



THE 11TH JBF SYMPOSIUM

~ THE BEGINNING OF A NEW ERA ~



FEBRUARY 25-27, 2020

TOWER HALL FUNABORI, TOKYO, JAPAN

第11回JBFシンポジウム プログラム

日時： 2020年2月25日（火）－27日（木）

場所： タワーホール船堀（東京都江戸川区）

第1日：2月25日（火）

11:30 受付開始

12:30-12:45 開会の挨拶

- 第11回JBFシンポジウム実行委員長／協和キリン 細木 淳
- 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

12:45-14:05 バイオアナリシスおよび薬物動態分野へのAI導入

座長： 大津 善明 [アステラス製薬]
八幡 憲治 [サノフィ]

- 道具と割り切れば、機械学習は難しくない？ [兼山 達也・日本製薬工業協会]
- AIによるHPLC用メソッド開発の実際と最新動向
[鈴木 政明・クロムソードジャパン]
- 薬物動態研究分野での機械学習予測の適用 [半田 耕一・帝人ファーマ]

12:45-14:05 LBAの失敗&トラブル事例と解決策 [パラレルセッション会場・蓬莱]

座長： 中村 隆広 [新日本科学]

- LBAの失敗&トラブル事例と解決策 [早田 洋平・新日本科学]

14:20-15:50 ポスター発表1 [ポスター会場]

14:20-15:20 一般演題ポスター（奇数）コアタイム

16:00-18:00 医薬品開発におけるバイオマーカー測定の実際 [同時通訳あり]

座長： 安田 穂 [東レリサーチセンター]
五十嵐 春江 [グラクソ・スミスクライン]

- 日本でのバイオマーカーアッセイバリデーションに関する留意点文書作成について
[斎藤 嘉朗・国立医薬品食品衛生研究所]
- Case study: Validation of an LC-MS method for measuring urinary glycosaminoglycans and its evaluation as a biomarker in Mucopolysaccharidosis VII (MPSVII)
[Julie Taylor・Ultradex]
- Biomarker assay validation - Feedback from EBF discussions on today's challenge of connecting science and regulations [Joanne Goodman・AstraZeneca]
- バイオマーカー定量のバリデーションにおける国内の実情 (DG2019-44)
[橋本 義孝・小野薬品]

【お知らせ】

第1日（2/25）のシンポジウム開催前（10:30～11:30）にビギナー向け基礎講座（無料）を開催します。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。

10:30 フローサイトメーターの基礎 [中村 隆広・新日本科学]

フローサイトメーターは細胞の種類を特定することに使われてきましたが、最近はバイオマーカーを測定することも増えてきています。ここでは、フローサイトメーターの測定原理を紹介するとともに、フローサイトメーターを用いた細胞やバイオマーカーの測定例、さらに、この測定原理を用いてバイオマーカーを網羅的に測定する方法（Luminex）も紹介します。

11:00 qPCRの基礎 [橋田 久美子・シミックファーマサイエンス]

薬物の生体内分布や各組織での薬効評価の方法として、定量的PCRを用いた測定が増えてきています。PCRに興味はあるが測定を行ったことのない方や測定を始められたばかりの方に向けて、PCRの測定原理をわかりやすく説明し、定量的PCR測定の特徴や、他の機器分析との違いなど実例を交えてご紹介します。

第2日：2月26日（水）

9:00-10:40 ニューモダリティにおける抗薬物抗体 [同時通訳あり]

座長： 中村 隆広 [新日本科学]
村尾 尚昭 [中外製薬]

- バイオシミラーの免疫原性評価：FKB327 を例として
[山本 勝彦・協和キリン富士フイルムバイオロジクス]
- Immunogenicity assessment of peptide therapeutics [Mayur Mitra・Genentech]
- 核酸医薬品の ADA 評価 [高草 英生・第一三共]
- Immunogenicity assessment of gene therapies: Current and future concepts
[Lydia Michaut・Bioagilytix]

9:15-10:40 情報交換の”場” [パラレルセッション会場・蓬莱] ※非公開セッション

クロマトグラフィーのレギュラトリーバイオアナリシスに関して、気になる点、悩んでいる点をお持ちの方や外部の考え方を知りたい方にお集まりいただき、情報交換・議論を行います。本セッションは、自由に情報交換していただくことを目的に、非公開のセッションとして開催致します。事前にご応募いただいた方以外は入場できませんのでご了承ください。

10:55-12:25 ポスター発表2 [ポスター会場]

10:55-11:55 一般演題ポスター（偶数）コアタイム

12:35-13:35 ランチョンセミナー

- ①会場（桃源）：SCIEX
- ②会場（蓬莱）：アジレント・テクノロジー株式会社
- ③会場（401）：バイオタージ・ジャパン株式会社
- ④会場（406）：BioAgilitix

13:45-15:00 ICH M10 ガイドライン(案)について [同時通訳あり]

座長： 掛樋 真彰 [武田薬品]
河合 陽介 [大塚製薬]

- ICH M10 ガイドライン案と今後の展望
[石井 明子 / 斎藤 嘉朗・国立医薬品食品衛生研究所]
- ICH-M10 : JBF ワークショップ報告 –JBF からの提案
[山口 建・住化分析センター]
- Industry (EBF) Feedback on ICH M10 draft Guideline
[Philip Timmerman・European Bioanalysis Forum]

15:30-17:00 DDS 製品の開発における基盤技術としてのバイオアナリシス

座長： 石原 比呂之 [エーザイ]
山本 栄一 [国立医薬品食品衛生研究所]

- バイオアナリシス技術に寄せる期待（企業 DDS 研究の観点から）
[小林 英夫・第一三共 RD ノバーレ]
- DDS 研究におけるバイオアナリシス事例 [斎藤 昌良・田辺三菱製薬]
- 探索研究段階におけるナノ DDS 製剤の特性解析
[山本 栄一・国立医薬品食品衛生研究所]

17:10-18:10 基調講演 国立がん研究センター 松村 保広 先生

「新しいがん抗体医薬の開発」

座長： 細木 淳 [協和キリン]
山口 建 [住化分析センター]

18:30-20:30 情報交換会（懇親会）

第3日：2月27日（木）

9:00-11:00 DG ポスター発表 [ポスター会場]

- DG2019-40 BE における Accuracy & Precision Criteria
- DG2019-41 非結合型薬物濃度測定
- DG2019-42 LBA によるマルチプレックスアッセイの現状と課題
- DG2019-43 ADA 分析の道しるべ
－分析法開発および非臨床・臨床試験実施における留意点－
- DG2019-44 バイオマーカー定量のバリデーションにおける国内の実情

11:15-12:15 JBF-臨床薬理分野 コラボセッション

企業の臨床薬理担当者とバイオアナリストはいかに協働できるか？

座長： 荒川 朋子 [ファイザー]
上野 貴代 [プリストル・マイヤーズ スクイブ]

- 各測定項目においてバイオアナリストに期待すること [田窪 亮子・中外製薬]
- 臨床試験における解析上の課題 [福士 理沙・アステラス製薬]

11:15-12:15 JBF-JSQA コラボセッション [パラレルセッション会場・蓬莱]

DI の規制要件を満たしていない測定機器を運用管理で対応するには？

座長： 中村 隆広 [新日本科学]

- スタンドアローンの HPLC を例として、DI の規制要件を満たしていない機器運用のベストプラクティス [正木 良和・大塚製薬工場]

12:30-13:30 ランチョンセミナー

- ①会場（桃源）：サーモフィッシューサイエンティフィック株式会社
- ②会場（蓬莱）：日本ウォーターズ株式会社
- ③会場（401）：ヴェオリア・ジェネツ株式会社 エルガ・ラボウォーター
- ④会場（406）：キコーテック株式会社

13:45-15:45 高分子分析技術の新薬開発への応用

座長： 村尾 尚昭 [中外製薬]
駒場 淳二 [小野薬品]

- 抗体医薬品の免疫原性評価における LC/MS 分析技術の活用 [関口 修央・中外製薬]
- LC-MS を用いた抗体医薬のバイオトランスフォーメーション評価
[小林 和弘・協和キリン]
- Q-PCR 法によるコラテジエンの定量分析 [小松野 孝緒・アンジェス]
- 創薬における定量的プロテオーム解析の活用 [安藤 智広・アクセリード]

16:00-17:00 臨床開発における代謝物評価

座長： 丹羽 誠 [日本新薬]
河合 陽介 [大塚製薬]

- JBF ディスカッショングループの検討にみる段階的代謝物定量の実態
[丹羽 誠・日本新薬]
- 臨床ステージにおけるヒト試料中の代謝物検索および曝露量の評価
[後藤 貴博・田辺三菱製薬]
- 標品を用いヒト代謝物評価を行うための段階的アプローチ
[小林 曜・日本たばこ産業]

17:00-17:15 閉会の挨拶

- 第 12 回 JBF シンポジウム 実行委員長／東和薬品 内山 仁
副委員長／住化分析センター 山口 建

【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&ブース会場は第1日（2月25日）のオープニングから閲覧可能です。また、シンポジウム期間中のポスターの貼り替え等はありません。
- ・1日目の5F小ホールの口頭発表、2日目の口頭発表（基調講演を除く）、3日目午前的小ホールの口頭発表は、小ホールをメイン会場、2F桃源をサテライト会場とします。2日目午後の基調講演は、小ホール前ホワイエをサテライト会場とします。3日目午後的小ホールの口頭発表は、小ホールをメイン会場、4F401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小ホールの音声（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。サテライト会場では発表者の音声での聴講となり、同時通訳の音声は聴けません。

エルガ・ラボウォーター

ELGA VEOLIA

ELGA Labwater

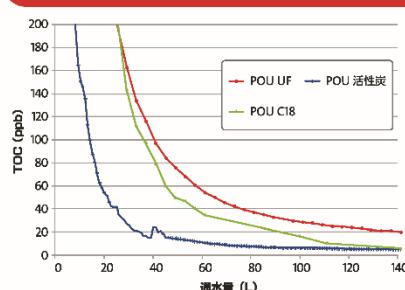
あなたの超純水装置の採水口フィルター 交換した後に200ℓ排水してますか？

採水口フィルターは交換後200ℓ程度排水しないと水質が安定しません。*

しかも、排水中も装置の水質表示は交換前と変化がない事にご注意ください。

エルガの超純水装置は
採水口フィルターを使用しません。

各種フィルター交換後のTOC変動例*



*弊社調べ

ヴェオリア・ジェネット株式会社 エルガ・ラボウォーター事業部

お問い合わせ 〒108-0022 東京都港区海岸3-20-20 ヨコソーレインポータワー e-mail : jp.elga.all.groups@veolia.com http://www.elgalabwater.com
ELGAはVeolia Waterの実験室用水の国際ブランド名です。PURELABはELGA LabWaterの商標および技術です。

参加登録

参加登録は下記サイトからお願いいたします。

<https://amarys-jtb.jp/11thjbfsymposium/?&g=0>

参加登録費

種別		事前登録 (～2020年1月17日)	当日 (会場にて、現金のみ)
シンポジウム参加費	一般	15,000円	20,000円
	DG発表者	10,000円	15,000円
	大学、官庁	7,000円	7,000円
	招待券参加	無料	5,000円
情報交換会参加費	シンポジウム参加者 または招待券参加の方	3,000円	5,000円
	情報交換会のみ参加さ れる方	3,000円	5,000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2020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2020年1月17日をもって終了）。事前登録の入金締切は2020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が、無料招待券をご利用になる場合でも参加登録が必要です。また、無料招待券をご利用になる場合でも、当日登録及び情報交換会に参加される場合は別途参加費が必要です。

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。5F小ホールで行われる1日目16時からの口頭発表及び2日目15時まで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、1日目は15:30～18:30、2日目は8:40～15:30です。レシーバーの貸出・返却はいずれも5F小ホール前で行います。事前登録者及び招待者数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。

1日目及び2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、35,000円（消費税別）の補償費をご負担いただることになりますので、くれぐれもお気を付け下さい。

- ・2日目9:15-10:40の情報交換の場セッションは、参加者の皆様に自由に情報交換していただくことを目的とした非公開のセッションです。事前にご応募いただいた方以外は入場できませんのでご了承ください。

- 右記の QR コードから質問アプリにアクセスして各セッションへの質問を事前に投稿することができます。いただいた質問は質疑応答の際に座長から発表者に質問させていただく可能性があります。なお、時間の関係ですべての質問を採用できない可能性がありますので、あらかじめご了承ください。



- 受付は、以下の時間帯・場所で設けます。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。

1 日目：11:30～18:00、5F 小ホール前（ポスター発表者のみ 11:00 から受付を開始します）

2 日目：8:40～18:30、5F 小ホール前

3 日目：8:40～12:45、2F ポスター会場入口／13:00～16:00、5F 小ホール前

- ランチョンセミナーのチケットは、以下の時間帯・場所で配布致しますので、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。

2 日目：8:45～11:00、小ホール前

3 日目：8:45～11:00、2F ポスター会場入口

- 4F 403 号室にクローケを設けますのでご利用ください（1 日目（10:15～18:30）、2 日目（8:40～18:40）、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 は貴重品の破損や金銭の紛失等によって起きた損害に対する一切の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、以下の時間帯で自由に閲覧可能です。

1 日目：12:30～18:00（ポスター発表コアタイム：14:20-15:20（奇数番号））

2 日目：9:00～18:30（ポスター発表コアタイム：10:55-11:55（偶数番号））

3 日目：9:00～12:30（ポスター発表コアタイム：9:00-11:00（DG、JBF タスクフォース））

- 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 5F 小ホール前、2 日目 9:00-18:30 5F 小ホール前、3 日目 9:00-12:45 2F ポスター会場入口、13:00-16:00 5F 小ホール前）。

- 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コーナー（無料）を 2F 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：14:00（コーヒー・紅茶・日本茶）

2 日目：10:40、15:00（コーヒー・紅茶・日本茶）

3 日目：9:00（ミネラルウォーター）

- 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。

超高速定量分析への挑戦 – Echo-MS System

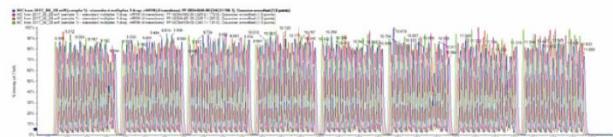


2020年初
発売予定

Reproducibility and speed

Echo-MS system

- no sample loss or carry over
- Label-free
- Universal detector
- High ionization efficiency
- Sensitivity and robustness



- 3-8% whole plate CV, without IS
- 1.8 min per 384-plate (>3.5 Hz) if quantifying different targets from adjacent wells
- <7 min per 384-plate (1 Hz) if quantifying the same analytes from adjacent wells



株式会社エービー・サイエックス

本社：〒140-0001 東京都品川区北品川 4-7-35 御殿山トラストタワー 21F

TEL : 0120 (318) 551 FAX : 0120 (318) 040

大阪：〒531-0072 大阪府大阪市北区豊崎 3-19-3 ピアスクエア 3F

www.sciex.jp Email : jp_sales@sciex.com

MKT13-841A

BioAgilytix

最高の科学は 最高の人々を必要とします

高分子のバイオアナリシスにおける世界一流の専門家が提供する良質のサービス。



エンドトゥーエンドの能力:

- 分析法開発
- 分析法バリデーション
- サンプル分析

GxPでの実績のあるコンプライアンス:

- バイオマーカー
- 遺伝子治療
- 免疫原性
- 細胞治療
- 細胞を用いたアッセイ
- バイオシミラー

私たちスペシャリストにお話しください

JBF開催期間中にBioAgilytixにコンタクトしてくださいまたは
電子メールinfo@bioagilytix.comにコンタクトしてください。

www.bioagilytix.com

タイムスケジュール

1日目 [2020年2月25日(火)]

	小ホール (5F)	桃源 (2F)	瑞雲・平安・福寿 (2F)	蓬萊 (2F)	401/406 (4F)
9:00					
10:00					
11:00	10:30~11:30 基礎講座（無料） 11:30~ 受付開始				
12:00	12:30 開会挨拶	中継	ポスター掲示		
13:00	12:45~14:05 バイオアナリシスおよび 薬物動態分野への AI 導入			12:45~14:05 LBA の失敗& トラブル事例と 解決策	
14:00				企業 展示	
15:00			14:20~15:50 ポスター発表① 一般演題ポスター（奇数） コアタイム 14:20-15:20		
16:00	16:00~18:00 医薬品開発における バイオマーカー測定の 実際	中継	ポスター掲示		
17:00					
18:00					
19:00					
20:00					

※ 桃源では、小ホールのスライド・音声を中継いたします。桃源から小ホールへの質問等はできません。

※ 「医薬品開発におけるバイオマーカー測定の実際」のセッションでは日英の同時通訳がご利用頂けます。

なお、桃源では同時通訳サービスはご利用頂けません。

※ ポスター・企業ブースへは開場時間中自由にお立ち寄り頂けます。

2日目 [2020年2月26日(水)]

小ホール (5F)		桃源 (2F)	瑞雲・平安・福寿 (2F)	蓬萊 (2F)	401/406 (4F)
9:00	9:00~10:40 ニューモダリティにおける 抗薬物抗体	中継	ポスター掲示		9:15~10:40 情報交換の“場” ※参加には事前 申し込みが必要です。
10:00					
11:00			10:55~12:25 ポスター発表② 一般演題ポスター（偶数） コアタイム 10:55-11:55		
12:00					
13:00		ランチョンセミナー ①			ランチョンセミナー ②
14:00	13:45~15:00 ICH M10 ガイドライン (案)について				ランチョンセミナー ③/④
15:00	15:30~17:00 DDS 製品の開発に おける基盤技術としての バイオアナリシス	中継	ポスター掲示		
16:00					
17:00	17:10~18:10 基調講演：松村保広先生				
18:00					
19:00		18:30~20:30 情報交換会 (桃源・福寿)			
20:00					

- ※ 桃源では、小ホールのスライド・音声を中継いたします。桃源から小ホールへの質問等はできません。
- ※ 基調講演では、小ホール前ホワイエで小ホールのスライド・音声を中継いたします。ホワイエから小ホールへの質問等はできません。
- ※ 「ニューモダリティにおける抗薬物抗体」及び「ICH M10 ガイドライン(案)について」のセッションでは日英の同時通訳がご利用頂けます。なお、桃源では同時通訳サービスはご利用頂けません。
- ※ ポスター・企業ブースへは開場時間中自由にお立ち寄り頂けます。

3日目 [2020年2月27日(木)]

小ホール (5F)	桃源 (2F)	瑞雲・平安・福寿 (2F)	蓬萊 (2F)	401/406 (4F)
		<p>9:00~11:00 ポスター発表③</p> <p>DG</p>	企業 展示	
<p>11:15~12:15</p> <p>JBF-臨床薬理コラボ</p>	中継	ポスター掲示	<p>11:15~12:15</p> <p>JBF-JSQA コラボ</p>	
	ランチョンセミナー ⑤		ランチョンセミナー ⑥	ランチョンセミナー ⑦/⑧
<p>13:45~15:45</p> <p>高分子分析技術の 新薬開発への応用</p>				中継 (401)
<p>16:00~17:00</p> <p>臨床開発における 代謝物評価</p>				
17:00 閉会挨拶				

※ 桃源または401では、小ホールのスライド・音声を中継いたします。中継先から小ホールへの質問等はできません。

※ ポスター・企業ブースへは、12時30分まで自由にお立ち寄り頂けます。

Bioanalysis

より少ないサンプルで、より低濃度まで

感度 50 倍まで

- タンパク質・ペプチド
- 低分子
- 核酸

ionKey/MS システム
・キーを挿して回すだけ
・高い柔軟性



ionKey/MS についての詳細はこちら
www.waters.com/ionkey

©2019 Waters Corporation. Waters および The Science of What's Possible は Waters Corporation の商標です。
日本ウォータース株式会社 www.waters.com
[東京本社] 〒140-0001 東京都品川区北品川3-12 第5小池ビル TEL 03-3471-7191 FAX 03-3471-7118
[大阪支社] 〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-14-10 新大阪トヨタビル11F TEL 06-6304-8888 FAX 06-6300-1734

Waters

THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.TM



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

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

優れた分子認識/ペプチドなど多成分分離
カーネリアン

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

ワドポア/抗生物質や高分子分離
Cadenza CW-C18

RP+AX+CX / マルチモードODS

イオン性高極性物質 / LC-MSに好適
スケルツォ

Scherzo SM-C18

弱イオン

Scherzo SS-C18

強イオン・多

Scherzo SW-C18

強イオン・少

高分解能ノンポーラス2μmODS

ペプチド、生体・合成高分子

タンパク質アソフォーム分離

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

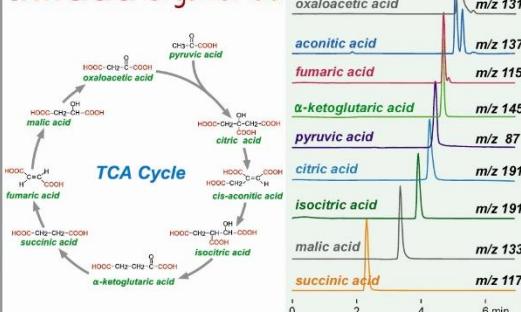
DACapo DX-C18

世界初

シリカ系としては世界初のLC-MS用有機酸分析カラム

TCA(クエン酸)回路などのポリカルボン酸が分析可能

Intrada Organic Acid



逆相+アニオン交換+カチオン交換 分離カラム

Scherzo C18 Family

ODS + アニオン固定相



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 + 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

卓越した耐酸性

ODSとは異なる選択性

Unison UK-C1 NEW

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

水系移動相における卓越した耐久性

Unison UK-Amino

水系移動相における卓越した耐久性

Unison UK-Amino

水系移動相における卓越した耐久性

Unison UK-Amino

ライフサイエンス分離

LC-MS用 非誘導体化アミノ酸分析

イントラダ

Intrada Amino Acid

世界初

LC-MS用 非誘導体化有機酸分析

Intrada Organic Acid

NEW

世界初

LC-MS対応 挥発性移動相 SEC

Intrada SEC

世界初

C4で溶出しにくい蛋白質などの逆相分離

Intrada WP-RP

Imtakt

www.imtakt.com

〒600-8813 京都市下京区中堂寺南町

www.imtaktUSA.com

京都リサーチパーク インタクト株式会社

PHONE: 075-315-3006 FAX: 075-315-3009

E-MAIL: info@imtakt.com

THE 11TH JBF SYMPOSIUM PROGRAM

Date: Tue, 25th Feb. – Thu, 27th Feb. 2020

Venue: TOWER HALL FUNABORI, Tokyo, Japan

Day 1: Tuesday, 25th Feb.

11:30 AM Registration

12:30-12:45 PM Opening Remarks

- Jun HOSOGI (The 11th JBF Symposium Chair / Kyowa Kirin)
- Yoshiro SAITO (JBF Representative / National Institute of Health Sciences)

12:45-14:05 Introduction of AI to bioanalysis and pharmacokinetics

Chair: Yoshiaki OHTSU (Astellas Pharma)
Kenji YAHATA (Sanofi)

- Isn't machine learning difficult if you think it's just a tool?
- Tatsuya KANEYAMA (Japan Pharmaceutical Manufacturers Association)
- HPLC method development using AI: current practice and recent trend
- Masaaki SUZUKI (ChromSword Japan)
- Approach for the prediction of ADME parameters using machine learning
- Koichi HANDA (Teijin Pharma)

12:45-14:05 Failure & Trouble Cases and these Solutions of LBA [Parallel Session]

Chair: Takahiro NAKAMURA (Shin Nippon Biomedical Laboratories)

- Failure & Trouble Cases and these Solutions of LBA
- Yohei HAYATA (Shin Nippon Biomedical Laboratories)

14:20-15:50 Poster Presentation Part I

14:20-15:20 Core-time for public offering presentations (odd number posters)

16:00-18:00 Practical biomarker measurements in drug development

Chair: Yutaka YASUDA (Toray Research Center)
Harue IGARASHI (GlaxoSmithKline)

- Draft of points to consider document on biomarker assay validation in Japan
- Yoshiro SAITO (National Institute of Health Sciences)
- Case study: Validation of an LC-MS method for measuring urinary glycosaminoglycans and its evaluation as a biomarker in Mucopolysaccharidosis VII (MPSVII) - Julie TAYLOR (Ultragenyx)
- Biomarker assay validation - Feedback from EBF discussions on today's challenge of connecting science and regulations - Joanne GOODMAN (AstraZeneca)
- Validation of Biomarker Quantification in Japan (DG2019-44)
- Yoshitaka HASHIMOTO (Ono Pharmaceutical)

Translation service for English to/from Japanese will be provided in the “Practical biomarker measurements in drug development” session.

Day 2: Wednesday, 26th Feb.

9:00-10:40 AM Anti-drug antibodies in new modality drugs

Chair: Takahiro NAKAMURA (Shin Nippon Biomedical Laboratories)
Naoaki MURAO (Chugai Pharmaceutical)

- Immunogenicity assessment of biosimilar: FKB327's case
- Katsuhiko YAMAMOTO (Fujifilm Kyowa Kirin Biologics)
- Immunogenicity assessment of peptide therapeutics - Mayur MITRA (Genentech)
- ADA assessment for therapeutic oligonucleotides - Hideo TAKAKUSA (Daiichi Sankyo)
- Immunogenicity assessment of gene therapies: Current and future concepts
- Lydia MICHAUT (Bioagilytix Europe)

9:15-10:40 Closed Session: Let's talk to each other about bioanalysis [Parallel Session]

Additional registration is required to attend this session.

10:55-12:25 Poster Presentation Part II

10:55-11:55 Core-time for public offering presentations (even number posters)

12:35-13:35 PM Luncheon

13:45-15:00 ICH M10 Guideline / Draft

Chair: Masaaki KAKEHI (Takeda Pharmaceutical)
Yosuke KAWAI (Otsuka Pharmaceutical)

- ICH M10 draft guideline and future perspectives
- Akiko ISHII-WATABE and Yoshiro SAITO (National Institute of Health Sciences)
- ICH-M10: JBF Workshop Report - Proposals from JBF
- Takeru YAMAGUCHI (Sumika Chemical Analysis Service)
- Industry (EBF) Feedback on ICH M10 draft Guideline
- Philip TIMMERMAN (European Bioanalysis Forum)

15:30-17:00 Bioanalysis for development of DDS drugs

Chair: Hiroshi ISHIHARA (Eisai)
Eiichi YAMAMOTO (National Institute of Health Sciences)

- A corporate pharmaceutical researcher's expectations for the bioanalysis technologies
- Hideo KOBAYASHI (Daiichi Sankyo RD Novare)
- Case study of bioanalysis in the development of DDS products
- Masayoshi SAITO (Mitsubishi Tanabe Pharma)
- Characterization of Nano-DDS Formulations in Drug Discovery Stage
- Eiichi YAMAMOTO (National Institute of Health Sciences)

17:10-18:10 Keynote Lecture

Development of new cancer antibody drugs
Prof. Yasuhiro Matsumura (National Cancer Center)

Chair: Jun HOSOGI (Kyowa Kirin)
Takeru YAMAGUCHI (Sumika Chemical Analysis Center)

18:30-20:30 Banquet

Translation service for English to/from Japanese will be provided in “Anti-drug antibodies in new modality drugs” session and “ICH M10 Guideline / Draft” session.

Day 3: Thursday, 27th Feb.

9:00-11:00 AM Poster Presentation Part III (JBF Discussion Groups)

- DG2019-40 Accuracy and precision criteria of method validation for bioequivalence studies
- DG2019-41 Bioanalysis of Unbound Drug
- DG2019-42 Current situations and issues of multiplex LBA
- DG2019-43 Guide to ADA Analysis: Considerations in Developing Analytical Methods and Conducting Nonclinical/Clinical Studies
- DG2019-44 Validation of Biomarker Quantification in Japan

11:15-12:15

Collaboration Session with Clinical Pharmacology

How can Industry Clinical Pharmacologists and Bioanalysts Work Together?

Chair: Tomoko ARAKAWA (Pfizer R&D Japan)
Takayo UENO (Bristol-Myers Squibb)

- Expectations to Bioanalysts for Each Measurement Item - Ryoko TAKUBO (Chugai Pharmaceutical)
- Analytical Issues in Clinical Studies - Risa FUKUSHI (Astellas Pharma)

11:15-12:15

Collaboration Session with JSQA [Parallel Session]

How to use computerised system without support data integrity validation by SOP?

