

平成21年度戦略的技術開発委託費  
医療機器開発ガイドライン策定事業  
(医療機器に関する開発ガイドライン作成のための支援事業)

医療機器評価指標ガイドライン  
テーラーメイド医療用診断機器分野  
(遺伝子発現解析用DNAチップ)  
開発WG報告書

平成22年3月

独立行政法人 産業技術総合研究所



テーラーメイド医療用診断機器(遺伝子発現解析用DNAチップ)開発ワーキンググループ委員名簿

(敬称略、五十音順)

委員

秋山 英雄	東レ株式会社先端融合研究所 主任研究員
油谷 浩幸	東京大学先端科学技術研究センター 教授
楠岡 英雄	国立病院機構大阪医療センター 院長
久原 哲	九州大学大学院農学研究院 教授
桑 克彦	日本臨床検査標準協議会(JCCLS) 理事
橋本 幸二	東芝ディスプレイ・部品材料統括新デバイス開発センター 参事
林 慎一 (座長)	東北大学医学部保健学科分子検査学分野 教授
松岡 厚子	国立医薬品食品衛生研究所療品部 部長

開発WG事務局

木山 亮一 (独)産業技術総合研究所 シグナル分子研究グループ 主任研究員

テーラーメイド医療用診断機器(遺伝子発現解析用DNAチップ)開発 WG 会議 開催日

第1回開発 WG 会議

開催日 平成22年2月17日(水)

## 目次

1. 当該技術分野の概要と事業の意義	1
1.1 「テラーメイド医療用診断機器」ガイドライン事業の目的	1
1.2 遺伝子発現解析用DNAチップに関するガイドラインの策定について	2
1.2.1 背景と経緯	2
1.2.2 発現解析DNAチップのガイドラインを作成する理由	2
1.2.3 発現解析DNAチップガイドラインの内容	3
1.2.4 期待される効果	3
1.2.5 遺伝子発現解析用DNAチップに関する最新動向	4
1.2.6 遺伝子診断のための検体管理の標準化動向	4
1.3 テラーメイド医療用診断機器(DNAチップ)に関する最新動向	4
1.4 米国FDAによるDNAチップに関する規制	12
1.4.1 米国FDAによるガイダンス、コンセプトペーパーの例(1)	12
1.4.2 米国FDAによるガイダンス、コンセプトペーパーの例(2)	21
1.4.3 米国FDAによるガイダンス、コンセプトペーパーの例(3)	28
2. 平成21年度開発ガイドラインワーキンググループ委員会の検討結果	41
2.1 はじめに	41
2.2 遺伝子発現解析用DNAチップ	41
2.3 標準	42
2.4 測定装置	43
2.5 評価法	46
3. DNAチップに関する実証試験:オリゴDNAチップを用いたエストロゲン活性データの解析	47
3.1 実験目的	47
3.2 実験方法	47
3.3 実験結果	48
3.4 考察	49
3.5 参考文献	49
4. まとめと今後の課題	50

## 参考資料

1. 平成21年度 第1回テラーメイド医療用診断機器分野・遺伝子発現解析用DNAチップ開発ワーキンググループ  
委員会議事録
2. 配布資料一覧
3. 「テラーメイド医療用診断機器(DNAチップ)開発ガイドライン2007-遺伝子型(ジェノタイプ)検定用DNAチップに関して-」
4. 遺伝子発現解析用DNAチップ開発ガイドラインについて(事務局説明資料)抜粋

## 1. 当該技術分野の概要と事業の意義

### 1.1 「テーラーメイド医療用診断機器」ガイドライン事業の目的

2003年にヒトゲノム計画が終了しヒトゲノムDNA塩基配列の約99%が決定された。その結果、現在までに約28000の遺伝子が国際ヒトゲノム機構(HUGO)のデータベースに登録されている。また、ヒトゲノムには約300万個の一塩基多型があると試算されており、遺伝子の発現や機能を制御しているものも見つかってきている。さらに、コピー数多型(CNV)やマイクロRNAなどの新たなゲノムの機能も見つかってきており、がんなどの病気との関係も議論されている。このように、ゲノムや遺伝子と個人識別、個体差、あるいは病歴や体質などとの関係の解明が学術的に進んできており、それらの個人のゲノム/遺伝子情報をもとに診断や治療を行うテーラーメイド医療の進歩も著しい。本事業はこのようなテーラーメイド医療を支援する医療機器に関する開発ガイドラインを策定する事業である。DNAチップはテーラーメイド医療用診断機器として最も開発が進んでいる機器のひとつであり、バイオチップも含めた市場は、2010年までに全世界で40億ドルに達すると予想されている。

診断用DNAチップとしては、2004年にロッシュモレキュラーダイアグノスティクス(ロッシュ)社が遺伝子多型判定をもとにした薬剤代謝能を診断するDNAチップ(AmpliChip CYP450)について米国FDA(アメリカ食品医薬品局)の承認を得たのが最初であり、その後、2007年(平成19年)2月に米国FDAにより Agencia 社の乳癌転移リスク評価のためのDNAチップ(商品名:MammaPrint)がIVDMI(A In Vitro Diagnostic Multivariate Index Assay:体外診断用複数指標測定法)として初めて承認された。我が国においても、2007年2月にロッシュ社が厚生労働省にAmpliChip CYP450の製造販売承認申請を行ない、2009年5月に承認を得た。さらに、第一化学薬品、東芝、東芝ホクト電子は、共同で2007年5月にヒトパピローマウイルスを型判別するDNAチップ(クリニチップHPV)の承認申請を行い、2009年7月に承認を得た。このように、診断用DNAチップの開発と薬事申請が国内外で加速化している。一方で、診断用DNAチップの精度保証を高めるために、DNAチップ(DNAマイクロアレイ)の品質管理を標準化する動きが進み、米国では51の大学・企業などからなるマイクロアレイ品質管理(MAQC)コンソーシアムが2005年に設立され、2006年9月にフェーズ1の報告がNature biotechnology 誌に掲載された。我が国でも標準化の必要性が高まり、2007年10月にバイオチップコンソーシアムが設立され、診断用DNAチップの標準化が進んでいる。

一方で、遺伝子診断のための臨床検体(いわゆるプレアナリシス)の標準化が進んできており、OECDによるガイドラインがつくられ(2007年5月)、国際標準化機構(ISO)の第212技術委員会(TC212)においても遺伝子検査の標準化が議論され、DNAチップを取り巻く環境も大きく変化しようとしている。2009年1月には、DNAチップのMAQCコンソーシアムに相当する、遺伝子診断のための臨床検体の標準化を進めるプロジェクトSPIDIAが欧州共同体(EU)で始まった(「126 遺伝子診断のための検体管理の標準化動向」項参照)。このように、遺伝子検査とその検体管理の両方について標準化が加速化している。

本「テーラーメイド医療用診断機器」事業は、第4回次世代医療機器開発ガイドライン検討委員会(経済産業省)と次世代医療機器評価指標検討会(厚生労働省)において新たな検討分野として追加され、平成18年度より事業を開始した。

本事業の目的は以下のように要約できる。

(1) 迅速な審査を可能とする審査ガイドライン(ガイダンスなども含む)に対して、技術情報、評価方法、評価物質などを提供する。

(2) 円滑な開発や承認申請を可能とする手引き(手引き書、解説書)を提示し、必要に応じてJIS提案、基準物質や試験方法を提案して手引き書に加味する。

(3) 企業における開発の指針になるような開発ガイドラインを策定する。

平成18年度には、各学会、企業、大学や公的研究機関などに所属する合計7名で開発WG委員会を組織し、開発ガイドラインの策定を行ない、平成19年5月に「テーラーメイド医療用診断機器(DNAチップ)開発ガイドライン2007-遺伝子型(ジェノタイプング)検定用DNAチップに関して-」(「参考資料」参照)として公表した。

平成19年度は、開発ガイドラインをさらに企業にとって利用しやすくするために、標準仕様書(TS)原案の作成を検討した。大学、国立研究機関、企業並びに経済産業省関連部所及び標準関連団体から診断用DNAチップの開発、研究あるいは行政にかかわる専門家の参加により、DNAチップの現状を再確認し、将来の展開を見据えた標準化を進めるために、委員会を開いて標準仕様書の検討と作成を行った。

その間、遺伝子型検定用DNAチップの承認申請が続いたことから、ガイドラインの策定は現実的に薬事申請と歩調を合わせて進んでいると考えられる。さらに、もう一つのタイプのDNAチップである遺伝子発現解析用DNAチップに関しても薬事申請の動きがあり、また、それ以外のIVDMIの薬事申請も今後進められると考えられることから、平成21年度(本年度)は遺伝子発現解析用DNAチップに関するガイドラインの策定を進めた。以下に事業の内容や、経緯や必要性などを整理した。

## 12 遺伝子発現解析用DNAチップに関するガイドラインの策定について

### 12.1 背景と経緯

・遺伝子型判定用DNAチップの開発ガイドライン事業(2006年度-2007年度)において、我が国におけるDNAチップ開発にかかわる全ての関連団体(JMAC、JCCLS、JBA、JCII)を集めて開発ガイドライン(2006年度)及び標準化(2007年度)について議論を行った。

・経済産業省より「テーラーメイド医療用診断機器(DNAチップ)開発ガイドライン 2007-遺伝子型(ジェノタイプング)検定用DNAチップに関して-」を発表した(2007年5月)。

・遺伝子型判定用DNAチップの標準仕様書(TS)案作成(「平成19年度戦略的技術開発委託費 医療機器開発ガイドライン策定事業(医療機器に関する技術ガイドライン作成のための支援事業)報告書」2008年3月)

・厚生労働省医薬食品局審査管理課より「DNAチップを用いた遺伝子型判定用診断薬に関する評価指標(薬食機発第号0404002)」を発表した(2008年4月4日)。

・診断用DNAチップの薬事申請・承認動向は図1-1にまとめた。

### 12.2 発現解析用DNAチップのガイドラインを作成する理由

・遺伝子型判定用DNAチップの開発ガイドライン策定後、ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社は、薬剤代謝に関与する酵素の遺伝子型を判定するDNAチップ「アンプリチップ CYP450」の医薬品の製造販売承認を取得した(2009年5月12日)。東芝なども遺伝子型判定用DNAチップの薬事申請しており、今後、他の会社が続くものと予想される。

・発現解析DNAチップ MammaPrint (Agencia 社)はすでにFDA承認(2009年2月6日)を受けており、近い将来、我が国でも薬事申請が予想される。

・DNAチップ解析に用いる臨床検体の取り扱いに関する標準化(厚生労働省第35回先進医療専門家会議:2009年2月3日)が進んでおり、DNAチップ技術開発の大きな問題の一つであった検体の信頼性について技術的な進展が期待できるとともに、DNAチップの利用が進むと考えられる。

・SPIDIA(Standardization and improvement of generic pre-analytical tools and procedures for in-vitro diagnostics)やMAQC-II(MicroArray Quality Control フェーズ II)など、海外ではコンソーシアムによる標準化が進んでおり、それぞれ、EUと米政府が資金的な支援を行っている。

・一方で、我が国においては、遺伝子検査機器としてのDNAチップの開発に対して企業コンソーシアム主導の標準化が進んでいない。特に、開発メーカーと検査企業や診断薬メーカーなどとの連携による臨床検体の標準化と歩調を合わせた開発ガイドラインが必要である。

### 123 発現解析用DNAチップガイドラインの内容

#### (1) DNAチップや試薬が検査開発用プラットフォームとして承認するための開発ガイドライン

・検査開発メーカーは、検査コンテンツの申請毎にDNAチップ・試薬安定性や再現性、および性能に関する試験が必要であり、負担が大きい。

・DNAチップ測定は試薬の違いによって測定結果が大きく異なってくるが、ほとんどの研究では市販されている研究用試薬を用いているため、臨床検査を目指した段階にて検査に適した試薬を開発し、多数の検体を再測定する必要がある。

・検査開発用のプラットフォームが確立しないため、前処理にあたる「検体品質管理」の技術課題を定義できず、関連技術開発が進まない。

#### (2) GMP製造され、安定性・再現性・性能が認められたアレイ・試薬を検査開発用のプラットフォームとして承認するための開発ガイドライン

・各検査メーカーは、体外診断薬の承認申請毎にDNAチップ・試薬の基本性能試験を行う必要がなくなり、診断に応じたシグネチャー(遺伝子マーカーの組み合わせ)を開発し薬事申請する。

### 124 期待される効果

#### (1) トランスレーショナルリサーチ・検査コンテンツ開発の促進

・臨床研究から臨床検査まで同一のDNAチップ・試薬を用いて開発することができるため、橋渡しが容易になる。

・従来は研究用試薬で検査コンテンツを開発し、実際に臨床応用を目指した時点で臨床検査用に適した試薬を開発してから再度データを取り直す必要があった。

#### (2) 測定者の利便性向上

・同じアッセイ系の試薬キットにて、多種検査に対応できるようになる。

#### (3) 標準化推進

・検査で用いられるDNAチップ・試薬がプラットフォームとして確立することで、遺伝子検査の前処理にあたる「検体品質管理」の標準化が推進され、関連する技術開発が促進される。

・JCCLSにて「検体品質管理マニュアル」が策定されている(暫定版)。前処理技術が標準化されることで、検査コンテンツに関する技術開発の促進が期待される。

#### (4) 検査コンテンツ開発の負担低減

・検査開発用のプラットフォームが確立することで、従来であれば必要とされていた試薬の開発や安定性試験に関する負担から開放され、ベンチャー企業やアカデミー発の検査コンテンツ開発が具体化する。

#### 125 遺伝子発現解析用DNAチップに関する最新動向

・「13 テーラーメイド医療用診断機器(DNAチップ)に関する最新動向」項参照。

#### 126 遺伝子診断のための検体管理の標準化動向

##### (1) 先進医療専門家会議(平成21年2月3日)

検体管理の医療機関の要件について検討。医師の責任と医療機関の体制を明確化し、検体の取り扱いはJCCLS作成の「遺伝子関連検査の検体品質管理マニュアル」に準拠することが明記された。

##### (2) SPIDIAプロジェクト(平成21年1月12日、フェンロー、オランダ)

QIAGEN社(ヨーロッパで最大のバイオテクカンパニー)は遺伝子関連検査を改善するために検体処理の標準化を進めるためのコンソーシアムを設立すると発表した。これに呼応して、ヨーロッパ連合(EU)は遺伝子関連検査のための血液、組織、癌などの試料の取り扱い(採取、保存、運搬)を標準化するためのプロジェクト(SPIDIA: Standardisation and improvement of generic Pre-analytical tools and procedures for In-vitro Diagnostics)を開始すると発表した。このプロジェクトは、EU加盟の11か国が参加し、QIAGEN社が中心となって、4年間で1300万ユーロの予算ですすめられる。QIAGEN社は子宮頸癌の原因となるヒトパピローマウイルス(HPV)試験のためのキットや検体の自動処理装置(QIAcube)を開発している。

##### (3) ISO/TC212会議

バンクーバー会議(平成20年6月)では、我が国の提案(「臨床検査分野の遺伝子関連検査の質保証と能力に関する標準化」:Resolution No. 209)について継続審議となり、ベルリン会議(平成20年12月)では、カナダからも同様の提案があり、検体取り扱いマニュアルの作成と標準化が急速に進みつつある。

#### 13 テーラーメイド医療用診断機器(DNAチップ)に関する最新動向

バイオチップの開発動向に関して、以下に、バイオチップコンソーシアム中江裕樹氏による話題提供の内容をまとめた。

##### (1) バイオマーカー活用の広がり

バイオマーカーの新薬開発での利用が高まってきている。その中心として、製薬企業におけるバイオマーカー探索がある。具体的には以下の点について利用が進んでいる。

・有効性や毒性による患者層別化を目的としたクラシカルなバイオマーカー探索に加えて、創薬の初期段階から化合物の薬効や作用機序予測においてもバイオマーカーが用いられるようになってきた。

・目的やケースに応じた実験デザインの重要性が問われてきている。



## クリティカルパスとバイオマーカー

・クリティカルパスとは、人間に使用される医薬品や生物化学製剤、医療機器の発見(発明)や概念実証から実際の医薬品製造化までの科学的プロセスを指す。

・クリティカルパスには、6つのトピックがある:バイオマーカー、臨床試験の効率化、バイオインフォマティクス、製造、公衆衛生への新しい対応、小児科学("Critical Path Opportunities List", FDA, March 2006)。

バイオマーカーは、医薬品・医療機器の開発を向上させるために最も重要な分野で、FDAは以下のように管理している(<http://www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics/ucm083378.htm>)。

### ・Known Valid Biomarkers

十分に確立した性能特性を持ち、試験結果について生理学的、毒物学的、薬理的あるいは臨床上の意義に関して医学会あるいは科学会で広範な合意がある、科学的分析試験システムで測定されたバイオマーカーで、FDAやEMAの委員会で決定される。

### ・Probable Valid Biomarkers

科学的な基盤があり、試験結果について生理学的、毒物学的、薬理的あるいは臨床上の意義を証明していると思われる多数の証拠がある、十分に確立した性能特性を持つ分析試験システムで測定されたバイオマーカーで、製薬企業が新薬承認時に提出するような広範な合意には至っていないデータである。

### ・Exploratory Biomarkers (Valid, non Valid)

バイオマーカーとして臨床的意義はサポートされるが、そのアッセイ系はまだ検証されていない。

マイクロアレイによるバイオマーカー探索には各社の製品が利用されている。

例: Affymetrix(DMET 1 Plus Premier Pack Scanner 3000 7G Plus Targeted Genotyping System)、Agilent(Agilent DNA マイクロアレイ&スキャナー)、Illumina(Illumina BeadXpress System)、国産各社

バイオマーカー活用の背景には個別化医療の一般化がある。

・投薬前の遺伝子検査が現実のものになってきた

既に、様々な医薬品の処方においてPGxの結果が使われるようになってきた

・医薬品処方例として、イリノテカン(Irinotecan)、ワルファリン(Warfarin)、ハーセプチン(Herceptin)、EGFR 阻害剤などの例がある。

イリノテカンはUGT1A1 遺伝子の変異型対立遺伝子頻度(遺伝的個人差)とIrinotecan に対する副作用を評価する。

・Irinotecan (Camptosar)

・薬効:トポイソメラーゼII 阻害剤

・薬物毒性(顆粒球減少症)は代謝酵素UGT (uridine diphosphateglucuronosyltransferase) 1A1の遺伝子多型に依存

・\*28 遺伝子型ではUGT1A1 酵素活性が減少

被験者グループの遺伝子型頻度と顆粒球減少症発症リスクとの関係(Pharmacogenetics Geneva: CIOMS 2005 より改変)

全被験者\*\* 10%

UGT1A1\*1/\*1 50% 0%

UGT1A1\*1/\*28 40% 1250%

UGT1A1\*28/\*28 10% 50%

・薬理遺伝学的記述のある米国添付文書セクション

Clinical pharmacology/metabolism and excretion

Warning

Dosage and administration

ワルファリンの例

・医薬品代謝に関連する遺伝子の多様性

・薬物代謝に関連する遺伝子CYP2C9の多様性と、医薬品代謝の関係が調べられた

・薬が作用するターゲット蛋白質の多様性

・2004年に発見されたワルファリンのターゲット蛋白質である VKORC1 の多様性と、医薬品感受性の関係が調べられた

ハーセプチンの例

・HER2 の発現が確認された乳がんにのみ処方できる

・コンパニオン診断

パスウェイ上の遺伝子の発現や変異解析をもとにした診断の例(EGFR の例)

・EGFR を標的とするいくつかの分子標的薬が開発されてきている。

・これら分子標的薬の作用を考える場合、大腸がんなど、一定の割合で KRAS に変異が入っている場合があるが、この場合には EGFR からのシグナルを遮断しても、増殖シグナルが止まらないことが多い。これは EGFR シグナル伝達経路において、EGFR の下流に位置するからである。

・このことから、EGFR 阻害剤適格患者について、KRAS 遺伝子の検査が推奨されることとなった。

・このように今後パスウェイ上の遺伝子の状態が、分子標的薬のバイオマーカーとして開発されていくと考えられる。

KRAS 変異解析による EGFR 阻害剤の効果診断

・EGFR 阻害剤は KRAS 変異のある患者には奏効しないため投薬前に、遺伝子変異を解析して投与の可否を選択することができる。

・結腸・直腸癌の治療薬投与前のコンパニオン診断

Vectibix (panitumumab; Amgen)

Erbix (cetuximab; Merck)

・肺癌の治療薬にも同様の報告

Gefitinib (Iressa; AstraZeneca)

Tarceva (erlotinib, Roche)

- ・結腸・直腸癌については先進医療承認(2009227)
- ・TheraScreen: KRAS 遺伝子変異判別キットの上市

#### 国内治験における PGx 実施の問題点

- ・海外の製薬企業は、将来、副作用が発現した場合や医薬品の有効性向上のために“治験で得られたDNAサンプル”を保存しておくことが一般化している。
- ・日本では、必ずしも試験期間中に試料が解析されるわけではないことによる混乱がある。
- ・試料保存期間についてのガイドラインがない。
- ・各企業が基準を設けて対応している。

#### (2) バイオチップ開発の国内外動向

バイオチップの診断応用動向としては、米国では診断用のチップがFDAの認可されている。国内でも製造販売承認を取得するチップもある。

- ・AmpliChip P450: スイス Hoffmann-La Roche 社の薬物代謝酵素多型を判別するDNAチップで、2009年5月12日付けで医薬品の国内製造販売承認を取得。
- ・MammaPrint: オランダ Agendia 社の乳癌予測チップ。70遺伝子が搭載された発現解析チップで、2007年2月、IVDMIAとして初の承認。
- ・Pathwork Tissue of Origin test: 乳癌や結腸直腸癌、胃癌など、15の悪性腫瘍の結果と比較して、癌の種類を決定する遺伝子診断で、2008.7.31 承認。MammaPrint に次いで2番目のIVDMIA装置となる。
- ・TessArray: 新型インフルエンザのタイピングチップであり、初のリシーケンスチップ。2009年12月16日に2010年4月2日までの期限付きでFDAよりEmergency承認された。
- ・クリニチップ: HPVタイピングチップで、積水メディカル・東芝で製造販売承認。

#### Roche 社の AmpliChip CYP450 の例

- ・DNAチップに配された15,000以上の検出プローブ(DNA断片)により、CYP2C19 では3つ、CYP2D6 では27のアレルの判定が可能
- ・わずか100ngの血液由来のゲノムDNAより、CYP2C19 およびCYP2D6のアレル判定が可能
- ・サンプル調製(前処理)から検出までの過程を約8時間で処理
- ・キャリアオーバーコンタミネーション(以前の増幅産物が一部残り、持ち越されること)が原因となる偽陽性判定を防止
- ・医薬品の国内製造販売承認を取得(2009年5月12日)

#### CYPの種類、代謝に関与する薬剤、判定可能なアレル数と薬剤代謝能評価区分

CYP2C19 は消化器系潰瘍剤など多数の薬剤に関与し、3つのアレル数がある。評価区分は、1. 著しく低い(Poor metaboliser)と、2. 一般的(Extensive metaboliser)の2種。

CYP2D6 は抗うつ剤、抗精神薬、ブロッカー、抗不整脈剤、乳がん治療薬などの薬剤に関与し、27個のアレル数がある。評価区分は、1. 著しく低い (Poor metaboliser)、2. 低い (Intermediate metaboliser)、3. 一般的 (Extensive metaboliser)、及び、4. 高い (Ultra-rapid metaboliser) の4種。

#### Agendia 社の MammaPrint

- ・MammaPrint は乳癌の手術を受けた患者の転移・再発の可能性について情報を提供するサービス。手術によって切除された腫瘍における70 遺伝子の活性を測定することにより、患者の疾病の転移・再発リスクの高低を調べる。
- ・2007 年2月、MammaPrint は世界に先駆けて、多変量解析による遺伝子発現の検査として、アメリカ食品医薬品局 (FDA) の初めての承認を受けた。
- ・測定方法: マイクロアレイによる遺伝子発現解析 (RNAチェック)。
- ・サービス価格: 38万円 (税別、健康保険適用外)

#### Tissue of Origin Test

- ・米食品医薬品局 (FDA) が、患者の腫瘍から、癌の種類を決定する遺伝子診断装置「Pathwork Tissue of Origin test」を承認 (2008.7.31)。
- ・マイクロアレイによる測定結果を乳癌や結腸直腸癌、胃癌など、15の悪性腫瘍の結果と比較して、原発組織の可能性を提示するiVDMIA。
- ・477凍結バイオプシーサンプルの検査の結果、89%のサンプルで原発組織が特定され、少なくとも8種類の原発組織を92%以上の精度で特定できると報告されている (Monzon FA et al. Association for Molecular Pathology Annual Meeting, 2007; Abstract #ST02)。
- ・FDAは、2007年7月、診断用の検査「in vitro diagnostic multivariate index assay (iVDMIA)」に関するガイダンス案を発表、「MammaPrint」に次いで2番目のiVDMIA装置となる。

#### TessArea, LLC. の TessArray

- ・TessArray RM-Flu
- ・H1N1用、リシーケンシングタイプチップ
- ・FDAが、Emergency use とし、2010年4月26日までの期限付きで2009年12月16日に承認した。

#### 国内チップメーカーの診断薬開発動向

##### ・ヒトパピローマウイルス核酸タイピングキット

クリニチップ HPV: クリニチップHPVは、遺伝子解析装置ジェネライザーで測定を実施することで、子宮頸癌の原因ウイルスである13種の高リスクヒトパピローマウイルス (HPV) ゲノムを型別に検出できる HPV タイピング試薬。従来 HPV タイピング検査は複雑な手法が必要とされ、結果を得るまで長時間を要するため臨床への応用には適していなかったが、簡便・迅速な検査が可能になった。

(クリニチップHPVの説明書)

- ・クリニチップ HPVは遺伝子増幅法 (LAMP法) と電流検出型DNAチップ法により高リスクHPV遺伝子の型別検出を可能にしました。
- ・DNA抽出から約25時間で結果が得られます。

・操作が簡単で精度の高い検査が可能です。

1. LAMP増幅産物(ターゲットDNA)をHPV-DNAチップに注入します。
2. チップの表面の電極に固定化された13種の高リスクHPVの遺伝子と相補的な配列を持ったプローブがターゲットDNAを補足し2本鎖を形成します。
3. HPV-DNAチップに挿入剤を注入すると、2本鎖を形成したプローブに特異的に結合します。
4. HPV-DNAチップに電圧をかけ、挿入剤が結合したプローブに発生する電流を検出します。

### (3)国内外のバイオチップの標準化動向とJMACの設立

バイオチップは以下のような期待がある。

- ・1つの疾患や医薬品の応答を診断するために、多数の遺伝子を測定する必要がある。
- ・バイオチップは、複数のプローブによる検査を同一の系で同時に実施することができる。
- ・バイオチップの診断応用への期待とともに、チップメーカーにとっては医療・医薬マーケットへの期待が高まる。

バイオチップ利用には研究用と産業利用がある。

- ・現在バイオチップは、研究現場での利用が主
- ・研究における精度の管理は、1点に対し複数nの実験を行って統計解析
- ・一方で産業利用のためには、1つのサンプルに対して複数のチップを利用することが、スレーブットの面でも必要の面でも不可能
- ・1実験で結論を出すために測定精度管理が重要
- ・標準化が必要

#### 欧米の医療・医薬分野における標準化動向

米国では、MAQCプロジェクト/FDA (20052 - 20069)により、プラットフォーム間での比較を行ない、データの再現性を確認した。また、ERCC(External RNA Control Consortium)では、外部標準核酸に関するガイドラインを策定した。最近では、MAQC-IIプロジェクト/FDA (20069 - 20093)により、マイクロアレイによる疾患の診断、予測、遺伝子検査の標準化、診断アルゴリズムの提案を行っている。

一方、欧州では、ISO/TC212でヒト遺伝学的検査の国際標準化を進めており、OECDやCENなどでは、遺伝子学的検査におけるガイドラインの策定を進めている。また、EMEAIは医療・医療分野での標準化を検討している。

このような動きの中、Affymetrix/Rocheによる薬剤感受性チップ(FDA認可)が上市され、Agilent/Agendiaによる乳ガン術後予後予測に関わる遺伝子発現検査チップ(FDA認可)が上市された。このように、欧米主導でグローバルスタンダードが決定され、日本が取り残される危険性が高くなってきている。

#### MAQC project

(<http://www.fdagov/ScienceResearch/BioinformaticsTools/MicroarrayQualityControlProject/default.htm#MAQC-II>)

- ・MAQCプロジェクトは以下のI-IIIの3フェーズにわかれる。
  - MAQC-I: マイクロアレイのQC、測定基準の帝京
  - MAQC-II: 予測モデル構築のベストプラクティス
  - MAQC-III: 次世代シーケンサーの技術評価(SEQC)

## MAQCプロジェクトのスケジュール

・MAQC-Ⅲは、2009年9月に成果発表の予定だったが遅れている。進捗としては、Nature Biotechnology に10本以上の Manuscript を提出済み。

・MAQC-Ⅲ (also known as SEQC)

The third phase of the MAQC project (MAQC-Ⅲ), also called Sequencing Quality Control (SEQC), aims at assessing the technical performance of next-generation sequencing platforms by generating benchmark datasets with reference samples and evaluating advantages and limitations of various bioinformatics strategies in RNA and DNA analyses.

