



DG2023-60
ADA測定の
ライフサイクルマネジメント



DG members

Name	Company
大塚 之博 <i>Tomohiro Otsuka</i>	積水メディカル株式会社 <i>Sekisui Medical Co., Ltd.</i>
小島 知子 <i>Tomoko Kojima</i>	株式会社サンプラネット <i>Sunplanet Co., Ltd.</i>
中沢 庸徳 <i>Tsunenori Nakazawa</i>	第一三共株式会社 <i>Daiichi Sankyo Co., Ltd.</i>
新村 彩絵 <i>Sae Niimura</i>	株式会社新日本科学 <i>Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.</i>
羽成 優 <i>Suguru Hanari</i>	CMIC, Inc.
福田 幸祐 <i>Kosuke Fukuda</i>	住友ファーマ株式会社 <i>Sumitomo Pharma Co., Ltd.</i>
森原 元彦 <i>Motohiko Morihara</i>	小野薬品工業株式会社 <i>Ono Pharmaceutical Co., Ltd.</i>
谷口 由華子 (オブザーバー) <i>Yukako Taniguchi</i>	株式会社新日本科学 <i>Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.</i>

- May 2023
 - ✓ メンバー募集
- 5 Jul 2023
 - ✓ キックオフミーティング
- Jul 2023~Nov 2023
 - ✓ アンケート作成、依頼、集計
- Oct 2023~Jan 2024
 - ✓ アンケート結果を受けてF2Fとメールでの議論
- Oct 2023~Jan 2024
 - ✓ ポスター作成

本発表における資料等に対する調査はDGメンバーがおこなったものである。
正しくは元の資料等を参照されたい。

本DGの目的（背景）

抗薬物抗体 (Anti-drug antibody: ADA) 測定については、これまでも複数のDiscussion Group (DG2014-11、DG2015-18、DG2019-43等) で取り組み方に関する議論がなされ、各社の対応状況が共有されています。

昨年のDG (DG2022-56 LBAのライフサイクルマネジメント)でもADA測定についての調査・議論がなされ、「ADA測定法のライフサイクルマネジメント」への対応の**悩み**が浮き彫りになっています。

ADA測定は非臨床～後期臨床試験/製造販売後臨床試験まで長期に渡って実施されるケースが多く、試薬管理や測定条件の更新等への対応が重要になることから、**本DGではADA測定に関わる事案のうち、特にライフサイクルマネジメントの悩みに焦点を絞り、現状の把握を行いました。**

DGサポーターの皆様にアンケートを実施することにより、実際の対応状況を入力し、その結果を受けてDGとして議論を行いました。

本DGの目的（背景）



Question

そもそも分析法のライフサイクルマネジメントとは？

本DGでは、以下のように定義しました。

分析法の頑健性と性能管理をライフサイクル全体にわたり維持するための戦略

ADA測定は長期に渡るため、開発ステージを通して適切な測定法を準備するためには、前期ステージで確立した分析法の再検討が必要になるケースやリスクアセスメントへの適切な対応のために測定条件の再検証が必要になるケースがある。



本DGではライフサイクルマネジメント対応状況を調査すべく、大きく4項目についてアンケートを実施しました。

1. 重要試薬（被験物質、陽性対照、陰性対照、その他）
2. 測定法バリデーション
3. 患者試料
4. 非臨床ADA

アンケート結果のご紹介

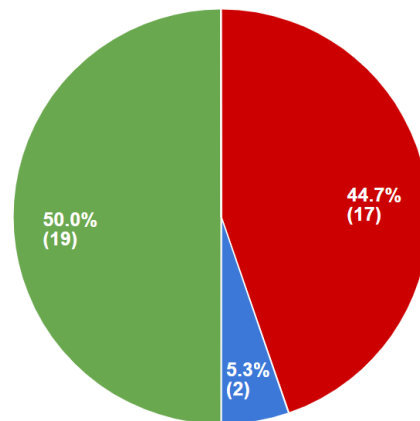
本アンケートは会社単位ではなく個人のお考えに基づきご回答いただきました。回答内容に偏りがあるかもしれませんが、ご参考になれば幸いです。

ご回答いただいた方々の背景

Q1. ご所属を教えてください。

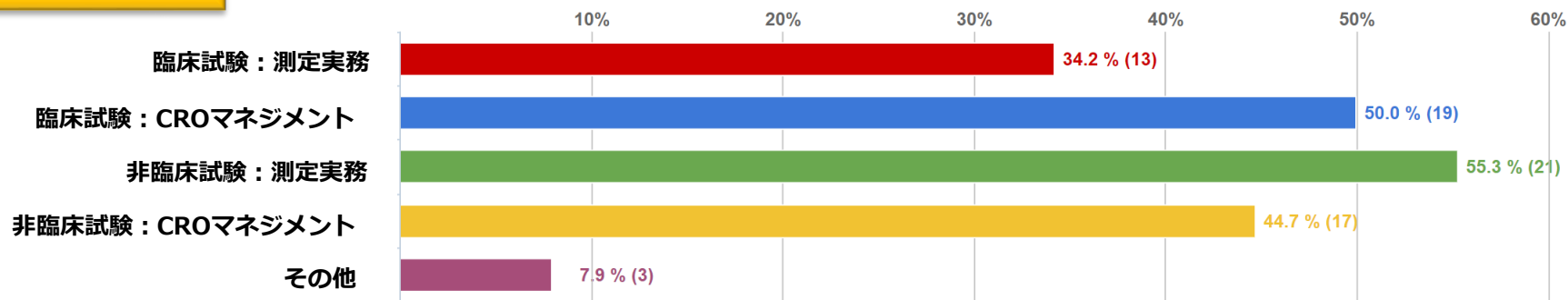
Answered : 38

■ メーカー(内資系) ■ メーカー(外資系) ■ バイオアナリシスCRO



Q2. 主なご担当を教えてください。

Answered : 38

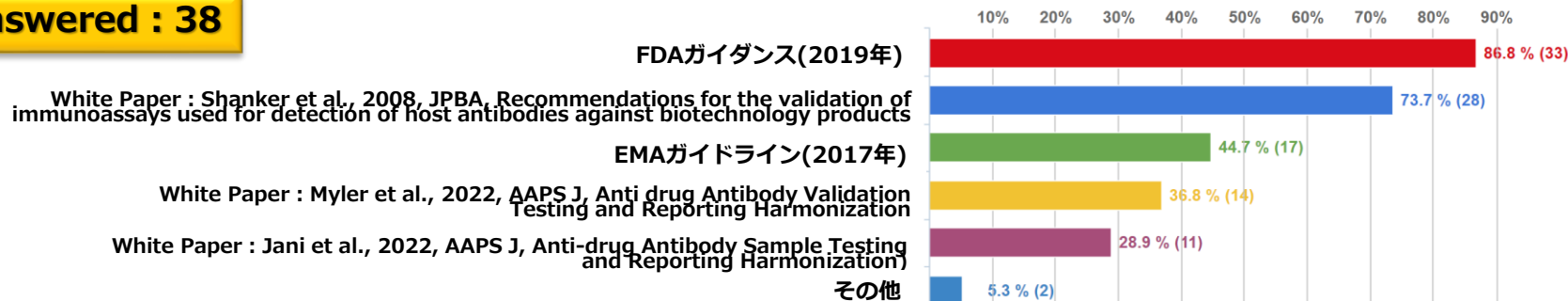


その他 [自由記載] : 非臨床薬物動態試験(1)、非臨床試験 コンサルティング(1)、臨床試験：測定法開発(1)

ご回答いただいた方々の背景

Q3. Anti-drug antibody (ADA)測定実施にあたり、何を参照されていますか？

Answered : 38

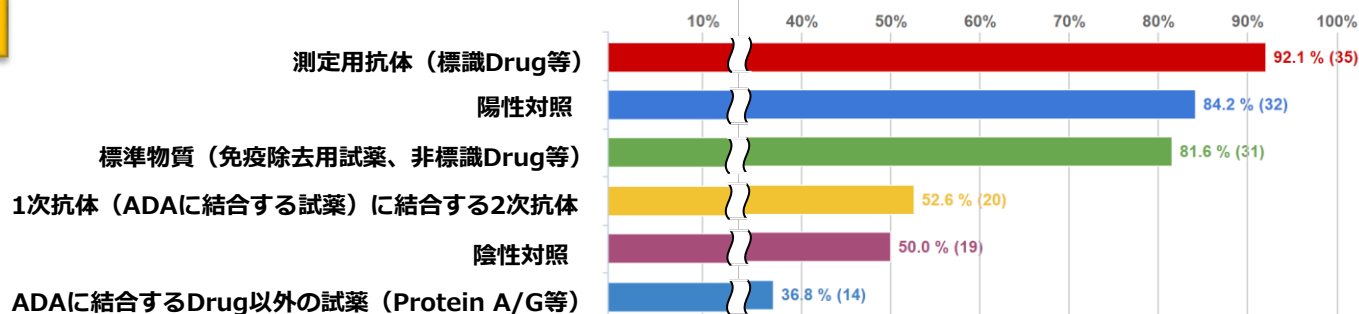


その他 (自由記載) :

- Olsson, J., Rootzén, H., 1996. Quantile estimation from repeated measurements. J. Am.Stat. Assoc. 91 (436), 1560–1565.(1)
- White Paper : Devanarayan et al., 2017, AAPS J, Recommendations for Systematic Statistical Computation of Immunogenicity Cut Points, White Paper : Myler et al., 2023, AAPS J , Neutralizing Antibody Validation Testing and Reporting Harmonization (1)

Q4. まずは、重要試薬についてお聞きします。(Q4-Q54)
次のうちどれを重要試薬として取り扱いますか？

Answered : 38



ご回答いただいた方々の背景 (小括)

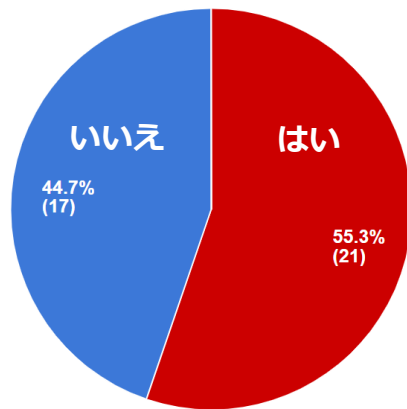
- 38名の皆様にご回答いただきました。
- ご所属はメーカー及びバイオアナリシスCROがほぼ半々、担当業務は臨床・非臨床がほぼ半々と幅広いご経験をお持ちの皆様にご協力いただきました。
- 参照資料について：多くの方が、FDAガイダンス (2019) ^{*1}及びShankerらのWhite Paper (2008) ^{*2} を参照されていました。
 - *1: Guidance for Industry, Immunogenicity Testing of Therapeutic Protein Products Developing and Validating Assays for Anti-Drug for Antibody Detection, FDA, January 2019
 - *2: White Paper: JPBA (Recommendations for the validation of immunoassays used for detection of host antibodies against biotechnology products), Shanker et al., 2008
- 重要試薬について：測定に使用する試薬全てを重要試薬と位置付けている方 と 測定結果に直接関与する試薬 を重要試薬と位置付けている方がいらっしゃいました。



標準物質

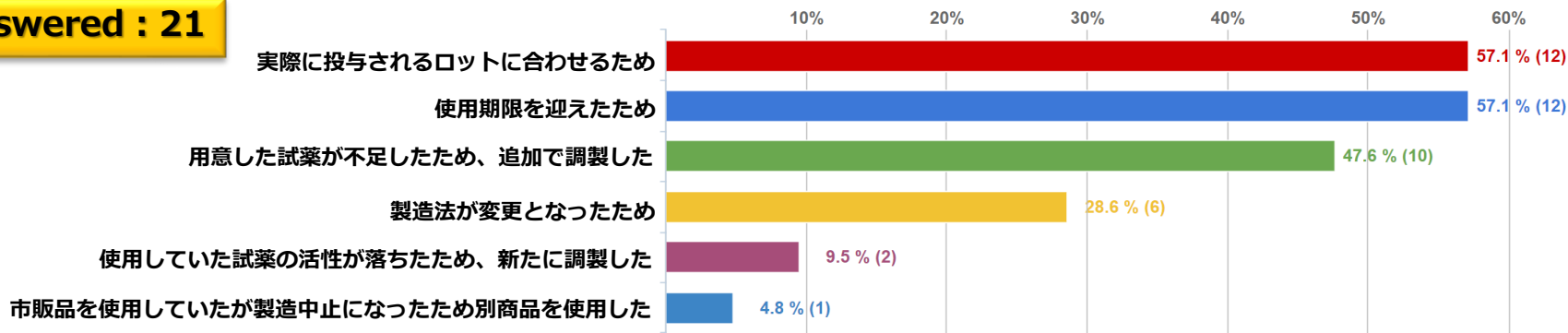
**Q5. 標準物質についてお伺いします。(Q5-Q12)
標準物質のロットが変更となった経験
はありますか？**

Answered : 38



**Q6. (Q5ではいと回答された方)
ロット変更はどのような理由で発生しましたか？**

Answered : 21



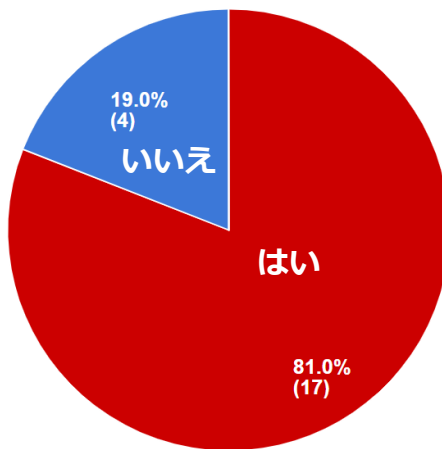
<http://bioanalysisforum.jp/>



標準物質

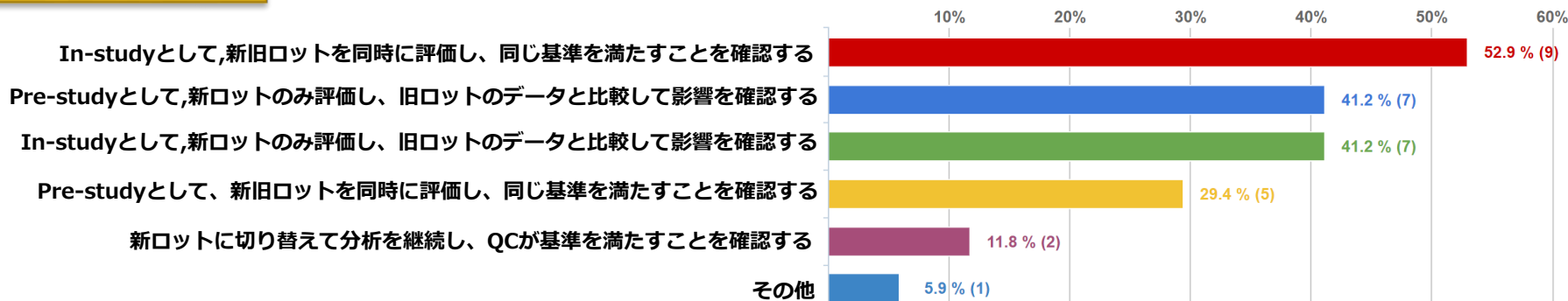
Q7. (Q5ではいと回答された方)
ロット間差の確認 (測定系に及ぼす影響の有無の確認) は実施しましたか?

Answered : 21



Q8. (Q7ではいと回答された方)
どのように確認を実施しましたか?

Answered : 17



その他 (自由記載) :
 バリデーションと異なるロットを実測で使用する場合、In-studyとして、新ロットのみ評価し、QCが基準を満たすことを確認する (1)

Q10. (Q7でいいえと回答された方)
確認を実施しない理由を教えてください。

Answered : 4 自由記載

- 原薬は同じであったため、ロット差を評価しなかった (1)
- 試験成績書により品質面で同等と判断し、ロット差は評価しなかった (4)

Q11.
標準物質のロット間差によるトラブルの経験があれば教えてください。
対処法も合わせて教えていただくと助かります。

Answered : 8 自由記載

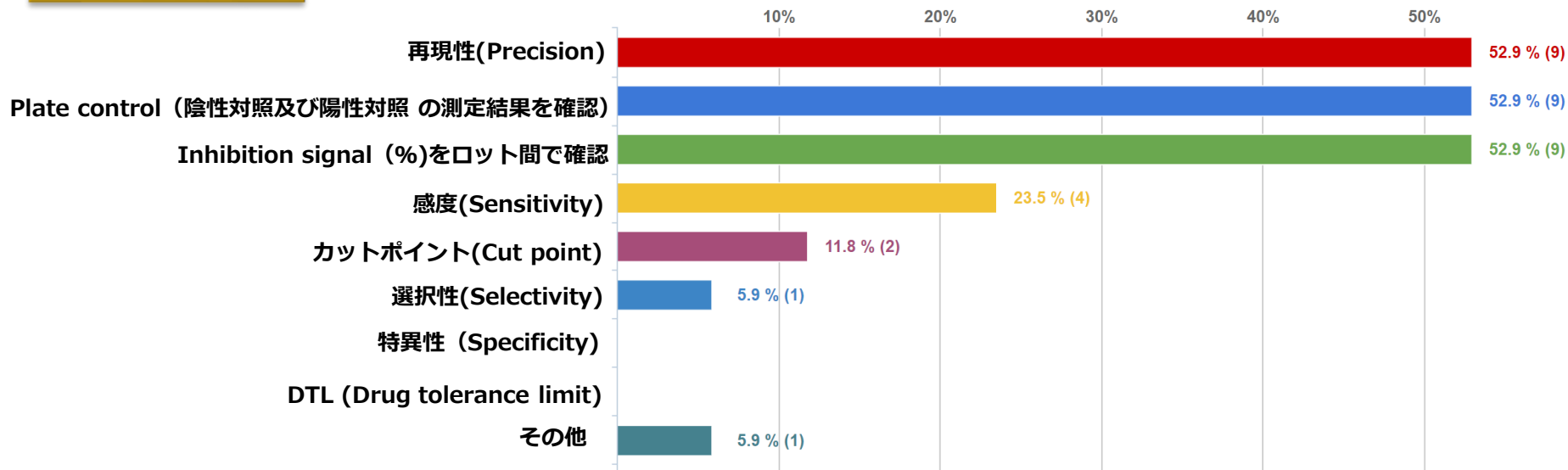
- 幸いにも標準物質のロット間差によるトラブルはこれまでありませんでした (1)
- 標準物質の選定時に数種検討しているからか、その後のロット間差によるトラブルは経験がない (1)
- 新旧ロット間でレスポンスが変化した (1)
陽性陰性判定 (カットポイント) に影響が無かったため対策はしなかった (1)



標準物質

Q9. (Q7ではいと回答された方)
確認項目を教えてください。

Answered : 17



その他 (自由記載) : 新旧QCを調製し、新ロット検量線で定量 (1)

DGXE

- 評価項目として、再現性、Plate control、Inhibition signal を実施しているという回答が多い。
- なお、これら3項目のうち複数を選択されている方が多かったが、1項目 (*) のみを評価するという方もあった。
 *Plate control のみ (3)、Inhibition signal のみ (3)、再現性のみ (2)

<http://bioanalysisforum.jp/>

Q12. 標準物質を取り扱う上で困ったことなどがあれば教えてください

Answered : 8

自由記載

- 薬物濃度測定では純度補正等実施しているが、吸収で用いる標準物質で純度補正が必要か悩むところがある (1)
- 冷蔵保存のものは、室温→冷蔵を繰り返すように元チューブから使用しているか、最初から小分けして活性（結合）が弱くなることを防いでいるか、メジャーな対応を知りたい (1)
- 投与製剤のロットが変更したときに標準物質の取り扱いをどうしているか知りたい（投与ロットごとに標準物質を変更しているか否か等） (1)
- 物によっては定期的に品質試験を繰り返して、申請するまでリテストデートによる保証を継続しなければならない (1)

・室温条件に戻すことで活性が弱くなるのであれば極力冷蔵条件下で使用する方が望ましいですが、室温に戻しても活性に影響がないものであれば、室温→冷蔵保存を繰り返すことでも問題はないと思います。ただし、同一容器からの繰り返し使用はコンタミ等の影響が懸念されるため、最初から小分けして対応することも有用だと考えます。



・投与ロット毎に標準物質を変更しているという回答をされた方もおられ、ADA測定でもPK測定時の標準物質の取扱いにならって対応されている例が認められました。一方で長期試験では複数ロットが同時期に提供されることから、同一被験者に複数ロットが投与されるケースも考えられ、投与ロット毎に標準物質をコントロールすることが難しいのが実状です。このことから、ADA測定で使用する標準品については、確認試験によりロット間で測定系への影響に違いがないことを確認すれば、投与ロット毎に標準物質を変更する対応までは不要だと考えます。



- 標準物質のロット変更を経験されている方は多く、事案発生の主な理由は、**投与ロットに合わせる**あるいは**使用期限を迎えたため**というものであった。
- ロット変更時の確認試験はほとんどの方が実施していたが、一部実施していないという回答も認められた。確認しない理由として、**試験成績書で品質が保証されている** ことなどが挙げられていた。
- 標準品（薬物本体）は、他の重要試薬に比較して高い品質管理がなされていること、ADA測定での標準品の使用用途はDTL評価時の添加物質、Confirmation assay実施時の阻害試薬等であることから、ロット変更時の測定系への影響はあまり懸念していない方が多い傾向があった。

標準物質 (小括：アンケート結果を受けて)

- ADA測定における標準物質取り扱いにおいてトラブルを経験されている方は少ないことから、現状では標準物質の取り扱いは適切に対応出来ていることがうかがえた。
- 各局ガイドラインにも標準物質の取り扱いに関する記載は少なく、ADA測定のライフサイクルマネジメントで注意すべき点はそれほど多くはないと思われるが、その背景としてアンケート結果にある「標準物質は品質が管理されていること」も要因の一つと考えられた。
- 標準物質を投与ロットに合わせるという回答があったが、ICH M10等の各種ガイドランスでPK測定時に留意すべき点としてうたわれており、ADA測定でも適用していることがうかがえた。
- 一方で、ガイドラインには製品のロット変更（製造プロセスの変更等）の際の不純物に対するADAの評価、あるいはバイオシミラー製品での適切なADA評価の実施がうたわれており、標準物質といえども製造法やロット変更に伴う不純物やその組成等の測定系への影響については配慮することが望ましいと考えられる。

