

1 バイオアッセイ〈G3-18-190〉

1. バイオ医薬品の品質確保における生物活性評価の役割

バイオ医薬品が意図した性質を有していることを確認するためには、構造・物理化学的性質の評価に加え、生物学的試験による生物活性の評価が必要である。これは、バイオ医薬品の有効成分の分子量が大きく、構造が複雑で、多様な分子種の混合物であり、理化学分析により高次構造を確定することが困難であるためである。生物活性を求めるには、生物学的な試験法を用いた生物活性試験(バイオアッセイ)を行う必要があり、評価対象となる医薬品の作用機序を考慮した試験法の設定が必要である。

バイオアッセイでは、通例、標準物質と試料について、用量と反応の関係に適切な解析モデルを当てはめ、得られた回帰式のパラメーターを比較することで相対的な活性(相対力価)を算出する。標準物質と試料に含まれる有効成分が同じであれば、同じ用量反応性を示す生物学的な反応が得られると考えられるため、相対力価の算出では、標準物質と試料の用量反応性が一致していることが前提となる。用量反応性の一致は、一般に、回帰直線あるいは回帰曲線の類似性(similarity)を統計的に評価することで、判断される。類似性(similarity)は、平行線モデルや非線形モデルの評価において、平行性(parallelism)と表現されることもある。

本参考情報では、バイオアッセイを適切に実施するために重要な、相対力価の算出方法などの解析方法、分析法バリデーションの実施、及び試験成立条件の設定に関する標準的な考え方、更にはバイオアッセイの開発とライフサイクルマネジメントにおける留意事項を示す。

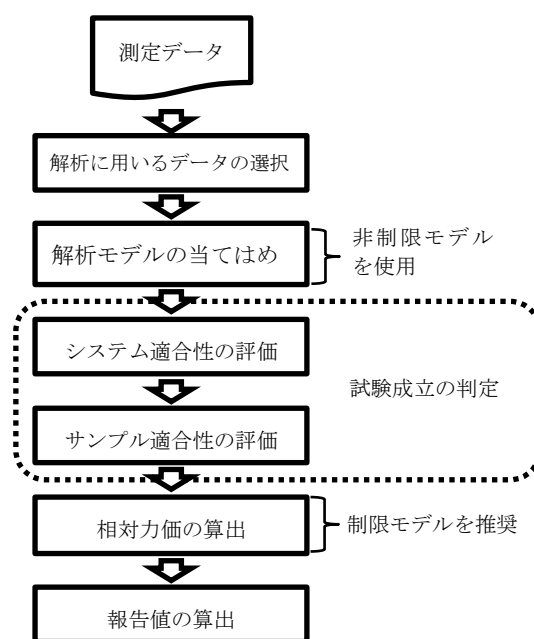
2. 相対力価の算出

医薬品の生物学的性質(biological properties)に関連する特性に基づく生物活性(biological activity)を定量的に表す尺度は、通例、「力価(potency)」であり、「単位(unit)」で表すことができる。単位は、原則として、あらかじめ値付けされた標準品に対する相対的な値として定める。ただし、酵素活性における単位時間当たりの基質分解能のように、絶対的な基準に基づいて単位を定義する場合もある。得られた値は、容量当たりの力価(単位/mL)や、タンパク質量当たりの力価(単位/mg)として表記することができる。タンパク質量当たりの力価は、比活性と呼ばれる。単位が設定されない医薬品の場合は、標準品あるいは標準物質に対する相対的な活性として、相対力価(%)を求めることができる。以下、標準品を用いる場合も含め、標準物質と表記する。

標準物質との比較により相対力価を求めるためのバイオアッセイでは、通例、標準物質と試料について、用量と反応の関係に適切な解析モデルを当てはめ、得られた回帰式のパラメーターを比較することで相対力価を算出する。用いられる主な解析モデルとして、1) 非線形モデル(Nonlinear model)、2) 平行線モデル(parallel-line model)、3) 勾配比モデル(Slope-ratio concentration-response model)が挙げられる。

図1に測定データの代表的な解析手順を示す。バイオアッセイのデータ解析においては、統計処理などにより解析に用いるデータを選択した後、標準物質と試料の回帰曲線に対して個別に解析モデルを当てはめ(非制限モデル)、モデルの適合性に関