MAQC-Ⅲでは、標準サンプルを用いて、次世代シーケンサーの技術的なパフォーマンスを評価する。

## 国内の医療・医薬分野における標準化動向

・官主導の動き

DNAチップ等の新規技術を活用したテーラーメイド医療機器の標準化(経産省)、薬事承認に関する審査ガイドライン策定(厚労省)のための検討会を設置

厚生労働省では、次世代医療機器指標検討会に審査WGを設置して検討し、経産省では、医療機器開発ガイドライン評価検討会に開発WGを設置して検討を進めている。両者は連携してテーラーメイド医療機器の標準化を進めている。

・産業界の動き

DNAチップの市場は、相変わらず研究用途が主流で、外国メーカーが優位である。医療診断など、新しい産業応用は未だ立ち上がっていない。しかし、大きな市場が期待される出口への期待は大きい。一方で、研究開発に多大なリソースが必要なため、単独企業でのチップ産業化は厳しい。

特に、多岐にわたる専門性が必要であり、チップメーカーはマーケットニーズの把握は不十分である。コンテンツ企業はチップ技術の理解が不足している。また、診断利用における許認可は高い障壁となっている。

## バイオチップコンソーシアム(JMAC)

設立目的は、バイオチップ関連の産業促進、市場創出であり、21世紀の健康産業の発展を担う事業創出につながる活動を目指している。関係する分野は、医薬・医療、環境・食品、健康・予防分野であり、以下に示す3つのワーキンググループ(WG)に分けて活動を行っている。

WG1(事業企画・推進WG)、WG3(対外連携WG)、WG2(標準化WG)

### (4)国際標準共同研究開発事業

DNAチップ検査における課題として、市販DNAチップは多種多彩であり、搭載するプローブの設計(アルゴリズム)の違いで、特異性、感度、ダイナミックレンジ等が異なる点がある。

アフィメトリックス方式、スポッティング方式、或いはビーズ(イルミナ)方式等があり、プローブやシステムを統一することは困難である。データの品質(ダイナミックレンジ、現性、感度)を評価するためのモノサシ(標準物質)、校正方法が必要であり、データ互換性、信頼性の確保が重要である。JMACでは、これを解決するために国際標準共同研究開発事業を推進している。

## プロジェクト概要

(1) 市販DNAチップは多種多彩、プローブや検出方法の違いで測定結果が異なるため、今後市場の急成長が期待される検査・診断市場の立ち上げりに障害がある。

(2) 我が国に優位性がある技術(基幹技術)である一方で、グローバルな市場において海外DNAチップメーカーがメインプレイヤーになっている。

プロジェクトでは、データの互換性信頼性保証のための技術開発と検査・評価方法に関する実用化開発を行う。

・DNAチップを用いた品種(鶏、豚等)検査、機能性食品成分検査、カビ検査、抗ウイルス性検査など

さらに、分子生物指標の検出技術の開発・標準化に関する分科委員会(ISO/TC34/SC16)提案を行う。

・プラットフォームに関係なく、公平な評価が可能

・チップデータの信頼性保証

・ユーザーへの効果が疑わしい商品の淘汰

最終的には、バイオチップ市場の拡大を目指す。

## (5)国際標準化活動

### 標準化のためのフィジビリティスタディ

健康分野への展開に標準化は必須であり、標準化の前に健康産業へは展開できない。まず、健康分野以外の産業を対象に標準化を推進する。食品分野での標準化推進し、健康・医療・医薬への展開をめざす。

DNAチップの検査・診断への応用として、品種判別チップによるアレルギーの可能性を予測、予後診断用チップによる術後の予後を予測、生活習慣リスク診断チップによる生活習慣リスクを予測、さらに、ウイルス感染診断チップによる感染の確認と予防を行う。

## 国際標準化活動

・ISO/TC34/SC16への規格提案活動を行っている。

・2010年2月9日から11日の日程で、日本でISO/TC34/SC16の総会が開催された。

・日本からの提案として、JMACが基本案を作ったマイクロアレイによる測定の標準に関するプレゼンテーションを実施。

・決議事項にNWIP(新業務項目提案、New work item Proposal)が提出される予定が記録された。

## (6)まとめ

バイオマーカー活用の広がりと共に相まって、バイオチップへの期待は高まっており、国内外で、診断等医療用のバイオチップ開発が進んでいる。欧米主導での標準化活動が進んでいるが、それに対抗して日本として標準化を推進するため、JMACを設立し標準化活動を推進している。JMACとしてクロスプラットフォームのデータを比較するため、外部標準を用いた標準化手法を開発している。成果として、JMACの素案がISO/TC34/SC16の総会でNWIP提出として認識された。

#### 14 米国FDAによるDNAチップに関する規制

米国FDAではDNAチップに関して、以下のガイダンス、ドラフトガイダンス、並びに、コンセプトペーパーを発表している。

##### ・ガイダンス

Class II Special Controls Guidance Document: Drug Metabolizing Enzyme Genotyping System (March 10, 2005)

(<http://www.fda.gov/cdrh/oivd/guidance/1551.html>)

Class II Special Controls Guidance Document: Gene Expression Profiling Test System for Breast Cancer Prognosis (May 9, 2007)

(<http://www.fda.gov/cdrh/oivd/guidance/1627.html>)

##### ・ドラフトガイダンス

In Vitro Diagnostic Multivariate Index Assays (IVDMIAs) (Sept. 7, 2006)

(<http://www.fda.gov/cdrh/oivd/guidance/1610.html>)

##### ・コンセプトペーパー

Recommendations for the Generation and Submission of Genomic Data (November 7, 2006)

(<http://www.fda.gov/cder/genomics/events.htm>)

#### 14.1 米国FDAによるガイダンス、コンセプトペーパーの例(1)

本項では、FDAによるクラス 体外診断薬の特別規制ガイダンスの例として、「産業界、臨床検査機関およびFDAスタッフのためのガイダンス草案:体外診断用複数指標測定法」の要約を記す。

産業界、臨床検査機関およびFDAスタッフのためのガイダンス草案:体外診断用複数指標測定法

米国保健社会福祉省食品医薬品局医療機器放射線衛生センター、体外診断機器評価安全室、生物製剤評価研究センター

2007年7月26日発行

##### 序文

本ガイダンス草案は、体外診断用複数指標測定法 (IVDMIAs)と称される体外診断機器のクラスについての定義および規制状況について規定する。

本ガイダンス草案はまた、IVDMIAsに関する市販前の手順および市販後の要求事項についても解説している。すべての医療機器がそうであるように、規制上の分類は使用目的と当該機器のリスクによって決定される。

FDAのガイダンス文書は、本ガイダンスも含め、法的強制力のある責任を確立するものではない。むしろガイダンスは、あるテーマに関するFDAの現在の考え方を記述するものであって、特定の規制上あるいは法制上の要件が引用されている場合を除き、単に勧告として捉えられるべきである。当局のガイダンスにおける should(～すべき)という言葉の使用は、何らかの提言あるいは勧告であって、要求事項ではないことを意味する。



## 背景

機器の定義は食品医薬品化粧品法(「法令」)のセクション 201(h)において規定されている。このセクションでは関連パーツについて次のように規定している。「「機器」という用語は、計測器、設備、機械、器具、インプラント、体外診断薬またはその他の類似もしくは関連する物品(その中には(2)ヒトまたはその他の動物における疾患またはその他の症状の診断もしくは治癒、軽減、治療または疾患の予防の目的で使用されるコンポーネント、パーツまたは付属部品が含まれる)を意味する(21 USC 321(h))。本ガイダンスで記載されているように、IVDMIAは以下のような内容の機器である。

- 1) 解釈機能を用いて複数の変数の数値を組み合わせて、一人の患者だけにに関する特異的結果(例えば「分類」、「スコア」、「指標」など)を生じさせ、これを疾患やその他の状態の診断、または疾患の治癒、軽減、治療または予防に活用する。
- 2) その派生結果が透明性のあるものではなく、個別の生成やエンドユーザーによる確認ができないような結果をもたらす。

IVDMIAは法令の意義の範囲内での機器である。

IVDMIAの中のいくつかは検査機関で開発された検査法(LDT)である。LDTは単一の臨床検査機関が当該検査機関だけで使用することを目的として開発された検査法である。検査機関で開発されたIVDMIAはLDTの特別のサブセットである。FDAは「[インハウス]での検査法を開発した臨床検査機関は医療機器の製造業者としての役割を果たしており、法令下においてFDAの管轄対象となる」と述べており(62 FR 62249)、同時に標準的なLDTに対してはほとんどの場合において自由裁量権を行使してきている(例えば、主として分析物特異的試薬、一般的な目的の試薬(21 CFR 864.4010)、一般的な目的の検査機器(21 CFR 862.2050)、その他の検査器具(21 CFR Part 864, subpart D)、および管理物質(21 CFR 862.1660)を使用するLDT)。IVDMIAには、LDTの主要構成要素にはない本ガイダンスの「IVDMIAの定義および規制状況」についてのセクションで記述されているような要素を含む(例えば、複雑で独自の解釈機能)。このようにIVDMIAはFDAが一般的な自由裁量権を行使してきたLDTの範疇には収まらない。

IVDMIAは安全性と有効性についての重要な諸問題を提起している。これらのタイプの検査法は多変量データと臨床転帰の間で観察された相関関係に基づいて開発されていることから、例えば申請事項の臨床上の妥当性が患者、検査機関担当者およびこの検査を指示する臨床医にとって透明性のあるものではないことが挙げられる。さらにIVDMIAは高リスクの目的に使用されることが多い。IVDMIAの臨床的に有効であることが確認されていることをFDAが保証しておらず、医療関係者が検査法の臨床上の妥当性を自ら確認できない状況において、FDAは患者が健康上の重要な意思決定をするために高リスクの目的のためにIVDMIAに依存することを懸念している。したがって、IVDMIAがそのような使用目的に関して安全かつ有効であることを保証するためにこれらの機器をFDAが規制する必要性が生じる。

本ガイダンス草案の文書によって、FDAはIVDMIAを別々のカテゴリーの機器として特定し、LDTとして提供された場合でもIVDMIAは法令および大部分のクラス および の機器の場合の市販前評価要件を含むFDA規則の下での市販前および市販後の機器の要件を満たさなければならないことを明らかにする。

## 最も負担の少ないアプローチ

本ガイダンス文書は、当局がIVDMIAに関する重大な問題であると考える事項、そしてこれらの問題に対処するための最も負担が少ないと考える方法についての入念に検討した結果を反映したものである。しかしながら、もっと負担が

少なくとも済むアプローチが他にあると貴殿が考える場合には、本文書の表紙に記載されているように貴殿のコメントを提出願いたい。

## IVDMIAの定義および規制状況

### 定義

IVDMIAは以下のような機器である。

- 1) 解釈機能を用いて複数の変数の数値を組み合わせて、一人の患者だけにに関する特異的結果(例えば「分類」、「スコア」、「指標」など)を生じさせ、これを疾患やその他の状態の診断、または疾患の治癒、軽減、治療または予防に活用する。
- 2) その派生結果が透明性のあるものではなく、個別の生成やエンドユーザーによる確認ができないような結果をもたらす。

入力する変数は単独または組み合わせであっても臨床医にとって意味のあるものかもしれないが、臨床医自身ではIVDMIAの結果の臨床上的意味については検証することができない。さらに指示を出す医師自身ではIVDMIAの結果に到達することができず、またその結果を独自に解釈することもできない。指示をした医師は、患者管理における活用目的でIVDMIAの結果を解釈するためには、臨床の世界で一般的に受け入れられている情報よりも検査法の開発者からの情報を必要とする。IVDMIAに関しては、この機器が使用目的としているのは一人の患者に関する特異的結果である。このIVDMIA機器は結果を得るために必要なすべての要素を含んでいる。

### 具体例

以下はIVDMIAの定義を満たすと思われる機器の実際または仮定上の具体例である。これらのタイプの機器は多くの入力変数からのでデータを組み合わせ、分類またはスコアを生成するもので(通常は単変量データ)、臨床医は同じ解釈に到達するのに独立的に入力変数を分析することはできない。一般的にはIVDMIAは患者年齢、体重、代謝レベルおよび遺伝子発現レベルのような複数の変数の測定または観察された値を用いている。このようにIVDMIA特有の独自の解釈機能はこれらの変数の組み合わせ・解析を行うことによりスコアを生成する。具体的にはIVDMIAの使用目的は、これらのスコアに基づく疾患の診断や疾患のリスクの予測ということになる。以下はIVDMIAのさらに具体的な例である。

- ・ 21 CFR 866.6040(乳癌の予後に関する遺伝子発現プロファイリング検査)に分類される機器。
- ・ ある疾患または状態を発現するある患者のリスクを予測する定量的「スコア」を得るための多重免疫測定法からの定量的結果を統合する機器。
- ・ 患者の年齢、生物および多数の遺伝子の遺伝子型を統合して、ある疾患または状態のリスク予測や診断を行う機器。

IVDMIAの結果は様々な形式で表示されるが、その中には例えば2値的結果(例えば「はい」または「いいえ」)、分類(例えば疾患のタイプや悪性度、疾患陽性または疾患陰性)、順序による結果(例えば、低リスク、平均リスクまたは高リスク)、または連続的結果(例えば0-50の尺度上で「18」のスコア)が含まれる。

その一方でFDAは、複数の変数の解釈を単に促進するような機能(それがなければ医療関係者が自ら解釈が可能であるような)を有する機器をIVDMIAとは見なさないであろう。以下はFDAがIVDMIAの定義を満たすことはなく、本ガイダンス文書の範囲外であると考えている機器の具体例である。

- ・ 複数の変数を組み合わせて、変数の解釈を促進するために一人の患者だけにに関する特異的結果を生成する機器であるが、それがなければ当該機器の使用における広範な経験と訓練を積むことで臨床医が自ら解釈が可能であるような機器(例えば母体のための標準的なトリプルスクリーニング検査 AFP、hCG およびエストリオールの妊娠第2期における測定)。
- ・ 遺伝子型の判定(例えば CFTR の遺伝子型解析) このタイプの機器は対象となる表現型との関連性が明らかにされている遺伝子型の同定を行う。複数の変数(遺伝子座、対立遺伝子、突然変異)について測定し、ひとつの結果(遺伝子型または予測される表現型)が生成されるが、この機器には独自の解釈機能は組み込まれておらず、臨床医が自ら実施可能であるような個々の変数の標準的な解釈が得られるだけである。
- ・ 染色体のコピー数の測定 このタイプの機器は患者の染色体DNAにおける異常または病原性の数字的な変化(増減)と特定することを目的とする。複数の変数が測定されるが、この機器は独自の解釈機能は組み込まれておらず、臨床医が自ら実施可能であるような個々の変数の標準的な解釈が得られるだけである。
- ・ 一般的な臨床上の計算(例えばクレアチニンクリアランス、コレステロール比の決定、推定糸球体濾過速度) 複数の変数が測定され、単一の結果が計算されるが、この機器は独自の解釈機能は組み込まれておらず、臨床医が自ら実施可能であるような個々の変数の標準的な解釈が得られるだけである。
- ・ 保存されている臨床情報を分析し、例えば特定の臨床パラメータ(例:範囲外の結果、潜在的な薬剤相互作用、補助的な検査の機会など)に基づいて患者の検査結果に注意を喚起し、疾病登録を生成し、統合された報告において患者独自の情報を整理し、および/または患者の治療または疾患の軌跡を追跡する臨床決定支援ツールのような機器。これらのソフトウェアプラットフォームによって行われる解析は独自の解釈機能とは言えず、臨床医が自ら実施可能であるような個々の変数の標準的な解釈を要約するものである。
- ・ 一般的な国民の人口統計学的リスク計算(例:Gail 指数、Framingham リスクスコア) これらのタイプの計算は一般的には論文審査制の出版物、実施ガイドラインなどを介して臨床現場では自由に利用可能である。臨床医はこのタイプの計算を自らの臨床知識および臨床の世界からの一般的に受け入れられている情報に照らして使用・解釈できる。

前述の具体例は、組み合わせで見つかった場合に当該機器がIVDMI Aと判定されることを示す特性を製造者が理解するのに役立つ一般的解説の紹介を目的としたものである。このリストは網羅的な説明を意図したものではなく、前述の機器におけるバリエーションは当該機器がIVDMI Aであると判定されるかどうかさらに影響を与えるものと考えられる。製造者は多変数機器が前述の定義に基づいてIVDMI Aであると見なされるかどうかを慎重に判定すべきである。製造者は、機器はIVDMI Aであるかどうか不確かである場合には、体外診断機器評価安全室(IVD)に意見を求めることができる。

#### IVDMI Aに関する市販前および市販後の要件

##### IVDMI Aに関する規制

全IVDを含むすべての機器がそうであるように、FDAはIVDMI Aの規制についてリスクベースのアプローチを採用している(21 USC 360c(a)(1))。以下はFDAが規制している機器についての市販前と市販後の要件に関する一般的な情報である。このような要件に関するさらに詳しい情報については付属文書を参照していただきたい。

## 1.510(k)またはPMA

IVDMIAを含む医療機器は、当該機器の安全性および有効性を保証するために必要な管理のレベルに応じて3つの規制クラスの中のひとつに割り付けられる。3つのクラスはクラス（低リスク）、クラス（中等度のリスク）およびクラス（高リスク）である(21 USC、360c)。IVDMIAの分類はその使用目的および当該機器の安全性および有効性を保証するために必要とされる管理のレベルによって異なる。例えば遺伝子発現プロファイリングのような特定の技術は組み合わされて、IVDMIAとして使用されるようなタイプのデータを生成するが、IVDMIAはすべての機器がそうであるように含まれる技術のクラスではなく使用目的のリスクのレベルに応じて分類される。クラス の機器は通常は市販前評価を免除され、登録、リストへの掲載および低リスク機器の安全性および有効性を保証するための適正製造基準のような一般的な管理に依存することになる。クラス の医療機器は一般的に市販前通知書の提出のFDAによる許可手続きを必要とする(a 510(k)) (21 USC、360k)。クラス の機器は市販前承認(PMA)のための申請書の提出が義務付けられている(21 USC、§ 360e)。[機器分類に関する詳細情報については以下を参照

<http://www.fda.gov/cdrh/devadvice/3132html>]

大部分のIVDMIAはクラス または のいずれかの機器になると思われるが、低リスクが示唆されるIVDMIAはクラス になる可能性もある。例えば患者の癌再発リスクの指標を目的として機器はクラス の機器に分類されるかもしれないが(例えば、21 CFR 866.6040(乳癌の予後に関する遺伝子発現プロファイリング検査)に分類される機器)、どの患者が化学療法を受けるべきかを予測することを目的とする同一の機器は市販前承認を必要とするようになるかもしれない。新規の使用目的を持つ機器がどのように分類・規制されるかについての詳細情報については付属文書を参照いただきたい。

市販前評価手続きの一部である安全性および有効性の判定には、検査の特定の細分化された要素ではなく、入力変数の正確な測定、使用の方向性および期待される分析的および臨床的成績を含むシステム全体の機能の評価が含まれるべきであるとFDAは考えている。というのは意味のある結果を得るためには、システム全体の活用が必要だからである(例:患者の人口統計学的情報、補助的臨床情報、サンプルの調達、準備、分析物の測定、分析および報告書作成)。全体的なIVDMIAの規制は臨床化学検査システム(21 CFR Part 862, Subpart B)および臨床毒物検査システム(21 CFR Part 862, Subpart D)を含む他の機器の規制および分類と整合性が取れている。IVDMIAではないが、FDAは公衆衛生局法令2の第351節に従って、血液製剤の安全性を保証するためにHIVとHCVのドナースクリーニングにおいて使用されるこのような検査機関開発の検査法を適切な機器として規制している。

IVDMIAの使用目的および使用の適応を裏付ける市販前提出文書における分析・臨床成績データは、使用が想定される集団を対象として、当該機器の使用目的に従って実施された試験によって入手すべきである。使用目的を支持する臨床試験によるデータが必要な場合には、慎重に計画された前向き試験が理想的である。しかしながら、代替方法によって安全性および有効性についての十分な保証が得られることを治験依頼者が明らかにできる場合には、その特定の使用目的に関するIVDMIAの成績を評価するための代替方法を我々は考慮するであろう。例えば、試験デザインおよびサンプル構成が対象となる集団における当該機器の使用目的を反映しているならば、保存されているサンプルおよび/または後向きデータが許可または承認を支持するために使用される場合がある。後向きデータを使用する場合には、サンプル抽出のバイアスを回避すべきであり、その試験は適切に採取・管理されている保存サンプルを用いて計画すべきである。

## 2. IVD MIAの試験的使用

IVD MIAに関して市販前提出文書の裏付けとして実施されたヒトの検体を用いた臨床研究は、21 CFR Part 50 のヒト被験者試験の要件に従うことになる。この試験期間中において当該製品の安全性および有効性が検討されることになり、臨床性能の特徴および予測される数値について対象となる患者集団において測定される。これらの製品には「試験的使用に限定。本製品の機能特性は未だに立証されていない」という表示をしなければならない(21 CFR 809.10(c)(2)(ii))。開始された試験の性質によっては、治験依頼者が治験医療機器に対する一部規則の適用免除(IDE) (21 CFR Part 812)を要請することもあるが、盲検化されたデータや後向きデータを用いる多くのIVD試験では事前のFDA承認も含めて特定のIDE要件の対象外とされることもある。

FDAは治験依頼者に対して、早期に、多くの場合ではこれらの診断方法の開発段階で当局と接触し、FDAに提出される文書において安全性および有効性の閾値が確実に取り扱われるように十分な科学的、医学的および統計学的専門性を活用することを推奨する。IVDは規制手続きの促進に役立つように事前IDE手続き(治験実施計画書の評価)の活用を推奨する。

## 3. 市販後要件

大分部の機器がそうであるようにIVD MIAも、21 CFR Part 820 に規定されている品質システム規則(QS規則)に従わなければならない。FDAは、1988年の一部の臨床検査機関改善修正(CLIA)の要件が対応するQS規則要件を部分的に満たしていることを認めている。FDAはQS規則に準拠してIVD MIAを製造する検査機関を支援するためのガイダンスを発表する予定である。そのような最終的なガイダンスを発表するまでは、FDAはそのような検査機関のためのQS要件についての市販後実施に関して自由裁量権を行使する予定である。クラスIIの機器に関するPMA申請のQS部分に関しては、付属文書のPMAセクションを参照していただきたい。

