

平成24年度戦略的技術開発委託費
医療機器等の開発・実用化促進のためのガイドライン策定事業
(医療機器に関する技術ガイドライン作成のための支援事業)

テーラーメイド医療用診断機器分野（DNAチップ）
開発WG報告書

平成25年3月

独立行政法人 産業技術総合研究所

平成 24 年度テーラーメイド医療用診断機器（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、※座長）

氏名	所属
秋山 英雄	東レ株式会社 新事業開発部門 主席
油谷 浩幸	東京大学 先端科学技術研究センター 教授
岡村 浩	東洋鋼鉄株式会社 技術企画部 技術企画グループ グループリーダー
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	(社)臨床検査基準測定機構 会長
住谷 知明	プレジジョン・システム・サイエンス株式会社 事業開発担当部長
橋本 幸二	株式会社東芝 部品材料事業統括部 DNAチップ事業推進統括部 DNAチップ技術・開発担当 グループ長
森 康晃	早稲田大学大学院 創造理工学研究科 経営デザイン専攻 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
シグナル分子研究グループ 主任研究員

片岡 正俊 (独) 産業技術総合研究所 健康工学研究部門
バイオマーカー解析研究グループ 研究グループ長

テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）開発WG委員会 開催日

第1回開発WG委員会

開催日時 平成24年11月12日（月）

第2回開発WG委員会

開催日時 平成25年1月30日（水）

第3回開発WG委員会

開催日時 平成25年2月21日（木）

目次

1. 「テーラーメイド医療用診断機器分野」の概要	1
2. 「テーラーメイド医療用診断機器分野」におけるガイドライン策定の意義	2
2.1 診断用 DNA チップとは	
2.2 背景と経緯	
2.3 本ガイドライン事業について	
2.4 遺伝子診断に関わるガイドラインの現状について	
3. 検討過程	8
3.1 検討過程	
3.1.1 第 1 回開発 WG 委員会	
3.1.2 第 2 回開発 WG 委員会	
3.1.3 第 3 回開発 WG 委員会	
3.2 話題提供	16
3.2.1 話題提供 (1)	
3.2.2 話題提供 (2)	
3.2.3 話題提供 (3)	
3.3 委託調査	20
3.4 欧米における DNA チップ関係の規制及び報告書	24
3.4.1 欧州 SPIDIA 中間報告書 1 (翻訳文)	
3.4.2 欧州 SPIDIA 中間報告書 2 (翻訳文)	
3.4.3 ISO/TS/P 231 関連資料 (翻訳文)	
3.5 DNA チップに関する実証試験	53
3.5.1 実験目的	
3.5.2 実験方法	
3.5.3 実験結果及び考察	
3.5.4 参考文献	
4. 検討結果	57
4.1 標準化資料「DNA チップを用いた医療用診断装置の評価法に関する指針」	
5. 平成 24 年度の総括と今後の展望	58
5.1 平成 24 年度の総括	
5.2 今後の展望	

1. 本年度ガイドライン事業の説明資料

2. 本年度 DNA チップ開発ガイドライン事業の説明資料

3. 委託調査報告

「遺伝子発現解析用 DNA チップ開発状況 及び標準化動向調査-調査報告-」

（第 3 回開発ワーキンググループ委員会：平成 25 年 2 月 21 日）

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

1. 「テーラーメイド医療用診断機器分野」の概要

テーラーメイド医療用診断機器とはテーラーメイド医療（個別化医療）を進めるために必要とされる遺伝子情報に基づく診断を支援するための医療機器であり、2003年のヒトゲノム計画の終了とともに活発になってきた、いわゆる「ポストゲノム」を代表する技術を用いた医療機器である。このようにテーラーメイド医療用診断機器分野は近年急速に発展してきた技術分野であるため技術的なノウハウがまだ十分に行き渡っている段階ではなく、一方で技術的な不確実性や不安定さによる精度や信頼性への不安を十分に払拭する必要があり、特に医療機器の場合は高い精度や信頼性が求められることから医療機器の開発における技術的なポイントに関する情報の必要性が高い。このため、米国ではFDAのガイドラインによる情報提供や企業による標準化が進んでいる。また、一方で薬事審査をする機関においてはそのような技術的なポイントを審査に利用する場合もある。このように、同じ情報が企業の開発や国の政策の両方に関係することから、技術的なポイントに関する情報をガイドラインとしてまとめて公表する事業（医療機器等の開発・実用化促進のためのガイドライン策定事業）を経済産業省と厚生労働省が連携して進めている。このガイドライン策定事業では、それぞれの省から委託を受けた研究所（経済産業省は産業技術総合研究所、厚生労働省は国立医薬品食品衛生研究所）が、それぞれ開発ガイドライン案、評価指標案という形で提言を出し、経済産業省から開発ガイドライン、厚生労働省から通知という形で公表される。

本「テーラーメイド医療用診断機器分野」は、医療機器等の開発・実用化促進のためのガイドライン策定事業の一つとして、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。本分野は、第4回次世代医療機器開発ガイドライン検討委員会（経済産業省）と次世代医療機器評価指標検討会（厚生労働省）の合同による検討会（合同検討会）の議論に基づき、平成18年度より事業を開始した。これまでに平成18～19年度及び平成21～24年度に事業を行い、診断用DNAチップに関するガイドライン「DNAチップ開発ガイドライン」を平成19年5月、平成24年8月、および、平成25年3月に公表した。さらに、平成19年度は、開発ガイドライン普及活動として、日本工業規格（JIS）に基づいて標準仕様書（TS）原案を作成した。

平成24年度は、平成24年に公表した開発ガイドライン2012を改訂した開発ガイドライン[改訂版]2012をもとにした標準仕様書原案を作成した。

本報告書に記載したガイドラインや標準化資料が、工業会・企業においては診断用DNAチップの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することを期待したい。また、欧米ではDNAチップやその前処理など遺伝子診断を支援する医療機器の標準化が進んでおり、また、国際標準化機構（ISO）においてバイオテクノロジーに関する新しい技術委員会（TC）の設立が進んでいる。このような状況から、今後は、JISやISOなどの規格など標準化を進めるための基準値の取得や信頼性の評価などを進めることが必要になると考えられる。

2. 「テーラーメイド医療用診断機器分野」におけるガイドライン策定の意義

2.1 診断用 DNA チップとは

DNA チップは、塩基配列の異なる短い DNA を数センチ角の基板の上に何千何万種と格子状に整列させた一種のセンサーで、基板上の DNA と特異的に結合するゲノム由来 DNA やメッセンジャー RNA 由来の cDNA を高感度で検出することができる。DNA チップは 1990 年代に米国で開発され、ヒトゲノム計画（1990～2003 年）の進行とともにその価値が急速に高まった。その技術開発と製品化及び販売のために Affymetrix 社をはじめとしてベンチャー企業が多数作られ、その後、GEヘルスケア社などの大手企業も参入して技術開発がすすめられた。ヒトゲノム計画終了後はポストゲノム時代として、ゲノム情報を利用するための研究開発がすすめられ、中でも、多くの遺伝子情報を一度に取得できる DNA チップ技術は大きな期待がかけられ、多くの企業がプラットフォーム（DNA チップ基板）及びその作成技術、DNA/RNA 調製法、検出器などの周辺機器などのからアプリケーション開発に至るまで幅広い研究開発がすすめられた。現在では、プラットフォームとしてビーズや繊維など様々なタイプが開発され、DNA スポットの集積度やシグナルの検出法・感度などの技術開発が進んでいる。

DNA チップの臨床用途（診断用 DNA チップ）は早い段階から各企業が開発を進め、Roche Diagnostics 社（米国）は、2003 年 6 月から、薬物代謝をコントロールする 2 つの遺伝子に関する遺伝型を決定する DNA チップ（臨床検査会社用）を遺伝学的検査に使用する試薬（analyte-specific reagent、ASR）として製造販売を始めた。ASR は、自家試験の一部として認められるものであり、低リスクのクラス 1 の医療機器（medical device）として分類される。ASR の製造は cGMP（current Good Manufacturing Practice：健康食品などに適用される）が適用されるが、臨床試験は免除されている。これに対して、米国 FDA（食品医薬品局）は、診断結果が患者にとって重要なことから ASR ではないという通達を出した。このように FDA は診断用 DNA チップに関するガイドラインや通達を出し、臨床試験の必要なクラス 2 の医療機器として規制を強めている。

世界のバイオチップ（DNA/RNA バイオチップ）市場は 2006 年には約 25 億ドルで、2010 年には 40 億ドルになると予想されていた（「2007 年版ワールドワイド・バイオチップ&装置市場の動向と展望」：Fuji-Keizai USA による）が、リーマン・ショックなどの世界的な不況により、実際は約 15 億ドル程度（80 円換算で 1217 億円、2011 年：BBC リサーチ報告書）であった。一方で、日本の市場は DNA チップ・装置は 47 億 5 千万円（2011 年、富士経済）であり、診断用 DNA チップに限定すればまだほとんど市場は無い。

2.2 背景と経緯

本事業「医療機器等の開発・実用化促進のためのガイドライン策定事業」は、経済産業省の委託により独立行政法人産業技術総合研究所が実施したものである（参考資料 1 参照）。本事業は平成 17 年度に開始し、これまでに手術ロボット、人工心臓、人工関節、再生医療、DNA チップなどの分野において開発ガイドラインを策定してきた。医療機器の開発から臨床導入までの時系列で、企業に対しては円滑な開発を進めるような情報を発信し、審査機関に対しては迅速な審査を進めるような情報を発信するため、経済産業省と厚生労働省が連携して本事業を進めている。

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。

それぞれの省から委託を受けた研究所（経済産業省は産業技術総合研究所、厚生労働省は国立医薬品食品衛生研究所）は、それぞれ開発ガイドライン案、評価指標案という形で提言を出し、経済産業省から開発ガイドライン、厚生労働省から通知という形で公表される。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）の合同による検討会（合同検討会）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。診断用 DNA チップに関するガイドライン「DNA チップ開発ガイドライン 2007」は最初に公表されたガイドラインのひとつで、平成 19 年 5 月に公表された。厚生労働省からは、平成 20 年に診断用 DNA チップに関する評価指標として医療機器審査管理室長通知が通達された。さらにその後、技術的進歩と対象とする疾患や診断を広げるために新しく診断用 DNA チップに関わるガイドラインの必要性が高まり、平成 21～22 年度の活動の成果として平成 22 年度に策定した DNA チップ開発ガイドラインが平成 24 年 8 月に公表され、また、その改訂版が平成 25 年 3 月に公表されて、現在至っている。

2.3 本ガイドライン事業について

本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 18～19 年度、平成 21～23 年度に事業を行い、合計 3 つのガイドラインの公表に至った。平成 24 年度は、上記のガイドラインの普及活動として、JIS 化と国際標準化を目標にした標準化資料の作成を行った。

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)

AmpliChip CYP450(ロシュ・ダイアグノスティクス)



- ・薬物代謝酵素シトクロムP450の遺伝子型を調べるDNAチップ
- ・体外診断薬としての申請(2007年2月5日)
- ・シトクロムP450の2D6の32種類の多型と2C19の2種類の多型を判別
- ・製造販売承認を取得(2009年5月12日)

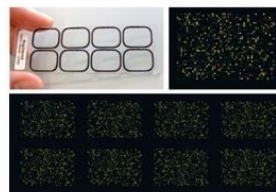
特徴

技術・製品例

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
- ・IVDMIA(体外診断多変指標測定)として有効
- ・がんの遺伝子発現解析に特に有効

MammaPrint(オランダ、Agendia社)



- ・70 遺伝子の発現解析により乳がんの転移・再発リスクを判定。
- ・DNAチップによる遺伝子発現解析データを利用。
- ・FDA承認(2007年2月)。
- ・価格:¥380,000(税別:健康保険適用外)。

クリニチップHPV(東芝など)



DNAチップカセット



医療用DNA検査装置

- ・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

Tissue of Origin Test(米、Pathwork社)



- ・15の悪性腫瘍の結果と比較して、癌の原発組織を決定。
- ・DNAチップによる遺伝子発現解析データを利用。
- ・FDA承認(2008年7月31日)。

本ガイドラインで対象とする遺伝子診断用DNAチップは、「遺伝子多型検定用DNAチップ」と「遺伝子発現解析用DNAチップ」に大きく分けることができる(図「遺伝子診断用DNAチップ」参照)。前者は、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ために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)社が製品化した、薬剤代謝能判定用DNAチップ(商品名:AmpliChip CYP450)があり、これは診断用DNAチップとして初めて米国FDAの承認を得た。一方、後者は、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タイプのDNAチップのことであり、Agendia社の乳がん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(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。

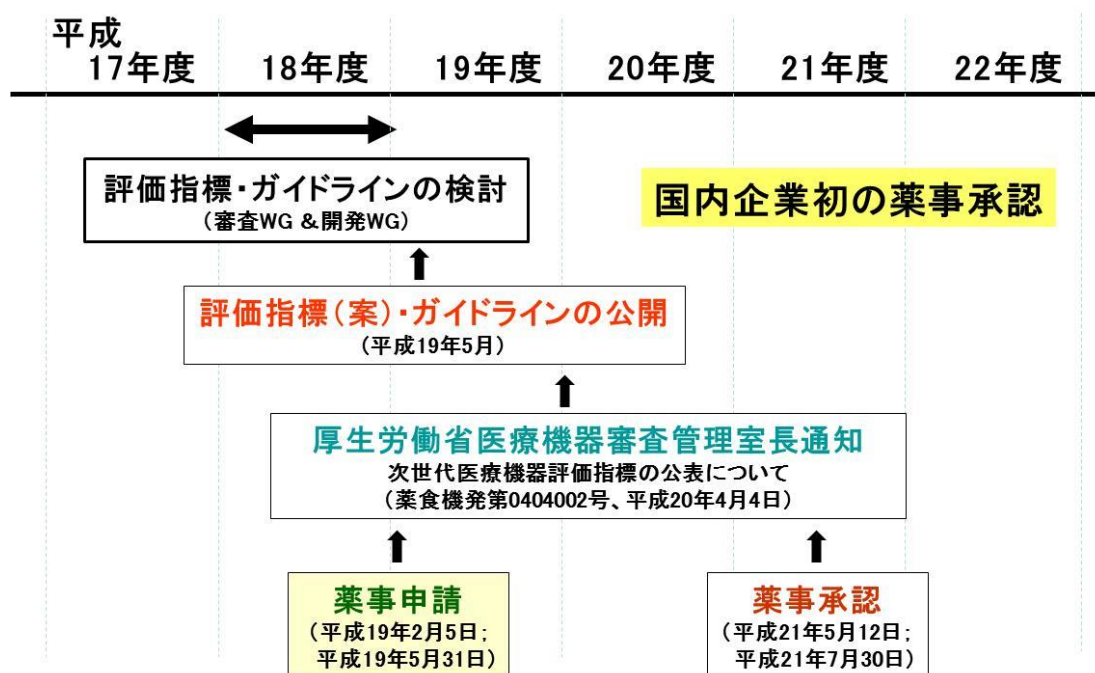
このような背景のもと、我が国においても薬事申請の動きがみられたことから、平成18年度に本事業を開始し、各学会、企業、大学・公的研究機関を代表して合計7名の委員による検討により開発ガイドライン案を策定し、合同検討会と経済産業省の承認を経て、平成19年5月に「DNAチップ開発ガイドライン2007-遺伝子型(ジェノタイプ)検定用DNAチップに関して」の公表に至った。