する指標や類似性の評価から試験成立の判定を行う(詳細は4.試験成立の判定を参照)。成立した場合は標準物質と試料の回帰曲線のパラメーターを一致させた解析モデル(制限モデル)を当てはめ、得られた回帰式を用いて相対力価を算出する。ばらつきの影響を軽減するために、必要に応じて複数分析単位で得られた相対力価を統合し、報告値として算出する。なお、バイオアッセイの分析単位は、相対力価を算出するための適切な反復測定を含む試料及び標準物質の段階希釈系列から構成される試料の1セットと考える。1枚のマイクロプレート(プレート)で完結する場合もあれば、複数枚のプレートが必要な場合もある。



63

図1 非制限モデル(unconstrained model)及び制限モデル(constrained model)を用いた解析手順

64

相対力価の算出では、標準物質と試料の用量反応性が一致していることが前提となる(詳細は4.試験成立の判定を参照)。例えば、後述の4-パラメーターロジスティックモデルの場合、平行性が維持されている、すなわち標準物質と試料の用量曲線の上方、下方漸近線及び勾配パラメーターが一致していることを前提に、両者のEC₅₀値の比較により相対力価を算出することができる。標準物質と試料の回帰曲線の上方、下方漸近線及び勾配パラメーターを一致させる回帰式を用いるものを制限モデル(constrained model, reduced model, restricted model)という。一方で、標準物質と試料の回帰曲線の上方、下方漸近線及び勾配パラメーターを一致させないで個別に回帰式を用いる方法があり、非制限モデル(unconstrained model, full model)という。前述の通り、相対力価算出には、平行性の前提があるので、一般には、共通する漸近線を持つ曲線を用いて相対力価を算出する制限モデルを用いることが推奨される。標準物質と試料の用量反応曲線の形状に類似性が十分に担保されていれば、非制限モデルを使用することも可能と考えられるが、どちらの手法を用いるかは、事前に定めておく必要がある。データによっては制限モデルと非制限モデルの解析結果(EC₅₀の比)の乖離が大きい場合もあるが、このような試験結果は、試験成立条件を適切に定めることで不成立とすることができる。

86

87 2.1. 非線形モデル(Nonlinear model)

88 非線形の用量－反応モデルは一般的にS字型関数となり、濃
89 度範囲が十分に広く、反応が上方、下方漸近線に制限される場
90 合に用いられる。このうち最も汎用されているモデルは、4パ
91 ラメーターロジスティックモデル(Four-parameter logistic
92 model)である。

93 観測された反応を y 、濃度を z 、誤差項を e とすると、4パ
94 ラメーターロジスティックモデルは次式で表される。

$$95 \quad y = D + \frac{A - D}{1 + \left(\frac{z}{C}\right)^B} + e$$

96 上方漸近線(Upper asymptote) : A

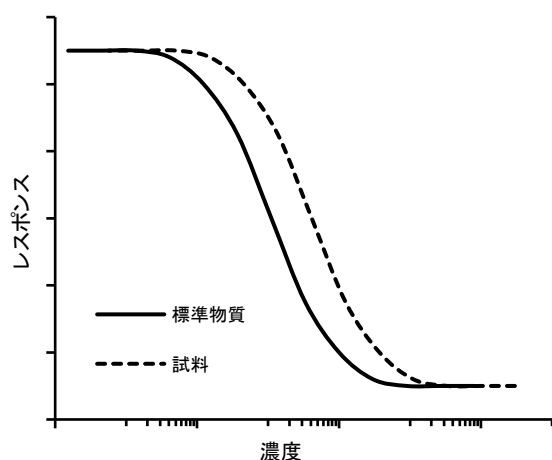
97 下方漸近線(Lower asymptote) : D

98 勾配パラメーター : B

99 50%有効濃度(EC_{50}) : C

100 B は EC_{50} における曲線の勾配を示す係数ではなく、 EC_{50} に
101 おける曲線の勾配は以下の S で表される。ただし、 S は濃度
102 に対する傾きであり、シグモイド曲線は濃度を対数変換している
103 ために、見た目の傾きとは異なる値になることは留意が必要で
104 ある。