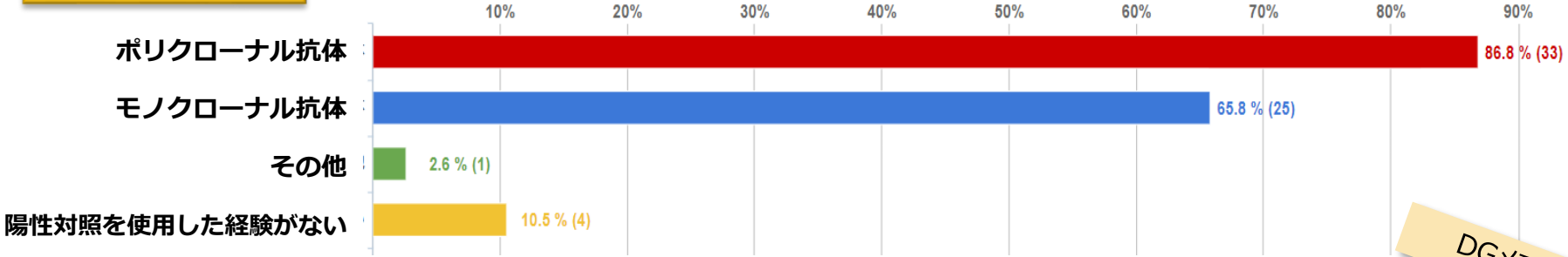




陽性対照

Q13. 陽性対照としてどの試料を使用したことがありますか？

Answered : 38



DG×E

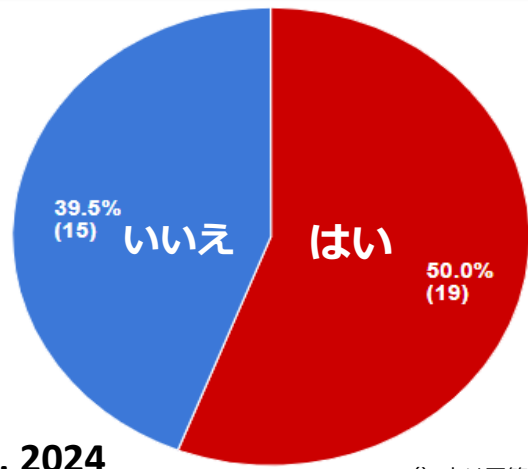
FDAのImmunogenicity Guideline 2019ではポリクローナル抗体の使用が推奨されている。理由は、生体で産生されるADAは実質ポリクローナル抗体であり、実際のADAと全く同じものを標準品（ポジティブコントロール）として準備できない以上、せめて抗体の種類を合わせておくべきという発想である。

Q14. 陽性対照について使用期限を設定していますか？

Answered : 38

DG×E

半数が使用期限を設定。



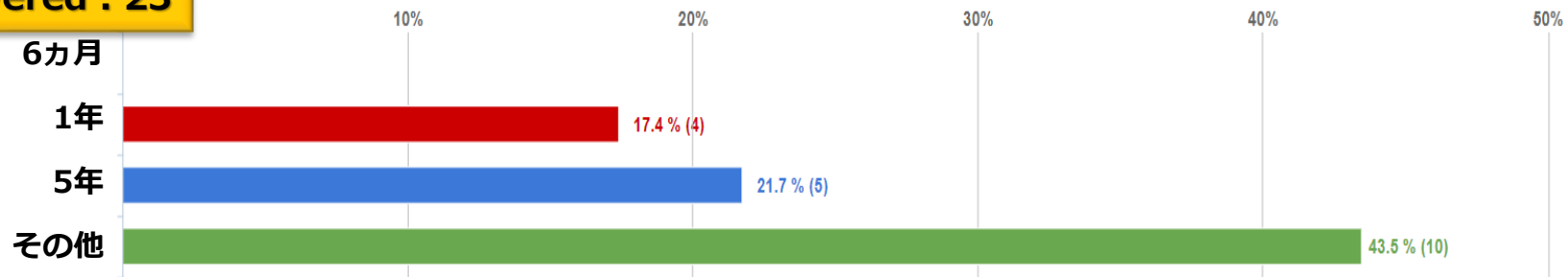
http://bioanalysisforum.jp/



陽性対照

Q15. 使用期限はどの程度の期間ですか？ (Q14ではいと回答された方)

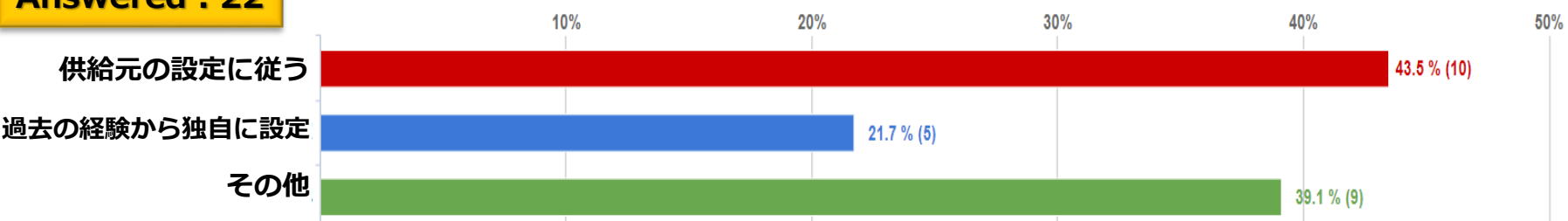
Answered : 23



その他 (自由記載) : 8、10年を設定。

Q16. 使用期限設定の根拠を教えてください。 (Q14ではいと回答された方)

Answered : 22



その他 (自由記載) : 供給元やSOPに従う。または、White Paper 「Ligand Binding Assays in the 21st Century Laboratory: Recommendations for Characterization and Supply of Critical Reagents」 を参考。

http://bioanalysisforum.jp/

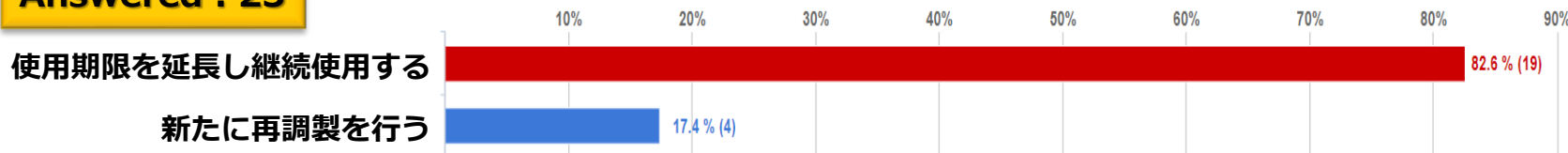


陽性対照

Q17. 使用期限切れが発生した際はどのように対応しますか？

(Q14ではいと回答された方)

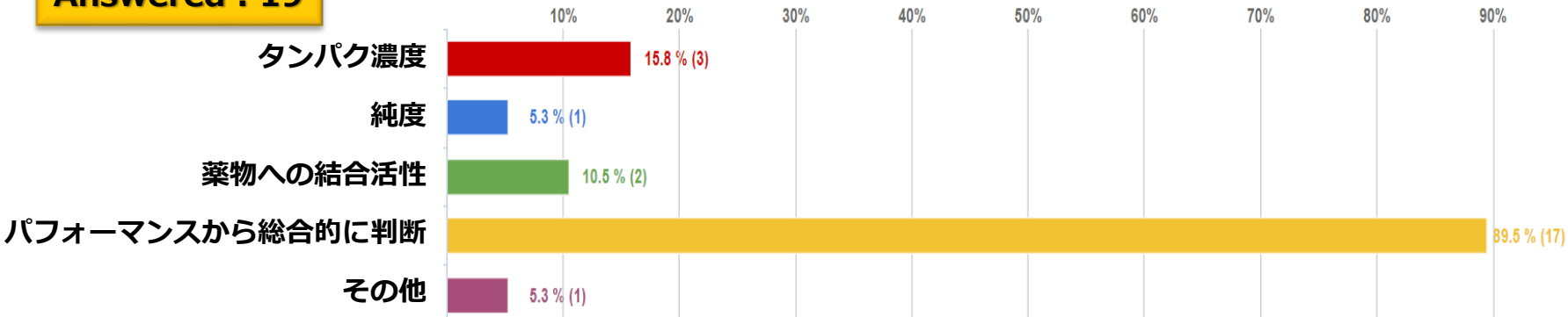
Answered : 23



Q18. 使用期限を延長する際にどの項目を確認しますか？

(Q17で使用期限を延長すると回答された方)

Answered : 19

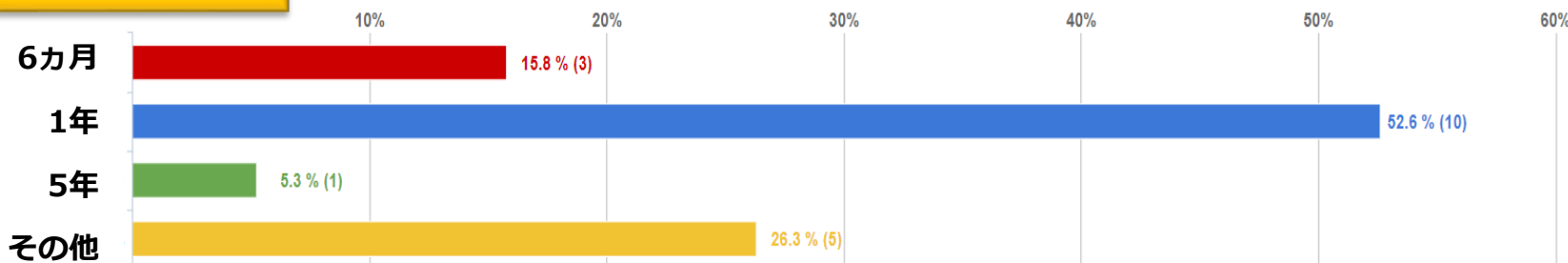


その他 (自由記載) : 経験が無いが、QCを設定し、判断基準を設ける。

http://bioanalysisforum.jp/

Q19. 先に回答した項目の判断基準を満たした場合、使用期限をどの程度延長しますか？ (Q17で使用期限を延長すると回答された方)

Answered : 19



その他 (自由記載) : 2年、10年、供給元の情報に従う。

Q20. 陽性対照のロットを変更した場合、新旧ロットの陽性対照を用いて確認しますか？

Answered : 23

回答 : はい (19) 、その他の回答無し。

White paper 「Anti-drug antibody validation testing and reporting harmonization」では、新ロットのPC (Positive control) の適格性評価を実施し、許容限度値の設定に使用したLPC (Low positive control) と同じレスポンスを維持することを確認すべきであるとしている。

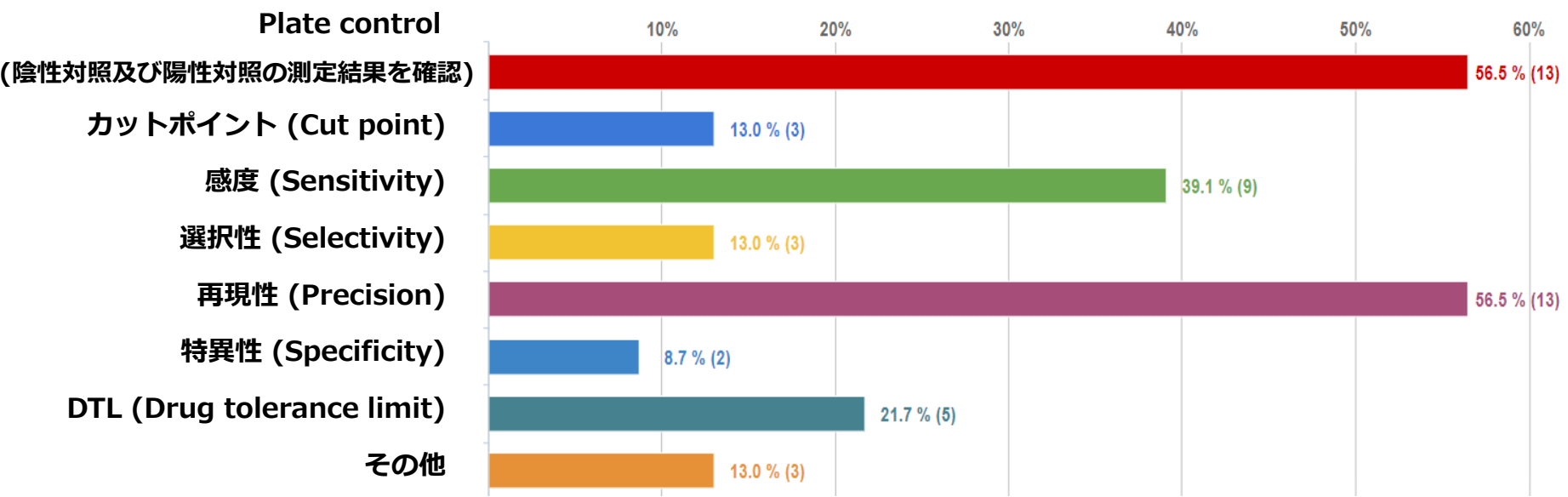
DGxE



陽性対照

Q21. どのような評価項目で確認しますか？ (Q20ではいと回答された方)

Answered : 23



その他 (自由記載) : 経験は無いが、全ての項目を実施。薬剤非添加及び添加時のRLUと阻害率を確認。

DG×E

Plate control及び再現性での評価が半数以上。

http://bioanalysisforum.jp/

Q22. 陽性対照について使用期限を設定しない理由を教えてください。

(Q14でいいえと回答された方)

Answered : 12

自由記載（一部抜粋）：

①反応性を確認しているケース（7）：

- 測定結果から判断するため。
- 使用期限は設定しないが、アッセイパフォーマンスを確認している。
- 不定期に安定性評価を実施する。

②使用期限を設定しない（5）：

- 反応性に変化があったとしても、測定時に陽性と判断されるだけの反応性を持っていれば、問題ないため使用期限は設定しないが、アッセイパフォーマンスを確認している。
- 基本的にIgG等の抗体は適切な保存条件下では長期間安定と考えられるため。
- 小分けして凍結保存しており、一般的に安定と考えて扱っている。

Q23. 陽性対照のロットを変更した際に、新旧ロットの陽性対照を用いて確認しない理由を教えてください。（Q20でいいえと回答された方）

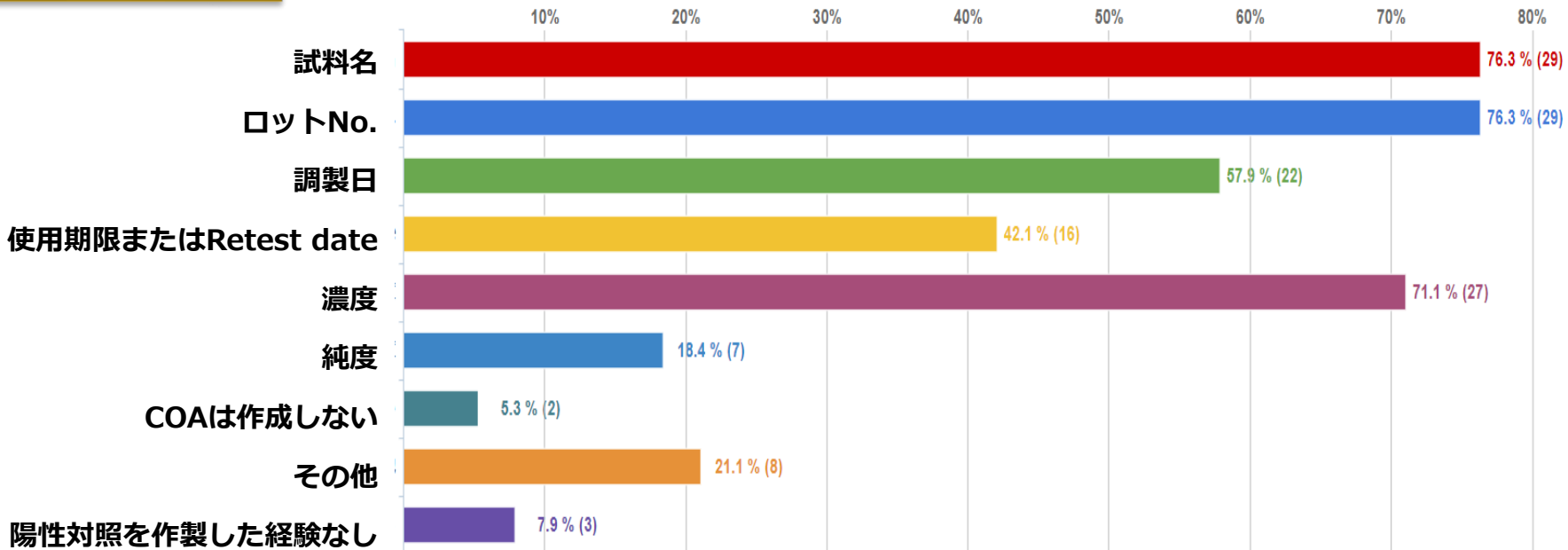
回答無し



陽性対照

Q24. 陽性対照のCOAには何を記載していますか？

Answered : 38



その他 (自由記載) : 保存条件、由来、抗原、精製方法など。

http://bioanalysisforum.jp/

Q25. 陽性対照取得に苦労した経験がありましたら教えてください。

Answered : 15

自由記載（一部抜粋）：

①目的とする抗体が得られなかったケース（8）：

- 抗原が特殊構造で目的とする部位に対し、免疫反応が弱いものしか取得できなかった。
- 陽性対照としてpAbは得られたが、使い物になるmAbは得られなかった。
- 生体試料と交差反応性が高い抗体しか取れない。

②核酸医薬品で抗体が得られなかったケース（4）：

- 核酸医薬品に対するウサギポリクローナル抗体が作製できない。
- 分子量が数千の化合物で、ハプテン化して免疫しても抗体価が上がらないケースがあった。
- PEG化薬物、核酸、ペプチドに対する陽性対照作製において、動物へ免疫しても抗体価が上がらない。

③その他のケース（3）：

- 陽性対照を取得する際、毒性試験前のため免疫の投与量を決定できない。
- 免疫動物の安全性が不明で投与できない。
- 陽性対照の活性が低下し、別ロット品を用いてパーシャルバリデーション試験を実施した。

使用期限を設定しない理由について

- ① 文献や基礎データから一般的に抗体は安定であるという知見に基づいて対応している
- ② 測定時に活性評価を実施し、陽性検体が活性を示せば問題ないとしている
- ③ 使用期限を設定しないものの、定期的あるいは不定期に安定性評価を実施している

といったものがあった。陽性対照が「抗体」であることに加え、ADA測定の目的（生成の有無を半定量で評価）を考慮して対応していることがうかがえた。陽性対照の使用期限の考え方については、個々の薬物の特性に基づいて活性評価を中心に科学的に対応することが現実的と考えられた。



苦労した経験について

多くの方が陽性対照の獲得に苦労している状況が確認できた。モダリティーの多様化に加え、各社そもそもが抗原性の低い薬物の開発を目指しているといった背景もあり、共通の課題となっている。陽性対照の設定の仕方について可能な範囲でノウハウを共有していく環境が整えられれば望ましいと考えられた。



- 今回、陽性対照の使用期限、保存安定性への対応を中心に調査したが、PKとは異なり、測定対象そのものではないこと、抗体であること、さらにはADA測定の目的等から、必ずしも明確な使用期限の設定をせず、パフォーマンスの確認（陽性／陰性評価及びその程度）によって科学的に使用可否を判断しているケースがあることが改めて確認できた。
- また、ADA測定の実施には陽性対照は必須であるが、モダリティの多様性等からその獲得に苦勞している姿が認められた。

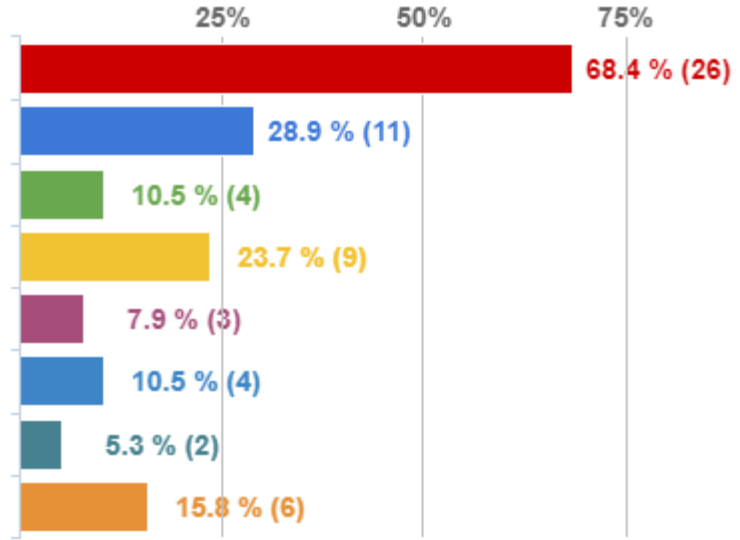


陰性対照

Q26. 陰性対照には何を用品ですか？

Answered : 38

- 個別別健常人試料を購入してプールして使用
- 健常人プール試料を購入して使用
- 治験で採取した健常人試料（投与前検体）をプールして使用
- 個別別患者試料を購入してプールして使用
- 患者プール試料を購入して使用
- 治験で採取した患者試料（投与前検体）をプールして使用
- その他
- 陰性対照使用の経験なし