平成19年度は、開発ガイドライン普及活動として、内容に対する企業の理解を深め、また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署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いて標準仕様書（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（図「開発ガイドライン及び評価指標の成果」参照）。

開発ガイドライン及び評価指標の成果(DNAチップ)



さらに、もう一つのタイプの遺伝子発現解析用 DNA チップに関しても薬事申請の動きがあり、また、それ以外の IVDMIA 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。平成 22 年度は、平成 21 年度から継続してガイドライン策定事業を行ない、「遺伝子発現解析用 DNA チップ開発ガイドライン 2012」を策定し、平成 24 年 8 月に公表した。その間、次項で示すような新しい動きがいくつか見られたため、平成 23 年度も事業を継続し、修正が必要な項目に関して議論を行い、「遺伝子発現解析用 DNA チップ開発ガイドライン[改訂版]2012」を策定した。

平成 24 年度は、平成 24 年 8 月に公表に至った「開発ガイドライン 2012」を改訂した「開発ガイドライン[改訂版]2012」を平成 25 年 3 月に公表した（参考資料 4 参照）。また、以下に説明するような国際標準化動向を受けて、そのガイドラインをもとにした標準仕様書原案を作成した。

2.4 遺伝子診断に関わるガイドラインの現状について

遺伝子診断に関わるガイドラインなどの規制や標準化などはここ数年の間に急速に数が増えてきている（図「ガイドラインに関連する活動」参照：詳細は「3.3 委託調査」参照）。すでに前項で説明したが、本 DNA チップガイドライン事業は、平成 18～19 年度、21 年度から平成 24 年度に

かけて事業を行っており、平成 19 年に遺伝子型検定用 DNA チップに関するガイドラインを公表した。また、平成 19 年度には標準仕様書 (TS) の原案を取りまとめた。一方で、本事業の間に実際の薬事申請などが行われた。

ガイドラインに関連する活動

地域	ガイドライン	時期	内容等
欧州	•SPIDIAプロジェクト	2008-	前処理過程の標準化
米国	•MAQC I –IV	2005-	マイクロアレイ測定 of 標準化
	•IVDMIAガイドライン	2007	Draft Guidance for Industry, Clinical Laboratories, and FDA 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 2007
	•PGxデータ提出ガイドライン	2007	
日本	•遺伝子型検定用DNAチップ (経済産業省)	2007.5	テーラーメイド医療用診断機器 (DNAチップ) 開発ガイドラインー遺伝子型 (ジェノタイプ) 検定用DNAチップに関してー
	•遺伝子型判定用DNAチップ (厚生労働省)	2008.4	次世代医療機器評価指標の公表についてー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ー
	•遺伝子発現解析用DNAチップ (経済産業省)	2012.8	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チップ開発ガイドライン2012
	•遺伝子型判定用DNAチップ (厚生労働省)	2012.11	RNAプロファイリングに基づく診断装置の評価指標
	•遺伝子発現解析用DNAチップ (経済産業省)	2013.3	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チップ開発ガイドライン2012 [改訂版]
OECD	•分子遺伝学的検査における質保証に関するOECDガイドライン	2007	OECD GUIDELINES FOR QUALITY ASSURANCE IN MOLECULAR GENETIC TESTING
ISO	マイクロアレイ解析	2010-	NWIP – CD : General definitions and requirements for microarray detection of specific nucleic acid sequences

バイオチップコンソーシアム調査2012

本開発ガイドライン事業で対象とする診断用 DNA チップは、すでに説明したように遺伝子型判定用 DNA チップと遺伝子発現解析用 DNA チップに分けられる。遺伝子型判定用 DNA チップは、日本でも既に薬事承認例が出ているが、一方、遺伝子発現解析用 DNA チップは米国では MammaPrint をはじめ数例の FDA 承認例が出ているが、我が国ではまだ申請されていないことから、本事業において、遺伝子発現解析用 DNA チップの開発と薬事申請に役立つ資料の作成を目標にしている。それらの開発ガイドラインの作成には、FDA のガイダンスなどの資料のほか以下のような国際的な標準化の動向を参考にしている。

【MAQC 動向】 MAQC- I では個々の最初の DNA チップの信頼性を確保することを目標とした。MAQC- II ではさらに先の Classifier (分類予測) について検討を行った。結果は Nature Biotechnology 誌などに報告している。現在は MAQC- III (次世代シーケンサー性能評価) がほぼ終了しており、今後は、MAQC- IV (患者特異的ゲノム情報の精度) が始まる予定である。

【SPIDIA 動向】 SPIDIA はプリアナリシスの標準化を目指すプロジェクトで、2008 年から 2012 年の 4 年間で、1,300 万ユーロを使って 7 つの公的研究機関、8 つの企業・標準化機関がコンソーシアムをつかって標準化を進めている。体外診断薬に利用するプリアナリシスの標準化と改善が目標である。

【ISO 新 TC の設立動向】 ISO 内にバイオテクノロジー分野を横断的に扱う TC (Technical Committee) を起ち上げる動きがあり、実際にドイツ規格委員会 (DIN) が設立提案書を ISO 事務局へ提出するにいたった。2012 年 11 月に投票が行われ、賛成多数により、2013 年春頃設立の見込みである。本新 TC では、遺伝子発現解析に関係する技術・方法や装置が対象になっており、本ガイドライン及び標準化資料が最も関係の深い ISO/TC になることは疑いもない。

本開発ガイドライン事業において、平成 22 年度には遺伝子発現解析用 DNA チップに関するガイドライン案をまとめ(「遺伝子発現解析用 DNA チップ開発ガイドライン 2012」として公表)、平成 23 年度には国際動向を参考にして統計処理部分とプレアナリシス部分を改訂し、「遺伝子発現解析用 DNA チップ開発ガイドライン[改訂版]2012」を策定した。今年度は、「遺伝子発現解析用 DNA チップ開発ガイドライン[改訂版]2012」をもとに、評価法を中心に標準化資料としてまとめ、附属書として、測定装置と標準物質についても記載した。

3. 検討過程

3.1 検討過程

3.1.1 第1回開発WG委員会 概要

(1) 開催日時：平成24年11月12日（月） 15:00～17:00

(2) 開催場所：オフィス東京 4階 L会議室

(3) 出席者

委員：岡村 浩、久保木 芳秀（秋山委員代理）、久原 哲、桑 克彦、橋本 幸二、住谷 知明
経済産業省：村上一徳、吉村 大輔、金澤 祐治、大濱 克行、早川 貴之

国立医薬品食品衛生研究所：宮島 敦子

医薬品医療機器総合機構：川村 智一

バイオチップコンソーシアム：福島 達伸（三菱レイヨン株式会社）

産業技術総合研究所：千葉 靖典

事務局：木山 亮一、本間 一弘（産業技術総合研究所）

(4) 配布資料

資料1：医療機器等の開発・実用化促進のためのガイドライン策定事業（経済産業省）

資料2：標準化に関する説明：「今後のJIS化の対処方針」経済産業省 産業技術環境局
環境生活標準化推進室 吉村大輔氏

資料3：話題提供1資料：「ジーンシリコン及び専用蛍光検出器用いた遺伝子診断～ダイヤモンドライクカーボンのバイオチップへの応用～」東洋鋼鈹株式会社 技術企画部 技術企画グループ 岡村浩委員

資料4：話題提供2資料：「遺伝子発現解析用DNAチップ開発状況及び標準化動向調査今年度調査概要と予備調査について」特定非営利活動法人バイオチップコンソーシアム（三菱レイヨン株式会社 福島達伸氏）

資料5：本年度DNAチップ開発ガイドライン事業の説明

資料6：DNAチップ開発ガイドライン検討資料（ガイドライン資料）

6-1：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 [改訂版] 開発ガイドライン2011年度策定（案）（平成23年度開発ガイドラインWG委員会最終案）

6-2：「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チップ開発ガイドライン2012」経済産業省（平成24年8月）

6-3：「テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）開発ガイドライン2007ー遺伝子型（ジェノタイピング）検定用DNAチップに関してー」経済産業省（平成19年5月）

6-4：「RNAプロファイリングに基づく診断装置の評価指標（案）」厚生労働省医薬食品局審査管理課医療機器審査管理室（平成24年7月3日）

資料7：標準仕様書（TS）（案）「DNAチップを用いた医療用診断装置の評価法に関する指針」（2008年度作成）

資料8：DNAチップ開発ガイドライン検討資料（FDA資料）

- 8-1 : 「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：平成 23 年度配付資料 6-1)
- 8-2 : “Class II Special Controls: Gene Expression Profiling Test System for Breast Cancer Prognosis” (May 9, 2007) (原本：平成 23 年度配付資料 6-2)
- 8-3 : 「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 23 年度配付資料 6-3)
- 8-4 : “In Vitro Diagnostic Multivariate Index Assays” (July 26, 2007) (原本：平成 23 年度配付資料 6-4)

(5) 議事概要

- ・本年度の DNA チップ開発 WG の検討内容について、討議をする。前回のジェノタイピングについては、最終的には標準仕様書素案を出した。今回の発現を用いた診断に関しても、同様に進めたらどうかとの提案。意見を願う。
- ・資料 7 に前回作成した TS の素案をまとめた。規格協会に見ていただいてまとめたもの。

(クラス分類に関する議論)

- ・DNA チップを用いた医療用診断装置で、DNA チップが薬事法のクラス 3 扱いで、装置はクラス 1 扱い。扱いが全然違う。厚生労働省の審査のときにどんな形で利用されるのか。例えばチップだけを見るのか、装置だけを見るのか両方を見るのか。
- ・評価指標には一体として見るというのが書いてあるから、審査のときには一体として考慮する。だから、技術的な面でも一体として考えたほうがいい。
- ・国際的な扱いはクラス 2。
- ・ある一つの品目の中に複数の該当するクラスがある場合には、いちばん高いクラスが審査に適用される。あくまでも GSTF のクラス分類のルールに則った話。

(標準仕様書の運用について)

- ・テーラーメイド医療用チップの標準仕様書は、何らかの形で登録されて運用が始まるのか。
- ・この委員会でもまとめたものはあくまでもガイドライン事業として標準仕様書の素案。実際は委員会を作るが、そのときには厚生労働省の医療関係者が参加しないと詰められない。基準認証ユニットをお願いして、厚生労働省に投げていただいたが、そこは進んでいない。関係者として厚生労働省関係が入っていないので準備会という名前を付けた。企業の声も一応あるので、標準化にまとめたい。国際標準へ進めればいいのかという話もある。

(標準物質について)

- ・標準物質については少なくとも ISO レベルで国際的に合意が得られたものでなければ、標準物質があるという扱いにはしないということか。例えば NIST だけのものとか、産総研だけのものとか、JCCLS で認めればオーケーというような認証検査の世界もある。そういう規格は ISO ではものすごく時間がかかる。
- ・これはあくまでも附属書なので、その拘束力はない。参考として、例えば産総研が標準物質を使った検定をするのが望ましいとか、また、ほかの所の名前を入れてもいい。具体的

な内容は特に書かないけれども、名前を出すだけである程度情報になる。必要であれば詳しく書く。

(検討内容とスケジュールについて)

- ・ほかに意見、対案もないようなので、本年度は遺伝子発現解析用の DNA チップの標準仕様書の案を作るということで、その検討を行う。前回のジェノタイピング用の標準仕様書案（資料 7）を発現解析用にしていく。
- ・検討に 2 か月弱ぐらいをかけて、第 2 回で具体的に検討修正を行って、第 3 回 WG 委員会で最終案をまとめる予定。
- ・分担を決めて修正箇所を検討する。遺伝子型判定用のガイドラインと遺伝子発現解析用のガイドライン案との修正箇所を見て、その修正内容を決める。

(分担について)

- ・評価方法と附属書 A、B（装置の部分と標準物質の部分）の 3 つのパートに分けて担当していただく。
- ・標準物質は久原委員と桑委員。楠岡委員、森委員、秋山委員、油谷委員が評価方法。住谷委員、橋本委員、岡村委員は装置。

(作業内容について)

- ・作業内容は、資料 6-1 と 6-3 を比べて、その修正箇所が今回の標準仕様書の修正箇所と、ほぼ一致することになるはず。それ以外にもし必要な修正箇所があれば加えていただく。作業項目をこちらでまとめてメールで連絡したい。担当も含めてまとめたものを連絡する。

3.1.2 第 2 回開発 WG 委員会 概要

(1) 開催日時：平成 25 年 1 月 30 日（水） 15：00～17:00

(2) 開催場所：オフィス東京 4 階 L 会議室

(3) 出席者

委員：秋山 英雄、油谷 浩幸、久原 哲、桑 克彦、橋本 幸二、住谷 知明、森 康晃
磯貝 健次（岡村委員代理）

経済産業省：村上一徳、金澤 祐治、苗倉 力、早川 貴之

国立医薬品食品衛生研究所：宮島 敦子

バイオチップコンソーシアム：池田 純子

事務局：木山 亮一、本間 一弘、片岡 正俊（産業技術総合研究所）

(4) 配布資料

資料 1：第 1 回開発 WG 委員会議事録（詳細版案）

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開発：サブテーマ テーラーメイドがんワクチン療法適格性予測診断キット開発」九州大学 久原 哲 教授

