

平成22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23年3月

独立行政法人 産業技術総合研究所

平成22年度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名簿

（敬称略、五十音順）

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	株式会社東芝 ディ스플레이部品材料統括部 新デバイス開発センター グループ長
林 慎一 （座長）	東北大学大学院医学系研究科 教授

開発 WG 事務局

木山 亮一 （独）産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門 主任研究員

片岡 正俊 （独）産業技術総合研究所 健康工学研究センターバイオマーカー解析チーム
グループ長

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 委員会 開催日

第1回開発 WG 委員会 平成22年10月4日

第2回開発 WG 委員会 平成22年11月29日

第3回開発 WG 委員会 平成23年2月14日

目 次

1. 「テーラーメイド医療用診断機器分野」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分野」における開発ガイドライン策定事業の目的	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	3
1.3 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	25
1.4 米国 FDA による DNA チップに関する規制	31
2. ガイドラインの検討過程	66
3. ガイドラインの検討結果	75
遺伝子発現解析用 DNA チップ開発ガイドライン 2010(案)	
4. ガイドラインの英語版	83
5. 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	84
5.1 実験目的	84
5.2 実験方法	84
5.3 実験結果	85
5.4 考察	87
5.5 参考文献	88
6. まとめと今後の課題	89

参考資料

1. 「テーラーメイド医療用診断機器分野」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分野」における開発ガイドライン策定事業の目的

本「テーラーメイド医療用診断機器分野」は、第4回次世代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。

本開発ガイドライン策定事業の目的は、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。

「テーラーメイド医療用診断機器分野」における開発ガイドライン策定事業は、診断用DNAチップを主体にしたテーラーメイド医療用診断機器を対象に開発ガイドラインを策定する事業である。これまでに、平成18年度、平成19年度、平成21年度に事業を行い、平成22年度は平成21年度の継続として事業を進めた。

遺伝子診断用DNAチップとしては、薬剤代謝能に関係する多型を判定することで患者に投与する薬剤の代謝速度を診断する「遺伝子多型検定用DNAチップ」と、例えばがん細胞における遺伝子発現を解析することで原発がんや悪性度・進行度の判定や薬剤抵抗性の判定などをもとに診断を行う「遺伝子発現解析用DNAチップ」に大きく分けることが出来る（図「遺伝子診断用DNAチップの例」参照）。前者は、2004年（平成16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）社が薬剤代謝能判定用DNAチップ（商品名：AmpliChip CYP450）があり、診断用DNAチップとして初めて米国FDA（アメリカ食品医薬品局）の承認を得た。一方、後者は、Agendia社の乳癌転移リスク評価のためのDNAチップ（商品名：MammaPrint）があり、2007年（平成19年）2月に米国FDAによりIVDMIA/IVDMIA（In Vitro Diagnostic Multivariate Index Assay：体外診断用複数指標測定法）として承認された。

このような背景のもと、平成18年度には、各学会、企業、大学・公的研究機関を代表して合計7名の委員により検討を行い、開発ガイドライン案を策定し、合同検討会と経済産業省の承認を経て、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（ジェノタイピング）検定用DNAチップに関して-」の公表に至った。

平成19年度は、開発ガイドライン普及活動として、企業の理解を深め、さらに開発への利用を促すために、標準化の活動を進めた。具体的には、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、知財、規格、あるいは行政にかかわる専門家が参加する委員会を開催して標準仕様書（TS）原案の検討と作成を行った。

その間、我が国においても国内外の企業から遺伝子型検定用 DNA チップの薬事承認申請及び厚生労働省による承認が続いたことから、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だ。

さらに、もう一つのタイプの遺伝子発現解析用 DNA チップについても薬事申請の動きがあり、また、それ以外の IVD/MIA 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 年度に、新たに遺伝子発現解析用 DNA チップに関するガイドライン策定事業を開始した。本年度（平成 22 年度）は、平成 21 年度から継続して「遺伝子発現解析用 DNA チップ」に関するガイドライン策定事業を行なった。その成果を報告する。

遺伝子診断用 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(薬事承認)
- ・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



- ・ 2007 年 5 月「ヒトパピローマウイルス型判別用 DNA チップ」の薬事申請(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)
- ・ 2009 年 7 月に承認(クリニチップ HPVとして販売)
- ・本ガイドライン事業が申請に貢献

遺伝子発現解析用 DNA チップ

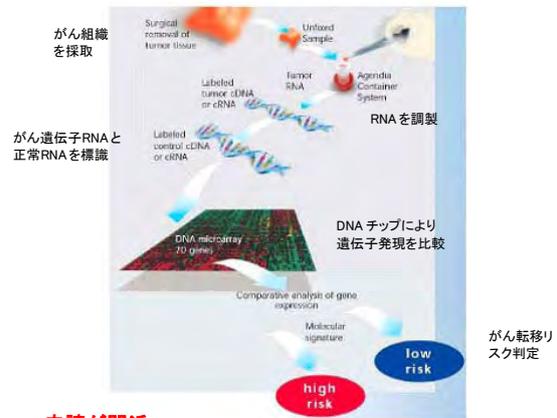
- ・遺伝子の発現解析を行う DNA チップ
- ・乳がんの転移リスク判定など(FDA 承認)
- ・経過判定など何度も使用する
- ・ IVD/MIA (体外診断多変指標測定)として有効
- ・がんの遺伝子発現解析に特に有効

特徴

MammaPrint (蘭国 Agendia 社): FDA 承認(2007 年 2 月 6 日)

技術・製品例

- ・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、遠隔転移リスクをスコアで示す
- ・ FDA 承認を得た初の IVD/MIA デバイス



申請が間近

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

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係る企業の開発動向、国内外のガイドラインや標準化動向などについて、特定非営利活動法人バイオチップコンソーシアム（JMAC）に調査を依頼した。その主たる調査結果を以下に示す。

1.2.1 背景と経緯

(1) ジェノタイピングから発現解析へ

平成 18 年度、遺伝子型判定用 DNA チップについて開発ガイドライン、あるいは評価指標が取りまとめられた。それは 2004 年にロシュ・モレキュラーダイアグノスティクス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、アンプリチップ CYP450 について米国 FDA（アメリカ食品医薬品局）の承認を得たことが背景にある。その後、トポイソメラーゼ I 阻害剤であるイリノテカンの副作用と UGT1A1 遺伝子型との関係性が明らかにされるなど、薬剤の効果や副作用を事前に遺伝子型から予測する遺伝子検査が現実のものになりつつある。

2007 年 2 月には、乳がん予後診断薬としてオランダ Agendia 社 MammaPrint™ が FDA の承認を取得するなど、遺伝子型判定のみならず遺伝子発現解析チップも医療用診断機器として重要になってきた。Agenda 社の MammaPrint™ は乳がん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で、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ものである。2007 年 2 月、MammaPrint™ は世界に先駆けて、多数の遺伝子の多変量解析により 1 つの疾患について診断を行う、In vitro Diagnostic Multivariate Index Assay（IVDMIA）として FDA 初の承認を受けた。

患者の腫瘍からがんの種類を決定する遺伝子診断装置「Pathwork Tissue of Origin test」は 2008 年 7 月 31 日に FDA から IVDMIA 装置の第 2 号として承認された。この装置は、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ものである。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。

RT-PCR による発現解析検査も行われている。Oncotype DX™ は手術により得られた乳がん組織を検体として、21 種類の遺伝子（16 種類のよく知られたがん関連遺伝子と 5 種類の対照遺伝子）の発現量を RT-PCR（Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction）法を用いて測定し、Genomic Health 社独自のアルゴリズムにより再発スコア（Recurrence Score）を計算するもので、再発スコアは 0 から 100 のスケールで表現され、その値によって再発リスクが「低い」・「中間」・「高い」の 3 グループに分けられる。

我が国では、発現解析マイクロアレイの承認例はないが、ジェノタイピングチップとして、積水メディカル㈱は、㈱東芝と共同開発した国産初の DNA チップ「クリニチップ HPV」の製造販売が 2009 年 7 月 30 日付で厚生労働省から承認された。「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、子宮頸がん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 タイピング試薬である。遺伝子増幅法（LAMP 法）と電流検出型 DNA チップ法により簡便で迅速な検査（DNA 抽出から約 2.5 時間）を可能にしている。また、医療機関でも迅速診断が可能な電流検出型 DNA チップの診断薬と

しての商品化も我が国で初めてのもので、半導体企業が個別化医療の実用化の突破口を開いたといえる。

(2) 標準化の動き

このようなゲノム／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）を支援するため、各国で標準化の動きが見られるようになった。

米国では FDA の陣頭指揮のもと 51 の大学・企業等により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、フェーズ 1 として 1300 枚以上の DNA チップを用いたデータ取得とその解析により DNA チップ解析のガイドラインが開発された。2009 年に始まった MAQC-II では、36 組のデータ解析チームが 13 の評価項目について、6 つのデータセットを用いて 30,000 以上のモデルを作成して、大規模な遺伝子発現データから臨床的に有用な予測を行う方法の評価が行われた。

また、初の IVD/MIA である Agenda 社の MammaPrint™ 承認後、2007 年 5 月に「乳がん予後予測のための遺伝子発現プロファイリング試験システム」と題するガイドラインを産業界及び FDA 職員向けに発表、2007 年 6 月には「in vitro 診断用複数指標測定法」と題する産業界、臨床検査機関及び FDA スタッフ向けガイドラインが起草されている。その後、2007 年 8 月には産業界向けガイダンスとして、ファーマコゲノミクスデータ提出のためのガイドラインが出されている。

欧州でもキアゲン社を中心とする SPIDIA プロジェクトが 2008 年より開始され、前処理工程の標準化が検討されている。また、OECD では遺伝形質の分子遺伝学的検査のための GLP ガイドラインが 2009 年に策定されており、ISO/TC212 におけるヒト遺伝学的検査の国際標準化の動きもある。

(3) 遺伝子診断のためのゲノムバイオマーカーについて

近年、個別化医療を実現するサイエンスとして、PGx（Pharmacogenomics）という言葉が良く用いられる。PGx とは、Pharmacology（薬理学）と Genomics（ゲノム学）の造語で「薬理ゲノム学」と訳される。特定の疾患群に対して有効かつ安全な医薬品を探索・開発するために、ゲノム情報に基づいた薬物応答と、遺伝子を中心とする特定のバイオマーカーとの関係を解析するサイエンスである。

具体的には、特定疾患群の患者に共通な遺伝的特徴を把握して、その疾患に最適な薬剤を開発すること、あるいは、患者個々の遺伝的特徴の差異を把握して、個々の患者に最適な薬剤を開発することを目指し、さらには、個々の患者に最適な薬剤を選択し、最適な用法用量で投与すること（薬剤治療方針の決定）を目指すものである。このように生体内の生物学的変化を定量的に把握するため、生体情報を数値化・定量化した指標をバイオマーカーと呼び、それが遺伝子の場合には、ゲノムマーカーと呼ばれる。

ゲノムマーカーの測定手段を提供する定量 PCR やバイオチップは、治療薬の「選択」や「反応予測」などを行う体外診断薬として用いることができ、治療薬と並行して開発され、「コンパニオン診断薬」と呼ばれている。分子標的薬の普及や遺伝子診断の診断薬開発の発展に伴い、製薬企業では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ており、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。

FDA ではバイオマーカーを、以下の3項目に分けて管理している。

- ① 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、EMA の委員会で決定される。
- ② 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ケース。
- ③ Exploratory Biomarkers (Valid, non Valid) ;バイオマーカーの臨床的意義はサポートされる。バイオマーカー、そのアッセイ系はまだ検証されていない。

個別化医療（オーダーメイド医療・テーラーメイド医療）の増加に伴い、これらのバイオマーカーを利用した治療方法や医薬品だけではなく、体外診断用医薬品やコンパニオン診断薬に対しても、適切かつ迅速に審査・承認する基準を明確にする必要があるとして、承認審査基準とルール作りの必要性が議論されるようになってきている。

（参考資料）

<http://www.fda.gov/Drugs/ScienceResearch/ResearchAreas/Pharmacogenetics/ucm083378.htm>

(4) 今後の開発動向

個別化医療の進展を支えるもう一つの軸は分子標的薬である。分子標的薬とは、体内の特定の分子を狙い撃ちしてその機能を抑えることにより病気を治療する薬である。正常な体と病気の体の違い、あるいは癌細胞と正常細胞の違いをゲノムレベル・分子レベルで解明し、癌の増殖や転移に必要な分子を特異的に抑えたり、関節リウマチなどの炎症性疾患で炎症に関わる分子を特異的に抑えたりする薬である。

分子標的薬は、標的分子がわかっているだけに、投与前に遺伝子発現解析を含む検査により効果を予測できることが特徴で、今後開発が加速していこうと予想される。

(5) 文献調査

今後の動向を知る目的で、過去3年以内に発行された遺伝子発現の診断への応用について文献を調査した（期間：2008/02/13～2011/02/11）。

検索は以下の条件で行った：

・癌を特定したもの

“Gene expression” AND “neoplasms” AND “microarray analysis” AND “diagnosis” AND “humans”

・特に癌を指定しないもの

“Gene expression” AND “microarray analysis” AND “diagnosis” AND “humans”

癌を指定せずに検索された論文数は509件で、癌を指定すると、論文は307件であり、癌の診断を対象とした論文は約6割といえる。癌以外の論文としては、免疫を中心に、分化等の基礎、生活習慣病、循環器、損傷、移植等幅広い研究が混在していた。

癌について全体の MeSH タームから癌腫を大別すると、研究対象は幅広く、最も多い乳がんで 18%であった。マーケットとの関係も特に考えられなかった。

FDA ホームページからは、薬の安全性に関する検査用チップも今後ガイドラインを必要とする可能性が示唆されており、疾患や予後診断、薬効に加えて、安全性評価においてもバイオチップによる評価指標が求められると考えられる。

1.2.2 発現解析 DNA チップのガイドラインの必要性

(1) 企業ヒアリング

今回の調査では、国内企業に対するヒアリングを行い、発現解析マイクロアレイの実用化に向けた課題を整理するとともに、各国の標準化の動きやガイドラインに関係する活動を概説する。

① 調査概要

国内 DNA チップメーカーに対して、診断用発現解析 DNA チップの開発状況、申請において認識している課題について聞き取り調査を行った。その結果、診断用 DNA チップの実用化に際して、ガイドライン策定によってある程度の指針が与えられることにより、開発の加速、及び、申請・承認プロセスにおけるハードルの低減への期待が挙げられた。

そのため、MAQCをはじめとする米国における標準化及びガイドラインに関係する活動、欧州における OECD 等のガイドライン策定状況について調査を行った。

さらに、今後遺伝子発現解析用 DNA チップの対象となる可能性のある疾患、及びゲノムバイオマーカーに関する情報についてヒアリングを含めた調査を実施した。

② 国内 DNA チップメーカーに関する調査

診断に向けた DNA チップ開発、及び周辺技術開発を行っている国内メーカーに聞き取り調査を行い、開発状況、医療機器申請への対応、ガイドラインに関する評価と標準化項目について情報を取得し、実用化に向けた課題を把握した。

- ・聞き取り調査期間：2011年1月～2月
- ・質問項目：質問項目は以下の通りである。

現在のチップ開発状況

医療機器としての承認申請の予定・計画

医療機器申請で困っていること、又は医療機器申請を行わない理由

ガイドライン作成に関する評価

ガイドラインに記載して欲しい項目

ガイドラインに記載して欲しくない項目

ガイドラインへの期待

その他

・聞き取り調査対象企業

DNA チップメーカー：株式会社東芝、東レ株式会社、DNA チップ研究所、東洋製罐株式会社

DNA チップ周辺装置開発メーカー：横河電機株式会社、

DNA を用いたコンテンツ開発メーカー：株式会社エスアールエル

・各企業のチップ開発状況と発現解析チップに関する考え方

【株式会社東芝】

国産初の DNA チップ「クリニチップ HPV」の製造販売が 2009 年 7 月 30 日付で厚生労働省から承認された。「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、子宮頸がん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 タイピング試薬である。現在保険適用を申請中である。発現解析には興味を持っているが、定量的解析は現状では難しく、また市場も立ち上がっていないと考えている。

【東レ株式会社】

開発用途での一般への認知と実績を得るとともに、並行して毒性検査チップ等のカスタマイズへの対応を実施している。発現解析（mRNA、miRNA）チップの開発は高い技術水準が要求されることから、配列解析（変異検出、多型検出等）へ応用可能と考えている。

【DNA チップ研究所】

抗リウマチ生物学的製剤の薬剤効果判定用チップを開発中であり、高度医療として厚生省への申請を検討中である。

【東洋製罐株式会社】

環境検査として真菌検出用チップをテスト販売中。食中毒菌 7 菌種をタイピングにより同時同定できるチップである。発現解析チップについては関心を持っている。

【横河電機株式会社】

バイオチップ読取装置と集積型カートリッジを商品化に向けて開発中である。

【株式会社エスアールエル】

国内のチップ開発状況に関する情報を頂いた。実用化モデルとしては国内では現在 2 つのみ（千葉がんセンターの神経芽腫の予後予測チップ、及び東京医科歯科大学の CGH アレイ）である。

・調査結果のまとめ

【医療機器としての承認申請の予定・計画について】

タイピングチップとしては既に医療機器として承認を受け、保険収載を申請している企業もある。読み取り装置はクラス I 医療機器であり承認は不要と考えられる。しかし、発現解析チップに関しては承認例がなく、また、申請されたもの、申請される可能性のあるものもないことから、各企業は医療機器としての申請を視野にはいれているものの、なかなか具体的な計画の策定には至っていないのが現状である。

【医療機器申請で困っていること】

上記申請の予定や計画がない背景には、認可までのタイムスパンが読めず、他の製品開発とは状況が大きく異なり対応が難しいことがある。特に、遺伝子検査の基準がなく、世界で活用されるための判断尺度がないことがハードルと感じられている。また、保険点数の上限（2000点）の設定が採算面でのネックにもなっている。

【ガイドライン策定に関する評価】

ガイドラインに従って申請することにより許認可が加速されることを望んでいるが、ガイドライン策定の時期が遅れることにより、デファクトが出来上がって対応が困難になることも危惧している。また、ガイドラインには「あるべき姿」と実現可能性を勘案し、技術の進歩を妨げないような柔軟性のあるものを期待している。

【ガイドラインに記載して欲しい項目】

普遍的、一般的な必要要件（評価項目や手順）というのが各企業の一致した意見であった。再現性（実検体で再現する系であるか否か）が特に重要とする意見や、外部委託合成品（プローブ、標準物質等）の品質基準を求める意見、有効測定範囲、チップ品質の評価尺度やプロセス、レポートの記載項目など客観的に評価可能な項目が必要だとする意見もあった。

【ガイドラインに記載して欲しくない項目】

細やかな規程、絶対値、具体的な数値基準は不要とするのが各企業の一致した意見であった。厳しすぎる規程は参入障壁になりかねず、また、緩すぎる数値は今後の技術開発の意欲を阻むものとなりかねず、数値限定は求められていない。

【ガイドラインへの期待】

いずれの企業も、ガイドライン策定により、製造側の開発加速のみならず、審査側の審査期間短縮を期待する意見が多かった。

【その他】

発現解析用 DNA チップに関しては、その信頼性に疑問を持たれていた時期もあったが、最近のデータは品質の良さを証明するものが多い。DNA チップには、複数の検査を同時に実施できることによる経済効果や時間短縮といったメリットもある。サンプルの品質に加え、試薬や材料の品質管理も含めたガイドライン策定を期待する声が聞かれた。

また、遺伝子検査を自費診療で行うケースが増加し、先進医療から保険診療に移行するケースも見られる。検査の質をどのように担保するのが課題となってくるという意見もあった。

【ヒアリングのまとめ】

ヒアリングからは以下の傾向が見られた。

・発現解析チップでは定量性が求められるため開発が難しいと考えられている一方で、各社興味を持っており、2社が医療用チップを開発中である。

- ・医療申請は前例もなく、認可へのタイムスケジュールが立てにくいため、事業化のハードルとなっている。
- ・ガイドラインは一定の指針を与えるという意味で意義がある。ガイドラインに従って申請することにより、許認可が加速されることが期待されている。
- ・ガイドラインは今後の技術の発展を考慮し、詳細な規程ではなく一般的な必要要件をまとめて欲しい。

1.2.3 遺伝子診断に関わるガイドラインの現状

(1) 遺伝子発現 DNA チップの概要

・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等の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等が考えられる。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られ、そのプロフィ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。

・DNA チップの検出原理

DNA チップは、各種素材の基板の上に、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、もしくは張り付けたものである。また、これらを微小なビーズ上に固定したものなどもある。これらのプローブとサンプルとのハイブリダイゼーションの結果生じるシグナルをレーザー光や電気化学的手法等によって検出するものである。

従って、シグナル強度はハイブリダイゼーション反応で形成されるプローブとサンプルとの結合体の数を表し、プローブとして用いられるオリゴヌクレオチドの品質や基板上の結合密度等のチップ性能が大きく影響する。また、試薬に含まれる夾雑物がシグナル強度に影響する場合もある。蛍光測定の場合には、標識工程での効率も問題になる。

・遺伝子発現 DNA チップの解析プロセス

【測定前のプロセス】

RNA は DNA とは異なり不安定な物質であるので、検体採取の段階から保管・輸送に至るまで注意が必要である。たとえば、がん組織サンプルでは、がん細胞と周りの間質細胞が混在しており、

がん細胞が 90% 占めるサンプルと 10% のサンプルとの間には遺伝子の分布に大きな差があり測定結果の再現性に影響する。

検体からの RNA 抽出方法も様々であり、また保管状態によっても RNA の品質は異なる。抽出された RNA の量、品質（純度、完全性、夾雑物）、その評価法、保存方法等、測定に至るまでの前処理には様々な問題点がある。プラットフォームやプロトコルの精度が非常に高い場合でも、サンプルの RNA 品質の確保は重要な問題である。

【測定】

測定に用いられる DNA チップは測定解析装置とセットで使用され、性能を発揮する。チップに搭載されるプローブの品質や他のプローブとの相互作用等、チップの構成に関わる問題に加えて、品質管理方法、性能（正確性、精度、感度、再現性、特異性）等が検査結果に影響を与える。測定装置も、チップ同様、性能（正確性、精度、感度、再現性）が問題となり、その較正法、解析に使用したソフトウェアと妥当性についても検討が必要である。

【測定後のプロセス】

測定後のデータの判定、データの管理体制、データの保存期間等が検討の対象になる。

(2) ガイドラインに関する活動

ガイドラインに関する活動として、今回検討したガイドラインの一覧を示す。

【ガイドラインに関連する活動一覧】

地域	ガイドライン	時期	内容等
欧州	SPIDIA プロジェクト	2008-	前処理工程の標準化
米国	MAQC I & II	2005-	マイクロアレイ測定の標準化
	RT-PCR 用前処理ガイドライン	2005	Class II Special Controls Guidance Document; RNA Preanalytical Systems (RNA Collection, Stabilization and Purification Systems for RT-PCR used in Molecular Diagnostic Testing)
	IVDMIA ガイドライン	2007	In Vitro Diagnostic Multivariate Index Assays (IVDMIA)
	乳がん予後予測ガイドライン	2007	Class II Special Controls Guidance Document; Gene Expression Profiling Test System for Breast Cancer Prognosis
	PGx データ提出ガイドライン	2007	Pharmacogenomic Data Submissions — Companion Guidance
日本	遺伝子型検定用 DNA チップ（経済産業省）	2007	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 — 遺伝子型（ジェノタイプング）検定用 DNA チップに関して—

	遺伝子型判定用 DNA チップ (厚生労働省)	2007	次世代医療機器評価指標の公表について —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—
OECD	遺伝形質の分子遺伝学的検査の為に GLP	2009	Good Laboratory Practices for Molecular Genetic Testing for Heritable Disease and Condition
ISO	GMO 検出	—	Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products
	マイクロアレイ解析	2010—	NWIP-CD: General definitions and requirements for microarray detection of specific nucleic acid sequence