Chair: Takahiro NAKAMURA (Shin Nippon Biomedical Laboratories)

- Best practice of operation management under data-integrity guidelines - A case study using stand-alone HPLC - Yoshikazu MASAKI (Otsuka Pharmaceutical Factory)

12:30-13:30 PM

Luncheon

13:45-15:45

Application of large molecule analytical technologies to new drug development

Chair: Naoaki MURAO (Chugai Pharmaceutical)
Junji KOMABA (Ono Pharmaceutical)

- Utilization of LC/MS analysis on the immunogenicity research of therapeutic antibodies - Nobuo SEKIGUCHI (Chugai Pharmaceutical)
- Biotransformation evaluation of therapeutic monoclonal antibody using LC-MS - Kazuhiro KOBAYASHI (Kyowa Kirin)
- Quantitative analysis of Collategene by Q-PCR - Takao KOMATSUNO (AnGes)
- Application of quantitative proteomic analysis in drug discovery research - Tomohiro ANDO (Axcelead)

16:00-17:00

Metabolite evaluation in clinical development

Chair: Makoto NIWA (Nippon Shinyaku)
Yosuke KAWAI (Otsuka Pharmaceutical)

- Overview of tiered metabolite quantification: Japan Bioanalysis Forum (JBF) Discussion Group - Makoto NIWA (Nippon Shinyaku)
- Investigation of metabolites and assessment of metabolite exposure in human matrices at the clinical stage - Takahiro GOTO (Mitsubishi Tanabe Pharma)
- Tiered Approach for Assessment of Human Metabolites without Authentic Standards - Satoru KOBAYASHI (Japan Tobacco)

17:00-17:15

Closing Remarks

- Hitoshi UCHIYAMA (The 12th JBF Symposium Chair / Towa Pharmaceutical)
- Takeru YAMAGUCHI (The 12th JBF Symposium Co-chair / Sumika Chemical Analysis Service)

Registration

Registration fee

Participant type		ADVANCE REGISTRATION (on or before Jan. 17, 2020 JST)	On the day of Symposium (cash only)
Symposium	Company participant	JPY 15,000	JPY 20,000
	Student, Academic or Agency participant	JPY 7,000	JPY 7,000
Banquet	Symposium participant	JPY 3,000	JPY 5,000
	Banquet only	JPY 3,000	JPY 5,000

The registration fee for Symposium does not cover a banquet ticket on Feb 26 evening. Registration for banquet is necessary. Please settle your payment within 14 days after your application and by Jan 31, 2020.

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 photographies during the Symposium. The photographies 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 1: Presentations after 16:00pm at Small Hall on 5F

Day 2: Presentations until 15:00pm at Small Hall on 5F

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 15:30pm to 18:30pm on Day 1 and from 8:40am to 15:30pm on Day 2. You must return receivers to the reception after oral presentation on each of Day 1 and Day 2. Please make sure that you will have to pay the compensation expense, JPY 35,000 (without tax), if you broke or lost the receiver.

- Reception desk is open at the following time. Please be careful about the reception time.
Day 1: 11:30 to 18:00 at Small Hall on 5F
Day 2: 8:40 to 18:30 at Small Hall on 5F
Day 3: 8:40 to 12:45 at the entrance of Event Hall on 2F / 13:00 to 16:00 at Small Hall on 5F
- Tickets for the luncheon seminars will be provided as follows;
Day 2: 8:45 to 11:00 at Small Hall on 5F
Day 3: 8:45 to 11:00 at the entrance of Event Hall on 2F
- Cloak will be available at the room 403 on 4F. JBF cannot keep any valuables and will not bear full responsibility for damage or loss of valuables.
Open time on Day 1: 10:15 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 Event Hall on 2F at the following time.
Day 1: 12:30 to 18:00 (Poster presentation: 14:20 to 15:20 (odd number))
Day 2: 9:00 to 18:30 (Poster presentation: 10:55 to 11:55 (even number))
Day 3: 9:00 to 12:30 (Poster presentation: 9:00 to 11:00 (Discussion Group, JBF Task Forces))
- JBF will provide free drinks in the poster presentation area on 2F at the following time.
Day 1: 14:00 (coffee and tea)
Day 2: 10:40 and 15:00 (coffee and tea)
Day 3: 9:00 (water)
- The program will be occasionally updated on JBF website. Check the website: <http://bioanalysisforum.jp/en>

Time schedule

Day 1 [February 25, Tuesday]

	Small Hall (5F)	Togen (2F)	Zuiun, Heian, Fukuju (2F)	Horai (2F)	401/406 (4F)
9:00					
10:00					
11:00	10:30~11:30 Basic course (Free charge)				
12:00	11:30~ Registration				
13:00	12:30 Opening remarks 12:45~14:05 Introduction of AI to bioanalysis and pharmacokinetics	Satellite venue	Poster viewing		12:45~14:05 Failure & Trouble Cases and these Solutions of LBA
14:00			14:20~15:50 Poster presentation	Booth	
15:00					
16:00	16:00~18:00 Practical biomarker measurements in drug development	Satellite venue	Poster viewing		
17:00					
18:00					
19:00					
20:00					

※ Webcasting of presentations at Small Hall is available at Togen. Questions to presenters are not available at Togen.

※ Translation service for English to/from Japanese is available in the session "Practical biomarker measurements in drug development". No translation service is available at Togen.

※ Poster viewing and booth are available during opening hours.

Day 2 [February 26, Wednesday]

	Small Hall (5F)	Togen (2F)	Zuiun, Heian, Fukuju (2F)	Horai (2F)	401/406 (4F)
9:00	9:00~10:40 Anti-drug antibodies in new modality drugs	Satellite venue	Poster viewing		
10:00				9:15~10:40 Let's talk to each other about bioanalysis ※Closed session	
11:00			10:55~12:25 Poster presentation ②		
12:00		Luncheon seminar ①			
13:00				Luncheon seminar ②	Luncheon seminar ③/④
14:00	13:45~15:00 ICH M10 Guideline / Draft	Satellite venue	Poster viewing		
15:00	15:30~17:00 Bioanalysis for development of DDS drugs				
16:00					
17:00	17:10~18:10 Keynote Lecture: Yasuhiro Matsumura				
18:00					
19:00		18:30~20:30 Banquet (Togen, Fukuju)			
20:00					

※ Webcasting of presentations at Small Hall is available at Togen. Questions to presenters are not available at Togen.

※ Webcasting of presentations of Kyenote Lecture is available at Foyer in front of Small Hall. Questions to presenters are not available at Foyer.

※ Translation service for English to/from Japanese is available in the sessions "Anti-drug antibodies in new modality drugs" and "ICH M10 Guideline / Draft". No translation service is available at Togen.

※ Poster viewing and booth are available during opening hours.

Day 3 [February 27, Thursday]

		Small Hall	Togen	Zuiun, Heian, Fukuju	Horai	401/406
		(5F)	(2F)	(2F)	(2F)	(4F)
9:00				9:00~11:00 Poster presentation ③ DG		
10:00						
11:00		11:15~12:15 JBF-ClinPharm collaboration	Satellite venue	Poster viewing	Booth	11:15~12:15 JBF-JSQA collaboration
12:00			Luncheon seminar ⑤			Luncheon seminar ⑥
13:00		13:45~15:45 Application of large molecule analytical technologies to new drug development				Luncheon seminar ⑦/⑧
14:00						
15:00						
16:00		16:00~17:00 Metabolite evaluation in clinical development				Satellite venue (401)
17:00		17:00 Closing				
18:00						
19:00						
20:00						

※ Webcasting of presentations at Small Hall is available at Togen or 401. Questions to presenters are not available at Togen or 401.

※ Poster viewing and booth are available until 12:30.

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・リピドミクス)
- 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

〒408-0044 山梨県北杜市小淵沢町 10221 番地

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

<https://www.cmicgroup.com/corporate/group/cmic-phs/>

低濃度サイトカイン・ケモカインなどを
マルチプレックスに高感度測定！



- 1 健常レベルのサイトカイン濃度を測定できる
- 2 最大10-Plexまで同時に測定可能
- 3 従来のELISAとほぼ同じ作業工程で測定
- 4 キャリブレーション不要

超高感度マルチプレックスELISAリーダー SP-X™

バイオアナリシス前のサンプル調整を
より簡単に！



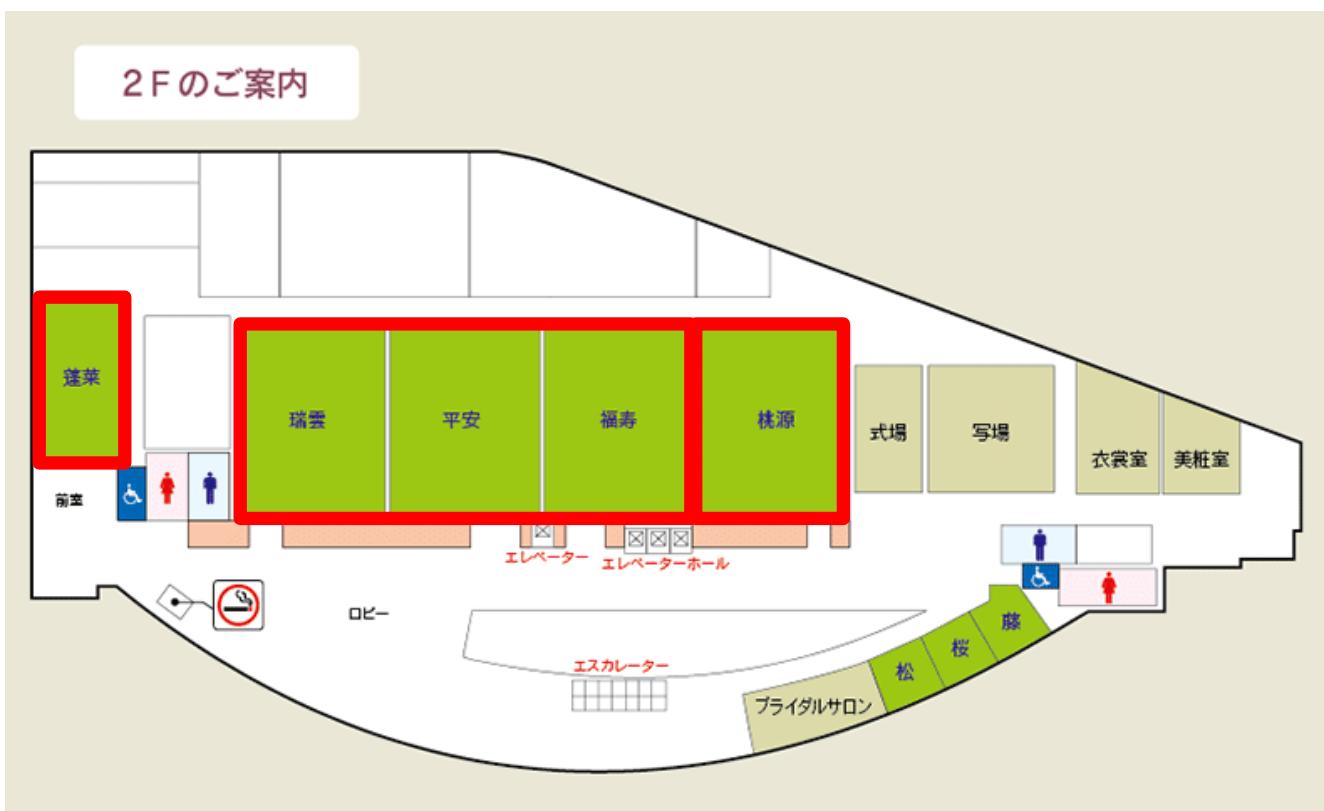
- 1 突沸を防ぎながら、多検体を一度に濃縮・乾固
- 2 代謝物の固相/液-液抽出/除タンパク後の溶媒除去に
- 3 LC/MS前の濃度調整・溶媒交換に
- 4 Top Countプレートへのサンプル乾固に

高性能遠心エバポレーター EZ-2 シリーズ

展示ブースA3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

シンポジウム会場：2F



ポスター／ブース会場等：瑞雲、平安、福寿

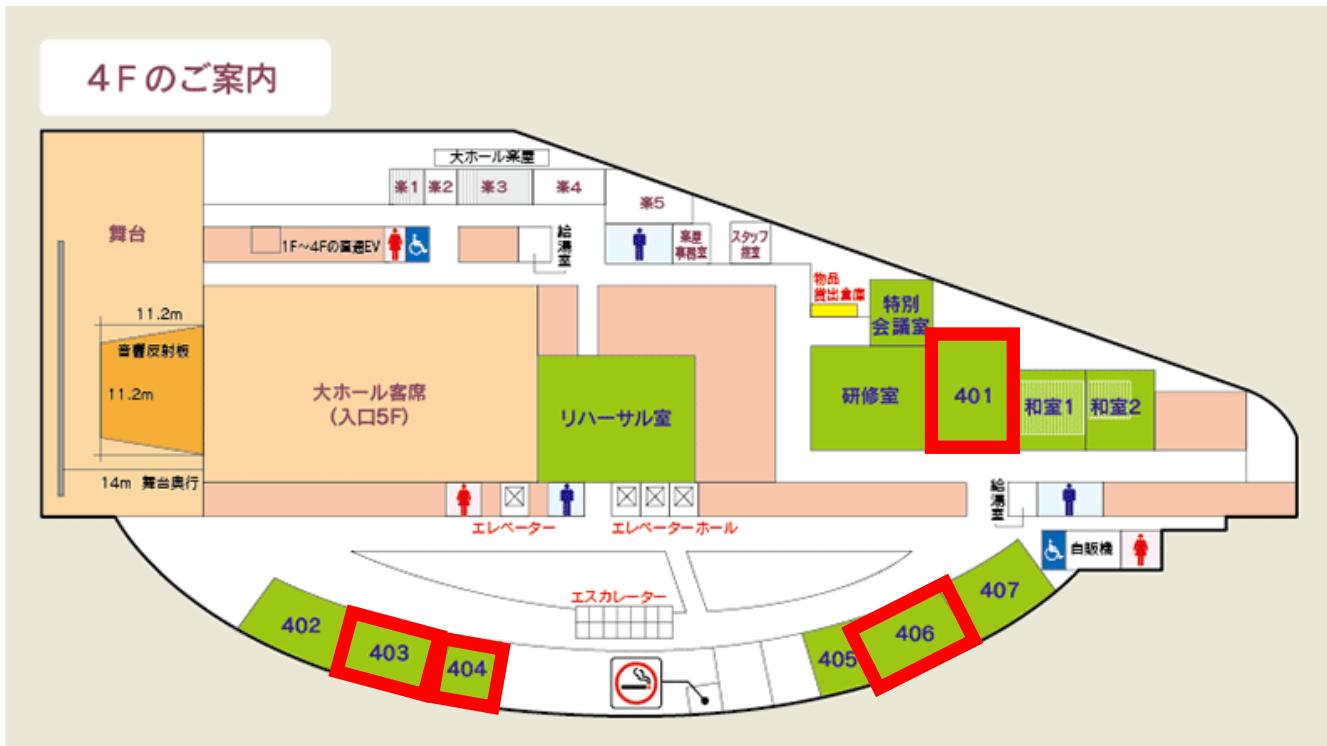
ランチョン会場：桃源、蓬萊

情報交換会：桃源、福寿

パラレルセッション会場：蓬萊

サテライト会場：桃源

シンポジウム会場：4F



クローク : 403

ランチョン会場 : 401、406

サテライト会場 : 401

演者控室 : 404

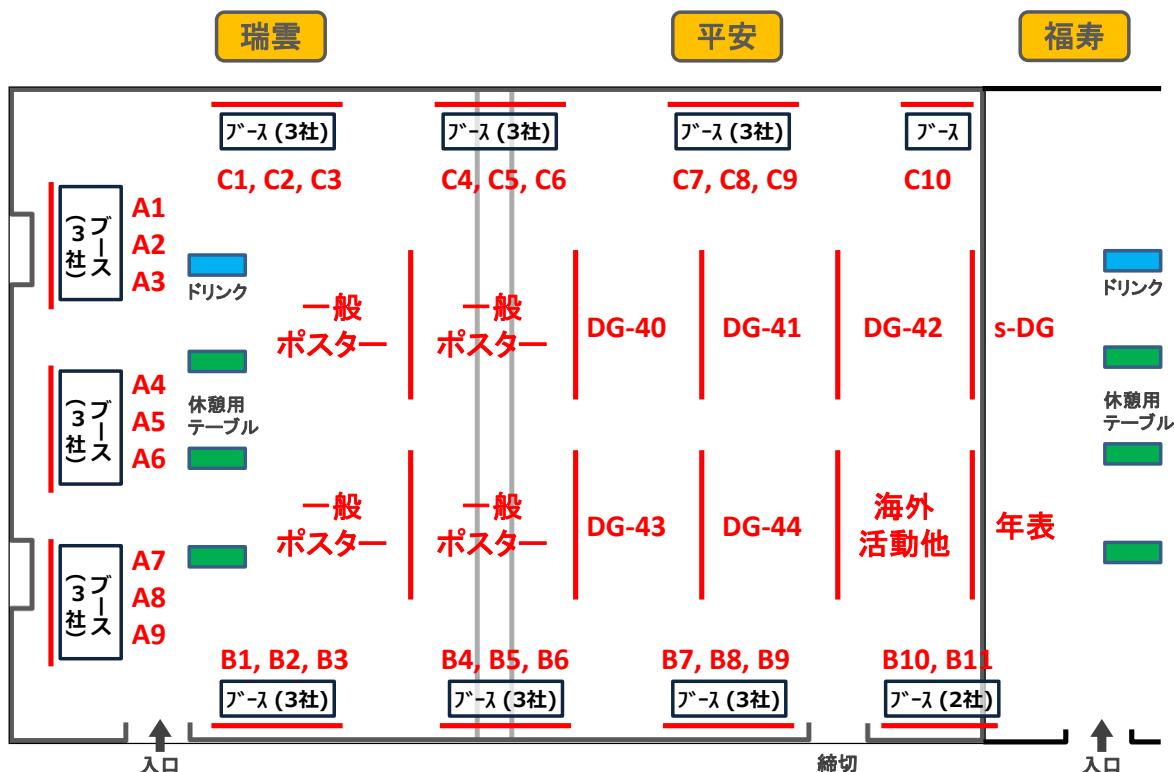
シンポジウム会場：5F



口頭発表メイン会場：小ホール

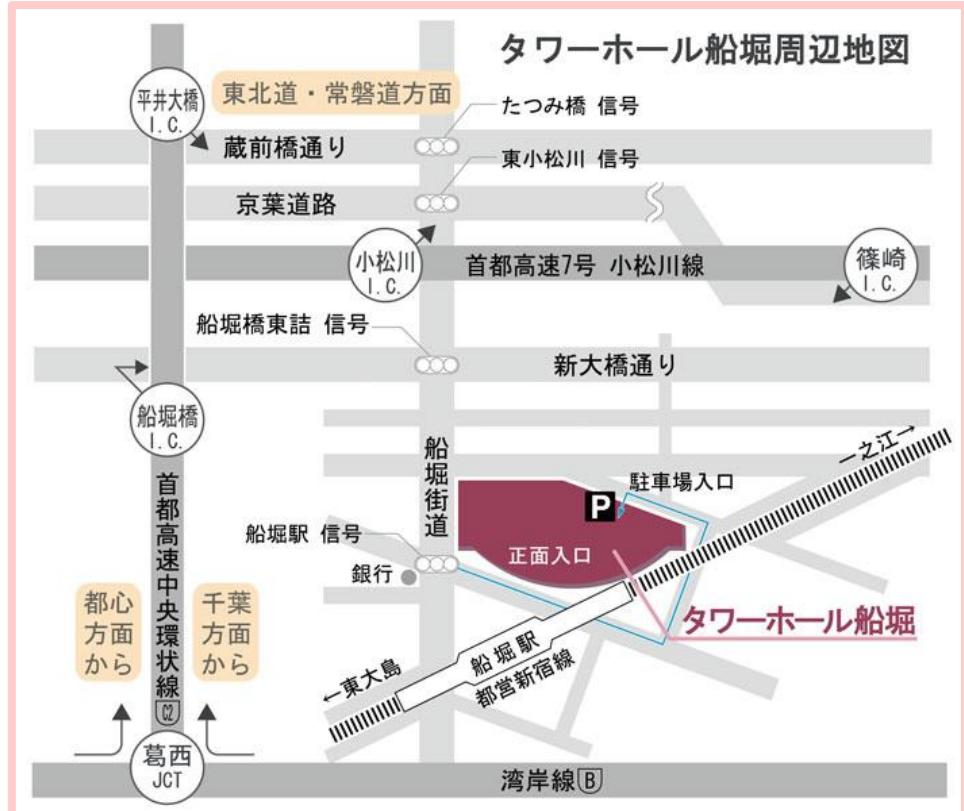
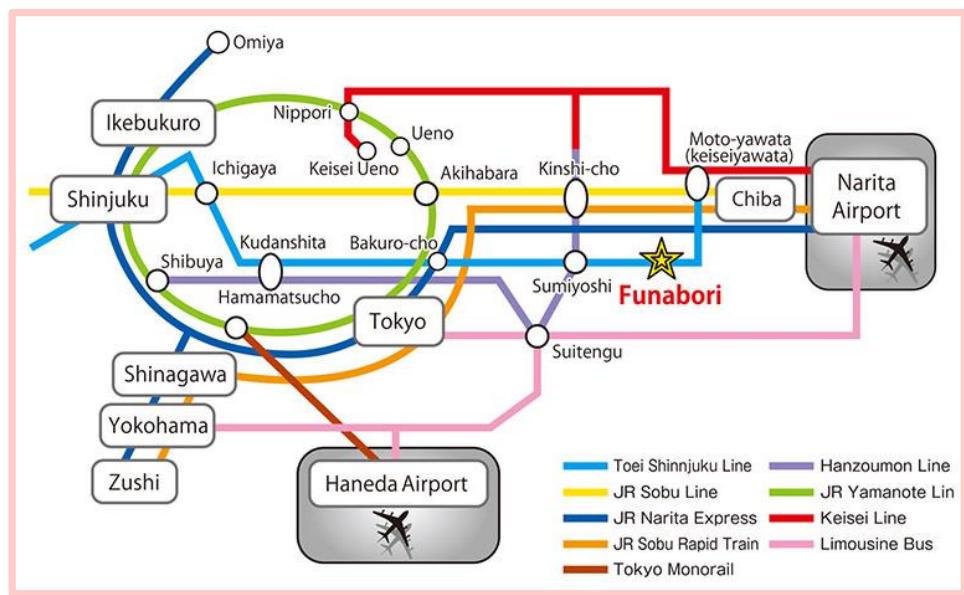
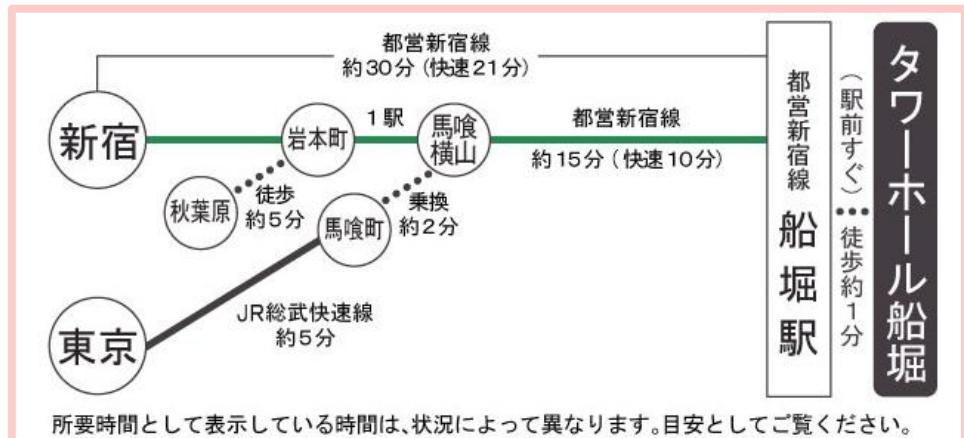
受付：小ホール前

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	シミックファーマサイエンス株式会社	B1	SCIEX	C1	サーモフィッシュャーサイエンティフィック株式会社
A2	大塚製薬株式会社	B2	株式会社ネモト・サイエンス	C2	ユサコ株式会社
A3	株式会社スクラム	B3	メソスケールジャパン株式会社	C3	PPC 株式会社
A4	株式会社東レリサーチセンター	B4	株式会社新日本科学	C4	アルテア技研株式会社
A5	ブルカージャパン株式会社	B5	医化学創薬株式会社	C5	エムエス機器株式会社
A6	バイオタージ・ジャパン株式会社	B6	野村化学株式会社	C6	アジレント・テクノロジー株式会社
A7	株式会社住化分析センター	B7	BioAgilytix Labs, LLC	C7	コニカミノルタ株式会社
A8	ジーエルサイエンス株式会社	B8	エルガ・ラボウォーター	C8	湘南丸八エステック株式会社
A9	ジャイロスジャパン株式会社	B9	日本ウォーターズ株式会社	C9	株式会社島津テクノリサーチ
		B10	積水メディカル株式会社	C10	株式会社島津製作所
		B11	キコーテック株式会社		

会場へのアクセス



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/>

大阪ソーダ
シリカゲル製造技術

CAPCELL PAK

ポリマーコート技術

株式会社 大阪ソーダ

機能材事業部 クロマトグラフィー営業部

〒550-0011 大阪市西区阿波座一丁目12番18号
TEL 06-6110-1598 FAX 06-6110-1612
e-mail: silica@osaka-soda.co.jp
URL: <https://sub.osaka-soda.co.jp/HPLC>

基調講演 演者のご紹介

松村 保広

国立がん研究センター、先端医療開発センター、新薬開発分野

Yasuhiro Matsumura

Division of Developmental Therapeutics, EPOC, National Cancer Center

略歴

- 1981年3月 熊本大学医学部卒業
1981年4月 熊本大学医学部付属病院第一外科入局
1988年3月 医学博士号取得
1988年8月 文部教官熊本大学医学部助手
1989年8月 米国マウントサイナイ医科大腫瘍内科博士研究員
1990年9月 英国オックスフォード大学ナフィールド病理博士研究員
1993年7月 同上 Senior research scientist グレイド A65
1994年9月 国立がんセンター中央病院第一外来部内科医員
1999年1月 同特殊病棟部 11B 病棟医長
2002年4月 国立がんセンター研究所支所がん治療開発部長（後に、組織改編により、国立研究開発法人国立がん研究センター先端医療開発センター、新薬開発分野、分野長、現在に至る）
2003年4月 東京大学大学院新領域 がん先端生命科学専攻 客員准教授併任
2013年4月 東京大学大学院新領域創成科学研究科がん先端生命科学 客員教授併任
2014年6月 慶應大学連携大学院 客員教授併任
2018年4月 関西医科大学 客員教授併任

(受賞歴)

- 2005年 日本 DDS 学会永井記念賞
2006年 国立がんセンター田宮記念賞
2008年 高松宮妃癌研究基金研究助成
2016年 トムソンロイター引用栄誉賞、化学賞
2019年 小林がん学術振興会第13回小林がん学術賞

新しいがん抗体医薬の開発

国立がん研究センター先端医療開発センター新薬開発分野

○松村 保広



Development of new cancer antibody drugs

Yasuhiro Matsumura

Division of Developmental Therapeutics, EPOC, National Cancer Center

Drug Delivery System の選択的腫瘍集積性の基本原理である Enhanced Permeability and Retention (EPR)効果を 1986 年に発表後、固形がんの治療における DDS 製剤の基本的支柱として、抗がん剤や遺伝子核酸デリバリー製剤の研究開発が行なわれ。マウスレベルでは EPR 効果は世界的に証明された。EPR 効果とは、生体親和性の高い IgG など高分子物質は正常血管から漏出せず、生体の網内系にも捕獲しづらく、血管透過性の亢進した腫瘍血管から選択的に漏れ、リンパ回収系の未熟さゆえに長く固形がんに留まるというものである。

EPR 効果は動物レベルでは証明されたが、DDS 製剤自体の臨床応用は少ない。長年、動物実験と臨床との乖離につき検討し、ヒト固形がんでは、がんによる血液凝固亢進に続く、がん組織の中の間質形成が DDS 製剤のバリアとなり、がん組織へは到達するものの、がん組織内での DDS 製剤の分布が不均一で、効果がでにくいと結論づけた。がん間質中の主な成分である血液凝固の最終産物である不溶性フィブリン (IF) のみを認識し、フィブリノゲンや FDP を認識しない抗体を樹立し、その後抗体抗がん剤複合体、Antibody drug conjugate (ADC)を作製した。この ADC はがん間質にデリバリーされ、IF 上に無数存在する凹み構造に結合し、そこを足場にして、IF 上でのみ活性化されているプラスミンで特異的に抗がん剤をリリースできるようにリンカーを工夫した。臨床に近い KPC マウス自然発生臍がんに対し有意な効果を確認し、がん間質ターゲティング、Cancer stromal targeting (CAST)療法と命名した。

本講演では、通常では見つからない方法で見出した、新しい大腸がん分子に対する抗体医薬の開発についても紹介する。

海外演者のご紹介

Julie Elizabeth Taylor, Ph.D.

