BMV Guideline: Feedback from the EBF [GlaxoSmithKline・Stephen White]

15:45-17:00 DG ポスター発表/一般募集演題ポスター発表 (1) [ポスター会場：301/302]

- DG2018-35 Accuracy&Precision Criteria について考える (2) [日本化薬・丹羽 誠]
- DG2018-36 LC-MS による核酸医薬品の定量 [シミックファーマサイエンス・林 善治]
- DG2018-37 LC-MS 分析における前処理のオートメーション [小野薬品工業・野田 巧]

- DG2018-38 LBA におけるパラレリズム [田辺三菱製薬・清水 浩之]
 - DG2018-39 LBA の失敗&トラブル事例と解決策 [アステラス製薬・齊藤 哲]
- この他、一般募集による 33 演題のポスター発表を予定しています。

17:15-18:15 基調講演 東北大学 寺崎 哲也

「創薬科学の新地平：ペプチド検索エンジンを用いた定量的プロテオタイピング」

座長： 斎藤 嘉朗 [国立医薬品食品衛生研究所]

18:30-20:30 情報交換会（懇親会）[503]

第3日：2月14日（木）

09:00-10:15 DG ポスター発表／一般募集演題ポスター発表（2） [ポスター会場：301/302]

（発表は第2日の午後と同じ内容となります）

10:30-11:45 バイオアナリシスを支える技術 [501/502 及び 303/304]

「LC-MS による高分子医薬品のバイオアナリシス」 [501/502]

座長： 山口 建 [住化分析センター]
村尾 尚昭 [中外製薬]

- LC/MS によるアンチセンス医薬品の測定法開発と標準化への取り組み [国立医薬品食品衛生研究所・孫 雨晨]
- Hybrid Immunoaffinity LC-MS/MS Pharmacokinetic Assays in the Development of Biologic Protein Drugs [Genentech・Surinder Kaur]
- 抗体医薬品分析の最近の話題（第2日の続き）：中外製薬の抗体医薬品開発における抗薬物抗体分析の最近の実績と現状 [中外製薬・宮 和弘]

「創薬における分析技術の動向」 [303/304]

座長： 上森 浩 [塩野義製薬]
高橋 信 [第一三共]

- 初期 ADME 評価における高分解能 MS の活用 [小野薬品工業・加藤 純也]
- Enzyme-linked Oligosorbent Assay (ELOS) による核酸分子の定量分析 [新日本科学・小谷 洋介]
- Simple Quantitative Imaging Mass Spectrometry for Drug Distribution Analysis in Tissues [塩野義製薬・田中 由香里]

12:00-13:00 ランチョンセミナー

- A 会場 (303)：サーモフィッシャーサイエンティフィック
- B 会場 (304)：アジレント・テクノロジー
- C 会場 (311+312)：エルガ・ラボウォーター

13:15-16:45 バイオアナリシスをとりまく分野との協演 [501/502 及び 303/304]

1. JBF—臨床薬理コラボセッション [501/502]

「早期臨床試験における相互協力」

座長： 間渕 雅成 [田辺三菱製薬]
荒川 朋子 [ファイザーR&D]

- 早期臨床試験におけるバイオアナリシスの活用 [北里大学・熊谷 雄治]

—パネル討論—

パネリスト： 北里大学・熊谷 雄治
相生会・入江 伸
相生会・内丸 比奈子
武田薬品工業・掛樋 真彰
大塚製薬・河合 陽介

2. JBFー日本 QA 研究会 コラボセッション [303/304]

「LC-MS/MS を題材とした生データ電子化運用の提案～データインテグリティの観点から～」

座長： 中村 隆広 [新日本科学]

- GLP ラボにおける機器・システム運用の実際 (LC-MS/MS を中心として) [シミック ファーマサイエンス・草川 佳久]
- 測定データの信頼性確保の視点 [中外製薬・伊藤 美佐江]

3. JBFー毒性評価 コラボセッション [501/502]

「実践！マイクロサンプリング」

座長： 小林 章男 [日本たばこ産業]
中井 恵子 [L S I メディエンス]

- ICH S3A Q&A 日本語訳の解説 [医薬品医療機器総合機構・西村 次平]
- マイクロサンプリングに関わる海外の状況 [国立医薬品食品衛生研究所・斎藤 嘉朗]
- 毒性評価と TK～経時的採血とスパスサンプリングについて～ [Axcelead Drug Discovery Partners・大塚 博比古]
- 毒性評価と TK～採血部位とデバイスについて～ [L S I メディエンス・赤川 唯]

ーパネル討論ー

パネリスト： 医薬品医療機器総合機構・西村 次平
国立医薬品食品衛生研究所・斎藤 嘉朗
Axcelead Drug Discovery Partners・大塚 博比古
味の素・服部 則道
L S I メディエンス・岩井 淳

16:45-17:00 閉会の挨拶 第 11 回 JBF シンポジウム実行委員長／協和発酵キリン 細木 淳

【お知らせ】

第 1 日 (2/12) のシンポジウム開催前 (10:00～11:30) にビギナー向けの基礎講座 (無料) を開催します (場所： 会議センター501/502)。シンポジウムに参加登録されない方も自由に参加できますのでこの機会に奮ってご参加ください。

10:00 LC/MS の技術的基礎講座 —LC/MS の高感度化とあゆみ— [住化分析センター・富樫 一天]

いまさら聞けない LC/MS 測定の基礎について、その歴史を振り返りながら、LC/MS の進化の歩みについて学べます。MS のイオン化と高感度化について、また LC/MS におけるトラブル事例もまじえながら、バイオアナリシスにおける LC/MS の注意点について解説します

10:40 LBA の技術的基礎講座 —バラツキの原因と対策— [新日本科学・中村 隆広]

LBA を最近始められた方、今後始めようとしている方を対象とした技術的基礎講座です。初めての LBA では測定結果にバラツキが生じることがあると思います。これらの原因と対策を取り上げます。ピペッティング、プレートへの試料の撒き方、エッジ効果、ロット、その他について紹介する予定です。日頃、バラツキなどで苦労されている方に何らかの参考になればと思います。

【注意事項】

- ・ 講演題目は予告なく変更されることがあります。
- ・ ポスター・ブースは、1 日目は 13 時 00 分から 18 時 30 分まで、2 日目は 8 時 45 分から 18 時 30 分まで、3 日目は 8 時 45 分から 10 時 30 分までの間、自由に閲覧可能です。
- ・ 3 日目の 303/304 の口頭発表 (ランチョンセミナーを除く) は、304 をメイン会場、303 をサテライト会場とします。サテライト会場ではプレゼンテーション資料と 304 の音声 (演者、座長、質問者) を聴講できますが、サテライト会場からの質問はできません。

参加登録

参加登録費

種別		事前登録 (～2019 年 1 月 23 日)	当日 (会場にて、現金のみ)
シンポジウム参加費	一般	20,000 円	25,000 円
	学生、官庁	7,000 円	7,000 円
	DG 発表者	15,000 円	20,000 円
情報交換会参加費	シンポジウム参加者	3,000 円	10,000 円
	情報交換会のみ	8,000 円	10,000 円

シンポジウム参加費には、情報交換会の参加費は含まれていません。別途お申し込みが必要です。尚、いずれの参加費もお申し込み後 14 日以内、かつ 2019 年 1 月 31 日までに必ず支払手続きと入金をお済ませ下さい（事前登録は 2019 年 1 月 23 日をもって終了）。事前登録の入金締切は 2019 年 1 月 31 日となっており、締切日までに入金処理をしていただくことにより事前登録完了となります。締切日を過ぎた場合は当日料金となりますのでご了承ください。

法人会員様 2 名、賛助会員様 2 名／口数につきましては、別途招待状を送付致しますので、参加登録いただく必要はございません。ただし、法人会員様・賛助会員様で無料招待券をご利用になる場合でも情報交換会に参加される場合は別途申し込みが必要です。

注意事項／お知らせ

- ・ 演者の都合により予告なくプログラムに変更が生じる場合がございます。
 - ・ 口頭発表、ポスター発表につき、いずれも許可なく録画、録音、写真撮影することを禁止いたします。
 - ・ シンポジウム期間中、シンポジウムの様子を JBF 運営委員が写真撮影を行います。撮影した写真は、後日 JBF ホームページに掲載される可能性があります。
 - ・ 海外演者の発表は英語、日本人演者の発表は日本語で行います。501/502 で行われる 2 日目の口頭発表全演題（基調講演を除く）及び 3 日目午前の口頭発表では通訳を準備しております。レシーバーの貸出時間は、2 日目は午前 8 時 30 分から午後 5 時、3 日目は午前 9 時から午後 0 時 30 分です。レシーバーの貸出・返却はいずれも 3F 受付で行いますが、事前登録者及び招待者数（法人会員様及び賛助会員様の特典対象者含む）のみ準備しておりますので、レシーバーが必要な方は事前登録をお願いいたします。
- 2 日目及び 3 日目各日の口頭発表終了後、必ずレシーバーをご返却ください。なお、万が一レシーバーを破損または紛失された場合は、39,960 円（消費税込）の補償費をご負担いただくことになりますので、くれぐれもお気を付け下さい。
- ・ 受付は、3F フォワイエにて 1 日目（11:30～18:00）、2 日目（8:40～18:00）、3 日目（8:40～16:00）とさせていただきますので、お間違えのないようにお越しください。受付時に名刺ホルダー、情報交換会参加者用

シール（対象者のみ）、スタンプラリーシート及びポスター賞投票用シールをお渡しいたします。情報交換会参加者用シールは名刺ホルダーの見やすい場所に貼付してください。情報交換会参加者用シールがない方は、情報交換会会場に入場できません。

- ランチョンセミナーのチケットは、2日目（8:40～11:00）、3日目（8:40～11:00）に3F フォワイエにて配布致しますので、お間違えのないようにお越しください。なお、各セミナー開始後は無効となりますのでご注意ください。また、配付枚数に限りがございますので、満席による配付終了の際はご了承ください。
- 3F フォワイエにクロークを設けますのでご利用ください（1日目（11:30～19:00）、2日目（8:40～19:00）、3日目（8:40～17:30））。なお、貴重品等はお預かりできませんのであらかじめご了承ください。また、JBF は貴重品の破損もしくは金銭の紛失によって起きた損害に対する責任は負いかねますので、ご留意願います。
- ポスター・ブースは、1日目は13時00分から18時30分まで、2日目は8時45分から18時30分まで、3日目は8時45分から10時30分までの間、自由に閲覧可能です。ポスター発表のコアタイムは、2日目15:50-16:20（奇数番号）及び16:30-17:00（偶数番号）、3日目9:05-9:35（奇数番号）、9:45-10:15（偶数番号）とします。
- ブース会場ではスタンプラリーを実施いたします。受付時にお渡しするスタンプラリーシートをお持ちになり、各ブースでスタンプを集めてください。多数のスタンプを集められた方を対象に、先着順で受付にて景品をお渡しいたします（1日目16:30-18:00、2日目9:00-18:00、3日目9:00-16:30）。
- 一般演題ポスターにはポスター賞を設定いたします。ポスター会場に設置した投票パネルにて、受付時にお渡しする投票用シールにて投票ください。なお、ポスター賞の選考については、投票結果を参考に、JBFにて決定させていただきます。
- 以下の時間帯にドリンク・スナックコーナー（無料）を3F ポスター会場に設置いたします。参加者の皆様は自由にご利用ください。
 - 1日目：15:30（コーヒーサービス）
 - 2日目：16:00（コーヒーサービス）
 - 3日目：9:00（ウォーターサービス）
- 会場では無料 Wi-Fi をご利用いただけます（SSID：FREE-PACIFICO、パスワードなし）。アクセス数が多い場合は接続困難になる可能性があります。あらかじめご了承ください。
- プログラムは随時 JBF ホームページ（<http://bioanalysisforum.jp/>）にて更新致します。

Program

THE 10TH ANNIVERSARY JBF SYMPOSIUM PROGRAM

Date: Tue, 12th Feb. – Thu, 14th Feb. 2019

Venue: PACIFICO YOKOHAMA, Yokohama, Japan

<http://www.pacifico.co.jp/english/tabid/500/Default.aspx>

Oral presentation: 501/502 (all days) and 303/304 (14th Feb only)

Poster presentation: 301/302 (all days)

Day 1: Tuesday, 12th Feb.

11:30 AM Registration

**12:30-12:45 Welcome greeting - Yoshiro SAITO (JBF Representative / National Institute of Health Sciences)
Yoshihisa SANO (The 10th Anniversary JBF Symposium Chair / Sunplanet)**

12:45-14:15 Future of Bioanalysis Part I

Chair: Yoshiaki OHTSU (Astellas Pharma)
Masaaki KAKEHI (Takeda Pharmaceutical)

- Crawling marks of bioanalysis -Shinobu KUDOH (Yokogawa Electric)
- (Panel Discussion)

-Panel Discussion- Innovation in technologies and services in bioanalysis

Panelists: Koji ARAI (LSI Medience)
Teruhisa TANAKA (Sumika Chemical Analysis Service)
Takahiro NAKAMURA (Shin Nippon Biomedical Laboratories)
Masayoshi MIZUOCHI (CMIC Pharma Science)
Yutaka YASUDA (Toray Research Center)

14:30-15:30 Special Lecture

“Recent Trends and Future Challenges of Metabolome Analysis” -Prof. Takeshi BAMBA (Kyushu University)

Chair: Yoshihisa SANO (Sunplanet)

16:30-18:30 Update on the Validation of Analytical Methods for Biomarkers

Chairs: Noriko KATORI (National Institute of Health Sciences)
Makoto NIWA (Nippon Kayaku)

- Development of points to consider document on biomarker assay validation in Japan -Yoshiro SAITO (National Institute of Health Sciences)
- Proposed selection strategy of an appropriate surrogate matrix for the successful quantitation of targeted endogenous substances, based on discussions by a Japan Bioanalysis Forum discussion group (DG2015-15) -Akira WAKAMATSU (GlaxoSmithKline)
- Clinical biomarker assay platform for drug development -Takashi MIYAYAMA (Chugai Pharmaceutical)
- Case study of the analytical validation of biomarker assay using immunoassay platform in non-clinical and clinical studies - Akihide TSUJIMOTO (Mitsubishi Tanabe Pharma)

-Panel Discussion-

Panelists: Yoshiro SAITO (National Institute of Health Sciences)
Akira WAKAMATSU (GlaxoSmithKline)
Takashi MIYAYAMA (Chugai Pharmaceutical)
Akihide TSUJIMOTO (Mitsubishi Tanabe Pharma)
Hisao SHIMIZU (Takeda Pharmaceutical)
Toshihiro OGUMA (Daiichi Sankyo)

Day 2: Wednesday, 13th Feb.

9:00-10:10 AM Hot Topics in Bioanalysis of Antibody Drug

Chairs: Jun HOSOGI (Kyowa Hakko Kirin)
Takahiro NAKAMURA (Shin Nippon Biomedical Laboratories)

- Challenges and opportunities in developing a sound bioanalytical strategy for PK assessment of antibody drug conjugate therapeutic -Boris GOROVITS (Pfizer)
 - Technical challenges for the quantitation of total and free therapeutic antibodies -Ichio ONAMI (Chugai Pharmaceutical)
 - Achievement of the anti-drug antibody assays in the Chugai's antibody drug development over the last decade and current perspectives -Kazuhiro MIYA (Chugai Pharmaceutical)
- (This presentation is moved to 'Technologies Supporting Bioanalysis' session at 11:20 on Day 3 [501/502])

10:15-11:15 Sponsored Seminar

- A (303): BioAgilytix

10:45-11:45 Future of Bioanalysis Part II

Chair: Yoshiaki OHTSU (Astellas Pharma)
Masaaki KAKEHI (Takeda Pharmaceutical)

- Challenges for the 21st Century Bioanalyst - Philip TIMMERMAN (EBF)
- Future of bioanalysis -Yoshiaki OHTSU (JBF / Astellas Pharma)

12:00-13:00 Luncheon Seminar

- A (303): SCIEX
- B (304): Sumika Chemical Analysis Service
- C (311+312): Waters

13:15-15:15 [JBF-JSSX Joint Session]

Utilizing Endogenous Biomarkers for Drug-drug Interaction Evaluation and its Bioanalytical Method Validation.

Chairs: Kosuke SAITO (National Institute of Health Sciences)
Junji KOMABA (Ono Pharmaceutical)

- Assessment of drug-drug interaction risks using endogenous substrates of drug transporters - Hiroyuki KUSUHARA (University of Tokyo)
- Evaluation of CYP3A activity in patients with kidney failure using endogenous substances - Yosuke SUZUKI (Meiji Pharmaceutical University)
- Bioanalysis of endogenous biomarkers for transporters-mediated DDI evaluation – method development, validation and implementation consideration -Jianing ZENG (Bristol-Myers Squibb)
- Development and validation of an LC-MS/MS method for determination of biomarker of CYP3A activity -Yuri TAKEDA (Shionogi Pharmaceutical)

-Panel Discussion-

15:15-16:00 Update of ICH M10 and FDA Guidance

Chair: Masanari MABUCHI (Mitsubishi Tanabe Pharma)

- ICH M10 and FDA 2018 BMV Guideline: Feedback from the EBF - Stephen WHITE (Bristol-Myers Squibb)

15:45-17:00 Poster Presentation by JBF DGs / Public Offering Speakers (Part I) [301/302]

- DG2018-35 Giving consideration to accuracy and precision criteria (2)
- DG2018-36 Quantitative analysis of oligonucleotide therapeutics by LC-MS
- DG2018-37 Automated sample preparation in LC-MS bioanalysis
- DG2018-38 Parallelism in ligand binding assay
- DG2018-39 Failure & trouble cases and their solutions of LBA

Also 33 public offering presentations are nominated.

- 17:15-18:15 Keynote Lecture**
“New Horizon of Drug Discovery and Development: Quantitative Proteotyping accelerated by reliable Peptide Search (rPS) engine” -Tetsuya TERASAKI (Tohoku University)
 Chair: Yoshiro SAITO (National Institute of Health Sciences)
- 18:30-20:30 Banquet [503]**

Day 3: Thursday, 14th Feb.

09:00-10:15 AM Poster Presentation by JBF DGs / Public Offering Speakers (Part II) [301/302]

Same program as Part I on Day 2

10:30-11:45 Technologies Supporting Bioanalysis [Parallel Session]

‘Bioanalysis of Macromolecular Drugs by LC/MS’ [501/502]

Chairs: Takeru YAMAGUCHI (Sumika Chemical Analysis Service)
 Naoaki MURAO (Chugai Pharmaceutical)

- Development of bioanalytical method for antisense therapeutics and challenge on its standardization -Yuchen SUN (National Institute of Health Sciences)
- Hybrid immunoaffinity LC-MS/MS pharmacokinetic assays in the development of biologic protein drugs -Surinder KAUR (Genentech)
- **Hot Topics in Bioanalysis of Antibody Drug** (continued): Achievement of the anti-drug antibody assays in the Chugai’s antibody drug development over the last decade and current perspectives -Kazuhiro MIYA (Chugai Pharmaceutical)

‘Advanced Technology of Bioanalysis in Drug Discovery Stage’ [303/304]

Chairs: Hiroshi KAMIMORI (Shionogi)
 Makoto TAKAHASHI (Daiichi Sankyo)

- Early phase ADME evaluation using high-resolution mass spectrometer -Junya KATO (Ono Pharmaceutical)
- Quantification of nucleic acid molecule by enzyme-linked oligosorbent assay (ELOSA) - Yosuke KOTANI (Shin Nippon Biomedical Laboratories)
- Simple quantitative imaging mass spectrometry for drug distribution analysis in tissues -Yukari TANAKA (Shionogi Pharmaceutical)

12:00-13:00 Luncheon Seminar

- A (303): Thermo Fisher Scientific
- B (304): Agilent Technologies
- C (311+312): ELGA LabWater

13:15-16:45 Synergy with Surrounding Scientific Areas [Parallel Session]

1. [Collabo Session with Clinical Pharmacology] [501/502]

‘Collaboration in Early Clinical Trial’

Chairs: Masanari MABUCHI (Mitsubishi Tanabe Pharma)
 Tomoko ARAKAWA (Pfizer R&D Japan)

- Leverage of Bioanalysis in Early Clinical Trials -Yuji KUMAGAI (Kitasato University)

-Panel Discussion-

Panelists: Yuji KUMAGAI (Kitasato University)
 Shin IRIE (SOUSEIKAI)
 Hinako UCHIMARU (SOUSEIKAI)
 Masaaki KAKEHI (Takeda Pharmaceutical)
 Yosuke KAWAI (Otsuka Pharmaceutical)

2. [Collabo Session with JSQA] [303/304]

‘Proposal of Electronic Operation of Raw Data using LC-MS/MS as a Theme -from the Perspective of Data Integrity-’

Chair: Takahiro NAKAMURA (Shin Nippon Biomedical Laboratories)

- Practical operation of equipment and system in a GLP Laboratory (the main focus on LC-MS/MS) -Yoshihisa KUSAKAWA (CMIC Pharma Science)
- Point of view to assure the analytical data -Misae ITO (Chugai Pharmaceutical)

3. [Collabo Session with Toxicity evaluation] [501/502]

‘Practicing Microsampling’

Chairs: Akio KOBAYASHI (Japan Tobacco)
Keiko NAKAI (LSI Medience)

- Commentary on the ICH S3 Q&A document -Jihei NISHIMURA (Pharmaceuticals and Medical Devices Agency)
- Status of microsampling application in foreign countries/region -Yoshiro SAITO (National Institute of Health Sciences)
- Toxicity evaluation and TK -time course sampling and sparse sampling -Hirohiko OHTSUKA (Axcelead Drug Discovery Partners)
- Toxicity evaluation and TK -blood sampling site and device -Yui AKAGAWA (LSI Medience)

-Panel Discussion-

Panelists: Jihei NISHIMURA (Pharmaceuticals and Medical Devices Agency)
Yoshiro SAITO (National Institute of Health Sciences)
Hirohiko OHTSUKA (Axcelead Drug Discovery Partners)
Norimichi HATTORI (Ajinomoto)
Atsushi IWAI (LSI Medience)

16:45-17:00 Closing remarks - Jun HOSOGI (The 11th JBF Symposium Chair, Kyowa Hakko Kirin)

水道直結型超純水装置

PURELAB® flex 5

**超純水の連続供給可能
分析装置の1ヶ月連続運転も可能**

- ・ 分析装置にダイレクトに超純水を供給できます
- ・ ダイレクト給水で水質劣化を防止
- ・ ダイレクト給水で継ぎ足し作業不要



ELGA VEOLIA

**ELGA の
純水・超純水装置
続々新発売**

ヴェオリア・ジェネッツ株式会社
エルガ・ラボウォーター事業部
〒108-0022 東京都港区海岸 3-20-20 ヨコソーレインボータワー
e-mail: elgajp@veoliawater.com

<http://www.elgalabwater.com>

ELGAは Veolia Water のラボラトリー用水の国際ブランド名です。PURELABは ELGA LabWater の登録商標です。【禁無断転載・複写】



ELGAのサイトを
ぜひご覧ください

Registration

Registration fee

Participant type		ADVANCE REGISTRATION (on or before Jan. 23, 2019 JST)	On the day of Symposium (cash only)
Symposium	Company participant	JPY 20,000	JPY 25,000
	Student, Academic or Agency participant	JPY 7,000	JPY 7,000
Banquet	Symposium participant	JPY 3,000	JPY 10,000
	Banquet only	JPY 8,000	JPY 10,000

The registration fee for Symposium does not cover a banquet ticket on Feb 13 evening. Registration for banquet is necessary. Please settle your payment within 14 days after your application and by Jan 31, 2019.

Note

- The program might be changed without prior notice due to the circumstances of the speaker.
- Unauthorized recording (audio, video, still photography, etc.) of presentations during sessions and posters without consent of JBF and individual authors is strictly prohibited.
- JBF steering committee will take photographs during the Symposium. The photographs might be put on the JBF website.
- The conference official languages are Japanese and English. Translation service for English to/from Japanese will be provided as follows,

Day 2: All oral presentation in 501/502 except for Keynote lecture

Day 3: Morning oral presentation in 501/502

JBF will lend receivers only to the participants registered in advance and the guest speakers at the reception. So please register in advance when a receiver is needed. You can use receivers from 8:30 am to 5:00 pm on Day 2 and from 9:00 am to 0:30 pm on Day 3. You must return receivers to the reception after oral presentation on each of Day 2 and Day 3. Please make sure that you will have to pay the compensation expense, JPY 39,960 (with tax), if you broke or lost the receiver.

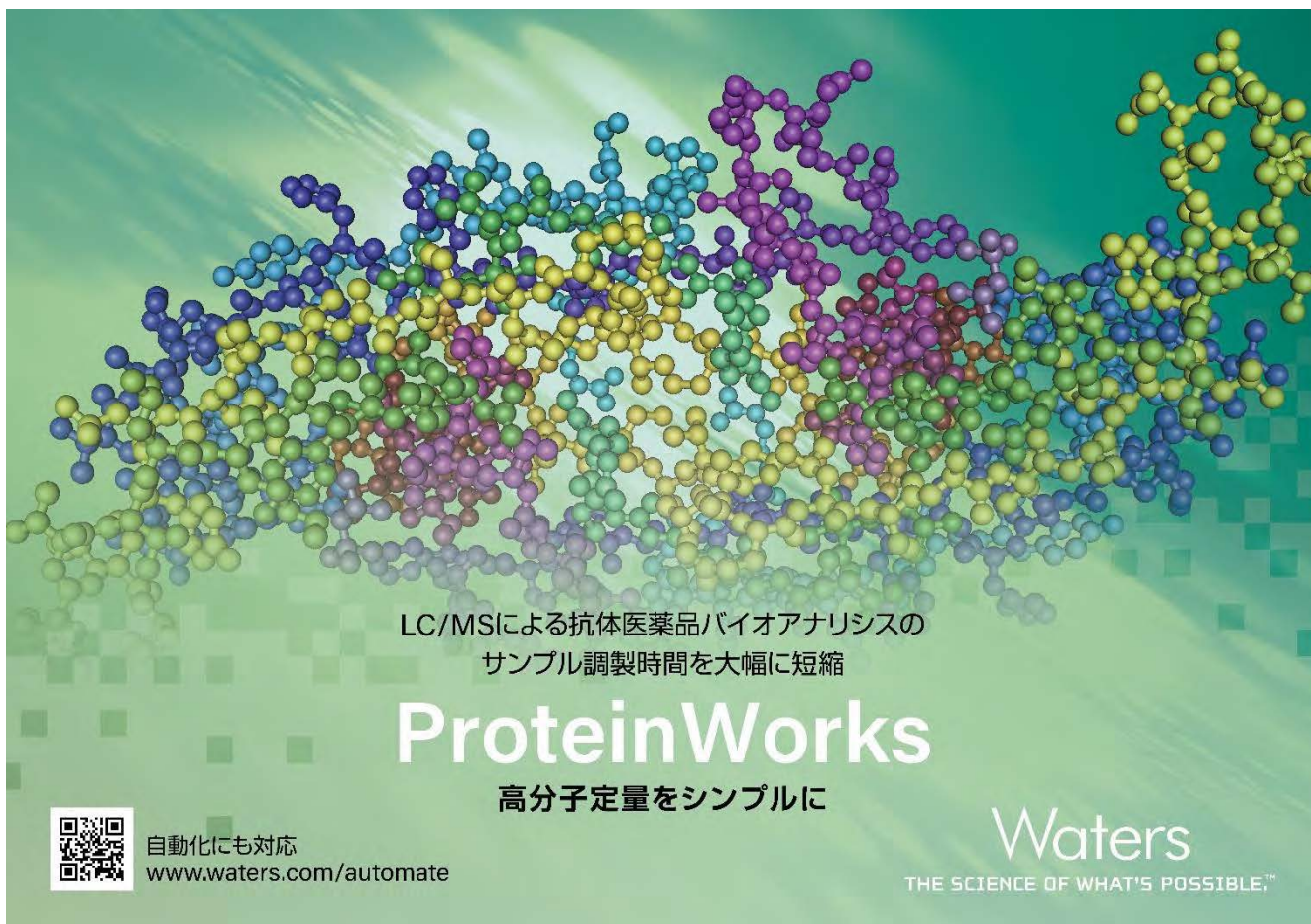
- Reception desk is open at foyer on 3F at the following time. Please be careful about the reception time.

Day 1: 11:30 to 18:00

Day 2: 8:40 to 18:00

Day 3: 8:40 to 16:00

- Tickets for the luncheon seminars will be provided at foyer on 3F as follows;
Day 2: 8:40 to 11:00
Day 3: 8:40 to 11:00
- Cloak will be available at foyer at 3F. JBF cannot keep any valuables and will not bear full responsibility for damage or loss of valuables.
Open time on Day 1: 11:30 to 19:00
Open time on Day 2: 8:40 to 19:00
Open time on Day 3: 8:40 to 17:30
- Poster and booth viewing are available at 301/302 at the following time.
Day 1: 13:00 to 18:30
Day 2: 8:45 to 18:30 (Poster presentation: 15:50 to 16:20 (odd number) and 16:30 to 17:00 (even number))
Day 3: 8:45 to 10:30 (Poster presentation: 9:05 to 9:35 (odd number) and 9:45 to 10:15 (even number))
- JBF will provide free drinks and snacks in the poster presentation area on 3F at the following time.
Day 1: 15:30 (coffee services)
Day 2: 16:00 (coffee services)
Day 3: 9:00 (water services)
- Free Wi-Fi is available at the venue (SSID: FREE-PACIFICO, No password). Please take care that your connection might be difficult if there are many accesses.
- The program will be occasionally updated on JBF website. Check the website: <http://bioanalysisforum.jp/en>



LC/MSによる抗体医薬品バイオアナリシスの
サンプル調製時間を大幅に短縮

ProteinWorks

高分子定量をシンプルに

自動化にも対応
www.waters.com/automate

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Time schedule

Day 1: February 12th

	501/502	301/302
10:00	10:00-11:30 Basic course -LC/MS -LBA	
10:30		
11:00		
11:30		11:30- Registration
12:00		
12:30	12:30 Opening	
13:00	12:45-14:15 Future of bioanalysis (1)	13:00-18:30 Poster viewing / Booth
13:30		
14:00		
14:30	14:30-15:30 Special lecture	
15:00		15:30 Coffee service
15:30		
16:00		
16:30	16:30-18:30 Validation for biomarkers	
17:00		
17:30		
18:00		
18:30		

切り取って葉としてお使いください

Japan Bioanalysis Forum



Day 2: February 13th

	501/502	503	301/302	303	304, 311/312
8:30					
9:00			8:45- Poster viewing / Booth		
9:30	9:00-10:10 Bioanalysis of antibody drug [E/J translation]				
10:00					
10:30				10:15-11:15 Sponsored Seminar	
11:00	10:45-11:45 Future of bioanalysis (2) [E/J translation]				
11:30					
12:00				12:00-13:00 Luncheon	12:00-13:00 Luncheon
12:30					
13:00					
13:30	13:15-15:15 JBF-JSSX Joint Session [E/J translation]				
14:00					
14:30					
15:00					
15:30	15:15-16:00 ICH M10 & FDA guidance [E/J translation]				
16:00			15:50-17:00 Poster presentation 16:00 Coffee service		
16:30					
17:00					
17:30	17:15-18:15 Keynote lecture		18:30- Poster viewing / Booth		
18:00					
18:30		18:30-20:30 Banquet			
19:00					
19:30					
20:30					



切り取って葉としてお使いください

Day 3: February 14th

	501/502	301/302	304	303	311/312
8:30					
9:00		8:45- Poster viewing / Booth 9:05-10:15 Poster presentation 9:30 Water service			
9:30					
10:00					
10:30					
10:30-11:45	Large molecule by LC/MS [E/J translation]		10:30-11:45 Advanced technology	10:30-11:45 Advanced technology (Satellite venue)	
11:00					
11:30					
12:00					
12:30			12:00-13:00 Luncheon	12:00-13:00 Luncheon	12:00-13:00 Luncheon
13:00					
13:30	13:15-14:30 Collabo Session with Clinical Pharmacology		13:15-14:15 Collabo Session with JSQA	13:15-14:15 Collabo Session with JSQA (Satellite venue)	
14:00					
14:30					
15:00	14:45-16:45 Collabo Session with Toxicity Evaluation				
15:30					
16:00					
16:30					
17:00	16:45-17:00 Closing				

切り取って葉としてお使いください

Japan Bioanalysis Forum



基調講演 演者のご紹介

寺崎 哲也

東北大学大学院薬学研究科薬物送達学分野

Tetsuya Terasaki

Tohoku University, Graduate School of Pharmaceutical Sciences

Biography:

Dr. Tetsuya Terasaki is currently one of seven University Distinguished Professors in Tohoku University. He received his B.S. degree in Pharmacy from Kanazawa University in 1977 and Ph.D. degree in Biopharmacy from University of Tokyo in 1982. He started his academic career in 1982 as an Assistant Professor of Kanazawa University and was appointed Associate Professor of Kanazawa University in 1990, Associate Professor of University of Tokyo in 1992, Professor of Tohoku University in 1996 and the University Distinguished Professor of Tohoku University in 2008. He received the Best Paper Award three times, *i.e.*, the Ebert Prize from American Pharmaceutical Association in 1985, the Meritorious Manuscript Award from American Association of Pharmaceutical Scientists in 1996 and 2010. He also received the Research Achievement Award in Japan three times from The Academy of Pharmaceutical Science and Technology, Japan (APSTJ) in 2007, The Japanese Society of Study for Xenobiotics (JSSX) in 2007, and The Pharmaceutical Society of Japan (PSJ) in 2014. He has been serving as the Editor of *J. Pharm. Sci.* and the Handling Editor of *J. Neurochem.*, together with the member of Editorial Board for *J. Drug Target.*, *Adv. Drug Del. Rev.*, *Biopharm. Drug Dispos.*, and the Honorary Advisor of *Fluids and Barriers of the CNS*. His major research interests are the molecular pharmacology of blood-brain barrier and tumor, quantitative targeted absolute proteomics based analysis of transporter/enzyme/receptor/channel function and its application for personalized medicine, advanced quantitative proteomics based biomarker discovery and its clinical application. He published extensively in journals, over 300 research articles and 71 review articles and contributed chapters to over 52 books. The average citations per article are 40.60, the h-index is 61, and 24 papers have been cited more than 100 times (Researcher ID: K-6730-2012). Scopus analysis selected 7 articles as top 1% article and 64 articles as 10%. Based on the frequency of citation, he has been selected as a “Highly Cited Researcher 2016” in Pharmacology & Toxicology by Clarivate Analytics (formerly Thomson Reuters). In April 2013, he received the Medal of Honor with Purple Ribbon, bestowed by the Government of Japan to the most highly honored scientists. In 2014, he co-chaired the organizing committee for the JSSX-ISSX NA joint meeting in San Francisco with Professor Eric Johnson. He is the recipient of the 2018 ISSX Asia Pacific Scientific Achievement Award.

