

平成18年度次世代医療機器評価指標策定事業

テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）
審査WG報告書

平成19年3月

座長 神田 忠仁
国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター長

目 次

1. はしがき	2
2. テーラーメイド医療用診断機器（DNA チップ）委員等名簿	4
3. 平成18年度会議議事概要	5
4. DNA チップを用いた遺伝子型判定装置に関する評価指標（案）	15
5. 各 TF からの提言	
1) 遺伝子型診断用の DNA チップ等の製造販売承認申請において 考慮すべき事項について	22
2) 病原体遺伝子型診断用の DNA チップ等の製造販売承認申請において 考慮すべき事項について	34
3) 遺伝子発現解析用 DNA チップ等の製造販売承認申請において 考慮すべき事項について	40
4) DNA チップ等と組み合わされる測定装置の製造販売承認申請において 考慮すべき事項について	47
6. 補足資料	
体外診断用医薬品の製造販売承認申請について（薬食発第0216004号）	50
体外診断用医薬品の製造販売承認申請に際し留意すべき事項について （薬食機発第0216005号）	55
体外診断用医薬品の添付文書の記載要領について （薬食発第0310006号）	75

はしがき

医薬品に対する反応には個体差があり、患者に最も適した投薬量がわかれば、最小の副作用で最大の効果をもたらすことができる。このようなテーラーメイド医療の基盤となる情報は、個人のゲノム情報であり、それは DNA 塩基配列の個体差に行き着く。膨大なシーケンシングをせずにゲノムの個体差を検出する技術として、金属やガラス等の基板にプローブとなる核酸を固定した DNA チップを使い、プローブと試料中の核酸とのハイブリダイゼーションの程度を調べて塩基配列を予測する技術が開発され、個人のゲノム情報を比較的手軽に解析できるようになりつつある。

ゲノムの個体差は、様々な遺伝子の発現量及び量比として現れる。医薬品に対する反応の個体差は、その薬剤に反応して生じる複数の遺伝子発現量の変動として捉えることができる。数万遺伝子に由来する mRNA 群の変動を DNA チップによって解析する技術が開発されている。さらに、医薬品への反応を遺伝子発現の変動としてとらえるトキシコゲノミクスは、従来の動物実験による前臨床試験では得られなかった潜在的な毒性や薬理作用を検出すると期待され、創薬への応用が広がっている。

DNA チップを用いた解析装置はウイルス等の遺伝子型の判定にも使われ始めている。ウイルスは従来血清型で分類されてきたが、培養細胞で増殖しないウイルスの血清型を決めるのは容易でなく、遺伝子型による分類がなされている。遺伝子型によって病原性が大きく異なる場合は、病原体の遺伝子型に関する情報が、治療方針の選択に重要となるため、特に多くの遺伝子型が存在するウイルスでは DNA チップを用いた解析装置が有用である。

DNA チップを使う診断装置は、多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装置である。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、データの信頼性に関わる因子は多岐に渡る。しかも、データから逆に、解析工程がすべて正しく進んだことを確認することは困難である。DNA チップそのものの製造技術、ハイブリダイゼーションの程度を検出する技術、測定値から塩基配列を予測するアルゴリズム等々、発展途上の技術要素を集めた装置としての側面を持つ。多種多様な装置が開発され、研究に用いられて実績を挙げているが、異なる装置で同一の試料を解析すると異なる結果が得られたり、同じ装置を使っても研究施設が異なると結果が変動する等の報告もある。

今後、診断や治療戦略の選択に関わる情報を提供する装置として、DNA チップを使う診断装置が市場導入されるであろう。本ワーキンググループでは、DNA チップを使う診断装置から得られる情報の信頼性を確実にするために留意すべき事項を整理した。用途によって DNA チップを、1) ヒト遺伝子型の解析、2) 病原体遺伝子型の解析、3) ヒト遺伝子発現の解析と大まかに分け、さらに 4) DNA チップと組み合わせる解析装置、の 4 つの観点から議論し、報告書としてまとめた。ヒトや病原体の遺伝子型の解析装置は、発現プロフ

ィールの解析装置に比べ技術的な成熟度が高いため、市場導入が間近と考え、遺伝子型解析装置の評価指標（案）を作成した。現時点で考えられる事項を網羅することに努めたが、必ずしも完璧とは考えていない。今後の技術発展や装置の実績を反映するよう随時改訂されるべきものと考えている。

21 世紀の医療として期待されるテーラーメイド医療には、DNA チップを応用した診断装置は不可欠である。我々の報告書が開発・製造者と行政審査の両方に有用な情報となることを願っている。

平成 19 年 3 月 7 日
DNA チップ審査ワーキンググループ座長
神田忠仁

テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）委員等名簿

（敬称略）

座長

神田 忠仁 国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター センター長

副座長

東 純一 大阪大学大学院薬学研究科 教授

委員（五十音順）

油谷 浩幸 東京大学先端科学技術研究センター 教授
澤田 純一 国立医薬品食品衛生研究所機能生化学部 部長
寺前 紀夫 東北大学大学院理学研究科化学専攻 教授
中村 祐輔 東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センター センター長
前田 瑞夫 理化学研究所前田バイオ工学研究室 主任研究員
森 正樹 九州大学生体防御医学研究所外科 教授
吉田 輝彦 国立がんセンター研究所腫瘍ゲノム解析・情報研究部 部長

タスクフォース委員

堀池 靖浩 独立行政法人 物質・材料研究機構 フェロー

オブザーバー

今川 健一 大塚製薬株式会社 新薬開発本部 PGX 室 担当顧問
高橋 達也 富士フィルム株式会社 R&D 統括本部 主任研究員
内藤 真策 大塚製薬工場 栄養研究所 副所長

厚生労働省

俵木 登美子 医薬食品局 審査管理課 医療機器審査管理室 室長
高江 慎一 医薬食品局 審査管理課 医療機器審査管理室 新医療材料専門官
木下 江梨子 医薬食品局 審査管理課 医療機器審査管理室 医療機器指導官
武田 淳仁 医薬食品局 審査管理課 医療機器審査管理室

独立行政法人 医薬品医療機器総合機構

木下 勝美 医療機器審査部 部長
新見 裕一 品質管理部 部長
小木 勝博 医療機器審査部 審査官
池田 潔 品質管理部基準課 主任専門員

国立医薬品食品衛生研究所（事務局）

土屋 利江 療品部 部長
松岡 厚子 療品部 室長
鈴木 孝昌 遺伝子細胞医薬部 室長

平成18年度第1回次世代医療機器評価指標検討会
テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）審査WG

1. 日時 平成18年10月30日（月） 14:00～15:00

2. 場所 国立医薬品食品衛生研究所3階講堂

3. 出席者（敬称略）

WG委員：神田（座長）、東（副座長）、寺前、吉田、前田、古川（中村代理）、森

厚生労働省：俵木、高江、木下、武田

事務局：土屋、松岡、鈴木

議事概要

- 参加者自己紹介
- 座長、副座長選出：座長 神田先生、副座長 東先生を選出。

- 次世代医療機器評価指標作成事業経緯説明（厚生労働省 高江）

厚生労働省に次世代医療機器評価のためのガイドライン作成を目的とした次世代医療機器評価指標検討会が、経済産業省の開発ガイドライン検討委員会と一緒に立ち上がっており、今年度より5分野のうちの一つとして、このテーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）審査WGが立ち上がった。医薬品医療機器総合機構で新規医療機器の評価を行う際のガイドライン作成を目的とする。

- FDAの資料説明と日本の審査体制（高江）

FDA資料として重要となる資料8、Drug Metabolizing Enzyme Genotyping System、資料11、Pharmacogenomics Tests and Genetic Tests for Heritable Markersを中心に内容説明。「体外診断用医薬品のカテゴリーと承認制度」に関し、リスクに応じた3つのクラス分けを説明。DNAチップは新規項目に該当し、申請時にすべての資料が要求される。通知で示されている体外診断薬に関する留意すべき事項を参照し、DNAチップに合わせた形で変更を加える。

- 今後の議論の進め方に関する話し合い

- FDAのP450の例を参考に、ジェノタイピングの装置に関する基準を考える。また、申請が予定されている東芝と第一化学のパピローマウイルスのジェノタイピング装置のケーススタディを行う。（神田）
- 薬物代謝酵素多型については、FDAの認可したインベダー法のUGT1A1の問題点、日本人における人種差も問題となる。（東）
- DNAチップを使う目的として、ジェノタイピングと発現解析があり、分野ごとに問題のレベルが異なる。P450の例を元に、数値目標ではなく確認すべき事項としての評価指標をまずジェノタイピングについて作成願いたい。（俵木）

- ジェノタイピングと発現プロファイリングに分けて議論を進めた方がよい。プロファイリングは、ジェノタイピングの議論を終えた後で考える。(神田)
- 今年度はジェノタイピングのガイドライン化をめざし、エクスペッションに関しては、現状把握と将来的課題として意見を出す。(土屋)
- いくつかの判定方法(検出法)に関して、現状把握が必要。(東)
- 文献調査なりでまとめることになるが、すでに資料があるのでは？(神田)
- すでにある調査資料は利用し、ガイドライン化に集中する。必要であれば、サブタスクフォースを作って議論する。(土屋)
- 遺伝子検査の感度、特異性、臨床的インパクト、人種差といった共通の問題と、アレイかインベーターかといった手法に特異的な課題と2段階ある。

ICHでの流れは？

発現プロファイルに関し、オランダで MammaPrint という製品が承認されているので、発現プロファイルに関する必要性もある。他に外国での例は？(吉田)

- アフィメトリクスが主流だが、診断薬として市販化された発現チップはない。米国のNISTという組織とチップメーカーでスタンダードRNAを使って標準化しようとする流れがあり、日本もそれに従わないととり残されるのでは？(古川)
- IVDについては、ICHではなく医療機器に関する国際会議であるGHTFの枠の中で検討されている。(高江)

その後、開発WGとの合同会議を経て再び審査WGの個別会議が開かれ、ジェノタイピング(ホスト側)、ジェノタイピング(感染症)、発現プロファイリングの各タスクフォース(TF)に作業を分担して議論することになった。解析機器に関するタスクフォースは現委員以外からも担当者を御願いする方向で調整することとなった*。次回開催(12月19日)までに、各TFにおいて、現状の把握と論点の整理をすることとなった。

* その後の調整により、最終的に各TFのメンバーは別表の通りとなった。

(別表) 審査WGタスクフォースメンバー (敬称略)

ジェノタイピング (ホスト側)	ジェノタイピング (感染症)	発現プロファイリング	解析機器
○ 東 純一	○ 神田 忠仁	○ 中村 祐輔	○ 寺前 紀夫
澤田 純一	前田 瑞夫	油谷 浩幸	# 堀池 靖浩
吉田 輝彦	鈴木 孝昌	森 正樹	
* 今川 健一 (大塚製薬)			
* 高橋 達也 (富士フィルム)			
* 内藤 真索 (大塚製薬工場)			

○: 代表者、*: 企業からのオブザーバー

#: 新TF委員 (独立行政法人 物質・材料研究機構 生体材料研究センター)

平成18年度第2回次世代医療機器評価指標検討会
テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）審査WG

1. 日 時 平成18年12月19日（火） 13:30～15:30
2. 場 所 国立医薬品食品衛生研究所 講堂
東京都世田谷区上用賀1-18-1
3. 出席者（敬称略）
WG委員：神田（座長）、東（副座長）、油谷、澤田、寺前、中村、堀池、細川（前田代理）、森、吉田
オブザーバー：今川、高橋、内藤、
厚生労働省：俵木、高江、武田
（独）医薬品医療機器総合機構：小木（木下代理）、池田（新見代理）
開発側：木山
事務局：土屋、松岡、鈴木

議事概要

本WGでは、前回の会議で設定した感染症のジェノタイピング、ホストのジェノタイピング、発現プロファイルの3つのタスクフォース（TF）、とその後追加された解析機器のTFに分かれ、検討を行う。具体的な評価指標となるガイダンスを作成し、医薬品医療機器総合機構（機構）での検討、パブリックコメントなどを経て、評価指標案を薬事食品衛生審議会の医療機器・体外診断薬部会にて報告し、室長通知とすることが目標とされた。この際、当WGの委員、および事務局について、室長通知のはじめに添付される文書に記載されることが土屋氏より説明された。