Ultragenyx Pharmaceutical
California, USA

Biography:

Julie Taylor, Ph. D., is currently Vice President of Bioanalytical Development at Ultragenyx Pharmaceutical, headquartered in Novato, California. The company develops novel therapies for the treatment of rare and ultra-rare diseases, where biomarkers are an essential aspect of demonstrating efficacy. In her role she provides technical oversight of internal and contract laboratories for development, validation and utilization of diagnostic, pharmacokinetic (PK), metabolite, immunogenicity, pharmacodynamic (PD) and biomarker analyses for biologic, gene therapy, mRNA therapy and small molecule therapeutics. She played a key role in the development and approval of MepseviiTM, an enzyme replacement therapy and CrysVitaTM, a human monoclonal antibody.

Dr. Taylor was previously at Janssen Alzheimer Immunotherapy where she was a CMC leader on technical projects in monoclonal antibody, vaccine and adjuvant development and manufacturing programs. She led the development strategy for pre-filled syringe and auto-injector combination presentation for alternate drug delivery of a monoclonal antibody project.

Prior to joining Janssen, she worked at Elan Pharmaceuticals, where she began by leading the bioanalytical development group and was responsible for PK, PD, immunogenicity and biomarker analyses for the Alzheimer and multiple sclerosis programs in development. Later she led the pharmaceutical development department and was responsible for all CMC related activities and deliverables on global cross-functional compound development and clinical teams.

Dr. Taylor has also worked in other biopharmaceutical companies, in quality control and bioanalytical development, following her postdoctoral fellowship training at the University of California San Francisco. She obtained her PhD in biochemistry from the University of Surrey in the UK.

Joanne Goodman

AstraZeneca
Cambridge, UK

Biography:

Joanne is an Associate Director and Head of Clinical Immunology and Bioanalysis in Cambridge, UK for AstraZeneca (previously known as MedImmune). She is responsible for the GLP and GCP bioanalysis certified facility within AstraZeneca which is inspected by the MHRA. In this role, Joanne acts as Test Facility and Test Site Management for the conduct of regulated bioanalysis overseeing the development, validation and implementation of pharmacokinetic, pharmacodynamics/biomarker and immunogenicity assays to support preclinical and clinical studies across multiple therapeutic areas and stages of drug research and development. These activities directly support regulatory submissions in multiple regions.

Prior to joining MedImmune in 2009, Joanne was a Senior Scientist at GlaxoSmithKline (GSK) working for 4 years in the Clinical Immunology and Biomarker Discovery groups involved with large molecule drug discovery in early clinical development. The previous 11 years were spent within cardiovascular research at GSK working on novel chemical entities.

Joanne is a steering committee member of the European Bioanalysis Forum (EBF), sponsoring various teams working on large molecule workstreams. Additionally, Joanne holds the role of steering committee member for the Drug Metabolism Discussion Group (DMDG) and is the company representative for the European Immunogenicity Platform (EIP) as well as co-leading the EIP assay sub-team. Joanne is also a member of the ICH M10 Expert Working Group, representing EFPIA.

Mayur Mitra

Genentech Inc
California, United States

Biography:

Dr. Mayur Mitra serves as a Senior Scientist of Safety Assessment at Genentech Inc., South San Francisco, CA. As part of his role, he serves as a Project Toxicologist and a Cross Functional Team Leader on drug development teams. Dr. Mitra was previously employed as a Senior Research Investigator in the department of Drug Safety Evaluations at Bristol-Myers Squibb, New Brunswick, NJ. He has awarded multiple INDs, CTAs, and a NDA for small molecules, monoclonal antibodies, and peptides; and is vastly experienced in the oncology, immuno-oncology, immunology, ophthalmology, neuroscience, and infectious disease (viral and bacterial) therapy areas. Dr. Mitra trained as a postdoctoral fellow at the Washington University School of Medicine in St. Louis, MO; and received a PhD in Toxicology from the University of Louisiana at Monroe, LA. He obtained a BS in Pharmaceutical Sciences (B. Pharm) from the University of Mumbai, India. He is a Diplomat of the American Board of Toxicology (DABT) since 2011. He is a past recipient of an American Heart Association post-doctoral fellowship and research grant. Dr. Mitra has presented over 40 conference abstracts, book chapters, and published 14 research articles in peer-reviewed journals.

Lydia Michaut

BioAgilytix
Hamburg, Germany

Biography:

Lydia Michaut holds a master's in Molecular and Cellular Biology and a Ph.D. in Immunology from the University of Strasbourg (France). She contributed to the discovery of the role of the Toll receptor in innate immunity in the Laboratory of Prof. Jules A. Hoffmann, 2011 Nobel Prize in Physiology or Medicine with Bruce A. Beutler and Ralph M. Steinman for Innate Immunity. She then spent over ten years in academic research on gene expression and genetic control of eye development and body axis formation at the University of Basel (Switzerland), in the laboratory of Prof. Walter Gehring, awarded the 2000 Kyoto Prize for Life Sciences.

In 2008, Lydia joined the newly formed Biologics Translational Sciences and Safety group of Novartis in Basel, where she gained expertise in regulated bioanalytics supporting Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Immunogenicity (PK-PD-IG) assessments for large molecule therapeutics, including gene therapies.

Dr. Michaut joined BioAgilytix in January 2019 as a Scientific Officer and is involved in several initiatives from the European Bioanalytical Forum (EBF) such as stability of anti-drug antibodies, management of critical reagents for ligand binding assays, quantitative PCR and bioanalytical strategies for cell and gene therapeutics.

<https://www.linkedin.com/in/lydia-michaut-581b4825/>

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 and stayed closely involved with JBF, providing the Japanese bioanalytical community insights and experience how the EBF operates.

In 2017, Philip accepted the role of Chairman of the EBF non-profit. Philip resigned from Janssen R&D to dedicate his time exclusively to the EBF. In his role as chairman, he added additional responsibilities to further develop the EBF and 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.

コラボセッション演者のご紹介

田窪 亮子

中外製薬株式会社

Ryoko Takubo

Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

Biography:

【所属】

中外製薬株式会社 臨床薬理部 バイオマーカー解析グループ

【略歴】

2002年 東京理科大学大学院卒業。大学院卒業後に、中外製薬（株）に入社し、富士御殿場研究所にて抗体医薬品の非臨床薬物動態研究に6年間勤務。その後、臨床開発本部 臨床薬理機能に異動し、第I相試験の企画・実施及びPHCのための患者層別バイオマーカー検討を中心となって行う。2015年 バイオマーカーを専門に担当するグループの責任者として、グループを牽引する。

現在は、プロジェクトのバイオマーカーリーダーとして、患者層別マーカーのみならず、疾患の理解、薬剤の作用機序の理解、医薬品の価値を証明するための臨床評価基準の策定など幅広い目的でバイオマーカー戦略を考え、ヒト試料を用いたバイオマーカー検討試験の実施・検討を行っている。

福士 理沙

アステラス製薬株式会社

Risa Fukushi

Astellas Pharma Inc.

Biography:

2012年3月 東北大学大学院 薬学研究科 修了

2014年4月 アステラス製薬入社 開発本部 臨床薬理部配属

現在、Pharmacometrics JP, Clinical Pharmacology and Exploratory Developmentに所属し、入社より一貫して臨床薬物動態、ファーマコメトリクス解析を担当

正木 良和

日本 QA 研究会 GLP 部会、株式会社大塚製薬工場

Yoshikazu Masaki

Japan Society of Quality Assurance GLP Division,
Otsuka Pharmaceutical Factory, Inc.

Biography:

1998 年 3 月	近畿大学農学部水産学科卒
1998 年 4 月	大塚食品株式会社 品質管理課 入社
2006 年 11 月	株式会社大塚製薬工場 開発部 開発管理室 異動、 臨床試験(GCP)の品質管理、CRA(モニタリング)担当者として従事
2013 年 8 月	同社 薬剤部 臨床監査課 異動 信頼性保証部門(GCP、GVP、GPSP 等)の担当者として従事 日本 QA 研究会 GCP 部会所属(2013 年 9 月～2016 年 6 月:同第 2 分科会所属)
2016 年 7 月～現在	同社 薬剤部 試験監査課 異動 信頼性保証部門(GLP、信頼性の基準等)の担当者として従事 日本 QA 研究会 GLP 部会所属(2016 年 8 月～現在:同第 3 分科会所属)

口頭発表 (Oral Presentation)

Day 1: Tuesday, 25th Feb. (5F Small Hall and 2F Horai)

- D1-1 Opening Remarks and Welcome Greeting
- D1-2 [Parallel Session]
 - D1-2A Introduction of AI to bioanalysis and pharmacokinetics
 - D1-2B Failure & Trouble Cases and these Solutions of LBA
- D1-3 Practical biomarker measurements in drug development

Day 2: Wednesday, 26th Feb. (5F Small Hall)

- D2-1 Anti-drug antibodies in new modality drugs
- D2-2 ICH M10 Guideline / Draft
- D2-3 Bioanalysis for development of DDS drugs
- D2-4 [Keynote Lecture]
 - Development of new cancer antibody drugs

Day 3: Thursday, 27th Feb. (5F Small Hall and 2F Horai)

- D3-1 [Parallel Session]
 - D3-1A [Collabo Session with Clinical Pharmacology]
 - How can Industry Clinical Pharmacologists and Bioanalysts Work Together?
 - D3-1B [Collabo Session with JSQA]
 - How to use computerised system without support data integrity validation by SOP?
- D3-2 Application of large molecule analytical technologies to new drug development
- D3-2 Metabolite evaluation in clinical development

D1-1-1

ご挨拶

(第 11 回 JBF シンポジウム実行委員長／協和キリン株式会社)
○細木淳



Welcome Greeting

Jun Hosogi

The 11th JBF Symposium Chair, Kyowa Kirin Co., Ltd.

2001 年に米国 FDA から生体試料中薬物濃度分析法バリデーション(BMV)のガイダンスが発出されて以降、2011 年には欧州 EMA、2013 年と 2014 年には日本から BMV ガイドラインが発出され、これまで BMV は各国のガイダンス／ガイドラインに従って実施されてきました。昨年 ICH M10 ガイドライン案が公表されたことにより、BMV も新たな国際調和の新時代に入りつつあります。今回のシンポジウムでは、BMV における新時代の到来とともに「The beginning of a new era」というテーマのもと、JBF の原点に立ち戻り、バイオアナリシスの実務に根差した議論をして参りたいと考えています。

近年の医薬品開発環境やモダリティの変化に伴い、バイオアナリストに求められる技術や知識も大きく変わりつつあります。本シンポジウムでは、BMV ガイドラインや代謝物分析といったバイオアナリストにとって馴染み深い話題から、ニューモダリティや AI に関する最新の話題も取り入れ、国内外から演者を招いて幅広い議論を展開します。また、本年は、他社の研究者と日頃の業務で気になっている点、悩んでいる点を議論できる情報交換の“場”的セッションを新たに企画いたしました。バイオアナリシスの疑問・難問の解決に、この場を活用してもらえるものと思います。例年好評を頂いている JBF ディスカッショングループによる最新成果の発表や一般募集演題ポスター、無料基礎講座も引き続き開催いたします。令和最初の JBF シンポジウムで熱い議論が交わされ、バイオアナリストにとって、有意義なものになることを期待しています。

Since the release of first US FDA guidance on bioanalytical method validation (BMV) in 2001, EMA/MHLW guidelines were issued in 2011 and 2013/2014 and pharmaceutical industry BMV has been implemented in accordance with these guidance/guidelines in each respective region and country. With the release of the draft ICH M10 guideline in 2019, we are now getting into a new age of international harmonization of BMV and, in fact, the 11th JBF symposium will be held under the theme of “The beginning of a new era”.

With the recent changes in drug development environment and modalities, the technology and knowledge required for bioanalysts to understand are drastically changing. In this symposium, the invited domestic and overseas speakers will initiate a wide range of discussions on various bioanalytical topics such as BMV guidelines and metabolite analyses, as well as sharing the latest information on the new modalities and the artificial intelligence. We also plan to provide a new type of closed session for exchanging information and opinions with researchers from other companies. Our sessions have been gaining in popularity every year by covering topics such as the achievements/recommendations of JBF discussion groups, the poster sessions and the basic courses. We are looking forward to fruitful discussions among all attendees in the symposium.

D1-1-2

第 11 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 11th 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おり、今回ははや 11 回目の開催となる。実行委員長の細木先生をはじめとする委員の先生方のご尽力に深く感謝申し上げる。

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 のガイドライン案が昨年公表され、本邦でもパブリックコメントの募集が行われた。本フォーラムでも 2019 年 7 月 25 日にワークショップを開催し、JBF からの意見及び修正案を厚生労働省に提出した。またバイオマーカーの BMV に関しては、米国 Critical Path 研究所の白書が 2019 年 6 月 11 日に最終化され、現在 AMED 研究班に協力して翻訳作業を行っている。

基調講演をいただく松村保広先生のご講演を始め、AI 導入、バイオマーカー、ニューモダリティにおける抗薬物抗体、M10、DDS、高分子分析技術、代謝物評価、他学会との共催セッションなど、今回も魅力的なテーマばかりである。さらに今回も海外の講演者から世界のバイオアナリシスの状況に関しても発表がなされる。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 11th 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 Dr. Matsumura to give us the Keynote lecture. In addition, we have very interesting sessions including introduction of AI, biomarker assay validation, anti-drug antibodies to new modalities, M10, DDS, assay technologies for high-molecular weight substances, metabolite evaluation, and collaborations with other societies. I hope this symposium will be fruitful for all participants.

D1-2A-1

道具と割り切れば、機械学習は難しくない？

(日本製薬工業協会 医薬品評価委員会)

○兼山 達也



Isn't machine learning difficult if you think it's just a tool?

Tatsuya Kaneyama

Drug Evaluation Committee Japan Pharmaceutical Manufacturers Association

機械学習の一般的な方法は教師情報(答え)の付いたデータを用いて学習させて分類器(分類や予測するモデル)を作成します。その際、データを予め学習(訓練)用とテスト(検証)用に分けておき、学習させた分類器をテストデータで評価します。機械学習には他に教師情報を用いない方法もありますが、ここでは、教師あり機械学習について概説します。

古典的な統計解析の手法である回帰分析や分類木、臨床系の研究で多く用いられるロジスティック回帰分析などは機械学習においても用いられています。統計解析では殆どの場合で解析対象のデータの全てを用いて有意差検定や因果関係の評価を行い、モデルの正しさは p 値や AIC などの統計量に頼っているのに対して、機械学習はテスト用データにより分類・予測された結果から性能を評価し、更にアプリケーションやサービスとして新しいデータに適用して分類や予測を行う点が異なります。臨床試験では解析計画書であらかじめ決めて行った解析結果が思わしくなくても、やり直しは許されません。しかし、機械学習ではデータの扱い、加工から学習の方法まで試行錯誤して都合が良いものを選ぶことができます。この気楽で容易な点と引き換えに、微妙に異なる多くの手法から適切なものを選び、更に複数の条件(パラメータ)のチューニングが必要なことが手法の理解と経験を必要とし、難しく感じさせる原因の 1 つです。しかし、多くの手法とチューニングを自動又は半自動で行って比較する仕組みが普及しており、多少時間がかかる課題はありますが、道具と割り切れば難しくはありません。また、機械学習は汎用的であり、他の分野で開発された学習モデルを流用することで比較的少ない学習データで別の分野のモデルを簡単に作成することもできます。例えば、理化学研究所と東北大学のグループは、画像を分類する公開された訓練済みの畳み込みニューラルネットワーク(CNN)モデルの一種である VGG19 モデルを用いて、緑内障と健常眼の画像診断情報(208 眼と 149 眼)から高精度緑内障自動診断モデルが構築されました。VGG19 モデルは動物や植物など様々な 10000 クラスの分類が学習させられています。このような手法は転移学習と呼ばれます。多くの学習データが必要な画像から特徴量の抽出は学習済モデルで行い、特徴量から分類を行う部分のモデルのみ新たに学習するため、この例のように比較的少ないデータで成果が得られます。

Machine learning may seem difficult because various methods have been developed and parameter tuning is required. However, unlike statistical analyses, such as clinical trials, it can be repeated any number of times. Even if you do not understand the principle and detail of the ML-method, the correctness and performance can be demonstrated by testing the learning model. In addition, many of machine learning are general-purpose methods, and models that classify images of flowers and animals can be diverted to classification based on molecular images. For example, less data can be transferred by transferring methods developed in other domains. A learning model can be constructed with.

D1-2A-2

AIによるHPLC用メソッド開発の実際と最新動向

(クロムソードジャパン株式会社)

○鈴木 政明



HPLC method development using AI: current practice and recent trend

Masaaki Suzuki

ChromSword Japan Co., Ltd.

近年、医薬品、化学工業、食品、化粧品など様々な分野で HPLC 及び UHPLC が使われ、多くの優れた充填剤が開発されている。また、検出器の一つである質量分析計は多様化し、UHPLCとの組み合わせにより多くの情報が得られるようになっており、分析化学は進化を続けている。これら進化により、プロテオーム解析、メタボローム解析、生薬分析、ペプチド合成品の分析、核酸合成品の分析など多成分を分析する機会は依然にも加え増加している。従来、研究者の経験、ノウハウなどによって HPLC メソッド開発は行われており、多くの時間と労力を費やす必要があった。当社は、20 年の歴史を持ち、AI による HPLC の自動メソッド開発ソフトウェアを開発し、それらの低減につながっていると考えている。創立者 Sergey Galushko は、ドイツで現在もなお、さらに進化したソフトウェアの開発を続けている。今回、それらソフトウェアの詳細を紹介し、今後多くの研究に、貢献出来れば幸いである。

In recent years, HPLC and UHPLC have been used in various fields such as pharmaceuticals, chemical industry, food and cosmetics, and many excellent fillers have been developed. In addition, mass spectrometers, one of the detectors, are diversified, and a lot of information can be obtained by combining with UHPLC, and analytical chemistry continues to evolve. With these evolutions, opportunities for analyzing multiple components such as proteome analysis, metabolome analysis, crude drug analysis, peptide synthesis product analysis, and nucleic acid synthesis product analysis are still increasing. Conventionally, HPLC methods have been developed based on researcher's experience and know-how, and it has been necessary to spend a lot of time and effort. We have a 20-year history and believe that we have developed automated method development software for HPLC using AI and have reduced them. The founder, Sergey Galushko, continues to develop more advanced software in Germany today. I would like to introduce the details of these softwares and contribute to many researches in the future.

D1-2A-3

薬物動態研究分野での機械学習予測の適用

(帝人ファーマ株式会社)

○半田 耕一



Approach for the prediction of ADME parameters using machine learning

Koichi Handa

TEIJIN PHARMA LIMITED

機械学習(ML)はすでに我々の生活に浸透している技術であり、例えば光学文字認識(OCR)は何十年も前から用いられている。今日、IT業界はMLに支配されており、ウェブ検索ランキング、スマートホンの音声認識、おすすめ映画など、ハイテク製品の大半はMLで作られる。一方で、MLはいくつかの問題を抱えており、その一つがデータ数に関するものである。一般に、MLではデータ数が多いほど、予測精度が高くなることが知られている(Halevy et. al. 2009)。一方で、製薬企業の創薬過程でも予測したい対象(例えば薬物動態関連パラメータ)は多くあるが、十分なデータ(実験値)が得られるかどうか、という観点で考えると、より重要なものの(非臨床 *in vivo* パラメータ、ヒト臨床パラメータなど)ほど、データの取得にかかる時間とコストが増大するため、データ数が少なくなり、MLの適用が難しくなる。

以上を踏まえて、我々のグループでは少数データであっても予測が可能となるMLアプローチを取り組んでいる。本発表では、いずれもデータ数が限られている、ヒト吸収率予測及びラットフリー体脳血漿中濃度比($K_{puu, brain}$)予測についての研究を紹介する。ヒト吸収率予測では、シミュレーション技術との融合を行い、 $K_{puu, brain}$ 予測では、類似パラメータ予測を転用することで、予測精度の高いMLモデルの作成に成功した。

Machine learning (ML) is a popular technology in our lives. For example, OCR has been used for decades. Most high-tech products such as web search rankings, smartphone speech recognition, and automatic recommendation of movies are driven by ML. However, ML has some problems, one of which is related to the number of data. It is known that prediction accuracy increases as the number of data enlarges in ML (Halevy et. Al. 2009). There are many targets which pharmaceutical companies want to predict in the drug discovery process, e.g., pharmacokinetic parameters. However, it is often difficult to obtain the accurate predictive values by ML because of a lack of number of data. Acquiring important parameters such as non-clinical *in vivo* and clinical one needs much time and cost. Based on the above, our group is working on an ML approach that enables prediction even with a small amount of data. In this talk, I will introduce research on human intestinal absorption (HIA) prediction and rat unbound brain plasma partition coefficient ($K_{puu, brain}$) prediction, both of which have limited data. In HIA prediction, combination with data and simulation technology was carried out. In $K_{puu, brain}$ prediction, related parameters prediction was diverted to create an ML model of $K_{puu, brain}$ with high prediction accuracy.



LBA の失敗&トラブル事例と解決策

(株式会社新日本科学¹、株式会社住化分析センター²、株式会社東レリサーチセンター³、積水メディカル株式会社⁴、コニカミノルタ株式会社⁵)

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

Failure & Trouble Cases and these Solutions of LBA

Yohei Hayata¹, Kaori Ooka², Ayaka Okushima¹, Akihiro Motoki³, Takashi Yamamoto⁴, Tetsu Saito⁵

¹*Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.*, ²*Sumika Chemical Analysis Service, Ltd.*, ³*Toray Research Center, Inc.*, ⁴*SEKISUI MEDICAL CO., LTD.*, ⁵*KONICA MINOLTA, INC.*

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じることがある。DG2018-39 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実施し、第10回 JBF シンポジウムで発表した。今回の発表では、その内容及びシンポジウム当日にいただいたフィードバック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. We collected the various cases of trouble and discussed how to solve them in a discussion group (DG2018-39).

In this presentation, we will share our discussion and exchange opinions with an audience to deepen our “Knowledge to prevent failure” in LBA.

D1-3-1

日本でのバイオマーカーアッセイバリデーションに関する留意点文書 作成について

(国立医薬品食品衛生研究所)

○斎藤 嘉朗、齊藤 公亮



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

Yoshiro Saito, 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、臨床上の有用性と共に、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。

米国 FDA は、2018 年に医薬品に関するバイオアナリシスガイダンスの改訂版を最終化したが、バイオマーカーが対象に含まれている。また 2019 年 6 月 11 日に Critical path 研究所から、FDA との共著として、留意点文書「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。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、我々 AMED 研究班は、JBF 等の協力の下、2018 年からバイオマーカー分析法バリデーションに関する留意点文書案の作成を行っており、研究班の成果として 2020 年のとりまとめを予定している。既に 7 回の班会議を開催し、一通りの項目に関し議論を行った(一部、継続中)。本講演では、主として留意点文書案の進捗と内容を紹介する。

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 because, for example, biomarkers are present 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. US FDA publicized the revised Bioanalytical Method Validation guidance in 2018, which includes biomarkers in its scope. US Critical Path Institute finalized in 2019 “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. According to these situations, our AMED research group started to draft the point to consider document on biomarker assay validation in Japan. We already had 7 meetings and discussed throughout the validation items. In this presentation, we will introduce our progress of its drafting and contents.

D1-3-2

Case study: Validation of an LC-MS/MS method for measuring urinary glycosaminoglycans and its evaluation as a biomarker in Mucopolysaccharidosis VII (MPS VII).



Julie Taylor¹, Agnieszka Jurecka¹, Manju Gupta¹, Laura Pollard² and Tim Wood².
Ultragenyx Pharmaceutical Inc.¹and Greenwood Genetic Center²

Background

Mucopolysaccharidosis type VII (MPS VII, Sly syndrome) is an ultra-rare autosomal recessive disorder characterized by deficient activity of β -glucuronidase (GUS, EC 3.2.1.31). β -glucuronidase is one of the enzymes involved in the stepwise degradation of glycosaminoglycans (GAGs): dermatan sulfate (DS), chondroitin sulfate (CS) and heparan sulfate (HS). Historically, a range of methods have been developed to measure specific GAGs in various human samples to investigate diagnosis, prognosis and monitoring therapeutic efficacy in patients with different MPS diseases.

Objective

We sought a sensitive, specific and relatively fast throughput method as a biomarker for monitoring subjects in our clinical program to develop an enzyme replacement therapy with vestronidase alfa (recombinant human beta-glucuronidase) for MPS VII.

Methods

A validated liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method utilizing the methanolysis of GAG species (Zhang et al.) was selected for the MPS VII clinical program. The method validation showed the assay to have acceptable accuracy, precision, linearity and stability and to be suitable for use in clinical studies. In the Phase 3 clinical study, the primary endpoint in the European Union and rest of world, and secondary endpoint in the United States, was percent reduction in urinary DS from pre-treatment baseline to 24 weeks of treatment based on this assay.

Results

Urine samples from four clinical studies with vestronidase alfa were analyzed, and the data from all four studies clearly show 1) a greater than 50 percent reduction in uGAGs following 24 weeks of treatment and 2) sustained uGAG reduction for up to two years of treatment.

During the course of the study, the lot number of the dermatan sulfate reference standard changed, and significant lot-to-lot variability was noted. This had a significant impact on assay performance, which was finally resolved via a thorough investigation to fully understand the cause of the variability.

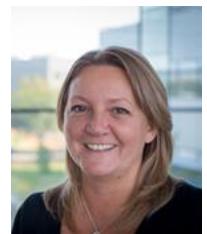
Conclusion

The selected LC-MS/MS methodology was suitable for use in the MPS VII clinical program, and treatment with vestronidase alfa results in substantial and sustained uGAG reductions.

D1-3-3

Biomarker assay validation - Feedback from EBF discussions on today's challenge of connecting science and regulations

Joanne Goodman, presenting on behalf of the European Bioanalysis Forum (EBF)
AstraZeneca, UK Corporation



In numerous regions across the globe, regulatory guidelines and guidances for the conduct of bioanalytical method validation (BMV) have been issued, based on the requirements for those individual regulatory agencies. These BMV guidelines, with the exception of one health authority, has limited the scope to pharmacokinetic (PK) assays and it is generally recognized that the level of validation for a biomarker assay relies on the context of use (COU) and the principles of PK assays should not be automatically applied when validating biomarker assays.

In September 2019, the European Bioanalysis Forum (EBF) held a Focus Workshop (FW) dedicated to bringing COU into practice for biomarker assay validation. The discussions centered around 3 key areas:

1. Understanding the principles of Context of Use and bringing them into practice
2. Developing and/or optimizing communication and scientific interactions between end-user of the biomarker data and the bioanalytical scientist (Pharma or CRO)
3. Development, validation and use of biomarker assays across all phases of drug development, including effective and science-based life cycle management

In this presentation, Joanne will provide feedback from the EBF FW and further discussions held at the recent EBF Open Symposium, summarizing the discussion and the key messages. The discussions on biomarkers and COU will also continue in the upcoming EBF FW in May 2020.

D1-3-4



バイオマーカー定量のバリデーションにおける国内の実情 (DG2019-44)

(小野薬品工業株式会社¹、グラクソ・スミスクライン株式会社²、株式会社新日本科学³、シミックファーマサイエンス株式会社⁴、科研製薬株式会社⁵、日本たばこ産業株式会社⁶、大阪国際がんセンター⁷、田辺三菱製薬株式会社⁸、積水メディカル株式会社⁹)

○橋本 義孝¹、五十嵐 春江²、岩切 哲平³、北原 沙也加⁴、高木 秀行⁵、田谷 有妃⁶、長尾 卓也⁷、丸本 美穂⁴、山崎 真⁸、山本 卓⁹

Validation of Biomarker Quantification in Japan (DG2019-44)

Yoshitaka Hashimoto¹, Harue Igarashi², Teppei Iwakiri³, Sayaka Kitahara⁴, Hideyuki Takagi⁵, Yuki Taya⁶, Takuya Nagao⁷, Miho Marumoto⁴, Makoto Yamazaki⁸, Takashi Yamamoto⁹

¹*ONO Pharmaceutical Co., Ltd.*, ²*GlaxoSmithKline K. K.*, ³*Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.*,

⁴*CMIC Pharma Science Co., Ltd.*, ⁵*KAKEN Pharmaceutical Co., Ltd.*, ⁶*Japan Tobacco Inc.*,

⁷*Osaka International Cancer Institute*, ⁸*Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation*, ⁹*SEKISUI MEDICAL CO., Ltd.*

バイオマーカー分析法のバリデーションは、各極の種々ガイドラインや白書でも「Fit for purpose」や「Context of use」を踏まえるとされており、評価項目や基準は具体的でなく統一もされていない。2017年にAMED研究班が実施したバイオマーカー分析に関するアンケートの結果、以下の点が明らかとなった¹⁾。「国内において、生体試料中薬物濃度分析法のガイドラインを参照してバイオマーカー分析法のバリデーションの項目や基準を定めることが比較的多い。」、「国内において実施される項目は、米国の留意点文書²⁾で示された項目と一部解離している。」

AMEDによる調査から2年が経過した今、DG2019-44は、以下の疑問を持った。

- ✓ 日本の製薬会社は、探索評価や社内判断のためのバイオマーカーに対して依然として過剰な対応をしていないだろうか？
- ✓ 薬物濃度分析に比べ、バイオマーカー研究は多くの機能を持つ担当者が関わる。Bioanalystは、「Fit for purpose」や「Context of use」を理解し、それを踏まえた分析法の質についてコンセンサスを得るのに苦心していないだろうか？

従って、バイオマーカー研究が現状どのように実施されているのか把握することは有益と考えアンケートを実施した。発表では、アンケート結果とDG2019-44で討議した結果を報告する。

DG2019-44 members have questions; "Do Japanese pharmaceutical companies still have excessive responses to biomarker measurement for exploratory and internal decision making?", "Does the Bioanalyst have trouble understanding "Fit for purpose" and "Context of use" and making consensus on the quality of analytical methods with other many functional personnel involved in biomarker research?" Therefore, DG2019-44 surveyed to grasp how biomarker research was carried out at present. In the presentation, the result of the survey and the result of our discussion in DG2019-44 members are reported.