Relating information

1. Laboratory in Tohoku University
<http://www.pharm.tohoku.ac.jp/~soutatsu/dds/>
2. Interview about his research “Top Researchers”
<http://top-researchers.com/?p=1106>
3. Scopus Author ID: 7102734642



創薬科学の新地平:

ペプチド検索エンジンを用いた定量的プロテオタイピング

(東北大学大学院薬学研究科薬物送達学分野)

○寺崎 哲也

New Horizon of Drug Discovery and Development: Quantitative Proteotyping accelerated by reliable Peptide Search (rPS) engine

Tetsuya Terasaki

Membrane Transport and Drug Targeting Laboratory,

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Tohoku University

生体機能の最小単位はタンパク質であり、細胞のタンパク質の約 60%が複合体を形成し、その形成は細胞周期依存的であると言われており、単一タンパク質に焦点を絞った創薬研究には限界がある。疾患との関連の可能性のあるタンパク質の一群を網羅的に定量的に解析する Proteotyping によって創薬標的を絞り込むことが、この課題を解決する合理的戦略である。

汎用されている Data Dependent Acquisition (DDA) mode による Shotgun 法は、再現性・網羅性・定量性・感度において劣ることから微量タンパク質の網羅的定量的探索研究には限界がある。一方、Selective Reaction Monitoring (SRM) mode による標的絶対定量法は、再現性・定量性・感度において優れているが、網羅性に欠ける。これに対して私達は質量分析で信頼性の高い結果が期待できるペプチド配列をアミノ酸配列に基づいて検索する検索エンジン(reliable Peptide Search (rPS) engine)を開発し、標的定量プロテオミクスに活用してきた¹⁾。この検索エンジンを用いると定量対象ペプチド配列の選択に定量対象タンパク質が不要であることから研究期間も大幅に短縮可能である。修飾体を含めると 100 万種類とも言われる膨大なタンパク質の網羅的探索には、Aebersold らが開発した Data Independent Acquisition (DIA) mode による SWATH-MS 法²⁾が再現性、網羅性、定量性に優れている。しかし、その解析結果は database の網羅性と信頼性に依存しており、高い信頼性を保持しながら如何にして偽陽性を排除するかは大きな課題であった。これに対して私達は検索エンジン rPS を用いてこの偽陽性ペプチドを排除する advanced SWATH-MS 法を開発した。この方法の確立によって Global プロテオミクスの信頼性を向上させ、絞り込み研究期間の短縮も実現するものと考えられる(Fig)。

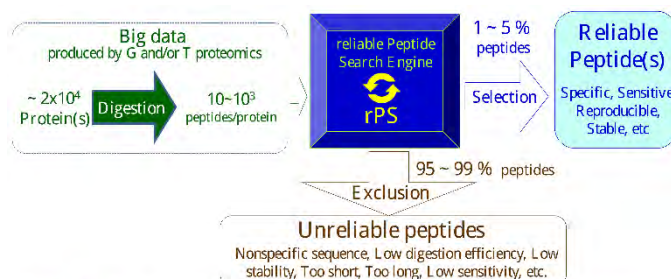


Fig. rPS engine accelerates Global (G) and Targeted (T) proteomics

本講演では、SRM, Advanced SWATH-MS 法を用いたタンパク質の発現量の定量的 Proteotyping 研究の実施例として、in vitro model の validation、輸送担体の動物種差、ヒト化動物の validation、バイオマーカー候補の探索、などを紹介する。

【引用】 1. *Pharm. Res.*, 25: 1469-1483 (2008). 2. *Mol. Cell. Proteomics*, 11: O111.016717 (2012).

For the rational drug discovery and development, one of the most promising strategies will be quantitative proteotyping which govern phenotyping. SWATH-MS analysis developed by Aebersold¹⁾ is a useful method to perform global proteomics, while the question is how to exclude the false positive data. We have developed a method to select appropriate/reliable peptides in the LC-MS/MS analysis based on the peptide sequence²⁾, and named reliable Peptide Search (rPS) engine. Combination of SWATH-MS and rPS will accelerate proteotyping research in the global (G) and targeted (T) proteomics, which will facilitate the drug discovery and development (Fig.).

特別講演 演者のご紹介

馬場 健史

九州大学生体防御医学研究所

Takeshi Bamba

Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University

Biography:

Dr. Takeshi Bamba is a professor at Division of Metabolomics, Research Center for Transomics Medicine, Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University, Japan. He has completed his Ph.D. from Osaka University. His laboratory focuses on the development of various metabolomics technologies such as sample preparation, instrument analysis and data mining, and their application researches in various fields. He has published more than 200 articles in scientific journals/books.

略歴:

- 1994 年 3 月 岡山大学農学部総合農業科学科卒業
- 1996 年 3 月 岡山大学大学院農学研究科修士課程修了
- 4 月 株式会社日本生物科学研究所 研究員
- 1997 年 5 月 株式会社 JBDL 主任研究員
- 2001 年 3 月 大阪大学大学院工学研究科博士後期課程単位取得退学
- 4 月 日立造船株式会社 主任研究員(NEDO プロジェクト博士研究員)
- 11 月 大阪大学大学院工学研究科学位(工学博士)取得
- 2006 年 4 月 大阪大学大学院薬学研究科 助手(2007 年 同助教)
- 2008 年 4 月 大阪大学大学院工学研究科 准教授
- 2015 年 3 月 九州大学 生体防御医学研究所 教授
(兼任:大阪大学大学院工学研究科 特任教授, 2015 年 4 月より同招へい教授)
- 2017 年 4 月 九州大学 生体防御医学研究所 附属トランスオミクス医学研究センター長

専門分野・研究テーマ:

メタボロミクス, 超臨界流体工学



メタボローム分析の最新動向と今後の課題

(九州大学生体防御医学研究所)

○馬場 健史

Recent trends and future challenges of metabolome analysis

Takeshi Bamba

Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University

Metabolomics (metabolome analysis), a field of research aimed at the comprehensive analysis of whole metabolites in a living cell, is currently attracting substantial attention as an effective approach to high-resolution biochemical phenotyping. This is because metabolomics can be used not only to identify simple metabolic variations but also to detect almost imperceptible changes in the living body (which would be difficult to recognize as a common phenotype), by simultaneous expression based on the relative proportions of multiple metabolites.

Lately, several analytical techniques for metabolomics have been developed and they have been applied in various fields, such as medicine, food, and the environment. Although metabolomics is a useful approach to high-resolution biochemical phenotyping, it is not easy to implement, owing to its complex, interdisciplinary nature. Metabolomics is based on bioscience, analytical chemistry, and informatics, and this interlinking of the three fields is indispensable for obtaining high-quality results. However, metabolomics suffers from remaining problems, such as reproducibility and inefficiency (resulting from sample preparation, analytical instrument conditions, and data-processing methods), because of the poor understanding of how these three subject fields are linked. Additionally, metabolomics is mainly performed using three processes: sample preparation, instrumental analysis, and data mining, and the metabolomics technologies related to these processes are specific and very complicated. Therefore, metabolomics technologies are not easily correctly understood and properly operated by everyone. This is the main reason why metabolomics has not been generalized for a long time.

Many researchers, including our group, have been working on the development of various metabolomics technologies for more than 10 years. So far, various metabolomics methods have been constructed by using analytical platforms such as NMR, GC/MS, CE/MS, LC/MS, and SFC/MS. However, there remains room for improvement in the coverage of metabolites, quantitative performance, reproducibility, differences between experimental errors in different batches, etc. Additionally, it is necessary to develop a dynamic analysis system, because most metabolomics methods provide snapshots and cannot provide information about dynamic changes. Therefore, further improvements in analytical and data-mining techniques are needed to develop a more general and global approach to metabolomics.

In this session, I will introduce current metabolomics technologies and I will also discuss important technology that is essential for next-generation metabolomics.

海外演者のご紹介

Boris Gorovits

Pfizer Inc
Andover MA, USA

Biography:

Boris Gorovits is a Senior Director of the Bioanalytical lab at Pfizer. Boris earned Ph.D. in Enzymology from the Moscow State University and later completed postdoctoral research studies in Protein biophysics at the Medical Center, U of Texas at San Antonio, TX. In 2000 Boris joined Wyeth Research (later Pfizer Inc) to work as a bioanalytical group lead with a growing scope of responsibilities. Currently he leads the Bioanalytical group within Biomedicine Design department which is responsible for many aspects of the Regulated and Non-Regulated Bioanalytical support for the pan-Pfizer Biotherapeutic portfolio. Boris co-chairs Pfizer internal Immunogenicity Expert Working Group which is responsible for review of the biotherapeutic immunogenicity risk assessment and mitigation strategies.

Externally, Boris authored 50+ manuscripts and book chapters, is a frequent presenter at various conferences, is a past Chair for the AAPS BIOTEC section. Boris lead Biotherapeutic Bioanalysis track for the AAPS PS360 2018 meeting. Recently Boris has been actively involved in industry discussions around bioanalytical support for Antibody Drug Conjugates, evaluation of anti-drug antibody responses to various biotherapeutic modalities and evaluation of pre-existing anti-drug antibody reactivity.

Philip Timmerman

European Bioanalysis Forum
Belgium

Biography:

Philip started his career in bioanalysis at Janssen (1984) taking up increasing scientific/managerial responsibilities in Bioanalysis, Preclinical department and the (discovery/early development) project axis.

From 2000-2010, as EU head of Bioanalysis, he and his team provided bioanalytical support for all phases of clinical and non-clinical development, including discovery.

From 2010 onwards, Philip took a global expert role in Bioanalysis with focus on scientific and regulatory issue resolution, interactions with health authorities and building an external network of business experts to stimulate harmonization. In 2013, he added the role of global head of compliance.

External to his Janssen responsibility, Philip was co-founder of the European Bioanalysis Forum vzw (EBF, 2006), of which he is the current chairman and member of the Board of Directors. He is also co-founder of the Global Bioanalysis Consortium (GBC, 2010), with similar responsibilities. Philip was closely involved in helping the early JBF, providing the Japanese bioanalytical community insights and learnings from how the EBF operated.

In 2017, Philip accepted the role of Chairman of the EBF non-profit. In this new role, Philip has resigned from his Janssen R&D responsibilities to dedicate his time exclusively to the EBF. In his role as chairman, he will add additional responsibilities and further develop the EBF to increase the value for our industry. This includes strengthening the internal activities within the EBF community and building or growing existing or new external partnerships with other industry based non-profit organizations in support of the EBF mission. Philip is also member of the ICH M10 Expert Working Group, representing EFPIA.

During his career, Philip authored or co-authored 80+ peer reviewed publications, several book chapters and was involved in organising or presenting over 100 international symposia or scientific workshops.

Jianing Zeng

Bristol-Myers Squibb Company
Princeton, New Jersey, United States

Biography:

Dr. Jianing Zeng is an associate director in the Bioanalytical Sciences-Translational Medicine Department at Bristol-Myers Squibb (BMS) Company. Her group focuses on developing, validating and outsourcing bioanalytical methods to quantify biomarkers using LC-MS and ligand binding-based techniques to support all clinical biomarker programs. Her group has made significant contributions to the development of very sensitive and robust bioanalytical assays to quantify endogenous biomarkers for enzyme and transporter-mediated DDI evaluation in the clinical studies. Prior to this, she had worked at BMS for more than 20 years in regulated LC-MS bioanalysis for TK and PK evaluation in support of both small and large molecule drug development programs. She applied state-of-art sample preparation and LC-MS technologies in the assessment of biomarkers, PK and immunogenicity, with multiple successful regulatory filings and publications. She also applied LC-MS technologies for the protein bioanalysis and used either HRMS or triple quadrupole mass spectrometry to support micro dosing absolute BA studies with stable isotope labeled materials. Prior to BMS, she worked for the Liposome Company and Roche Biomedical Laboratories where she provided analytical support for drug product/process as well as bioanalytical support. She received her PhD from Chinese Academy of Sciences and followed by a postdoctoral fellowship in the Barnett Institute at Northeastern University where she worked in Dr. Ira Krull's lab.

Stephen White

GlaxoSmithKline
United Kingdom

Biography:

Steve started his career as an analytical chemist in 1986 and has a wide range of knowledge and experience across multiple disciplines including pharmaceuticals, foodstuffs, environmental and forensic analysis.

Since 1997, Steve has worked in the regulated bioanalytical group at GlaxoSmithKline, taking roles of increasing responsibility to support studies in all phases of drug development, from discovery through to post-marketing. This has included leadership of bioanalytical, dose formulation, sample management and Accelerator Mass Spectrometry (AMS) activities, as well as contributing to the set-up of the Anti-Doping Testing Lab for the London 2012 Olympics. In his current role, Steve leads a team of bioanalytical scientists and also has cross-line responsibilities to ensure and maintain regulatory compliance of analytical processes and procedures.

In addition, Steve is GSK's small molecule representative within the European Bioanalysis Forum (EBF) and has been a member of the EBF Steering Committee since 2012, working with all members to define and deliver on internal EBF activities and to build external partnerships with other industry based non-profit organizations in support of the EBF mission.

More recently, Steve has had the opportunity to join the EFPIA ICH M10 sub-team providing industry input and feedback to the EFPIA ICH M10 Expert Working Group Representatives.

Steve has authored or co-authored 30+ peer reviewed publications and has been involved in co-organizing, presenting or chairing sessions at multiple international meetings or workshops.

Surinder Kaur, Ph.D.

Genentech, a Member of the Roche Group
California, USA

Biography:

Dr. Surinder Kaur is a Director in BioAnalytical Sciences at Genentech/Roche in South San Francisco, California. She has twenty plus years of biotechnology experience across diverse large molecule and small molecule bioanalysis and CMC analytical, with 20+ successful regulatory filings in oncology and infectious diseases and 50+ patents and publications. She received her B. Sc. (Hons) from Durham University, England and Ph. D. from Bristol University, England. Dr. Kaur conducted post-doctoral research at the University of California, San Francisco. Dr. Kaur established the first mass spectrometry core laboratory for large and small molecules in Research and CMC at Chiron Corporation (now Novartis), Emeryville, California. In 2004 she joined Genentech to establish the first multi-disciplinary LBA and LC-MS bioanalytical group in the industry. She leads ~20 scientists and research associates to develop bioanalytical, biotransformation and immunogenicity strategies for oncology and ocular programs in nonclinical and clinical development and post-marketing. This includes antibody-drug conjugates (ADCs); Dr. Kaur was a key contributor to the KadcylaTM filing. Dr. Kaur's group is responsible for bioanalytical strategies and assay development/validation for ADCs, including pharmacokinetic assays, immunogenicity assessment and metabolism/catabolism strategies. She is also responsible for a mass spectrometry core facility to establish innovative approaches for biotherapeutics development and established immunoaffinity LC-MS/MS as the key strategy for nonclinical PK assays in Genentech IND filings across all therapeutic areas. She was a cross-functional Pharmacology Team Leader for ten years for onartuzumab, a large oncology program spanning nonclinical development to pivotal Ph III trials in multiple indications.

共催・コラボセッション演者のご紹介

楠原 洋之

東京大学大学院薬学系研究科

Hiroyuki Kusunohara, Ph.D.

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, the University of Tokyo

Biography:

Hiroyuki Kusunohara received his BSc, MSc and PhD (Pharmaceutical Sciences) from the University of Tokyo (Japan). Hiroyuki started his carrier as an academic scientist in The University of Tokyo as Assistant Professor of Pharmaceutical Sciences (1998). He was promoted to Associate Professor (2004) and Professor (2012) of Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo. He is currently professor and chair of Laboratory of Molecular Pharmacokinetics at Graduate School of Pharmaceutical Sciences, The University of Tokyo, Tokyo, Japan. Hiroyuki's major research interest encompass interindividual variability in human drug Disposition, specifically: identification of drug transporters in the tissue distribution, and clearance; pharmacokinetics; modeling and simulation; in vitro-in vivo extrapolation; PK imaging; drug-drug interactions; and metabolomics. He is the author of 180 research papers in these areas.

Hiroyuki has experience as Council and Director in Japanese societies; JSSX Council (2004-present), Director (2014-2017); APSTJ Council (2010-present), Director (2017-present). *Editorial Board membership:* Drug Metabolism & Disposition; Journal of Pharmaceutical Sciences; Biopharmaceutics and Drug Disposition. *Society membership:* ISSX, AAPS, ASPET and Japanese Societies; JSSX, JSCPT, APSTJ, JPS and JSDDS.

鈴木 陽介

明治薬科大学 薬剤情報解析学研究室

Yosuke Suzuki

Department of Medication Use Analysis and Clinical Research,
Meiji Pharmaceutical University

Biography:

【所属・職位】

明治薬科大学薬剤情報解析学研究室・助教

【略歴】

2007 年 3 月 明治薬科大学薬学部薬剤学科卒業
2009 年 3 月 明治薬科大学大学院薬学研究科博士課程前期修了
2009 年 4 月 大分大学医学部附属病院 薬剤師
2012 年 8 月 大分大学医学部附属病院 薬剤主任
2014 年 3 月 博士(薬学)取得(明治薬科大学)
2015 年 4 月 ハイデルベルク大学病院臨床薬理学部門 博士研究員
2016 年 10 月 大分大学医学部附属病院 薬剤主任
2018 年 7 月 明治薬科大学薬剤情報解析学研究室 助教
現在に至る

竹田 友理

塩野義製薬株式会社

Yuri Takeda

Shionogi & Co., Ltd.

Biography:

岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科(薬学系)修士課程修了.

塩野義製薬株式会社に入社, 薬物動態研究に従事.

THE KAITEKI COMPANY 三菱ケミカルホールディングスグループ

次の時代を見すえて

低分子薬
抗体医薬
ペプチド薬
核酸医薬
再生医療

私たちの分析技術で創薬を支えます

One Stop Bioanalysis Services



株式会社LSIメディエンス

第1営業部(非臨床)

[東京] TEL:03-5577-0807

[大阪] TEL:06-6204-8411

第2営業部(治験)

[東京] TEL:03-5577-0814

[大阪] TEL:06-6204-8411

<http://www.medience.co.jp/>

熊谷 雄治

北里大学医学部附属臨床研究センター、北里大学病院

Yuji Kumagai

Kitasato Clinical Research Center, Kitasato University Hospital

Biography:

Dr. Yuji Kumagai is a clinical pharmacologist and he graduated from Medical College of Oita, Oita, Japan. He got training on clinical pharmacology especially in cardiac drugs in Post Graduate School, Medical College of Oita, Oita, Japan. After his several important works in the field of clinical pharmacology and chronobiology, he moved to Kitasato University and concentrated to works in clinical trials. He is now a professor of Clinical Research Center, School of Medicine, Kitasato University and the director of Clinical Trial Center at Kitasato University Hospital.

草川 佳久

日本 QA 研究会 GLP 部会、シミックファーマサイエンス株式会社

Yoshihisa Kusakawa

Japan Society of Quality Assurance GLP Division, CMIC Pharma Science Co., Ltd.

Biography:

- 2003 年 4 月 (株)日本医学臨床検査研究所 バイオアッセイ事業部に入社後、
非臨床試験の試験担当者として従事
- 2005 年 4 月 会社分割により(株)JCL バイオアッセイに移籍
- 2008 年 4 月 同社, 信頼性保証課に異動し, 信頼性保証部門担当者 (GLP/GMP)として
従事
- 2008 年 4 月～現在 日本 QA 研究会 GLP 部会所属 (2016 年 4 月～現在:同第 3 分科会所属)
- 2012 年 4 月 同社, 研究本部に異動し, IT 担当者/IT 管理担当者 (GLP/GMP)として
従事
- 2015 年 10 月～現在 会社合併によりシミックファーマサイエンス(株)に移籍

日本とアメリカで 医薬品開発をサポート

バイオアナリシス事業

- 1) 分析方法の開発 (LC-MS/MS、HPLC、GC-MS、GC、ECL、ELISA)
- 2) 分析法バリデーション
- 3) 生体試料中薬物及びその代謝物濃度分析
臨床試験 (Phase I-III, PMS など)
生物学的同等性試験 (先発医薬品、後発医薬品など)
マイクロドーズ臨床試験
非臨床試験 (TK 試験、ADME 試験など)
- 4) バイオマーカー分析
- 5) オミクス解析 (プロテオミクス・リポドミクス)
- 6) タンパク結合率の測定
- 7) 薬物動態パラメータ解析 (WinNonlin を使用)
- 8) 非臨床試験での投与液濃度分析

バイオ医薬品関連項目

- 1) 抗体医薬品の分析 (ECL 法、ELISA 法、LC-MS/MS 法)
- 2) タンパク質医薬品の定量分析
- 3) 核酸・ペプチド医薬品の定量分析
- 4) バイオ後続品の定量分析
- 5) 抗薬物抗体価の測定



CMIC シミックファーマサイエンス株式会社

お問い合わせ

東京オフィス TEL : (03) 6779-8126
大阪オフィス TEL : (06) 6233-1777
札幌オフィス TEL : (0133) 74-8448

伊藤 美佐江

日本 QA 研究会 GLP 部会、中外製薬株式会社

Misae Ito

Japan Society of Quality Assurance GLP Division,
Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

Biography:

1992 年 4 月 中外製薬(株)安全性研究所に入社後、安全性薬理試験・毒性試験に従事
2006 年 1 月～現在 同社、薬事監査部(現、クオリティ推進部)に異動し、非臨床試験の信頼性
保証業務に従事
2013 年 1 月～現在 日本 QA 研究会 GLP 部会所属(2016 年 4 月～現在:同第 3 分科会所属)

資格: 日本 QA 研究会 GLP-QAP 登録者
IRCA/JRCA certified Quality Management System Auditor

ELISAによるバイオマーカー測定に 革新を!



- 1 史上最高感度のイムノアッセイシステム
- 2 フレキシブルなカスタムアッセイの構築も可能
- 3 マルチプレックス測定にも対応 (6-Plex)
- 4 実験台の上に設置可能

超高感度ベンチトップELISAリーダー SR-X™

バイオアナリシス前のサンプル調整を より簡単に!



- 1 突沸を防ぎながら、多検体を一度に濃縮・乾固
- 2 代謝物の固相/液-液抽出/除タンパク後の溶媒除去に
- 3 LC/MS前の濃度調整・溶媒交換に
- 4 Top Countプレートへのサンプル乾固に

高性能遠心エバポレーター EZ-2 シリーズ

展示ブースC1にお越しください

お問い合わせ先  株式会社スクラム Tel. 03-5625-9711
E-mail webmaster@scrum-net.co.jp

西村 次平

独立行政法人医薬品医療機器総合機構

Jihei Nishimura

Pharmaceuticals and Medical Devices Agency

Biography:

所属

独立行政法人医薬品医療機器総合機構 新薬審査第五部 主任専門員（毒性担当）

資格：

獣医学博士

日本毒性学会認定トキシコロジスト

日本毒性病理学会認定毒性病理学専門家

大塚 博比古

Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社

Hirohiko Ohtsuka

Research Division, Nonclinical Safety Research

Biography:

- 1990 年 富山大学理学部卒業後、武田薬品工業(株)に入社、大阪高槻の薬剤安全性研究所で主に一般毒性試験・がん原性試験に従事
- 1991 年 武田薬品工業(株)薬剤安全性研究所・光支所に異動
- 1997 年 比較眼科学会認定の基礎眼科専門家資格を取得し、眼科領域における各種研究業務に従事
- 2000 年 広島大学医歯薬学総合研究科博士課程後期に入学し、その後ラットにおける視機能の概日リズムに関する研究成果をまとめ 2005 年に博士号を取得
- 2006 年 大阪十三の武田薬品工業(株)薬剤安全性研究所に異動、安全性試験の動物実験部門の責任者を担当
- 2011 年 神奈川県武田薬品工業(株)薬剤安全性研究所に異動
- 2017 年 武田薬品工業(株)を退社し、Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社に入社、安全性試験に加えて薬理試験にも従事、現在に至る

主な発表:

- 1998 年 Circadian Rhythm of the Electroretinogram in Rats, Animal Eye Research
- 2003 年 国内の安全性試験における眼科学的検査法(シンポジウム)比較眼科学会年次大会
- 2004 年 ラット網膜電図の概日リズムに及ぼす視交叉上核破壊の影響 比較眼科学会年次大会
- 2005 年 A Tear Production Assessment by Using Schirmer Tear Test Strips in Mice, Rats and Dogs, Animal Eye Research
- 2014 年 眼科異常を共有するトランスレーショナル手法:ワークショップー実験動物における眼毒性検出ー 日本毒性学会学術年会
- 2015 年 ラット毒性試験における少量採血法を用いた血漿中薬物濃度用サテライト動物の削減 日本毒性学会学術年会
- 2017 年 マイクロサンプリング採血が妊娠ラット及び胎児に及ぼす影響に関する検討, 日本先天異常学会学術集会・日本 DOHaD 学会学術集会
- 2018 年 マウスにおける血漿中薬物濃度測定用の反復マイクロサンプリング採血法の検討 日本毒性学会学術年会 他

赤川 唯

株式会社 L S I メディエンス

Yui Akagawa

LSI Medience Corporation

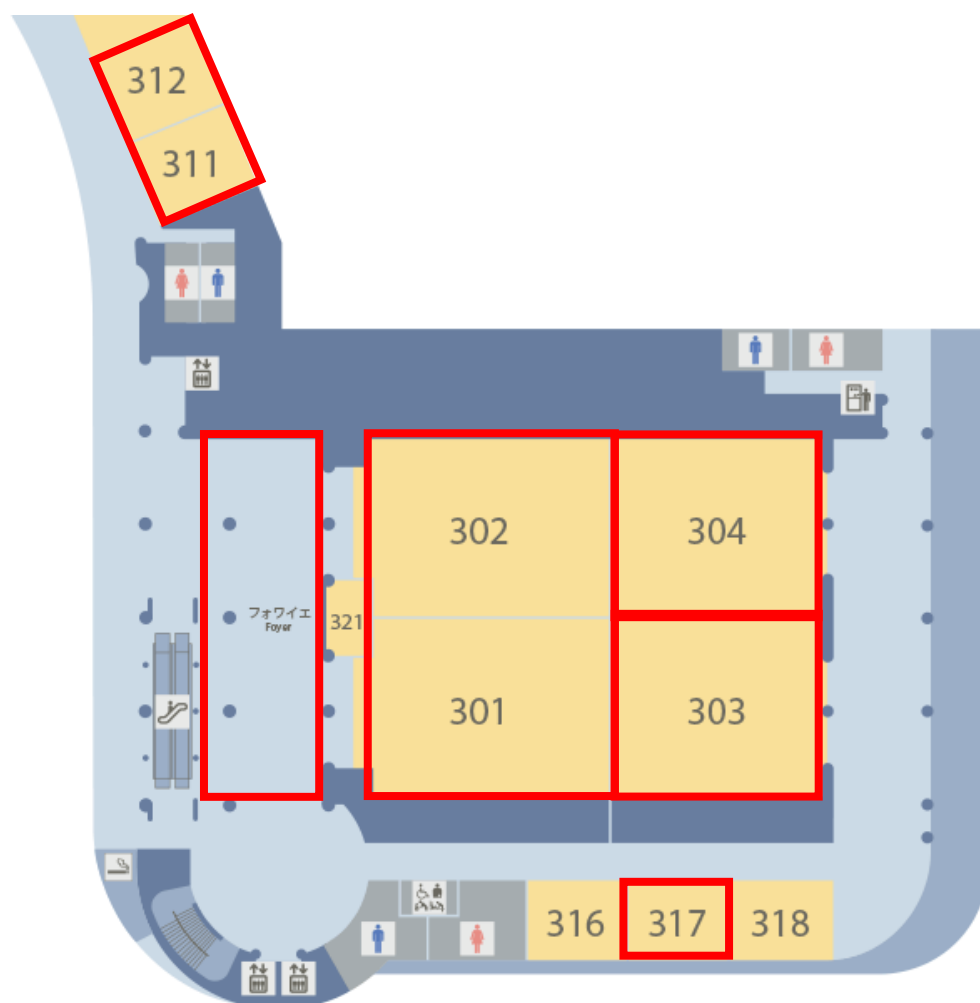
Biography:

- 2013 年 3 月 九州大学大学院薬学研究院薬剤学分野(修士課程)を卒業
- 2013 年 4 月 三菱化学メディエンス(株)(現:(株)LSIメディエンス)に入社
鹿島研究所の安全性研究部で主に一般毒性試験(大動物)に従事
- 2016 年 大動物に加え, 小動物の一般毒性試験にも従事
- 2018 年 日本毒性学会認定トキシコロジストの資格を取得

主な発表:

- 日本毒性学会学術年会(ポスター発表)
- 2014 年 Göttingen 系ミニブタを用いた安全性試験に関する各種背景データー
国内産とデンマーク産の比較ー
- 2015 年 Göttingen 系ミニブタにおける基礎的な免疫反応の特徴
- 2017 年 ラットを用いた尾静脈からのマイクロサンプリング技術の確立と
毒性試験への応用に関する検討
- 2018 年 ラットを用いた反復投与毒性試験における毒性評価及び薬物動態に及ぼす
マイクロサンプリング法の影響