IVD MIAの製造者は同時に医療機器報告(MDR)規則の要件に従う必要がある(21 CFR Part 803)。検査機関は現在、機器使用施設としてのその能力に関してMDR規則の特定条項に従うこととなっている(21 CFR 803.3)。機器の使用施設は合理的に考えて機器によって患者が死亡または機器の関与によって患者が死亡したことを示唆する情報をFDAおよび機器製造者に報告するよう義務付けられている(21 CFR 803.30(a)(1))。同時に使用施設は、合理的に考えて機器によって重篤な傷害が生じた可能性があることを示唆する情報を機器の製造者または製造者が不明の場合にはFDAに対して報告しなければならない(21 CFR 803.30(a)(2))。製造者は、FDAへの重篤な傷害および機器の動作不良についての報告の提出を含むいくつかの追加的報告義務を負っている(21 CFR 803.50(a))。IVD MIAを製造する検査機関はIVD MIA機器の製造に関してMDRの要件に従うべきである。

### FDA評価のためのIVD MIA資料提出のスケジュール

機器規制要件に従うIVD MIA製造者を支援するために、FDAは本ガイダンスの最終版の発表後の当初移行期間中において、特定の要件に関して自由裁量権を行使する意向である。最終ガイダンス文書の発表から12ヶ月間は、FDAは現在市販されている検査機関によって開発されたIVD MIAに対する全規制要件に関して、自由裁量権を行使する意向である。製造者が最終ガイダンスの発表から12ヶ月以内に510(k)またはPMAを提出した場合には、FDAは現在市販されている検査機関によって開発されたIVD MIAについて追加的に6ヶ月間にわたり自由裁量権を行使する意向である。

FDAは、最終ガイダンス文書の発表から18ヶ月以内に市販の許可または承認を受けていない現在市販されているすべての研究機関の開発によるIVDMI Aに関する規制要件を順守させたいと考えている。

#### 【付属文書: 機器規制に関する全般的な情報】

##### 登録およびリスト記載

規制を受けているすべての機器と同様に、IVDMI Aの製造者は自らが市販しているIVDMI AをFDAに登録およびリスト記載または確認する義務がある(21 USC、360)(21 CFR Part 807)。登録およびリスト記載の要件は、誰が機器を製造しているのか、またある事業所が製造または販売している機器のタイプは何かについてFDAが承知しておくための手段である。

事業所を登録するためには、様式FDA 2891「機器事業所の登録に様式上で指定されている公的対応者が記入し、FDAに提出しなければならない」(21 CFR 807.22(a))。医療機器のリスト記載は機器の販売から30日以内に様式FDA 2892「機器のリスト記載」に記入することになる(21 CFR 807.22(b))。

##### 市販前評価のためのIVDMI Aの提出

###### 市販前通知

規制の免除とはならないクラス またはクラス の機器を市販する予定の各製造者は(21 USC、360(i)-(m))、510(k)をFDAに提出しなければならない。510(k)は、市販される予定の機器が同一の使用目的を持つ合法的に市販されている機器と「実質的に同等」(SE)であることを証明するためにFDAに対して作成される市販前の提出文書である(21 USC、360(i))(21 CFR 807.92(a)(3))。ただし510(k)の「様式」は存在せず、21 CFR Part 807 Subpart Eにおいて510(k)提出の要件が説明されている。提出者は1点以上の類似の合法的に市販されている機器と自社の機器を比較する必要がある。21 CFR 807.92(a)(3)に記載されているように合法的に市販されている機器とは、1976年5月28日以前に合法的に市販されている機器(変更前の機器)またはクラス からクラス または に細分類されている機器もしくは510(k)の手続きを経てSEであることが認められている機器のことである。最近になって510(k)の手続きにより許可された機器が同等性を主張するための前例として選択されることが多いが、同一の使用目的に関して合法的に市販されているどのような機器でも前例として使用することが可能である。PMA手続きによって承認されてクラス の機器はクラス の機器の前例としては使用できない。

実質的な同等性は規定によって使用目的、デザイン、機能、安全性、有効性、添付文書記載内容、基準およびその他の特性に関して証明されることになるが、機器が全く同じであることは条件とはしていない(21 USC、360(i))。さらにIVDIはクラス の機器の評価概要をインターネット上で公開している。これらの文書では、クラス の機器とその前例の機器の実質的な同等性を立証するために使用されたデータが要約されている。通常の提出内容をよりよく理解し、これらの要約で示されている情報とデータのタイプを検討する上で製造者にとってこれらの文書は役立つものと思われる。

当該機器が実質的に同等であると言明する命令を受け取るまでは、製造者は機器を市販してはならない(21 USC、352(o))。機器が実質的に同等であると判定されたならば、米国内での市販が可能となる。これによってこの機器の商業的流通が「解禁」されたことになる。実質的な同等性の判定は通常は90日以内で行われ、依頼者から提出された情報に基づいて行われる。

## 新規分類

この新規の手続きは、自動的にクラス に分類されていて、特定できる前例となる機器がない新たな機器に適用される仕組みである。この手続きでは、製造者が当該機器に関してクラス からクラス または へのリスクに基づく分類の格下げを申請することが可能である。これはクラス または の機器の定義を満たす中等度のリスクまたは低リスクプロファイルの機器に適用される(21 USC、360c(f)(2))。

機器が新規手続きを介して分類された場合には、機器のタイプを規定した新規の規則とクラス の機器に関する全般的な特別管理ガイダンス文書が公表される(21 USC、360c(a)(1)(B)、360c(e)(2))。この特別管理ガイダンス文書は、機器のタイプの範囲を規定し、それ以降の同一使用目的のための機器の文書提出に関する助言を記載したものである。

新規手続きによってクラス に分類された機器は、同一の使用目的を持つその他の機器の前例として利用することが可能である(21 USC、360c(f)(2)(B))。ある機器がクラス の高リスク機器であると判定されたならば、以下に述べるように新規の申請は認められず、機器製造者はPMAの提出を義務付けられる(21 USC § 360c(f)(2)(B)(ii))。このようなことから、我々は新機器が分類の格下げに該当すると製造者が考える場合には、新規の510(k)を提出する前にFDAと協議することを勧めている。

## 市販前承認(PMA)

市販前承認は、クラス の医療機器の安全性および有効性を評価するための科学的かつ法的審査のFDAによる手続きである。クラス の機器は、ヒトの生命を支持または維持し、ヒトの健康障害の予防において相当程度の重要性を有し、また疾患または傷害の潜在的かつ不当なリスクを及ぼす可能性のある機器である(21 USC § 360c(a)(1)(C))。大部分のクラス の機器は、市販前に法令のセクション 515 に従って市販前承認申請(PMA)によるFDAの承認を必要としている(21 USC、360e(a))。PMAの承認は、当該機器がその使用目的に関して安全かつ有効であることを合理的に保証する研究の報告が申請書に十分に記載されているというFDAの判定に基づいて行われる(21 USC、360e(c)(1))。PMA申請書のQS要件を書き込む部分については、FDAはそのようなシステムを開発するための最も負担の少ないアプローチを決定するために申請者と協力することになる。

## 希少疾病の診断のための人道的使用に関する規制免除

人道的使用に供する機器(HUD) (21 CFR 814 Subpart H)とは、米国内で発症したり影響が表れるのが年間4,000人未満であるような疾患や症状の治療・診断によって患者に役立つことを目的とした機器のことである。規則中のこのHUDの規定は、これらの集団に影響を与えている疾患の治療または診断のために使用する機器の開発にとって刺激策としての短縮された規制手続きを提供するものである。

FDAは HUD の定義を満たす検査機関の開発によるIVDMIAの規制要件に関しては、自由裁量権を行使し続ける予定である。

## 許可または承認されたIVDMIAの修正

FDAはすべての医療機器(IVを含む)の反復性に対応するための一連の確立された仕組みを持っている。

クラス の製品設計において軽微な変更を行った機器製造者は、「既存の機器の変更に関する510(k)提出時期の決定」というタイトルのFDAガイダンスを参照すべきである。この文書で推奨されている内容によれば、機器の性能に大きな変化がない限りは、新規の510(k)の提出なしに軽微な変更を許可された機器に対して行うことが可能となってい

る。IVDは継続的なIVDの改善は必要なことであると考えており、変更を実施する前のFDAによる検討なしに、510(k)によって許可されたIVDへの多くの変更は安全に実施され、製造者によってその妥当性が検証され、変更を裏付ける文書は施設内で保管されていると信じるものである。

製品設計に顕著な変更を行ったが、使用目的や基本的な技術では変更がない場合にクラス IのIVDの製造者は、「新規510(k)パラダイム--市販前告示において実質的な同等性を証明するための代替アプローチ」において記載されている「特別510(k)」と呼ばれる簡素化された提出物を提出することが可能である。これによって、当該装置を製造するために使用した設計管理作業の要旨、機器の変更の影響を評価するために使用したリスク解析の確認書、検査および/または妥当性確認作業の確認書、そして設計管理との整合性の証明書を含む機器の変更に関連する情報を中心とした合理化された(30日)評価手順が可能となる。

PMAによって承認された機器であるクラス IIの変更は、機器の変更の程度に応じて異なるやり方で扱われる。製造工程または製造方法を変更したクラス IIのIVDの製造者は、30日PMA補助資料と呼ばれる合理化された提出物を提出することができる。クラス IIの機器の軽微な変更はリアルタイム補助資料と呼ばれるタイプのPMA補助資料において評価される。これによってFDAは焦点を絞った効率的な評価を「リアルタイム」で行うことになる。機器の使用目的や基本的技術が変わるような変更を含む重要な変更は、別のタイプのPMA補助資料に照らして検討される。しかしながら、これらの補助資料では必ずしも製造情報の新たな評価または新たな施設の査察が求められるわけではない。

IVDIは、IVDMIAがまさにその性質上、機器の変更に対する慎重に検討されたアプローチを必要とする独自の技術的または生体情報学的な課題を投げかけていることは承知している。例えば機器の製造までに用いた患者コホートのデータおよび試験の開発において用いた機器製造までの工程それ自身は通常は、最終的な検査結果に重大な影響を及ぼすはずである。検査への入力項目の軽微な変更でさえも、検査の成績に潜在的に大きな影響を及ぼす可能性がある。IVDMIAの変更が検査成績、解釈および新製品の寿命の早期における結果にどのように影響するかを検討することにより、依頼者がFDAと協力しながら、IVDMIAの変更が公衆衛生のニーズに最善の形で応えられるような方法で規制を確実に実施する仕組みを作り上げることができると我々は考えている。

#### 添付文書記載情報

IVDMIAを含むIVDIは、「そのような情報に該当するものがない場合を除いて」添付文書記載情報の要件の規制を受ける(21 CFR、809.10)。添付文書での記載を求められたり、IVDMIAの場合に該当する情報には、検査の商品名および正式名(ある場合には)、検査の使用目的、警告および使用上の注意の説明文、製造者が属している事業所名と場所が含まれる(21 CFR § 809.10(a))。FDAはIVDMIAに関してはロット番号や管理番号が適用される要件になるとは考えていない。

IVDMIAを製造する検査機関は、先に要件を満たすような電子添付文書を作成・維持し、そのような添付文書が公に入手できるようにし、IVDMIAの検査機関報告においてそのような電子添付文書に関するインターネットアドレスを表示することを我々は推奨する。同時にIVDMIAを開発する検査機関はそのような添付文書を検査機関で維持し、そのような添付文書は要請があれば入手可能であることを示す旨をIVDMIAの検査機関報告に加えることを我々は勧める。IVDIはまた追加的に添付文書記載情報の要件に従わなければならない(21 CFR 809.10(b))。FDAが特別のタイプのIVDMIAに関する特別管理ガイダンス文書を公表したり、特別のIVDMIAを承認した場合には、当局はすべての機器と同様に当該機器または当該タイプの機器に関して適用可能な添付文書記載情報の要件を検討することになる。FDAはIVDM



IAの製造者に対して、CIAの要件がどの部分においてFDAの添付文書記載情報の要件を満たすと考えているかを市販前提出物において示すように勧めている。

142 米国FDAによるガイダンス、コンセプトペーパーの例(2)

本項では、FDAによるクラス 体外診断薬の特別規制の例として、「クラス 特別管理ガイダンス文書:RNAプレアナリティカルシステム(分子診断検査に使用する RT-PCR 用RNA採取・安定化・精製システム)」の要約を記す。

クラス 特別管理ガイダンス文書:RNAプレアナリティカルシステム(分子診断検査に使用する RT-PCR 用RNA採取・安定化・精製システム)

米国保健社会福祉省食品医薬品局医療機器放射線保健センター、体外診断機器審査安全室、免疫学血液学的検査機器部

2005年8月25日発行

## 1.序文

本ガイダンス文書は、RNAプレアナリティカルシステム(RNA採取・安定化・精製システム)のクラス (特別管理)への分類支援を目的とし、特別管理ガイダンスとして作成された。RNAプレアナリティカルシステムの用途は、患者検体を採取、保存、輸送し、検体中の細胞内RNAを安定化した後に、体外分子診断検査に使用する RT-PCR(リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応法)用細胞内RNAを単離及び精製することである。

システムは検体採取機器、核酸単離及び精製用試薬、処理試薬/処理具(チューブ、カラム等)で構成され、核酸単離及び精製段階自動化装置を含むことが可能である。

本ガイダンスはRNAプレアナリティカルシステムの分類について発表する連邦広報告示とともに発行される。RNAプレアナリティカルシステムの市販前届出(510(k))を行う企業は、本特別管理ガイダンス文書の記載事項に対応する必要がある。しかし企業には、自社機器の本ガイダンスの推奨事項への適合、または何らかの方法による同等の安全性及び有効性の保証のみが求められる。

FDAのガイダンス文書は、本ガイダンスも含め、法的強制力のある責任を確立するものではない。むしろガイダンスは、あるテーマに関するFDAの現在の考え方を記述するものであって、特定の規制上あるいは法制上の要件が引用されている場合を除き、単に勧告として捉えられるべきである。FDAのガイダンスにおける should(～すべき)という言葉の使用は、何らかの提言あるいは勧告であって、要求事項ではないことを意味する。

## 最も負担の少ないアプローチ

本ガイダンスに記載されている問題は、貴社が機器を市販する前に対処する必要があると当局が確信するものである。当局は本ガイダンスの作成に際し、FDAの意思決定に関連する法定基準を入念に検討した。加えて、本ガイダンスにおいて提案される方法による法定及び規制基準への順守、並びに当局が示す問題への対処を試みる過程において、貴社が負う可能性のある負担を検討した。当局は、本ガイダンス文書に記載の問題の解決に際し、最も負担の少ないアプローチを検討したと考える次第である。しかしながら、更に負担が軽くなるアプローチが他にあると貴社が考える場合、当局としては、「業界向けガイダンス:最も負担の少ない問題の解決に向けたアプローチの提案」(当局のウ

ウェブサイト <http://www.fda.gov/cdrh/modact/leastburdensome.html> にて入手可能)に概要が記されている手順を踏まえることを勧める。

## 2 背景

特別管理は、一般管理と組み合わせた場合RNAプレアナリティカルシステムの安全性及び有効性を十分かつ合理的に保証するとFDAは確信する。このジェネリックタイプの機器の市販を意図する製造業者は、(1)21 CFR 807 Subpart Eに記載されている市販前届出の要求事項を含め、連邦食品医薬品化粧品法(the act)の一般管理に従い、(2)本ガイダンスに記載されている機器に関連する健康リスクに対処し、(3)機器を市販する前にFDAより実質的同等性(Substantial Equivalence ≡ SE)の判定を得るべきである。

本ガイダンス文書にはRNA採取・安定化・精製システムに関する分類規定及び製品コードが記載されている(第4章 適用範囲を参照のこと)。更に本ガイダンスには健康リスク及び、(製造業者が従い、一般管理と組み合わせることを想定した)RNAプレアナリティカルシステムに伴うリスクに全般的に対処し、時宜を得た市販前届出(510(k))の審査及び認可へと至る方法が記載されている。本ガイダンスは、市販前届出の特定内容要求事項に関する他のFDA文書の補足である。21 CFR 807.87 及び510(k) マニュアル ≡ 市販前届出: 510(k) ≡ 医療機器に関する規制要求事項 (Regulatory Requirements for Medical Devices: <http://www.fda.gov/cdrh/manual/510kprt1.html>)等の本テーマに関する他のFDA文書も参照するべきである。

「新510(k)パラダイム-市販前届出における実質同等性の実証への代替アプローチ:最終ガイダンス」で述べられているように、製造業者は通常510(k)(Traditional 510(k))または簡略510(k)(Abbreviated 510(k))のいずれかを提出することができる。特にFDAが新機器の届出を行う際に対処する必要があると考えられる諸事項に関する勧告を提供するガイダンス文書を発行した場合、FDAは簡略510(k)による新機器の実質的同等性の実証が最も負担の少ない方法であると考えられる。

## 3. 簡略510(k)申請書の内容及び形式

簡略510(k)申請書には、当該機器に関して提案された、機器の情報、用途、使用方法を十分に示すラベリングを含め、21 CFR 807.87 の要求事項に対応する内容が記載されなければならない。簡略510(k)の場合、FDAは21 CFR 807.87(f) または (g)の意義の範囲内において、サマリーレポートの内容を適切な支持データと見做す可能性があるため、サマリーレポートを含めることを勧める。サマリーレポートには、機器の製造及び試験段階における本ガイダンス文書の使用状況、並びに実施した方法または試験内容を記載するべきである。またレポートには試験データの概略または本ガイダンスにおいて示されたリスクに対処するために採用された合格基準に関する記述、並びに新たに特定された当該機器特有のリスクを記載するべきである。本章では21 CFR 807.87 の要求事項を部分的に満たすための情報、並びに簡略510(k)に含むことを推奨するその他の項目を提案する。

### 表紙

表紙には簡略510(k)の提出である旨を明記し、本ガイダンス文書のタイトルを記載するべきである。

### ラベリング案

ラベリング案は、機器に関する情報、用途及び使用方法を十分に示すものであるべきである(この種の機器のラベリングに含むべき特定情報に関しては第8章を参照のこと)。

## サマリーレポート

サマリーレポートには下記事項を記載することを推奨する：

- ・ 当該機器に関する情報及びその用途。情報には性能に関する十分な詳細、また適切な場合はラベル表示されている当該機器の詳細図を含めることを勧める。また「使用の適応(indication for use)」エンクロージャも提出するべきである。
- ・ 当該機器の構造に関する情報。情報には性能に関する十分な詳細、また適切な場合はラベル表示されている機器の詳細図を含めることを勧める。
- ・ 一般的にリスク因子を評価するために採用したリスク解析法の特定並びに当該機器の構造詳細及びその解析結果(RNAプレアナリティカルシステムの使用に伴う一般的健康リスクについては第5章を参照のこと)。
- ・ 本クラス ガイダンス文書に記載されているリスク、並びに自社のリスク解析において新たに特定されたリスクに対処する当該機器の特性に関する考察。
- ・ 本ガイダンス文書の第6章及び第7章に記載されている各性能的側面に対処するために採用または採用を意図した試験方法に関する略述。推奨された試験方法を実践する場合は、当該試験に関する記述ではなく、方法名を記載する。推奨試験方法に変更を加える場合は、当該方法名を記載してもよいが、変更の内容及び理由について十分な情報を提供するべきである。各試験に関して貴社は(1) 試験結果から得られたデータを表等の形で明確かつ簡潔に提示するか、または(2) 試験結果に対して適用する合格基準について記述するかのいずれかを選ぶことが可能である(品質システム規制に関する設計管理- 21 CFR 820.30, Subpart Cも参照のこと)。
- ・ 当該機器の設計または試験の如何なる部分に関しても、認知規格の利用を選択する場合は(1)当該製品が市販される前に試験が実施され、定められた合格基準を満たす旨、または(2) 当該規格への適合宣言のいずれかを含めることが可能である。適合宣言は試験結果に基づくため、当局は貴社が当該規格に示される試験を完了するまでは、厳密には適合宣言を提出することは不可能であると考え。詳細については連邦食品医薬品化粧品法の 514(c)(1)(B)及びFDAガイダンス、実質的同等性の判定における規格の使用：業界及びFDA向け最終ガイダンス (<http://www.fda.gov/oc/rh/ode/guidance/1131.html>)を参照されたい。

FDAによって特定されたリスクまたは貴社のリスク解析において新たに特定されたリスクへの対処方法が明確ではない場合、当局は当該機器の性能特性について追加情報を求める可能性がある。また当局は、貴社の合格基準の妥当性を評価するために必要とする場合にも追加情報を求める可能性がある(当局は21 CFR 807.87(i)に基づき、実質的同等性の判定において必要とされる如何なる追加情報についても請求を行う可能性がある)。

簡略510(k)を提出する代わりに、貴社は21 CFR 807.87に基づいて要求され、本ガイダンスに記載されている全ての情報及びデータを提供する通常510(k)を提出することができる。通常510(k)には、貴社が採用する方法、データ、合格基準及び結論の全てを網羅するべきである。自社の認可済み機器の改良を検討する製造業者は、特別510(k)の提出を検討するべきである。

## 4. 適用範囲

本文書の適用範囲は、21 CFR 866.4070(製品コードNTW)に記載されている様に下記の機器に限定される。

21 CFR 866.4070 RNAプレアナリティカルシステム

RNAプレアナリティカルシステムの用途は患者検体を採取、保存、輸送し、検体中の細胞内RNAを安定化した後に、体外分子診断検査に使用される RT-PCR(リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応法)用細胞内RNAを単離及び精製することである。

これらのシステムは検体採取機器、核酸単離及び精製用試薬、処理試薬/処理具で構成され、核酸単離及び精製段階自動化装置を含むことができる。

## 5. 健康リスク

検体採取段階、もしくはRNA安定化または精製の段階におけるシステム故障により、サンプル中のRNAの質及び量が低下する可能性がある。RNAの質が低い場合、検査時にRNAの転写シグナルレベルの確実性が損なわれ、不正確な検査結果または不適切な患者管理もしくはその両方を招く可能性がある。RNAの質が低い場合、当該サンプルは RT-PCR 法での使用が不可能となる。その結果検体の再採取が必要となり、診断の遅延につながる可能性がある。更に検体のタイプによっては、再採取はさらなる患者リスクを招く可能性がある(例:組織生検)。リスクのレベルは診断された疾患または管理状態/ステージに応じて異なる。RNA検査の結果は常にその他の臨床的要素と兼ね合わせて検討すべきである。

FDAは、本文書において取り上げられているRNAプレアナリティカルシステムの使用に一般的に伴う健康リスクを下記の表に示した。特定されたリスクの推奨緩和策は、下記の表に示すとおり、本文書中に記載されている。リスク解析は、貴社の機器に特有の新たなリスクを特定するために市販前届出の申請書を提出する前に実施し、申請書にはリスク解析方法を記載すべきである。本文書に記載されているリスクに対して別のアプローチを選択する場合、または本文書に記載されていない新たなリスクを特定した場合、当該リスクに対処するために活用したアプローチの有効性を立証するために十分な詳細を記載すべきである。

## 6. 機器に関する記述

510(k)には規制、製品コード及び合法的に市販されているプレディケートデバイス(predicate device)について記載すべきである。プレディケートデバイスとの比較における、FDAによる当該機器のあらゆる面に対する効率的審査を促進するために、類似点及び相違点の概要を示す表を記載すべきである。

新機器の主要審査事項は、特定用途、検体のタイプ及び活用した技術である。説明情報に加え、当該新機器について十分に情報を提供するために、当該機器の技術に関する、適切な専門家による検証済み参考文献を提出することが可能である。RNAプレアナリティカルシステムの特徴を十分に示すために下記の説明情報を記載すべきである。

### 用途

当該機器の用途を明確に説明すべきである。用途には当該機器の構成要素(例:チューブ、精製用試薬)、当該機器に使用する検体のタイプ、対象とする用途(例:採取、保存、輸送、安定化)及び処理対象分析物(例:細胞内またはウイルスRNA)を明記し、当該機器が使用される分子診断検査のタイプを列挙すべきである。

### メソドロジーに関する記述

当該システムのメソドロジーのあらゆる側面に関する十分な説明を提供すべきである。下記事項を含むことが可能であるが、これらに限定されるものではない。

- ・当該機器の、採取、安定化、または精製機能の実行を目的とした設計の詳細
- ・当該システムにおいて使用される可能性がある検体のタイプ
- ・装備または推奨される構成要素及び当該システムにおけるその機能

## 7.性能特性

抽出されたRNAの質は、RT-PCR 診断検査を質の高いものとする上で非常に重要である。ラベリングの記載内容に従い、RT-PCR 分析における使用に対するRNAの安定性、純度、完全性、収量、繰り返し性、再現性及び適合性を実証するために、臨床検体を用いて、統計に基づいた調査を実施するべきである。

### 特定調査推奨事項

採取パラメータ:

#### 血液検体採取量

血液採取装置がラベリングに記載した有効期間にわたり、標準採取量の 90%から 110%の間の量を維持できるか否かを評価することにより、ラベリングに記載した採取量を実証するべきである。採取量に関する調査デザイン及びパラメータの例は、「静脈血検体採取用採血管及び添加剤:認可標準 第 5 版(2003)」、米国臨床検査標準協議会(CLSI)、文書 H1-A5 に詳述されている。

#### その他の検体材料(細胞、組織)

検体採取及び保存方法に関する選択内容を記録し、正当化することを推奨する。検体採取に関して質問がある場合は、体外診断機器評価安全性事務局内の該当部署まで問い合わせをするべきである。

RNAの品質に関する評価:

#### RNAの収量

当該システムから得られるRNAの最低収量を設定し、一貫して達成可能であることを実証するデータを提供するべきである。RNAの収量は通常 Tris-Cl(pH 7.5)で希釈し、分光光度計を用いて測定する 260 nm (A260)の吸光度と定められている。

#### RNAの安定性

当該システムが許容性能(例: RNA収量、純度及び遺伝子の転写プロファイルの微小変化)を貴社が推奨する検体の保存時間及び温度において維持する能力を評価することにより、ラベリングに記載した検体保存及び輸送に関する内容を実証するべきである。

