

Review

バイオアナリシスにおける大学教育の役割

山本佐知雄・掛樋一晃

Role of Academic Education for the Training of Experts for Bioanalysis

Sachio Yamamoto, Kazuaki Kakehi

*School of Pharmacy, Kinki University,**3-4-1, Kowakae, Higashi-osaka, 577-8502, Japan.***Abstract**

On the 5th of June, Pre-symposium Workshop of Chromatography Symposium titled on “Bioanalysis in Japan” was held at Hyakunenkinenkan of Kobe University, and the speakers of the experts from industry, government and academia groups introduced their approaches and contribution to the development of bioanalysis in Japan based on their own positions. From the academia, Dr. Kakehi, (Professor, School of Pharmacy of Kinki University) talked on the significance of education of analytical chemistry, biochemistry, and regulatory science in bioanalysis mainly concerned on the difference in the pharmaceutical analysis of small molecule and protein drugs. After that, “Guideline on Bioanalytical Method Validation in Pharmaceutical Development” was released from Health, Labour and Welfare Ministry on 11th July. Here we explain the present situation and future prospects on the bioanalysis education and training programs provided at the pharmaceutical department of Kinki university.

Keywords: bioanalysis, academic education, bioanalytical method validation (BMV)

1. バイオアナリシスとバリデーション

バイオアナリシスとは、「医薬品開発における非臨床（動物等）および臨床試験（ヒト）から得られる血漿、尿および組織片等の生体試料を対象とした生体試料中薬物濃度測定」のことである。平成25年7月11日に提出された「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ガイドライン」によれば、バイオアナリシスの適用範囲はトキシコキネティクス試験及び臨床試験における薬物又はその代謝物の生体試料中薬物濃度を定量する際に用いられる分析法のバリデーション並びに当該分析法を用いた実試料分析に適用するものとされている。対象薬物は低分子化合物（内

因性物質を除く）を中心とし、主に液体クロマトグラフィー（liquid chromatography: LC）、ガスクロマトグラフィー（gas chromatography: GC）、又はそれらと質量分析法（mass spectrometry: MS）を組み合わせた分析法が対象となっている。また、薬物又はその代謝物の生体試料中薬物濃度を定量する際の分析法を確立する際には、施設ごとにフルバリデーションを実施しなければならないとされている。フルバリデーションでは、選択性、定量下限、検量線、真度、精度、マトリックス効果、キャリアオーバー、希釈の妥当性及び安定性等を評価する。通常、フルバリデーションは、分析対象となる種又はマトリックス（主に血漿、血清、全血又は尿）ごと

近畿大学薬学部医療薬学科 薬品分析学研究室

〒577-0818 東大阪市小若江3-4-1

Tel: 06-4307-4340

Fax: 06-6721-2353

E-mail: yamamoto@phar.kindai.ac.jp

に実施する。表1にフルバリデーションに必要となる項目と方法・基準について記載する[1]。これら以外にも、目的に応じて追加項目を実施する場合があります、その実施方法や確認の要否についての議論が進行中である[2]。