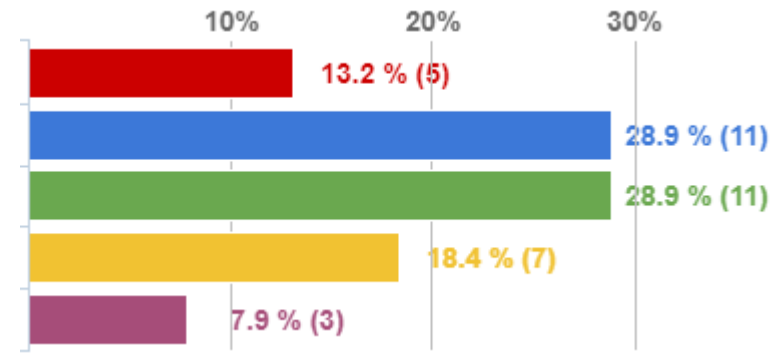


その他（自由記載、一部抜粋）：
 ・ ボランティア採血した個別別健常人試料のプール

Q27. 陰性対照を調製する際に何個体使用しますか？

Answered : 38

- 1~10個体
- 11~25個体
- 26~50個体
- 51個体以上
- その他



その他（自由記載、一部抜粋）：
 ・ プール必要量の個体数
 ・ 50個体以上

Anti-drug Antibody Sample Testing and Reporting Harmonization; White Paper (AAPS J (2022) 24:113)
 ...the lot numbers of the individual matrix samples should be documented...
 上記論文には、個別別試料のロット番号等を記録しておく必要があることが明記されているため、個別別試料をプールする場合は注意が必要。

http://bioanalysisforum.jp

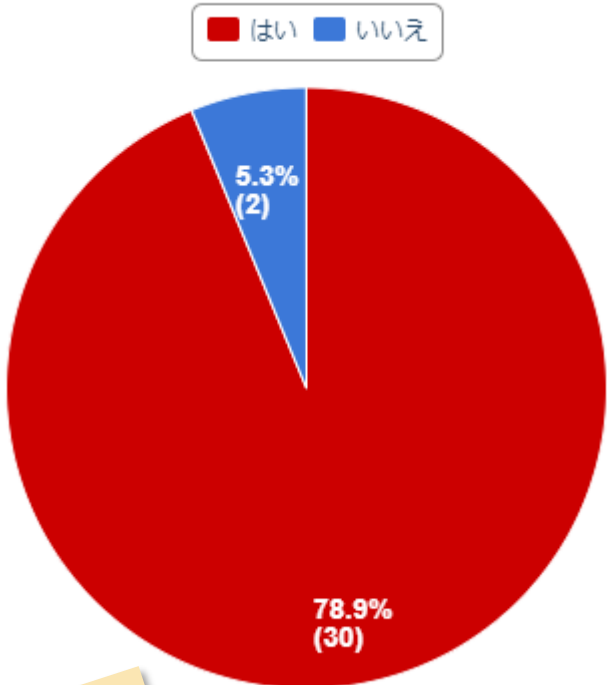




陰性対照

Q28. 陰性対照の調製時に、事前に個体をスクリーニングし異常値となった個体を除外しますか？

Answered : 38



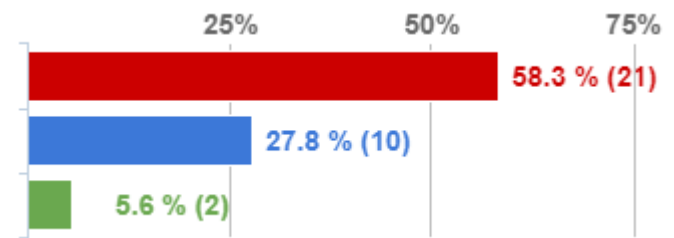
DGXE

陰性対照調製前に何らかの形で異常値を確認し、除外するケースが多かった。

Q29. 個体スクリーニング時の異常値の基準をどのように設定しますか？

Answered : 36

■ 信頼性区間から外れ値を算出 ■ 全個体の傾向から除く個体を判断 ■ その他



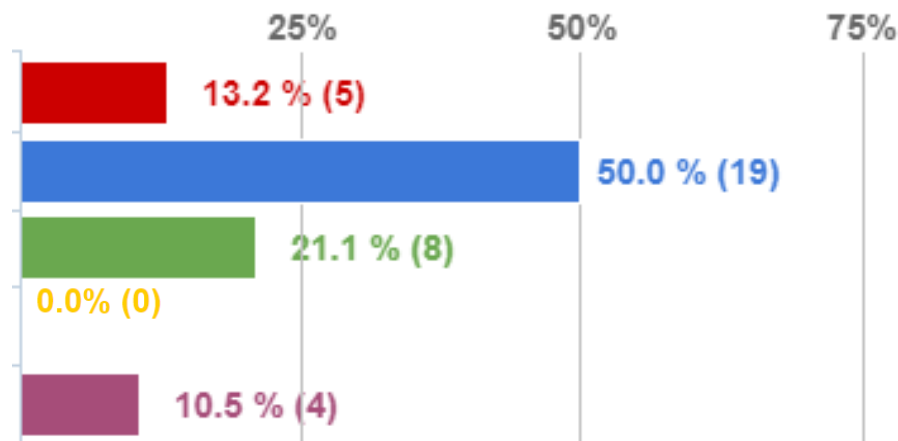
その他（自由記載、一部抜粋）：
 ・ Box-plot法で外れ値を算出
 ・ シグナルの高い個体10%を外して調製する

http://bioanalysisforum.jp/

Q30. 陰性対照はどの程度の量を準備しますか？

Answered : 38

■ バリデーションまで賄える分 ■ Pivotal試験ぐらいまで賄える分 ■ 申請までの試験すべてを賄える分 ■ 製造販売後の試験まで賄える分 ■ その他



その他（自由記載、一部抜粋）：

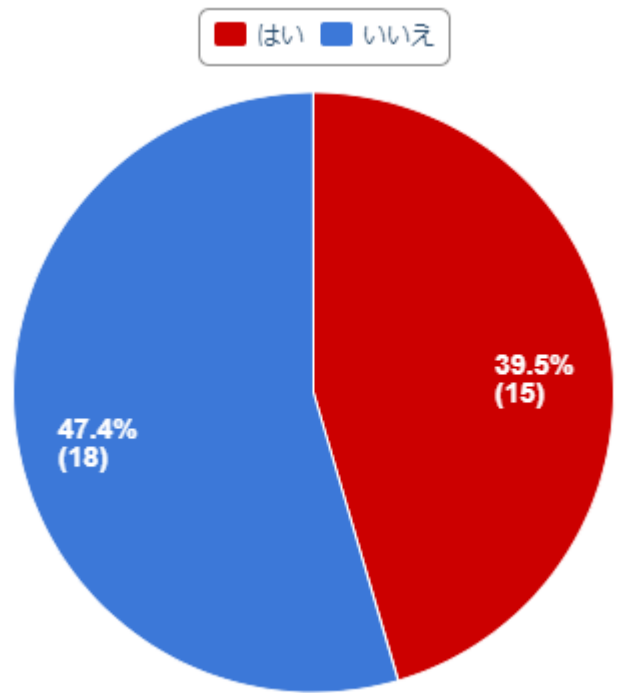
- Enough to cover sample analysis and validation
- どの試験まで賄えるかまで調製時には計算不能。おそらく申請まで賄えると思われる。
- 申請までの試験すべてをまかなえる分を目指しますが、確保できている個別別試料の量で調製できる量を調整します。



陰性対照

Q31. 陰性対照のロットを変更した経験はありますか？

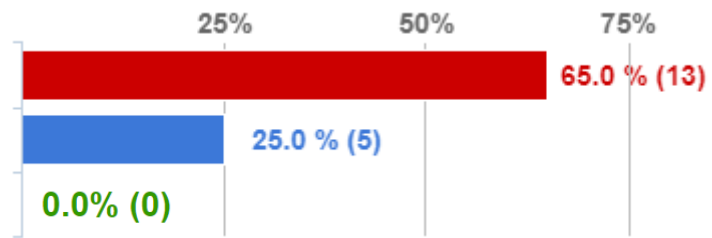
Answered : 38



Q32. ロット変更はどのような理由から行いましたか？

Answered : 20

- 用意した陰性対照が不足したため、追加で調製した
- 使用していた陰性対照の結果に異常が見られたため (高値もしくは低値を示したため)、新たに調製した
- 市販品を使用していたが製造中止になったため別商品を使用した



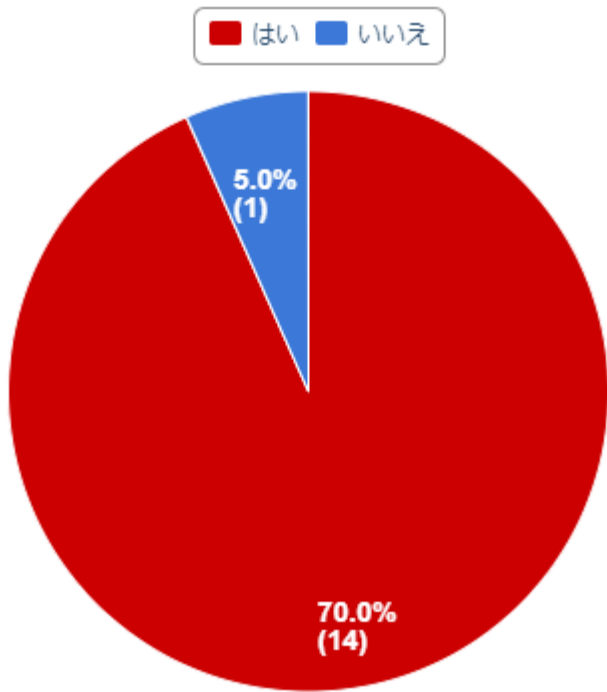
http://bioanalysisforum.jp/



陰性対照

Q33. ロット間差の確認は実施しましたか？

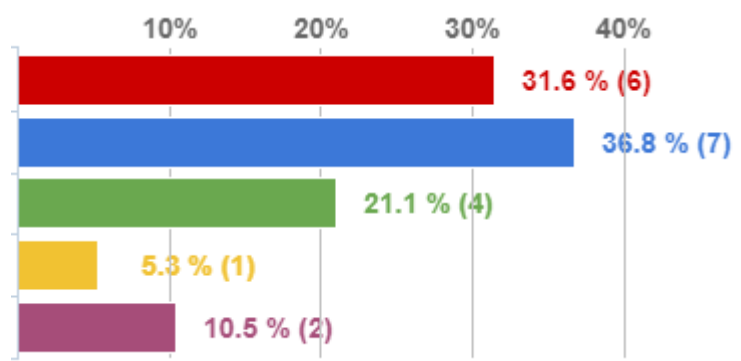
Answered : 20



Q34. どのように確認を実施しましたか？

Answered : 19

- Pre-studyとして、新旧ロットを同時に評価し、同じ基準を満たすことを確認
- Pre-studyとして、新ロットのみ評価し、旧ロットのデータと比較して影響を確認
- In-studyとして、新旧ロットを同時に評価し、同じ基準を満たすことを確認
- In-studyとして、新ロットのみ評価し、旧ロットのデータと比較して影響を確認
- 新ロットに切り替えて分析を継続し、QCが基準を満たすことを確認



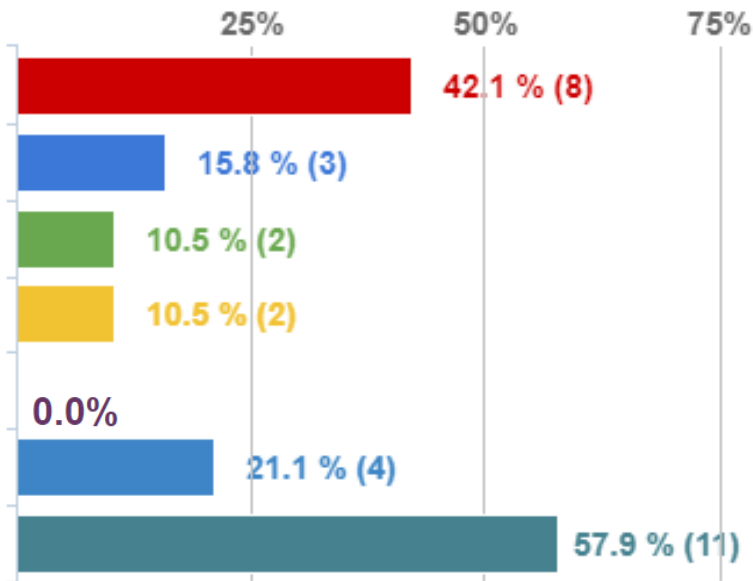


陰性対照

Q35. 確認の項目を教えてください。

Answered : 19

- 再現性(Precision) ■ 感度(Sensitivity) ■ 選択性(Selectivity) ■ 特異性(Specificity) ■ DTL(Drug tolerance)
- カットポイント(Cut point) ■ Plate control (陰性対照及び陽性対照)



DG2022-56では、陰性対照のロット変更時にはCut point再評価が必要と議論されているが (DG2022-56ポスター, P69)、Cut pointの確認については20%に留まった。Plate control (NC及びPC) の確認が最も多かったため、変更前後の陰性対照の同等性を示すことでCut pointの確認を実施していないケースもあるのではと考えられた。

http://bioanalysisforum.jp/



Q36. 確認を実施しない理由を教えてください。

Answered : 1

自由記載 :

- ・ 旧ロットの陰性対照と同じ個体を使用するため。
また、旧ロットの陰性対照を使用して、陰性である個体別試料を選んでプールするため。

Q37. ロット間差によるトラブルの経験があれば教えてください。
対処法も合わせて教えていただくと助かります。

Answered : 5

自由記載 :

- ・ ロット切替時には再度個体別から購入し外れ個体を除いた上で新旧Lotの確認をする。
- ・ プールと個体別のシグナルが乖離した場合、再調製が必要になる。市販品の場合はスクリーニングが出来ないため、再購入になる場合もある。
- ・ レスポンスの変化によるカットポイントの再算出。

Q38. 陰性対照を取り扱う上で困ったことなどがあれば教えてください。

Answered : 11

自由記載（一部抜粋）：

① 陰性対照のシグナルに関する点（4）：

- 設定条件でレスポンスが低くなりすぎて、試料のレスポンスを見ているのか、機器のノイズを見ているのか、疑問をもった。
- 困るほど迷わないが、そこそこ応答する陰性のはずの個体が存在する。
- 陰性対照としては使用できるが、陽性対照の調製に使用した際、陽性対照試料のシグナルがエンハンスされた。特定の個体由来の現象であることが分かったため、そのような個体を外して陰性対照を作り直した。

② ブランクマトリックスの入手に関する点（4）：

- 希少マトリックス（Tgマウス）や疾患マトリックスの確保。
- 残量を気にしながら試験を進める必要がある点。

③ 測定に関する点（2）：

- 陰性対照のn数（well数）はどのように設定しているか。外れ値の基準など、どのような対応をしているか。

- 陰性対照は個体別健常人試料を入手してプールするとの意見が最も多かった。
- 陰性対照の調製には、10個体以上を使用し外れ値（例えばシグナル値が高い個体）は除外して調製することがほとんどであり、長く使用できるよう大量に調製することが多いように見受けられた。
- 陰性対照が不足するなどロットが変更となる場合は、ロット間差の確認をするという意見がほとんどであった。ロット変更によりCut pointが変わる可能性は考慮しなければならないが、前ロットとの同等性を示すことでCut pointの変更は不要となるかもしれない。





重要試薬

Q39. 重要試薬のロットを変更した経験はありますか？

Answered : 38

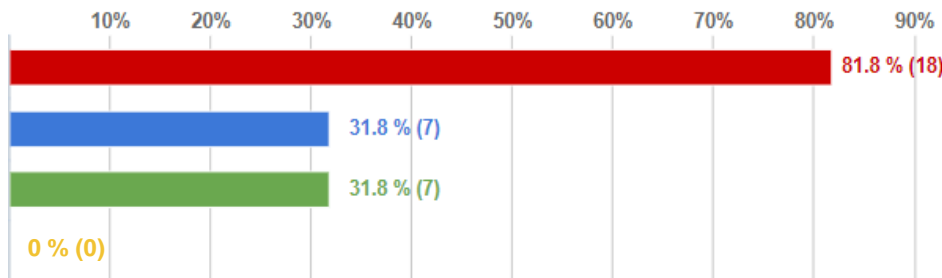


DGの考え

Q40. ロット変更はどのような理由で行いましたか？

Answered : 22

- 用意した試薬が不足したため、追加で調製した
- 使用していた試薬の活性が落ちたため、新たに調製した
- 市販品を使用していたが、同じロットの確保ができなかった
- その他



試薬の活性が落ちたため、ロット変更をしたケースが7例あった。

活性が落ちてシグナルが多少変化しても、陽性/陰性の判定が覆らなければ変更する必要はないという意見も挙げられた。

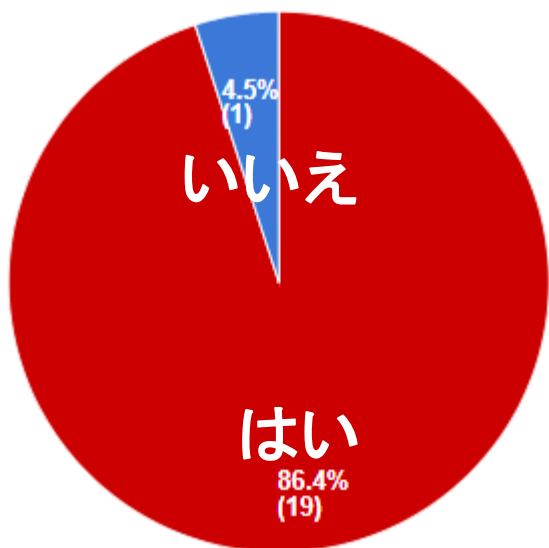
http://bioanalysisforum.jp/



重要試薬

Q41. ロット変更をした場合、
変更の影響を確認しますか？

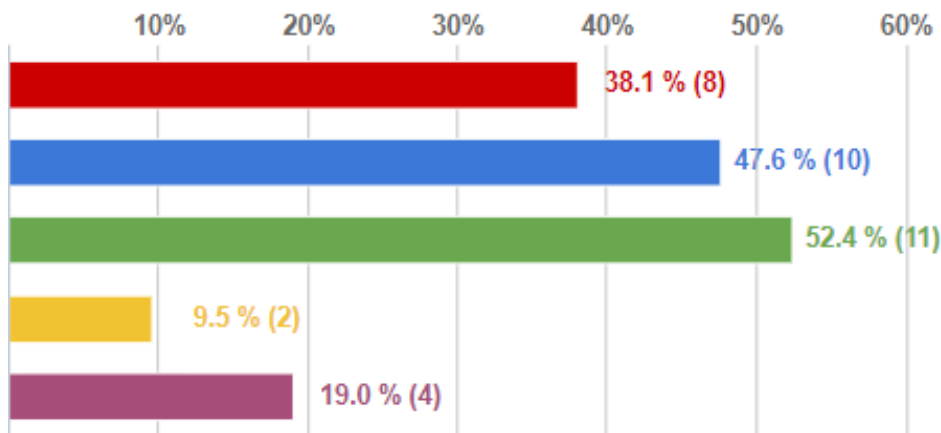
Answered : 22



Q42. どのように確認を実施しますか？

Answered : 21

- Pre-studyとして、新旧ロットを同時に評価し、同じ基準を満たすことを確認
- Pre-studyとして、新ロットのみ評価し、旧ロットのデータと比較して影響を確認
- In-studyとして、新旧ロットを同時に評価し、同じ基準を満たすことを確認
- In-studyとして、新ロットのみ評価し、旧ロットのデータと比較して影響を確認
- 新ロットに切り替えて分析を継続し、QCが基準を満たすことを確認



ADAにおいてはシグナルの変化が判定にクリティカルに影響するため、新旧ロットを用いて評価をするべきという意見が多く挙げられた。

http://bioanalysisforum.jp/

Q44. ロット変更の影響を確認しない場合、その理由を教えてください。

Answered : 1

自由記載 :

- ・市販品の場合、品質は同じであると考えられるため。



DGの考え

市販品であっても反応性に差が出るケースがあるため、測定を継続しながらNC (negative control) のシグナルや全体的なパフォーマンスに注視する必要がある。

Q45. ロット間差によるトラブルの経験があれば教えてください。

Answered : 3

自由記載 (一部抜粋) :

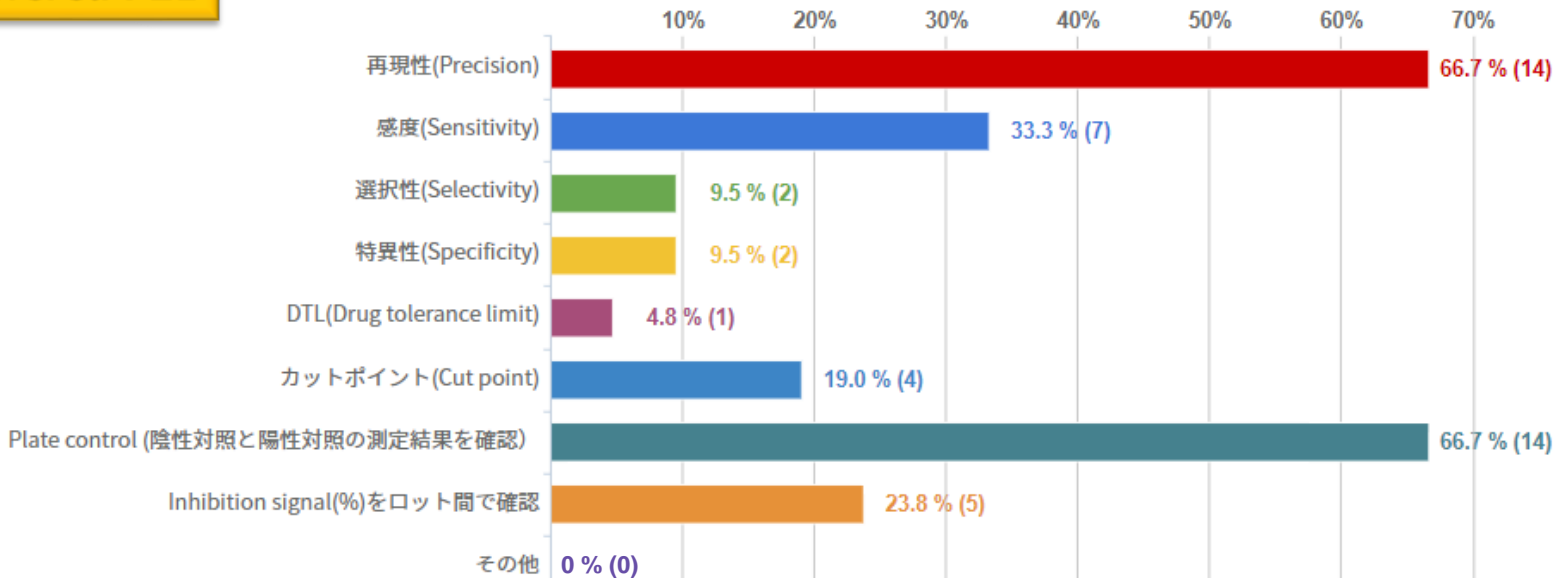
- ・市販品ではロットによって濃度が異なる場合が多いため、濃度は必ずメーカーに確認した上で、確認アッセイを行う。自前で標識する場合は可能な限り大量に調製することでロット間差を無くす (1)
- ・ロット変更に伴うレスポンス (反応性) の変化 (2)



重要試薬

Q43. どのような評価項目で確認をしますか？

Answered : 21



前年度DG2022-56 (LBAのライフサイクルマネジメント, P69) においては、重要試薬のロット変更時にカットポイント及びDTLを再評価することが望ましいとしていたが、実際に再評価しているのはそれぞれ19%及び4.8%にとどまった。ADAにおいて、重要試薬はレスポンス、陽性/陰性判定に直結するためカットポイント及びDTLを再評価するのが理想だが、測定系に合わせて適切な実施方法・評価方法で確認することも可能と考えられるという意見もDG内で多く挙げられた。