シンポジウム会場：3F



受付・クローク・ランチョンチケット配布：フォワイエ

ポスター／ブース会場：301+302

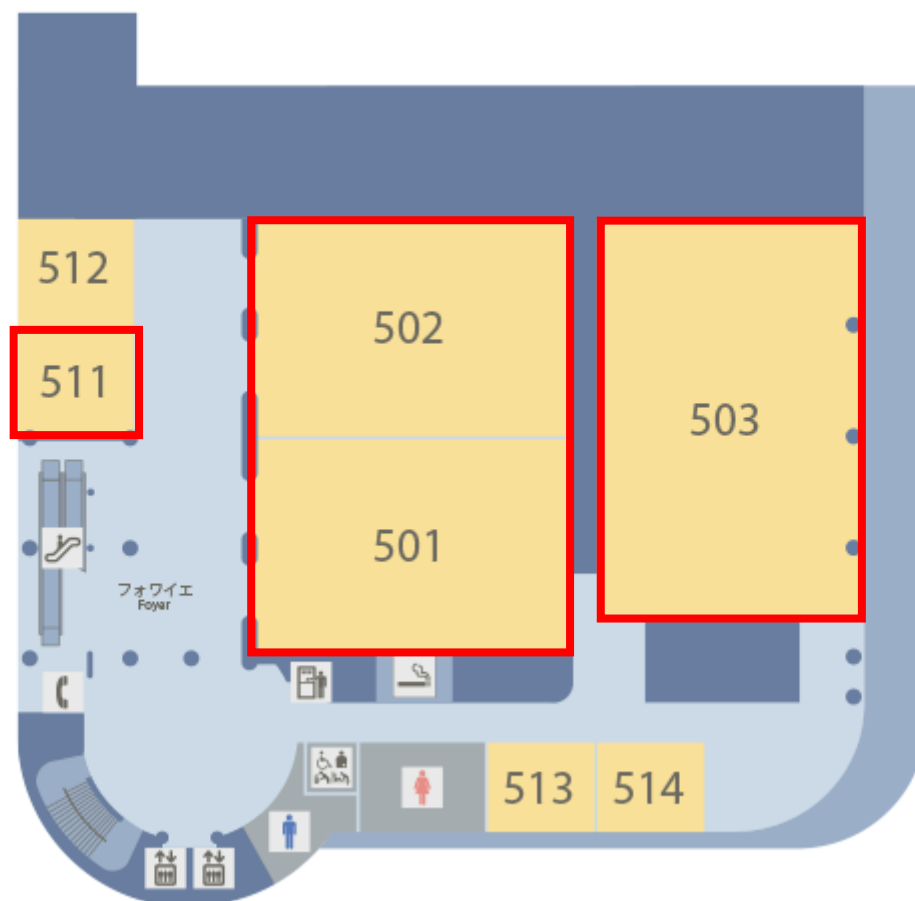
ランチョン会場：303（会場 A）、304（会場 B）、311/312（会場 C）（2 日目、3 日目）

スポンサーセミナー会場：303（2 日目）

口頭発表会場：303/304（3 日目）

ランチョン演者控室：317

シンポジウム会場：5F

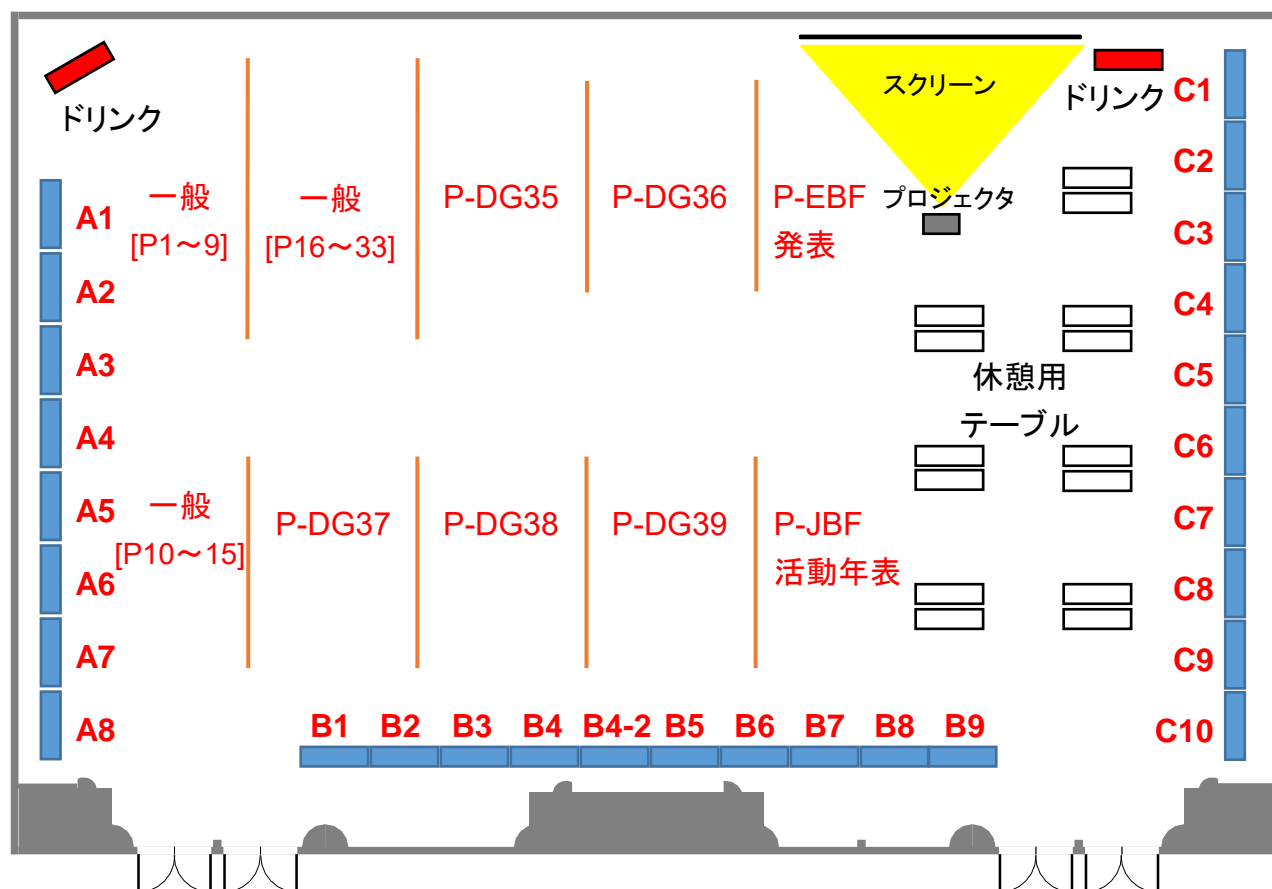


口頭発表メイン会場：501/502

情報交換会会場：503（2日目）

ゲスト控室：511

ポスター及びブース配置図



場所	会社名	場所	会社名	場所	会社名
A1	SCIEX	B1	サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社	C1	株式会社スクラム
A2	日本ウォーターズ株式会社	B2	株式会社新日本科学	C2	株式会社島津テクノリサーチ
A3	アルテア技研株式会社	B3	ユサコ株式会社	C3	積水メディカル株式会社
A4	エムエス機器株式会社	B4	アジレント・テクノロジー株式会社	C4	Myriad RBM, Inc.
A5	シミックファーマサイエンス株式会社	B4-2	モレキュラーデバイスジャパン株式会社	C5	バイオテック株式会社
A6	大塚製薬株式会社	B5	株式会社クロマニックテクノロジーズ	C6	湘南丸八エステック株式会社
A7	ブルカー・ジャパン株式会社	B6	PPC 株式会社	C7	株式会社東レリサーチセンター
A8	株式会社ネモト・サイエンス	B7	ジャイロス・ジャパン株式会社	C8	ジューエルサイエンス株式会社
		B8	エルガ・ラボウォーター	C9	バイオタージ・ジャパン株式会社
		B9	株式会社島津製作所	C10	株式会社住化分析センター

パシフィコ横浜 交通のご案内

〒220-0012 横浜市西区みなとみらい 1-1-1 TEL: 045-221-2155

世界中から、国内各地から良好なアクセス！



都心から 30分
みなとみらい駅から
徒歩 5分

クイーンズスクエア横浜連絡口より、
 B3Fから2Fへお進みください

東京国際空港（羽田）から約 30分
 成田国際空港から約 100分
 新横浜から約 20分
 首都高速横羽線みなとみらいランプより約 2分



羽田空港	京浜急行	約 24分	横浜駅	TAXI タクシー	約 10分	パシフィコ横浜
	リムジンバス	約 30分 (パシフィコ横浜行きは約 40分)		シーバス (船)	約 10分 (「横浜駅東口」より「ぶかりさん橋」まで)	
成田空港	リムジンバス	約 90分 (パシフィコ横浜行きは約 110分)	横浜駅	JR 京浜東北線	約 3分	桜木町駅
	JR 成田エクスプレス	約 90分		徒歩	約 12分 (動く歩道経由)	
東京駅	JR 東海道線	約 25分	横浜駅	TAXI タクシー	約 5分	パシフィコ横浜
新宿駅	JR 湘南新宿ライン	約 30分		徒歩	約 5分	
新横浜駅	横浜市営地下鉄	約 15分	横浜駅	みなとみらい線	約 3分	みなとみらい駅
新横浜駅	JR 横浜線	約 3分		東急東横線 (みなとみらい線直通)	約 12分	
渋谷駅	東急東横線 (みなとみらい線直通)	約 30分	新横浜駅	東急東横線 (みなとみらい線直通)	約 30分	パシフィコ横浜
車	首都高速横羽線みなとみらいランプより直進	約 2分	新横浜駅	東急東横線 (みなとみらい線直通)	約 30分	

- P1** みなとみらい公共駐車場 ¥270 / 30分 7:00 ~ 24:00 (出庫は 24 時間可)
- P2** 臨港パーク駐車場 ¥250 / 30分 8:00 ~ 21:00
- P3** バス・大型駐車場 ¥500 / 30分 0:00 ~ 24:00 (入出庫は 7:00 ~ 22:00 予約制)

※ご利用施設により、実際の所要時間は異なります。ご来場の際は余裕を持ってお越しください。
 ※乗換時間は含まれておりません。 ※乗車ターミナル及び道路状況によって所要時間は異なります。

2017.1.1 版

PACIFICO Yokohama Access & Area Map

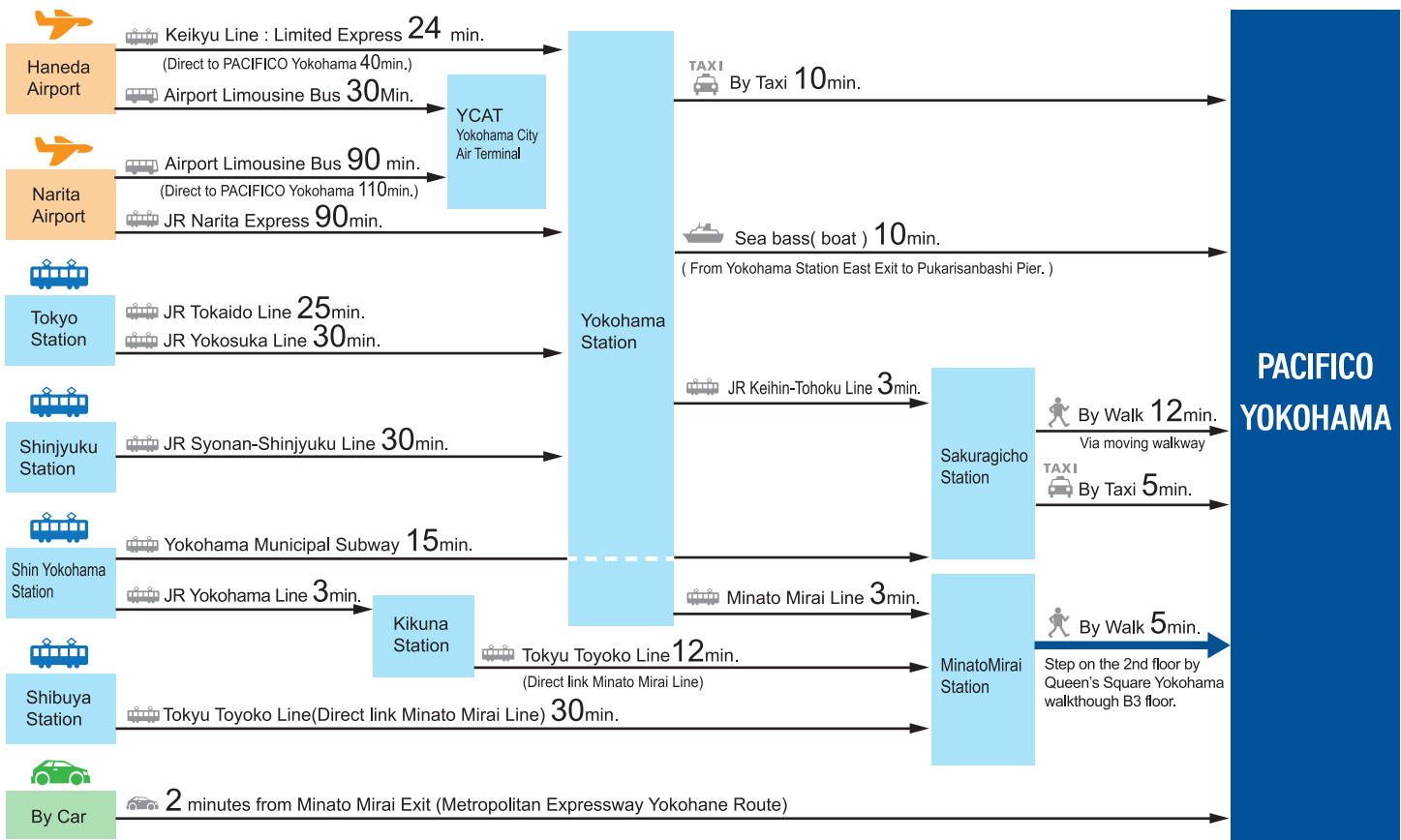
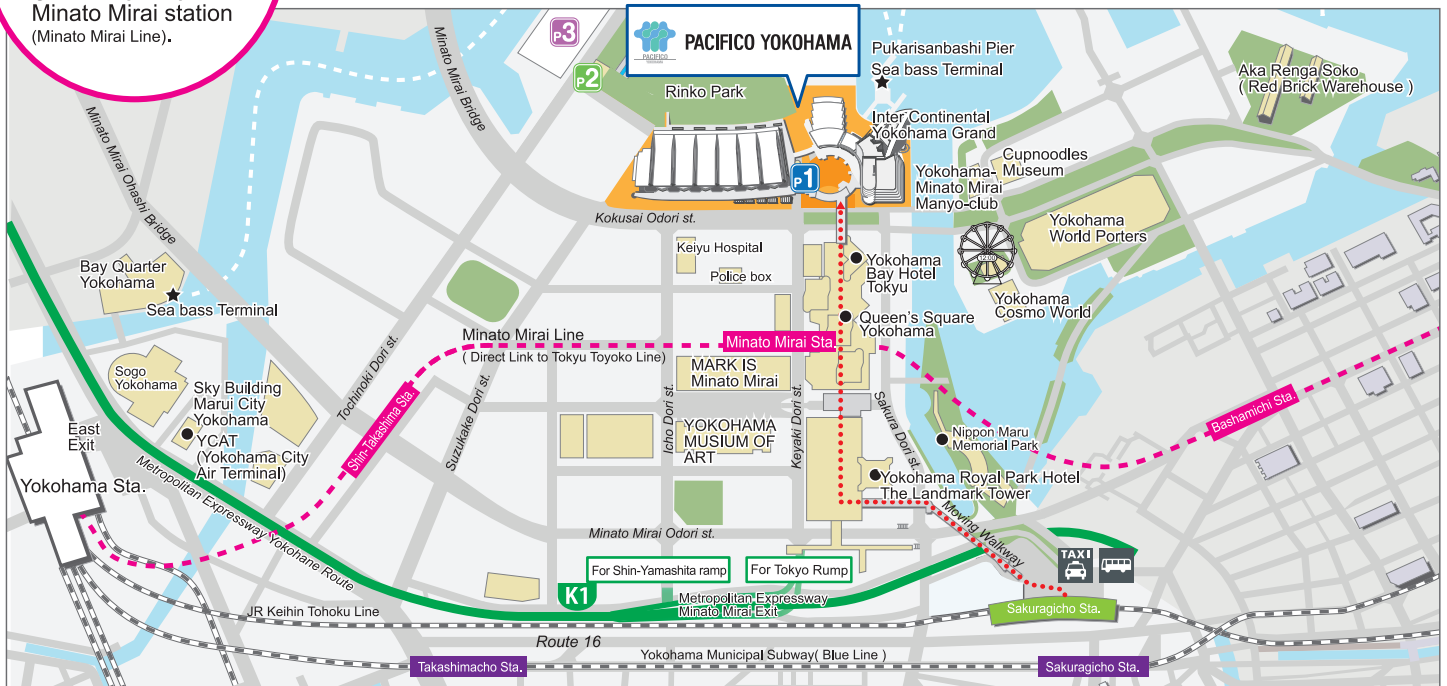
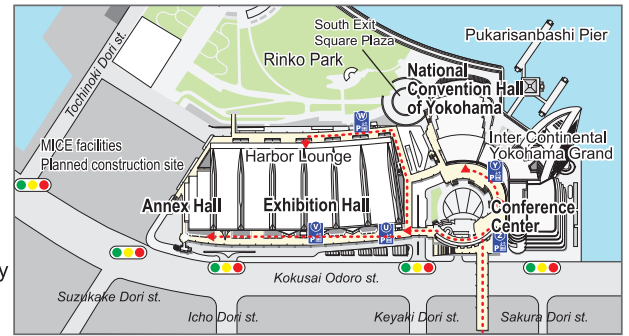
1-1-1 Minato Mirai, Nishi-ku, Yokohama 220-0012, Japan Information: TEL +81-45-221-2155

Easy access from all over the world.

**30 min.
from Tokyo
by train.**

5 min. walk from
Minato Mirai station
(Minato Mirai Line).

30 min. from Tokyo International Airport (Haneda).
100 min. from Narita International Airport.
20 min. from JR Shin Yokohama Station.
2 min. from Minato Mirai Exit (Metropolitan Expressway
Yokohane Route).



P1 Minato Mirai Public Parking Lot ¥ 270/30min. 7:00 to 24:00 *You can take your car out anytime 24hr.

P2 Rinko Park Parking Lot ¥ 250/30min. 8:00 to 21:00

P3 Bus / Large Vehicle Parking Lot ¥ 500/30min. 24 hours open *Enter and exit between 7:00 and 22:00. Advanced reservations required

Notes:

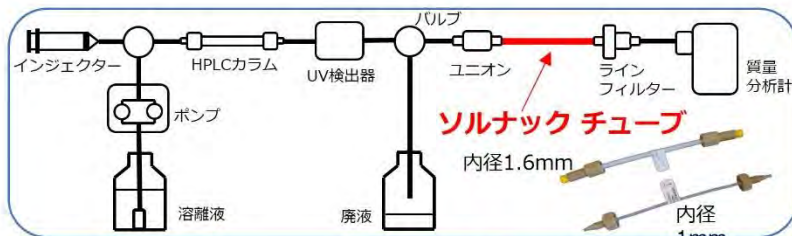
- Actual travel times required depend on the facilities you are going to visit. An early arrival is recommended.
- Transfer times are not included.
- Actual travel times required also depend on the road conditions and which terminal you will use.

LC/MS用オンライン脱塩チューブ “ソルナックチューブ”

困っていませんか？

- ★ リン酸塩緩衝液でのLC/MS測定
- ★ TFAによるイオン化抑制
- ★ Na, K付加イオンによる解析の難化

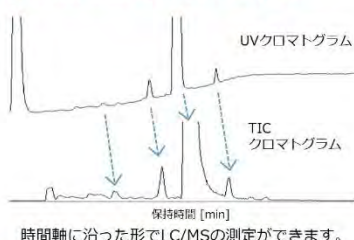
おまかせください。
ソルナックが解決します！



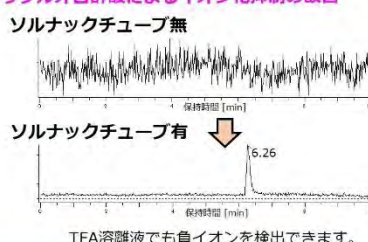
- ・流量 0.2~1.0 mL/min 対応
 - ・ディスポタイプ
 - ・簡単操作：UV検出器とMSの間に繋ぐだけ
- 【特許出願済】

★ アプリケーションデータ
<http://ms-solutions.jp/case>

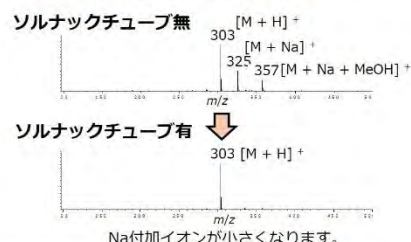
☆CFAN リン酸塩緩衝液のオンラインLC/MS



☆CFOO リン酸、リン酸アンモニウム溶液のオンラインLC/MS トリフルオロ酢酸によるイオン化抑制の改善



☆OOAN Na, Kなどの付加イオン削減



製造元 エムエス・ソリューションズ株式会社
〒187-0035 東京都小平市小川西町 2-18-13
E-mail: info@ms-solutions.jp
TEL: 042-308-5725 FAX: 042-332-5725

販売元 アルテア技研株式会社
〒222-0033 神奈川県横浜市港北区新横浜3-23-3
E-mail: sales@altair.co.jp
TEL: 045-473-6211 FAX: 045-473-2884

▲ HPLCカラム インタクト 世界にはばたく Made in Japan のHPLCカラム専門メーカー

ライフサイエンス分離

LC-MS用 インタクトアミノ酸分析
Intrada Amino Acid 世界初
蛋白質などの高分子逆相分離
Intrada WP-RP

選択性の異なる多機能ODSシリーズ

塩基性化合物の卓越したピーク形状
Cadenza CX-C18 New
優れた分子認識/ペプチドなど多成分分離
Cadenza CD-C18
新発想、シラノール量制御 / CD-C18と対比
Cadenza CL-C18
血清直接注入/親水性高分子と薬物の分離
Cadenza HS-C18
ワイドポア / 抗生物質や高分子分離
Cadenza CW-C18

高分解能ノンポラス2μmODS

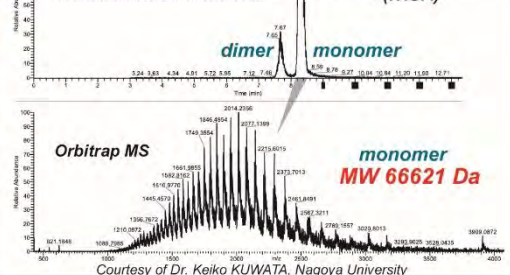
分子量の上限を突破 30MDaも可能
ペプチド、蛋白質、生体・合成高分子
mAbアミノフォーム分離
Presto FF-C18 世界初

シリカ/ポリマー Dual-Matrix ODS

アルカリで使用可能なシリカ系ODSカラム
DACAPO DX-C18 世界初

シリカ系サイズ排除(SEC)カラム

水系・非水系揮発性移動相 / GFC GPC両モード対応
タンパク質のSEC-MS, mAbや酵素の精製に
Intrada SEC
100mM ammonium formate
Recombinant Human Serum Albumin (rHSA)



逆相+アニオン交換+カチオン交換 分離カラム スケルツォ **Scherzo C18 Family**

従来のODSカラムでは困難なイオン性の高極性化合物が簡単に保持・分離できます。
アニオンもカチオンも同時に分析できる世界初のマルチモードODSカラム。LC-MS対応。

ODS + アニオン固定相
ODS + カチオン固定相

伝統的固定相の進化

水100%系から非水系まで分離バランスに優れた汎用性
Unison UK-C18
高極性から低極性まで耐酸性が高く塩基性化合物にも好適
Unison UK-C8
高極性から低極性まで配位性化合物に最適
Unison UK-Phenyl
非水系から水系までの順相+カチオン交換
Unison UK-Silica
非水系から水系までの順相+アニオン交換
水系移動相における卓越した耐久性
Unison UK-Amino

逆相+アニオン交換+カチオン交換 マルチモードODS

逆相分離に加えて両イオン性(アニオン、カチオン)物質を同時分析
イオン性高極性物質 / LC-MSに好適
Scherzo SM-C18 弱イオン
Scherzo SS-C18 強イオン・多
Scherzo SW-C18 強イオン・少

Imtakt www.imtakt.com www.imtaktUSA.com | PHONE: 075-315-3006 FAX: 075-315-3009
〒600-8813 京都市下京区中堂寺南町 京都リサーチパーク インタクト株式会社 E-MAIL: info@imtakt.com

口頭発表 (Oral Presentation)

Day 1: Tuesday, 12th Feb. (501/502)

- D1-1 Opening Remarks and Welcome Greeting
- D1-2 Future of Bioanalysis Part I
- D1-3 [Special Lecture]
Recent Trends and Future Challenges of Metabolome Analysis
- D1-4 Update on the Validation of Analytical Methods for Biomarkers

Day 2: Wednesday, 13th Feb. (501/502)

- D2-1 Hot Topics in Bioanalysis of Antibody Drug
- D2-2 Future of Bioanalysis Part II
- D2-3 [JBF-JSSX Joint Session]
Utilizing Endogenous Biomarkers for Drug-drug Interaction Evaluation and its Bioanalytical Method Validation.
- D2-4 Update of ICH M10 and FDA Guidance
- D2-5 [Keynote Lecture]
New Horizon of Drug Discovery and Development: Quantitative Proteotyping accelerated by reliable Peptide Search (rPS) engine

Day 3: Thursday, 14th Feb. (501/502 and 303/304)

- D3-1 Technologies Supporting Bioanalysis [Parallel Session]
 - D3-1A Bioanalysis of Macromolecular Drugs by LC/MS
 - D3-1B Advanced Technology of Bioanalysis in Drug Discovery Stage
- D3-2 Synergy with Surrounding Scientific Areas [Parallel Session]
 - D3-2A [Collabo Session with Clinical Pharmacology]
Collaboration in Early Clinical Trial
 - D3-2B [Collabo Session with JSQA]
Proposal of Electronic Operation of Raw Data using LC-MS/MS as a Theme
-from the Perspective of Data Integrity-
 - D3-2C [Collabo Session with Toxicity evaluation]
Practicing Microsampling



第 10 回 JBF シンポジウム開催にあたって

(国立医薬品食品衛生研究所)

○斎藤 嘉朗

Opening remarks of 10th JBF symposium

Yoshiro Saito

National Institute of Health Science

バイオアナリシスフォーラム (JBF) は、我が国における医薬品承認申請に係る薬物及びバイオマーカーの、生体試料中における濃度の適切な測定およびバリデーション (bioanalytical method validation: BMV) の実施を主な目的として、国際的な連携を図りつつ活動している。各ディスカッショングループの議論に基づく BMV の考え方や技術の向上、BMV に関する産業界を中心とする国際連携の日本窓口、日本の BMV 行政への協力、シンポジウムの開催などが主な活動である。バイオアナリシスの普及・強化を目的とする本シンポジウムは、例年多くの熱い議論が行われているが、今回は 10 回目という節目の時を迎えている。これまでのご参加とご支援に、心より御礼を申し上げたい。

本邦では、医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに関する 2 本のガイドラインが通知されているが、国際調和を目的に 2017 年に立ち上がった ICH M10 の活動も進んでおり、まもなくガイドライン案が公表されようとしている。またバイオマーカーの BMV に関しても、米国の Critical Path 研究所の白書が最終化されようとしており、また FDA の 2018 年改訂ガイダンスの適用範囲にもバイオマーカーが含まれた。いずれも本シンポジウム等での発表等を通じた日本での議論が必要な内容と考える。

佐野実行委員長を中心とする大会関係者のご尽力により、東北大学の寺崎先生及び九州大学の馬場先生に、それぞれ基調講演及び特別講演をいただけることとなった。また 3 つのセッションは、他の関連学会との共催として開催される。さらに今回も海外の講演者から海外のバイオアナリシスの状況に関しても報告がなされる。バイオアナリシスの現状を把握する絶好の機会であり、全ての参加者にとって有意義なシンポジウムとなることを期待する。

Thank you for joining the 10th JBF symposium.

JBF aims at facilitating regulated bioanalysis and its related areas. The current major activities are 1) advances on perspective and techniques based on discussion at several bioanalysis-related discussion groups, 2) international alliance with Europe and US bioanalysis communities, 3) cooperation with Japanese regulatory agencies on bioanalytical method validation, and 4) annual symposium.

In this symposium, we welcome Prof. Terasaki and Bamba to give us the Keynote lecture and Special lecture, respectively. In addition, we will have very interesting sessions including biomarker assay validation, antibody therapeutics, biomarkers on drug interaction evaluation, bioanalysis of high-molecular weight drugs using LC-MS, microsampling, and bioanalysis in early clinical trials, three of which are collaborated with other societies. I hope this symposium will be fruitful for all participants.

ご挨拶

(第 10 回記念 JBF シンポジウム実行委員長, 株式会社サンプラネット)

○佐野 善寿

**Welcome greeting**

Yoshihisa Sano

The 10th Anniversary JBF Symposium Chair, Sunplanet Co., Ltd.

遡ること 7 年前の 2011 年 8 月, 産官学の志を持つ 17 名が発起人となりバイオアナリシスフォーラム(JBF)が発足し, 同時に国内で初めてバイオアナリシスに特化した学術集会である第 1 回 JBF シンポジウムが内外から 200 名以上の参加のもと開催されました。その後, JBF シンポジウムは毎年 1 ~2 回, BMV ガイドライン案策定など JBF の活動報告の場のみならず, その本来の使命であるバイオアナリシス関連の議論と情報交換の場, そして若手研究者の育成の場として開催され, 今般, 2019 年 2 月をもって第 10 回記念大会を迎えることとなりました。関係諸氏の皆さまには改めまして厚く御礼申し上げます。

この間, 創薬研究をめぐる環境もドラスティックに変化し, 抗体薬などの高分子やバイオマーカーの測定などの目的で測定装置や手法が大きく進歩しました。これに伴い, バイオアナリシスを業とする研究者も内輪の議論にとどまらず周辺領域まで情報収集のスコープを広げ, 自らのスキルや見識を弛まず向上させる革新を求められ続けています。

このような情勢の中, 今回の第 10 回シンポジウムでは, ~Open to the Public~をキーワードに, バイオアナリシスをとりまく周辺分野との実地的コラボを企図して, 創薬を進めるために欠かせないパートナーである薬物動態, 安全性, 臨床薬理などの研究者と交流し, 共通する課題を議論する企画を数多く用意いたしました。

また, これまで JBF シンポジウムで実施経験がなかった「一般演題募集によるポスター発表」も試験的に実施する予定であり, 新進の若手研究者などが自らのデータを持ち寄り, 来場者とポスターの前で議論する姿も見られることと思います。もちろん皆様にはずっと好評を博しておりますディスカッショングループ(DG)による 1 年間の議論の成果発表もご期待に応える内容となりましょうし, またそのポスター会場にはこの 10 回のシンポジウムを支えていただいた協賛企業様のブースも並び皆さまの好奇心を満たしてくれるイベントも用意しております。

このように, 第 10 回の節目を迎えるこの機に, これまでのバイオアナリシスの専門的な深い議論に加え, 実業務の研究仲間である周辺分野との議論や若手との議論にまでその活動世界を広げる, まさに~Open to the Public~を国内はもとより海外からも参加者を招いて展開します。会場も昨年までとは一新してパシフィコ横浜の広いステージで活発な討議を行い, 皆さんの知恵を結集し, 未来のバイオアナリシスのあるべき姿を描いて行けたらと想像を膨らませています。どうぞこの機を逃さずご参加とご議論を賜りたくここにご挨拶申し上げます。

The Japan Bioanalysis Forum (JBF) was established by 17 founders from the industries, the regulatory agencies and the academia in August 2011. The 1st JBF Symposium, the first-ever scientific/academic

meeting focused on regulated bioanalysis in Japan, was held at the same time with over 200 attendees from home and abroad. Then, the symposium has been held once or twice a year as the place, ‘Ba/場’ in Japanese, for discussing bioanalytical matters, e.g. launching a bioanalytical method validation guideline in Japan, sharing up-to-date information in the industry, and also for fostering young researchers as next-generation leaders. The symposium will celebrate the 10th anniversary in upcoming February. We appreciate all the relevant parties continuously supporting the JBF and its activities.

