

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)

医療機器評価指標ガイドライン
DNAチップ開発ガイドラインTS原案作成委員会
準備会報告書

平成20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（DNAチップ）TS原案作成委員名簿

TS原案作成委員

（敬称略、順不同）

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 システム生命科学府 教授
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
源間 信弘	株式会社東芝 研究開発センター 技監
住谷 知明	プレジジョンシステムサイエンス株式会社 執行役員 営業本部事業 開発部長
田中 利明	東レ株式会社 研究・開発企画部 CR企画室長
森 康晃	早稲田大学理工学部 複合領域（知財分野）教授
林 慎一 (座長)	東北大学大学院医学系研究科 分子機能解析学分野 教授

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

目次

1. 当該技術分野の概要と事業の意義	1
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	1
1.2 テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）に関する現状	2
1.2.1 「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」の概要	2
1.2.2 「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	3
1.2.3 厚生労働省「DNAチップを用いた遺伝子型判定装置に関する評価指標（案）」の概要	3
1.2.4 厚生労働省「DNAチップを用いた遺伝子型判定装置に関する評価指標（案）」の要点	4
1.2.5 米国FDAによるDNAチップに関する規制	4
1.2.6 米国FDAによるガイダンス、コンセプトペーパーの例	5
2. 平成19年度の検討結果	10
「テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）標準仕様書（TS）素案」	
まえがき	10
序文	10
1. 適用範囲	11
2. 引用規格	11
3. 用語及び定義	11
4. 評価方法	11
4.1 塩基配列決定法との比較による評価	12
4.2 データ解析及び解析ソフトに関する評価	12
4.3 有意性の検定に関する評価	12
4.4 データの管理に関する評価	12
4.5 安全性に関する評価	12
附属書A（規定）DNAチップを用いた医療診断装置の原理、構造等	13
附属書B（規定）標準物質	17
3. まとめと今後の課題	18

参考資料

1. テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）TS原案作成委員会概要	23
1.1 第1回TS原案作成委員会（準備会）	23
1.2 第2回TS原案作成委員会（準備会）	25
2. 関連文献、調査資料	26
2.1 第1回TS原案作成委員会参考資料一覧	26
2.2 第2回TS原案作成委員会参考資料一覧	27
2.3 「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-」	28
2.4 第1回TS原案作成委員会事務局説明資料（抜粋）	39

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

「テーラーメイド医療用診断機器」とは、ゲノムや遺伝子をもとにした個人識別、個体差、あるいは病歴や体質など個人のゲノム／遺伝子情報をもとにした診断や治療（テーラーメイド医療）を支援する医療機器である。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、その市場は、全世界で14億ドル（2005年）にも達しており、今後、さらに伸びると予想されている。そのなかでも、診断用DNAチップの開発は加速化されるであろう。2004年に、ロッシュモレキュラーダイアグノスティックス（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。その後、2007年（平成19年2月）に米国FDAにより Agendia 社の乳癌転移リスク評価のためのDNAチップ（商品名：MamaPrint）がIVDMIA（In Vitro Diagnostic Multivariate Index Assay）として初めて承認された。我が国においても、同時期にロッシュ社が厚生労働省にAmpliChip CYP450の承認申請を行ない、さらに国内企業もそれに続いた。このように、国内外における診断用DNAチップの開発と薬事申請が加速化している。さらに、米国では薬事申請の際のボランタリーサブミッションデータとしてDNAチップデータの提出数がここ数年の間に急速に伸びており、DNAチップの技術や装置、ソフトウェアなどを標準化する必要性が高まった。このため、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Iの報告がNature biotechnology誌に掲載された。このような背景のもと、我が国でも診断用DNAチップに関する標準化の必要性が高まった。

本「テーラーメイド医療用診断機器」事業は、第4回医療機器開発ガイドライン評価検討委員会（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名に開発WG専門委員を委嘱し、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」として公表した（参考資料「2 関連文献、調査資料」参照）。

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（「1.3 JIS-TSについて」参照）。大学、国立研究機関、企業並びに経済産業省関連部署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（「1.2 テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）に関する現状」参照）、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。その検討結果を以下にまとめた（「2. 平成19年度の検討結果」参照）。

1.2 テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）に関する現状

テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）に関する現状を把握するために、我が国の例と米国FDAによるガイドライン・規制の例を紹介する。

1.2.1 「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」概要

（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

- 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

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

1.2.2 「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

本ガイドラインでは、以下の点を特に考慮した。

- (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。

1.2.3 厚生労働省「DNAチップを用いた遺伝子型判定装置に関する評価指標（案）」の概要

平成18年度次世代医療機器評価指標検討会テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）ガイドライン事業審査WGで検討した内容は、「DNAチップを用いた遺伝子型判定装置に関する評価指標（案）」として、平成19年6月にパブリックコメントの募集を行った。

主な事項

1. 装置の概要に関する事項

測定原理、プライマー、プローブの配列、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、測定範囲、測定装置の較正、安定性に関する事項

3. 性能に関する事項

感度と測定範囲、特異性、再現性、対照物質、操作上のコンタミネーション対策

4. リスク分析に関する事項

5. 製造方法に関する事項

6. 臨床試料の取り扱いに関する事項

1.2.4 厚生労働省「DNAチップを用いた遺伝子型判定装置に関する評価指標（案）」の要点

DNAチップを用いた遺伝子型判定装置に関する評価指標（案）」の要点を以下にまとめる。

- ・ 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装置であり、DNAチップと解析装置から構成される。目的が遺伝子型を判定する装置と遺伝子発現を解析する装置に大別される。
- ・ ヒト及び病原微生物の遺伝子型を判定する装置を対象とする。
- ・ 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Ⅲ体外診断薬に、解析装置はクラスⅠ医療機器に分類される。

本評価指標案に対して、平成18年度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WG委員並びにバイオチップコンソーシアム（JMAG）から、以下のコメント（抜粋）が提出された。