【各ガイドラインの規程領域】

地域	段階			
	サンプル	RNA (DNA)	測定	データ解析
欧州	SPIDIA			
米国			MAQC I	MAQC II
	Class II RNA Analysis (PCR)			
			IVDMIA	
	Breast Cancer Prognosis			
	PGxDS			
日本			遺伝子型検定用DNAチップ (経済産業省)	
			遺伝子型検定用DNAチップ (厚生労働省)	
OECD	GLP for for Molecular Genetic Testing			
ISO	Methods of analysis for GMO detection			
			NWIP	
	発現解析チップに直接関係	チップ測定を含まない	発現解析チップ利用を前提とせず	

【SPIDIA プロジェクト】

欧州で組織された SPIDIA プロジェクトは、環ヨーロッパ品質保証スキームとガイドラインの構築を目的として 2008 年に結成された 11 ヶ国 16 の組織 (7 企業、8 公的機関) によるコンソーシアムで 4 年間のプロジェクトである。

特に、in vitro 検査における測定前プロセスの標準化に焦点を置き、全血の前処理技術の改良と標準プロトコルの構築を行っている。2010 年の公表データ (AMP 2010) によると、磁気ビーズを使用したロボティックシステム (QIA Symphony™ SP) を用いることにより全自動での RNA 精

製と全血からの miRNA の同時抽出を可能にするプロセスを開発した。この際、miRNA の抽出量が最大のプロトコルでは、RNA の完全度 (integrity) の指標である RIN 値は必ずしも高くなく、RIN は miRNA を含む RNA の品質評価基準としては適切ではないという結論を得ている。

(参考資料)

<http://www.spidia.eu/about-us/partners/qiagen/>

http://biospecimens.cancer.gov/meeting/brnsymposium/2010/docs/olemuller%20SPIDIA_BRN_March25_2010_final.pdf

【MAQC プロジェクト】

・概要

MAQC (MicroArray Quality Control) プロジェクトは、疾患関連遺伝子の探索において、発現解析結果がプラットフォーム間で一致しないという課題に対して米国を中心に、FDA を始めとする 51 のチーム (公立研究所、企業、大学) が参画して行われた活動である。

・第一フェーズ

2005 年～2006 年までの第一フェーズでは、遺伝子探索研究で各プラットフォームの結果が一致し、生物機構の変化を遺伝子発現の差としてとらえるための留意点について検討するために、チップでの評価を行い、RT-PCR 等の他の評価技術との比較を行った。

その結果、通常行われている統計処理ではなく、フォールド・チェンジ法を用いることで一致度が改善することが明らかになった。また、ERCC (External RNA Controls Consortium) と共同開発した外部標準物質をスパイクインすることにより一致度が向上することも示された。

しかし、遺伝子発現データを元に個別化医療を推し進めるための診断や予後予測といった臨床応用にはまだ多くの課題があることが明らかになり、2006 年より第二フェーズが開始され、2010 年に報告書がまとめられた。

・第二フェーズ

第二フェーズでは、DNA チップを用いた「予測モデル」に関して様々なデータ解析法の性能と限界を検定することが狙いであり、個別化医療に利用するための遺伝子発現と遺伝子型判定のための DNA チップ解析に利用する「予測モデル」の開発と評価に関する「ベストプラクティス」のコンセンサスを得ることを目的とするものである。36 チームが 6 組の大きなトレーニングデータセットを用いて 18000 以上のモデルを作り、その中から 13 のエンドポイントの評価項目を開発した。

その結果、遺伝子発現ベースの臨床成績予測に使われている現在の手法は、ほぼ適切に使われているようだが、習熟度の違いの影響が大きいことが明らかになった。他のロバストな解析手法の実装も検討すべきである。

臨床的分類課題には、いくつかの予測困難な問題がある。それはあるデータセットで測定された mRNA の量がどれだけ特定の予測問題に有益かということに帰着してしまう。推奨するモデル作成手順は以下の通りである。

- ・ ステップ 1 (計画) : 最良の方法はないが、妥当な計画作成、適度なサイズと評価項目の複雑さ、適度なデータの標準化が重要である。
- ・ ステップ 2 (予備試験と内部検定) : 適度なデータサイズを目標にした 5 倍のクロスバリデーションを 10 回繰り返すような検定が妥当である。
- ・ ステップ 3 (本試験と外部検定) : トレーニングデータセットとバリデーションデータセットを入れ替えて評価することも重要である。

DNA 以外の、microRNA や蛋白質、代謝物のレベルなど、異なるタイプの生物学的データも臨床関連エンドポイントの予測に有用である。

・ 反響

MAQC の主論文によれば、MAQC II からの結論と提言は、網羅的な遺伝子発現解析の手法を評価する規制当局や、研究委員会、独立調査には役立つはずである。しかし、コンソーシアムは、このガイドラインは「一般的であり、かつ FDA による提出書類のための具体的な提言と解釈されるべきではない」と警告している。従って、この後 FDA がどのような判断を行い、審査基準に直接つながるような規定が出されることになるのか、様子を見ている段階なのではないかと推察される。

(参考資料)

Nature Biotechnology 24(9), 1115-1161, 2006

Nature Biotechnology 28(8), 827-838, 2010

Studying Bias, MAQC II Finds Multiple Factors May Affect Array Based Predictions (Genomeweb August 03, 2010)

(3) 主なガイドライン

【RT-PCR 用前処理ガイドライン】発行日 2005 年 8 月 25 日

・ 文書名

Guidance for Industry and FDA Staff ;

Class II Special Controls Guidance Document; RNA Preanalytical Systems (RNA Collection, Stabilization and Purification Systems for RT-PCR used in Molecular Diagnostic Testing) 2005

業界及び FDA 職員向けガイダンス

クラス II 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)

・ 概要

RNA プレアナリティカルシステムの用語は、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も含むことが可能である。

本ガイドラインでは、RNA の質が RT-PCR 診断検査の質に大きく影響することから、測定前のプロセスである RNA 採取、RNA 安定性、精製について、かなり具体的に、項目、内容、及び数値限定がなされている点が特徴である。

・記載項目

○検体採取パラメータ：血液検体採取量については標準採取量の 90-110%と規定し、ラベリングに記載した採取量を実証すること。その他の検体については、検体採取及び保存方法に関する選択内容を記録すること。

○RNA 収量；RNA 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求めている。

RNA の収量は Tris-Cl(pH 7.5)で希釈し、260nm の吸光度で示すこと。

○RNA の安定性；検体保存及び輸送に関する推奨条件（温度・時間の諸条件、凍結融解サイクルの回数において実施する RNA の分析）を提示すること、RNA の収量、純度、完全性のデータ、性能の許容範囲基準を明記すること。

○機器の安定性；RNA 採取・安定性・精製用システムの再現性を十分に検査することとし、試験は intra-assay inter-assay 及び total-assay の再現性、試料の数は 10 以上、試験場は 3 か所以上とすること、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 RNA 収量の再現性、繰り返し性を測定すべき等、詳細に規定している。

【IVDMIA ガイドライン】発行日 2007 年 7 月 26 日

・文書名

Draft Guidance for Industry, Clinical Laboratories, and FDA Staff

In Vitro Diagnostic Multivariate Index Assays

産業界、臨床検査機関及び FDA 職員向けガイダンス草案

In vitro 診断用複数指標測定法

・概要

In vitro 診断用複数指標測定法に関するガイダンスであり、in vitro 診断機器のクラスについての定義及び規制状況について規定している。特に、LDT(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)について詳しく記載されている。

・IVDMIA の定義

① 解釈機能を用いて複数の変数の数値を組み合わせ、一人の患者だけに関する特異的結果を生じさせ、これを疾患やその他の状態の診断、又は疾患の治癒、軽減、治療またや予防に活用する。

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。

医師は自分で結果の解釈をするのではなく、治療に必要な IVDMIA の結果の解釈を検査開発者から得る必要がある。

・ 記載項目

510 (k)、PMA の分類についての記載であり、ガイドラインとして参考になる記述は少ない。反響として、未だ定義が不明確であるという意見がある。

【乳がん予後予測ガイドライン】発行日 2007 年 5 月 9 日

・ 文書名

Guidance for Industry and FDA Staff

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

産業界及び FDA 職員向けガイダンス

クラス II 特別規制ガイダンス文書：乳がんの予後の為の遺伝子発現プロファイリング試験システム

・ 概要

乳がんの予後のための遺伝子発現プロファイリング試験システムをクラス II（特別規制）へ分類することを裏付けるための特別規制として作成されたものである。遺伝子発現プロファイリング試験システムとは、同義遺伝子の RNA 発現水準を測定し、この情報を統合して、従前に診断された乳がんの予後の支援となるシグネチャー（パターン又は指標）を得るための機器を指す。診断、あるいは治療法に対する応答の予測や検出、あるいは患者にとって最適な治療法の選定を意図するものではない。

市販前届出及びラベリングに関する製造者向けの勧告を提示しており、遺伝子発現マイクロアレイ評価における検体及び RNA の量と質、ハイブリダイゼーション反応時の工程管理、試薬の管理、再現性の評価等、マイクロアレイ反応全体の工程保証について記載されている。

・ 記載項目

適用範囲、健康へのリスク、機器の説明（使用目的、試験方法、試験アルゴリズム、試験結果）、性能特性（分析前因子、品質管理、分析性能、臨床的妥当性確認）、ソフトウェア、ラベリングについて記載されている。

試験方法；機器で用いる方法論について詳細に記載することが求められており、例えば、試験プラットフォーム、アッセイ要素、ハイブリダイゼーションの条件・指標、品質管理に関するパラメータ、キャリアオーバーの可能性の評価法、アッセイ制御因子（ハイブリダイゼーションの飽和水準など）等の記載がある。マイクロアレイに関しては、プローブの識別情報、特異性、正規化に使用される遺伝子、交差ハイブリダイゼーションの可能性、交差汚染の防止に関する内容、また前処理工程については、試料採取及び取扱方法や RNA 抽出方法、完全性確保のための方法、データ解析においては測定範囲、予後結果に至るまでの計算処理過程の記載が求められている。

試験アルゴリズム；成績尺度（独立的臨床データセットに用いる内部的妥当性確認及び外部的妥当性確認）及びそれらの取得方法に関する詳細な記述を求めている。

品質管理；管理対策においては、1) 試料/生検の質、2) RNA の質、3) 工程の品質に関する情報を提供すべきである。工程品質管理対策は、RNA ラベリング、増幅、ハイブリダイゼーション、スキャニング及び正規化を含む工程全体。

試料/生検；検体量の最低基準、標本中の腫瘍細胞の割合の最低基準、RNA の質の仕様（A260/A280、28S/18S、RNA の完全性の測定）、RNA 濃度の下限と上限等の記載を求めている。

特異性/干渉；プローブの交互汚染の防止、プローブの特異性、非特異的ハイブリダイゼーション及び交差ハイブリダイゼーションの可能性の評価の必要性に言及している。

【PGx データ提出ガイドライン】発行日 2007 年 8 月

・ 文書名

Guidance for Industry

Pharmacogenomic Data Submissions— Companion Guidance

産業界向けガイダンス

ファーマコジェノミックデータ提出に関して

・ 概要

新薬開発における DNA マイクロアレイを用いた臨床データ提出を念頭においたガイドラインで、その目的は診断用途ではなく、発現データの差異を評価することである。RNA の抽出から測定、発現量評価、遺伝子型データとの関係性、データ提出形式が記載されている。また、外部標準物質をスパイクインすること、検定に用いる標準 RNA の入手法等 MAQC の結果を反映している点が特徴である。

・ 記載項目

マイクロアレイによる遺伝子発現解析に関する項目として、RNA 抽出・取扱、標識反応、ハイブリダイゼーション反応、蛍光検出機のセッティング、発現遺伝子の差異検出、差の解釈に関して規定されている。

サンプル前処理；検体として、血液と組織・細胞とに分けて採取・保存・輸送に関する品質管理について記載されている。RNA 抽出時の試薬や器具の品質、RNA 安定化剤、バッチ処理サイズ等についても詳細に記載されている。

ハイブリダイゼーション；ERCC(External RNA Controls Consortium)と MAQC(MicroArray Quality Control Consortium)の結果を受けて、外部標準物質をスパイクインすること、標準 RNA として MAQC で用いられた二種類のサンプルを再現性評価の検定に用いることを規定している。

蛍光検出器；技術的な差異を軽減するために、キャリブレーション法や色素とシグナルとの関係性についてのデータを求めている。

検定試験；検定に用いる標準 RNA として、MAQC プロジェクトで再現性評価に用いられた市販のサンプルを使用することが推奨されている。

【遺伝子型検定用 DNA チップ】発行日 2007 年 5 月

・ 文書名

経済産業省

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—

・ 概要

ジェノタイピング検定に関するガイドラインで、測定装置、評価法、標準化の 3 項目について記載されている。装置及びソフトウェアに関する詳細な記述が特徴である。

・ 記載項目

【測定装置】

原理と構造、方法、特異性、感度、ダイナミックレンジ、再現性、必要とするサンプル・検体、その前処理・保存等、試薬、ソフトウェア、データ処理、品質管理について記載されている。ソフトウェア；装置のソフトウェア構成、機能、関係性について検討する。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。

データ処理；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。

品質管理；DNA チップの保存方法、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の検討。装置校正方法、頻度など検査装置の品質管理に関すること。

【評価法】

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、データ管理について、安全性についての記載されている。塩基配列決定法との比較；原則として目的遺伝子を PCR 法により増幅し、PCR 属副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）により行うことを推奨している。両者の一致率を遺伝子型毎に検討することが望ましい。

【標準物質】

SNP 解析データの信頼性向上を目的として、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（一次標準品）や、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とされている。

外部参照物質として、CDC の Genetic Testing Reference Material Coordination Program における reference material として確立された細胞株を用いることが記載されている。

【遺伝子型判定用 DNA チップ】発行日 2008 年 4 月 4 日

・ 文書名

厚生労働省医薬食品局審査管理課医療機器審査管理室長

次世代医療機器評価指標の公表について

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

・ 概要

DNA チップは専用の測定・解析装置とともに使用され、物理的ないし生化学的な測定値を直接提供する従来の体外診断装置と異なり、他項目にわたる複数の測定値をアルゴリズムに基づいて解析し、医療情報として提供することが特徴である。

DNA チップはクラスⅢの体外診断用医薬品、専用の測定・解析装置はクラスⅠの医療機器として扱われる。

解析対象は、ヒトの遺伝子多型や変異解析、又は病原微生物の遺伝子型を判定するものがあるが、ガイドラインでは、遺伝子型が正確に判定されることを確認するために必要な事項をまとめ、製造販売業者による申請の準備と（独）医薬品医療機器総合機構による審査の迅速化に役立てることを目的としている。

・ 記載項目

評価に当たって留意すべき事項として、（１）品目の概要に関する事項、（２）仕様及び安定性に関する事項、（３）性能に関する事項、（４）リスク分析に関する事項の４項目からなる。

【品目の概要に関する事項】

測定対象とその遺伝子型を説明し、臨床的意義や測定原理、プライマーやプローブ等の塩基配列とその配列を選択した妥当性を説明する。また、DNA チップ構成を説明し、搭載される対照物質とその妥当性を説明する。アッセイ条件やソフトウェアについても記載し、解析アルゴリズムの妥当性、ソフトウェアの動作に関するバリデーション方法も示すことを求めている。

【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の提示を規定している。

品質管理；固定したプローブとデザインした塩基配列の同一性を実測データで示すこと、感度、正確性及び同時再現性を保証する標準試験を行うこと。

感度、特異性、測定範囲；一定のゲノムコピー数を含む試料を希釈して測定し、検出限界を示すこと。定性的検出限界と定量的検出限界を明らかにしておくこと。検体の遺伝子型を判定できる最小検体量を示し、直線性を保つ範囲について示すこと。

測定装置の較正；較正用 DNA チップを用いること。または、陽性及び陰性較正用試料を用いた測定値の評価等によって動作確認をとる方法を示すこと。

安定性；チップの保存条件と有効期限を設定し、その妥当性を説明すること。

【性能に関する事項】

遺伝子型判定の精度、対照試料、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、検体の調整に関する項目が記載されている。

遺伝子型判定の精度；検出対象となるすべての遺伝子型の検出データを示すことが望ましい。出現頻度の低い遺伝子型には、遺伝子工学技術を使って作成した疑似検体でも可。DNA シーケンサーにより得られた結果との一致で確認する。

コンタミネーション対策；コンタミネーションによる誤判定の可能性とそれらを排除する方策を示すこと。キャリーオーバーを否定する試験を実施し、コンタミネーション対策の妥当性を示すこと。バーコード等を使ったデータ管理システムの必要性。

【リスク分析に関する事項】

リスク分析を行い添付文書にて注意を喚起すること。別の手法による判定結果の確認方法を提示すること。

【遺伝形質の分子遺伝学的検査の為の GLP】 発行日 2009年6月12日

・ 文書名

OECD

Good Laboratory Practices for Molecular Genetic Testing for Heritable Disease and Condition

遺伝形質の分子遺伝学的検査の為の GLP

・ 概要

CLIA（Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 Regulations）の項目と内容が、測定前（Preanalytic Phase）、測定（Analytic Phase）、測定後（Postanalytic Phase）に分けて記載され、さらに、分子遺伝学的検査に必要な追加項目と内容が記載されている。

遺伝子は親から子へと連続性があり変化しないため影響力が大きいこと、遺伝子検査が発展途上のもので、将来解釈が変わり得ることから、かなり厳しい要求が記載されている。

遺伝病の検査に必須とされているものの中には、発現解析には不要と思われる項目も多い。

・ 記載項目

【測定前； Preanalytic Phase】

テストを選択し、検体を収集する際のエラーが最も多いことから、ラボに対するガイドラインを定めてある。

インフォームドコンセントをとる。

サンプル採取、ラベル、保存、処理、輸送に関する記載に加えて、サンプル受け入れ基準や拒否基準が記されている。

テスト選択や遂行、結果の解釈に必要な情報の管理についても言及されている。

追加項目として、遺伝子変異情報として、人種、民族、家系情報を最重要視しているが、発現解析では、必ずしも必要ないと思われる。

【測定； Analytic Testing Phase】

検査方法の選択、検査の実行、精度のモニタリングと検証、テスト結果の信頼性でのエラーを防ぐための項目が定められている。

サンプルと分析法の性能保証、品質保証を定め、検定試験の内容について記載されている。

【測定後； Postanalytic Phase】

テストレポート、サンプル保管に関する項目が定められている。発現解析では不要なものも多い。

報告書は医師による判断が必要で、家族や親戚にも情報を提供する。報告書は 25 年以上保存し、その管理も厳重に行う。検体も保管。

ラボの管理責任者や医療コンサルタントは医師又は博士であること、技術責任者は医者か博士取得者である必要がある。

・特徴

あらゆる手続きが網羅されている点が特徴で GLP 基準に則った項目からガイドラインに必要な項目をピックアップする際には参考になる。しかし、具体的内容は DNA が中心で、遺伝子検査が発展途上のもので将来解釈が変わり得ることからかなり厳しい要求が記載されている点が特徴で、発現解析には不要と思われる項目も多い。

【ISO-GMOs (Genetically modified organisms) 検出】

・文書名

ISO/TS 21098 ; Foodstuffs - Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products - General requirements and definitions

ISO 21569 ; Foodstuffs - Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products - Qualitative nucleic acid based methods

ISO 21570 ; Foodstuffs - Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products - Quantitative nucleic acid based methods

ISO 21571 ; Foodstuffs - Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products - Nucleic acid extraction

ISO 24276 ; Foodstuffs - Methods of analysis for the detection of genetically modified organisms and derived products - General requirements and definitions

【マイクロアレイ解析】

・文書名

ISO/NP 16578 ;

General definitions and requirements for microarray detection of specific nucleic acid sequences

DNA マイクロアレイによる特定塩基配列の検出に関する一般的定義及び要求事項

・概要

バイオチップを利用する際の測定基準や、確立された測定方法が存在せず、サンプルの品質管理やプラットフォーム間におけるデータ互換性（比較互換性）、及び構成方法に関する規格化が十分になされていない。そこで、バイオチップを用いた特定核酸配列の検出に関する一般的定義及

び要求事項について、ISO(国際標準化機構)に国際規格化の提案を行い、各国の賛同が得られ、本格的に審議が開始されることになった。

・記載項目

LODP(limit of detection for microarray platform) ; 新たに定義した用語。外部標準物質を用いて 95% の信頼性で陽性と判断される DNA/RNA の最低濃度、あるいはコピー数を示し、異なるプラットフォーム間での定性的評価における陽性判定の範囲を明確にしている。

(4) ガイドライン記載事項のまとめ

以下に各ガイドラインに記載されている項目をまとめて記載する。具体的記載のあるものは、表中に記載した。

ガイドライン名			1	2	3	4	5	6		
			RT-PCR	経産省	厚労省	Brast C	P6x	OECD		
測定前のプロセス	検体採取	インフォームドコンセント			○			○法律で制定		
		検体情報	被検者情報					○+家族		
			検体部位		○			○	○	
			検体採取日					○	○	
		採取と保管	検体採取量	○標準採取量の90-110%	○		○最低基準	○	○	
			採取方法	○	○	○	○	○	○	
			検体保管及び輸送	温度・時間・凍結融解の回数		○	○	○	○	
	検体保存		○			○	○	○		
	RNA調整	抽出法	工程保証	○RNAの最低収量の保証	(DNA)		○+試薬の影響	○	○	
			バッチサイズ				○			
			試薬・器具					○		
		RNA収量	○収量(A260)			○RNA濃度	○			
		RNA品質	純度	○A260/280			○A260/ 280	○A260/ 280		
			完全性	○			○28S/18S	○28S/ 18S	○(DNA)	
			性能の許容範囲	○					○(DNA)	
			夾雑物の可能性	○ゲノムDNA量		○			○(DNA)	
			検査方法						○	

		保存法			(DNA) 温度・ 期間					
	試薬	安全性・保 存性			○		○			
		品質管理方 法			○		○			
	標準検体	選定・品質 管理					○	○	○	
	外部標準	選定・品質 管理			○ (DNA)					
	増幅工程	選定・品質 管理					○			
	標識工程	工程・品質 管理						○		
	輸送					○ (DNA)			○	
検査	検査の 選択	参考 文献					○			
	チップ 構成	基板			○ 仕様・形状・ サイズ	○	○			
		プローブ品質			○					
		プローブ交互 作用						○		
		プローブ交差汚 染						○		
	品質管理方 法	製造時検査							○ 製造メーカー	
		保存 安定性			○	○		○ 加速試験		
		RNA量の上 限・下限						○	○	
	サンプル要 件	再現性		○ (PCR) 10回以上		○		○		
	DNAチ ップ	精度 評価	正確性			○	○			
			精度			○	○		○	
			感度				○			
			ハイブリ条件					○	○ 飽和水準	
	検査の信頼 性	特異性				○		○		
		標準 物質				○	○		○	
		規格化							○	
		汚染・ キャリアオーバ ー					○	○		
	他方法との比較			○ (DNA) 塩基配列決定 法	○ (DNA) 塩基配列決定 法					
検査	装置	原理			○ 検出原理					
		装置 構成			○		○ 内部/外部制御			
		性能	正確性			○	○			
	精度				○	○				
	感度				○	○				

			繰り返し再現性	○ 10回以上 3施設以上	○	○ 複数施設	○ 3施設 以上	○	
			正常 範囲	○ 安定要因・ 不安定要因	○	○ カットオフ値	○ カットオフ値	○ ダイナミッ クレンジ	○
			較正 方法	○ 詳細に規程	○	○	○	○	○
			較正用標準物質		○	○	○	○ 濃度 評価用	○
			較正 頻度		○				○ 検査毎
ソフトウェア	構成			○ 操作・機器制 御・解析・ 管理					
		内容	計算法・解析法	○	○	○	○ 問題点の特定 のための制御 を含む		
		妥当性の検証方法		○	○	○		○	
		有意性の検定		○(DNA)		○			
	トレーサビ リティ	トレーサビリ ティ		○ データ管理					
検査 後の 処理	報告書	報告書の記 載事項	氏名					○	
			検査 機関					○	
			報告日					○	
			検査 日時					○	
			検査 結果	○	○		○	○	○+ 医師名
	検査 結果	条件						○	
		標準物質でのデ ータ				○ 3か所以上の 臨床試料	○ 棄却域の設 定	○	
		検査の限界	○				○	○	
		参考文献				○		○	
		エンドポイント				○			
		専門家への コンサル						○	
		家族への情 報提供						○	
	結果開示範 囲						○		
データ管 理	妥当性確認 用				○				
	データ形式			○ 生データ	○ バーコード				
	データベー ス			○ リレーショナ ルデータベー ス					