【引用】 1) Ohtsu et al., Bioanalysis 11: 55-60 (2019)

2) Critical Path Institute., Points to Consider Document: Scientific and Regulatory Considerations for the Analytical Validation of Assays Used in the Qualification of Biomarkers in Biological Matrices (2019)

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)

- 薬物測定法の確立・バリデーション
- 薬物濃度測定・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

心と心のハーモニー、私たちは安心できる
医薬品開発支援サービスの提供を目指します

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(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



Xevo TQ-XS



Gyrolab

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 圣路加タワービル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

Tel: 06-6233-8432 Fax: 06-6233-8433

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

LCMSサンプル調製用 固相抽出自動化装置 Resolvex® A200

●SPE自動化で唯一のベンチトップ機器

ラボで他の作業をしながらSPE処理が行えます。

- ・検体サンプルの充填と溶出サンプル用プレートのセット以外は全自動です。
- ・溶出サンプル用プレートのセットはアラームでお知らせします。
- ・96サンプルの処理が30分程度で完了です。

● 11種の異なるバッファを1台で！

異なる処理を行う複数の方々でA200を共有できます。

- ・バッファー選択はプログラム時に行われるので、オペレーターは気にする必要はありません。
- ・バッファー消費量は自動モニターされるので、液切れの心配は不要です。
- ・共通機器に最適です。

● 簡便なタッチパネル操作

ラボマネージャーが組んだ処理プログラムを、オペレーターはタッチパネルから選ぶだけです。

- ・プログラムもメニューに沿ってご希望の操作と数値を選ぶだけ。
- ・ルーチンワークに最適で、作業ログの出力も可能です。



●お求めになりやすい価格でご提供

¥6,900,000 + オプション (税別)

中規模のラボでご購入いただける価格帯で自動化できます。

- ・1台でマルチユーザーのSPE処理を逐次的に行えます。

テカンジャパン株式会社

www.tecan.com, infojapan@Tecan.com

〒212-0013

神奈川県川崎市幸区堀川町580-16 川崎テックセンター17F

TEL.044-556-7311/FAX. 044-556-7312

大阪営業所 TEL.06-6305-8511/FAX.06-6305-3167



D2-1-1

バイオシミラーの免疫原性評価: FKB327 を例として

(協和キリン富士フィルムバイオロジクス株式会社)

○山本 勝彦、村瀬 元彦、新井 康正



Immunogenicity assessment of biosimilar: FKB327's case

Katsuhiko Yamamoto, Motohiko Murase, Yasumasa Arai

Fujifilm Kyowa Kirin Biologics Co., Ltd.

Immunogenicity is a critical part of similarity assessment in biosimilar development. General assay performance requires to meet regulatory guidance for immunogenicity assay development. However, additional considerations in labelled reagents, applying tiered approach, antigenicity equivalency, and drug tolerance are needed to assess biosimilar immunogenicity evaluation.

FKB327 is a biosimilar of adalimumab developed by Fujifilm Kyowa Kirin Biologics and was approved in the European Union in September 2018.

FKB327's immunogenicity was evaluated with reference products, EU-approved Humira (EU-Humira) and US-licensed Humira (US-Humira), in FKB327-001 Phase 1 study using three anti-drug antibody assays (ADA assay) and three neutralizing ADA assays (Nab assay) using three different labelled reagents (biotinylated and ruthenylated FKB327, EU-Humira and US-Humira) in a one-step assay format. Screening cut point, confirmatory cut point, and sensitivity of three ADA assays were comparable using monkey positive control. Three Nab assays showed comparable assay performance, as well. However, due to limitations of the one-step assay format in drug tolerance, some samples at the last time points had inconclusive results in terms of neutralizing capacity.

Sample analysis was conducted in the following tiered approach; 1; a sample was first analyzed by three ADA screening assays, 2; a sample which showed positive in one of three ADA assays was analyzed by three confirmatory ADA assays using respective immunodepletion agents, 3; a sample which showed positive in a confirmatory ADA assay was evaluated by titer assay and Nab assay for the corresponding drug. After unblinding the treatment groups, ADA and Nab assay results corresponding to the treatment group was adopted as ADA and Nab result of the sample.

In the Phase 1 study, $AUC_{0-\infty}$, AUC_{0-t} , C_{max} were evaluated and the 90% CI for the ratio of geometric least squares means from the ANCOVA analysis were within the predefined limits of 0.80–1.25 for all treatment comparisons. The proportion of subjects with positive ADA at the last sampling point (1536 h after dosing) was similar among treatments: 69.5% for FKB327, 73.3% for EU-Humira, and 70.0% for US-Humira. Of the subjects who tested positive for ADA at the last sampling time point, about 83% also tested positive in the neutralizing antibody assay, with a further 10% having inconclusive results. The effect of ADA activity on adalimumab pharmacokinetics was further investigated and it was confirmed that the prevalence of ADA and the elimination half-life of adalimumab were similar after the three drug formulations.

For Phase 3 study, more sensitive and drug-tolerant solid-phase extraction-acid dissociation method was developed using labelled FKB327 with one ADA and Nab assay. The ADA and Nab assay had sufficient drug tolerance and did not have false negative or positive due to drug in samples. Antigenicity equivalency was confirmed using immunodepletion antigens of FKB327 and US-Humira. In the Phase 3, similar immunogenicity was confirmed as well.

D2-1-2

Immunogenicity assessment of peptide therapeutics

Mayur Mitra

Genentech, South San Francisco, CA, USA.



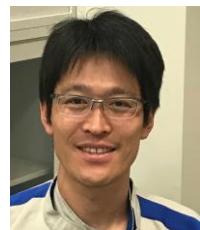
Peptides intrinsically are highly selective for their target, and therefore have gained much interest as safe and effective modalities against previously undruggable targets. However, there is a general lack of scientific expertise for developing peptide therapeutics. Additionally, specific regulatory guidance for developing these therapeutics are not available. In regards to immunogenicity assessment, there is a lack of clarity as to whether peptides are generally immunogenic in nature. Other questions that are often asked include: do the structure and design features of peptides influence their immunogenic potential, are non-clinical immunogenicity assessment a good predictor of clinical immunogenicity, do anti-peptide antibodies have an effect on exposure and efficacy, etc. We have developed a database for approved peptide therapeutics with publicly available summary basis of approvals (SBA). The learnings from this database in regards to immunogenicity assessment will be discussed as part of this presentation.

D2-1-3

核酸医薬品の ADA 評価

(第一三共株式会社 薬物動態研究所)

○高草 英生、相馬 雅子



ADA assessment for therapeutic oligonucleotides

Hideo Takakusa, Masako Soma

Drug Metabolism & Pharmacokinetics Research Laboratories, Daiichi Sankyo Co., Ltd.

オリゴ核酸を基本骨格とする「核酸医薬品」は、従来の創薬手法では標的とするのが難しかった遺伝性疾患等に対する新しい創薬モダリティとして注目を集めている。2016 年以降、核酸医薬品の承認が加速しており、現在までに 9 品目が上市されている。リン酸ジエステル結合のチオリン酸(PS)への変換とリボース 2' 位への化学修飾の導入は、核酸医薬品のスクレアーゼに対する安定性の向上と標的 RNA との親和性向上に寄与することが知られており、mipomersen や nusinersen などの多くの核酸医薬品で使用されている。

核酸医薬品の immunogenicity に関しては、抗体医薬品と比較すると知見が少ないものの、いくつかの核酸医薬品において臨床または非臨床での anti-drug antibody (ADA) 産生が報告されている。また、2019 年に FDA から発出されたガイダンスでは、ケースバイケースで核酸医薬品がその対象となるとの記載がある。よって、核酸医薬品の開発においては、非臨床及び臨床で、ADA 産生等の immunogenicity 関連評価の実施を考慮する必要がある。

本発表では、PS 型 2' 修飾タイプの核酸医薬品に焦点を当てて、これまでに報告されている情報を概説するとともに、当社での ADA 分析方法の開発事例などを紹介する。

Therapeutic oligonucleotides are attracting attention as one of new modalities for the treatment of genetic diseases that have been difficult to target with conventional therapeutic modalities. Since 2016, the approval of therapeutic oligonucleotides has been accelerated and nine drugs have been launched to date. The phosphorothioate-linkage (PS) and chemical modifications to 2' position of ribose are known to improve stability against nucleases and increase binding affinity to target RNAs, and therefore used in many therapeutic oligonucleotides such as mipomersen and nusinersen.

Although there is less information on the immunogenicity of therapeutic oligonucleotides compared to that of therapeutic antibodies, the production of anti-drug antibody (ADA) has been reported in clinical and/or non-clinical studies of some therapeutic oligonucleotides. The guidance on immunogenicity testing of therapeutic protein products issued by FDA in 2019 stated that it may also apply to some oligonucleotides on a case-by-case basis. Therefore, we need to consider immunogenicity-related evaluations in clinical and non-clinical stages of therapeutic oligonucleotide development.

In this presentation, the previously reported information on ADA formation to 2'-modified PS-type therapeutic oligonucleotides will be reviewed, and some of our case studies on method development of ADA analysis will be introduced.

D2-1-4

Immunogenicity assessment of gene therapy compounds: current and future concepts and challenges



Lydia Michaut, Arno Kromminga
BioAgilytix Laboratories, Hamburg, Germany

After a series of setbacks in the nineties, a number of gene therapies were recently approved by multiple Health Agencies worldwide. As a consequence, the number of these compounds in development has literally exploded during the recent years. However, safety and efficacy concerns remain and the unwanted cellular and humoral responses to these compounds need to be controlled and assessed. The underlying concepts of immunogenicity testing for gene therapies will be discussed in this presentation, together with the challenges these assessments represent to the XXIst century bioanalytical laboratory.

D2-2-1

ICH M10 ガイドライン案と今後の展望

(国立医薬品食品衛生研究所)

○石井 明子、斎藤 嘉朗

ICH M10 draft guideline and future perspectives

Akiko Ishii-Watabe, Yoshiro Saito

National Institute of Health Sciences

ICH M10 ガイドライン「Bioanalytical Method Validation：生体試料中薬物濃度分析法ガイドライン」は、2016年春のリスボン会合にて新規トピックとして採択され、2016年11月以降5回の専門家作業部会の対面会議を経て、2019年1月にステップ1(専門家作業部会での合意)、2月にステップ2a (ICH 管理委員会での了承)、ステップ2b (各規制当局での了承) に到達した。2019年3月以降、各規制当局で順次意見公募が開始され、日本では、2019年5月21日から8月18日までの約3ヶ月間、e-Govにて意見公募が行われた。9月末までに全ての規制当局での意見公募が終了し、現在、2020年秋の最終合意に向けて、公募期間中に寄せられた意見を反映した改訂作業が進められている。

M10 ガイドライン案は、1. はじめに、2. 一般的原則、3. クロマトグラフィー、4. リガンド結合法、5. ISR、6. パーシャルバリデーション及びクロスバリデーション、7. 考慮すべき追加事項、8. 文書化、9. 用語解説、から構成される。M10 ガイドライン案の内容は、概ね日本の2つの BMV ガイドラインを合わせた形であるが、規制当局での意思決定に用いられる主要な非臨床 PK 試験が適用対象に加わっている他、内因性物質でもある分析対象物質の測定や、試料採取・保存に乾燥マトリックス法を用いる場合等、いくつかの点で推奨事項が追加されている。また、安定性評価や文書化に関しては、項目が細分化されてより詳細な推奨事項が記載されている。これらは、科学的な観点と各規制当局での受け入れ可能性を考慮して盛り込まれたものであり、M10 ガイドラインの調和により、分析法バリデーションと実試料測定における基本的な考え方が各国で共通化され、特にグローバル開発品目において、医薬品開発の効率化に寄与できると期待される。本シンポジウムでは、M10 ガイドライン案の紹介と、最終合意に向けた課題について述べる。

ICH M10 "Bioanalytical Method Validation" guideline was adopted as a new topic in 2016. After 5 times of Expert Working Group (EWG) meeting, the draft guideline was agreed in EWG in Jan 2019 (step1), and endorsed by the ICH management committee (step 2a) and by regulatory agencies (step 2b) in Feb 2019. Then public consultations have been done by the end of Sep 2019. The M10 draft guideline covers the contents of domestic two BMV guidelines and includes additional recommendations such as considerations in measurement of endogenous substance. Harmonisation of M10 will lead to more efficient drug development by establishing the basic requirements in bioanalytical method validation and study sample analyses especially for globally developed products. We will introduce the contents of M10 draft guideline and discuss the issues to be addressed for final international harmonisation.

D2-2-2

ICH-M10:JBF ワークショップ報告 – JBF からの提案

(株式会社住化分析センター テクニカルソリューション本部 大阪ラボラトリー)
○山口 建(バイオアナリシスフォーラム)



ICH-M10: JBF Workshop Report - Proposals from JBF

Takeru Yamaguchi (*Japan Bioanalysis Forum*)

Osaka Laboratory, Technical Solution Headquarters, Sumika Chemical Analysis Service, Ltd.

2019年5月21日に「ICH M10 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(案)」が公示された。我々バイオアナリシスフォーラム(JBF)は、ガイドライン案に対する意見・提案を作成することを目的として、2019年7月25日にワークショップ(京都)を開催した。限られた時間において、活発な議論を行うため、法人会員企業及び賛助会員企業に事前アンケートを依頼し、予めテーマの絞り込みを行った。また、ワークショップへの参加者は、法人・賛助会員企業からクロマトグラフィーアッセイとリガンドバインディングアッセイに各社1名ずつ、最大2名までの制限を設けた。これにJBF運営委員も加わり、31社62名の参加者が議論を行った。この結果、45個のトピックについて、ガイドライン案に対する質問・意見さらには修正案を作成し、JBFからのパブリックコメントを厚生労働省へ提出することができた。本発表では、ワークショップにおける議論の背景も含め、JBFのパブリックコメントの内容を紹介する。

In Japan, draft ICH guideline M10 on bioanalytical method validation was released for public comment on May 21, 2019 (closed on August 18, 2019). We (JBF) held a workshop in Kyoto on July 25, 2019 to discuss the draft ICH guideline M10. A total of 62 scientists from 31 companies attended the workshop, and we had active discussion. On the basis of the discussion, JBF prepared opinions to the draft document and amendments, and submitted them to Ministry of Health, Labour and Welfare. This presentation will introduce their contents.

D2-2-3

Industry (EBF) Feedback on ICH M10 draft Guideline

Philip Timmerman

European Bioanalysis Forum, Belgium



In this presentation, Philip will provide an overview of the major comments the EBF community gave on the ICH M10 draft guideline during public consultation, including the challenges and opportunities that the EBF identified.

To generate these comments, the EBF community intensively discussed at internal meetings and (co-) organised the EF/AAPS/JBF/CBF sister meetings held in US and Europe.

D2-3-1

バイオアナリシス技術に寄せる期待(企業 DDS 研究の観点から)

(第一三共 RD ノバーレ株式会社)

○小林 英夫



A corporate pharmaceutical researcher's expectations for the bioanalysis technologies

Hideo Kobayashi

Daiichi Sankyo RD Novare Co., Ltd.

従来から薬物動態の制御を目的としたプロドラッグ化、塩化を含む固体形態制御および特殊な製剤技術の適用等による DDS 研究が行われてきた。更に近年、抗体を標的指向性リガンドとして利用するアクティブターゲティング技術が応用された医薬品が開発/上市されており、DDS 研究はホットな研究領域として注目を集めている。当社もバイオアナリシス、物性評価、製剤研究および *in vitro/in vivo* 薬物動態研究機能を活用した DDS 研究を推進している。本発表では、当社における DDS 研究において実際に直面したバイオアナリシスの課題について紹介する。DDS 研究の三大課題である①経口吸収性改善、②放出制御および③ターゲティングのそれぞれの技術領域におけるバイオアナリシス技術の開発・活用事例について議論したい。

①経口吸収性改善: 一般にペプチド化合物はその低膜透過性に起因して経口吸収性が乏しいことから、経口吸収改善技術の開発が望まれてきた。近年、膜透過性を高めた環状ペプチドの経口製剤化が注目されている。本発表では、環状ペプチドのバイオアナリシス技術の開発事例を紹介する。低分子薬物用の標準分析法(LC-MS)を適用したところ、部材等への薬物吸着(収着)に起因するピーク面積の低下が確認された。吸着回避策として PAC(peptide adsorption-controlled)-LC 技術を応用することで、環状ペプチド用の標準分析法の開発に成功した。

②放出制御: 局所投与用の徐放製剤開発においては、投与部位近傍の詳細な薬物分布の評価、すなわち Micro-area Analysis が重要である。網羅性に優れる MS イメージング技術と定量性に優れる LLM(Laser micro-dissection & LC-MS)技術の活用について紹介する。また、マウス用腸溶技術の開発事例についても紹介する。IVIS Imaging System を活用した評価により、胃から小腸への製剤の移動が技術開発上の最大の課題であることが明らかとなった。小動物用カプセルに工夫を加えることで、胃排泄が期待できる製剤の開発に成功した。

③ターゲティング: 抗体-薬物複合体(ADC)である T-DM1(トラスツズマブ - エムタンシン)のペイロード定量法の開発事例を紹介する。物性が異なる二つの分析対象物質(薬効本体の DM1 およびそれにリンカーが結合した Lys-SMCC-DM1)の分析法の開発は難航した。前処理条件の最適化により、Lys-SMCC-DM1 の溶解性と DM1 の安定性を両立した同時分析法の開発に成功した。

まとめ: 薬物のモダリティー変化、製剤技術の複雑化さらには動態評価技術の高度化に伴いバイオアナリシスの難度は今後さらに高まるものと考えられる。今後も、信頼性の高いバイオアナリシス技術の開発は、革新的な DDS 研究を支えるボトルネックであり続ける。

D2-3-2

DDS 研究におけるバイオアナリシス事例

(田辺三菱製薬株式会社)

○齋藤 昌良



Case study of bioanalysis in the development of DDS products

Masayoshi Saito

Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation

標的分子の枯渇や従来の低分子医薬品の開発難易度が高まっている状況により、抗体医薬品や核酸医薬品、遺伝子治療などの次世代創薬モダリティの開発が急速に進展している。これら次世代モダリティは高い特異性と有効性を有する一方で、高分子というその特徴から生体膜透過性が乏しく、標的組織または細胞に効率的にデリバリーできないことが課題となっている。これら次世代モダリティの体内動態制御や標的指向性付与を目的として、近年、ペプチド、タンパク質などの標的リガンドを利用した DDS 研究が盛んに行われている。

本発表では、弊社の非臨床探索段階で経験した DDS 製剤の薬物動態評価の事例について紹介する。DDS 研究における分析アプローチやそれぞれの分析法の課題等を本シンポジウム参加の皆様と議論したい。

Due to the depletion of target molecules and the increasing difficulty in developing small molecule drugs, the development of new modalities such as therapeutic antibodies, nucleic acid drugs, and gene therapies has been rapidly advancing. While these new modalities have high specificity and efficacy, they are impermeable to cell membranes and are not efficiently delivered to target tissues or cells. In order to achieve successful drug delivery, targeted DDS is developing using target-specific antibody and peptide.

In this presentation, some case of pharmacokinetic evaluation of DDS formulation experienced in the nonclinical studies of our company will be introduced. We will be pleased to discuss the analytical approach in DDS research, issues of each analytical method, etc in this symposium.

D2-3-3

探索研究段階におけるナノ DDS 製剤の特性解析

(国立医薬品食品衛生研究所 薬品部)

○山本 栄一



Characterization of Nano-DDS Formulations in Drug Discovery Stage

Eiichi Yamamoto

Division of Drugs, National Institute of Health Sciences

リポソームや脂質ナノ粒子などのナノドラッグデリバリーシステム(ナノ DDS)は、薬物の体内動態を変化させ、コンベンショナルな溶液製剤とは異なる効果を発揮する。

ナノ DDS 製剤投与後の薬物の体内動態は、ナノ粒子の大きさ、粒子表面の官能基や電荷、外部刺激による薬物の放出機構及びその速度等に基づいて制御されることとなるが、演者の知見に基づけば、ナノ DDS キャリアの薬物放出特性はキャリア粒子の特性のみならず、薬物の物理化学的特性によって決定される。

本発表では、演者がナノ DDS 製剤開発を目的として実施した化合物および粒子処方の最適化研究における経験を踏まえ、ナノ DDS の特性解析で用いられる評価法とともに薬物の物理科学的特性が製剤の性能に及ぼす効果についてレビューする。

The presentation will focus on *in vitro* and *in vivo* characterization of nano DDS formulations in drug discovery stage and reviews analytical methods employed in the investigations. Further effect of physicochemical properties of drugs on the DDS performance will be discussed.

バイオマーカー分析支援メニュー

プロテオーム解析

*高深度プロテオミクス

例えば、HeLa細胞から6,000種以上のタンパク質を計量可能なレベルで同定。

*リン酸化プロテオミクス など

メタボローム解析

*低分子代謝産物 約120成分の絶対定量解析

糖リン酸、核酸、有機酸、ポリアミン、アミノ酸、アミノ酸誘導体、補酵素など

*D,L-アミノ酸の高感度絶対定量解析



リピドーム解析

*ノンターゲット解析 (未同定・同定)

*ターゲット解析 グリセロリン脂質、 スフィンゴ脂質、 中性脂質、生理活性脂質

メタローム解析

*生体試料中の微量金属元素の高感度一斉分析(ICP-MS)

遺伝子発現解析

*mRNA、miRNAの発現解析

定量分析

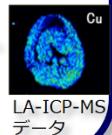
*LC-MS/MSやECL、ICP-MSなどを用いて信頼性の高い定量データを取得します。

サイトカイン、ペプチド、脂肪酸、脂質メディエーター、ビタミン、核酸、無機元素、アミノ酸、糖、有機物など

イメージング

*分析対象、目的に応じた最適な手法を提案します。

TOF-SIMS、NanoSIMS、MALDI-TOFMS、LA-ICP-MS、顕微ラマン分光法など



株式会社東レリサーチセンター・医薬営業部

〒103-0023 東京都中央区日本橋本町1-1-1 TEL:03-3245-5666 FAX:03-3245-5804

<https://www.toray-research.co.jp>

New Release! GLP対応ソフトウェア（オプション）

前処理オートメーションシステム

Biotage® Extrahera™

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ジカルムで自動化します。

GLP対応ソフトウェアはアカウント管理機能やオーディットトレイルなどを備え、より信頼性の高い自動前処理を提供します。



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


Biotage

D3-1A-1

各測定項目においてバイオアナリストに期待すること

(中外製薬株式会社)

○田窪 亮子



Expectations to Bioanalysts for Each Measurement Item

Ryoko Takubo

Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

次世代シーケンサーの普及や新しいプロテオミクスプラットフォームの導入に伴い、少量の試料で多くの遺伝子・タンパク質の情報が比較的簡便に得られるようになってきたことから、臨床試験の中でバイオマーカーデータが広く取得され、解析されるようになってきた。これまでの、仮説に基づく薬力学マーカーや患者層別マーカーの評価のみならず、最近では、より探索的である、疾患メカニズムや薬剤の有効性・安全性作用メカニズムの理解、効果予測マーカーや有効性代替マーカーの同定など、その評価目的の範囲が格段に広がってきた。

当然、目的が異なれば、測定系に求められる条件も変わってくる。探索的な目的であれば、精度はそれほど高くなくても、より多くの情報が得られる系が望まれ、一方、薬力学マーカーや有効性の代替指標であれば、より正確性が求められる。また、患者層別マーカーは、将来診断薬になる可能性を考慮し、疾患部位ではなく、血液などの低侵襲で採取できる試料が望ましいことから、より感度が必要になることが多い。

バイオマーカー戦略を立案し、バイオマーカー検討試験全体を牽引するバイオマーカリーダーの立場からは、バイオアナリストには、是非、各評価目的を適切に理解し、それぞれに見合った測定法の選択をしてもらいたい、さらには、それぞれの測定法の特徴や制限から、測定値が持つ意味を関係者にきちんと伝えてもらいたいと期待している。本セッションでは、バイオマーカリーダーが考える各測定法の条件について共有させていただき、その内容についてバイオアナリストの皆様と議論したい。

With the spread of next-generation sequencers and the introduction of new proteomics platforms, information on many genes and proteins can be obtained relatively easily provided a small amount of samples and biomarker data have been widely acquired and analyzed in clinical trials. The range of the evaluation purpose has expanded remarkably not only to pharmacodynamics markers and patient stratification markers based on the hypothesis, but also recently, the scope of the evaluation purpose which is more exploratory, such as understanding of disease mechanism and effectiveness and safety action mechanism of the drug, identification of efficacy predictive markers and efficacy surrogate markers, etc..

Naturally, the condition required for the measurement system also changes, if the purpose is different. For exploratory purposes, a system that provides more information, even with less accuracy, is desirable, whereas pharmacodynamic markers and efficacy surrogate markers require more accuracy. Sensitivity is often required for the patient stratification markers, because the sample which can be collected less invasively such as the blood is desirable rather than the tissue at disease site considering the possibility of becoming a diagnostic test in the future.

From the standpoint of a biomarker leader who plans a biomarker strategy and drives the overall biomarker studies, we hope that bioanalysts will properly understand each evaluation purpose and select a measurement method for each evaluation purpose. We also hope that the significance of measurement values will be properly conveyed to the parties concerned based on the characteristics and limitations of each measurement method. In this session, we would like to share the conditions of each measurement method and discuss the contents with bioanalysts.

D3-1A-2

臨床試験における解析上の課題

(アステラス製薬株式会社)

○福士 理沙



Analytical Issues in Clinical Studies

Risa Fukushi

Astellas Pharma Inc.

医薬品開発では、ヒトでの初期の Phase I 試験や探索的臨床試験から、安全性・有効性を検証する Phase III 試験にいたるまで様々な場面で生体試料中の薬物濃度データを利用している。企業の臨床薬物動態解析担当者は、迅速かつ高質な解析と次相の試験デザインへの貢献が求められる。すなわち、各臨床試験の目的に応じた(Fit-for purpose)適切な解析手法やデータの取り扱いに基づき解析を実施し、その結果が臨床試験に反映され、次試験へと繋がって行くことになる。さらに、国際共同治験や cross validation への対応などの定量法に対する注目度の上昇もあり、バイオアナリストとの連携は、計画段階から試験終了まで全ての臨床試験のフェーズで欠かせないものとなっている。近年では Model Informed Drug Development (MIDD) アプローチを利用した、開発戦略策定及び定量的意思決定が積極的に利用されている。そのため、医薬品の薬物動態、作用メカニズム、有効性又は安全性データなどの一連の関係を踏まえた、併合解析手法の一つである Modeling & Simulation は、試験デザインや至適な用法・用量選択に広く利用され、各当局にも数多く受け入れられてきている。

本発表では、臨床薬理担当者の視点から、医薬品の開発初期から申請における、生体試料中薬物濃度データを実際に解析する上での方法と課題を紹介する。

In drug development, bioanalytical data in clinical trials are used for a variety of activities from Phase I to III trials. Therefore, collaboration and communication between bioanalysts and clinical pharmacology scientists are indispensable in all phases, as attracted attention of assay such as multi-regional clinical trials, cross validation method. In recent times, Model Informed Drug Development (MIDD) approach has been widely used with fit-for purpose. Modeling & Simulation is one of the tools using pooled data for the multi-protocol with pharmacokinetics, safety and efficacy data, and is accepted by many regulatory agencies.

This presentation will introduce analytical issues with the recent topics utilizing bioanalysis data from early stage of drug development to submission for new drug application by clinical pharmacology scientist.