「（1）「DNAチップはクラスⅢの体外診断用医薬品として扱われる」との記述に対して本指標（案）において「DNAチップはクラスⅢの体外診断用医薬品として扱われる」との認識に対し、医療診断領域での市場立ち上げと普及のためにはDNAチップはクラスⅡの体外診断用医薬品として位置づけるべきと考えます。

クラス分類は諸外国の整合を図って決定することが一般的であり、上市品の“AmpliChip”（Roche社／Affymetrix社），“MammaPrint”（Agendia社／Agilent社）は、いずれもクラスⅡのMedical Device（医療機器）としてFDAにおいて判断・承認されています。さらに申請に必要なガイドライン「Class II Special Control Guidance Document」がFDAから発行されており、国内においてもDNAチップはクラスⅡの体外診断用医薬品として位置づけるべきと考えます。

特にクラスⅡの体外診断用医薬品として分類された場合、同一項目であれば第三者認証で対応できることに対し、クラスⅢでは大臣承認が常に必要とされるため、将来の医療診断領域での普及において障害となる可能性が高いと考えます。

1.2.5 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 (IVDMIA) (Sept. 7, 2006)

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

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。また、以下の指標に当てはまると、QLIA 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 7, 2006)

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

1.2.6 米国FDAによるガイダンス、コンセプトペーパーの例

本項では、FDAによるクラス II 体外診断薬の特別規制ガイダンスの例として、「クラス II 特別規制ガイダンス文書：乳癌予後診断のための遺伝子発現プロファイリング試験法」の要約を記す (<http://www.fda.gov/cdrh/oivd/guidance/1627.html>)。

クラス II 特別ガイダンス：乳癌予後診断のための遺伝子発現プロファイリング試験法（要約）

「Class II Special Controls Guidance Document: Gene Expression Profiling Test System for Breast Cancer Prognosis」

FDA、CDRH

2007年5月9日発行

1. イントロダクション

本ガイダンスは、乳癌予防のための遺伝子発現試験システムをクラス II に分類することをサポートする。本システムは、複数の遺伝子のRNA発現レベルを測定しすでに診断された乳癌の予後を判定する「signature」（パターン）を明らかにする装置のことである。

本ガイダンスは、乳癌予後診断のための遺伝子プロファイリング試験法の開発に関する推奨内容を企業に伝えるものである。本推奨内容は、癌診断に使われる RT-PCR 法とDNAチップ法に適用される。本ガイダン

スの内容は、癌の再発のリスクに関わる予後診断マーカーを病理所見と合わせて利用するアルゴリズムを含む。

本試験は、生物学的に同等な性質を持った患者（例えば50歳以上の女性）や同等な治療（補助療法を受けなかった女性）を受けた患者の中で違いを見つけるものである。

乳癌予後診断のための遺伝子発現プロファイル試験法は診断や治療効果の予想や最適の治療法を示すものではない。また、このガイダンスは、予後診断のマーカーを示すが、予想のためのマーカーを示すものではない。

本ガイダンスは、官報「Federal Register」で発表する癌予後診断法のクラス分類とともに発行する。市販前申告 510(k)を提出する企業は全て本ガイダンスで規定する項目を記載する必要がある。しかし、別の同等の方法で安全性や効果の評価結果を示してもよい。

最も負担の少ないアプローチ

本ガイダンスで規定される内容は機器が市場にでる前に明確にすべきものである。本ガイダンスを作成するに当たって、法的問題と法や規制に従う際の負担に関しても十分に考慮し、最も負担の少ないアプローチを採択したと信じる。しかし、もし、より負担の少ないアプローチがあるなら所定の手続きに従うことを求める。

2. 背景

FDAは、特別指針は一般的な指針と一緒に使うと、乳癌予後診断に関する遺伝子発現プロファイル試験法の安全性と効果に関して十分な保証を与えるものとする。本試験法に関する装置を販売する予定のある企業は、（1）「21 CFR 807 Subpart E」を含めた「Federal, Food, Drug, and Cosmetic Act」に従うこと、（2）本ガイダンスに記載した装置に関するリスクを記載すること、（3）市場に出す前にFDAから「substantial equivalence determination」を得ることが必要である。

本ガイダンスは、乳癌予後診断のための遺伝子発現プロファイル試験法に関する分類規定と製品コードを規定する。さらに、本ガイダンスの他の項では、健康に対するリスクを明らかにし、一般指針と合わせて、乳癌予後診断のための遺伝子発現プロファイル試験法に関するリスクを明らかにして、市販前申告（510(k)）による十分な評価を受けることを判定する基準を示している。本ガイダンスは、FDAによる市販前申告に必要な事項を補足する。

FDAに申告する3種類（従来型、特別型、及び簡易型）の市販前申告 510(k)がある。特別及び簡易型の510(k)は審査を効率化するのに役立つ。簡易型 510(k)は、新規の装置に関して、FDAが認めた基準や指針あるいはガイダンスなどにより、最も負担を軽減した方法に従って、審査を簡素化する方法を定める。

3. 目的

本ガイドンスの目的は「21 CFR 866.6040」（乳癌予後診断のための遺伝子発現プロファイリング試験法は、RNA発現レベルを測定しその情報を過去に乳癌と診断された場合に予後診断をするためのパターンと合わせて利用するための装置である。）に記載されている装置に限定する。

従来は、予後診断は補助療法を受けていない患者に使う言葉である。しかし、タモキシフェンを投与されたエストロゲン受容体陽性の女性のように単一の治療を受けた患者の予後を予想するための情報を与えることは乳癌予後診断として治療上のメリットがあり本ガイドンスの目的に合致する。

遺伝子発現プロファイリング試験法は、医療用の複数の試験結果を与える装置を必要とする試験法である。複数の試験結果を与える試験法は「21 CFR 862.2570」によって規制される。そのような装置に関するガイドンスは、FDAガイドンス「Class II Special Controls Guidance Document: Instrumentation for Clinical Multiplex Test Systems」が利用できる。もし、乳癌予後診断のための治療用の複数の結果を与える試験法のための装置に該当する場合は、試験法と装置の両方を一つの「510(k)」に記載することができる。