前回の会議で、審査側に機構職員の参加が望ましいとされたことから、審査WGの新しい委員として、機構の医療機器審査部の小笠原氏（代理 小木氏）と品質管理部の池田氏が加わった。

新委員として独立行政法人 物質・材料研究機構の堀池靖浩氏、タスクフォースのオブザーバー（途中より参加）として大塚製薬株式会社の今川健一氏、富士フィルム株式会社の高橋達也氏、大塚製薬工場の内藤真策氏が紹介された。

前回の議事録の確認後、産総研の木山氏より開発WGの第2回委員会の概要が以下のように紹介された。

- ・ 新委員として第一化学薬品株式会社を任命した。
- ・ オリンパスの動向について紹介を受けた。

- ・ 富士経済社から出ている報告書の概要を報告した。富士経済社には開発動向調査を委託中であるがまだ契約が済んでいない。
- ・ FDA の資料を参考に開発ガイドラインの作成を検討して、1. 装置プロトコール、2. 標準化および標準品、3. 評価判定基準の3点に関して WG を作り、ジェノタイプピンングを想定してガイドラインづくりを行うことになった。
- ・ 企業でコンソーシアムを作って標準品や、プラットフォームの互換性に関して検討する必要性が確認された。

座長がこれまでの経緯を説明した。DNA チップを使った検査装置が審査される際に、どのような評価項目が必要かを議論して文書に残すのが基本的な目標であり、前述の4つの TF の代表者が報告書を取りまとめることを確認した。論点を明確にするため今回の会議では既存の評価項目に沿って具体的な議論を行なう方針が示された。ここでの議論を踏まえ、1月末を目標に各 TF で文書をまとめることが提案された。

各 TF の責任者を感染症－神田、ホスト側－東、発現－中村、解析機器－寺前と決めた。

- DNA チップの定義として、ジェノタイプピンングに関する手法であればチップ以外のものも含めるのかという議論がなされた。
- ・ なるべく広く今後想定される機器を評価できる指標を作成することが望ましいが、どの程度具体的な指標を作れるかは各 TF によって異なる。感染症のジェノタイプピンングでは申請の段階にある機器があるので、かなり具体的な指標を作ることが期待できる。
- ホストのジェノタイプピンング用の DNA チップは、前例のない体外診断薬の評価になるので、市場導入前に、ジェノタイプの判定にとって最小限必要な指標を決め、それを満たせば市場に入れて臨床データを蓄積し、保険点数にかかわる評価を行うという新しい枠組みの必要性が議論された。
- ・ 臨床試験を迅速化するには、市販後の臨床的有用性の検証を治験のみに頼るのではなく、安全性と品質に問題がなければ承認し、診療の中で臨床研究を促進し臨床的有用性に関するデータを蓄積する形が良い（吉田委員作成資料6）。
- ・ 各ジェノタイプ用 DNA チップについて、すべての臨床的有用性を明らかにした上で承認を与えるのでは膨大な時間がかかる。計測のための体外診断薬として承認して、先進医療などの形で使っていくのが望ましい。例えばジェノタイプピンングであれば、ジェノタイプを明らかにする事自体が体外診断薬の性能として評価されるべき

で、どういう薬物治療に使えるかということとは言及しないで承認を与えることが適切ではないか。

- ・ 資料5の使用目的の有用性にあたる部分は、少なくともジェノタイピングに関しては資料6の考え方で良く、プロファイリングに関しては、どういう根拠に基づいてどういう性能を担保すべきかについてまだ議論が必要である。
 - ・ ジェノタイピング体外診断薬に重要なのは、ジェノタイピングの判定の信頼性であり、その情報を医療行為にどう使うかは別問題として考える。ここでは、ジェノタイピングの信頼性、正確性、再現性などがどういう評価指標で担保されれば承認できるかという評価指標を作りたい。臨床応用に関する議論はまだできないので、意見として文書の中に入れておくという方針ですすめる。
 - ・ 臨床上の有用性に関しては、ジェノタイプを調べることで自分が薬物治療にどのような意味合いを持つかがこれまでの研究である程度明らかになっている程度で良い。
- まだフェノタイプとジェノタイプが関連づけられていない項目に関しては、どう考えたらよいか？
- ・ 何に使うかわからないが承認してくれということはあるが、臨床的有用性が得られていない段階での審査はあり得る。検査すること自体の科学的妥当性は、正確に遺伝子をタイピングできる事とは別問題であり、ここでは、精度をどう担保して、実用化するかが重要である。
 - ・ ジェノタイプデータの正確性、信頼性、再現性の評価を目標に議論を進め、将来の臨床応用への課題は議論として記録に残すに止める。

以下、資料5の論点に基づいて自由に議論を進め、その議事録をもとに各 TF 内で詰めて最終文書を作る方針であることが、座長より提案された。

(資料5より)

「使用目的」

- ・ 有用性については、臨床試験にかわる公知の論文などが必要ではないか。
- ・ 適応となる疾患、使用状況、期待する結果は必要。ただし、適応疾患についてはあまり細かく書くのではなく、有用性があるという書きぶりです。

「構造、原理」

開発の経緯と国内外での使用状況は簡単に書く。

原理とその妥当性について、塩基配列がきちんと解析した結果と一致することが重要。

一塩基の差を正確にチップ技術で判別できるかについてはどうか？

- ・ 国際ハップマッププロジェクトの経験から、機械には色々なアプリケーションがあり、配列により得手不得手がある。個別の遺伝子や多型に対する精度を示す必要がある。シーケンス解析の結果を参照する方法だけでなく、他の様々なプラットフォームとの一致率という考え方もある。少しフレキシブルに、どういう方法で正確性を担保したのかということが良いのではないか。また、どの程度のエラーまで許容されるかについても、どの程度のサンプル数が必要かを含めて、考慮すべき問題である。
- ・ アメリカでは NIST にスタンダライゼーションの研究所があつて、すでに検討を開始しているので、厚生労働省なりがコンタクトを取って、情報を得ていただきたい。
- ・ SNP の場所が欧米人と日本人で違う問題は、プライマーの設計などで問題となり、欧米人の DNA をそのまま使えないことになるが、その標品をどこが用意するか、公的機関か各企業が用意するのかの議論が必要。これは、「品質管理の方法」の校正用基準物質の設定の項に関わる問題である。
- ・ キャピラリーシーケンサーには苦手な配列はあるものの、ゴールドスタンダードとして受け入れられるので、フレキシビリティを持たせた表現として「キャピラリー・シーケンス等、十分合理的な理由で、ベストなゴールドスタンダードと考えられるものとの比較」としてはどうか。

ハイブリダイゼーション、検出方法に関しては、ハイブリだけとは限らないので、特異性と検出方法だけでよい。使用条件はきちんと記載する。

データ処理の方法については、判定を下すときのカットオフ値の設定とその妥当性、ソフトウェアの計算手法などが重要である。ジェノタイプの判定に限れば、機械から得られるシグナルからどうやって判定を下すか、そのアルゴリズムは正しいかについて詳しい解説が要求される。

取り扱う試薬の安全性、装置の安全性は独立した項目としてはどうか。

- ・ ヒトパピローマウイルスの場合、100 ぐらいのジェノタイプがあり、そのうち 13-15 が癌と関わっている。ウイルスは塩基配列が変化しやすく、臨床材料を調べると亜型が存在する。一塩基、二塩基違うものがどういう形で判定されるのかという解析アルゴリズムに関しては、評価の対象となる。

使用条件、動作保証範囲は、検体の項に入るので、「構造および原理」からは外す。

既存方法によるデータとの相関性については、後発品の場合に必要な項目で、ジェノタイプに限れば、シーケンスをリファレンスにすることで十分なので、これは取る。

臨床試験の成績は、必要なものは当然示すが、完璧なものはない。

臨床試験という言葉は、一般的に介入的な研究を指すので、臨床研究という言葉でどうか。人種差が大事で、日本人が対象の場合には、その多型をどのくらいカバーするのかというデータがほしい。

検出方法の中の検出の信頼性は、その下の品質管理の項でよい。

「品質管理の方法」

感度、正確性には作業間や施設間の差異がないことが重要である。

感度は重要であり、どのくらいの出発材料があれば正確な結果が得られるかを示す。

再現性試験は、同じ試料を複数回測定して同じ結果が得られること、および別の試料を測定した場合に、前の試料の影響を受けない点を示す。

較正用の基準物質は、どこかでまとめて管理、供給する必要があるか？遺伝子によりケースバイケースであると考えられるが、とりあえずガイドランスでは基準物質で適宜較正してほしいと書く。

- ・ 較正用の基準物質は企業側が準備するのかという問題がある。キットに付属する陰性および陽性対照とジェノタイプ全体の標準試料の両方を考えなければならず、WGの提言として出すことは重要である。後者を実際にどうするかはこのWGの役割を超えていると考えられる。
- ・ そういう標準品を、政府がお金を出して準備する必要があるのではないか？
- ・ オールラウンドなものは無理なので、ある種の目的にある量を提供できる評価用の標準試料が必要であろう。
- ・ 日本人の標準という意味では、ハップマッププロジェクトに使用した130名分の血液から株化した細胞株がコリエルという所に寄託され、世界共通で利用されている。これを標準として利用可能である。45人分に関しては、何百万箇所ものSNPデータが既に登録されている。これで足りない部位については、細胞株を入手して解析可能である。
- ・ シーケンスデータについては、企業側が用意するしかないのではないか？

- ・ 企業側は、答えの明確な較正用の基準物質を公的機関が用意することが望ましいと考えるが、具体例がない段階では、較正用の基準物質を添付して信頼性を担保すべしという程度しか書けない。
- ・ 例えばシーケンスを 100 人分つけてもらえば良い。
- ・ これは、先行企業がつけるという事になると、最初企業の負担が大きくなる。そうになると、先行企業のインセンティブでそれを保有すると、2 番目以降の企業が利用できず、水平展開が難しくなる。
- ・ 全ゲノムをシーケンスするわけではなく、特定領域のみをシーケンスするのだからそれほど負担にはならないと思うが、開発を促進する上において、企業間でどのようにそうした情報を相互利用するかは、おそらく開発 WG での議論になる。
- ・ 体外診断薬の場合、ガイドライン上臨床性能試験には 2 施設以上 150 検体という解析サンプル数に関する記載があるが、今回の場合多型がある程度の確率で入っていないといけない。必要サンプル数は、多型の頻度によっても変わるので、150 という数字は書かない方がよい。
 - 検体の取扱に関して、DNA, RNA の品質管理は重要だと思われるが、DNA については通常の体外診断薬での検体の取扱が適用できるのではないか。
- ・ 電気化学検出か蛍光検出かで前処理によるバックグラウンドがずいぶん違うと考えられる。構造および原理によって保管状況による誤差の出方も変わるので、システムにふさわしい検体の取り方、保存法、界面活性剤のような夾雑物の影響などを原理と絡めて記載してもらおう。

「操作方法、使用方法」

- ・ タイピングの間違いとしての誤診断のリスクは、企業側の責任になるわけだが、この判定結果を臨床に使う可能性がある以上、リスクは考えないとはいけない。

「製造方法」は必要。

「チップの有効期限」は問題ない。

「倫理的・社会的問題」

- ・ 将来余分な多型まで一斉に診断するようなチップが出てきた際に問題になるが、ここでは機器の正確性の評価が中心となるので、議論には入れない。ただし、問題提起としては必要である。