D3-1B

スタンドアローンの HPLC を例として、DI の規制要件を満たしていない 機器運用のベストプラクティス

(日本QA研究会GLP部会、株式会社大塚製薬工場)

○正木 良和



Best practice of operation management under data-integrity guidelines – A case study using stand-alone HPLC –

Yoshikazu Masaki

Japan Society of Quality Assurance GLP Division, Otsuka Pharmaceutical Factory, Inc.

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為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。その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。

現在 GLP 下における機器の運用管理については、Data Integrity (DI) 対応が OECD を始め、各組織で検討され、日本においても将来的に規制されると予想されており、対応準備が必要となってきている。

しかしながら、現在の日本は DI の規制要件対応の過渡期にあり電子データを生成するカテゴリ 3 に分類される市販システムでも DI の規制要件を満たしていないものを使用しなければならないケースが多く、そのような場合には、規制要件を満たすように運用管理で対応しなければならない。

そこで、『DI の規制要件を満たしていない機器をどのように運用管理で対応すればよいか?』といった疑問に答えるべく、本検討ではスタンドアローンの高速液体クロマトグラフ (HPLC) を例として採り上げ、運用管理での対応を検討しベストプラクティスを提案した。その中では「アクセスコントロール」、「監査証跡」、「生データ(バックアップ)」が重要な対応すべきポイントとして考えられ、これらのベストプラクティスを紹介する。

又、現在の海外における DI の規制要件への対応状況を『将来の日本のるべき姿』と想定し、現状の日本との比較をすることで、今後目指すべき方針の提案を考えた。Warning Letter と DI に関する OECD 文書 AD No.17 “Application of GLP Principles to Computerised Systems” 並びに MHRA “‘GXP’ Data Integrity Guidance and Definitions” の要求事項や Stand-alone PC 運用に関する海外論文の調査により、Global で求められている管理レベルと日本との対比を行った。

更に、理想的なシステムとしてネットワークを利用したデータ収集システム (LIMS 等) を利用した DI 確保の為の運用管理方法について紹介する。

測定データの信頼性確保の視点について、測定データの完全性を確保する為、GLP 省令では、データの収集、解析及び保存に使用する機器を適切に維持し校正することが求められているが、本報告では LIMS 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についても紹介する。

In device operation management under Good Laboratory Practice (GLP), the assurance of Data Integrity (DI) is currently being considered by each organization, including the Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). Since DI is also going to be a regulatory

requirement in Japan, it is necessary to proceed with the preparations for DI assurance.

In Japan, the status of DI for operation management of GLP devices is currently in the transition period. We have a lot of opportunities to use systems which generate electronic data, but do not meet the DI regulatory requirements even when we use commercially available ones classified as Category 3 by Good Automated Manufacturing Practice (GAMP). In such cases, it is necessary to operate systems manually to meet DI requirements.

Here, as an example, we have considered the best practices for operation management that supports DI requirements using stand-alone high-performance liquid chromatography (HPLC).

In addition, we compared the operation management levels between overseas and Japan by analyzing the requirements of warning documents OECD No.17 "Application of the Principles of GLP to Computerised Systems", "GXP Data Integrity Guidance and Definitions" by Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency (MHRA), and publications for stand-alone HPLC system management. As a result, "access control", "audit trail", and "raw data (backup)" were cited as the main points. Therefore, we considered the manual operational management for systems that do not have these functions.

Furthermore, we examined the use of data collection systems such as Laboratory Information Management System (LIMS).

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

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.

D3-2-1

抗体医薬品の免疫原性評価における LC/MS 分析技術の活用

(中外製薬株式会社)

○関口 修央



Utilization of LC/MS analysis on the immunogenicity research of therapeutic antibodies

Nobuo Sekiguchi

Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.

免疫原性は重篤な副作用や薬効減弱につながりうるため、抗体医薬品の創製において、評価すべき重要な項目の一つである。免疫原性を惹起する主要因子の一つとして、抗体医薬品のアミノ酸配列中の T-cell epitope (抗原提示細胞に抗体医薬品分子が取り込まれた後 MHC クラス II に提示され、T 細胞を活性化するペプチド断片) の存在が挙げられる。低免疫原性の抗体医薬品を創製するためには、探索段階から配列中の T-cell epitope を予測評価する必要がある。

近年、抗原提示細胞に提示されるバイオ医薬品由来のペプチド断片を LC/MS を用いて同定する技術、MHC-associated peptide proteomics (MAPPs) が報告されている。我々は最近、前臨床段階から複数の抗体医薬品候補を評価することに適した、高感度な MAPPs 法を確立した。

本発表では、臨床において免疫原性を引き起こすことが知られている市販抗体医薬品の MAPPs による評価結果および社内創製抗体の MAPPs を用いた免疫原性評価のケーススタディーを紹介する。

Immunogenicity is a key issue in the engineering of therapeutic antibodies because it can lead to severe adverse effects and diminished pharmacological efficacy. A major cause of immunogenicity is the T-cell epitopes (peptide sequences that induce T-cell activation following the presentation on MHC class II molecules of antigen-presenting cells) derived from a therapeutic antibody. To produce antibodies with low immunogenicity, we need to evaluate and predict T-cell epitopes in an antibody's sequence early, in the drug discovery stage.

MHC-associated peptide proteomics (MAPPs) has been reported as a method of using LC/MS to identify peptides derived from therapeutic biologics that emerge on antigen-presenting cells. We recently established a highly sensitive MAPPs method suitable for evaluating multiple therapeutic antibody candidates in the preclinical stage.

This presentation will provide examples of MAPPs results for therapeutic antibodies known to cause immunogenicity in clinical practice, along with case studies of utilizing MAPPs for the immunogenicity study of our in-house antibodies.

D3-2-2

LC-MS を用いた抗体医薬のバイオトランスフォーメーション評価

(協和キリン株式会社)

○小林 和弘、細木 淳、田原 晴信



Biotransformation evaluation of therapeutic monoclonal antibody using LC-MS

Kazuhiro Kobayashi, Jun Hosogi, Harunobu Tahara

Kyowa Kirin Co., Ltd.

抗体医薬は生体内において比較的安定であり、その消失経路は内因性抗体と同様と見なされてきたため、代謝経路に関する研究は限定的であった。しかしながら LC-MS を用いた分析技術の発展とともに、生体内でアミノ酸修飾や切断といったバイオトランスフォーメーションが起きていることが明らかになってきた。同様の変化は抗体医薬以外のバイオ医薬品でも認められており、変化が起きる部分によっては薬理活性や薬物動態、安全性などに影響を与えることから、開発候補品のバイオトランスフォーメーションプロファイルを評価し、把握することが重要である。

抗体医薬の血中濃度測定に汎用されるリガンド結合法は、結合を指標にしたアッセイであることから、分子構造の変化を必ずしも捉えることができないため、バイオトランスフォーメーションの評価としては LC-MS を用いた評価が一般的である。LC-MS を用いた抗体医薬のバイオアナリシスにおいては感度面に課題があったが、近年の機器性能の向上や免疫沈降や酵素消化といった前処理を加えることにより、リガンド結合と同等の感度で分析することが可能となっている。網羅的なバイオトランスフォーメーションのスクリーニングや特定部位における変化の定量分析など、LC-MS の利用が増えつつある。

本講演では、抗体医薬開発におけるバイオトランスフォーメーション研究の位置づけや分析アプローチについて紹介する。また LC-MS を用いて我々が実施してきた抗体医薬のバイオトランスフォーメーション評価の実例について紹介する。

Metabolism studies for therapeutic antibodies have been limited because therapeutic antibodies have been expected to undergo predictable catabolism pathways similar to endogenous antibodies (the enzymatic hydrolysis of polypeptides to produce smaller peptides and amino acids). However, several reports showed therapeutic antibodies/proteins undergo various biochemical modifications which may induce changes in their structure and biological activity. Biotransformation assessment is important if the safety or efficacy profile of a drug candidate is impacted by molecule degradation or formation of metabolites.

Liquid chromatography coupled with mass spectrometry (LC-MS) can be used to investigate the catabolism of therapeutic antibodies/proteins because it can provide structural information. To overcome low sensitivity in protein quantitation using LC-MS, immunoaffinity coupled LC-MS has been increasingly used for biotransformation assessment.

This presentation will introduce the importance of biotransformation assessment and methodology of catabolic analysis for drug development. In addition, we will provide some case studies of the LC-MS method development for biotransformation assessment.

D3-2-3

Q-PCR 法によるコラテジエンの定量分析

(アンジェス株式会社)

○小松野 孝緒、齋藤 佳巳、加賀 敏宏



Quantitative analysis of Collategene by Q-PCR

Takao Komatsuno, Yoshimi Saito, Toshihiro Kaga

AnGes, Inc.

遺伝子治療は、2015年以降欧米を中心に多くの商品が上市され、次世代医薬品として大きく注目されてきている。国内においては、再生医療及び遺伝子治療は、期限条件付き承認制度の対象とされ、21世紀の医療として大きな期待が寄せられている。

コラテジエンは、ヒト肝細胞増殖因子(Hepatocyte growth factor:HGF)をコードする遺伝子(cDNA)を含むプラスミドDNAで、2019年3月26日に日本初の遺伝子治療薬として条件及び期限付製造販売承認を取得した。

FDAから発出されている遺伝子治療に関するガイダンスでは、生体試料中の薬物濃度測定にQ-PCR(Quantitative polymerase chain reaction)法を用いることが推奨されており、遺伝子治療薬の開発にはQ-PCR法を用いた定量分析法の開発が必要となる。しかしながら、本ガイダンスはバイオアナリシスに特化したものではなく、本分析法に特化したガイダンス/ガイドラインはない。

本発表では、コラテジエンの開発で経験したQ-PCR法を用いた生体試料中薬物濃度の定量分析について紹介するとともに、承認申請時のデータについても言及する。今後の遺伝子治療薬の開発の一助となれば幸いである。

Many products of gene therapy have been put on the market mainly in Europe and America since 2015, and it is noticed as a next generation medical supply. In Japan, regenerative medical and gene therapy products are subjected to the approval system with conditional and time limited, and great expectation is rising for the medical treatment in 21 century.

Collategene, a plasmid DNA encoding human HGF (Hepatocyte growth factor: HGF) gene (cDNA), obtained conditional and time-limited approval as the first gene therapy product in Japan on March 26, 2019.

The guidance on gene therapy products issued by the FDA recommends the use of the Q-PCR (Quantitative polymerase chain reaction) method for the determination of drug concentrations in biological samples. The development of gene therapy products requires the development of quantitative analysis methods using the Q-PCR method. However, this guidance is not specific for bioanalysis and there is no specific guidance/guideline for this analytical method.

This presentation includes the quantitative analysis of plasmid concentrations in biological samples using Q-PCR method which AnGes had experiences in the development of Collategen, and also refer to the data for approval. We would be pleased if this presentation helps the development of future gene therapy products.

D3-2-4

創薬における定量的プロテオーム解析の活用

(アクセリード・ドラッグディスカバリー・パートナーズ株式会社)

○安藤 智広



Application of quantitative proteomic analysis in drug discovery research

Tomohiro Ando

Axcelead Drug Discovery Partners, Inc.

創薬研究では、より未知の疾患または、新しい治療コンセプトへの取り組みが増えつつあり、それらの成功確率を高める方法論が模索されている。この解決策の一つとして、ゲノム、トランск립トーム、プロテオームまたはメタボローム解析等に代表される網羅的解析技術の応用が挙げられる。特に、プロテオーム解析が対象とするタンパク質は生理現象の発現に必要な分子群であり、病態や治療のメカニズム解釈に欠かせない。さらには、生体内で生じたプロテオームの変動は血液、尿、脳脊髄液等の体液にも反映される事が知られており、臨床応用可能な低侵襲性のバイオマーカーとしての可能性も秘めている。

一方で、プロテオーム解析は、従来の標的型分析に比べ、その定量性が課題として考えられている。最も一般的な手法であるショットガンプロテオミクスでは、解析対象となるタンパク質は消化酵素によりペプチド断片化された後、質量分析によりアミノ酸配列推定、発現量評価が行われる。解析対象は数千から数万種に上り、定量性の無いシグナルが数多く含まれていた。しかし、この状況は精密質量分析および安定同位体標識の組み合わせにより、大きく改善した。精密質量分析は他の分子由来のシグナルの干渉を軽減し、安定同位体標識した標準サンプルとの同時測定は定量精度を向上させた。定量性評価のために、ヒト由来株化細胞へ大腸菌抽出タンパク質を異なる既知量添加したサンプル群を調製し、mTRAQ 標識の上、オービトラップ型質量分析器で解析した。その結果、同定された大腸菌由来タンパク質のほとんどは添加量に応じたシグナル変動を示した。さらに、本手法は細胞だけでなく、フォルマリン固定パラフィン包埋組織や体液サンプルにも応用可能であり、その例を紹介する。

プロテオーム解析の定量性の高まりにより、変動の著しい一部の分子だけでなく、取得された多くの部分が解釈に値するデータになりつつある。この応用により、標的型分析では不可能な量の情報を検体から取得でき、見落としの無い、失敗がより少ない創薬研究の実現が期待される。

Proteomic analysis, provides a global view of protein expression, localization and modification, is a potent tool for studying physiological or pathological states leading to discovering their mechanisms or biomarkers. In addition, by using isobaric mass labeling and high-resolution mass spectrometry technologies, proteomic analysis has also acquired more accuracy and precision in quantification. In this presentation, its applications would be introduced, expected to grow usage of more and more in drug discovery studies.

D3-3-1

JBF ディスカッショングループの検討にみる段階的代謝物定量の実態

(日本新薬株式会社)

○丹羽 誠



Overview of tiered metabolite quantification: Japan Bioanalysis Forum (JBF) Discussion Group

Makoto Niwa

Nippon Shinyaku Co., Ltd.

医薬品候補化合物の代謝物が多量に生成した場合には、その全身的な毒性評価が必要となる。特に毒性動物種よりヒトで代謝物の曝露が高く、かつ、代謝物の曝露量自体も高い場合、代謝物単独での毒性試験が必要である。この状況に対し漫然と取り組んでいては、開発後期に代謝物の評価が集中し、承認申請に向けたスケジュールが遅延するリスクがある。とはいえ、不必要に多くの代謝物に対してフルバリデーションを行っていては、研究開発資源の適正利用の点で問題を生じる。この課題への対応策として代謝物定量の段階的アプローチが考えられた。

段階的アプローチでは、ヒトにおける初回投与試験からヒト代謝物の検討を開始し、①代謝物の検索、②未変化体に対する相対的曝露の推定、③測定法のバリデーションを伴わない代謝物の定量、と段階的にヒトにおける代謝物評価を詳細化していく、③の定量化によって求めた曝露量から詳細評価が必要となった場合に、④測定法のバリデーションを伴う代謝物の定量を実施して申請資料とし、承認審査時の評価に用いる。

この段階的アプローチの進め方について、2013年から2014年にかけてJBF内のディスカッショングループのテーマとして取り上げ、本邦における製薬企業の考え方を調査し、様々な考え方の整理に取り組んできた。本発表ではその概要を紹介することで、本セッションの枠組みを提供することしたい。

Drug metabolites which provide considerable exposure and present at disproportionately higher levels in humans than in the experimental animals require additional safety testing as test articles. In this meaning, evaluating metabolite exposure in humans is important in drug development. Lack of risk assessment for this possibility of metabolite safety testing may cause delay in drug development. On the other end, implementing too much validated assay for potentially important metabolites leads to inadequate overspending of resources. Tiered approach was introduced as a solution for this circumstance.

Tiered approach is consisted of several tiered investigations on human metabolites, starting from seeking metabolites in first-in-human study, stepwise improvement of the analytical methods, and establishment of validated quantification for important metabolites.

JBF discussion groups DG2013-03 and DG2014-09 investigated the regional practices on metabolite quantification in Japan and discussed to organize the various ideas and practices. In this presentation, outline of the real picture of metabolite quantification, which will make the framework of this session, will be provided.

D3-3-2

臨床ステージにおけるヒト試料中の代謝物検索および曝露量の評価

(田辺三菱製薬株式会社)

○後藤 貴博



Investigation of metabolites and assessment of metabolite exposure in human matrices at the clinical stage

Takahiro Goto

Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation

ICH M3(R2)ガイドラインが通知されてから既に 10 年近くが経過しており、各企業において適切に代謝物評価が実施されていると考えられる。しかしながら、ガイドラインに沿った対応は企業ごとの方針、経験ならびにノウハウに依存し、評価タイミングや評価方法は大きく異なっているのが現状である。

本セッションでは主に臨床ステージにおける代謝物評価に焦点をあて、代謝物検索方法、得られた結果に対する考察および曝露評価に対する取り組みなどを発表する。また、本発表を通じて代謝物評価戦略の議論を深めることで、医薬品開発の効率化の向上につなげたい。

Since ICH M3 (R2) Guideline was issued almost 10 years ago, it is considered that metabolite evaluation has been appropriately conducted by each company. However, the actions in accordance with the Guideline depend on the policies, experiences, and know-how of each company, and the timing of evaluation and the assessment methods are greatly different at present. In this session, I will mainly focus on the evaluation of metabolites in the clinical stage, and present metabolite search methods, interpretation of the obtained results, and approaches to the evaluation of exposure. I hope that this presentation will lead to enhancement of the efficiency of drug development by the discussion on metabolite evaluation strategies.

D3-3-3

標品を用いずにヒト代謝物評価を行うための段階的アプローチ

(日本たばこ産業株式会社)

○小林 晓、前川 道栄、角谷 信至、野村 幸広、小粥 基弘



Tiered Approach for Assessment of Human Metabolites without Authentic Standards

Satoru Kobayashi, Michihide Maekawa, Nobuyuki Kakutani, Yukihiro Nomura, Motohiro Kogayu
Japan Tobacco Inc.

2008 年に FDA より発表された Safety Testing of Drug Metabolites (MIST) は医薬品関連代謝物評価のガイドラインとして医薬品開発に大きな影響を与え、2009 年日米欧 3 局による International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) で改訂したガイドラインとしてまとめられた。ICH ガイドラインでは、「臨床試験において検出された代謝物の AUC が未変化体および全代謝物を含む総 AUC の 10% 以上であり、ヒトにおける曝露量が非臨床毒性試験動物における曝露量よりも明らかに高い場合、非臨床試験で代謝物を特徴づける必要がある。」と述べられている。ヒトにおける代謝物の曝露量を基準として戦略を立てた場合、複雑な化学構造をもつ代謝物標品合成の困難さが、評価や判断時期を遅らせる場合が数多く存在する。本発表では「非臨床毒性試験動物における代謝物の曝露」をベースとした弊社のヒト代謝物評価戦略について述べる。

Safety Testing of Drug Metabolites (MIST) announced by FDA in 2008 had a great impact on drug development as a guidance for evaluating drug related metabolites. In 2009, it was summarized as a harmonized guidance by International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). The ICH guidance states “Nonclinical characterization of a human metabolite(s) is only warranted when that metabolite(s) is observed at exposures greater than 10% of total drug-related exposure and at significantly greater levels in humans than the maximum exposure seen in the toxicity studies.” Strategy based on human metabolite exposure can result in a delay in evaluation or judgement due to difficulty in synthesizing a reference standard of complex compounds. In my presentation, I will describe our strategy based on the comparison of metabolite exposure in humans with those of in non-clinical toxicology animals.



Miraca
みらかグループ

その先に笑顔を願う



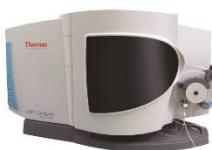
多彩な活動で、医療と暮らしに貢献

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



株式会社日本医学臨床検査研究所

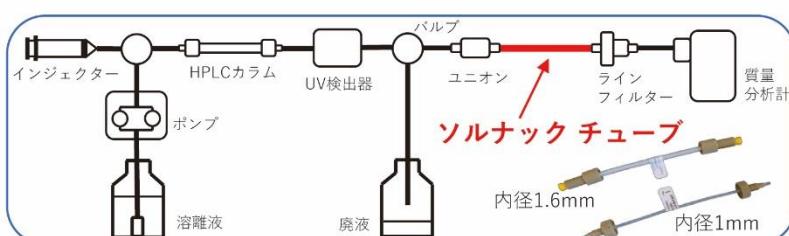
〒570-0033 大阪府守口市大宮通1丁目13番36号 TEL: 06-6995-2680 FAX: 06-6995-2681
(本社: 〒613-0046 京都府久世郡久御山町大橋辺16番地10 <https://www.jcl.co.jp/>)



LC/MS用オンライン脱塩チューブ “ソルナックチューブ”

トリエチルアミン溶離液中、核酸塩基をPos.で高感度検出できます！

イオン化抑制の改善と付加イオンが無いスペクトルが得られます。

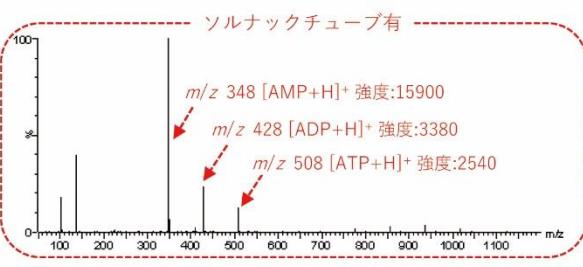
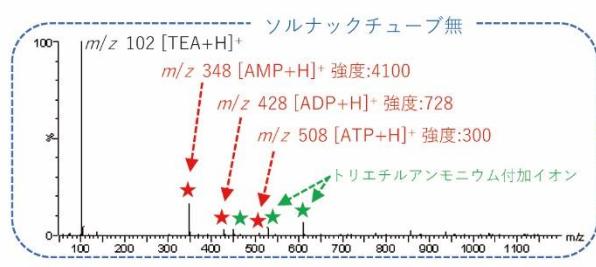


- 流量 0.2~1.0 mL/min 対応
- ディスポートタイプ
- 簡単操作：UV検出器とMSの間に繋ぐだけ

【特許第6609844号】

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

トリエチルアミンによるイオン化抑制の改善例 試料：核酸塩基（AMP, ADP, ATP） 溶離液：0.1% トリエチルアミン水溶液



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



ポスター発表 (Poster Presentation)

ポスター／ブース会場： 2F 瑞雲、平安、福寿

閲覧可能時間： 2月 25 日（火） 12:30-18:00

発表コアタイム 14:20-15:20 (奇数番号)

2月 26 日（水） 9:00-18:30

発表コアタイム 10:55-11:55 (偶数番号)

2月 27 日（木） 9:00-12:30

発表コアタイム 9:00-11:00 (DG、JBF タスクフォースからの発表)

DG による成果発表

- P-DG40 DG2019-40: BE における Accuracy & Precision Criteria
- P-DG41 DG2019-41: 非結合型薬物濃度測定
- P-DG42 DG2019-42: LBA によるマルチプレックスアッセイの現状と課題
- P-DG43 DG2019-43: ADA 分析の道しるべ
－分析法開発および非臨床・臨床試験実施における留意点－
- P-DG44 DG2019-44: バイオマーカー定量のバリデーションにおける国内の実情

JBF タスクフォースからの発表

- P-s-DG: s-DG(Short/Small Discussion Group)活動
---JBF Communication Tool Task Force (CTTF) より---

JBF の活動成果

- P-JBF1: ICH-M10: JBF Workshop Report - Proposals from JBF European Bioanalysis Forum, 12th Open Symposium (2019)
- P-JBF2: Consideration from JBF for general requirements (with focus on Chromatographic assays)
European Bioanalysis Forum Spring Focus Workshop 2019
- P-JBF3: Consideration from JBF for requirements specific to chromatographic assays
European Bioanalysis Forum Spring Focus Workshop 2019
- P-JBF4: JBF Feedback
AAPS ICH M10 Public Consultation Workshop (2019)
- P-JBF5: ICH-M10: JBF ワークショップ
- P-JBF6: The Japan Bioanalysis Forum (JBF): the past 8 years and future perspective
Bioanalysis (2019) 11(07), 611–617
- P-JBF7: The 10th Japan Bioanalysis Forum Symposium conference: a report
Bioanalysis (2019) 11(14), 1303–1308

一般演題

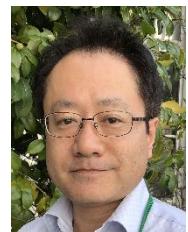
- P-1: Application of Differential Ion Mobility Spectrometry to Oligonucleotide Therapeutics
- P-2: 表面プラズモン共鳴励起増強蛍光分光（SPFS）技術を用いた新規高感度エクソソーム検出法の開発
- P-3: 血漿中核酸医薬品のバイオアナリシスへ向けた SPE LC-MS / MS 開発
- P-4: 回折格子結合型表面プラズモン共鳴励起増強蛍光分光(GC-SPFS)によるシングルドメイン抗体を用いた検出
- P-5: 質量分析制御ソフトウェアにおけるデータインテグリティの課題と対応
- P-6: 表面プラズモン共鳴励起増強蛍光分光（SPFS）技術を用いた創薬支援サービスへの活用
- P-7: LC-MS/MS を用いた内因性化合物の一斉分析
- P-8: 蛍光ナノ粒子 PID (Phosphor Integrated Dots)を用いた超高感度免疫組織化学法 (Quanticell) による HER2 の定量的評価
- P-9: 生体試料中 D,L-アミノ酸の高感度一斉分析
- P-10: CRO における FCM 受託分析への取り組み
- P-11: CYP1A2 を介した臨床薬物相互作用試験における飲食物由来のカフェインの影響を考慮した評価
- P-12: Quantitative application of flow cytometry for the analysis of circulating human T cells: A preclinical pharmacokinetic study
- P-13: CYP1A2 を介した DDI 試験における LC-MS/MS 法によるヒト血漿中カフェイン定量法バリデーション
- P-14: 細胞移植治療における細胞品質の事前評価を目的とした細胞活性評価システムの利用
- P-15: HRAM-LC-MS/MS によるヒト血清中アポリポプロテイン E アイソフォーム定量分析法開発
- P-16: Proposal of a novel quantitative PCR methodology that can confirm "true cellular kinetics" in chimeric antigen receptor T cell therapy
- P-17: 誘導体化を用いた尿中 2-オキソ酸 7 種の LC-MS/MS 同時測定法の開発 —B 群ビタミンの機能性生体指標（バイオマーカー）としての使用に向けて—
- P-18: Hybridization-electrochemiluminescence 検出による生体試料中ヌシネルセン定量法の開発
- P-19: HPLC-MS/MS 分析のための保持液抽出法を用いた尿中ホルモン代謝物の抽出
- P-20: IMPROVEMENT OF THE PHARMACOKINETICS OF CYSTEINE ENGINEERED ANTIBODY (LIGHT CHAIN Q124C)-DRUG CONJUGATE.
- P-21: LC/MS/MS による抗体医薬品のバイオアナリシスにおける前処理の問題点
- P-22: 臨床試験における抗イディオタイプ抗体を使用しない LBA 測定手法の提案
- P-23: LC/MS による生体試料中抗体医薬品定量のための簡便かつ堅牢性の高いトリプシン消化法の開発
- P-24: トシリズマブ投与関節リウマチ患者における抗薬物抗体の評価
- P-25: Quantitative Targeted Absolute Proteomic (QTAP) analysis of transporters for validation of an in vitro human Blood-Brain Barrier model.
- P-26: 抗体医薬品存在下での unbound 可溶性抗原の定量

- P-27: High resolution mass spectrometry (HRMS) を用いたインタクト分析による flowcytometry 用蛍光色素標識抗体の標識率の測定
- P-28: 抗医薬品抗体 - 免疫複合体転換法 (CAI) による総抗インフリキシマブ抗体測定法の開発と炎症性腸疾患における臨床的有用性
- P-29: 臨床検体分析の際に留意すべきこと～ GCP の観点から～
- P-30: Development and Implementation of the S-PLEX® Platform for Converting Standard Immunoassays to High-Sensitivity Assays
- P-31: サンプルマネージメントにおける問題事例
- P-32: 低コストなサンプル前処理自動化システムの導入

DG2019-40: BE における Accuracy & Precision Criteria

(全星薬品工業株式会社¹、サンプラネット株式会社²、株式会社新日本科学³、第一三共株式会社⁴、グラクソ・スミスクライン株式会社⁵、日本新薬株式会社⁶)

○真弓 剛¹、石井 琢帆²、大塚 昌平³、中井 直子⁴、西田 裕⁵、丹羽 誠⁶
オブザーバー:渥美 亮⁴

**Accuracy & precision criteria of method validation for bioequivalence studies
(DG2019-40)**

Tsuyoshi Mayumi¹, Takuho Ishii², Shohei Otsuka³, Naoko Nakai⁴, Hiroshi Nishida⁵, Makoto Niwa⁶
Observer: Ryo Atsumi⁴

*Zensei Pharmaceutical Co., Ltd.*¹, *Sunplanet Co., Ltd.*², *Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.*³,
*Daiichi Sankyo Co, Ltd.*⁴, *GlaxoSmithKline K.K.*⁵, *Nippon Shinyaku Co., Ltd.*⁶

過去に DG2017-28 及び DG2018-35 では定量法の判断基準の設定方法について統計的手法を用いて考察し、特に代謝物の定量精度が MIST 判断にどの程度影響を与えるかを検討してきた。これを拡張し、DG2019-40 では、生物学的同等性(BE)試験で期待される分析法の精度について、統計解析の面からアプローチすることにより議論した。

薬物動態学的コンパートメントモデルを作成し、ある程度の大きさの inter-occasional variability を設定し virtual 患者ごとの血中濃度推移を発生、これに測定値のばらつきを加えて血中濃度の測定値を発生させた。2×2 クロスオーバーデザイン又は並行群間比較デザインで virtual BE 試験を実施し、測定値のばらつきを変化させたとき BE 結果にどの程度影響するか(90%信頼区間にに基づく評価法を用いたとき本質的に同等な製剤の同等性を証明できなくなることがあるか)を検討した。

併せて、測定法のばらつきが BE 結果に影響した認識があるかについてアンケートを実施し、研究開発現場における実態についても考察した。

本シンポジウムではこれらの検討結果を提示し議論したいと考えている。

DG2019-40 worked on the question; “Can accuracy and precision of the analytical method affect the result of bioequivalence (BE) studies?” To answer this, compartmental pharmacokinetic models were constructed with varied analytical errors and virtual BE studies with 2 x 2 crossover design and parallel design were performed. Based on the results, possibility of failing to prove BE of essentially equivalent formulations (based on 90% confidence intervals) were investigated. In addition, survey was performed to see if any bioanalysts think that the variability of the analytical methods affected the BE results in the real world. We will present above items at the symposium venue and are going to discuss with attendees.