	データ・サンプル保存期間						遺伝子情報は25年以上	
	リスク分析			○				
	個人情報保護	患者と家族情報の記機密保持		○			○	
	職員の要件	責任者		○ 検査情報の医師による日常的な監視			MD	
		医療コンサルタント						MD
		上級管理職						MD
		オペレーター	○ 有資格者			○ 訓練を受けたもの		
	検査に関する新規情報提供						○	

1.2.4 調査結果のまとめ

個別化医療がいよいよ現実のものとなってきた現在、疾病の解明や創薬といった領域で、遺伝子レベルでの作用機序の解明は益々重要になってきている。疾病と健常との差異を遺伝子発現の差として解析したり、対象者の遺伝子型を判定して投薬前に薬効や副作用を予測して的確な量を服用することは、将来、日常的な行為になっていくと予想される。そのような中で、分子標的薬やコンパニオン診断薬の開発は今後加速されるものと思われる。

今回の調査では、国内メーカーへのヒアリング、ガイドラインに関する既存資料及び米国ガイドライン関連活動の調査、対象疾患及びゲノムバイオマーカーに関する調査、さらに今後の発現解析動向に関する調査を行った。

ヒアリングはJMAC（非特定営利活動法人バイオチップコンソーシアム）会員企業であるDNAチップメーカーを中心に行い、開発状況及び遺伝子発現解析チップに対する考えを調査した。その結果、多くの企業が発現解析チップに多大な関心を抱いてはいるものの、実際に開発中の企業は2社であり、タイピングチップと比較して高いハードルを感じていること、そして、世界で通用する指標としてのガイドライン策定に大きな期待を寄せていることが明らかになった。

ガイドライン調査は、MAQCやSPIDIAのようなコンソーシアムの論文や報告書、並びに米国のRT-PCR用前処理、IVDMIA、乳がん予後予測、PGx等に関するガイドライン、日本では、経済産業省あるいは厚生労働省による遺伝子型判定に関するガイドライン、そして、OECDの遺伝形質の分子遺伝学的検査のためのGLP等を中心に内容を検討した。遺伝子検査全体の項目を網羅しているのはOECDによるGLPであり、検査前の手続きから検査後の報告書に至るまで詳細に規定されている。しかし、内容は遺伝子（DNA）検査に関するものが多く、そのため将来に亘って厳しく情報を管理する必要性を表現した規定が多く、発現解析では不要なものも多々見られた。マイクロアレイを用いた発現解析に係るガイドラインはMAQC及び米国FDAによる乳がん予後予測ガイドライン、及びPGxガイドラインであった。前処理に関してはRT-PCRのものも参考になると思われる。また、装置やソフトウェアに関する較正・検定に関しては、日本のガイドラインに良くまとめられていた。

今後、発現解析チップは一定範囲の項目数を必要とする検査に使われていくと考えられる。その用途は癌が有力であるが、それ以外に特定の領域が注目されているという状況ではないようである。現在 FDA に承認されているチップはまだ数が少ないが、医療機器開発ガイドラインが策定されることにより、未承認チップを始めとする多くの DNA チップが実用化に向けて動き出すだろう。

1.3 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

1.3.1 話題提供(1)

演題：「個別化医療と RNA チェック」について

株式会社 DNA チップ研究所 代表取締役社長 的場 亮 様
(第 1 回開発ワーキンググループ委員会：平成 22 年 10 月 4 日)

- ・ DNA チップを使った診断キットの開発のための基礎的な研究について説明。
- ・ RNA チェックの例として、MammaPrint、大腸がんの予後予測、関節リウマチの生物学的製剤の薬剤感受性。健康モニタリング（残業疲労、免疫年齢、うつ病）の研究を紹介。
- ・ 将来はデータに基づき健康指導を行うようなツールを開発していきたい。

【質疑応答】

Q:MammaPrint について、DNA チップ研究所は仲介をするが、セントラルラボ、臨床情報の蓄積、データベースは外国にあるのか。 ⇒ A:臨床情報などは研究機関で集めるのが主である。

Q:前のデータとのノーマライズはどのようにするのか。 ⇒ A:ガウシアン分布のクアンタイルノーマライゼーションを行う。300 以上の症例の分布を使う。

Q:検体のヘテロジェナイティは問題にならないか。 ⇒ A:6 割以上あるサンプルを使う。

Q:MammaPrint は日本で薬事申請する予定はあるのか。 ⇒ A:申請をしないかという働き掛けはしている。

Q:判別の結果の人種差はどうか。 ⇒ A:今年出た論文によると negative predictive value は人種間で 100% 同じ。positive と negative の予測の比率は違う。Negative については日本人にも使えるのではないかと。

話題提供(2)

演題：「がんワクチンゲノミックスに基づくがんワクチン適格性予測診断キット、及びがんワクチン副作用診断キットの研究開発」について 九州大学大学院 教授 久原 哲 様
(第 2 回開発ワーキンググループ委員会：平成 22 年 11 月 29 日)

- ・ がんペプチドワクチン療法に関する適合性の予測診断キットの研究。久留米大学のテーラーメイドがんワクチン療法では、効果が出る人と出ない人と明確に分かれる。効果が出る人は 10 数%から 20%。がんのワクチン療法自体が第 3 のがん療法として注目されている。抗がん剤のようにがんを直接叩くわけではなくて、免疫を増強してがんを叩く。予測キットを開発して効果のある方に対して療法を行う。もう 1 つは副作用の診断キット。

- ・久留米大学の保存血液サンプル（164人）を解析。診断用マーカーを今ピックアップするところ。マーカーについては特許を取る。単核球の mRNA を調製して、マーカーを選ぶために Good responder、Poor responder についてイルミナマイクロアレイでプロファイルを取る。ワクチン療法の前よりも後のほうのエクスペクションプロファイルがきれいにでる。70 の遺伝子がうまく分かれそう。Pre と Post で両方出てくるような遺伝子群もある。
- ・Poor responder と Good responder をうまく分ける遺伝子が 8 個ある。テストサンプルが 37 トレーニングセットあり、Poor のサンプルを Poor と Prediction するのが 100%、Good responder を予測するのは 78% 程度。
- ・900 日生存者が少ないので Good responder のテストはまだ不十分。700~900 日ぐらいの responders がどれくらい分かれるかが試される場所。
- ・将来的には診断キットを開発する。ガイドラインに注目している。3~4 年目ぐらいまでにパフォーマンスをしっかりと出して、体外診断薬としての申請等を考える。

【質疑応答】

【遺伝子セットについて】

Q: Responder と Nonresponder は治療に対するレスポンスの違いなのか、患者の個性の違いなのか。

⇒ A: そこは問題。患者が免疫が非常に強くて治療しなくても長生きするかもしれない。Pre の部分でどういう遺伝子が活性化されているかを見て、治療効果があるかどうか、治療しなくてもいけるかどうか判断が必要である。

ワクチンに対するレスポンスを見分ける根拠が薄い。Pre のプロファイルを症状と対応させながら見ていけば、特徴的な Pre のプロファイルが見えてくるのかもしれない。患者は、ホルモン療法、放射線、抗がん剤のあと再発後にワクチン治療に回ってくる。相当バイアスのかかった中で免疫関係の遺伝子を見ることになる。

【検体に関して】

○ロングサバイバーはデータがあまり揃っていない。500~600 日以下の人は 100 人前後。ロングサバイバーは 10 数%から 20%。

○がんの免疫療法の場合、うまくいっているケースはほとんどが他の治療を併用していない場合である。いろいろなものを叩いてしまうと、プロファイルがよくわからなくなってしまって、効果の判定が出ない。

【症例数に関して】

○申請までにどれくらい症例を集めるかという目標について、統計的に信頼のある結果が出せるかどうかは、検体数、その取扱い、測定方法などによる。それがガイドライン策定の意義がある。検体数が少ない場合の取扱いが重要である。

○本ガイドラインは診断に有効かどうかを規定するものではない。例えば Oncotype DX は、数百検体で論文が出て、製品として世に出て、いろいろな先生が使って広く使われるようになった。

○最初の 100 人程度のものは出して、さらに承認してもらうか、検査室として承認してもらうか。アメリカのクリアラボの仕組みを日本でも取り入れないと先進的な検査は無理である。

○このガイドラインでエビデンスをもって「こういうふうにした方がいいんじゃないですか。」と言うことは、ガイドラインを持って薬事申請や相談に行けるということ。サンプル数を出す

ことは非常に難しい。企業は効能・効果に相当する用途、装置の性能も含めて示し、非臨床のデータ、臨床のデータで証明する。サンプル数はその証明に足りるだけ、あるいは結果が統計的に有効である数で、何例以上とはいわない。

1.3.2 MAQC-II 報告

MAQC-II 報告の説明（第1回開発ワーキンググループ委員会：平成22年10月4日）

（参考資料3参照） 開発ガイドライン事務局 木山 亮一

（MAQC-II の報告の概要）

- ・ MAQC-II の概要：I、II、IIIで、現在はIIIが進められている。Iは「Nature Biotechnology」の2006年9月号で特集されており、基本的に Quality Control tool の提供。実験手順上の失敗を回避するために対象のデータセット、RNA サンプルを提供する、プラットフォームの比較、ほかの方法との比較をすることで、解析の基本的な標準化が狙い。
- ・ II は、「Nature Biotechnology」「Pharmacogenomics Journal」の2誌に論文が掲載。目標は、予測モデルの検証のために、いろいろなアルゴリズム、統計解析法を検討して、DNA チップの使い方について、ベストプラクティスでコンセンサスを得ること。
- ・ 「Nature Biotechnology」8月号：「マイクロアレイに基づく予測モデルを開発および評価する一般的な方法に関する第二次マイクロアレイ品質管理(MAQC-II)研究」で、36の解析チームが参加して検証した結果の概要。
詳しいデータは、「Pharmacogenomics Journal」。
- ・ 「Pharmacogenomics Journal」：前半が遺伝子発現解析のための予測モデル及びデータ解析の開発と予測効果の検証で、後半は、遺伝子型判定のためのゲノム相関解析用アルゴリズムの検討。
- ・ MAQC-II では、ティッシュのサンプルがあって、それを DNA チップで解析し、そのあとに Classifier で項目をプレディクションして最終的に診断にもっていく。
- ・ MAQC-I では、マイクロアレイについて品質管理、手順などで、問題の起こらない手順などを開発した。
今回は予測判定の点について、詳しくいくつかに分けて、例えばバッチエフェクトを除くためにどうするか、データをノーマライズするアルゴリズム、バリデーション法などについて検討する。
- ・ MAQC-II のデザイン：マイクロアレイのデータセットの結果が6種類。評価項目は、発がん、毒性、ネクロシス、治療効果、生存率といった評価項目が13個。データセットは、ヒトだけではなく、齧歯類の肺毒あるいは肝毒性、ヒトの乳がん、多発性骨髄腫、Multiple Myeloma、Neuroblastoma。
- ・ 評価内容：先ほど AUC を紹介しましたが、ほかには MCC、アキュラシー、センシティブティといった、統計的に評価。トレーニングデータセットと、バリデーションデータセットの2つに分けて、トレーニングでモデルを作って、バリデーションで評価する。
- ・ 評価内容：MCC は Matthews Correlation Coefficient で、相関係数による評価。

- ・データセットの入替え：トレーニングとバリデーションを入れ替えて、バリデーションでトレーニングをして、トレーニングでバリデーション。チームごとに結果のスコアを相関解析で並べると、必ずしも中間のラインに乗るわけでもない。つまり、解析チームの影響が大きい。
- ・まとめ：36のデータ解析チームが13の評価項目について、3つのデータセットを用いて、3万以上のモデルを作成した。解析結果は、モデルの予測はエンドポイントに依存する度合いが大きい。何を評価するかによって、モデルがきちんと働くかどうかが違う。データ解析チームによる影響が大きい。経験のあるチームが大学院生のチームより良い結果を示した。内部検定のステップが巧くいくと、外部検定の結果と高い一致を示した。つまり、トレーニングできちんとモデルを作りなさいということ。1つのデータセットに対して同様な予測結果を示す複数のモデルがある、つまり1つの診断には1つの遺伝子セットとは限らなくて、ほかの遺伝子のセットでも同じような診断ができるという意味。それから、アルゴリズムが良いよりモデルが良い方がよい、遺伝子のセットをきちんと選ぶ方がよいということ。
- ・以上、推奨するモデル作成の手順を示した。あくまでも、DNAチップを使った、診断のための標準的な推奨する方法である。

1.3.3 動向調査

演題：「遺伝子発現解析用 DNA チップ開発状況調査最終報告」について

バイオチップコンソーシアム (JMAC) 中江 裕樹 様

(第3回開発ワーキンググループ委員会：平成23年2月14日)

- ・動向調査の概要：国内チップメーカーの診断用発現解析 DNA チップの開発現状を調査。既存資料及び Web による米国のガイドライン関連調査、ヒアリング、対象疾患及びゲノムバイオメーカーに関する調査。
- ・発現解析用チップは、FDA 承認チップがあるが、日本ではまだ承認されていない (MammaPrint と Pathwork Tissue of Origin test)。
- ・Laboratory Development Test：検査所やクリアラボ (米国) が独自に診断薬を開発して検査。チップあるいは RT-PCR が使われている。DTC (Direct To Consumer test) は、コンシューマーから Web を通じて申込み、サンプルを郵送し結果を返す。チップが使われる場合がある (国内外)。ガイドラインで検査結果の妥当性の確保が大切である。
- ・Oncotype DX：21 種類の遺伝子の発現解析。RT-PCR で行われるテスト。
- ・Pathwork：アフィメトリックスチップで 15 の原発不明がんのクラス分け (FDA 承認)。
- ・マーカー：FDA は Known Valid Biomarkers と Probable Valid Biomarkers と Exploratory Biomarkers の 3 つに分けている。遺伝子発現用の Biomarkers はあまりない。CYP2C9 とか CYP2C19 などの薬剤代謝酵素が Valid Biomarkers として認定。Valid Biomarkers はほぼ単品で、遺伝子の mutation が直接薬剤の薬効ないし毒性に関与する。
- ・ガイドラインの活動：SPIDIA、MAQC- I、II。FDA ガイドライン (Multivariate Index Assay を用いた IVD のためのガイドライン。PGx の Data Submission ガイドラインなど)。DNA チップ開発ガイドライン (2007 年)。OECD の分子遺伝学的検査のための GLP (2009 年)。

- ・ ISO : Microarray 解析に関する General definition と minimum requirement 案を提出。ISO は CEN (ヨーロッパの標準化団体) で議論したことを受け入れる。
- ・ MAQC プロジェクト : MAQC- I でそれぞれのプラットホームの妥当性を示した MAQC- II はアルゴリズムを含めて診断の精度を議論。MAQC- III は次世代シーケンサーの標準化。
- ・ FDA ガイドライン : 前処理のガイドライン (RNA の採取、RNA の安定性、機器の安定性に関するガイドライン) 。乳がんの予後予測のガイドライン (遺伝子発現プロファイリングにより 1 つの結論を導き出すための工程保証、品質の管理や試料作製、特異性やプローブの交互汚染の防止など) 。IVDMIA (510(K)か PMA かを議論) 。日本のガイドライン。PGx Data Submissions-Guideline (サンプルの前処理、蛍光検出器など。ERCC の標準物質をスパイクインしてデータの妥当性を判断) 。OECD の GLP (Heritable Disease and Condition) 。ISO (食品検査の分野で、バイオチップコンソーシアムから規格を提案。11 月 19 日 NP 承認。経済産業省から報告、農林水産省系団体から発表、『化学工業日報』で記事掲載) 。
- ・ ガイドラインがカバーする検査のステップ : SPIDIA (サンプルから DNA も含めた RNA まで) 。アメリカ (MAQC でチップの測定からデータ解析まで) 。IVDMIA。OECD (遺伝的な疾患に関する測定系の GLP。ISO (食品検査に関して測定までをカバー)) 。
- ・ 企業ヒアリング : チップを開発中か、医療機器の申請を考えているか、ガイドラインに対する評価。
- ・ 現在のチップの開発状況 : 国内ではあまり医療用はない。千葉がんセンターのニューロブラストーマ、東医歯大の CGH Array。LDT としてサービス提供。チップの医療用展開は日本でも内々には始まっている。ガイドライン化に関しては決して早すぎるものではない。
- ・ 医療機器としての申請 : 測定機器に関してはクラス I なので、チップメーカーも主に医療分野は視野に入れている。実際の時期に関しては不明だが、医療機器に関して内々に開発が進んでいる。困っているのは、認可までのタイムスパンが読めない(長い) こと、2,000 点はきついこと。
- ・ Oncotype DX : 実際は予想以上に出ている。遺伝子発現の検査に取り込まれていくのではないか。
- ・ ヒアリングのまとめ : 発現解析チップは定量性が求められるので開発が難しい。しかし各社は興味を持っていて、医療用のチップを開発・検討を行っている。前例がないので、認可へのスケジュールが立てにくく、ガイドラインには非常に期待している。審査の迅速化に期待。
- ・ 発現解析チップの今後 : 診断と研究の間のギャップ。遺伝子発現レベルで妥当性が確認できれば、分子標的薬の検査手段として必要になってくるだろう。
- ・ 遺伝子発現関係で論文として提出されている診断薬の調査 : 検索語「Microarray Analysis」、 「Gene Expression」、 「Diagnosis」が入っていて、「human」で過去 3 年間の英語文献を検索。「neoplasia」を含むものが 307 件で、300 件が癌に関係。「neoplasia」を取ると 509 件あり、約 6 割が癌の診断を対象とした論文。他の 200 件はほとんどが免疫系。いろいろな癌に対して遺伝子発現解析による診断が有効かどうか議論している。
- ・ FDA は次に何を狙っているか : 安全性検査用のチップもガイドラインの対象とする可能性。Expression Biomarkers はプロジェクトがあり、議論が進められている。癌の薬効だけではなく、全般的な薬の副作用に関して遺伝子発現プロファイリングが有効ではないか。

- ・ 遺伝子検査手法：IVDMIA の 100 個ぐらいのケースはバイオチップがコスト的にも良い。それ以下の例えば Oncotype DX になると、qPCR。100 個を超えて網羅的にタイピングをする場合は次世代シーケンサー。1 人の患者が払える金額、あるいは保険で払える金額と、対象となる遺伝子の個数によって手法が選択されてくる。
- ・ まとめ：調査概要に関してはガイドラインとヒアリングと Genome Biomarkers に関する調査。FDA 承認チップは 2 つで、例えば Laboratory Development Test とか、Direct to Consumer のテストケースで使われている。ガイドラインに関しては、地域別に調査活動をまとめた。ヒアリングによると、医療用のバイオチップ開発はなくはない。発現解析の応用は、癌が主流だが、それ以外の領域でも幅広い研究が行われていた。

【質疑応答】

Q:IVDA の業界団体が厚生労働省に出した審査期間の短縮の要望書に対するレスポンスは？

⇒ A:レスポンスはない。

Q:保険の 2,000 点問題は今後変わりそうな感じか。それとも保険適用なしで進むのか。

⇒ A:明確な答えを持っている人は少ない。例外はあるがほぼ全部 2,000 点なので、保険適用を出していいかどうかは慎重になる。超えないとメーカーは困る。保険点数を取らない方法 (LDT) を考えている企業もある。LDT は衛生検査所が自分の所で作ったキットで診断結果を返すタイプの検査で、検査所が地域の保健所に認定されれば、一応可能である。

Q:日本でもクリアタイプの検査所ができて、そこで検査が行われるのか。

⇒ A:LDT は市販しないので原価が抑えられて、2,000 点でもペイできるケースもある。

Q:Web で注文するというのはどういう形か。

⇒ A:スワブなどを送る。検査自体の妥当性と結果に対する妥当性に疑問がある。Direct to Consumer Test は検査所の認定もないので、検査が正しいか保証はない。

Q:食品で JMAC が ISO に提案しているが、医療用に持っていくストラテジーは？

⇒ A:ISO の食品は TC34。医療用の臨床検査は TC212。アメリカから「FGED」(マイアミフォーマットを決めた団体)とのリエゾンの要請が来た。どこの会議で認められた規格であっても、いろいろな分野で統合して使えるような仕組みをつくるのが ISO の思想である。

Q:遺伝子検査の市場規模は？

⇒ A:ファーマコゲノミクスと感染症では、ファーマコゲノミクスの方は全市場の 5% ぐらい。9 割の感染症のうち、LDT がかなり大きな部分を占めている。

Q:LDT で検査する項目は体外診断薬としての認可は要らないのか？

⇒ A:要らない。日本ではクリアはないが、アメリカではクリア。クリアはいわゆる LDT で、FDA はかなり厳しく接している。510(K)は取って欲しいというレターが送られている。

Q:食品のチップというのは具体的に？

⇒ A:カビの種類を検査するチップ。食品の品質検査の市販チップはない。

1.4 米国 FDA による DNA チップに関する規制

(1) 米国 FDA によるガイダンス、コンセプトペーパーの例

第 1 回開発ワーキンググループ委員会の資料（平成 22 年 10 月 4 日）として、FDA が公表した以下のクラス II 特別規制ガイダンス文書を翻訳して配付した。

クラス II 特別規制ガイダンス文書：「乳癌の予後のための遺伝子発現プロファイリング試験システム」

文書発行日：2007 年 5 月 9 日

本書に関する質問については、Reena Philip へ問い合わせのこと。（電話：240-276-1286、電子メール：reena.philip@fda.hhs.gov）

米国保健福祉省食品医薬品局医療機器放射線衛生センター
免疫学・血液学用機器部体外診断用機器評価・安全事務所
前書き

書面による意見や提言は、当局の検討材料としていつでも、Division of Dockets Management, Food and Drug Administration（食品医薬品局案件管理部），5630 Fishers Lane, Room 1061, (HFA-305), Rockville, MD, 20852 宛に提出してよい。或いは、<http://www.fda.gov/dockets/ecomments> 宛に電子媒体にて意見を寄せていただいても構わない。意見は全て、案件整理番号 2007D-0137 として特定願う。寄せられた意見については、当該文書が次に改正又は更新されるまで、当局による決定が下されない場合がある。

複本

複本は、<http://www.fda.gov/cdrh/oivd/guidance/1627.pdf> にてインターネット経由で入手可能である。また dsmica@fda.hhs.gov 宛に電子メールにてガイダンスの電子コピーを請求する、若しくは 240-276-3151 宛にファクシミリにてハードコピーの送付を請求してもよい。請求の際は、文書番号 1627 として請求対象のガイダンスを特定願う。

目次

1. 序文
2. 背景
3. 適用範囲
4. 健康へのリスク
5. 機器の説明
 - 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
 - 分析前因子
 - 品質管理
 - 分析性能
 - 臨床的妥当性確認

7. ソフトウェア

8. ラベリング

(本文)

産業界及び FDA 職員向けガイダンス

クラス II 特別規制ガイダンス文書：乳癌の予後のための遺伝子発現プロファイリング試験システム

本ガイダンスは、この主題に関する食品医薬品局（FDA）の現在の考えを示すものである。これは何人のための権利、或いは何人に対する権利も創出又は付与するものではなく、また FDA 或いは一般市民に義務を負わせる働きを有するものでもない。ある代替的アプローチが、適用可能な制定法や規制の要件を満たすものであれば、それを利用してよい。代替的アプローチについて議論を希望する場合、本ガイダンスの履行に責任を負う FDA 職員へ連絡されたい。適切な FDA 職員を特定できない場合、このガイダンスのタイトル頁に記載の電話番号へ問い合わせのこと。