4. 安全性

乳癌予後診断に関する遺伝子発現プロファイル試験法は、乳癌患者の診断を助けるための予後情報を与える。本装置が誤作動すると、誤診を引き起こすかもしれない。擬陽性の結果は、患者を高リスクグループに分類し、偽陰性の結果は患者を低リスクグループに分類することになる。癌の再発に関する誤った分類は、心理的苦痛、不正確なカウンセリング、あるいは最適ではない治療など、誤った予後診断となる可能性がある。

FDAは本装置を利用するに当たって生じる可能性のある健康上のリスクを確認した。確認したリスクを軽減するための方法をまとめた。装置の市販前申告を提出する前にリスク評価をする必要がある。リスクは発現解析法によって異なり、目的、検体の種類、あるいは結果の利用法によって異なる。市販前申告にはリスク解析法についても記載する必要がある。もし、別の方法を用いる場合、あるいは追加のリスクが考えられる場合、十分詳細な情報を記載すべきである。

5. 装置情報

510(k)を申請する場合、規制の種類、製品コード、適法に販売されている同等の装置を明らかにする必要がある。同等の装置との比較について、FDAが効率よく審査するために、類似点と相違点に関して表で示す必要がある。

新しい装置の場合、重要な審査項目は、使用法、検体の種類、及び使用されている技術である。新しい装置を記載するために、所定の情報以外に、ピアレビューされた論文を提出することもできる。次に記載するような、所定の情報は含むこと。

- ・使用目的
- ・試験方法
- ・試験アルゴリズム
- ・試験結果

6. 性能特性

以下に示す性能特性をどのように評価したかについて、510(k)に詳細に記すこと。

- ・解析前の要因
- ・検体収集
- ・RNA精製
- ・品質管理
- ・解析内容
- ・検体に対する要求事項
- ・解析特異性（解析障害）
- ・閾値
- ・精度（再現性）
- ・安定性試験
- ・装置の評価
- ・臨床評価
- ・試験試料
- ・検体の収集と取り扱い条件

7. ソフトウェア

もし試験法にソフトウェアを含む場合は、「Guidance for the Content of Premarket Submissions for Software Contained in Medical Devices」に従って注意事項を記入した書類を提出すること。危険性を軽減する前に注意事項が何であるかを決定すること。この種の体外診断薬は、ソフトウェアの異常により正確な情報が得られずに患者の健康に間接的に影響を与えるため、一般的に注意事項の程度は小さくない。以下の事項について記載すること。

- ・セキュリティやプライバシーを考慮したソフトウェアのデザイン
- ・故障や誤作動などに対する機器管理法
- ・ソフトウェアの評価法
- ・市販予定の製品との相違

8. 表示について

市販前申告では、「21 CFR 807.87(e)」の要求事項を満足させる十分詳細な表示を含むこと。最終的な表示は510(k)承認には必要ないが、体外診断薬は市販前に「21 CFR 809.10」の要求事項を満足させる必要がある。参考として以下の事項をあげる。

- ・使用目的
- ・装置の仕様
- ・一般的な取扱い法
- ・使用法
- ・品質管理
- ・注意、警告、制限
- ・性能特性
- ・結果の解釈
- ・期待値

2. 平成19年度の検討結果

「テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）標準仕様書（TS）素案」

目次

まえがき

序文

1. 適用範囲

2. 引用規格

3. 用語及び定義

4. 評価方法

4.1 塩基配列決定法との比較による評価

4.2 データ解析及び解析ソフトに関する評価

4.3 有意性の検定に関する評価

4.4 データの管理に関する評価

4.5 安全性に関する評価

附属書A（規定）DNAチップを用いた医療診断装置の原理、構造等

附属書B（規定）標準物質

まえがき

この文書は、工業標準化法第3条の規定に基づいて、日本工業標準調査会の審議を経て、厚生労働大臣及び経済産業大臣が公表した標準仕様書（TS）である。

この標準仕様書（TS）は、著作権法で保護対象となっている著作物である。

この標準仕様書（TS）の一部が、技術的性質をもつ特許権、出願公開後の特許出願、実用新案権、又は出願公開後の実用新案登録出願に抵触する可能性があることに注意を喚起する。厚生労働大臣、経済産業大臣及び日本工業標準調査会は、このような技術的性質をもつ特許権、出願公開後の特許出願、実用新案権、又は出願公開後の実用新案登録出願にかかわる確認について、責任をもたない。

標準仕様書（TS）（案）

DNAチップを用いた医療用診断装置の評価法に関する指針

英文名：A guidance for evaluation of medical diagnostic devices equipped with DNA microarrays

序文

この仕様書は、平成19年5月に経済産業省から公表された「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-」に基づき、医療用診断装置としてのDNAチップの評価を可能にする評価項目、評価法に関する指針を規定する。

DNAチップの技術的進歩は近年著しく、各種疾患の検査や診断、または新規診断法開発のための次世代医療機器として期待が大きい。なかでも遺伝子型判定用DNAチップはより近い実用化が推察される。そこで、本仕様書は、DNAチップを組み込んだ装置の医療への応用を目的とした場合の性能や安全性を評価する指標を規定し、その実用化の促進に資することを目的とする。

1. 適用範囲

この仕様書は、DNAチップを用いた医療診断装置のうち遺伝子型を判定するもの（以下“DNAチップを用いた医療診断装置”という。）の評価方法について規定する。

2. 引用規格

次に掲げる日本工業規格及び国際規格は、この仕様書に引用されることによって、この仕様書の規定の一部を構成する。これらの引用規格のうちで、西暦年を付記してあるものは、記載の年の版を適用し、その後の改正版（追補を含む。）には適用しない。西暦年の付記がない引用規格類は、その最新版（追補を含む。）を適用する。

JIS Q 13485 医療機器品質マネジメントシステム規制目的のための要求事項

ISO 17511:2003 対外診断用医薬品・医療機器-生物試料の定量測定-校正物質と管理物質の表示値の計量学的トレーサビリティ

3. 用語及び定義

この仕様書で用いる主な用語及び定義は、JIS Q 13485 及び ISO 17511:2003 によるほか、次による。

3.1 遺伝子型判定用DNAチップ

DNA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SNPs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。遺伝子型判定用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・判定するものをいう。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塩基程度のオリゴデオキシヌクレオチドプローブを基盤上で重合、もしくは重合したプローブを基盤に貼り付けたものなどがある。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蛍光測定や電気化学的手法などによって検出する。