DGの考え

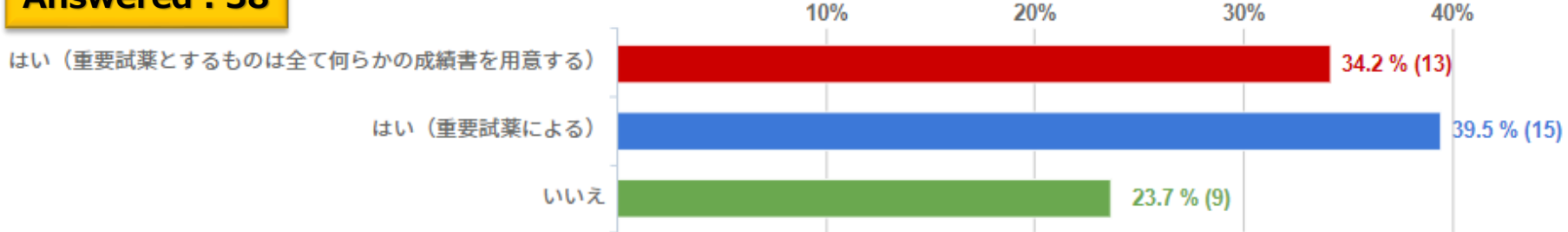
<http://bioanalysisforum.jp/>



重要試薬

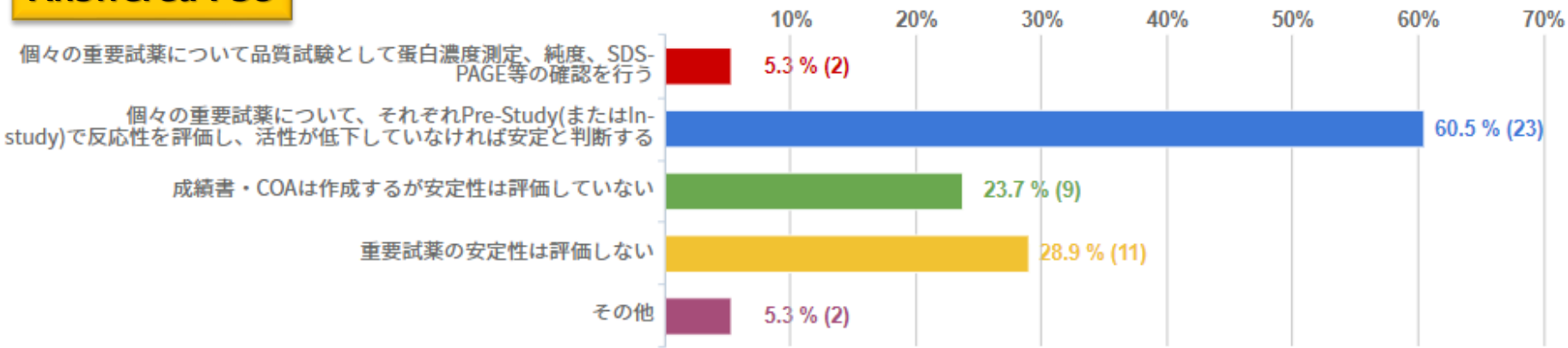
Q46. 成績書・COAを作成していますか？

Answered : 38



Q47. 安定性を評価していますか？また、どのように実施していますか？

Answered : 38

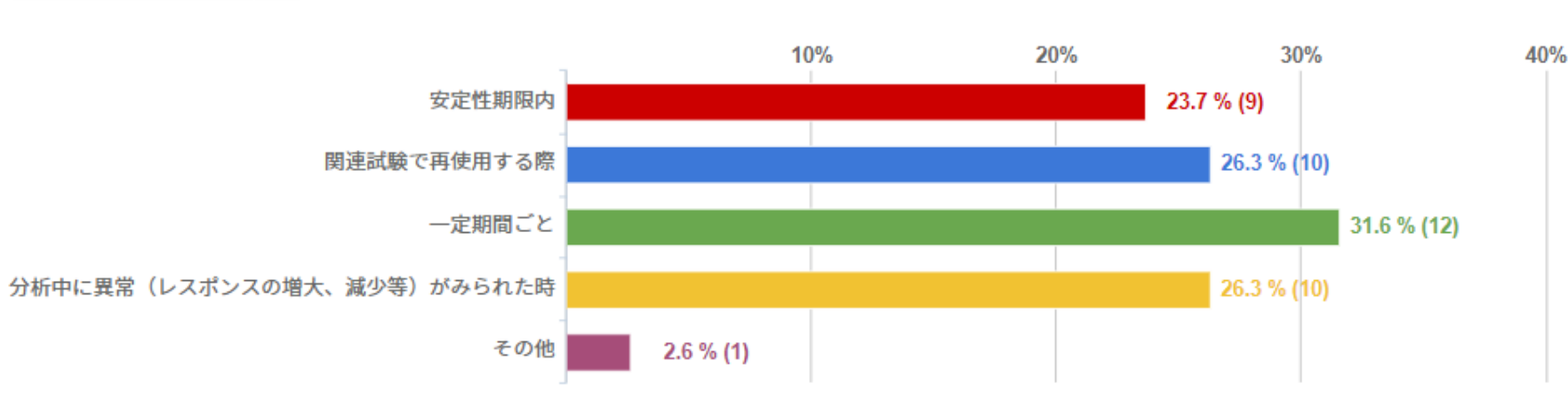


その他 (自由記載) : ・安定性の評価はしないが、使用期限とその延長について規定している。
 ・市販品を購入して使用している。市販品の保存条件で保存している。

http://bioanalysisforum.jp/

Q48. 安定性の評価時期を教えてください。

Answered : 38



その他 (自由記載) :

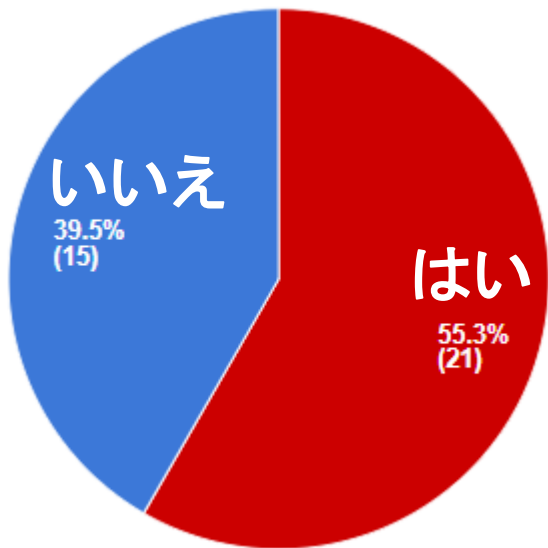
- ・安定性が切れそうな時、また新たな試験を開始する時点で安定性が切れていた時。



重要試薬

Q49. 購入品以外の重要試薬 (例: 自社調製の抗体・標識体) について、使用期限を設定していますか？

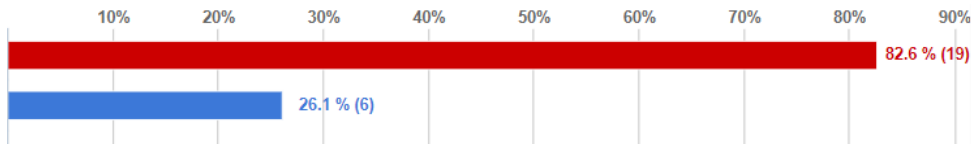
Answered : 38



Q50. 使用期限切れが発生した際はどのように対応しますか？

Answered : 23

- 使用期限を延長し継続使用する。
- 新たに再調製を行う。



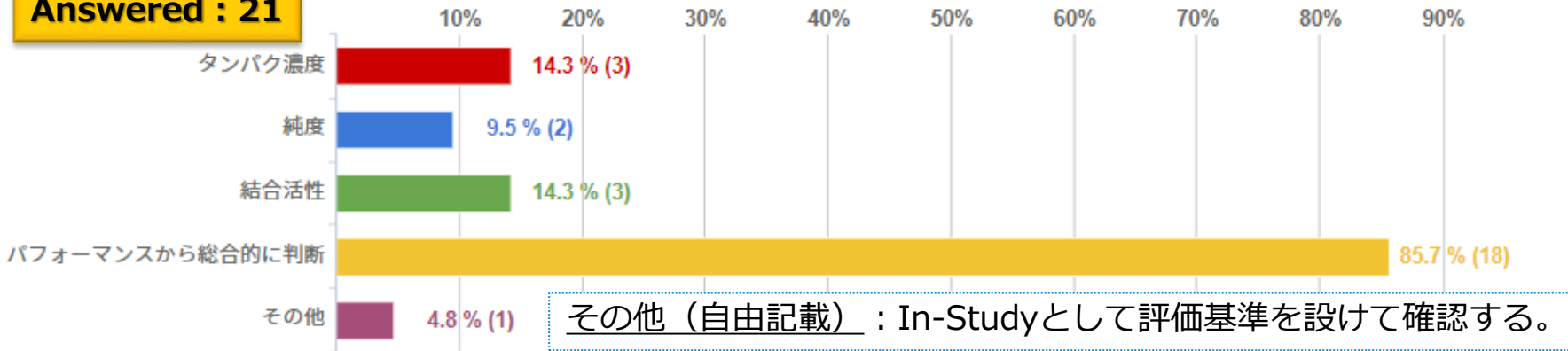
http://bioanalysisforum.jp/



重要試薬

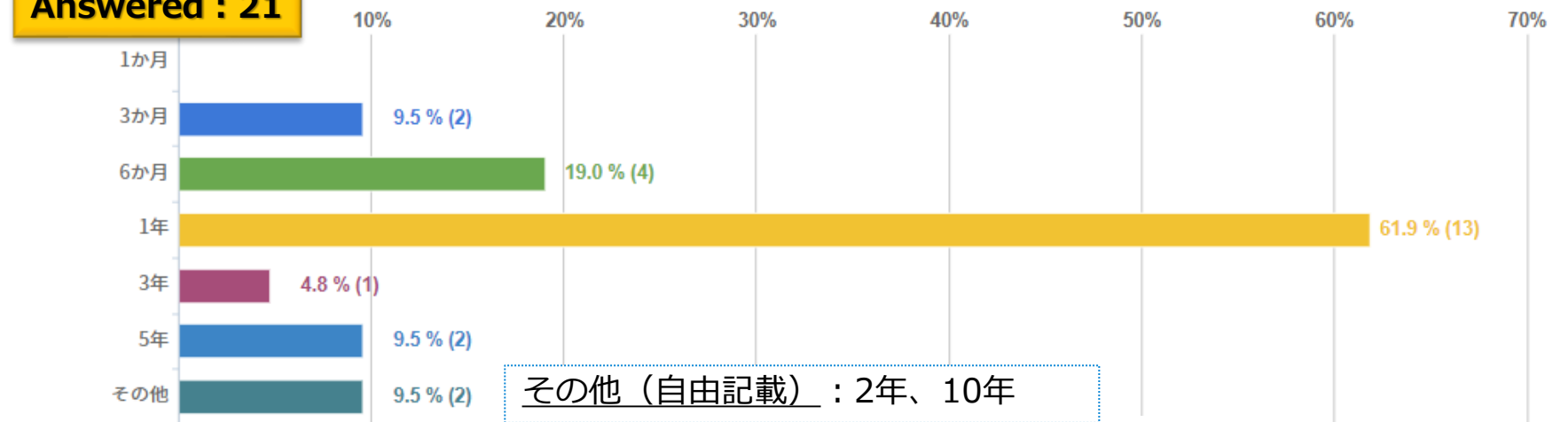
Q51. 使用期限を延長する場合、どのような評価項目で確認しますか？

Answered : 21



Q52. 評価基準を満たした場合、使用期限をどの程度延長しますか？

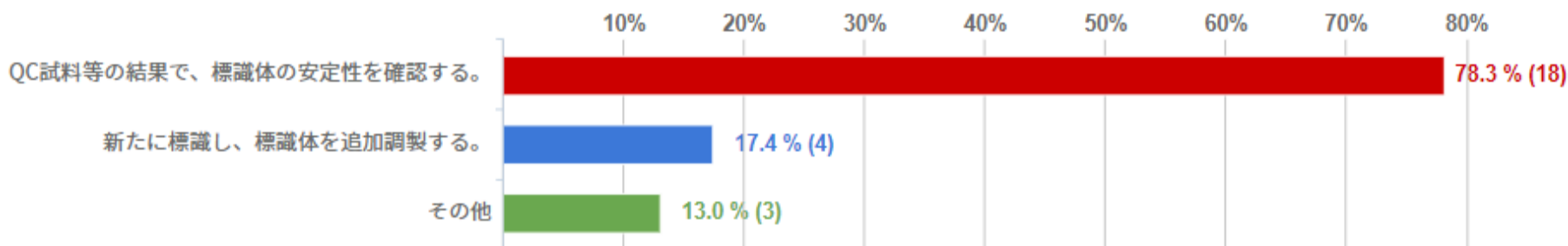
Answered : 21



http://bioanalysisforum.jp/

Q53. 「標識体」について、標識対象（標準物質等）の使用期限が切れた場合はどのように対応しますか？

Answered : 23



その他（自由記載）：

- パフォーマンスに影響なければ継続使用。
- 反応性を確認し、パフォーマンスから総合的に判断。
- 標識対象（標準物質等）と標識体は別物と考えるため、標識対象（標準物質等）の使用期限が切れても気にしない。

Q54. プレーートのロット変更等により、トラブルが生じた経験はありますか。

Answered : 16

自由記載（一部抜粋）：

- ・ ストレプトアビジンプレートロットが変更になったときに、レスポンス・検出感度に違いが生じた。許容範囲ではあったが、他アッセイにも汎用されるプレートだったので、社内に情報共有した（1）
- ・ 特定のプレートロットで、レスポンスの異常があり、再測定や偽陽性が多発した。異常のあるプレート位置が同じであったため、プレート原因と考えてロットを切り替えた（1）
- ・ SPEAD（Solid-phase extraction with acid dissociation）法などで使用する抽出用のストレプトアビジンロットが変更になったことにより、ロット間で結果が異なる現象が生じた（1）
- ・ 不良ロットによるシグナルのばらつき（1）
- ・ 新ロットのプレートで測定を実施したところ、レスポンス（測定値）が異なり、測定結果（陰性・陽性）が再現しなくなるケースがあった（1）
- ・ ロット間差によるシグナル、レスポンスの変化（3）
- ・ プレーートのロットによってシグナルに変動があり、同じ程度のシグナルになるロットを選択した（1）

プレートのロット間差によるトラブル事例が多く挙げられた。特にアビジンなどがコーティングされているプレートで、レスポンスの変化が多く見られている。ロット不良等の情報を、社内外問わず共有できる仕組みがあれば良いと考える。



DGの考え

Q55. ライフサイクルマネジメントにおいて、困っていることはありますか。

Answered : 13

自由記載（一部抜粋）：

- 使用期限の短い市販試薬（例：3カ月）の時の、安定性更新時のタイミング（1）
- 重要試薬の科学的な根拠に基づいた使用期限の設定に悩んでいる。当局の要求には可能な限り対応を検討するが、実際には測定時に重要試薬がワークして必要な感度が得られていれば、重要試薬の使用期限にこだわる必要はないと考える（1）
- 関連試験や長期の臨床試験での使用を考えて、長期的な保存を要望される点（使用期限の設定もないため、保管期限が未定で管理）（1）
- 臨床試験において長期試験の場合、重要試薬の同一ロットの確保等について各社どのように対策されているのか具体例を知りたい（1）



DGの考え

- ロット変更を可能な限り避けるため、大量に同一ロットを購入する。メーカー保証の使用期限が切れた場合はパフォーマンスを確認しながら使用期限を延長する、また大量購入が難しい場合は期限が来たらロットを変更し、新ロットと旧ロットの同等性を担保する等の対応が考えられる。
- 使用期限等の情報がない場合にどのように管理するかについてはSOP等で各社定めておく必要がある。
- 使用期限が短く、期限までに測定系構築や十分なデータが得られていない場合は、陽性/陰性の判定が覆らないことを確認する。
- キットについても同様に、パフォーマンスで確認することが望ましい。

Q55. ライフサイクルマネジメントにおいて、困っていることはありますか。(続き)

Answered : 13

自由記載（一部抜粋）：

- ・後で追加症例や適応拡大などにより追加で試験が走る場合があるが、適応拡大までは想定していないため、どの程度試薬を調製すれば良いのか悩む（1）



DGの考え

試験ごとに状況が異なるため、標準化が難しいのが現状である。当初想定される最大量を準備し、不足した場合は同等性を担保したうえで新ロットを使用する。必要に応じてカットポイント等の再評価を実施する。

- ・標識体の安定性評価方法（アッセイパフォーマンス、理化学分析など）のトレンドを知りたい（1）



DGの考え

今後のDGで調査できると良い。



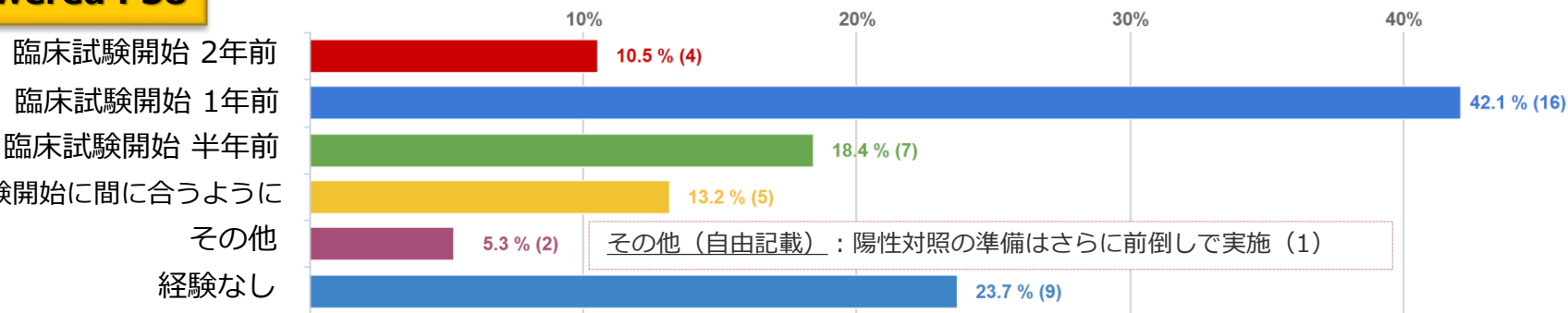
- 重要試薬のライフサイクルマネジメントについて、標準的な方法が提示されていない上、特に臨床試験は実施期間が明確でないことから、試薬の確保と管理に各社苦勞していることが伺えた。
- ADA測定において、重要試薬のパフォーマンスは判定に直結するため、ロット変更時にはできる限り手厚くその特性を評価することが理想である。アンケート回答者の大多数が再現性やPlate controlを確認する一方、カットポイント及びDTLの再測定・再評価を実施しているという回答は少なかった。重要試薬の特性評価の内容と方法について、測定系に合わせて臨機応変に検討することが望ましい。
- ロット変更時には、新旧ロットを同時に評価し同等性を評価することを推奨する。
- 使用期限の評価は、パフォーマンスから判断するという意見が主流であった。



バリデーション全般

Q56. 臨床ADA測定法バリデーション実施時期（検討開始時期）はいつ頃ですか？

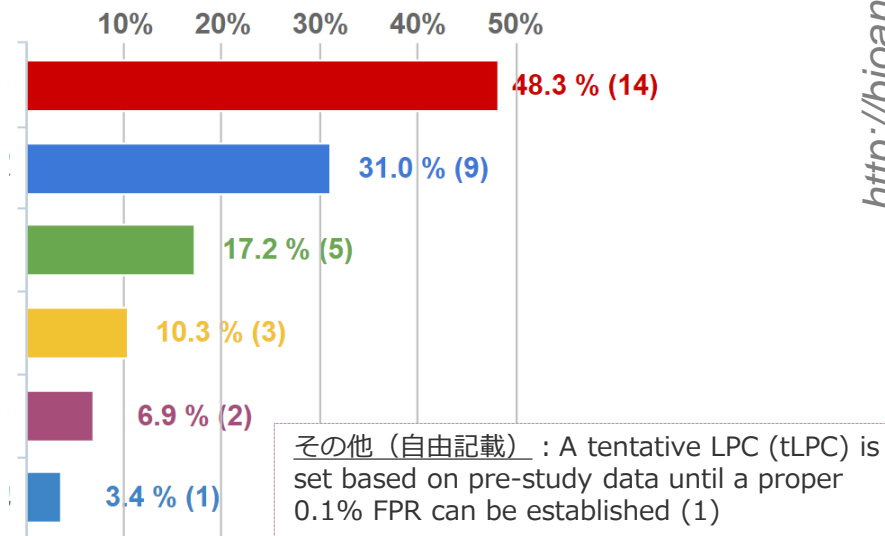
Answered : 38



Q58. LPC (low positive control) 濃度はどのように設定していますか？

Answered : 29



- FDAガイダンスの要求感度（臨床 100ng/mL）
- FDAガイダンスの要求感度（臨床 100ng/mL）を目標に可能な濃度設定
- 0.1% False Positive Rate (FPR) (Shanker論文参考)
- 基準なし
- 開発初期は可能な濃度で設定、後期に高感度化
- その他



http://bioanalysisforum.jp/

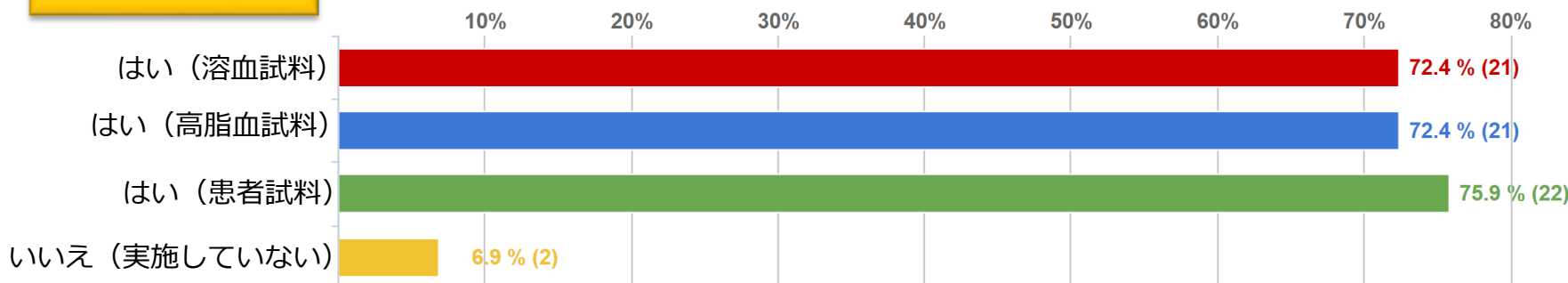
Q57.
タンパク質製剤のADA分析法を構築するときに、血清と血漿のどちらを第一選択にしていますか？ またその理由があれば教えてください。

Answered : 29

アンケート結果 自由記載、 一部抜粋	血清（15票）	血漿（5票）
考慮すべきポイント 	<ul style="list-style-type: none"> 血清の場合、室温放置必要なため、安定性を考慮する 非臨床と臨床のマトリクスはそろえたい（特にPK） PKとADAでそろえる必要はないが、統一した方が採血量を最少化する 凝固促進剤，抗凝固剤の影響（ヘパリンで不安定だったが、EDTAで安定化した事例あり） 試験毎に、血清と血漿を比較して選択（第一選択を決めない） 	
血液中安定性評価の必要性、課題 	<ul style="list-style-type: none"> ICH M10には、血漿は、血液中安定性評価が推奨されている 平衡化時間が長い薬剤では、血液状態の変化が血液中安定性評価に影響する場合がある（特に、血球細胞がターゲットとなる場合） 非臨床、臨床共に採血後直ぐに氷冷中におき、30分～1時間以内に処理することを手順として規定するなど、血液中安定性への影響を少なくするなどの工夫が必要となる 	