$$105 \quad S = -\frac{1}{4} \times \frac{A - D}{C} \times B$$



106 図2 非線形曲線モデルにより得られた平行曲線の例
107

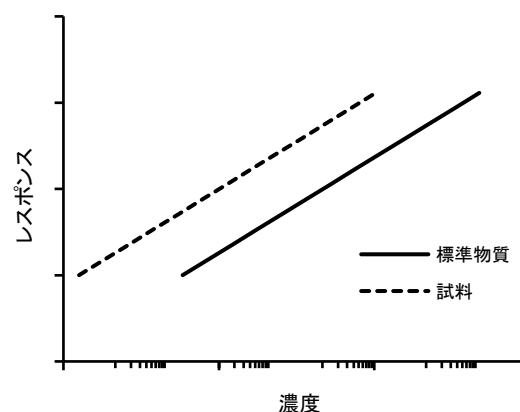
108 上下漸近線の一致を含め、二つのグラフの形状が一致してい
109 る場合に相対力価の算出が可能であり、相対力価は係数 C で表
110 される EC_{50} の比(標準物質/試料)となる。

111 2.2. 平行線モデル(Parallel-line model)

112 用量－反応の関係が濃度 z の対数 x と反応 y との間で直線関数
113 であるとき、平行線モデルが使用できる。
114 一般的な濃度－反応モデルが $x = \log(z)$ で線形に変換できる場
115 合、 y 切片 α 、傾き β として、次式のように表すことができる。

$$116 \quad y = \alpha + \beta \log(z) + e = \alpha + \beta x + e$$

117



118 図3 平行線モデルの例
119

120 用量－反応直線が平行である場合には、水平方向の変化が
121 測定対象の生物学的活性の差を示す。この水平方向での差が
122 相対力価の対数 $\log(\rho)$ であり、試料及び標準物質の切片の差
123 を傾き β で除したものとして算出される。したがって、相対
124 力価は次式で表される(T は試料、 S は標準物質)。複数分析
125 単位から得られた相対力価を統合して報告値が算出される場
126 合がある。

$$127 \quad \rho = \text{antilog} \left(\frac{\alpha_T - \alpha_S}{\beta} \right)$$

128 2.3. 勾配比モデル(Slope-ratio concentration-response 129 model)

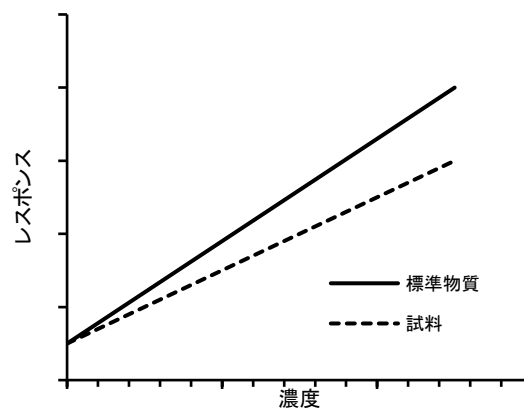
130 用量－反応データの関係が直線回帰によく適合する場合には、
131 勾配比モデルを使用できる。

132 類似性を仮定した勾配比モデルは次式で表すことができる。

$$133 \quad Y_S = \alpha + \beta_S z + e = \alpha + \beta_S z + e$$

$$134 \quad Y_T = \alpha + \beta(\rho z) + e = \alpha + \beta_S \rho z + e = \alpha + \beta_T z + e$$

135 勾配比モデルの特徴は、力価が異なる各線の切片は同じであ
136 るが、傾きが異なるということである。共通の切片が原点であ
137 る必要はない。



138 図4 勾配比モデルの例
139

140 勾配比モデルを用いる試験法では、最低限、標準物質及び試

料をそれぞれ1濃度以上のポイントで測定した値と、ブランク試料の測定値を含む。濃度を対数変換しないため、一般的に、対数目盛ではなく線形目盛において濃度を均等間隔でとる。モデルは、1個の共通の切片、試料の結果に基づく傾き及び標準物質の結果に基づく傾きからなり、相対力価は以下のように傾きの比から算出する。複数分析単位から得られた相対力価を統合して報告値が算出される場合がある。

$$\text{相対力価} = \text{試料の傾き} / \text{標準物質の傾き} = \beta \rho / \beta = \rho$$

3. 分析法バリデーション

バイオアッセイの分析法バリデーションを行う際に検討が必要な分析能パラメーターは、一般的に、真度、直線性、特異性、室内再現精度(併行精度を含む)及び範囲である。頑健性は分析法バリデーションにおける要件ではなく分析法開発時に評価されるが、細胞を用いたバイオアッセイにおける培養時間・温度、用いる細胞数や細胞継代数、血清成分や検出試薬のロットなど重要な要因は、特にこれらの要因が他の要因に関連する場合、バリデーションの計画に含めることが重要である。