3.2 SNP

Single Nucleotide Polymorphism（一塩基多型）の略語。DNA塩基配列の違いによる多型のことを指す。

4. 評価方法

DNAチップを用いた医療用診断機器の評価方法は、次による。また、DNAチップを用いた医療診断装置の原理、構造等を附属書Aに示す。

4.1 塩基配列決定法との比較による評価

- a) 塩基配列決定法との比較は、原則として目的遺伝子を PCR 法によって増幅し、PCR 増幅産物から直接サイクルシーケンス法によって塩基配列を決定する方法（ダイレクトシーケンス）で行う。また、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。

備考：塩基配列決定法以外の比較方法として TaqMan 法、Invader 法、SnaPshot 法、MassARRAY 法、Pyrosequencing 法等を用いることができる

- b) 両者の一致率を遺伝子型毎に検討することが望ましい。
c) 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）

4.2 データ解析及び解析ソフトに関する評価

- a) 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。また、データ処理及び解析ソフトは、詳細を記したソフトウェア説明書を作成することが望ましい。
b) 失敗事例（遺伝子型の判定不能、器具の故障、試薬の不具合等によるもの）に関しても分析することが望ましい。
c) 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。

4.3 有意性の検定に関する評価

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、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。

-複数の操作者がいる、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。また、標準物質については附属書 B による。

4.4 データの管理に関する評価

測定の生データは、原則としてイメージファイルで保存すること。また、データベースは、リレーショナルデータベースを導入すること。また、データはデータベース化すること。

なお、信号の検出・分析、データ保存には、プライバシーとセキュリティを十分に確保すること。

4.5 安全性に関する評価

検体からの感染等の危険性に対する対策を十分に講じること。

附属書A（規定）DNAチップを用いた医療診断装置の原理、構造等

序文

この附属書は、DNAチップを用いた医療診断装置の原理、構造等について規定する。

A 1 一般

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等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。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、CYP2D6）のSNP s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。

SNP s判定には大きく分けてミスマッチ法と塩基伸長法の2種類の使用方法が使用されているが、これらは測定原理が大きく異なり、精度に与える影響も異なっている。この附属書では、SNP s判定方法毎（ミスマッチ法、塩基伸長法及びその他の方法）に原理、構造等を規定する。

A 2 原理と構造

A 2.1 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等の出力信号を生み出す機構について技術的に検討する。

A 2.1.1 ミスマッチ法

複数のプローブに対して、塩基配列が一致する多型がハイブリする。そのスポット位置を検出（蛍光や電気化学信号）、あるいはハイブリ後にさらに増幅を掛けることで判定する方法。

A 2.1.2 塩基伸長法

変異手前までの共通プローブをハイブリさせた後に、異なった標識をおこなった変異部位の相補塩基を伸長させることにより、多型に応じた信号を検出し判定する方法。

A 2.1.3 その他の方法

ミスマッチプローブを用いた塩基伸長法。

A 2.2 チップと装置の構造

DNAチップについては、基板やDNAプローブ等チップを構成する主要素の仕様や形状・サイズ等についても検討する。また、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、機能の概略等について検討する。

A 3 方法

A 3.1 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。検出方法ごとに必要な各種前処理方法が存在するため、これらについて記述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。

A 3.2 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、機械動作機構等は、各機構の動作、性能及び役割を技術的に評価することが望まれる。

A 4 特異性、感度、ダイナミックレンジ及び再現性

A 4.1 特異性

特異性は、塩基の判定確度と同時に、ホモ／ヘテロの判別精度も要求される。アルゴリズムにより判定する場合と、シグナルの差で直接判別する場合が存在する。それぞれの場合での特異性の検出特異性の基準が必要である。

他の手法の解析によって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こと。検査するサンプルは、可能な限り、対象となるすべ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。

対照となる実験として、本体の規定の4.に規定されている双方向のDNAシーケンシングの結果を利用することが望ましい。もし、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。

A 4.2 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ること。この場合のDNA濃度は、抽出時のDNA濃度、検出時又は増幅後のDNA濃度のいずれかを明確に記述する必要がある。

A 4.3 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。

- a) 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。
- b) 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。
- c) 検査するサンプルを用いて、有意な再現性を統計学的に判断できること。
- d) 複数の作業場で、3箇所以上の施設で実施すること。
- e) 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。
- f) 複数の製品ロット及び複数の器具を使用すること。

A 4.4 検査の品質管理

適切な陽性コントロール及び陰性コントロールを設け、各種コントロールの意義や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ること。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こと。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。

A 4.5 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おとすべき操作環境・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。また、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。さらに、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ること。

A 5 必要とする検体・サンプル、サンプルの前処理・保存、試薬等

A 5.1 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。

A 5.2 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。

A 5.3 サンプルの保存

検体、精製DNA、増幅DNA、後処理後DNA等すべての段階のサンプルについて、保管方法及び輸送方法を検討すること。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。

A 5.4 試薬

DNAの抽出・検査等各工程で使用される試薬について、その種類・濃度等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。

A 5.5 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。

A 6 ソフトウェア

A 6.1 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、わかりやすく解説すること。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ること。

A 6.2 遺伝子型判定アルゴリズムの原理と概要

遺伝子判定アルゴリズムは検出方法（ミスマッチ法、1塩基伸長法、その他）によって大きく異なる。そのため、各々の検出方法に合わせたアルゴリズムの設定が必要であり、以下の内容もそれぞれ分けて考える必要がある。

遺伝子型判定アルゴリズムについて検討する際、遺伝子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。

A 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、検査プロトコル並びに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。

A 8 品質管理

A 8.1 DNAチップ

保存方法、保存期間、安定性等、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（JIS Q 13485）等の製造管理や品質マネジメントシステムにしたがって運営することも検討することが望ましい。

