

2019年2月14日
第10回JBFシンポジウム
「実践！ マイクロサンプリング」セッション

ICH S3A Q&A日本語訳の解説



医薬品医療機器総合機構
(毒性領域)

西村 次平

本発表は、発表者の個人的見解に基づくものであり、
独立行政法人 医薬品医療機器総合機構の公式見解を示すものではありません。
発表に関連し、開示すべきCOI関係にある企業などはありません。

ICH S3A IWGチームの活動履歴

Date	Task / Activity	Details
27/2/2015	E-mail consultation	➤ Ask addition/revision/comment of draft Q&A version 1 (drafted in Japan side)
19/1/2016	E-mail consultation	All the IWG members agreed the final draft Q&A for step 1.
17/3/2016	ICH office	➤ Completed Step 1 process
12/5/2016	ICH office	➤ Completed Step 2a process
19/5/2016	ICH office	➤ Completed Step 2b process
19/5/2016	ICH office	➤ Publicized on ICH Web site (Jan 29, 2016 version)
7/12/2016	Public consultation	➤ End of public consultation in all regions
10/4/2017	E-mail consultation	➤ Ask addition/revision/comment of draft Q&A revision 1(drafted in Japan side)
12/10/2017	E-mail consultation	➤ All the IWG members agreed the final draft Q&A for step 4.
16/11/2017	ICH Assembly	➤ Completed Step 4 process and publicized on ICH website
14/12/2017	EMA	➤ Released S3A Q&A document
26/4/2018	Health Canada	➤ Released S3A Q&A document
5/2018	FDA	➤ Released S3A Q&A document
	日本	現時点、通知未発出である

ICH S3A Q&A 文書

序文

1. 緒言及び適用範囲

(Q1) マイクロサンプリングの定義

(Q2) マイクロサンプリングのベネフィット/利点

2. マイクロサンプリングの適用に関する基本原則

(Q3) 使用可能な医薬品及び安全性試験は？

(Q4) TK試験にマイクロサンプリングを適用する場合の注意点は？

(Q5) 使用可能な血液採取法は？

3. 安全性評価への影響

(Q6) 主試験群の毒性データや動物福祉に対する採血の影響の評価方法は？

4. 生体試料中薬物濃度分析法に関する課題

(Q7) 液体又は乾燥試料の処理の際、生体試料中薬物濃度分析法開発やバリデーションにおいて考慮すべき点は何か？

ICH S3A Q&A 序文

従来のトキシコキネティクス(TK)評価

- 従来法では、200 μ L以上の採血が必要！！
- げっ歯類を用いた毒性試験でTK測定を実施する場合、**サテライト動物**から採血する必要があった

近年、測定機器の分析感度が向上することで、マイクロサンプリング技術をTK評価に利用することが可能となった

- サテライト動物でなく、**主群(毒性評価)動物**でTK評価
⇒個体毎の毒性評価値とTK値との関連性解析が可能
- ICHでは、動物福祉、**3Rs**(Replacement: 代替、Refinement: 苦痛の軽減、Reduction: 削減)の推進が奨励されている

本文書では、**TK試験にマイクロサンプリング法を導入するにあたって留意すべき点**に焦点をあて、**主試験群の動物でTK評価を行うことの利点及び幾つかの限界**、ならびに**3Rsへの全体的に重要な寄与**について述べたものである。

ICH S3A Q&A (1) 緒言及び適用範囲

Q1: マイクロサンプリングの定義は何か？

A.

マイクロサンプリングの定義:

薬物やその代謝物の濃度を測定し、TKパラメータを算出するためにごく微量の血液(一般的には50 μ L以下)を採取する手法。

対象マトリックス:

血液、血漿、血清

(液体または乾燥状態で輸送、保管され、それに続く測定に使用)

非血液由来マトリックスは本Q&A文書の適用範囲外

対象動物:

げっ歯類、非げっ歯類(S3Aなので、ヒトは対象外)。

ICH S3A Q&A (1) 緒言及び適用範囲

Q2: マイクロサンプリングのベネフィット/利点は何か？

A.

1) 採血量を最小化

- 動物の痛みや苦痛の軽減 (refinement) に貢献
- TKサテライト群の動物数を削減・無くす (reduction) ことができる。
 - 特に通常採血量では、サテライト群の動物数が多く必要であったマウスで有用。

2) 主試験群でTK用の採血実施

- 毒性と薬物曝露データとの関連を同じ動物で直接評価可能。

S3A Q&A(2) マイクロサンプリングの適用に関する基本原則

Q3: どのような医薬品及び安全性試験に使用できるのか？

A.