資料 3：DNA チップ開発ガイドライン検討資料（翻訳資料）

3-1：“SPIDIA Newsletter 05/2012”（2012/11/12）（翻訳版）

3-2：“SPIDIA Newsletter 05/2012”（2012/11/12）（原本）

- 3-3 : “SPIDIA Newsletter 04/2012” (2012/6/25) (翻訳版)
- 3-4 : “SPIDIA Newsletter 04/2012” (2012/6/25) (原本)
- 3-5 : “ISO/TS/P 231-Biotechnology” (2012/7/25) (翻訳版)
- 3-6 : “ISO/TS/P 231-Biotechnology” (2012/7/25) (原本)
- 3-7 : 標準化動向資料
- 資料 4 : 標準仕様書案改訂版作成依頼 (12 月 12 日送付資料)
 - 4-1 : DNA チップ標準仕様書素案作成依頼
 - 4-2 : 検討項目参考資料まとめ (過去の検討内容をまとめたもの)
 - 4-3 : 標準仕様書修正原文 (第 1 回委員会配付資料 7)
 - 4-4 : 「遺伝子発現解析用 DNA チップ [改訂版] 開発ガイドライン 2011 年度策定 (案)」 (第 1 回委員会配付資料 6-1)
 - 4-5 : 「遺伝子型検定用 DNA チップガイドライン」 (第 1 回委員会配付資料 6-3)
- 資料 5 : DNA チップ標準化に関する討議資料
 - 5-1 : 標準仕様書修正案 (評価方法)
 - 5-2 : 標準仕様書修正案 (附属書 A 装置) (修正個所のまとめを最後に添付)
 - 5-3 : 標準仕様書修正案 (附属書 B 標準物質)
 - 5-4 : 標準仕様書修正案まとめ (5-1~5-3 をまとめたもの)

(5) 議事概要

(DNA チップ標準化に関する討議)

- ・ 評価方法について。「出願公開後の特許出願に係る権利」と「に係る権利」を追記。
- ・ 「遺伝子発現解析用 DNA チップ開発ガイドライン」の内容を反映させた。DNA 多型を「発現解析」の言葉に修正。
- ・ 4.3「妥当性の確認」及び 4.4「比較試験・臨床評価試験」は新たに挿入。
- ・ 4.5「判定アルゴリズム」、4.6「データの管理に関する評価」はガイドラインをもとに修正。
- ・ 4.7「安全性に関する評価」は修正せず。
- ・ 附属書 A について。基本は開発ガイドラインの 2011 年度策定案をもとに修正。
- ・ まだ直しきれていないところ。A.2.1 の RNA の検出原理で、これは開発ガイドラインから本文を持ってきたが、非常にシンプルで「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」の 1 行だけ。もう少し考えたほうがいい。
- ・ もう 1 点が A.3.2 の装置の機能の部分に出てくる、「標準物質」と「標準検体」という 2 つの言葉。「標準物質」については附属書 B に詳細に記載があるが、「標準検体」について何らかの書き方が必要なかどうか。ここでは「標準検体」というのは抜いた。
- ・ 標準検体は、例えば GMO のものが 5%入っていて、残り 95%が非標準になっているもの。標準物質というのは、Si 単位で表現されている。
- ・ 「標準検体」という言葉の定義について、何らかの対処をしておいたほうがよい。
- ・ 標準ということは意味が重い。通常使っている言葉はコントロールで、絶対値は要求しない。
- ・ リファレンスというと、意味が強い。

- ・ A.4.4 の検査の品質管理で、「適切な陽性対象及び陰性対象を設け、各種対象の意義やそれらの結果がもたらす管理項目について技術的に検討すること。また、検査機器の設定条件に対するモニタリング方法及びフィードバック方法を検討し」と書いてある。
- ・ 管理用試料ですよ。
- ・ これは最終的に英語になりますよね。そうすると、曖昧な日本語はどうか。
- ・ 「検体」という言葉はほかにも出るが、「標準検体」というのはこの1か所だけ。
- ・ 「標準検体」という表現はなくてもいいのだろうなど。
- ・ では、附属書 A の中からは「標準検体」を削除する。ほかの部分で「標準検体」というのが出てきている所があれば、そこを排除していいかどうかを検討していただく。「陽性コントロール」あるいは「陰性コントロール」みたいな文言で修正できるかどうか。
- ・ それから、RNA の検出原理が1行で終わっている。この件は次までペンディング。
- ・ 前はミスマッチ法とか、具体例を2、3挙げている。少し説明を足していただく。
- ・ 5-3 の附属書 B に関して。2011 年度策定の開発ガイドライン（案）では、標準物質に関しては「一次標準物質（認証標準物質）」と、「二次標準物質」として2つに分けた。一次標準物質は、トレーサビリティを取るための基準、二次標準物質は製品に対して使うもの。
- ・ 産総研計量標準総合センターで DNA の標準物質を設定している。担当者のコメントをいれた。
- ・ B.1 の「目的」。新たにウイルス型解析データを追加。2 項目では、外部参照標準物質という言葉を使っていたが、ここは全て測定対象にするものの基準となるものとして使うもの、及び製品の開発あるいは品質維持や性能評価に使うものというように分けた。
- ・ 従来、一次標準品と言われていたものは、測定対象標品について品質管理をするものと性能管理をするもの。ただ、品質管理も性能管理も、英語にすると quality control。製造メーカーは品質管理、診断治療に使う臨床検査の世界では、精度管理。我々が臨床検査で使っている精度管理は英語の quality control だが、正確さ、精密さ。要するに、特性とか特異性といったイメージは余り入っていない。ここでは2つに分けた。
- ・ B.2.1 は標準物質としての一般論。b)のほうで具体的に品質管理等をして使えるもの、場合によっては精度管理として、具体的な製品に対して使える。B.2.2 には、具体的な中身についての記載を入れた。品質管理というガイドラインをもとに文章を追加。「濃度単位」は、認証標準物質の値付けに用いる中身についての概略を挙げた。
- ・ 標準化で、現状ではどのようなところから入手できるかといったことでまとめた。
- ・ 最初のほうの定義、語彙の説明は修正したい。
- ・ 標準物質は DNA で書かれているが、RNA の標準物質でないと合わない。
- ・ 遺伝子発現解析用 DNA チップの標準物質ということで記載をお願いしているので、それに必要な標準物質として記載していただきたい。
- ・ 産総研で RNA の標準物質も開発をしている。ポイントを説明する。
- ・ SNP の標準は、産総研できちっと評価したものが市販されている。
- ・ 遺伝子発現解析用 DNA チップの評価法に関する内容なので、その標準化のために必要な情報として SNP に関する標準物質というものの記載がここに必要かどうか。

- ・標準物質については、もう一度作成し直す。
- ・それが前のところにも、4 のところにも反映される。標準物質を使う、使わないということ。
- ・次のときにそこを調整する。最終調整の部分に回したい。標準物質については、もう一度作り直さないといけないということと、標準物質を使った部分を修正することになる。
- ・第3回は2月21日。19日（火）までに修正案を事務局に送付することにした。

3.1.3 第3回開発WG委員会 概要

(1) 開催日時：平成25年2月21日（木） 15:00～17:00

(2) 開催場所：オフィス東京 4階 L会議室

(3) 出席者

委員：楠岡 英雄、久原 哲、桑 克彦、橋本 幸二、住谷 知明、岡村 浩、森 康晃

経済産業省：早川 貴之、苗倉 力

国立医薬品食品衛生研究所：宮島 敦子

バイオチップコンソーシアム：中江 裕樹、池田 純子

産業技術総合研究所：安野 理恵

事務局：木山 亮一、本間 一弘（産業技術総合研究所）

(4) 配布資料

資料1：第2回開発WG委員会議事録（詳細版案）

資料2：調査報告資料：

「遺伝子発現解析用DNAチップ開発状況及び標準化動向調査-調査報告-」特定非営利法人バイオチップコンソーシアム

資料3：「遺伝子発現解析用DNAチップ [改訂版] 開発ガイドライン2011年度策定案」修正

3-1：「遺伝子発現解析用DNAチップ [改訂版] 開発ガイドライン2011年度策定案」修正案

3-2：厚労省コメントのまとめ

資料4：標準仕様書案修正依頼（2月4日送付資料）

4-1：DNAチップTS案まとめファイルの送付（依頼文）

4-2：「序文」及び「3. 用語及び定義」の修正案

4-3：「4. 評価方法」の修正案

4-4：「附属書A」の修正案

4-5：「附属書B」の修正案

4-6：標準仕様書案修正案まとめ（4-2～4-5をまとめたもの）

資料5：RNAプロファイリングに基づく診断装置の評価指標
（厚生労働省、2012年11月）

(5) 議事概要

(DNA チップ標準化に関する討議)

- ・ 遺伝子型判定用 DNA チップを遺伝子発現解析用 DNA チップに修正。「序文」は 2012 年度版の遺伝子発現解析用 DNA チップに関するガイドラインを引用する形で修正。文書の目的を書いた。「引用規格」は医療機器ソフトウェアを追加。「用語及び定義」で「DNA チップ」を説明。
- ・ 資料 4-3。旧 4.7 では判定に関するリスク評価で「交差汚染を評価するため」うんぬんというのが抜けていたので、4.7 という形で復活させ、安全性に関する評価を 4.8 に下げた。
- ・ 資料 4-4 の装置の部分の「装置の原理及び構造」。宿題は 2 点。1 つは、A.2.1 の RNA の検出原理の部分。サンプルの調製方法、標識方法、検出方法という 3 つの切り口で書き入れた。もう 1 つは、「標準検体」の部分は削除し、標準物質はそのまま付属書 B を参照するように統一。
- ・ A.2.1 の RNA の検出原理の部分で、「色素標識」という表現は「蛍光色素標識」と具体的に書いたほうが分かりやすい。A.5 で、検体・サンプル、前処理といった項目。具体的にバリデーションの方法とか、どんな管理をやるのが望ましいのかという表現も入れる案もある。今回のガイドラインは DNA チップなので、前処理のところはそんなに詳細に書かなくてもよい。
- ・ ガイドラインの改訂版では書いていない。標準物質を使ってバリデーションするのが望ましい。今回は前処理とかサンプル調製の部分、検体の扱いといった部分は余り詳細に書かないという考え方もある。
- ・ 付属書 B の「序文」「目的」という書き方と、付属書 A の「序文」「一般」という部分で、少し統一感がない。「一般」がその前の繰返しになっているので「目的」に変える。
- ・ 「色素」は、「蛍光色素など」で。
- ・ 資料 4-5 の標準物質について。「検定」という言葉は「試験」のほうがいい。検定は、あらかじめ法的に定められたものと比較するやり方 (inspection) なので、「試験」が広い意味で適当。開発プロセスの中で、どのような標準物質を使ったらいいかということでまとめた。「標準物質」は個人が作っても会社で作っても構わないし、目的に応じて性状が分かればどのようなものでも対象になる。広く品質管理用に使われるものも含めて「標準物質」という言葉にした。
- ・ 「コントロール」を「対象」に修正。

(今後の活動について)

- ・ 来年度。手引書などの作成、セミナーの開催等、普及活動をきちんとやるという計画がある。
- ・ 手慣れた企業は段取りよく開発をして、薬事申請までいけるが、まだそういう企業ばかりとは限らない。標準化や通知類を含めて、DNA チップの開発から上市するまでどのようなステップで何が重要かというところを、「手引書」やそれを使って少し講習をするなど検討している。

- ・普及活動が必要な分野と、必要でなくて独り歩きできる分野もある。産業育成にとって必要かどうか、WGとして御意見を頂ければと思う。今年は9WG設置して、等しくお聞きしている。普及活動を積極的にやるべしとの御意向があれば、委託元と協議させていただきたい。
- ・本事業は委員会の形で進めていて、多くの企業の考え方や意見は反映しづらいところがある。それを補完するためにアンケートを含めて、いろいろな企業の意見を反映させたい。もう少し緩やかな形で事業の成果を広く知っていただくことは、普及活動の1つとして重要。
- ・研究サイドから言うと、マッチングの機会が余りないので、最初の段階の人間と企業との橋渡しを、どこかマッチングができるような場所を作っていただくのが良い。
- ・遺伝子発現解析用 DNA チップで薬事申請にかなり近いという情報や、どういう問題点があるか知りたい企業も多いのではないかと。そういった情報発信の場となれば、体外診断薬や個別化医療を進めているような企業にも参考になるかもしれない。
- ・皆様に時間を頂いて、今年度も一応まとめることができる。皆様には大変感謝いたします。

3.2 話題提供

3.2.1 話題提供 (1)

福島達伸氏（特定非営利活動法人バイオチップコンソーシアム／三菱レイヨン株式会社）による話題提供（第1回開発ワーキンググループ委員会：平成24年11月12日）。演題「遺伝子発現解析用DNAチップ開発状況及び標準化動向調査 今年度調査概要と予備調査について」。

- ・【DNAチップの開発状況】国際的な標準化は、SPIDIAプロジェクト（ヨーロッパ）、MAQCプロジェクト（米FDA）と核酸標準物質開発。ISOはTC34とTC212、新しいTC。
- ・【調査対象】日本国内は各社のDNAチップの開発状況やガイドラインの設定状況に対して、日本臨床検査標準協議会（JCCLS）や臨床検査薬協会（JACRI）と話をしている。MAQC、NIST標準開発、SPIDIAの進捗状況を調査。
- ・【開発状況】疾病早期予防や予後診断用、バイオテロ対策や食品検査用、個人臨床用のチップを開発。東洋製罐では、食中毒菌の検査やカビの検査、ジーンシリコン技術を用いて、蛍光検出型チップを開発。東洋鋼板では診断用のチップを開発。東レでは、ヒトの全遺伝子を網羅できるようなDNAチップや消化器がんの研究用のチップ、マイクロRNA用DNAチップを3D-Geneの商品名で展開。三菱レイヨンではGenoPalという商品名で製品を開発。東芝ではHPV判定用は今年度に保険適用がなされて医療用の現場で使われている。
- ・【厚生労働省の評価指標案】JMACで意見をまとめて、提案した。医療情報の開示や倫理面を重視。リスク分析、データの保存や表示方法。RNAプロファイリングでは、マイクロRNAの臨床利用。DNAチップが導き出す医療情報の有用性や信頼性を確認して、臨床現場に導入するために評価指標を作成。DNAチップに固有の事項は何か。体外診断薬と医療機器のどちらか。コンパニオン診断などの診断薬か、また医療機器にカテゴライズされるのか。「評価に当たって留意すべき事項」に対して、対照遺伝子配列について、「特にデータの補正のための内部標準については、第三者が精度を担保した標準物質を利用することが望ましい」旨の追記を提案。
- ・【ISO TS/P231 設立に関する調査】バイオテクノロジーに関する新TC。ドイツから提案、賛成23か国、反対2か国、棄権4か国。反対しているのはアメリカとメキシコ。共通の懸念として、非常に大きい分野でマネージメントが不可能ではないのか。スコープもきちんと限定すべきではないか。OECDとか提携先に入っていない。既存TCとのオーバーラップも多々見受けられる。
- ・【予備調査】SPIDIA、MAQC/SEQCのプロジェクトについての予備調査の報告。SPIDIAのプロジェクトの進捗状況。内容としては臨床用組織の安定化を開発。主に5点。血液からPAXgene（Qiagen）を用いて組織サンプルの前処理のワークフローを標準化。ヒトの血液サンプルの処理工程を標準化。血液リングトリアル・フェーズ2開始。生体サンプルの前処理のワークフローや、そのバイオマーカーの同定の検証（組織内のRNA、タンパク質、血液中のマイクロRNA）。代謝産物もバイオマーカーとして取り扱う。
- ・PAXgeneは大体検証が済み論文化の段階。組織前処理の標準化の論文化は調査。組織、ヒト血液サンプルの標準化に関しては、自動化装置を検証中。リングトリアル・フェーズ2については、論文作成中。血液中のマイクロRNAは臨床意義を検証。

