

マイクロサンプリング手法の利用に関する 質疑応答集(Q&A)と関連動向

斎藤嘉朗

**国立医薬品食品衛生研究所・医薬安全科学部
(ICH S3A Q&A IWG ラポーター)**

本内容には、組織としてではなく、個人的な見解が含まれております

講演内容

1. ICH S3A Q&Aの背景と内容
2. マイクロサンプリングに関する海外動向
3. マイクロサンプリングに関する関連研究のご紹介
4. ICH M10案の概要

講演内容

1. ICH S3A Q&Aの背景と内容
2. マイクロサンプリングに関する海外動向
3. マイクロサンプリングに関する関連研究のご紹介
4. ICH M10案の概要

背景

□ トキシコキネティクス (TK) 評価:

- 従来の測定方法では、200 μ L以上の採血が必要
- げっ歯類では、**サテライト動物の使用が必要**

□ マイクロサンプリング手法が一般化(機器分析感度の上昇により、50 μ L以下の採血量で評価が可能に)

1. サテライト動物でなく、**主試験(毒性評価)動物でTK評価**
– 個体毎の毒性評価値とTK値との関連性解析が可能
2. サテライト動物数の削減(全廃含む)による**動物福祉への貢献**(3Rsのうち、Refinement, Reduction)
 - – 2014年10月 ICH SCにより、コンセプトペーパー承諾
 - – 2014年12月 IWGメンバーの決定

Q&A作成：Concept paperに記載の項目

1. 各マイクロサンプリング方法の比較（Dried blood spotとCapillary microsampling等）
2. 測定法の検証（GLPへの対応等）
3. 繰返し測定に関する検討（Incurred sample reanalysisへの対応等）
4. 主群動物に対する繰返し採血による毒性評価への影響

これらの項目を含めて、Q&A案を作成

IWGにおける活動履歴

Date	Task / Activity	Details
27/2/2015	E-mail consultation	➤ Ask addition/revision/comment of draft Q&A version 1 (drafted in Japan side)
19/1/2016	E-mail consultation	All the IWG members agreed the final draft Q&A for step 1.
17/3/2016	ICH office	➤ Completed Step 1 process
12/5/2016	ICH office	➤ Completed Step 2a process
19/5/2016	ICH office	➤ Completed Step 2b process
19/5/2016	ICH office	➤ Publicized on ICH Web site (Step 2b draft)
15/7/2016	Japan	➤ End of public consultation
31/8/2016	EU	➤ End of public consultation
8/9/2016	Canada	➤ End of public consultation
7/12/2016	US	➤ End of public consultation
10/4/2017	E-mail consultation	➤ Ask addition/revision/comment of draft Q&A revision 1(drafted in Japan side)
12/10/2017	E-mail consultation	➤ All the IWG members agreed the final draft Q&A for step 4 (revised version 5).
16/11/2017	ICH Assembly	➤ Completed Step 4 process and publicized on ICH website

2019年3月15日に、医薬品審査管理課より事務連絡として発出

事務連絡
平成31年 3 月 15 日

都道府県
保健所設置市
特別区
衛生主管部（局） 御中

厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課

「トキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンス」
におけるマイクロサンプリング手法の利用に関する質疑応答集（Q&A）について

医薬品規制調和国際会議（以下「ICH」という。）における合意に基づくガイドラインである「ICH S3A トキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンス」については、「トキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンスについて」（平成8年7月2日付け薬審第443号厚生省薬務局審査課長通知）の別添としてお示ししています。

今般、ICHにおける合意に基づき、当該ガイドラインに係る質疑応答集が別添のとおり取りまとめられました。

以上、御了知の上、貴管下関係業者等に周知方御配慮願います。

Q&A

FIGH S3A:トキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンスQ&A（案）に対するご意見の概要と対応について