「今までに承認された体外診断薬の評価基準との整合性」

- 既に配布されている薬事法の資料を参考に、評価指標を作成し、企業が申請時に評価項目として示す。従来の項目でそのまま使えるところは残し、より議論の必要な部分は加え、余分なものは除くという方針で行けば整合性は取れると思う。
- ベースとしては既存の体外診断薬の通知に基づき、DNA チップ特有の視点を加えていき DNA チップ用のガイダンスを作成する。
- 診断薬ということになると、例えば CYP2D6 では日本人の場合「解析対象配列がどこまで入っていないければだめだ」という議論になるが、公知の事実としてどういうジェノタイプが臨床的に役立つのかという情報が提供されれば、どこまで含めるべきかという議論はここでは必要ない。
- 前回の FDA の文書のように、こういう評価基準で評価する、こういう項目に関して準備すべきというものを作る。これを公にしておくことにより、実際に個別のジェノタイピングの申請が出てきたときには、今回の文書がたたき台になってより詳しいものが出てくるのではないか。その際に、特定の疾患に対する意義については、専門家が集まる委員会にて検討されることになる。FDA のような文書を目標として、我が国独自の議論も盛り込み、ガイダンスを作成する。特に感染症に関してはパピローマウイルス型判定チップの例があるので、より踏み込んだ議論をする。
- FDA は広義のガイダンスで一般論を述べて、個別ですべてを作るが、FDA のガイドラインは厳しすぎるのではないか？
- ここではガイダンスにあたるものを議論しており、具体的に書けない段階なのでどこまでをクリアにしておく必要があるかということをもとめたい。それを手本にして、個別の機器に関しては別の専門家が集まった場所で議論することになる。今回は、具体的に踏み込むことができるぎりぎりまで書き、申請者及び審査当局に役に立つ文書を作りたい。

「測定装置機器」

- いわゆる仕様を書くことになるが、企業側の考え方は？
- 確かに必要だが、正確性や再現性という言葉が機器のスペックに落としたときにどういう言葉になるかを明確にしてほしい。FDA のように企業内で考えろという事であればそれでも良い。
- 基本的には企業が責任を持つべきで、スペックまで出すことはあり得ない。
- 普通の医療機器と同じであれば、その言葉を企業内でスペックに落として決められる。

- ・細かいスペックではなく、本来の使用目的が達成できるというスペックであろう。
 - ・普通一般医療機器の考え方と同じく、性能をどのように担保するかという流れの延長でよい。JIS 規格があるようなものはそれに準拠し、ないものは自社規格を作り、その正当性を示す。それをどこまで細かく決めて行くかは今後の議論であるが、あまり細かくしてプラットフォームが限られてしまうのは良くない。
 - ・考えさえ明確であれば、企業側として従来の医療機器の概念がそのまま適応できる。
- 再現性に関しては、チップ側の要因と、機器側の要因があるが、両方が一緒になって答えが出るため、二つをいっぺんに見てしまうという理解でよいか？
- ・ 組み合わせるべき解析機器という項目はそのために必要で、チップ単独では議論できない。
 - ・ ソフトウェアや解析アルゴリズムは物理的には解析機器に入るが、チップと一緒に評価を受ける。方法論としては、100 人分のシーケンスされた検体を流して出てくる答えが 100 通り合っているということで両方の性能を評価するしかない。TF としては4つに分けたが、チップと解析機器はセットでまとめて議論せざるを得ない。
 - ・ ただし、機器の性能として単独に評価できる部分もある。解析結果を検討する際に、問題がどちらにあったかを究明する上で必要な情報となる。
- チップ側からは特定の機器を使うという制約はあるが、機器側からは違うチップが追加されうるので、それを前提に考えておく必要がある。
 - ・ 体外診断薬のシリーズものと同じなので、現状はどう審査されているか？
 - ・ 機器側はクラス I の自己認証になっている。ある一定のシグナルを検出できる機器であることを自己担保する。
- 発現プロファイルは、今どこまで踏み込んで議論しているのか？
 - ・ 難しい問題であるが、具体的にになるとしたら、こんなことが注意されるべき要点であるといったような一般的な項目を取り上げた文章が作ればよい。

一月末を目処に、FDA の文書を参考として、少し大きな視点から将来ガイドラインを作成する際に役立つ評価指標に関して各 TF でまとめ、それを集めて、体裁を整え報告書にして我々の責任を果たす。もう一回予定されている会議は、必要性が出てくれば開催するが、基本的には文章をメールで回して議論する形にする。

DNA チップを用いた遺伝子型判定装置に関する評価指標（案）

1. はじめに

ファーマコゲノミクスの進歩を反映し、試料中の複数の核酸断片の塩基配列や量を調べる DNA チップの開発が進められている。DNA チップは専用の解析・測定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、多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。従って、測定の精度や信頼性だけでなく、解析に使われるアルゴリズムや統計処理の妥当性等が評価の対象となる。DNA チップはクラスⅢの体外診断用医薬品、専用の解析装置はクラスⅠの医療機器として扱われる。

DNA チップを用いた遺伝子型判定装置としては、ヒトの遺伝子多型や変異を解析して遺伝子型を判定する装置又は病原微生物の遺伝子型を判定する装置が近い将来、市場に導入されると思われる。これらの装置の基本的な原理としては、ゲノムの特定領域を対象として、プローブとのハイブリダイゼーションの程度を測定し、塩基配列を推定するケースが多い。この方法では、シーケンシングに比べて大量、迅速かつ、低コストで必要な情報が得られるが、塩基配列を正確に判定できることが重要である。本評価指標は、DNA チップ及びその専用装置によって正確に遺伝子型が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た。ヒトの遺伝子型情報に基づいて個別の薬物に対する応答性を推定する妥当性については、データの蓄積とともに、対象とする薬剤毎に学会等の場において専門家による個別の議論が必要である。

2. 本評価指標の対象

DNA チップを用いヒトや病原微生物の遺伝子型を判定する装置を対象とする。DNA チップと専用の解析装置を一体として評価する。

3. 評価指標の位置づけ

本評価指標は、DNA チップを用いた遺伝子型判定装置に求められる性能等において、現時点で重要と考えられる事項を示したものである。今後の技術革新や知見の集積等を踏まえて改訂されるものであり、申請内容に関して拘束力を持つものではない。本評価指標が対象とする製品の評価にあたっては、個別の製品の特性を十分理解した上で、科学的な合理性をもって柔軟に対応することが必要である。

4. 評価に当たって留意すべき事項

(1) 品目の概要に関する事項

判定対象とするヒト遺伝子型または病原微生物の遺伝子型を説明すること。

1) 臨床的意義

対象とするヒト遺伝子型や病原体遺伝子型の判定が、診断や治療に与える有用性等について、文献等を引用して説明すること。

2) 測定原理

DNA チップと解析装置を使った遺伝子型判定の原理を詳細に示すこと。従来用いられたヒトまたは病原体遺伝子型の判定方法との原理的な相違について記載し、同一の結果が得られることを説明する。なお、測定原理が記載された論文、特許等の文献があれば引用し、必要な実測データを添付すること。解析装置に類似の機器があれば、その資料を示すこと。

3) プライマー、プローブ等の塩基配列

プライマー、プローブ等の塩基配列を示し、偽遺伝子や類似配列を持つ他の遺伝子の存在を含めて、それらの配列を選択した妥当性を説明すること。ミスマッチプローブ等を判定に利用する場合には、その配列を設定した根拠を説明すること。病原体には多くの変異体が存在することから、ゲノムの多様性への対応について説明すること。必要に応じ、実測データの添付または文献の引用によって詳細に説明すること。

4) チップ構成

チップにおけるプローブの空間的配置と固定方法の特徴を詳細に説明すること。

5) DNA チップに搭載される対照物質

陰性対照と陽性対照の設定と妥当性を説明すること。陰性対照としては、検出する DNA 配列と類似の配列を複数搭載することが望ましい。陰性対照は、シグナルのバックグラウンド算定の根拠となる。バックグラウンドシグナル値、陽性対照物質による内部標準等を用いて測定データの補正を行う場合には、その原理、手法を詳細に説明し、実測データを用いて説明すること。

6) アッセイ条件

ハイブリダイゼーション、洗浄、乾燥等の反応条件（温度、時間、緩衝液の組成等）の概略を記し、非特異反応が生じる可能性等も漏らさず説明すること。

7) ソフトウェア

蛍光や電流値などから得られるシグナル強度に基づき、解析機器に組み込まれたソフトウェア等により最終的な遺伝子型の判断を下す場合は、解析アルゴリズムの妥当性に関して説明すること。ソフトウェアの動作に関するバリデーションの方法を示すこと。

(2) 仕様及び安定性に関する事項

1) 品質管理の方法

DNA チップに固定化されたプローブの塩基配列とデザインした塩基配列の同一性に関して、実測データを使いながら説明すること。

DNA チップが対象遺伝子を検出する感度、精度、及び同時再現性を保証する標準試験を設定し、標準試験の成績から精度、感度を検証する具体的な方法を、実測データを用いて説明すること。

2) 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。可能な場合は、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。代表的な遺伝子型についての検討で、全体の測定範囲を設定することも差し支えない。遺伝子工学技術によって作製した核酸や培養等により得られた病原体ゲノムを標準試料として使う場合は、臨床検体由来試料の濃度や純度等に留意すること。

非特異的反応やバックグラウンドシグナルの安定性や均一性を検討し、誤判定の可能性を説明すること。シーケンシングを行う場合を想定し、適切なプライマーの配列や反応条件、繰り返し配列やGC含量等の情報を添付することが望ましい。

検体の遺伝子型を判定できる最小検体量（相当する DNA の最小必要量）を示すこと。定量する場合は直線性を保つ範囲について示すこと。

3) 測定装置の較正

一定のシグナルを安定して発生する較正用 DNA チップを装置の較正に用い、動作バリデーションを定期的に行うことができる場合は、較正用チップの妥当性を説明すること。較正用チップが利用できない場合には、DNA チップのバリデーションとあわせ、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。較正用試料の妥当性を説明すること。

4) 安定性に関する資料

DNA チップの保存条件、有効期限を設定し、その妥当性を説明すること。試薬類や標準試料等をキットとして提供する場合は受け入れ基準を設定すること。使用者が調製する試薬類がある場合は、調製方法や品質管理の方法を示すこと。全ての試薬の保存条件、有効期限を設定し、その妥当性を説明すること。

(3) 性能に関する事項

1) 遺伝子型判定の精度

ヒト遺伝子型判定はヒト検体を用いた試験を実施し、ヘテロ接合性及びホモ接合性の両検体を調べたデータを示すこと。測定対象となる遺伝子型がすでに明らかにされている保管検体がある場合は、それらを測定したデータを示すこと。測定対象となる遺伝子型が明らかにされていないヒト検体を測定した場合は、測定データと DNA シーケンサーを用いた双方向の塩基配列解析結果を比較すること。判定対象とする遺伝子型をすべてヒト検体で測定するのが望ましいが、低頻度の遺伝子変異の場合、当該変異を持つ DNA あるいは遺伝子工学で作製した DNA を添加した検体を使用することができる。ただし、添加検体の組成は、ヒトから採取した検体の組成に可能な限り近づけること。

病原体の遺伝子型判定を目的とする機器では、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が、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製した標準品を非感染者由来検体に混入させた疑似検体を用いて代用できる。遺伝子型判定の正確性は、既承認体外診断薬が存在すればそれを用いた結果、あるいは、シーケンシングにより得られた結果との一致をもって確認する。病原体に複数の遺伝子型が存在する時には、それらの特異的な検出、定量ができることを示すこと。複合感染の場合についても、定量性を含めて検討すること。病原体ゲノムには頻繁に変異が起こることが多いので、それらの変異が検出感度や判定へ及ぼす影響、対応について説明すること。シグナルカットオフ値の設定やアルゴリズムの設定において、変異の存在も考慮されなければならない。

2) 検体と共に測定する対照試料

陽性対照試料、陰性対照試料を選定し、選定した理由を説明すること。それらを用いた精度管理の方法を、実測データを使って説明すること。

3) 再現性、頑健性

標準試料を用いた繰り返し測定によるシグナルおよび遺伝子型判定結果の再現性に関する検討を行うこと。複数施設における測定を行い、再現性を確認すること。必要に応じて頑健性に関する情報を提供すること。

4) コンタミネーション対策、データの取り違え対策

検体の前処理に PCR 等による核酸の増幅過程が含まれる場合、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ための方策を、必要に応じて実測データを用いて説明すること。また、キャリーオーバーを否定する試験を実施して、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により、検体情報および解析結果の対応に誤りが起こらないような方策が求められる。

5) 検体の調製

検体の質が遺伝子型判定結果の精度に大きな影響を与える。高品質な DNA ないし RNA 試料を得るために、採取する検体の種類や対象となる病原体に応じて、採取、保管、運搬等に関する適切な取扱い方法を設定し、その妥当性を説明すること。特に RNA 試料の場合は、分解を防ぐ方策を講じることが望ましい。