適切な調査としては貴社がユーザーに推奨する温度、時間の諸条件、または凍結解凍サイクルの回数において実施する血液検体から単離したRNAの分析が含まれると考えられる。特定の RT-PCR 診断検査方法におけるRNAの収量、純度、完全性、及び性能の許容範囲基準を明確に記述するべきである。

## RNAの純度及び完全性

RNA純度の許容範囲を設定するべきである。通常はpH 7.5でA260/A280とされている。単離されたRNAの全体的な完全性を実証するデータを提供するべきである。また精製されたRNAサンプル中のゲノムDNA(gDNA)の許容レベルを設定し、その支援データを提出するべきである。

## RT-PCR に対する適切性及び検査の検証

分子診断検査に使用される RT-PCR 法実施において、当該システムが使用可能であることを実証するために、RT-PCR 検査による当該システムの試験を含むべきである。

当該検査がFDAによる審査を通過したもの、または承認を受けたものではない場合、貴社は510(k)に検証内容を記載するべきである。

適合性の調査には、RNAプレアナリティカルシステム内の試薬が核酸増幅を阻害していないことを実証するための試験を含むべきである。

## 機器の安定性:

有効期間(例:試薬その他の構成要素)を立証するために、機器の安定性試験を含むべきである(EN 13640ミ2002体外診断用試薬の安定性試験を参照のこと)。

## 精度(繰り返し性/再現性):

RNA採取・安定化・精製用システムの再現性を十分に検査するべきである。

「定量測定法の精度実績の評価:認定ガイドンス」(2004年) 臨床・検査標準協会(CLSI)文書 EP5-A2、「定性試験実績の評価のためのユーザープロトコル:認定ガイドンス(2002年) CLSI 文書 EP12-A 及び「定量検出限界値の設定のためのプロトコル:認定ガイドライン」(2004年) CLSI 文書 EP17-A に試験デザイン、計算のためのガイドライン、及び性能に関する記述のためのフォーマットが記載されている。

試験デザインには下記の内容が含まれるべきである。

- ・ 試験は、intra-assay、inter-assay 及び total-assay の再現性を特徴づけが可能となるようにデザインする
- ・ 当該機器に対する推奨RNA濃度に近い様々なRNA濃度の適切な試料を使用する。試料の数は最低10以上とすることを推奨する。当該機器と共に使用される全タイプの試験サンプル(例:全血、口腔スワブ、組織またはその対象となるマトリックス)に対して試験を行うべきである。
- ・ 再現性試験で使用されるサンプルは、確実に試験場において実際の患者検体から得られたものとする。擬似サンプルは患者検体が入手できない場合のみ使用することができる。処理は当該機器のラベリングに記載される推奨手順を模倣したものとするべきである。
- ・ 試験場は3箇所以上とし、各試験場に配置される複数のオペレーターは、教育及び経験の観点から潜在的ユーザーを反映する者とするべきである。市販後に試験実施のためのユーザートレーニングが必要な場合はオペレーターのトレーニング時に情報を提供すべきであるが、想定されていない場合は、試験場において(添付文書以外の)トレーニング内容を追加するべきではない。

- ・ 貴社システムのRNA収量の再現性及び繰り返し性の特性を示す。試験は最低3人の有資格オペレーターが実施し、各機器のRNA収量は分光光度法を用いて測定するべきである。各検体及びオペレーター、並びに全オペレーター及び試験場の平均、標準偏差、変動係数を報告するべきである(繰り返し性の一評価基準として)。
- ・ RNAの純度及び完全性の再現性及び繰り返し性を確立する。3セットの試験器具を用いて3人以上のオペレーターが試験を実施するべきである。各機器のRNAの収量は分光光度法を用いて測定するべきである。結果が、ラベリングに記載されるRNA純度の設定範囲内にあることを実証するべきである。
- ・ 機器のオペレーター、ロット、実施日、試験所等の差異にかかわらず再現可能なRNAの転写シグナルレベルが得られることを立証する。
- ・ 再現性試験で使用される手順は、ユーザーに対して推奨される添付文書記載の手順と同一であることを確実にする。
- ・ 当該システムの期待性能を十分に検証するために、複数の製品ロット及び装置(試験システムの一部である場合)を使用する。

貴社が提出する510(k)の試験デザインに関する記述箇所において、試験時の安定要因及び不安定要因(例:試薬ロット、オペレーター)を明示し、データを評価するために用いた計算方法及び統計解析手法に関する記述を含むべきである。

#### 装置の装備及びソフトウェア(該当する場合)

システムにRNAの単離及び精製段階の自動化用装置が含まれる場合、<http://www.fda.gov/cdrh/ode/guidance/337.pdf>にて入手可能な文書、FDA/CDRH「FDA審査員及び業界向けガイダンス:医療機器に含まれるソフトウェアの市販前申請に関するガイダンス」に詳述される全ての情報を提出内容に含むべきである。装備方法を明示するために、装置マニュアルの写しを含めるべきである。繰り返し性及び再現性データを含む全ての分析性能データは当該自動システムを用いて作成するべきである。

#### 8 ラベリング

市販前届出の申請書には、21 CFR 807.87(e)の要求事項を満たすために十分なラベリングに関する詳細を記述するべきである。下記の提案事項の目的は、21 CFR 807.87(e)の要求事項を満たす推奨ラベリングの作成を支援することにある。最終ラベリングは510(k)審査を通過するために必要とされるわけではないが、体外診断機器の州際通商が開始される前に21 CFR 809.10の要求事項を満たさなければならない。

#### 使用説明

検体採取(例:血液)からRNAの単離及び精製までの段階における当該システムの明確かつ簡潔な使用方法を提供し、RNAの単離及び精製の段階における推奨ワークフローを記載するべきである。適切な場合には絵文字及びフロー図を使用するべきである。

#### 限界

ラベリングには貴社システムの限界に関する下記の様な文言を記載することを推奨する。

- ・ 性能特性は全ての転写物に対して確立されたものではない。ユーザーは対象となる他の転写物に対して、適切なシステム性能特性を定めることに責任を負う。
- ・ 本システムの用途は、ヒト全血から抽出された細胞内RNAの精製であり、ゲノムDNAまたはウイルス核酸の精製における使用は意図されていない。
- ・ 本システムの用途は、白血球数が  $48 \times 10^6 \sim 1.1 \times 10^7$  白血球/ml のヒト全血から抽出された細胞内RNAの精製である。

## 安定性

製品の保管条件及びサンプルの安定性に関する情報をラベリングに記載することを推奨する。

## 性能特性

RNAの純度、収量、繰り返し性、再現性、及び遺伝子転写レベルの安定性等の製品の性能情報をラベリングに記載することを推奨する。性能特性を確立する上で使用されたプロトコルに関して、使用材料及び結果を含めた全側面から説明することを推奨する。

## ユーザーマニュアル

ソフトウェアが貴社製品の構成要素とされる場合は、RNAプレアナリティカルシステムの全構成要素に関するユーザーマニュアルの提供を推奨する。マニュアルにはソフトウェアの役割、ユーザーとソフトウェアとのインターフェース、並びに性能試験の結果に関する十分な記述を施し、当該ソフトウェアが本来の機能を発揮することを実証するべきである。

ユーザーによる当該ソフトウェアの正確な使用を促進する目的において、コンピューター画面上のアイコン、グラフィカルユーザインターフェイス(GUI)等を推奨する。

可能な場合は、ユーザーが誤操作または装備の失敗を認識する方法及びトラブル解決の手引きもユーザーマニュアルに記載するべきである。

### 143 米国FDAによるガイダンス、コンセプトペーパーの例(3)

本項では、FDAによるクラス 体外診断薬の特別規制の例として、「クラス 特別管理ガイダンス文書:心臓同種移植片遺伝子発現プロファイリング試験システム」の要約を記す。

### クラス 特別管理ガイダンス文書:心臓同種移植片遺伝子発現プロファイリング試験システム

米国保健社会福祉省食品医薬品局医療機器放射線保健センター、体外診断機器審査安全室、化学毒性的検査機器部

2009年10月21日発行

## 1.序文

本ガイダンス文書は、心臓同種移植片遺伝子発現プロファイリング試験システムのクラス (特別管理)への分類支援を目的とし、特別管理ガイダンスとして作成された。心臓同種移植片遺伝子発現プロファイリング試験システムは、同種移植片の機能が安定している心臓移植患者における急性細胞性拒絶反応(ACR)の可能性の低さを確認すること



を支援するために、複数の遺伝子のRNA発現レベルを測定し、シグネチャ(パターン、分類子、インデックス、スコア)を生成するために測定情報を結合する機器である。

本ガイダンスには市販前届出書の作成及び心臓同種移植片遺伝子発現プロファイリング試験システムのラベリングに関する製造業者への推奨事項が記載されている。本文書中の推奨事項は、同種移植片の機能が安定している心臓移植患者における急性細胞性拒絶反応の可能性の低さの確認手段として使用される、リアルタイムポリメラーゼ連鎖反応法(qRT-PCR)、発現マイクロアレイ等のRNA発現解析に適用される。心臓同種移植片遺伝子発現プロファイリング試験システムにおいては、医師が安定した心臓同種移植患者を管理する際に支援となる結果を創出することを目的として、測定にアルゴリズムが適用される。

心臓同種移植片遺伝子発現プロファイリング試験システムは、ACRの診断、治療に対する反応の予測または検出、もしくは心臓同種移植患者に対する最適な治療の選択を目的として使用されることは意図されていない。

本ガイダンスは心臓同種移植片遺伝子発現プロファイリング試験システムの分類について発表する連邦広報告示とともに発行される。心臓同種移植片遺伝子発現プロファイリング試験システムの510(k)市販前届出を行う企業は、本特別管理ガイダンスの記載事項に対応する必要がある。本ガイダンスの推奨事項への適合、または安全性及び有効性に関して同等の保障を与える何らかの方法のいずれかにより、当該機器が本ガイダンスに記載されている安全性及び有効性に関する諸事項に対応していることを示さなければならない。

#### 最も負担の少ないアプローチ

本ガイダンスに記載されている諸事項は、貴社が機器を市販する前に対応する必要があると当局が確信するものである。当局は本ガイダンスの作成に際し、FDAの意思決定に関連する法定基準を入念に検討した。加えて、本ガイダンスの記載内容に従い、当局が示す問題への対処を試みる過程において、貴社が負う可能性のある負担を検討した。当局は、本ガイダンス文書に記載の問題の解決に際し、最も負担の少ないアプローチを検討したと考える次第である。しかしながら、更に負担が軽くなるアプローチが他にあると貴社が考える場合、当局としては、「最も負担の少ない問題の解決に向けたアプローチの提案」(当局のウェブサイト <http://www.fda.gov/downloads/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm073704.pdf> にて入手可能)に概要が記されている手順を踏まえることを勧める。

#### 2 背景:市販前届出

このジェネリックタイプの機器の市販を意図する製造業者は、以下を遵守しなければならない。

- ・ 21 CFR 807 Subpart E に記載の市販前届出の要求事項を含め、連邦食品医薬品化粧品法(the act)の一般管理に従うこと。
- ・ 本ガイダンスにおいて示される心臓同種移植片遺伝子発現プロファイリング試験システムに伴う特定の健康リスクに対処することにより当該機器に対して展開される特別管理に従うこと。
- ・ 機器を市販する前にFDAより実質的同等性(Substantial Equivalence ≡ SE)の判定を得ること。(21 CFR 807.81 及び 807.87 も参照のこと)

FDAは、the act の一般管理と組み合わせた場合、特別管理によって十分にこれらの機器の安全性及び有効性の合理的保証が提供されると確信している。

本特別管理ガイダンス文書は、心臓同種移植片遺伝子発現プロファイリング試験システムの分類に関する規制及び製品コードを示している(第3章 適用範囲を参照されたい)。また本ガイダンス文書には、これらの機器に関するリスクの対処に関する製造業者向け推奨事項も記載されている。

本文書は市販前届出の特定内容要求事項に関する他のFDA文書を補足するものである。21 CFR 807.87及びガイダンス「通常及び簡略510(k)のフォーマット s」も参照するべきである。「新510(k)パラダイム-市販前届出における実質同等性の実証への代替アプローチ:最終ガイダンス」に記載されているように、製造業者は通常510(k)(Traditional 510(k))、簡略510(k)(Abbreviated 510(k))または特別510(k)(Special 510(k))のいずれかを提出することができる。ガイダンス文書が存在する場合、特別管理が確立された場合、またはFDAが当該機器に関する一致規格を認めた場合、製造業者は簡略510(k)の提出を選択することができる。自社の認可済み機器の改良を検討する製造業者は特別510(k)を提出することができる。

### 3. 適用範囲

本文書の適用範囲は、21 CFR 862.1163(製品コードOJC)に記載されている下記の機器に限定される。

21 CFR 862.1163 心臓同種移植片遺伝子発現プロファイリング試験システムは、同種移植片の機能が安定している心臓移植患者における急性細胞性拒絶反応(ACR)の可能性の低さを確認することを支援するために、複数の遺伝子のRNA発現レベルを測定し、シグネチャ(パターン、分類子、インデックス、スコア)を生成するために測定情報を結合する機器である。

心臓同種移植片遺伝子発現プロファイリング試験システムは臨床マルチプレックス検査システムの装備を必要とする可能性がある。マルチプレックス検査システムの装備は21 CFR 862.2570によって規制されている。このような装備に関する手引きは、業界及びFDA職員向けFDAガイダンス、「クラス 特別管理ガイダンス文書:臨床マルチプレックス検査システムの装備」に示されている。貴社の心臓同種移植片遺伝子発現プロファイリング試験システムに試験用臨床マルチプレックス検査システムが装備される場合は、試験及び装備の両方に関する情報を一つの510(k)に記載することができる。システムの製造業者が装備についてのみ510(k)の提出を希望する場合は、試験の市販前届出と同時に提出することができる。

心臓同種移植片遺伝子発現プロファイリング試験システムは、ACR の診断、治療に対する反応の予測または検出、もしくは心臓同種移植患者に対する最適な治療の選択を目的として使用されることは意図されていない。

### 4. 健康リスク

心臓同種移植片遺伝子発現プロファイリング試験システムは、同種移植片の機能が安定している心臓移植患者における急性細胞性拒絶反応の可能性の低さを確認を支援することを意図されている。この性能を発揮できない場合は、誤った試験結果が導かれる可能性がある。結果が偽陽性の患者はよりリスクの高いグループに、また偽陰性の患者はよりリスクの低いグループに誤って分類されることになる。ACR の誤分類は、付添い人の心理的疲労、不適切なカウンセリング及び不十分な患者ケアを伴う不適切な患者管理を招く可能性がある。

FDAは下記表中に本システムの使用に一般的に伴う健康リスクを示した。特定されたリスクを緩和するための推奨方法は下記の表の通り本ガイダンス文書中に記載されている。市販前届出を提出する前にリスク解析を実施し、当該機器に特有のリスクを特定するべきである。リスクは使用する発現試験のタイプ、試験用途、サンプルのタイプ、及び結果の使用法によって異なる可能性がある。市販前申告書にはリスク解析方法を記載するべきである。本文書に記載されているリスクに対処する上で代替アプローチの使用を選択する場合、または本文書に未記載のリスクを特定した場合は、対処するために使用したアプローチの正当性を立証するために十分な詳細を記載するべきである。

## 5. 機器に関する記述

規制及び上述の第 3 章に記載の製品コードにより、貴社の機器を特定することを推奨する。合法的に市販されているプレディケートデバイス (predicate device) も特定されなければならない。21 CFR 807.87(f)。FDAがプレディケートデバイスとの比較において、当該機器のあらゆる面を効率的に審査することができるように、類似点及び相違点の概要を示す表を記載するべきである。

新機器の主要審査事項は、特定用途、検査検体のタイプ及び活用した技術である。下記の説明情報に加え、当該新機器について十分に情報を提供するために、当該機器の技術に関する、適切な専門家による検証済み参考文献を提出することが可能である。

心臓同種移植片遺伝子発現プロファイリング試験システムの特徴を十分に示すために、下記の説明情報を記載するべきである。

### 5A 用途

用途を記載する際には、当該試験の方法、臨床的適応、及び当該試験が意図される特定母集団を明示し、臨床的性能が実証されている患者に関する適切な臨床及び人口統計学的記述を含めるべきである。また当該試験が定量試験または定性試験のいずれであったかを明示するべきである。一箇所での試験を意図されている場合は、この情報を用途に含めるべきである。

### 5B. 試験方法

当該機器において使用された方法について、詳細を記述するべきである。貴社機器に該当する場合、例として下記の項目について記載するべきである。

- ・ 試験プラットフォーム (例: qRT-PCR または発現アレイ)
- ・ 該当する場合、アレイの構成及び空間レイアウトまたは空間的に固定されたプラットフォーム
- ・ 特にノーマライゼーション及び質的管理に使用される遺伝子等のパラメータに関する試験要素の説明
- ・ サンプルのキャリア・オーバーまたは汚染の可能性の評価方法
- ・ 試験の限定因子 (例: ハイブリダイゼーションの飽和レベル、最大サイクル数)
- ・ アレイ関連:
  - ・ プローブの素材を固体表面に接着させるために用いる方法
  - ・ ハイブリダイゼーションの条件、洗浄手順、及び乾燥条件 (例: 温度、時間の長さ)
  - ・ 特に擬似遺伝子または配列関連遺伝子が存在する場合、対象とする配列に対するプローブの特異性
- ・ サンプルの採取に関する要求事項

- ・ サンプルの採取から処理までの間の取扱い方法
- ・ 貴社が実施、提供するかまたはユーザーに対して推奨するRNA抽出方法
- ・ サンプル抽出物のRNAの完全性を確保する方法
- ・ 提供された、または使用を推奨された試薬の成分及びシステム内におけるその機能(例: 緩衝液、酵素、蛍光色素、化学発光試薬、その他シグナル伝達/増幅試薬)
- ・ 貴社機器に必要とされる器具の装備(構成要素及びシステム内におけるその機能を含む)
- ・ 器具の装備及びシステムパラメータから創出された結果のタイプ(例: 測定範囲)
- ・ 生データから最終結果までの計算経路(例: 生シグナルを最終試験結果に変換する方法)。これには欠測値及びデータセットにおける明らかな問題を特定し、処理するための十分なソフトウェア管理が含まれる。ノーマライゼーションの背景に関する調整について記述する。
- ・ ユーザーに対して推奨または提供する外部統制
- ・ 内部統制及びシステムにおけるその特定の機能に関する記述
- ・ 該当する場合、試験方法を記載している、関連する専門家による検証済み参考文献
- ・ 入手可能な場合、非標準機器または方法の説明図または写真

貴社機器に該当する場合、下記事項に対処するために使用する品質管理デザインに関する詳述:

- ・ 該当する場合、適切な配置及び試験の特徴の識別(例: プローブ)
- ・ 標的分子が複数の異なるプローブに接触するマルチプレックス試験に関する、特異的または非特異的プローブ交差ハイブリダイゼーションの可能性
- ・ 製造過程において多くのプローブが処理されるマルチプレックス試験に関するプローブ交差汚染の防止

### 5C. 試験アルゴリズム

急性細胞性拒絶反応の可能性を測定するためにこの種の試験システムにおいて使用されるアルゴリズムは、新アルゴリズム、特許アルゴリズム、または複合アルゴリズムである場合が多く、試験システムの最も重要な要素の一つとなっている。

適用可能な場合は下記を提供すべきである。

- ・ アルゴリズムの構造及び実施に関する詳述
- ・ データ抽出の対象としたサンプルの選択に使用された原則(既往歴、人口統計学、マトリックス、地理的起源等)、サンプルサイズの統計的正当性、データセット収集時に立てられた全仮説を含む、貴社の試験において使用されるパターンまたは分類子(多くの場合、それぞれ「トレーニング」、独立した「試験」セットと呼ばれる)を把握及び検証するために使用されたデータセットに関する詳述
- ・ 性能評価基準(独立したデータセットを使用した内部検証及び外部検証)及びその入手方法に関する詳述

製品開発期間において、機器及びアルゴリズムは時間と共に進化することがある。最終的な機器及び貴社機器のアルゴリズムを用いて得られたデータを提供すべきである。

## 5D. 試験結果

臨床医のために作成される試験レポートの見本(例:プリントアウト)を提出するべきである。これらのレポートには、発注医師または医療従事者の解釈が可能となるように、十分な情報を記載するべきである。試験レポートでは、臨床的検証データセットにおける試験性能について言及するべきである。当該レポートに含まれる統計的要約は、本来の試験使用法と一致するものとするべきである。例えば、ACRの可能性は陰性予測値により定量化し、陽性予測値により補完することが可能である。適用可能な場合は、レポートには臨床的検証データセットを使用して評価されたその他の情報(例:当該試験の感度及び特異性)を記載するべきである。

## 6. 性能特性

510(k)には、以下に概説される各性能特性を評価する際に使用される、試験デザインに関する詳細を記載するべきである。

### 6A 前処理に関する因子

下記の様な前処理に関する因子の検討は、ゲノム検査を質の高いものとする上で非常に重要である。

#### 検体採取

試験ラベルに記載される推奨方法(例:採取、保存、出荷方法)と同様の方法で処理される検体を用いて、全てのサンプル採取、輸送、保存に関する推奨選択肢(例:採血管のタイプ、RNA保存用固定剤、凍結サンプル)を評価するべきである。評価には、サンプル採取とRNA安定化の間の許容経過時間が(例:凍結、固定またはその他の方法による)結果的に均一かつ許容可能な検体を生じることの検証を含める。貴社が指定する輸送条件が、サンプルの完全性を保証し、許容可能な輸送に伴う変動性の限界(例:輸送時間、必要冷却材の品質)を判定する上で妥当なものであることを検証するべきである。

適切な保存条件の検証は、サンプル及び抽出されたRNA製品の両方を対象とするべきである。

#### RNAの抽出

試験キットにRNAの抽出及び調整用の試薬が含まれる場合は、再現性、精度、及び製品の安定性に対する影響の観点から前処理プロセスの各段階を検証し、510(k)の申請書に試験デザイン及びその結果を記載するべきである。外部試験(例:再現性、方法比較)には、前処理プロセスの評価を含めるべきである。

試験キットにRNAの抽出及び調整用の試薬が含まれない場合は、RNAの質が正確な試験結果を創出する上で十分なものであることを保証するために、詳細を適切に示すべきである。例としては OD260/OD280 の比率、リボソームRNA比率(28S/18S)、及びRNAの完全性評価が挙げられる。研究用(research-use-only (RUO))試薬は推奨するべきではない。

### 6B. 品質制御機器

この種の心臓同種移植片遺伝子発現プロファイリング試験システムに関しては、複数のレベルの品質制御機器を検討するべきである。制御機器は、(1)サンプル品質、(2)RNAの質、量及び純度、(3)プロセスの質に関する情報を提供するべきである。プロセス品質制御機器は、RNA抽出、RNA精製、cDNAの合成、増幅、ハイブリダイゼーション、スキャ

ニング / 検出、並びにノーマライゼーション(適宜)を含むがこれらに限定されない、全体のプロセスを反映するべきである。

制御機器は、適切な形でシステムを試すためにサンプルの組成及びRNAの濃度を見積もり、測定範囲全体にわたる再現性、特に臨床的に関連性のある近い値に焦点をあてるべきである。

品質管理及び校正に関して、下記事項を記載するべきである。

- ・ 貴社のシステムに含まれるか、または推奨される種々の制御機器の性質及び機能。これらの制御機器により、汚染またはクロスハイブリダイゼーションを伴うことなく、全てのステップ及び重大な反応が適切に処理されたか否かをユーザーが判定できるようにするべきである。
- ・ 該当する場合、数値割当(相対値または絶対値)の方法、並びに制御及び校正器の構成要素の検証方法。
- ・ 要求仕様に従うために、機器の故障検出用に使用される可能性のある制御パラメータ。

## 6C. 分析性能

全ての分析性能試験は、試作品ではなく機器の最終バージョンを使用して実施されるべきである。貴社の試験に対して推奨される全てのRNAソース(例:全血、組織、末梢血単核球溶解物)から得られたRNA抽出物を含めて、試験性能を評価するべきである。下記の性能特性を記述することを推奨する。

### 検体に関する要求事項

貴社が定める検体要求事項が、貴社が記載する正確さ及び精度の基準範囲内にある試験の診断パターンまたは分類子を特定する上で十分なものであることを検証するべきである。下記事項について決定を行うべきである。

- ・ 貴社機器を用いて許容可能な試験を実施するために必要とされるサンプルの最低量。
- ・ 指定された正確さ及び精度により当該機器が信頼できる結果を出すことができる、RNA / cDNA 濃度に関する、試験の上限及び下限。

シグネチャ(パターンまたは分類子もしくはインデックス)を生成するために複合アルゴリズムを使用する試験に関しては、精度基準が示すように、RNA濃度の上限及び下限が試験結果を損なうということはあるべきではない。

### 分析の特異性 / 干渉

該当する場合、非特異的増幅、非特異的ハイブリダイゼーション、及び機器のクロスハイブリダイゼーションの可能性を評価するべきである。

潜在的な妨害物質が検体中に存在し、検体採取中及び検体処理中に侵入する可能性がある(例:脂肪血、溶血、サンプルのヘパリン化)。従って、RNAに関する規定は、推定妨害物質のあらゆる影響を十分に除去するものであるべきである。

### Cut-off(カットオフ)

申請書にはカットオフの決定方法及びカットオフの値の検証方法を記載するべきである。検証試験において使用されるカットオフは、検証前に設定されるべきである。偽陰性試験結果と真陰性試験結果との間のリスクと利益のトレードオフを提供するカットオフを選択することを推奨する(例:ACRの可能性の高さ / 低さ)。

