

ゼロから学ぶ

# 分析法 バリデーション

Validation of Analytical Procedures

[著] 香取典子



じほう

## はじめに

今ラボで分析法を使っている方も、これから使おうとしている方も、分析法が「使える」状態になるまではいくつかの手順が必要なことはご存じでしょう。そこには、何を分析するのか、何を使って分析するのか、誰が分析するのかなどを決め、数段階のステップを経て実際の分析が行われます。今手元にあるサンプルをまさに分析しようとしているとき、誰かがあなたの肩をポンポンとたたき「その分析法、大丈夫ですか？」と聞かれたとしましょう。分析法バリデーションはその問いに答えるための手段なのです。

分析法バリデーションが特に重要視されるのは医薬品の承認申請のときです。承認申請に関してはすでに国際調和された ICH ガイドラインがあり、申請資料には ICH Q2 ガイドラインに従って行われた分析法バリデーション結果を必ず付けます。また、申請時には分析法バリデーション結果だけでなく、分析法をどのように開発し最終化したかなどの開発の経緯もある程度盛り込まれます。また、ご存じのように長い医薬品開発期間の途中には何度か分析法の変更が含まれる場合が多いのですが、それらの変更時にも必要な手順を踏んで変更後の分析法がちゃんと使えることを証明しなくてはなりません。ここでもまた分析法バリデーションが必要になってきます。現在では、こうした長い時間を経て分析法をメンテナンスしながら使い続けることを分析法ライフサイクルと呼ぶようになりました。困った事象にその都度対応するよりも、体系的に起こりうるリスクへの対応をあらかじめ決めておけば、開発した分析法を末永く使うことが可能になります。このライフサイクルの考え方を盛り込んだ ICH Q14 ガイドラインが新設されます。

本書で皆さんに説明する内容は、分析法バリデーションとは何か、分析法の開発とライフサイクル、分析法のリスクマネジメントについてです。ICH ガイドラインを中心にして説明しますが、一般的なラボでの分析にも役立つように身近な例をあげてみました。また、分析法バリデーションで要求されているデータの統計学的な背景については Appendix に詳しく説明しましたので参考にしてください。

2023年7月

香取 典子

なお、本書は、ICH Q2 (R2) step2 の意見募集に使われた文章をもとに執筆していることにご留意ください。

# 目次

<b>【本編】</b> .....	1
<b>I. 分析法バリデーションとは</b> .....	2
1. 分析法バリデーションの目的 .....	2
2. 分析法バリデーションの適用と種類 .....	3
3. 分析法バリデーション後の適格性 .....	4
<b>II. 分析能パラメータ (Performance Characteristics)</b> .....	6
1. 真度 (Accuracy) .....	7
2. 精度 (Precision) .....	10
(1) 精度の種類 .....	10
(2) 精度評価のポイント .....	11
3. 特異性・選択性 (Specificity・Selectivity) .....	13
4. 報告値範囲 (Reportable Range) .....	15
5. 稼動範囲 (Working Range) .....	16
(1) 検量線 (Calibration Curve) .....	17
(2) 下限値 (DL・QL) .....	21
<b>III. 分析法バリデーションに関する公的文書</b> .....	25
1. ICH Q2 ガイドライン .....	25
(1) Q2 改訂に伴う主な変更点 .....	26
(2) 付属書の役割 .....	29
2. ICH Q14 ガイドライン .....	29
(1) 成り立ちと目的 .....	29
(2) 分析法の開発からバリデーションに至るまで .....	35
(3) 分析法のリスクマネジメントと管理戦略 .....	36
(4) 頑健性 .....	38
(5) 多変量解析による定量 .....	39
3. 日本薬局方 .....	40

**Appendix** ..... 43

1. 統計学の基本的解説	43
(1) 記述統計	43
(2) 推測統計	46
2. 分散分析による精度の評価	53
3. 多変量解析を用いた NIR による有効成分含量の測定例	56