表1. フルバリデーションに必要となる項目と方法・基準

項目・定義	実施方法・判断基準
選択性：試料中の他の成分の存在下で、分析対象物質及び内標準物質を区別して検出することができる能力	少なくとも6個体から得られた個別のブランク試料（分析対象物質や内標準物質を添加せずに前処理するマトリックス試料）を用いて評価する。各分析対象物質及び内標準物質に対する妨害がないことを確認する。 ブランク試料において妨害物質に由来する応答変数（レスポンス）が認められない、又は妨害物質に由来するレスポンスが定量下限における分析対象物質の20%以下及び内標準物質の5%以下でなければならない。
定量下限：試料中において分析対象物質を信頼できる真度及び精度で定量することができる最も低い濃度	定量下限における分析対象物質のレスポンスは、ブランク試料の5倍以上である必要がある。定量下限における平均真度は、理論値の±20%以内、精度は20%以下でなければならない。
検量線：分析対象物質の理論値とレスポンスの関係をグラフに示したもの	検量線は、分析対象物質ごとに作成される必要がある。検量線の作成には、可能な限り実試料と同じマトリックスを使用し、既知濃度の分析対象物質を添加して作成する。検量線は、定量下限を含む6濃度以上の検量線用標準試料、ブランク試料及びゼロ試料（内標準物質を添加したブランク試料）から構成する。検量線の回帰式及び重み付け条件には、一般的に濃度とレスポンスの関係を示す最も単純なモデルを用いる。重回帰式を用いても良い。ただし、検量線の回帰式の算出には、ブランク試料及びゼロ試料を用いない。 検量線用標準試料の各濃度の真度は、定量下限において理論値の±20%以内とし、定量下限以外においては理論値の±15%以内とする。検量線用標準試料の75%以上かつ、定量下限及び検量線の最高濃度を含む少なくとも6濃度の標準試料が、上記の基準を満たすもの。
真度・精度：真度それぞれの分析対象物質の定量値と理論値との一致の程度（真度）。それぞれの繰り返し分析によって得られる定量値のばらつき（精度）	バリデーション時においては、検量線の定量範囲内で、最低4濃度（定量下限、低濃度、中濃度及び高濃度）のQC試料（分析対象物質濃度が既知の試料）を調製する。QC試料の濃度については、低濃度は定量下限の3倍以内、中濃度は検量線の中間付近、高濃度は検量線の最高濃度の75%以上であるものとする。分析単位内の真度及び精度は、各濃度あたり少なくとも5回の繰り返し分析をすることによって評価される。分析単位間の真度及び精度は、少なくとも3回の分析単位を繰り返し分析することによって評価される。 各濃度における平均真度は、理論値の±15%以内でなければならない。ただし、定量下限では±20%以内であるものとする。各濃度における定量値の精度は、15%以下でなければならない。ただし、定量下限では20%以下とする。
マトリックス効果：分析対象物質のレスポンスが試料中のマトリックス由来成分によって影響を受けることである	マトリックス効果の評価は、MSを用いる分析法で実施される。マトリックス効果は、マトリックスファクター（MF）を算出することによって評価される。MFは、マトリックス存在下での分析対象物質のレスポンスを、マトリックス非存在下でのレスポンスと比較することによって算出される。MFの算出には、少なくとも6個体から得られたマトリックスを用いる。内標準物質を用いて、MFを補正しても良い。MFの精度は、個体間で15%以下でなければならない。マトリックスを用いて調製したQC試料を分析することによっても、マトリックス効果を評価できる。少なくとも6個体から得られたマトリックスを用いて調製したQC試料を分析し、定量値の精度は、個体間で15%以下でなければならない。
キャリーオーバー：分析機器に残留した分析対象物質が定量値に影響を与えることである	キャリーオーバーは、最高濃度の検量線用標準試料を測定した後にブランク試料を測定することによって評価される。最高濃度の検量線用標準試料を測定した後のブランク試料のレスポンスは、原則として、定量下限における分析対象物質20%以下かつ内標準物質の5%以下でなければならない。
希釈の妥当性：希釈が分析対象物質の定量値に影響を与えないことを確認する	試料中における分析対象物質の濃度を検量線の定量範囲内となるようにブランクマトリックスで希釈する場合、実試料分析における希釈方法を考慮した適切な希釈倍率を選択し、それぞれを少なくとも5回の繰り返し分析をすることによって評価する。希釈された試料の平均真度は理論値の±15%以内、精度は15%以下でなければならない。

安定性：試料を採取してから分析するまでの各過程が分析対象物質の濃度に影響を及ぼさないことを保証するために実施する。	安定性の評価においては、溶媒又はマトリックスの種類、容器の材質、保存条件等に留意する。標準原液及び標準溶液中の安定性の評価には、通常、最高濃度及び最低濃度付近の溶液を用いる。各濃度あたり少なくとも3回の繰り返し分析を行う。マトリックス中の安定性の評価には、低濃度及び高濃度のQC試料を用いる。QC試料の調製には、抗凝固剤や添加剤を含め、実際の条件にできるだけ近いマトリックスを使用する。各濃度あたり少なくとも3回の繰り返し分析を、QC試料を保存する前後に行うことで安定性を評価する。原則として各濃度における平均真度を指標として、理論値の±15%以内でなければならない。
---	--