- ・標準化スケジュールは、2013年1月にCENやSPIDIAプロジェクトのドイツ窓口に対して、面談予定。具体的には断片化RNAの標準化、血液のRNA品質マーカーの探索、保存中の状態の変化や保存後の実験による影響など。論文は実際に発表された時点で調査する。
- ・【MAQC-Ⅲの進捗状況】遺伝子の選択（MAQC-I）、その次にモデルの構築（MAQC-II）。MAQC-Ⅲではデバイス。遺伝子の選択、モデルの構築、デバイスと薬剤の有効性に対する評価が、MAQCプロジェクト全体。出口はPharmacogenomicsや、Toxicogenomicsといった薬剤の安定性や、評価。MAQC-Iは、Nature Biotechnologyに発表。MAQC-IIはNature BiotechnologyやPharmacogenomics Journalに発表。MAQC-Ⅲは、標準的な大規模データセットで、DNA、RNAの情報解析方法の特徴と限界を評価し、次世代シーケンサーの技術性能を評価。一塩基解析レベルでの患者特異的ゲノム情報や、薬物の副作用といった情報を評価。
- ・今年度の委託調査について。1番目は、遺伝子発現解析用DNAチップの医療機器、体外診断薬品、プレアナリシスの各分野における標準化動向を調査。2番目は、核酸標準物質の開発において、NISTを中心にして動向を調査。3番目は、SPIDIAのプロジェクトの進行状況を調査。4番目は、MAQCプロジェクトの進行状況を調査し、次世代シーケンサーとDNAチップデータの対比を含めて検討する。

(質疑応答)

- 新しいTCはドイツが提案。SPIDIAの延長なのか。Forensicsが中心か。
- Forensicについては、ISOのTC262にForensic Scienceがある。
- 11か国が参加を表明。第1回会議でスコープとチェアマンとビジネスプランを決めていく。
- 11か国というのは少ないのか。
- TC34は100か国ぐらい。5か国以上であればTCとして成立する。

3.2.2 話題提供 (2)

岡村浩氏（東洋鋼鋳株式会社）による話題提供（第1回開発ワーキンググループ委員会：平成24年11月12日）。演題「ジーンシリコン及び専用蛍光検出器用いた遺伝子診断～ダイヤモンドライクカーボンのバイオチップへの応用～」。

- ・東洋鋼鋳は東洋製罐の子会社。山口県下松市にメインの工場と研究所がある。本社は東京。素材、表面処理を中心に、乾電池の材料、ディスプレイ、電機電子部品、建材等に展開。ハードディスクの材料など非常に高精細に加工する必要がある、その技術をもとにDNAチップ基盤も作ろうという流れになった。最近はバイオ分野も検討している。

- ・2005年の『日経バイオビジネス』で、2001年ごろ、東洋鋼鋳が検討を始めたという記事。「Gene-dia」という商品名で、3mm角のシリコン基盤の上にダイヤモンドを付け、その上にDNAを固定。非常に高強度で高密度にcDNAライブラリが作れる。ダイヤモンドは高価なのでダイヤモンドライクカーボンに転換して検討。更に大量生産に向けた、工業的に使いやすいものとしてジーンシリコンを作った。医療系に何とか入っていきたいが、まず食品、環境に展開を図っている状況。

- ・マイクロアレイ基板として品質の高いものを作れるようになってきた。

- ・硝子基板の粗度、平坦性、均一性が問題。最終的な結果に悪影響を及ぼす。弊社のものは非常にバックグラウンドが低くて、均一。現在ジーンシリコンで検討。
- ・表面処理。カルボキシル基を修飾して、N-ヒドロキシスクシミドで活性化。密度や、活性状態、保存性、あるいは固定化反応を検討。3mmのチップにプローブを固定。
- ・簡単な使用例。比較的強いのは SNPs。SNの感度が良く、分別しやすい。山口大学との知的クラスタで共同開発、UGT1Aの遺伝子多型とイリノテカンによる副作用の程度を予測。ジーンシリコンチップに固定化し、検討を進めてきた。
- ・ほかのアプリケーション。科学警察研究所との共同開発の血液型判定チップ。犯罪現場等の遺留物を用いて血液型判定をチップでできないかを検討。血痕、生体血、死体血等を用いて確実に血液型判別を行うことができる。
- ・ジーンシリコンの検出法。一般のスキャナーでも読み取ることができるが、専用の検出器も開発。非常にコンパクトで安価な設備装置で読み取ることができる。市販の検出器と比較しても、性能は良好で、短時間で非常に高感度に検出できる。様々な分野への適用を図っている。

(質疑応答)

- 3mm角というのは、3mm角をスタンダードとして使うのか。
- いろいろなサイズを検討。低コスト化と取扱い、スポット数等を勘案した。
- PCRかマイクロアレイかは50~60が分かれ目だが、64スポットというのはそうなのか。
- おっしゃるとおり。最終的に50~60点、しかし、その過程はいずれにも対応できる。
- UGT1Aは確かもうキットが出ている。コスト的には、そのキットに比べて安くなるのか。
- かなり競争力があるのではないかと考えている。

3.2.3 話題提供 (3)

久原哲委員（九州大学教授）による話題提供（第2回開発ワーキンググループ委員会：平成25年1月30日）。演題：「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開発：サブテーマ テーラーメイドがんワクチン療法適格性予測診断キット開発」。

- ・地域イノベーション戦略支援プログラム（文部科学省）で、がんワクチンの療法を確立のための3つの大きな柱を立てている。1番目は、がんワクチン製薬。その適格性の診断、大体3割ぐらいしか効かないので、その3割の方を診断する体外診断薬の作成が2番目。3番目は、支援ツールの開発。2番目を担当。
- ・久留米大学医学部がんワクチン外来、年間1万人の患者。予測診断キットの開発が急務。
- ・ペプチドワクチンは第4のがん治療法。外科的な切除手術、化学療法、放射線療法の次がペプチドワクチン療法。がん抗体を認識して、免疫でそのがんにはアタック。キラーT cellのようなものを活性化するために、ワクチンを打ってT cellを活性化。1つは、T細胞を活性化するがんワクチン療法。もう1つは効くかどうかの診断のキット化。久留米大学医学部では、キラーT細胞のがん細胞を排除するときの目安となるペプチドを200種類以上見付けていて、今は13種類ぐらいのペプチドが薬剤の候補。

- ・適格性の予測は、患者さんの血液を対象にする。血液中の単核球成分、白血球分画における遺伝子プロファイルを使って適格性を診断。
- ・解析に利用しているデータ。300 日で亡くなられる患者さんと、900 日以上生存されている患者さんの 2 群を解析。クリニカルデータ等に差がない患者さんを 20 人ずつ持って、投与前と投与後の血液から遺伝子プロファイルを取る。
- ・患者は抵抗性再燃前立腺がん。抗がん剤を投与されて、がんが再発された患者さんを対象。
- ・ Good responder と Poor responder はきれいに分かれる。グループ間で差のある遺伝子を選択。
- ・ Pre と Post の expression profile の違い。データを比較して遺伝子を調べる。fold-change と P value でセレクション。38 の遺伝子はその 2 つの群でかなり違う。
- ・ Pre と Post の比が非常に大きい遺伝子が 41 個。short-time survivor で Pre と Post を比べると、41 の遺伝子がワクチン療法により up-regulate された。先ほどの 38 の遺伝子の大部分が入っている。
- ・ 19 種類の遺伝子を体外診断薬として作っていききたい。
- ・ 適格性の予測診断キットを上市するために、PMDA に戦略相談に行った。RNA プロファイリングに基づく診断騒置の評価指標は厚生労働省から去年 12 月に指針が出ていて、臨床性能に関する事項が書いてある。原則として、2 施設以上で 150 以上を用いた臨床試験。取れなければ話に来てくださいということ。また、後向の臨床試験も OK。
- ・ 生命の予後予測というのは問題。受療適格性の予測がいい。C型肝炎に対するインターフェロン療法の奏効予測診断のようなスタイル。「コンパニオン診断薬」は余り使わないほうがよい。
- ・ 対象がんとしては抵抗性の前立腺がん第Ⅲ相の試験に入っているのだから、第Ⅲ相の試験と並行してやったほうがよいと。がんペプチドワクチン療法に対しても、同時並行が望ましい。
- ・ 抵抗性の前立腺がんを対象としたペプチドワクチンの療法に関する適格性の診断か、それとも、奏効予測診断というように、もう少し広い意味での診断というスタイルにするのか。並行してやるスタイルでいこうかなと今は思っている。

(質疑応答)

○がんワクチンの開発とその診断キットの開発は並行してやらなければいけない。企業としては製品を早く出したいが、ワクチンができなければそれもできない。

○並行して進めたほうがいいですよというのが、相談に行ったときの答え。

○インフルエンザの奏効性の試験みたいな話であれば、独自に出していても構いませんが、薬とそれの適格性の診断みたいな形だと、薬と並行して進めないはずい。

○薬としての有効性とは別に、単純にある遺伝子セットについて情報を得るためのキットという形にして、実際に何に使うかというのは余り具体的には言わないということか。

○次の相談でその辺の具体的な話を聞きに行く必要があるのではないか。

○ペプチドワクチンは特定の人にはよく効くが、ほとんどの人には効かないので、診断的な価値が高い。逆にペプチドワクチンの治験で、有効率が低い場合には、相当数の患者さんを集めないと差が付かない。センシティブティのある人だけを選ぶことができると、もっと少ない患者さんで有効性を見ることができるので、期間も費用も全然違ってくる。正にカップリングしてやらないと難しいのではないか。

- 他のがんのワクチンも並行して治験をされる予定はありますか。
- 今は前立腺だが、膵臓、肝臓のペプチドワクチンもやっている。
- 抗がん剤と違うから副作用が著しく出るわけでもないでしょう。

3.3 委託調査

本項では、遺伝子発現解析用 DNA チップに関するガイドラインの策定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、バイオチップコンソーシアムの委託調査報告書「平成 24 年度委託研究 遺伝子発現解析用 DNA チップ開発状況 及び標準化動向調査」の概要を示す。報告書は参考資料 3.1 として掲載した。

バイオチップコンソーシアム事務局長中江氏による「遺伝子発現解析用 DNA チップ開発状況 及び標準化動向調査-調査報告-」（第 3 回開発ワーキンググループ委員会：平成 25 年 2 月 21 日）。

- ・ 遺伝子発現用 DNA チップの開発状況、国際標準化動向調査の報告。調査のポイントは 1 番目に国内における DNA チップの開発状況、2 番目は SPIDIA プロジェクト、3 番目は MAQC プロジェクト、4 番目は核酸標準物質の開発状況、5 番目に ISO の新しい TC (Technical Committee) の紹介。
- ・ 世界的な標準化の動向。ヨーロッパでは前処理の部分の標準化。アメリカは、MAQC に代表されるデータの品質評価プロジェクト、NIST を中心にした開発状況。MAQC は FDA が主催し、製薬メーカーがデータの品質を評価するプロジェクト。
- ・ 日本では臨床検査室で使うポジティブ・コントロールのような標準物質の開発、あるいは標準化に重きを置いている。デファクトスタンダードで世界の市場を取りまとめようとするアメリカの動きに、ヨーロッパと共同して対抗し、ISO/TC などで文書化した標準化を進めている。
- ・ 国内の DNA チップの開発状況。東芝は、日本のメーカーとして初めて製造販売承認を取った。電流検出型のチップを使い、HPV のタイピング、バイオテロの対策用のチップ。東洋製罐は食品関係の標準化。東洋鋼鋳は診断用チップを開発中。東レは、3D-Gene を中心にした研究用チップから医療用のチップを目指している。三菱レイヨンは研究用チップで売上げを伸ばしている。
- ・ 東洋鋼鋳は KRAS の変異を検出できる DNA チップを開発。ビジネス上は、権利の問題、ライセンス料の問題が課題。DNA チップ研はアレイ CGH を使った幹細胞培養細胞の安全性評価。iPS を用いた再生医療で、細胞の品質評価にゲノムレベルの解析を応用。東レは iPS 細胞の形成過程の解析を分析するためのチップを提供。
- ・ アレイ CGH はゲノムレベルでの異常検出。再生医療で細胞の安全性は、外から導入した遺伝子がどこに入っているか、あるいは全ゲノム的に正常な細胞である、あるいは安全性が担保された細胞であるということを言うためには、ゲノムレベルの解析が必要。
- ・ 製造販売承認を取得したというニュースはないが、各社医療に向けてチップ開発を続けている。日本の場合には次世代シーケンサー等の製品を作っている会社は 1 社もないので、DNA チップなどの多項目解析の中で日本が産業基盤を持っているテクノロジーとして重要。