検体の種類（血液、口腔内採取物等）に留意しながら、検体から試料 DNA ないし RNA を抽出する方法と得られた試料の品質を評価するための方法及び参考値（量、純度、分解度等）を示すこと。

調製した試料の安定性について説明すること。反応を妨害する物質（血清中のトリグリセリド、ヘモグロビン、ビリルビン、脂質などや投薬された薬物、検体採取に用いた抗凝固剤等）について予め評価しておくこと。

病原体ゲノムの場合は、患者や常在菌の DNA ないし RNA が混入し得るので、混入に

よる妨害の有無を説明し、必要に応じて検体や試料の品質評価基準を示すこと。

(4) リスク分析に関する事項

操作過程において、人為的および機械的ミスが発生する要因に関して分析し、必要に応じて添付文書にて注意喚起を行うなどの対策を講じること。誤った判定結果が得られた場合に起こりうる、診断、治療上のリスクについて、文献等を使って評価すること。判定結果を別の手法を用いて個別に確認するための方法について、積極的に提示すること。

(5) 製造方法に関する事項

DNA チップの製造方法およびそれに使用する機器、材料等に関して説明すること。また、製造工程における品質管理の方法について説明すること。

遺伝子型診断用の DNA チップ等の 製造販売承認申請において考慮すべき事項について

大阪大学大学院薬学研究科 東 純一
国立医薬品食品衛生研究所機能生化学部 澤田純一
国立がんセンター研究所腫瘍ゲノム解析・情報研究部 吉田輝彦
大塚製薬株式会社新薬開発本部 PGX 室 今川健一
富士フィルム株式会社 R&D 統括本部 高橋達也
大塚製薬工場栄養研究所 内藤真策

1. 背景

近年のヒトゲノムプロジェクトの成果を基盤として、網羅的な一塩基多型等の検出、さらには国際ハップマップコンソーシアム等の活動により、ヒトにおける遺伝子多型に関する情報は飛躍的に増加している。それに伴い、DNA チップ等、遺伝子型の判定技術も進歩し、疾病への易罹患性や薬物応答性等に関する遺伝的背景を同定する上で、極めて有用な情報を提供しうる段階に至っている。

特に薬理ゲノム学の分野では、遺伝子多型による薬物動態の変化が古くより知られており、関連する多くの遺伝子群に関して、豊富な多型情報が得られている。特定の薬物代謝酵素や薬物応答性（治療反応あるいは薬物有害事象）を左右する蛋白質分子の遺伝子型は、その情報を個人差に応じた薬物療法の選択及び至適投薬量の決定等に利用することが可能であり、最も実用化が進みつつある分野の一つである。

米国食品医薬品庁（FDA）は、既に疾病の原因となる遺伝子多型や薬物の代謝能を規定する遺伝子多型を判定するための診断薬の承認に関するガイダンスを公表している。わが国においても、患者個人の遺伝子型に応じた投薬を可能とする体外診断薬の開発並びに迅速な承認が望まれているところであり、このような体外診断薬の製造販売承認申請に係るガイダンス策定への要請も強い。当タスクフォース（TF）では、ヒト遺伝子多型判定用の DNA チップ等の製造販売承認に際して考慮すべき点を検討したので報告する。特に留意すべき点に関しては、当 TF の提言として、別紙にとりまとめた。

2. DNA チップ（遺伝子型診断用）等と専用の測定装置について

わが国においては、制度上、遺伝子型診断を行う目的で使用される DNA チップと試薬等のキットは体外診断用医薬品として、測定装置は医療機器として取り扱われる。遺伝子診断用の体外診断用医薬品は通常クラスⅢに該当し、厚生労働大臣の承認が必要とされる。しかし、体外診断用医薬品としての DNA チップ（付属する試薬などのキットを含む）及び DNA チップによる判定に使用される専用の測定装置（医療機器）は、両者を含めた形で性能が同時または平行して評価されるのが適当と考えられる。但し、シリーズ品目の場

合のように、DNA チップに関する性能の評価のみで十分な場合もあり得る。

なお、本文書では、次世代医療機器としての DNA チップが主たる対象として記述されているが、本文書で述べられた考え方は、その他の液相または固相の遺伝子多型判定用キットに対しても概ね適用しうるものと考えられる。

3. DNA チップ（遺伝子型診断用）等の製造販売承認に際して提出される資料において考慮すべき事項

以下、体外診断用医薬品の製造販売承認申請書に添付すべき資料のうち、重要と考えられる項目に関して、留意点を挙げる。その中で、DNA チップに関して、特に留意すべき点を別紙にとりまとめた。

使用目的及び臨床診断上の意義

対象遺伝子とその多型またはハプロタイプ及び対象となる特定の集団を明示すべきである。

当該遺伝子多型等に基づいて判定される結果の臨床的な意義（有用性と安全性）に関する説明が必要とされる。症例対照研究やコホート研究により、当該遺伝子型の易罹患性や薬剤に起因する有害事象のリスク比、薬物動態や治癒率への影響等の臨床上の重要性が、信頼できる統計学的手法に基づいて示されている論文があり、且つ、その再現性が示されている場合には、そのような文献情報を資料として用いることも可能である（臨床試験の試験成績に関する資料の項目を参照）。臨床的意義が必ずしも十分に実証されていないものの、その高い有用性と安全性とが理論上予想できる場合には、臨床的な意義について、現時点ではどのようなエビデンスがあるかを明らかにし、その有用性と安全性とに関する説明が十分になされる必要がある。臨床上の有用性が十分に明らかにされていない場合には、保険適用（薬価収載）がなされない場合もありうるものが推測されるが、わが国における画期的な医療機器等の開発の推進に配慮した製造販売承認に関する体制の整備が望まれる。

測定方法（測定原理、操作方法、判定方法）の説明

検査に用いるチップと測定装置及び測定原理を含め、測定方法等に関し、その特徴を簡単に説明する。当該検査に用いるべき専用の測定装置（ソフトウェアのバージョンを含む）がある場合には、それを特定する。

反応系に関与する成分に関する情報

反応の特異性を担う成分（プライマー、プローブ等）の設計の根拠及び妥当性の記載に当たっては、以下のような項目の情報が必要とされる。

- チップにおけるプローブの空間的配置、固相へのプローブの固定に用いられる方

法、プローブ等の配置の正確性及び配列の異同。

- オリゴヌクレオチド、プライマー、プローブまたはその他の反応系に關与する塩基配列。特に偽遺伝子あるいは類似配列を有する他の遺伝子が存在する場合、用いたプローブ、プライマー等の特異性に関する情報。
- 対象分子が多数の異なるプローブと接触することになる多重検査の場合、特異的及び非特異的プローブのクロスハイブリダイゼーションの可能性。

既存の体外診断薬との類似性の説明

測定原理、測定対象が新規であること、又は新規対象に該当しない場合にはその説明を記載する。既存の体外診断用医薬品と同一遺伝子の同一多型を対象に、類似のアルゴリズムを用いて判定する場合で、プライマー又はプローブのみが異なる時は、同一の測定原理と見なしてよいと考えられる。

品質管理の方法に関する資料

通常、品質、性能を担保する上で必要な項目（例えば、感度試験、正確性試験、同時再現性試験又はそれらに類する試験）を設定し、その設定理由を説明することが必要とされる。性能担保に必要な項目の設定に用いた被験試料、校正用基準物質又は標準試料等及びその調製法等を記載する必要がある。性能評価に利用したプログラム（アルゴリズム）及び統計学的手法などを記載する。通常の体外診断用医薬品の場合には、3ロット以上、1ロットにつき3回以上の測定成績が求められるが、DNAチップの場合には、用いるプローブの数に応じたデータの取得が必要とされる場合もある。これらに関しては、以下の点に留意する必要がある。

- 品質管理の項目の設定に用いた試料に関しては、試料の起源と種類、調製法、試料数の他、その試料を用いた妥当性（使用目的に適った代表的な試料か否かについて）を記述する。
- 同時再現性に関しては、それを適切に裏付ける試験方法が必要とされ、以下の点を考慮する必要がある。
- 多数のプローブが同一チップに存在する場合、同時再現性試験及び安定性試験においては、同一試料についてプローブ数に応じた十分な回数の検査を繰り返し実施し、得られる結果の再現性を評価する必要がある。
- 適切な検査試料を測定方法に記載された濃度に近い複数のDNA濃度で使用する。検査試料には、野生型配列と変異型配列の両者を含め、可能な限り、検査対象となりうる全ての対立遺伝子を含めるべきである。
- 再現性試験で用いられる手順が、添付文書において使用者に推奨する予定の手順と同じである必要がある。特に、再現性試験で使用される試料は、検査場所における「実際の」試料（全血、口腔内スワブ、等）から処理されたものである必要がある。これに

より、添付文書で推奨する手順を用いる場合の再現性を確認しうる。

- 検査に複数の専用の測定装置が必要とされる場合には、それらに関する成績を含める必要がある。
- 対照や較正用試料のバリデーションに関する手法。
- 必要に応じて遺伝子型等判定システムの較正を実施することが望ましいが、その較正手順を確立するための方法。

感度及び測定範囲等に関する資料

検出感度を評価する際には、遺伝子型等を判定可能なゲノム DNA 等の最低必要量を求める必要がある。また、この検出下限値を得るために必要とされる臨床試料の量を概算し、複数の濃度のゲノム DNA 等を含む試料を用いて、検出感度を求めることが望ましい。同様に、DNA 濃度及び試料量に関し、正確な測定が可能とされる上限値を求めるべきである。

較正用基準物質の設定に関する資料

必要に応じて、製造元における較正用基準物質（試料）の詳細、較正法、設定根拠、組成、純度、濃度、較正用基準物質のバリデーションに関する情報を記載する。

キットに含まれる標準試薬（対照）に関する資料

遺伝子多型等判定用 DNA チップのキットには、陽性対照（変異型 DNA）及び陰性対照（野生型 DNA）の両者を含めることが奨められる。これらの対照物質としては、被験試料の組成及び DNA 濃度に近いものを使用する必要がある。キットに添付される、あるいは推奨される対照試料は、反応が特異的且つ適切に進行したか否かを、ユーザーが容易に判断しうるものでなければならない。陽性対照（変異型 DNA）、陰性対照（野生型 DNA）等に関する資料には、調製法及び試料の遺伝子多型判定に用いた方法を含める。

安定性に関する資料

通常、安定性に関する試験は、室長通知に基づいて行われるべきである。但し、DNA チップに関しては、プローブの塩基配列の相違が安定性に大きく影響することは考えにくいため、既存の DNA チップに対してプローブの塩基配列のみが異なり、それ以外の製造条件が同一であれば、安定性に関する試験成績は申請後の提出でも可能とすることも考慮すべきと思われる。

操作方法に関する資料

遺伝子多型等判定用 DNA チップのキット等を使用する場合の重要な反応条件（反応時間など）に関する試験成績を記載する。検査アルゴリズムやソフトウェアに関する情報、

検査結果の解釈に関する資料を含む。検査アルゴリズムとソフトウェアに関しては下記を考慮すること。

検査アルゴリズム

通常、DNA チップを用いる体外診断用医薬品はクラスⅢとみなされ、ソフトウェアの不具合が間接的に患者の健康に影響を及ぼす可能性がある。遺伝子多型判定用 DNA チップのシステムにソフトウェアが含まれる場合、リスク管理レベルに応じて詳細に記されたソフトウェア説明文書を提出する。資料の作成においては、以下の点を含める。

信号の検出・分析、データ保存、データ通信、ネットワーク上の情報セキュリティ保護等のサブシステムの異常が、測定装置の異常や誤った診断結果報告につながる可能性についてのリスク分析を行う。

通常、一つの遺伝子には複数の多型が存在し、複数のアレル（対立遺伝子）が同一染色体上にあり、その組み合わせ（ハプロタイプ）の同定を行う必要が生じる場合がある。このような場合、ハプロタイプを同定するために用いられた検査アルゴリズムがどのように開発されたかについても説明する。

また、必要に応じて、計装ソフトウェアとアッセイソフトウェアの適合性のバリデーションに関する情報も提出する。

検体に関する資料

検体の採取方法に特別な注意が必要である場合、その根拠となる資料を添付する。分析までの取り扱いに関し、検体の前処理、抽出、増幅等が必要な場合には、重要な反応条件（反応時間等）に関する試験成績について記載する。