試験に曖昧な部分が含まれている場合、その部分の限度の設定方法を説明するべきである。設定されたカットオフ(または該当する場合は曖昧部分)を使用する機器の性能は、規定用途と一致する独立した母集団において検証されるべきである。

#### 精度(繰り返し性/再現性)

貴社システムの精度(即ち繰り返し性/再現性)を実証するデータを提供するべきである。CLSI 文書「臨床化学機器の精度性能の評価」(CLSI ガイドライン EP5-A)及び、「定性試験性能の評価のためのユーザープロトコル」(CLSI ガイドライン EP-12A)に、試験デザインを作成し、計算を実施する際の一助となり得る指針及び性能宣言を確立するためのフォーマットが記載されている。理想的には、精度試験において、試験の変動性の全ソースを特定するべきである。貴社は分類子またはスコアが、意図される使用の母集団において遭遇する可能性のある臨床的検体の範囲にわたり、十分に再現可能であることを立証するべきである。精度に影響を与える、貴社が検討するべきその他の因子としては、以下が含まれる。

- ・ 再現性試験で使用されるサンプルは、試験ラベリングにおいて推奨することを予定している手順を用いて、当該試験所で処理された臨床検体(例:全血から得られた末梢血単核球溶解物)由来のものであることを確実にする。
- ・ 試験が複数の試験所における実施を意図されているか否か。各試験所に複数のオペレーターがおり、試験所が3箇所以上になるという状況を含む。オペレーターは教育及び経験の観点から潜在的ユーザーを反映するべきである。オペレーターのトレーニングと、市販後にユーザーに対して実施を意図しているトレーニングとは、同程度のものとするべきである。
- ・ 試験が一つの試験所における実施を意図されているか否か。当該試験所に複数のオペレーターがいるという状況を含む。
- ・ 複数の製品ロット(例:試薬の複数ロット、RT-PCR 用のプライマー及びプローブの複数ロット、アレイの複数ロット)及び複数の装置を含む。
- ・ 試験が検出できる全てのクラスを示す適切な試験サンプル(例:高可能性、低可能性及び該当する場合は曖昧部分)の使用。
- ・ 該当する場合、染料の混合にバイアスがないことを確実にするためのダイリバース実験の実施。
- ・ 該当する場合、サンプルラベリング手順の再現性の実証。

510(k)に記載される試験デザインに関する記述において、評価時にどの因子(例:装置の校正、試薬のロット及びオペレーター)が安定し、どの因子が不安定であったかを明示し、データを評価するために用いた計算法及び統計分析について説明するべきである。試験用の外部コントロール器具が存在する場合は、実際の臨床検体に加えて精度試験の対象に含めるべきである。

#### 安定性調査

試薬及び装置のリアルタイム安定性の判定、また該当する場合は加速安定性及び耐性試験の条件に関して、調査デザインを記述し、また各調査の許容基準値の選択方法も記述するべきである。

## 装置使用の検証

複数のシグナルの測定及び選択を行う装置 / システム、並びにその他の未承認複合試験装置の使用については、装置の認可をサポートするために提出すべきデータのタイプの詳細に関して、ガイダンス文書、「クラス 特別管理ガイダンス文書:臨床マルチプレックス試験システムための装置使用 3」を参照のこと。

## 6D. 臨床的検証

貴社機器に関する使用の適応及び宣言を裏付けるために、臨床的調査から得られたデータを提供すべきである。臨床的検証調査においては、意図された使用の母集団から得られた、シグネチャ(パターンまたは分類子もしくはインデックス)を生成するために使用したものは別の患者検体を使用すべきである。各臨床的調査のプロトコル(選定対象及び除外の基準、調査のエンドポイント、許容基準、調査デザイン、統計分析計画並びにサンプルサイズの統計的正当性を含む)及び、当該調査が如何にして提案された用途を裏付けているかという点に関して記述すべきである。臨床的検証調査から得られた生データを処理データ(即ち最終試験結果)と共に提出すべきである。

臨床的検証調査に関しては、検証データセットは地理的に所在が異なる、3 つ以上の相違する試験所から収集された臨床サンプルから構成されるべきである。調査は米国国民を対象に実施されることが望ましい。調査が米国国外において実施される場合は、当該調査と米国の臨床実践及び人口統計学データとの関連性を記述すべきである。

貴社の特定機器の臨床的妥当性が既存の科学的枠組み及び十分な数の証拠によって立証される場合は、専門家による評価済み参考文献を貴社宣言の根拠として提出することができる。これらには、適切な母集団を対象とする複数の調査内容が含まれているべきである。参考文献を用途の十分な根拠とすることが不可能な場合は、貴社機器に関する宣言を立証するために調査を実施すべきである。調査セットにおける全てのバイアスを検出し、十分に除去または緩和するために適切な手段を採用する場合、予め貯蔵されているサンプルの遡及的分析が認められる可能性がある。貴社提案の特定調査の妥当性を判断するために、FDAと協議することを推奨する。

### 臨床結果との比較の使用における精度

臨床的真実: FDAによる貴社機器の性能評価を可能にするため、臨床的検証調査において全患者に対して使用される臨床結果の評価基準、並びにその評価基準を得るための方法を定めるべきである。

エンドポイント: 貴社機器の適切なエンドポイント(例: 生検スコア、ACR の存在または不在)について記述すべきである。これらのエンドポイントは当該機器の用途を裏付けるものとするべきである。適切な性能測定基準には、例として(1)ACR の陰性予測値、(2)ACR の陽性予測値、(3)ACR の試験前罹患率及び(4)ROC 曲線下の面積(area under the receiver operating characteristic (ROC) curve (AUC)を含むことが可能である。

検証計画: 遺伝子特性の検証に用いた方法について記述すべきである。記述には臨床プロトコル及び統計分析計画を含めるべきである。臨床データは、以前に遺伝子特性の作成に使用された患者から得られたものではない、新しいデータセットとするべきである。またデータセットの患者は、当該機器の意図された使用の母集団の典型とするべきである。検証調査から得られたデータの分析に使用される統計技術は、調査対象の既定エンドポイント(例: ACR の低可能性の確認)に合わせて調整されるべきである。分析調査の実施に先立ち、プロトコルには臨床的に関連性のある性能目標、及びその目標が達成されたことを実証するための詳細な統計分析計画を含めるべきである。統計的手法は、分析調査をデザインする前に妥当性を確認すべき仮定に依存することに注意されたい。例えば、同一の患者から得



られた複数の検体を使用する場合、統計分析ではこの検体に基づく試験結果が統計的に独立しているという仮定を行うべきではない

510(k)の申請書において、当該調査における患者、並びにエンドポイントに伴う不正確な結果が出る確率の推測(即ち、偽陽性、偽陰性)の記述統計を含めて、臨床検証調査の概要を提供するべきである。報告対象の各統計の性能測定基準の95%信頼区間を報告するべきである。陰性及び陽性予測値に関しては、性能は臨床検証調査におけるACR罹患率の影響を受けると考えられる。従って、ターゲットエンドポイントの罹患率を報告するべきである。

該当する場合、ACR発現の判定において定期的に使用される臨床的変数に関して、貴社の試験が付加価値を与えていることを実証するために、臨床的リスク層(例:年齢、同種移植片機能の安定性、移植後の経過時間、ACRのベスラインリスク因子及び、定期的に使用される場合は炎症マーカー)における試験の統計性能を報告するべきである。

また臨床的変数のみに基づく、試験の性能とACRステータスの最良分類子の性能との直接比較を行うことも可能である(適切または不適切とされる可能性がある三つ目のアプローチは、ACRステータスの統計回帰モデルにおける既定の臨床的予測因に試験が追加される際に、統計的に有意な性能の向上を示すことである)。

検討対象として適切な臨床情報は、対象となる試験グループにより異なる可能性がある。提案される特定試験に関して、試験実施前にFDAと協議することを推奨する。

## 調査サンプル

プロスペクティブサンプルが好ましいとされる一方で、収集及び選択においてバイアスが生じておらず、患者の既往歴及び適切な転帰情報の入手が可能であることを条件に、貯蔵所内の特徴的なサンプルを臨床検証試験において使用することが可能である。選択(選択対象/除外)基準について十分に記述し、サンプルの全ての関連特徴または限界(プロスペクティブかまたは貯蔵所内のものであるか)を示すべきである。また患者の人口統計学データ、疾患特徴並びに、用途及び調査母集団における関連転帰の優勢率についても記述するべきである。サンプルの選択は、サンプルの完全性及び保存期間等のバイアスソースを最小限に抑える方法で行うべきである。貯蔵されたサンプルを使用するピボタル試験を実施する前に、FDAと協議することを推奨する。

正確な結果が臨床材料から得られることを実証するために、貴社が用途に関して述べる全てのマトリックスから得られた臨床サンプル(例:被凍結または核酸保存剤の中に集められたもの)を使用するべきである。適切なサンプルサイズは、精度/再現性、干渉、及びその他の試験の性能特性等の因子により異なる。貴社試験のサンプルサイズの正当性を立証するために統計手法を用いて根拠を記述することを推奨する。臨床調査において貴社が使用するサンプルに関しては、遡及的検査済みサンプルの保存及び輸送が試験結果に影響を与えていないことを実証するデータを提供すべきである。

## 7. ソフトウェア

貴社のシステムにソフトウェアが含まれる場合は、重要性のレベルに応じて詳細な情報を提供するべきである(「医療機器に含まれるソフトウェアの市販前届出の内容に関するガイダンス」を参照のこと)。ハザードを軽減する前に重要性のレベルを判定するべきである。この種の体外診断機器については、ソフトウェアの欠陥が患者に対して間接的に影響を与える可能性があり、医療提供者及び患者が正確な情報を入手できないことにより被害がもたらされる可能性があるため、一般的に重要性レベルは中等度と考えられている。

ソフトウェアに関するFDA審査用資料を作成する際には、下記事項について適宜記載するべきである。

- ・ソフトウェアデザインに関する十分な記述。ソフトウェアには意図されていない使用法の支援を目的として特別に設計されたユーティリティを含めるべきではない。またデザインに関するプライバシー及びセキュリティ問題について考慮すべきである。これらの問題の幾つかに関しては、医療保険の相互運用性と説明責任に関する法律(HIPAA)に関するウェブサイト <http://aspeosdhhs.gov/admsimp> から情報を得ることができる。
- ・当該機器のデザイン、並びにシグナル検出及び分析、データ保存、システムコミュニケーション及びサイバーセキュリティ等のサブシステムコンポーネントの故障の影響について、不適切な患者レポート、機器の故障及びオペレーターの安全と関連付けながら実施する、批判的思考法に基づくハザード解析。
- ・実質的同等性を実証する目的において提出される当該ソフトウェアバージョンの徹底的な検証及び妥当性確認活動に関する資料。
- ・貴社が510(k)に記載する情報がリリースバージョン以外のバージョンに基づく場合、510(k)において全ての相違点を明示し、それら(未解決の異常を含む)が如何にして当該機器の安全性及び有効性に影響を与えるのかという点について詳述する。

FDAの規制に一致する優れたソフトウェアライフサイクルの実践に基づく機器の開発及びメンテナンスを支援する前述以外の参考資料を以下に示す。

- ・ソフトウェア検証の一般原則:業界及びFDA職員向け最終ガイダンス
- ・医療機器における市販ソフトウェアの使用のためのガイダンス:最終版。FDAウェブサイトより入手可能
- ・21 CFR 820.30 Subpart C 品質システム規則のデザインコントロール
- ・ISO 14971-1 医療機器 リスクマネジメント 第1部:リスク分析の適用
- ・AAMI SW682001:医療機器ソフトウェア-ソフトウェアライフサイクルのプロセス

## 8. ラベリング

市販前届出には21 CFR 807.87(e)の要求事項を満たすために、ラベリングについて十分な詳細を記載しなければならない。体外診断機器の最終ラベリングは、機器の州際通商が開始される前に21 CFR 809.10の要求事項も満たさなければならない。下記の推奨事項は、これらの要求事項を満たすラベリングの作成を支援することを目的としている。

包装された機器の一部としての添付文書の配布を実施しない一つの試験場において実施することを意図される試験に関しては、製造業者は公的にアクセス可能なFDA 510(k)データベースに試験レポート形式でポスティングされる510(k)要約及び/又は決定に関する要約文書への参照リンクをユーザーに対して提供するべきである。

## 用途

貴社は当該機器の用途を指定しなければならない。21 CFR 809.10(a)(2), (b)(2)。用途により試験の測定対象、試験が使用される臨床的適応、試験が意図される特定の母集団、患者に関する記述(例:性別、年齢、臨床的安定性、移植後の経過時間、現在の治療計画)、また当該試験が定性的かまたは定量的かが明示されるべきである。

試験が一つの試験場における使用を意図されている場合、この情報は用途の内容に含まれるべきである。

## 一般手順

医師による試料採取から結果の報告までを含めた、分析手順の概要を含めるべきである。

## 使用法

推奨手順を段階的に示した概説を提供しなければならない。21 CFR 809.10(b)(8)。当該機器の技術的特徴を伝える明確かつ簡潔な指示、及び使用方法を示すべきである。指示はユーザーによる当該機器の特徴、並びに安全かつ効果的な使用方法の把握を促進するものとするべきである。

操作及び保管に関する指示を含み、貴社がユーザーに対して推奨する開閉保管条件における安定性(即ち耐用期間の設定)について記述するべきである。

## 品質管理

手順を段階的に示した概説には、各種品質管理手順及び必須材料並びに校正の詳細を含めなければならない。21 CFR 809.10(b)(8)(v) and 21 CFR 809.10(b)(8)(vi)。添付文書には品質管理に関する推奨事項を記載し、その内容として、試験において使用される管理及び当該管理材料に関する予測結果の明確な説明を含めるべきである。

## 使用上の注意、警告及び限界

当該手順の限界に関する記述が含まなければならない。21 CFR 809.10(b)(10)。試験に関する限界の全てを明確にラベリングに記載し、医師が試験を発注する前に認識する必要がある適切な限界及び警告事項を含めることを推奨する。

貴社試験に関連する全ての限界及び警告事項に加え、心臓同種移植片遺伝子発現プロファイリング試験システムは下記の限界を含むべきである。

- ・ 試験結果は診断に使用されるべきではなく、標準臨床評価と共に使用されるべきである。
- ・ 試験結果は、治療計画に対する反応の予測または最適な治療計画の選択において使用されるべきではない。
- ・ 試験結果は特定の治療計画を除外するために使用されるべきではない。
- ・ 結果は当該試験に使用される患者サンプルのプールに限定されることを説明する記述

## 性能特性

当該試験の明確な性能特性を記載しなければならない。21 CFR 809.10(b)(12)。添付文書には、ユーザーによる試験結果解釈の一助となる第 6 章に示されている調査のデザイン及び結果の概要を記載するべきであり、また当該箇所には臨床的(即ち医学的)及び分析的(即ち技術的)性能特性に関する記述を記載するべきである。臨床的性能特性に関する記述には、臨床調査検証概要を含めるべきである。分析的な性能特性に関する記述には、結果及び当該調査に使用された方法を記載するべきである。

## 結果の解釈

患者に固有の結果を伝えるために使用される「分類」「パターン」「スコア」または「インデックス」について明確な定義を定めるべきである。当該試験報告において示される性能測定基準(ACR の陰性予測値等)は、当該機器を臨床的に検証するために使用された臨床試験の結果に基づくべきである。

## 期待値

当該試験の期待値を記載し、その設定方法並びに、設定に用いられた母集団を示さなければならない。21 CFR 809.10(b)(11)。母集団に関する記述には、サンプル数、年齢、性別、人口統計学データ等の情報を含めるべきである。また結果の説明を記載するべきである(例: スコア「15」が意味するものは…)

## 2. 平成21年度開発ガイドラインワーキンググループ委員会の検討結果

### 21 はじめに

平成18年度本事業において、開発、審査両WGで遺伝子型判定用DNAチップについて開発ガイドラインあるいは評価指標をとりまとめた。当時審査WGでは、遺伝子発現解析用DNAチップについての討議は時期尚早であると考えていた。しかし、そのWGによる検討の終了直後に乳がん予後診断薬としてMammaPrintが発表され、日本は遺伝子発現解析用DNAチップで出遅れたかと思っただが、その後は遺伝子発現解析用DNAチップの承認事例としては同じ乳がん予後予測のための診断薬Oncotype Dxだけのようである。

この状況を振り返ると、開発の進展にも係わらず、診断に安定して使える遺伝子発現解析用DNAチップの製品化は予想以上に困難であるのではと推察される。プローブやプラットフォームの違いで測定結果が異なるなどが、診断を目的とする場合ヒトにとってリスクが大きいと考えられる。

審査では、DNAチップのプローブ配列、検出方法、解析のためのアルゴリズムなどブラックボックス的な部分が多く、発現解析用DNAチップを、直接審査できる項目が少ないとも考えられる。それを克服するためには、その不確定な要素を上回る要素、例えば結果の再現性がよい、あるいは診断の予測性が正確であるなどの明らかな科学的事例を示す必要がある。

開発で、ブラックボックスの部分を少なくするか、あるいは標準サンプル等を用いてブラックボックスを検証できる手段を考案する必要がある。ブラックボックスには、各企業で開発された特許相当のノウハウが詰められていると考えられるが、将来のDNAチップ診断分野の発展を考えると、それらノウハウについては積極的に特許取得あるいは逆に標準化の提言をするなど、公表することが有意義ではないかと考えられる。

### 22 遺伝子発現解析用DNAチップ

DNAチップは、特定の基板上にDNAの部分配列を高密度に配置、固定したものである。これによって多数の遺伝子の網羅的解析を可能にするものである。遺伝子発現解析用チップは特に遺伝子発現の網羅的解析を目的としたものであり、その解析対象は遺伝子型解析の際の対象であるDNAとは異なり、主にRNAとなる。そのためテーラーメイド医療用診断機器の中で、DNAチップによる発現解析は様々な点で遺伝子型解析とは異なる視点が必要となってくる。

解析対象がRNAであり、遺伝子型解析のDNAとは異なり不安定な物質であるので、その検体からの抽出方法、試料の質の問題、保存方法、定量性の担保等、解析にいたるまでの前処理に様々な問題点がある。この点については後に項目別に述べられる。

DNAチップは現状ではその測定解析装置と一体であり、全体として医療機器として取り扱われるべきであろう。

#### 検査目的

DNAチップによる検査、診断の応用としては、疾患の早期発見・早期診断、客観的疾患分類・確定診断、治療法選択のための指標、病状変化把握や治療効果モニターなどを目的としたものが考えられる。

RNAが解析対象であってもそこからゲノム情報も知ることができるため、遺伝子型解析と同様に個人情報保護に注意する必要がある。

## 検査対象

血液、生検組織、手術採取標品、病理検査用パラフィン包埋標品などが考えられる。特に生材料の採取にはその迅速性、適切な保存処理がその後の解析に決定的な影響を与えると考えられ、そのプロトコールの標準化が重要な問題である。

検体の採取には侵襲性を伴うため、その負担とリスクを軽減する工夫や事故の保障に配慮すべきである。

## 先行事例

すでに発現解析用DNAチップの臨床応用が始まっている例として、国外で開発された乳がんの治療選択に用いられるMammaPrintがあり、本邦でも保険外ではあるが一部医療機関で用いられつつあり、我が国でも早急な対応が必要である。ちなみに同様に乳がんの治療選択指標に用いられるRNAを対象とした複数遺伝子の発現解析診断キットとしてRT-PCR法を用いたOncotype DXが実用化され、こちらも保険外で我が国でも使用されている。

## 23 標準

### 標準物質について

課題: RNA標準物質の合成と測定法の確立

核酸特にRNAの標準物質について必要性は認められている。CRMGEN2005等がCertified Reference Materials for Molecular Genetic Testingに言及しその後UROGENTETが引き継いでいる。最近ではJCTLMが核酸標準物質候補の新規公募を開始し、1機関、1企業から4種類の提案があった(2009年2月)。しかし、提案されている物質は、プラスミドDNAであり、評価法も不十分なものである。今回は人工配列のRNAの標準物質化が望まれるが、核酸の計測方法は確立しておらず、まずは核酸の一次標準測定法の確立が必要。認証する項目の検討が必要である。

### バンクの必要性

課題: 海外の核酸標準物質の動向、国内で必要とされる核酸標準物質の候補

各チップで必要とされる一次標準RNAを選定する必要がある。この標準物質で検定された内部標準RNAが必要とされる。

### 標準物質の保管

課題: 安定性の評価法の確立

一般的にRNAの安定性への不安があり、RNA標準物質についての安定性の保証が必要。純度検定法、安定性、保存方法の確立が必須である。

一般には、不安定といわれているが、純度の高いRNAについては安定であるとの報告もあり、検定を行うに必要とされる純度が保証された期間の確保は必要である。

製造主体、製造年月日、保証期間、保存法等の明記が望ましい。

### 感度、正確性の検定法

課題: 検定のための標準物質の確保

一次標準物質が確保できれば、感度の検定、正確性の検定が可能となり、検出限界を判定することが望ましい。所定の精度で測定できるダイナミックレンジを明記することが望ましい。

#### 校正法

課題: チップにおける校正係数

校正法については、一次標準物質を基準として、二次、内部標準物質の定量比較をすることが可能となり、チップに対して校正法を適用し係数を推定することが望ましい。

#### 装置の検定法

課題: 装置の性能

装置の性能についての評価や確認の方法を検討する必要がある。

#### 品質管理

課題: 管理すべき項目(チップ)

保存方法、保存期間、安定性など、DNAチップの品質に関わる基本情報、DNAチップに固定するプローブの品質管理について検討すべきである。またDNAチップの品質管理に関連しGMP/QMS(ISO13485/JIS Q 13485)などの製造管理/品質管理体制に関しても検討することが望ましい。

課題: 管理すべき項目(検査装置)

装置の校正方法、校正頻度、校正に用いる標準物質、合格規格、交換部品等、検査装置の品質に関わる基本情報、検査装置の品質管理に関連したGMP/QMS(ISO13485/JIS Q 13485)などの製造管理/品質管理体制に関しても検討することが望ましい。

#### 24 測定装置

標準、測定装置(チップと装置)に関して

遺伝子発現解析用DNAチップ開発ガイドラインの検討にあたり、特に検査・診断用を想定した場合、データ解釈において測定不確かさを考慮する必要がある。そこで測定ばらつきの主要因を項目毎に整理・分析した結果、サンプル採取およびRNA調製に関する工程がDNAチップ(プラットフォーム)の種類に関係なく共通な課題であり、遺伝子発現解析において標準化すべき最重要課題と考えることができる。

なお、標準物質の開発および標準物質を用いた感度・正確性の検定法、校正法等に関してはバイオチップコンソーシアム(JMAC)が中心となって開発を進めており、2010年に公開される予定であることから標準物質に関する課題の整理・分析に関しては来年度以降に検討することとする(参考:平成20年度および平成21年度基準認証研究開発事業委託費「バイオチップの互換性及び評価方法に関する標準化」成果報告書)。

#### [サンプル採取]

- ・サンプリング方法(手技および保管までの条件)
- ・サンプル保存法(中長期)

#### 【RNA調製】

- ・RNA抽出における品質、及びその検証方法(全RNAを偏りなく抽出できているか)
- ・サンプルの保存方法・状態
- ・抽出試薬のキャリアオーバー
- ・試薬のロット間差
- ・抽出方法による収量の違い(供するターゲット量の違い)
- ・最初の試料の品質(生検試料、手術片など)
- ・対象臓器の採材部位、抽出法
- ・サンプル保存法(中長期)

#### 【RNA増幅】

- ・均一な標識化と標識効率、及びその評価方法
- ・使用器具
- ・スタートRNA濃度、純度の影響
- ・テンプレートの純度、精製具合
- ・過剰色素除去操作におけるRNA長、及び含量によるバイアス
- ・酵素試薬劣化

#### 【ハイブリダイゼーション・洗浄】

- ・ターゲット調製からハイブリするまでのサンプル保管条件
- ・手動による洗浄バラツキ
- ・ハイブリダイゼーション反応装置によるバラツキ
- ・ハイブリダイゼーション反応の確からしさ

#### 【読み取り装置】

- ・データ品質の判断基準
- ・機種間における感度・信頼性の違い



遺伝子発現解析用DNAチップを診断機器として開発(実用化)する際の課題

	項目	課題(今後明確化が必要と思われる点)
標準	標準検体(標準遺伝子)	物質の選定
		品質管理方法(バンクなど)
	外部標準	物質の選定(配列など)
		品質管理方法(作製、バリデーション、保管など)
測定装置(チップと装置)	前処理(サンプル調製)	検体の品質管理方法(採取、保管、輸送など)
		核酸抽出、増幅試薬(酵素、dNTP、プライマー)、検出試薬の品質管理方法
		抽出工程のバリデーション方法(コントロールなど)
		抽出したRNAの品質管理方法(保管、検査方法など)
		増幅工程のバリデーション方法(コントロールなど)
		増幅産物の品質管理方法(保管、検査方法など)
	チップ	品質管理方法(製造時の検査、保管、輸送など)
		検査工程のバリデーション方法(コントロールなど)
		DNAチップの保存安定性評価のための加速試験方法(保存)
	装置	装置の再現性、信頼性を評価する方法(標準チップなど)
		装置の正常性を評価する方法(標準チップなど)
		装置を較正する方法(標準チップなど)
	ソフトウェア	データ処理方法の妥当性の検証方法
	評価方法	ソフトウェア
臨床意義		臨床意義の証明に必要なサンプル数、集団(施設)数
		臨床意義の数値化方法(+ / -、%など)
その他	薬事申請(DNAチップ、クラスⅢ)	申請に必要なデータ(精度、感度、安定性など)
		臨床性能試験方法(サンプル数、実施施設数など)
		臨床性能試験での比較対照法(RT-PCRなど)
		リスク分析範囲
	薬事申請(装置、クラスⅠ)	医療(診断)機器として必要な要件(範囲、仕様など)
		専用装置 / 汎用装置での対応