- ・ SPIDIA プロジェクト。キアゲン社がプロジェクトのコーディネーターをしている。目的は、体外診断用の前処理のプロセスの標準化。背景は、CEN（欧州標準化機構）が、ISO に対して優位。CEN で標準化されると ISO では優位な提案ができる。それを利用して国際標準を作ってくる。
- ・ SPIDIA は 4 年間の時限プロジェクト、去年終了の予定が延長された。延長ももうすぐ終わり。コンソーシアムは、7 つの公共研究機関と 8 つの民間研究機関、CEN も入っている。EU から 900 万ユーロ出ていて、全体の予算は 1,300 万ユーロ、13 億円ぐらい。
- ・ 体外診断用前処理の品質保証スキームガイドラインの確立。組織血液サンプルの安定化をはじめとする技術革新。管理面・倫理面における情報の流通、コンプライアンスの確立。血液の RNA の Ring トライアル。実験の結果をベースとして文書化・標準化。CEN で先に標準化することは間違いない。まだ草案の状態。新規作業項目提案等には結び付かないのではないかな。
- ・ CEN では NWIP（新規作業項目提案）を 10 月にしているが、まだ文書はできていない。4 月にもう一度ドイツ国内でまとめてヨーロッパの協議会に持って行く予定。
- ・ 論文について。採血した血液の RNA の品質、どのぐらいのばらつきがあるかをヨーロッパ全域の多施設で行った実験。血液サンプル由来の RNA は、体外診断用アッセイにおいて非常に影響する。統一的なプロトコールは存在しない。これが、検査施設で非常に大きな問題。検査施設は決められた手順を正確に行っているにもかかわらず、検体の品質のばらつきがある。検体の品質が悪いのか、測定が悪いのかが判定できない。ヨーロッパ全域で血液の採血をし、運搬をして、PCR で評価。RNA の品質は、OD と qPCR で遺伝子の発現を見て比較。結果は、どちらの採血のモデルにしても信頼性のある結果は得られたが、GAPDH 以外はばらつきがあった。GAPDH はコントロールの内部標準としてはふさわしい。検体を運搬したときにどういう影響が出るかは把握できた。
- ・ ヨーロッパ全土で前処理の部分が測定値に非常に大きく影響するという共通認識が得られ、その標準化が必要だということは、このプロジェクトによって確固となった。
- ・ MAQC プロジェクト。MAQC-I は 2005 年から始まり、今 MAQC-III。I が遺伝子を選択するためのクオリティ・コントロール。II は、マイクロアレイを使い、患者の予測を行うモデリングのプロジェクト。MAQC-III が次世代シーケンサーの技術評価。MAQC-IV も予定されていて、これは患者特異的ゲノム情報の精度を検証するプロジェクト。
- ・ MAQC-IV について。疾患を例に取って、Predicting ADR（adverse drug response）と efficacy が、患者 specific な drug-protein interactome に基づいて見いだして、有効なドラッグを承認するための科学的な基盤を作っていく。
- ・ 核酸標準物質。NIST で spike-in コントロール RNA を出し、売っている（SRM2374）。日本でも今購入可能。Life Technologies が頒布。第三者が作った認証標準物質を使う。
- ・ 産総研と JMAC は検査センターや病院で使われる標準物質の開発に焦点を絞っている。異なるプラットフォームを使っても、施設や実験者による違いなどの分析妥当性を評価する 1 つの物差しになるのではないかな。スパイクインの DNA は産総研から認証標準物質として頒布している。

- ・ ISO の国際標準化動向。新しいバイオテクノロジー TC (Technical Committee) が作られることになりそう。2008 年ぐらいから、イタリアのグループを中心にして新 TC を作る動きがあり、ドイツが中心で 2012 年 7 月に DIN が設立の提案書を出した。ほとんどの国が賛成、反対はアメリカとメキシコ。棄権 4 か国の中の 1 つがフランス。反対の理由は、スコープがブロード過ぎる。
- ・ ドイツの Mr. Loenin によると大丈夫そうだと。スコープを絞って修正。用語の定義、測定法、分析法、コンピューターツール、バイオサンプル、バイオバンク、バイオリクターといったものは含め、バイオセーフティ、バイオリジカルドラッグ、生物製剤、フォーレンシクサイエンスを除く。4 月ぐらいに設立の見込み。
- ・ JMAC の標準。TC34 の食品検査。FDIS の直前で、11 か国が賛成、アメリカ 1 か国だけが反対、ほとんどのヨーロッパ国は棄権。
- ・ まとめ。国内の開発状況に関しては、新規の発表はないが、各社が医療用のチップの発売に向けて開発を進めている。SPIDIA プロジェクトは 3 月で終了予定だが、文書作成はもうちょっと時間がかかりそう。MAQC プロジェクトは、第 3 フェーズがほぼ終了、論文投稿直前。標準物質は NIST がリーダーシップ、日本はアプリケーション用の標準物質を検討中。ISO の新 Biotechnology が発足の見込みで、積極的に取り組みたい。

(質疑応答)

- 標準化について。データを見る限り、採血管は PAXgene だけで、他の製品は使っていない。それで標準化できるのか。例えば、MAQC の場合、プラットフォームは 1 社ではなくて、必ず数社を比較して、標準化の数値などを検討。次世代シーケンサーも 1 社だけが独占しているわけではない。ところが、採血管の場合は、他の製品を検討せずに、いきなり標準化できるのか。
- 同様の意見。キアゲン社の製品の宣伝みたいになったら賛成を得られないのではないかという話をしたら、そこは今まだ考えているという答。キアゲン社のマニュアルをそのまま標準化しようとしているように見えた。CEN でも紛糾するだろう。ごり押しで行くしか絶対に通らない。
- ごり押しができるのではないかという印象がある。ヨーロッパは各国別の票を持っていて、7 票とか持っている。その 7 票で決まってしまうのであれば、むしろごり押しが可能になる。
- 同じ印象。もし本当にごり押しをしようと思ったら、まず CEN で賛成を取り付けて、FDIS で通すことは可能。
- 1 社の製品あるいはデータを基に、それを標準化することが多数決で決まるということが実際にあるのか。例えば日本の製品を同じように検討する。それを 1 社だけだと到底通らないけれども、複数社あるということで、それを標準化に持っていく。積極的にキアゲン社に反対するというよりは、日本の技術などを入れて広くすると日本の良いところも入れることができる。
- それは私も賛成。キアゲン社が CEN に行って紛糾しているときに助け舟を差し延べるのだったら、一番良いチャンス。
- そのときに、日本のデータというのを出さないといけない。そういうプロジェクトなり何なりというのが必要ではないか。

3.4 欧米における DNA チップ関係の規制及び報告書

3.4.1 欧州 SPIDIA 中間報告書 1 (翻訳文)

第 2 回開発ワーキンググループ委員会の資料 (平成 25 年 1 月 30 日) として、欧州 SPIDIA 中間報告書を翻訳して配付した。

「SPIDIA ニュースレター 2012 年 11 月号」“SPIDIA Newsletter 11/2012” (November, 2012)

SPIDIA ニュースレター 2012 年 11 月号

SPIDIA ホームページ (www.SPIDIA.eu)

SPIDIA のホームページでは、私たちが参加する最新イベントのリストや SPIDIA のポスター及びプレゼンテーションのダウンロード、他機関や関連する取組みへのリンクなど SPIDIA のプロジェクトに関するニュースを定期的に発信しており、プロジェクトの背景や SPIDIA パートナーについてより多くの情報を得ることができます。質問やアイデアがあれば、“Contact Us” フォームを使って、私たちに連絡をくださることも可能です。

www.SPIDIA.eu にお気軽にアクセスしてください。

目次

SPIDIA のプロジェクト進行状況

新規組織安定化技術の総合的な特性は、組織に基づく研究及びバイオマーカー開発の質を著しく改善させることを示す

組織検体におけるプレアナリシス・ワークフローの標準化

プレアナリシス・ワークフローがバイオマーカーの発現に及ぼす影響

ヒト血液検体の処理におけるワークフローの標準化

バイオマーカー解析のための血液由来 DNA を用いたロング・レンジ・マルチプレックス PCR に DNA 品質が及ぼす影響

SPIDIA オープン・ワークショップ

CERM で開催された SPIDIA トレーニング・コース

我々に会うには

過去のイベント

SPIDIA ご案内

SPIDIA とは

SPIDIA (Standardisation and improvement of generic pre-analytical tools and procedures for in vitro diagnostics) は、遺伝的プレアナリシス・ツール及び in vitro 診断手順の標準化及び改善に関する研究を行う、4年間の大規模な総合研究プロジェクトである。SPIDIA の研究及び標準化に向けた活動は、エビデンスに基づくガイドラインの作成から、プレアナリシス相ツールの作成、検体品質バイオマーカーの新規アッセイ開発を通じたこれらのツールの試験と最適化に至るまで、すべてのステップに及んでいる。このコンソーシアムは、7つの公的研究機関、8つの研究企業及び公的なヨーロッパ規格機関によって立ち上げられた。SPIDIA の予算は 13,000,000 ポンドで、EC の寄与は 9,000,000 ポンドである。

SPIDIA の設立理由

in vitro 診断は、医療において著しい進歩をもたらした。核酸、たん白質、代謝産物のような細胞生体分子の解析のための新技術のさらなる進歩が期待されている。これまでの研究によって、これらの分子のプロファイルは、運搬及び保管の間に劇的に変化し得るため、診断あるいは薬学研究の信頼性を下げ、あるいは不可能にしてしまうことが示されている。したがって、さらなる進歩は、臨床検体の採取、取り扱い、安定化及び保管におけるガイドラインの欠如のために、また、新しい改良された検体技術がいまだ得られないために、限られたものになっている。SPIDIA プロジェクトは、ガイドライン、品質保証スキーム及び革新的プレアナリシス・ツールを提供することで、このギャップを埋めることを目的とする。これらはまた、バイオバンク作成及び生物医学的研究においても高い重要性を持つ可能性がある。

SPIDIA のアプローチ

SPIDIA は3つの活動のために組織されている。それぞれは、複数の作業パッケージで構成されている。最初の活動は、汎ヨーロッパ的品質保証スキーム及び in vitro 診断のプレアナリシス相ガイドラインを作成することである。このような文書は、プレアナリシス手順において問題のあるステップを明らかにするために行われる、リング・トライアルによって集められたエビデンスに基づいて作成される。これらの手順は、組織、腫瘍、全血、血清及び血漿検体から単離された、DNA、RNA、たん白質及び代謝産物ターゲットに特に焦点が当てられている。さらに、臨床及び生物学的検体の、人工的な採取後の変化を検出するための、検体品質保証バイオマーカーの発見を目指す。我々の二つ目の活動は、in vitro 診断のプレアナリシス相における脆弱なステップ及び相互関係を強化する躍進技術の発見、開発及び統合に費やされる。結果として、古典的分子診断との接続を目指している。この活動は、組織、血液及び綿棒検体のような非侵襲的検体の新奇な安定化技術を開発し、複数のプレアナリシス・ステップを自動化されたワークフローへと統合することを含む。最後に、我々の三つ目の活動は、管理、倫理及び優位性の普及に焦点を当てている。この活動は、開発とガイドラインについての情報を、臨床、科学及びバイオバンキングのコミュニティに普及させるため、トレーニングを実施することを目的とする。また、倫理的な配慮及びコンプライアンスをも保証する。

SPIDIA のプロジェクト進行状況

新規組織安定化技術の総合的な特性は、組織に基づく研究及びバイオマーカー開発の質を著しく改善させることを示す

ヒト疾患の分子的特性記述は、組織病理学から分子バイオマーカーの広域スペクトルまで多数のパラメーターを用いた解析を必要とする。形態的特性記述は、ホルムアルデヒド固定及びパラフィン包埋した組織（FFPE）の解析に基づき行われるが、一般的に凍結組織検体を用いて行なう分子的解析は、ホルマリン固定のためにうまくいかなることが知られている。個別化医療や、来たるべき分子診断そしてバイオマーカー開発において、特に新鮮な凍結材料の採取が医学的、倫理的あるいは輸送上の理由で不可能な場合には、同一組織検体を用いて形態及び分子的解析の両者を行う必要性が増大する。SPIDIAの企業パートナーは、パラフィン包埋された臨床組織検体における生体分子及び形態を高品質で保存するための、ハイスループット・アプローチの新技術（PAXgene Tissue システム）を開発した。SPIDIAパートナーによるこの技術の特性を総合すると、形態、抗原性、核酸及びリン酸化たん白質の保存において非常に優れることが明らかになった。重要なことに、PAXgeneで固定後パラフィン包埋（PFPE）した組織検体を用いた分子的研究の質は、ホルマリン固定組織から得られる結果に比べて有意に優れていただけでなく、分子的研究においてもっとも標準的な瞬間凍結組織を用いた研究に匹敵するものであった。これらの総合的研究の結果は、有名なピアレビュー誌に掲載された：

・ Viertler et al. J Mol Diagn. 2012

Sep;14(5): 458-66.Epub 2012 Jun 28. A New Technology for Stabilization of Biomolecules in Tissues for Combined Histological and Molecular Analyses. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22749745>

・ Kap et al.PloS One.2011;6(11): e27704. Epub 2011 Jun 16. Histological assessment of PAXgene tissue fixation and stabilization reagents.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22110732>

・ Ergin et al.J Proteome Res.2010 Oct 1;9(10): 5188-96. Proteomic analysis of PAXgene-fixed tissues.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20812734>

・ Groelz et al.Exp Mol Pathol.2012 Jul 17 [Epub ahead of print]. Non-formalin fixative versus formalin-fixed tissue: A comparison of histology and RNA quality.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22814231>

加えて、異なる PFPE 腫瘍検体を用いた組織病理学的診断の信頼性及び再現性が、ヨーロッパ中の著名な病理学者たちが参加している現在進行中の形態リング・トライアルにおいて評価される予定である。

さらに、SPIDIAパートナーは、フォスフォプロテオームの保存状態を解析する大規模比較研究を行い、復元されたリン酸化たん白質が、ウェスタン・ブロッティング及び逆相たん白質アレイ（RPPA）の結果において、凍結保存検体と非常に類似した性質を示し、FFPE 検体よりも優れた結果を示すことを述べた論文を投稿した。結論として、PAXgene Tissue システムは、たん白質のリン酸化のような翻訳後修飾を保存し、臨床組織検体を用いた発展的バイオマーカー研究を可能にする。

最終的には、組織マイクロアレイ（TMAs）が SPIDIA パートナーによって構築され、標準的ホルマリン固定、パラフィン包埋及び PAXgene Tissue システムによる固定、また固定時間及び保存状態が抗原性に及ぼす影響を評価した。ルーチンで用いられる抗体を用いたいくつかの免疫組織化学染色が、異なる SPIDIA 研究室において実施された。これまでのところ、否定的な影響、たとえば PAXgene Tissue システムによる固定時間の延長が抗原性に及ぼす影響などは観察されておらず、新しい組織固定技術をルーチンの臨床現場で適用しやすいことを示している。FFPE 検体で用いられるいくつかの抗体のルーチンのプロトコルは、PFPE 検体用に最適化される必要がある。たとえば、異なる復元手順が必要となる。

組織検体におけるプレアナリシス・ワークフローの標準化

組織の形態を保存し、組織材料中の RNA、DNA 及びタンパク質を安定化するための新しい PAXgene Tissue システム（前号も参照のこと）が開発された後、最初の組織採取容器、いわゆる“二つの溶液槽を一つに含む”コンセプトが生まれ、組織採取と処理のワークフローが確立され（SPIDIA ニュースレター3号、2011年10月、3ページを参照のこと）、SPIDIA プロジェクト内で徹底的に試験された。この検体容器は、組織の採取/安定化及び輸送のワークフローを標準化することを可能にした。安定化した組織材料から RNA、miRNA、DNA 及びタンパク質を抽出する専用の手順が開発され、SPIDIA ワーキング・グループ内で評価された。標準化への取り組みにおける一つの重要な点は、容器の使用を、組織サイズの少なくとも一片を 4mm に決める標準化組織カセットと合わせた場合だけに制限し、ある時間内に組織固定液を確実に浸透させることである。容器の評価を行う間に、次のことが明らかになった。すなわち、組織サイズを 4mm に制限することが常に可能なわけではないため、ある場合においては組織のサイズによって容器の使用が制限されるのである。