検体の保管については、異なる保管期間及び温度（凍結及び凍結融解を含む）における安定性を評価することにより、検体の保管方法及び輸送時の条件に反映させる。

分析の妨害因子

必要に応じて、共存物質（マトリクスの影響、被験物質のキャリアオーバー、妨害物質のコンタミネーションを含む）の影響、交差反応性、非特異的反応、抗凝固剤の影響等に関する資料を添付する必要があるが、特に考慮すべき点は以下のとおり。

- 必要に応じて、測定装置内流路のクロスコンタミネーションについて評価する必要がある。この場合、複数の既知の遺伝子型の検体を用いてキャリアオーバーの有無を明らかにする試験を実施すべきである。
- また、相同遺伝子・偽遺伝子配列による交差反応も評価する必要がある。
- 妨害物質は、必ずしも試料調製によって除去できない場合があり、また試料の調製過程により新たに生じる場合もある。従って、アッセイの性能に及ぼす妨害物質の有無及び影響について前もって評価することが望ましい。妨害物質の例としては、血清中

に通常存在するトリグリセリド、ヘモグロビン、ビリルビン、脂質などの内因性物質、投薬された薬物や検体採取に用いられた抗凝固剤などの外因性物質が考えられる。

検査結果に関する情報

臨床医師向けに作成される検査報告書の見本（印刷されたものなど）を添付する必要がある。これらの報告書は、関連学会等の勧告等に適合している必要がある。報告書では、検査によって特定された多型や検出方法等についての記述も必要とされる。臨床医師等が特定の遺伝子型に関する情報にアクセスできるよう、遺伝子型の解釈あるいは表現型の予測について報告された代表的な参考文献を引用する。このような情報を利用できない場合には、実施された臨床試験結果に基づく情報を提供する。

リスク分析に関する資料

診断薬による遺伝子型の判定が正しくない場合、患者管理上の誤った決断に繋がるリスクがある。遺伝子型判定結果の解釈の誤りも、誤った表現型予測を招くため、同様である。診断薬の不具合、検査における操作の不具合、結果の解釈の誤りなどに基づくリスクについても分析する必要がある。この種の遺伝子検査によってもたらされる情報は、医師による従来の診断法と併せて、他の治療上の意思決定手段を補完する目的においてのみ利用されるべきである。

例えば、ある特定の薬物動態酵素等の対立遺伝子やハプロタイプが薬物代謝に与える影響は、投与される薬剤に応じて異なる場合がある。薬物代謝に対する特定の対立遺伝子等の影響は、一部の薬剤については文献等により十分に立証されているが、その他の薬剤については、十分には立証されていない。従って、医師がこの種の検査から得られた結果を解釈する際は、専門家の判断（文献等）を利用すべきである。また、変異型薬物代謝酵素の活性変化が明らかにされていない場合、薬物の代謝経路がまだ明確にされていない場合、薬物応答性に関する遺伝子多型が特定されていない場合等には、遺伝子多型判定から得られた結果は、薬剤に対する患者の応答予測の判断に用いるべきではない。

製造方法に関する資料

DNA チップの場合には、製造工程中に多数のプロープが取り扱われるため、プロープの交差汚染防止策に特に留意して記載を整備する。

臨床試験の試験成績に関する資料

遺伝子多型等判定用 DNA チップは、疾病の原因となる遺伝子型や、薬物応答性（治療反応あるいは薬物有害事象）を左右する要因となる遺伝子型を特定することを目的とする体外診断薬であり、疾病の病因の特定や、薬物療法の選択及び至適投薬量の決定に役立てるために使用される。臨床試験には、臨床上の意義を明らかにするために行う場合と、遺

伝子型判定の正確性を確認するために行われる場合とがあるが、(患者) 対象とする集団は、その目的に応じて適切に選択されるべきである。

臨床上の意義を明らかにするための臨床試験：

薬物代謝酵素遺伝子型判定等のように、用いられる方法の臨床的な妥当性や有用性を裏付ける十分な知見がある場合、その臨床試験によるバリデーションには、臨床的妥当性を判断するための前向き臨床試験は不要な場合がある。このような場合、専門家により評価された文献を提示し、その妥当性を説明する必要がある。その際、適切に選択された対象集団より得られた複数の試験結果が含まれることが望ましい。十分な有用性を裏付ける文献がない場合には、当該診断薬の有用性を裏付ける試験（通常は前向き試験）を実施する必要がある。臨床的意義を明らかにするためには、対象集団の選択の妥当性、有病正診率及び無病正診率（疾患原因遺伝子型の場合）、遺伝子型と表現型の相関（薬物代謝酵素や薬物応答性関連分子の場合等）等の成績及びその評価の妥当性、統計手法の妥当性、解析アルゴリズムの妥当性等を示す必要がある。

体外診断用医薬品の臨床性能試験成績に関する資料（身体に直接使用されないものに関しての臨床成績）としては、原則として、2施設以上、150 検体（正常範囲の検体を含む）が通常求められているが、統計学的に解析が可能な場合、又は DNA チップによる判定に固有で科学的に合理的な理由があれば、この限りではない。

臨床検体を用いる遺伝子型判定に関する性能試験：

遺伝子型のタイピングの正確性を明らかにするためには、対象集団は野生型及び変異型の遺伝子型を有する個体が適切に含まれる必要がある。この場合、当該遺伝子の配列又は多型が既知である臨床検体を用い、性能を確認する必要があるが、その既知配列又は多型に関する情報の正確性を示す必要がある。また、十分に特性評価された既存の貯蔵検体を判定の正確性を確認する試験に利用しうる場合もある。対象集団の選択の妥当性、陽性一致率及び陰性一致率等の成績及びその評価の妥当性、統計手法の妥当性、解析アルゴリズムの妥当性等を示す必要がある。その際、異常検体（溶血、乳び、黄疸等）及び併用薬物の影響に関しても、留意する必要がある。

外国で実施された成績に関しては、日本人と外国人との人種的な差並びに環境因子及び医療実体の差異等の影響を考慮して、日本人への適用の妥当性を判断する。人種差等の情報が当該遺伝子多型に関して既に得られている場合には、その人種差の有無及び頻度の相違などに関する情報が極めて重要となる。

判定対象とする遺伝子型を網羅する検体を評価するのが望ましいが、低頻度の遺伝子変異の場合、当該変異を有する DNA あるいはクローン化された DNA を添加した検体を使用することが可能である。その場合、添加検体の組成は、可能な限り、実際の臨床サンプルの蛋白質及び DNA 含量及び濃度に近いものとする。クローン化 DNA を使用する場合、ヘテロ接合性及びホモ接合性の 2 種類の検体となるように調製された検体を用いて検査を

行うべきである。低頻度遺伝子多型検体を複数取得できない場合、その対立遺伝子について有意な再現性が統計学的に得られる数の検体を調製して検査に用いる。

患者の遺伝子型同定に利用可能な標準的な方法が他にない場合、又は得られる結果が試験方法の原理、使用する遺伝子診断システム、用いる試料等により変動する場合には、当該診断薬を用いて得られる試験結果は、双方向の DNA 配列分析結果と比較すべきである。

臨床試験の成績に関する資料には、遺伝子型の判定不能、誤った判定、器具の故障、試薬の不具合なども結果の記述に含めるべきである。その際、遺伝子型判定の誤りあるいは判定不能は、判定の不一致と見なすべきである。

その他

当該遺伝子診断に関する倫理的、社会的問題等があれば、その対応を含めて記載し、添付文書並びに検査を依頼した臨床医師への試験結果報告の書式に反映すべきである。

4. DNA チップ（遺伝子型診断用）等の添付文書の記載において考慮すべき事項

添付文書は、体外診断薬の使用目的、及び使用法等を、簡潔且つ十分に説明するものである必要があり、特に以下の項目は、十分に考慮する必要がある。

予測値

日本人における対立遺伝子等の頻度に関するデータを提供する。

解釈上の注意

表現型の定義を明確に記載し（例えばチトクローム P450 2D6 の場合における、ultra rapid metabolizer, rapid metabolizer, intermediate metabolizer, 及び slow metabolizer）、臨床医が検査結果を解釈する上で役立つように添付文書に記載する。表現型の定義は、内外の関連学会等の勧告と一致するべきである。また、使用者が特定の遺伝子型に関する情報にアクセスできるよう、遺伝子型の解釈あるいは表現型の予測について書かれた最新の代表的な文献を引用する。

当該遺伝子検査の結果は、医師による従来の診断法等と併せて、その他の治療上の意思決定手段を補完する目的においてのみ利用されることを明記する。

例えば、特定の薬物代謝酵素等の対立遺伝子やハプロタイプが薬物代謝に与える影響は、投薬される薬剤に応じて変化する場合（薬物相互作用）があり、特定の対立遺伝子の影響は、一部の薬剤については十分に立証されているが、その他の薬剤については十分には立証されていない場合が多い。従って、医師がこの種の検査から得られた結果を解釈する際は、専門家の意見を参照して判断することが望ましい。

対立遺伝子のコードするタンパク質の機能変化が不明な場合、当該タンパク質の役割がまだ明確に確立されていない場合等には、確定診断や薬物応答予測への利用法が十分に確

立されていない旨を明記すべきである。

5. 関連通知

薬食発第 0216004 号 厚生労働省医薬食品局長「体外診断用医薬品の製造販売承認申請について」(平成 17 年 2 月 16 日)

薬食機発第 0216005 号 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「体外診断用医薬品の製造販売承認申請に際し留意すべき事項について」(平成 17 年 2 月 16 日)

薬食安発第 0331014 号 厚生労働省医薬食品局安全対策課長「体外診断用医薬品の添付文書の記載要領について」(平成 17 年 3 月 31 日)

6. 参考資料等

US-FDA/CDRH: Class II Special Controls Guidance Document: Drug Metabolizing Enzyme Genotyping System. March 10, 2005. (<http://www.fda.gov/cdrh/oivd/guidance/1551.html>)

US-FDA/CDRH: Class II Special Controls Guidance Document: Instrumentation for Clinical Multiplex Test Systems. March 10, 2005. (<http://www.fda.gov/cdrh/oivd/guidance/1546.html>)

US-FDA/ CDRH: Class II Special Controls Guidance Document: CFTR Gene Mutation Detection Systems. October 26, 2005. (<http://www.fda.gov/cdrh/oivd/guidance/1564.html>)

US-FDA: Pharmacogenetic Tests and Genetic Tests for Heritable Markers (Draft Guidance). February 9, 2006. (<http://www.fda.gov/cdrh/oivd/guidance/1549.html>)

尚、その他関連する各種ガイダンス等は、<http://www.fda.gov/cdrh/> からアクセス可能。

(別紙)

DNA チップの体外診断用医薬品製造販売承認申請において 留意すべき事項

体外診断用医薬品の製造販売承認の申請に関しては、薬食発第 0216004 号 厚生労働省医薬食品局長「体外診断用医薬品の製造販売承認申請について」（平成 17 年 2 月 16 日）、薬食機発第 0216005 号 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「体外診断用医薬品の製造販売承認申請に際し留意すべき事項について」（平成 17 年 2 月 16 日）、薬食安発第 0331014 号 厚生労働省医薬食品局安全対策課長「体外診断用医薬品の添付文書の記載要領について」（平成 17 年 3 月 31 日）が、既に通知されているところであるが、遺伝子型判定用の DNA チップと関連する試薬等のキットに関する申請を行う際に、特に考慮すべきことを以下のようにとりまとめた。

【医療機器である測定装置との関係】

体外診断用医薬品としての DNA チップ（付属する試薬などのキットを含む）及び DNA チップによる判定に使用される専用の測定装置（医療機器）は、両者を含めた形で性能が同時または平行して評価されることが適当と考えられる。

【臨床上の意義】

当該遺伝子の、対象集団（日本人）における多型・変異、あるいはハプロタイプのうち、当該検査の臨床的意義に関わる表現型（薬物有効性や有害反応など）に相関することが知られているもの及びその頻度の一覧を示し、当該体外診断用医薬品が対象とする遺伝子型とその臨床的な意義を明瞭に示す必要がある。