1. 序文

本ガイダンス文書は、乳癌の予後のための遺伝子発現プロファイリング試験システムをクラス II（特別規制）へ分類することを裏付けるための特別規制として作成された。乳癌の予後のための遺伝子発現プロファイリング試験システムとは、同義遺伝子の RNA 発現水準を測定し、そしてこの情報を統合して、従前に診断された乳癌の予後の支援となるシグネチャー（パターン又は分類子又は指標）を得るための機器を指す。

本ガイダンスでは、乳癌の予後のための遺伝子発現プロファイリング試験システムの市販前届出及びラベリングに関する、製造者向けの勧告を提示する。本書に記載の勧告は、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）や遺伝子発現マイクロアレイなど、癌の予後に利用される RNA アッセイに適用可能である。乳癌の予後のための遺伝子発現試験システムにおいては、医師が臨床病理学的因子と併せて癌の再発（遠隔転移など）リスクを評価する際に予後マーカーとして利用できる結果を得るための測定に適用される。

この種の予後試験は、生物学的特徴（例：特定の疾患進行段階に達した 50 歳以上の女性）、或いは以前から定義されている処置（例：術後補助治療を受けていない女性）など、予め定義された一連の特性が似通った患者について、試験結果が転帰の変動の説明となる類の試験である。

乳癌の予後のための遺伝子発現プロファイリング試験システムは、診断、或いは治療法に対する応答の予測や検出、或いは患者にとって最適な治療法の選定を意図するものではない。本ガイダンスでは、予測マーカーは取り上げない。これは予後マーカーと明確に区別され、何故なら予測マーカーは治療法に対する応答を予測するものだからである。¹

本ガイダンスは、乳癌の予後のための遺伝子発現プロファイリング試験システムの分類を公表する Federal Register（連邦広報）での通知と併せて発行される。乳癌の予後のための遺伝子発現プロファイリング試験システム向けの

510(k)市販届出を提出する企業は、この特別規制ガイダンスで対象とされる問題点への対応を要することとなる。ただし、係る企業は自社の機器がガイダンスの要件を満たす旨を提示する、或いは別な方法で安全性及び実効性の保証に相当するものを提供するだけでよい。

FDAのガイダンス文書は、本ガイダンスを含め、法的強制力のある責任を規定するものではない。むしろ、ガイダンス文書はある主題に関する当局の現在の考えを記述するものであり、特定の規制要件或いは法的要件に言及していない限り、単に勧告と見なすべきである。当局のガイダンスにおいて、should（〜すべきである）という語句の使用は、何らかの提言或いは勧告ではあっても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

本ガイダンス文書で特定される問題点は、機器が市販可能となる前に対処すべきであると当方が考えるものに相当する。ガイダンスの作成に当たり、当方は当局の意思決定に対する関連の法定基準を入念に検討した。また当方は、ガイダンスの遵守及び当方が特定した問題点への対処を試みる際に貴殿が負うと思われる負担についても検討した。当方としては、ガイダンス文書において提示される問題点に対処するための、最も負担の少ないアプローチを検討したと考える。しかし、問題点に対処するための、さらに負担の少ない方法があると考えれば、「最も負担の少ない問題解決のためのアプローチ案」の文書に概要が記されている手順に従うべきである。この文書は当センターのウェブページ、<http://www.fda.gov/cdrh/modact/leastburdensome.html> より入手可能である。

2. 背景

FDAは、特別規制は、一般的な規制と併用した場合、乳癌の予後のための遺伝子発現プロファイリング試験システムの安全性と実効性を合理的に保証するに足る、十分なものとなるであろうと考える。この一般的な型の機器の市販を意図する製造者は、以下の事項を行うべきである：(1) 21 CFR 807のサブパートEに記載の市販届出要件を含め、連邦食品・医薬品・化粧品法（以下、「当該法」という）の一般的規制に従うこと、(2) 本ガイダンスで特定される、当該機器に関連する特有の健康上のリスクに対処すること、及び(3) 機器の市販に先立ち、実質的同等性判定をFDAから取得すること。

本ガイダンス文書では、乳癌の予後のための遺伝子発現プロファイリング試験システム向けの分類規定及び製品コードを特定する（第3節「適用範囲」参照）。加えて、本ガイダンス文書の他の節では健康へのリスクを特定し、諸対策について記述するが、その対策は、製造者がそれに従い、一般的規制と併用されれば、乳癌の予後のための遺伝子発現プロファイリング試験システムに伴うリスクに概ね対処し、また時宜に合う市販届出（510(k)）の審査及び認可に結び付くことになる。本書は、市販届出の提出書類における特定の内容要件に関するFDAの文書を補完するものである。また21 CFR 807.87及びその他、この主題に関する「市販届出：510(k)」等のFDA文書も参照すべきである。係る文書は<http://www.fda.gov/cdrh/devadvice/314.html> より入手可能である。

市販届出510(k)には、FDAへ提出可能なものとして通常版、特別版及び簡易版の3種類がある。特別版及び簡易版の510(k)方式は、510(k)の審査過程の合理化に役立つよう考案されたもので、「新510(k)パラダイム - 市販前

届出における実質的同等性の立証。最終ガイダンス」 (<http://www.fda.gov/cdrh/ode/parad510.html>) に説明が掲載されている。簡易版 510(k)は、FDA 公認の合意規格、特別規制、又は FDA ガイダンス文書を信頼することにより、510(k)に記載のデータの審査を簡略化する手段を提供すると共に、新しい機器の実質的同等性を実証する負担を最小限に軽減する手段にもなる。簡易版及び通常版の 510(k)の内容及び形式に関するガイダンスは、<http://www.fda.gov/cdrh/ode/guidance/1567.html> に掲載されている。また付加的情報については、当該法の第 514(c)(1)(B)節、並びに FDA ガイダンス「実質的同等性の判定における規格の用途」 (<http://www.fda.gov/cdrh/ode/guidance/1131.pdf>) も参照のこと。特別版 510(k)は、認可済みの自社製機器の変更を検討している製造者向けに用意されている。特別版 510(k)の作成方法に関する情報は、<http://www.fda.gov/cdrh/devadvice/3144.html> より入手可能である。

3. 適用範囲

本書の適用範囲は、21 CFR 866.6040 の記述通り、以下の機器に限定される（製品コード NYI）。

21 CFR 866.6040 - 乳癌の予後のための遺伝子発現プロファイリング試験システムとは、同義遺伝子の RNA 発現水準を測定し、そしてこの情報を統合して、従前に診断された乳癌の予後の支援となるシグネチャー（パターン又は分類子又は指標）を得るための機器を指す。

従来、予後という言葉は、処置を施されていない患者（本書の文脈で言えば、術後補助治療を受けていない患者）を指す。しかしながら、単一の治療法しか受けない女性（例：エストロゲン受容体（ER）陽性となり、タモキシフェンだけで治療を受ける女性）のために、予測される転帰に関する情報を提供することは、乳癌の予後の面で臨床的有用性もあり、本ガイダンスの適用範囲に該当する。

乳癌の予後のための遺伝子発現プロファイリング試験システムは、臨床多重試験システム用の計装が必要となる可能性のある試験である。臨床多重試験システム用の計装は、21 CFR 862.2570 の規制対象である。係る計装に関するガイダンスは、FDA の「産業界及び FDA 職員向けガイダンス：クラス II 特別規制ガイダンス文書：臨床多重検査システム用計装」²に掲載されている。貴殿が扱う乳癌の予後のための遺伝子発現プロファイリング試験システムに、そのアッセイ向けの臨床多重試験システムが含まれる場合、当該のアッセイ及び計装双方に関する情報を、単一の 510(k)にまとめて提出してよい。計装機器の製造者が計装についてのみ 510(k)を提出することを望む場合、アッセイに関する市販届出と併せて 510(k)を提出してよい。

4. 健康へのリスク

乳癌の予後のための遺伝子発現プロファイリング試験システムは、乳癌患者の臨床評価に役立つ予後情報の提供が目的である。この機器が適応症に応じて機能を果たすことができなければ、誤った試験結果に結び付くおそれがある。偽陽性の結果は患者をリスクが高い方の集団に誤って区分することに結び付き、また偽陰性の結果は患者をリスクが低い方の集団に誤って区分することに結び付く。癌再発リスクを誤って区分すると、心理的苦痛を伴う不的確な予後、不正確なカウンセリング、次善的な患者の世話に結び付くおそれがある。

下記の表に、FDAはこの機器の使用に際し全般的に伴う、健康へのリスクを特定した。特定されたリスクについて推奨される軽減対策を、下表に記載の通り、本ガイダンス文書で記述する。市販前届出を提出する前に、貴殿の機器特有の別なリスクも全て特定するため、リスク分析を実施すべきである。リスクは、用いられる発現アッセイの種類、試験の目的、試料の種類、結果の利用形態に応じて変化し得る。市販前届出において、リスク分析手法について説明すべきである。本書で特定されるリスクに対処するための代替アプローチを用いる場合、或いは本書に記載のものとは別のリスクが特定された場合、そのリスクに対処するため貴殿が用いたアプローチを裏付ける、十分な詳細情報を提示すべきである。

特定されたリスク：

- ・試験が適切な性能を発揮できないこと、例えば試薬、計装、データ管理、或いはソフトウェアの不具合が原因で結果が不正確であったり結果が出なかったりすると、偽陽性又は偽陰性の結果や、不的確な予後を招くおそれがある。
- ・試験結果を適正に解釈できないこと

推奨される軽減対策：

- ・第6節及び第7節
- ・第5節（「試験結果」の節参照）及び第8節

5. 機器の説明

510(k)提出書類において、規定、製品コード、及び合法的に市販されている属性機器を特定すべきである。属性機器と比較した場合の貴殿の機器のあらゆる側面について、FDAが効率的に審査する際に役立つよう、属性機器と貴殿の機器の類似性及び相違点の概略をまとめた表を添付すべきである。

新しい機器を審査する際の主な論点は、特定の使用目的、試験対象標本の種類、そして利用する技術である。新しい機器を適切に説明できるよう、記述的情報に加え、機器の技術に関連のある、適切な査読審査文献の参照を提示してもよい。

乳癌の予後のための遺伝子発現プロファイリング試験システムについて、適切に特性評価できるよう、以下に挙げる記述的情報を記載すべきである。

使用目的

使用目的においては、試験の測定要素、試験の利用対象となる臨床的適応症、試験において意図する特定の集団を指定すべきである。臨床成績が実証された患者に関する臨床的記述及び人口学的記述も盛り込むべきである（例：性別、年齢、リンパ節の状態、腫瘍の種類、腫瘍のサイズなど）。使用目的においては、試験が定性的か定量的かの区別も指定すべきである。試験が単一の試験所での利用を意図される場合、この情報も使用目的に盛り込むべきである。

試験方法

貴殿の機器で用いる方法論について、詳述すべきである。例えば、以下に挙げる要素について、貴殿の機器に当てはまる範囲で記述すべきである。

- ・ 試験プラットフォーム（例：RT-PCR 又は発現アレイ）。
- ・ アレイ又はその他、空間的に固定されるプラットフォームの構成及び空間配置。
- ・ アッセイ要素、特に正規化に使用される遺伝子、ハイブリダイゼーションの指標、品質管理などのパラメータに関する記述。
- ・ 試料のキャリーオーバー又は汚染の可能性の評価方法。
- ・ アッセイの制限因子（例：ハイブリダイゼーションの飽和水準、最大サイクル数）。
- ・ アレイに関する下記の要素：
 - ┆ 固体表面へのプローブ材料の取付方法。
 - ┆ 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、所要時間）。
- ・ 重要な配列に対するプローブの特異性、特に偽遺伝子又は配列関連遺伝子が存在する場合の特異性。
- ・ 腫瘍又は代替標本が抽出されてから試料の処理に至るまでの試料採集及び取扱い方法。
- ・ 貴殿が実施する又は使用者に提供する、或いは使用を推奨する RNA 抽出方法。
- ・ 試料抽出物における RNA の完全性を確保するための方法。
- ・ 提供される又は使用を推奨される試薬の成分及びシステム内での試薬の機能（例：緩衝剤、酵素、蛍光染料、化学発光試薬、その他のシグナル伝達／増幅試薬）。
- ・ 貴殿の機器に必要な計装（構成要素及びシステム内におけるそれらの機能を含む）
- ・ 計装により生成される出力の種類及びシステムパラメータ（例：測定範囲）。
- ・ 生データから最終的な予後結果に至るまでの計算処理過程（例：原初のシグナルが予後シグナルへ変換される形態）。これはデータセットにおける欠落データや明白な問題点の特定及び解決のための十分ソフトウェア制御が含まれることになる。
正規化のためのバックグラウンドに対する調整について記述すること。
- ・ 貴殿が使用者へ推奨又は提供する外部制御。
- ・ 内部制御及びシステム内での内部制御特有の機能に関する記述。
- ・ （該当する場合）当該試験方法について記述した、関連のある査読審査文献の参照。
- ・ 非標準の器具又は方法に関する図解又は写真（用意できる場合）。

貴殿の機器に該当する場合、下記の懸案に対処するために用いられる品質管理設計仕様について記述すべきである。

- ・ アッセイの特徴（プローブ等）の正しい配置及び識別情報。
- ・ 多重試験において標的分子が多数の様々なプローブと接触することになる場合、特異的及び非特異的なプローブの交差ハイブリダイゼーションの可能性。
- ・ 多重試験において多数のプローブが製造工程内で取り扱われる場合、プローブの交差汚染の防止。

試験アルゴリズム

これらの種類の試験機器で乳癌の予後の予測に用いられるアルゴリズムは、多くの場合斬新で独自仕様かつ複雑なもので、また試験機器における最も重要な要素に属することが多いと考えられる。該当する場合、以下を提供すべきである。

- ・ アルゴリズムのアーキテクチャ及び実装に関する詳細な記述。
- ・ 試験で使用されるパターン又は分類子の発見及び妥当性確認に使用されたデータセットに関する詳細な記述（多くの場合「訓練」セット、独立的な「試験」セットと称される）。これはデータの源泉となった試料の選定に用いられた原則（臨床経歴、人口統計学、マトリックス、地理的起源など）、試料サイズ、データセットを統合する際に前提とした想定条件を含む。
- ・ 成績尺度（独立的臨床データセットを用いる内部的妥当性確認及び外部的妥当性確認）及びそれらの取得方法に関する詳細な記述。

場合によっては、機器やアルゴリズムが製品開発の進行につれて進化してゆくこともある。提出書類に記載される最終的な機器とその機器用のアルゴリズムを使用して得られたデータを提供すべきである。

試験結果

臨床医向けに生成される試験報告書の見本（例：プリントアウトしたもの）を提供すべきである。試験報告書には、発注者である医師やその他の医療従事者が理解できる適切な情報を記載すべきである。試験報告書の臨床的妥当性確認データセットにおいて、試験成績に言及すべきである（例：「この試験は臨床的母集団を対象に行われ、分析の結果、低リスク患者については5年経過時の無転移生存の確率が92%であることが判明した。高リスク患者については5年経過時の無転移生存の確率が60%であることが判明した」）。試験報告書には他にも、臨床的妥当性確認データセットを使用して算出した、低リスク患者及び高リスク患者に関する Kaplan-Meier 生存曲線等の記述的情報を記載してよい。

6. 性能特性

510(k)において、下記に概要を示す性能特性それぞれの評価に用いた試験設計について詳述すべきである。

分析前因子

分析前因子に関する考察は、質の高い遺伝子検査に不可欠である。

標本採集

試料の採集、輸送及び保管について、貴殿が推奨する選択肢を全て評価すべきである（例：RNA 保存用固定剤、冷凍・固定パラフィン埋め込み腫瘍組織）。試験ラベルで推奨されるものと同じ方法で取り扱われる標本を使用して、試験の妥当性が確認されることを確保すべきである。腫瘍の切除から保存に至るまでの許容経過時間（例：急速冷凍、固化等の方法による処理）が、標本を一様に許容できる結果となることについて、妥当性を確認すべきである。標本の輸送条件を指定すべきである。輸送条件が、試料の完全性を保つ上で、また輸送条件の変動の許容限

度（例：輸送所要時間、必要な冷却剤の量）を判定する上で適切であることについても、妥当性を確認すべきである。

適切な保管条件について妥当性を確認する際は、試料及び抽出された RNA 生産物の双方を対象に含めるべきである。

RNA 抽出

試験キットに RNA の抽出及び調製用の試薬を用意する意向の場合、分析前過程の各段階において、試薬が生産物の再現性、正確性及び安定性に及ぼす影響の妥当性を確認し、研究設計及び結果を 510(k)提出書類に記載すべきである。外部施設で研究（例：再現性、方法比較）を行う場合、分析前過程の評価を含めるべきである。

試験キットに RNA の抽出及び調製用の試薬を用意する意向でない場合、的確な試験結果を得られる RNA の十分な質を確保できるよう、適切な仕様を定めるべきである。仕様の例として OD260/OD280 比、リボソーム RNA 比（28S/18S）、RNA の完全性の測定など挙げられる。研究専用試薬（RUO）は一切、推奨すべきでない。

品質管理

この種の遺伝子発現プロファイリング試験システム向けに、様々なレベルの品質管理対策を検討すべきである。管理対策においては、1) 試料／生検の質、2) RNA の質、そして 3) 工程品質、これら 3 項目に関する情報を提供すべきである。工程品質管理対策は、RNA ラベリング、増幅、ハイブリダイゼーション、スキャニング及び正規化を含め、ただしこれらに限らず、工程全体を反映すべきである。

管理対策においては、試料の組成及び RNA 濃度の概要を示すことにより、システムの正当性を適度に疑うほか、カットオフを中心とする再現性への対処も可能とすべきである。

品質管理及び較正に関して、以下の項目について記述すべきである。

- ・ システムに含める、又はシステム向けに推奨する様々な管理対策の性質及び機能。係る管理対策においては、全ての段階及び極めて重要な反応が汚染或いは交差ハイブリダイゼーションを伴うことなく進行したかどうか、使用者が判断できるようにすべきである。
- ・ 値の割当方法（相対値又は絶対値）及び管理対策及び較正材料の妥当性確認（該当する場合）。
- ・ 要求される仕様に計装が適合していない状態の検出に利用可能な管理パラメータ。

分析性能

試作機ではなく最終版の機器を使用して、全ての分析性能研究を実施すべきである。貴殿がアッセイ（例：組織生検、針生検）向けに推奨する RNA の調達源全てに由来するアッセイについて、RNA 抽出も含め、性能を評価すべきである。当方は、下記の性能特性について記述するよう勧告する。

標本要件

貴殿が指定する標本要件が、所定の正確性及び精度基準の範囲内における貴殿の試験の診断パターン又は分類子を特定する上で十分であることについて、妥当性を確認すべきである。以下の項目を判定すべきである。

- ・ 許容可能なアッセイを貴殿の機器で実施するために必要な組織量の最低基準。
- ・ 許容可能な結果を出すために必要な、標本中の腫瘍細胞の割合の最低基準（例：ヘマトキシリン・エオジン（H&E）染色による判定）。
- ・ 許容可能な壊死組織又は出血性組織の割合の最低基準（該当する場合）。
- ・ アッセイにおいて、機器が一定の正確性及び精度基準を満たす信頼性のある結果を出すことのできる、RNA/cRNA 濃度及び腫瘍標本量の下限及び上限。

複雑なアルゴリズムを用いてシグネチャー（パターン又は分類子又は指標）を生成するアッセイの場合、RNA 濃度及び／又は腫瘍細胞の割合が、精度尺度で示されるアッセイ結果の信頼性を落とすことがないように配慮すべきである。

分析上の特異性／干渉

該当する場合、貴殿の機器における非特異増幅、非特異的ハイブリダイゼーション及び交差ハイブリダイゼーションの可能性を評価すべきである。

潜在的干渉物質が、標本中に存在する（例：脂肪細胞、血液）、或いは標本の採集時（例：人工物の破片など環境的影響）及び試料の調製時に混入するおそれがある。従って、貴殿の仕様は、干渉するおそれのある物質による影響の存在を一切排除できるよう、適切なものであるべきである。

カットオフ

提出書類において、カットオフをどのように判定したか、またこのカットオフ値の妥当性がどのように確認されたかについて、説明すべきである。カットオフは、貴殿の分類子策定方針に適する統計手法を用いて確立されるべきである。アッセイに曖昧な領域がある場合、その曖昧な領域の限度をどのように判定したか、説明すべきである。確立されたカットオフ（及び該当する場合は曖昧な領域）を用いる貴殿の機器の性能について、貴殿の機器に関して定義された使用目的に合致する独立的母集団を対象に、妥当性を確認すべきである。

精度（反復性／再現性）

貴殿の機器の精度（即ち反復性／再現性）を実証するデータを提供すべきである。CLSI（臨床検査標準化協会）の文書、「臨床用化学機器の精度性能評価」（CLSI ガイドライン EP5-A）及び「定性的試験性能の評価のための使用者手順書」（CLSI ガイドライン EP12-A）に、性能に関する主張を立証するための実験設計、計算処理及び形式の策定に役立つと考えられるガイドラインが記載されている。理想的には、精度研究においてアッセイの変動性の原因となる要素を全て特定すべきである。報告可能な個々の分類子の全範囲にわたる（例：高リスク、低リスク、

境界域) 個々の分類子について、性能特性を立証すべきである。精度に影響を及ぼす付加的因子として貴殿が考慮すべき事項の例として、以下が挙げられる。

- ・ 再現性試験に使用する試料が、貴殿が試験ラベリングで推奨するよう計画している手順に従って、臨床標本(例: 組織生検)を原料として試験現場にて加工されることを確保すること。
- ・ アッセイが複数の試験所で実施されることを意図する場合、3箇所以上の試験所を対象に含め、各試験所に複数の作業者が所在すること。作業者は、アッセイの潜在的使用者を教育及び経験の面で反映する人物であるべきである。試験システムの市販後に貴殿が使用者の訓練を意図している範囲と同じ範囲に限り、訓練を実施すべきである。
- ・ アッセイが単一の試験所実施されることを意図する場合、当該試験所に複数の作業者が所在すること。
- ・ 複数の製品ロット(例: 複数ロットの試薬、複数ロットのプライマー及びプローブ(RT-PCR用)、複数ロットのアレイ)、及び複数の器具を対象に含めること。
- ・ 試験で検出可能な全ての区分(例: 高リスク、低リスク、境界域)を代表する、適切な試験試料を使用すること。
- ・ 該当する場合、染料取り込みの際にバイアスが生じないことを確保するため、染料逆転実験を行うこと。
- ・ 該当する場合、試料ラベリング手順の再現性を実証すること。

510(k)における研究設計に関する記述の中で、評価中にどの要因(例: 計装の較正、試薬のロット、作業者)が一定に保たれたか、またどの要因が変動したか特定すると共に、データの評価に用いられた計算処理及び統計分析について記述すべきである。

安定性研究

試薬及び器具の実時間安定性を判定するための研究設計、また該当する場合は加速安定性及びストレス試験の条件及び結果について記述すべきである。各研究について、許容基準値の選定方法を記述すべきである。

計装の妥当性確認

複数のシグナルを測定し選別する計装及びシステム、並びに他の複雑な試験所用計装のうち、まだ認可を受けていないものについて、ガイダンス文書「クラスII特別規制ガイダンス文書: 臨床多重検査システム用計装」³を参照して、計装の認可を裏付けるために提供すべきデータの種類に関する詳細を確認すること。

臨床的妥当性確認

臨床研究を基に、貴殿の機器の用途及び主張に対する適応を裏付けるデータを提供すべきである。臨床的妥当性確認研究においては、意図される使用対象母集団に属し、かつ貴殿がシグネチャー(パターン又は分類子又は指標)の策定に使用した標本と無関係な患者試料を使用すべきである。個々及び臨床研究に関するプロトコール(包含基準及び除外基準、研究のエンドポイント、許容基準を含む)と、提案される使用目的をその研究がどのように裏付けるかについて記述すべきである。臨床的妥当性研究に基づく処理後のデータ(即ち予後の結果)と併せて、生データも提出すべきである。

臨床的妥当性確認研究の場合、妥当性確認データセットは、地理的所在地の異なる3箇所以上の臨床現場から集めた臨床試料で構成されるべきである。なるべく、研究は米国国民を対象とする範囲内で実施されることが望ましい。研究を米国外で実施する場合、米国の臨床慣行や人口動態と貴殿の研究の関連性を実証する文書の作成が必要となる。