変更箇所	項目	行	意見内容 （質問の点、提案等） ※ 具体的な修正提案があれば記載ください	理由	回答
1	全体		「曝露」に表現を統一していただきたい。	「曝露」と「曝露」が混在しているが、他のICHガイドラインに合わせ「曝露」に統一することが望ましいため。	本Q&Aの本文中では、「曝露」に統一いたしました。一方で、本Q&Aのタイトルには、現行のガイダンス（ICH S3A: トキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンス（平成8年7月2日、薬審第443号））のタイトルを「曝露」を用いていますため、「曝露」を用いました。
2			以下のような趣旨の文章を追加する必要はないか。 同一投与群の動物数が多い場合は、採取されたTK試験をすべて測定する必要はないが、試験計画において、測定対象とする試験を明記すること。なお、毒性所見に基づいて、特定の個体の暴露量を明らかにする偶然性が新たに発生した場合には、測定対象試験の追加を推奨する。	げっ歯類において主試験群の動物で試験を採取するさいは、すべての個体から採取することになると思われる。げっ歯類では主試験群の動物数は多く、暴露量評価においてすべての試験を分析する必要はないと思われる。	試験プロトコルによりケースバイケースで判断すべきであり、一律の記載は困難です。
3	目次	英語表	LLOQ Lower limit of quantification → LLOQ Lower limit of quantification	誤記のため。	ご指摘の箇所は削除されました。
4	序文	1	序文「近年、分析感度が改善されたことで、マイクロサンプリング技術をトキシコキネティクス（TK）評価において広く使用することが可能となった。この Q&A 文書は、TK 試験にマイクロサンプリング法を導入するにあたって留意すべき点に焦点を当て、（中略）重要な事項について述べたものである。」に關し、マイクロサンプリングの検討の義務化に関する議論をしない。	本Q&Aは、TK評価にマイクロサンプリングを用いても良い、ということを示すものであって、TK評価にあたってマイクロサンプリングを検討することを要求するものではないという理解で良い。	序文に記載の通り、トキシコキネティクス（TK）試験にマイクロサンプリング法を導入するにあたって留意すべき点を述べることで、TK試験におけるマイクロサンプリング法の導入を促すためのQ&Aです。
5		2	「分析感度」「分析法の感度」	記載整備	ご指摘を踏まえて、記載を整備しました。
6		6	TKサテライト動物の必要性を減らす、あるいは無くすことによるTKサテライト動物の動物数を減らす、あるいは無くすことによる」に変更したかどうか。	必要性はあるなしの問題ですので、減らすという表現は奇異に感じる。本表裏は23行目とも警告する。	ご指摘を踏まえて、記載を整備しました。
7		6	組織細胞を用いたin vitro サンプルは対象とならないのか。	補足的に、組織細胞を用いたin vitro系での代謝評価などが、動物試験とともに実施されることが考えられる。同じ測定に供することができれば良いと考える。	「非血液由来のマトリックスに関するマイクロサンプリングは、本Q&A文書の適用範囲外とする。」と記載いたしました。従って、in vitro系は対象となりません。
8		7	「～への重要なる点について述べたものである」→「～に本を重要とする」について述べたものである」に修正したかどうか。	記載整備	英文の趣旨を反映させるため、原文のままとなりました。
9	1.1 (Q1)	12	「TKパラメータを測定するために」を「血液中濃度を測定するために」に修正したかどうか。	マイクロサンプリングから測定されるのはTKパラメータではなく、血液中濃度であるため。	「TKパラメータを算出するために」に修正いたしました。
10		12	「微量の血液を採取する方法」と記載されているが、「微量の血液を用いる方法」と記載して良いか。	他の検査項目と兼ねた場合（薬物濃度測定用には50 µL程度取り出される）、通常の採血量となる。その場合でもマイクロサンプリングに該当するもの疑問に思われる。	原文通り、微量の血液を採取する方法です。
11		13	「マイクロサンプリングする」「マイクロサンプリングをする」に修正したかどうか。	記載整備	ご指摘を踏まえて、記載を整備しました。
12		13	「マイクロサンプリングする生体試料中薬物濃度分析試料として選んだマトリックスには、」→「マイクロサンプリングに適用したマトリックスには、」に修正したかどうか。	記載整備	ご指摘を踏まえて、記載を整備しました。
13		13	「マイクロサンプリングする生体試料」の用語確認を御願いしたい。	「マイクロサンプリング」は手法との定義かと思うので、「マイクロサンプリングする」というよりは「マイクロサンプリングに供する」などのほうが正確ではないかと思われるため。用語の定義と用法の確認を御願いしたい。	ご指摘の趣旨に従い、「マイクロサンプリング技術に用いられる適切なマトリックスには、～」に修正いたしました。
15		17	（例えば肺洗浄液及びリンパ） → （例えば肺洗浄液及びリンパ）の肺洗浄液は例示として適切でないで御願いしてはどうか。	ここでは、液体について述べられており、誤解を避けるために下線を追加してはどうか。	ご指摘の箇所は削除されました。
16		17	「他のマトリックス（例えば肺洗浄液及びリンパ）」の肺洗浄液は例示として適切でないで御願いしてはどうか。	通常、S3Aガイドラインの対象となることがないマトリックスと考えられるため、例示することに違和感がある。	ご指摘の箇所は削除されました。
17		17-18	非血液由来マトリックスにおけるマイクロサンプリング法は、このQ&Aの適用の範囲外ではどうか。	Q&Aの適用の範囲が実施したバリデーション法に依存しないことを明確にするため。	ご指摘の趣旨に従い、「非血液由来のマトリックスに関するマイクロサンプリングは、本Q&A文書の適用範囲外とする。」と記載いたしました。
18		18	「まだ確立（英語版ではvalidated）されていないため」という表現を再検討してもらいたい。	どのレベルに達すればvalidatedと言えるのかについては明確な基準がないことから、validatedという記載は適切でない可能性があるため。	ご指摘の箇所は削除されました。
19	1.2 (Q2)	20	multi-wellを用いた培養液の測定にも、マイクロサンプリングは適応可能か。	動物と同様、multi-well中の培養液では、少量サンプリングの有用性があると思われる。	本Q&AはICH S3A: トキシコキネティクス（毒性試験における全身的暴露の評価）に関するガイダンス（平成8年7月2日、薬審第443号）のQ&Aであり、トキシコキネティクス評価を対象としております。