DG2019-41: 非結合型薬物濃度測定

(田辺三菱製薬株式会社¹、株式会社LSIメディエンス²、日本新薬株式会社³、
株式会社住化分析センター⁴、小野薬品工業株式会社⁵、科研製薬株式会社⁶)
○井手 亮佑¹、新井 浩司²、佐々木 佳寛³、重山 拓摩⁴、野田 巧⁵、
吉松 宏倫⁶

Bioanalysis of Unbound Drug

Ryosuke Ide¹, Koji Arai², Yoshihiro Sasaki³, Takuma Shigeyama⁴, Takumi Noda⁵,
Hiromichi Yoshimatsu⁶

¹ Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation, ² LSI Medience Corporation, ³ Nippon Shinyaku Co., Ltd.,

⁴ Sumika Chemical Analysis Service, Ltd., ⁵ Ono Pharmaceutical Co., Ltd., ⁶ Kaken Pharmaceutical Co., Ltd.

タンパク結合評価等における非結合型薬物濃度の測定は、薬物の体内動態、薬効や毒性を正しく理解するうえで重要なツールであり、本評価にバイオアナリシスが果たす役割は大きいと言える。しかし、試験手法や試験条件について公的に要件が定められておらず、各施設・担当者で疑問に思いながら試験を実施している場合や、実施内容に過不足が生じている場合もあると考えられる。本DGでは、試験手法や試験条件について施設横断的なアンケート調査を行い、現状を調査した。本発表においてアンケート結果や試験実施時に考慮すべきポイント等を示し、実務において参考となる標準的な方法・考え方を提案したい。また、非結合型薬物濃度を測定するための技術についてもいくつか紹介する。

Unbound drug analysis in protein binding assay, etc. is a useful and powerful tool for assessments of pharmacokinetic, pharmacologic and toxic property, and therefore it can be said that bioanalysis plays an important role. However, no guidelines of methodologies or assay conditions are issued, and they are not normalized across laboratories, which may cause concerns of each institution/scientist and excess or deficiency in the assay contents. Survey was performed across institutions on the methodologies and assay conditions, etc. In this presentation, we show the results of the survey and points to consider at the time of conducting the study, and then propose standard concepts of the assay. Some techniques for unbound drug analysis are also presented.

DG2019-42: LBAによるマルチプレックスアッセイの現状と課題

(積水メディカル株式会社¹、株式会社イナリサーチ²、株式会社 LSI メディエンス³、協和キリン株式会社⁴、株式会社新日本科学⁵)

○前田 健一¹、平澤 由貴²、木下 誠司³、摺木 志保⁴、谷口 康徳⁵



DG2019-42: Current State and Issues Facing Multiplex LBAs

Kenichi Maeda¹, Yoshitaka Hirasawa², Seiji Kinoshita³, Shiho Suruki⁴, Yasunori Taniguchi⁵

¹ SEKISUI MEDICAL Co., Ltd., ² Ina Research Inc., ³ LSI Medience Corporation, ⁴ Kyowa Kirin Co., Ltd., ⁵ Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

バイオマーカー等の測定では、Ligand binding assay (LBA) によるマルチプレックスアッセイである Electrochemiluminescence (ECL) や Luminex 等の様々なプラットフォームが使用されている。一回の測定で多項目の濃度測定が可能となる一方で、シングルプレックスアッセイ時とは異なる課題があると推測される。例えば、マルチプレックスアッセイの評価方法や評価基準に関しては、C-Path の Points to Consider Document では対象外となっており、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、LBA によるマルチプレックスアッセイの使用目的や使用プラットフォーム、バリデーションの実施状況とその評価基準や評価方法の設定を議論した。また、バイオアナリシス分野における LBA によるマルチプレックスアッセイの実情を調査し、今後のバイオアナリシスに生かすことを目的とした。

本発表では DG の議論内容の概要を紹介し、LBA におけるマルチプレックスアッセイの議論の一助としたい。

Multiplex ligand binding assays (LBAs) are commonly used to measure various analytes including biomarkers, on multiplex platforms such as Electrochemiluminescence (ECL) or Luminex. It is quite convenient to be able to measure multiple analytes simultaneously in a single assay by multiplex LBAs; however, there seems to be some issues centric to multiplex LBAs which differ from that of singleplex LBAs. For example, the evaluation and acceptance criteria of multiplex LBAs are excluded from the scope of the 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. It appears to the members of this DG that the evaluation of multiplex LBAs is performed according to various policies established separately by each company. Therefore, this DG mainly focused on the intended purpose, platform selection, decisions on whether to validate multiplex LBAs, and the validation method itself. Additionally, we investigated the current state of multiplex LBAs in bioanalysis as well as discussed in detail issues multiplex LBAs are facing along with mitigation efforts.

This presentation provides an overview of our discussion to facilitate an efficient use of multiplex LBAs.

DG2019-43: ADA 分析の道しるべ分析法開発および非臨床・

臨床試験実施における留意点－

(株式会社新日本科学¹、帝人ファーマ株式会社²、小野薬品工業株式会社³、第一三共株式会社⁴、グラクソ・スミスクライン株式会社⁵、株式会社住化分析センター⁶、シミックファーマサイエンス株式会社⁷)

○横田 喜信¹、酒井 和明²、小田 祐輝³、中沢 康徳⁴、若松 明⁵、大岡 香織⁶、羽成 優⁷、早田 洋平¹



DG2019-43: Guide to ADA Analysis: Considerations in Developing Analytical Methods and Conducting Nonclinical/Clinical Studies (DG2019-43)

Yoshinobu Yokota¹, Kazuaki Sakai², Yuki Oda³, Tsunenori Nakazawa⁴, Akira Wakamatsu⁵, Kaori Ooka⁶, Suguru Hanari⁷, Yohei Hayata¹

¹ Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd., ² Teijin Pharma Limited, ³ Ono Pharmaceutical Co., Ltd.,

⁴ Daiichi Sankyo, Co., Ltd., ⁵ GlaxoSmithKline K. K., ⁶ Sumika Chemical Analysis Service, Ltd., ⁷ CMIC Pharma Science Co., Ltd.

ADA 分析の実施は、日本にガイドラインがないため、欧米の規制情報を確認した上で各社が自社のポリシーに沿って対応している状況である。

ここ数年で Drug tolerance 向上に関する新たな酸処理手法(SPEAD、ACE、BEAD 等)が一般的になり、核酸やペプチド(新しいモダリティー)に対する ADA 分析も増加し、ADA 分析を取り巻く環境が変化している。2019 年 1 月には最新の Immunogenicity Guidance が FDA から発出された。

しかしながら、ADA 分析に関して DG で議論したのは 2015 年までであり、2016 年以降、新たな議論はされていなかった。

このような環境の変化を踏まえ、DG2019-43 で現在の ADA 分析における課題を議論した。メンバーより出された意見・課題を層別したところ、①非臨床試験、②臨床試験、③分析法開発の 3 点に集約できることから、各項目で挙げられた課題の議論に役立てるために、DG サポーター向けにアンケートを実施した。今回の発表では、アンケートの結果を紹介するとともに、課題別に DG からの提案を記載する。

There are currently no guidelines in Japan on conducting ADA analysis. Therefore, institutions in Japan conduct ADA analysis in accordance with internal policies based on European and American regulations. In recent years, the circumstances surrounding ADA analysis have changed. For instance, new acid treatment methods (SPEAD, ACE, BEAD, etc.) that improve drug tolerance have become common, and ADA analyses are conducted for nucleic acids and peptides (new modalities).

Although the most recent immunogenicity guidance was issued by the FDA in January, 2019, the last Japan Bioanalysis Forum (JBF) DG regarding ADA analysis was in 2015. DG2019-43 was formed to discuss the recent changes in ADA analysis. The topics of discussion raised by DG2019-43 members can be categorized into the three following points: (1) non-clinical study, (2) clinical study, and (3) method development. Questionnaires were given to DG supporters in order to facilitate discussion of these points. In this presentation, we will share the results of the questionnaire and describe the DG's proposals for each topic.

**DG2019-44: バイオマーカー定量のバリデーションにおける国内の実情**

(小野薬品工業株式会社¹、グラクソ・スミスクライン株式会社²、株式会社新日本科学³、シミックファーマサイエンス株式会社⁴、科研製薬株式会社⁵、日本たばこ産業株式会社⁶、大阪国際がんセンター⁷、田辺三菱製薬株式会社⁸、積水メディカル株式会社⁹)

○橋本 義孝¹、五十嵐 春江²、岩切 哲平³、北原 沙也加⁴、高木 秀行⁵、田谷 有妃⁶、長尾 卓也⁷、丸本 美穂⁴、山崎 真⁸、山本 卓⁹

Validation of Biomarker Quantification in Japan (DG2019-44)

Yoshitaka Hashimoto¹, Harue Igarashi², Teppei Iwakiri³, Sayaka Kitahara⁴, Hideyuki Takagi⁵, Yuki Taya⁶, Takuya Nagao⁷, Miho Marumoto⁴, Makoto Yamazaki⁸, Takashi Yamamoto⁹

¹ *ONO Pharmaceutical Co., Ltd.*, ² *GlaxoSmithKline K. K.*, ³ *Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.*,

⁴ *CMIC Pharma Science Co., Ltd.*, ⁵ *KAKEN Pharmaceutical Co., Ltd.*, ⁶ *Japan Tobacco Inc.*,

⁷ *Osaka International Cancer Institute*, ⁸ *Mitsubishi Tanabe Pharma Corporation*, ⁹ *SEKISUI MEDICAL CO., Ltd.*

バイオマーカー分析法のバリデーションは、各極の種々ガイドラインや白書でも「Fit for purpose」や「Context of use」を踏まえるとされており、評価項目や基準は具体的でなく統一もされていない。2017年にAMED研究班が実施したバイオマーカー分析に関するアンケートの結果、以下の点が明らかとなった¹⁾。「国内において、生体試料中薬物濃度分析法のガイドラインを参照してバイオマーカー分析法のバリデーションの項目や基準を定めることが比較的多い。」、「国内において実施される項目は、米国の留意点文書²⁾で示された項目と一部解離している。」

AMEDによる調査から2年が経過した今、DG2019-44は、以下の疑問を持った。

- ✓ 日本の製薬会社は、探索評価や社内判断のためのバイオマーカーに対して依然として過剰な対応をしていないだろうか？
- ✓ 薬物濃度分析に比べ、バイオマーカー研究は多くの機能を持つ担当者が関わる。Bioanalystは、「Fit for purpose」や「Context of use」を理解し、それを踏まえた分析法の質についてコンセンサスを得るのに苦心していないだろうか？

従って、バイオマーカー研究が現状どのように実施されているのか把握することは有益と考えアンケートを実施した。発表では、アンケート結果とDG2019-44で討議した結果を報告する。

DG2019-44 members have questions; "Do Japanese pharmaceutical companies still have excessive responses to biomarker measurement for exploratory and internal decision making?", "Does the Bioanalyst have trouble understanding "Fit for purpose" and "Context of use" and making consensus on the quality of analytical methods with other many functional personnel involved in biomarker research?" Therefore, DG2019-44 surveyed to grasp how biomarker research was carried out at present. In the presentation, the result of the survey and the result of our discussion in DG2019-44 members are reported.

【引用】 1) Ohtsu et al., Bioanalysis 11: 55-60 (2019)

2) Critical Path Institute., Points to Consider Document: Scientific and Regulatory Considerations for the Analytical Validation of Assays Used in the Qualification of Biomarkers in Biological Matrices (2019)

s-DG(Short/Small Discussion Group)活動 --JBF Communication Tool Task Force (CTTF) より--

(杏林製薬株式会社¹、株式会社サンプラネット²、日本たばこ産業株式会社³、株式会社住化分析センター⁴、株式会社東レリサーチセンター⁵)

○小関 望¹、佐野 善寿²、永尾 明美³、山口 建⁴、安田 穂⁵



Activity from s-DG (Short/Small Discussion Group) from JBF Communication Tool Task Force (CTTF)

Nozomu Koseki¹, Yoshihisa Sano², Akemi Nagao³, Takeru Yamaguchi⁴, Yutaka Yasuda⁵

¹Kyorin Pharmaceutical Co., Ltd., ²Sunplanet Co., Ltd., ³Japan Tobacco Inc., ⁴Sumika Chemical Analysis Service, Ltd., ⁵Toray Research Center, Inc.

JBF では昨年度から Discussion Group (DG) 以外に比較的短期間でバイオアナリシスに関する身近なトピックスを対象に議論する場を提供することを目的としてタスクフォース(Communication Tool Task Force: CTTF)を立ち上げた。CTTF では検討の結果、メールベースで議論する s-DG (Short/Small Discussion Group) を形成し、より気軽にかつタイムリーに議論するスタイルを目指すとした。最初に議論するトピックスとして「ICH M10 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(案)におけるパーシャルバリデーション」を選定し、2019 年 6 月に第 1 回 s-DG の参加者を募ったところ 19 名の応募があり、2 ヶ月弱の議論を行った。議論結果についてはポスターで紹介する。

第 1 回の経験をもとに 2019 年 11 月に第 2 回 s-DG の参加メンバーを募集した。第 2 回では JBF から 4 つのトピックス候補を示し、最も希望者の多かった「キャリーオーバーが見られた場合の解消法は?」をテーマとして議論が行われることとなった。すでに 2019 年 12 月から 1 月末までの 2 ヶ月間、メンバー 10 人で議論中であり、その中で得られた知見についてもポスターで発表する予定である。

将来的に s-DG で議論を行うトピックスは一般からの公募により行いたいと考えている。

The communication tool TF (CTTF) was newly formed in FY2018 to discuss simple and day-to-day bioanalytical issues with domestic bioanalysts. CTTF reviewed several communication tools and finally offered a new discussion place “s-DG (small/short discussion group)” by e-mail base. “Partial Validation”, a subject in ICH M10 (Bioanalytical Method Validation, draft version), was selected as the topic, and the first s-DG started in June 2019. Total 19 members participated in the s-DG and discussed the topic for 2 months or less.

Presently, the second s-DG is implemented with 10 members, in which “Carryover on LC(/MS) analysis” was selected as the discussion topic which was selected by participants out of 4 candidates. The outcome from these s-DG activities will be presented at the symposium.

We would like to collect the topics in s-DG through public recruitment for activation of the discussion in near future.

P-1

Application of Differential Ion Mobility Spectrometry to Oligonucleotide Therapeutics

Kaoru Karasawa, Noriyuki Iwasaki
Scieix

LC-MS/MS is one of the main analytical methods for oligonucleotides therapeutics (OGNTs) such as ASO and siRNA. Oligonucleotides (OGNs) are detected sensitively as negative ions by multiple phosphate groups and thiophosphate groups in the molecule, but the spectrum is complicated because they are detected as various multiple charge states (mainly 2-10). Furthermore, since OGNs' ions are generally detected with high sensitivity at low m/z (highly charged state), they are susceptible to contaminants during quantitative analysis. In addition, in sequence confirmation using MS/MS, the product ion spectra from highly-charged precursor ions are complicated because it consists of various charge state ions, and their sequence coverage is usually lower than that obtained from low-charge-state precursor ions.

Therefore, if OGNs can be detected with lower charge distributions (higher m/z), it is expected that qualitative MS and sequence confirmation will become easier as well as S/N improvement in quantification.

Previously, our company reported that SelexION® differential mobility spectrometry (DMS) with a modifier was used to improve the sensitivity of peptide analysis by decreasing the background ions and changing the valence distribution. Since the same effect was expected in the OGN analysis, we performed verification using various OGNs and examined the analytical conditions.

As a result of the examination, it was confirmed that the charge state of all OGNs was reduced with the same analytical condition, and the S/N was greatly improved for low-charge ions, though the TIC (total ion current) was decreased. In this presentation, we report the results together with some other findings.

キーワード : *ion mobility spectrometry, oligonucleotide therapeutics, DMS*

P-2

表面プラズモン共鳴励起増強蛍光分光 (SPFS) 技術を用いた新規高感度エクソソーム検出法の開発
○青木 洋一、彼谷 高敏
(コニカミノルタ株式会社)

Development of a new high sensitive exosome detection method using Surface Plasmon field-enhanced Fluorescence Spectroscopy (SPFS)

Yoichi Aoki, Takatoshi Kaya

【緒言】エクソソームは、ほとんどの細胞から分泌されている直径 40~150 nm 程度の膜小胞であり、様々な膜タンパク質や miRNA といった多様な細胞成分を包含する。近年、様々な疾患診断マーカーとして、血液等に分泌されたエクソソーム(その構成物質)を検出する方法も盛んに研究されている。これまでに報告されているエクソソーム検出方法は、生体試料を対象とした評価における分析感度性能や測定範囲性能が不十分なため、分析感度性能を確保するために複雑なエクソソーム抽出前処理工程を必要とし、再現性など多くの分析基本課題を抱えている。今後、多様なエクソソームの機能解析や臨床応用検討を進めるためには、上記課題を解決した高感度検出法の確立が急務であると考える。そこで本研究では、表面プラズモン共鳴励起増強蛍光分光 (SPFS: Surface Plasmon field-enhanced Fluorescence Spectroscopy) 技術を検出原理とする小型血液検査システムを用いて、高感度かつ幅広い測定レンジを高い再現性の下で両立した新規高感度エクソソーム検出方法を開発した。

【実験】開発した SPFS 測定系は細胞膜由来タンパク抗原である CD9 及び CD63(一部検討で PSMA)を対象としたサンドイッチ型ノアッセイ系であり、希釀以外の特別な前処理が無い条件で分析性能・測定範囲・測定再現性などの基本分析性能を評価した。評価抗原として数種類の細胞由来 CD9 陽性 CD63 陽性エクソソーム、および前立腺癌細胞株 LNCaP 由来の PSMA 陽性 CD9 陽性エクソソームを対象として用いた。

【結果】種々のエクソソームを対象とした分析性能検証において、最新の報告例と比較して高感度かつ幅広い測定レンジと共に、高い再現性を確認した。本発表では、同一条件での比較対象法の結果と共に、血液検体対象のエクソソーム測定や本測定法を用いたエクソソームの機能解析事例を報告する。

キーワード : 表面プラズモン共鳴励起増強蛍光分光 (SPFS)、高感度、広測定レンジ

P-3

血漿中核酸医薬品のバイオアナリシスへ向けたSPE LC-MS/MS 開発

Development of a Bioanalytical SPE LC-MS/MS Assay for Oligonucleotides from Plasma

Thanai Paxton¹, Mary Lame², Kathryn Brennan², Michael Donegan², Masayuki Kubota¹, Maki Terasaki¹, Hiroko Iwasaki¹, Kenji Hirose¹, Etsuko Suzuki¹

¹Nihon Waters K.K., ²Waters Corporation

Introduction: Over the past decade, there has been increased research around oligonucleotide therapeutics (ONTs). With improved target specificity of next-generation oligonucleotides, demand for LC-MS bioanalytical assays in support of their research and development has also increased.

Developing robust, sensitive and selective sample preparation and LC-MS methods for oligonucleotide analysis remains quite challenging, due to their size, poly-anionic nature, physiochemical diversity, and stability, which often results in poor sample recovery from biomatrices, poor MS sensitivity due to limited ionization/fragmentation, and poor resolution from endogenous matrix interferences due to poor reverse phase (RP) chromatographic retention.

This work described herein provides a single, simple method for the quantification of various oligonucleotides (15-35mer) from serum, using RP and mixed-mode μElution SPE sample preparation and analytical scale sub-2μm LC. This method achieves high recovery and low matrix effects, while achieving LODs as low as 0.5-1.0 ng/mL extracted from plasma/sera.

Preliminary Data: In this work, we have developed a complete sample preparation and LC-MS/MS workflow for sensitive and accurate quantification of various synthetic deoxythymidine and fully phosphorothioated oligonucleotides from human plasma/sera. Using either RP or mixed-mode WAX SPE, along with optimized pretreatment, wash and elution steps, oligonucleotide recoveries were between 60-100% from sera/plasma, with minimal matrix effects. Using analytical scale LC and ≤ 300 μL of extracted plasma/sera, sub-ng/mL limits of detection were achieved. Using 1/x or 1/x² weighted regression, calibration curves from were linear over 3 orders of magnitude (>0.99). For all QC levels, accuracies were between 85-115% with % CVs ≤ 15%, indicating an accurate, precise and reproducible method.

Novelty: Simplified SPE method with high oligonucleotide recovery without LLE sample pretreatment. Eliminates issues with protein and non-specific binding combined with highly selective and sensitive RP-LC/MS quantification.

キーワード : Oligonucleotide Bioanalysis, SPE, LC-MS/MS

P-4

回折格子結合型表面プラズモン共鳴励起増強蛍光分光(GC-SPFS)によるシングルドメイン抗体を用いた検出

○長門石 曉¹、彼谷 高敏²、永江 剛典²、中村 幸登²、津本 浩平^{1,3}

(¹東京大学医科学研究所、²コニカミノルタ株式会社、³東京大学大学院工学系研究科)

Highly sensitive detection of single-domain antibody using grating-coupled surface plasmon field-enhanced fluorescence spectroscopy (GC-SPFS).

Satoru Nagatoishi, Takatoshi Kaya, Kosuke Nagae, Yukito Nakamura, Kohei Tsumoto

創薬開発現場のニーズに即した、初期の探索段階における網羅解析技術や、後段の前臨床、臨床試験で特に必要とされる極微量の定量検出技術は必ずしも十分ではない。その中で幅広い affinity 特性に対応した高感度な定量検出技術の開発が望まれている。従来法とは異なる蛋白質定量の原理として、我々は増強電場という局在した高いエネルギー場を蛍光励起に利用する SPFS 増強蛍光検出技術に着目した。この技術は、原理検証レベルの研究は進められてきたが、測定再現性が低い点で産業応用が敬遠されてきた。そこで近年我々は、高度な光学設計と独自のデバイス設計、さらに低分子の蛍光色素標識を採用することで、再現性を担保した高感度な SPFS 定量検出技術の開発に成功した (Anal. Chem., (2015) 87, 1797)。我々さらに増強蛍光が強く偏光性を有する SPCE 現象を効率的に利用したナノスケールの回折格子型デバイス GC-SPFS を開発した。極微量かつ低 affinity な反応も高感度に測定解析することが可能であることを実証するため、次世代材料としても期待されているシングルドメイン抗体 sdAb の機能評価への応用を検討した。その結果、表面プラズモン共鳴法 SPR や酵素免疫測定法 ELISA といった従来の検出技術で達成できなかった、非洗浄型のアッセイでかつ高感度な低 affinity 解析が可能であることが示された (PLoS One, (2019) 14, e0220578)。

キーワード : 回折格子結合型表面プラズモン共鳴励起増強蛍光分光、バイオセンサー、シングルドメイン抗体

質量分析制御ソフトウェアにおけるデータインテグリティの課題と対応

○山元 良馬

(サーモフィッシュ・サイエンティフィック株式会社)

Address Data Integrity Challenges with Mass Spectrometry Software

Ryoma Yamamoto

データインテグリティ (DI) に関するガイダンスが 2015 年 3 月にイギリス医薬品庁 (MHRA) から発行され、それに続いて FDA、WHO および PIC/S などからも関連のガイダンスが発行されました。日本も 2015 年 7 月に PIC/S に加盟して以降、近年ますます DI における要求が厳しくなりつつあります。

DI を担保する方法の一つに、標準作業手順書 (SOP) などを利用した紙ベースの運用がありますが、SOP 関連のトレーニングやそれに準拠した行動、記録・保管管理などの点でライフサイクルマネジメントが煩雑になる傾向にあります。そのため、コンピュータ化システムにおける電子データ管理へと移行する傾向にありますが、ここでも同様にデータおよびそれに付随するメタデータの管理が必須となります。

本ポスターでは、質量分析計の制御ソフトウェアとして Thermo Scientific™ Chromleon™ クロマトグラフィーデータシステム (CDS) を活用した際に、DI の課題に対してどのような対応が可能かについて、ALCOA 原則を踏まえてご紹介いたします。

キーワード：データインテグリティ、Chromleon、質量分析装置

表面プラズモン共鳴励起増強蛍光分光 (SPFS) 技術を用いた創薬支援サービスへの活用

○村山 貴紀、青木 洋一、彼谷 高敏

(コニカミノルタ株式会社)

Application to drug discovery support service using Surface Plasmon field-enhanced Fluorescence Spectroscopy (SPFS) technology

Takanori Murayama, Yoichi Aoki, Takatoshi Kaya

近年の創薬研究・医薬品開発において、初期段階で候補化合物の薬効および毒性などの安全性を評価するために動物に投与する非臨床試験などに抗原抗体反応を利用した対象物質を定量する Ligand Binding Assay(LBA)が頻用されている。マトリックス影響等を受けずに生体中試料中のバイオマーカー濃度を正確に測定すること、安全性や有効性を高めるために対象物のみならず代謝物も含め、極低濃度から高濃度まで測定することができる高感度で定量範囲が広い検出技術の開発が望まれている。そこで我々は、励起エネルギーの局在化とセンサ光学設計により一般的な蛍光検出法と比較して大幅にバックグラウンドノイズを抑制でき、高いシグナル／ノイズ比 (S/N) が得られることを特長とする表面プラズモン共鳴励起増強蛍光分光 (SPFS: Surface Plasmon field-enhanced Fluorescence Spectroscopy) を検出原理として用いた高感度で幅広い測定レンジを有する新規高感度測定システムを開発した。

本発表では、急性心筋梗塞の診断や心毒性評価に用いられるバイオマーカー：心筋トロポニンにおける外部施設でのヒト試料を用いた分析性能検証(Clin Chem Lab Med. 2019, cclm-2019-0801)ならびに、動物試料を用いたマイクロサンプリングを適用した性能評価の結果を、従来技術との比較を交えて報告する。

また、本システム特長の 1 つであるフレキシブルなカスタムアッセイ系構築の適応性についても報告をし、本システムが創薬研究の一助となることを期待したい。

キーワード：高感度、バイオマーカー、LBA 法

LC-MS/MS を用いた内因性化合物の一斉分析

○文本 英隆、橋本 有樹、亀田 直樹、堤 靖

(住化分析センター テクニカルソリューション本部
大阪ラボラトリー バイオアナリシスグループ)

Simultaneous analysis of endogenous compounds using LC-MS/MS

Hidetaka Fumimoto, Yuuki Hashimoto, Naoki Kameda,
Yasuo Tsutsumi

近年、薬物の薬効評価や毒性発現の指標として、内因性代謝物の変化を解析するメタボロミクス研究が活発化している。内因性代謝物の中でもステロイドホルモンは遺伝子発現、生殖、心血管、神経機能などの調節といった幅広い機能を有しており、様々な疾患等のメカニズムを理解するうえで重要な物質群であることから、ステロイドホルモン生合成経路全体のプロファイルを分析することで合成障害が起こっているプロセスの特定等を迅速に行うことができると考えられる。ステロイドホルモンを測定する手法としてイムノアッセイが挙げられるが、成分毎に抗体が必要なことや測定成分が増えるごとにコスト、測定時間が増加することから、プロファイル分析には利用し難い方法である。一方、LC-MS/MS を用いたステロイドホルモンのプロファイル分析法は多成分を同時に測定でき、コスト、必要時間を短縮できるといったメリットから着目されている。今回、当社は LC-MS/MS を用いたステロイドホルモン 14 成分の分析法を確立した。本手法は少量サンプルからでも高感度にステロイドホルモン 14 成分を同時に分析することが可能である。また、ステロイドホルモンの他に生活習慣病（糖尿病等）との関連が着目されている遊離脂肪酸、慢性疲労症候群のバイオマーカーとして着目されている有機酸の分析法も確立した。