貴殿特有の機器の臨床的妥当性及び有用性が、既に確立された科学的枠組みや十分な規模の証拠により裏付けられる場合、貴殿の主張を裏付ける査読審査文献の参照を提出してもよい。これらの資料には、適切な母集団を試験対象とする複数の研究を含めるべきである。貴殿の機器の使用に対する適応を、これらの文献で十分に裏付けられない場合、貴殿の機器に関する主張を裏付ける研究を実施すべきである。前向き研究で集められ保管されている試料に関する遡及的分析は、一連の研究におけるバイアスを特定し、全て排除又は軽減するための適切な措置が講じられるなら、許容可能となり得る。当方は、貴殿特有の研究案が適切であるか否か、FDAと協議して判断するよう勧告する。

臨床的転帰との比較を用いての正確性

臨床的眞実：貴殿の機器の性能をFDAが判断できるよう、臨床的妥当性確認研究において全ての患者に用いられる臨床的転帰の尺度、並びにその尺度を取得した方法を明確にすべきである。

エンドポイント：貴殿の機器について、適切な予後のエンドポイントを記述すべきである。例として1)手術から遠隔転移までの期間、2)総体的な生存（手術から何らかの原因での死亡に至るまでの期間と定義される）、3)無病生存（手術から再発（局所）、第2の原発性乳癌、遠隔転移、若しくは何らかの原因での死亡に至るまでの期間と定義される）、などが挙げられる。例えば、カプラン・マイヤーの積極限推定量は、これらのエンドポイントのうち1つ又は複数について、time-to-event（事象が発生するまでの経過期間）曲線の表示に利用できる。一定の時間間隔における95%両側信頼区間を含められる場合もあるが、使用対象母集団によって実際の時間が異なってくる可能性がある（例：5年経過時の事象が関連性を持つ患者群もあれば、そうでない患者群も存在する）。或いは、モデル想定条件に適合すれば、連続値リスク記述子（例：ハザード比）を利用できる場合もある。

妥当性確認方針：遺伝子シグネチャーの妥当性確認に用いられる方法を提示すべきである。この方法は、臨床プロトコル及び統計分析プランを含むべきである。臨床データは、遺伝子シグネチャーの開発に用いられたものではなく、新規のデータセットとすべきで、また患者は当該機器の使用対象母集団を代表する患者であるべきである。統計的アプローチについて、「ハザード比」の推定（time-to-eventデータに関する統計手法を用いて計算を行う推定）を利用して、ある事象の相対リスクを高リスク集団と低リスク集団を比較して定量化することが候補に挙げられる。妥当性確認向けの統計分析プランには、臨床研究において関心の的となる相対リスクに関する仮説を含めるべきで、例えば5年以内に転移癌が発達するリスクは、遺伝子発現プロファイル_xにより推定可能である。仮説上の相対リスクは、予後マーカーとしての遺伝子シグネチャーの妥当性を立証する、臨床的に関連性のある差異であるべきである。

臨床研究は、この仮説を実証するに足る十分な統計的検出力を得られる規模で実施すべきである。注意点として、経時的研究においては一部の患者が調査を打ち切られることになり、例えばある女性が研究終了前に心臓疾患など

乳癌と無関係な原因で死亡する場合がそうであるが、当方としては、そのような事例も全て分析に含めることを期待したいところである。多数の統計手法が、貴殿が 510(k)の提出に先立って確認すべき想定条件に依拠するものである（例：コックス回帰モデルにおける比例ハザード）。研究の範囲内での患者に関する記述的統計はもとより、特定の患者群に関する生存曲線、或いは貴殿のエンドポイントに関連するリスクの推定値（例：5年以内に転移性疾患を発症する患者の割合の推定値⁴）も含め、この臨床的妥当性確認研究の概要を提示すべきである。

予後成績は、転移性疾患の確率又はリスクに関して、以下の通り測定可能である。

- (1) P（機器の転帰が「転移性疾患のリスクは低い」とされる前提で5年以内に転移性疾患の発症なし）
- (2) P（機器の転帰が「転移性疾患のリスクは高い」とされる前提で5年以内に転移性疾患の発症あり）

注意点として、(1)は陰性予測値の定義と一致し、(2)は陽性予測値の定義と一致する。当方は貴殿に対し、それぞれについて95%信頼区間を報告するよう求める。成績は、中軸的研究における「5年以内における転移性疾患」の有病率の影響を受けることになる。従って、研究対象コホートにおける目標エンドポイントの有病率を報告すべきである。

貴殿の機器に関する結果を用いた一次分析に加え、貴殿の機器が「付加価値を持つ」ものであり、また医師へ提供可能な臨床データを検討した後であってもなお、予後に関する追加情報を提供するものであることを実証する分析結果も提示すべきである。乳癌の場合、様々な情報源から予後値に関する情報がもたらされる（例えば患者の年齢、ER状態、腫瘍のサイズ及び等級は定常的に評価される）。付加的な予後値を現在の臨床慣行で得られる定常的情報と比較したものを実証する情報を、提供すべきである。コックス回帰モデルが検討対象となり得る。

検討対象として適切な情報は、関心の的となる研究対象集団の如何によって変動し得る。当方は、研究の実施に先立ち、貴殿特有の研究案についてFDAと協議するよう勧告する。

研究試料

前向き試料が好まれる一方、備蓄分からの十分に特性評価された試料を臨床的妥当性確認研究に利用してもよいが、採集又は選定のバイアスが一切なく、かつ患者の経歴及び適切な転帰情報を入手可能であることが条件である。⁵ 選定（包含／除外）基準について全面的に記述し、また試料に関連する特徴又は制限を特性評価すべきである（前向き試料か備蓄分からの試料かのいずれを問わない）。患者の人口学的データや疾患の特徴、並びに使用目的及び研究対象母集団において関連のある転帰の有病率について記述すべきである。試料の選定は、試料の完全性、保管期間及び腫瘍サイズなどバイアスの発生源を最小限に抑えられる方法で行うべきである。当方は貴殿に対し、備蓄試料を使用して中軸的研究を実施する前に、FDAに相談するよう勧告する。

臨床材料からの確な結果を得られることを実証するため、使用目的において貴殿が主張する全てのマトリックス（例：冷凍又はホルマリン固定、パラフィン埋め込み（FFPE）、或いは核酸保存料内に採集されたもの）に由来する臨床試料を使用すべきである。適切な試料サイズは、精度／再現性、界面及びその他、試験の性能特性等の要因に左右される。当方は、貴殿の研究試料サイズの裏付けとなる統計手法を用いて、正当化自由を提示するよう勧告する。貴殿が臨床研究で使用する試料について、遡及的に検証された試料の保管及び輸送がアッセイ結果に影響を及ぼしていないことを実証するデータを提供すべきである。

試料の採集及び輸送の条件

時間及び温度の推奨条件の下で保管／輸送され、指定された回数の冷凍／融解（該当する場合）処理を施された標本アリコートの分析結果を用いて、推奨される保管期間及び温度が試料の安定性及び回復に及ぼす影響を評価すべきである。こうした類の研究の場合、試料の安定性パラメータ全てに対する許容基準を明記すべきである。

7. ソフトウェア

貴殿のシステムにソフトウェアが含まれる場合、懸念度に応じて詳細に記されたソフトウェア添付資料を提出すべきである（「医療機器に含まれるソフトウェアの市販前提出書類の内容に関するガイダンス」⁶参照）。危険の軽減より先に、懸念度を判断すべきである。この種の体外診断用機器は中程度の懸念度と見なされ、それはソフトウェアの不具合が患者に間接的に影響を及ぼす可能性があることや、医療提供者や患者が正確な情報を得られないことが原因で負傷を招く結果となるおそれがあるためである。

FDA の審査用にソフトウェア添付資料を準備する場合、適宜、以下の点を考慮に入れるべきである。

- ・ ソフトウェアの設計に関する十分な記述。使用目的の範囲を超えた用途を特に支援するような設計のユーティリティを含めるべきではない。また、設計においてはプライバシーとセキュリティの問題を考慮すべきである。こうした課題の一部について、医療保険の相互運用性および説明責任に関する法律（HIPAA）に関するウェブサイトを、<http://aspe.os.dhhs.gov/admnsimp> で情報を得られる場合がある。
- ・ 機器の設計、並びに信号の検出及び分析、データ保存、誤った患者報告に関連するシステム通信及びサイバーセキュリティ、計装の不具合、操作者の安全といった、サブシステム・コンポーネントの不具合による影響に関する、批判的思考に基づく危険分析。
- ・ 実質的同等性の実証を目的に提出される、当該バージョンのソフトウェアに関する完全な検証と妥当性確認に（V & V）の文書化。また、アッセイソフトウェアと計装用ソフトウェアの互換性の妥当性確認に関する情報も提供すべきである。
- ・ 510(k)の記載情報が、リリースバージョン以外のバージョンに基づいている場合、相違点を全て特定し、こうした相違点（未解決の異常も含め）が機器の安全性や実効性にどう影響するかについて詳述すること。

以下に挙げるのは、FDA の規制に沿った優良なソフトウェアのライフサイクル慣行の下で、機器の開発および維持の一助となる、付加的な参考資料である。

- ・ ソフトウェア妥当性確認の一般原則、産業界及び FDA 職員向け最終ガイダンス。FDA のウェブサイト、<http://www.fda.gov/cdrh/ode/510kmod.pdf> より入手可能。
- ・ 医療機器における既製ソフトウェア利用ガイダンス（最終版）。FDA のウェブサイト、<http://www.fda.gov/cdrh/ode/guidance/585.pdf> より入手可能。
- ・ 21 CFR 820.30 Subpart C - 品質システム規制に対する設計管理。

- ・ ISO 14971-1、医療機器 - リスク管理 - 第 1 部：リスク分析の適用。
- ・ AAMI SW68:2001、医療機器ソフトウェア - ソフトウェアのライフサイクルプロセス。

8. ラベリング

市販前届出には、21 CFR 807.87(e)の要件を満たす、十分に詳細な内容のラベリングが含まれるべきである。最終的なラベリングが 510(k)の認可に必要なわけではないが、体外診断機器向けの最終ラベリングは、体外診断機器が州間取引に導入される前に、21 CFR 809.10 の要件に準拠しなければならない。下記の勧告は、これらの要件を満たすラベリングの作成の支援とすることが狙いである。

単一の試験所で実施されることを意図され、パッケージ化される機器の一要素として添付資料を配布しない試験システムの場合、製造者は、一般にアクセス可能な FDA の 510(k)データベースウェブサイト

(<http://www.accessdata.fda.gov>) に掲載された 510(k)の要約及び／又は決定要約文書への参照リンクを試験報告書様式に記載することにより、使用者がラベリング情報を入手できるよう対応すべきである。

使用目的

使用目的においては、試験の測定要素、試験の利用対象となる臨床的適応症、試験において意図する特定の集団を指定すべきである。臨床成績が実証された患者に関する臨床的記述及び人口学的記述も盛り込むべきである（例：性別、年齢、リンパ節の状態、腫瘍の種類、腫瘍のサイズなど）。使用目的においては、試験が定性的か定量的かの区別も指定すべきである。試験が単一の試験所での利用を意図される場合、この情報も使用目的に盛り込むべきである。

機器に関する記述

貴殿の機器で用いられる試験方法について記述すべきである。

全般的手順

医師による試料採取から結果の報告に至るまで、分析手順に関する全般的記述を盛り込むべきである。

使用上の指示事項

貴殿の機器の技術的特徴や機器の使用方法を正確に説明する、明瞭かつ簡潔な取扱説明書を提供すべきである。取扱説明書は、機器の特徴や安全かつ効果的な機器の使用方法について、使用者が積極的に精通することを奨励する内容であるべきである。

取扱い及び保管の条件に関する指示も記載すべきである。また貴殿が使用者に推奨する、開放状態及び閉鎖状態での保管条件下における安定性についても記述すべきである（即ち有効期限の日付表記）。

品質管理

品質管理上の勧告を、添付資料に記載すべきである。これはアッセイに用いられるべき管理対策の内容や、管理材料について予測される結果に関する明瞭な説明も含むべきである。

注意、警告及び制限

アッセイの制限をラベルに明記すべきである。この部分には、医師が試験を指示する前に知っておく必要がある適切な制限及び警告が含まれるべきである。

貴殿のアッセイに関連する制限や警告に加え、乳癌の予後のための遺伝子発現プロファイリング試験システムには、以下に挙げる制限が盛り込まれるべきである。

- ・ このアッセイの結果を診断に利用すべきではない。
- ・ このアッセイの結果を、治療法に対する応答の予測、或いは最適な治療法の選定に利用すべきではない。
- ・ このアッセイの結果を、治療法の除外に利用すべきではない。
- ・ 結果は研究対象とされた患者サンプルの集団に限定される旨を説明する記述、例えば「本研究では術後の補助治療を受けなかった女性を母集団とする備蓄サンプルのみ使用した」、或いは「本研究の対象助成は特定の母集団を代表するに過ぎない」といった記述。

性能特性

添付資料において、第6節に記載の研究設計や研究結果について、使用者が試験結果を解釈する際に役立つと思われる要約を記載すべきである。このセクションには、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盛り込むべきである。臨床的性能特性には、臨床的研究妥当性確認の要約を盛り込むべきである。分析的な性能特性には、研究の結果と用いられた方法論に関する記述を盛り込むべきである。

結果の解釈

患者特有の結果を伝えるために使われる「分類」、「パターン」、「スコア」、或いは「指数」を明瞭に定義すべきである。報告書で引用される予後エンドポイント（遠隔転移が生じるまでの期間、或いは総体的な生存及び無病生存など）は、機器の臨床的妥当性確認に用いられた臨床試験の結果を基本とすべきである。

期待値

このセクションには、試験の期待値及び結果の説明を盛り込むべきである（例：「高リスクとは基準群に属する患者の x% が 5 年以内に遠隔転移を生じたことを意味する」、「再発スコア 7 とは、（中略）を意味する」）。また、期待値の判定に用いられた母集団のサンプルの数、年齢、性別、人口学的データも記載すべきである。

¹Sargent DJ, Conley BA, Allegra C, Collette L. Clinical trial designs for predictive marker validation in cancer treatment trials. J Clin Oncol. 2005;23(9):2020 – 2027.

² “Class II Special Controls Guidance Document: Instrumentation for Clinical Multiplex Test Systems”

³ “Class II Special Controls Guidance Document: Instrumentation for Clinical Multiplex Test Systems”

⁴Five years is used in this section, as an example of a minimum time point. It is possible that some studies may have endpoints exceeding five years.

⁵ The use of banked leftover specimens is discussed in FDA’s guidance “Guidance on Informed Consent for In Vitro Diagnostic Device Studies Using Leftover Human Specimens that are Not Individually Identifiable.”

⁶“Guidance for the Content of Premarket Submissions for Software Contained in Medical Devices”.

(2) 米国 FDA によるガイダンス、コンセプトペーパーの例

第 1 回開発ワーキンググループ委員会の資料（平成 22 年 10 月 4 日）として、FDA が公表した以下のガイダンス草案文書を配付した。

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

in vitro 診断用複数指標測定法：ガイダンス草案

本ガイダンス文書はコメントを求めることのみを目的として配布される。

文書発表日：2007 年 7 月 26 日

本草案文書に関わるコメントおよび提案は、ガイダンス草案が入手可能になった旨を伝える告示の Federal Register(連邦広報)における発表から 30 日以内に提出するものとする。書面でのコメントの提出先は、Division of Dockets Management (HFA-305), Food and Drug Administration（食品医薬品局案件管理部）, 5630 Fishers Lane, rm 1061, Rockville, MD, 20852 である。電子媒体でのコメントの提出先は、<http://www.fda.gov/dockets/ecomments> である。コメントはすべて、案件番号 2006D-0347 で特定されなければならない。

このコメントに関連する質問については Courtney Harper まで問い合わせ願いたい(電話：240-276-0694)(courtney.harper@fda.hhs.gov)。CBER による規制を受ける機器に適用される本文書に関する質問については、Martin Ruta(電話：301-827-3518)まで問い合わせ願いたい。

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

in vitro 診断機器評価安全室

生物製剤評価研究センター

追加コピー

追加コピーは以下のインターネットサイトで入手できる。

<http://www.fda.gov/cdrh/oivd/guidance/1610.pdf> または <http://www.fda.gov/cber/guidelines.htm>。

本ガイダンスの電子コピーを受け取りたい場合には dsmica@fda.hhs.gov まで電子メールを送信するか、ハードコピーを受け取りたい場合には 240-276-3151 まで要請ファックスを送信願いたい。要請するガイダンスの特定には文書番号 1610 を使用すること。ガイダンスのコピーは以下からも入手可能である。

コミュニケーション・訓練・製造支援室、HFM-40

生物製剤評価研究センター

食品医薬品局

1401 Rockville Pike, Suite 200N, Rockville, MD 20852-1448

電話: 800-835-4709、または 301-827-1800

(本文)

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

in vitro 診断用複数指標測定法

本ガイダンス草案は、最終承認されれば、このテーマに関する食品医薬品局（FDA）の現在の考えを示すことになる。これは何人のための権利あるいは何人に対する権利をも創出又は付与するものではなく、また FDA あるいは一般市民に義務を負わせる働きを有するものでもない。ある代替アプローチが、適用される法律および規則の要件を満たすものであれば、それを利用してもよい。代替アプローチについて議論を望む場合、本ガイダンスの履行に責任を負う FDA 職員に連絡のこと。適切な FDA 職員を特定できない場合、本ガイダンスのタイトル頁に記載の電話番号へ問い合わせのこと。

序文

本ガイダンス草案は、in vitro 診断用複数指標測定法 (IVDMIA) と称される in vitro 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、IVDMIA 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、in vitro 試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、一人の患者だけ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 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IIおよびIII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の結果の臨床上の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値的な変化(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転帰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 IVDMIA 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 IVDMIA 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。製造者は多変量機器が前述の定義に基づいて IVDMIA 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 IVDMIA であるかどうか不確かである場合には、in vitro 診断機器評価安全室(OIVD)に意見を求めることができる。

IVDMIA に関する市販前および市販後の要件

IVDMIA 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 IVDMIA 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 I (低リスク)、クラス II (中等度のリスク)およびクラス III (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せられて、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 I 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 II 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 U.S.C.、360k)。クラス III 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 U.S.C. § 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/3132.html>]。

大部分の IVD MIA はクラス II または III 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 IVD MIA はクラス I 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 II 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の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 IVD MIA 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。IVD MIA 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。

IVD MIA 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 IVD MIA 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。OIVD 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 IVDMIA 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 IVDMIA 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Ⅲ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。

IVDMIA 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 830.30(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 830.50(a))。IVDMIA を製造する検査機関は IVDMIA 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 IVDMIA 資料提出のスケジュール

機器規制要件に従う IVDMIA 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 IVDMIA 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 IVDMIA 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 IVDMIA に関しての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、IVDMIA の製造者は自らが市販している IVDMIA 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 IVDMIA の提出

市販前通知

規制の免除とはならないクラス I またはクラス II の機器を市販する予定の各製造者は (21 USC 、 360(l)-(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 、 360c(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 III からクラス II または I 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 III の機器はクラス II 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 、 360c(i))。さらに OIVD はクラス II 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 II 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 III 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 III からクラス I または II 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 I または II 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 II の機器に関する一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Ⅱ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Ⅲ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Ⅲ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Ⅲ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Ⅲ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。規制中のこの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(IVD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Ⅱ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關しての510(k)提出時期の決定」という標題の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。OIVD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Ⅱ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Ⅲ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Ⅲ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Ⅲ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。

OIVD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的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IVD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。IVDはまた追加的は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IVDMIAの製造者に対して、CLIA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。

(3) 米国 FDA によるガイダンス、コンセプトペーパーの例

第 1 回開発ワーキンググループ委員会の資料（平成 22 年 10 月 4 日）として、FDA が公表した以下のクラス II 特別管理ガイダンス文書文書を配付した。

業界及び FDA 職員向けガイダンス

クラス II 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）

文書発行日：2005 年 8 月 25 日

本ガイダンスに関する質問がある場合、Uwe Scherf まで電話（番号：240-276-0496）又は電子メール（アドレス：uwe.scherf@fda.hhs.gov）にて問い合わせのこと。

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

序文

パブリックコメント

書面によるコメント及び提案は、Division of Dockets Management (HFA-305), Food and Drug Administration（食品医薬品局案件管理部）、5630 Fishers Lane, Room 1061, (HFA-305) Rockville, MD, 20852 まで随時提出することが可能であり、当局の検討対象となる。また電子媒体によるコメント提出も可能である（提出先：<http://www.fda.gov/dockets/ecomments>）。コメントには案件（ドケット）番号[2005D-0264]を記載されたい。当局は本文書の次回改定または更新時までコメントに対する対応を行わない可能性がある。

追加コピー

インターネット（<http://www.fda.gov/cdrh/oivd/guidance/1563.pdf>）、またはファクシミリによる（番号：800-899-0381 または 301-827-0111）本文書のコピー入手が可能である。ファクシミリの場合はプッシュボタンで電話番号を押した後、システム（the CDRH Facts-On-Demand system）につながるために 1 を押す。続いて音声案内に従い、文書を注文するために再度 1 を押し、更に文書番号（1563）を押してから # を押す。引き続き音声案内に従い注文を終了する。本ガイダンスの使用または解釈について質問がある場合は、Uwe Scherf まで電話（240-276-0496）または電子メール（uwe.scherf@fda.hhs.gov）にて問い合わせのこと。

目次

1.序文

2.背景

3.簡略 510(k)申請書の内容及び形式

- 4.適用範囲
- 5.健康リスク
- 6.機器に関する記述
- 7.性能特性
- 8.ラベリング

(本文)

業界及びFDA 職員向けガイダンス

クラス II 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）

本ガイダンス草案は、このテーマに関する食品医薬品局（FDA）の現在の考えを示すことになる。これは何人のための権利あるいは何人に対する権利をも創出又は付与するものではなく、また FDA あるいは一般市民に義務を負わせる働きを有するものでもない。

ある代替アプローチが、適用される法律及び規則の要件を満たすものであれば、それを利用してもよい。代替アプローチについて議論を望む場合、本ガイダンスの履行に責任を負う FDA 職員に連絡のこと。適切な FDA 職員を特定できない場合、本ガイダンスのタイトル頁に記載の電話番号へ問い合わせのこと。

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 II（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（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 II 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られる。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/cdrh/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(l)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るべきである。

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るべきである。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るべきである。

特定リスク

- ・ 不正確な結果及び不適切な患者管理
- ・ 診断遅延
- ・ 患者検体再採取の必要性

推奨緩和策：第 6、7 章

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べきである。

「定量測定法の精度実績の評価：認定ガイダンス」(2004)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：認定ガイダンス(2002)、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)、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、組織またはその他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るべきであるが、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並びに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 $4.8 \times 10^6 \sim 1.1 \times 10^7$ 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ーインターフェイス（GIU）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べきである。

2. ガイドラインの検討過程

2.1 第1回開発ワーキンググループ委員会

(1) 開催日時 平成22年10月4日(月) 15:00~17:00

(2) 開催場所 オフィス東京 2階L会議室

(3) 議事次第

- 1) 開会の挨拶と資料の確認
- 2) ガイドライン事業の説明
- 3) 委員の紹介と座長の選任
- 4) DNAチップガイドライン事業の説明
- 5) 話題提供(発表30分間、討議10分間)

「個別化医療とRNAチェック」的場 亮氏(株式会社DNAチップ研究所代表取締役社長)
内容は「1.3.1 話題提供(1)」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

- ・ガイドラインに関する説明
- ・MAQC-IIのまとめ
- ・バイオチップコンソーシアム委託調査について
- ・平成21年度ガイドライン検討項目について

討議項目

- ・ガイドライン作成のスケジュール(必要な情報や調査項目、分担・グループ分け)
- ・ガイドラインの項目に関する討議(具体的な中身について、簡単に)

7) 英文ガイドラインの検討

- ・英文のチェック

8) 次回の予定

(4) 配布資料

資料1: ガイドライン事業に関する資料

資料2: 話題提供資料「個別化医療とRNAチェック」

的場 亮氏 株式会社DNAチップ研究所 代表取締役社長

資料3: MAQC-IIのまとめ

資料4: 委託研究実施計画書(バイオチップコンソーシアム委託)