During these years, the scope of drug discovery and development has drastically changed. The technologies being employed in the bioanalysis of new modality, e.g. antibodies and large molecules, has been rapidly developed. Accordingly, the bioanalysts need to stretch their views to outwards in collecting relevant information, and are required to renovate their skills and knowledge. Here, we hold the 10th symposium along with the key phrase ‘Open to the Public’ aiming to practically collaborate with the scientific fields surrounding the bioanalysis, e.g. DMPK, Tox, and Clinical Pharm. We present several productive sessions on the common issues in the drug development and expect intensive interaction among participants.

In addition, newly planned events to celebrate 10th anniversary will be also on board, for instance, the keynote lectures by speakers from surrounding scientific areas, the comprehensive discussions of future bioanalysis, and the posters by publicly offered presenters. All of them are ‘the first appearance’ events in the JBF symposium.

We cordially invite not only bioanalysts but also those working in various scientific fields involved in drug development to the 10th JBF symposium. And we hope to provide the “Ba/場” to have open discussion of the future of bioanalysis-related world as partners on the same boat.

Hope to see you soon in Yokohama.

生体試料測定の辿った跡

(横河電機株式会社)

○工藤 忍



Crawling marks of Bioanalysis

Shinobu Kudoh

Yokogawa Electric Corporation

バイオアナリシスに使われる装置が 1990 年代の前半で大きく変わった。ESI によって、質量分析計と HPLC を直接的に接続して使用できる装置が市販されたからである。多くの企業が、分子構造に基づく選択性の高い検出方法を、汎用していた逆相分配分離モードによる HPLC と組合せた定量方法として使用を開始した。我々も 1993 年には念願のタンデム型 MS 装置の評価を使い始めた。様々な検出器を備えた HPLC、GC、GC-MS など数十台とサーバーを組み合わせたラボラトリーネットワークシステムが、瞬く間に数台の LC-MS/MS 装置に置き換えられてしまった。当時はバイオアナリシスに関する様々な活動が欧米で活性化して行った時でもあった。1990 年には、生体試料中薬物濃度の定量法に関する通称 Crystal City 1 と呼ばれている AAPS と FDA による第1回目のワークショップが開催され、翌年の通称 Shah の論文として知られるコンフェレンスレポートで、測定法のバリデーションの必要性に共通した認識が得られた。その後、Crystal City 2 ワークショップを経て *Guidance on Bioanalytical Methods Validation* として FDA から 2001 年に発行された。生体試料中薬物濃度測定法の定量限界や検量線の設定あるいは定量値の確からしさと担保の方法などに関する話合いは、LC-MS/MS がバイオアナリシスの主役の座に居座る前から個々に活発に行われていた。LC-MS/MS の実践的な使用を開始して直ぐに多くの研究者が直面したマトリックス効果などの ESI の不確実性、更には溶離液中の塩の種類や濃度の制限と求める測定感度に伴って顕在化するキャリーオーバーなどの測定値に与える不都合な真実が、議論をさらに活性化させ、ガイダンスの発出の要因になったと想像している。MS/MS や HRMS の高選択性によって、芸術的なクロマトグラフィーも高度な試料の前処理も簡略が可能であるため、生産性や測定感度は飛躍的に向上したが、これらの基本的問題が 25 年後の今でもあまり改善されず話題になっていることには大きな違和感を感じる。その後、バイオアナリシス法を席卷した感のあるこの方法の不確実さや高選択的検出に端を発する測定値のエラー、あるいは CRO などへの測定法の移管を念頭おいたガイドラインの改良点やバイオ医薬品の台頭による LBA 法への対応など様々な話合いが続いた。これらが各種の White Paper の発出、2006 年の EBF 発足、ISR の必要性の議論、MIST のガイダンスの発出、EMA によるガイドラインの策定の原動力となり、United Bioanalyst 的な議論の場を提供した GBC の活動、そこに参画することが大きな動機となって 2011 年に JBF が発足し、JBF が積極的にサポートを提供して日本のガイドラインが形を成した。これらの活動と共に変遷していった測定法や今でも役立つ技術を紹介したい。

It seemed a big leap in bioanalysis that ESI enables to hyphenate an HPLC and a MS analyzer and single HPLC -MS/MS system swept several numbers of conventional LC systems away in early 90's. A little before the leap, activities and discussions on bioanalytical issues or best practices to be shared became

dynamized amongst bioanalysts. The efforts led to a consensus developed on the importance of method validations at Crystal City 1 meeting followed by a conference report known as Shah's paper. The FDA Guidance on Bioanalytical Methods Validation issued in 2001 was a fruit on the line extended from the activities. The productivity and sensitivity of bioanalysis were apparently improved since artistic chromatography and intensive sample preparation can be simplified. However, ESI uncertainty such as the matrix effects became a common concern in LC-MS based quantitations among many of us immediately after the practical use of it and due to the inconvenient truths, the activities led toward the guidance issue. In this presentation, the crawling marks of bioanalysis are briefly traced back with transitions in bioanalytical methodologies and still useful techniques developed.

BML Analysis Services

医薬品開発を支える確かな技術

【信頼性基準適用試験】

- 薬物濃度Validation
- 臨床試験における薬物濃度測定

【生体試料分析法の確立】

- LC-MS/MS, HPLC, ELISA
- 次世代シーケンシング 等



BML総合研究所

〒350-1101 埼玉県川越市の場1361-1

URL <http://www.bml.co.jp/>

◆ お問い合わせ ◆

株式会社 ビー・エム・エル 医薬治験営業部

〒166-0003 東京都杉並区高円寺南1-18-8

TEL 03-5305-1190



バイオマーカー測定における留意点文書の策定状況と今後の展望

(国立医薬品食品衛生研究所)

○斎藤 嘉朗、中村 亮介、齊藤 公亮

Development of points to consider document on biomarker assay validation in Japan

Yoshiro Saito, Ryosuke Nakamura, Kosuke Saito

National Institute of Health Sciences

バイオマーカーは、有効性や安全性の指標として医薬品開発の効率化をもたらすと期待されている。バイオマーカーの開発には、臨床上的有用性と共に、その分析的なバリデーションが必要である。しかし医薬品の場合と異なり、バイオマーカーはその用途、測定方法、変動幅、個体差等の要因が、マーカー毎に大きく異なる。また内因性物質であるため、マトリックス中に測定物質が含まれている場合が多い、高分子の場合は糖鎖等の構造が組換え標品と内因性物質で一致しない、等の特徴もある。これらの問題のため、医薬品を対象とした2種の生体試料中薬物濃度分析法バリデーションガイドラインの基準に沿った検証は、必ずしも適切でないとされている。

JBF では、2015 年に「医薬品開発においてヒト内因性物質をバイオマーカーとして利用する際の定量分析法に関する留意点」がタスクフォースより公表された。これは開発後期の臨床試験で、高い定量性が求められるバイオマーカーを主要評価項目として利用し、申請資料に盛り込む場合等の、堅牢性評価の留意点を述べたものである。また同年の Crystal City VI では、「目的に応じたバリデーション (fit for purpose)」と「内部判断用と承認申請用」の少なくとも2種のカテゴリーに分けて議論すべきとされた。米国では 2017 年に Critical path 研究所から、FDA との共著として、留意点文書案「Points to Consider Document: Scientific and Regulatory Considerations for the Analytical Validation of Assays Used in the Qualification of Biomarkers in Biological Matrices」が公表され、バイオマーカーの開発段階毎に評価すべき項目の目安が示された。このような状況の下、我々AMED 研究班は、日本の製薬企業を対象にバイオマーカー分析法バリデーションに関するアンケート調査を行った。その結果、既に多くの企業でバイオマーカー開発、及びその分析法バリデーションがなされていること、一方でその評価項目が上記の米国の留意点文書案と解離している部分があること、さらに医薬品のガイドラインを参照しているケースが比較的多いこと、が明らかとなった。2018 年になり、米国 FDA の医薬品に関するバイオアナリシスガイドラインに、バイオマーカーが対象として含まれ、情報が錯綜しているとの指摘もある。バイオマーカーの医薬品開発での利用を促進するため、日本でも内外の状況を整理した留意点文書の作成が必要と考えられた。そこで、引き続き AMED の研究班として、2018 年からバイオマーカー分析法バリデーションの留意点文書案の作成を行っている。本講演では、上記の背景と共に、留意点文書案の進捗を紹介すると共に、今後の海外との連携予定についても述べる予定である。

Biomarkers can be used as a marker of drug efficacy and safety, and thus its usage may lead to efficient drug development. For the development of validated biomarkers, its analytical validation in addition to clinical usefulness is required. However, unlike in the drug cases, biomarker assay validation would be

rather difficult on, for example, its existence in the endogenous matrix and the structure of recombinant protein as a standard is often different from the endogenous analyte. Due to these issues, application of bioanalytical method validation guidelines to biomarkers is thought to be not appropriate as they are. Therefore, discussion on the biomarker assay validation has been performed for more than a decade. In 2015, JBF biomarker task force issued “concept paper on quantitative analysis of human-endogenous substances as biomarkers in pharmaceutical development. US Critical Path Institute publicized in 2017 a draft of “Points to Consider Document: Scientific and Regulatory Considerations for the Analytical Validation of Assays Used in the Qualification of Biomarkers in Biological Matrices”, which was written in collaboration with FDA. However, FDA finalized Bioanalytical Method Validation guidance in 2018, which includes biomarkers in its scope. Based on these complex situation, our AMED research group started to draft the point to consider document on biomarker assay validation in Japan. In this presentation, we will introduce our current activity and future perspective.

D1-4-2



バイオマーカー(内因性化合物)の定量における代替マトリックスの選択法と妥当性評価の推奨方法(DG2015-15)

(グラクソ・スミスクライン株式会社)

○若松 明

Proposed Selection Strategy of an appropriate surrogate matrix for the successful quantitation of targeted endogenous substances, based on discussions by a Japan Bioanalysis Forum discussion group (DG2015-15)

Akira Wakamatsu

GlaxoSmithKline K.K.

生体試料中のバイオマーカー(内因性物質)を定量する場合、代替マトリックスの選択法は非常に重要である。JBF の DG2015-15 では、内因性物質を定量する際の代替マトリックスの選択法と選択した代替マトリックスの妥当性の評価方法を、LBA(分析対象:高分子内因性物質)及び LC-MS(同:低分子・ペプチド内因性物質)の経験を踏まえて議論し、その結果を *Bioanalysis*10(17) 1349(2018) に発表した。本公演ではその議論結果を *Bioanalysis* 誌の内容から抜粋して紹介する。この DG2015-15 には下記のメンバーが議論に参加した(敬称略)。落合 尚子、鈴木 英子、横田 喜信、落合 美登里、小谷 洋介、笹原 里美、中永 景太、橋本 有樹、上野 聡子、加藤 望、河田 哲志、早川 潤、島田 英一、堀田 晋也、岩田あかね、酒井 和明。

It is important to select an appropriate surrogate matrix for preparing calibration standards and QC samples while quantitatively assaying for endogenous substances, because a blank matrix that does not contain the endogenous substance cannot be derived from the species from which the target study samples are collected. This is because the assay results might be affected, depending on the characteristics and behavior of the analyte in the surrogate matrix. The DG2015-15 discussed the recommended selection strategies, focusing on large and small molecules in LBA and LC-MS, respectively. The group reached a consensus that it was not necessary for the composition of the matrix to be similar, as long as the required accuracy/precision (for both LBA and LC-MS), parallelism/dilution linearity and selectivity (for LBA) were achieved with quantitation. Based on this, we established an efficient selection strategy for a surrogate matrix, by considering the following matrices with simple compositions as the first candidates:

- ・ LBA (for large molecules); protein (e.g., BSA, casein) containing buffer
- ・ LC-MS (for small molecules); simple solvent (e.g., water, buffer)

Our recommended strategies for selecting the surrogate matrix have been described using flow charts. Methods to verify the appropriateness of the selected surrogate matrix have also been proposed.

Below members participated in DG2015-15 and discussed and published the manuscript. Shoko Ochiai, Eiko Suzuki, Yoshinobu Yokota, Midori Ochiai, Yosuke Kotani, Satomi Sasahara, Keita Nakanaga, Yuki Hashimoto, Satoko Ueno, Nozomu Kato, Satoshi Kawada, Jun Hayakawa, Eiichi Shimada, Shinya Horita, Akane Iwata, Kazuaki Sakai

D1-4-3

医薬品開発におけるバイオマーカー分析技術

(中外製薬株式会社)

○宮山 崇



Clinical biomarker assay platform for drug development.

Takashi Miyayama

Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

近年の医薬品開発において、開発候補品と効果・副作用の関係性を示すバイオマーカーの探索・同定・分析が不可欠となってきている。バイオマーカー分析対象、分析技術、また分析に使用するサンプルは多様化し、データの品質を確保するためにバイオマーカー分析法の妥当性、またサンプルの品質についても十分注意を払う必要がある。

生体試料中の薬物濃度分析法に関するガイダンス・ガイドラインが各規制当局より発出されている。最近、バイオマーカー分析法の妥当性評価に関する指針も提案されつつあるが評価項目・基準が明確に定められている訳ではない。バイオマーカー分析の実施時期や得られる分析データが医薬品開発上どのように使用されるかにより、各企業が評価項目・基準を決定する機会も多い。

本発表では、弊社の医薬品臨床開発で経験したバイオマーカー分析技術と各分析法のバリデーションについて紹介するとともに、バイオマーカー分析に使用するサンプルの品質についても述べる。医薬品開発におけるバイオマーカー分析の在り方について本シンポジウム参加の皆様と議論したい。

The biomarker research, identification and biomarker assay to show relationships between the drug candidates and their effect or side-effect are essential works for recent drug development. Because of the wide variety of analytes, assay platform and the clinical samples, we need to pay attentions to assay method validity and sample quality for the data quality assurance.

The guidance or guidelines for bioanalytical method validation in biological matrices have been issued by regulatory authorities over the world. For the biomarkers, the details of validation items and acceptance criteria are not always specified in some of guidance proposed in these few years. They sometimes depend on the timing of biomarker assays or intended purpose of the obtained biomarker assay data, made decisions by industries.

In this presentation, some biomarker assay platforms and their method validations, which Chugai had experiences in the clinical studies, will be introduced. In addition, the sample quality issues for the biomarker assay will be referred too. We will be pleased to discuss the envisioned future of biomarker assay in the field of clinical research for drug development, through this symposium.

D1-4-4



イムノアッセイプラットフォームを用いた非臨床及び 臨床バイオマーカーの分析法バリデーションの事例

(田辺三菱製薬株式会社)

○辻本 景英

Case Study of the Analytical Validation of Biomarker Assay Using Immunoassay Platform in Non-Clinical and Clinical Studies

Akihito Tsujimoto

Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation

医薬品の研究開発効率を向上させるために、バイオマーカーの活用が極めて重要になってきている。一方で、バイオマーカーの評価目的、評価方法及びその生物学的特性は様々であるため、分析法バリデーションの方法やその評価基準を一概に標準化することはなかなか難しく、一般的に探索的なバイオマーカーの分析法評価は“Fit-for-Purpose”の考えに基づいて実施されている例が多い。

本発表では医薬品開発における薬力学的評価や“Mode of Action”の解明を目的とした非臨床及び臨床バイオマーカーの分析法バリデーションに関する事例を紹介する。より多くの事例の共有、企業間で多くの議論を行っていくことにより、業界内での共通認識を醸成し、研究開発効率の向上や医薬品の価値最大化につなげていきたい。

Biomarker strategy has become extremely important for drug development. On the other hand, it is difficult to standardize the method evaluation procedure and its acceptance criteria due to the variability of its usage and the nature of the biomarker measurement. Therefore, the analytical method validation of biomarker is performed based on the “fit-for-purpose” concept.

I would like to show some case studies of the biomarker method validation to investigate efficacy/safety or “mode-of-action” in non-clinical and clinical studies. I expect that bioanalytical scientists would discuss their opinion and share technical information throughout the industry, as a result, drug development would progress more and more with these biomarker strategies.



Challenges and opportunities in developing a sound bioanalytical strategy for PK assessment of Antibody Drug Conjugate Therapeutic

Boris, Gorovits

Pfizer Inc, 1 Burt Rd Andover, MA 01810 USA

Antibody-drug conjugates (ADCs) combine the high specificity of a monoclonal antibody (mAb) for a target antigen with a highly potent cytotoxic activity of small molecule drugs. Although the ADC concept is relatively simple, successful design and development of such “targeted missiles” is a complex task. Understanding the Pharmacokinetics (PK), Pharmacodynamics, and Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion properties of ADCs is critical for their successful development.

ADCs are complex molecules containing heterogeneous mixtures of species with different drug-to-antibody ratios (DAR), and different sites of conjugation. The heterogeneity in starting reference material may evolve further in vivo. These inherent characteristics of ADCs require additional consideration when evaluating their pharmacology as well as bioanalytical and PK properties. For instance, the structural complexity and heterogeneity dictate the need to monitor multiple analytes for understanding ADC PK and disposition. Multiple analytes help to capture the many facets of the behavior of these complex molecules, such as the rate of drug loss from an ADC (i.e., linker stability), the effect of conjugation on ADC clearance, and ultimately the exposure–response relationship. Depending on the information sought, bioanalytical methods such as ligand binding assays (LBA), liquid chromatography separation coupled with mass spectrometry detection (LC-MS), and combination of both methods are employed for analyzing diverse ADC analytes. In addition novel methods to measure cellular binding and disposition are used to help understand exposure at the intra-cellular site of action. High level information regarding methodologies applied in assessment of PK for ADC compounds and considerations of the bioanalytical strategies for ADCs based on the current industry practices that take into account the complexity and heterogeneity of ADCs will be discussed.

"Total"および"Free"抗体医薬品定量のための技術的課題

(中外製薬株式会社)

○大浪一生

**Technical Challenges for the Quantitation of Total and Free Therapeutic Antibodies**Ichio Onami*Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.*

抗体医薬品の非臨床および臨床開発において、生体試料中の薬物濃度を正確に定量し、その体内動態を把握することは PK/PD 解析や有効性、安全性評価のために重要である。抗体医薬品は生体中で抗原や抗薬物抗体と複合体を形成し多様な形態で存在しうることから、求められる薬物濃度情報が何かを考慮しながら測定系や測定対象となる分子種 (free, bound or total) を決める必要がある。

Free 抗体濃度は薬理効果を解釈する上で重要と考えられる一方で、total 抗体濃度は薬物とその結合分子との動的相互作用を理解する上で重要である。しかしながら、測定したい分子種を特異的に定量し、かつその定量法の妥当性を確認するには種々の考慮すべき点が存在する。特に、抗体医薬品とその結合分子が可逆的な平衡にある場合、生体試料中の平衡状態を変化させずに正確に free 抗体を定量するには、様々な技術的課題がある。

本発表では、free および total 抗体定量法構築の具体的アプローチと注意点を示すとともに、LBA 法および LC-MS 法による free 抗体定量法構築の事例を紹介する。

Accurate quantitative information on therapeutic antibody concentrations from both preclinical and clinical studies is critical in supporting drug development. These data enable the assessment of the pharmacokinetics/pharmacodynamics (PK/PD) relationship, efficacy and safety. Depending on the required information, a bioanalytical strategy and an analyte (free, total or both) to be quantified may differ, especially in cases where binding partners such as soluble targets or anti-drug antibodies are present in relevant amounts. In many instances, since free drug exposure is considered as relevant to pharmacological effect, free drug assays are becoming more important. On the other hand, total drug exposure can further help describe the dynamic interaction between drug and binding partners. However, confirmation of the exact forms that are being measured by the bioanalytical method can be technically challenging.

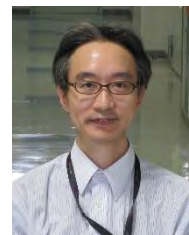
This presentation will provide a practical approach to method selection for total and free assays and present bioanalytical approaches to characterize and qualify total and free assays and also limitations and challenges.

D2-1-3

中外製薬の抗体医薬品開発における抗薬物抗体分析の最近の実績と現状

(中外製薬株式会社)

○宮 和弘



Achievement of the anti - drug antibody assays in the Chugai's antibody drug development over the last decade and current perspectives.

Kazuhiro Miya

Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

近年、抗体医薬をはじめとするバイオ医薬品が数多く開発、上市されている。バイオ医薬品のバイオアナリシスにおいては、低分子医薬品のそれとは異なったアプローチが必要となる。そのひとつとして免疫原性評価のための抗薬物抗体分析の実施があげられる。

本発表では、中外製薬がこれまで日本で承認を取得した品目についてどのような抗薬物抗体分析がなされてきたのかを全体にわたってそのあらましを紹介する。また、中外製薬の現在開発段階にある抗体医薬プロジェクトの抗薬物抗体分析の方針についても概説する。

中外製薬における抗薬物抗体分析の変遷と現状認識を紹介することで、今後の過不足のない抗薬物抗体分析のありかたを追及するための情報交換の場となれば幸いです。

A lot of biotechnology derived drugs are developed and launched these days. In the course of the bioanalysis of the biopharmaceuticals, anti-drug antibody assays are required for the immunogenicity assessments.

This presentation will include the outlines of the anti-drug antibody assays that have been performed for the Chugai's therapeutic antibody drugs approved in Japan. Also the immunogenicity assessment policy on the developing products will be summarized.

We will be pleased to exchange information to enable an appropriate and adequate immunogenicity assessments by introducing our current policy, platform and their changes.

演者都合により、この発表は第3日 11:20 からに変更になりました [501/502]。

This presentation is moved to 'Technologies Supporting Bioanalysis' session at 11:20 on Day 3 [501/502].)

D2-2-1

Challenges for the 21st Century Bioanalyst

Philip Timmerman

European Bioanalysis Forum, Belgium



In his presentation, Philip will provide some food for thought to the bioanalytical community at large on the challenges for the future.

The rapidly changing landscape in Pharma R&D will require the bioanalysts to rethink some of their current processes to assure continued added value in a rapidly changing and more global drug R&D environment.

These challenges include new disease areas, changing portfolios with challenging (bio)molecules, availability of more and more complex (hyphenated) technologies, biomarkers, the increased need for stakeholder interactions or how to manage a changing and increasingly challenging regulatory expectations.

The presentation can be an inspiration for the future bioanalysts, but above is intended as a step stone for discussions between the bioanalysts, the bioanalysts and the regulators and/or the stakeholders.

It should remind us that if we only keep our eyes on the ball (i.e. our own bioanalytical silo) we may miss the goal: bringing safe, affordable and effective drugs faster to the patient.



その先に笑顔を願う



多彩な活動で、医療と暮らしに貢献
高品質な臨床検査を中核に、健康、快適、安全・安心をキーワードとする
多彩な事業の輪を広げ、時代の要望にお応えしています。

医薬品分析

- ・ 生物学的同等性試験 (BE 試験) ・ DPK 試験に関わる分析
- ・ 生体試料中薬物濃度測定法の確立
- ・ 分析法バリデーション
- ・ 同等性解析
- ・ 生体試料に含まれる有効成分の分析

分析対象 ▶ 血漿 尿 角層など

化粧品分析

- ・ 安全性試験
- ・ 製品分析
- ・ 有効性評価試験
- ・ クレーム分析

分析対象 ▶ 化粧品、医薬部外品



株式会社日本医学臨床検査研究所 医薬化粧品分析事業部
〒570-0033 大阪府守口市大宮通1丁目13番36号 TEL : 06-6995-2680 FAX : 06-6995-2681
(本社 : 〒613-0046 京都府久世郡久御山町大橋辺 16 番地 10 <https://www.jcl.co.jp/>)





バイオアナリシスの将来展望

(アステラス製薬株式会社, バイオアナリシスフォーラム)

○大津 善明

Future of Bioanalysis

Yoshiaki Ohtsu, Ph.D.

Astellas Pharma Inc., Japan Bioanalysis Forum

「バイオアナリシスの将来展望」セッションは 4 つの演題で構成されている。他の 3 つの演題により過去を振り返り、「技術や CRO サービスの将来と夢」ならびに「EBF の考える将来」が語られた。本演題では外部環境の変化を念頭に置いてバイオアナリシスの将来を論じたい。

バイオアナリシスの将来を考えると、技術や CRO サービスの発展のみならず、社会状況、業界動向、政策など多様な要因を無視することはできない。たとえば少子高齢化、健康経営の推進、第四次産業革命がバイオアナリシスの現場に影響を及ぼすことは想像に難くない。また医薬品産業では開発品目のモダリティが多様化し、そのことが生体試料中薬物濃度測定に変化をもたらすのは避けられない。ICH M10 ガイドラインはクロマトグラフ法とリガンド結合法を用いた典型的な薬物濃度測定の効率化に大きく貢献すると思われる。バイオマーカーの測定についても 2018 年の FDA ガイダンスから始まり、規制当局からの期待が徐々に示され、日々の業務に変化がもたらされるであろう。

このように考えるとき、組織の枠を超えて情報を共有し議論する場はこれからも必要と考えられる。また、海外との連携は引き続き双方向に有益であると思われる。JBF がこれらの役割を果たすことでバイオアナリシスの明るい未来に貢献できたら幸いである。

The session “Future of Bioanalysis” consists of four presentations. The first three presentations were about the history of bioanalysis, perspectives of bioanalysis technologies and CRO services, and an outlook of bioanalysis from the perspectives of the EBF. This final presentation will discuss future of bioanalysis in consideration of external environment.

There is a good chance that bioanalysis will continue to change, and that there will be an increasing number of topics in this field. Some examples of these will be outlined in this presentation. It is natural that such changes and abundance of topics will prompt a need for cross-organizational discussions and global collaboration. I believe that JBF will be able to meet these needs, and thus contribute to the bright future of bioanalysis.



薬物トランスポーターの内在性基質を用いた薬物相互作用リスクの評価

(東京大学大学院薬学系研究科)

○楠原 洋之

Assessment of drug-drug interaction risks using endogenous substrates of drug transporters

Hiroyuki Kusuvara

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, the University of Tokyo

医薬品開発の段階で、新薬の DDI リスクが評価されている。現行の医薬品開発における薬物相互作用評価に関するガイドラインでは、薬効用量の(遊離形)血液中濃度/被験薬の阻害定数(IC₅₀)比に基づいた DDI 予測の結果、当該トランスポーターの機能変動を検出するための推奨プローブを用いた臨床試験の要否が判定されている。種々の要因により、この予測には、少なからぬ割合の擬陽性・偽陰性を含んでいる。そこで、第 I 相試験など、単回用量漸増試験や複数回投与試験など、DDI 解析に必要な定量的データが収集可能な段階において、被験薬の DDI リスクを定量的に判定できるバイオマーカーに対する期待が集まっている。薬物トランスポーターは多様な化合物を基質とする異物解毒システムとしての特性を有しており、その機能欠損により生体内に蓄積する化合物も複数見出されている。メタボローム解析とゲノムワイド関連解析との活用により、新たな代謝物も見出されている。そこで、これらの化合物の薬物速度論パラメータと、トランスポーター機能との関連を実証することで、その有用性を示す必要がある。これまでに、肝有機アニオントランスポーターOATP1B、腎有機アニオントランスポーターOAT1 および OAT3、腎有機カチオントランスポーターに対して、トランスポーター機能を阻害する薬物投与時/非投与時の速度論パラメータを比較し、有用な化合物を見出している。また、一部の化合物については、推奨されているプローブ薬物の速度論パラメータと、高い相関性を示すことから、DDI 試験のプローブとして十分に利用可能である。さらに、生理学的モデルを用いた解析を実施することで、内在性基質の変動予測はもとより、実際に観察された変動の解析を考慮することで、DDI リスクの予測精度の向上も期待される。

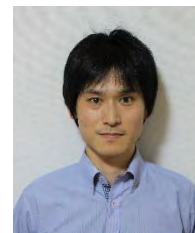
参考文献 1) Chu X et al *Clin Pharmacol Ther* 104:836, 2018, 2) Rodrigues AD, et al *Clin Pharmacol Ther* 103:434, 2018, 3) Yoshikado et al *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* 7:739, 2018, 4) Takehara et al *Pharm Res*35:138, 2018, 5) Nakada et al *Drug Metab Pharmacokinet* 33:103, 2018, 6) Imamura et al *Clin Pharmacol Ther* 89:81, 2011.

Drug transporters that act as xenobiotic detoxification systems accept diverse compounds as substrates. Those include endogenous metabolites, which are accumulated in the body when transporter activity is significantly decreased. Hence, they could serve as surrogate probes to investigate transporter-mediated drug-drug interaction in early clinical stage of drug development. This presentation will introduce the recent progress in identification of endogenous substrates for drug transporters, such as OATP1B, OAT1, OAT3 and MATE1/2K using clinical samples, and their performance. Furthermore, conducting model-based analysis of drug-endogenous compounds interaction data using a physiologically-based pharmacokinetic models is expected to improve prediction accuracy of DDI risk.

内因性物質を指標とした腎不全時の CYP3A 活性の評価

(明治薬科大学薬剤情報解析学研究室)

○鈴木 陽介



Evaluation of CYP3A activity in patients with kidney failure using endogenous substances

Yosuke Suzuki

Department of Medication Use Analysis and Clinical Research, Meiji Pharmaceutical University

4 β -Hydroxycholesterol (4 β -OHC) は、内因性コレステロールが CYP3A により代謝されることで生成する。そのため、血漿中 4 β -OHC 濃度は *in vivo* での CYP3A 活性の指標として活用されている。4 β -OHC は、CYP7A1 により代謝され緩やかに消失するが、CYP7A1 活性は腎機能に依存しないことが報告されており、4 β -OHC は腎不全患者における CYP3A 活性の指標として特に有用であると考えられる。

CYP3A の発現量や代謝活性には大きな個人差があり、その個人差の要因として、遺伝的、環境的および生理的要因が報告されている。生理的要因の一つとして、腎機能障害は CYP3A 活性を低下させることが報告されている。その詳細な機序は未だ不明だが、蓄積した尿毒症物質、副甲状腺ホルモン、および interleukin-6 (IL-6) や tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) などの炎症性サイトカインの影響が報告されているが、ヒトにおける検討はほとんどなされていない。

本発表では、腎不全患者における CYP3A 活性を血漿中 4 β -OHC 濃度を指標にして評価し、その変動要因を探索した研究を紹介する。

4 β -Hydroxycholesterol (4 β -OHC) is formed solely by cytochrome P450 (CYP)3A and have been reported to be useful markers for CYP3A phenotyping *in vivo*. 4 β -OHC is slowly eliminated from the circulation due to slow 7 α -hydroxylation by CYP7A1 and CYP7A1 is not affected by renal failure, suggesting that the kinetics of 4 β -OHC is not affected by renal function. Hence, 4 β -OHC is suitable for the evaluation of CYP3A activity in patients with kidney failure.

The expression level and activity of CYP3A show large intra- and inter-individual variability, which contributes to unpredictable drug response and toxicity. A multitude of genetic, environmental, and physiologic factors have been reported to influence the variability of CYP3A expression and activity. As the physiologic factor, kidney failure is known to decrease CYP3A activity in humans. Some uremic toxins, parathyroid hormone (PTH), and inflammatory cytokines such as interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) have been reported to induce downregulation of CYP3A in kidney failure. However, the effects of the factors on CYP3A activity in humans remain unknown.

The purpose of this presentation is to introduce the recent studies which show CYP3A activity and the factors to affect CYP3A activity in patients with kidney failure using plasma 4 β -OHC concentrations.