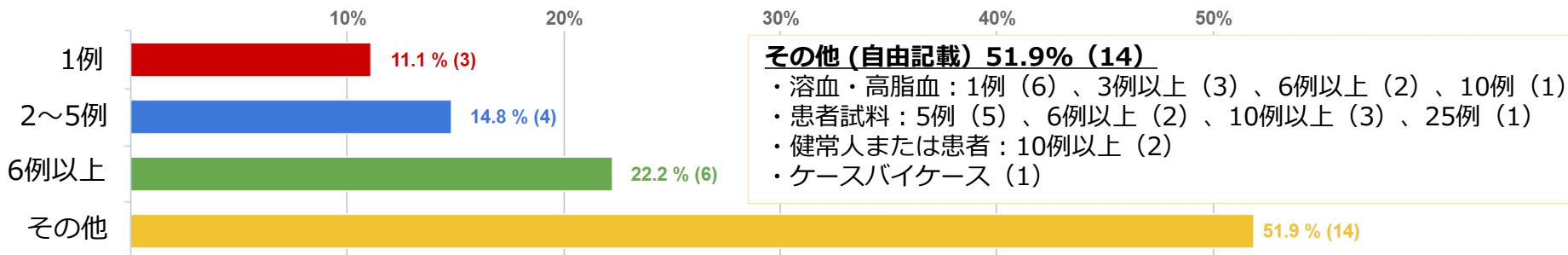
Q59.
溶血、高脂血、患者試料等を用いた選択性評価を実施していますか？

Answered : 29



Q60. (Q59ではいと回答された方)
選択性の評価を何例で実施しますか？

Answered : 27



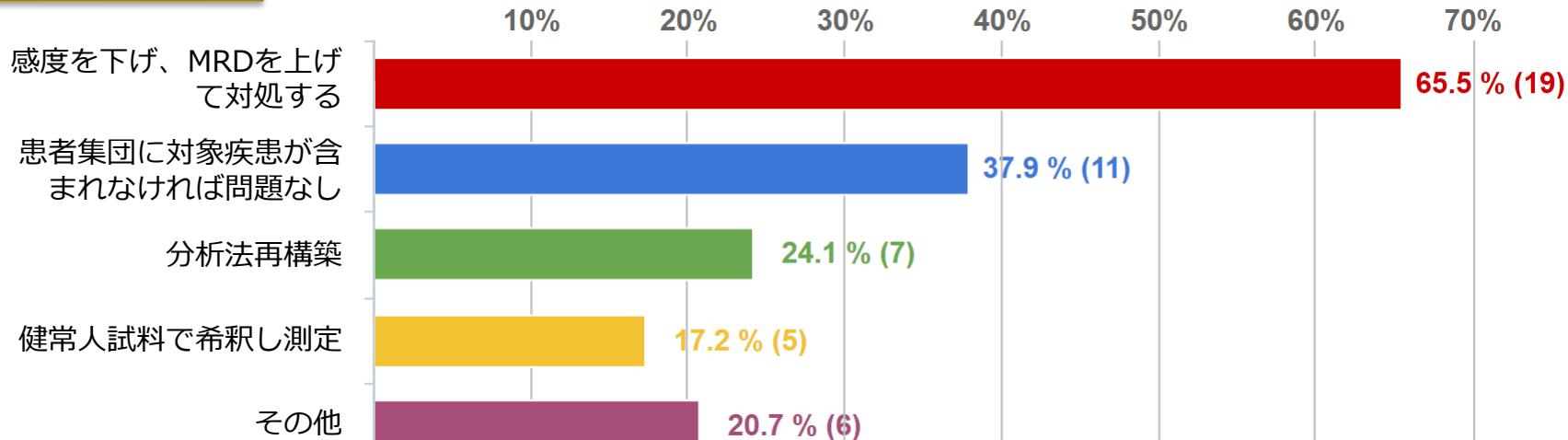
DG×E

ADAについてもPK同様にICH M10に従い
実施している

ガイドンス参照

Q61. 溶血、高脂血、患者試料等で選択性が基準を満たさない場合はどのように対処しますか？

Answered : 29



その他（自由記載）（6）：

- マトリックス、分析対象により対応を検討（2）
- 影響ありとして当該検体を測定値無しとする（1）
- 結果に与えるインパクトをレポートする（1）

*MRD: minimum required dilution

DGX/E

DGの考え

- 基準を満たさない場合、感度を下げMRD（Minimum required dilution）を上げるケースが多数
- 改善しない場合、分析法再構築するケースもある為、予備検討しておくことが望ましい

[ガイドンス参照](#)

FDA Immunogenicity Guidance 2019

C. Sensitivity

1. Assay Sensitivity

FDA recommends that screening and confirmatory IgG and IgM **ADA assays achieve a sensitivity of at least 100 nanograms per milliliter (ng/mL)** although a limit of sensitivity greater than 100 ng/mL may be acceptable depending on risk and prior knowledge. Traditionally, FDA has recommended sensitivity of at least 250 to 500 ng/mL. However, recent data suggest that **concentrations as low as 100 ng/mL may be associated with clinical events.**

E. Selectivity

1. Matrix Interference

Various substances in the matrix, such as **free hemoglobin (hemolysis), lipids (lipemia), bilirubin (interus), and presence of concomitant medications, can interfere with assay results.**

ICH M10 Harmonized Guideline 2022 Step4

[ガイドンス参照](#)

4.2.2 Selectivity

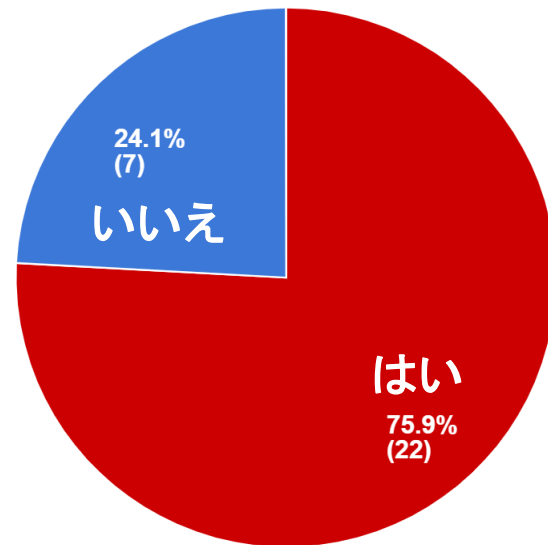
Selectivity should be evaluated in lipaemic samples and haemolysed samples (Refer to Section 3.2.1). For **lipaemic and haemolysed samples**, tests can be evaluated **once using a single source of matrix**. Selectivity should be assessed in samples from relevant patient populations (e.g., renally or hepatically impaired patients, inflammatory or immuno-oncology patients if applicable). In the case of relevant patient populations, there should be **at least five individual patients.**

Q62.
ADA測定法バリデーションで、陽性対照の
生体試料中安定性の評価を実施しますか？

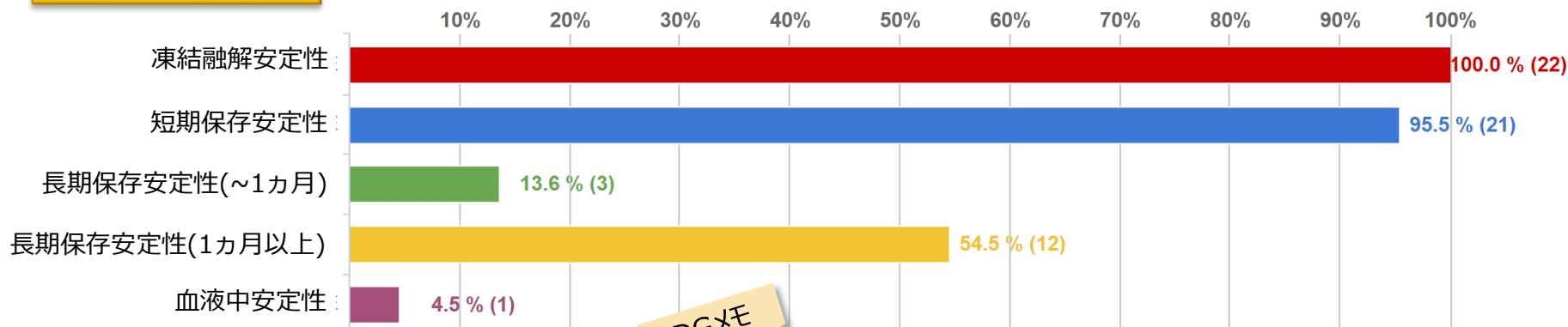
Answered : 29

Q63. (Q62ではいと回答された方)
どのような安定性を評価しますか？

Answered : 22



<http://bioanalysisforum.jp/>



DGXE

- 長期保存安定性実施については、意見が分かれた。
- 理由はQ65参照

Q65. (Q62でいいえと回答された方)

陽性対照の生体内安定性評価を実施しない理由を教えてください。

Answered : 7

自由記載、一部抜粋

- 陽性対照の安定性はヒトのADAの安定性を担保するものではないため (2)
- 一般的な抗体の安定性と同等と判断。懸念はないはず (2)
- 委託者からリクエストされていない (2)
- 過去に5年間の保存安定性評価をしたことがあるが問題無かったため (1)
- 参考値としての取り扱いにしかならないため、nice to haveとしている (1)
- ADAバリデーションの期間を超えて陽性対照の安定性評価を実施しているため (1)

FDA Immunogenicity Guidance 2019

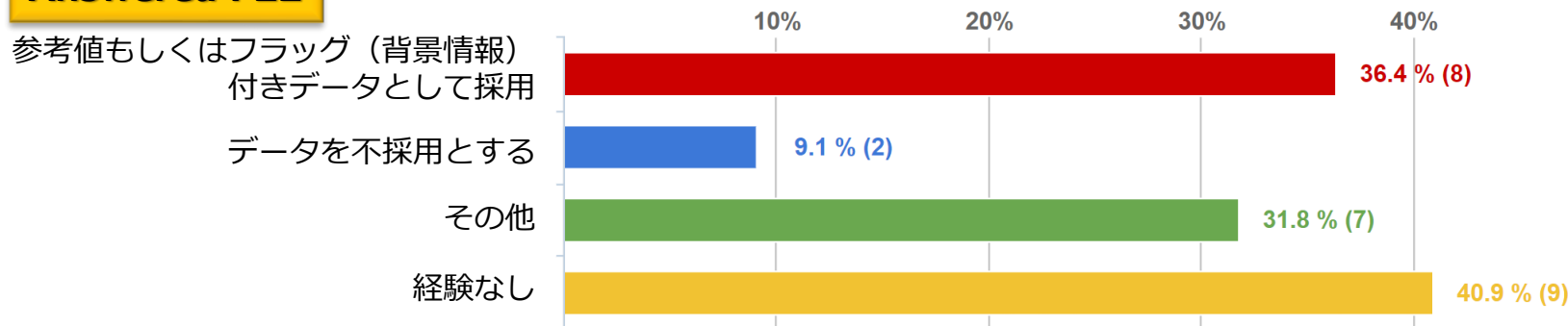
📖 ガイダンス参照

H. Robustness and Sample Stability

FDA recommends that sponsors minimize freeze-thaw cycles by appropriately aliquoting subjects' samples because freezing and thawing such samples may also affect assay results. However, studies evaluating **short-term stability, including, as relevant, freeze-thaw cycle and refrigerator- and room-temperature stability of positive control antibodies, may be useful.**

Q64.
長期保存安定性等のバリデーションデータが未取得で測定試験を開始し、後から基準を満たさない結果が得られたときにどのような対応をしていますか？

Answered : 22

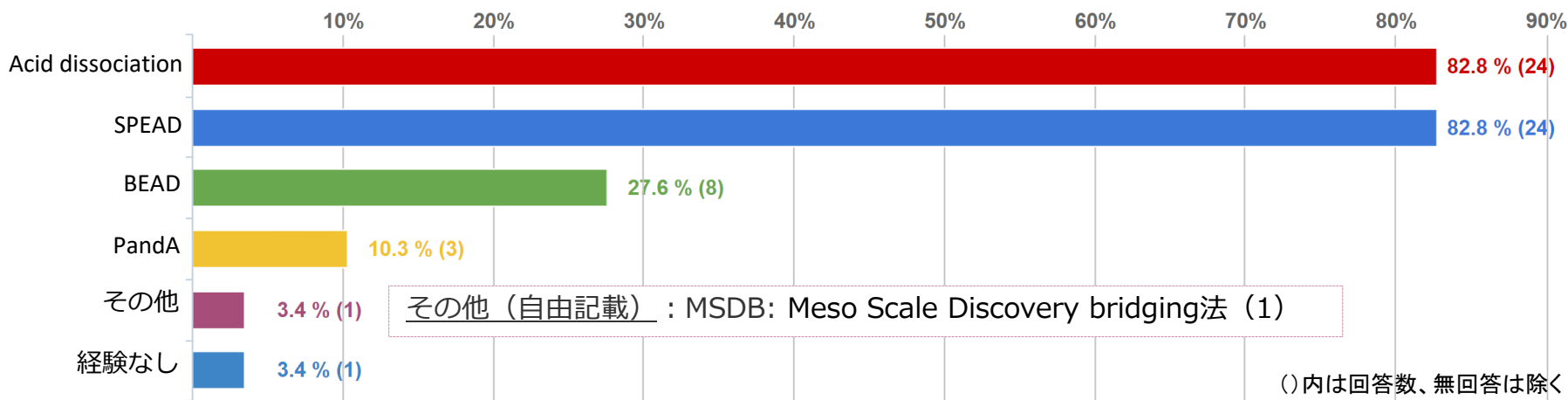


その他（自由記載）（7）：

- 長期保存安定性はあくまでもPCを保存して使用する目的のみに使用。得られている安定性期限内に使用、その後は再調製（1）
- 社内でデータの必要性を相談した上で判断（1）、委託者に判断をあおぐ（1）
- Per FDA guidance, long-term stability not assessed with the assumption that samples will not be stored for longer than 2 years（1）
- 当該検体の測定結果の有無で解析を実施し影響がないことを説明して測定結果を残す（1）
- 抗体の長期保存安定性は評価しないので、そのようなケースは発生しない（1）
- 長期保存安定性試験の再実施やISS (Incurred Sample Stability) を実施して、安定性を再度評価する（1）

Q66. Drug tolerance limit (DTL) 向上のための前処理としてどの手法を実施したことがありますか？

Answered : 29



Anti-drug Antibody Validation Testing and Reporting Harmonization; White Paper (AAPS J (2022) 24:4)
DRUG TOLERANCE

White Paper
参照

Drug tolerance can be improved by optimizing assay conditions such as the MRD, reagent concentrations, and incubation times. In addition, various sample pre-treatment techniques and assay formats, including **acid-dissociation, solid-phase extraction with acid dissociation (SPEAD), affinity capture elution (ACE), biotin-drug extraction with acid dissociation (BEAD), bead-extraction and heat-dissociation (BEHD), and precipitation and acid-dissociation (Panda)**, can also be used to overcome drug interference. Disadvantages of these techniques include potential loss of certain types of ADA, poor ADA recovery during sample pre-treatment, and worsening of target interference. Therefore, **the mildest assay conditions that still result in adequate drug tolerance should be chosen**. A combination of an appropriate sample collection schedule, sample pre-treatment, and assay optimization can ideally result in the ability of the assay to detect ADA in all true ADA positive study samples, despite the presence of drug.

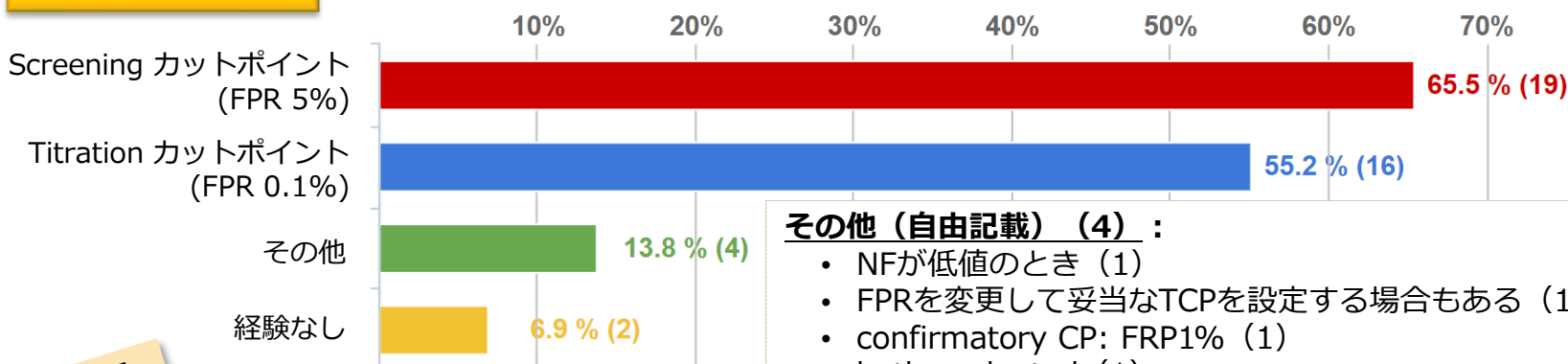
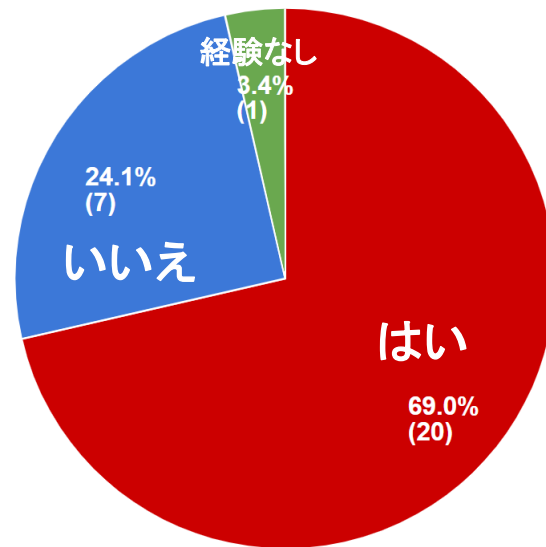
バリデーション：Cut point

Q67.
カットポイント算出時、外れ値を把握するため予め複数個体をスクリーニングしますか？

Answered : 28

Q68.
Titration assay カットポイントはどのように設定していますか？

Answered : 29



その他 (自由記載) (4) :

- NFが低値のとき (1)
- FPRを変更して妥当なTCPを設定する場合もある (1)
- confirmatory CP: FRP1% (1)
- both evaluated (1)

DGメモ

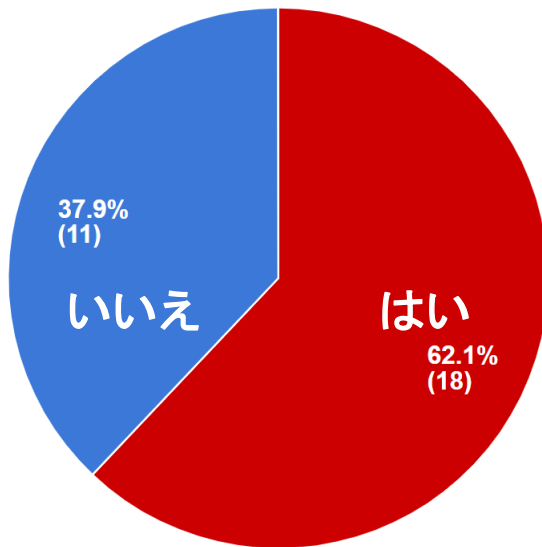
- Screening カットポイント (FPR 5%) を使用するケース、Titration カットポイント (FPR 0.1%) を設定するケースは約半々
- ケースバイケースで妥当なカットポイントを設定する

()内は回答数、無回答は除く

ガイダンス参照

Q69.
抗体力価(Titer)を算出するときにMinimum required dilution (MRD)で補正しますか？

Answered : 29



📖 ガイダンス参照

FDA Immunogenicity Guidance 2019

D. Validation of Titration Assay

The cut-point of the titration assay may be the same as or different from that of the screening assay.

When a titration assay specific cut-point is used, it should be validated. When **the titration assay is not used for screening**, the cut-point may be established using a **0.1% false-positive rate**. When **the titration assay is used for screening** (for example, when the subject population has a high incidence of pre-existing ADA), the cut-point should be established using a **5% false-positive rate**.

K. Reporting Results for Qualitative and Quasi-Quantitative Assays

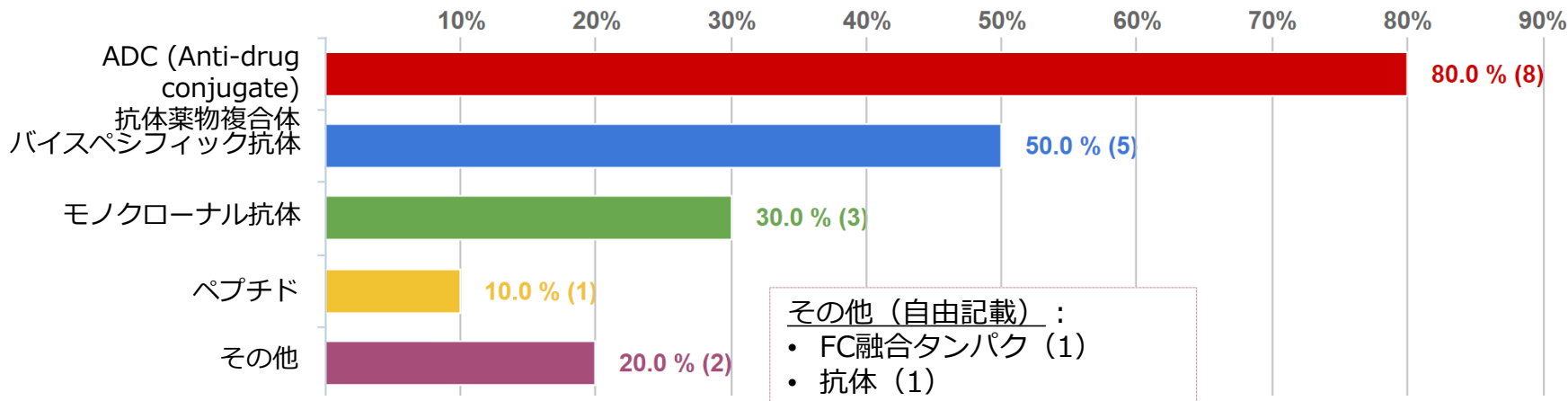
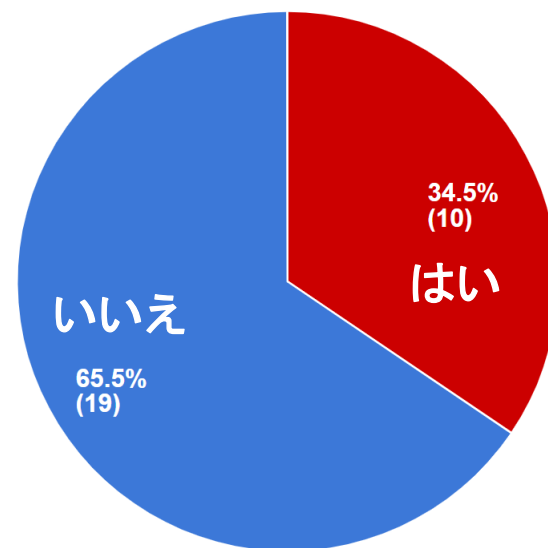
All sample dilutions, such as the MRD and acid dissociations, should be factored into the calculations of titers and provided when reporting titers.

Q70.
ADAについてDomain Specificity 評価を実施
したことがありますか？

Answered : 29

Q71. (Q70ではいと回答された方)
評価したモダリティを教えてください。

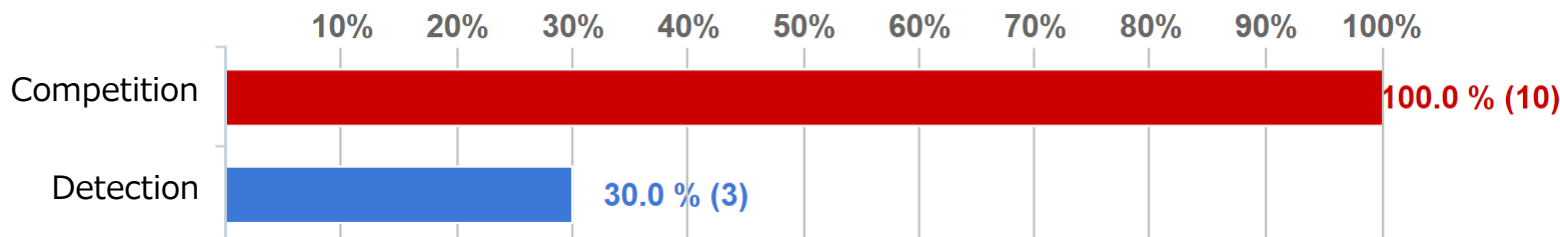
Answered : 10



Q72. (Q70ではいと回答された方)
実施方法を教えてください。

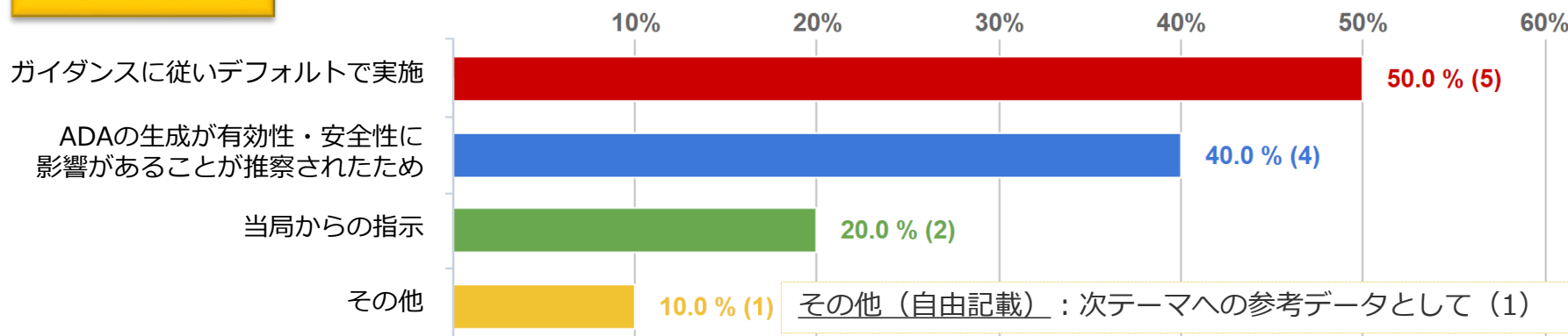
Answered : 10

- Competition:
(Domainを添加して阻害活性で評価)
- Detection:
(Domainに対する抗体を調製して陽性対照として評価)



Q73. (Q70ではいと回答しされ方)
どのようなきっかけで実施しましたか？

Answered : 9



DG×E

ガイダンスに従い実施すべき

ガイダンス参照

DGの考え

FDA Immunogenicity Guidance 2019

[ガイダンス参照](#)

A. Testing Strategy

3. *Domain Specificity*

For multi-domain therapeutic protein products, the sponsor may need to investigate whether the ADA binds to specific clinically relevant domains in the protein. For example, to adequately understand the risk of ADA to subjects for therapeutic protein products with modifications such as pegylation, sponsors should develop assays to determine the specificity of ADA for the protein component as well as the modification to the therapeutic protein product (Gorovits et al. 2014). The domain specificity is generally assessed in ADA samples confirmed positive using the whole molecule. Examination of immune responses to therapeutic protein products with multiple functional domains such as bispecific antibodies may require development of multiple assays to measure immune responses to different domains of the molecules.