資料5: 「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」

資料6: DNAチップ開発ガイドライン検討資料

6-1: 「クラスII特別規制ガイダンス文書: 乳癌の予後のための遺伝子発現プロファイリング試験システム: 2007年5月9日」(翻訳版)

6-2: "Class II Special Controls: Gene Expression Profiling Test System for Breast Cancer Prognosis"
(May 9, 2007) (原本)

6-3 : 「in vitro 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 : 平成 21 年度配付資料 3-1)

6-4 : "In Vitro Diagnostic Multivariate Index Assays" (July 26, 2007)

(原本 : 平成 21 年度配付資料 3-2)

6-5 : 「クラス II 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 : 平成 21 年度配付資料 3-3)

6-6 : "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) (原本 : 平成 21 年度配付資料 3-4)

6-7 : "DRAFT GUIDANCE: Pharmacogenomic Data Submissions" (August 24, 2007)

(原本 : 翻訳無し)

資料 7 : 英文ガイドライン

7-1 : "Development guidelines 2007: Diagnostic device for personalized medicine (DNA microarrays) - DNA microarray for genotyping - (May 2007, Ministry of Economy, Trade and Industry)"

7-2 : 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-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)

(5) 議事概要

・ガイドライン検討項目について、前年度検討内容 (資料 5) および補足資料 (FDA のガイダンス、乳がんの遺伝子発現プロファイリングシステム、IVDMIA など) を説明した。

・ガイドライン作成の進め方に関して討議を行った。

○平成 21 年度の委員会で検討したように、測定装置、評価、標準の 3 つの項目と全体の 4 つの項目に分けて検討する。

・内容に関する討議は以下のようなものである。

○評価法のところは何を作るのか。

○装置の中に評価法が入っている場合もある。チップの評価については装置だけではないところもある。診断のための評価ではなく、あくまでも装置の評価である。診断に貢献する装置の評価法という観点から、項目立てをする。

○エンドポイントの置き方によって、当然求める基準も変わってくるし、バリデーションにおいても、まだやり方が決まっていないところは今後継続的に検討しなさいというような形で置いておくのか。

○どのアルゴリズムを使うのがいちばん妥当なのか、あるいはいちばん成功確率が高いのかを知りたいとなると、まだ決まったものはない。それをどのような記載にするか。

○具体的な数値はないので、誤診のない方向に振るようにスレッショールドを設定する。逆に、リコメンドするものを判定するときには、より絞り込んだ側に設定する。

○各遺伝子の出現量ようなものも個別にフィードバックしてほしい。オール・オア・ナンで返すのがいいのか、将来的には評価の方法として考えるべきということまで入れるのか。

○Oncotype DXなどは中間点がある。

○患者さんに、こういう臨床試験があつて、何パーセント再発することになって、このグループにあなたは入っているけれども、化学療法をしますか、しませんかと聞く。結局判断は患者さんに任せる。そういう提示の仕方もある。

○例えばデータの管理については、生データとかイメージファイルを保存するよという形のガイドラインも評価方法の中に入るのかなと思う。判定はどういうアルゴリズムを使ったかを明記する。

2.2 第2回開発ワーキンググループ委員会

(1) 開催日時：平成22年11月29日（月） 15:00～17:00

(2) 開催場所：オフィス東京 2階 L会議室

(3) 議事次第

1) 開会の挨拶と資料の確認

2) 第1回委員会議事の確認

- ・第1回開発WG委員会議事について
- ・第1回審査WG委員会議事について

3) 話題提供（発表30分間、討議10分間）

「がんワクチンゲノミクスに基づくがんワクチン適格性予測診断キット及びがんワクチン副作用診断キットの研究開発」 九州大学 久原 哲 教授

内容は「1.3.1 話題提供(2)」項にまとめた。

4) 委託調査(JMAC)の中間報告

5) 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

- ・測定装置：橋本委員、秋山委員
- ・標準化：久原委員、桑委員
- ・評価：油谷委員、楠岡委員
- ・全体の取りまとめ：林座長、事務局

6) 英文ガイドラインの検討

- ・英文のチェック

7) 次回の予定

(4) 配布資料（平成22年11月29日）

資料1：第1回委員会議事録など

1-1：第1回開発WG委員会議事録

1-2：第1回審査WG委員会議事録

1-3：第1回審査WG委員会資料「国内外の規制と米国での認可状況」

1-4：第2回審査WG委員会議事次第

資料2：話題提供資料

「がんワクチンゲノミクスに基づくがんワクチン適格性予測診断キット及びがんワクチン副作用診断キットの研究開発」九州大学 久原 哲 教授

資料3：委託調査（JMAC）の中間報告資料

「遺伝子発現解析用DNAチップ開発状況調査中間報告」バイオチップコンソーシアム

資料4：DNAチップ開発ガイドライン検討資料

4-1：「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」

（第1回委員会資料5）

4-2：委員の作成したドラフト

資料5：英文ガイドライン検討資料（資料5-1と5-2を対応表形式で表示）

5-1：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）

5-2：”Development guidelines 2007: Diagnostic device for personalized medicine (DNA microarrays) - DNA microarray for genotyping - (May 2007, Ministry of Economy, Trade and Industry)”（委員による改訂版）

(5)議事概要

○作成するガイドラインのドラフトを議論して、最終案をまとめる。

各項目についての議論の内容は、主として以下のようである。

○「測定装置（チップと装置）」

2.1「原理と構造」は、(1)「遺伝子発現解析用DNAチップの検出原理」、(2)「チップと装置の構造」。ここはジェノタイピングと一緒に形で記載。

2.2「方法」は、(1)の「検出の概要」についてはジェノタイピングをベースにして変更。

(2)「装置の機能」は前回に準じた形。ポイントは「また標準チップや基準光源などの基準信号源による読取装置自体の校正を行うことが望ましい」で、具体的に、資料4-1の5頁に、昨年度の課題をいくつかピックアップした。「測定装置（チップと装置）」として、「装置の再現性、信頼性を評価する方法（標準チップなど）」ということで、2.2の(2)で「標準チップ」という言葉を入れた。

(3)「再現性」の「DNAチップ、および検査システム」で、「分析間」、「アッセイ」をすべて「分析」に変えた。

(4)「検査の品質管理」の「適切な陽性対照、陰性対照」は、「対照」で統一した。

2.4「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)の「検体・サンプル」。より繊細なRNAを扱うということで、文面を変更した。

(2)は、特に今回はRNAを使うということで、変更した。RNAの分解によって測定結果が影響されるので、それを保証する基準を設けなさいという記載。

2.7「品質管理」。(1)「DNAチップ」は、「特にDNAチップの品質管理に関連しては、ISO/NP16578規格名称『マイクロアレイを用いた特定核酸配列の検出に関する一般的定義と要求事項』」という言葉を追加。

○RNAの場合はcDNA。DNAだけではなくてPNAなども使う可能性がある。

(「標準」について)

○2.3「標準」、「標準物質について」。「標準物質」としては、人工RNAの配列、DNAチップ用とかRNAの発現解析用のDNAチップ。人工配列というものを作らないといけない。標準物質として定義をするときに、ある値をどこかで認証しないといけないので、認証の方法を決めておかないといけない。核酸の濃度とコピー数ぐらいを認証したものを、どこかで提供することが必要。標準物質の保存法や安定性も含めて、安定性基準の設定等をきちんと決めないといけない。

○エクスペリションプロファイルを問うために、どういう遺伝子をリスト化していくかということも考えないといけない。

○配布体制をどうのように構築していくかも考えておかないといけない。

○RNAの標準物質をどこかの機関でまとめるのか。⇒ 一部は産総研で濃度とコピー数という形で認証を出した。

○精製された単一のRNA種ということか。MAQCでは市販のRNAを使っている。2種類のRNA、脳から採った混ざったRNAなどを使う。あるいはスパイクイン。標準の物質というのは精製されたRNA、単一のRNAではなくて、むしろ市販品でもいい。みんなが共通して使えるもので、データを比べるタイプの標準標品。

○市販のRNAはロットが違うとかなりプロファイルも異なってくる。

○標準物質は、内部標準と外部標準とがある。内部標準の取り方も検討が必要。外部標準についても単一のRNAなのか、RNAのミクスチュアを使うのか、場合分けが必要。

(「評価方法」について)

○「測定装置」2.3(2)「感度・ダイナミックレンジ」についても、「標準検体、標準物質などを用いて」とあるが、外部標準になるか内部標準になるか場合分けをして記載する。

3.「評価法」の3.2「データ解析、解析ソフトについて」。比較方法としては定量PCR、TaqMan法や次世代シーケンサーにおいて、ほかのプラットフォームの結果との一致度を確認する。遺伝子が重要な意味を持つ場合は、両者が一致しなければならない。複数遺伝子で判定アルゴリズムを構築するので、それ以外のサブ的な遺伝子に関しては、必ずしも一致しなくてもよい。

3.5「比較試験・臨床評価試験」。「DNA濃度」を「RNA」に変更。「150例以上」という言葉に関しては、前回のジェノタイピングと同様。150例以上集まらないレアな疾患、あるいは150例に満たなくても有効性が示される場合に関してはこの限りでない。

3.8「その他」に関しては、積極的に承認していただきたいという言葉に変えた。

○ジェノタイプと違って症例数の点が難しい。アルゴリズムの判定は実際の患者さんでやらなければいけない。装置の場合、新しい診断チップを作ったときに、コンテンツがきちんと測れていれば、装置としてはよい。

○乗せているコンテンツが有用なのか、このガイドラインで収めるには難しい。

○アルゴリズムの妥当性とは、例えば予後の悪い人を判定した人が、確かに5年後には予後が悪かったとか、それが何パーセント当たるかとか。⇒ かなり厳しい。

○実用的に、いまは染色体の検査には3週間ぐらいかかるが、メッセージのRNAのレベルだとすぐに分る。そういう時間のファクターを入れると、効果的である。

○そのアルゴリズムが、そこで使われている理由が説明できればいい。

○「有用性」という言葉のほうがいい。

○目的遺伝子というのがよくわからない。目的遺伝子がたくさんある場合もあれば、特別な目的の遺伝子がある場合もある。例えば1,000の目的遺伝子があったら、1,000調べないといけないということになってしまう。「調べることができる場合においては、調べて示すことが望ましい」というほうがいい。「積極的に承認を与えるべきものである」というのは、書いていいものかどうか。

○症例数を何例か出したら、その根拠を示す必要がある。ガイドラインに規定されると、ガイドラインを利用される者はガイドラインに「150」と書いてあるからと言える。本開発WGの責任として、この150の妥当性を述べなければいけない。例えば過去の研究や論文から導き出した数値ですという説明が必要である。

○前回のジェノタイピングでも150例と書いてあった。

○品目が違ったら、数が違ったり目的が違ったりということがある。

○150は一般的な体外診断薬の評価基準である。そのまま当てはめられるかどうかは議論を要する。

○ジェノタイピングはたくさん並んでいても、それぞれ1個1個のジェノタイピングの測定。発現解析の場合、何十個測って、その全体としての判定なので意味合いが違う。

○数が少なくてもいいのではないかとこのところは問題。厚生労働省が希少疾病やオーファンに入れるか、一般の医療機器の審査の中で見るかは、世の中にどのくらい疾患の数があるかが重要である。

【全体の取りまとめ】

○大部分はジェノタイピングのものをベースにして取りまとめることとした。「本ガイドラインの目的と範囲」について目的はほぼ同じで、ジェノタイピングと違うのは、DNAチップによる検査・診断への応用である。「疾患の早期発見・早期診断、客観的疾患の分類・確定診断、治療法選択、病状変化把握や治療効果モニタリングなどが考えられる」を入れた。臨床を想定する場合には、高い信頼性や再現性が重要。発現解析では解析対象がRNAなので取扱い注意が必要である。

○「検査対象とリスク」。「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」とした。「測定結果は疾患の診断、治療法選択、病状経過や薬剤結果のモニターなどの参考」で、参考とした。リスクは個人情報保護の保護に注意する必要がある。

○「先行事例」は、MammaPrint、Oncotype DXを記述する。

2.3 第3回開発ワーキンググループ委員会

(1) 開催日時：平成23年2月14日(月) 15:00~17:00

(2) 開催場所：オフィス東京 2階 L会議室

(3) 議事次第

1) 開会の挨拶と資料の確認

2) 第2回委員会議事の確認

- ・第2回開発 WG 委員会議事について
- ・第2回及び第3回審査 WG 委員会議事について

3) 委託調査 (JMAC) の最終報告 (発表 30 分間、討議 10 分間)

「遺伝子発現解析用 DNA チップ開発状況調査最終報告」

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

内容は「1.3.3 動向調査」項にまとめた。

4) 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

- ・測定装置：橋本委員、秋山委員
- ・標準化：久原委員、桑委員
- ・評価：油谷委員、楠岡委員
- ・全体の取りまとめ：林座長、事務局

5) 英文ガイドラインの検討

- ・英文のチェック

6) その他

- ・ガイドライン策定・公表の説明

(4) 配布資料 (平成 23 年 2 月 14 日)

資料 1：第2回委員会議事録など

1-1：第2回開発 WG 委員会議事録

1-2：第2回審査 WG 委員会議事録

1-3：第3回審査 WG 委員会議事次第

資料 2：委託調査 (JMAC) の中間報告資料

「遺伝子発現解析用 DNA チップ開発状況調査最終報告」バイオチップコンソーシアム

資料 3：DNA チップ開発ガイドライン検討資料

3-1：平成 22 年度第2回開発ガイドライン WG 委員会検討内容

3-2：今回委員が作成したドラフト

資料 4：英文ガイドライン検討資料

日英文対応表 (再校正版)

資料 5：ガイドラインの策定と公表の説明資料

(5) 議事概要

【討議】 遺伝子発現解析用 DNA チップ開発ガイドラインについて討議した。

主たる内容は以下のとおりである。以下に各項目について担当者を決め議論を進めた。

【測定装置】

・測定装置(2)のチップと装置の構造：「プローブ DNA」の設計指針のコメントと「PNA とか LNA とか人工核酸を用いる場合、」というコメントを含めた。

・2.2方法：(1)検出の概要。プロトコル、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「RNA抽出・RNA増幅・標識など」にコメントを加えた。「チップ・装置を導入する前工程で、チップ・装置へのセッティング、装置での処理手順」。

(2)装置の機能：標準チップの説明を削除。「標準物質を用いて測定装置の評価」というコメントで標準物質とのつながりを持たせた。

・2.3(3)再現性：前回議論になった3カ所以上の施設で実施されることというコメント；ハードルが高いので、統計的に解析が可能である3データ以上ということで、「同一施設で3人以上の異なった測定者」で実施されることとした。検査するサンプルは同一施設のみではなく、3カ所の施設から収集することとした。

○「同一施設で3人以上の異なった測定者」は、本当に異なった測定者かどうか確認できない。同じ施設では3つの独立したデータを出すこと。何人かというのは問題ではなく、データのセットが3つあって、それが独立であればよい。例えばISOの基準に則ってやればよいと記載すればよい。

○何箇所とか何人とかというのではなくて、データの独立性が高いということを記述して、独立性という意味について説明するという形にすればよい。

○サンプルを3カ所からもらうというのは結構ハードルが高いのではないかな？

○複数施設からというように1個下げる。1カ所で申請するというのは危険。

○治験のフェーズワンでは施設は1箇所。施設が複数ではないから妥当性がないというのは、論理がない。

○土俵に乗らないわけではないので、「複数」に変える。独立した3データも直す。

【標準化】

○3.2(2)標準物質はJCTLMでもWGが議論。産総研の担当者が資料を準備する。

・標準物質としての必要事項：公式に認められる国際的に通用する標準物質（ISO Guide 34）。認証標準物質で公式に認められるものが、RNA対象の定量評価に必要である。

・1次標準物質は多量にできないので、製品の品質管理には二次標準物質を用いる。

・4.2(1)品質管理：ロット毎の遺伝子cDNA配列の確認によって相同性を担保。

・品質同定のための「純度」の規定、「濃度の単位」を決める手順が必要。外部標準物質との整合性試験も必要。

○標準物質の管理について、企業側に使ってもらいたいガイドラインであり、一次標準物質については、管理をしている所の標準物質を使うのが望ましい、との記述が適当である。企業が品質管理をしなければいけないような印象を受ける。企業が申請書に記載するとか、そういう形が妥当である。

○DNAは600ベースの真ん中に4つのATGCの違いを入れた核酸標準物質で承認をとる。RNAも同じように、長さは500ベース。デザインされた配列のDNAを作って、RNAを大量に生産して、精製・定量して濃度を認証する。

○産総研で作られた標準物質の影響について；少なくとも国内で開発するときには産総研の作られたものを使えば問題ないという位置づけか。⇒それで進めたいということである。

【評価】

- ・ 3.1 「評価項目」：⑤臨床的実効性を「判定のアルゴリズム」に修正。
- ・ 3.2 「他の発現解析手法との比較」：DNAチップの評価は、「他の遺伝子発現の「解析法」と比較・検討することが望ましく」と変えて、重要な遺伝子については、正確に定量する方法で比較して、両者の一致率を検討する。MammaPrintのような70遺伝子すべてについて定量するのではなく、「本当に診断上、重要な遺伝子を対象にきちんと検証する」。
 - 重要な遺伝子というのは？
 - アルゴリズム上、診断・判定において寄与率の高い遺伝子のこと。70遺伝子の中で、同じウエイトですべて判定するのではなくて、ウエイトの高い遺伝子について定量する。
 - 重要な遺伝子が何かを言わないと、何が重要なかわからない。その重要な遺伝子について、「以下のことをすること。」がよい。
- ・ 3.3 「データ解析・解析ソフトについて」：3.2「発現解析手法との比較」とし、3.3で、実際にデータ解析・解析ソフト、アルゴリズムに関してに分けた。
 - ・ 解析ソフト：「解析ソフトについては、同一データから同一の結果が得られること。その再現性を保証するためには、アルゴリズムを明確に表現することが望ましく、具体的には正規化の手法、データ補正の方向、マーカー遺伝子の抽出方法、判定の方法などを数式等で表し、数値化したデータに基づき判定されることが望ましい」。
- ・ 3.5 「比較試験・臨床評価試験」：独立した3データ、下の検査するサンプルについても「複数施設から」と修正。
- ・ 3.6 「判定アルゴリズム」：後半の部分で「複数施設から収集したサンプルを用いた統計的有意差を示すデータの提出が要求される」と変えた。具体的な数値を出さずに、統計的有意差を示すことができればそれで良い。「ただし」で、症例数の少ない場合を例外にする。
 - なるべくハードルを低くして、確実に統計的解析ができる数を得る。
 - 「医師による日常的な観察と併せて、診療上の意思決定を補完する目的」というのは、具体的にはどういう状況か。
 - 例えば Oncotype DX のように、最終診断ではなくて、結局化学療法をスキップできるかどうかの指標。臨床病理学的に乳がん診療ガイドラインがあるが、ボーダーラインにあるような患者に対して Oncotype DX の結果、どちらの治療を選ぶかは、結局ドクターの裁量による。
 - ほかの箇所に比べると、ここだけすごく詳細。最後の2行は、より少ない症例で有効性が十分に示される場合はもちろん必要だが、日常診療の意思決定を補完する云々、文章が長くて具体的すぎる。

【全体の取りまとめ】

議論された内容をまとめて各委員におくり確認を得る。

3. ガイドラインの検討結果

遺伝子発現解析用 DNA チップ開発ガイドライン 2010(案)

1.概要

1.1 遺伝子発現解析用 DNA チップ

DNA チップは、基板の上に特定の塩基配列を持った DNA を高密度に配置し、固定したものである。この DNA をプローブとして、検体標品を精製・標識など前処理したのものに対して反応させ、その反応物をレーザー光や電気的・化学的検出法によって高感度に検出する。これによって多数の遺伝子や多型 DNA について網羅的な解析を可能にするものである。遺伝子発現解析用 DNA チップは遺伝子発現をもとに遺伝子の機能状態についての網羅的な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対象であるゲノム DNA などとは異なり、主に RNA、もしくは、それを調製した試料である。

1.2 本ガイドラインの目的と範囲

DNA チップは、近年の技術的進歩によって、基礎研究用のみならず、あらゆる疾患の検査・診断や各種薬剤感受性の検査などに利用されるようになってきており、新たなジャンルの次世代医療機器として期待されている。一方で、DNA チップは信頼性や再現性、標準化など臨床現場に広く導入するにはまだ問題も多い。これらの問題点を解決し、医療機器としての DNA チップの開発意欲を向上させ、DNA チップ及び関連機器の開発を促進し活性化することを目的に、まず遺伝子型（ジェノタイピング）検定用 DNA チップについて「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」を策定し、公表した（平成 19 年 5 月、経済産業省）。今回は、遺伝子発現解析用 DNA チップに焦点をあて、医療機器としての遺伝子発現解析用 DNA チップ及び関連機器の開発の促進・活性化を目的に、その指標となるためのガイドラインを策定する。

遺伝子発現解析用 DNA チップによる検査・診断への応用としては、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、病状変化把握や治療効果モニタリングなどが考えられる。臨床検査や診断などの実臨床で DNA チップを用いる場合、得られるデータの高い信頼性や再現性が重要であり、判定ミスや判定の曖昧さを極力排除しなければならない。特に遺伝子発現解析用 DNA チップの解析対象である RNA は不安定な物質であるため、検体の保管・運搬及び前処理を含めた取り扱いにおける質保証、さらに再現性や信頼性の確保など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る。

DNA チップは専用の測定装置とともに使用され、複数遺伝子の測定値をアルゴリズムに基づいて解析し、医療情報として提供する。DNA チップおよび関連装置の開発の促進には、高性能な測定装置の開発だけでなく、データの互換性や精度や再現性の向上のための標準化も必要であり、またチップや装置の評価法についても指針が必要と思われる。そこで、本ガイドラインではチップを含めた測定装置、その評価方法、標準化と大きく 3 つの項目にわけて記述する。

1.3 検査対象とリスク

検査対象は患者及び検査を希望する健常人であり、その血液、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、そのプロトコルの標準化が重要な問題である。得られた測定結果は疾患の診断、治療法選択、病状経過や薬剤効果のモニターなどの参考となる。また、検体の採取には侵襲を伴うため、その負担とリスクを軽減する工夫や事故の補償に配慮すべきである。RNA が解析対象であってもそこから一部のゲノム情報も得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。

1.4 先行事例

遺伝子発現解析用 DNA チップの臨床応用がすでに始まっている例として、国外で開発された乳がんの治療法選択に用いられる MammaPrint があり、本邦でも保険適用外ではあるが一部医療機関で用いられつつある。また、DNA チップとは異なるが、同様に乳がんの治療法の選択の際の指標として、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 法を基礎とした製品 Oncotype DX が実用化されている。

2.測定装置(チップと装置)

2.1 原理と構造

(1)遺伝子発現解析用 DNA チップの検出原理

RNA の検出方式、装置で検出する出力信号を生み出す機構について詳細に検討する。

(2)チップと装置の構造

基板やプローブ DNA などチップを構成する主要素の仕様や形状・サイズ・構造などについて検討すること。特にプローブ DNA に関しては、 T_m (melting temperature) 値、GC (グアニン・シトシン) 比、配列の特異性や長さなど、プローブ設計の要件について検討すること。また、PNA や LNA などの人工核酸を用いる場合はその化学的性質についても検討することが望ましい。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、機能の概略などについて検討すること。

2.2 方法

(1)検出の概要

プロトコル、即ち検体の準備から、検出・判定に至る全工程の流れ、特に RNA 抽出・RNA 増幅・標識等のチップ・装置に導入する前工程、チップ・装置へのセッティング、装置での処理手順 (処理条件)、信号から判定を導く工程等について技術的に詳細に検討すること。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評価することが望ましい。

(2)装置の機能

信号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。また標準物質を用いて測定装置の評価や基準光源などの基準信号源による測定装置自体の校正を行うことが望ましい。