**用語解説** ..... 59

**【資料編】** ..... 69

・ ICH Q2 (R2) 分析法バリデーションガイドライン (案)	70
・ 第十八改正日本薬局方第一追補	
一般試験法 2.00 クロマトグラフィー総論	101
参考情報 システム適合性 〈G1-2-181〉	122



## Column

たかが用語されど用語	9
真の値のミステリー	15
確認試験と PIC/S	16
「見えない世界」のおはなし	21
似て非なる「分析誤差」と「不確かさ」	24
QbD は医薬品品質を向上させるのか?	32

# 本編

- I. 分析法バリデーションとは
- II. 分析能パラメータ (Performance Characteristics)
- III. 分析法バリデーションに関する公的文書

Appendix

用語解説

## 2. 分析法バリデーションの適用と種類

分析法バリデーションは、特に医薬品の申請や認証（GLP、GMPなど）に関わる分析に必須ですが、それ以外の場合でも分析法が信頼できることを証明するために行われます。

### Point

「分析法」という言葉は、高速液体クロマトグラフィー、質量分析法、蛍光分析法など、分析方法（技術）を指す場合もあれば、純度試験や溶出試験といった試験法を指す場合もあり、かなり広い範囲を含む言葉です。しかしICH Q2の分析法バリデーションで用いられる「分析法」という言葉は、英語の Analytical Procedureの訳で、採取されたサンプルを前処理して測定用の試料とし、分析してデータを得るまでの過程を指します。むしろ「分析手順」という言葉が最も適しているかもしれませんが、ここでは「分析法」はICH Q2の定義のとおりとし、単なる分析技術や試験法の判定を含むケースは含めないこととします。

分析法バリデーションが行われるのは、主に以下の場合です。

- 分析法バリデーション（Validation of Analytical Procedures）
  - ✓ 新規に分析法を開発したとき
  - ✓ 新規の物質を分析するとき
- 再バリデーション（Revalidation）
  - ✓ 特定の測定対象物質に対して原理の異なる分析法を新たに適用するとき
  - ✓ 試験検査室を変更するとき
  - ✓ 試験法の一部を変更するとき
  - ✓ 測定対象物質の製造方法や入手先を変更するとき

上記のすべての場合にフルバリデーション（全項目を行うバリデーション）が必要となるわけではなく、新規の分析法や物質の分析法を新たに開発した場合以外、すなわち再バリデーションのほとんどは、変更の度合いに応じて部分的バリデーションが行われます。再バリデーションには主に以下の種類があります。

- フル・再バリデーション（Full Revalidation）
  - 新規の分析法、新規の物質、システムの大きな変更時等に行う。
- 部分的再バリデーション（Partial Revalidation）

表 1. 代表的な分析能パラメータおよび関連する製品品質特性のバリデーション実験 (ICH Q2 (R2) より)

分析能パラメータ (2)	製品品質特性	確認試験	不純物 (純度試験) その他の定量的測定 (1)		定量法 含量/力価 その他の定量的測定 (1)
			定量的	限度	
特異性 (3) 特異性試験		+	+	+	+
稼働範囲					
検量モデルの適格性		—	+	—	+
下限値の検証		—	QL (DL)	DL	—
真度 (4) 真度試験		—	+	—	+
精度 (4)					
併行精度		—	+	—	+
室内再現精度		—	+ (5)	—	+ (5)

- (1) その他の定量的測定は、稼働範囲下限値が検出限界または定量限界付近にある場合、純度試験の列に従うことができる。それ以外の場合は、定量法の列に従うことが望ましい。
- (2) 物理的・化学的性質を測定する分析法によっては、分析能パラメータの一部は分析技術固有の妥当性または適格性で確認できる場合がある。
- (3) 真度と精度を別々に評価する代わりに、組み合わせ手法を使用してもよい。
- (4) 分析法が特異性に欠ける場合には、関連する他の分析法によって補うことができる。
- (5) 室内再現精度および室内再現精度は、一連の試験で評価することも可能である。

### 1. 真度 (Accuracy)

真度 (Accuracy) とは、分析結果が真の値にどのくらい近いかを示す値のことで、Truenessともいいます。定量的な分析法は大きく分けて「ばらつき」と「偏り」で評価されますが、真度は偏りを示すための尺度です。いくら分析法のばらつきが小さくても偏りが大きい分析法は使いものになりません (図 1)。