FDA Antibody-Drug Conjugates Guidance 2022

[ガイダンス参照](#)

E. Immunogenicity

An immune response to an ADC can be generated to any constituent part of the ADC, including the antibody, the payload, or epitopes created by the conjugation linker. Given that ADCs generally have a relatively narrow therapeutic window, it is important to evaluate immunogenicity to ADCs and the potential impact on PK, safety and efficacy.

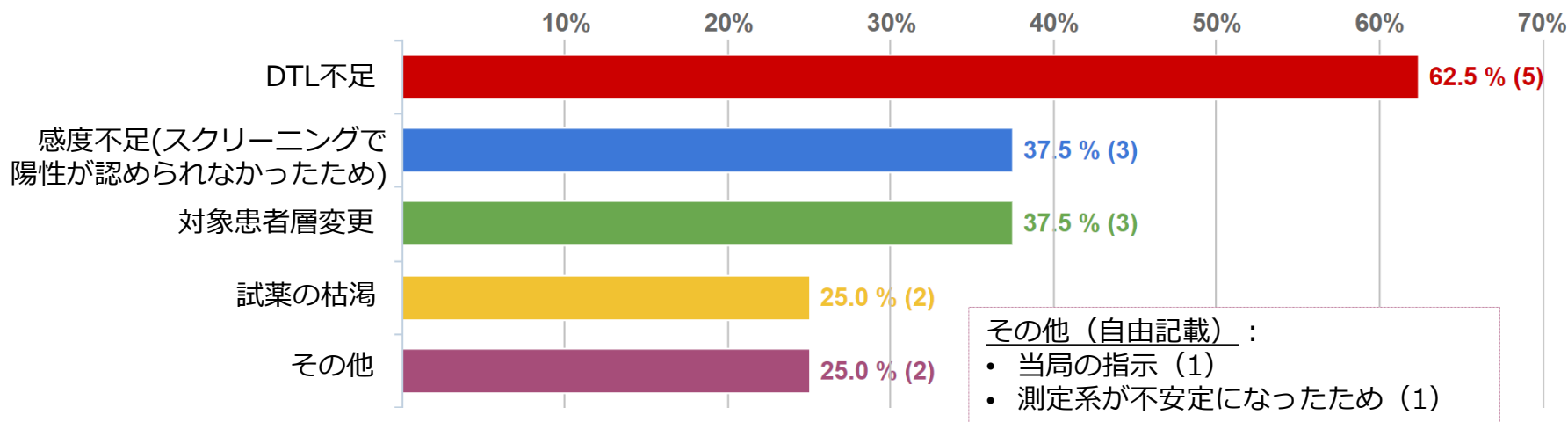
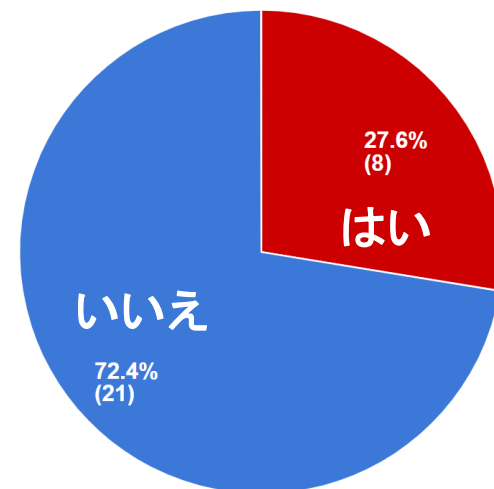
Additionally, it could be appropriate to **develop multiple assays to measure the immune responses to the constituent parts of the ADC**, such as additional epitopes or domains resulting from the conjugation of the constituent parts.

Q74. 臨床試験の途中で分析法を変更した経験はありますか？

Answered : 29

Q75. (Q74ではいと回答された方)
どのような理由で変更しましたか？

Answered : 8



Q76.
測定試験開始後、追加でバリデーションを実施した
ことはありますか？

Answered : 29

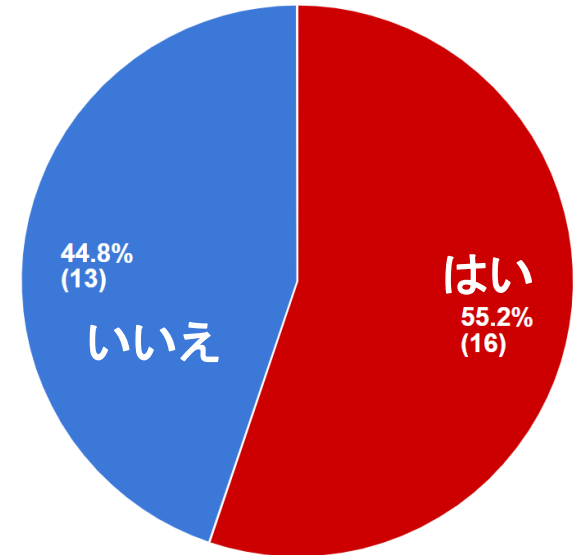
Q78.
追加バリデーション実施で困った経験がある方は教
えてください。

自由記載：

- 追加バリデーションを実施したが許容基準を満たさなかった
- 初適応症の臨床試験の例数が少ない時、患者シグナル分布と健常者シグナル分布比較を統計的に意味のある解析ができない、統計的に意味のある患者カットポイントを設定できない

DG×E

許容基準を満たさない場合の対応についてなど、ご意見をお聞かせください。



Q77. (Q76ではいと回答された方)

追加バリデーションはどのようなきっかけで実施しましたか？

Answered : 16

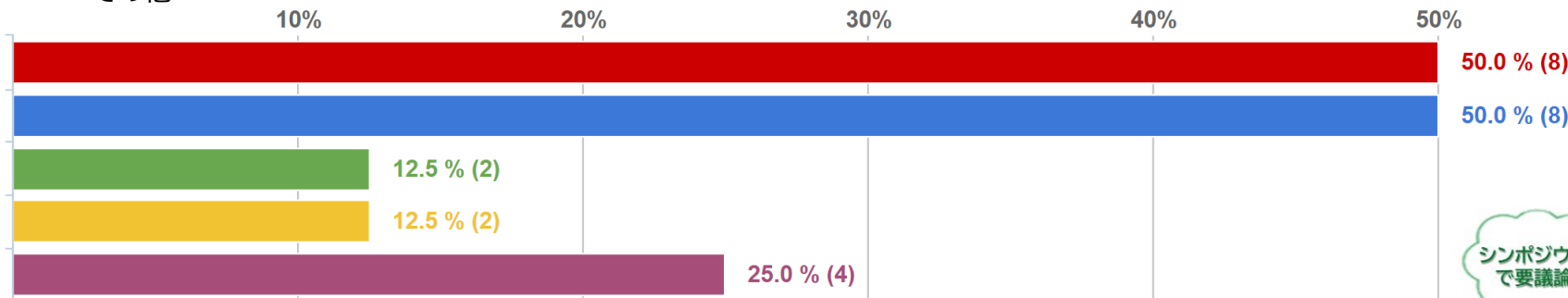
DG×E

試薬やプレートのロット切替によるパーシャルバリデーション実施が想定されるため、長期試験では事前のロット確保など留意する必要がある。

- 適応症が追加された時
- 測定に使用する試薬やプレートのロットが変わった時
- QC試料のS/Nが落ちてきた時
- 初期試験ではパーシャルバリデーションを実施し、ステージアップとともに項目を追加、最終的にフルバリデーションを実施
- その他



DGの考え

シンポジウム
で要議論

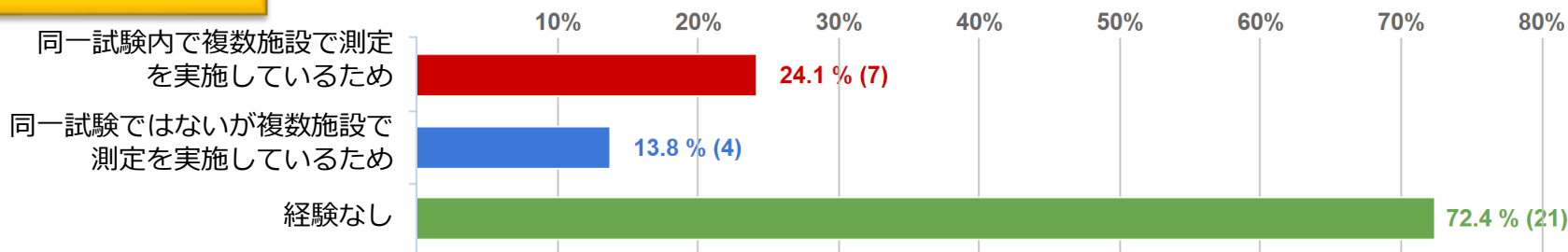
その他 (自由記載) (4) :

- Evaluating 2-8C storage of tagged reagents (1)
- 併用薬の臨床試験開始前に、併用薬の影響確認の追加バリを実施 (1)
- 併用薬の影響検討 (1)
- 患者プレ検体数が確保できたので、選択性を実施 (1)



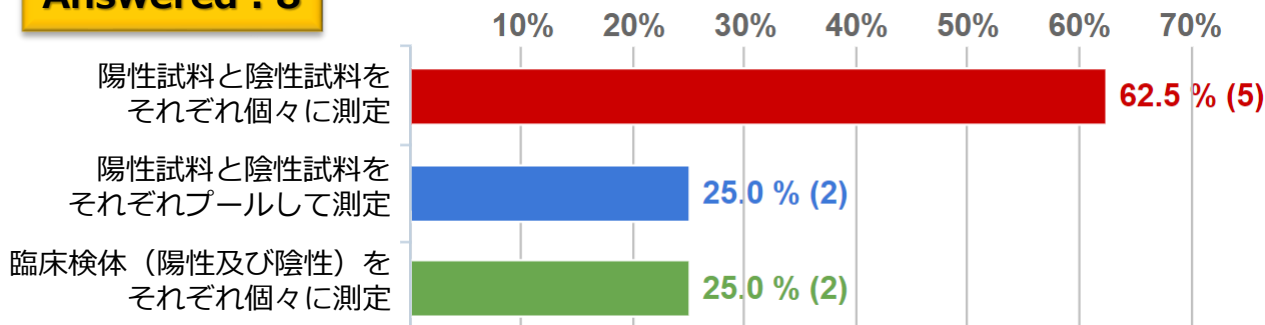
Q79.
ADA評価法のクロスバリデーション（比較試験）を実施したことがありますか？
理由と合わせて教えてください。

Answered : 29



Q80. (Q79で実施したことがあると回答された方)
クロスバリデーションの評価に使用した試料は何ですか？

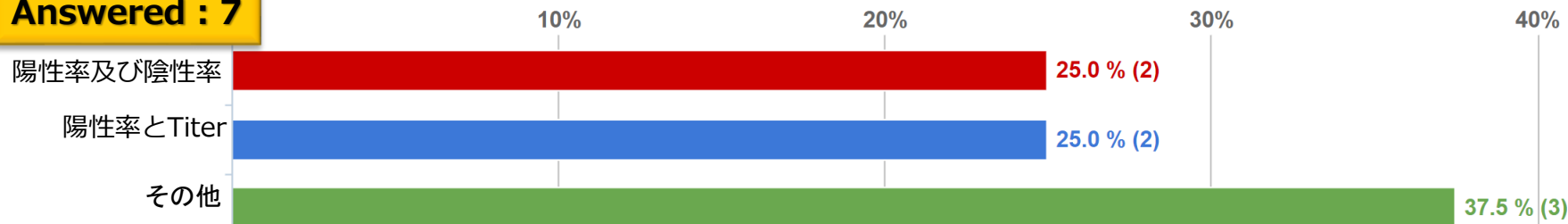
Answered : 8



- ✓ 陽性試料: ブランク試料に陽性対照を添加した試料
- ✓ 陰性試料: ブランク試料に陽性対照を非添加の試料

Q81. (Q79で実施したことがあると回答された方)
クロスバリデーションでの評価項目を教えてください。

Answered : 7



その他 (自由記載) (3) :

- 再現性 (1)
- 陰性/陽性試料の個別の結果を報告し、2施設の結果の一致率、さらに補助的な評価項目として、Log S/NC及び阻害率%のB-A plotあるいはDeming regressionを報告(基準なし) (1)
- 陽性試料と陰性試料の判定が同じであることを確認した (1)

Q82. (Q79で実施したことがあると回答された方)
クロスバリデーション時のクライテリアはどのように設定していますか？

Answered : 6

DGXモ

ADAのクロスバリデーションの評価項目や基準などが不明確なため、議論の必要がある。



自由記載 :

- CV:20%以下 (1)
- NC, LPC, HPCのそれぞれで、陽性/陰性の一致率が80%以上 (2)
- 両施設で同一検体を測定し、測定結果が一定割合以上となることを確認 (陽性検体2/3、陰性検体4/5等) (1)
- 基準はない。関係性を比較考察ができれば良い (1)



項目	アンケート結果	参考
バリデーション 全般 Q56-58	<ul style="list-style-type: none"> バリデーション実施時期：臨床試験開始 半年～1年前頃から実施 (回答半数以上) LPCの設定：FDAガイダンスの要求感度 (臨床 100 ng/mL) または100 ng/mLを目標に可能な濃度設定 (回答数約7割) 血清・血漿の選択：血清を第一選択 (回答約半数)、測定対象に合わせて選択 	★DG議論 (補足資料)
選択性 Q59-61	<ul style="list-style-type: none"> 溶血、高脂血：1例以上 (回答多数) 患者試料：5～10例以上 (回答多数) 基準を満たさない場合の対処：感度を下げ、MRDを上げて対処 (回答数6割以上) 対象疾患が含まれなければ問題なしと考える (回答数3割以上) 場合によっては分析法再構築するケースも考えられる 	👉 ガイダンス (ICH M10) ★DG議論
安定性 Q62-65	<ul style="list-style-type: none"> 凍結融解・短期保存安定性：必須と考える (回答ほぼ全数) 長期保存安定性実施：意見が分かれた (回答約半数) 長期安定性を実施しない理由：陽性対照は生成されたADAの安定性を担保するものではないため、一般的に抗体は安定と考える、ガイダンスへ明確に記載されていない、など 安定性期間を超えた場合の対応：フラグ付きデータとして採用する (回答数約3割)、Incurred Sample Stability (ISS)実施、安定性再評価などのケースもあり、関係者で取り扱いについて議論する 	👉 ガイダンス (FDA) ★DG議論

項目	アンケート結果	参考
Drug Tolerance Q66	<ul style="list-style-type: none"> 前処理: Acid dissociation、SPEADを実施 (回答数約8割、非臨床と同様)、BEADやその他 (回答数約3割) 前処理法は慎重に選択すべき (目的のADAの検出への影響、ADAの低回収率、Targetタンパクの干渉など懸念あり) 	👉 White paper
Cut Point Q67-68	<ul style="list-style-type: none"> カットポイント算出時に事前に複数個体をscreeningし、外れ値を把握する (回答数約7割) Titration cut point: Screening CP FPR 5%を使用、または Titration CP FPR 0.1%を設定するケース (回答数5割) 妥当性を検証する 	👉 ガイダンス (FDA)
Titer Q69	<ul style="list-style-type: none"> MRD補正: 実施が回答数約6割 	👉 ガイダンス (FDA)
Domain Specificity Q70-73	<ul style="list-style-type: none"> Domain Specificity実施の経験: 少ない (回答数約3割) モダリティ: ADC (回答数約8割)、バイスペシフィック (回答数約5割) 評価手法: Competition (回答全数)、Detection (回答数約3割) 実施理由: ガイダンス準拠、有効性・安全性への懸念、当局からの指示など 	👉 ガイダンス (FDA)

項目	アンケート結果	参考
パーシャル バリデーション Q74-78	<ul style="list-style-type: none"> 分析法を変更したケース経験は少ない（回答数3割弱） 実施理由: DTL不足（回答数約6割）、感度不足や対象疾患の変更（回答数4割弱）、試薬の枯渇・当局からの指示・測定系が不安定など パーシャルバリの実施経験：回答約半数 実施理由: 適応症追加、試薬プレートのロット変更（回答約半数） 許容基準を満たさない場合、再バリデーションが必要か？ 	<p>★ DG議論</p> 
クロス バリデーション Q79-82	<ul style="list-style-type: none"> 実施経験: 少ない（経験あり回答数約3割） 実施理由: 同一試験内で複数施設で実施（回答数約3割） 評価手法: 陽性試料・陰性試料を用いた施設間の比較試験が一般的 評価項目・基準：陽性・陰性率の一致率、再現性・CVで基準を設定、Titerの評価など 	



DGの考え

ADAにおける長期安定性の考え方

- ガイダンスでは、凍結融解・短期保存安定性の評価のみ言及されており、アンケート結果では、長期保存安定性評価を実施ないという回答が半数を占めた。評価しない理由としては、陽性対照での評価は生成したADAの安定性を反映するものではない、一般的に抗体は安定と考えるなどの理由であった。
- 安定性期間を超過した場合の対応としては、参考値として取扱うか不採用とするかなど、関係者で十分議論すべきである。場合によっては、安定性の再評価や、ISS (Incurred Sample Stability) 評価など、追加評価の必要性が考えられる。



DGの考え

選択性

- ICH M10ではImmunogenicityは適用範囲外であるが、溶血、高脂質、患者試料についてPK同様の評価を実施しているケースが多い。基準をクリアしない場合には、Minimum required dilution (MRD)を上げるまたは患者集団に対象疾患が含まれなければ問題としないケースなどが考えられる。一方で分析法を再構築することも考慮し、慎重に判断すべきである。

パーシャルバリデーションについて

- Drug tolerance limit (DTL)・感度不足、対象疾患の変更、試薬の枯渇、当局からの指示などの理由から、実施するケースが考えられる。基準を満たさない場合には再バリデーションが必要となるケースもある。



DGの考え

クロスバリデーションについて

- 実施施設が異なる場合、試験間の比較が必要となるが、ADA分析において評価方法や基準が明確になっていない。陰性対照・陽性対照を用いた陰性率/陽性率による評価や再現性評価などが一般的と考えられる。アンケートやDGメンバーでも実績が少ないため、本シンポジウム内での幅広い情報と活発な議論を期待する。