そこで、2つ目の容器コンセプトが開発され、組織採取により大きな柔軟性がもたらされた。この新しいコンセプトにおいては、検体容器には組織固定液のみが含まれ、組織安定剤は含まれていない（SPIDIA ニュースレター3号、2011年10月、2ページを参照のこと）。また、この容器のサイズなら、より大きな組織片の保存が可能である。そして容器は固定液であらかじめ満たされている。各辺 20 mm までの組織片、あるいはそれぞれ6つまでの生検を含む4つ以下の組織カセットが、新しい容器コンセプトに適合する。この新しいワークフロー・コンセプトにおいては、容器に溶液槽がひとつしかないため、組織安定剤はボトルで配布され、ユーザーは決められた固定時間の後に固定液を安定剤に交換しなければならない。より大きな組織片の使用は、固定が不完全になるリスクをはらむため、それぞれの処理手順について精査する、ワークフローの詳細な評価が QIAGEN によって開始された。解析には、組織形態と、固定及び安定化された組織材料から単離された核酸の品質の評価が含まれた。詳細なワークフロー・プロトコルはこのようにして確立され、“二つの溶液槽を一つに含む”容器を用いて確立されたワークフローと等しいパフォーマンスを示した。

プレアナリシス・ワークフローがバイオマーカーの発現に及ぼす影響

組織の場合

組織中のたん白質バイオマーカーの精密な定量は、個別化分子ターゲット治療の開発のための大きな可能性を秘める。しかし、プレアナリシス因子がたん白質の安定性に及ぼす影響はほとんど知られていない。SPIDIA コンソーシウムの一つの目的は、組織標本のための標準的操作手順を開発することである。この研究では、固定の遅れによ

ってたん白質及びリン酸化たん白質が変化する可能性に焦点を当てた。ヒト検体の結果についての論文は、第一稿がすでに投稿されている。さらに、マウス及びラットの肝臓検体が、異なる実験的虚血状態において採取され、凍結保存、ホルマリン固定あるいは PAXgene Tissue システムによる固定のいずれかの処理がなされた。現在、3回の生物学的反復におけるフォスフォプロテオームを、定量質量分析 (LS-MS/MS) および逆相たん白質アレイ (RPPA) 技術を用いて解析中であり、論文準備中である。

プレアナリシス相におけるヒト組織検体中 RNA の安定性を解析するため、Affimetrix チップ解析が行われた。制御されていない安定な遺伝子が同定され、qPCR による検証研究が進行中である。臨床組織検体の品質を示す新しいバイオマーカーの信頼性を高めるため、RNA プロファイル品質を示すバイオマーカーの潜在的な候補は、別のパートナーによって交差検証される予定である。将来のバイオマーカー検証研究の進歩のために、安定的な参照遺伝子を同定し、一般的なハウスキーピング遺伝子との比較を行うことには特に注力することになっている。

低分子量分子の解析によって得られた新しい結果は、たとえば冷虚血時間のようなプレアナリシス・ワークフローにおいて、メタボロームが著しく攪乱されることを示した。これらの発見をもとに、NMR によるメタボロームの特徴から、組織検体の虚血時間を、未知のプレアナリシス履歴とともに予測できるようにするモデルができつつある。

血液の場合

血液検体中の RNA プレアナリシス変異をモニターするため、一連の RNA 品質を示すバイオマーカーが首尾よく同定され、二つの異なるバイオマーカー開発過程 (検体処理過程、マイクロアレイ、バイオマーカー候補選択、qPCR アッセイのデザイン、バイオマーカー・アッセイの事前検証、及び精密性測定、拡張検証を含む) において検証された。60 人の提供者から採られた血液検体の拡張検証研究と予備的研究を経て、これらのバイオマーカーのうち 4 つが、第二次 SPIDIA RNA リング・トライアルにおける RNA 品質コントロール・バイオマーカーとして選択された。これらの RNA 品質バイオマーカーについて記載した論文を準備中である。

ヒト血液検体の処理におけるワークフローの標準化

ヒト全血検体において、検体採取から定量 RT-PCR 技術、白血球の細胞内 RNA 解析に至るまで、プレアナリシス・ワークフローのすべてを標準化するため、QIAGEN は安定化した血液検体 (PAXgene Blood RNA Tubes) から miRNA を含む全 RNA を単離し、続いて RT-PCR 反応の準備を行う、完全自動化プロトコルを開発した。プロトコルは、従来の QIASymphony SP 自動検体プレパレーション・プラットフォームと、全 RNA を用いて定量 RT-PCR 反応の完全なマスターミックスを調製する QIASymphony AS (Assay Setup) モジュールを基礎として開発された。単離された RNA の品質は、RT-PCR も含めて、AROS Applied Biotechnology A/S によって評価された。QIAGEN は、4 つの異なる RT-PCR アッセイ、すなわち、18S rRNA をインターナル・コントロールとして、c-fos 及び IL-1B 遺伝子をターゲットとする 2 つのデュプレックス qRT-PCR と、p53 と IL8 遺伝子の転写産物をターゲットとする 2 つのモノプレックス・アッセイを、まずはマニュアル RT-PCR として開発し、その後 QIASymphony AS module に移行させた。2 つの新しいプロトコルがそれぞれ働くことが検証された後、QIAGEN は 10 人の血液提供者について、完全にマニュアルのワークフローと完全自動化ワークフローとの比較研究を行った。採取された血液から、PAXgene Blood RNA tubes 及び CE-marked PAXgene Blood RNA キットを用いてマニュアルで RNA 抽出が行われた。

一人の提供者、一つの方法につき2つの反復検体が処理され、RNA品質とRT-PCRのパフォーマンスが解析された。いずれのワークフローにおいても、RNA品質は同等の結果を示し、また、RT-PCRの結果は、新たに開発された2つのプロトコルの組み合わせが、条件によっては働くことを示した。次のステップとして、SPIDIAパートナーは、彼らのアッセイと検体材料を用いて、新しい自動化プレアナリシス・ワークフローを試験する予定である。

バイオマーカー解析のための血液由来 DNA を用いたロング・レンジ・マルチプレックス PCRに DNA 品質が及ぼす影響

SPIDIA パートナーとの共同研究において ImmunID は、プレアナリシス・ステップが、血液から抽出されたゲノム DNA の品質と統合性、そしてバイオマーカー解析に及ぼす影響を、同社の ImmunTraCkeR®技術を用いて患者の免疫レパートリーの多様性を調べることにより解析した。免疫レパートリーの多様性解析は、末梢血単核球から抽出したゲノム DNA におけるロング・レンジの multi-N-Plex® PCR を用いて行われた。

目標のひとつは、バイオマーカーの開発及び臨床使用を最良のものとするプレアナリシス・ガイドラインを定めることである。SPIDIA の研究は、プレアナリシス・ステップ及び条件（すなわち温度、血液採取後の保管時間、抽出方法その他）がゲノム DNA の品質に影響を及ぼすことを明らかにした。実際、プレアナリシス過程で DNA 統合性の低下（DNA 断片化の進行）により、高分子量 DNA の増幅及びバイオマーカーのパフォーマンスを悪化した（図1）。

<図1 上部>DNA 統合性がロング・レンジ PCR パフォーマンスに及ぼす影響

<縦軸>DNA 統合性（長さ）

<横軸>ロング・レンジ・マルチプレックス PCR の正確性

図1：DNA 統合性がロング・レンジ PCR パフォーマンスに及ぼす影響

プレアナリシス過程は鍵であるが挑戦的なステップである。最良の臨床的関連を確実なものにするため、ロング・レンジ・PCR 及びバイオマーカー解析の良いパフォーマンスを保証すべく特別の注意を払わなければならない。

SPIDIA オープン・ワークショップ

分子診断及びバイオマーカー開発のための検体プレアナリシスの標準化

公開ワークショップにおいて、SPIDIA の科学的背景、鍵となる活動、そして主要な結果が発表された。これは講演と、生物検体研究、分子診断及びバイオマーカー開発の分野における国際的な専門家との議論からなるものだった。科学的トピックは以下のものを含む：

- ・ 生物検体の臨床プレアナリシス変数
- ・ 新規組織固定技術
- ・ 血液及び組織検体中の RNA 解析
- ・ たん白質及びリン酸化たん白質プロファイル
- ・ メタボロミクス
- ・ 分子バイオマーカーの開発と評価

このワークショップは、2012年10月10日（水）、グラーツ医科大学において開催された。

プログラムは以下の通りである。

- ・ Irmgard Lippe : 開会の辞
- ・ Uwe Oelmüller : EU SPIDIA プロジェクト最新情報— 一般的プレアナリシス・ツールと in vitro 診断手順の標準化と改善
- ・ Helen Moore : 米国国立がん研究所における生物検体研究
- ・ François Rousseau : 分子診断バイオマーカーの検証における学際的ネットワークの役割
- ・ Mario Pazzagli : 血液検体における分子的手法のプレアナリシス相
- ・ Hui Zhang : 血液検体におけるプレアナリシス変数をモニターするための RNA 品質バイオマーカー
- ・ Kurt Zatloukal : 組織の分子的解析に影響するプレアナリシス・パラメーター
- ・ Karl-Friedrich Becker : プレアナリシス因子が組織検体におけるたん白及びリン酸化たん白プロファイルに及ぼす影響
- ・ Christian Viertler : 高品質組織を用いた分子的研究のための組織プレアナリシスの改善
- ・ Peter Riegman : 医学研究目的のためのより良い組織採取のために、ルーチン組織凍結プロトコルを適合させる
- ・ Giorgio Stanta : アーカイブされた組織を用いた臨床研究と診断のための分子解析
- ・ Berthold Huppertz: Biobank Graz : 検体品質を最大化するための自動化と効果的な検体採取及び保存
- ・ Paola Turano : 個人メタボロームを変更してはいけない
- ・ Beate Kamlage : 再現性あるメタボロミクスのためのバイオバンク検体の品質管理の必要性
- ・ Uwe Oelmüller : 閉会の辞

CERMで開催された SPIDIA トレーニング・コース

2012年7月18日から20日まで、SPIDIA トレーニング・コース、“メタボロミクスへの実践的導入”がセスト・フィオレンティーノ（フローレンス、イタリア）で開催された。このコースは、研究、知識移転及び高等教育を目的とするフローレンス大学のセンター CERM (Magnetic Resonance Center) によって準備・主催された。このセンターでは、生命科学分野における根本的な問題を解決するために、核磁気共鳴（NMR）が用いられている。センターは5年前、専用のNMR装置を備え、少人数の若く情熱的な研究者を擁するメタボロミクス研究室を創設した。このコースは SPIDIA プロジェクトの教育活動の枠内で、特にメタボロミクスの分野の一般的な導入に興味のある学生及び若い研究者を対象として行われた。

一日目、Leonardo Tenori (FiorGen Foundation)による導入的な講義の後、Anna Artati (Helmholtz Zentrum München)がメタボロミクスにおいてもっともよく用いられる質量分析法による戦略を紹介するとともに、体液中の代謝産物のプロファイリング及び定量の手順の例を示した。二日目は午前中の4時間、サンプル準備とNMRスペクトル取得のためのトレーニングにあてられた。午後は Claudia Napoli (Bruker Italy srl)が、NMRメタボロミクス研究において完全な標準化と自動操作をどのように行うかについて講義を行い、また、Rui Wang-Sattler (Helmholtz Zentrum München)が、年齢、性別、喫煙及びII型糖尿病と特異的に関連する代謝産物を同定するための、質量分析に基づくメタボロミクスの興味深い応用について説明した。三日目は Birk Schutz (Bruker Biospin)による統計学及びメタ

ボロミクスにおけるデータ解析の講義で始まった。最後に、Claudia Napoli が Amix ソフトウェア (Bruker) を用いた NMR スペクトル解析のトレーニングを行った。

トレーニングは非常に相互的であり、参加者間で質問や議論することができるため、参加者たちが新しいコンセプトを身につけるのに豊かな時間を過ごしたことは間違いない。

我々に会うには

SPIDIA のパートナーは、さまざまな会議においてこのプロジェクトと結果について、定期的な発表を行っている。

過去のイベント

・ バイオバンク・テクノロジー・ワークショップ :

2012 年 6 月 27 日

ヒルデン、ドイツ

口頭発表 :

- ・ U. Oelmüller : 歓迎と開会の辞
- ・ D. Grözl : PAXgene Tissue : 多様なバイオマーカーを探索するための新しい固定法
- ・ K. Zatloukal : グローバル・バイオバンキングにおける標準化と手順の共通性
- ・ P. Riegman : 検体品質の重要性と医学研究のためのバイオバンキングにおける標準化への取り組み

<http://www.qiagen.com/events/biobankworkshop/>

・ ヨーロッパ病理学会議 :

2012 年 9 月 8~12 日

プラハ、チェコ共和国

口頭発表 :

- ・ D. Grözl : 形態及び核酸の同時保存のための PAXgene 組織固定技術

<http://www.esp-congress.org/>

・ ヒト・プロテオーム機構 :

2012 年 9 月 9~13 日

ボストン、米国マサチューセッツ州

ポスター発表 :

- ・ S. Gündisch : 保存の遅延は組織処理中の体系的なリン酸化プロテインの応答を誘導しない

<https://netforum.avectra.com/eweb/StartPage.aspx?Site=HUPO&WebCode=HomePage>

・ オーストリア分子生命科学・バイオテクノロジー連合 :

2012 年 9 月 17~19 日

グラーツ、オーストリア

ポスター発表：

・ C. Luchinat : 高品質な組織に基づく分子的研究のための新しい組織安定化技術
<http://www.oegmbt.at/index.htm>

・オーストリア・プロテオーム研究シンポジウム：

2012年9月24～26日

グラーツ、オーストリア

ポスター発表：

・ C. Luchinat : 組織中の生体分子及び形態の同時保存のための新技術
<http://aprs2012.tugraz.at/>

・ライブ・ウェビナー・イベント：

2012年9月27日

ウェビナー・イベント

・ L. Rainen and D. Grözl : バイオマーカー探索とバイオバンキングのためのホルマリンを使用しない組織バイオマーカーと形態の同時的保存法

・ ESMRMB 2012 :