2.3 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や濃度が既知である試料を用いて、実験的に DNA チップの特異性を検討すること。実験での評価が困難な場合は、DNA プローブの選定プロセスを詳細に説明することが望ましい。また、目的遺伝子以外と交差反応する可能性がある場合は、そのリスクについても検討することが望ましい。

(2)感度・ダイナミックレンジ

標準検体、標準物質などを用いて、検出系の検出限界濃度やダイナミックレンジを検討すること。この際、使用した DNA チップと検出装置、反応プロトコル、検出条件などを明記することが望ましい。

(3)再現性

DNA チップ、および検査システムによって得られるデータの再現性は十分に検証すること。再現性試験は、以下の項目について行うことが望ましい。

- ・有意な再現性を統計学的に判断するため、同一と見なされる試料に対し、少なくとも3つ以上の測定データを得ること
- ・検体は、複数の施設から収集すること
- ・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
- ・複数の製品ロットを使用すること

(4)検査の品質管理

適切な陽性対照、陰性対照を設け、各種対照の意義、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しい。

(5)その他、性能特性に影響する要因

DNA チップを含めた測定における交差汚染には、別検体・別試料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。

検体に含まれる潜在的な干渉物質は、必ずしも試料の調製によって除去できるとは限らず、試料の調製、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、干渉物質が検出性能に

及ぼす影響について特性評価をすることが望ましい。なお検査中の各種条件について、その設定根拠、特に RNA の定量に対する安定性について検討すること。

2.4 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

検体の品質が RNA の品質や RNA 増幅・標識に大きく影響するため、RNA を得る検体の種類（例えば血液、組織）およびその採取方法、採取量について検討すること。また検体の管理・保管方法については検討することが望ましい。

(2) 検体の前処理

検体から RNA を抽出・精製する方法について検討すること。また RNA の分解を防ぐための留意点を記すとともに、使用する RNA の品質の評価法について明記して測定結果を保証できる RNA の品質基準を設定すること。なお RNA 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 RNA を標識した上で後段の反応に使用する場合には、その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 RNA、増幅 RNA、標識 RNA、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明記すること。

(4) 試薬

RNA 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、必要な試薬の仕様および RNA の品質と量进行评估するための方法・仕様を技術的に検討すること。

(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こと。また各工程で使用される試薬の安全性、およ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しい。

2.5 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こと。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、項目に分けて記述すること。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が望ましい。

(2) 判定アルゴリズムの原理と概要

判定アルゴリズムについて検討すること。その際、判定に用いるプローブ DNA の種類、各プローブの重複数、判定に用いる測定値の定義、各プローブの測定値から判定を行うためのアルゴリズム、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な根拠、最終的な判定結果とその信頼度を検証すること。

2.6 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にデータ管理されていること。

2.7 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、チップに固定するプローブ DNA の品質管理について検討すること。特に DNA チップの品質管理に関連しては、ISO/NP16578 規格名称「マイクロアレイを用いた特定核酸配列の検出に関する一般的定義と要求事項」や GMP/QMS (ISO13485) などの製造管理/品質管理体制を検討することが望ましい。

(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、以下の項目を含むことが望ましい。

- ① 他発現解析手法との比較
- ② データ解析、解析ソフト
- ③ 有意差の検定
- ④ 比較試験・臨床評価試験
- ⑤ 判定アルゴリズム
- ⑥ データ管理
- ⑦ 安全性

3.2 他の発現解析手法との比較

DNA チップの評価にあたっては、他の遺伝子発現の解析法と比較検討すること。原則として試料の種類、試料数、試料の調製法あるいは起源、試料の使用目的（特異性など）等の記録を残すことが望ましい。また比較は診断上重要な遺伝子について重要性を言及した後、該遺伝子を対象に、少なくとも 1 種類の同一と見なされる RNA を鋳型にして定量する方法により行い、両者の一

致率を遺伝子ごとに検討することが望ましい。遺伝子定量法としては、当該プラットフォーム以外の一般的な手法、もしくは性能が確認されている承認済みの他の DNA チップ等を用いることができる。

3.3 データ解析、解析ソフトについて

解析ソフトについては、同一データから同一の結果が得られること。その再現性を保証するためには、アルゴリズムを明確に表現すること。具体的には正規化の手法、データ補正の方法、マーカー遺伝子の抽出方法、判定の方法などを数式等で表し、数値化したデータに基づき判定されることが望ましい。

3.4 有意性の検定

データの解析法、解析評価に用いたソフトウェア、および統計分析に関して検討することが望ましい。なおデータの処理、解析ソフトウェアについては、詳細を記した説明書を作成すること。失敗事例（判定不能、器具の故障、試薬の不具合等に起因するもの）に関しても分析することが望ましい。また一致率の基準としては、他の診断薬が存在する場合は正答率を一応の目安とする。

3.5 比較試験・臨床評価試験

分析内およ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。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 RNA 濃度における適切な試料を使用すること
- ・ 検査現場で実際に用いられる検体（例えば血液、組織など）から処理すること
- ・ DNA チップ、および検査システムによって得られるデータの再現性は十分に検証すること
- ・ 有意な再現性を統計学的に判断するため、同一と見なされる試料に対し、少なくとも3つ以上の測定データを得ること
- ・ 検体は、複数の施設から収集すること
- ・ 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
- ・ 測定する試料の組成および RNA 濃度に近い陽性対照及び陰性対照を用いて調べること

3.6 判定アルゴリズム

DNA チップを用いた診断においては、複数遺伝子の発現パターンよりアルゴリズムで判定を行う。アルゴリズム作成に必要な検体数について規定はないが、アルゴリズムの検証のための臨床性能試験は、一般の既存の体外診断薬に関する基準に基づき、複数施設から収集したサンプルを用いた統計的有意差を示すデータの提出が要求される。ただし、患者数が限られている場合や、より少ない症例数で有効性が十分に示される場合は、その科学的根拠に基づいて説明すること。

3.7 データの管理について

最終的な結果の出力だけでなく、結果出力前の画像ファイルや数値データ等を保存すること。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

ことが望ましい。また結果に疑問が生じた場合には、データ処理段階毎に確認が可能となることが望ましい。

3.8 安全性について

交差汚染を評価するための試験を実施して結果を残すとともに、判定に失敗した場合、あるいは判定結果の解釈に失敗した場合のリスクも評価し、その際に用いたリスク分析手法についても検討すること。

4.標準物質

4.1 目的

遺伝子発現解析用 DNA チップ開発にあたって用いる標準物質は、当該開発品を用いた遺伝子発現解析データの信頼性が確保されることを担保し、評価に耐えうる臨床試験での事例数と複数機関において検討されたデータから臨床上の有効性を確認すること。

4.2 標準物質に求められる要件

DNA チップ開発に用いられる標準物質は、特性の異なる様々なチップ技術の性能評価および結果表示のためのアルゴリズム検討の参照として用いる一次標準物質と、当該開発品製造時のトレーサビリティの確認や日常検査における精度管理に用いる二次標準物質とする。従って、当該開発品製造業者は、一次標準物質を品質管理用内部標準物質とし、二次標準物質を設定し、これを用いて性能の確認を行う。

4.2.1 標準物質の選定

(1)一次標準物質（認証標準物質）の選定

一次標準物質は、特定の遺伝子配列をコードしない人工 RNA 配列を用い、ISO Guide34 に適合する品質システムに基づいて生産された認証標準物質であり、国家計量機関や公的研究機関から頒布されたものとする。

(2)二次標準物質の選定

二次標準物質には、対象遺伝子と遺伝子発現量の相対比較に使用されるコントロール配列を含むものとする。また、任意の遺伝子配列を含まないスパイクイン標準物質を設定することで、DNA チップの互換性、校正にも使用できる。対象遺伝子およびコントロール配列については、感染症や疾病に関与するものや識別に用いられる遺伝子配列であり、安定性に優れ、増産が可能である配列が適用され、当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ものとする。

なお、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も差し支えないものとするが、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RNAの標準処理手順マニュアル）が設定されることが望ましい。

4.2.2 標準物質の管理

(1) 品質管理

一次標準物質は、選定時に開発する機関が cDNA シークエンシングなどの方法により配列を確認する。同様に、一次標準物質を酵素合成などにより複製する場合は、開発する機関において複製ロットごと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ものとする。一次標準物質を使用する際は、認証書等に記載された内容に従って、取り扱うものとする。二次標準物質の複製を行う場合には、適切な頻度で遺伝子配列を確認する。また、一部 DNA を対象とする場合は、RNA と同様に複製ロットごとに遺伝子配列を確認する。

(2) 純度

RNA の合成については、酵素合成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。二次標準物質の設定時には、用いる一次標準測定法に応じて、対象となる測定物質がバックグラウンドとしてどの程度含まれているか確認する。

(3) 濃度単位

二次標準物質を設定する場合、一次標準測定法を用いて溶液に含まれる核酸の質量あるいは物質量の濃度として認証されることが望ましい。また、必要に応じて、デジタル PCR 法などを用いたコピー数を参考情報として表記することが望ましい。さらに、外部標準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。なお、核酸定量は、吸光度法（OD 260）以上の精度を有する測定法により実施することが望ましい。

4.2.3 外部標準物質の入手

国内において、臨床検査における遺伝子関連検査については日本臨床検査標準協議会（JCCLS）が「遺伝子関連検査検体品質管理マニュアル」を公開し、その中で検査対象遺伝子疾患を紹介している。また、DNA チップの標準化に関するコンソーシアムは、国内ではバイオチップコンソーシアム（JMAC）、米国では MAQC（MicroArray Quality Control）コンソーシアムや ERCC（External RNA Control Consortium）、欧州では EMERALD（Empowering the Microarray-based European Research Area to Take a Lead in Development and Exploitation）コンソーシアムと業界関連団体が検討を進めており、データベースとの連携をするコンソーシアムも存在する。こうした検査対象の遺伝子配列情報を、国内公的機関、例えば産業技術総合研究所が入手し、ライブラリとして保存及び管理を行い、必要に応じて JMAC などと連携して該開発品の機能評価を受託業務として実施する。なお、ヒトゲノムサンプルの保存中また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. ガイドラインの英語版

2007年に発表したガイドライン「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-」について、国外への情報発信や国外からの問い合わせに対応するために、以下の英語版（暫定版）を作成した。

R&D Guideline for Genotyping DNA Microarrays, 2007 (Draft)

英語版の詳細については医療機器開発ガイドライン検討実務委員会・事務局までお問い合わせください。

【事務局】 TEL/FAX : 029-861-7840 E-Mail : human-ws@m.aist.go.jp

=====
The guideline in English has been prepared for providing information abroad and handling inquiries from foreign countries.

R&D Guideline for Genotyping DNA Microarrays, 2007 (Draft)

For more information, please contact **The Secretariat of R&D Guideline for Medical Device.**

【Secretariat】 TEL/FAX : 029-861-7840 E-Mail : human-ws@m.aist.go.jp

5. 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

5.1 実験目的

エストロゲン活性評価用遺伝子を用いて、化学物質のエストロゲン活性評価用オリゴ DNA チップを作製し、Cy3 を用いたオリゴ DNA チップアッセイの再現性および安定性を測定することにより、エストロゲン活性アッセイシステムを構築した。このアッセイシステムを利用して、フラボンノイド類化合物（baicalein、butein、quercetin、resveratrol、wogonin）のエストロゲン活性を評価した。

5.2 実験方法

5.2.1 実験方法の概要

本実験では、150 個のエストロゲン活性評価用遺伝子を用いて、6 種類のフラボンノイド類化合物のエストロゲン活性を評価した。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）。

5.2.2 実験方法の説明（図 1 参照）

(1) トータル RNA の抽出

活性炭で処理した培地で 3 日間培養したヒト乳癌細胞 MCF-7 にエストロゲン（17 β -estradiol, E₂）10 nM を加えて、さらに 3 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。

(2) mRNA の増幅

DNA チップ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。

(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、12 μ l の TE バッファーに溶解した。

(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°C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化学物質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_2 値に変換した。このようなDNAチップアッセイを2回分（化学物質+と化学物質-の2つの比を1回分とする）繰り返した。

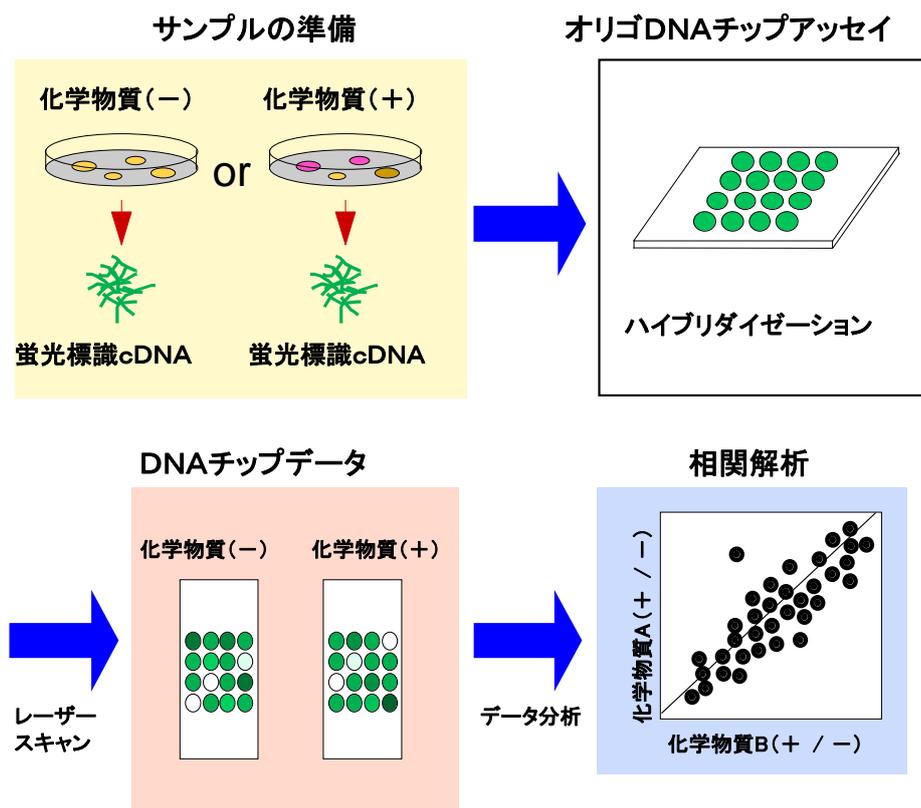


図1. 実験方法。化学物質で処理なし（化学物質（-））あるいは処理した（化学物質（+））細胞から、total RNAを抽出した。抽出したRNAからcDNAを合成し、蛍光色素で標識した後、オリゴDNAマイクロアレイに対してハイブリダイゼーションを行う。DNAチップ上のスポットの蛍光強度をレーザー スキャナーにより計測し、測定されたデータはマイクロソフトエクセルを用いて分析した。各スポットについて、化学物質（+）と化学物質（-）の蛍光強度の比率を計算し、この比率を28個のコントロール遺伝子の値で補正して、 \log_2 値に変換した。化学物質AとBとの間の相関により化学物質の影響を評価する。

5.3 実験結果

今回の実験で評価したフラボンノイド類の中に、baicalein、butein、quercetin、resveratrol、wogoninはエストロゲンと高い相関性が見られた(相関係数 0.7~0.9)。特に、baicaleinとwogonin、の間にはそれぞれ構造的に非常に似ていて、エストロゲンとの相関性もほぼ明らかになった（図2、図3参照）。

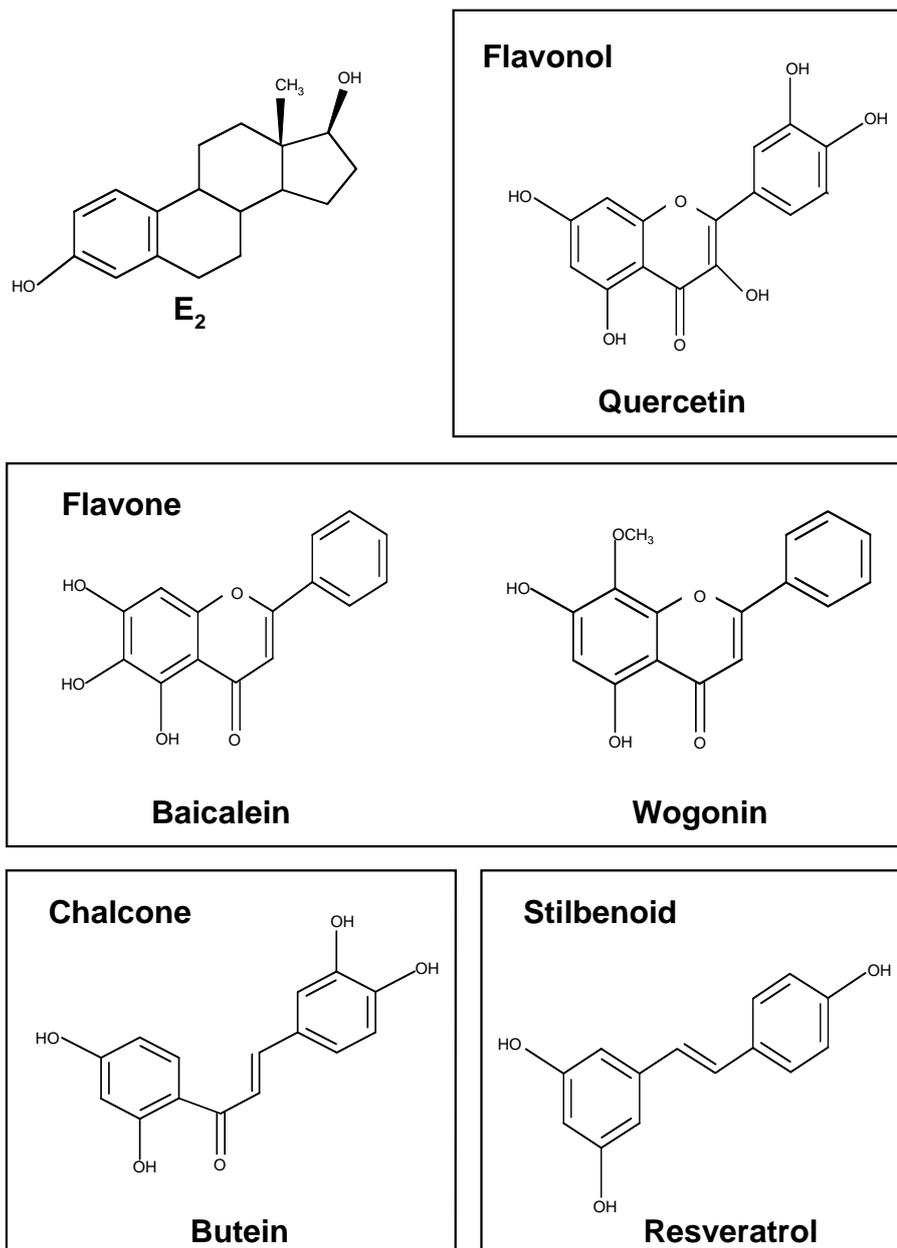


図 2. 化合物の構造図。

表 1 化合物の DNA チップアッセイの結果とエストロゲンの結果の間の相関係数

化合物名	R値 (平均値*)
Quercetin	0.91
Baicalein	0.91
Wogonin	0.86
Butein	0.78
Resveratrol	0.76

*2 回分のアッセイの平均値。

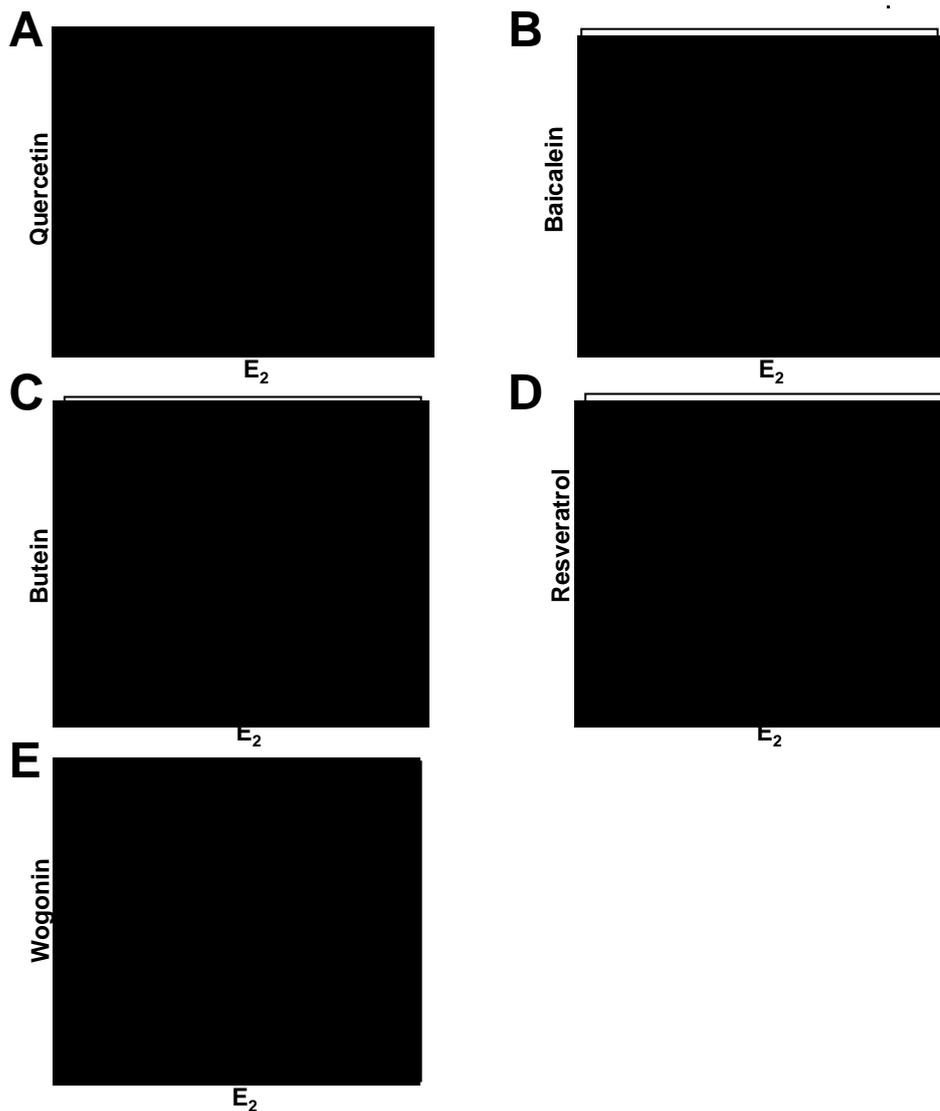


図3. 各フラボノイド類化合物のDNAチップアッセイの結果とエストロゲンの結果の間の遺伝子発現プロファイルの相関解析。150個のエストロゲン反応遺伝子を用いて、解析を行った。縦軸と横軸はシグナルの蛍光強度を \log_2 値で示す。

5.4 考察

これらの結果から、このDNAチップアッセイシステムを利用して、高い安定性と信頼性のデータが得られることができると考えられる。今後このオリゴDNAチップアッセイシステムを用いて、多くの化学物質のエストロゲン活性を解析し、評価することができる。

5.5 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.