症例対照研究やコホート研究により、当該遺伝子型の薬物動態への影響、臨床的有效率や薬剤に起因する有害事象のリスク比、等の臨床上の重要性が、信頼できる統計学的手法に基づいて示されている文献等の知見があり、且つ、その再現性が示されている場合には、そのような文献情報を資料として用いることは可能である。臨床的意義が必ずしも十分に実証されていないものの、その高い有用性・安全性が理論上予想される場合には、臨床的な意義について、現時点ではどのようなエビデンスがあるのかを明らかにし、その有用性に関する説明が十分になされる必要がある。臨床的な意義が明らかである場合には、臨床検体を用いる判定の正確性を示す臨床試験のみが必要とされる。

臨床上の意義を明確に説明しうる公開された情報がない場合には、その意義を明らかにするための臨床試験が必要とされる。遺伝子型（例えば薬物代謝酵素の遺伝子型）と表現型（例えば、薬物動態学的特性や有害事象発生率）との間の相関を立証すべきである。通常、体外診断用医薬品に関しては、医療用医薬品の第Ⅲ相臨床試験のような無作為比較試験は要求されないが、その有用性を適切な統計学的解析により示しうるように計画された

臨床試験を行うことが望ましい。

外国で実施された成績に関しては、日本人と外国人との人種的な差並びに環境因子及び医療実体の差異等の影響を考慮して、日本人への適用の妥当性を判断する。人種差等の情報が当該遺伝子多型に関して既に得られている場合には、その人種差の有無及び頻度の相違などに関する情報が極めて重要となる。

新たな知見に基づき、臨床的意義（有効性あるいは安全性）に関する明らかな問題が指摘された場合には、再審査を行う場合もありうる。

【診断・治療に利用する際のリスク】

当該検査の結果を受けて行われる医療行為において、被験者に間接的なリスクが及ぶ可能性がある。それは、①遺伝子型の検査の正確性の問題、及び②検査結果である遺伝子型に基づく医療の選択の問題に分けられる。①は、下記の当該体外診断薬の「品質」及び品質管理の問題として捉えることができる。ここでは、②の医療の選択に関する留意点を記載する。

申請資料においては、当該遺伝子型検査結果（判定結果）を受けて選択あるいは推奨される医療行為の臨床的意義（有効性及び安全性）について、現在どのようなエビデンスが存在するかを明確にし、その治療への利用に際し、誤った検査結果がもたらす被験者のリスクを評価する必要がある。一般に、遺伝子型検査によって得られる情報は、医師による従来の診断法と併せて、他の治療上の意思決定手段を補完する目的においてのみ利用されるべきである。

上記の内容を、添付文書及び検査を依頼した医師への検査結果報告書に適切に記載することが、極めて重要と考えられる。

【性能及び品質管理】

1. 当該申請で使用された遺伝子型判定法とその正確性（陽性一致率と陰性一致率）を、臨床検体を用いて、塩基配列解析法として最も標準的で且つ信頼性が高いと考えられる方法との比較により示す必要がある。これは通常、双方向のキャピラリー塩基配列解析との一致率で評価されると考えられる。この一致率を求める際には、統計学的に性能を証明するのに十分な数の検体を用いる必要がある。

相同性が高い塩基配列を持つ遺伝子や偽遺伝子が存在する場合は、その情報を記載し、検査の特異性について特に慎重に評価する必要がある。

2. 品質管理の方法の設定に当たっては、通常、体外診断用医薬品の場合には、3ロット以上、1ロットにつき3回以上の測定成績が求められるが、DNAチップの場合には、用いるプローブの数に応じたデータの取得が必要とされる場合もある。特に、多数のプローブが同一チップに存在する場合、同時再現性試験及び安定性試験においては、同一試料についてプローブ数に応じた十分な回数の検査を繰り返し、得られる結果の

再現性を評価する必要がある。

3. キットに含まれる標準試薬（対照）は、適切かつ有効である必要がある。遺伝子多型等判定用 DNA チップのキットには、陽性対照（変異型 DNA）及び陰性対照（野生型 DNA）の両者を含めることが奨められる。キットに添付される、あるいは推奨される対照試料は、反応が特異的且つ適切に進行したか否かを、ユーザーが容易に判断しうるものでなければならない。
4. 被験試料に関しては、想定される DNA の質のバラツキについても予め評価しておく必要がある。実際の臨床現場において想定される、試料採取後から当該診断薬・機器による処理の開始に至る間の試料の保存温度、保存時間等の保存状態の相違が判定の精度に及ぼす影響を評価する。
5. 被験試料に含まれる妨害因子等によるバラツキについては、DNA を用いる検査においては被験試料に由来する共存物質の影響が予想される。例えば、検査試料が血液である場合、アルブミン、ビリルビン、脂質等の内因性物質や、薬物や抗凝固剤等の外因性物質について、その影響の有無を評価する。
6. DNA チップの場合には、検査の独立性を評価する必要性が高い。例えば、クロスコンタミネーションの有無を検出するため、異なる遺伝子型を持つことがわかっている 2 つの試料を交互に繰り返し検査し、一致率を評価する。
7. 異なる原理に基づいて同一の遺伝子型を判定する既承認の体外診断用医薬品がある場合には、それを用いて得られたデータとの相関性を評価する。

病原体遺伝子型診断用の DNA チップ等の 製造販売承認申請において考慮すべき事項について

国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター 神田忠仁
理化学研究所前田バイオ工学研究室 前田瑞夫
国立医薬品食品衛生研究所遺伝子細胞医薬部 鈴木孝昌

背景

ウイルスは従来血清型で分類されてきた。しかし、培養細胞で増殖しないウイルスでは血清型を決めるのは容易でなく、遺伝子型による分類がなされている。遺伝子型によって病原性が大きく異なる場合は、病原体の遺伝子型に関する情報が、治療方針の選択に重要となる。例えば、ヒトパピローマウイルスは培養細胞で増殖せず、これまでに検出されたウイルスはゲノム DNA の塩基配列に基づいて 100 以上の遺伝子型に分類されているが、子宮頸癌の原因となるのは 15 種程度の遺伝子型に限られ、他の遺伝子型のウイルスは重篤な疾患を引き起こすことはない。従って、感染しているウイルスの遺伝子型を正確に判定できれば、早期の切除、経過観察等を適切に行うことができる。これまでは、PCR によって増幅されたゲノム DNA を複数の制限酵素で切断し、得られた DNA 断片の大きさで遺伝子型を判定するか、PCR 産物の塩基配列を調べて遺伝子型の判定を行ってきたが、最近、米国や我が国で DNA チップを用いた判定装置が開発されている。

感染症の原因となるウイルス等の病原体検出と遺伝子型特定のために用いる DNA チップ（病原体遺伝子型判定用 DNA チップ）は体外診断薬、クラス III に分類され、販売には大臣承認が必要となる。実測値からアルゴリズムを用いて遺伝子型を判定し、医療情報として提供するというこれまでにない性質を持つため、評価において留意する事項と添付すべき資料について点検し、承認申請書に記載すべき各事項のうち、特に病原体遺伝子型判定用 DNA チップと解析機器の評価において重要となる点をまとめた。

1. 承認申請書に記載する事項

- 1) 一般的名称は「病原体遺伝子型判定用 DNA チップ」とする。
- 2) 使用目的には、検出する病原体の名称を国際的に認められている名称で記載する。

2. 承認申請書に添付する資料

イ. 起源又は発見の経緯及び外国における使用状況等に関する資料

1) 起源又は発見の経緯及び外国における使用状況等に関する資料

開発の経緯、国内外での使用状況を示す。対象とする病原体の検出、遺伝子型の判定が診断、治療に与える影響、臨床上の有用性について記載する（適切な文献を引用）。

2) 申請品目の説明に関する資料

原理とその妥当性

DNA チップを使った多項目同時測定の詳細を示す。従来用いられた病原体の検出、遺伝子型の判定方法との原理的な相違について記載し、同一の結果が得られることを科学的に説明する（測定原理が記載された論文、特許等の文献があれば引用し、必要な実測データを添付する）。

プライマー、プローブ等の塩基配列と配列選定の妥当性を示す。陰性対照と陽性対照の設定と妥当性を示す。陰性対照としては、検出する病原体 DNA 配列と類似の配列を複数搭載することが望ましい。陰性対照は、シグナルのバックグラウンド算定の根拠となる。ハイブリダイゼーション、洗浄、乾燥等の反応条件（温度、時間、緩衝液の組成等）と非特異反応が生じる可能性等を示す。病原体には変異体が多く存在することから、ゲノムの多様性への対応について記載する（実測データの添付または適切な文献を引用）。

シグナルの検出方法、定量方法、シグナルの値から判定結果を導く方法とその妥当性を示す。

ソフトウェアを使って判定する場合は、アルゴリズム等の詳細な記述とソフトウェアの動作に関するバリデーションの手法を示す。バックグラウンドシグナル値、陽性対照物質による内部標準等を用いて測定データの補正を行う場合には、その原理、手法の詳細と妥当性を示す。

ロ. 仕様の設定に関する資料

1) DNA チップの品質管理の方法

DNA チップが対象病原体ゲノムを検出する感度、正確性、再現性を保証する標準試験を設定し、その妥当性を示す。陽性対照、陰性対照を含む標準試験用試料の性質（組成、純度、濃度等）と作製方法、保存方法を示す。

2) 測定範囲

最小検出感度を示す。定量する場合は直線性を保つ範囲について示す。

3) 測定装置の較正

測定装置のセッティングに必要な較正方法とその妥当性を示す。較正用試料の作製方法、保存方法を示す。一定のシグナルを安定して発生する DNA チップを装置の較正に用い、動作バリデーションを定期的に行うことができる。較正用チップが利用できない場合には、チップのバリデーションと合わせ、陽性対照物質を用いた測定による評価等によって動作確認をとる方法を示すこと。

4) 基本要件への適合性

体外診断用医薬品の製造管理及び品質管理規則に適合して製造されたものであることを示す。

ハ. 安定性に関する資料

通常の体外診断薬の安定性試験項目を適用し、測定に用いる試薬類の保存条件、有効期間を設定しその妥当性を示す。DNA チップの保存安定性、有効期間を設定しその根拠と妥当性を示す。

ニ. 性能に関する資料

1) 性能

感度と測定範囲

ゲノムコピー数のわかっている検体を用いて、定量的な検討を行い、検出限界を設定する。代表的な遺伝子型についての検討で、全体の測定範囲を設定することができる。培養等により得られた病原体ゲノムや遺伝子工学技術によって作成した標準物質を用いて定量する場合は、検体試料に近い条件下での測定を行う。

特異性

類似の病原体が複数存在した場合に特異的な検出、定量ができることを示す。病原体ゲノムには頻繁に変異が起こることが知られているので、変異体ゲノムの検出に関する検討をおこない、検出感度への影響と判定の正確性を示す（データ添付）。シグナルカットオフ値の設定やアルゴリズムの設定において、変異体ゲノムの扱いも考慮されなければならない。シーケンスによって確認する場合も想定し、適切なプライマー、反応条件等の情報を与えることが望ましい。

非特異的反応やバックグラウンドシグナルの安定性、均一性を検討し、擬陽性と判定する可能性を否定する（データ添付）。

細菌ゲノムの遺伝子型判定では、常在菌などが大量に混在する場合は検出が妨害される可能性がある。

再現性

標準試料を用いた繰り返し測定によるシグナルおよび遺伝子型判定結果の再現性に関する検討を行う。

2) 操作方法

コンタミネーション対策

PCR 等による核酸の増幅過程が含まれる場合、微量の外来 DNA の混入が判定結果の正誤に与える影響は大きい。コンタミネーションによる誤判定のリスク要因について分析し、それを排除する適当な方策を講じることが必要である。試料調製を手作業で行う場合は、増幅工程と作業場所を分離する。増幅工程においては、増幅産物の飛散を防ぐよう密閉環境で反応を行うとともに、作業環境のクリーンアップを励行する。

試料調製と増幅工程を全自動で行う場合は、増幅産物を含めた試料が解析装置内で飛散

しないよう完全な密閉状態で全工程を行い、必要に応じて使い捨ての部品を用いる。

3) 検体及び陽性・陰性対照

核酸抽出の方法と品質評価

検体 DNA 試料の質が病原体遺伝子型判定結果の信頼性に大きな影響を与える。高品質な DNA 試料を得るために、対象となる病原体と採取する生体試料の種類に応じて、患者由来試料の採取、保管、運搬、等の適切な取扱を示す。特に RNA 試料の場合は、分解を防ぐ方策を講じることが望ましい。