## 25 評価法

### In Vitro Diagnostic Multivariate Index Assays (IVDMIAs)用機器としての評価

- ・ガイドライン開発の対象となる遺伝子発現解析用DNAチップの用途はIVDMIAsを用いると想定される。
- ・IVDMIAsのために満たすべき要件を本ガイドラインに含めるか否かの結論は得られていない。(第1回委員会では議論されていない。)
- ・IVDMIAs用機器はDNAチップには限らないので、ガイドラインは別途定めるべきであると考える。

### 本開発ガイドラインを現時点で策定する必要性

- ・承認申請が間近と思われる製品がまだない現状において開発ガイドラインを策定する必要性の有無について議論された。
- ・数年の内に製品開発が見込まれること、開発ガイドラインの存在は開発者にとって製品化の目途をつけることを容易にすることなどから、現時点において策定すべきとの結論となった。

### 評価項目について

評価項目としては以下のものが考えられる。

- 1) 前処理に関する因子の影響
  - 検体採取
    - ・採取、輸送、保存に関する事項
  - RNA抽出
    - ・再現性、精度、安定性に関する事項
  - ・試薬
- 2) 機器の分析性能
  - ・検体に関する要求事項の影響
  - ・分析の感度、特異性/干渉
  - ・カットオフに関する事項
  - ・精度、再現性、頑強性
  - ・安定性
- 3) 性能評価を行うための標準品、対照試料
- 4) 臨床評価については本ガイドラインに含めるか、検討が必要である。

### 3. DNAチップに関する実証試験:オリゴDNAチップを用いたエストロゲン活性データの解析

#### 3.1 実験目的

遺伝子発現解析用DNAチップで得られる遺伝子発現情報は、遺伝子ごとにその発現量が異なることから、DNAチップによって得られるデータの信頼性は遺伝子により異なると考えられる。本試験では、DNAチップデータの信頼性を検証するために、DNAチップを用いて得たデータの再現性をもとに遺伝子にランクを付けて、ランク順に選んだ遺伝子の数と得られるデータの信頼性を検討し、実際に研究に使われるDNAチップを用いてデータの信頼性を検証したい。

本試験では、203個のエストロゲン活性評価用遺伝子を用いて検証を行った。この遺伝子セットは、エストロゲン類、フェノール誘導体、フタル酸エステル、パラベンや天然物由来の疎抽出物や有効成分などの解析、さらにはラット脳の遺伝子解析に用いられており、cDNAチップとして十分な検証を行ったものである(文献1-9)。本試験では、この203個の遺伝子を搭載したオリゴDNAチップを作成してアッセイを行った。オリゴDNAチップはcDNAチップと比べて作成が簡単で、品質管理が容易という利点がある。しかし、一方で、cDNAチップが1キログラム以上の遺伝子領域を検出するのに対して、20~100塩基対程度(本研究では約65塩基対)の長さのオリゴヌクレオチドを用いることから、バックグラウンドが高くなるのではないかと問題点がある(文献10)。特に、遺伝子の数が少ない、いわゆるフォーカスアレイの場合、遺伝子の数と信頼性との関係は重要であると考えられる。すなわち、用いる遺伝子の中には、遺伝子発現量が少ないなどの理由から再現性が低い遺伝子が存在するため、エストロゲンの活性を評価するとき、データの信頼性に問題が出てくる可能性が考えられる。そのため、DNAチップアッセイの間で遺伝子発現の変動を分析することで、変動の少ない遺伝子群を選ぶことが必要である。これらの遺伝子群を用いて、化学物質のエストロゲン活性を評価することで、より信頼性の高い結果が得られることが期待できる。

一方で、遺伝子の数を限定することは化学物質の評価の自由度を限定する可能性があることから、できるだけ多くの遺伝子の情報を利用することが必要である。したがって、本試験では、遺伝子の数を限定することで得られるデータの信頼性を変動係数(CV値)によって評価し、またデータの有用性(化学物質の評価)をアッセイ間のデータの相関性によって評価することで、最も有用な遺伝子のセットを選択することが可能かについて検証したい。

#### 3.2 実験方法

##### 方法1:トータルRNAの抽出

活性炭で処理した培地で三日間培養したヒト乳癌細胞 MCF-7 にエストロゲン (17 $\beta$ -estradiol, E2) 10 nM を加えて、さらに三日間培養した後、細胞を回収し、QIAGEN の RNeasy Plus Mini キットを使用して、細胞からトータルRNAを抽出した。DMSO で処理した細胞がコントロールとして用いた。

##### 方法2:mRNAの増幅

ジーンアレイのハイブリダイゼーションには多量のRNAが必要となることである。そこで、ナノグラム単位の微量なトータルRNA抽出サンプルからマイクログラム単位(DNAチップを用いた発現解析に必要な量)のアンチセンスRNA(aRNA)を増幅する必要がある。

方法1で抽出したトータルRNAを用い、インビトロジェン社 SuperScript RNA Amplification System を使用して、mRNAの増幅を行った。

### 方法3：cDNAの合成および蛍光標識

方法2で増幅したRNAを用いて、インビトロジェン社 SuperScript Indirect cDNA Labeling System を使用して、cDNAを合成し、さらに、Cy3 でcDNAを標識した。標識されたcDNAを精製した後、12mlのTEバッファーに溶解した。

### 方法4：DNAチップアッセイ及びデータ分析

上記の方法3の標識法で調製した標識cDNAをDNAチップに載せて、65℃で一晩ハイブリダイゼーションさせた後、蛍光スキャナーFLA-8000(FujiFilm)を用いて各スポットの蛍光強度を測定した。

測定されたデータはマイクロソフトエクセルを用いて分析した。まず、各スポットについてE2処理したときの蛍光強度と処理しないときの蛍光強度の比を求め、この比率を28個のコントロール遺伝子の値で補正して、log<sub>2</sub>値に変換した。このようなDNAチップアッセイを6回分(E2-とE2+の2つの比を1回分とする)繰り返した。そして、データの再現性と信頼性を6回間の相関係数と変動係数で評価した。変動係数は標準偏差を平均値で割ったもので、数値間の相対的なばらつきを表す。6回分の変動係数を計算して、変動係数の小さい順から遺伝子を選び、遺伝子セットの間の相関係数を計算した。

## 3.3 実験結果

今回の検討で6回分のDNAチップアッセイの結果に基づいて、変動係数の低い順番から選ばれた遺伝子を用いて、1回のアッセイの結果(E2+とE2-の比)とそのほかの5つのアッセイの結果の間の相関係数を比較した(図1)。その結果、すべての203個の遺伝子を用いたとき、相関係数が0.89~0.94であった(図1、線グラフ)。一方、変動係数の小さい順から選ばれた90個の遺伝子セットの変動係数の平均値は0.1になり(図1、棒グラフ)、相関係数が0.92~0.97になった。そして、変動係数の低い順から上位150個の遺伝子セットで分析したときは、203個あるいは172個の遺伝子セットを使用するときと比べて、すべてのデータの間の相関係数値が明確に改善された。



図1．オリゴDNAチップアッセイの再現性および安定性についてのデータ分析。

オリゴDNAチップ上、エストロゲンに反応する遺伝子の中に変動係数が大きい遺伝子が存在するため、相関係数に影響がでると考えられる。遺伝子全部(203個)の中からレファレンス遺伝子を除いた172個の中から、さらに変動係数の高い順から遺伝子を除いて、遺伝子の数を150、120、あるいは、90個にしたときの相関係数とそれぞれの場合の相関係数の変化を観察した。R1、R2、R3、R4、R5はそれぞれ1セット目のデータの間との相関係値を示す。(変動係数：標準偏差を平均値で割った値。各回実験の間で、シグナルの変動を評価する指標。)

### 34 考察

今回得られた結果から、90個の遺伝子群を使用した場合、相関値は高くなったが、一方で遺伝子の数を減らすことによって実際に化学物質の反応を分析するときに化学物質間の反応の差異が見られにくくなる可能性がある。しかし、150個と90個の遺伝子セットを用いた場合、ほぼ同様な相関係数値が得られたことから、この150個の遺伝子セットを用いてDNAチップアッセイを行うことで、より変動の少ない、信頼性の高い結果が得られると考えられる。

### 35 参考文献

1. Inoue, A, Yoshida, N, Omoto, Y, Oguchi, S, Yamori, T, Kiyama, R and Hayashi, S. (2002) Development of cDNA microarray for expression profiling of estrogen-responsive genes. *J. Mol. Endocrinol.* 29, 175-192.
2. Terasaka, S, Aita, Y, Inoue, A, Hayashi, S, Nishigaki, M, Aoyagi K, Sasaki, H, Wada-Kiyama, Y, Sakuma, Y, Akaba, S, Tanaka, J, Sone, H, Yonemoto, J, Tanji, M and Kiyama, R. (2004) Expression profiling of the estrogen responsive genes for evaluation of estrogen activity among natural estrogens and industrial chemicals using a customized DNA microarray. *Environ. Health Persp.* 112, 773-781.
3. Ise, R, Han, D, Takahashi, Y, Terasaka, S, Inoue, A, Tanji, M and Kiyama, R. (2005) Expression Profiling of the Estrogen Responsive Genes in Response to Phytoestrogens Using a Customized DNA Microarray. *FEBS Lett.* 579, 1732-1740.
4. Terasaka, S, Inoue, A, Tanji, M and Kiyama, R. (2006) Expression profiling of estrogen-responsive genes in breast cancer cells treated with alkylphenols, chlorinated phenols, parabens, or bis- and benzoylphenols for evaluation of estrogenic activity. *Toxicol. Lett.* 163, 130-141.
5. Dong, S, Inoue, A, Zhu, Y, Tanji, M and Kiyama, R. (2007) Activation of rapid signaling pathways and the subsequent transcriptional regulation for the proliferation of breast cancer MCF-7 cells by the treatment with an extract of glycyrrhiza glabra root. *Food Chem. Toxicol.* 45, 2470-2478.
6. Parveen M, Inoue A, Ise R, Tanji, M and Kiyama, R. (2008) Evaluation of estrogenic activity of phthalate esters by gene expression profiling using a focused microarray (EstrArray). *Environ. Toxicol. Chem.* 27, 1416-1425.
7. Parveen, M, Zhu Y and Kiyama, R. (2009) Expression profiling of the genes responding to zearalenone and its analogues using estrogen-responsive genes. *FEBS Letters* 583, 2377-2384.
8. Dong, S and Kiyama, R. (2009) Characterization of estrogenic activity of ginsenosides in MCF-7 cells using a customized DNA microarray. *Food Chem.* 113, 672-678.
9. Xu, Q, Hamada, T, Kiyama, R, Sakuma, Y and Wada-Kiyama, Y. (2008) Site-specific regulation of gene expression by estrogen in the hypothalamus of adult female rats. *Neurosci. Letts.* 436, 35-39.
10. Inoue, A, Tanji, M and Kiyama, R. (2006) Focused Microarray Analysis: Characterization of Phenomes by Gene Expression Profiling. *Current Pharmacogenomics* 4, 245-260.

#### 4.まとめと今後の課題

本年度、本事業では合計1回の開発ワーキンググループ委員会を開催し、バイオチップコンソーシアム(JMAC)の中江氏による国内外の開発動向に関する話題提供(「125 遺伝子発現解析用DNAチップに関する最新動向」項参照)と診断用DNAチップの標準化について意見交換を行うとともに、化学技術戦略推進機構(JCII)と日本臨床検査標準協議会(JCCLS)が進めている遺伝子診断のための検体管理の標準化動向の紹介(「125 遺伝子発現解析用DNAチップに関する最新動向」参照)を行ない、遺伝子発現解析用DNAチップに関して最新の情報を得た。さらに、これらの情報をもとに、ワーキンググループ委員会でガイドラインに関する討議項目として、全体のまとめ方、標準・装置・評価法に関する注意点や問題点の洗い出しを行った。討議結果は「2.平成21年度開発ガイドラインワーキンググループ委員会の検討結果」にまとめた。

本開発ガイドラインワーキンググループ委員会では、ガイドラインとして検討する項目を、「標準」、「測定装置」、及び「評価法」の3つに分けて検討した。この分類は、前回検討した遺伝子型判定用DNAチップに関するガイドラインで検討した項目に準拠している。

一方で、委員の意見として、次の点が指摘されている。

- (1)遺伝子発現解析用DNAチップについての討議は時期尚早ではない。
- (2)プローブ配列、検出方法、解析のためのアルゴリズムなどブラックボックス的な部分が多く標準化が必要である。
- (3)遺伝子型判定用DNAチップの情報は役に立つが、独自の問題点もある。

したがって、遺伝子型判定用DNAチップに関するガイドラインを基礎として遺伝子発現解析用DNAチップ開発ガイドラインの項目を検討することは最も妥当であると考えられる。

さらに、「評価法」の検討課題として、遺伝子発現解析用DNAチップをIVDMIA用機器としての評価することが求められており、今後、DNAチップ以外の遺伝子情報利用技術への波及効果も期待できる。この点も含めて、FDAのガイダンスなどを参考に議論を進めてゆき、企業にとって役に立つガイドラインの策定を進めたい。

## 參考資料

1.平成21年度 第1回テーラーメイド医療用診断機器分野・遺伝子発現解析用DNAチップ開発ワーキンググループ委員会議事録

1.開催日時 平成22年2月17日(水) 15:00~17:00

2.開催場所 オフィス東京 5階C会議室

3.議事次第

(1)開会の挨拶と資料の確認

(2)委員の紹介と座長の選任

(3)ガイドライン事業の説明

(4)DNAチップガイドライン事業の説明

(5)話題提供

「バイオチップの開発動向」

特定非営利活動法人バイオチップコンソーシアム事務局長 中江裕樹氏

提供を受けた情報は、「125 遺伝子発現解析用DNAチップに関する最新動向」項にまとめた。

(6)遺伝子発現解析用DNAチップ開発ガイドラインに関する討議

討議項目

・ガイドラインの目的と範囲

・ガイドラインの項目に関する討議

・ガイドライン作成のスケジュール

・本年度報告書の分担執筆について

討議結果は「2.平成21年度開発ガイドラインワーキンググループ委員会の検討結果」項にまとめた。

(7)今後の予定



## 2. 配布資料一覧

### 資料1: ガイドライン事業に関する資料

- 1-1: 医療機器開発ガイドライン策定事業(本問説明資料)
- 1-2: 遺伝子発現解析用DNAチップ開発ガイドラインについて(木山説明資料)
- 1-3: テーラーメイド医療用診断機器(DNAチップ)開発ガイドライン2007-遺伝子型(ジェノタイピング)検定用DNAチップに関して-(平成19年5月、経済産業省)

### 資料2: 話題提供資料

- 「バイオチップの開発動向」(バイオチップコンソーシアム中江裕樹氏説明資料)

### 資料3: DNAチップ開発ガイドライン検討資料

- 3-1: 「体外診断用複数指標測定法: ガイダンス草案: 2007年7月26日」(翻訳版)
- 3-2: "体外 Diagnostic Multivariate Index Assays" (July 26, 2007)
- 3-3: 「クラス 特別管理ガイダンス文書: RNAプレアナリティカルシステム(分子診断検査に使用する RT-PCR 用 RNA採取・安定化・精製システム): 2005年8月25日」(翻訳版)
- 3-4: "Class II Special Controls Guidance Document: RNA Preanalytical Systems (RNA Collection, Stabilization and Purification Systems for RT-PCR used in Molecular Diagnostic Testing)" (August 25, 2005)
- 3-5: 「クラス 特別管理ガイダンス文書: 心臓同種移植片遺伝子発現プロファイリング試験システム: 2009年10月21日」(翻訳版)
- 3-6: "Class II Special Controls Guidance Document: Cardiac Allograft Gene Expression Profiling Test Systems" (October 21, 2009)
- 3-7: "Guidance for Industry and FDA Staff - Class II Special Controls Guidance Document: Gene Expression Profiling Test System for Breast Cancer Prognosis" (May 9, 2007)

### 資料4: 関連補足資料

- 4-1: ガイドライン検討項目(H19 林委員作成)
- 4-2: DNAチップ開発における課題(H19 佐藤委員作成)
- 4-3: 「体外診断用医薬品の承認基準の制定について」(薬食発第0622006号:平成17年6月22日)(別表は除いた)
- 4-4: 「DNAチップを用いた遺伝子型判定用診断薬に関する評価指標」(薬食発第0404002号:平成20年4月4日)
- 4-5: DNAチップ開発WG委員会 過去の配付資料一覧

3. 「テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）開発ガイドライン2007・遺伝子型（ジェノタイピング）検定用DNAチップに関して」

テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）

開発ガイドライン 2007

ー遺伝子型（ジェノタイピング）検定用 DNA チップに関してー

平成19年5月

経済産業省

## 目 次

1. 概要
  - 1.1 遺伝子型検定用 DNA チップとは
  - 1.2 本ガイドラインの目的と範囲
  - 1.3 検査対象と想定されるリスク
2. 測定装置(チップと装置)
  - 2.1 国内外の開発と普及の現状
  - 2.2 原理と構造
  - 2.3 方法
  - 2.4 特異性、感度、ダイナミックレンジ、再現性
  - 2.5 必要とするサンプル・検体、その前処理・保存等、試薬について
  - 2.6 ソフトウェア
  - 2.7 データ処理
  - 2.8 品質管理
3. 評価法
  - 3.1 評価項目
  - 3.2 塩基配列決定法との比較
  - 3.3 データ解析、解析ソフトについて
  - 3.4 有意性の検定
  - 3.5 比較試験・臨床評価試験
  - 3.6 臨床的実効性
  - 3.7 データの管理について
  - 3.8 安全性について
  - 3.9 その他
4. 標準物質
  - 4.1 目的
  - 4.2 外部参照物質に求められる要件
5. 参考文献
6. テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）開発WG委員名簿

## 1. 概要

### 1.1 遺伝子型検定用 DNA チップとは

DNA マイクロアレイチップとは、基板上に多数の DNA の部分配列を高密度に配置、固定したものである。これによってゲノムレベルの網羅的解析や特定のグループに属する多数の遺伝子を一度に解析することが可能となる。遺伝子型検定用 DNA チップとは、その中でも特にゲノム DNA を検討対象として遺伝子の多型や変異などを解析するものをいう。具体的には、各種素材の基板上に、ゲノム DNA 配列をコードする 20 塩基前後から 50～60 塩基ぐらいの短いオリゴプローブを重合、もしくは貼り付けたもの等がある。これらを微小なビーズ上に固定したものなどもあり得る。これらのプローブと検体標品とのハイブリダイゼーションあるいはさらに伸長反応させた結果をレーザー光や電気化学的手法などによって検出する。

### 1.2 本ガイドラインの目的と範囲

近年、技術的進歩の著しい、DNA マイクロアレイチップ及びその装置は、あらゆる疾患の検査や診断用、あるいは治療法開発用の次世代医療機器として大きく期待されている。一方現在、本法は研究用として急速に普及しつつあるものの、そのデータの信頼性、再現性、標準化など、臨床応用にはまだ問題が多い。そこで医療機器としての DNA チップの開発意欲の向上、機器開発の促進・活性化を目的として、その指標となるようにガイドラインを策定する。

また、DNA チップは最終的な診断装置（臨床試験のエビデンスも踏まえたもの）としてのガイドラインは早計と認識し、臨床検査装置としてガイドラインの策定を行う。

臨床検査や診断目的で遺伝子型判定 DNA マイクロアレイを用いるにはデータの再現性や高い精度が重要であり、判定ミスや曖昧さを極力排除しなければならない。また、臨床使用上の視点、患者の負担やリスクの軽減なども十分考慮しなければならない。高性能な測定装置の開発だけでなく、データの互換性や分解能、精度の向上のためには標準化が不可欠と考えられ、また評価方法についても指針が必要と思われる。そこで、本ガイドラインは、測定装置、評価法、標準化と大きく3つの項目に分けて策定した。

### 1.3 検査対象と想定されるリスク

検査対象は、遺伝子型検査を希望する一般健常人及び患者であり、疾患の罹患リスクの判定、疾患の診断、治療法の選択等の参考になるデータを供給するものである。

正しい遺伝子型検査が行われなければ、個々人に応じた的確な診断、治療が行われず可能性が高まり、誤診断や再発、副作用の増大等に繋がる。一方、遺伝子型検査のみに判断を頼るのは危険であり、他の既存の各種臨床検査結果と医師による観察、診察の情報とを併せて判断すべきである。現時点ではあくまで意思決定のための参考であり、補完資料と捉えるべきである。また、遺伝子型検査結果は重要な個人情報であり、その取り扱いには十分な注意を要する。

## 2. 測定装置(チップと装置)

### 2.1 国内外の開発と普及の現状

DNA チップでは、DNA の検出に、蛍光方式、電気化学検出方式、質量分析方式、表面プラズモン共鳴方式など様々な方式が用いられている。普及という意味で先行しているのは、蛍光検出方式である。Affymetrix 社や Agilent 社の DNA チップが、アメリカのみならず日本でも市場シェアの多くを占めている。蛍光方式の DNA チップは、従来主に研究用途で用いられてきたが、代謝酵素 (CYP2C19、2D6) の SNPs を判定する DNA チップが FDA で承認され、本格的に診断で用いられる可能性が高まりつつある。国内の DNA チップメーカーも、種々の方式のチップを開発し、様々な用途への展開を目指しているのが現状である。

### 2.2 原理と構造

#### (1) DNA の検出原理

DNA の検出方式、装置で検出する蛍光信号や電気化学信号などの出力信号を生み出す機構について技術的に検討する。

#### (2) チップと装置の構造

DNA チップについては、基板や DNA プローブなどチップを構成する主要素の仕様や形状・サイズなどについても検討する。

装置に関しては、装置本体の構成、装置を構成する各構成要素の仕様、機能の概略などについて検討する。

### 2.3 方法

#### (1) 検出の概要

プロトコール、即ち検体サンプルの準備から、検出・判定に至る全工程の流れ、特に、チップ・装置に導入する前の工程である、DNA 抽出、DNA 増幅、サンプル DNA のチップ・装置へのセッティング、装置での処理手順、信号から型判定を導く工程について技術的に検討することが必要である。装置での処理は、マニュアル操作と自動操作の区別も明記し、操作におけるリスクについても検討することが望ましい。

#### (2) 装置の機能

検出特性に影響を与える可能性の高い、温度制御機構、試薬送液機構、測定系、機械動作機構などは、各機構の動作、性能、役割を技術的に評価することが望まれる。

### 2.4 特異性、感度、ダイナミックレンジ、再現性

#### (1) 特異性

他の手法の解析により配列が既知の試料を用い、型判定を実施し一致率を表記する。検査するサンプルは、可能な限り、対象となる全ての対立遺伝子を含むこと。稀な遺伝子型のサンプルを取得できない場合は、ゲノム DNA の混合物、またクローン混合物を使用しても良いが、これらのサンプルの組成は、可能な限り実際の臨床サンプルのタンパク質及び DNA の質や量と類似となるよう設定

すべきである。また、交差反応を示す相同遺伝子配列に対する解析特異性に関しては、評価結果から遺伝子型判定に関する安定性について検討することが望ましい。

なお、対照となる実験として、「3. 評価法」に詳しく述べられているように、双方向の DNA シーケンシングの結果を利用することが望ましい。不一致があった場合、その結果を説明することが望ましい。なお対照実験は双方向の DNA シーケンシングに限定するものではなく、各変異に対して論文等で一般的に知られている適切な方法でもよい。

#### (2) 感度・ダイナミックレンジ

様々な濃度のゲノム DNA について試験を行い、検出限界濃度を判定することが望ましい。遺伝子型判定が所定の精度で行われるような、ゲノム DNA の濃度は明記することが望ましい。またこのゲノム DNA を確保するために必要な臨床サンプルの量を概算すべきである。

#### (3) 再現性

DNA チップ、及びその検査システムの再現性は十分に検証すべきである。再現性試験は、以下のような項目について行うことが望ましい。

- ・アッセイ内、アッセイ間、双方の再現性について検証すること
- ・適切なサンプルを使用し、複数の濃度のサンプルを使用すること
- ・検査するサンプルを用いて、有意義な再現性を統計学的に判断できるよう検査を実施すべき
- ・複数の作業員で、3 箇所以上の施設で実施されること。
- ・再現性試験で使用される手順が、添付文書に記載される予定の手順と同様であること
- ・複数の製品ロット、複数の器具を使用すること

#### (4) 検査の品質管理

適切な陽性コントロール、陰性コントロールを設け、各種コントロールの意義、それらの結果がもたらす管理項目について技術的に検討すべきである。また、検査機器の設定条件に対するモニタリング方法及びフィードバック方法を検討し、所定の条件で検査が実施されていることをどのように管理されているか説明するべきである。各コントロール、モニタリング、フィードバックにより得られる情報から、異常データとその管理方法を想定することが望まれる。

#### (5) その他、性能特性に影響する要因

DNA チップを含む検査機器に対する交差汚染には、別検体の混入・増幅産物の混入の二者があり得るが、それぞれの予防に対してとるべき操作環境・設備・手順について技術的に検討し、また、交差汚染を評価するための試験を実施しその結果を残すことが望ましい。

サンプルに含まれる潜在的な干渉物質は、必ずしもサンプル調製によって除去できるとは限らず、またサンプル調製、または DNA チップでの検出に干渉する場合もある。したがって干渉物質がアッセイの性能に及ぼす影響について特性評価をすることが望ましい。

検査中の各種条件について、その設定根拠、特に型判定に対する安定性について検討すべきである。

## 2.5 必要とするサンプル・検体、その前処理・保存等、試薬について

### (1) 検体・サンプル

DNA を得る検体の種類（例えば血液、口腔粘膜）及びその採取方法、採取量について検討すること。

### (2) サンプルの前処理

検体から DNA を抽出・精製する方法について検討すること。サンプル DNA をなんらかの増幅法で増幅した上で用いる場合には、その増幅法と使用する試薬について検討すること。増幅した DNA をさらに後処理（例えば一本鎖化や断片化）した上で、後段の反応に使用する場合には、その後処理法と使用する試薬について検討すること。