医薬品の種類: **バイオ医薬品を含む医薬品の大部分**

- ただし、マイクロサンプリングによって利用可能な少量の試料でも、測定方法の感度が適切であるかを、個々の事例で検討すべき。

安全性試験の種類: **様々な毒性試験に使用できる**

- **単回及び反復投与毒性試験、ならびに他の毒性試験**
(例えば、がん原性、生殖発生毒性試験、幼若動物を用いる試験)
- マイクロサンプリングは、ICH S3ガイドラインに記載されているように、代表するサブグループ動物からのサンプリングが許容可能である
- 薬物濃度が低く、大部分あるいは全ての試料が定量限界未満の場合、マイクロサンプリングは容認されない。しかし、マイクロサンプリングのための生体試料中薬物濃度分析法が、従来の試料量の場合と同じ定量下限を有する場合には、マイクロサンプリングを使用することができる。

S3A Q&A(2) マイクロサンプリングの適用に関する基本原則

Q4: TK試験にマイクロサンプリングを適用する場合の注意点は何か？

A. マイクロサンプリング技術を導入するため、分析結果の信頼性を保証する生体試料中薬物濃度分析法の開発及び適格化(あるいは、各地域の規制ガイドライン/ガイダンスに従ったGLP試験のためのバリデーション)がなされるべきである。

評価すべき項目

- LLOQ、真度、精度、保存前に希釈に用いるマトリックスの効果、及び試料採取、保存及び前処理の全ての期間における生体マトリックス中の分析対象物質の安定性などの分析上の特性については、慎重に評価すべきである。

S3A Q&A(2) マイクロサンプリングの適用に関する基本原則

Q4: TK試験にマイクロサンプリングを適用する場合の注意点は何か？

A(続き).

- いくつかの試験で既に従来法を使用していて、マイクロサンプリングを他の試験に適用する場合：
 - 当該マトリックスについて、マイクロサンプリングと従来法との間の曝露量に関する類似性を示すことが必要となるかもしれない。
 - この曝露量の比較は、試料の提供状態が大きく異なる場合（マイクロサンプリングによる乾燥試料と、従来法による液体試料の比較等）、特に重要である。
 - 適切な濃度範囲でAUCや C_{max} を解析できる独立した薬物動態(PK)試験を行うことで、2種の方法間の類似性を比較することができる。

S3A Q&A(2) マイクロサンプリングの適用に関する基本原則

Q4: TK試験にマイクロサンプリングを適用する場合の注意点は何か？

A(続き).

- いくつかの試験で既に従来法を使用していて、マイクロサンプリングを他の試験に適用する場合：
 - PK試験が必要な場合、マイクロサンプリング法が含まれる本試験の実施に先立って、完了されるべきである。
 - なお、比較のための独立したPK試験は、例えば同じ部位から採取された血液、血漿または血清を同様の分析条件にて測定する場合など、個々の状況に応じて、適切な科学的正当性が認められる場合に省略できる。
- 曝露の比較のため、理想的には、TK試験を通して、さらに臨床試験を通じて、同じマトリックスを使用すべき。

S3A Q&A(2) マイクロサンプリングの適用に関する基本原則

Q4: TK試験にマイクロサンプリングを適用する場合の注意点は何か？

A4(続き).

- 異なる試験において異なるマトリックスが使用される場合：
 - マトリックス間の薬物濃度の相関は、血液学的パラメータ、血漿タンパク結合率、血液/血漿(又は血清)薬物濃度比のような種々の要因を考慮して明らかにされるべきであり、それにより、異なるマトリックスを用いたそれぞれの測定から全身曝露を適切に評価することが可能である。

S3A Q&A(2) マイクロサンプリングの適用に関する基本原則

Q5: マイクロサンプリングではどのような血液採取法が使用できる？

A.

血液は、キャピラリーチューブや他の適切な微量採取器具を用いて、尾静脈や伏在静脈などから採取することができる。採取された血液や血液由来の血漿や血清は、**液体**または**乾燥状態**で、薬物濃度の測定に用いることができる。

- **液体試料**: 保存や輸送、そしてそれに続く分析の前に、適切な溶媒やブランクマトリックスで希釈可能な場合もある。
- **乾燥試料**: 試料を通常、セルロース基材あるいは他の種類の基材に直接塗布して乾燥させる方法も使用できる。
 - カード/デバイス上の一部である一定の直径範囲の打ち抜き、あるいはスポット全体が抽出及び分析に用いられる。

S3A Q&A(2) マイクロサンプリングの適用に関する基本原則

Q5: マイクロサンプリングではどのような血液採取法が使用できる？

A(続き).