パブコメ回答

S3A Q&A (Step 5文書) の目次

序文

1. 緒言及び適用範囲 (Q1, Q2)
2. マイクロサンプリングの適用に関する基本原則 (Q3, Q4, Q5)
3. 安全性評価への影響 (Q6)
4. 生体試料中薬物濃度分析法に関する課題 (Q7)
5. 別紙: 本Q&AとICH S3Aガイドライン各項との対応

Q&Aの内容(前文)

前文

S3A ガイドラインは1994 年に発行された。しかし、近年、分析法の感度が向上したことで、マイクロサンプリング技術をトキシコキネティクス(TK)評価において広く使用することが可能となった。本Q&A 文書は、TK 試験にマイクロサンプリング法を導入するにあたって留意すべき点に焦点をあて、主試験群の動物でTK評価を行うことの利点及び幾つかの限界、ならびに必要なTKサテライト動物数を減らす、あるいは無くすことによる3Rs(代替法の利用、使用動物数の削減及び苦痛の軽減)への全体的に重要な寄与について述べたものである。

Q&Aの内容(Q1)

Q1: マイクロサンプリングの定義は何か？

A1.

定義:

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

対象マトリックス:

血液、血漿、血清

非血液由来マトリックスは本Q&A文書の適用範囲外

- 液体または乾燥状態で輸送、保管され、その後、測定に使用。

対象動物:

げっ歯類、非げっ歯類(S3Aなので、ヒトは対象外)。

Q&Aの内容(Q2)

Q2: マイクロサンプリングのベネフィット/利点は何か？

A2.

1) 採血量を最小限に留める

- ➡ 動物の痛みや苦痛を軽減： 動物福祉 (refinement) に貢献
- ➡ TKサテライト群の動物数を削減・無くす (reduction)。特に通常採血量ではサテライト群の動物数が多く必要なマウスで有用。

2) 主試験群動物でTK用の採血実施

- ➡ 毒性データと薬物曝露データとの関連性を同じ動物で直接評価可能。

Q&Aの内容(Q3)

Q3: どのような種類の医薬品及びどのような種類の安全性試験にマイクロサンプリングを利用できるか？

A3.