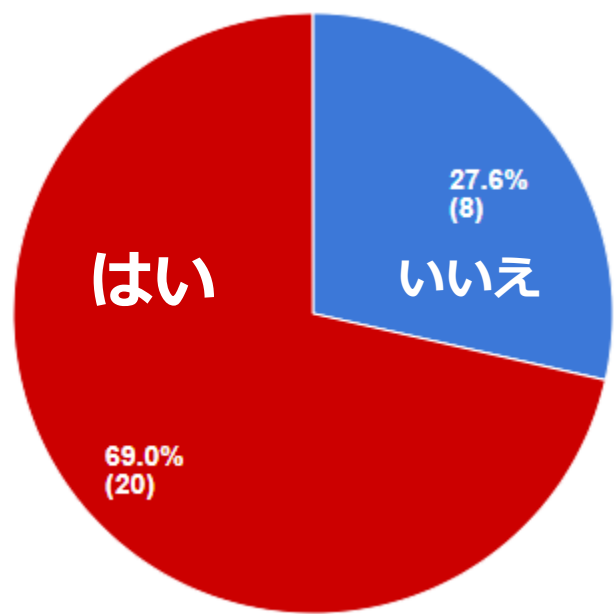




患者試料

Q83.
ADA測定バリデーションで患者試料を用いた評価を行った経験はありますか？

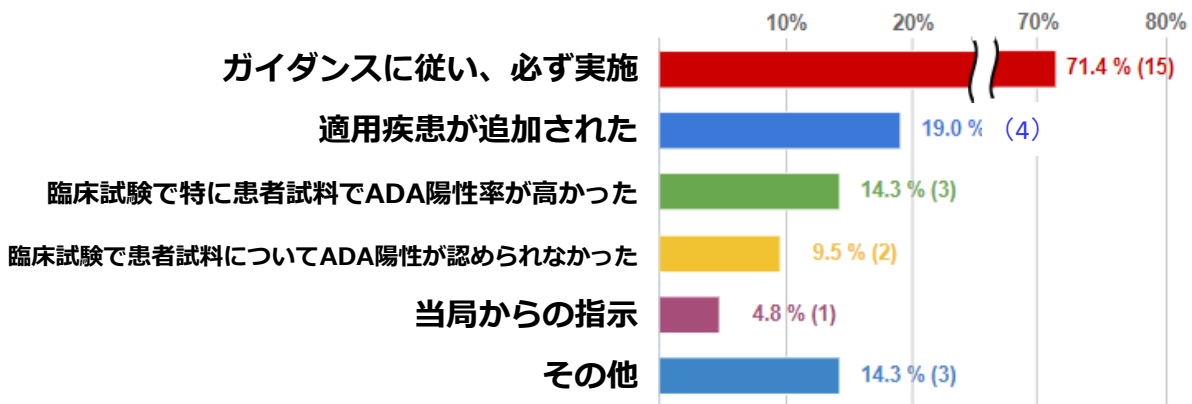
Answered : 28



DGxE

Q84 .(Q83はいと回答された方)
患者試料を用いた評価を行ったきっかけを教えてください

Answered : 21



その他（自由記載）：

- ・海外委託者はほぼ実施（1）
- ・FRPが低値または高値のとき（1）
- ・スポンサーの要望（1）

http://bioanalysisforum.jp/

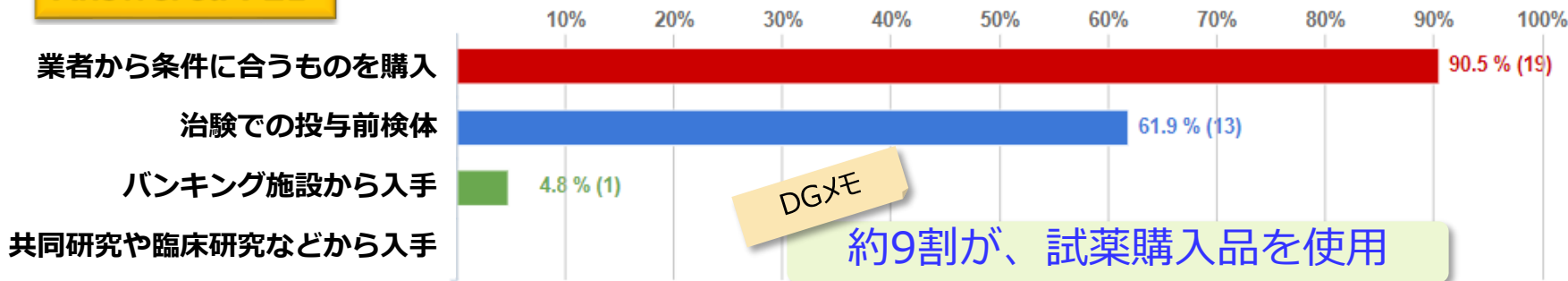
約7割が、ガイダンスに従い、バリデーションで患者試料の評価を実施



患者試料

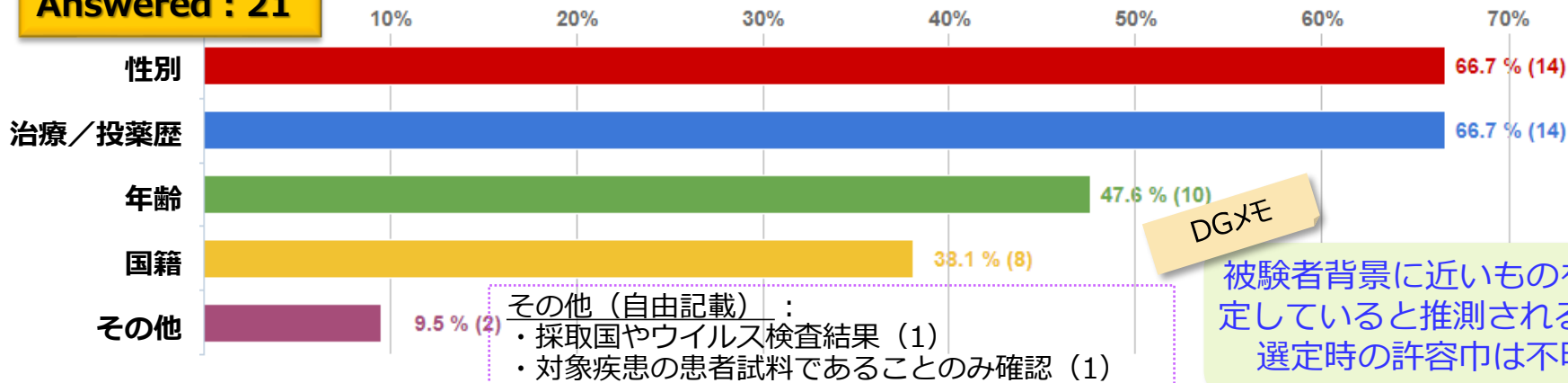
Q85. (Q83ではいと回答された方) 患者試料はどのように入手しましたか？

Answered : 21



Q86. (Q85で「治験での投与前検体」以外を入手先と回答された方) 購入品等の患者試料を選定するときは、どのような情報を確認しますか？

Answered : 21

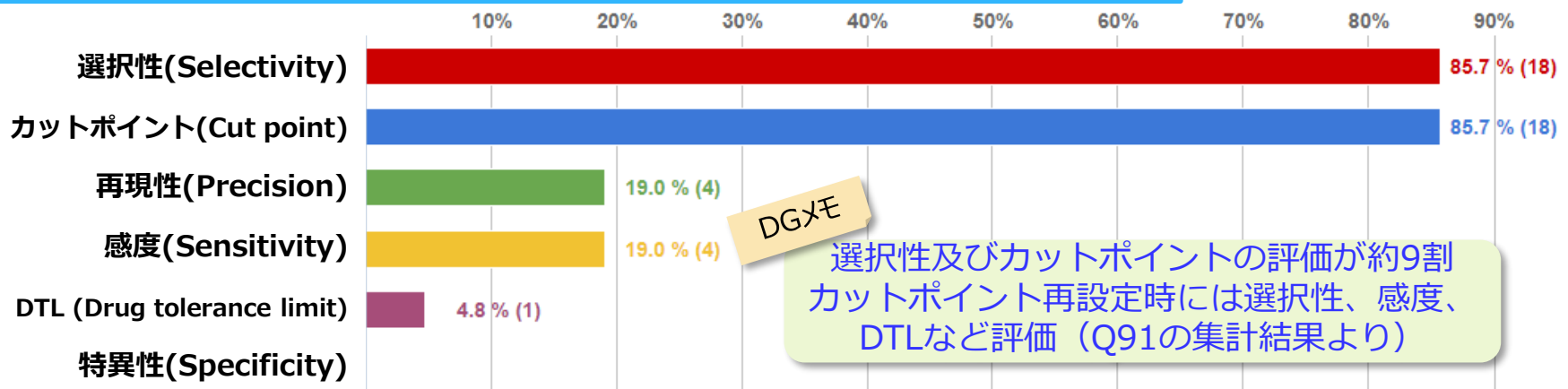




患者試料

Q87. 患者試料を用いた評価はどの項目を実施しますか？

Answered : 21



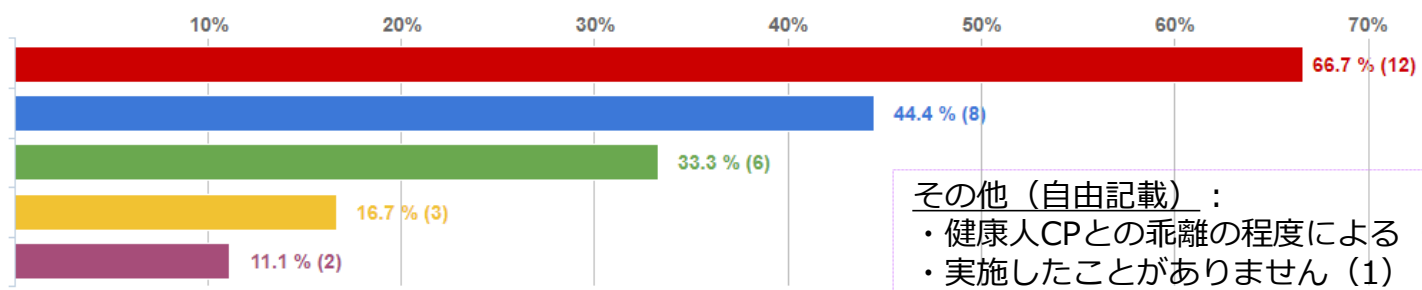
DG×E

選択性及びカットポイントの評価が約9割
カットポイント再設定時には選択性、感度、
DTLなど評価 (Q91の集計結果より)

Q91. (Q87でカットポイントを評価すると回答された方)
患者試料でのカットポイントの設定をパーシャルバリまたはIn-studyで実施する場合、どの項目を評価しますか？

Answered : 18

■ 選択性(Selectivity) ■ 感度(Sensitivity) ■ DTL (Drug tolerance limit : 共存薬物の影響) ■ Target tolerance ■ その他



その他 (自由記載) :
・健康人CPとの乖離の程度による (1)
・実施したことがありません (1)

http://bioanalysisforum.jp/

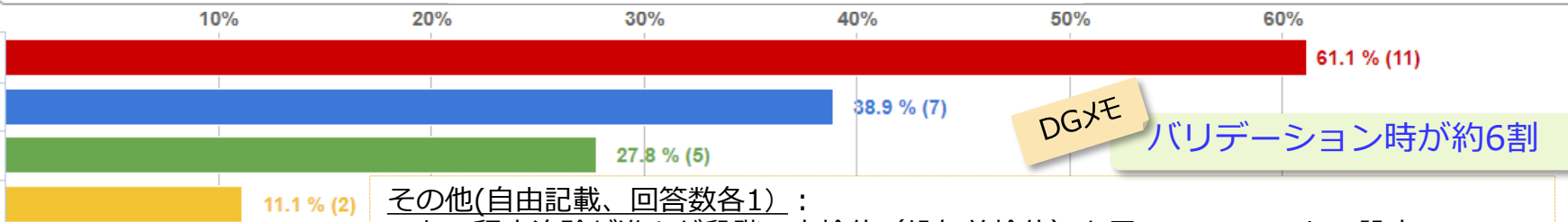


患者試料

Q88. (Q87でカットポイントを評価すると回答された方)
患者試料を用いたカットポイントは、どの段階で設定しますか？

Answered : 18

■ バリデーション時に市販品を用いて実施 ■ in-study (検体測定試験) でFalse Positive Rateを確認し設定 ■ in-study (検体測定試験) で決め打ち ■ その他



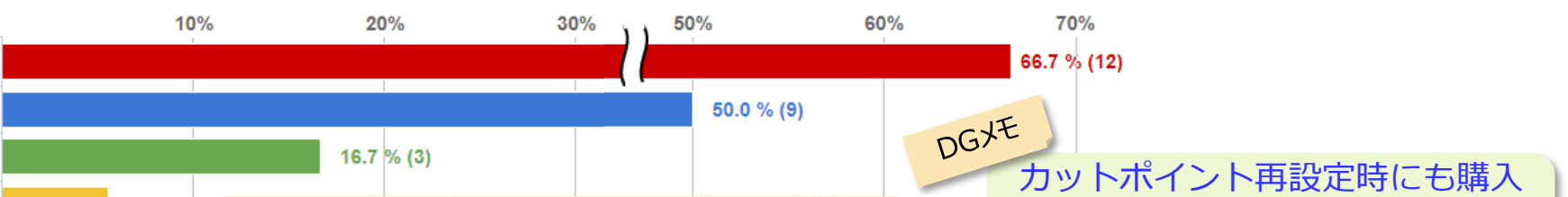
DGメモ
 バリデーション時が約6割

その他(自由記載、回答数各1) :
 ・ある程度治験が進んだ段階で実検体 (投与前検体) を用いてPre-studyで設定
 ・バリデーション時に前回の患者試験の検体を用いて実施

Q89. (Q87でカットポイントを評価すると回答された方)
患者試料でのカットポイントの設定を具体的にどのように実施しますか？

Answered : 18

■ 市販品を購入し設定 ■ In-studyで一部の投与前検体を選択して評価 ■ In-studyで全ての投与前検体を使用して評価 ■ その他



DGメモ
 カットポイント再設定時にも購入品の使用が多く、投与前検体は (全部でなく) 一部使用が多い

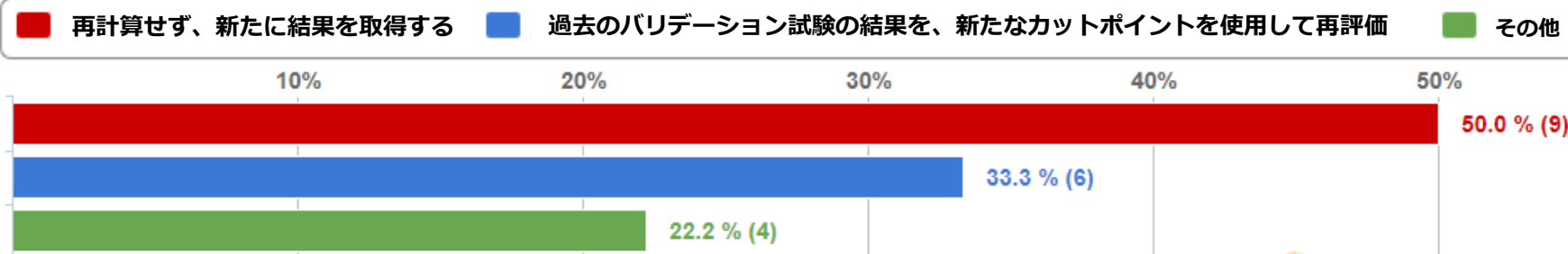
その他 (自由記載) :
 Pre-studyで一部の投与前検体を使用して設定

http://bioanalysisforum.jp/

Q90. (Q87でカットポイントを評価すると回答された方)

患者試料でのカットポイントの設定をパーシャルバリまたはIn-studyで実施する場合、その他のバリデーション項目はどのように対応しますか？

Answered : 18



その他 (自由記載) :

- 必要に応じて実施 (1)
- 対応していないが、新たなカットポイントで再計算の必要があると考える(1)
- 特に何もしない (カットポイントと同時に選択性は評価) (1)
- 健康成人試料から患者試料のカットポイントに変更したことにより、LPCの濃度を変更する場合は、必要なバリデーション試験を実施する。LPCの濃度を変更しない場合は、新たなカットポイントを使用して再評価する(1)

DGメモ

カットポイントの再設定が必要になったときには、新たな結果を取得するのが半数。過去のデータで再計算する場合に違うデータ解釈になるリスクはないか、要議論。





患者試料

Q92. (Q87でカットポイントを設定すると回答された方)
カットポイントを再設定するにあたり、困った経験がありましたら教えてください。

Answered : 8

自由記載
(一部抜粋、回答数各1)

分類	アンケート結果	DGメンバーでの議論
検体入手の課題	<ul style="list-style-type: none"> 患者試料の入手が困難で、時間的な問題と、個体数は確保できた数で実施した 希少マトリックスの入手、健常人カットポイントとの比較及び評価方法 患者マトリックスの入手までに時間を要しプロジェクトが遅延した 初適応症の臨床試験の例数が少ない時、患者シグナル分布と健常者シグナル分布比較を統計的に意味のある解析ができない、統計的に意味ある患者カットポイントを設定できない 	<p>客観的に適切と思われる解析ができたらよいが、In-Studyで例数を確保するのが難しいこともある(例：希少疾患)</p>  <p>DGの考え</p>
統計解析	<ul style="list-style-type: none"> データ数が多い(50例のセットを6回測定)統計的な知識が必要だが、統計の専門家が不在 	<p>統計解析の専門性だけでなく、Bioanalysis評価に合わせた統計解析を相談できる人がいるとよい。</p>
分析法？ 疾患別？	<ul style="list-style-type: none"> 同一患者群で異なった臨床試験で全く異なったカットポイントが算出された 	<p>シンポジウムで、ご意見いただきたい</p>  <p>シンポジウムで意見募集</p>

http://bioanalysisforum.jp/

Q93. 患者層の違い (Target indication) が結果に与える影響について ご意見があれば記載ください


Answered : 10

自由記載

(一部抜粋、回答数各1)



分類	アンケート結果	DGメンバーでの議論	DGの考え
患者層、 背景の違い	<ul style="list-style-type: none"> リウマチ因子は影響を与える場合が多いため確認する必要がある。 患者層によって特有の生体内成分が測定系に影響を及ぼす可能性はやはりあると思います。例えば、ターゲットのタンパクが可溶性の場合、その濃度によって測定結果が異なる可能性などが考えられるため。 ターゲットタンパク質の濃度の違いがADA分析法に影響を与える。 	<ul style="list-style-type: none"> ADA分析法が影響を受け易い「疾患」の情報は共有できないか？ (例：リウマチ、自己抗体できる疾患) 結果に与える様々な要因があることがわかった (例：疾患患者血中でのADA生成メカニズムが変化、内因性成分の質、量の違いやターゲットタンパク質濃度がADA分析法に影響) 	
同等性が確認でき 事なきを得た	<ul style="list-style-type: none"> 陽性率に違いが生じたが、統計解析により、他試験と同等と判断されたため、分析法の再検討には至らなかった。 健常人、患者、各シグナルの同等性を確認出来れば、カットポイントは共通のものを使用可能と考える。 	<ul style="list-style-type: none"> 同等性を示すためのロジックを示した論文調査は有効 (AAPSのWhite paper*に記述あり) *AAPSJ, 2022, 24:4 	
経験、今後 に向けて	<ul style="list-style-type: none"> 実際に患者層と健常人でシグナルが異なる傾向にあり、異なる人種の集団でも再現されたのはびっくりした。 その疾患がADAの測定にどのように影響を及ぼすのかもっと知見を集める必要があると思います。 	<ul style="list-style-type: none"> FPR (2-11%) で同等性を評価し、違いが生じたらカットポイントの再設定が必要。 	

項目	アンケート結果とDGの議論	シンポで議論 したいこと
実施タイミング、 方法 Q. 83-87	<ul style="list-style-type: none"> ガイダンスに従い、事前にバリデーションで選択性評価やカットポイントを設定 (約7割) 市販試薬として試料購入 (約9割)、治験での投与前検体 (約5割が一部、約2割が全部使用) 試薬購入時に性別や治療、投薬歴確認 (約7割) <p>【DGの議論】 治験検体のバリデーション等への使用用途に同意取得必須。試薬購入時の選定要件は要調査。</p>	<p>各社対応の違い、ICH M10ガイダンス影響</p>
In-study/パー シャルバリで カットポイント 再設定 Q. 89-91	<ul style="list-style-type: none"> 再設定時には選択性を評価しているの多いが、感度、Drug tolerance limitなど評価しているとの回答もあり カットポイントの再設定が必要になったときには、各項目も新たな結果を取得 (約5割) 過去のバリ結果を新しいカットポイントで再計算 (約3割) <p>【DGの議論】 過去のデータで再計算した場合に当初と違うデータ解釈になるリスクはないか？</p>	<p>カットポイント再設定の経験者が少ない</p> 

Q94.

False Positive Rate (2-11%) を逸脱したときに、カットポイントを再設定する以外の方法で対処したことはあれば対処方法を教えてください

Answered : 9

自由記載
(一部抜粋、回答数各1)



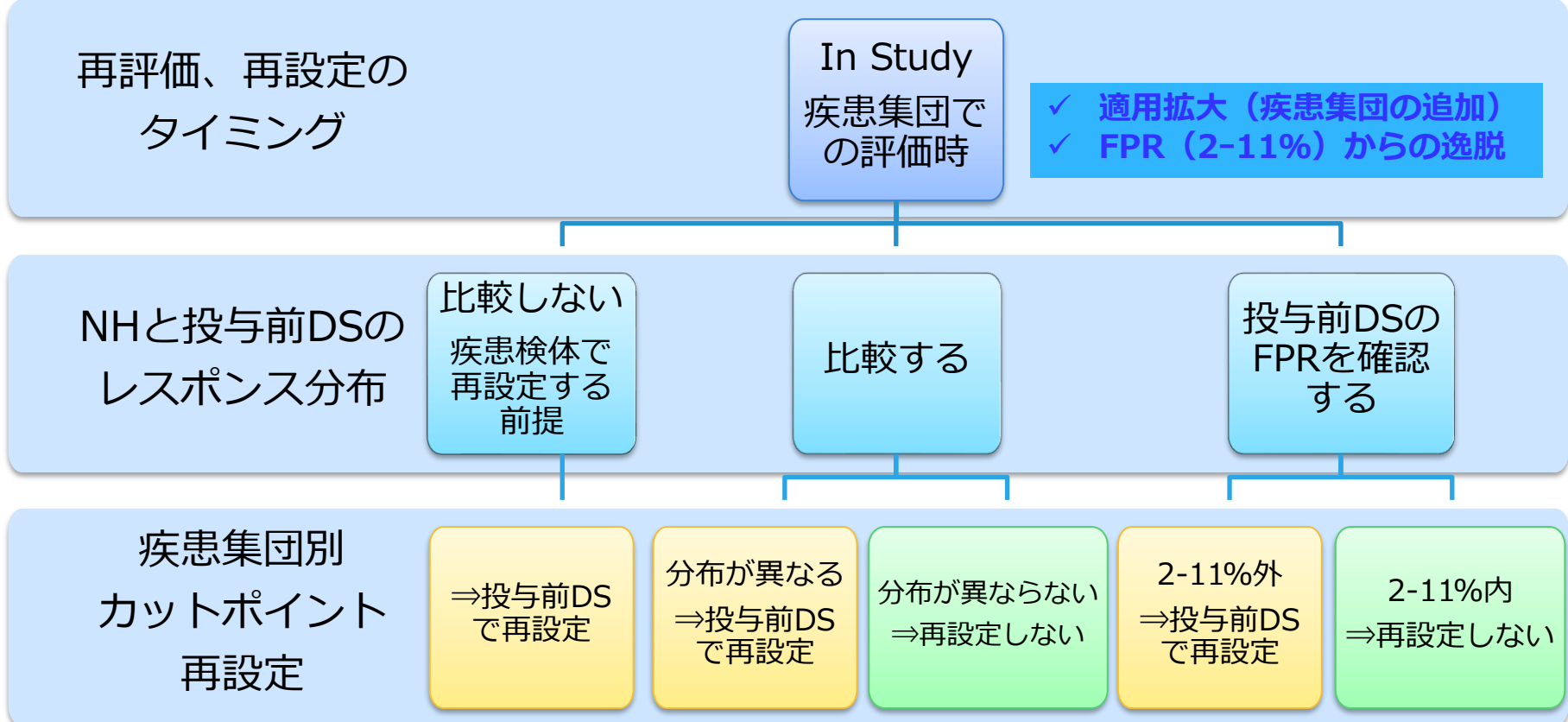
DGの考え

分類	アンケート結果	DGメンバーでの議論
希釈し 再現性	<ul style="list-style-type: none"> 投与されている薬剤がADAに影響を与えていて、検体を希釈したことがある。 	<ul style="list-style-type: none"> FPR 2%以下のときに、分析法の妥当性を問われる可能性があり、陽性対照の選定や分析法の再検討が必要となる場合がある。 分析法構築、バリデーションで人種や例数を増やすことが有効だが、試薬購入の制限（適した疾患・投薬歴や試料量等）もある。治験の実検体を検討に供するときには、使用用途としてICF（インフォームドコンセント）にて了承されている必要あり。 薬物濃度測定試験では、PK結果と比較することにより、ADA用検体評価時点での試料中薬剤濃度の影響を合わせて評価する必要あり。
再設定 せず	<ul style="list-style-type: none"> 臨床開発ステージの初期では、FPRが2-11%を逸脱したからと言って必ずしもin-studyもしくはPopulation specificカットポイントを設定する必要もないと思います。もちろんそのプロジェクトに大きく依存しますが。 FPRが2%を超えないので困っているが何も行っていないのが実情 特になにもしなかった。 	