近年及び現在も続いている技術進歩により、正確な量の血液を採取することができ、追加の容量測定を行わずに、試料全体を分析に使用することが可能なマイクロサンプリング法もある。

加えて、新規に開発された技術も、十分なバリデーションを行うことで利用を検討することができる。

ICH S3A Q&A (3) 安全性評価への影響

Q6: 主試験群における毒性データや動物福祉に対する採血の影響の評価方法は？

A. 主群でマイクロサンプリングを行う際には、**動物の生理状態に及ぼす血液採取の影響を考慮することが重要**

- **考慮すべき主な因子:**
 - 一定期間中における採血量と採血回数
 - 被験薬物の特性(赤血球への影響、抗凝固作用、血液力学特性等)
 - 試験系(動物種、週齢、体重、総血液量等)
 - 採血部位
- 頻回での繰り返し採血は、生理学的データに影響を及ぼす可能性があるため、採血プロトコールは適切に設定すべき
- (生理学的)パラメーターの評価において、被験薬群と同じ回数及び量の試料を採取された**対照動物との比較**を行うことは、その試験での疑わしい影響が被験薬に起因するものか、あるいは試験手順によるものかを明らかにするために重要であろう。

ICH S3A Q&A (3) 安全性評価への影響

Q6: 主試験群における毒性データや動物福祉に対する採血の影響の評価方法は？

A(続き).

- 以前の試験において、被験薬による血液学的パラメーターの変化が**頻回の血液採取によって悪化した可能性がある場合**、あるいは**被験薬の薬理学的作用がこのような影響を引き起こすことが疑われる場合**には、マイクロサンプリング技術を使用するとしても、TK評価の目的のために**サテライト群の動物を使用**する必要があるだろう。
- あるいはその代替として、科学的に妥当であるならば、マイクロサンプリングと共に**スパスサンプリング**(少数回の試料採取)を用いることも可能である。

Q7: 液体または乾燥試料の処理に関する生体試料中薬物濃度分析法開発やバリデーションにおいて考慮すべき点は何か？

A.

各規制地域の生体試料中薬物濃度分析法ガイドライン/
ガイダンスに規定された分析法バリデーションを行うこと。

加えて、以下の事項を考慮するべき

液体試料の場合：

- ① 試料の均一性の確保(ピペッティングなどによる)
- ② 少量試料の取扱い(保存中の潜在的凍結/乾燥効果、及びそれに続く凍結融解過程)
- ③ 限られた試料量によるLLOQの上昇の可能性
- ④ 微量容器/キャピラリーへの抗凝固剤の添加による試料希釈の影響
- ⑤ 採取容器への分析対象物質の吸収増加の可能性
- ⑥ 試料の適切な保存状態の維持
- ⑦ 数種の採取方法における、汚染のリスク及び反復的な試料採取の困難性

Q7: 液体または乾燥試料の処理に関する生体試料中薬物濃度分析法開発やバリデーションにおいて考慮すべき点は何か？

A(続き).

乾燥試料の場合

(セルロース/非セルロースカード、ポリマーマトリックスなどへのスポット等)

- ① 薬物の回収率が十分で再現性があり、薬物の検出時にマトリックスによる妨害効果が十分小さい方法を選択することが重要
- ② 乾燥スポットの一部を打ち抜く方法を用いる場合、特に低分子の薬物では、分析対象物質の検出がヘマトクリット値の違いにより影響を受けないことが重要である。
- ③ ヘマトクリットによる分析対象物質の検出への影響は、ヘマトクリット値が異なる血液を使用し、既知濃度の被験薬を添加して測定することにより評価可能である。

Q7: 液体または乾燥試料の処理に関する生体試料中薬物濃度分析法開発やバリデーションにおいて考慮すべき点は何か？

A(続き).

乾燥試料の場合

(セルロース/非セルロースカード、ポリマーマトリックスなどへのスポット等)

- ④ 同一のスポットから打ち抜いた複数の試料の分析対象物質の値を評価することで、あるいは例えば放射性標識体を用いた評価により、スポットの均一性を確認することも重要である。
- ⑤ 正確な量の血液をデバイス上に採取し、その後試料全体を分析に使用することで、これらの問題は最小限にすることができる。

Q7: 液体または乾燥試料の処理に関する生体試料中薬物濃度分析法開発やバリデーションにおいて考慮すべき点は何か？

A(続き).

Incurred sample reanalysis (ISR):

各々の地域のガイドライン／ガイダンスに記載がある場合、これらに従って実施すべき

実施する場合には、十分な試料量または複製数(スポット、容器、またはチップ等)がISR用に確保されるよう注意が必要である

まとめ

1. トキシコキネティクス試験におけるマイクロサンプリングの利用に関するQ&A(ICH S3A Q&A)が最終化された。
2. 今後、マイクロサンプリング技術が普及することにより、より良い毒性評価になることを期待します
3. なお、マイクロサンプリング法についての基本的な留意点は、ICH S3A Q&Aに記載されていますが、マイクロサンプリング法を使用するに当たり、懸念がある場合は、必要に応じて、機構の対面助言制度を利用してください。

謝辞

◆ ICH S3A Q&A IWGメンバー、国内研究班メンバー

ご清聴、有難うございました！