医薬品の種類: バイオ医薬品を含む医薬品の大部分

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

安全性試験の種類: 種々の毒性試験

例: 単回及び反復投与毒性試験、ならびに他の毒性試験(例えばがん原性試験、幼若動物を用いる毒性試験や生殖発生毒性試験)

代表するサブグループ動物からのサンプリングが許容可能

薬物濃度が低く、大部分あるいは全ての試料が定量限界未満の場合、マイクロサンプリングは容認されない。しかし、マイクロサンプリングのための生体試料中薬物濃度分析法が、従来の試料量の場合と同じ定量下限を有する場合には、マイクロサンプリングを使用することができる。

Q&Aの内容(Q4)

Q4: TK試験にマイクロサンプリングを適用する場合の注意点は何か？

A4.

生体試料中薬物濃度分析法:

分析結果の信頼性を保証しうる開発及び適格化(あるいは、各地域の規制ガイドライン/ガイダンスに従ったGLP試験のためのバリデーション)がなされるべき。

評価すべき項目: 定量下限、真度、精度、保存前に希釈に用いるマトリックスの効果、及び試料採取、保存及び前処理の全ての期間における生体マトリックス中の分析対象物質の安定性などの分析上の特性。

Q&Aの内容(Q4) 続き

Q4: TK試験にマイクロサンプリングを適用する場合の注意点は何か？

A4(続き).

➤ いくつかの試験で既に従来法を使用していて、マイクロサンプリングを他の試験に適用する場合:

➡ マイクロサンプリングと従来法との間の曝露量に関する類似性を示すことが、当該マトリックスについて、必要となるかもしれない。この曝露量の比較は、提供される試料の状態が大きく異なる場合(マイクロサンプリングによる乾燥試料と、従来法による液体試料の比較等)、特に重要である。適切な濃度範囲でAUC やCmax を解析できる独立した薬物動態(PK)試験を行うことで、2 種の方法間の類似性を比較できる。比較のための独立したPK試験は、例えば同じ部位から採取された血液、血漿または血清を同様の分析条件にて測定する場合など、個々の状況に応じて、適切な科学的正当性が認められる場合に省略できる。

Q&Aの内容(Q4)続き

Q4: TK試験にマイクロサンプリングを適用する場合の注意点は何か？

A4(続き).

➤ 曝露の比較のため、理想的には、TK試験を通して、さらに臨床試験を通じて、同じマトリックスを使用すべき。

異なる試験において異なるマトリックスが使用される場合:

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

Q&Aの内容(Q5)

Q5: マイクロサンプリングでは、どのような血液採取法が使用できるか？

A5.

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

液体試料法の場合： 保存や輸送、そしてそれにつながる分析の前に、適切な溶媒やブランクマトリックスで希釈可能な場合もある。

Q&Aの内容(Q5)続き

Q5: マイクロサンプリングでは、どのような血液採取法が使用できるか？

A5(続き).

乾燥試料法の場合： 試料を通常、セルロース基剤あるいは他の種類の基材に直接塗布して乾燥させる方法

カード/デバイス上の一部である一定の直径範囲の打ち抜き、あるいはスポット全体が抽出及び分析に用いられうる。

技術進歩により、正確な量の血液を採取することができ、追加の容量測定を行わずに、試料全体を分析に使用するマイクロサンプリング法もある。

加えて、**新規に開発された技術も、十分なバリデーションを行うことで利用を検討可能。**

Q&Aの内容(Q6)

Q6: 主試験群の毒性データや動物福祉に対する採血の影響の評価方法は？

A6. 動物の生理学的状態に及ぼす血液採取の影響を考慮

➤ 考慮すべき主要因:

- 一定期間中における採血量と採血回数
- 被験薬物の特性(赤血球への影響や抗凝固作用 等)
- 試験系(例えば、動物種、週齢、体重、総血液量)
- 採血部位

頻回で繰り返しの採血は、血液学的パラメータなどの生理学的データに影響を及ぼす可能性があるため、マイクロサンプリングであっても、試料採取(採血)のプロトコールは適切に設定すべき。

Q&Aの内容(Q6)

Q6: 主試験群の毒性データや動物福祉に対する採血の影響の評価方法は？

A6(続き).