A 8.2 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（JIS Q 13485）等の製造管理や品質マネジメントシステムにしたがって運営することを検討することが望ましい。

附属書B（規定）標準物質

序文

この附属書は、仕様書における有意性の検定に関する評価に用いる標準物質について規定する。

B.1 目的

遺伝子型判定用DNAチップ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。

B.2 外部参照物質に求められる要件

DNAチップ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。

B.2.1 外部参照物質の選定

a) 一次標準品の選定

当該開発品が検出対象とするSNPの両対立遺伝子のホモ型・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DNAサンプルを使用することを推奨する。ただし、出現頻度が稀な対立遺伝子のホモ型については必ずしも準備しなくてもよい。

b) 二次標準物質の選定

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けば良い。全配列長等の仕様は被評価

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、制限酵素等、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。

B.2.2 外部参照物質の管理

a) 品質管理

一次標準品は選定時にDNAシーケンシング等の方法によって配列を確認する。一次標準品を細胞培養等によって複製する場合は、複製ロット毎に遺伝子配列の確認を行うことによって相同性を担保する。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。

b) 純度

DNAの合成については、ホスホロアミダイト法等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、電気泳動法によって確認する。

c) 濃度単位

外部参照物質を感度試験に用いる場合には、核酸定量法によって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。なお、核酸定量は吸光度法（OD260）によって実施する。

B.2.3 外部参照物質の入手

CDCのGenetic Testing Reference Material Coordination Program（注1）においてreference materialとして確立された細胞株を、国内公的機関、例えば独立行政法人 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。なお、ヒトゲノムDNA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。

注1） 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。）

4. まとめと今後の課題

本事業では、合計2回のTS原案作成委員会を開催し、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、国内外の開発動向に関する情報交換と関連団体の活動の紹介を行ない、バイオチップコンソーシアム（JMAC）を始めとして、バイオインダストリー協会（JBA）、化学技術戦略推進機構（JCII）、日本臨床検査標準協議会（JCCLS）などの活動状況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、標準化を進める最初のステップとして、標準仕様書（TS）原案の作成を進めた。実質半年間の活動でこれだけの成果を得ることができたのは、年度末の多忙な時期にも関わらずTS原案の作成に多大な時間を割いていただいたTS原案作成委員会委員のお陰である。また、単なる助言にとどまらず、詳細な訂正や形式・前例について指導をいただいた日本規格協会と産総研工業標準部の貢献も大きい。加えて、本事業の事務局スタッフの支援無しには本事業は達成できなかった。ここに謝意を表する。

今後、診断用DNAチップの標準化に関して検討が必要な項目を、以下に挙げる。

- (1) 標準プロセスの確立：遺伝子抽出後からDNAチップから生データが出力されるまでの標準プロセスを確立する。データ解析では、ノーマライズ手法などの概念を固める。
- (2) 標準プロセス評価方法の確立：臨床サンプルのサンプリング、血液や組織から遺伝子抽出のプロセスの全プロセスをカバーする評価法を確立する。そのためには、データ解析、および臨床現場での判定レポートを出すためのソフトウェアなどの開発が必要になる。
- (3) 薬事申請までのシミュレーションに基づく標準化プロセスの検討：実用的な遺伝子診断キットを想定し、疾患患者を対象にした臨床研究に使用でき、体外診断薬としてDNAチップを薬事審査まで持っていく過程をシミュレートする。

以上の項目について、関連企業団体などと連携して国際規格案を作成し、TC212（臨床検査及び体外診断検査システム）へ提案できる内容を詰めることが次の段階として必要である。

また、昨年度の報告書にあるように、遺伝子型判定用DNAチップに関連する動きはガイドラインや薬事申請などの面で先行しているが、遺伝子発現プロファイリングを基礎としたDNAチップについても、すでに米国では認可されており、診断用DNAチップも新しい段階へと進みつつある。FDAはすでにDNAチップ（及びRT-PCR）を利用した乳癌の転移リスク判定法に関してガイダンスを発表しており、今後、このタイプのDNAチップについてガイドラインの策定と標準化が必要になると考えられる。

参考資料

1. テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）T S原案作成委員会概要

1.1 第1回T S原案作成委員会（準備会）

日時 平成20年2月8日（金）15：00～17：00

場所 東海大学校友会館霞が関ビル33階「霞の間」

- (1) 事務局挨拶
- (2) 委員の紹介
- (3) 座長選出
- (4) 配布資料確認
- (5) 議 事

1) 本年度ガイドライン事業の説明

- ・FDA動向、MAQCプロジェクトの紹介
- ・DNAチップの将来、国内外の企業や団体による開発例

DNAチップの将来的な使用形態について説明。54の肺転移マーカー遺伝子を用いたクラスター解析例の紹介。企業による開発の例の紹介。ロシュのAmpliChip CYP450。オランダAgendia社のMamaPrint。東芝、東レ、プレジジョン・システム・サイエンス社の例を紹介。バイオチップコンソーシアムのDNAチップの標準化事業、化学技術戦略推進機構（J C I I）の核酸解析システム開発プロジェクトを紹介。

- ・DNAチップ開発ガイドライン事業について

経済産業省と厚生労働省が連携し、平成17年度から「医療機器に関するガイドライン作成のための支援事業」を行うことで、本事業を開始。平成18年度は、合計5つの分野についてガイドライン策定事業を進めた。昨年度議論した内容は、ガイドラインとして経済産業省にて公開した。経済産業省ガイドライン「遺伝子型検定用DNAチップに関して」のガイドライン、厚生労働省の評価指標の説明（厚生労働省パブリックコメント「DNAチップの評価指標」）。今年度は、ガイドラインの普及活動として、標準化を推進する。

2) DNAチップ開発・標準化動向説明

2.1 JMAC（バイオチップコンソーシアム）の活動紹介

- ・設立の目的、組織構成、WG活動の内容

コンソーシアムには現在は70社が参加。3つのWGが連携。学会、企業、産総研とも連携。WG1は事業企画を推進。新しい市場の発掘を進める。WG2では、信頼性を保証するために、データの品質の基準を定める。何が測定のばらつきに影響を与えるのか検討。標準物質が必要。較正方法、評価方法を検討。WG3では対外連携が活動目標。