3.1. 真度

バイオアッセイにおける真度は、測定した相対力価(実測値である力価測定値)と既知の相対力価(理論値である目標力価)の間の一致の程度を指す。バイオアッセイの真度を評価するための最も一般的な方法は、標準物質又は力価が既知である試料を希釈したサンプルを測定して得られた力価と、希釈倍数から理論的に算出した目標力価から相対バイアスを算出することである。各濃度における相対バイアスは、対数目標力価に対する対数力価測定値の割合として以下の式で計算される。

$$\text{相対バイアス} = 100 \times (\text{力価測定値} / \text{目標力価} - 1) \%$$

相対バイアスが、事前に定めた目標判定基準を満たしていることを確認する。各濃度の相対バイアスに一定の傾向がない場合、各濃度における相対バイアスの推定値を事前に指定した目標判定基準とすることができる。

3.2. 直線性

バイオアッセイの直線性は、ある一定の濃度範囲内で目標力価と力価測定値が直線関係にあることを指す。直線性の程度は、目標力価に対して力価測定値をプロットし、統計学的手法を用いて評価することができる。例えば、最小二乗法による回帰直線の計算から求められる回帰直線の傾きや相関係数(r)、残差平方和を評価する。目標力価に対して残差をプロットした図を解析することも直線性を評価する上で有用である。

3.3. 特異性

バイオアッセイの特異性は、測定対象である原薬及び製剤に含まれる有効成分を、有効成分とは異なる分子であるが関連性のある分子と比較し、バイオアッセイのレスポンスとして区別できる能力を指す。共存が予想されるマトリックス成分だけでなく、劣化した試料に含まれる目的物質由来不純物など、目的物質に関連する成分の干渉がないことを示すことも、特異性の評価において必要な場合がある。

3.4. 室内再現精度

室内再現精度は、同一の実験室内において、試験日、試験者、器具等の条件を変えて測定する場合の精度を指す。室内再現精度はバイオアッセイの導入後に、経時的に変動する因子の影響を評価するために有用である。これらの影響は一般に不可避で

あり、バイオアッセイのバリデーション計画には、試験への影響を考慮して、試験者の変更、異なる器具や装置、異なる試薬ロットなどの因子の評価を含めることが望ましい。なお、同一条件下での変動を併行精度として合わせて評価できる。

3.5. 範囲

バイオアッセイの範囲は、その分析法が適切なレベルの真度、室内再現精度及び直線性を有していることが既に示されている相対力価の範囲と定義される。範囲は通常、力価に対する製品規格の範囲を最小限含んでいることが求められる。安定性試験のため、若しくは高力価又は低力価の試料をバイオアッセイの範囲に希釈又は濃縮する必要性を最小限にするために、より広い範囲にわたってバイオアッセイをバリデーションすることは有用である。

4. 試験成立の判定

相対力価を算出するための試験では、標準物質と試料が同じ用量反応性を示すことが重要であり、両者の用量反応曲線の形状が類似していることをあらかじめ定めた試験成立条件を満たすことにより確認する。相対力価は、事前に定めた試験方法の濃度の範囲内で、標準物質と試料から得られた曲線が類似性を示し、かつ解析に必要なモデルへの適合度を満たす場合のみ、算出できる。

分析法開発時の検討と分析法バリデーションによる分析性能の確認に加え、日々の試験において、試験が適切に実施されていることを確認するため、規格及び試験方法を設定する際には、理化学試験におけるシステム適合性に相当するものとして、試験成立条件を設定する必要がある。

試験成立条件には、1)システム適合性の評価及び2)サンプル適合性(標準物質と試料の用量反応性の類似性)の評価が含まれる。試験成立条件として、目標とする分析性能を確保するための適切な指標を選択して、判定基準を設定することが重要である。試験成立条件は、バイオアッセイの開発中から検討し、バリデーション前までに確立しておく必要がある。