真度は分析法の実測値と理論値とを比較することによって示されます。具体的には次のような方法が使われます。

#### ● 標準物質の理論値との比較

医薬品の原薬など単一組成の物質の定量を行う場合などは、含量既知の標準物質と比較します。標準物質が入手できる場合は、理論値と測定値を比較することによって真度が評価できます。

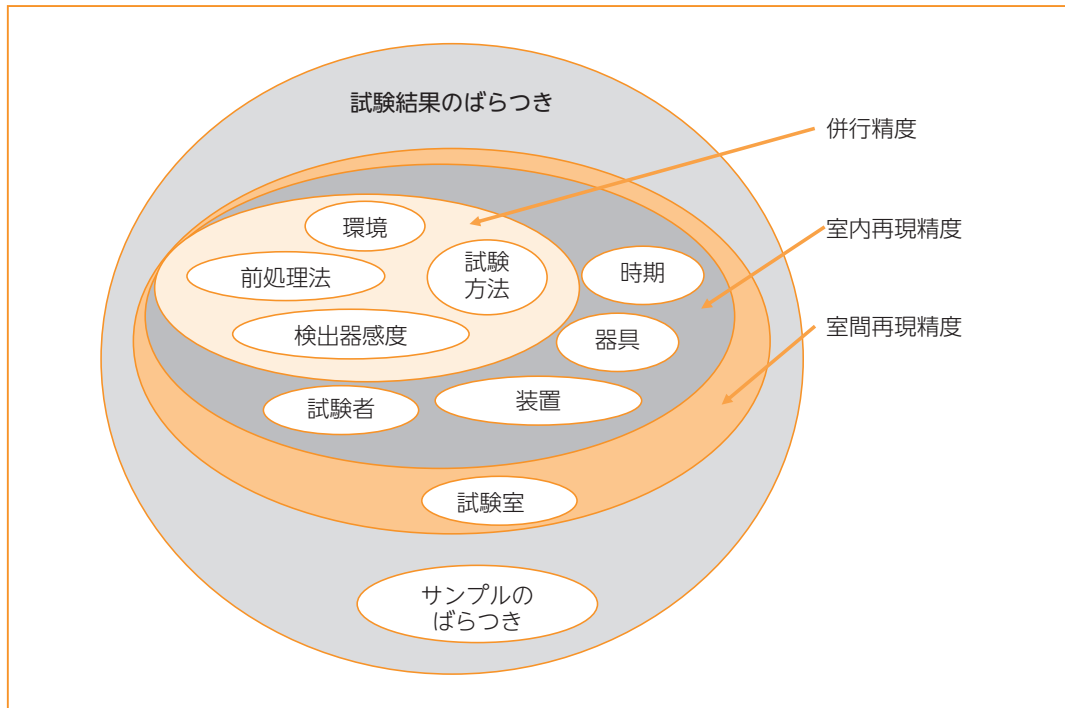


図 2. 試験結果のばらつきと精度の種類

1回の分析は試験者、装置、試薬、試験日（複数日の場合もある）が同一で、通常は同じ検量線を用いる1分析処理（Analytical Run）で行い、要因を変更しながら必要な回数繰り返します。

### ● 室間再現精度 (Reproducibility)

施設（試験室）を変えて繰り返し分析するときの精度のことです（図2の濃いオレンジ色の部分）。多施設で使用される公定法などは室間再現精度を評価します。

室間再現精度はICH Q2ガイドラインでは審査資料に必須とされていませんが、グローバル開発や外部委託などで多施設での分析が予定されている場合は含めることを考慮してもよいと思います。