Bioanalysis of endogenous biomarkers for transporters-mediated DDI evaluation – method development, validation and implementation consideration

Jianing Zeng

Bristol-Myers Squibb Company

A new chemical entity (NCE) entering clinical development can potentially cause drug–drug interactions (DDIs) by inhibiting or inducing the drug-metabolizing enzymes or transporters responsible for elimination of co-administered drugs. Several transporters (OATP1B1, OATP1B3, OAT1, OAT3, OCT2, MATE1 and MATE2-K, etc.) are responsible for the cellular uptake and efflux of various endogenous compounds in liver, kidney and intestine. These transporters are important in the absorption and disposition of a number of drugs and are the rate-determining step for drug clearance. For example, OATP-mediated DDIs are a substantial cause of drug toxicities and one of the major reasons of cerivastatin withdrawal from the market. Understanding the transporter-based interactions of a drug candidate with frequently co-administered medications is important for patient safety and is also required as part of the regulatory application for new drugs.

Traditionally, formal clinical DDI studies are required to evaluate the transporter DDI potential. These studies can be expensive and time consuming. The ability to use endogenous markers to predict transporter-mediated DDI in vivo could provide significant cost savings, decrease false positive predictions without unnecessary risks for DDI study participants, and the information could be obtained earlier in development, ie, during the first-in-human study.

In order to validate coproporphyrins (CPI/CPIII), 1,14-tetradecanedioic acid (TDA), 1,16-hexadecanedioic acid (HDA), pyridoxic acid (PDA) and others as endogenous biomarkers for evaluating OATPs, OATs and other transporters-mediated DDIs, robust quantitative assays for these biomarkers have been developed in our laboratory with established selectivity, accuracy, precision, sensitivity, dynamic range, reproducibility, stability, dilution linearity and parallelism according to FDA guidance fit-for-purpose validation. The focus of my presentation will be on method development, validation and implementation consideration for these transporter biomarkers. Some data from biological samples showing potential utility of the assays will also be presented. In addition, BMS bioanalytical strategy supporting the endogenous biomarkers will be discussed.

CYP3A 活性のバイオマーカーの分析法設定とバリデーション

(塩野義製薬株式会社¹、シオノギテクノアドバンスリサーチ株式会社²)

○竹田 友理¹、池原 達矢¹、橋本 公美¹、二宮 瑞樹¹、熨斗 英里子¹、
橋本 広志²、森田 宏俊²、早川 潤¹、大川 友之¹、大西 秀一¹、長谷川 博司¹

Development and validation of an LC-MS/MS method for determination of biomarker of CYP3A activity

Yuri Takeda¹, Tatsuya Ikehara¹, Kumi Hashimoto¹, Mizuki Ninomiya¹, Eriko Noshi¹,
Hiroshi Hashimoto², Hirotoshi Morita², Jun Hayakawa¹, Tomoyuki Ohkawa¹, Shuichi Ohnishi¹, Hiroshi Hasegawa¹

¹ Shionogi & Co., Ltd., ² Shionogi Techno Advance Research & Co., Ltd.

薬物相互作用 (drug drug interaction; DDI) により薬物の作用が増減する場合、予期せぬ副作用が生じる場合があるため、開発候補化合物の DDI ポテンシャルを把握することは高い有効性と安全性を有する新薬を開発する上で重要である。現在、DDI の要因となる薬物代謝酵素 cytochrome P450 (CYP) に関して、開発候補化合物の in vitro における誘導・阻害能、臨床用量や血漿中濃度等から DDI ポテンシャルを見積った後、臨床 DDI 試験で併用薬の血漿中濃度に及ぼす影響を評価している。臨床 DDI 試験前に DDI ポテンシャルを把握することは、臨床 DDI 試験の条件設定や臨床 DDI 試験の回避による開発費用の削減に有用であることから、臨床 DDI 試験前の phase1 試験時に DDI ポテンシャルを把握することが可能となる血漿中バイオマーカー探索を行った。

まずラット血漿を用いて CYP の活性変動と関連するバイオマーカーの探索を実施した結果、4β-Hydroxycholesterol (既報) 及び 25-hydroxycholesterol を候補として見出し、更に in vitro 試験において、ヒト CYP3A4 で生成することを確認した。LC/MS/MS を用いて、複数の hydroxycholesterol の異性体分離を達成し、誘導体化することなく高感度にヒト血漿中濃度を測定できる条件を設定した。また、分析法バリデーションは、検量線・精度・真度及び安定性を実施し、いずれも良好な結果であった。

健常成人に CYP3A の強い誘導剤 rifampicin 及び強い阻害剤 itraconazole を経口投与後の、バイオマーカー候補のヒト血漿中濃度を測定した。その結果、4β-hydroxycholesterol は rifampicin 投与群において約 5 倍の上昇が認められたが、itraconazole 投与群での変動はわずかであった。25-Hydroxycholesterol は rifampicin 投与群では、変動は認められなかった。以上の結果から、4β-hydroxycholesterol は誘導による影響を確認できるバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

Two CYP3A-DDI biomarker candidates, 4β-hydroxycholesterol and 25-hydroxycholesterol, were identified. After a sensitive LC-MS/MS method was developed and validated, the candidates in human plasma were measured. The concentration of 4β-hydroxycholesterol were increased by rifampin, however, there was little change of the concentrations of 25-hydroxycholesterol. Therefore, 4β-hydroxycholesterol could be useful DDI biomarker to predict CYP induction.



ICH M10 and FDA 2018 BMV Guideline: Feedback from the EBF

Stephen White

GlaxoSmithKline R&D, UK

In this presentation, Steve will provide feedback from the European Bioanalysis Forum (EBF) regarding two recent topics of key importance to the bioanalytical community:

Since formation of the ICH M10 Working Group, the EBF has sought to discuss and highlight areas of concern across the industry, where the existing Health Authority BMV Guidelines offer ambiguity or contain conflicting expectations. To that end, in 2017 EBF collaborated with JBF and AAPS to hold “sister meetings” in Weehawken (USA) and Lisbon (Portugal), where industry experts discussed their hopes and expectations for a harmonized BMV Guideline, providing feedback to the industry representatives from the ICH M10 Expert Working Group who attended those meetings. Steve will briefly share the key feedback from the Lisbon meeting and share the EBF plans for 2019, as it seeks work with the industry during the public consultation period for ICH M10.

In May 2018, the FDA BMV Guideline became effective. Many in industry are now working to interpret this new guidance document and implement process changes within their organizations. EBF conducted a survey of its members to highlight any areas of ambiguity or misunderstanding. The topics highlighted were discussed during the EBF Year End Members Meeting (2018, Barcelona) and then subsequently shared during the 10th EBF Open Symposium (2018, Barcelona), as part of a panel discussion which included industry experts from Europe, US and a representative from the FDA CDER. Steve will share a summary of the discussion points highlighted by EBF and of the Open Symposium panel discussion session.



LC/MS によるアンチセンス医薬品の測定法開発と標準化への取り組み

(国立衛研・医薬安全科学部¹、LSIメディエンス株式会社²、国立衛研・遺伝子医薬部³)

○孫 雨晨¹、新田 真一郎²、齊藤 公亮¹、吉田 徳幸³、井上 貴雄³、
細貝 龍太²、中井 恵子²、斎藤 嘉朗¹

Development of bioanalytical method for antisense therapeutics and challenge on its standardization

Yuchen Sun¹, Shin-ichiro Nitta², Kosuke Saito¹, Tokuyuki Yoshida³, Takao Inoue³, Ryuta Hosogai², Keiko Nakai², Yoshiro Saito¹.

¹ Division of Medical Safety Science, National Institute of Health Sciences,

² LSI Medience Corporation,

³ Division of Molecular Target and Gene Therapy Products, National Institute of Health Sciences.

Antisense therapeutics are chemically synthesized single-stranded oligonucleotides, which account for the greatest proportion of clinical available oligonucleotide therapeutics as well as those under clinical trials. Antisense therapeutics (hereafter referred to as antisense oligonucleotides, ASOs) bind to target mRNAs or pre-mRNAs, after which ASOs can be effective by suppressing target gene expression via RNase H1-dependent RNA degradation or modulating splicing patterns of target genes. Recently, liquid chromatography coupled with high resolution mass spectrometry (LC/MS) has gained substantial attention in the field of ASOs bioanalysis in terms of highly sensitive detection of original ASO molecules as well as their potential metabolites. However, despite substantial experimental effort on the development of its bioanalytical method, the appropriate sample preparation and analytical methods are still not well-established and standardized. Therefore, in moving forward towards practical application of LC/MS-based ASOs bioanalysis in clinical and pre-clinical studies, using mipomersen (clinical available ASO for homozygous familial hypercholesterolemia patients) as a model ASO, we aimed to develop an easy and reproducible extraction and analytical method for LC/MS-based ASOs measurement. As for extraction step, we first compared phenol-chloroform-based liquid-liquid extraction with Clarity OTX solid phase extraction using rat plasma spiked with mipomersen without 2'-O-methoxyethyl moieties. Our results demonstrated that Clarity OTX showed significantly higher recovery rate than the conventional method ($p < 0.01$). By further optimizing the extraction method using Clarity OTX, we successfully achieved $>80\%$ recovery of mipomersen from rat plasma. Next, the extracted mipomersen was separated using ion pair chromatography equipped with metal-free C8 separation column, where triethylamine and 1, 1, 1, 3, 3, 3-hexafluoro-2-propanol were used as additives. Afterwards, mipomersen was detected by high resolution MS using multiplexing MRM mode. As a result, standard curve built by extracted mipomersen samples showed good linearity (0.8 - 400 ng/mL, $r^2 = 0.9997$). Importantly, no carry-over peak was observed in processed matrix blank sample after the measurement of 400 ng/mL sample. Overall, we developed highly sensitive analytical method for mipomersen in the current study. Although multi-center validations are necessary for its standardization, our data demonstrate that Clarity OTX-based preparation followed by LC/MS detection would be a useful method for ASOs bioanalysis. Besides the above-mentioned results, we will also present important technical points upon bioanalysis of ASOs.

D3-1A-2



Hybrid Immunoaffinity LC-MS/MS Pharmacokinetic Assays in the Development of Biologic Protein Drugs

Surinder Kaur

Genentech, a Member of the Roche Group

Small molecule bioanalysis is typically performed by LC-MS/MS, whereas, ELISA is the commonly used method for the quantification of protein biotherapeutics. More recently protein biotherapeutics are often structurally complex, with formats including fusion proteins, antibody-drug conjugates, bispecifics, antibody fragments and cyclic peptides. This has led to the development of new hybrid bioanalytical strategies involving affinity capture (IA) and LC-MS/MS as an alternative approach for protein bioanalysis. Key advantages of hybrid methods include high selectivity, minimal matrix effects, and multiplexing capabilities. Signature peptides unique to the therapeutic mAb can be identified by performing in silico digestion with trypsin and are used for quantification of the protein. Various analyte enrichment approaches can be evaluated to develop an IA LC-MS/MS method for the quantification of a biotherapeutic. Reagents that are not of suitable quality for ELISA may be used in the affinity capture analyte enrichment step of hybrid IA LC-MS/MS. For antibodies, generic binding enrichment reagents such as protein A may be used to determine “total” biotherapeutic concentrations. Specific reagents such as target antigen or anti-idiotypic antibodies may be used to determine “free” therapeutic concentrations. This talk will present highlights of IA LC-MS/MS pharmacokinetic assay development and validation with a variety of nonclinical and clinical drug development case studies.

PPC株式会社 One Company, World-Class Solution

台湾 Taipei

Taiwan Central Lab 分析業務:

OECD-GLP, TW-GLP, CAP, NGSP 認証獲得

申請実績: 日本、台湾、アメリカ、マレーシア、フランス、インド、フィリピン、ベトナム、インドネシア

中国 Xuzhou

China Central Lab 分析業務:

申請実績: 中国 (NMPA)



〒101-0043

東京都千代田区神田富山町6番地
松崎ビル3F

Tel: 03-5289-7476

Fax: 03-5289-3108

e-mail: contact@ppcck.co.jp

初期 ADME 評価における高分解能 MS の活用

(小野薬品工業株式会社 薬物動態研究部)

○加藤 純也、小島 好美、松永 憲和、今若 治夫

Early phase ADME evaluation using High-Resolution Mass Spectrometer

Junya Kato, Yoshimi Kojima, Norikazu Matsunaga, Haruo Imawaka

Pharmacokinetic Research laboratories, Ono Pharmaceutical Co., LTD.

新薬開発の初期段階においては、新薬候補として合成された数多くの化合物をタイムリーに評価することで、合成展開や研究開発の意思決定に貢献することが重要である。薬物動態分野においては、ADME スクリーニングや PK スクリーニング等の多くの業務が発生するが、濃度測定については長きに渡って LC-MS/MS がその中心を担っており、当面その傾向は変わらないと予測される。LC-MS/MS は、他の測定法と比較して多くの利点がある一方で、化合物毎の測定条件が必要である、Product ion を生成しにくい化合物の測定には向いてない等の課題もある。

高分解能 MS (HR-MS) は、LC-MS/MS とは異なり、測定に構造由来の精密質量を使用することから、未変化体や代謝物を問わず、測定対象が決まっていれば条件検討を行わずに分析することも可能である。一方で、定量感度、ダイナミックレンジ、スキャンスピード等に課題があると考えられ、これまでは定性測定が主流であり定量測定に使用される例が少なかった。しかしながら、近年の機器性能の向上に伴い、定量目的での利用が増えつつあると感じている。

本講演では、Q Exactive (サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社) を用いて、これまで我々が取り組んできた ADME スクリーニングにおける代謝安定性評価 (定量/定性同時評価) および PK スクリーニングにおける血中濃度測定について紹介する。

In the early stages of new drug development, it is important to contribute to synthetic plan and R&D decision making by timely assessment of a number of compounds. In the pharmacokinetic field, evaluation and optimization of ADME screening and PK screening data plays an important role in drug discovery and development. LC-MS/MS has been playing a central role in the measurement for a long time, and this trend is considered unchanged for the time being. While LC-MS/MS has many advantages, it also requires conditioning for each compound and is not suitable for the compounds that are unlikely to generate product ion.

High-resolution MS (HR-MS) uses precise masses derived from molecular formula. Therefore, it is possible to analyze unchanged compounds and metabolites without conditioning. In the meantime, there seemed to be problems such as sensitivity, dynamic range, scanning speed, we feel that the use for the quantitative purpose has been increasing with the improvement in the equipment performance in recent years.



Enzyme-linked Oligosorbent Assay (ELOSA) による核酸分子の定量分析

(株式会社新日本科学 薬物代謝分析センター)

○小谷 洋介

Quantification of Nucleic Acid Molecule by Enzyme-linked Oligosorbent Assay (ELOSA)

Yosuke Kotani

Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd., Pharmacokinetics and Bioanalysis Center

核酸分析法は LC-MS/MS や PCR による分析など種々存在する。それらの分析法の一つとして Hybridization の原理を Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) と組み合わせた Enzyme-linked Oligosorbent Assay (ELOSA) が知られている。ELOSA では Horseradish peroxidase などの酵素標識抗体により発色基質や蛍光基質を反応させて定量する分析法が用いられている。今回、核酸医薬品を投与したカニクイザルの血漿における核酸定量法として、Ligand binding assay (LBA) において ELISA と同様に用いられている Ruthenium 標識体を用いた電気化学発光分析法及び自動 LBA 分析機器 (Gyrolab xP workstation) による Alexa 標識体を用いた蛍光分析法の二つの方法を構築し、分析法の高感度化及び分析手順の簡略化等について比較した。感度の点では自動 LBA 分析機器を用いた分析法より電気化学発光分析法が約 4 倍高い感度で分析できた。一方、自動 LBA 分析機器では手順の半分程度を自動で行うことができ、分析手順の簡略化が可能であった。また、ELOSA は 2 種類のオリゴプローブを用いた方法が多く用いられているが、1 種類のオリゴプローブにした分析法の有用性についても各手法で比較して検証したので、その結果を報告する。

There are various analytical methods such as analyses using LC-MS/MS or PCR for analyses of nucleic acid molecules. Enzyme-linked Oligosorbent Assay (ELOSA) which combines the principle of Hybridization with Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) is known as one of those analytical methods. In ELOSA, using horseradish peroxidase among others, color or fluorescence according to the enzyme reaction using a chromogenic or fluorogenic substrate is measured and quantified. This time, to determine pharmaceutical product in plasma from cynomolgus monkeys administered with nucleic acid pharmaceuticals, an electrochemiluminescence analytical method, using a ruthenium conjugate (Meso QuickPlex SQ 120) and a fluorescence analytical method incorporating an alexa conjugate [Gyrolab xP workstation (automatic LBA analytical instrument)], used like ELISA in a ligand binding assay (LBA) as an analytical method, was developed and its sensitivity and simplification compared. The electrochemiluminescence analytical method had approximately 4 times higher sensitivity than that of the automatic LBA analytical instrument. On the other hand, half of the analytical procedure could be automated with the automatic LBA analytical instrument, simplifying the analysis procedure. Many ELOSA methods using two oligoprobes are employed, however, in this presentation we report the comparison and results obtained with a one oligoprobe approach.



Simple Quantitative Imaging Mass Spectrometry for Drug Distribution Analysis in Tissues

Yukari Tanaka¹ and Ken-ichi Nezasa²

¹ Shionogi & Co., Ltd., ² Shionogi Techno Advance Research Co., Ltd.

Mechanistic understanding of pharmacological and toxicological events *in vivo* can improve the chances of a candidate compound in succeeding in clinical trials. Many analytical tools aim in the assessment of the *in vivo* distribution of a drug and its metabolites in target tissues. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC–MS/MS) with electrospray ionization has been extensively used in drug distribution studies. However, LC–MS/MS cannot provide spatial information on the drug's distribution within an organ because the analyte is extracted for quantification from homogenized tissue samples. Matrix-assisted laser desorption/ionization imaging mass spectrometry (MALDI–IMS) was used to directly visualize the distribution of small (drugs, lipids, and endogenous metabolites) and large molecules (peptides and proteins) in tissue sections without labeling. According to the reported quantitative MALDI–IMS methods, the calibration curves were prepared using the sample solutions formed after drug was spotted onto blank tissue surfaces or spiked in blank tissue homogenates. These methods have required complicated procedures to prepare the calibration curves for quantitative MALDI–IMS owing to the sampling of some blank tissues, preparations of blank tissue sections, and/or blank homogenate block samples, at every IMS measurement. Therefore, a lot of times were necessary to obtain the tissue concentrations of each drug using the previous quantitative MALDI–IMS methods.

Epertinib (S–222611) is a potent, reversible, and selective tyrosine kinase inhibitor of the epidermal growth factor receptors (EGFR), human EGFR2 (HER2), and human EGFR4. We developed a simple quantitative MALDI–IMS methodology to analyze the concentrations of epertinib and lapatinib as competitive agents in brain metastasis regions in intraventricular injection mouse models (IVMs) of HER2-positive breast cancer (MDA–MB–361–luc–BR) or T790M–EGFR-positive lung cancer (NCI–H1975–luc) cells. The calibration curves of epertinib and lapatinib elicited good linear responses and broad dynamic ranges, and were constructed for quantitative MALDI–IMS by spotting standard solutions onto the glass slides with the administered brain sections without blank tissue sections. We confirmed in this study that epertinib and lapatinib were sufficiently extracted from brain sections of the HER2-positive breast cancer IVM after oral administrations. Based on the calibration curve, extremely low variabilities (RSD < 20%) were elicited at each concentration of epertinib. Moreover, epertinib concentrations observed in brain sections of the T790M–EGFR-positive lung cancer IVM as quantified by the MALDI–IMS methodology were similar to those by LC–MS/MS. Our reproducible and quantitative MALDI–IMS method would be very useful in selecting prospective drug candidates at early stages of drug discovery and development because it allows a mechanistic understanding of the efficacy and toxicity and pharmacokinetic/pharmacodynamic analysis of candidate compounds.

Reference

Y. Tanaka et al., *Sci. Rep.* 8, 1–12, 2018.

早期臨床試験におけるバイオアナリシスの活用

(北里大学医学部 臨床研究センター, 北里大学病院)

○熊谷 雄治

**Leverage of Bioanalysis in Early Clinical Trials**

Yuji Kumagai

Kitasato Clinical Research Center, Kitasato University Hospital

To secure safety of subjects is the primary interest in conducting early clinical trials, and it is essential to utilize bioanalysis for the safety. The tragedy cannot be forgotten that occurred during the first in human trial in France, which might have been avoided if drug concentrations were monitored carefully. In most of the cases, pharmacological effects (PD) and adverse effects depend on drug concentration, and pharmacokinetic (PK) information is extremely important to assess the safety of a drug and essential for step-up-criteria in FIH studies. Another aspect of PK is “microdose” study. The microdose study is a convenient tool in some cases of drug developments but the dose will be very low and drug assay should be very sensitive. Thus, in early clinical trials, desired characteristics of PK assay will be speed and sensitivity.

PD is also important in early clinical trials for safety and efficacy. What we need most now is specific and sensitive markers for acute organ injury. For instance, AST/ALT are not specific enough and serum creatinine responds too late. Quest for new safety markers is also expected.

D3-2B-1

GLP ラボにおける機器・システム運用の実際 (LC-MS/MS を中心として)

(日本 QA 研究会 GLP 部会、シミックファーマサイエンス株式会社)

○草川 佳久



Practical Operation of Equipment and System in a GLP Laboratory (the main focus on LC-MS/MS)

Yoshihisa Kusakawa

Japan Society of Quality Assurance GLP Division, CMIC Pharma Science Co., Ltd.

日本 QA 研究会 GLP 部会 第 3 分科会では、非臨床での電子データ及びコンピュータ化システムの信頼性を確保するための具体的な手順を検討し、提案することを目的に活動をしている。テーマの一つとして機器・システム稼働後の運用管理について検討を行っている。

2016 年 4 月に発行された OECD-GLP Advisory Document No.17 には、GLP 試験で利用される機器及びシステムは性能や使用上のリスクに応じて分類し、カテゴリ毎の適切な運用管理基準・手順を定義することの必要性が示された。本ガイドへの対応として、GLP 施設にて利用されている簡易な機器から、総合的システムまで広い範囲で機器・システムを分類し、運用管理を提案することを目的として検討を行った。GLP では毒性試験法ガイドラインに従って定型的な試験が実施されることが多く、施設で保有する機器・システムの種類は限定されていた。これらを性能及びリスク等の切り口で 8 段階に分類し、カテゴリ毎に運用方法を定義した。

今回は、機器・システムの分類結果、レベル毎の運用管理手順についての検討結果を報告する。

また、スタンドアローン仕様で利用され、電子データを生データとして使用されている LC-MS/MS を例とした、データインテグリティ確保のための運用管理方法を紹介する。

The activity focus of Study Group 3, Good Laboratory Practice (GLP) Division of Japan Society of Quality Assurance is to investigate and propose detailed procedures to ensure the reliability of electronic data and computerized systems of non-clinical studies.

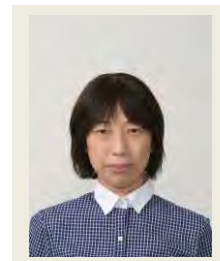
GLP Advisory Document No. 17, issued by OECD in April 2016, proposed that equipment and systems used in GLP studies be categorized by their performances and risks and to establish appropriate guidelines and procedures for operation management in each category. To conform to this guidance, we categorized a wide range of equipment and systems used in GLP facilities, ranging from simple devices to integrated systems, and proposed their operation management method.

In GLP facilities, routine studies are often conducted in accordance with the Guidelines for Toxicity Studies of Drugs and the types of equipment and systems possessed by the facilities were limited. We classified these equipment and systems into eight categories according to their performances, risks, and other factors, and established the operating methods in each category.

測定データの信頼性確保の視点

(日本 QA 研究会 GLP 部会、中外製薬株式会社)

○伊藤 美佐江



Point of view to assure the analytical data

Misae Ito

Japan Society of Quality Assurance GLP Division, Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

測定データの完全性を確保するため、GLP 省令では、データの収集、解析及び保存に使用する機器について、適切に維持し、校正することが求められている。測定機器の管理では、機能レベルに応じた Qualification/Software validation が求められている。

また、GLP-QAU には、機器により処理されるデータの信頼性を保証するために、そのライフサイクルを通じた Qualification/Validation の調査手順を作成し、調査を実施することが求められている。

適切に Qualification/Validation された機器を用いることで、データの信頼性が高まる一方、機器が検証されていることを過信し、運用面の対応に綻びが生じ、試験操作や運用管理の記録、報告書作成過程に問題が生じる場合がみられる。

そこで、GLP-QAU は上述の調査に加え、関連文書(試験計画書、最終報告書等)及びプロセス(試験操作等)の調査を通じて、測定データの信頼性確保に関わっている。

今回は LC/MS/MS を含む測定機器を用いたサンプル測定(試験計画書の作成から最終報告書の作成までを含む)における QAU 調査時の具体的な視点を紹介する。

GLP 試験データは検証された機器を準備し、職員・手順・技術(システム機能)を効果的に組み合わせることで運用することによって完全性が確保されることを意識する必要がある。QAU はこの点を考慮して調査をすすめ、測定データの信頼性確保に貢献している。

The Good Laboratory Practice (GLP) ordinance requires appropriate maintenance and calibration of equipment used for data collection, analysis, and storage to ensure the integrity of analytical data.

In addition, a GLP-quality assurance unit (QAU) is required to develop standard operating procedures (SOPs) for inspecting qualification/validation throughout the life cycle, and to inspect the equipment to ensure the reliability of data processed by the equipment.

Although the use of appropriately qualified/validated equipment can improve data reliability, overreliance on such validated equipment may lead to problems with operational activities.

For this reason, GLP-QAU is involved in the inspections above, as well as the inspection of related documents and processes (test procedures, etc.) to ensure the reliability of analytical data.

In this presentation, I will present detailed viewpoints of QAU on inspection of sample measurement using measuring equipment such as LC/MS/MS.

We need to recognize that the integrity of GLP study data can be ensured by preparing validated equipment and effectively educated staff, procedures, and technology. Taking this point into account, QAU conduct the inspections and contribute to ensuring the reliability of analytical data.



ICH S3A Q&A 日本語訳の解説

(独立行政法人 医薬品医療機器総合機構)

○西村 次平

Commentary on the ICH S3 Q&A document

Jihei Nishimura

Pharmaceuticals and Medical Devices Agency

トキシコキネティクス評価が毒性試験に導入されたことにより、被験物質の全身暴露が明らかになるだけでなく、血中暴露量等を指標に毒性との関係性を考察することが可能となった。その結果、TK 評価は、ヒトにおけるリスクを推定する上で、重要なツールになっている。近年、測定機器の分析感度の向上による測定試料の微量化により、マイクロサンプリング技術を TK 評価に広く使用することが可能となった。そのような背景のもと、TK 評価におけるマイクロサンプリング手法の利用促進を目的に ICH S3A ガイドライン Q&A が作成され、2017 年 11 月に Step 4 に到達し最終化された。本講演では、ICH S3A ガイドライン Q&A 日本語訳について、概説したい。

Introduction of toxicokinetics (TK) evaluation into toxicity study revealed systemic exposure of test compounds in test animals. In addition, TK evaluation enabled the understanding of the relationship between the toxicity and systemic exposure. As a result, TK evaluation is now becoming an important tool to estimate the risk in human. Recently, improved analytical sensitivity of measurement instrument has made the amount of a specimen required for measurement and enabled microanalysis smaller and made microsampling techniques available for TK evaluation. Based on such that background, ICH S3A Q&A was established aiming at facilitating microsampling techniques and was finalized: reaching step 4. In this presentation, the Japanese version of ICH S3 Q&A document will be discussed.



マイクロサンプリングに関わる海外の状況

(国立医薬品食品衛生研究所)

○斎藤 嘉朗、齊藤 公亮

Status of microsampling application in foreign countries/region

Yoshiro Saito, Kosuke Saito

National Institute of Health Sciences

ICH S3A「トキシコキネティクス(毒性試験における全身的暴露の評価)に関するガイダンス」のマイクロサンプリングに関する Q&A が最終化された。この Q&A は、測定系の高感度化に加え、欧州における動物愛護の動きからトピック化されたものである。従って、本邦より海外の方が取り組みの歴史が長く、既に多くの論文が企業から発表されている。キャピラリーを用いたマイクロサンプリングに関しては、GLP 毒性試験への適用が 2017 年に報告されている。1 時点につき、32 μ L 採血されているが、これまでに 12 種のプロジェクトにおいて、26 の GLP 試験に適用された。また Dried blood spot (DBS) に関しては、2015 年にカードを用いた妊娠ラットからの尾静脈採血に関する論文が発表され、DBS 測定値からの換算結果と血漿測定値との相関が報告されている。最近では、Volumetric absorptive microsampling を用いた方法に関するバイオアナリシスに関する論文も複数報告されている。なお、英国では The National Center for the 3Rs が、英国国会の報告書に対応する形で 2004 年に設置され、Medical Research Council の傘下で活動しており、その目標の一つにマイクロサンプリングの普及がある。27 社と行政担当者が参加するワーキンググループが設置されており、論文化されていないデータの公開などを行っている。

さらに臨床応用としては、2018 年に、抗生物質のマイクロサンプリングに関するシステマティックレビューが発表されたが、主として小児や状態の悪い患者を対象に行われた Dried spot を用いる方法であったと報告している。また同年、日本でも、ゲフィチニブを投与された患者から指先採血した全血を DBS で収集し測定したところ、血漿の結果と良い相関が得られたとの報告がある。

講演ではこれら海外を中心としたマイクロサンプリングに関する動向に関し概説する予定である。

ICH S3A Q&A, focus on microsampling was finalized in 2017. In addition to increasing the sensitivity of drug measurement apparatus, this Q&A became a topic based on the movement of animal welfare in Europe. Therefore, longer history on microsampling application is in Europe than in Japan, and thus many papers have already been published from foreign companies. For capillary microsampling, its application to GLP toxicity studies was reported in 2017, in which 32 μ L of blood has been drawn per time point. They have applied to 26 GLP tests in 12 projects. As for dried blood spot (DBS) using cards, a report on blood collection of tail vein from pregnant rats was published in 2015, and showed a good correlation between the data from the DBS measurement and those from the plasma measurement. Recently, several papers using Volumetric absorptive microsampling have also been reported. The National Center for the 3Rs was established in 2004 to correspond to the UK Parliament report, and is operated under the Medical Research Council. One of its target issues is microsampling. Furthermore, for clinical application, a systematic review on microsampling of antibiotics was publicized in 2018. In

Japan, DBS was used to collect blood from fingertips of gefitinib-administered patients, and a good correlation of the DBS measurement was seen in those with plasma. We will show the outline of the trends related to microsampling, mainly in foreign countries.

D3-2C-3

毒性評価と TK～経時的採血とスパースサンプリングについて～

(Axcelead Drug Discovery Partners 株式会社)

○大塚 博比古



Toxicity evaluation and TK –Time Course Sampling and Sparse Sampling

Hirohiko Ohtsuka

Axcelead Drug Discovery Partners, Inc.

ICH S3A の Q&A 発行を受け、各施設でのラット・マウスの毒性試験においてマイクロサンプリング法が導入されてきている。しかし、マイクロサンプリングが毒性評価に与える影響を最小化するためには、採血部位、一回当たりの採血量、採血回数、採血器具などの採血方法を最適化する必要がある。

本セッションでは、これまで我々が報告したラット及びマウスにおけるマイクロサンプリング採血法の毒性評価に及ぼす影響に関するデータを紹介すると共に、経時的採血法及びスパースサンプリング法の利点と欠点について考察する。本セッションが、今後のマイクロサンプリング法のスタンダードを確立する材料となり、毒性試験における効率的かつ有効な TK データ取得に繋がることを期待したい。

Blood microsampling in toxicity studies are introducing in many facilities according to ICH S3A Q&As. However, it is important to consider the methods of microsampling other than bioanalytical procedures such as the site of blood collection, the volume and the number of samples taken in a given period, and the type of blood collection device for minimizing the effects of microsampling on toxicological evaluation.

In this session, I will present the data about the effects of microsampling on toxicological parameters in rats and mice. The pros and cons in time course sampling and sparse sampling methods will be discussed. It is hoped that this presentation provides an opportunity for determining the standard method in blood microsampling and leads efficient and effective TK data acquisition in toxicity studies.