4.1. システム適合性

試験法が目的とする試験を行うのに適切な状態を維持していることを確認するために評価する。通常、標準物質やQC試料(生物活性を含め、十分に特性解析された試料)で得られた用量-反応曲線について、被験物質の生物活性に基づく意図した反応が得られたことを、いくつかのパラメーターがあらかじめ規定した範囲内にあることにより確認する。例えば、4パラメーターロジスティックモデルにおいては、決定係数、上方漸近線又は下方漸近線の値、上方漸近線と下方漸近線の差や比、観測された反応の最大値と最小値の比、勾配パラメーター、EC₅₀などを指標とし、複数の指標について適否を判定することで、一定の性能が維持されていることを確認できる。その他、QC試料の相対力価を指標として設定することもできる(この場合、標準物質とQC試料の用量反応曲線の類似性に関する評価も必要となる)。平行線モデルでは観測された反応の最大値と最小値の差や比、勾配比モデルでは切片及び高濃度標準物質の反応等の指標が、あらかじめ規定した範囲内にあることにより確認することができる。

4.2. サンプル適合性

標準物質と試料の用量反応性が類似していることを確認するために評価する。相対力価の測定は、標準物質と試料の用量反応曲線の形状が一致していることが前提条件であるため、標準

物質と試料の用量反応曲線の類似性により、サンプル適合性評価を評価する。類似性(similarity)の評価の対象となる項目には、4パラメーターロジスティックモデルの場合、EC₅₀以外のパラメーター、すなわち、上方漸近線及び下方漸近線、勾配パラメーターが含まれ、平行線モデルでは回帰直線の傾き、勾配比モデルでは切片が含まれる。

類似性の評価の方法として、通例、標準物質と試料の用量反応性に差がないという帰無仮説を検定する差異の検定(Difference test)、あるいは、標準物質と試料の用量反応性が同等と判断される許容範囲を定めて評価する同等性の検定(Equivalence test)が用いられる。

4.2.1. 差異の検定 (Difference test)

差異の検定とは、分散分析を用いて「標準物質と試料の用量反応性に差がない」という帰無仮説を評価するものである。差異の検定は、個々の試験結果について判定が可能であり、許容範囲を定めるための事前のデータ蓄積が必要ないという利点がある一方で、データのばらつきが大きいほど残差分散が大きくなり、用量反応性に差がない、すなわち用量反応性が一致していると判定されやすく、ばらつきが小さいほど、用量反応性が一致していないと判定されやすいという欠点があることに注意が必要である。

差異の検定の一つは、標準物質と試料の測定結果のばらつきをいくつかの要素に分け、それぞれに設定した帰無仮説に対する判定結果をもとに、両曲線の一致を評価する方法である。代表的な手法では、分散分析(Analysis of Variance)等により回帰性(regression：回帰の成立を評価)、非平行性(non-parallelism：非制限モデルと制限モデルの乖離を評価)、非線形性(non-linearity又はlack of fit：非制限モデルからのデータの乖離を評価)に関して有意差検定によりp値を求め、試験の成立を判定する。差異の検定のもう一つの方法(Extra sum of square法)では、標準物質と試料の用量反応性をそれぞれ、モデルを当てはめて回帰した場合と、標準物質と試料の用量反応曲線の形状が等しいとしてパラメーターの一部を共通として回帰した場合の平均平方を比較し、モデル間でのあてはまりの違いに有意差があるかをp値により判定して、平行性を判断する。

4.2.2. 同等性の検定 (Equivalence test)

同等性の検定は、標準物質と試料の用量反応曲線について、類似性の判定基準となる指標とその許容を定め、各試験で得られた指標が、許容範囲に含まれる時、両者は同等、すなわち類似していると判定する手法である。例えば、4パラメーターロジスティックモデルでは、標準物質と試料の用量反応曲線について、EC₅₀以外のパラメーター、すなわち上方漸近線、下方漸近線、及び勾配パラメーターを同等性の検定に用いることができる。試料と標準物質の上方漸近線の比、試料と標準物質の下方漸近線の比、試料と標準物質の勾配パラメーターの比等が判定に用いられる。分析法開発中に、どのパラメーターが重要であるか、また、同等性をどのように評価するかを決定する必要がある。

5. バイオアッセイの開発とライフサイクルマネジメントにおける留意事項

バイオアッセイの開発の際には、適切な試験方法を選択し、試験に用いる試薬や細胞株等の重要試薬について、適切なものを選択する。データ解析方法についても適切な方法を選択する。試験性能に影響する操作パラメーターを洗い出し、試験性能と

種々の操作パラメーターの関連を理解した上で、目的とする分析性能が得られる試験条件を設定することが推奨される。試験性能が恒常的に維持されるよう、頑健性の評価を行っておくことが有用である。