検体から DNA を抽出する方法と DNA の品質評価基準値 (DNA 量、純度、分解度等) を示す。DNA 量は 260nm の吸光度によって、純度は 260nm と 280nm での吸光度比をもとに、また分解度は、ゲル電気泳動におけるサイズマーカーとの比較が標準的な品質評価手法となる。病原体以外の DNA の混入量は出発材料によって異なると予想されるので、検体によって適切な品質評価基準を示す。

陽性対照は、病原体を培養できる場合は病原体から抽出した DNA を、培養できない場合は遺伝子工学で作製した組換え DNA を用いる。陰性対照として、ヒトゲノム DNA 標準品などを使う。

ホ. リスク分析に関する資料

操作過程において、人為的および機械的ミスが発生する要因に関して分析し、必要に応じて添付文書にて注意喚起を行うなどの対策を講じる。間違った判定結果が得られた場合におこりうる、診断、治療上のリスクについて考察する。判定結果を別の手法を用いて個別に確認するための方法についても、それを示すことにより重大なリスクを回避できるようであれば、積極的に提示する。

ヘ. 製造方法に関する資料

DNA チップの製造法およびそれに使用する機器、材料等に関して説明した資料を添付する。また、製造工程における品質管理の方法についても、必要に応じて説明する。特に、オリゴマーなどの合成 DNA プローブを用いる場合は、チップ上への固定方法およびその安定性に関して説明するとともに、デザインした配列情報と実際に合成されたオリゴマーの塩基配列の同一性に関して検証した結果を示すこと。

ト. 臨床試験の試験成績に関する資料

製造販売承認に際しては、一定量の患者由来試料を用いた臨床性能試験成績の提出が望ましい。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が、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製した標準品を健常人由来試料に混入させた疑似試料を用いて代用できる (その旨を添付文書に明記)。遺伝子型判定の正確性

は、既承認体外診断薬が存在すればそれを用いた結果、あるいは、DNA シークエンサーを用いた塩基配列解析データとの一致を持って確認する。

遺伝子型を正確に判断する診断機器としての有効性が確認されれば製造承認が与えられる。病原体遺伝子型の判定が診断や治療の選択に有意義な情報であることを文献情報や過去の事例によって示す。承認後に臨床データが蓄積した後、臨床的有用性を示すデータを提出し、評価を受けて、臨床上の意義（適応）を添付文書に追加できる。

解析機器側の満たすべき条件

DNA チップと専用の解析装置によって病原体遺伝子の型判定がなされるので、体外診断薬としての審査は DNA チップと解析機器を一体として評価する必要がある。DNA チップと組み合わされる解析装置に要求される主な要件は以下の通りである。詳細は解析装置に関するガイダンスを参照されたい。

1) 測定原理及び機器の仕様

解析機器の測定法の原理を説明する資料を添付する。既存の承認済み機器および論文等の参考資料があれば添付する。機器の仕様の詳細を、図、写真等を用いて説明する。

2) 標準チップ等を用いた解析装置の評価

一定のシグナル強度を与える標準チップ若しくは、標準試料を用いてシグナル強度の調整を行うための方法に関して記載する。

機器の性能としての検出限界に関する資料を添付する。

標準チップ等を用いた場合に解析装置から得られる結果の再現性を試験したデータを添付する。

3) ソフトウェアを含む場合には、そのバリデーション

蛍光や電流値などから得られるシグナル強度に基づき、解析機器側に組み込まれたソフトウェア等により最終的な遺伝子型の判断を下す過程において、その解析アルゴリズムに関して説明をするとともに、その妥当性を評価するため、ソフトウェアのバリデーションの方法および結果を示す。

4) 解析機器としての基本要件適合性

解析機器全体、若しくはそれに用いたパーツに関してその基本要件を示した JIS 等の標準規格が存在する場合には、それらへの適合性に関する資料を添付する。

5) データの取り違えを含めた、クロスコンタミネーションへの対策

バーコード等を使ったデータ管理システムにより、試料情報および解析結果の対応に誤

りが起こらないような方策が求められる。装置内での試料のコンタミネーションにより誤った診断結果を招くリスクの分析と対策に関して検討した資料を添付する。特に PCR 法による遺伝子増幅過程を含む場合は重要な資料である。

6) 保守

定期点検項目およびその必要性、消耗が予想されるパーツ等に関してはその使用期限(回数)に関して説明を加える。また、異常が発生した場合の検知システムが装置に組み込まれることが望ましい。

最後に、当初は病原体遺伝子型判定用 DNA チップと解析機器が満たすべき性能と信頼性、安全性を一括して評価することとし、いったん承認を得たのちに、検出対象の病原体を追加する等の変更を加えた DNA チップに対しては既承認チップとの性能の同等性を評価すればよいと考える。

遺伝子発現解析用 DNA チップ等の 製造販売承認申請において考慮すべき事項について

東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センター 中村祐輔

東京大学先端科学技術研究センター 油谷浩幸

九州大学生体防御医学研究所外科 森 正樹

遺伝子発現解析用 DNA チップは、欧米において既に承認を受けた事例もあるが、遺伝子型判定用 DNA チップと比較して、試料の採取や保存、管理の方法、データの標準化、解析結果から診断へのアルゴリズムの妥当性等の観点から未解決の課題が残されている。ここでは具体的な評価指標を作成せず、論点を整理して、発現解析用 DNA チップの性能を評価するにあたり、申請書に記載すべき事項を以下にまとめた。

発現解析用チップおよび試薬は体外診断薬として承認審査が行われるが、遺伝子型判定用 DNA チップと同様に、その性能の評価のためには、組み合わせる測定用機器（こちらは医療機器としての承認申請を受けることになるが）と一緒に評価されるべきものである。また、DNA チップという名称は用いたが、同様の目的で複数の遺伝子発現を同時に解析するためのチップ以外の検出系に関しても、基本的な考え方が適用できる部分においては、本文書を参考にして欲しい。

1. 遺伝子発現解析用 DNA チップに関する記載条項

1) 一般的な体外診断試薬として満たすべき条件（厚労省指針）

従来の体外診断薬に対する評価指針として示されている体外診断用医薬品の製造販売承認申請について（平成17年2月16日：薬食発第0216004号）、体外診断用医薬品の製造販売に際し留意すべき事項について（平成17年2月16日：薬食機発第0216005号）、体外診断薬の添付文書の記載要領について（平成17年3月10日：薬食発第0310006号）等に記載された添付資料や基準等に準ずる部分については、これらに従い申請がなされ、評価される。

2) 遺伝子発現解析用 DNA チップ独自の条件（未だ我が国には明確な指針は存在しない）

遺伝子発現解析用 DNA チップとして、従来の基準では評価が難しい項目、および新規に評価が必要な項目について以下に示す。先行する米国には2つのプロジェクトが進行しており、発現解析データの標準化という観点からは、今後日本における製品化プロセスのなかでも、この2つの先行プロジェクトを踏襲することが必要であろう。

(a) MicroArray Quality Control (MAQC) Project

(b) External RNA Control Consortium (ERCC)

これらの成果を参考にしながら、遺伝子発現解析用 DNA チップに関する現状の問題点とその解決法を以下にまとめた。

(1) 遺伝子発現解析用には各社・各種のプラットフォームが存在するが、相互検証がなされていないため信頼性が十分とはいえない。このような現状を踏まえ、DNA チップが信頼性のある診療データを与えるために注意すべき事項を以下にまとめた。

1) 発現アレイ実験そのものについての信頼性 (MAQC project) (ERCC)

ア) 再現性の問題 (費用の問題、サンプル量限界の問題)

データの再現性は体外診断薬の基本性能として担保されるべきものであるが、発現解析実験では、コストが掛かるために同時再現性が十分検討されていない。診断用チップの同時再現性は、同一検体を使った繰り返し実験において検証しなければならない。臨床の場合においては、腫瘍組織での発現解析のように、マイクロダイセクション等で得る微量組織からの解析を行わなければならない場合が想定され、微量検体からでも再現性のあるデータが得られるよう性能を保証することが必要である。標準となる検体 (将来標準化プロジェクト等により共通した検体が提供される可能性を含め) を用いて、得られた発現データの妥当性および他のプラットフォームとの互換性についても検討しておく。

イ) 異なる解析施設間におけるデータの差の較正についてのルール

同一製品を用いて解析すれば、異なる解析施設および測定者でも同じ診断結果が得られなければならない。異なる解析施設間でのデータの補正のための手法、および基準値の設定とその妥当性に関してデータを提供する。

ウ) 対照実験の選択 (TaqMAN RT-PCR 他、アレイ以外での発現量測定)

得られた発現値の妥当性を検証するために、対照として TaqMan® RT-PCR 法など、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 チップ等とのデータの比較を行う。診断上の有用性が十分示されていれば、必ずしも個々の遺伝子の発現レベルが目的とした遺伝子の発現レベルを反映している必要性はないが、目的遺伝子の発現レベルが判定の上で重要な意味を持つ場合などは、両者が一致することが要求される。

2) 使用される検体 RNA の問題

ア) 標準検体による基本データ (ERCC)

確認された遺伝子発現データが存在する標準検体を用いて、反応条件等の検討、チップおよび実験系の保証を取る。ERCC 等から標準検体が利用可能となった場合には、それらを標準検体として用いる。

イ) 検体 RNA の質の問題 (ERCC)

遺伝子型判定に使う DNA 検体と比較して、RNA 検体は非常に分解を受けやすく、その品質が測定結果に大きな影響を与える。測定工程において RNA 検体の分解を防ぐための留意点を示すとともに、使用する RNA の質の評価法について明記し、測定結果を保証できる RNA の品質に一定の基準を設ける。

3) 施設間の実験誤差の問題 (MAQC project)

ア) 手技の習熟度による差の評価

手技の未熟さに由来する誤診断のリスクについて分析し、実技講習など一定レベルの手技が保たれるための策を提供する。また、試験系として手技の妥当性をチェックできる項目を設定し、測定データの信頼性を担保できるようにすることが重要である。

イ) プラットフォームを同じくしても出現するデータの差の較正

PCR 等の増幅効率、蛍光色素の取り込み効率、スキャナーのレーザー強度、検出器の感度など、測定結果に影響を与える多くの因子により、同一プラットフォームを用いた場合でも、施設間差、測定者間差、日間変動などが起きやすい。これらを補正するための手法を備える必要がある。スパイク RNA や色素取り込み効率の測定、一定シグナルを与えるプローブの利用など、実験の各工程が正しく行われたことを確認し、問題が生じた場合の原因を特定できる方法を提供する。

4) 基本原理の差により各種製品が混在する問題 (MAQC project)

ア) 単色標識

1 アレイあたり 1 検体を用いる手法であり、絶対値の評価が可能となる。ただし、チップ間のデータ補正が必須となり、それを可能とするためのスパイク RNA やコントロールスポットおよびデータ標準化のための手法を提供することが要求される。

イ) 二色標識

2 検体を同一チップ上で、競合的ハイブリダイゼーションにより比較する手法であり、相対的評価となる。1対1比較の場合にはより望ましい手法であるが、体外診断薬として用いる場合には常に基準となる検体を提供し、それとの比較をもって評価を行う必要がある。

ウ) プローブ DNA

プローブとして用いるオリゴマーDNA の性状が、遺伝子発現データの信頼性に大きく影響を与えるため、塩基数、配列などプローブ設計の妥当性について説明を加える必要がある。目的遺伝子に対する特異性は、クロスハイブリダイゼーションの防止の観点からも十分に考慮されていなければならない。必要に応じて、一つの遺伝子に対して複数のプローブを搭載することが望ましく、ミスハイブリダイゼーションによる影響の評価もできるようにする。

エ) 検出方式

検出法としては、通常の基板（ファイバーやビーズ等を含む）上のハイブリダイゼーションシグナルをスキャナー等で光学的または電気化学的に検出する方法等、様々な技術が存在するが、遺伝子発現解析用 DNA チップ等は使用する測定機器との組み合わせにおいて十分な性能が発揮できるようデザインされるべきである。シグナルの S/N 比の向上（バックグラウンドの軽減）が、測定データの質の向上につながるため、いずれの方法を用い