### (2) 精度評価のポイント

これらの精度を評価する場合のポイントは以下のとおりです。

- 適切な“ばらつきの因子”の検討
- 適切に均質とされた検体
- 適切な試験の水準数と十分な繰り返し回数



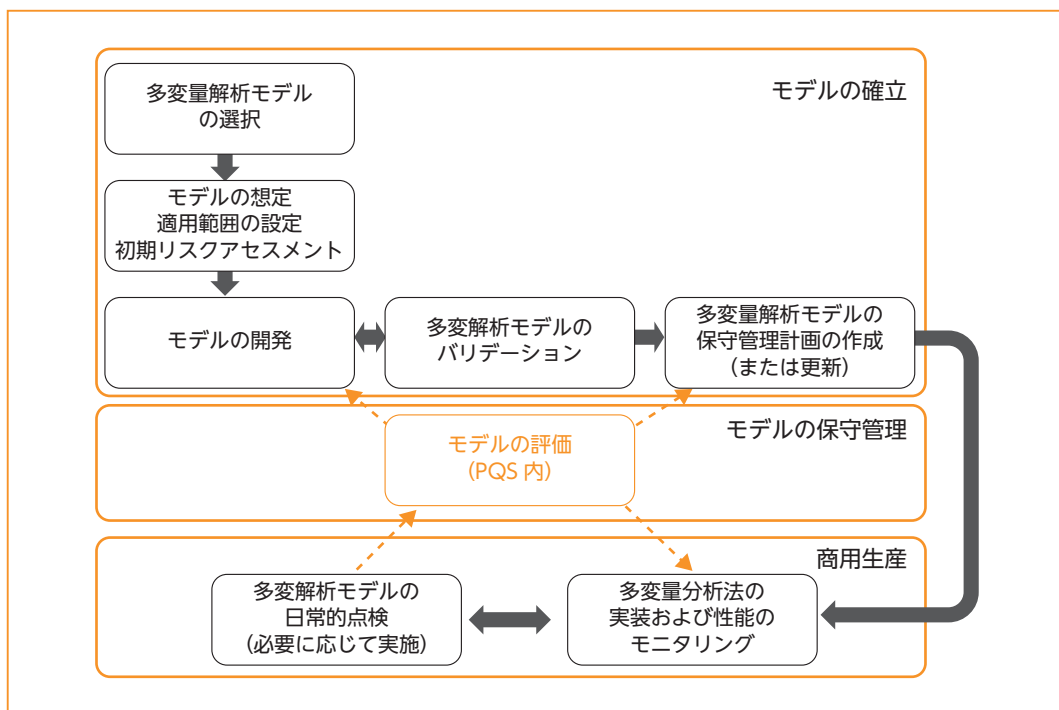


図 16. 多変量解析モデルのライフサイクル

### 3. 日本薬局方

2022年12月に出版された日本薬局方第18改正第一追補 (JP18-1)<sup>2)</sup> には分析法バリデーションに関する以下の3項目の参考情報が記載されています。

- 分析法バリデーション (G1-1-130)
- システム適合性 (G1-2-181)
- クロマトグラフィーのライフサイクル各ステージにおける管理戦略と変更管理の考え方 (クロマトグラフィーのライフサイクルにおける変更管理) (G1-5-181)

「分析法バリデーション (G1-1-130)」は第13改正のときにICH Q2ガイドラインをほぼそのまま取り込んだもので、内容はICHガイドラインと差はありません。

「システム適合性」に関する記載は、ICH Q2ガイドラインにはほとんど記載がなく、Q14ガイドラインに分析法管理戦略の一部として書かれていますが、内容は実施例が中心です。したがって、日本薬局方のシステム適合性が唯一の公的な詳しい解説になります。このシステム適合性はJP18-1で改訂され、「3. 分析システム変更時の考え方 (分析システム変更時の管理)」が削除されました。理由はクロマトグラフィーの国際調和案「クロ