5.1. 試験方法の選択

規格及び試験方法に用いられるバイオアッセイは、品質管理戦略の一部を担うものとして設定される。一般には、有効成分の作用機序を反映した系が用いられるが、複数の作用機序を持つ製品では、その中から必要なものが選択される。細胞を用いるバイオアッセイでは有効成分の作用機序を反映する細胞増殖やサイトカインの分泌等が細胞応答の指標として用いられるほか、特定の細胞内シグナル伝達に応答するレポーター遺伝子を導入した細胞を用いたレポーターアッセイが実施されることもある。何れの場合でも臨床上期待する作用と選択したバイオアッセイにおいて測定される活性との関連について適切に説明できる必要がある。

5.2. 試験条件の設定

バイオアッセイの開発は、試験因子の条件や水準を変化させた一連の実験を通じて行われ、信頼性の高い頑健なバイオアッセイの試験条件を確立するため、試験因子の条件や水準を特定する。それらの実験は、各因子を個別に検討して理想的な条件を特定するか、多因子実験計画法を用いて行われる。細胞を用いたバイオアッセイの試験結果に影響を及ぼす可能性のある主な因子として、培養温度、培養時間、細胞密度、培地組成(血清成分を含む)、細胞継代数及び継代スケジュールなどが挙げられる。プレートを用いるバイオアッセイでは、プレート上の試料の配置が試験結果に影響を及ぼす場合があるため、注意が必要である。全てのウェルで実験処理(洗浄、培養、基質の添加など)が均一に施されていても、プレート上に実験処理とは関係のない系統的な偏りが認められることがある。これらの偏りが全ての行、列、プレートの端から中央にかけて発生する場合、プレート効果と呼ばれる。試験法の開発中には、プレートのレイアウト方法、ブロック化、無作為化、及び反復などの方法により、プレート効果を最小限にするための対処が必要である。プレート上の試料配置を含め、開発期間中に、当該試験法において重要な因子を特定し、許容可能な性能(真度や精度など)の範囲となるよう、因子の最適な値や範囲を決定することが望ましい。

5.3. 試験法開発中のデータ解析

開発中に蓄積されたバイオアッセイデータを使って、統計解析方法や試験成立条件を決めることが有用である。具体的には、データに当てはめる解析モデル(非線形モデル、平行線モデル及び勾配比モデルなど)、必要な場合にはデータの変換や重み付けの方法を決める必要がある。モデルの適切性については、平行性の仮定を行わずにデータに解析モデルを当てはめ、試験の濃度範囲全体における正規性及び等分散性からの逸脱について、残差の分布を評価することも有用な場合がある。また、試験法の開発中に、必要な場合は、外れ値の原因調査や処理に関する方法を作成し、試験手順書と関連付けることが推奨される。

5.4. 標準物質の管理

バイオアッセイでは、試料の標準物質との相対的な活性を評価する。報告値の信頼性を確保するためには、標準物質の信頼性を確保する必要があり、標準物質は重要な試薬である。標準物質は評価対象となる試料を代表するものである必要がある、

非臨床試験又は臨床試験で有効性・安全性が確認されたロット、あるいは、特性解析を実施したロットから調製する。標準物質は、使用される期間にわたり、力価を維持可能な条件下で保存する必要がある。標準物質が原薬や製剤とは異なる条件下(保存温度、保存容器、処方など)で保存されることもある。バイオ医薬品の標準物質においては、保存中の糖化や酸化など化学変化に起因して活性が低下し、類似性の喪失や力価の経時的な低下が生じる可能性があるため、標準物質の定期的な安定性評価の実施が推奨される。また、ロット更新時に力価の不連続性が生じる可能性があるため、標準物質のロット更新時の手順において、更新後のロットの値付けの方法が適切に定められ、実施される必要がある。標準物質の力価の経時的な低下やロット更新時の不連続性への対応策としては、上記の対策に加え、後々の標準物質との同等性や力価試験結果の変動を調査するため、各標準物質ロットの一部を保存しておくことが有用である。また、初期に確立した標準物質を一次標準物質とし、一次標準物質を基準に検定された標準物質を常用標準物質として商用生産の試験に用い、常用標準物質の更新時に一次標準物質を基に生物活性を評価する、標準物質の2段階設定も有用である。

5.5. 重要試薬の設定と管理

試験性能に重要な影響を及ぼす試薬は、重要試薬として管理する。例えば、中和活性を持つ抗体医薬品の細胞応答性試験において、中和される生理活性物質等が該当する。重要試薬については、あらかじめ品質特性や安定性を考慮して、品質確保のための評価項目と適否の判定基準、保存条件やロット更新の手順などを設定しておく必要がある。ロット更新の際には、実際にバイオアッセイに用いて、意図した結果が得られることを確認する。