### (3) サンプルの保存法

検体、精製 DNA、増幅 DNA、後処理後 DNA、といったすべての段階のサンプルについて、保管法及び輸送法を検討すること。すなわち、保管・輸送に適した温度と性能を維持できる期間について検討する必要がある。

### (4) 試薬

DNA の抽出・検査など各工程で使用される試薬について、その種類・濃度などに関して検討することが望ましい。試薬を DNA チップと共に提供する場合、再現性、精度等に対する試薬の影響について、プロセスの各段階で検証した結果を残すことが望ましい。試薬を DNA チップと共に提供しない場合には、DNA チップ使用者が適切な試薬を選択できるよう、必要な試薬の仕様及び検査用 DNA の質を評価するための方法・仕様を技術的に検討する。

### (5) 試薬の保存性・安全性

各工程の反応に使用される試薬の保管法・輸送法についても検討する必要がある。また各工程で使用される試薬の安全性、及び安全な取り扱いに必要な注意事項を検討することが望まれる。

## 2.6 ソフトウェア

### (1) 装置を構成するソフトウェアの概要

装置のソフトウェア構成、その機能、関係性について技術的に検討する。その際、ユーザが直接操作する部分、機器を制御する部分、データの解析を行う部分、データの管理を行う部分等について、分けて記述すると分かりやすい。また、更には、ユーザが操作ミスをした場合の動作、機器に異常が発生した場合の動作、停電発生時・停電復帰時の動作等、正規の操作・動作以外の状況発生時の対応についても検討すべきである。

### (2) ゲノム型判定アルゴリズムの原理と概要

ゲノム型判定アルゴリズムについて検討すること。その際、ゲノム型判定を行うに当たって設定している DNA プローブの種類、各プローブに割り当てているデータ数、型判定に用いる測定データの定義、各プローブの測定データから型判定を行うアルゴリズム、判定に必要な基準値の定義とその設定における統計学的根拠、最終的な判定結果とその信頼度を検討することが望ましい。

## 2.7 データ処理

本装置を用いて取得したデータは、トレーサビリティの観点から、検査日時、検体 ID、DNA チップ及び試薬ロット、検査プロトコル、測定装置の対応が付けられるよう、データ管理されている

ことが好ましい。

## 2.8 品質管理

### (1) DNA チップ

保存方法、保存期間、安定性など、DNA チップの品質に関わる基本情報、チップに固定する DNA プローブの品質管理について検討すべきである。また、DNA チップの品質管理に関連し、GMP/QMS (ISO13485) などの製造管理/品質管理体制に関しても検討ことが望ましい。

### (2) 検査装置

装置の校正方法、校正（検査）頻度、校正に用いる標準物質、合格規格、交換部品など、検査装置の品質に関わる基本情報、検査装置の品質管理に関連した GMP/QMS (ISO13485) などの製造管理/品質管理体制に関して、検討することが望ましい。

## 3. 評価法

### 3.1 評価項目

当該 DNA チップの評価法としては、以下の項目を含むべきであると考ええる。

- ①塩基配列決定法との比較
- ②データ解析、解析ソフトについて
- ③有意性の検定
- ④比較試験・臨床評価試験
- ⑤臨床的実効性
- ⑥データの管理について
- ⑦安全性について

### 3.2 塩基配列決定法との比較

・比較に用いた手法とその試験結果について検討することが望ましい。

塩基配列決定法との比較については、原則として目的遺伝子を PCR 法により増幅し、PCR 増幅産物から直接サイクルシーケンス法により塩基配列を決定する方法（ダイレクトシーケンス）により行う。

その他の方法として TaqMan 法 (ABI)、Invader 法 (Third Wave)、SnaPshot 法 (ABI)、MassARRAY 法 (Sequenom)、Pyrosequencing 法 (Biotage) 等を用いることができる。

- ・両者の一致率を遺伝子型毎に検討することが望ましい。
- ・比較に用いた試料に関して、以下の記録を残すことが望ましい。  
試料の種類、試料の調整あるいは起源、試料数、試料の目的（特異性など）

### 3.3 データ解析、解析ソフトについて

- ・データの解析法、解析評価に用いたソフトウェア、及び統計分析に関して検討することが望ましい。



データ処理、解析ソフトについては、詳細を記したソフトウェア説明書を作成する。

- ・失敗事例（遺伝子型の判定不能、器具の故障、試薬の不具合などによるもの）に関しても分析することが望ましい。
- ・一致率の基準としては、他の診断薬での正答率を一応の目安とする。

### 3.4 有意性の検定

- ・分析内及び分析間の再現性を特徴付けられるような試験を設計し、その結果を検討することが望ましい。その際に、以下の点に留意することが望ましい。
  - 実用での濃度に近い、複数の DNA 濃度における適切な試料（注1）を使用すること。  
（注1：アレル頻度が非常に小さく、対照試料として必要な量の確保が困難な場合は、の「5）比較試験・臨床評価試験」と同様に、合成試料を用いた検定試験を行っても良い。）
  - 検査現場で実際に用いられる試料（全血、口腔内採取等）から処理すること。
  - 複数の操作者いる、3箇所以上の現場を含むこと。
  - その他、一般的な臨床生化学検査での再現性試験に準じること。
  - 測定サンプル組成及び DNA 濃度に近い陽性対照及び陰性対照を用いて調べること。

### 3.5 比較試験・臨床評価試験

本項目については平成 18 年度「DNA チップを用いた遺伝子型判定装置に関する評価指標」を参照のこと（参考文献7）。

### 3.6 臨床的実効性

本項目については平成 18 年度「DNA チップを用いた遺伝子型判定装置に関する評価指標」を参照のこと（参考文献7）。

### 3.7 データの管理について

- ・測定の生データは、基本的にはイメージファイルで保存する。また、データベースとしては、リレーショナルデータベースを導入する。なお、信号の検出・分析、データ保存については、プライバシーとセキュリティを十分に確保する。

### 3.8 安全性について

- ・遺伝子型の同定に失敗した場合、あるいは遺伝子型同定結果の解釈に失敗した場合のリスクを評価し、その際に用いたリスク分析手法についても検討すべきである。
- ・この種の検査によってもたらされる情報は、医師による日常的な監視と併せて、診療上の意思決定を補完する目的においてのみ利用されるべきである。
- ・検体からの感染などの危険性に対する対策を講じる。
- ・検体からのコンタミネーションを回避するための対策を講じる。

### 3.9 その他

- ・本機器は使用目的が限定されている一方、臨床試験等での早期の利用が要望されていることな

どを鑑み、承認審査にあたっては、薬剤におけるオーファン・ドラッグの取扱いのように、優先的な取扱いが望まれる。

#### 4. 標準物質

##### 4.1 目的

遺伝子型決定用DNAアレイ開発の各フェーズに応じて外部参照物質に求められる要件を示し、該開発品を用いたSNP解析データの信頼性を向上させることを目的とする。

##### 4.2 外部参照物質に求められる要件

DNAアレイ開発に用いられる外部参照物質には、特性の異なる様々なアレイ技術の精密性評価・正確性評価・結果表示のためのアルゴリズム検討や（一次標準品）、該開発品製造時のトレーサビリティの確認やルーチン検査における精度管理（二次標準物質）にも適用可能な性能が求められる。従って外部参照物質の選定に当たっては以下の方法論的課題を考慮すべきである。

###### 4.2.1 外部参照物質の選定

###### (1) 一次標準品の選定

該開発品が検出対象とするSNPの両アレルのホモ型・ヘテロ型を網羅するサンプルによる評価が求められるため、一次標準品には対象SNPを含む複数のヒトゲノムサンプルを使用することを推奨する。但し、出現頻度が稀なアレルのホモ型については必ずしも準備しなくてもよい。

###### (2) 次標準物質の選定

解析対象のSNPを検出できることが一次標準品を用いた開発の過程で確かめられている該開発品を市販のために製造する場合、トレーサビリティを確認するために二次標準物質を使用する。二次標準物質には対象遺伝子のうち、ヒト染色体遺伝子よりも安定性に優れ、増産が可能であるプラスミドDNAや増幅産物が適用され、該開発品の性能評価が可能な部分の遺伝子配列が含まれていれば良い。全配列長などの仕様は被評価対象開発品の特性に合わせて開発者により決定されて差し支えないが、統一された測定条件（細胞溶解用緩衝液、プロテアーゼ、制限酵素など、抽出試薬に関する品質管理方法及びDNAの標準処理手順マニュアル）が設定されるべきである。

###### 4.2.2 外部参照物質の管理

###### (1) 品質管理

一次標準品は選定時にDNAシーケンシングなどの方法により配列を確認する。一次標準品を細胞培養などにより複製する場合は、複製ロット毎に遺伝子配列の確認を行うことにより同一性を担保する。二次標準物質は大腸菌や遺伝子増幅法による複製を経て使用されるが、複製を行う場合には適切な頻度で遺伝子配列が確認されなければならない。

###### (2) 純度

DNAの合成については、ホスホロアミダイト法などの一般的な方法を行い、目的とした遺伝子配列が合成されていることを質量分析(TOF-MS)やHPLC、電気泳動法により確認する。

### (3) 濃度単位

外部参照物質を感度試験に用いる場合には、核酸定量法により求められた既知濃度（理論値）の標準物質を用いて希釈検体を作製し、検出感度の検定を行う。尚、核酸定量は吸光度法（OD260）により実施する。

#### 4.2.3 外部参照物質の入手

CDC の Genetic Testing Reference Material Coordination Program において reference material として確立された細胞株を、国内公的機関、例えば産業総合研究所が Coriell 医学研究所を通じて入手し、保存及び管理を行い、該開発品の機能評価を受託業務として実施する。尚、ヒトゲノムサンプルの保存中又は培養による後天的変異を監視するための定期的な検査も管理業務に含めるものとする。

（参考： Genetic Testing Reference Material Coordination Program (GeT-RM)は、遺伝子検査における QC、研究、検定試験や測定データの検証に適した参照物質を研究者が利用できるよう、CDC 主導の基に設立された綱領である。（文献 5））

### 5. 参考文献

- 1) Guidance for Industry and FDA Staff, Class II Special Controls Guidance Document: Drug Metabolizing Enzyme Genotyping System. U.S. Food and Drug Administration.
- 2) 血液製剤のウイルスに対する安全性確保を目的とした核酸増幅検査（NAT）の実施に関するガイドラインについて：平成 16 年 8 月 3 日 薬食発第 0803002.
- 3) The First Genetic Testing Quality Control Materials Program (GTQC) Expert Panel Meeting, November 29, 2005, Turnhout, Belgium.
- 4) PCR プライマーの合成と精製：1997 年 6 月 15 日, 共立出版.
- 5) Genetic Testing Quality Control Materials Program-Development of verified QC materials for genetic testing, April 5, 2005.
- 6) The Condensed Protocols, 467.
- 7) 平成 18 年度テーラーメイド医療用診断機器審査ワーキンググループ検討報告書「DNA チップを用いた遺伝子型判定装置に関する評価指標」.

6. テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）開発WG委員名簿

（※は座長、五十音順、敬称略）


油谷 浩幸	東京大学 先端科学技術研究センター 教授
楠岡 英雄	独立行政法人 国立病院機構 大阪医療センター 副院長 (生体医工学会推薦)
桑 克彦	筑波大学大学院 人間総合科学研究科 助教授
源間 信弘	株式会社東芝 研究開発センター 技監
佐藤 幸	第一化学薬品(株) 研究開発統括部国際開発部 企画開発グループ長
※林 慎一	東北大学医学部 保健学科分子検査学分野 教授
山藤 清隆	財団法人かずさDNA研究所 新事業開発委員

開発WG事務局

木山 亮一 (独) 産業技術総合研究所 シグナル分子研究ラボ 主任研究員

平成21年度 テーラーメイド医療用診断機器  
DNAチップ開発ガイドラインWG委員会  
第1回委員会

遺伝子発現解析用DNAチップ  
開発ガイドラインについて

 産業技術総合研究所  
木山亮一

2010年2月17日

1

新薬申請などにおける必須及び任意ゲノムデータ数の  
急激な増加

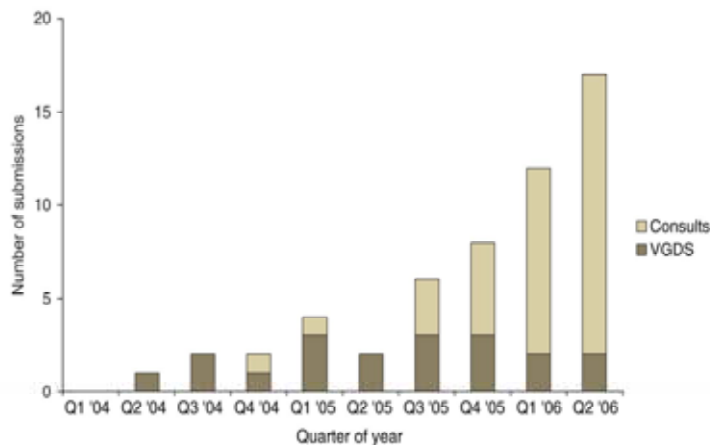


Figure 1 Increase in formal requests (consults) for genomic data review (data submitted as part of regular INDs, NDAs or BLAs) to the Office of Clinical Pharmacology, and voluntary genomic data submissions (VGDS) to the FDA, since 2004. IND, investigational new drug; NDA, new drug application; BLA, biologic license application.

(前略) FDAおよびIPRGは、ゲノム・データの任意提出書類を20件受理し、審査した。(略) その大半にはマイクロアレイ遺伝子発現データが含まれていた。しかし、意外にもデータの提出には不均一性がみられ、データの生成、規格化および提出データの標準化の必要性、さらにデータ品質評価の尺度の必要性が、2つの主要な問題として当局に対して提示された。

Impact of microarray data quality on genomic data submissions to the FDA.  
Felix W Frueh. Nature Biotechnology, 24, 1105-1107 (2006).

2

## FDAによるガイダンス / コンセプトペーパー

### ガイダンス

Class II Special Controls Guidance Document: Drug Metabolizing Enzyme Genotyping System (March 10, 2005)

Class II Special Controls Guidance Document: Gene Expression Profiling Test System for Breast Cancer Prognosis (May 9, 2007)

### ドラフトガイダンス

In Vitro Diagnostic Multivariate Index Assays ( IVDMIA ) (Sept. 7, 2006)

IVDMIAは疾患の予防、治療または緩和のため、もしくは疾患や罹病状態の診断に用いる検査システムであり、1つまたはそれ以上のin vitroアッセイから得られたデータを使い、ソフトウェア上でアルゴリズムを用いる機器を含む。また、そのアルゴリズムから得た結果は、開発元からの支援がない限り、医学に精通している通常の医療従事者は、解析から導かれた検査値、指標、または結果を解釈することが難しい。

以下の指標に当てはまると、CLIA\*ではなくIVDMIA適用になる可能性が高い。

- ・臨床データを用いていること
- ・患者特定の診断を算出するためのアルゴリズムを用いていること
- ・これらから得た結果は、熟練した臨床医が事前に検査知識がないと解釈できないこと

### コンセプトペーパー

Recommendations for the Generation and Submission of Genomic Data (November, 2006)

\* Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) : ヒト検体を取り扱うあらゆる検査施設に対する法律。検査のマネージメント、内部精度管理、パネルテスト、人員管理、立入調査に関する内容を規定している。

3

## MicroArray Quality Control (MAQC) Project

### 概要

米国FDAの陣頭指揮のもと 51の大学・企業などがMAQCコンソーシアムを設立し、1300枚以上のDNAマイクロアレイを用いたデータ取得とその解析を行い、DNAマイクロアレイの標準化を推進

### 活動内容

Phase I : DNAマイクロアレイの技術性能

2005年2月～2006年9月

Nature Biotechnology (2006年9月号) にて成果報告

Phase II : 個別化医療のための分類予測法の評価

2006年9月～2009年3月

Nature Biotechnology誌にて報告予定(2010年5月?)

Phase III : 次世代シーケンサーの性能評価

2008年12月～

4

# Nature Biotechnology誌2006年9月号特集

- Making the most of microarrays (EDITORIAL)
- Empowering microarrays in the regulatory setting (FOREWORD)
- FDAに提出されるゲノム・データに対するマイクロアレイ・データの品質の影響 (COMMENTARY)
- 米国環境保護庁におけるゲノミクスデータ利用の枠組み (COMMENTARY)
- ゲノミクスおよびマイクロアレイにおけるデータ品質 (COMMENTARY)
- 定量遺伝子発現プラットフォームを用いたDNAマイクロアレイ結果の評価
- マイクロアレイ性能評価のための外的RNAコントロールの評価
- ラットのトキシコゲノミック実験によってマイクロアレイプラットフォーム間の一貫性を解明した
- **マイクロアレイ品質管理 (MAQC) プロジェクトがプラットフォーム間およびプラットフォーム内の遺伝子発現測定の再現性を示す (MAQCコンソーシアムによる検証結果)**
- RNA試料量の変動実験によるマイクロアレイ・プラットフォームの性能および標準化手法の評価
- マイクロアレイ品質管理(MAQC)プロジェクトにおける1色型と2色型プラットフォームの性能比較

5

## MAQCにより検討されたDNAチップの種類

### 7種のプラットフォーム

3箇所のテストサイト  
4種類のサンプル  
5回の繰り返し実験

Table 1 Gene expression platforms and data analyzed in the MAQC main study

Manufacturer	Code	Protocol	Platform	Number of probes <sup>a</sup>	Number of test sites	Number of samples	Number of replicates	Total number of microarrays <sup>b</sup>
Applied Biosystems	ABI	One-color microarray	Human Genome Survey Microarray v2.0	32,878	3	4	5	58
Affymetrix	AFX	One-color microarray	HG-U133 Plus 2.0 GeneChip	54,675	3	4	5	60
Agilent	AGL	Two-color microarray <sup>c</sup>	Whole Human Genome Oligo Microarray, G4112A	43,931	3	2	10	56
	AG1	One-color microarray	Whole Human Genome Oligo Microarray, G4112A	43,931	3	4	5	56
Eppendorf	EPP	One-color microarray	DualChip Microarray	294	3	4	5	60
GE Healthcare	GEH	One-color microarray	CodeLink Human Whole Genome, 300026	54,359	3	4	5	60
Illumina	ILM	One-color microarray	Human-6 BeadChip, 48K v1.0	47,293	3	4	5	59
NCI Operon	NCI	Two-color microarray	Operon Human Oligo Set v3	37,632	2	4	5	33
Applied Biosystems	TAQ	TaqMan assays	> 200,000 assays available	1,004	1	4	4	N/A
Panomics	QGN	QuantiGene assays	~ 2,600 assays available	245	1	4	3	N/A
Gene Express	GEX	StarT-PCR assays	~ 1,000 assays available	207	1	4	3	N/A
Total								442

### DNAチップ以外の方法による検証

a 遺伝子発現プラットフォームごとに異なる、個々のプローブ、プローブ・セットあるいはプライマーのペアを含むために、プローブに関する国際的な定義が用いられる。この表に列記されている数字は製品の参考文献から取得したもので、一部のプラットフォームに重複が含まれる場合がある。分析されたプローブの数に対する別の図は、オンラインの補足データに表S5に示されている。b 単色型プロトコル毎の最大マイクロアレイ数は60(3箇所の現場 × 4つのサンプル型 × 5回の繰り返し実験)である。本文の記述通り、異常値を示すハイブリダイゼーションでない繰り返しのハイブリダイゼーション結果は主研究データ解析に含まれている。当論文では386個のプラットフォームから得たデータしか分析していない。付加的なデータセットについてはオンラインの補足データの表S4で記述されている。c 当論文では提示していないが、Agilent社の2色実験データ(56個のマイクロアレイ)については、別な論文<sup>24</sup>に記した。残りの図では、検査現場およびサンプル型は「platform code\_test site\_sample ID」という形式で記されている。サンプルAは100% UHRR (Stratagene社のヒト参照RNA)、サンプルBは100% HBRR (Ambion社のヒト脳由来RNA)、サンプルCは75%のUHRRと25%のHBRR、サンプルDは25%のUHRRと75%のHBRRである。

The MicroArray Quality Control (MAQC) project shows inter- and intraplatform reproducibility of gene expression measurements. MAQC Consortium. Nature biotechnology, 24, 1151-1161 (2006).

6

## MAQCにより検討されたDNAチップの再現性

CV値（標準偏差を平均値で割った値）で再現性を評価

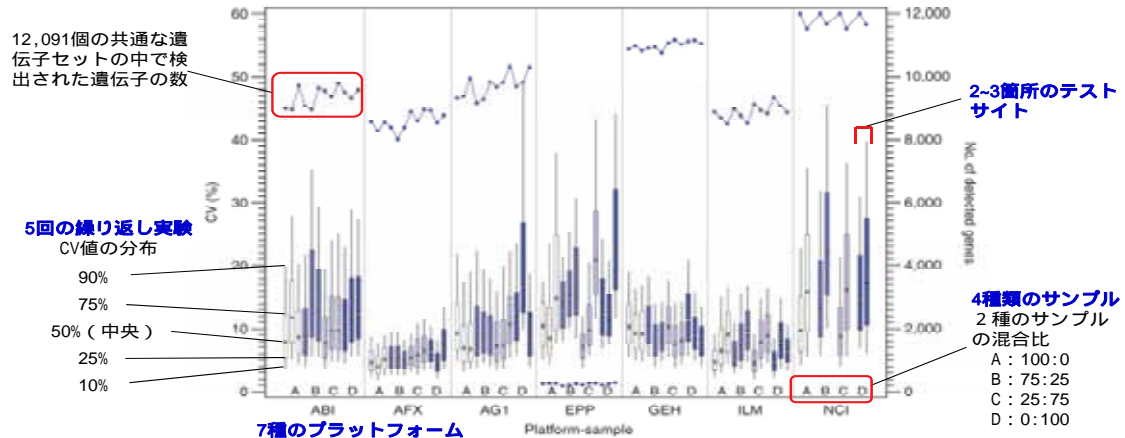
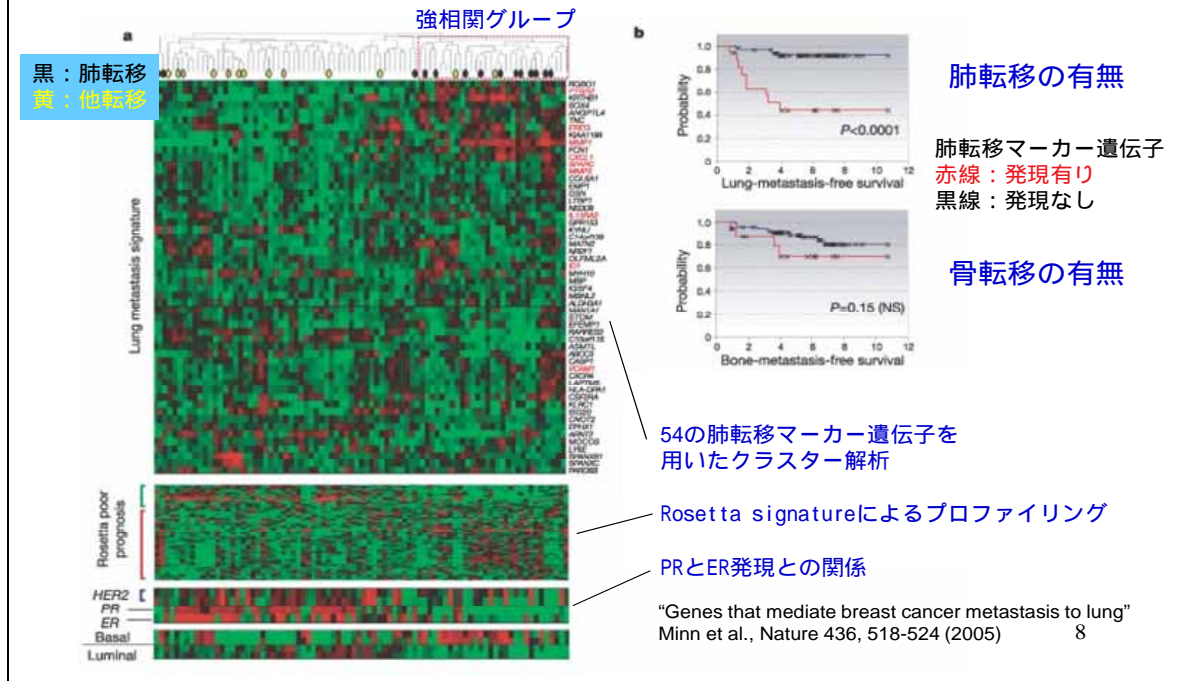


図1 それぞれの検査現場における発現シグナルの反復性。単色型プラットフォームの場合、同じサンプル型の現場複製間の発現シグナル値のCVは、検出された遺伝子全てについて算出した。これらの繰り返し実験のCV分布は、各マイクロアレイ・プラットフォームについて、一連の12個のヒゲ付きの箱で示され、3箇所の検査現場における4つのサンプルタイプそれぞれにつき1つである。この図は、サンプルの複製を識別できるように、サンプルA（白色）、サンプルB（薄青色）、サンプルC（薄紫色）、サンプルD（濃青色）といった形で強調されている。3箇所の検査現場のプラットフォーム解析から得られた結果を示す12個のプロットは、左から右へ向かってA1、A2、A3、B1、B2、B3、C1、C2、C3、D1、D2、D3の順に示されている。2色型NCIプラットフォームの場合、同じサンプル型について現場での繰り返し実験における発現Cy3/Cy5比のCVは同様に算出した。これらの繰り返し実験のCV分布は、2箇所のNCI検査現場から得られた一連の8個のヒゲ付きの箱で、左から右へ向かってA1、A2、B1、B2、C1、C2、D1、D2の順に示されている。中央値（ギャップ部分）、25%値の範囲のほか、10%および90%値を示す位置が各図に表示されている。12,091個の共通セットに由来する遺伝子のうち、繰り返し実験のうち少なくとも3つにおいて検出された遺伝子だけが、図およびCVの算出に含まれた。この数字はプラットフォーム/サンプル/検査現場によって異なり、副軸を用いた折れ線グラフおよびオンラインの補足データに表S6として注記されている。プラットフォームおよびサンプル型は、表1に表示の名称に従って示した。

MAQC Consortium. Nature biotechnology, 24, 1151-1161 (2006).