毒性評価とTK～採血部位とデバイスについて～

(株式会社LSIメディエンス)

○赤川 唯、村田 英治、中井 恵子、岩井 淳

Toxicity evaluation and TK - Blood sampling site and device -

Yui Akagawa, Eiji Murata, Keiko Nakai, Atsushi Iwai

LSI Medience Corporation

マイクロサンプリング法は、2017年11月のICH総会にてQ&Aが最終化され、小動物を用いた試験においても同一個体で暴露量の確認と毒性評価を行うことができ、かつ動物福祉にも貢献できる有用な技術のため、より一層普及していくことが予想される。

一方で、従来のサンプリング法との同等性や主試験群の動物からの採血が毒性評価に及ぼす影響に関する報告が十分とは言えない。また、採血の部位、手技、器材(デバイス)、血液処理法など検討を要する様々な課題が残されているのが現状である。

我々は、マイクロサンプリングに関する基礎的検討結果を第44回(2017年)及び第45回(2018年)日本毒性学会学術年会において報告し、現在も検討を継続している。本発表では、これまでに実施したマイクロサンプリングの採血部位の違いによる各種毒性評価や薬物動態への影響やこれまで使用してきたデバイスとその使用方法について紹介する。

The Q&A on Microsampling (MS) was finalized at the ICH assembly meeting held in Nov. 2017. MS is a useful technique in which safety data and drug exposure can both be evaluated in the same animals in studies using rodents, which also contributes to animal welfare. Therefore, MS is expected to become more popular due to these advantages.

On the other hand, reports on the equivalence of MS with conventional blood sampling methods and the effects on toxicity evaluation of blood sampling from animals in the main study group are not sufficient. In addition, under present circumstances, there are various issues that need to be studied such as the site of blood sampling, procedure, equipment (device), blood treatment method, etc.

We reported the results of our fundamental studies on MS at the 44th (2017) and 45th (2018) annual meeting of the Japanese Society of Toxicology, and are continuing to conduct studies. In this session, we will be introducing the effects on toxicity evaluation and toxicokinetics of different MS blood sampling sites and the methods of use of the devices used in our studies.

自動サンプル前処理装置 **Biotage® Extrahera™**

The Solution to Your Sample Preparation Needs

バイオタージはサンプル前処理を簡単に、効率的に行うためのツールと技術サポートを提供しています。

Biotage® Extrahera™はパワフルでユーザーフレンドリーな自動サンプル前処理装置です。

固相抽出法 (SPE) はもちろん、珪藻土を使用した振らない液液抽出SLE法、リン脂質除去や除タンパク処理など、一般的なサンプル前処理をウェルプレートまたはシリンジカラムで自動化します。



お問い合わせ

バイオタージ・ジャパン株式会社

本 社：〒136-0071 東京都江東区亀戸1-14-4,6F
TEL 03-5627-3123 FAX 03-5627-3121

西日本：〒532-0003 大阪市淀川区宮原5-1-28,4F
TEL 06-6397-8180 FAX 03-6397-8170

URL : <http://www.biotage.co.jp> E-mail : Japan_info@biotage.com



株式会社 新日本科学 薬物代謝分析センター

臨床PK測定, TK測定

LC-MS/MS法

- 薬物濃度測定法の確立・バリデーション
- 薬物濃度の測定・薬物動態パラメータの算出

免疫学的測定 (LBA)

- 薬物濃度測定法の確立・バリデーション
- 薬物濃度の測定・薬物動態パラメータの算出
- 抗薬物抗体測定
- 内因性成分 (ホルモン等)・バイオマーカーの測定

非臨床薬物動態試験

- in vivo 薬物動態試験
(RI標識体 又は非標識体)
- 再生医療等製品の体内分布試験
(Autoradioluminography: ARLG)
- in vitro 薬物動態試験
(RI標識体 又は非標識体)
- in vitro 薬物相互作用試験
- Ex vivo 肝薬物代謝酵素活性測定



薬物代謝分析センター : 〒642-0017 和歌山県海南市南赤坂16-1
Tel: 073-483-8881 Fax: 073-483-7377
つくば分析ラボラトリ : 〒305-0047 茨城県つくば市千現2-1-6 D棟18
Tel: 029-828-5653 Fax: 029-828-5654
本店/安全性研究所 : 〒891-1394 鹿児島市宮之浦町2438
Tel: 099-294-2600 Fax: 099-294-3619
東京本社 : 〒100-0044 中央区明石町8-1 聖路加タワービル28階
Tel: 03-5565-6140 Fax: 03-5565-6141
大阪支社 : 〒541-0044 大阪市中央区伏見町2-1-1 三井住友銀行高麗橋ビル8階
Tel: 06-6233-8432 Fax: 06-6233-8433

<http://www.snbl.co.jp> e-mail: info@snbl.co.jp

ポスター発表 (Poster Presentation)

ポスター／ブース会場： 301+302

閲覧可能時間： 2月12日(火) 13:00-18:30

2月13日(水) 8:45-18:30

発表コアタイム 15:50-16:20 (奇数番号)、16:30-17:00 (偶数番号))

2月14日(木) 8:45-10:30

発表コアタイム 9:05-9:35 (奇数番号)、9:45-10:15 (偶数番号))

DGによる成果発表

- P-DG35: DG2018-35: Accuracy & Precision Criteria を考える (2)
- P-DG36: DG2018-36: LC-MS による核酸医薬品の定量
- P-DG37: DG2018-37: LC-MS 分析における前処理のオートメーション
- P-DG38: DG2018-38: LBA におけるパラレルリズム
- P-DG39: DG2018-39: LBA の失敗&トラブル事例と解決策

JBF の歴史

- P-JBF: JBF の歴史

JBF タスクフォース及び DG による外部発表: European Bioanalysis Forum, 11th Open Symposium

- P-EBF1: Biomarker calibration standards in ligand binding assays: Feedback from JBF
- P-EBF2: Understanding the issues in qPCR bioanalysis before planning validation
- P-EBF3: Recommendations for regulated biomarker analysis using LBA kits

一般演題

- P-1: イオンモビリティを活用した 2D-LC/MS/MS によるヒト血漿中リマプロストの超高感度分析法の開発
- P-2: 関節リウマチの治療に用いられるバイオ医薬品に対する抗薬物抗体分析法の構築と評価
- P-3: Dried Blood Spot (DBS): 国内臨床試験に DBS を適用した初めての経験及び治験施設からの DBS トレーニングの有用性に対するアンケート結果
- P-4: エタネルセプト投与関節リウマチ患者における抗薬物抗体の評価
- P-5: Trap-Elute MicroLC-MS System を用いた低用量での人血漿からサブピコグラムレベルのデスモプレキシンの定量
- P-6: バイオ医薬品の免疫原性評価に用いられる抗薬物抗体分析法の信頼性確保のための留意事項
- P-7: Automated LC/MS/MS Analysis Assisted by MEPS® (Microextraction by Packed Sorbent)
- P-8: The Immunomodulatory Effects of Cancer Therapy on IFN-Gamma Responses in the Periphery
- P-9: Immunocapture-LC-MS/MS 法によるヒト血漿及び血清中 soluble PD-1 濃度分析 -ECL 法との比較-
- P-10: Critical Reagents を characterize する重要性 - TrastuzumAb でのケーススタディ
- P-11: Quantitative Determination of Serum Creatinine in Mice using Hydrophilic

Interaction Liquid Chromatography (HILIC) Coupled with High-resolution Accurate-mass (HRMS) Orbitrap Mass Spectrometer

- P-12: 生体試料中におけるバイオマーカー濃度測定法の比較
- P-13: ヒト血漿中多価不飽和脂肪酸 (PUFA) 代謝物の定量分析における溶血の影響
- P-14: Hybridization 法を用いた核酸医薬の定量法開発
- P-15: 生体中高濃度・低濃度代謝物バイオマーカーのバイオアナリシス
- P-16: 分注装置を用いたオートメーション化
- P-17: ヒト脳脊髄液中のコエンザイム Q10 濃度測定法の開発
- P-18: 自動化による規制下バイオアナリスの効率化
- P-19: Development of a novel LC-ESI-MS/MS method for quantitative determination of endogenous markers in plasma for evaluation of CYP3A induction
- P-20: CYP2A6 遺伝子多型の測定法の検討
- P-21: 抗体医薬に対する抗イディオタイプ DNA アプタマーの獲得とバイオアナリスへの展開
- P-22: 被験物質関連における分析業務の意見交換会
- P-23: LC-MS/MS による抗体医薬品測定法の検討及び評価
- P-24: バイオアナリシス受託施設における SEND 対応とその課題
- P-25: LC/MS/MS を用いたサル血漿中抗体医薬品の濃度測定法の開発及びその評価
- P-26: JMBC という組織の紹介とマイクロバイーム研究について
- P-27: Live Single-cell MS による細胞内リン脂質分析
- P-28: バイオマーカー測定における監査に関する検討
- P-29: イメージング MS を用いた脳卒中易発症系高血圧自然発症ラット (SHRSP) と正常コントロールラット (WKY) の脳内アミノ酸の定量的比較
- P-30: バイオアナリシスにおける監査の課題に関する検討
- P-31: How should we be able to standardize the lipidomics data?
- P-32: Future relationship between Pharma and CRO in bioanalysis outsourcing.
- P-33: Quantitative Data of High-Resolution Mass Spectrometry (HRMS) for Bioanalysis

**DG2018-35: Accuracy & Precision Criteria を考える (2)**

(日本化薬株式会社¹、株式会社サンプラネット²、株式会社新日本科学³、
バイオタージ・ジャパン株式会社⁴、第一三共株式会社⁵、科研製薬株式会社⁶、
全星薬品工業株式会社⁷、株式会社東レリサーチセンター⁸、富士フイルム株式会社⁹
○丹羽 誠¹、石井 琢帆²、植田 あゆみ³、加藤 尚志⁴、中井 直子⁵、
保坂 信哉⁶、真弓 剛⁷、安田 穰⁸、山川 達也⁹

DG2018-35: Giving consideration to accuracy and precision criteria (2)

Makoto Niwa¹, Takuho Ishii², Ayumi Ueda³, Hisashi Kato⁴, Naoko Nakai⁵, Shinya Hosaka⁶, Tsuyoshi Mayumi⁷, Yutaka Yasuda⁸, Tatsuya Yamakawa⁹

¹ *Nippon Kayaku Co., Ltd.*, ² *Sunplanet Co., Ltd.*, ³ *Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.*,

⁴ *Biotage Japan, Ltd.*, ⁵ *Daiichi Sankyo Company, Limited*, ⁶ *Kaken Pharmaceutical Co., Ltd.*,

⁷ *Zensei Pharmaceutical Co., Ltd.*, ⁸ *Toray Research Center, Inc.*, ⁹ *Fujifilm Corporation*

本 Discussion Group (DG) では、ヒト初回投与試験時の代謝物分析への段階的な取り組みの実態と、検討の初期段階で運用される分析法(完成した高精度な分析法ではない)で得られる測定値の質の評価方法を検討した。

検討初期段階における代謝物の暫定的な定量化に分析対象物質と異なるサロゲート標準物質が使用される場合があるが、分析法の検出原理によってはその適切性に疑問も示されている[1]。そこで、医薬品開発上の判断を誤らないために検出方法(質量分析又は紫外吸光、あるいは別試験での放射性標識体測定結果を用いた各検出法の値付け[2,3])の運用がどうあるべきかを検討した。

また、既存の真度及び精度の評価体系では、サロゲート標準物質を用いた定量の適切性をどのように評価するかが明確ではない。そのため、不確かさの概念を導入し、真正な標準物質でなくサロゲート標準物質を使用することによる不確かさ増大がどの程度となるかも検討した。

これらの課題は未開拓で整理すべき点が多いため、会場で幅広く議論を行いたいと考えている。

DG2018-35 discussed the practice of the tiered quantitation of human metabolites in first-in-human studies and evaluation strategies for the accuracy of analytical methods used in preliminary experiments. As inadequate use of surrogate standard may negatively impact the reliability of the analytical results [1], the best practice of selecting and use of detection methods (MS, UV and calibration using radioactivity [2, 3]) was discussed. Further, introducing the idea of inaccuracy to bioanalysis was considered in order to discuss the impact of using surrogate standards instead of authentic standards on the inaccuracy of quantitation.

[1] Hatsis P, Waters NJ, Argikar UA, Implications for metabolite quantification by mass spectrometry in the absence of authentic standards. *Drug Metab. Dispos.* 2017; 45(5): 492-496.

[2] Tozuka Z, Aoyama S, Nozawa K, et al., Comprehensive quantitative and qualitative liquid chromatography-radioisotope-mass spectrometry analysis for safety testing of tolbutamide metabolites without standard samples. *J. Pharm. Sci.* 2011; 100(9): 4024-36.

[3] Gong Y, Chen J, Shi Y et al., Standard-free bioanalytical approach for absolute quantitation of drug metabolites utilizing biosynthesis of reciprocal radio and stable isotopologues and its application. *Anal Chem.* 2017; 89(16): 8399-8404.

**DG2018-36: LC-MS による核酸医薬品の定量**

(シミックファーマサイエンス株式会社¹、株式会社LSIメディエンス²、大日本住友製薬株式会社³、アステラス製薬株式会社⁴、塩野義製薬株式会社⁵、協和発酵キリン株式会社⁶、田辺三菱製薬株式会社⁷、大塚製薬株式会社⁸、グラクソ・スミスクライン株式会社⁹)

○林 善治¹、新井 浩司²、石川 千裕³、大崎 史雄⁴、鎌倉 健雄⁵、戸嶋 麻美⁶、安原 秀典⁷、横井 宏之⁸、若松 明⁹

DG2018-36: Quantitative analysis of oligonucleotide therapeutics by LC-MS

Yoshiharu Hayashi¹, Koji Arai², Chihiro Ishikawa³, Fumio Osaki⁴, Takeo Kamakura⁵, Asami Toshima⁶, Hidenori Yasuhara⁷, Hiroyuki Yokoi⁸, Akira Wakamatsu⁹

¹ CMIC Pharma Science Co., Ltd., ² LSI Medience Corporation, ³ Sumitomo Dainippon Pharma Co., Ltd., ⁴ Astellas Pharma Inc., ⁵ SHIONOGI & Co., Ltd., ⁶ Kyowa Hakko Kirin Co., Ltd., ⁷ Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation, ⁸ Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., ⁹ GlaxoSmithKline K.K., Ltd.

核酸医薬品は、抗体医薬品に次ぐ次世代のモダリティとして注目されており、2017 年の Nusinersen の承認は記憶に新しいところである。全世界で 100 件を超える臨床試験が進行中であり、今後ますます開発が加速していくものと考えられる。

本 discussion group (DG) では生体試料中の核酸医薬品濃度を LC-MS を用いて定量することをメインテーマに議論を行った。核酸医薬品は低分子医薬品と比べて分子量が大きいだけでなく、非常に親水性が高い、様々な素材へ吸着しやすい等のクロマトグラファー泣かせの特徴を多く有している。核酸医薬品の定量に関する議論ポイントは多岐にわたるため、今年の DG では参加者メンバーの関心が高かった「バリデーション」、「装置、内標準物質」、「前処理」及び「リガンド結合法との比較」について議論を行った。それらの議論の内容について報告する。

核酸医薬品の定量に関する報告はまだ数が少なく、手探りで検討されていることも多いかと思う。この機会に情報交換と問題解決のための活発な議論を会場で行いたい。

Oligonucleotide therapeutics is attracting attention as next-generation modalities next to antibody biopharmaceuticals. The approval of Nusinersen in 2017 is still fresh in our mind. More than 100 clinical trials are in progress worldwide, and the development will be accelerated in the future.

In this discussion group (DG), the main theme was to quantify the concentration of oligonucleotide therapeutics in biological samples using LC-MS. Oligonucleotide therapeutics has some features which will make it difficult to develop the analytical method. In our group we focused on four topics in which DG members were interested; "validation", "instrument and internal standard", "sample preparation" and "comparison with ligand binding assay". We will report on the contents of those topics.

There are still few reports on quantitative analysis of oligonucleotide therapeutics, therefore, we hope to take a lively discussion in this symposium.

**DG2018-37: LC-MS 分析における前処理のオートメーション**

(小野薬品工業株式会社¹、田辺三菱製薬株式会社²、日本新薬株式会社³、大鵬薬品工業株式会社⁴、シミックファーマサイエンス株式会社⁵、塩野義製薬株式会社⁶、株式会社住化分析センター⁷、シオノギテクノアドバンスリサーチ株式会社⁸、株式会社新日本科学⁹、沢井製薬株式会社¹⁰)

○野田 巧¹、井手 亮佑²、上野 智香³、片本 茜⁴、川上 郁子⁵、上森 浩⁶、重山 拓摩⁷、橘 美保⁸、堀内 歳和⁹、山根 美樹¹⁰

Automated sample preparation in LC-MS bioanalysis

Takumi Noda¹, Ryoussuke Ide², Chika Ueno³, Akane Katamoto⁴, Ikuko Kawakami⁵, Hiroshi Kamimori⁶, Takuma Shigeyama⁷, Miho Tachibana⁸, Toshikazu Horiuchi⁹, Miki Yamane¹⁰
¹ Ono Pharmaceutical Co., Ltd., ² Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation, ³ Nippon Shinyaku Co., Ltd.,
⁴ Taiho Pharmaceutical Co., Ltd., ⁵ Cmic Pharma Science Co., Ltd., ⁶ Shionogi & Co., Ltd.,
⁷ Sumika Chemical Analysis Service, Ltd., ⁸ Shionogi TechnoAdvance Research Co., Ltd.,
⁹ Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd., ¹⁰ Sawai Pharmaceutical Co., Ltd.

第9回 JBF シンポジウムでは、DG2017-32（規制下での LC-MS 分析におけるオートメーション）として、規制下での LC-MS 分析における前処理でのオートメーションの利用状況についてのアンケート結果をまとめ、報告した。しかし、DG2017-32 の発表では、国内の利用状況の開示にとどまり、現場で使用するための方策まで示すことができなかった。本発表では、去年に発表に至らなかった規制下での前処理のオートメーションを導入する際の規制下特有の課題に対する本 DG が考えた対応策を例示する。また、オートメーションの情報として、規制下に限らず創薬初期段階等のオートメーションの状況や実施例も併せて発表する。本シンポジウムにおいて、規制下に限らずオートメーションを導入済みあるいは検討中の研究員と意見交換を行い、少しでも多くの研究員にオートメーションに関する興味を持っていただき、国内の各企業においてオートメーションの導入が進むことを期待する。

At the 9th JBF Symposium, DG 2017-32 (Automated sample preparation in regulated LC-MS bioanalysis) summarized and reported the questionnaire results on the use of automation in bioanalysis under regulation. However, the presentation of DG 2017-32 was limited to sharing the usage situation of the automation in Japan and could not indicate specific countermeasures to be used on the site. In this presentation, we will show the countermeasures that this DG considered for the specific problems in regulated bioanalysis at the time of introducing the automation. Also, we will present the automation examples not only under regulation but also at early phases of drug discovery. At this symposium, we will be exchanging opinions with researchers who are introducing or under consideration of automation, as well as these not only under regulation. We hope that a lot of researchers will be interested in the automation of bioanalysis, and that introduction of the automation will progress in many companies.

**DG2018-38: LBA におけるパラレリズム**

(田辺三菱製薬株式会社¹、第一三共株式会社²、積水メディカル株式会社³、科研製薬株式会社⁴、Altasciences Preclinical Seattle LLC⁵)

○清水 浩之¹、羽原 広²、前田 健一³、高木 秀行⁴、横田 喜信⁵

DG2018-38: Parallelism in ligand binding assay

Hiroyuki Shimizu¹, Hiromi Habara², Kenichi Maeda³, Hideyuki Takagi⁴, Yoshinobu Yokota⁵

¹ *Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation*, ² *DAIICHI SANKYO CO., LTD.*, ³ *SEKISUI MEDICAL CO., LTD.*, ⁴ *KAKEN PHARMACEUTICAL CO., LTD.*, ⁵ *Altasciences Preclinical Seattle LLC*

Ligand binding assay (LBA) におけるパラレリズムは、実試料の希釈系列における用量反応曲線と検量線系列の用量反応曲線が平行であり、実試料の数段階の希釈における換算値に希釈倍率による差が認められないとき、平行性が成立していると定義される(「医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法(リガンド結合法)のバリデーションに関するガイドライン質疑応答集(Q&A)」について より)。必ずしもすべての分析についてパラレリズムを評価する必要はないが、平行性が問題になる可能性が疑われる際には、可能な範囲で科学的に妥当な評価を行い定量値への影響を考察すべきであろう。一方で、バイオマーカー分析における平行性については、いくつかの規制文書(例えば C-Path の Points to Consider Document)でパラレリズムの重要性が説かれている。これらの文書には具体的な実施方法の記載があるものの、各社それぞれのポリシーで実施方法や基準が設定されていると推測する。本 DG では、PK (TK) と Biomarker に分けて、平行性についての実施時期や実施方法、基準の設定を議論した。本発表では DG の議論内容の概要を紹介し、LBA におけるパラレリズムの議論の一助としたい。

Parallelism in ligand binding assays (LBAs) is defined as an established parallel relationship between a dose-response curve from a study sample dilution series and a curve from a calibration standard series, with no difference among back-calculated concentrations for multiple dilutions of a study sample (Q&A for the Guideline on Bioanalytical Method (LBA) Validation in Pharmaceutical Development issued by MHLW). Evaluation of parallelism is not necessarily required for all analytical methods. However, if parallelism is an intrinsic issue for an LBA-based bioanalytical method, scientifically valid evaluation and assessment of the impact on measured concentrations should be considered to the extent possible. On the other hand, some regulatory articles (e.g., Points to Consider Document: Scientific and Regulatory Considerations for the Analytical Validation of Assays Used in the Qualification of Biomarkers in Biological Matrices issued by C-Path) emphasize the importance of parallelism. Although the details of parallelism implementation are described in those articles, it seems to the DG members that parallelism is performed based on various policies. Therefore, this DG mainly focused on when or how parallelism should be performed and the acceptance criteria of parallelism for both PK (TK) and biomarker studies. The anticipated issues and approaches for resolution were discussed. This presentation provides an overview of our discussion to facilitate an efficient parallelism analysis by LBAs.

**DG2018-39: LBA の失敗&トラブル事例と解決策**

(アステラス製薬株式会社¹、株式会社住化分析センター²、株式会社新日本科学³、株式会社東レリサーチセンター⁴、積水メディカル株式会社⁵)

○齊藤 哲¹、大岡 香織²、奥島 綾夏³、早田 洋平³、元木 章裕⁴、山本 卓⁵

DG2018-39: Failure & Trouble Cases and its Solutions of LBA

Tetsu Saito¹, Kaori Ooka², Ayaka Okushima³, Yohei Hayata³, Akihiro Motoki⁴, Takashi Yamamoto⁵
¹Astellas Pharma Inc., ²Sumika Chemical Analysis Service, Ltd., ³Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd., ⁴Toray Research Center, Inc., ⁵SEKISUI MEDICAL CO., LTD.

Ligand binding assay (LBA)は古くから用いられている測定法であるが、バイオ医薬品や核酸医薬品等の高分子医薬品の開発が活発化されている近年、LBA の需要性が高まり、未経験者が実験を行う機会も多くなっている。

LBA は複数の抗原抗体反応を用いた測定法であるため、操作が煩雑となる上、時間や温度など様々な影響を受けやすい。また、高度なハンドリングが求められ、経験が浅いサイエンティストのみならず熟練者でもトラブルへの対応が困難と感ずることがある。本 DG では、LBA における様々なトラブル事例を収集するとともに、それらへの対応や解決策について議論やアンケートを行いその結果について共有することで、バイオアナリシス分野において LBA を実施している方々の一助となればと考えている。また会場においてもさらにコメントやご指摘等をいただくことで、この議論がより意義深いものになることを期待している。

Ligand binding assay (LBA) is widely used in bioanalysis for development of macromolecular pharmaceuticals such as proteins.

LBA is commonly based on the plural antigen-antibody reactions, and analysts often face various troubles because: 1) operation of LBA is complicated and skillful handling is needed, and 2) the results of LBA are highly influenced by experimental conditions such as temperature and reaction time. The purpose of this discussion group (DG) is to help the analysts to solve problems around LBA in bioanalysis, collecting the various cases of trouble and sharing how to solve them.

In this open discussion, we will present our discussion and recommendation of the “Knowledge to prevent failure” in LBA.

P-1

イオンモビリティを活用した 2D-LC/MS/MS によるヒト血漿中リマプロストの超高感度分析法の開発

(¹小野薬品工業株式会社 研究統括本部 創薬本部 薬物動態研究部, ²小野薬品工業株式会社 開発本部 臨床開発推進部)

○南雲 佳織¹, 島田 英一², 花田 聖徳¹, 駒場 淳二¹, 今若 治夫¹

Ultra sensitive determination of limaprost in human plasma using 2D-LC/MS/MS equipped with ion mobility spectrometry

Kaori Nagumo

経口プロスタグランジン E1 誘導体制剤であるリマプロスト アルファデクス錠 (オパルモン[®]錠) の臨床用量は 1 回 5 又は 10 µg と微量であり, ヒトでの薬物動態特性を明らかにするためにはヒト血漿中高感度分析法が必要である. 我々はこれまでに二次元 LC と質量分析装置を組み合わせた 2D-LC/MS/MS によるヒト血漿中リマプロストの高感度分析法を開発し, 種々の臨床試験に応用してきた. ただし, 本分析法は定量下限濃度が 0.1 pg/mL と超高感度であるため, ①ヒト血漿のロットによっては夾雑物の影響でクロマトグラムの自動解析において適切にピークが認識されず, 手動解析が必要となる, ②前処理後試料の全量を MS へ注入するため再注入ができない, ③2D-LC/MS/MS の分析時間が長い, ④1 分析当たりに入る血漿量が 2 または 3 mL と多く, 前処理操作が煩雑である, など種々の課題があった.

我々は上記の課題克服のためには従来と異なる分離機構を利用することが必要と考え, 質量分析装置にイオンモビリティ分離装置 (SelexION+) を組み合わせた新規 2D-LC/MS/MS システムを構築した. SelexION+ の性能を十分発揮するために各パラメータの最適化を重点的にを行い, その条件下でヒト血漿を分析したところ, 従来法と比較してクロマトグラムのベースラインの顕著な低下と, 夾雑ピークの低減が認められた. この改善により全ての血漿のクロマトグラムを自動解析することができ, 前処理後試料の注入量を従来法の半分にすることができた. 一方, 本分析条件をベースに使用血漿量の低減及び前処理操作の簡便化, コンベンショナルな一次元 LC 条件への変更や分析カラムの変更による分析時間の短縮を試みたが, 感度不足やリマプロストと夾雑物の分離が不十分であることなどから, 従来法からの改善には至らなかった. 最終的な分析法でバリデーションを実施した結果, 選択性, 検量線, 真度及び精度は全て各極ガイドラインの基準を満たした.

本発表では, 我々が SelexION+ を用いて検討した内容を結果と共に紹介する.

キーワード: イオンモビリティ, 2D-LC/MS/MS, リマプロスト

P-2

関節リウマチの治療に用いられるバイオ医薬品に対する抗薬物抗体分析法の構築と評価

(¹国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部, ²国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部, ³東邦大学医学部 炎症・疼痛制御学講座, ⁴東邦大学医学部 内科学講座膠原病学分野)

○西村 和子¹, 柴田 寛子¹, 宮間 ちづる¹, 石井 明子¹, 斎藤 嘉朗², 川合 眞一³, 山田 壯一⁴, 南木 敏宏⁴

Development and characterization of the detection method of anti-drug antibodies against biopharmaceuticals used to treat rheumatoid arthritis

Kazuko Nishimura, Hiroko Shibata, Chizuru Miyama, Akiko Ishii-Watabe, Yoshiro Saito, Shinichi Kawai, Soichi Yamada, Toshihiro Nanki

関節リウマチ (RA) は炎症性細胞が産生する種々のサイトカインにより関節に炎症が起こり, 関節が破壊される疾患である. 抗 TNF 抗体等のバイオ医薬品は, 本疾患に対し高い治療効果が期待できるが, その有効成分がタンパク質であるため免疫原性を示し得る. 免疫原性により抗薬物抗体 (anti-drug antibody: ADA) が産生されると, 治療効果の低下や infusion reaction 等の有害反応につながる可能性があるため, 免疫原性の適切な評価は, バイオ医薬品の有効性・安全性を確保する上での重要課題である. 本研究では, バイオ医薬品に対する ADA 産生に影響する臨床的要因を明らかにする研究の一環として, まず免疫原性評価に必要な ADA 分析法の構築をおこなった. すなわち, 電気化学発光 (ECL) 法を用いて, 関節リウマチ治療に用いられる抗 TNF 抗体 (Infliximab, Adalimumab, Golimumab), TNF 受容体 Fc 融合タンパク質 (Etanercept), および抗 IL-6 受容体抗体 (Tocilizumab) に対する ADA の分析法を構築した. 陽性対照には, 各薬剤に対する市販のモノクローナル抗体を用い, 陰性対照には健康人混合血清を用いた. それぞれの ADA 分析系について, 標識薬物濃度等の分析条件を至適化した. 試料中の共存薬物による ADA の測定妨害が認められたが, その回避に酸解離による試料の前処理が有用であった. 一方, 実試料の ADA 陽性・陰性判定を行うためのスクリーニングアッセイにおけるカットポイントを 50 検体の健康成人個別血清を用いて算出した. また, ADA の確認アッセイのカットポイントを, 同時に測定した各試料のシグナルの共存薬物による阻害率から算出した. 本発表では, これらの ADA 分析法構築に関し, RA 患者血清中の ADA の評価を行なった結果とあわせて報告する.

キーワード: anti-drug antibody, biopharmaceuticals, rheumatoid arthritis

P-3

Dried Blood Spot (DBS): 国内臨床試験に DBS を適用した初めての経験及び治験施設からの DBS トレーニングの有用性に対するアンケート結果

(グラクソ・スミスクライン株式会社)

○若松 明, 五十嵐 春江, 仲田 康人, 内田 純

Dried Blood Spot (DBS): The first successful application to clinical trial in GSK Japan and survey response from clinical study site about DBS sampling

Akira Wakamatsu, Harue Igarashi, Yasuto Nakata, Jun Uchida

微量の血液を濾紙に採取し乾燥させた後に分析する Dried blood spot (DBS)法は、血液サンプルを採取、運搬、保管するための簡単な手法として利用されている。DBS を動物あるいはヒトの血中薬物濃度の定量分析に利用することで、血液採取量を少なくすることができ、毒性試験でのサテライト群の削減や、患者へ侵襲性の軽減に貢献できる。また、室温で検体保管と輸送が可能のため、保管や輸送費用の削減、保管や輸送中の検体の溶解のリスク軽減を期待できる。今回、GSK の国内臨床試験において PK 血液採取に DBS を初めて適用し、血液中濃度成績を得ることに成功した。適用するために、事前に実施した治験施設スタッフに対する DBS 採血及び処理のトレーニングを紹介する。さらに施設スタッフからの DBS に関するアンケート結果も示す。

The Dried blood spot (DBS) method, which analyzes after collecting a trace amount of blood on filter paper and drying, is used as a simple method for collecting, transporting and storing blood samples.

By using DBS for bioanalysis of pharmacokinetic (PK) studies in animal and human, we can contribute to reducing satellite animal groups in toxicokinetic studies and reduce invasiveness to patients because DBS requires a trace blood volume. In addition, since sample storage and shipment are enable at room temperature, it is expected to reduce their cost and reduce the risk of dissolution of freezed samples through the storage and shipment. We applied DBS to PK blood collection for the first time in Japan clinical study in GSK and succeeded in obtaining blood concentration results. In order to apply this, we trained the staffs in clinical facility to collect and treat DBS blood sampling before the study. The results of the survey on DBS from facility staff are also shown.