2. 国内におけるバイオアナリシス情勢[3-5]

かつては製薬メーカーの研究所や工場内で医薬品開発に係わる分析や製造のすべてが実施されてきたが、構造再編による効率化等が進められていく中、外部委託という流れが1990年代後半より顕著となった。とりわけバイオアナリシスにおいては、まさにLC/MS/MS技術躍進とともにCRO事業は拡大したと考えられる。2000年代までは、言語の壁や時差の問題もあり、国内の受託機関のもつ高い技術や品質に対して国内製薬メーカーからの信頼が根強かったが、2010年前後より海外受託機関の利用が急速に伸び始めた。これには海外受託機関が国内のそれと比べ半値以下という低コストに加え、海外受託機関において前処理ロボット導入による自動化やラボラトリー情報管理システム (Laboratory information management system, LIMS) 導入によるデータ処理等のIT化により品質や信頼性が大きく向上したことも一因と考えられる。こうした背景の中、我が国においてもバイオアナリシスフォーラム (Japan Bioanalysis Forum, JBF) が2011年8月、東京にて第1回シンポジウムを開催し、200名もの参加者を迎え、設立を宣言した[6]。JBF運営委員会は、産官学のバイオアナリシス関係者により構成され、低分子および高分子の規制下バイオアナリシス全般を対象としたシンポジウムの開催、国内のバイオアナリティカルメソッドバリデーション (BMV) に関する議論の活発化、BMV国際調和の日本窓口、国内BMV指針案の作成等を活動目的として掲げている。

3. 大学薬学部のバイオアナリシス教育の現状[7]

平成18年から薬剤師養成に必要とされる薬学教育は6年制となり、明治以来120年以上に及ぶ薬学教育は大きな転換を迎え、従来の創薬を志向した教育は臨床に長けた薬剤師を養成する教育へ大きく舵を切った。6年制の学生は4年次後期に「知識および問題解決能力を評価する客観試験 (CBT)」と「実務事前実習」とその成果を問う「技能・態度を評価する客観的臨床能力試験 (OSCE)」を受験する。5年次には6か月に及ぶ病院および薬局における実習を受ける。そして6年終了時には345問に及ぶ薬剤師国家試験を受験しなければならない。医療の現場で即戦力として活躍できる薬剤師の養成を目指す教育が実施されることとなったため、旧4年制で行われてきた基礎研究に根ざした卒業研究はかなり制約を受けざるを得ない状況になっている。平成25年に6年制の第2期生が卒業したが、今後基礎研究に従事できる薬学出身の

人材養成がどのような方向に進むかは、未だ流動的である。

一方、すべての国・公立大学薬学部、そして私立大学薬学部ならびに私立薬科大学の一部は6年制開始と同時に4年制の学科を併設した。平成29年度までは一定の要件を満たせば薬剤師国家試験の受験資格を取得できるという特例措置が取られているものの、4年制の学科では薬剤師を目指すことなく、創薬を含む薬学基礎研究に従事する人材を養成している。著者らが所属する近畿大学薬学部では6年制の医療薬学科 (定員150名) と創薬科学科 (定員30名) を設置し、創薬科学科では基礎分析化学、機器分析などの基礎科目から医薬品開発論、医薬品試験評価概論などの医薬品のレギュレーションも視野に入れた科目を配し、創薬を志向した専門教育を実施している。

4. 薬学教育の中の医薬品・生物医薬品関連の人材養成への取り組み

バイオアナリシスに関わる人材養成の観点から近畿大学創薬科学科の教育をみると、一年時後期に開講される基礎分析化学の中で分析化学の最も基礎的な数値解析の知識を身につけるため、化学分析としての定量・定性分析に加え、真度や精度、誤差などのデータの信頼性に関する教育が実施される。特にバリデーションに関しては、「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ガイドライン」を補足資料として活用している。二年次には機器分析、医薬品開発論の授業を実施している。機器分析では紫外可視吸光度法、蛍光度測定、原子分光法、旋光度測定などの分光分析に加え、液体クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィー、電気泳動などの分離分析を学ぶ。その中で、分離モードに加え、理論段数、分離係数、シンメトリー係数やVan Deemterプロットなど、分離や定量に関する評価方法を一通り学修する。この次期になると、有機化学や生化学に関する知識も身につけているので、固相抽出や酵素反応、ELISAなどの生物学的検定法についても一定の理解ができる。質量分析に関する3回の講義では、EI、FABに加えMALDI、ESI、APCIといったイオン化法を講述するとともに、精密質量数など、基本的な解析方法についても学修する。また、LC/MSでは実例を加え、SIMやタンデム解析などを重点的に講義している。これらに関しては環境分析、ゲノミクス、プロテオミクスといった最先端の情報も提供している。医薬品開発論では医薬品の研究開発のプロセスについ

