

生体試料中薬物の定量分析に関する“ White Paper ”について

医薬事業本部 ファーマ事業所 山口 建

1 はじめに

生体試料中薬物の定量分析は、医薬品の安全性・有効性を考察する上で重要であるため、分析には高い信頼性が求められます。現在、生体試料中薬物の定量分析は、米国FDA (Food and Drug Administration / 食品医薬品局) により作成された“Guidance for Industry on Bioanalytical Method Validation”(以下、FDAガイダンス)を基準として実施されていますが、より信頼性の高い分析の実施を目的として2007年にAAPS (American Association of Pharmaceutical Scientists / 米国薬学会) により“Workshop/Conference Report-Quantitative Bioanalytical Methods Validation and Implementation: Best Practices for Chromatographic and Ligand Binding Assays”(以下、White Paper) がまとめられました¹⁾。その内容が、これまでの分析の信頼性保証には取り入れられていなかった新たな提言であったため、その動向が米国のみならず、日本国内でも注目を浴びています。

2 White Paper

2.1 概要

FDAガイダンスは2度のAAPS/FDA Bioanalytical Workshop (1999年, 2000年)での議論をもとに作成されたものですが、3回目のWorkshop (2006年)での議論がまとめられたものがWhite Paperです。このため、White PaperがFDAガイダンス同様、定量分析に大きな影響を与えるも

表1 White Paperの構成

GOALS AND OBJECTIVES
NON-CHROMATOGRAPHIC ASSAY - SPECIFIC ISSUES
CALIBRATION CURVE AND QC RANGES
CARRYOVER AND CONTAMINATION EVALUATION
DETERMINATION OF METABOLITES DURING DRUG DEVELOPMENT
INCURRED SAMPLE REANALYSIS
DOCUMENTATION ISSUES
STABILITY RECOMMENDATIONS
MATRIX EFFECTS FOR MS BASED ASSAYS
SYSTEM SUITABILITY
REFERENCE STANDARDS
RUN ACCEPTANCE CRITERIA
VALIDATION TOPICS WITH NO CONSENSUS

のになると考えられています。White Paperは表1に示した項目で構成されており、定量分析の問題点や報告書の記載内容についても提案されています。ここでは特に注目度の高い項目について紹介します。

2.2 CALIBRATION CURVE AND QC RANGES

FDAガイダンスでは、バリデーション試験で決定された濃度範囲の検量線を用いて、その範囲内の3種類の既知濃度(QC)サンプルを分析することにより、同時に分析した未知濃度サンプルの結果の妥当性を保証します。しかし、White Paperでは予想される結果に応じて、検量線濃度範囲の変更や、QCサンプルの濃度変更もしくは新たな濃度の追加が推奨されています。

2.3 MATRIX EFFECTS

LC/MS/MS分析におけるMatrix Effectは、分析対象物質のイオン化が生体由来成分などの影響を受けることであり、分析結果の変動要因となることから無視できない現象ですが、White Paperでは影響の大きさの評価としてMatrix Factor (MF) 値の確認が提案されています。

$$MF = \frac{\text{Peak response in presence of matrix ions}}{\text{Peak response in absence of matrix ions}}$$

分析対象物質のMF値が1より大きければそのイオン化が促進され、1より小さければそのイオン化が阻害されている事を示しますが、必ずしもMF値が1となる必要はなく、異なる6個体の生体試料から得られたMF値の変動係数が15%以内となる分析法が求められています。ただし、Matrix Effect (イオン化の促進・阻害) が大きい場合、分析の再現性を欠く恐れがあることから、分析対象物質とほぼ同じMF値を示す安定同位体標識体を内標準物質とする分析法が推奨されています。

2.4 INCURRED SAMPLE REANALYSIS

研究者に最も大きなインパクトを与えたのはこのIncurred Sample Reanalysis (以下、ISR) です。Incurred Sampleとは「化合物が投与された生体から採取された実サンプル」の事であり、ISRは実サンプルの再分析を意味します。

FDAガイダンスでは、QCサンプルを含む品質管理の結果が基準を満たせば、実サン

ルの分析結果は妥当であると判断されます。しかし、FDAがガイダンスに従って実施された分析を調査したところ、初回分析と再分析の結果が大きく異なるサンプルが散見され、しかも、この事態が一部の施設や化合物に限るものではなかったことから、ISRの必要性が叫ばれるようになりました。既に米国ではISRが実施されており、日本国内でもその方法や基準について検討されています。ISRの目的はサンプル個々の結果の確認よりも分析法の妥当性の検証にあります。White PaperにISRの具体的な方法は示されていません。したがって、研究者が化合物や開発ステージに応じてISRを検討しなければなりません。

また、ISRの結果が再現性を欠く原因として、サンプルの不均一、コンタミネーションなどの操作ミスが比較的多いと言われており、これらは未然に防ぐことができます。しかし、実サンプルに特有の生体由来成分や未知代謝物の影響について未然に対策を講じるのは大変困難です。したがって、研究者には、より良い分析法の開発だけでなく、万が一、再現性を欠いた場合の原因究明や分析法の改良などの迅速な対応が求められます。

3 おわりに

White Paperは正確な結果を得るための提案に過ぎませんが、既に国内でもこの案が試験に取り入れられるなど、大きな影響が出始めています。今後、この内容がガイダンスとして生体試料中薬物の定量分析の新たな基準となる日も近いと考えられますので、我々は要求の変化に対応できるよう準備をしておかなければなりません。また、優れた分析法を開発するとともに、その信頼性をいかにして保証するかを考えておく事が重要になるでしょう。

文 献

1) The AAPS Journal 2007; 9 (3) Article 40
(<http://www.aapsj.org>)



山口 建
(やまぐち たける)
医薬事業本部
ファーマ事業所