2012年10月4～6日

リスボン、ポルトガル

口頭発表：

・ C. Luchinat : MR メタボロミクスと個別化医療
<http://www.esmrm.org/>

・年に二回の SPIDIA ミーティングにおける SPIDIA オープン・ワークショップ “分子診断とバイオマーカー開発のための検体プレアナリシスの標準化”

2012年10月10日

グラーツ医科大学

グラーツ、オーストリア

(6ページも参照のこと)

・ ASCO-NCI-EORTC ミーティング “がんにおけるマーカー”

2012年10月11～13日

ハリウッド、米国フロリダ州

ポスター発表：

・ A. Nocon : 腫瘍バイオマーカー検出感度改善のための、血中遊離 DNA の自動大容量抽出
<http://markersincancer.org/>

・ AMP :

2012年10月25～27日

ロングビーチ、米国カリフォルニア州

ポスター発表 :

・ D. Grözl : 多様なバイオマーカー解析のためのホルマリンを使わない組織固定

<http://www.amp.org/meetings/2012/index.cfm>

3.4.2 欧州 SPIDIA 中間報告書 2 (翻訳文)

第 2 回開発ワーキンググループ委員会の資料 (平成 25 年 1 月 30 日) として、欧州 SPIDIA 中間報告書を翻訳して配付した。

「SPIDIA ニュースレター 2012 年 6 月号」“SPIDIA Newsletter 6/2012” (June, 2012)

SPIDIA ニュースレター 2012 年 06 月号

SPIDIA ホームページ (www.SPIDIA.eu)

SPIDIA のホームページでは、私たちが参加する最新イベントのリストや SPIDIA のポスター及びプレゼンテーションのダウンロード、他機関や関連する取組みへのリンクなど SPIDIA のプロジェクトに関するニュースを定期的に発信しており、プロジェクトの背景や SPIDIA パートナーについてより多くの情報を得ることができます。質問やアイデアがあれば、“Contact Us” フォームを使って、私たちに連絡をくださることも可能です。
www.SPIDIA.eu にお気軽にアクセスしてください。

目次

SPIDIA のプロジェクト進行状況

同一の臨床組織検体を用いた形態学的及び分子的解析を可能にする新規組織安定化技術の評価

組織検体におけるプレアナリシス・ワークフローの標準化

ヒト血液検体の処理におけるワークフローの標準化

第二次 SPIDIA 血液リング・トライアル・プログラムの開始

生物学的検体におけるプレアナリシス・ワークフローをモニターする品質バイオマーカーの同定と検証

我々に会うには

今後のイベント

過去のイベント

SPIDIA ご案内

SPIDIA とは

SPIDIA (Standardisation and improvement of generic pre-analytical tools and procedures for in vitro diagnostics) は、遺伝的プレアナリシス・ツール及び in vitro 診断手順の標準化及び改善に関する研究を行う、4 年間の大規模な総合研究プロジェクトである。SPIDIA の研究及び標準化に向けた活動は、エビデンスに基づくガイドラインの作成から、

プレアナリシス相ツールの作成、検体品質バイオマーカーの新規アッセイ開発を通じたこれらのツールの試験と最適化に至るまで、すべてのステップに及んでいる。このコンソーシアムは、7つの公的研究機関、8つの研究企業及び公的なヨーロッパ規格機関によって立ち上げられた。SPIDIAの予算は13,000,000ポンドで、ECの寄与は9,000,000ポンドである。

SPIDIAの設立理由

in vitro 診断は、医療において著しい進歩をもたらした。核酸、たん白質、代謝産物のような細胞生体分子の解析のための新技術のさらなる進歩が期待されている。これまでの研究によって、これらの分子のプロファイルは、運搬及び保管の間に劇的に変化し得るため、診断あるいは薬学研究の信頼性を下げ、あるいは不可能にしてしまうことが示されている。したがって、さらなる進歩は、臨床検体の採取、取り扱い、安定化及び保管におけるガイドラインの欠如のために、また、新しい改良された検体技術がいまだ得られないために、限られたものになっている。SPIDIA プロジェクトは、ガイドライン、品質保証スキーム及び革新的プレアナリシス・ツールを提供することで、このギャップを埋めることを目的とする。これらはまた、バイオバンク作成及び生物医学的研究においても高い重要性を持つ可能性がある。

SPIDIAのアプローチ

SPIDIAは3つの活動のために組織されている。それぞれは、複数の作業パッケージで構成されている。最初の活動は、汎ヨーロッパの品質保証スキーム及びin vitro 診断のプレアナリシス相ガイドラインを作成することである。このような文書は、プレアナリシス手順において問題のあるステップを明らかにするために行われる、リング・トライアルによって集められたエビデンスに基づいて作成される。これらの手順は、組織、腫瘍、全血、血清及び血漿検体から単離された、DNA、RNA、たん白質及び代謝産物ターゲットに特に焦点が当てられている。さらに、臨床及び生物学的検体の、人工的な採取後の変化を検出するための、検体品質保証バイオマーカーの発見を目指す。我々の二つ目の活動は、in vitro 診断のプレアナリシス相における脆弱なステップ及び相互関係を強化する躍進技術の発見、開発及び統合に費やされる。結果として、古典的分子診断との接続を目指している。この活動は、組織、血液及び綿棒検体のような非侵襲的検体の新奇な安定化技術を開発し、複数のプレアナリシス・ステップを自動化されたワークフローへと統合することを含む。最後に、我々の三つ目の活動は、管理、倫理及び優位性の普及に焦点を当てている。この活動は、開発とガイドラインについての情報を、臨床、科学及びバイオバンキングのコミュニティに普及させるため、トレーニングを実施することを目的とする。また、倫理的な配慮及びコンプライアンスをも保証する。

SPIDIAのプロジェクト進行状況

同一の臨床組織検体を用いた形態的及び分子的解析を可能にする新規組織安定化技術の評価

SPIDIAの企業パートナーは、臨床組織検体における生体分子と形態とを同時に高品質で保存できる新しい組織安定化技術を開発した。形態品質及びルーチン診断における新規SPIDIA組織保存技術(PAXgene Tissue システム)の適合性を評価するため、SPIDIAのパートナーによって悪性及び非悪性のヒト組織検体が集められ、ホルマリン固定及びパラフィン包埋(FFPE)またはPAXgene固定及びパラフィン包埋の2群に均等に分けられた。そして、ルーチンのヘマトキシリン-エオシンや、その他特殊な染色法及び免疫組織化学を行った。FFPE組織の形態的特長は、仮想顕微鏡プラットフォームを用いてSPIDIAパートナーの病理学者によって記載されるとともに、

FFPE 組織と比較して点数化された。それにより、PFPE 検体においては一般的な形態はよく保存されることが明らかになった。これらの研究の結果は出版済みである (Kap et al. PLoS One. 2011;6(11):e27704.Epub 2011 Nov 16.Histological Assessment of PAXgene

Tissue Fixation and Stabilization Reagents)。次のステップとして、ヨーロッパ中の名高い病理学者が参加する形態リング・トライアルにおける異なる診断シナリオについて、PFPE 検体を用いた組織病理学診断の信頼性と再現性が評価されることになっている。

PFPE 組織検体から抽出されたたん白質について好結果を示した最初の解析 (Ergin et al., J Proteome Res. 2010 Oct 1;9(10):5188-96.Proteomic analysis of PAXgene-fixed tissues) の後、SPIDIA パートナーはリン酸化プロテオームの保存状態を解析するため、大規模比較研究を実施した。16 の異なる非悪性組織及び 4 つの異なる悪性組織について、リン酸化特異的抗体を用いて調査した。復元されたリン酸化たん白質を、ウエスタン・ブロッティング及び逆相たん白質アレイ (RPPA) によって凍結保存された検体と比較した場合、非常によく似た性質を示し、FFPE 検体中のたん白質よりも優れた結果を示した。これらの発見は、PAXgene Tissue システムによってプロテオームを保存できるだけでなく、非常に重要なことに、たん白質のリン酸化のような、翻訳後修飾をも保存することができ、臨床組織検体におけるバイオマーカー研究の発展を可能にするものであることを明らかに示している。

組織検体におけるプレアナリシス・ワークフローの標準化

上述のように、SPIDIA の企業パートナーは、新しい組織保存及び安定化技術を開発し、それにより組織形態を保存し、RNA、DNA 及びたん白質を安定化することが可能となった (PAXgene Tissue)。そしてこの技術は、5000 を超える組織検体を用いて検証された。加えて、検体容器概念が開発され、組織の採取/安定化及び輸送のワークフローを標準化することを可能にした。この容器デバイスを用いて、組織固定及び安定化のための標準化されたワークフローが確立され、安定化した組織材料から RNA、miRNA、DNA 及びたん白質を抽出する専用の手順が開発された。

組織検体の採取及び保存の標準化におけるひとつの重要な観点は、ヒトの疾患の進行についての後向き研究のために組織アーカイブを構築するという選択肢である。ホルマリン固定後にパラフィン包埋 (FFPE) した組織材料を用いた組織アーカイブは、バイオバンクや製薬企業にとっては、よく特徴付けされたヒト検体材料の供給源として、疾患の分子的評価において多大な価値を有する。

現在アーカイブされている材料の最大の不都合は、パラフィン包埋前の固定が、核酸と他の生体分子を架橋するホルマリン固定であるため、下流の解析が阻害され、分子的研究における使用が限定されることである。組織の長期保存を可能にする目的のもと、PAXgene Tissue システムで固定し、パラフィン包埋 (PPFE) した組織材料のパフォーマンスを評価するため、SPIDIA プロジェクト当初から検討を開始した。ラットの肝臓、腎臓、脾臓、肺、及び消化管の各組織を、処理前に中性ホルマリンまたは PAXgene Tissue システムで固定し、パラフィン包埋した。次に PFPE 及び FFPE 検体を 22°C、4°C、-20°C 及び -80°C で 3 年間保存し、形態及び RNA 品質を調査した。どちらの固定法でも、3 年間の保存を経て、いずれの温度においても形態は保たれていた。しかし、すべての組織サンプルのうち、1kb までの遺伝子断片の増幅のような下流工程に必要な RNA が保存温度にかかわらず単離できたのは、PFPE 検体だけだった。対照的に、保存状態によらず FFPE 組織から抽出された RNA は、大きな RNA 断片

の増幅には使えなかった。我々は、PAXgene Tissue システムの試薬を用いて固定及び安定化を行った組織検体は、組織の PFPE ブロックとして、室温においてさえもアーカイブを目的とする保存が可能であると結論付けた。

ヒト血液検体の処理におけるワークフローの標準化

ヒトの全血は、診断のために重要な検体である。そこで SPIDIA ワーキング・グループは、ヒト全血について、RNA を用いるアッセイのための採取から解析ステップまで、プレアナリシス・ワークフローの標準化を目指した。そして QIAGEN は、従来の機械化検体調製・プラットフォームである QIASymphony® SP と、磁気粒子技術を用いて、安定化した血液検体（PAXgene Blood RNA Tubes）から miRNA を含む全 RNA を単離する完全自動化プロトコルを開発した。RNA（miRNA 含む）収量、純度及びさまざまなアッセイにおける RT-PCR パフォーマンスの評価を含むこのプロトコルの最初の結果は良好で、評価は AROS Applid Biotechnology A/S において行われた。

QIAGEN は、単離した RNA を取り分け、定量 RT-PCR 反応のための完全なマスターミックスを調製する QIASymphony AS 機械化システムを用いて、解析ワークフローをさらに統合し始めた。4 つの異なるアッセイ設定プロトコルが QIAGEN によってプログラムされた。18S rRNA をインターナル・コントロール遺伝子として、c-fos 及び IL-1B 遺伝子の転写産物をターゲットとする 2 つのデュプレックス定量 RT-PCR アッセイ、そして p53 及び IL8 遺伝子の転写産物をターゲットとする 2 つのモノプレックス・アッセイである。次のステップとして、RNA 調製とそれに続くダイレクト PCR 設定を含む、完全に自動化されたワークフローについてこれらのアッセイが試験され、マニュアル処理と比較された。

さらに、DiaGenic は、QIAcube 装置のための PAXgene blood RNA 単離プロトコルについて、RNA 収量、純度、分解度、そして DiaGenic が開発したアルツハイマー病の遺伝子発現特性におけるパフォーマンス（予測値と試験結果）の観点から評価を行い、好結果を示した。QIAcube のワークフローの結果は、マニュアル処理の場合と比べると予測値から若干ずれていたが、試験結果に変わりはない。次は、UNIFI において採取された臨床検体を用いて、QIAcube ワークフロー及び新しい QIASymphony 自動化ワークフローの両者について、DiaGenic が開発した新しい遺伝子発現特性による試験が行われる予定である。

第二次 SPIDIA 血液リング・トライアル・プログラムの開始

SPIDIA 血液リング・トライアルの目的は、血液検体のプレアナリシス相のため

の品質ガイドライン開発に必要なエビデンスを得ることである。第一次 SPIDIA リング・トライアルは 2011 年 3 月に完了した。第二次 SPIDIA リング・トライアルは 2011 年 10 月に開始され、参加者は 3 つの異なる品質プログラムに登録した：全血及び血漿から抽出した DNA 及び血液検体から抽出した RNA である（"DNA"、"DNAplasma"、"RNA"と呼ぶ）。第二次リング・トライアルは、予備的研究及び第一次リング・トライアルにおいて得られた結果を考慮してデザインされた（Günther et al., Clin Chim Acta.2012 Apr 11; 413 (7-8): 779-86. Implementation of a proficiency testing for the assessment of the preanalytical phase of blood samples used for RNA based analysis）。リング・トライアルに用いられる検体材料の品質をさらに改善するため、追加の測定も行われた。リング・トライアル・プログラムへの参加を呼びかける数多くの手紙が、ヨーロッパの研究室に送付された。それは第一次リング・トライアルの全参加者をも含み、その半数が第二次リング・トライアルへの参加にも同意した。（表 1 参照）

SPIDIA プログラム 第二次リング・トライアル	アプリケーション数	第一次リング・トライアル アプリケーションのうち、第二 次リング・トライアルが実施さ れたもの
DNA	126	87
DNAplas	61	39
RNA	121	80
合計	308	206

表 1 223 の研究室から参加した SPIDIA 第二次リング・トライアルの参加者の詳細

総計 223 の研究室が参加し、そのうち 94 研究室が 2 つ以上のプログラムを遂行した。図 1 に示したように、ほぼ 50% の応募者は大学の研究室に所属し、続いて研究機関研究室、地域病院研究室が多くを占めた。