➤ 記録が推奨される動物データ

- 体重
- 摂餌量
- 血液学的パラメータ(例えば、赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均血球容積、電解質、総タンパク質)
- 採血部位への影響(例えば、組織の損傷や炎症)等

Q&Aの内容(Q6)

Q6: 主試験群の毒性データや動物福祉に対する採血の影響の評価方法は？

A6(続き).

- これらパラメータの評価において、被験薬群と同じ回数及び量の試料を採取された対照動物との比較を行うことは、その試験での疑わしい影響が被験薬に起因するものか、あるいは試験手順によるものかを明らかにするために重要
- 以前の試験において、被験薬による血液学的パラメーターの変化が頻回の血液採取によって悪化した可能性がある場合、あるいは被験薬の薬理学的作用がこのような影響を引き起こすことが疑われる場合には、マイクロサンプリング技術を使用するとしても、TK評価の目的のためにサテライト群の動物を使用する必要があるだろう。
- あるいはその代替として、科学的に妥当であるならば、マイクロサンプリングと共にスパスサンプリング(少数回の試料採取)*を用いることも可能。

Q&Aの内容(Q6)

Q6: 主試験群の毒性データや動物福祉に対する採血の影響の評価方法は？

A6(続き).

➤ スパースサンプリングの説明(注)

TK 試験におけるスパースサンプリングでは、通常、投与群の各動物から、少数の定められた時点で血液採取が行われる。採血は異なる動物に対して異なる時点に割り当てられ、反復されることも多く、その後、被験物質の濃度一時間挙動について統計学的な推論が行われる。適切な試験デザインを用いることで、試験担当者は動物の健康状態に影響を及ぼさないように試料数と採血量を抑えつつ、試験における通常のトキシコキネティクス試験の目的を達成することができる。

Q&Aの内容(Q7)

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

A7.

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

加えて、以下の事項を考慮すべき

- 液体試料:
- 1) 試料の均一性の確保 (ピペッティングなどによる)
 - 2) 少量試料の取扱い (例えば、保存中の潜在的凍結・乾燥効果や凍結融解影響)
 - 3) 試料量の制限による 定量下限の上昇の可能性
 - 4) 微量容器/キャピラリーへの 抗凝固剤の添加による試料希釈の影響
 - 5) 採取 容器への分析対象物質の吸着増加の可能性
 - 6) 試料の適切な保存状態の維持
 - 7) 数種の採取方法における汚染のリスク及び反復的な試料採取の困難性

Q&Aの内容(Q7)

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

A7(続き).

乾燥試料: セルロース/非セルロースカード、ポリマーマトリックスなどへのスポット等

- 薬物の回収率が十分で再現性があり、薬物の検出時にマトリックスによる妨害効果が十分小さい方法を選択することが重要
- 乾燥スポットの一部を打ち抜く方法を用いる場合、特に低分子の薬物では、分析対象物質の検出がヘマトクリット値の違いにより影響を受けないことが重要である。ヘマトクリットによる分析対象物質の検出への影響は、ヘマトクリット値が異なる血液を使用し、既知濃度の被験薬を添加して測定することにより評価可能である。同一のスポットから打ち抜いた複数の試料の分析対象物質の値を評価することで、あるいは例えば放射性標識体を用いた評価により、スポットの均一性を確認することも重要である。正確な量の血液をデバイス上に採取し、その後、試料全体を分析に使用することで、これらの問題は最小限にすることができる。

Q&Aの内容(Q7)

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

A7(続き).

Incurred sample reanalysis (ISR):

各地域のガイドライン／ガイダンスに記載がある場合、これらに従って実施すべき

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

マイクロサンプリング手法の比較

ラットによる4週間の反復投与毒性試験(3用量+溶媒)

条件:各10匹/群で雌雄、採血:1週目:6時点、4週目:7時点、
マイクロサンプリング:50 μ l/時点、従来法:200 μ l/時点

	使用匹数	総サンプリング数 (1/4週目)	1匹当たりの採血量 (1/4週目)	個体毎の評価
時系列的採血 (サテライト群のマイクロサンプリング:3匹)	80+24 =104	144/168	300 μ l/350 μ l	×
時系列的採血 (主群のマイクロサンプリング:全頭)	80	480/560	300 μ l/350 μ l	◎
時系列的採血 (主群のマイクロサンプリング:3匹/群)	80	144/168	300 μ l/350 μ l	○
スパス採血 (主群のマイクロサンプリング)	80	144/168	150 μ l/150 μ l	△
時系列的採血 (サテライト群の従来法:3匹)	80+48 =128	144/168	1.2 ml/1.4 ml	×