2.2 JBA（バイオインダストリー協会）及びJCII（化学技術戦略推進機構）活動紹介

・JBA標準化事業の経緯

平成17年～平成19年、遺伝子情報解析データの信頼性・互換性について調査研究。

・DNAチップ標準化の必要性

プロファイリングを中心として検討。測定データの精度の向上、互換性の向上、それから検体RNAの質の保証とその標準化が必要。実験プロトコールの標準化、核酸標準物質の整備、プローブ設計を提言にまとめた。RNA検体の質の保証と実験のプロトコールの標準化が取り組むべき課題。RNA標準物質、参照物質の開発が必要。RNAの質の保証、実験プロトコールの標準化。核酸の標準物質の整備。

・JCIIの事業について

平成18年度からRNA解析システム分科会を開催。健康・予防を目指した核散解析システム開発プロジェクトを考えている。

2.3 JCCLS（日本臨床検査標準協議会）活動紹介

・JCCLSの組織の概要

行政機関が9機関、専門学会などが31団体、試薬・装置メーカーが46社で構成。遺伝子検査標準化検討専門委員会で臨床検査として遺伝子検査を行うために必要な、品質に関する標準化作業を開始。品質に関する中身を、日本としてOECDをベースにして作る作業をする。遺伝子検査のための試料の取り扱い方を検討する。関係機関から出ているプロトコールを整理し、まとめる（遺伝子関連検査現状マップ参照）。

・外国のガイドラインについて

アメリカとかOECDは簡単な図で全部集約されるガイドラインができています。検査に関する試料の取り扱い方から測定、それから報告まで一貫した形のガイドラインを作る作業が必要。

3) JIS-TSに関する説明

4) TS作成分担について

TS素案を作成した。「適用範囲」の例として、「医療用DNAチップの品質管理」、「医療用DNAチップの安全性」、「標準プロトコール、あるいは標準物質」がある。「引用規格」は関連する規格を日本規格協会のデータベースで検索した。「用語及び定義、略語」は、ガイドライン、あるいは用語集などを参考にして書いた。「一般原則」はガイドラインから項目を引用した。装置、方法と標準物質の3つある。「DNAチップの解説」は、ガイドラインから該当する文章を引用した。

（素案に関する議論）

・DNAチップに対する標準化の対象

今回検討するJIS-TSは医療機器として取り扱う。

・TS素案の内容

素案は測定法として標準化を図るべきで、測定方法、機器のスペック、製品規格などに分ける必要がある。産業界としては測定規格が望まれる。

1.2 第2回TS原案作成委員会（準備会）

日時 平成20年3月6日（木）15:00～17:00

場所 オフィス東京L4会議室

- (1) 事務局挨拶及び配布資料確認
- (2) 前回議事録の確認
- (3) 新委員の紹介
- (4) 配布資料確認
- (5) 議 事

(記載内容に関する検討)

- ・TS素案は「まえがき」、「タイトル」、「適用範囲」、「引用規格」、「用語及び定義」、「評価法」とした。
- ・ガイドラインをベースにして、それを越えないということを前提とする。
- ・試料の前処理は自動化について現象だけの記載となっている。将来、臨床検査、医療に用いられる装置やシステムの開発では前処理の内容が重要となる。
- ・装置の必要条件に関するだけを入れたガイドラインを作り、実際の病気の診断や判定に言及しない。

(チップと測定装置)

- ・適応範囲は、DNAチップを用いて遺伝子型を判定する医療診断装置を開発するにあたって、その装置の評価法に関するガイドラインについて規定する。
- ・安全性についても言及する。
- ・臨床の内容は記載しない。

(標準物質)

- ・標準物質というのは1つの柱で非常に重要なので、項目の1つとして独立させた。TSという文章の中でそれほど重みを持たないのであれば簡略化して、評価法の一部としてもよい。

2 関連文献、調査資料

2.1 第1回TS原案作成委員会参考資料一覧

資料1：本年度ガイドライン事業の説明

資料1-1：本年度ガイドライン事業の説明

資料1-2：経済産業省ガイドライン

資料1-3：厚生労働省パブリックコメント

資料2：JMAC活動紹介、JBA及びJCII活動紹介、JCCLS活動紹介

資料2-1：JMAC活動紹介

資料2-2：JBA及びJCII活動紹介

資料2-3：JCCLS活動紹介

資料3：JIS-TSに関する説明

「TS/TR制度について」、「TS（標準仕様書）、TR（標準情報）公開までのフロー」及び「技術ガイドラインTS作成の手順」

資料4：TS素案

資料5：関連するJIS及びISO資料

資料5-1：規格番号 ISO 13485:2003

標題 Medical devices – Quality management systems – Requirements for regulatory purposes 「医療用具–品質マネジメントシステム–規制目的のための要求事項」（日本規格協会）

資料5-2：規格番号 JIS Q 13485:2005

標題 「医療用具–品質マネジメントシステム–規制目的のための要求事項」（日本規格協会）（ISO 13485:2003 の日本語訳）

資料5-3：ISO 19001:2002

In vitro diagnostic medical devices — Information supplied by the manufacturer with in vitro diagnostic reagents for staining in biology 「体外診断用医薬品・医療機器 – 生物学における対外診断用染色試薬に対して製造業者により提供される情報」（日本規格協会）

資料5-4：規格番号 ISO 15193:2002

標題 In vitro diagnostic medical devices — Measurement of quantities in samples of biological origin — Presentation of reference measurement procedures 「体外診断用医薬品・医療機器 – 生物試料の定量測定における基準測定操作法の提示」（日本規格協会）

資料5-5 : 規格番号 ISO 15194:2002

標題 In vitro diagnostic medical devices — Measurement of quantities in samples of biological origin — Description of reference materials 「体外診断用医薬品・医療機器-生物試料の定量測定-標準物質の記述」 (日本規格協会)