ケーススタディ (ADAでのカットポイント再設定)
DG2022-56 LBAのライフサイクルマネジメント作図を一部改編

ADA評価における疾患集団特異的なカットポイントの再設定



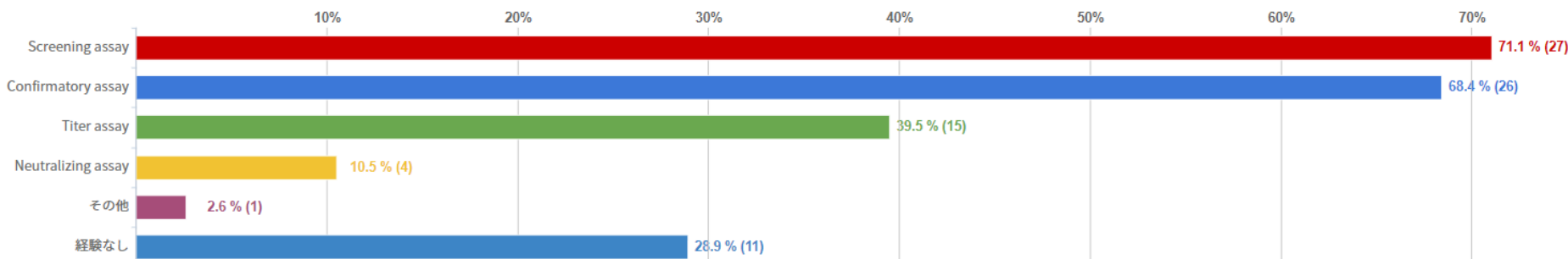
http://bioanalysisforum.jp/

NH: normal healthy
DS: disease state
CP: cut point
FPR: false positive rate

項目	アンケート結果とDGの議論	シンポで議論 したいこと
困ったこと Q. 92	<ul style="list-style-type: none"> 疾患患者試料の入手が困難。特に希少疾患。健常と疾患検体数に差があり有意な統計解析ができない Bioanalysisに適した統計解析の相談ができない <p>【DGの議論】疾患検体が入手困難時の対策を知りたい</p>	<p>個社で経験者、事例は少ないので、共有する機会があるとよい</p>  <p>シンポジウム で意見募集</p>
患者集団の違いが与える影響 Q. 93	<ul style="list-style-type: none"> リウマチ因子、自己免疫疾患などADAが生じやすい事例がある 内因性成分、ターゲットタンパク質の濃度の違いの影響 <p>【DGの議論】事例を収集し、原因究明に向けたディスカッションを行うことで、事前に評価すべき疾患群、背景情報などを抽出できないか</p>	
FRP (2-11%) を外れるかもしれないときの対応 Q. 94	<ul style="list-style-type: none"> 内因性成分や併用薬の影響→希釈して再現性を確認 FPRが2%以下のときに検出力不足が指摘される可能性あり。陽性対照の再設定、分析法再検討が必要となる場合あり <p>【DGの議論】ADAが生成しないようにDrug designしているので、陽性が少ない場合もある。ADAを生じにくい場合、陽性対照物質の再設定も難しい</p>	

Q95. 非臨床試験におけるADA評価では、どの項目を実施していますか？

Answered : 38



その他（自由記載）：スポンサー、評価対象による（1）

DGメモ

- Screening assayとConfirmatory assayがともに約7割を占めた。
- DG2019-43ではTiter assayを実施する回答が多かったが、今回のアンケートでは約4割にとどまった。

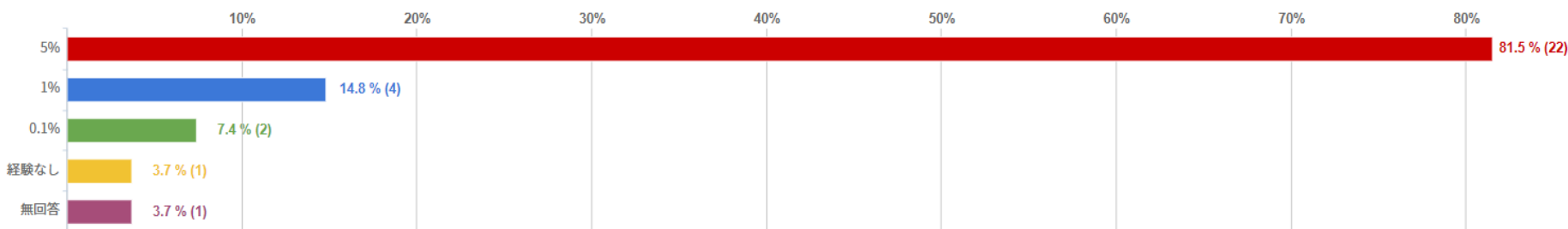


DGの考え

- ▶ ADA評価の知見が増えたことに伴い、非臨床試験ではConfirmatory assayまでに留める傾向となっていると考えられた。

Q96. 非臨床におけるADA評価で、Screening assayの信頼区間に設定する値は何を用いますか？

Answered : 27



DG×E

- 「5%を設定する」が約8割（22/27*）で大多数を占めた。



DGの考え

- DG2019-43#の際は約2割（6/26*）であったため、ADA評価の経験が増え、5%が妥当とする傾向に転じたものと思われた。

*: 5%と回答した数/総回答数

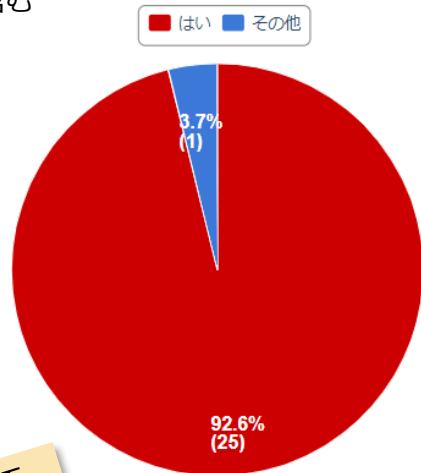
#: DG2019-43: ADA分析の道しるべ — 分析法開発及び非臨床・臨床試験実施における留意点 —

JBF 非臨床試験

Q97. 非臨床におけるADA評価で、Cut pointを算出していますか？

Answered : 27

無回答1例を含む



DGXモ

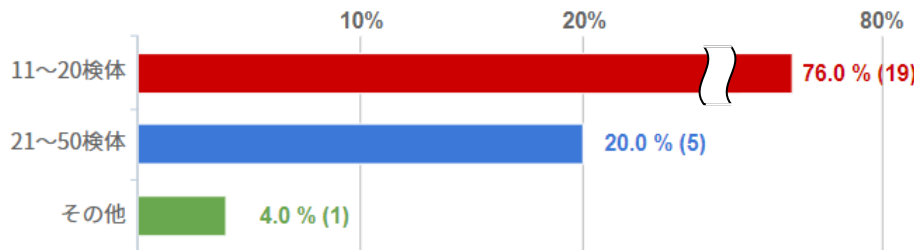
- 「Cut pointを算出する」という回答が約9割と大多数を占めた。
- また、cut point算出には「11~20検体」を設定するケースが約8割。

➤ Shankar*文献の15例以上を参考に、11~20検体が多いと思われた。

*: Pharm Biomed Anal. 2008 Dec 15;48(5):1267-81.

Q98. (Q97ではいと回答された方) 非臨床でCut point算出にどのぐらいの検体数を用いていますか？

Answered : 25



その他 (自由記載) : 20~30検体 (1)

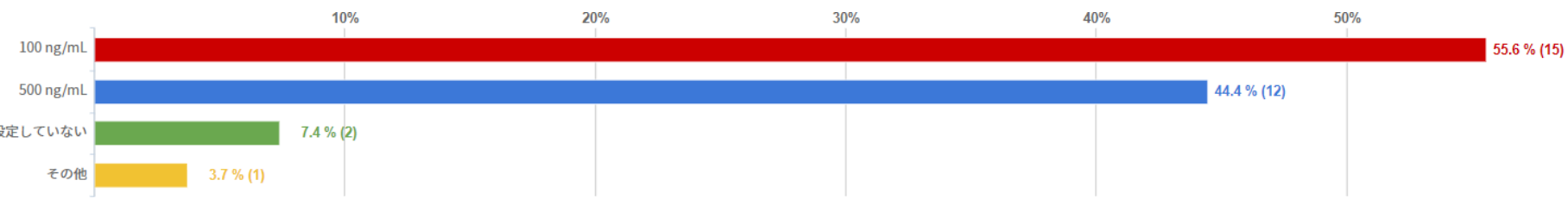
http://bioanalysisforum.jp/



JBF 非臨床試験

Q99. 非臨床でADA測定目標感度をどのように設定していますか？

Answered : 27



その他（自由記載）：
100 ng/mLを目標に設定。達成できなくても、そのまま分析法を構築することが多い（1）

DGXE
 • 100 ng/mLと500 ng/mLが概ね半々であった。

➤ FDAガイダンスを意識し、100 ng/mLに取り組むケースが多いと推察された。

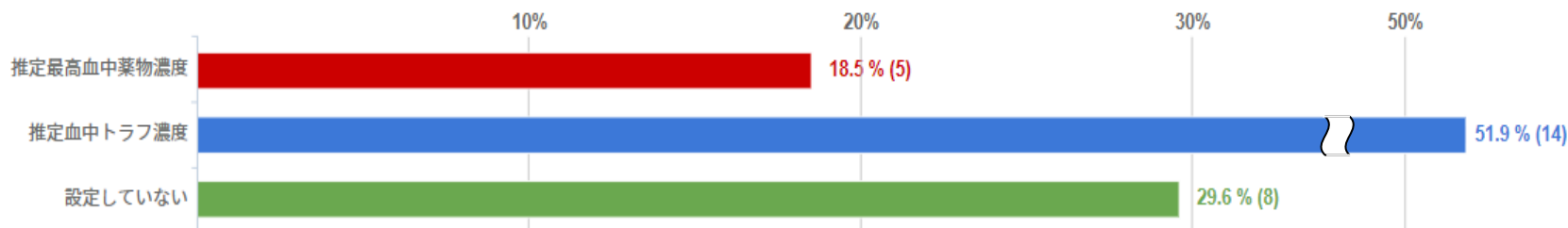


http://bioanalysisforum.jp/

JBF 非臨床試験

Q100. 非臨床でDrug tolerance limitの目標値をどのように設定していますか？

Answered : 27



DGメモ

- 「推定血中トラフ濃度」が約5割を占めた。DG2019-43#（約2割）と比較して、増加の傾向が認められた。
- 一方で、「設定しない」とする回答も約3割を占めた。

#: DG2019-43 : ADA分析の道しるべ – 分析法開発及び非臨床・臨床試験実施における留意点 –

- 臨床試験で想定するトラフ濃度を根拠とする傾向が見受けられた。
- 非臨床試験では、臨床試験で想定しない濃度域となることも加味して、DTL設定の可否を判断しているものと思われた。



DGの考え

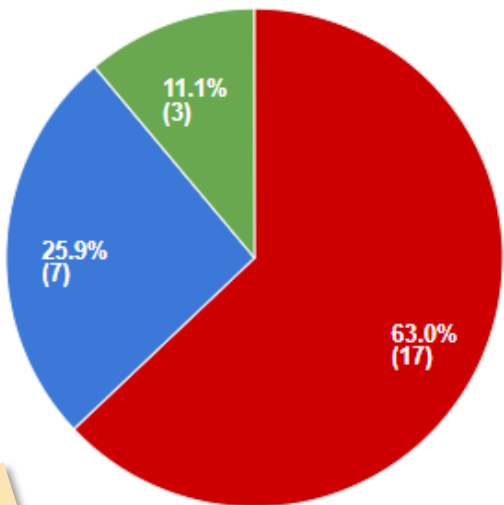


非臨床試験

Q101.
非臨床でDrug tolerance limit改善を
目的とした前処理を実施していますか？

Answered : 27

■ はい ■ いいえ ■ 経験無し

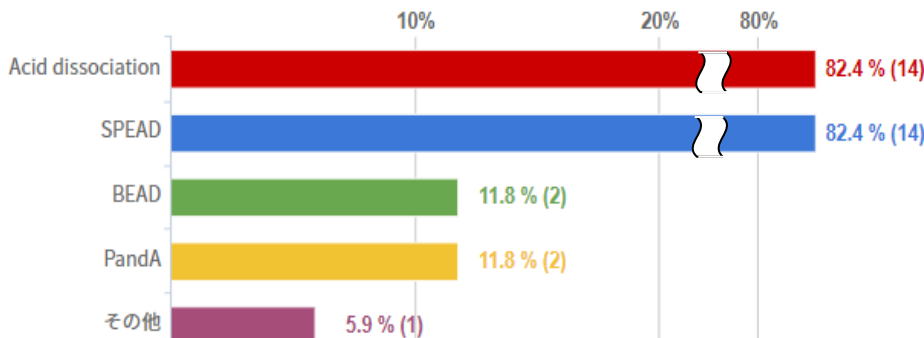


DGX/E

- 回答者の約6割がDTL改善の前処理をしていた。
- 処理法は酸解離法、SPEAD法がともに約8割と大多数を占めた。

Q102. (Q101ではいと回答された方)
非臨床でどのような前処理を実施していますか？

Answered : 17



その他 (自由記載) :
MSDB: Meso Scale Discovery bridging法 (1)

Q66. 臨床試験におけるDTL 参照

SPEAD: solid-phase extraction with acid dissociation
BEAD: biotin-drug extraction with acid dissociation
Panda: precipitation and acid-dissociation

http://bioanalysisforum.jp/

 JBF 非臨床試験

Q103.

臨床試験の進行に伴い、非臨床試験のADA測定法を変更した経験はありますか？
経験のある方は、変更が必要となった理由を教えてください。

Answered : 8

自由記載

- 経験なし (7)
- 原理は変えないが、そもそも動物種 (タンパク) が異なるので同じ試薬は使えない (結合試薬だけではなくブロッキングバッファーなども) (1)

➤ 「変更経験はない」とする回答が多く、臨床試験の進行に伴う、非臨床試験でのADA測定法変更の必要性は低いものと思われた。

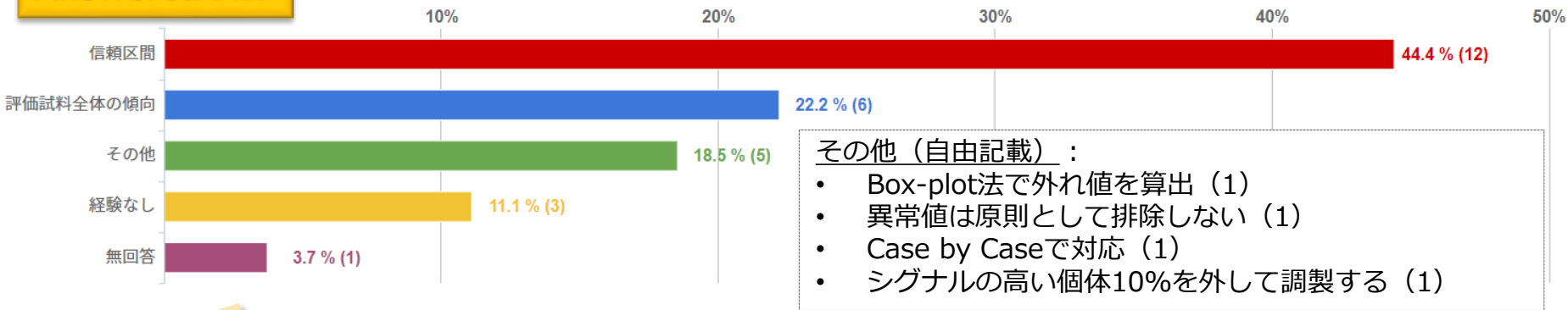


DGの考え

JBF 非臨床試験

Q104.
非臨床試験におけるADA評価で、陰性対照調製の際、異常値の基準をどのように設定していますか？

Answered : 27



DG×E

「信頼区間を用いる」とする回答が約4割。

- 陰性対照として使用できることが重要。
- 異常値の除外法は「信頼区間」と「試料全体の傾向」のどちらを用いても、ADA評価の結論には影響がなく、問題ないと思われた。
- 臨床試料と比較すると、非臨床試料は個体差が少ない傾向がある。
- Pool試料で外れ値が出た場合には、この外れ個体を除くことは困難。



DGの考え

http://bioanalysisforum.jp/

Q105.

重要試薬の取り扱いについて、臨床・非臨床で異なる点があれば教えてください。

Answered : 12

自由記載（一部抜粋）：

- ・異なる点はない（7）
- ・各試験で投薬された原薬を用いる努力をしている（2）
- ・臨床に使用する重要試薬は、非臨床と異なり、長期試験をイメージした管理が必要になると思う（定期的な安定性の確認やロット変更への対応等）（1）
- ・非臨床は標識体の安定性評価を実施していない（1）
- ・特にないが、非臨床と臨床で同じものを使用できるように留意している（1）

DGXE

- 臨床と非臨床で「異なる点はない」とする回答が多い。
- 一方で、臨床試験と非臨床試験でそれぞれの試験期間に応じた対応が推察された。
 - 臨床試験：試験期間が長く、試薬変更を前提。
 - 非臨床試験：各試験における試薬管理を徹底。

Q106. 臨床、非臨床でCut point設定について違いがあれば教えてください。

Answered : 16

*: Pharm Biomed Anal. 2008 Dec 15;48(5):1267-81.

自由記載（一部抜粋）：

- 使用個体数
 - 非臨床は臨床よりも少ない（2）
 - 非臨床では20-30個体程度、臨床では50個体程度を使用（1）
- 統計解析
 - 臨床では実施し、非臨床は実施しない（4）
 - 非臨床では軽微な解析のみ実施（1）
 - 臨床はShankar*文献のような統計解析を実施（1）
- Cut point設定
 - 評価日数（非臨床：3バッチ、臨床：6バッチ）、または分析数（2）
 - 臨床では患者CPなど、非臨床よりも細かな設定が必要（1）

DGXE

▶ 非臨床ではCut point設定の際、臨床よりも使用個体数が少なく、統計解析を簡便とする傾向があった（または実施しない）。



DGの考え

アンケート結果	DGメンバーでの議論
<ul style="list-style-type: none"> • ADA評価はScreening/Confirmatory assayまで実施する回答が増加。 	<p>非臨床ではADAの有無を評価することに重きが置かれている傾向が伺えた。</p>
<ul style="list-style-type: none"> • DTLの目標値は「推定血中トラフ濃度」という回答が増加した一方、「設定しない」という回答も一定数ある。 	<p>DTLの目標値設定は、非臨床では臨床濃度を超える条件下でのADA測定となることを考慮して、設定要否を判断していると思われた。</p>
<ul style="list-style-type: none"> • 非臨床でのCut point算出は、臨床と比較すると使用個体数が少なく統計処理を簡便とする回答が多い。 	<p>非臨床試験に特有の条件（測定法、個体のバラツキの少なさ等）を考慮して、評価条件の設定に取り組んでいる状況が伺えた。</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Screening assayの信頼区間は5%を設定する回答が多い。 • 臨床試験の進展に伴う、非臨床ADA測定法の変更経験はない。 • 陰性対照調製時の異常値は、信頼区間または全体の傾向から除外する回答が多い。 • 重要試薬の取り扱いに非臨床と臨床で大きな違いはない。 	<p>その他の項目については、臨床・非臨床で大きな差はなく、共通した対応がなされている様子が伺えた。</p>

- 本DGではADA測定を実施する上でのライフサイクルマネジメントに関する各実施者の対応状況を調査した。
- 本DGのメンバー個々がそれぞれ悩みを抱えていたが、アンケート結果からも回答者の皆さんが実務において対応に苦慮する事案に遭遇していることが改めて確認できた。
- 基本的に、FDA/EMAのガイドラインやWhite Paperに従って対応している姿勢がうかがえたが、PK測定とは異なり実施すべき項目が確定しているとはいえず、個々の考えに基づいて適宜対応していることが再認識された。
- ADA測定の一歩の特性として、測定対象そのものを獲得することが困難なため、陽性対照を設定して測定を実施せざるを得ないという点が挙げられる。その特性ゆえに、業務実施に際しては手探りな点が多々あることも読み取れた。
- 今回明らかになった、ADA測定法のライフサイクルマネジメントにおける疑問点について、JBFメンバー内で対応ノウハウを共有するなどの取り組みを実施し、議論を継続していくことが必要と考えられた。

- DGとしては、各実務担当者が会社の垣根を越えて悩みを共有し、業界として一緒に解決していけるような風土が醸成されることに、本活動がつながることを願っています。
- シンポジウムではアンケート結果及びDGでの議論内容について皆様のご意見をお伺いしたいと思います。

シンポジウム当日は、ADA測定初心者の方からベテランの方々まで多くの方にポスター会場にお越しいただき、議論することが出来ました。以下に一部を紹介させていただきます。

分類	ご質問・ご意見	DGとしての回答
バリデーション	Domain Specificity 評価についてどのように評価しているか知りたい。	各部分構造(Domain)品を用意し、添加阻害試験で評価する。あるいは、各構造(Domain)を認識する抗体を作製して評価することが考えられる。(Q72参照)
バリデーション	Plate controlとはどういうことか。また基準はあるか。	Plate間で同等の評価ができることを確認すること。明確な基準は無く、今回のアンケートでは各社の運用状況を知るために「NCとQCのシグナルがロット変更前と同等なこと、NC<LQC<HQCになること、ポジネガの判定が覆らないことを確認する」を想定して選択肢とした。AAPS White Paper (Myler et al) が参考になる。
バリデーション	臨床試験の免疫原性測定において、簡易な測定系確認後に実検体を測定する場合のカットポイントはバリデーションと同じ条件で設定するのか？	バリデーションとは違い例数を減らして設定した経験があること、また、統計学的アプローチはせずにNCの1.2倍、1.5倍など暫定的なスクリーニングCPを設定したことがあること、予算の都合上、スクリーニングのみ実施したケースもあったが、トラブルがあり、結果的に確認測定まで実施することを勧めたことがあること、を事例として紹介した。
陽性対照	長期安定性評価は必要か。その範囲内で測定を実施する必要があるか。 実検体中のADAの安定性はどのように評価するのか。	安定性を評価するケースでは、基本的には陽性対照をマトリクスに添加して評価することで長期安定性を確認している。安定性の範囲内で実検体の測定を実施している例が多い。ガイダンスでは明記されておらず長期安定性評価は不要とする意見も多い(抗体の一般的性質から)。実検体中のADAの安定性については、実検体を再評価(再測定)してISS (incurred sample stability)で評価する対応が考えられる。

分類	ご質問・ご意見	DGとしての回答
陽性対照	使用期限の設定方法が知りたい。	Pre-study (またはin-study)で各試験実施時に反応性を確認する対応がいい。試験実施中のときには、試験責任者が使用に問題がないことをコメントする。
重要試薬	標識試薬を調整する元の標準物質COAが入手できない場合の対応は？	標準物質のCOAは必要で、標識実施前まで保証されている必要があると思われる。 標識後は各施設のSOPに従うとともに、活性等で評価しながら使用期限を設定していくという対応が考えられる。 標準物質のロット変更時の標識体の再調整の必要性については各社のポリシーによる。
重要試薬	重要試薬にCOAは必要か。その記載内容と使用期限は。	重要試薬のCOAもあった方がいいが、必須とはされていない。 アンケート結果 (Q42) からは、Pre-study (またはIn-study) で実測定前に反応性を評価し、重要試薬の活性に問題がなければ、そのまま使用が可能と判断する会社が多い。 COA等への記載項目については、Q24の回答が参考になる。
その他	非臨床でのTiter実施が過去DGと比較して少なくなっている背景は？	ADAはTK/PKの補助的役割で、そこまで詳しい評価を求めないこと、Confirmatoryまでの結果からS/Nで評価するケースがあることなどが考えられる。また、個々のアンケートの回答者層による偏りの可能性もある。
その他	感度はどこまで求めるか？	ガイダンスを参照し、臨床100 ng/mL、非臨床500 ng/mLが多い。 臨床においては測定系の発展に伴い、可能な限り高感度を求めることがFDAの意見としてある。
その他	SPEAD assayなど、手技難易度が高く前処理ができない。経験をお聞きしたい。	担当者によっては処理できないケースもあり熟練度が大事。SPEAD assayは酸処理から中和までの時間を揃えないとプレート間差がでることもある。カットポイント算出時など複数プレートを処理する際は特に注意が必要。自動分注装置を使うなどの対策が有効かもしれない。