キーワード : LC-MS/MS、ステロイド、遊離脂肪酸

蛍光ナノ粒子 PID (Phosphor Integrated Dots)を用いた超高感度免疫組織化学法 (Quanticell) による HER2 の定量的評価

斎藤 直也¹、森近 恵祐¹、原田 円央¹、巽 敦郎¹、
三宅 祐輝¹、西川 賢司¹、増渕 茉奈美¹、田中
北斗¹、松尾 司¹、保理江 大作¹、藤原 浩次¹、
齊藤 哲¹、郷田 秀樹¹、高橋 優¹、Joseph
Krueger²、Kenneth Bloom³、柏木 正英⁴、横田 博
之¹、岡田尚大¹

(コニカミノルタ株式会社、2Invicro LLC, 3 コニカ
ミノルタプレシジョンメディシン、4 コニカミノルタ
プレシジョンメディシンジャパン)

Evaluation of HER2 with highly sensitive and quantitative immunohistochemistry (Quanticell) using phosphor integrated dots (PID)

Naoya Saito, Keisuke Morichika, Nobuhisa Harada,
Atsuro Tatsumi, Yuki Miyake, Kenji Nishikawa,
Manami Masubuchi, Hokuto Tanaka, Tsukasa Matsuo,
Daisaku Horie, Koji Fujiwara, Tetsu Saito, Hideki
Gouda, Masaru Takahashi, Joseph Krueger, Kenneth
Bloom, Masahide Kashiwagi, Hiroyuki Yokota,
Hisatake Okada

HER2（ヒト上皮成長因子受容体 2型）は抗 HER2 治療薬の効果予測因子であり、免疫組織化学法 (IHC) による HER2 タンパク質検出法は、抗 HER2 治療薬に対するコンパニオン診断薬 (CoDx) として承認されている。しかしながら、いずれの CoDx も色素沈着を基本原理とする DAB (3,3'-diaminobenzidine) 染色のため、判定は目視による半定量であり、さらに、ペルオキシダーゼの酵素反応によりシグナルを增幅させているため、特に低発現領域における識別が課題となっている。

我々は蛍光ナノ粒子 PID (Phosphor Integrated Dots)を用いた超高感度免疫組織化学法(Quanticell)を開発し、定量的かつ高感度な免疫染色を可能とした。本方法を用いることにより、乳癌組織の HER2 発現レベルを高感度かつ定量的に測定することができ、従来法では困難であった HER2 低発現領域の識別が可能となるため、CoDxへの応用が期待される。

キーワード : Quanticell, HER2, Immunohistochemistry、乳がん、蛍光ナノ粒子、高感度

生体試料中 D,L-アミノ酸の高感度一斉分析
唐川 幸聖、原田 真志、新保 和高、中山 聰
 (味の素株式会社)

Highly sensitive and simultaneous analysis of D,L-amino acids in biological samples
Sachise Karakawa

アミノ酸には光学異性体の D 体と L 体が存在するが、これまで生体内のアミノ酸は L-アミノ酸のみで構成されていると考えられていた。しかし近年、D-アミノ酸も生体内に存在し L-アミノ酸とは異なる生理機能を有することや、種々の疾患のバイオマーカーとなることが報告されてきている。生体内の微量な D-アミノ酸を分析するためには、多量に存在する L-アミノ酸と分離し、かつ高感度に検出する分析法が必要である。本研究では独自に軸不斉型キラル誘導体化試薬 (BiAC-tag (Biaryl axially chiral-tag)) を開発し、LC-MS/MS で D,L-アミノ酸を高感度に一斉分析法を確立した。本法をヒト血漿、尿、糞便の分析に適用し、定量範囲 (D-アミノ酸 0.01~25 μM、L-アミノ酸 1 μM~1 mM) において良好な精度、真度で分析可能であることを確認した。

キーワード : D-アミノ酸、プレカラム誘導体化、LC-MS/MS

CROにおけるFCM受託分析への取り組み
○北原 沙也加、團野 典行、高原 栄二
(シミックファーマサイエンス株式会社)

CRO's Approach to Flow Cytometry Analysis
Sayaka Kitahara, Noriyuki Danno, Eiji Takahara

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、FCM (Flow cytometry) の技術がバイオマーカー検出に利用されるようになってきた。

以前より低分子バイオマーカーについては HPLC や LC-MS/MS、高分子バイオマーカーについては LBA (Ligand Binding Assay) により測定され、それら分析法の妥当性の検証方法については明確にされてきている。一方、FCM については 2016 年の DG で測定法やバリデーション等についてディスカッションはされているが、まだ明確な基準が決まっていない。そのため、製薬メーカーから CRO へ測定・解析を依頼するにあたって、双方ともに手探り状態で進めているというのが現状である。

このような状態を開拓するため、抗体の選択、前処理、機器の設定、解析といった、試験実施の各ステップにおける問題、課題を明らかにし CRO からより良い提案が出来ないかという観点で考察を行う。CRO においての FCM 測定の考え方についてまとめ、また、製薬メーカーや機器メーカーからポスター内のアンケートにご意見を頂くことで、今後の FCM 測定の試験の進め方を議論するための一助としたいと考えている。

キーワード : フローサイトメトリー、バイオマーカー、バリデーション

CYP1A2 を介した臨床薬物相互作用試験における飲食物由来のカフェインの影響を考慮した評価
 ○前田 宏¹、高田 英宜¹、小川 琴子¹、向井 真由美¹、長谷川 真絹¹、岩崎 佳代²、永田 吉範¹
 (¹協和キリン株式会社、²株式会社新日本科学)

Evaluation of plasma caffeine concentration considering the influence of food-derived caffeine in clinical drug interaction study of CYP1A2-mediated drug interaction

Hiroshi Maeda, Hidenori Takada, Kotoko Ogawa, Mayumi Mukai, Maki Hasegawa, Kayo Iwasaki, Yoshinori Nagata

厚労省より発出されている薬物相互作用ガイドライン¹⁾にCYP1A2の*in vivo*指標薬の代表例として挙げられているカフェインを用いて臨床薬物相互作用試験を実施した。血漿中カフェイン濃度は株式会社新日本科学においてバリデートされたLC/MS/MS法により測定した。通常の購入ヒト血漿には日常的に摂取されたカフェインが含まれるためバリデーション試験では代替マトリックスが用いられ、ヒト血漿を用いた選択性は未実施であった。そのため、臨床検体測定時に検体の測定順序を工夫し、測定法の妥当性を補完した。

最初に、カフェイン投与前に採取された検体(カフェイン含有飲食物の摂取なし)を測定しカフェインが検出されないことが確認できたため、本測定法はヒト血漿においても選択性に問題がないと判断した。次に、購入ヒト血漿に既知濃度のカフェイン及び被験薬(Compound A)を添加して調製したQC試料中のカフェイン濃度を測定した。購入ヒト血漿試料中のカフェイン濃度との差の真度及び精度は良好であった。以上より、本測定法はCompound A存在下においても、ヒト血漿試料中カフェイン濃度を適切に定量できると判断した。

本測定法を用いてカフェイン投与後に採取された検体を測定した。その際、代替マトリックスを用いて調製したQC試料(3濃度)及び購入ヒト血漿を用いて調製したQC試料

(1濃度)により精度管理を行った。本測定法によりCompound A併用によるカフェインの薬物動態を評価できることが示された。

1) 「医薬品開発と適正な情報提供のための薬物相互作用ガイドライン」について。薬生薬審発0723第4号(平成30年7月23日)

キーワード：臨床、カフェイン、選択性

Quantitative application of flow cytometry for the analysis of circulating human T cells: A preclinical pharmacokinetic study

Shin-ichi Matsumoto, Syunsuke Yamamoto, Hisao Shimizu, Hideki Hirabayashi

Takeda Pharmaceutical Company Limited / Drug Metabolism and Pharmacokinetics Research Laboratories, Research

[Purpose] Adoptive T cell therapy has been investigated as a powerful cancer treatment modality. Although quantifying adoptively transferred T cell would be a key factor for evaluating the efficacy and safety of adoptive T cell therapy, the application of flow cytometry to a quantitative pharmacokinetic study with adoptive T cell therapy is new and the quantitativity is unclear. Therefore, we aimed to investigate the quantitatitvity of flow cytometry-based analysis for the pharmacokinetic assessment of circulating human T cell in a preclinical study.

[Methods] By using human peripheral blood CD8⁺ T cells as model cells, we evaluated the selectivity, accuracy, precision, and sensitivity of flow cytometry-based analysis for cell detection and then applied the analysis to a preclinical PK study of adoptively transferred T-cell in immunodeficient mice.

[Results and Discussion] The CD3/8/45-positive cell population was successfully distinguished from the negative population. Linear regression analysis for the calibration curve showed good linearity (r^2 : 0.999 to 1.000) and recovery was approximately 100% (95.1 to 104.9%). Acceptable inter- and intra-day precision and accuracy were observed and the lower limit of quantification (30 cells/50 μ L) was validated with acceptable precision and accuracy (< 25%). Altogether, these results indicate that flow cytometry had excellent quantitatitvity. Blood concentrations of human CD8⁺ T cells in immunodeficient mice were therefore evaluated after administration using this method and the time-concentration profile of human T cells in mice was successfully assessed.

[Conclusions] To our knowledge, the present study is the first to clarify the quantitatitvity of flow cytometry-based analysis for circulating human T cells in animals. Based on our results, we could achieve acceptable accuracy and precision, and high sensitivity by this analysis. The concept of the present study would be applicable to quantitative pharmacokinetics/efficacy or safety analysis of adoptive T cell therapy.

キーワード：flow cytometry, human CD8⁺ T cells, quantitatitvity

P-13

CYP1A2 を介した DDI 試験における LC-MS/MS 法によるヒト血漿中カフェイン定量法バリデーション

○岩崎 佳代、堀内 歳和、福田 卓、川端 光彦
(株式会社新日本科学 薬物代謝分析センター)

Validation of an Analytical Method for the Determination of Caffeine in Human Plasma by LC-MS/MS in CYP1A2-mediated Drug-drug Interaction Studies

Kayo Iwasaki, Toshikazu Horiuchi, Suguru Fukuda,
Mitsuhiko Kawabata

CYP1A2 の関与する Drug-drug interaction (DDI) を評価するためにヒト血漿中カフェイン濃度測定法を開発した。カフェインを含んでいない (Caffeine-free) ヒト血漿の入手は困難であるため Caffeine-free 代替マトリックスを使用したヒト血漿中カフェイン濃度測定法を紹介する。

抽出には自動サンプル前処理機を使用した固相抽出法を用いた。内標準物質としてカフェイン-d₉ を使用し、測定対象であるカフェイン及び安定同位体 (¹³C, ¹⁵N₂) 標識カフェインのそれぞれで検量線を作成した Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) 法により分析をした。

バリデーション項目（選択性、検量線、希釈妥当性、回収率、マトリックス効果及び安定性）の評価には、イオン化効率がほぼ同じでかつ内因性の影響を受けない (¹³C, ¹⁵N₂) 標識カフェインで検量線を作成した。カフェイン含有の血漿を用いて分析法の評価をおこない、全ての項目が基準内であった。

別途、バリデーションのその他の項目（検量線、真度・精度及びキャリオーバー）の評価には、カフェインで検量線を作成した。代替マトリックスとして超純水を用いて分析法の評価をおこない、全ての項目が基準内であった。

また、カフェイン含有の購入血漿に既知濃度のカフェインを添加して調製した QC 試料中のカフェイン濃度を測定し、血漿中のカフェインの真度・精度の評価をした。QC 試料中と購入血漿中のカフェイン濃度との差が添加濃度に反映することが確認でき、差の真度及び精度は良好であった。

以上により、内標準物質としてカフェイン-d₉ を使用し、代替マトリックスとして超純水を用いて検量線を調製したヒト血漿中カフェイン測定法では CYP1A2 の関与するヒト DDI 試験の評価に有用であることが確認できた。

キーワード：カフェイン、代替マトリックス、内因性

P-14

細胞移植治療における細胞品質の事前評価を目的とした細胞活性評価システムの利用

○辻村 真里、草森 浩輔、高村 皓大、西川 元也
(東京理科大学薬学部)

Application of cell activity evaluation system to pre-evaluation of cell quality for cell transplantation therapy

Mari Tsujimura, Kosuke Kusamori, Kodai Takamura,
Makiya Nishikawa

細胞を患者に移植することで疾患を治療する細胞移植治療法は、様々な疾患に対して優れた治療効果を示すことから次世代治療法として期待されている。しかしながら、移植治療に用いる細胞の品質を事前に評価可能なシステムは開発されておらず、高品質の細胞が移植されているかは不明である。したがって、移植する細胞の品質を事前に評価する方法を確立できれば、再現性の高い細胞移植治療の実現が期待される。そこで本研究では、コニカミノルタ社製の細胞活性評価システムを用いて細胞スフェロイドの酸素消費量を測定し、移植治療に用いる細胞スフェロイドの品質評価の指標になるかについて検討した。直径 400 μm のウェルを多数有するアガロース製マイクロウェルに NanoLuc luciferase 発現マウス間葉系幹細胞株 C3H10T1/2/Nluc 細胞を 2×10⁶ cells となるよう播種し、一定時間培養することで C3H10T1/2/Nluc スフェロイドを作製した。細胞を播種して 24 時間後と培地交換を行わずに 5 日間培養した C3H10T1/2/Nluc スフェロイドにおけるルシフェラーゼ活性と酸素消費量を測定したところ、培地交換を行わずに 5 日間培養した C3H10T1/2/Nluc スフェロイドのルシフェラーゼ活性および酸素消費量はいずれも有意に低かった。さらに、各スフェロイドを 20 個ずつ C3H/He マウスの背部皮下に移植して 5 時間後の細胞の生存率を皮膚中ルシフェラーゼ活性を指標に評価したところ、培地交換を行わずに 5 日間培養した C3H10T1/2/Nluc スフェロイドの生存率は有意に低かった。以上より、細胞スフェロイドの酸素消費量は細胞の移植後生存率を予測可能なパラメータであり、細胞活性評価システムを利用することで移植治療に用いる細胞の品質を事前に評価できることが示された。

キーワード：細胞移植治療、細胞スフェロイド、酸素消費量

HRAM-LC-MS/MSによるヒト血清中アポリipoprotein E アイソフォーム定量分析法開発
 ○星野 雅輝、新田 真一郎、若林 弘樹、上田 哲也

(株式会社L S I メディエンス メディカルソリューション本部 高度技術分析センター 医薬品分析部)

Development of Quantitative Method for Apolipoprotein E Isoforms in Human Serum by HRAM-LC-MS/MS

Masaki Hoshino, Shin-ichi Nitta, Hiroki Wakabayashi, Tetsuya Ueda

アポリipoprotein E (ApoE) とアルツハイマー病の関連性については1993年のCorderの報告¹⁾以降多くの研究がおこなわれており、APOE遺伝子のε4アレルはアルツハイマー病の危険因子と広く理解されている。一方で、ApoE関与のメカニズムに関しては、Amyloid β代謝、Tauリン酸化、脂質代謝、血管の老化などへの関与など様々なメカニズムが提唱されているが確固とした結論は得られていない²⁾。

タンパク質を定量的に評価することでアルツハイマー病におけるApoE関与のメカニズムに関する新たな知見が得られる可能性があるが、一般的に行われている遺伝子検査では定量的な評価は難しい。そこで我々は、ヒト血清をアフィニティー精製することなく直接トリプシンを用いて消化断片を作成し、生成されたApoE2, ApoE3, ApoE4及びApoE2~4共通の消化断片をHRAM(High Resolution and Accurate Mass)-LC-MS/MSにより測定する血清中アポリipoprotein Eアイソフォーム分析法を開発した。また、本分析法は高精度な血清中タンパク質の表現型判定とタンパク質濃度の測定が同時に可能な方法であり、定量分析法としてのバリデーションについても本研究内で実施した。その結果は酵素消化を伴うLC-MS/MS分析法に対して提案されている基準³⁾を満たすものであった。現在、CSF中の濃度測定法開発や臨床サンプル測定への応用を検討中である。

本発表では分析法開発のキーポイント、分析法のバリデーションデータを中心に紹介したい。

1): EH Corder et al, Science, 1993, 261, 921-923

2): Safieh et al. BMC Medicine, 2019, 17:64

3): 橋井則貴ら, Chromatography 2018, 39, 7-19

キーワード : アポリipoprotein E、バイオマーカー、
HRAM-LS-MS/MS

Proposal of a novel quantitative PCR methodology that can confirm "true cellular kinetics" in chimeric antigen receptor T cell therapy

Syunsuke Yamamoto, Shin-ichi Matsumoto, Akihiko Goto, Miyuki Ugajin, Yuu Moriya, and Hideki Hirabayashi

Drug Metabolism and Pharmacokinetics Research Laboratories, Research, Takeda Pharmaceutical Company Limited

[Purpose] The quantification of administered chimeric antigen receptor T cell (CAR-T) is generally conducted by quantitative PCR (qPCR). The CAR-T kinetics in blood expressed in units of transgene copy number per genomic DNA amount (copies/µg gDNA) is unique in terms of a transient decline a few days after administration and following *in vivo* expansion. However, there would be an inter- and intra-individual variability of DNA amount in the blood because patients generally receive lymphocyte-depleting chemotherapy before administration. Therefore, we aimed to establish a novel qPCR methodology that can express the cellular kinetics in units of copy number per blood volume (copies/µL blood) as is the case with conventional pharmacokinetics study.

[Methods] For units of copies/µL blood, recovery rate of transgene during DNA extraction from blood sample should be considered. We used dog gDNA as internal standard to normalize the variability of extraction efficiency. By using lymphocyte-depleted human blood, dose-proportionality was compared between units of copies/µL blood and copies/µg gDNA in *ex vivo* study.

[Results and Discussion] The addition of dog gDNA into each blood sample enabled to correct the variability of recovery rate. In *ex vivo* dose-proportionality study, the results of copies/µg gDNA was not increased due to simultaneous increase of transgene and CAR-T-derived gDNA, whereas the results of copies/µL blood successfully showed clear dose-proportionality when CAR-T cells were added to lymphocyte-depleted blood.

[Conclusions] The present study indicated that the transient decrease of gDNA content by chemotherapy would lead to the overestimation of copies/µg gDNA during a few days after administration and, conversely, the following recovery of gDNA by lymphocyte repopulation would cause the decrease of copies/µg gDNA. Additionally, *in vivo* expansion of CAR-T after lymphocyte repopulation would result in the increase of copies/µg gDNA. Our qPCR concept could break the mold; the reported unique CAR-T kinetic profiles might be artificial results and reveal "true cellular kinetics" in upcoming clinical study.

キーワード : cellular kinetics, chimeric antigen receptor T cell, quantitative PCR

誘導体化を用いた尿中 2-オキソ酸 7 種の LC-MS/MS 同時測定法の開発

—B 群ビタミンの機能性生体指標（バイオマーカー）としての使用に向けて—

○坂巻 賢司¹、浅川 孝樹¹、福渡 努²、佐野 善寿¹

(¹株式会社サンプラネット、²滋賀県立大学)

Derivatization method for quantitative bioanalysis of 2-oxo acids in human urine by LC-MS/MS – for utilization as functional biomarkers of Vitamin B –

Kenji Sakamaki, Yoshiki Asakawa, Tsutomu

Fukuwatari, Yoshihisa Sano

【目的】B 群ビタミンはアミノ酸代謝に利用され、その代謝産物である 2-オキソ酸の尿中排泄量は B 群ビタミンの栄養状態の変動を反映する生体指標として利用できると期待されている。これまでに B 群ビタミン剤の摂取により尿中 2-オキソ酸排泄量が減少することが明らかになっているが、この効果に有効なビタミンの種類、摂取量、摂取期間については不明である。そこで、B 群ビタミン剤をヒトに与え、B 群ビタミン摂取時の尿中 2-オキソ酸排泄量の経日的変化を調べることにより、尿中 2-オキソ酸排泄量の減少に有効な B 群ビタミンの摂取方法を明らかにすることを目的とし、LC-MS/MS による 7 種の尿中 2-オキソ酸の同時定量法を検討した。2-オキソ酸は分子量 100 前後の低分子であり親水性が高いため、1. 逆相系 LC カラムへの十分な保持が得られない、2. 良好的なプロダクトイオンが得られない、3. 高感度が確保できない等の課題があり、直接的な定量は困難であった。そこで、3-ニトロフェニルヒドラジド (3-NPH) 誘導体化による LC-MS/MS 定量法の開発を試みた。

【方法】2-オキソ酸標準品あるいは尿試料に 3-NPH を加え、室温、1 時間で誘導体化反応を行った。誘導体化した 2-オキソ酸を逆相系カラムで分離後、ESI-MS/MS により 3-NPH 誘導体に特徴的なプロダクトイオンを SRM 検出した。

【結果及び考察】3-NPH 誘導体化は、一般に広く使われている 2-ニトロフェニルヒドラジド (2-NPH) による誘導体化と比較してマイルドな条件で反応が進行した。反応後の 3-NPH 誘導体も安定であり、その結果、安定した定量分析を可能とし、上記の課題を解決した 3-NPH 誘導体化による LC-MS/MS 同時定量法を構築した。当日の発表では、分析法バリデーション結果並びに本定量法で測定したヒト尿中 2-オキソ酸排泄量の結果についても紹介する予定である。

キーワード：誘導体化、2-オキソ酸、バイオマーカー

Hybridization-electrochemiluminescence 検出による生体試料中ヌシネルセン定量法の開発

○才原 良子¹、上田 俊彦¹、細貝 龍太¹、若林 弘樹¹、新田 真一郎¹、赤川 唯²、村田 英治²、岩井 淳³、中井 恵子²、上田 哲也¹

(¹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 高度技術分析センター 医薬品分析部、²株式会社 LSI メディエンス 創薬支援事業本部 試験研究センター、³株式会社 LSI メディエンス 創薬支援事業本部 営業統括)

Analytical Method Development of Nusinersen in Rat Biological samples by Hybridization-electrochemiluminescence detection

Ryoko Saihara, Toshihiko Ueda, Ryuta Hosogai, Hiroki Wakabayashi, Shin-ichiro Nitta, Yui Akagawa, Eiji Murata, Atsushi Iwai, Keiko Nakai, Tetsuya Ueda

近年、従来の低分子医薬や抗体医薬とは異なる新しい創薬基盤技術を活用した医薬品の承認が続いている。核酸医薬品は、抗体医薬品に続く次世代医薬品として注目を集めている。核酸医薬品の生体試料中濃度を定量する方法として、前処理が簡便で汎用性が高く、少量のサンプルで定量が可能な Hybridization を利用した Ligand-Binding Assay が主流である。

また、核酸医薬品の中でも承認数と臨床試験数において先行しているアンチセンス核酸医薬品は今後さらに研究開発が加速することが予想される。

そこで我々は、アンチセンス核酸医薬品であるヌシネルセンを用いて、ラット生体試料中アンチセンス核酸医薬品の Hybridization-electrochemiluminescence (Hyb-ECL) 検出による定量法の開発を行った。

ラット血漿中ヌシネルセンと Template Probe を Hybridized した後、S1 Nuclease を用いて未反応 1 本鎖 DNA を分解、ECL にて検出する方法を採用した。Template Probe には Complement (单一) タイプを使用した。定量法の妥当性を検証した結果、血漿使用量 1.25 μL、0.7~712 ng/mL の濃度範囲で良好な直線性が得られ、良好な測定内変動が確認された。

次に、確立した定量法と別途開発した LC-MS/MS による定量法にて、ヌシネルセン 1 mg/kg を単回静脈内投与して得られたラット試料中のヌシネルセン濃度を定量し、LC-MS/MS にて得られた測定結果との相関性を確認した。

本発表では、Hyb-ECL を用いたラット試料中ヌシネルセン定量法の検証結果を中心に報告する。

キーワード：アンチセンス、Hybridization、定量分析

HPLC-MS/MS 分析のための保持液抽出法を用いた尿中ホルモン代謝物の抽出

○吉田 達成、後藤 優知

(バイオタージ・ジャパン株式会社)

Extraction of Urinary Hormone Metabolites using Supported Liquid Extraction prior to LC-MS/MS Tatsunari Yoshida, Masatomo Goto

エストロゲン、アンドロゲン、およびグルココルチコイド代謝物は、ホルモン療法中の全体的なホルモンバランスを評価するための指標となる。全体的なホルモンバランス、治療、および解毒をモニタリングする場合、尿を検体とし、24時間に渡って観察する。臨床試験中の前処理と分析には迅速かつ堅牢性の高いプロトコルが必要となる。

本法では、尿試料の前処理カラムに Supported Liquid Extraction (SLE+)を用い、尿検体は自動検体処理システム ExtraheraTMにより、迅速かつ堅牢性の高い試料調製を行った。更に、エストロゲン代謝物を高感度に定量するために、ダンシル化による誘導体化を行った。その結果、30種類の尿中ステロイドホルモン代謝物が処理出来た。定量範囲は0.3～10000 ng/mLと広範囲であった。

フロントエンド自動化をルーチンのワークフローに統合し、ExtraheraTMプラットフォームを用いる事で堅牢性の高いハイスループットな前処理プロトコルが作成できた。96プレート処理時間は32分であった。

キーワード：保持液抽出法、自動検体調整システム、ホルモン代謝物誘導体化

IMPROVEMENT OF THE PHARMACOKINETICS OF CYSTEINE ENGINEERED ANTIBODY (LIGHT CHAIN Q124C)-DRUG CONJUGATE.

Junko Iwano, Daisuke Shinmi, Yasuhisa Shiraishi, Hiroshi Kodaira, Junichi Enokizono
Kyowa Kirin Co., Ltd. / R&D Division

[Purpose] Cysteine engineered antibodies are currently used for site-specific conjugation of antibody-drug conjugates (ADCs). We developed a cysteine engineered antibody, light chain (Lc)-Q124C, which shows very high conjugation efficiency with a maleimide-linker-payload. However, the stability of the thiosuccinimide linkage in human plasma was very poor compared to Genentech's THIOMAB technology: heavy chain (Hc)-A118C and Lc-V205C. We previously reported that the poor stability of Lc-Q124C was caused by maleimide exchange reaction with serum albumin, and the stability was significantly improved by hydrolyzation of maleimide ring *in vitro*. These studies were conducted using cleavable linker-payload which facilitates the release of payload. The cleavability may also affect the pharmacokinetics (PK). In this study, in order to find ways to improve the PK of the drug conjugate of Lc-Q124C, we examined the effects of conjugation sites and linker structures: maleimide hydrolysis and cleavability.

[Methods] Trastuzumab (Tra) was used as a model antibody, and maleimidocaproyl-valine-citrulline-p-aminobenzoyloxycarbonyl-monomethyl auristatin E (vcMMAE) and maleimidocaproyl-MMAE (mcMMAE) were used as cleavable and non-cleavable linker-payload, respectively. The PK profiles after i.v. administration to SCID mice were examined for Tra-Lc-Q124C-vcMMAE, Tra-Hc-A118C-vcMMAE and Tra-Lc-V205C-vcMMAE to evaluate the effect of conjugation site, hy-Tra-Lc-Q124C-vcMMAE to evaluate the effect of maleimide hydrolysis, and hy-Tra-Lc-Q124C-mcMMAE to evaluate the effect of linker cleavability.

[Results and Discussion] The total clearance (CL) of Tra-Lc-Q124C-vcMMAE (72.6 mL/day/kg) was higher than those of Tra-Lc-A118C-vcMMAE and Tra-Lc-V205C-vcMMAE (16.8 and 11.2 mL/day/kg, respectively) as predicted from *in vitro* stability tests. The CL of hy-Tra-Lc-Q124C-vcMMAE (32.9 mL/day/kg) became smaller than that of Tra-Lc-Q124C-vcMMAE but still higher than that of Tra-Lc-V205C-vcMMAE. The CL of hy-Tra-Lc-Q124C-mcMMAE was 9.57 mL/day/kg and was comparable with Tra-Lc-V205C-vcMMAE.

[Conclusion] The poor PK profile of Lc-Q124C was improved by maleimide hydrolysis and using non-cleavable linker.