キーワード : *Dried Blood Spot, Usefulness of Training, clinical study site*

P-4

エタネルセプト投与関節リウマチ患者における抗薬物抗体の評価

(¹国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部, ¹国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部, ³東邦大学医学部 炎症・疼痛制御学講座, ⁴東邦大学医学部 内科学講座膠原病学分野)

○柴田 寛子¹, 西村 和子¹, 宮間 ちづる¹, 石井 明子¹, 斎藤 嘉朗², 川合 眞一³, 山田 壯一⁴, 南木 敏宏⁴

Evaluation of anti-drug antibodies against etanercept in sera from rheumatoid arthritis patients

Hiroko Shibata, Kazuko Nishimura, Chizuru Miyama, Akiko Ishii-Watabe, Yoshiro Saito, Shinichi Kawai, Soichi Yamada, Toshihiro Nanki

抗薬物抗体 (ADA) を適切に評価することがバイオ医薬品の有効性・安全性確保において重要課題となっており、臨床試験の際には、一般的に、ADA 陽性率や ADA の中和活性の評価が行われる。エタネルセプト (ETN) は、関節リウマチ (RA) 患者の治療に多く用いられるバイオ医薬品の一つで、ADA の出現率は比較的低いことが知られているが、近年の測定技術の進展やバイオシミラーの開発に伴い、過去の報告より ADA 出現率の高い事例が海外からいくつか報告されている。そこで本研究では、日本人 RA 患者を対象に、ETN 投与血清中の ADA を測定し、ADA レベルと血中 TNF α 濃度、ETN 濃度、残存 ETN 生物活性 (TNF α 中和活性) との相関性を評価した。ADA 陽性・陰性判定を行うためのスクリーニング及び確認アッセイの結果から、58 検体中 43 検体を陽性と判断した。文献値より高い陽性率が得られたが、アッセイ系の感度が高いことが一つの要因と考えられた。次に、TNF α 感受性細胞を使って患者血清中の残存 ETN 活性を測定したところ、1 検体を除く 42 検体で、血中 ETN 濃度から想定される程度の生物活性が確認され、ETN に対して中和活性のある ADA は含まれないことが示された。十分な残存 ETN 活性が認められなかった 1 検体についても、添加した ETN に対して、検体に含まれる ADA は中和活性を示さないことを確認した。ECL シグナルと血中 ETN や TNF α 濃度に相関性は無かったが、血中 ETN 濃度と残存 ETN 活性にはある程度の相関性が認められた。薬物投与血清には ADA の他に、薬物とその標的分子も含まれ、ADA の中和活性を評価するのが技術的に難しい場合もある。本研究で示した残存薬物活性を指標とする ADA の中和活性評価法は、試料中の薬物による測定系の妨害が問題になる場合において、有用なアプローチと考えられた。

キーワード : *anti-drug antibody, etanercept, rheumatoid arthritis*

Trap-Elute MicroLC-MS System を用いた低用量で の人血漿からサブピコグラムレベルのデスモプレ キシンの定量

(¹ K.K. AB SCIEX, ² SCIEX USA)

○柴田 猛¹、横山 亮¹、結束 一成¹、Rahul Baghla², Khaterreh Motamedchaboki², Remco van Soest², Lei Xiong²、花田 篤志¹

Sub-Picogram Level Quantitation of Desmopressin in Small Volumes of Human Plasma Using a Trap- Elute MicroLC-MS System

Takeshi Shibata, Ryo Yokoyama, Kazunari Kessoku,
Rahul Baghla, Khaterreh Motamedchaboki, Remco van
Soest, Lei Xiong and Atsushi Hanada,

Desmopressin is a synthetic analog of vasopressin, a natural pituitary hormone with antidiuretic properties. The deamination of vasopressin in the N-terminal 1 position and the replacement of 8-l-arginine with 8-d-arginine result in the formation of desmopressin. It has a longer duration of antidiuretic activity than that of the natural hormone and is essentially devoid of other associated pharmacological effects such as vasoconstriction and contraction of smooth muscles in the uterus or in the intestine.

Therapeutically, desmopressin reduces urine production, restricts water elimination from the kidneys by binding to the Vasopressin V2 receptors (V2R) in renal-collecting ducts, thereby facilitating increased water reabsorption. The longer half-life of desmopressin over vasopressin offers additional therapeutic advantages, and typical doses of desmopressin to treat diabetes insipidus and bedwetting range between 0.200 to 1.20 mg per day, resulting in very low plasma concentrations.

The sub picogram/mL quantitation of desmopressin in human plasma using an analytical flow HPLC methodology, was published in a previously described method, in which 1 mL human plasma was used for desmopressin quantification at 0.5 pg/mL. In this bioanalytical study, we have utilized the advantages of MicroLC with new MS ion source to quantitate the desmopressin at the same level 0.5 pg/mL in human plasma with 3.3 times less consumption of plasma samples and injecting 3.3x less volume to ensure enough sample for 5 reinjections. A similar LLOQ was observed while injecting 7 x less sample on column compared to previous analytical flow assay.

バイオ医薬品の免疫原性評価に用いられる抗薬物 抗体分析法の信頼性確保のための留意事項

(¹ 国立医薬品食品衛生研究所, ² 株式会社 L S I メディエンス, ³ 株式会社 新日本科学, ⁴ アステラス製薬(株), ⁵ エーザイ(株), ⁶ 協和発酵キリン(株), ⁷ 第一三共(株), ⁸ 大日本住友製薬(株), ⁹ 中外製薬(株), ¹⁰ 立川中央病院)

○石井 明子¹、西村 和子¹、柴田 寛子¹、若林 弘樹²、森 民樹²、中村 隆広³、野村 達希³、齊藤 哲⁴、箕浦 恭子⁴、青山 宗夫⁵、細木 淳⁶、相馬 雅子⁷、角辻 賢太⁸、西宮 一尋⁹、坂本 典久¹⁰、香取 典子¹、斎藤 嘉朗¹

Recommendations for method development and validation of anti-drug antibody assays

Akiko Ishii-Watabe, Kazuko Nishimura, Hiroko Shibata, Hiroki Wakabayashi, Tamiki Mori, Takahiro Nakamura, Tatsuki Nomura, Tetsu Saito, Kyoko Minoura, Muneco Aoyama, Jun Hosogi, Masako Soma, Kenta Kadotsuji, Kazuhiro Nishimiya, Norihisa Sakamoto, Noriko Katori, Yoshiro Saito

バイオ医薬品の品質・有効性・安全性の確保において、免疫原性、すなわち抗薬物抗体 (anti-drug antibody: ADA) 出現の程度や臨床影響の評価が重要課題となっている。ADA 分析にはリガンド結合法が用いられるが、その信頼性確保には、一般的な薬物濃度分析と異なる配慮が必要となる。そこで我々は、官民共同研究班において ADA 評価手法に関するアンケート調査、及び、共通試料／データを用いた解析を行い、ADA 分析の分析法構築やバリデーションにおいて留意すべき事項を「バイオ医薬品の免疫原性評価に用いられる抗薬物抗体分析に関する技術的要件」としてまとめた (西村 和子ら, 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 49(7), 437, 2018)。

本文書は、7つの章で構成され、その概要は以下の通りである。1. 緒言、2. 代表的な抗薬物抗体分析法、3. 抗薬物抗体分析の特徴と戦略 (陽性対照物質の特徴、多段階アプローチ)、4. 抗薬物抗体分析法のバリデーション (特異性、選択性、精度、感度、希釈直線性、共存薬物耐性限度値、安定性)、5. 実試料分析 (システム適合性、薬物濃度測定)、6. 抗薬物抗体分析法に関するその他の留意事項 (分析系, MRD, 共存薬物耐性, 重要試薬)、7. その他 (バイオシミラー開発における免疫原性の比較、原薬製造方法変更に伴う抗薬物抗体分析系の再構築、不純物に対する抗体の評価、非臨床試験における抗薬物抗体分析)。

本文書をもとに、ADA 分析の信頼性確保に関する議論が深まり、免疫原性に関するリスクマネジメントに関する国内での議論が活発化することが期待される。

キーワード: anti-drug antibody assay, validation, cut point

Automated LC/MS/MS Analysis Assisted by MEPS® (Microextraction by Packed Sorbent)

Ryosuke Ide, Tomoya Akashi

Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation/DMPK Research Laboratories

[Backgrounds and Aim] Sample pretreatment by conventional solid phase extraction (SPE) often requires bothersome steps. The MEPS® (SGE Analytical Science) is packed sorbent for SPE in the needle and designed to work with an autosampler, which provides automated SPE in an LC-MS/MS system and then saves time and labor for sample analysis reduced. We demonstrated the utility of MEPS® for exploratory sample analysis of small molecule drugs.

[Methods] The LC-MS/MS system was assembled with HTS-PAL autosampler (CAC Analytics), Prominence (Shimadzu), and 4000 QTRAP (AB Sciex). The C18 phase of MEPS® Barrel Insert and Needle (BIN) was used for SPE and injection. The following items were assessed; linearity of calibration curve, accuracy and precision (A&P), carryover, reproducibility of sequential injections (replacement time of BINs), and concentration effect by multi-loading to MEPS®. The assessment samples were prepared by spiking drugs (dibucaine, erythromycin, metoprolol, propranolol, reserpine, sulfamerazine and verapamil) into rat plasma. The samples and aqueous diluent were mixed and applied into 96 well plates, and then located in an autosampler before MEPS® worked.

[Results and Conclusions] Linearity of calibration curve and A&P assessments generally satisfied criteria, within $100\% \pm 20\%$ of accuracy and not exceeding 20% of precision. Approximately 0.5% of carryover from the anterior sample was observed. The peak area after 200 injections was almost unchanged from that of the first sample. These assessments showed that the analysis with MEPS® provided sufficient quantifiability and reproducibility for exploratory sample analysis, in comparison with conventional SPE. This method can save time and labor for sample analysis reduced. Furthermore, we observed that detected responses could be raised by multi-loading of samples into MEPS®.

キーワード : Automation, Microextraction, and MEPS

The Immunomodulatory Effects of Cancer Therapy on IFN-Gamma Responses in the Periphery

Jeff Freiser

Myriad RBM, Inc.

With the ever expanding landscape of immuno-oncology therapy options, it is critical to determine how patients' immune responses are affected by treatment. In light of the challenges of repeatedly accessing tumor tissue, investigating immune responses in the periphery assumes increased importance.

IMAGE-1 is a randomized open-label, phase II, first-line, proof of concept study (NCT01303172) investigating the combination of IMM-101, an immunomodulatory treatment comprising of heat-killed whole cell *Mycobacterium obuense* (NCTC13365), with Gemcitabine for the treatment of advanced pancreatic cancer. Treatment with IMM-101+Gemcitabine increased median survival to 7.0 months in metastatic pancreatic cancer patients compared to 4.4 months following treatment with Gemcitabine alone (1). We measured levels of IFN-gamma in patients' serum samples. To overcome technical difficulties associated with measuring serum IFN-gamma, we used an immunoassay (LLOQ= 35 fg/ml) developed by Myriad RBM for the Quanterix Simoa™ platform. This approach provides ultra-sensitive measurement of biomarkers, with orders-of-magnitude greater sensitivity than conventional immunoassay platforms.

We report that peripheral IFN-gamma levels increased following initiation of treatment (Gemcitabine ± IMM-101). There was a statistically significant increase in IFN-gamma levels from time 0 (screening/randomization; 0.12 pg/ml, 95% CI 0.084, 0.18 pg/ml) to week 13 (0.41 pg/ml, 95% CI 0.26, 0.66 pg/ml), when patients had been scheduled to receive 3 cycles of Gemcitabine (1000 mg/m for 3 consecutive weeks out of 4) ± IMM-101 (1 mg, intradermally on 6 occasions). Increased circulating levels of IFN-γ following treatment with GEM + IMM-101 may indicate improved response to immunotherapy since the increase in circulating IFN-γ levels post-treatment was significantly elevated only in the group that had an OS > 6.7 months (pre-treatment geometric mean 0.128 pg/ml, 95% CI 0.0868, 0.188 pg/ml v post-treatment 0.537 pg/ml, 95% CI 0.359, 0.805 pg/ml). Finally, we show that IMM-101 activates primary murine and human dendritic cells, and in murine models instigates IFN-gamma production by a variety of innate and adaptive immune cells.

キーワード : Immuno-Oncology Biomarkers

P-9**Immunocapture-LC-MS/MS 法によるヒト血漿及び血清中 soluble PD-1 濃度分析 -ECL 法との比較-**

(小野薬品工業株式会社 薬物動態研究部)

○星 裕太郎, 駒場 淳二, 今若 治夫

Immunocapture-LC-MS/MS method based quantification of soluble PD-1 in human blood – comparison with ECL method –Yutaro Hoshi, Junji Komaba, Haruo Imawaka

【背景・目的】Soluble programmed cell death-1 (sPD-1)は、血液中に数 100 pg/mL 存在するタンパク質であり、自己免疫疾患やがんにおけるバイオマーカーとしての有用性が検討されている。これまで electrochemiluminescence (ECL)法を用いた sPD-1 の定量法が報告されたが、健康成人と比べて疾患患者血漿では、非特異的結合及び競合が大きいことが示唆されていた(Yan et al., AAPSJ, 2015)。Immunocapture-LC-MS/MS (Immuno-MS)法は免疫学的精製法と質量分析装置を組み合わせることで、高感度且つ特異的に目的成分を検出可能な手法である。本研究では、Immuno-MS 法を用いて血漿及び血清中 sPD-1 濃度を分析し、ECL 法での定量値と比較することで、ECL 法における非特異的結合及び競合の程度を明らかにすることを目的とした。

【方法】ECL 法: Anti-PD-1 polyAb を固相化したプレートを用いて試料中の sPD-1 を精製し、Sulfo-Tag-anti-PD-1 mAb を用いて測定した。Immuno-MS 法: 精製した sPD-1 を変性条件下で trypsin 消化し LC-MS/MS を用いて測定した。非特異的結合の評価: 両手法の定量値を比較し、ECL / Immuno-MS 比 >3 の場合、非特異的結合があると判定した。競合の評価: Immuno-MS 法では ECL 法と比べて固相化抗体量が 60 倍大きいプレートを用いて sPD-1 を精製した。Immuno-MS / ECL 比 >3 の場合、精製過程の競合があると判定した。

【結果・考察】健康成人由来試料(10 例)の sPD-1 濃度は、62-2800 pg/mL (Immuno-MS)及び 49-4400 pg/mL (ECL)であった。両手法の定量値を比較した結果、9 例で 3 倍の範囲内で一致した。1 例では ECL 法での定量値が 29 倍大きく、非特異的結合があると判定された。次に自己免疫疾患患者由来試料(15 例)における sPD-1 濃度を測定した結果、sPD-1 濃度は 99-8600 pg/mL (Immuno-MS)及び 56-3200 pg/mL (ECL)であった。3 例で非特異的結合が認められた。また、Immuno-MS 法で最も高濃度の sPD-1 が検出された 1 例では、Immuno-MS 法での定量値が 7.1 倍大きく、sPD-1 の精製過程で競合があると判定された。本検体を精製せずに LC-MS/MS 分析した結果、Immuno-MS 法での定量値と 2 倍の範囲内で一致した。従って、本検体では sPD-1 の精製過程が競合されていることが示された。以上の結果から、Immuno-MS 法はヒト血漿及び血清中での sPD-1 濃度の分析に有用であることが示唆された。

キーワード: Immunocapture-LC-MS/MS, ECL, バイオマーカー

P-10**Critical Reagents を characterize する重要性 – TrastuzumAb でのケーススタディ**

(Syneos Health)

○アゴスティノ G. ゴチャ, アンソニー マンシノ、マシュー シシオネ、ケイトリン クリンスキ、ジェイソン ヴァガラ、クリストファー ビーヴァー

The importance of characterizing your Critical Reagents – TrastuzumAb as a case studyAgostinho G. Rocha, Anthony Mancino, Matthew Sciscione, Katelyn Krynski, Jason Vergara, Christopher Beaver

Critical Reagents (CRs) are a pivotal component of every Ligand Binding Assay (LBA). The most common CRs include purified proteins that are used as calibrators and analyte capture or detection tools. It has been well recognized by regulators and bioanalytical scientists that CR characterization is imperative in a GLP context. The heterogeneity among CRs leads to, among others, irreproducibility and lack of bioanalysis quality. Conjugated antibodies are essential for pharmacokinetic (PK) and anti-drug antibodies (ADA) assays. Electrochemiluminescence (ECL) platforms became very attractive due to elevated sensitivity, dynamic range and convenience. Therefore many CRs consist of biotinylated and ruthenylated capture and detection antibodies respectively.

We recently explored **how physicochemical properties of CR affect functional performance in LBAs**. Here we report a case study where biotinylated and ruthenylated Trastuzumab were characterized in the context of ADA assay performance. The considered parameters include: conjugate incorporation ratio, purity (lower and high molecular weight species), buffer composition, stability and function. Screening the conjugate incorporation ratio allowed us to improve the assay performance. We also discuss the significant effects of impurities in the assay performance. As an example we found that as little as ~4% of ruthenylated-Trastuzumab aggregation or unincorporated biotin was sufficient to decrease the assay signal by ~25% and 20% respectively. We also learned that, in this context, sucrose based buffers allowed better protein stability compared to protein based buffers. Furthermore, we will discuss the molecular mechanism behind suboptimal biotin affinity to the antibody lysine sites. Clearly, this study revealed that there was room for LBA improvement when we rationally considered all parameters.

キーワード: Critical Reagents; Trastuzumab; ADA

P-11

Quantitative Determination of Serum Creatinine in Mice using Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography (HILIC) Coupled with High-resolution Accurate-mass (HRMS) Orbitrap Mass Spectrometer

Hidegori Takada, Yoko Hasegawa, Tatsuo Uchimura
Translational Research Unit, R&D Division, Kyowa
Hakko Kirin Co., Ltd.

Introduction: Serum creatinine level (SCR) is widely used as a biomarker of renal function. The SCR is lower in normal mouse than in healthy humans. Colorimetric methods (Jaffe method and enzymatic method) commonly used in laboratory and clinic are not appropriate for determination of the mouse SCR. A highly accurate and sensitive analytical method using LC/MS/MS for determination of mouse SCR has been developed. Considering the small molecular weight (113 Da) and hydrophilic feature of creatinine, HILIC for separation and HRMS for specific detection were adopted.

Methods: Creatinine was separated in HILIC mode using cyanoacetic acid as an acidic additive in LC mobile phase and detected by parallel reaction monitoring (PRM) in positive ESI mode using hybrid quadrupole-orbitrap mass spectrometer (Q Exactive Focus, Thermo Fisher).

Results: Cyanoacetic acid used as an acidic additive in LC mobile phase improved the matrix effect with the ion suppression on creatinine-d3 in mouse serum observed using formic acid. The selectivity of creatinine in the blank serum was evaluated using peak area ratio of quantifying ion mass (m/z 86.0717) to qualifying ion mass (m/z 72.0449) (Quant/Qual ratio), and the issue was minimal. No interfering peak was observed at the retention time of IS (creatinine-d3) in the control blank serum. Good linear calibration curves were obtained with the concentration range of 1 to 300 $\mu\text{mol/L}$ (0.0113 – 339 mg/dL). The evaluation of intra- and inter-assay accuracy and precision showed good reproducibility.

Discussion: A highly sensitive and specific quantification method for creatinine was developed using HILIC/HRMS combination. The LLOQ was 0.0113 mg/dL and the sensitivity is highly enough for quantification of mouse SCR. Such high sensitivity and specificity were considered to be achieved from the points of (1) LC separation in HILIC mode due to hydrophilic feature of creatinine, (2) Improvement of matrix effects using cyanoacetic acid as an acidic additive in LC mobile phase, and (3) High selectivity by PRM analysis in HRMS.

キーワード: *Creatinine, HILIC, HRMS*

P-12

生体試料中におけるバイオマーカー濃度測定法の比較

(シミックファーマサイエンス株式会社)

○北原 沙也加, 桑村 ひかる, 團野 典行, 西口 有美, 高原 栄二

Comparison of methods for measuring biomarkers in biological samples.

Sayaka Kitahara

近年、医薬品の研究開発においてバイオマーカー測定の重要性がさらに増しており、バイオマーカーを測定項目とする臨床試験も増加傾向にある。

以前よりビタミン、プロスタグランジン、脂肪酸などの低分子バイオマーカーについては HPLC や LC-MS/MS での測定が一般的であるが、近年ではサイトカイン、ホルモン、細胞内リン酸化タンパク質といったタンパク質バイオマーカーが注目され、主に LBA (Ligand Binding Assay) で測定されている。

実際、弊社においてもタンパク質バイオマーカー関連試験の受託数は増加しており、依頼内容としては、複数種のバイオマーカーを同時にモニターしたいという依頼が多くある。特に臨床試験の初期段階や、希少サンプルを測定する場合等にこの方法が選択される傾向がある。

そこで我々は、ECL (Electrochemiluminescence) とフローサイトメーターを用いた CBA (Cytometric Bead Array) によるマルチプレックス測定を行い、複数種のタンパク質バイオマーカーの同時測定について検討を行った。各種測定法について、検量線や真度・精度といったバリデーション項目について、測定法の信頼性を評価する予定である。

さらに、従来用いられてきた ELISA 法との比較も行い、時間、コスト、作業効率、マトリックスの使用量、感度、検量線範囲、処理本数、ヒト間差、習熟度による影響など、様々な観点からの検証を行い、各測定法のメリット、デメリット、問題点などをまとめ、広く議論する一助としたい。

キーワード: バイオマーカー, マルチプレックス, リガンド結合法

P-13

ヒト血漿中多価不飽和脂肪酸（PUFA）代謝物の
定量分析における溶血の影響

（株式会社 L S I メディエンス）

○新井 浩司、新田 真一郎、若林 弘樹、上田 哲也

**Influence of hemolysis in human plasma to
quantitation of polyunsaturated fatty acid
metabolites**

Koji Arai

近年、測定機器の性能・感度上昇に伴い、質量分析計を用いたバイオマーカー測定の需要が増えて来ている。プロスタグランジンに代表される多価不飽和脂肪酸（Polyunsaturated fatty acid : PUFA）代謝物は、炎症反応等の様々な生理調節機構に複雑に関与しており、創薬の薬効評価マーカーとしても大変良く知られている。アラキドン酸カスケードにより生成される PUFA 代謝物全体の動きを把握するためには、単成分分析である Enzyme immunoassay（EIA）に比べ多成分同時測定ができ、交差反応の問題を回避可能な質量分析法が有用であることから、我々は LC-MS/MS を用いた PUFA 代謝物の一斉定量分析法を開発した。

他方、一般的にバイオマーカーの定量分析において「サンプルの質」が評価を左右する重要なファクターであることが知られている。その中でも溶血は、見た目で溶血の強さがある程度判断可能で、かつ、サンプルの質に影響を及ぼす可能性がある現象であるが、その確認は目視で行われるため、溶血強度の判定は大きく個人の感覚に頼ることとなり定量性に欠けるものである。

また、バイオマーカー分析後の解析結果においても、溶血サンプルにはしばしば注釈が付されている。しかしながら、多くの分析者は、溶血が定量値にどのような影響を及ぼしているのかを気にはしているが、実際に影響の程度を確認する事例は稀である。そのため、溶血強度を数値化し、バイオマーカーの定量値と比較することは、定量値や解析結果の信頼性を向上させる目的として非常に重要である。

したがって我々は、溶血の程度によるバイオマーカーの定量値への影響を評価することを目的として、最初に人為的に溶血させたヒト血漿を調製した。次に、その血漿中ヘモグロビン値及び PUFA 代謝物の定量分析を行った後、それぞれの定量値を比較し評価を行ったのでその結果を報告する。

キーワード : PUFA、バイオマーカー、溶血

P-14

Hybridization 法を用いた核酸医薬の定量法開発

（¹ 第一三共株式会社 薬物動態研究所、² 第一三共株式会社 モダリティ研究所）

○渡辺 恭子¹、相馬 雅子¹、合田 竜弥¹、中井 大介¹、矢部 義之¹、高草 英生¹、小泉 誠²、岩本 充広²、関口 幸子²

**Development of a quantitative method for nucleic
acid medicines using Hybridization-LBA assay**

Kyoko Watanabe

核酸医薬品は最先端のバイオ医薬品として様々な治療薬の開発が行われており、核酸医薬の作用を知る上で従来の医薬品同様に体内動態を把握することは極めて重要である。その分析法としては、これまで LC-MS/MS 法が用いられているが、試料の前処理の煩雑さや内部標準物質としての安定同位体標識体の合成など、分析法開発に時間を要することが多く、探索段階で複数の化合物を評価することが難しい状況である。

今回、LC-MS/MS 法より分析法開発が簡便で、高感度といわれている Hybridization を原理とした Hybridization-LBA 法を開発し、血漿中、組織中濃度測定において LBA 法バリデーションガイドラインの水準で測定可能であることを確認した。この手法は、配列違いの複数の化合物において同じ分析法で測定が可能であり、分析法開発が短時間で済むことに加えて、Gyrolab を使うことで、ELISA 法よりサンプル量が少なく済むという利点がある。しかし、今回用いた 17 塩基の核酸では特異性に若干問題があり、代謝物として想定される 1-2 塩基外れた配列と区別することは出来なかった。

キーワード : Hybridization、核酸、バリデーション

P-15

生体中高濃度・低濃度代謝物バイオマーカーのバイオアナリシス

(国立医薬品食品衛生研究所)

○齊藤 公亮, 斎藤 嘉朗

Bioanalysis for abundant and scarce biomarkers

Kosuke Saito

代謝物は生体中を循環するため、血液や尿等、リキッドバイオブシーによって評価できるバイオマーカー候補として期待されている。一方で、その開発には、臨床上的有用性と共に、その分析的なバリデーションが必要であるが、内因性物質であるため、マトリックス中に測定対象物質が含まれている場合が多い等の特徴もあり、医薬品を対象とした2種の生体試料中薬物濃度分析法バリデーション(BMV)ガイドラインの基準に沿った検証は、必ずしも適切でないといわれている。

そこで我々は、「バイオマーカーに関するバイオアナリシス手法の標準化」を目的としたAMED研究班を構成し、LC/MSを用いた低分子バイオマーカーのアッセイバリデーションについて、留意点を抽出するため、実践的な検討を行っている。具体的には、生体中高濃度代謝物バイオマーカーとしてリゾホスファチジルコリン、生体中低濃度代謝物バイオマーカーとしてプロスタグランジンE2を選定し、分析系の構築、平行性、Quality controlの真度・精度の検証を行った。バイオアナリシスのためのLC/MS分析系の構築には、1)移動相条件の簡略化、2)分析時間の短縮、3)MSパラメータの最適化、を行った。また、ブランクマトリックスの選定と直線性の確認、希釈試料及びスパイク試料をQuality controlとして、繰り返し分析を行い、真度・精度を算出した。その結果、ブランクマトリックスと生体マトリックス間の平行性を確認すると共に、Quality control試料の真度・精度については、BMVガイドラインのクライテリアを満たす程度の値が得られた。現在それぞれの特徴と留意点すべき点についてさらに知見を得るため、他の検証項目について検討を行っている。

キーワード: バイオマーカー、バイオアナリシス、分析法バリデーション

P-16

分注装置を用いたオートメーション化

(シオノギテクノアドバンスリサーチ株式会社)

○橘 美保、曾田 智花、高田 篤世、斎藤 和美、渡部 麻未奈、松本 智子、橋本 広志、佐野 正武

Automation using liquid handling robots

Miho Tachibana

分注装置を活用してオートメーション化できると、属人的な操作を誰もが再現でき、研究者タスクを削減できることは周知の事実である。一方で、自由にプログラミングが出来ないと、分注装置の利用に制限がかかる。プログラミング作成過程の一部と、誰でも簡単に使用できるようにExcelでインターフェースを作成したことを紹介する。生体試料分析の前処理をオートメーション化できたことで得られた効果やフルオートメーション化が進むことで考えられるメリットについて報告する。将来、各社が切磋琢磨してお互いの技術について意見交換や議論が活発化して、国内企業でフルオートメーション化が発展することで画期的な新薬が開発されていくことに期待したい。

キーワード: オートメーション, プログラミング, 分注装置

P-17**ヒト脳脊髄液中のコエンザイム Q10 濃度測定法の開発**

(¹株式会社島津テクノリサーチ 医薬ライフサイエンス事業部, ²東京大学大学院医学系研究科分子神経学, ³横河電機株式会社 湘南ライフサイエンス・イノベーションセンター)

○落合 良介¹, 脇田 由貴子¹, 辻野 一茂¹, 三井 純², 辻 省次², 工藤 忍³

Analytical method development of coenzyme Q10 concentrations in human cerebrospinal fluid

Ryosuke Ochiai, Yukiko Wakita, Kazushige Tsujino, Jun Mitsui, Shoji Tsuji, Shinobu Kudoh

多系統萎縮症のバイオマーカーとして注視されている脳脊髄液中コエンザイム Q10 (CoQ10) の, LC-MS/MS を用いた濃度測定法を開発した。

一般に LC-MS/MS でのバイオアナリシスでは, イオン化に対するマトリックス効果の補正を目的として, 検量線試料や QC 試料に実試料と同一のマトリックスを使用する。一方, 内因性物質の測定においては, 測定対象物質を含まないブランクマトリックスの入手が困難であるため, 実試料と化学的な組成が類似した溶媒もしくは単純組成の生理食塩液や PBS が代替マトリックスとして汎用されている。

しかしながら, CoQ10 は脂溶性が高く, 脳脊髄液中ではその多くが可溶性タンパク質と結合している。更に, CoQ10 はタンパク結合型とフリー型に加え, 酸化型のユビキノンと還元型のユビキノールが平衡状態で存在している。これら生体内の複雑な状態を再現させる代替マトリックスは容易にみつからない。

そこで, 利用可能なマトリックス中でのフリー型 CoQ10 の安定性を確認した。その結果, 水や PBS 等の水系溶媒中ではユビキノンのみ安定であり, ユビキノールは容易にユビキノンに変換されてしまうが, ジエチルエーテルやイソプロパノール等ではユビキノン及びユビキノールともに安定であることが分かった。そのため, 前処理工程でユビキノールを PBS 添加によってユビキノンに変換後, 有機溶媒でタンパク結合型 CoQ10 を抽出するとともに, イオン化に影響を及ぼすマトリックス成分を除去した。

本法により, 定量範囲 50 pg~100 ng/mL でトータル CoQ10 をフリー型ユビキノンとして測定することが可能となった。また, 実試料にユビキノン又はユビキノールを既知濃度添加した試料を本法にて測定した結果, 全試料でユビキノンのみを認め, 測定濃度の真度は 87~103%と良好な結果が得られた。

キーワード: コエンザイム Q10, ヒト脳脊髄液, トータル CoQ10 定量

P-18**自動化による規制下バイオアナリシスの効率化**

(株式会社住化分析センター 大阪ラボラトリー バイオアナリシスグループ)

○渡辺 光, 白井 雅子, 南元 早知, 重山 拓摩, 大岡 香織, 田中 照久

Higher Throughput Regulated Bioanalysis by Automation

Hikaru WATANABE

LC/MS (Liquid Chromatography-Mass spectrometry) 法による生体試料中の薬物濃度分析 (バイオアナリシス) は, 多種多様な夾雑成分を含む生体試料から測定対象を効率良く抽出する必要がある。この抽出操作 (前処理) は主に除タンパク法, 液液抽出法, 固相抽出法の三つが挙げられ, いずれも液体試料の分取・添加が伴う。近年は, HPLC や MS の進歩により, 分析時間の短縮 (高速化) が進んでいるが, 注入試料を調製するための前処理は必須であり, その作業工程が分析の効率化の一つのボトルネックとなる。一方, 抗体医薬品のバイオアナリシスとして汎用される LBA (Ligand Binding Assay) 法においては, 液体試料の希釈, 反応, 標識体の添加, 洗浄操作の煩雑な工程を必要とするだけでなく, 各工程で厳密な時間管理も要求される。分析結果が作業者の経験に左右されるケースも少なくない。

我々は上記問題の改善に加え, 分析精度のさらなる向上及びヒューマンエラー低減を目的として, 前処理に液体自動分注装置を導入することを試みた。その結果, LC/MS 法及び LBA 法のいずれにおいても, バイオアナリシスのガイドラインが要求する分析の信頼性を維持しながら, 前処理の効率化に成功した。本発表では, その成果の一部を紹介したい。

キーワード: LC/MS 法, LBA 法, 自動分注装置

P-19

Development of a novel LC-ESI-MS/MS method for quantitative determination of endogenous markers in plasma for evaluation of CYP3A induction

Yuki Taya, Yusuke Aratsu, Kota Asahina, Yukihiro

Nomura and Motohiro Kogayu

Japan Tobacco Inc./ Central Pharmaceutical Research Institute, Drug Metabolism & Pharmacokinetics Research Laboratories

【Introduction】 For facilitation of clinical DDI studies, endogenous markers responding CYP3A activity are of interest and 4 β -hydroxycholesterol (4 β -HC) is a promising candidate since it is produced from cholesterol via oxidation by CYP3A. Although many quantification methods for 4 β -HC have been reported so far, most of them are not satisfactory due to laborious procedures for derivatization (using GC-MS or LC-ESI-MS/MS) or low sensitivity (analyzing non-derivatized 4 β -HC with LC-APCI or APPI-MS/MS). In this study, we developed a sensitive LC-ESI-MS/MS method for quantification of non-derivatized 4 β -HC with high sensitivity and evaluated the CYP induction results of rifampicin in monkeys using this method.