資料5-6 : 規格番号 ISO 17511:2003

標題 In vitro diagnostic medical devices — Measurement of quantities in biological samples — Metrological traceability of values assigned to calibrators and control materials 「体外診断用医薬品・医療機器-生物試料の定量測定-校正物質と管理物質の表示値の計量学的トレーサビリティ」 (日本規格協会)

資料5-7 : JIS T 10993-1:2005 (ISO 10993-1:2003 の翻訳)

Biological evaluation of medical devices — Part 1: Evaluation and testing
医療機器の生物学的評価-第1部: 評価及び試験

2.2 第2回TS原案作成委員会参考資料一覧

資料1 : 第1回TS原案作成委員会(準備会)議事録

資料2 : TS素案(第2版)

資料3 : 経済産業省ガイドライン(前回配付資料1-2)

資料4 : 関連するJIS及びISO資料

資料4-1 : 規格番号 JIS Q 13485:2005 (前回配付資料5-2)

標題 「医療用具-品質マネジメントシステム-規制目的のための要求事項」 (日本規格協会) (ISO 13485:2003 の日本語訳)

資料4-2 : JIS T 10993-1:2005 (ISO 10993-1:2003 の翻訳) (前回配付資料5-7)

Biological evaluation of medical devices — Part 1: Evaluation and testing
医療機器の生物学的評価-第1部: 評価及び試験

資料4-3 : JIS Z 8071:2003

高齢者及び障害のある人々のニーズに対応した規格作成配慮指針

Guidelines for standards developers to address the needs of older persons and persons with disabilities

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

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

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康人及び患者であり、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、治療が行われない可能性が高まり、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るべきである。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おとすべき操作環境・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られる。

- 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、「3.5 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

- ・測定の実データは、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相同性を担保する。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、例えば産業技術総合研究所が 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 宰	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

2.4 第1回TS原案作成委員会事務局説明資料（抜粋）

平成19年度 DNAチップ開発ガイドライン 第1回TS原案作成委員会（準備会）

「DNAチップ開発ガイドライン 事業について」



2008年2月8日

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。

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

PhaseI: 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

PhaseII: 分類予測

2006年9月～2008年9月(予定)

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
- ラットのトク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

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 ^a	Number of test sites	Number of samples	Number of replicates	Total number of microarrays ^b	
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 ^c	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 単色型プラットフォーム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²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).

MAQCにより検討されたDNAチップの再現性

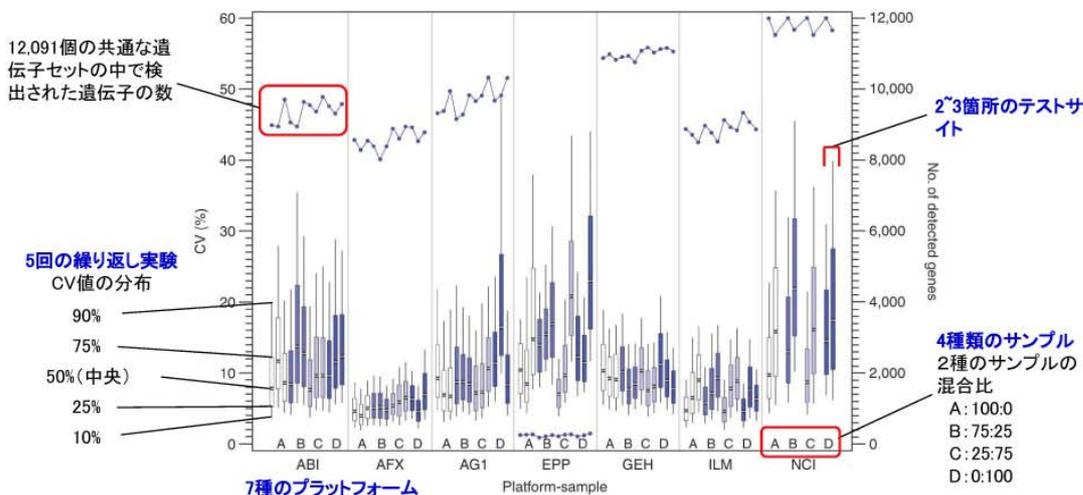


図1 それぞれの検査現場における発現シグナルの反復性。単色型プラットフォームの場合、同じサンプル型の現場複製間の発現シグナル値のCVは、検出された遺伝子全てについて算出した。これらの繰り返し実験のCV分布は、各マイクロアレイ・プラットフォームについて、一連の12個のヒゲ付きの箱で示され、3箇所の検査現場における4つのサンプルタイプそれぞれにつき1つである。この図は、サンプルの複製を識別できるように、サンプルA(白色)、サンプルB(薄青色)、サンプルC(薄紫色)、サンプルD(濃青色)といった形で強調されている。3箇所の検査現場のプラットフォーム解析から得られた結果を示す12個のプロットは、左から右へ向かって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 Cy_3/Cy_5 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に示すの名称に従って示した。

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

診断用DNAチップの開発動向1

ロシュがP450の型判別DNAチップを体外診断薬として申請

ロシュ・ダイアグノスティクス(ロシュ・ダイア)は、薬物代謝酵素であるシトクロムP450の型を調べるDNAチップ「AmpliChip CYP450」の体外診断薬としての申請を2月5日に行っていたことをこのほど明らかにした。

ロシュ・ダイアが申請したシトクロムP450型判別DNAチップは、スイスRoche Diagnostics社と米国Affymetrix社が共同開発した製品で、シトクロムP450の2D6の32種類の多型と2C19の2種類の多型の合わせて34種類の多型を判別できるもの。研究用試薬としては2006年5月に発売していた。



IVDMIAデバイスがFDAから初承認

DNAマイクロアレイベースの乳がん再発予測検査 MammaPrint (オランダAgendia社)がFDA承認を得た(2007年2月6日)。FDA承認を得た初のIVDMIAデバイスとなった。