キーワード：antibody-drug conjugate, cysteine engineered antibody, pharmacokinetics

LC/MS/MSによる抗体医薬品のバイオアナリシス における前処理の問題点

○福田 卓、榎木 啓真、奥島 綾夏、川端 光彦
(株式会社新日本科学 薬物代謝分析センター)

Pretreatment problems in antibody drug bioanalytical assay by LC/MS/MS

Suguru Fukuda, Enoki Yoshimasa, Okushima Ayaka,
Kawabata Mitsuhiro

現在、抗体医薬品の生体中薬物濃度分析には Ligand Binding Assay (LBA) が主流である。LBA は検出感度及びコスト面において利点があるが、ダイナミックレンジ及び選択性について課題を抱えている。一方、Liquid Chromatography / Mass Spectrometry (LC/MS/MS) は LBA と比較して選択性かつ幅広いダイナミックレンジでの分析が可能である。近年、これらの理由から LBA の相補的な技術として、LC/MS/MS による抗体医薬品分析の必要性が高まっている。

LC/MS/MS における抗体医薬品分析では、酵素処理を行った消化断片(ペプチド断片)を分析しており、クリーンアップを含む前処理工程が必須である。この工程が高感度な分析法の確立に影響を与えている。文献では、酵素消化によりペプチド断片の特異的なアミノ酸が修飾を受け、標的とするペプチド断片が減少することにより感度低下がおこっていることが報告されていた。しかし、消化後のペプチド断片が経時的に修飾を受けているのかは不明であった。

本発表では、抗体医薬品分析における前処理工程(酵素消化)の重要性に焦点を当てた検討結果を紹介すると共に、これらの注意点と今後の課題について紹介する。

我々は、すでに報告されているとおり、ペプチド断片の検出感度が酵素の処理時間及びその濃度に依存して変化することを確認した。

また、標的の合成ペプチドを用いて消化酵素による修飾作用について評価した。その結果、酵素処理依存的な合成ペプチドの修飾は起こっていなかったが、酵素処理による感度低下が見られた。

次に抗体を用いて、酵素の処理時間及びその濃度を検討した。その結果からマトリクス効果の影響が酵素処理条件によって変動していることが見出された。

これらの結果から抗体医薬品分析において、酵素の処理条件の最適化が重要であることが示唆された。

本発表で紹介する研究成果の一部は、AMED の課題番号【JP19ak0101073】の支援によるものである。

キーワード：液体クロマトグラフィー質量分析法、抗体医薬品分析、特異的アミノ酸修飾

臨床試験における抗イディオタイプ抗体を使用しない LBA 測定手法の提案

○羽成 優、團野 典行、北原 沙也加、高原 栄二
(シミックファーマサイエンス株式会社)

Suggestion for LBA method without using anti- idiotypic antibodies in clinical study

Suguru Hanari, Noriyuki Danno, Sayaka Kitahara, Eiji Takahara

近年、新薬の主流は低分子からバイオ医薬品にシフトしてきており、2016 年の調査では、世界の医薬品売上上位 20 品目のうち 12 品目がバイオ医薬品となっている。国内においてもバイオ医薬品の売上高は年々増加しており、開発が本格化している。

バイオ医薬品の一種である抗体医薬品は、抗体が抗原を認識する特徴を利用し、治療に用いる医薬品である。抗体医薬品の薬物濃度測定において、例えば、臨床ステージでの測定の場合、測定の特異性を上げる目的で抗イディオタイプ抗体を作成し、サンドwich ELISA で分析されることが一般的である。しかしながら、抗イディオタイプ抗体の作成には時間や費用を要することから、臨床試験の初期段階で容易に抗イディオタイプ抗体を準備することが難しい場合がある。そこで、抗イディオタイプ抗体を使用しない測定手法確立の検討を行うこととした。抗イディオタイプ抗体を使用しない測定手法としては、抗原と抗 IgG 抗体を使用する抗原結合型の ELISA や、抗体医薬品を抗原で挟みこむ抗原サンドwich型の ELISA 等が考えられる。

本発表では、抗体医薬品として代表的なベバシズマブ (AVASTIN) を用い、上記で挙げた抗イディオタイプ抗体を使用しない測定手法 2 種類を ECL 及び Gyrolab で確立する予定である。それぞれの測定手法のメリットやデメリット、応用可否等について幅広く議論したいと考えている。

キーワード：LBA、抗体医薬品、抗イディオタイプ抗体

LC/MS による生体試料中抗体医薬品定量のための簡便かつ堅牢性の高いトリプシン消化法の開発
 ○羽原 広、合田 竜弥、苅部 剛、高草 英生、渡邊 伸明
 (第一三共株式会社 薬物動態研究所)

Development of a Simple and Robust Tryptic Digestion Method for the Determination of Therapeutic Antibodies by LC/MS

Hiromi Habara, Ryoya Goda, Tsuyoshi Karibe, Hideo Takakusa, Nobuaki Watanabe

LC/MS を用いた生体試料中抗体医薬品定量法は、一般的に還元アルキル化や免疫沈降などの複雑な手順を必要とする。また、トリプシン消化効率の変動は、真度及び精度が低下する原因と成り得る。本研究では、アセトニトリルを添加したトリプシン消化法を最適化して消化効率の変動を小さくすることにより、複雑な操作を省略した簡便で堅牢性の高い生体試料中抗体医薬品の LC/MS 定量法の開発を目指した。

モデル抗体としてマウス血漿中抗 HER2 抗体を用いて、還元アルキル化の有無および各種トリプシン消化条件（アセトニトリル含量、トリプシン量など）について、24 種のトリプシン消化ペプチド断片のピーク面積値を指標に最適化検討を実施した。LC には、各ペプチド断片の吸着による損失や、試料溶液の有機溶媒含量が高いことに起因する非保持ピークの発生を防ぐために PAC (Peptide adsorption-controlled)-LC を用いた。検出には、消化条件の最適化に Q Exactive Plus の full MS モードを、定量評価に QTRAP 6500 の MRM モードを用いた。

トリプシン消化溶液中にアセトニトリルを添加することで、還元アルキル化の有無に関わらず、多くのペプチド断片のピーク面積値が顕著に増加した。また、各種トリプシン消化条件の最適化により、消化効率がさらに向上した。一方で各種消化条件の影響を受けにくいペプチド断片も認められた。本ペプチド断片を標的ペプチドとしてバリデーション評価を行った結果、生体試料中分析法バリデーションに関するガイドラインの基準を満たす良好な結果が得られた。

以上より、トリプシン消化効率を高める為にアセトニトリルを添加した本トリプシン消化法を用い、同時にトリプシン消化効率の変動を受けにくい断片を標的として選択することにより、簡便で堅牢性の高い生体試料中抗体医薬品の LC/MS 定量法の構築が可能となった。

キーワード : *LC/MS、抗体定量、トリプシン消化法*

トリソリズマブ投与関節リウマチ患者における抗薬物抗体の評価

○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、小川 佳世乃³、廣瀬 恒³、川合 真一⁴、山田 壮一⁵、南木 敏宏⁵

(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ひろせクリニック、⁴東邦大学医学部 炎症・疼痛制御学講座、⁵東邦大学医学部 内科学講座膠原病学分野)

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

Kazuko Nishimura, Hiroko Shibata, Chizuru Miyama, Akiko Ishii-Watabe, Yoshiro Saito, Kayono Ogawa, Wataru Hirose, 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。抗 IL-6 受容体 (IL-6R) 抗体であるトリソリズマブ (TCZ) 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あるが、医薬品リスク管理計画書において、免疫原性が重要な潜在的リスクの一つに挙げられている。そこで本研究では、日本人 RA 患者を対象に TCZ 投与患者血清中の ADA を測定し、陽性検体については ADA の中和活性を評価した。ADA 陽性・陰性判定を行うためのスクリーニングアッセイおよび確認アッセイの結果から、55 検体中 5 検体を陽性と判断した。ADA の陽性率は、皮下投与のほうが点滴静注より高かった。陽性検体中の ADA について、TCZ と TCZ の標的分子である IL-6R の結合の阻害を指標にした競合 LBA による中和活性の評価を行った。TCZ 投与患者血清中に含まれる TCZ と sIL-6R が測定系を妨害する可能性を回避するため、Xiang らの報告 (AAPSJ 2019) を参考に、2 段階の ACE (affinity capture elution) 法による試料の前処理を行う測定系を構築した。この結果、陽性 5 検体中 2 検体で、陰性対照 (薬物非投与ヒト混合血清) に対し 35% の中和活性が認められた。本研究で示した中和活性評価法は、試料中の薬物および薬物標的分子による測定系の妨害が問題となる場合において、有用なアプローチと考えられた。

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

P-25

Quantitative Targeted Absolute Proteomic (QTAP) analysis of transporters for validation of an *in vitro* human Blood-Brain Barrier model

Mouhssin Oufir^{1,3}, Jordan Goncalves^{2,3}, Grégoire Harichaux^{2,3}, Yann Courbebaisse^{2,3,4}, Isabell Seibert⁵, Henriette E. Meyer zu Schwabedissen⁵, Fabrice Viviani³ and Matthias Hamburger¹

¹Pharmaceutical Biology, Department of Pharmaceutical Sciences, University of Basel, ²Bertin Pharma Orléans,

³Oncodesign, ⁴Adocia, ⁵Biopharmacy, Department of Pharmaceutical Sciences, University of Basel

Reliable human *in vitro* blood-brain barrier (BBB) models, suitable for high-throughput screening, are needed in early CNS drug discovery and development programs for assessing the ability of promising bioactive compounds to cross the BBB. A human brain microvascular endothelial cell line hBMEC was recently established and validated as an immortalized monoculture model of the human blood-brain barrier (BBB) applicable in 24-well plate format.

For further validation of the model we assessed, by means of quantitative targeted absolute proteomics (QTAP), the protein expression levels in hBMEC cells of ten selected transporters, for comparison after normalization with BBB models involving primary isolated human brain microvessels, human umbilical vein endothelial cells (HUVEC), and immortalized human brain microvascular endothelial cell line (hCMEC/D3). These transporters were further confirmed by real-time PCR (RT-PCR) and Western blot analysis.

Among ten selected target proteins, only two transporters (hMRP1 and hMCT1) were present at quantifiable levels in the plasma membrane fraction of hBMEC cells using the two approaches (QTAP and RT-PCR). After normalization based on Na⁺/K⁺ ATPase expression for the QTAP approach, the protein expression levels for the transporter proteins hMRP1 and hMCT1 in the immortalized cell lines (hBMEC and hCMEC/D3) were within the same range. The quantitative expression levels of transporters showed the limitations of the hBMEC cell line as a BBB functional model since the two key transporters (multidrug resistant protein 1 hMDR1 and breast cancer resistant protein hBCRP), recommended in the FDA/EMA regulatory “drug-drug interactions” (DDI) guidances, are not quantifiable but only detectable. In addition, both ABCB1 and hBCRP were confirmed as not detectable by RT-PCR and Western-blot analysis.

キーワード : QTAP, BBB, transporters

P-26

抗体医薬品存在下での unbound 可溶性抗原の定量

○飯嶋 康祐、小林 和弘

(協和キリン株式会社 薬物動態研究所)

Quantification of unbound soluble antigen in the presence of therapeutic antibody

Kousuke Iijima and Kazuhiro Kobayashi

可溶性抗原に対する抗体医薬は、主として抗原との結合によりその受容体との結合を阻害すること（中和）によりその薬効を発揮する。そのため、生体試料中の抗体未結合の抗原（unbound 抗原）を正確に定量し、経時的な変化を確認することは PK/PD 解析及び安全性評価のために非常に重要である。一方で、一般的な ligand binding assay (LBA) を用いて抗体医薬投与後試料中の unbound 抗原を定量する場合、反応時間や希釈操作または測定に用いる固相化抗体や検出抗体の影響から抗体医薬品と対象抗原の平衡状態が変化し、生体中の unbound 抗原量を正確に反映して測定することは非常に困難となる。本ポスターではマイクロ流体力学技術を用いた短時間自動測定機器「Gyrolab」を用いた unbound 抗原定量法構築の具体的アプローチ及び課題について、実験的に調製したサンプルを用いて評価した結果を報告する。また、抗体医薬品投与後の生体挙動及び動的な相互作用を把握する上で unbound 抗原と同じく重要な要素である total 抗原（unbound 及び抗原抗体複合体状態の抗原）測定法を紹介するとともに、Biacore を用いて得られた抗原抗体親和性（affinity）から計算された予測 unbound 抗原量と Gyrolab で得られた測定値の比較結果について紹介したい。

キーワード : 抗体医薬、可溶性抗原、Gyrolab

High resolution mass spectrometry (HRMS) を用いたインタクト分析による flowcytometry 用蛍光色素標識抗体の標識率の測定

○星 裕太朗、駒場 淳二、山浦 由之
(小野薬品工業株式会社 薬物動態研究部)

Measurement of labeling rate of fluorescent dye-labeled antibody for flowcytometry by intact protein analysis using high resolution mass spectrometry

Yutaro Hoshi, Junji Komaba, Yoshiyuki Yamaura

【背景・目的】 Flowcytometry (FCM)を用いた細胞膜上のタンパク質発現量解析において蛍光強度に影響する要因として、①染色条件（抗体濃度・インキュベーション時間・温度）、②抗体の標的タンパク質からの解離速度、③非特異的結合、④蛍光色素標識抗体の標識率などが挙げられる。我々は FCM を用いたタンパク質 X の発現量解析に取り組む過程で、飽和濃度の抗体で染色したにも関わらず、タンパク質 X の蛍光強度が 3 つの抗体クローニー間で異なる結果を得た。この原因究明のために、本研究では、要因④に着目し、吸光度計及び HRMS を用いて蛍光色素標識抗体の標識率を測定して検証した。

【方法】 蛍光色素標識抗体は非還元条件下で PNGaseF を用いて脱糖鎖処理し、QExactive HF-X の full scan mode で測定した。Biopharma finder を用いて deconvolution 後、ピーク強度を基に標識率を算出した。

【結果・考察】 吸光度計を用いて標識率を測定した結果、標識直後と比べて標識 3 週間後ではタンパク質の極大波長 (280 nm) における吸光度が 2 倍に増加し、見かけ上、標識率が半分に低下した。標識率の妥当性を検証するために HRMS によるインタクト抗体分析法を開発した。設定分解能 (7,500~240,000) の最適化及び脱糖鎖処理の有無について検討した結果、分解能 7,500 及び脱糖鎖処理有りの条件で MS スペクトルが正しく帰属され、理論分子量と一致した。本条件で標識 3 週間後の抗体を分析したところ、吸光度計で測定した標識直後の値と一致したことから、標識直後の標識率が妥当であることが示唆された。標識 3 週間後の抗体では、保存期間中に抗体が凝集・変性したため吸光度が増加した可能性が考えられた。一方、採用した標識率を用いて 3 クローニーの蛍光強度を補正しても、タンパク質 X の発現量は抗体間で一致しなかった。以上の結果から、クローニー間の蛍光強度の違いには標識率以外の要因が関与していることが示された。

【結論】 FCM 測定に用いる蛍光色素標識抗体の標識率を評価可能な HRMS によるインタクト抗体分析法を開発した。

キーワード : *Flowcytometry, Intact-MS, high resolution mass spectrometry*

抗医薬品抗体 - 免疫複合体転換法 (CAI) による総抗インフリキシマブ抗体測定法の開発と炎症性腸疾患における臨床的有用性

○柏木 伸仁¹、斎藤 史郎¹、佐渡 克行¹、金谷一司²、鈴木 康夫³

(¹Research division, JIMRO, ²Purchasing division, JIMRO, ³IBD Center, Toho University Sakura Medical Center)

Development of a Converting Anti-Drug-Antibodies into Immune Complex (CAI) assay to Measure Total Antibodies-to-Infliximab (ATI) and Its Clinical Validity in Inflammatory Bowel Disease

Nobuhito Kashiwagi, Fumio Saitoh, Katsuyuki Sado, Kazushi Kanatani, Yasuo Suzuki

Objective: Determination of antibodies to infliximab (ATI) is desirable for the management of patients with inflammatory bowel disease (IBD) who receive infliximab. Conventional ligand-binding ATI-assays detect only free-form of ATI, potentially increasing the proportion of patients with undetectable ATI, but with adequate trough infliximab (TRI) level who experience loss of response (LOR) to infliximab. We investigated this assertion using a novel ATI-CAI assay.

Methods: An ATI-CAI assay was developed by utilizing a C1q-immobilized plate, detecting free-form and ATI-infliximab immune complexes. Plasma ATI in 138 consecutive IBD patients, 56 with sustained clinical response (SCR), 76 with LOR and 6 with infusion reactions was measured.

Results: ATI levels reached a plateau following addition of up to 25 µg/mL infliximab to different concentrations of free-form ATI. ATI concentration did not significantly change during infliximab infusion ($P=0.4316$). ATI concentration $>0.153 \mu\text{g/mL}$ was associated with LOR (odds ratio 3.0: 95% confidence interval 1.5 to 6.1, $P=0.0029$). The number of patients with undetectable ATI was higher in SCR than in LOR, 53.6% vs 22.4% ($P=0.0004$). Patients with SCR and LOR were divided into 4 subgroups by combined cut-off ATI and TRI values. (A) ATI $>0.153 \mu\text{g/mL}$ and TRI $\leq 2 \mu\text{g/mL}$; (B) ATI $>0.153 \mu\text{g/mL}$ and TRI $>2 \mu\text{g/mL}$; (C) ATI $\leq 0.153 \mu\text{g/mL}$ and TRI $\leq 2 \mu\text{g/mL}$; (D) ATI $\leq 0.153 \mu\text{g/mL}$ and TRI $>2 \mu\text{g/mL}$. The frequency of LOR showed a decreasing trend from subgroup A to D, 80.8%, 64.1%, 55.2% and 36.8%, respectively ($P=0.0003$).

Conclusions: The measured ATI level appeared to define the patients' clinical response to infliximab. Combining ATI and TRI levels should help to understand the mechanism of LOR and make therapeutic algorithms.

キーワード : *Antibodies to infliximab, C1q-immobilized plate, Loss of response to infliximab*

臨床検体分析の際に留意すべきこと～GCPの観点から～

○大塚 礼雄^{1,2}、石田 成幸^{1,3}、浜野 有紀^{1,4}、秋山 忠和^{1,5}、谷口 朋義^{1,6}

(¹一般社団法人 日本QA研究会、²シミック株式会社、³株式会社CACクロア、⁴株式会社LSIメディエンス、⁵協和キリン株式会社、⁶エーザイ株式会社)

Points to keep in mind when analyzing clinical samples - From the viewpoint of GCP -

Reo Otsuka, Shigeyuki Ishida, Yuki Hamano, 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する情報発信、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、医薬品等に関す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、臨床検体の分析担当者向けのGCP教育資料を作成中である。今回はこの作成過程で明らかとなった分析担当者が臨床検体を取り扱う際に留意してほしい事項についてGCPの観点から検討を行ったので、その結果を報告する。

キーワード：臨床検体、分析、GCP

Development and Implementation of the S-PLEX® Platform for Converting Standard Immunoassays to High-Sensitivity Assays

Robert Umek, Anahit Aghvanyan, Jen Gillies, Leonid Dzantiev, Yeming Wang, Banita Tamot, Chun-Jiang Zhang, Lumu Manandhar, Lalitha Janaki, John Kenton, Jeff Debad, and Jacob N. Wohlstadter

Meso Scale Discovery

Purpose: Measurements of circulating biomarkers in biofluids are widely used as an essential aspect of pharmaceutical research and drug development applications. While many biomarkers are readily measurable in the pg/mL to µg/mL range using common immunoassay techniques, some analytes are present at much lower concentrations, making them difficult to detect. Recent advances have enabled measurements of proteins in the fg/mL range but the number of available assays is limited and they can be difficult to develop. We describe an electrochemiluminescence-based platform that enables the conversion of standard sandwich immunoassays to high-sensitivity assays using common reagents such as biotinylated antibodies and streptavidin-coated plates. The platform has been analytically validated over multiple lots of assay components and has been tested on a set of 50 standard immunoassays, with the majority of assays showing significant (10- to 1000-fold) enhancements in sensitivity.

Method: The S-PLEX platform was developed using electrochemiluminescence technology in order to achieve fg/mL sensitivity. Critical components such as immunoassay plates, diluents, blockers, labels, and reagents were specifically designed to enable conversion of standard immunoassays to high sensitivity assays. Multiple lots of the components were produced and characterized over multiple days and runs. Protocols were optimized for robustness and were used to test the transfer of 50 standard biomarker assays to the S-PLEX format. A subset of 19 of these assays were selected for further development and characterization including measurement of the limit of detection (LOD), lower limit of quantitation (LLOQ), and upper limit of quantitation (ULOQ). Concordance correlation with other assay formats was tested in order to demonstrate the ability to improve sensitivity while maintaining quantitation. Validation parameters including dilution linearity and spike recovery were evaluated, and analyte concentrations were measured in multiple sample matrices including serum, EDTA/heparin/citrate plasma, CSF, and stimulated cell supernatants (up to 72 samples for each assay).

Results: Out of the set of 50 assays converted to the S-PLEX format and evaluated, 36 showed sensitivities in the fg/mL range and > 50% showed 10- to 1000-fold improvement. For the 19 assays selected for development, LLODs were between 0.9-200 fg/mL with dynamic ranges of 3-4 logs and intra-plate %CVs ranging from 4% to 9%. Dilution linearity was within 84% to

111% and average spike recovery ranged from 79% to 110%. The assays included a variety of proinflammatory cytokines, and the enhanced performance attained by conversion to the high sensitivity S PLEX format resulted in the ability to detect endogenous analyte levels in almost all normal serum and plasma samples and all CSF samples. Direct comparisons of sample concentrations measured on S-PLEX and standard assay formats (tested for IL-4, IL-10, IL-17A, TSLP and GM-CSF assays) showed good correlation and concordance ($r^2 > 0.95$, slopes 0.8–1.1) and at least 100X enhancement in LLOQs as summarized in the table.

Assay	LLOQ fg/mL (S-PLEX format)	LLOQ fg/mL (Standard format)
IL-4	4.9	900
IL-10	9.8	1,400
IL-17A	100	12,000
TSLP	9.0	920
GM-CSF	8.7	1,700

Conclusion: A platform for increasing the sensitivity of immunoassays was developed, analytically validated, and used to convert 19 standard format immunoassays to the S-PLEX format with 10- to 1000-fold improvement in sensitivity. The converted assays detected endogenous analyte concentrations in a higher percentage of normal samples. This suggests that the platform can enable the measurement of difficult-to-detect biomarkers, such as those with very low endogenous levels or levels that are suppressed as a consequence of drug treatment. The method is generally applicable to established biomarker immunoassays and other bioanalytical assays in the pharmaceutical research arena, including the measurement of low-abundance biomarkers/targets, anti-drug antibody (ADA) assays, and PK assays for potent biotherapeutics dosed at low concentrations.

キーワード : *High-Sensitivity Assays, Biomarkers*

P-31

サンプルマネージメントにおける問題事例

○五十嵐 春江、若松 明、西田 裕
(グラクソ・スミスクライン株式会社)

Sample management issues on Bioanalysis

Harue Igarashi, Akira Wakamatsu, Hiroshi Nishida

臨床試験のデザインの複雑化や、外部への委託が増加する中、サンプルマネージメントも複雑化し、特に第2相試験以降でサンプルマネージメントに関する問題の発生頻度が高くなっている。治験専用の体制が整っている第1相試験のサンプルマネージメントとは全く異なるケアが第2相試験以降の臨床試験では必要となる。ポスターではいくつかの事例を紹介し、会場の皆様と意見交換させていただき、よりよいサンプルマネージメントに繋げていきたい。

[事例]

①ある治験実施施設において、検体処理手順書に定められた手順から逸脱した操作が行なわれた。貴重な検体を分析し、適切な結果として報告するために、逸脱した条件下での追加バリデーション試験が必要となった。

②複数の治験実施施設で採取された検体を中央検査施設で一時保管し、その後、複数の輸送ステップを介して特定の分析ラボに輸送された。分析結果の中には、投与前の検体で測定値が得られた事例、採取記録が存在するが分析結果がないなどが発生し、検体の入れ違い、検体の紛失などが疑われた。

③最初のコホートでプラセボに割り付けられていた被験者が次のコホートでは実薬投与に変更となった。分析ラボのサンプルマネージメントシステム上、次のコホートの検体が最初の登録情報のまま受領されたため、実薬投与された被験者の検体が分析されなかった。

キーワード : サンプルマネージメント

低コストなサンプル前処理自動化システムの導入

○後藤 優知、吉田 達成

(バイオタージ・ジャパン株式会社)

Low Cost Entry for Sample preparation Automation

Masatomo Goto, Tatsunari Yoshida

サンプル前処理自動化システムの導入には、多検体の同時処理（効率化）、ヒューマンエラーの軽減、トレーニング期間の短縮など多くのメリットがあるが、サンプルの出庫から測定までを自動で行う全自動システムの導入は多くの検査機関において経済的に難しい。「Islands of Automation」のように個別の自動装置を組み合わせることにより比較的低コストに自動化システムを構築することが可能となる。そこで我々は、チップ式分注機能と加圧式送液機能が内蔵された Biotage® Extrahera™ と溶媒留去を担う SPE Dry 96 を組み合わせた自動化システムを構築した。薬物乱用法に規定されている 12 化合物を EVOLUTE® EXPRESS CX 30mg にて固相抽出し LC-MS/MS 測定したところ、ピーク面積値の精度やばらつき、サンプル間の再現性などの項目において、自動化システムは手動による前処理と比較して優位な結果が得られた。

本発表では、自動抽出処理と手動抽出処理の LC-MS/MS 測定の比較結果を紹介するとともに、それぞれの操作時間を計測し時間短縮の可能性について報告する。

キーワード：低コスト、サンプル前処理の自動化、ヒューマンエラーの軽減

ランチョンセミナー

2月 26日（水）12:35-13:35

(①会場：桃源) SCIEX

In Vitro 実験系を用いた中分子環状ペプチドの代謝物同定

塩澤 秀幸

(第一三共株式会社 研究開発本部 薬物動態研究所 主任研究員)

(②会場：蓬莱) アジレント・テクノロジー株式会社

自動アフィニティ精製と LC/Q-TOF による抗体の直接定量

細野 智行

(アジレント・テクノロジー株式会社 自動化ソリューション担当)

(③会場：401) バイオタージ・ジャパン株式会社

いま敢えて「Island of Automation」のススメ～Biotage® Extrahera™ の実用性の検証～

金子 舞子、後藤 優知、吉田 達成

(バイオタージ・ジャパン株式会社)

(④会場：406) BioAgilitix

Bioagilitytix Labs, your partner for large molecule bioanalysis.

William Hunter

(Director of Business Development APAC)

2月 27日（木）12:30-13:30

(①会場：桃源) サーモフィッシューサイエンティフィック株式会社

GLP 施設における Chromleon クロマトグラフィーデータシステムを利用した DI 対応

草川 佳久

(シミックファーマサイエンス株式会社 神戸ラボラトリー 事業推進室)

(②会場：蓬莱) 日本ウォーターズ株式会社

タンパク質およびペプチドのバイオアナリシスの回収率、感度、再現性を改善する新しいアプローチ

岩崎 裕子

(日本ウォーターズ株式会社)

(③会場：401) ヴェオリア・ジェネット株式会社 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

(エルガ・ラボウォーター)

(④会場：406) キコーテック株式会社

‘Functional Microbiomics’: Unlocking Nutrition-Microbiome-Host Interaction with Metabolomics

～メタボローム解析支援キットを活用した腸内細菌叢の機能解析～

Dr. Matthias Scheffler

(Head of Marketing & Sales, Biocrates Life Sciences AG)

協賛企業

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
医化学創薬株式会社
インタクト株式会社
ヴェオリア・ジェネット株式会社 エルガ・ラボウォーター
SCIEX
エムエス機器株式会社
株式会社 LSI メディエンス
株式会社大阪ソーダ
大塚製薬株式会社
キコ一テック株式会社
コニカミノルタ株式会社
サーモフィッシュャーサイエンティフィック株式会社
サンプラネット
ジーエルサイエンス株式会社
株式会社島津製作所
株式会社島津テクノリサーチ
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
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
テカンジャパン株式会社
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
株式会社ネモト・サイエンス
野村化学株式会社
BioAgilytix
バイオタージ・ジャパン株式会社
PPC 株式会社
ブルカージャパン株式会社
メソスケールジャパン株式会社
ユサコ株式会社

(五十音順)

法人会員

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

EA ファーマ株式会社

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

杏林製薬株式会社

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

JCR ファーマ株式会社

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

大鵬薬品工業株式会社

武田薬品工業株式会社

田辺三菱製薬株式会社

東和薬品株式会社

トーアエイヨー株式会社

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

サーモフィッシュ・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 LSI メディエンス

株式会社島津製作所

株式会社住化分析センター

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

ヴェオリア・ジェネット株式会社エルガ・ラボウォーター

株式会社島津テクノリサーチ

株式会社東レリサーチセンター

PPC 株式会社

株式会社サンプラネット

株式会社スクラム

ジャイロス・ジャパン株式会社

積水メディカル株式会社

コニカミノルタ株式会社

野村化学株式会社

(口数及び登録順)