講演内容

1. ICH S3A Q&Aの背景と内容
2. マイクロサンプリングに関する海外動向
3. マイクロサンプリングに関する関連研究のご紹介
4. ICH M10案の概要

ICH M10 生体試料中薬物濃度分析法バリデーション(案)

現在Step 2完了: 令和元年5月21日～8月18日パブリックコメント実施

1. はじめに
 - 1.1 目的
 - 1.2 背景
 - 1.3 適用範囲
2. 一般的原則
 - 2.1 分析法開発
 - 2.2 分析法バリデーション
 - 2.2.1 フルバリデーション
 - 2.2.2 パーシャルバリデーション
 - 2.2.3 クロスバリデーション
3. クロマトグラフィー
 - 3.1 標準物質(標準品)
 - 3.2 バリデーション
 - 3.2.1 選択性
 - 3.2.2 特異性
 - 3.2.3 マトリックス効果
 - 3.2.4 検量線及び定量範囲
 - 3.2.5 真度及び精度
 - 3.2.6 キャリーオーバー
 - 3.2.7 希釈の妥当性
 - 3.2.8 安定性
 - 3.2.9 注入再現精度
 - 3.3 実試料分析
 - 3.3.1 分析単位
 - 3.3.2 分析単位の判定基準
 - 3.3.3 定量範囲
 - 3.3.4 実試料の再分析
 - 3.3.5 実試料の再注入
 - 3.3.6 クロマトグラムの波形処理
4. リガンド結合法
 - 4.1 主な試薬 (Key reagent)
 - 4.1.1 標準物質(標準品)
 - 4.1.2 重要試薬
 - 4.2 バリデーション
 - 4.2.1 特異性
 - 4.2.2 選択性
 - 4.2.3 検量線及び定量範囲
 - 4.2.4 真度及び精度
 - 4.2.5 キャリーオーバー
 - 4.2.6 希釈直線性とフック効果
 - 4.2.7 安定性
 - 4.3 実試料分析
 - 4.3.1 分析単位
 - 4.3.2 分析単位の判定基準
 - 4.3.3 定量範囲
 - 4.3.4 実試料の再分析
5. INCURRED SAMPLE REANALYSIS (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
 - 6.1 パーシャルバリデーション
 - 6.2 クロスバリデーション
7. 考慮すべき追加事項
 - 7.1 内因性物質でもある分析対象物
 - 7.1.1 QC試料
 - 7.1.2 検量線用標準試料
 - 7.1.3 選択性、回収率及びマトリックス効果
 - 7.1.4 平行性
 - 7.1.5 真度及び精度
 - 7.1.6 安定性
 - 7.2 平行性
 - 7.3 回収率
 - 7.4 Minimum Required Dilution (MRD)
 - 7.5 市販及び診断用キット
 - 7.6 新技術又は代替技術
 - 7.6.1 乾燥試料法(DMM)
8. 文書化
 - 8.1 要約情報
 - 8.2 バリデーション報告書及び生体試料中薬物濃度分析報告書のための文書記録
9. 用語解説

ICH M10 生体試料中薬物濃度分析法バリデーション(案)

1.3 適用範囲

本ガイドラインは、規制当局への申請資料として提出される生体試料中薬物濃度分析法に適用される分析法バリデーションについて記したものである。本ガイドラインは、規制当局の意思決定に用いられる主要な非臨床TK／PK 試験、及び規制当局へ提出されるすべての相の臨床試験において得られる生体試料(例えば、血液、血漿、血清、その他体液、組織)中の化学薬品及び生物薬品とその代謝物の濃度測定に用いる生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに適用することができる。

(中略)