2007/06/15

東芝ら3社、医療用DNAチップを薬事申請

第一化学薬品と東芝、東芝ホクト電子は、共同で開発してきたDNAチップの体外診断用医療品製造販売承認申請(以下、薬事申請)を2007年5月31日に行った。子宮頸がんの原因であるHPV(ヒトパピローマウイルス)の型を判別できる。DNAチップの量産ラインの整備は完了しており、申請が承認されれば直ちに製品化する。承認までには「最短でも1年がかかる」(第一化学薬品)とした。



DNAチップカセット



医療用DNA検査装置

診断用DNAチップの開発動向2

2005年12月24日

癌の治療方向を高精度に診断できるDNAチップを開発

京都大との連携でテーラーメイド医療を一気に加速

東レ株式会社(本社:東京都中央区、社長:榊原 定征、以下「東レ」と)と国立大学法人京都大学(京都府京都市、総長:尾池和夫、以下「京都大学」)医学部及び薬学部は、このたび、東レが開発した高性能DNAチップ基板と京都大学の高度な医療・解析技術を組み合わせることにより、癌、非癌を95%以上の高い確率で判別できるだけでなく、治療方針に大きな影響を与える癌の性質(転移性、抗癌剤の有効性など)を高精度に判別できる診断チップの開発に成功致しました。本診断チップは、受診者、患者のQOL向上に大きく貢献するものと期待されます。

2005年7月4日(プレジジョン・システム・サイエンス プレスリリース)

アレイ用サンプル前処理装置の自動化・標準化

ポストゲノム研究の一端を担うマイクロアレイ技術は、創薬開発、疾病の診断法や予防法の開発のため遺伝子の発現や変異、多型性などの同時解析に非常に有用な技術として普及しています。しかし、マイクロアレイ解析に至るまでのサンプル調製の処理工程は、煩雑で長時間を要するため、自動化・省力化のニーズが高まっています。

当社は、サンプル調製の標準化、ならびに省力化による研究者の効率の向上を目的とし、マイクロアレイ解析に必要なサンプル調製の自動化を実現しました。

Magtration 12XPでは、マイクロアレイ解析までの基本手法であるcDNA、cRNAの合成、ならびにMagtration®を用いた細胞・組織からのTotal RNA抽出、及び合成反応後のcDNA、cRNA精製を自動化しました。



2007年9月19日

日本ガイシ株式会社 低価格DNAチップを開発

日本ガイシ株式会社(社長:松下 篤、本社:名古屋市)は低価格で遺伝子解析が可能なDNA多検体チップを開発しました。1検査あたり千円程度という低コストを実現し、今後進展が期待される遺伝子の目的別研究、さらには診断などの産業応用に向けて、コストパフォーマンスの高いDNAチップの提供が可能になりました。

開発の背景:これまで遺伝子解析の市場では、数万種類の遺伝子情報を網羅的に解析・研究することが主流でした。そのため、DNAチップは膨大な遺伝子情報を搭載したものが用いられ、1検査あたり数万円~10万円ほどかかるのが通例でした。今後、遺伝子研究の中心は、遺伝子を目的別に絞り込んだ数百~数千種類の解析に移ると予想され、そうした市場では、よりコストパフォーマンスに優れたDNAチップの実現が求められています。



バイオチップコンソーシアム(JMAC)

ホームページ: <http://www.jmaqc.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、財団法人かずさディー・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力を図り、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

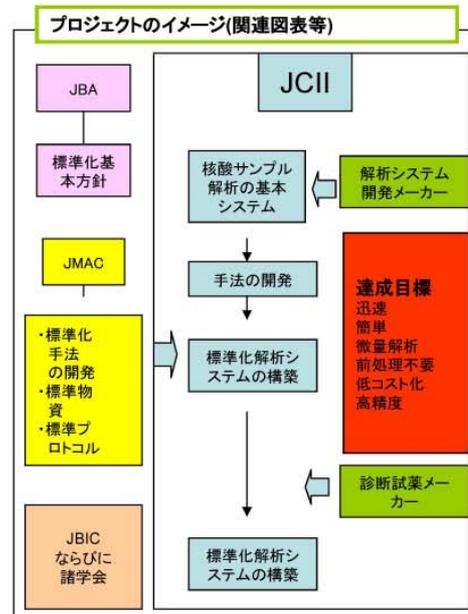
DNAチップ業界団体の動向

健康・予防を目指した核酸解析システム開発プロジェクト

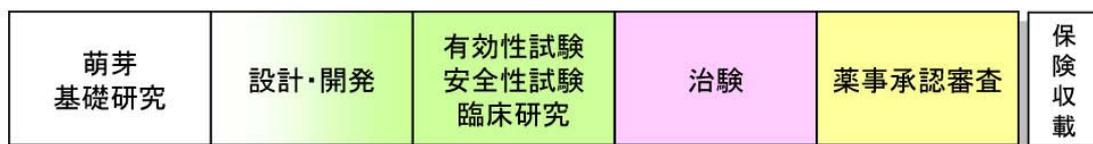
健康・予防医療の高度化を目指し、遺伝子診断の臨床応用技術の研究開発が急速に進んでいる。特にDNAマイクロアレイは安価かつ同時に多くの情報を得られることから診断利用が検討されてきているが、もともとデータの誤差をうむと考えられる核酸の調製については従来から手作業が主であり、調製に関する標準化および自動化のための装置・試薬の開発および標準化(JIS化、ISO化)が危急の課題である。この開発を行うことにより、DNAマイクロアレイ等を用いた健康・予防医療の市場創生を推進する。



(財)化学技術戦略推進機構(JCII) RNA解析分科会



開発から普及までのプロセス(医療機器)



時間の短縮

厚生労働省・審査機関

第3者認証機関、認証基準、承認基準

(承認前例の無い新しい医療機器には適応できない)

経済産業省と厚生労働省の連携(平成17年度から)
「医療機器に関するガイドライン作成のための支援事業」

成果の普及活動

平成18年度に終了した課題に関して成果の普及活動を実施する。

- ・体内埋め込み型能動型機器(高性能人工心臓システム)
- ・テーラーメイド医療用診断機器(DNAチップ)

- ・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

この報告書は、平成19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)
DNAチップ開発ガイドラインTS原案作成委員会
準備会報告書

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.meti.go.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@aist.go.jp