【Methods】 Plasma was mixed with PBS buffer, butylated hydroxytoluene, 4 β -HC-d7 (IS) and sodium methoxide and left at room temperature. After mixing with NaCl aq. and hexane, the samples were centrifuged and the supernatants were collected and evaporated to dryness. The residues were reconstituted and analyzed by LC-ESI-MS/MS with a C18 column. The mobile phase consisting of formic acid/water=1:1000 (v/v, solvent A) and formic acid/acetonitrile=1:1000 (v/v, solvent B) was delivered at a flow of 0.5mL/min with isocratic of solvent B 90%. The MRM transitions in the ESI positive ionization mode for each analyte were as follows: 4 β -HC (m/z 385.4/367.3 and 385.4/109.0) and 4 β -HC-d7 (m/z 392.4/374.3).

【Preliminary data】 Calibration curves from 5 to 250ng/mL comprising six calibration points were established by fitting a linear regression model with 1/y weighting. The precision (coefficients of variation (%CV) in replicate analyses) for the intra- and inter-day reproducibility was within 15% for both transitions. Using this developed method, the potential application of 4 β -HC as an endogenous biomarker of CYP3A induction by drug treatment was evaluated in monkeys (n=3). Following multiple oral administrations of rifampicin, the mean plasma 4 β -HC levels increased approximately 3-fold from the baseline levels (34.1 - 68.1ng/mL). This result suggests that 4 β -HC is useful as a marker to evaluate a potential of drugs to inhibit/induce CYP3A activity.

キーワード : 4 β -hydroxycholesterol, LC-ESI-MS/MS, CYP3A induction

P-20

CYP2A6 遺伝子多型の測定法の検討

(株式会社 L S I メディエンス)

○鈴木 玄樹

Development of CYP2A6 alleles

Genki Suzuki

CYP2A6 は体内のニコチン代謝に関与する酵素であり、またレトロゾール（アロマターゼ阻害剤/閉経後乳がん治療剤）の代謝にも関与している。

CYP2A6 には多くのアリルが存在するが、日本人を含むアジア人集団では遺伝子全欠損型である CYP2A6*4 や、アミノ酸変異を伴う Single Nucleotide Polymorphism (SNP) を有する CYP2A6*7 や CYP2A6*10、またプロモータ領域に SNP を有する CYP2A6*9 の変異型の遺伝子頻度が高い(2~20%)。これら低活性型のアリルが重複すると CYP2A6 は Poor Metabolizer (PM) となる。

日本人において、PM となる遺伝子型を同定することは重要であるが、ヒトゲノムには CYP2A6 遺伝子座の近傍に、CYP2A6 と塩基配列が酷似している別遺伝子 (CYP2A7) が存在し、遺伝子型の測定を困難にしている。

今回では、CYP2A6*4 および CYP2A6*7 について、従来の方法よりもより簡便、迅速に遺伝子型を判定する方法を開発した。既存の CYP2A6*9 測定と合わせて、日本人集団で高頻度、かつ活性低下に関与するアリルを簡便に測定できることが期待される。

キーワード : CYP2A6, アリル, 遺伝子型

抗体医薬に対する抗イディオタイプ DNA アプタマーの獲得とバイオアナリスへの展開

(¹静岡県立大学薬学部, ²東京農工大学工学部)

○轟木 堅一郎¹, 山田 朋宏¹, 斎藤 太郎², 清水 裕², 水野 初¹, 塚越 かおり², 豊岡 利正¹, 池袋 一典²

Bioanalyses of therapeutic mAbs those use anti-idiotypic DNA aptamers

Kenichiro Todoroki

抗体医薬のバイオアナリシスにはスルーブットに優れた Ligand Binding Assay 法が汎用されているが, 使用抗体の質に大きく左右され, 交叉反応や分析精度に問題がある場合も多い。これに対しトリプシン消化-LC-MS/MS 法は, 抗体医薬特異的なトリプシン消化断片を LC-MS/MS で高感度かつ高選択的に分析可能とするが, 血漿試料の前処理, トリプシン消化, 消化ペプチドの精製など, 多段階に亘る煩雑なマニュアル操作を要し, その精度管理の担保も難しい。我々は, 抗体に代わる新たな分子認識素子として, 抗体医薬 bevacizumab の相補鎖決定領域を特異的に認識する抗イディオタイプ DNA アプタマーの獲得に成功した。本アプタマーの解離定数は 130 nM と極めて小さく, IgG が多量に含まれる血漿試料から対象薬物のみを選択的にアフィニティー精製可能である。我々はこのアプタマーを用いる 2 種類の bevacizumab 分析法を開発した。高感度かつ高精度な分析を指向したアプタマーアフィニティー精製-HT-RPLC 法では, アプタマー固定化磁気ビーズを用いて血漿中の多量の IgG の中から bevacizumab のみを選択的に捕集し, 抗体同士の相互分離が可能な HT-RPLC による定量を行った。一方, 多検体同時分析を指向した Enzyme Linked Aptamer Assay 法では, アプタマーを固定化した 96 穴プレートに血漿試料を添加して反応させた後, protein A-HRP 複合体の結合に伴う HRP 活性を TMB の吸光度変化としてマイクロプレートリーダーにより定量した。開発した分析法は, いずれも血漿中抗体医薬を測定するには十分な感度と優れた定量性を有し, また安価かつ汎用性の高い分析法であることから, バイオシミラー開発や治療効果判定など様々な分野での利用が期待できる。さらに最近 HER2 陽性乳がんの治療薬である pertuzumab を選択的に認識する DNA アプタマーを開発しており, 同アプタマーを用いた多検体血中薬物濃度同時分析法についても紹介する。

キーワード: 抗体医薬, DNA アプタマー, バイオアナリシス

被験物質関連における分析業務の意見交換会

(¹小野薬品工業株式会社, ²マルホ株式会社, ³大塚製薬株式会社, ⁴塩野義製薬株式会社, ⁵エーザイ株式会社, ⁶第一三共株式会社, ⁷武田薬品工業株式会社, ⁸田辺三菱製薬株式会社)

○野田 巧¹, 石橋 和彦¹, 梅原 雅俊², 奥村 裕³, 上森 浩⁴, 菊池 幸子⁵, 北西 恭子⁴, 柴谷 由佳梨⁶, 正保 真², 高松 裕樹⁷, 中根 恵理⁴, 橋本 貴代美¹, 横山 雄一⁸

Opinion exchange meeting of analytical work around the test item

Takumi Noda

新規医薬品開発における前臨床段階移行後の安全性試験では, 得られた知見の質を担保するために, 各試験に供する被験物質の特性を安全性試験開始前までに明らかにすること及び試験での使用中の被験物質の安定性を確認する必要がある。加えて, 試験に用いる投与液の濃度や安定性を保証することも求められている。また, これらの試験は GLP 規制下で実施するため, バイオアナリシスと同様にバリデーションにて, その分析法の妥当性を検証した上で, 使用される投与液を分析する必要がある。しかしながら, GLP 省令上で求められているこれらの事項に対して, 具体的に何をどのように実施すべきかを記載した成書はない。また, このような分析業務に従事している研究者が集う学会等もなく, 情報交換を行える場はなかった。したがって, 分野の異なる ICH ガイドラインの Q2A や日本薬局方などを参考に, 各企業とも各々に特化した形で実施方法や基準を定め, 定期的に GLP 施設調査を経験することによって, 現行の GLP 水準へと対応してきた。

演者は JBF でのディスカッショングループ (DG) で他社との意見交換が非常に有意義であったことから, 被験物質周りの分析業務に関しても DG と同様の取り組みができなしかと考えた。有志を募ったところ, 多くの企業の研究員からこの取り組みに賛同いただき, 多分野にわたる研究員との意見交換会を開催することができた。実際のディスカッションでは, 全社で共通の実施項目や基準もあったが, 各社で異なる項目や基準が存在し, それらの意義や妥当性についての活発な議論がなされた。本会では, 参加者のご厚意で意見交換会の一部を公表する。意見交換会に参加されていない研究員の方々から忌憚のないご意見をいただき, 本発表が被験物質周りの分析業務の発展に寄与することを期待する。

キーワード: 被験物質, 特性分析, 投与液分析

P-23

LC-MS/MS による抗体医薬品測定法の検討及び評価

(株式会社 L S I メディエンス)

○阿部 純子, 森 香奈絵, 新田 真一郎, 北嶋 千賀, 上田 哲也

Development of High Sensitive Method for the Determination of Antibody Drugs using High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry

Junko Abe

現在、抗体医薬品は、日米欧で 50 品目以上が承認され、癌や自己免疫疾患の治療に欠かせない存在となっている。抗体医薬品開発における測定には、主に LBA (Ligand-Binding Assay) が用いられているが、抗薬物抗体が産生されることで目的とする抗体医薬品と結合し検出が出来ず、定量値が変動することが報告されている。その解決手段として質量分析法での測定が期待されている。

我々は、血漿中の抗体医薬品 2 品目 (Rituximab, Trastuzumab) の濃度測定法として、アフィニティー精製後にトリプシン消化を行い、可変領域の特異的断片を LC-MS/MS にて測定する方法を開発した。他方、前処理法として nano-surface and molecular-orientation limited (nSMOL) proteolysis を採用した nSMOL Antibody BA キット (SHIMADZU) が販売され、簡便且つ高感度に測定が出来ることが報告されている。そのため本研究では、我々が開発した測定法 (従来法) と nSMOL 法を用いた測定を比較し、その有用性を評価した。

比較方法として、我々が開発した測定法の定量下限濃度 (Rituximab : 0.1 µg/mL, Trastuzumab : 0.05 µg/mL) と同じ濃度に設定した nSMOL 法を確立し、その測定感度等を比較した。測定には、高速液体クロマトグラフとして Nexera X2 (SHIMADZU)、質量分析計として Triple Quad 5500 (AB SCIEX) を使用した。

両測定法を比較した結果、従来法に比べ nSMOL 法では、ベースラインの低下が認められ、良好な S/N 比が確認された。また、前処理時間も大幅に短縮され、その有用性が確認された。

本発表では、クロマトグラムを中心に、nSMOL 法と従来法との比較結果を紹介する。

キーワード : 質量分析法、抗体医薬品、nSMOL

P-24

バイオアナリシス受託施設における SEND 対応とその課題

(株式会社 サンプラネット)

中川 文美, 佐野 善寿, 石井 琢帆

Approaches and Issues on SEND in Contract Research Organization of bioanalysis.

Ayami Nakagawa

FDA は現在、承認審査の際に SEND (Standard for Exchange of Nonclinical Data) に従って電子化された非臨床試験データの提出を求めている。NDA 申請は 2016 年 12 月 17 日以降、IND 申請は 2017 年 12 月 17 日以降に開始した非臨床安全試験について、既に SEND 対応を義務化していることから、米国で新薬開発を行う製薬企業及びその業務の一部を請け負う受託施設 (CRO) は、SEND 標準形式によるデータ出力システムの構築が不可欠となっている。しかしながら、各社ごとに業務形態、開発戦略や試験データの管理方法等が異なるため、会社ごとに目指す SEND 体制には違いがある。そのため、SEND 対応を受託する CRO は、委託者の状況に応じた柔軟な対応を要求されている。

本発表では、バイオアナリシス専門の CRO における社内体制の構築から TK 測定の SEND データセット作成における課題及び弊社での対応について共有したい。

キーワード : cDISC, SEND, CRO

LC/MS/MS を用いたサル血漿中抗体医薬品の濃度測定法の開発及びその評価

(¹株式会社住化分析センター 大阪ラボラトリー バイオアナリシスグループ, ²株式会社イナリサーチ)

○村田 和之¹, 山口 建¹, 牟田口 国則¹, 重山 拓摩¹, 藤原 淳², 森川 裕司², 植松 敦史², 佐藤 伸一², 谷口 昌広¹

Development and Evaluation of Bioanalytical Method for the Determination of Antibody Drug in Monkey Plasma by LC/MS/MS

Kazuyuki MURATA

バイオ医薬品の売上は年々増加しており、今後も着実に伸びることが予想される。その中でも抗体医薬品が占める割合は高く、開発が活発である。従来、抗体医薬品の血中濃度は、ELISA などの LBA 法で測定されている。しかし、これらの方法には、測定用の試薬として抗体を準備するためにコストと時間を要する、検量線範囲が狭い、交差反応の可能性があること等の問題点が挙げられる。これらの点を補完する方法として、LC/MS/MS 法が注目されている。その特徴は、抗体試薬が不要である、検量線範囲が広い、高い精度及び真度を示す、複数化合物の同時測定が可能であること等が挙げられる。その方法は、抗体医薬品を酵素により消化し、生成するペプチド断片を測定対象とするものである。本研究では、トラスツズマブをモデルとして、カニクイザル血漿中の抗体医薬品の濃度測定法を開発した。トラスツズマブをカニクイザルに 2 mg/kg 及び 10 mg/kg の用量で静脈内投与し、投与後 21 日まで採取した血漿中濃度を開発した分析法にて測定した。

ほとんどの抗体医薬品は、部分的にヒト IgG の配列を持ち、それらに共通の定常領域 (Fc) と抗体医薬品毎に異なる相補性決定領域 (CDR) を含んでいる。そこで、今回は分析法の妥当性の検証を目的として、Fc 及び CDR 由来のペプチド断片を測定対象とし、それぞれのペプチドから得られた定量値を比較した。さらに、同じ血漿試料を ELISA 法で測定した結果との比較も行った。

いずれの方法でもほぼ全ての血漿試料でトラスツズマブを検出でき、LC/MS/MS 法及び ELISA 法で測定した濃度推移は相関した。これらの結果は、LC/MS/MS 法が ELISA 法の代替法として有用であることを示すものであった。

キーワード: LC/MS/MS, 抗体医薬品, サル血漿

JMBC という組織の紹介とマイクロバイオーーム研究について

(一般社団法人日本マイクロバイオーームコンソーシアム、株式会社ちとせ研究所)

○笠原 堅

Introduction to JMBC and Our Microbiome Research

Ken Kasahara

ある特定の環境中に存在する微生物群は、微生物の叢(くさむら)と書いて微生物叢(びせいぶつそう)もしくはマイクロバイオータ(microbiota)などと呼ばれており、そのゲノム情報の総体はマイクロバイーム(microbiome)と呼ばれています。一般社団法人日本マイクロバイオーームコンソーシアム(JMBC)は、ヒトマイクロバイオーームデータを活用した新たな健康医療ビジネスを推進する共通基盤を構築するために 2017 年に設立され、現在、製薬・食品・化粧品・検査分野から 37 社が参画しています。

マイクロバイオーームデータを活用した健康医療ビジネスターゲットとしては、単菌あるいは菌カクテル製剤(糞便移植を含む)、マイクロバイオーームを介した新規バイオマーカーの他、微生物叢または宿主に作用し破綻した微生物叢-宿主相互作用を正常化する薬剤などが挙げられます。微生物叢は生活習慣の影響を強く受けることから、日本人固有の微生物叢を起源とした新たなターゲットが見出されることも期待されます。そのような微生物叢をターゲットとする研究開発は世界中で進んでいます。

JMBC は、新たな事業を生み出すための研究開発基盤として、標準的な日本人マイクロバイオーームデータベース構築を目指しています。また、会員企業各社が、そのデータと比較可能な形で疾患/体調不良者のデータを独自に追加取得できることを重視しています。JMBC は、これを実現するためのマイクロバイオーーム解析用プロトコルを産総研と共同で開発しています。その一部は、平成 30 年度「NEDO 先導研究プログラム/新産業創出新技術先導研究プログラム」における「マイクロバイオーームの産業利用に向けた解析技術及び革新的制御技術の開発」として、NEDO の支援を受けています。

ここでは、JMBC という組織の紹介と、JMBC として進めているマイクロバイオーーム研究の進捗をご紹介します。

キーワード: microbiome, metagenome, metabolome

Live Single-cell MS による細胞内リン脂質分析

(¹静岡県立大学, ²福島県立医科大, ³横河電機株式会社)

○水野 初¹, 津山 尚宏², 轟木 堅一郎¹, 工藤 忍³

Live Single-cell Mass Spectrometry for Cellular Phospholipid Analysis

Hajime Mizuno, Naohiro Tsuyama, Kenichiro Todoroki, Shinobu Kudo

【目的】生命を構成する最小単位である細胞の挙動とその分子変化をリアルタイムかつダイレクトに追跡することができれば、より詳細な生命現象メカニズムの解明と、その解析スピードの飛躍的な向上が期待できる。そこで私たちは細胞 1 個に的を絞り、生きている細胞を顕微鏡観察しながら、細胞が変化した瞬間に細胞内で動く分子を採取・質量分析することができる、Live Single-cell MS 法を開発した。本研究では、細胞膜の構成分子であり、細胞外からのシグナル伝達プロセスにおいて重要な役割を果たすリン脂質の 1 細胞での網羅的解析に応用した。

【方法】顕微鏡観察下で、分析対象とする細胞一つを選択し、細胞全体または細胞内特定部位を、マイクロサクションによりナノスプレーチップ (Cellomics Tip, HUMANIX) 内に採取した。後端よりイオン化溶媒を加えて細胞成分をチップ内で抽出し、電圧を印加して nanoESI により形成された微細な液滴を介して高効率にイオン化させ、高分解能質量分析計にて検出・同定を行った。検出モードは測定対象分子の物性に合わせてポジティブ・ネガティブ両方を用いた。得られたピークは精密質量および MS/MS により同定した。

【結果・考察】得られた 1 細胞質量スペクトルを解析した結果、ホスファチジルコリンやエタノールアミン、スフィンゴミエリンなどのリン脂質が主に検出された。これらのピークについては、MS/MS 解析により、それぞれに特徴的なフラグメントピークが確認できた。さらに様々な種類のヒト B リンパ球モデル細胞を採取・質量分析し、得られたリン脂質スペクトルを解析したところ、それぞれの細胞種ごとに特徴的なリン脂質プロファイルが存在することが明らかとなった。さらに本研究では細胞サンプリング精度と再現性向上のため、共焦点ライブイメージングにマニピュレーターを取り付けたサンプリング自動化装置を開発しており、これを用いた分析結果についても合わせて報告する。

キーワード：質量分析、1 細胞分析、リン脂質

バイオマーカー測定における監査に関する検討

(^{1,2}一般社団法人 日本 QA 研究会、¹エーザイ株式会社, ²協和発酵キリン株式会社)

○谷口 朋義¹, 秋山 忠和²

Discussion on the audit activities for the measurement of biomarkers

Tomoyoshi Taniguchi, Tadakazu Akiyama

日本 QA 研究会は、「医薬品、医療機器、再生医療等製品、農薬、化学物質等の信頼性保証に関わる情報発信、人材育成及び専門的な提言を通して人々の健康と福祉の向上に貢献する」ことを目的として、医薬品等に関わる信頼性保証について検討を行い、その成果を発表している。

こうした活動の中で、共通特別プロジェクト 2 では「臨床試験の検査機関における監査技法」について検討を行っており、今回、共通特別プロジェクト 2 メンバーの所属会社を対象に「バイオマーカー測定における監査」についてアンケート調査を行った。この調査結果を踏まえて、バイオマーカー測定における監査について検討を行った結果を報告する。

キーワード：監査、バイオマーカー、臨床試験

P-29

イメージング MS を用いた脳卒中易発症系高血圧自然発症ラット (SHRSP) と正常コントロールラット (WKY) の脳内アミノ酸の定量的比較

(¹積水メディカル株式会社, ²アステラス製薬株式会社)

○伊藤 利将¹, 平本 昌志², 伊藤 諭史¹, 根釜 務¹

Quantitative comparison of amino acids' distribution in SHRSP and WKY rat brain using imaging mass spectrometry

Toshimasa Ito

イメージング MS は生体試料中の物質の分布を明らかにすることができることから、創薬研究への利用が期待されている。しかし、未だ有効な定量系が確立されていないことから、組織切片間における定量的な比較は困難とされている。この課題を解決するために新規定量系の「トリプルスプレー法」を開発した。この方法により、切片上で誘導体化された内在性物質について、マトリックス効果を差し引いた分布および定量値を導くことが可能となり、組織切片間の微小変化を比較できるようになった。本研究では、トリプルスプレー法を用いて、脳卒中易発症系高血圧自然発症ラット (SHRSP) と正常コントロールラット (WKY) の脳内アミノ酸分布を定量的に比較した。

キーワード: イメージング MS、定量、誘導体化

P-30

バイオアナリシスにおける監査の課題に関する検討

(^{1,2}一般社団法人 日本 QA 研究会、¹協和発酵キリン株式会社、²エーザイ株式会社)

○秋山 忠和¹, 谷口 朋義²

Discussion on the issues of audit activities for the bioanalysis

Tadakazu Akiyama, Tomoyoshi Taniguchi

日本 QA 研究会は、「医薬品、医療機器、再生医療等製品、農薬、化学物質等の信頼性保証に関わる情報発信、人材育成及び専門的な提言を通して人々の健康と福祉の向上に貢献する」ことを目的として、医薬品等に関わる信頼性保証について検討を行い、その成果を発表している。

こうした活動の中で、共通特別プロジェクト 2 では「臨床試験の検査機関における監査技法」について検討を行っており、今回、共通特別プロジェクト 2 メンバーの所属会社を対象に「バイオアナリシスにおける監査」についてアンケート調査を行った。この調査結果を踏まえて、バイオアナリシスにおける監査の課題について検討を行った結果を報告する。

キーワード: 監査、バイオアナリシス、臨床試験

How should we be able to standardize the lipidomics data?

(シミックファーマサイエンス株式会社 バイオアナリシス事業部)

○中川 史之, 林 善治, 竹重 勇哉, 團野 典行

How should we be able to standardize the lipidomics data?

Fumiyuki Nakagawa

近年、創薬初期または、探索ステージでのスクリーニング手法として、多層オミックスの導入が様々な基礎研究の中に導入されつつある。ここで得られた結果は、医薬品開発において、例えば非臨床と臨床を橋渡しする為のトランスレショナルデータの位置づけとして非常に重要なものにもなりつつある。オミックスは、ゲノミクス、トランスクリプトミクス、プロテオミクスそして、生体内の代謝物、主には1,500Da 以下を網羅的に解析する手法としてのメタボロミクスに分類される。メタボロミクスの測定手法としては、主に検出器に Mass Spectrometer が使用され、そのフロントには水溶性化合物を網羅的に解析することを長所とした capillary electrophoresis や、脂質などの脂溶性を網羅的に解析することを長所とした liquid chromatography が主に使用されている。

ゲノミクスなどの領域においては、近年標準化が進みつつあり、その普及に貢献しているが、メタボロミクスの領域については、未だ標準化という大きな課題を残している。具体的には、網羅的に取得したデータの信頼性の担保、または解析手法含めた標準化など、様々な課題が山積しており、更なる普及には早急な解決が望まれる。今回我々は、NASH/NAFLD の治療ターゲットの1つとなっている転写因子 Nrf2 に着目し(NF-E2-related factor2)を C57BL/6 マウスとその KO マウスを用い、Nrf2 activator を投与した際の肝臓中リポドミクス解析を実施した。その結果を例に課題となっている点について多角的に考察した。

キーワード: リポドミクス、標準化

Future relationship between Pharma and CRO in bioanalysis outsourcing.

(¹シミックファーマサイエンス株式会社 バイオアナリシス事業部, ²小野薬品工業株式会社)

○羽成 優¹, 吉本 直樹², 梅村 健夫², 川上 郁子¹, 丸本 美穂¹, 中川 史之¹, 團野 典行¹, 橋本 義孝²

Future relationship between Pharma and CRO in bioanalysis outsourcing.

Suguru Hanari

近年の医薬品開発の競争激化に伴い、開発業務の一部を CRO へ委託する割合が年々増加している。CRO の活用が国内よりも進んでいる欧米では、開発業務の約 50%を委託しているのに対し国内での委託率は約 20%とまだまだ低い。しかし、海外メーカーとの競争に打ち勝つスピードや国内医療費の抑制などを背景にした開発コストの削減を達成するために国内でも CRO への委託が増加することが予測される。

また、Bioanalysis 関連では、医薬品候補化合物のモデリティ多様化やトランスレショナル研究や個別化医療に関連したバイオマーカー評価の重要性の高まりにより求められる分析技術やレベルが多様化している。こういった背景の中、製薬メーカーによっては開発コストを抑制しスピードを向上させるために、分析 CRO に対して業務リソースの提供だけでなく、分析 CRO の持つスキルやノウハウを最大限活用することを期待するメーカーも出てきた。例えば従来は、製薬メーカーが自社の研究所にて確立した試験法を分析 CRO へ提供し、分析 CRO は、その試験法を忠実に実施、そこから得られたデータを提供することが主な役割だった。しかし昨今は、データを提供するということはもちろんだが、それに加え分析 CRO が試験法の確立や基礎実験を実施、または過去に様々な製薬メーカーとの業務を通じて得た経験や分析 CRO 内での自社研究やアカデミアとの共同研究により得たノウハウをもとに、製薬メーカーへ提案していかなければならない場面も増えつつある。つまり、製薬メーカーと分析 CRO の関係性は、時代とともに変化が求められ、単なる委受託の関係性から、ビジネスパートナーとしての関係性もまた一つの形となりつつある。また、その過程で両者のコミュニケーションのあり方やその役割も変化しつつある。

そこで、本発表では製薬メーカーと分析 CRO がそれぞれの立場から、試験委受託の際の要望や問題点などを洗い出し、様々な角度から議論することとした。

キーワード: アウトソース、CRO、パートナーシップ

生体試料中薬物濃度分析における高分解能質量分析計の定量事例

(サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社)

○山元 良馬

Quantitative Data of High-Resolution Mass Spectrometry (HRMS) for Bioanalysis

Ryoma Yamamoto

生体サンプル中の薬物を LC-MS で定量する場合、生体サンプルには多くの夾雑成分が含まれているため、信頼性の高い結果を得るためにはサンプルの前処理や LC および MS の条件を最適化する必要があり、分析条件の検討に多くの時間を要することがある。近年、このような課題を克服しさらなるスループットの向上、コスト削減を実現するために、オービトラップ質量分析計が活用されている。なかでも Thermo Scientific™ Q Exactive™ シリーズは、四重極と高分解能精密質量 (HRAM) オービトラップ検出器を組み合わせたハイブリッド型の質量分析計であり、その卓越した高選択性から複雑なマトリックス下でも LC での分離検討やトリプル四重極の SRM 法のようなメソッドの最適化をすることなく、信頼性の高い結果をもたらす生産性を向上させます。本発表では、生体試料中薬物濃度分析における高分解能質量分析計の定量事例について、トリプル四重極のデータとの比較を一部まじえながら紹介する。また、その制御ソフトウェアであり GxP および 21 CFR Part 11 への準拠をサポートした Thermo Scientific™ Dionex™ Chromeleon™ 7.2 クロマトグラフィーデータシステムについても併せて紹介する。

キーワード：高分解能質量分析計、Q Exactive、Chromeleon 7.2

ランチョンセミナー

2月13日（水）12:00-13:00

（A会場：303）SCIEX

リピドミクス新技術による機能性脂質の探索研究

有田 誠

（慶應義塾大学 薬学部・薬学研究科 代謝生理化学講座 教授）

（国立研究開発法人 理化学研究所 生命医科学研究センター メタボローム研究チーム チームリーダー）

（B会場：304）株式会社住化分析センター

「核医学イメージングを用いた医薬品開発」

下瀬川 恵久

（大阪大学大学院医学系研究科医薬分子イメージング学寄附講座 教授）

（C会場：311+312）日本ウォーターズ株式会社

Hybrid LC-MS/MS mAb Quantification: Automated Protein Digestion & High Sensitivity Affinity Capture

Ian Edwards M.Sc. Ph.D.

(Business Development Manager, Pharmaceuticals Business, Waters Corporation)

2月14日（木）12:00-13:00

（A会場：303）サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

抗体医薬品の定量分析における高分解能質量分析計の利用

清水 久夫

（武田薬品工業株式会社 リサーチ 薬物動態研究所）

（B会場：304）アジレント・テクノロジー株式会社

内因性バイオマーカーの網羅的分析からターゲット分析へ

田辺 和弘

（株式会社LSIメディエンス メディカルソリューション本部 業務運営統括部）

（C会場：311+312）ヴェオリア・ジェネッツ株式会社 エルガ・ラボウォーター

バイオアナリシスに使用する 超純水の使用上の注意点

黒木 祥文

（ヴェオリア・ジェネッツ株式会社 エルガ・ラボウォーター事業部）

スポンサーセミナー

2月13日（水）10:15-11:15

（A会場：303）BioAgilytix

BioAgilytix Introduction: General Capabilities & Overview

William Hunter

(Director of Business Development and Global Key Accounts, BioAgilytix)

協賛企業

BioAgilytix

Myriad RBM, Inc.

PPC 株式会社

SCIEX

アジレント・テクノロジー株式会社

アルテア技研株式会社

インタクト株式会社

エムエス機器株式会社

株式会社L S I メディエンス

エルガ・ラボウォーター

大塚製薬株式会社

株式会社クロマニックテクノロジーズ

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

株式会社サン普拉ネット

株式会社島津テクノリサーチ

株式会社島津製作所

シミックファーマサイエンス株式会社

ジャイロス・ジャパン株式会社

湘南丸八エステック株式会社

ジーエルサイエンス株式会社

株式会社新日本科学

株式会社スクラム

株式会社住化分析センター

積水メディカル株式会社

株式会社東レリサーチセンター

株式会社日本医学臨床検査研究所

日本ウォーターズ株式会社

株式会社ネモト・サイエンス

バイオタージ・ジャパン株式会社

バイオテック株式会社

株式会社ビー・エム・エル

ブルカージャパン株式会社

モレキュラーデバイスジャパン株式会社

ユサコ株式会社

(五十音順)

法人会員

EA ファーマ株式会社

JCR ファーマ株式会社

旭化成ファーマ株式会社

味の素株式会社

あすか製薬株式会社

エーザイ株式会社

大塚製薬株式会社

小野薬品工業株式会社

グラクソ・スミスクライン株式会社

興和株式会社

沢井製薬株式会社

千寿製薬株式会社

第一三共株式会社

大日本住友製薬株式会社

武田薬品工業株式会社

田辺三菱製薬株式会社

トーアエイヨー株式会社

東和薬品株式会社

日本ジェネリック株式会社

日本たばこ産業株式会社

ファイザーR&D 合同会社

(五十音順)

賛助会員

SCIEX

株式会社島津製作所

株式会社住化分析センター

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

日本ウォーターズ株式会社

株式会社新日本科学

株式会社L S I メディエンス

バイオタージ・ジャパン株式会社

シミックファーマサイエンス株式会社

株式会社ネモト・サイエンス

株式会社日本医学臨床検査研究所

エルガ・ラボウォーター

株式会社島津テクノロジー

株式会社東レリサーチセンター

PPC 株式会社

株式会社サンブラネット

株式会社スクラム

ジャイロス・ジャパン株式会社

(口数及び登録順)