規制当局への申請に用いない試験、又は医薬品の安全性、有効性若しくは添付文書への記載に関する規制当局の意思決定に用いられない試験(例えば、探索的試験)に関しては、申請者は社内の意思決定を目的とした試験の質的レベルを自身の判断により決定してもよい。

7.6 新技術又は代替技術

7.6.1 乾燥試料法(DMM)

薬物分析用のマイクロサンプリング技術として血液試料の少量採取、並びに採取、保存及び輸送の容易さ等のベネフィットをもたらすサンプリング方法。LC-MS又はリガンド結合法に対する一般的な分析法バリデーションに加え、DMMを規制当局への申請を目的とした試験に用いる場合は、その使用前に、以下のような項目について更なるバリデーションが必要である。

- ヘマトクリット(特に、全血をカードにスポットする場合)
- 試料の均一性(特に、カード／デバイス上の試料の一部を切り取る場合)
- **試料の再構成**
- ISR 用のDMM試料採取
 - ISR 用として十分な試料の量又は繰り返し数を確保
 - 試料を複数回パンチして評価するか、2回採取

同じ臨床試験又は非臨床試験において典型的な液体の試料(例えば、血漿試料)に加えてDMMを用いる場合、既述のとおり(6.2項を参照)これら2つの方法をクロスバリデートすべきである。**非臨床TK試験については、ICH S3A Q&A 文書の4.1項(Q7)を参照**すること。

ICH M10 生体試料中薬物濃度分析法バリデーション(案)

5. INCURRED SAMPLE REANALYSIS (ISR)

ISRは少なくとも以下の状況下において実施することが求められる。

- **非臨床試験では、ISRは一般的に、主要な非臨床TK試験において動物種ごとに1回実施すべきである。**しかし、TK試験の代わりにPK試験において実施されたISRであっても、それぞれの試験が主要な試験として実施され、規制当局による意思決定に用いられるのであれば、受け入れられる場合がある。

8. 文書化

表1 (続) : 文書化項目及び報告項目

評価項目	分析施設における文書化項目	バリデーション報告書*	生体試料中薬物濃度分析報告書*
手順書からの逸脱	• 逸脱／予期しない事象の発生時の記録 • 予期しない事象の調査 • 影響の評価	• 逸脱に関する記述 • 試験結果への影響 • 重要な調査結果の記述及び裏付けるデータ	• 逸脱に関する記述 • 試験結果への影響 • 重要な調査結果の記述及び支持するデータ
繰り返し分析	• 再分析／繰り返し分析を規定したSOP（再分析の理由を定義等） • 繰り返し分析／再分析データのすべて（100%）を保持する • 繰り返し分析理由の繰り返し分析実施時の記録	• 該当せず	• 試料ID、再定量の理由、オリジナルの値及び再定量の値、報告値に対する理由及び分析単位IDを示す表 • 再分析のSOP（要求された場合）
ISR	• ISRを規定したSOP • ISRデータ：分析単位ID、分析単位のサマリーシート、クロマトグラム又はその他の電子機器データのファイル • ISRの不成立における調査結果の文書（該当する場合）	• 該当せず	• ISRデータの表（オリジナルの値及び再定量の値及び分析単位ID、乖離度（%）、基準適合割合） • ISR不成立における調査結果（該当する場合）^{††} • ISRを規定したSOP^{††}（要求された場合）
通信記録	• 試験／定量の関係者間の通信（申請者、CRO、コンサルタント）	• 該当せず	• 該当せず
監査及び査察	• 監査報告書、査察報告書	• 該当せず	• 該当せず

まとめ

1. 欧米では、トキシコキネティクス評価におけるマイクロサンプリング利用に関し、検討が進んでいる（主として尾静脈、伏在静脈採血）。また医薬品の申請資料での利用も多くなっている。
2. あくまでTKをきちんと評価することがS3Aガイドラインの目的であり、マイクロサンプリング技術は、その（検討すべき）手段である。
3. 必ずしも主試験群でなく、サテライト群に関し、マイクロサンプリングを行うことにより、動物数を減らすことも良い。
4. マイクロサンプリング技術の向上は重要。
5. 今後、主群動物・サテライト動物いずれに関しても、マイクロサンプリング実施の検討が必要になると思われる。



ご清聴、有難うございました！