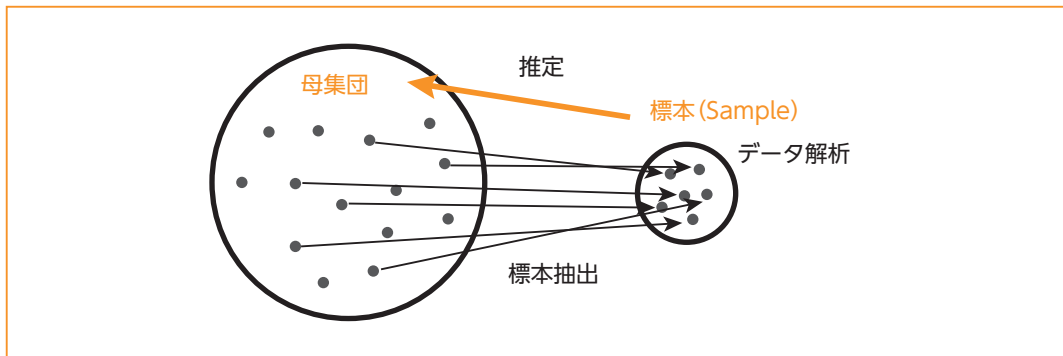


図 a4. 母集団と標本 (Sample)

われわれが知識・情報を得たいと考えている対象の全体を母集団 (Population) と呼び、母集団から抽出された一部分を標本 (Sample) と呼ぶ。

ルから元の母集団の特性を推測することが目的です (図 a4)。母集団の特性をパラメータ (Parameter) または母数といいますが、例えば正規分布のパラメータは平均 ( $\mu$ ) と分散 ( $\sigma^2$ ) です。サンプルから得られた統計量, 例えば平均や分散は単にデータの要約ではなく、このパラメータの推測値です。そして得られた統計量で母集団の特性を捉えるためには次のような事柄が重要です。

- ① 中心極限定理
- ② サンプルとしての特性
- ③ 点推定と区間推定
- ④ 正規分布しない場合

これらについて簡単に解説します。

### ① 正規分布と中心極限定理

分析誤差を統計学的に取り扱おうとするとき、とりあえず「正規分布を仮定する」というのが一般的なお作法です。しかしなぜ正規分布なのでしょう？

この疑問に答えるには中心極限定理を理解しないといけません。中心極限定理とは元のデータの分布がどんなに特殊な分布であっても、 $n$ 個のデータの平均または合計の分布は  $n$ が十分に大きければ正規分布に近づくという法則です。また  $n$ を大きくすればするほど次第に正規分布に近づく大数の法則があります (図 a5)。分析誤差のように、さまざまな影響が誤差として累積されたものの分布は、正規分布すると考えられます。

正規分布はまたガウス分布とも呼ばれ、次の確率密度関数で表されます。

# 資料編

ICH Q2 (R2) 分析法バリデーションガイドライン (案)

第十八改正日本薬局方第一追補

一般試験法 2.00 クロマトグラフィー総論

参考情報 システム適合性 〈G1-2-181〉

※文字のフォントや図表の色等、元の資料と差異がある場合がありますので、  
必要な場合には原本をご参照ください。

## ICH Q2 (R2) 分析法バリデーションガイドライン (案)

### 目次

- 1 はじめに
- 2 適用範囲
- 3 分析法バリデーション評価
  - 3.1 分析法のライフサイクルにおけるバリデーション
  - 3.2 報告値範囲
  - 3.3 安定性の指標となる特性 (Stability indicating properties) の実証
  - 3.4 多変量分析法についての留意点
    - 3.4.1 対照分析法
- 4 バリデーション実験, 実施方法及び評価
  - 4.1 特異性/選択性
    - 4.1.1 妨害がないこと (Absence of interference)
    - 4.1.2 直交する分析法との比較
    - 4.1.3 分析技術固有の妥当性評価
    - 4.1.4 推奨されるデータ
      - 4.1.4.1 確認試験
      - 4.1.4.2 定量法, 純度試験及び不純物試験
  - 4.2 稼働範囲
    - 4.2.1 レスポンス
      - 4.2.1.1 線形レスポンス
      - 4.2.1.2 非線形レスポンス
      - 4.2.1.3 多変量検量
    - 4.2.2 下限値のバリデーション
      - 4.2.2.1 シグナル対ノイズ比に基づく手法
      - 4.2.2.2 線形レスポンスの標準偏差と検量線の傾きに基づく手法
      - 4.2.2.3 下限値における真度及び精度に基づく手法
      - 4.2.2.4 推奨されるデータ
  - 4.3 真度及び精度
    - 4.3.1 真度
      - 4.3.1.1 標準物質との比較
      - 4.3.1.2 添加試験
      - 4.3.1.3 直交する分析法との比較