6. まとめと今後の課題

本年度、本事業では合計3回の開発ワーキンググループ委員会を開催し、遺伝子診断用DNAチップに関する最新情報を得るために、株式会社DNAチップ研究所の場亮社長による国内外の開発動向に関する話題提供（「個別化医療とRNAチェック」：「1.3 話題提供(1)」項参照）と、九州大学久原哲教授による話題提供（「がんワクチンゲノミクスに基づくがんワクチン適格性予測診断キット及びがんワクチン副作用診断キットの研究開発」：「1.3 話題提供(2)」項参照）と、事務局による「MAQC-IIのまとめ」（第1回開発ワーキンググループ委員会）を行なった。さらに、詳細な情報を得るために、バイオチップコンソーシアム(JMAC)に調査を委託し、遺伝子発現解析用DNAチップに関するガイドライン策定の背景と経緯をまとめるとともに、企業ヒアリングによりその必要性や各国のガイドラインや国際標準などとの関係について最新情報を得た（「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」項参照）。また、その中で、今後遺伝子診断用DNAチップが必要になる治療分野についても、FDA資料や文献検索により最新動向調査を行った。

これらの情報をもとに、開発ワーキンググループ委員会で、「概要」、「測定装置」、「評価法」、「標準物質」に分けてガイドラインの検討を行い、検討結果を「開発ガイドライン案」としてまとめた。

本事業で得られたガイドライン案は経済産業省と厚生労働省の合同検討会（経済産業省の「医療機器開発ガイドライン評価検討委員会」と厚生労働省の「次世代医療機器評価指標検討会」の合同検討会）に提言され、そこで承認を得られれば、それぞれの省において以下の様な形で公表・活用される予定である（図参照）。

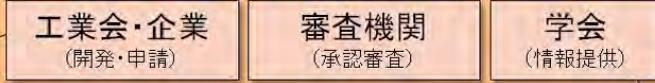
- (1) ガイドラインの公表
- (2) 評価指標などの通知の発出
- (3) JISなどの基準の検討

これらのガイドライン・評価指標などが、工業会・企業における効率的な機器開発に貢献し、審査機関においては迅速な承認審査に寄与し、学会においても研究開発などに有用な情報源となることを真に期待したい。

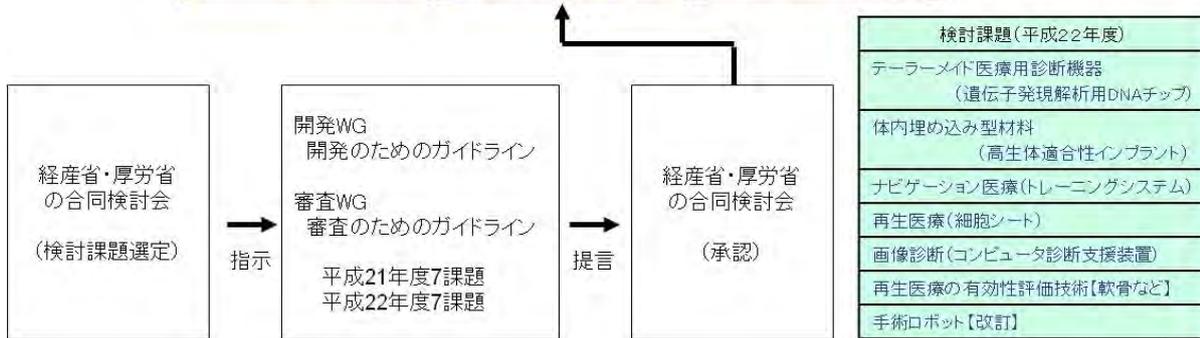
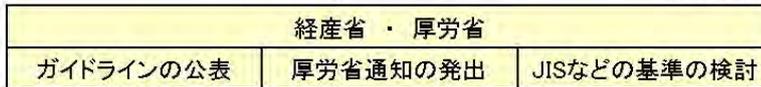
一方で、本事業においても、ガイドラインの普及活動を行うことでガイドラインの有用性の理解を広めることも重要である。また、テーラーメイド医療機器としてはDNAチップ以外の遺伝子診断装置が存在していることから、本事業の成果が遺伝子診断装置やその検体調製装置など、多くの関連する医療機器にも活用されることを期待したい。

経済産業省:医療機器開発ガイドライン
厚生労働省:次世代医療機器評価指標

効率的な機器開発 迅速な承認審査



事業報告書
産業技術総合研究所(開発WG)
国立医薬品食品衛生研究所(審査WG)



☆経産省・厚労省の合同検討会
経産省:医療機器開発ガイドライン評価検討委員会
厚労省:次世代医療機器評価指標検討会
委員:大学・研究機関における有識者

☆開発WG:
委員:国内有識者、企業専門家
(同席:経産省、NEDO、医薬品医療機器総合機構[基準])
☆審査WG:国内有識者
(同席:厚労省、医薬品医療機器総合機構[審査、基準])

謝 辞

年末・年度末の多忙な時期を含めて短期間でこれだけの成果を得ることができたのは、委員会への出席やガイドライン案の検討などで多大な時間を割いていただいた開発ワーキンググループ委員のお陰である。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。ここに感謝したい。

参考資料

MAQC-II 報告の説明資料

開発ガイドライン事務局（木山）による MAQC-II 報告の説明資料（第 1 回開発ワーキンググループ委員会：平成 22 年 10 月 4 日）

MAQC-IIのまとめ (資料3)

平成22 年度 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
平成22 年10 月4 日

MAQC

U.S. Department of Health & Human Services www.hhs.gov

FDA U.S. Food and Drug Administration A-Z Index Search go

Home | Food | Drugs | Medical Devices | Vaccines, Blood & Biologics | Animal & Veterinary | Cosmetics | Radiation-Emitting Products | Tobacco Products

Science & Research
Home > Science & Research > Bioinformatics Tools > MicroArray Quality Control (MAQC) Share Email this Page Print this page Change Font Size

Bioinformatics Tools

- MicroArray Quality Control (MAQC)
 - MAQC Guidance Document and SOPs
 - MAQC Meetings
 - MAQC Participating Organizations
 - MAQC Presentations
 - MAQC Publications
 - MAQC Teleconferences
 - MAQC Timeline
 - MAQC Working Groups

Resources for You

- About the National Center for Toxicological Research
- Executive Summary of MAQC-I (PDF - 43KB)
- Summary - MAQC Data Sets (PDF - 109KB)
- Bioinformatics

MicroArray Quality Control (MAQC)

MAQC Timeline: Get e-mail updates

Journal Issues Featuring MAQC

- [Nature Biotechnology – August 2010 Issue](#)
- [Pharmacogenomics Journal – August 2010 Issue](#)
- [Nature Biotechnology – September 2006 Issue](#)

MAQC-I
MAQC-II
MAQC-III (also known as SEQC)
Contact Information

Microarrays and next-generation sequencing represent core technologies in pharmacogenomics and toxicogenomics; however, before these technologies can successfully and reliably be used in clinical practice and regulatory decision-making, standards and quality measures need to be developed. The MAQC project is helping improve the microarray and next-generation sequencing technologies and foster their proper applications in discovery, development and review of FDA regulated products. Everyone is invited to participate in the MAQC project.

MAQC-I

[Nature Biotechnology: September 2006 Issue](#)

Spotlight

- Nature Biotechnology - MicroArray Quality Control (MAQC) project

Contact Us

National Center for Toxicological Research
870-543-7000
Food and Drug Administration
3900 NCTR Road
Jefferson, AR 72079

<http://www.fda.gov/ScienceResearch/BioinformaticsTools/microarrayQualityControlProject/default.htm>

MAQC の目標と概要

MAQC-I

「 Nature Biotechnology 」 2006 年 9 月号で特集

目標

- Quality Control (QC) tool を供給することにより実験手順上の失敗を回避する。
- 大規模な対照データセットと RNA サンプルを供給することですぐに使える DNA チップ解析のガイドラインを開発する。
- 様々な DNA チッププラットフォームを比較して客観的な QC 手法と基準値を確立する。
- 他の方法と比較することで長所短所を明らかにする。

概要

MAQC-Iは6つのFDAセンター、主要な DNA チッププラットフォーム及び RNA サンプル開発企業、EPA、NIST、アカデミアの研究室などが参加し、2種類のヒト由来の RNA サンプルを用いて遺伝子発現を DNA チップ及び他の技術（QRT-PCR法等）の間で比較することで、精度やプラットフォーム/研究室間のデータの互換性について検討した。

MAQC-II

「 Nature Biotechnology 」 2010 年 8 月号で概要を報告

「 Pharmacogenomics Journal 」 2010 年 8 月号で特集

目標

- DNA チップを用いた「予測モデル」に関して様々なデータ解析法の性能と限界を検定する。
- 個別化医療に利用するための遺伝子発現と遺伝子型判定のための DNA チップ解析に利用する「予測モデル」の開発と評価に関する「ベストプラクティス」のコンセンサスを得る。

概要

36 のチームが 6 組の大きなトレーニングデータセットを用いて 18,000 以上のモデルを作り、その中から 13 のエンドポイント（転帰）の評価項目を開発した。妥当な方法で作られたモデルを用いたクロスバリデーションによる推定はブラインドバリデーション用のデータセットによって確認される。得られた判定法は内在性の予測可能性によって決定され、簡易なデータ解析法はもっと複雑な解析法と同等の結果を得ることができる。また、目標となるエンドポイントに対して複数のモデルが考えられ、遺伝子セットの安定性はエンドポイントの予測可能性に関係する。元々のトレーニングデータセットを入れ替えた 12,000 以上の新しいモデルによっても同じ結論を得た。

MAQC-III

(also known as Sequencing Quality Control, SEQC)

概要

ベンチマークデータセットを作り様々なバイオインフォーマティクス手法によって DNA/RNA を解析することにより、次世代シーケンスの技術的な課題を評価する。

「 Nature Biotechnology 」 2010 年 8 月号

Nature Biotechnology 誌 28 巻

Article

マイクロアレイに基づく予測モデルを開発および評価する一般的な方法に関する第二次マイクロアレイ品質管理 (MAQC-II) 研究

The MicroArray Quality Control (MAQC)-II study of common practices for the development and validation of microarray-based predictive models - pp827 - 838
MAQC Consortium (97 の所属の 199 人の著者)

マイクロアレイで得られる遺伝子発現データは、前臨床および臨床評価項目の予測に応用されているが、そうした予測の信頼性は確立されていない。MAQC-IIプロジェクトでは、独立したチーム 36 組がマイクロアレイデータセット 6 組を分析し、齧歯類での肺毒性または肝毒性、あるいはヒトの乳がん、多発性骨髄腫または神経芽細胞腫の指標となる評価項目 13 種類の 1 つに関する検体を分類するための予測モデルを作製した。分析法をさまざまに組み合わせると合計 3 万以上のモデルが作製された。各チームは、一部の評価項目の生物学的意味を知らずに予測モデルを作製し、臨床現場を模倣するため、トレーニングに使用しなかったデータでモデルを検討した。その結果、モデルの性能が評価項目およびチームの技能にほぼ依存すること、および性能の類似したモデルが異なる方法で作製されることがわかった。MAQC-IIの結論および勧告は、網羅的な遺伝子発現解析法を評価する規制当局、研究委員会、および個々の研究者にとって有用と考えられる。

News and Views

臨床現場のマイクロアレイ

Microarrays in the clinic - pp810 - 812
Guy W Tillinghast

大規模な遺伝子発現データから臨床的に有用な予測を行う方法の評価が、マイクロアレイ品質管理 (MAQC) コンソーシアムによって行われた。

The MicroArray Quality Control (MAQC) consortium has evaluated methods for making clinically useful predictions from large-scale gene expression data.

「 Pharmacogenomics Journal 」 2010 年8月号で特集

Pharmacogenomics J., Volume 10, Issue 4 (August 2010)

Editorial

Of genomics and bioinformatics **FREE**
 W Slikker Jr
 Pharmacogenomics J 10: 245-246

Original Articles

Consistency of predictive signature genes and classifiers generated using different microarray platforms **Open**
 「異なる DNA チッププラットフォームによって得られた予測シグニチャーと分類指標の妥当性」
 X Fan, E K Lobenhofer, M Chen, W Shi, J Huang, J Luo, J Zhang, S J Walker, T-M Chu, L Li, R Wolfinger, W Bao, R S Paules, P R Bushel, J Li, T Shi, T Nikolskaya, Y Nikolsky, H Hong, Y Deng, Y Cheng, H Fang, L Shi and W Tong
 Pharmacogenomics J 10: 247-257

Comparison of performance of one-color and two-color gene-expression analyses in predicting clinical endpoints of neuroblastoma patients **Open**
 「1色法と2色法による遺伝子発現解析結果の比較による神経芽細胞腫患者の転帰予測」
 A Oberthuer, D Juraeva, L Li, Y Kahlerlert, F Westermann, R Eils, F Berthold, L Shi, R D Wolfinger, M Fischer and B Brors
 Pharmacogenomics J 10: 258-266

Genomic indicators in the blood predict drug-induced liver injury **FREE**
 「遺伝子指標による薬剤による肝障害の予測」
 J Huang, W Shi, J Zhang, J W Chou, R S Paules, K Gerrish, J Li, J Luo, R D Wolfinger, W Bao, T-M Chu, Y Nikolskaya, T Nikolskaya, D Dosymbekov, M O Tsyganova, L Shi, X Fan, J C Corton, M Chen, Y Cheng, W Tong, H Fang and P R Bushel
 Pharmacogenomics J 10: 267-277

A comparison of batch effect removal methods for enhancement of prediction performance using MAQC-II microarray gene expression data **Open**
 「MAQC-II遺伝子発現データを用いたバッチ効果除去法による予想効率の改善法の比較」
 J Luo, M Schumacher, A Scherer, D Sanoudou, D Megherbi, T Davison, T Shi, W Tong, L Shi, H Hong, C Zhao, F Elloumi, W Shi, R Thomas, S Lin, G Tillinghast, G Liu, Y Zhou, D Herman, Y Li, Y Deng, H Fang, P Bushel, M Woods and J Zhang
 Pharmacogenomics J 10: 278-291

k-Nearest neighbor models for microarray gene expression analysis and clinical outcome prediction **Open**
 「DNAチップによる遺伝子発現解析のための k-Nearest neighbor モデルと臨床転帰の予測」
 R M Parry, W Jones, T H Stokes, J H Phan, R A Moffitt, H Fang, L Shi, A Oberthuer, M Fischer, W Tong and M D Wang
 Pharmacogenomics J 10: 292-309

遺伝子発現解析のための予測モデル及びデータ解析法の開発と予測効果の検証

Functional analysis of multiple genomic signatures demonstrates that classification algorithms choose phenotype-related genes **Open**
 「複数のゲノムシグニチャー解析によって分類アルゴリズムが表現系に關する遺伝子を選ぶことがわかった」
 W Shi, M Bessarabova, D Dosymbekov, Z Dezso, T Nikolskaya, M Dudoladova, T Serebryskaya, A Bugrim, A Guryanov, R J Brennan, R Shah, J Dopazo, M Chen, Y Deng, T Shi, G Jurman, C Furlanello, R S Thomas, J C Corton, W Tong, L Shi and Y Nikolsky
 Pharmacogenomics J 10: 310-323

Variability in GWAS analysis: the impact of genotype calling algorithm inconsistencies **FREE**
 「ゲノム相関解析 (GWAS) における変動: 遺伝子型判定アルゴリズムの非整合性のインパクト」
 K Miclaus, M Chierici, C Lambert, L Zhang, S Vega, H Hong, S Yin, C Furlanello, R Wolfinger and F Goodsaid
 Pharmacogenomics J 10: 324-335

Batch effects in the BRLMM genotype calling algorithm influence GWAS results for the Affymetrix 500K array **FREE**
 「BRLMM 判定アルゴリズムにおけるバッチ効果は Affymetrix 500K array を用いた GWAS の結果に影響する」
 K Miclaus, R Wolfinger, S Vega, M Chierici, C Furlanello, C Lambert, H Hong, Li Zhang, S Yin and F Goodsaid
 Pharmacogenomics J 10: 336-346

Assessment of variability in GWAS with CRLMM genotyping algorithm on WTCCC coronary artery disease **FREE**
 「BRLMM 判定アルゴリズムにおけるバッチ効果は Affymetrix 500K array を用いた GWAS の結果に影響する」
 L Zhang, S Yin, K Miclaus, M Chierici, S Vega, C Lambert, H Hong, R D Wolfinger, C Furlanello and F Goodsaid
 Pharmacogenomics J 10: 347-354

An interactive effect of batch size and composition contributes to discordant results in GWAS with the CHIAMO genotyping algorithm **FREE**
 「WTCCC 冠状動脈判定のための CRLMM 遺伝子型判定アルゴリズムを用いた GWAS の評価」
 M Chierici, K Miclaus, S Vega and C Furlanello
 Pharmacogenomics J 10: 355-363

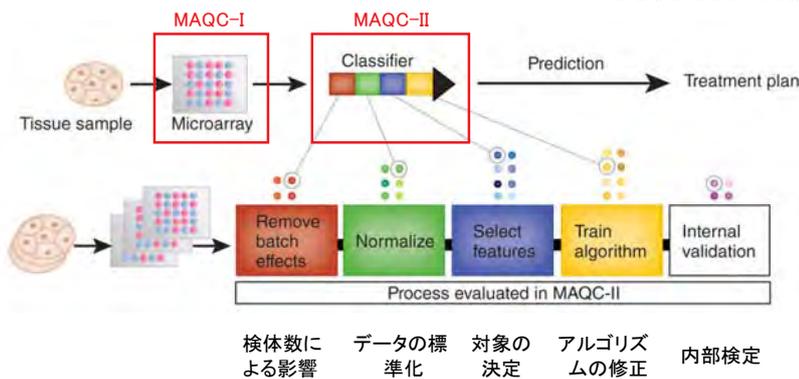
Assessing sources of inconsistencies in genotypes and their effects on genome-wide association studies with HapMap samples **Open**
 「遺伝子判定における不一致の原因の評価と HapMap 試料を用いたゲノム相関解析に対する効果」
 H Hong, L Shi, Z Su, W Ge, W D Jones, W Czika, K Miclaus, C G Lambert, S C Vega, J Zhang, B Ning, J Liu, B Green, L Xu, H Fang, R Perkins, S M Lin, N Jafari, K Park, T Ahn, M Chierici, C Furlanello, L Zhang, R D Wolfinger, F Goodsaid and W Tong
 Pharmacogenomics J 10: 364-374

遺伝子型判定のためのゲノム相関解析用アルゴリズムについて

MAQC-IIの概要

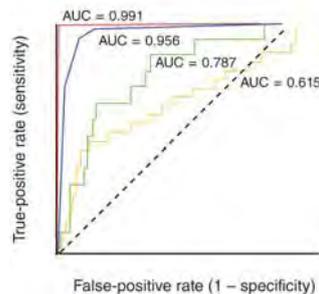
DNA チップを用いた診断のプロセス

Nature Biotechnology 誌28 卷, pp810 - 812 (News and Views)



パフォーマンスの評価(例)

数値化による比較: AUC (Area under the receiver operating characteristic curve)



MAQC-IIの概要

Nature Biotechnology 誌28 巻, pp827 - 838

6組のマイクロアレイデータセット 13種類の評価項目 6組のマイクロアレイ トレーニングデータセット バリデーションデータセット

Table 1 Microarray data sets used for model development and validation in the MAQC-II project

Date set code	Endpoint code	Endpoint description	Microarray platform	Training set*				Validation set*				Comments and references
				Number of samples	Positives (P)	Negatives (N)	P/N ratio	Number of samples	Positives (P)	Negatives (N)	P/N ratio	
Hamner	A	Lung tumorigen vs. non-tumorigen (mouse)	Affymetrix Mouse 430 2.0	70	26	44	0.59	88	28	60	0.47	The training set was first published in 2007 (ref. 50) and the validation set was generated for MAQC-II
Iconix	B	Non-genotoxic liver carcinogens vs. non-carcinogens (rat)	Amersham Uniset Rat 1 Bioarray	216	73	143	0.51	201	57	144	0.40	The data set was first published in 2007 (ref. 51). Raw microarray intensity data, instead of ratio data, were provided for MAQC-II data analysis

Table 1. Microarray data sets used for model development and validation in the MAQC-II project

Date set code	Endpoint code	Endpoint description	Microarray platform	Number of samples	Positives (P)	Negatives (N)	P/N ratio	Number of samples	Positives (P)	Negatives (N)	P/N ratio	Comments and references
Hamner	A	Lung tumorigen vs. non-tumorigen (mouse)	Affymetrix Mouse 430 2.0	70	26	44	0.59	88	28	60	0.47	The training set was first published in 2007 (ref. 50) and the validation set was generated for MAQC-II
Iconix	B	Non-genotoxic liver carcinogens vs. non-carcinogens (rat)	Amersham Uniset Rat 1 Bioarray	216	73	143	0.51	201	57	144	0.40	The data set was first published in 2007 (ref. 51). Raw microarray intensity data, instead of ratio data, were provided for MAQC-II data analysis

マイクロアレイデータセット: 齧歯類での肺毒性または肝毒性、ヒトの乳がん、多発性骨髄腫、神経芽細胞腫

評価項目: 発癌、毒性、ネクローシス、治療効果、生存率など

マイクロアレイ: Affymetrix (mouse & human)、Amersham、Agilent 社マイクロアレイ

モデル作成時に考慮されるファクター: (i) organization code; (ii) data set code; (iii) endpoint code; (iv) summary and normalization; (v) feature selection method; (vi) number of features used; (vii) classification algorithm; (viii) batch-effect removal method; (ix) type of internal validation; (x) number of iterations of internal validation.

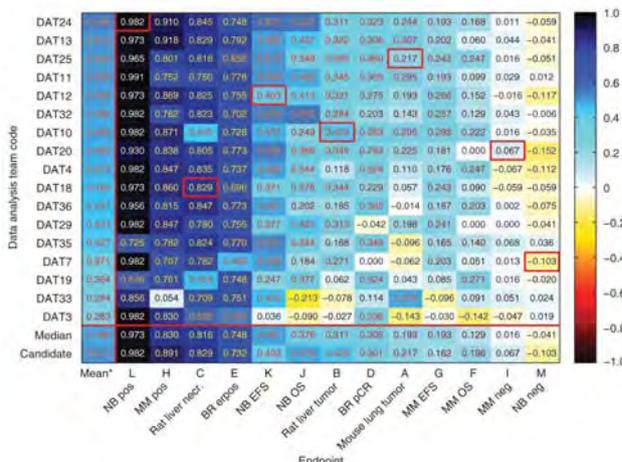
パフォーマンスの評価内容: (i) MCC; (ii) accuracy; (iii) sensitivity; (iv) specificity; (v) AUC; (vi) mean of sensitivity and specificity; (vii) r.m.s.e.

MAQC-IIの概要

Nature Biotechnology 誌28 巻, pp827 - 838

パフォーマンスの評価

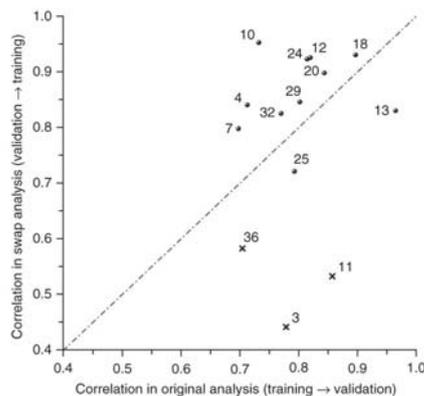
MCC値による評価
MCC: Matthews Correlation Coefficient



13すべてのエンドポイントを解析したデータ解析チーム (DAT) の判定結果 (MCC値)。赤いボックスは候補モデル

→必ずしも全てのデータを解析しなくても良い

データセットの入れ替え



データセットの入れ替えたときの解析チーム (番号で表示) の示す相関

→解析チームの影響が大きい

MAQC-IIの概要

Nature Biotechnology 誌28 巻,
pp827 - 838

まとめ

MAQC-IIでは36組のデータ解析チームが13の評価項目について、6つのデータセットを用いて30,000以上のモデルを作成して行い、以下の結果を得た。

モデルによる予測はエンドポイントに依存する度合いが大きい。

データ解析チームによる影響が大きい。経験のあるチームが大学院生のチームより良い結果を示した。

内部検定のステップはうまくいくと外部検定の結果と高い一致を示した。

一つのデータセットに対して、同様な予測結果を示す複数のモデルを作ることが可能であることがわかった。

良いアルゴリズムを使うよりは良いモデルを使う方が重要である。

推奨するモデル作成手順は以下の様になる。

ステップ 1 (計画): 最良の方法はないが、妥当な計画作成、適度なサイズと評価項目の複雑さ、適度なデータの標準化が重要である。

ステップ 2 (予備試験と内部検定): 適度なデータサイズを目標にした
のクロスバリデーションを 10 回繰り返すような検定が妥当である。 5倍

ステップ 3: (本試験と外部検定): トレーニングデータセットとバリデーションデータセットを入れ替えて評価することも重要である。

この報告書は、平成22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22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 WG 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 ヒューマンライフテクノロジー研究部門
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@m.aist.go.jp