る場合にも、これを向上するための工夫を加える必要がある。

オ) 担体 (ガラス・金属等)

検出に蛍光強度を用いる場合には、バックグラウンドとしての蛍光ノイズをできる限り軽減することが望まれる。ガラスや金属等のチップの素材、担体表面の形状等もシグナルの S/N 比を向上させる上で重要な因子となる。

5) 解析装置・解析ソフトウェアの問題 (MAQC project)

解析装置は、用いる DNA チップ等の体外診断機器の性能を担保するうえで重要な要素であり、一体として評価されるべきものである。診断薬としての性能は、チップと測定機器の両方の性能を反映して評価されるものであるが、解析装置自身の性能確認のため、標準チップなどを用いたチェック法を提供し、その動作確認を可能とすべきである。また、測定機器の維持と解析装置内での検体のコンタミネーション防止には注意を要する。

装置の規格とともに、測定原理に関して説明する資料を添付する。解析ソフトウェアについては、そのアルゴリズムについて説明するとともに、動作の実証結果を添付する。

6) データの提出方法の問題 (MAQC project)

最終的な診断結果のアウトプットだけでなく、測定した各遺伝子の発現強度の値をシグナルの生データを含めて保存、提出すべきである。診断結果に疑問が生じた場合には、各データ処理の段階毎での動作確認が可能となることが望ましい。

7) 他施設データの検証の問題 (MAQC project)

標準検体の解析データの基準値を提供し、当該施設におけるデータの妥当性の確認を行えるようにするとともに、施設間でのデータの整合性をはかることができるようにする。

8) 診断アルゴリズムの妥当性と臨床性能試験

既知のデータから、DNA チップにて測定される遺伝子の発現量が直接診断に結びつく場合には、遺伝子発現量測定の正確性が担保されれば、臨床検体を用いた基準値の設定により正しい診断結果を導くことができる。しかし、一般には DNA チップを使った発現解析においては、複数遺伝子の発現パターンより一定のアルゴリズムを用いて診断結果を導くことになる。この場合には、発現量測定の正確性に加えて、診断アルゴリズムの妥当性を、臨床検体を用いた試験結果に基づき証明しなければいけない。この際の臨床検体は、診断アルゴリズムの作成のために用いられた検体とは独立した検体セットを用いる必要がある。アルゴリズム作成に必要な検体数に関しては規定する必要はないが、アルゴリズムの検証のための臨床性能試験は、一般に既存の体外診断薬に関する基準に基づき、複数機関における 150 検体以上の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にはこの限りではない。

1. 遺伝子発現解析用 DNA チップ承認申請書に記載すべき事項

1) 使用目的（有用性、適応となる疾患、使用する状況、期待する結果）、形状、構造及び原理

ガラスアレイ、その他担体に関する情報

オリゴ DNA 担体、その他プローブに関する情報

搭載遺伝子の nomenclature、遺伝子名情報、選択的スプライシングによる変異転写産物との関連

2) 反応系に関与する成分

一色法、二色法、その他の方法

遺伝子増幅の有無

ラベル化法

標準検体、陽性、および陰性コントロール、標準化のための検体（スパイク RNA）

3) 測定方法と測定機器

仕様

品質管理の方法（感度試験、正確性試験、再現性試験）

測定範囲

基準 RNA を用いた検証試験

米国 MAQC project (FDA) に準ずる比較性能検定試験*)

4) 操作方法・使用方法

5) 製造方法

6) 貯蔵方法・有効期間

*) Nature Biotech 24:1151-1161, 2006

2. 遺伝子発現解析用 DNA チップ承認申請書に添付すべき資料

原理、開発の経緯、及び外国での使用状況、新規性、特徴に関する資料

仕様の設定に関する資料

品質管理の方法

測定範囲

校正用の基準物質の設定

安定性に関する資料

保存条件および有効期限の設定に関する資料

性能に関する資料

米国 MAQC project (FDA) に準ずる比較性能検定試験*)

操作方法に関する資料

検体に関する資料

米国 MAQC project (FDA) に準ずる比較性能検定試験*)

推奨参考 RNA による基準値測定データ
同一資料を用いた RT-PCR (Taq-man 法等)によるデータ検証
既存体外診断用医薬品との相関性に関する資料
リスク分析に関する資料
ハザード
構成試薬に含まれる成分
製造方法に関する資料
臨床試験の試験成績に関する資料
その他

*) Nature Biotech 24:1151-1161, 2006

3. 倫理的、社会的問題

使用にあたっては、厚生労働省指針に基づく施設内委員会の承認を得ることを推奨する。

測定機器は医療機器（クラス I）として扱う

1. 承認申請書に記載すべき事項

名称
使用目的（有用性、適応となる疾患、使用する状況、期待する結果）
形状、構造及び原理
構成部品、規格
仕様
品質、安全性、有効性（性能、機能）に関する規格
操作方法・使用方法
製造方法
貯蔵方法・有効期間

2. 添付すべき資料

原理、開発の経緯、及び外国での使用状況、新規性、特徴に関する資料
仕様の設定に関する資料
品質、安全性、有効性に関する設計仕様とその設定理由
測定範囲
校正用の基準物質の設定
安定性、耐久性に関する資料
医療機器 GMP 省令への適合性に関する資料
性能に関する資料
臨床試験の試験成績に関する資料

リスク分析に関する資料
ハザード
構成試薬に含まれる成分
製造方法に関する資料
その他

以上、発現解析用 DNA チップが、体外診断薬として承認を受けるために、その基本的な性能として備えるべき要件等を示した。臨床検体取り扱いを含め、遺伝子発現を正確に測定できる機能と、得られた発現データから診断結果を正しく導く機能、が兼ね備わって最終的な診断薬としての性能が発揮されるが、すべての遺伝子の発現レベルの正確性、診断アルゴリズムの妥当性など細かい性能に関わる評価は困難な側面も多い。具体的製品の評価のためには、正しく計画し、実施された臨床性能試験の成績をもってこれを担保せざるを得ない。評価に耐える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有効性が認められれば、積極的に承認を与えられるべきものである。

DNA チップ等と組み合わせられる測定装置の 製造販売承認申請において考慮すべき事項について

東北大学大学院理学研究科 寺前紀夫
独立行政法人 物質・材料研究機構 堀池靖浩

1. 名称

(1) 一般的名称

1) 別途通知する体外診断用医療機器の一般的名称及び分類コード番号について、本欄に記載すること。

2) 同一品目において、複数の測定項目等を同時に測定できるものの申請にあつては、該当するすべての一般的名称と分類コード番号を列記すること。

(2) 販売名

体外診断用医療機器の販売名は、原則、当該製造販売業者が自由に命名して差し支えないが、使用者の誤解、混乱のないように配慮するとともに、品位に欠け、誇大に過ぎる等の名称は避けることが基本である。いくつかの留意点をあげれば次のとおりである。

1) 一般的に用いられている名称をもって販売名とすることは適当でない。一般的に用いられている名称を用いる場合は、その名称の前又は後に社名又は略称等を付し、他社の同類の製品と区別できるようにすること。

2) 英文字のみ（又は英文字、数字、記号のみの組み合わせ）のもの、又はほとんど英文字のものは適当でない。

3) 販売名は、一物一名称が原則であるが、妥当な理由により一物多名称のものを申請する場合は、その説明資料を承認申請書に添付し申請すること。なお、この場合、販売名ごとに申請すること。

2. 使用目的

申請品目の測定対象（検体種）、測定項目、及び検出・測定の別を記載すること。例えば「〇〇を検体とした遺伝子型の検出（△△～の診断の補助）」又は「〇〇を検体とした遺伝子発現の測定」のように期待する測定結果やその効果が明確に分かるように記載すること。

3. 形状、構造及び原理

申請品目がどのようなものであるかがわかるように簡潔に記載すること。

(1) 原理

1) 測定原理を記載すること。ただし、学会等で公知とされる測定原理はその測定原理名や文献を記載することで差し支えない。

2) 開発の経緯と国内外の市販同等品の利用状況について記載すること。

(2) 機器の構成要素

1) 機器が装置や試薬など複数の構成要素を持つ場合、各要素の名称を記載すること。

2) 各構成要素の内容及び用途・役割を記載すること。

3) 検出・測定に用いる各構成要素についてそれぞれ複数ある場合には、各要素に1, 2, 3とかA, B, Cとか数字や識別記号をつけ、その要素が複数あることがわかるように記載すること。

4) ある構成要素を別のもの置き換えることにより検出対象や測定対象、診断効果が変わる場合には、構成要素の名称、内容及び用途・役割を記載すること。

(3) 形状

形状、構造が性能に影響する品目にあつては、形状、構造を図示すること。図には検体添加部、判定部等を明示すること。なお、サイズが性能に影響を及ぼさない場合に限り、サイズの記載は不要とする。

4. 反応系に關与する成分

構成試薬名称並びにその構成試薬に含まれる反応系に關与する成分及びその分量を記載すること。分量の記載は、例えば、測定単位当たり（測定1回当たり又は10回当たり）の量の記載でも差し支えない。

1) 核酸増幅法を使用する測定法にあつては、その使用するプローブ（反応特異性を担保するプローブに限る。）の塩基配列について記載すること。

2) 成分名が非常に長いとき、表示等において、それが医学・薬学等の論文あるいは学会発表等で広く慣用されているなど、使用者に誤解のない慣用名、略号については簡略記載が認められるが、この場合には、正式名とその慣用名、又は略号を併記すること。

5. 品目仕様

最終製品の品質管理の方法及び例示として、測定範囲又は検出感度を記載すること。

1) 品質管理の方法

当該最終製品として、体外診断用医療機器の特性に鑑み、機器の性能を設定する。例えば以下の例示項目を設定すること。なお、品質管理項目の設定にあつては、以下に示す例示項目に限るものではなく、必要に応じて例示項目以外の試験方法を設定すること。この場合、その項目の設定理由、試験方法の選択理由等の設定根拠を記載すること。

①感度試験

使用目的に対応した、検出・同定する能力又は計測する能力を規定する。

②正確性試験

検出・同定結果又は測定値等の正確さを規定する。

③同時再現性試験

同一検体を同時に複数回計測する際の結果の再現性（ばらつき度合い）を規定する。

2) 測定範囲（検出感度）

性能試験に用いる管理用物質（管理用物質の由来等も含む。）について記載すること。

3) 検出または測定の結果について、キャピラリーシーケンス法など既存の方法との比較を記載すること。

6. 操作方法又は使用方法

機器の操作方法並びに試薬及び試液の調製方法とに分けて使用方法の概略がわかるよう簡潔な記載をすること。なお、検体の採取方法又は保存方法が測定結果に影響を及ぼし、特に注意が必要な場合には検体の採取方法又は保存方法を記載する。

1) 試薬・試液の調製方法についての記載をすること。なお、試薬・試液をそのまま用いる場合には「そのまま用いる。」と記載すること。試薬の調製においては、具体的数値でなく、「所定量を加えて調製する。」と記載することができる。

3) 検体量及び試薬量については、具体的な量を記載するが、「○○ μ L～○○ μ L」等の幅で記載するか、又は「検体1容量に第一試薬3～5容量及び第二試薬2～4容量」等の液量比（幅）で記載することも可能である。

4) 定性試験と定量試験（又は半定量試験）があり、それぞれ操作方法又は使用方法が異なる場合は区別して記載する。

5) 定性項目にあつては、判定法（カットオフ値等）を記載する。

6) 機器の正常動作を保証する温度範囲を記載すること。

7. 貯蔵方法及び有効期間

検出・測定用のチップ並びに試薬について、安定性試験成績に基づいた最も適切な貯蔵方法を設定すること。また、長期間における性能の低下を防ぎ得ない場合には、使用目的を達成するために、使用に耐え得る性能を確保できる有効期間を付すことによって保証すること。本質的には体外診断用医機器の経時的変化をふまえて、性能の確保のため必要な試験を行い、十分検討して妥当な貯蔵方法及び有効期間を設定すること。

8. 安全性

検出・測定に用いる機器や試薬について、設置・調製・廃棄の際の安全性について記載すること。