- 4.3.1.4 推奨されるデータ
- 4.3.2 精度
  - 4.3.2.1 併行精度
  - 4.3.2.2 室内再現精度
  - 4.3.2.3 室間再現精度
  - 4.3.2.4 推奨されるデータ
- 4.3.3 真度と精度を組み合わせる評価する手法
  - 4.3.3.1 推奨されるデータ
- 4.4 頑健性
- 5 用語集
- 6 参考文献
- 7 付属書 1 バリデーション実験の選択
- 8 付属書 2 分析技術の事例

## 1 はじめに

本ガイドラインは、ICH加盟地域の規制当局に提出される製造販売承認申請資料の一部として含まれる分析法のバリデーションにおいて考慮すべき要素に関して記載したものである。Q2 (R2) には、各分析法について種々のバリデーション実験をどのように導き、評価するかに関する指針及び推奨事項が記載されている。本ガイドラインは、用語及び定義集でもある。ここに示した用語及び定義によって、ICH加盟地域の規制当局の種々の公式文書や規制の間にしばしば存在する相違点を埋めることが期待されている。

分析法バリデーションの目的は、医薬品の試験に用いる分析法が、使用される意図にふさわしいことを立証することにある。一般的なタイプの分析法に適用できる分析能パラメータは、表1にまとめられている。分析法のバリデーション評価の実施方法については、より一般的なガイダンスを示す。

本ガイドラインは、承認申請添付資料に記載すべきデータを示す。分析法バリデーションのデータは、ICH M4Q「新医薬品の製造販売の承認申請に際し承認申請書に添付すべき資料の作成要領について」に従って、承認申請添付資料の対応する項に記載すること。分析法バリデーション中に収集した全ての関連データ（及び分析法バリデーションの結果の算出に用いた全ての方法）を提出し、使用目的に対する分析法の適切性を確立すること。なお、バリデーションデータの代わりに、分析法開発時に得られた適切なデータ（ICH Q14参照）を用いてもよい。確立されたプラットフォーム分析法を新たな目的に用いる場合、科学的な妥当性があれば、バリデーション実験の実施を省略してもよい。

本ガイドラインに記載されている以外の手法も、科学的根拠に基づいた適切な理由があれば適

## あとがき

この本は、分析法バリデーションを学ぶ上で最初に知っていてほしいものについて簡潔に書きました。例えば、ICH Q2 ガイドラインを読むにあたって、知っておくと理解が容易になる最低限のところを目標にしました。もちろんこの内容だけで分析法バリデーションがすべて身につく訳ではありませんが、全体像を掴んでいただける一助になるのではないかと思います。

ICH ガイドラインの目的は、医薬品規制の国際間の障壁をなくし、医薬品開発から申請への移行がスムーズにでき、よりよい医薬品をより早く患者様の元に届けることです。その医薬品開発において、申請データを生成させる分析法に対する信頼は必須です。また、申請後も分析法は変更や移管といった波をくぐり抜けながら使い続けられます。このような分析法のライフサイクルのなかで、分析法バリデーションは開発当初だけでなく時に応じて必要となります。

本書では、分析法の開発とライフサイクルをカバーする ICH Q14 ガイドラインについては詳しく書きませんが、言うまでもなく開発しない分析法はバリデーションもあり得ません。Q14 についてもぜひ理解していただきたいと思います。

この本を書くにあたり、国立医薬品食品衛生研究所において長年ご指導いただきました鹿庭なほ子先生に深く感謝いたします。また、私の前任者であり ICH Q2 (R2)・Q14 のラポーターとしてガイドラインの作成に携わられた檜山行雄先生には ICH ガイドラインについて基本的な方向性をお教えいただき、誠にありがとうございました。また、出版について機会をいただき、励していただきました橋都なほみ様には深く感謝いたします。

2023 年 7 月

香取 典子