て開発段階を中心に講義し、研究開発を行う上で最低限必要な知識を修得する。3回生前期では、これまでに学んだことに対し、より実践的な理解を深めるため医薬品試験評価概論が開講される。この講義では、治験薬の品質規格や治験成績に応じた承認評価を理解できることを目的としている。またグローバルな視点で医薬品開発に参画できるようになるために、日、米、EUの三極における薬事制度や審査承認制度の違いについて、いくつかのテーマを設定してスモールグループディスカッションを実施している。また、この他にも3回生後期には生体成分分析化学、薬物動態学といったバイオアナリシスに直結する講義も設定されている。このように講義形式の授業に関しては、実際の研究室配属が始まる3年後期までの期間に計6つの講義が実施されているためバイオアナリシス、バリデーションなどは一通りの知識として身につけている。しかし、実習、あるいは基礎研究などを含め、実務的な操作は各研究室に委ねられているためバイオアナリスト、すなわち実際にバイオアナリシスの操作が行える分析技術者の養成の観点から、学生がどの程度を理解しているかについては、今後、調査していかねばならない。

5. おわりに

日本のバイオアナリシス業界は、JBF設立により、ますます発展していくことが予想される。大規模病院などの医療機関では、日常的に薬物動態解析が実施されており、その測定データはそれぞれの病院に蓄積されている[8]。倫理面の問題をクリアすることにより、これらのデータを規格化し、データベース化することで、今後開発される新たな医薬品の体内動態を解析する上での参照となるなど、有効に利用されることが期待される。JBF運営委員会は、産官学のバイオアナリシス関係者により構成されているが、この中で大学がバイオアナリシスに果たす役割はバイオ医薬品分析技術者の養

成であり、規制当局やメーカーとは異なる、大学にしかできない独自の役割が求められる。このためにもバイオアナリシス、バリデーションなどの講義を充実させることはもちろんのこと、今後は、実際にバイオアナリスト養成に関する具体的なプログラムと達成目標の作成が必要となってくるのではないかと考える。一方、「薬」という医療上もっとも重要な物質を評価するための学問として位置づけられるべき、「薬品分析化学」という学問領域は、多くの国公立大学をはじめ私立大学薬学部においても、最先端の研究領域に特化した学問として位置づけられる名称に変わりつつあるか、既に変更されてしまっているようにみえる。筆者らは、そのような最先端の研究領域の価値を高く評価するが、一方で、薬系企業や公的機関などで日常的に実施されている独創性には乏しいが、バイオアナリシスの基盤となる基礎的で地味な日常分析に必要とされる基本的な知識と技術を大事にする姿勢が求められるのではないだろうか。

引用文献

- [1] 「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ガイドライン」について 別添
http://www.pmda.go.jp/kijunsakusei/file/guideline/new_drug_non-clinical/iyaku-yakubutsunouido_guideline.pdf
- [2] Togashi, K. *Chromatography*. **2012**, 33, 2, 107-112
- [3] Kurokawa, T. *Pharm. Tech. Japan*. **2012**, 28, 3, 487.
- [4] Katori, N. *Pharm. Tech. Japan*. **2012**, 28, 3, 501-503.
- [5] Tachiki, H. *Pharm. Tech. Japan*. **2012**, 28, 3, 505-507.
- [6] 大津善明. *ぶんせき*. **2012**, 1, 52.
- [7] 掛樋一晃. *第20回クロマトグラフィーシンポジウムワークショップ*. **2013**, 81-88.
- [8] 佐藤玲子. *第20回クロマトグラフィーシンポジウムワークショップ*. **2013**, 13-27.