## DNAチップ使用例 肺転移マーカー遺伝子を用いた乳癌診断



肺転移の有無

肺転移マーカー遺伝子  
赤線：発現有り  
黒線：発現なし

骨転移の有無

54の肺転移マーカー遺伝子を用いたクラスター解析

Rosetta signatureによるプロファイリング

PRとER発現との関係

"Genes that mediate breast cancer metastasis to lung"  
Minn et al., Nature 436, 518-524 (2005) 8



## MAQC論文の問題点

Nature biotechnology誌、25巻（2007年1月）掲載のコメントから

### 統計法について

- ・再現性（ $p$ -value）に基づく遺伝子のランキングはどの位意味があるのか
- ・標準試料（human brain+reference RNA）は何の意味があるのか  
再現性と正確性をどう評価するのか
- ・大部分の変動しないRNAのエラー率が1-5%というのは、実際に診断に必要な少数のRNA種の信頼性とどう関係するのか

### 利益相反について

- ・FDAが企業と共同で体外診断薬の研究を行うのは問題があるのではないのか

9

## 「発現解析DNAチップガイドライン」の必要性

### 1. 背景と経緯

- ・遺伝子型判定用DNAチップの開発ガイドライン事業（2006年度-2007年度）において、我が国におけるDNAチップ開発にかかわる全ての関連団体（JMAC、JCCLS、JBA、JCII）を集めて開発ガイドライン（2006年度）及び標準化（2007年度）について議論を行った。
- ・経済産業省より「テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）開発ガイドライン2007-遺伝子型（ジェノタイピング）検定用DNAチップに関して」を発表した（2007年5月）。
- ・遺伝子型判定用DNAチップの標準仕様書（TR）案を作成した（「平成19年度戦略的技術開発委託費 医療機器開発ガイドライン策定事業（医療機器に関する技術ガイドライン作成のための支援事業）報告書」2008年3月）。
- ・厚生労働省医薬食品局審査管理課より「DNAチップを用いた遺伝子型判定用診断薬に関する評価指標（薬食機発第号0404002）」を発表した（2008年4月4日）。

10

## 「発現解析DNAチップガイドライン」の必要性

### 2. 発現解析DNAチップのガイドラインの必要性

・ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社は、薬剤代謝に關与する酵素の遺伝子型を判定するDNAチップ「アンプリチップ CYP450」の医薬品の製造販売承認を取得した（2009年5月12日）。東芝なども遺伝子型判定用DNAチップの薬事申請しており、今後、他の会社が続くものと予想される。

・発現解析DNAチップMammaPrint（Agendia社）はすでにFDA承認（2007年2月6日）を受けており、近い将来、我が国でも薬事申請が予想される。

・DNAチップ解析に用いる臨床検体の取り扱いに関する標準化（厚生労働省第35回先進医療専門家会議：2009年2月3日）が進んでおり、DNAチップ技術開発の大きな問題の一つであった検体の信頼性について技術的な進展が期待できる。

・SPIDIA（Standardization and improvement of generic pre-analytical tools and procedures for in-vitro diagnostics：2009年1月～）やMAQCII（MicroArray Quality Control、フェーズII：2009年3月終了）など、海外ではコンソーシアムによる標準化が進んでおり、それぞれ、EUと米政府が資金的な支援を行っている。

・一方で、我が国においては、遺伝子検査機器としてのDNAチップの開発に対して企業コンソーシアム主導の標準化が進んでいない。特に、開発メーカーと検査企業や診断薬メーカーなどとの連携による臨床検体の標準化と歩調を合わせた開発ガイドラインが必要である。

11

## 「発現解析DNAチップガイドライン」の必要性

### 3. 発現解析DNAチップガイドラインの内容（試案）

（1）DNAチップや試薬が検査開発用プラットフォームとして承認するための開発ガイドライン

・検査開発メーカーは、検査コンテンツの申請毎にDNAチップ・試薬安定性や再現性、および性能に関する試験が必要であり、負担が大きい。

・DNAチップ測定は試薬の違いによって測定結果が大きく異なってくるが、ほとんどの研究では市販されている研究用試薬を用いているため、臨床検査を目指した段階にて検査に適した試薬を開発し、多数の検体を再測定する必要がある。

・検査開発用のプラットフォームが確立しないため、前処理にあたる「検体品質管理」の技術課題を定義できず、関連技術開発が進まない。

（2）GMP製造され、安定性・再現性・性能が認められたDNAチップ・試薬を検査開発用のプラットフォームとして承認するための開発ガイドライン

・各検査メーカーは、体外診断薬の承認申請毎にDNAチップ・試薬の基本性能試験を行う必要がなくなり、診断に応じたシグネチャー（遺伝子マーカーの組み合わせ）を開発し薬事申請する。

12

## 「発現解析DNAチップガイドライン」の必要性

### 4. 期待される効果

#### (1) トランスレーショナルリサーチ・検査コンテンツ開発の促進

- ・臨床研究から臨床検査まで同一のDNAチップ・試薬を用いて開発することができるため、橋渡しが容易になる。
- ・従来は研究用試薬で検査コンテンツを開発し、実際に臨床応用を目指した時点で臨床検査用に適した試薬を開発してから再度データを取り直す必要があった。

#### (2) 測定者の利便性向上

- ・同じアッセイ系の試薬キットにて、多種検査に対応できるようになる。

#### (3) 標準化推進

- ・検査で用いられるDNAチップ・試薬がプラットフォームとして確立することで、遺伝子検査の前処理にあたる「検体品質管理」の標準化が推進され、関連する技術開発が促進される。
- ・JCCLSにて「検体品質管理マニュアル」(暫定版)が策定されている。前処理技術が標準化されることで、検査コンテンツに関する技術開発の促進が期待される。

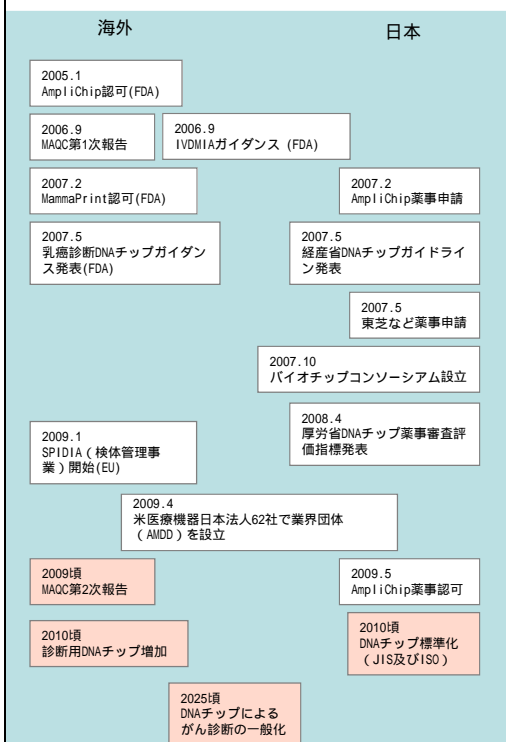
#### (4) 検査コンテンツ開発の負担低減

- ・検査開発用のプラットフォームが確立することで、従来であれば必要とされていた試薬の開発や安定性試験に関する負担から開放され、ベンチャー企業やアカデミー発の検査コンテンツ開発が具体化する。

13

## DNAチップによるがんの遺伝子診断

### 医療産業・薬事承認動向



### 技術開発動向(最近の動き)

#### FDA承認がん診断用DNAチップ

- ・MammaPrint(オランダAgendia社): 乳がん診断用DNAチップ  
FDA初のIVDMIA(体外診断多変数指標測定)承認
- ・Tissue Of Origin検査(米国Pathwork Diagnostics社): GeneChip発現プロファイリングを用いた1500以上の発現プローブによるがん原発巣同定検査  
2008年7月31日に2番目のIVDMIAとしてFDA承認

#### DNAチップによるがん診断(FDA未承認)

- ・AML Profiler(オランダSkyline社): AML症例の詳細分類(予後判定)
- ・MapQuantDx(フランスIpsogen社): 乳癌グレーディング判定
- ・Almac社(英国): 卵巣がんサンプルを対象にした検査
- ・Agendia社(オランダ): 乳がん以外のがん診断

#### 日本におけるがん診断用DNAチップ開発例

- ・千葉県がんセンター: 小児がん予後診断
- ・群馬大学: DNAチップを用いたメチル化DNA解析法
- ・ジーンサイエンス社: 肺がん予後診断システム
- ・東芝など3社: ヒトパピローマウイルスのゲノム型判定技術(2007年5月薬事申請)
- ・クラボウ社: 23種のヒトパピローマウイルスのゲノム型判定による子宮頸がん進行リスク判定

#### DNAチップ以外のがんの遺伝子診断技術・装置例

- 1) PCR技術をベースにした診断法
  - ・OncotypeDx(米国Genomic Health社): リアルタイムPCRによる乳がんリスク診断  
ASCO推奨、FDA未承認
- 2) エピゲノムによるがん早期診断
  - ・独エビジェノミクス社: メチル化DNA検出による大腸がんの早期発見
  - ・メチル化DNA検出装置の自動化(PSS社など): バイサルファイト処理DNAのPCR増幅検出プロセスのハイスループット化
- 3) 血中循環がん細胞検出によるがん転移診断
  - ・CTC(Circulating Tumor Cell)検出法: 血液中の遊離がん細胞を高感度に検出する技術
    - ・Cell Search(米国Veridex社): がん転移のリスク判定
    - ・オンコリス社: 蛍光色素を用いたテロメラーゼ活性評価法

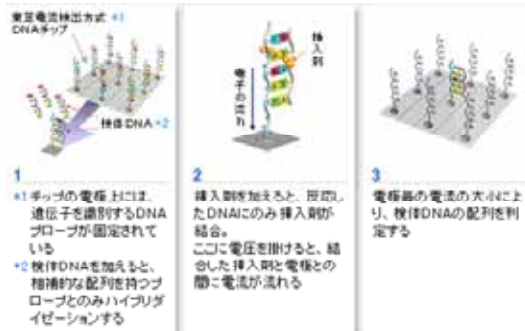
14

## 遺伝子診断DNAチップの例

### 遺伝子型判定用DNAチップ

- ・ 遺伝子型判定を行うDNAチップ
- ・ 薬剤耐性遺伝子の多型判定（薬事承認）
- ・ ウイルスの遺伝子型判定（薬事申請）
- ・ 多くの場合、一度判定すると再検は不必要
- ・ 他の方法で代用できる場合が多い（PCR法など）
- ・ がんの遺伝子型判定にも利用可（開発段階）

東芝：蛍光色素を用いない電流検出型DNAチップ



「ヒトパピローマウイルス型判別用DNAチップの薬事申請について」（2007年6月15日、東芝ホームページより）  
 （内容）第一化学薬品株式会社、株式会社東芝、東芝ホクト電子株式会社は、共同で開発を進めてきたヒトパピローマウイルスを型判別するDNAチップの体外診断用医薬品の製造販売承認申請を行った。

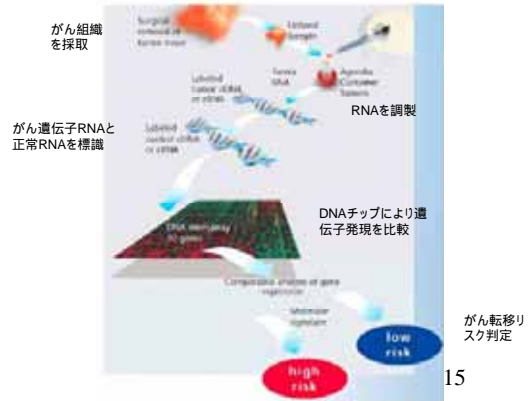
### 遺伝子発現解析DNAチップ

- ・ 遺伝子の発現解析を行うDNAチップ
- ・ 乳がんの転移リスク判定など（FDA承認）
- ・ 経過判定など何度も使用する
- ・ IVDMIA（体外診断多変指標測定）として有効
- ・ がんの遺伝子発現解析に特に有効

#### 特徴

#### 技術・製品例

MammaPrint（蘭国Agendia社）：FDA承認（2007年2月6日）  
 ・ 細胞周期、浸潤、転移、血管新生などに関わる遺伝子70個を同時に測定し、特別のアルゴリズムを用いて、遠隔転移リスクをスコアで示す  
 ・ FDA承認を得た初のIVDMIAデバイスとなった  
 ・ 米国での試験費用は\$3,200



15

## バイオチップコンソーシアム（JMAC）

ホームページ： <http://www.jmacq.org/>

日本語名：バイオチップコンソーシアム  
 英語名：Japan MicroArray Consortium（略称：JMAC）  
 平成19年9月26日プレスリリース  
 平成19年10月19日設立総会開催

#### 参加企業（理事法人）

キヤノン株式会社、株式会社シースターコーポレーション、株式会社ジーンケア研究所、株式会社DNAチップ研究所、株式会社東芝、東レ株式会社、株式会社ハプロファーマ、三菱レイヨン株式会社、株式会社メディビック、横河電機株式会社、財団法人がすきディー・エヌ・エー研究所

#### 目標

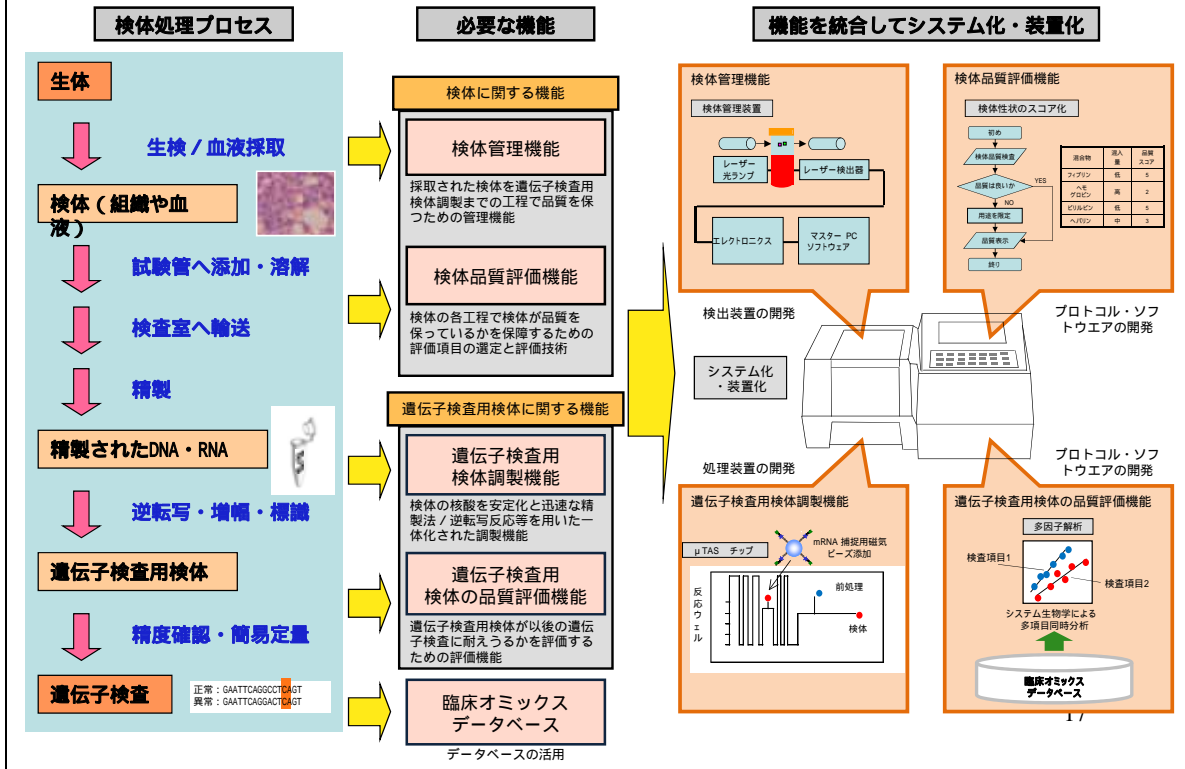
DNAチップについて、精度測定、サンプル前処理、データ解析・判定、試薬管理などの方法および手順の確立をはじめとするバイオチップの標準化を検討し、米国をはじめとする国外団体との国際協調を図り、標準化を推進していくことで、バイオチップの市場を創生する。

#### ワーキンググループと活動内容

- WG1：事業企画・推進ワーキンググループ産業化のための出口戦略を討議
- WG2：標準化ワーキンググループ標準化や公認事業について討議
- WG3：対外連携ワーキンググループMAQCを中心に国内外との連携を推進

16

**がん遺伝子診断の高度化のための検体処理システムの開発  
研究開発内容（概要）**



**テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）開発WG  
平成18年度活動**

**開発WGメンバー構成**

- 油谷 浩幸 東京大学 先端科学技術研究センター 教授
- 楠岡 英雄 国立病院機構 大阪医療センター 副院長
- 桑 克彦 筑波大学大学院 人間総合科学研究科 助教授
- 源間 信弘 株式会社東芝 研究開発センター 技監
- 佐藤 幸 第一化学薬品(株) 研究開発統括部国際開発部企画開発グループ 長
- 林 慎一 東北大学医学部 保健学科分子検査学分野 教授（座長）
- 山藤 清隆 財団法人かずさDNA研究所 新事業開発委員

**平成18年度の活動**

- ・WG：4回開催（10月30日、11月29日、1月18日、2月28日）
- ・実態調査（外国における承認状況、技術動向）
- ・装置開発企業及び診断薬開発企業へのヒアリング調査
- ・基盤データの蓄積：DNAチップ性能評価
- ・バイオチップコンソーシアムの立ち上げに協力
- ・開発ガイドラインの検討・提案（平成19年5月発表）

**平成18年度における検討内容**

- ・遺伝子型判定のためのDNAチップおよび測定装置に関する技術的視点からのガイドラインの検討

**「テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）  
開発ガイドライン2007  
・遺伝子型（ジェノタイピング）検定用DNAチップに関して・」**

経済産業省ホームページにて公開：<http://www.meti.go.jp/policy/service/index.html>

**(A) 測定装置(DNAチップと解析装置)の諸特性**

- A-1 測定装置の特異性など
  - 1. 特異性
  - 2. 感度・ダイナミックレンジ
  - 3. 再現性
  - 4. 検査の品質管理
  - 5. その他、性能特性に影響する要因に関する記載
- A-2 サンプル・検体、その前処理・保存等、試薬
- A-3 ソフトウェア(解析、判別)
- A-4 データ処理
- A-5 品質管理

**(B) 評価法**

- B-1 評価項目
  - 塩基配列決定法との比較
  - データ解析、解析ソフトについて
  - 有意性の検定
  - 比較試験・臨床評価試験
  - 臨床的実効性
  - データの管理について
  - 安全性について
- B-2 塩基配列決定法との比較
- B-3 データ解析、解析ソフトについて
- B-4 有意性の検定
- B-5 データの管理について
- B-6 安全性について

**(C) 標準物質**

- C-1 外部参照物質に求められる要件
- C-2 外部参照物質の選定、管理、入手

19

**「テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）開発ガイドライン2007」  
の要点**

- (1) 装置、評価法、標準物質の3つに分けて、開発のポイントを明確にした。
- (2) 診断用DNAチップの標準化を想定した上で、標準プロトコールや標準物質（対照物質を含む）について米国MAQCコンソーシアム報告を参考にして、我が国の企業による標準化コンソーシアム設立を念頭に置いたガイドラインを策定した。
- (3) ガイドライン実施の際に想定される国内公的機関の役割に関して記述した。

**4.2.3 外部参照物質の入手：**

「CDCのGenetic Testing Reference Material Coordination Programにおいて reference materialとして確立された細胞株を、国内研究機関がCoriell医学研究所を通じて入手し、保存及び管理を行い、該開発品の機能評価を受託業務として実施する。尚、ヒトゲノムサンプルの保存中又は培養による後天的変異を監視するための定期的な検査も管理業務に含めるものとする。」

- (4) 米国FDAガイダンスやコンセプトペーパーを参考資料として、体外診断薬としての薬事申請を想定したDNAチップおよび検出装置の開発ガイドラインを策定した。

20

## DNAチップを用いた遺伝子型判定用診断薬に関する評価指標

(薬食発第0404002号：平成20年4月4日)

- ・本評価指標に対象は、試料中の核酸の配列と量を詳細に測定し、複数の測定値からアルゴリズム等を用いて診断に役立つ情報を導く診断薬であり、DNAチップと専用の測定・解析装置から構成される。当初は「装置」としていたが、最終的には「診断薬」になった。
- ・DNAチップを用いたヒト及び病原微生物の遺伝子型を判定する診断薬を対象とする。目的は遺伝子型判定であるが、遺伝子発現解析用DNAチップに関する評価指標としても参考にできる。
- ・遺伝子型判定結果の信頼性確保に必要な評価指標を示したものであり、診断結果に基づく治療戦略の選択には言及していない。
- ・DNAチップは専用の解析装置と組み合わせて使われるため、両者を一体として評価する。なお、DNAチップはクラス 体外診断薬に、解析装置はクラス 医療機器に分類される。

### 評価指標の主な事項

1. 装置の概要に関する事項  
臨床的意義、測定原理、プライマー・プローブ等の塩基配列、DNAチップ構成、対照物質、アッセイ条件、ソフトウェア
2. 仕様及び安定性に関する事項  
品質管理の方法、感度・特異性・測定範囲、測定装置の較正、安定性に関する資料
3. 性能に関する事項  
遺伝子型判定の精度、検体と共に測定する対照資料、再現性・頑健性、コンタミネーション対策・データの取り違い対策、検体の調製
4. リスク分析に関する事項

21

## テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）開発WG 平成19年度活動

### 開発WGメンバー構成

田中 利明 東レ(株) 研究・開発企画部 CR企画室長  
住谷 知明 プレシジョンシステムサイエンス(株) 執行役員営業本部事業開発部長  
久原 哲 九州大学大学院農学研究院 教授  
楠岡 英雄 国立病院機構大阪医療センター 院長  
桑 克彦 筑波大学大学院 人間総合科学研究科 臨床医学系 准教授  
林 慎一 東北大学 医学部 保健学科分子検査学分野 教授 (座長)  
油谷 浩幸 東京大学 先端科学技術研究センター 教授  
森 康晃 早稲田大学理工学部 教授

### 平成19年度の活動

- ・TS原案作成委員会：2回開催（2月8日、3月6日）
- ・JMAC、JBA、JCII、JCCLS、日本規格協会、産総研工業標準部の連携
- ・今後の標準化検討項目
  - (1) 標準プロセスの確立と評価、及び、薬事申請までのシミュレーション
  - (2) 国際規格案の作成とTC212（臨床検査及び体外診断検査システム）提案への道筋

### 平成19年度における検討内容

- ・標準仕様書（TS）原案の作成を検討した

22

## テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）開発WG 平成21年度活動予定

### 開発WGメンバー構成

林 慎一 東北大学医学部保健学科分子検査学分野 教授（座長）  
秋山 英雄 東レ株式会社先端融合研究所 主任研究員  
油谷 浩幸 東京大学先端科学技術研究センター 教授  
楠岡 英雄 国立病院機構大阪医療センター 院長  
久原 哲 九州大学大学院農学研究院 教授  
桑 克彦 日本臨床検査標準協議会（JCCLS） 理事  
橋本 幸二 東芝ディスプレイ・部品材料統括 新デバイス開発センター 参事  
松岡 厚子 国立医薬品食品衛生研究所療品部 部長

### 平成21年度の活動予定

- ・WG：1回開催（2月17日）
- ・第9回合同検討会にて活動報告（3月15日）
- ・遺伝子発現解析用DNAチップに関わる問題点の抽出
- ・バイオチップコンソーシアムによる開発や標準化などの現状報告
- ・開発ガイドライン項目の検討（平成22年度作成予定）

### 平成21年度における検討内容

- ・遺伝子発現解析のためのDNAチップおよび測定装置に関する技術的視点からのガイドライン項目の検討

23

## ガイドライン作成及び公表のプロセス

### 検討事項

- ・国内外の開発動向の把握  
企業開発動向、研究動向、薬事申請・国際標準化動向
- ・国内外の開発にかかわる法律・規則や制度の把握  
FDAガイドライン、厚労省評価指標、JIS・ISO資料など
- ・ガイドラインの検討項目  
企業や関連団体による問題提起



### ガイドラインの策定と公表



### ガイドライン公表後の活動

- ・学会・工業界などへ広報活動
- ・提案したガイドラインに関する内容解説
- ・標準化の推進

24





この報告書は、平成21年度に独立行政法人 産業技術総合研究所が、経済産業省からの委託を受けて実施した成果を取りまとめたものです。

禁無断転載

平成21年度 戦略的技術開発委託費  
医療機器開発ガイドライン策定事業  
(医療機器に関する開発ガイドライン作成のための支援事業)  
テーラーメイド医療用診断機器分野  
(遺伝子発現解析用DNAチップ)  
開発ワーキンググループ報告書

連絡先

〒100-8901

東京都千代田区霞が関1 - 3 - 1

経済産業省商務情報政策局サービス産業課 医療・福祉機器産業室

TEL: 03-3501-1562

FAX: 03-3501-6613

URL: <http://www.metigo.jp/>

発行

〒305-8564

茨城県つくば市東1 - 1 - 1

独立行政法人 産業技術総合研究所 人間福祉医工学研究部門

医療機器開発ガイドライン検討実務委員会

TEL: 029-861-7014

FAX: 029-861-7848

E-Mail: [human-ws@maist.go.jp](mailto:human-ws@maist.go.jp)