細胞を用いるバイオアッセイでは、細胞の特性が試験性能に影響するため、細胞は重要試薬に含まれる。試験に適した特性を持つ細胞であることを確認するために特性解析を行い、細胞株を適切に管理することが、試験結果の信頼性確保に重要である。細胞の十分かつ安定した供給を確保するため、セルバンクを構築することが推奨される。セルバンクは、細胞の増殖特性、バイオアッセイに用いる細胞の継代数や細胞数、試験の実施頻度などを考慮して構築する。バイオアッセイに用いる細胞株の機能的及び遺伝的特性に関する情報は、その細胞株の起源からバンキングまでの履歴などを含めて、詳細に記録しておくことが望ましい。セルバンクから調製し、試験に用いる細胞については、あらかじめ定めた継代数の範囲で試験に用いる等、試験性能を確保するための条件を定めておく。

6. 用語解説

バイオアッセイ(生物活性試験)(Biological assay, Bioassays): 生物活性の測定に用いられる分析法。有効成分の特性に応じて、酵素反応、標的分子との結合、細胞応答性、動物個体での反応等を指標にした方法が用いられる。

相対力価(Relative potency): 標準物質と試料について、用量と反応の関係に適切な解析モデルを当てはめ、得られた回帰式のパラメーターを比較することで算出した相対的な活性。

試験成立条件(Suitability testing): 実施した試験が成立していることを判定するために、あらかじめ定めておく基準であり、通例、標準物質の反応性に関して規定するシステム適合性、及び、標準物質と試料の反応性の類似性の判定基準を規定するサンプル適合性から構成される。理化学試験におけるシステム適

合性に相当するが、試験成立条件では、試料のデータを判定に用いる点が特徴である。

類似性(Similarity): ここでは、標準物質と試料の用量反応直線(曲線)の一致の程度のこと。相対力価の算出には、標準物質と試料の用量反応直線(曲線)の形状が類似していることが前提である。類似性(similarity)は、平行線モデルや非線形モデルの評価において、平行性(parallelism)と表現されることもある。**差異の検定(Difference test)**: 差異がない、という帰無仮説を設定して、試験成立の判定を行う方法。帰無仮説が棄却されない場合、すなわち差異があるとは言えない場合に、当該指標に関して、試験成立の要件を満たすと判定できる。通例、回帰、非平行性(モデル間の乖離)、及び、非直線性(回帰曲線上の点と実測地の乖離)の有意性を検定する。4-パラメーターロジスティックモデル回帰を用いる場合は、Extra sum of square法が用いられる場合もある。

Extra sum of square法: モデルの違い(制限モデルと非制限モデル)で生じる残差分散と、非制限モデルで回帰した場合の残差分散を比較し、分散分析により平行性を検定する方法。4-パラメーターロジスティックモデルを用いる場合に利用されることが多い。

同等性の検定(Equivalence test): 評価に用いる指標の差異が一定の範囲内に収まっていることで試験成立とする方法。差異が同等となる許容範囲に含まれる場合に、当該指標に関して、試験成立の要件を満たすと判定できる。試験で得られるレスポンスや回帰式の係数等に関して、判定の対象とする指標と、各指標に関する許容範囲をあらかじめ設定しておく。指標の差異そのものから判定する場合と、差異の信頼区間から判定する場合がある。

QC試料: 代表的なロットから、適切な濃度に調製し、アッセイ系の評価に用いるもの。QC試料は、試験成立の判定に用いる他、レスポンスの長期的な変動のモニターにも用いることができる。QC試料の利用は、標準物質のロット更新の前後で、レスポンスに変化が生じていないことを確認する目的でも有用である。Product control、あるいは、Assay Controlと呼ばれる場合もある。

参考資料

- 1) US Pharmacopeia (2023), <111> Design and analysis of biological assays.
- 2) US Pharmacopeia (2023), <1032> Design and development of biological assays.
- 3) US Pharmacopeia (2023), <1033> Biological assay validation.
- 4) US Pharmacopeia (2023), <1034> Analysis of biological assays.
- 5) European Pharmacopoeia 11.0 (2022), 5.3 Statistical analysis of results of biological assays and tests.