<図 1 凡例>

企業研究室 私的研究室 地域病院研究室
研究機関研究室 大学研究室

図 1. 研究室の所属する施設の種類の種類

参加者の国別内訳は図 2-4 に図示した。

<図 2 グラフ添書>

スイス スロベニア スロバキア ギリシャ ノルウェー デンマーク アイルランド オランダ ハンガリー
トルコ フィンランド クロアチア スペイン オーストリア ポルトガル チェコ共和国 スウェーデン 英国
ドイツ ベルギー フランス イタリア

<図 2 右上> 第二次 DNA リング・トライアル国別参加者数

図 2. DNA 第二次リング・トライアルの国別総参加者数

<図 3 グラフ添書>

オランダ ポーランド ノルウェー ラトビア ハンガリー フィンランド デンマーク ルーマニア ポルトガ
ル リトアニア フランス クロアチア スペイン チェコ共和国 オーストリア トルコ ベルギー ドイツ
イタリア

<図 3 グラフ右上> 第二次 DNAplas リング・トライアル国別参加者数

図 3. DNA plas 第二次リング・トライアルの国別総参加者数

<図 4 グラフ添書>

スロベニア ルーマニア ハンガリー デンマーク リトアニア フィンランド オーストリア スペイン ポル
トガル ノルウェー クロアチア トルコ チェコ共和国 スウェーデン 英国 ドイツ ベルギー フランス
イタリア

<図4 グラフ右上>第二次 RNA リング・トライアル国別参加者数

図4. RNA 第二次リング・トライアルの国別総参加者数

第二次 DNA 及び DNAPlas リング・トライアルは 1 月 23 日に検体を参加研究室に送付することから始まった。参加者は、SPIDIA により指定された時間の枠内で、彼らの現行の標準プロトコルを用いて DNA を抽出した。抽出された DNA 検体は、2 月半ばまでに SPIDIA 研究室に返送された。SPIDIA パートナーはその DNA の品質及び量の解析を始めている。

第二次 RNA リング・トライアルは 3 月に始まった。リング・トライアル設定の複雑さのため、すべての研究室に同日に検体を送付することは不可能だった。そこで、研究室を二つのグループに分けた。第一のグループには、3 月 26 日に検体が送付され、第二のグループには 4 月 2 日に送付された。第一次リング・トライアルと同様、安定化技術が RNA の品質及び量に及ぼす影響を評価するため、研究室が受け取った血液は安定化処理をされていないか（抗凝血剤として EDTA のみ添加）、細胞内 RNA を安定化するための専用チューブ（PAXgene Blood RNA tube）に入れられているかのいずれかだった。参加者は単離した RNA をフローレンスの SPIDIA 研究室に 5 月 2 日までに返送した。SPIDIA パートナーは現在、RNA の品質を様々な下流試験によって解析中である。

リング・トライアルの結果は、参加者のための個別の報告書に記載される予定である。

生物検体のプレアナリシス・ワークフローをモニターするための品質バイオマーカーの同定と検証

組織中の RNA 及びたん白質

ヒト組織検体の品質は、バイオマーカー研究における分析データ・セットに大きな影響を与える。温虚血時間及び組織保存の遅れがたん白質及びリン酸化たん白質に及ぼす影響を完全に理解するため、ヒト及び動物の虚血組織検体について調査を行った。虚血組織のプロテオーム及びフォスフォプロテオームについて総合的な知見を得るため、ターゲティング（逆相たん白質アレイ）及び非ターゲティング（タンデム質量分析）の両方のアプローチが用いられた。最初のデータは、組織の不適切な取扱いを示すような標準化された品質マーカーの同定及び検証が非常に複雑であることを示唆する。患者間の高い変異が、適切な統計解析及び品質たん白質バイオマーカー同定における主要な障害である。ヒトの虚血組織検体についての結果を含む論文の第一稿は投稿中であり、動物の虚血組織検体についての結果を扱った論文の第二稿は準備中である。さらに、追加の虚血組織検体及び保存法のような他のプレアナリシス因子の影響についての評価が進行中である。

プレアナリシス相におけるヒト組織検体中 RNA の安定性を解析するため、Affymetrix のチップによる解析が行われた。制御されていない安定な遺伝子が同定され、qPCR による検証が進行中である。臨床組織検体の品質を示す新しいバイオマーカーの信頼性を増すため、潜在的な RNA バイオマーカー候補は、別のパートナーによって交差検証される予定である。

血液中の RNA

血液検体処理の品質管理は、臨床診断における重要なステップである。しかし、血液のプレナリシス処理で起こる変化を示すような信頼できるバイオマーカーはこれまで開発されていなかった。SPIDIA の重要な目的は、血液検体のプレナリシス変数をモニターするための RNA 品質バイオマーカーを同定することである。我々はすでに、血液検体中の RNA のプレナリシス変数をモニターするためのバイオマーカー・セットを同定し、検証することに成功した。これらのバイオマーカーについては現在、血液検体の大規模コホート（60 人の提供者）において、さらなる評価と有効性の検討が進行中である。プロジェクトのもうひとつの目的は、これらの RNA 品質バイオマーカーを、第二次血液 RNA リング・トライアルにおける品質コントロール・パラメーターとして適用することである（4 ページも参照のこと）。

従来の品質バイオマーカーに加えて、セカンド・マイクロアレイ研究で絞り込まれた候補遺伝子の新しいバイオマーカー・アッセイがデザインされ、qPCR によって評価された。さらなる詳細な研究によって、新しい有望な候補が選択される。

組織及び血清検体のメタボロミクス

採取された新鮮な組織検体において、プレナリシス相においてもっとも変化する低分子量の分子が同定された。この結果は、臨床/バイオバンク環境における組織管理において起こる予期せぬ副反応の解釈の助けとなるよう、代謝産物を化学的凝集によりサブセットとしてまとめるために用いられる予定である。そして、信頼できる、検証され、調和された標準手順所の決定のための情報となる。

臨床現場においては、転移結腸直腸がんの代謝的特性が、血清の NMR スペクトル中で同定された。この特性は強いので、全生存を予測するのに十分である。多数の代謝産物が同定され、転移結腸直腸がんの識別特徴として働き、疾患の生化学的知見を提供している。詳細は以下の論文を参照のこと： Bertini I, Cacciatore S, Jensen BV, Schou JV, Johansen JS, Kruhøffer M, Luchinat C, Nielsen DL, Turano P. Metabolomic NMR fingerprinting to identify and predict survival of patients with metastatic colorectal cancer. *Cancer Res.* 2012; 72:356; -364:

我々に会うには

SPIDIA のパートナーは、さまざまな会議においてこのプロジェクトと結果について、定期的な発表を行っている。

今後のイベント

• バイオバンク・テクノロジー・ワークショップ:

2012 年 6 月 27 日

ヒルデン、ドイツ

口頭発表:

•

U.

Oelmüller: 歓迎及びオープニング・セッション

- D.
Grölz : PAXgene Tissue : 多様なバイオマーカー発見のための新しい固定法
- K.
Zatloukal : グローバル・バイオバンキングにおける標準化と操作共通性
- P.
Riegman : 医学研究のためのバイオバンキングにおける検体品質と標準化への取組みの重要性
http://www.qiagen.com/events/biobankworks_hop/

• ヨーロッパ病理学会議 :

2012年9月8~12日

プラハ、チェコ共和国

ポスター発表

- D.
Grölz : 形態と生体分子の同時保存のための PAXgene 組織固定技術
<http://www.esp-congress.org/>

• ESMRMB 2012 :

第29回年会

2012年10月4~6日

リスボン、ポルトガル

口頭発表 :

- C.Luchin
at:MR メタボノミクスと個別化医療
<http://www.esmrmb.org/>

過去のイベント

• 逆相たん白質アレイ 世界ワークショップ :

2011年10月10~11日

ヒューストン、米国テキサス州

ポスター発表 :

- K.-F.
Becker : 固定の遅れが臨床組織検体におけるたん白質プロファイルに及ぼす影響

- K.-F.
Becker : 新規固定剤が同一の臨床組織検体による形態及び分子的解析を可能にする

• 組織化学学会シンポジウム 2011

2011年12月10～15日

ミュンヘン、ドイツ

口頭発表：

•

S.

Gündisch：形態及び分子解析のための PAXgene 固定、パラフィン包埋組織の評価

<http://www.helmholtz-muenchen.de/histochemistry2011/home/index>

.html

• ESBB カンファレンス：

2011年11月16～19日

マルセイユ、フランス

口頭発表：

•

U.

Oelmüller：EU プロジェクト SPIDIA-遺伝的プレアナリシスツール及び診断手順の標準化と改善

<http://www.esbb.org/nov2011/>

• QIAGEN バイオバンキング・エキスパート・ミーティング：

2011年11月24日

ヒルデン、ドイツ

口頭発表：

•

U.

Oelmüller：オープニング・セッションにおける SPIDIA の発表

• ミュンヘン・バイオマーカー・カンファレンス：

2011年11月29日

ミュンヘン、ドイツ

ポスター発表：

•

S.

Gündisch：プレアナリシス要素が組織検体のたん白質及びリン酸化たん白質プロファイルに及ぼす影響

http://events.bio-m.org/munich_biomarker_conference

• BRN シンポジウム：

2012年2月22～23日

ベテスダ、米国メリーランド州

口頭発表：

•

U.

Oelmüller：EU SPIDIA プロジェクト最新情報

遺伝的プレアナリシス・ツール及び in vitro 診断手順の標準化及び改善

ポスター発表：

• C.
Luchinat : 組織プレナリス及び新しい安定化技術の組織に基づく分子研究の品質への影響

• M.
Kap : エビデンスに基づくバイオバンキング ; 患者から保存まで

• S.
Gündisch : 保存の遅れは組織処理における系統的なリン酸化たん白質の応答を引き起こさない
<http://www.brnsymposium.com/>

• 生物検体品質シンポジウム :

2012年5月9日

ロンドン、英国

口頭発表 :

• D.

Grölz : EU SPIDIA プロジェクトー生物検体の解析前の取り扱い ; たん白質及び核酸研究のためのバイオバンク検体品質の最適化

<http://www.ncri.org.uk/ccb/>

• DGKL 分子診断セクション :

2012年5月10~11日

トツイン、ドイツ

口頭発表 :

• U.

Oelmüller : バイオバンクにおける SPIDIA プロジェクトの重要性

• ドイツ病理学会議 2012 :

2012年5月31日~6月3日

ベルリン、ドイツ

ポスター発表

• S.

Gündisch : 保存の遅れは組織処理における系統的なリン酸化たん白質の応答を引き起こさない

<http://www.pathologieberlin2012.de/>

• ISPD ミーティング :

2012年6月3~6日

マイアミ、米国フロリダ州

ポスター発表 :

• M.

Horlitz : QIASynphony SP 装置を用いた血中遊離 DNA の自動大量抽出

<http://www.ispdhome.org/conference/2012/>

3.4.3 ISO/TS/P 231 関連資料（翻訳文）

第 2 回開発ワーキンググループ委員会の資料（平成 25 年 1 月 30 日）として、国際標準化機構による新バイオテクノロジーTC に関する新規技術活動分野資料を翻訳して配付した。

3.4.3.1 国際標準化機構の新バイオテクノロジーTC に関する手紙

国際標準化機構

ISO 中央事務局

1, ch. de la Voie-Creuse

Case postale 56

CH - 1211 Genève 20

Switzerland

電話 : +41 22 749 01 11

Fax : +41 22 733 34 30

メールアドレス : central@iso.org

URL : www.iso.org

宛先 : ISO 加盟機関

当機構参照番号 : TS/P 231

日付 : 2012 年 7 月 25 日

ISO/TS/P 231ーバイオテクノロジー

各位

バイオテクノロジーに関する新規技術活動分野について DIN（ドイツ）から提出された、添付の提案書をご覧いただきたい。

ISO/IEC 指令第 1 部第 1.5.6 項に従って、www.iso.org/forms よりダウンロード可能な投票フォーム（[Form 02](#)）に記入いただくようお願いする。注意点として、*Form 02* は最近更新されており、また今後、正当化事由の記載のない投票は登録されない。フォームは（なるべく Word 形式にて）2012 年 10 月 25 日までに ISO 技術管理評議会（TMB）（メールアドレス : tmb@iso.org）へ送付のこと。

通常の手続き同様、この TS/P 投票は、添付の提案の内容が ISO による新規技術活動分野の創設を正当化するものであるか否かの判断だけが目的である。如何なる新規機関であれ、その最終的な構造は、この投票の締め切り後に TMB により決定及び承認されることになる。

敬具

Sophie Clivio

技術管理評議会書記官

3.4.3.2 新バイオテクノロジーTCに関する DIN（ドイツ）からの新規技術活動分野提案書

新規技術活動分野提案書	
配布日： 投票締切日：	参照番号 (中央事務局が記入) ISO/TS/P
提案者 DIN（ドイツ）	

新規技術活動分野提案書は、中央事務局へ提出のこと。中央事務局は提案書に参照番号を割り振り、ISO/IEC 指令（第1部第1.5項）に従って処理する。提案者はISO加盟機関、技術委員会又は小委員会、技術管理評議会又は総会委員会、事務局長、ISOの庇護下で運営される認証制度管理担当機関、又はその他、国別の機関が加盟する国際組織であつてよい。新規技術活動分野の提案及び正当化に関するガイドラインは、ISO/IEC 指令（第1部付属書C）に記載されている。

提案（提案者が必要事項を記入）

提案される新規委員会の名称（名称は提案対象とされる新規技術活動分野を明瞭ながら簡潔に示すものとする）。

バイオテクノロジー

提案される新規委員会の適用範囲の説明（適用範囲は当該活動分野の限度を正確に定義するものとする。適用範囲は当機構の全般的な狙いや原則と重複しない一方、特定の関連領域を示すものとする）。

バイオテクノロジー分野における標準化では、国際的に認められ受け入れられる用語及び定義、解析手法及び診断手法、データを国際的に比較可能かつ統合可能とするためのコンピューター処理ツール及び計量学を追求する。新規委員会では学術研究又はSME研究を追求するわけではなく、むしろこれらのグループがバイオテクノロジー関連の製品、技法、工程の標準化へ積極的に参加することを奨励することになる。

従って、提案される技術委員会は、革新的アイデアをこの分野での標準化作業へ適時に取り入れることにも責任を負うことになる。

初期作業計画案（作業計画案は標準化活動の狙いに呼応すると共にそれを明確に反映するものとし、またそれ故、提案されるテーマ同士の関連性を示すものとする。作業計画の各項目は標準化対象となるテーマの側面により定義されるものとする（例えば製品の場合、項目は製品の種類、特徴、その他の要件、提供されるデータ、試験手法等となる））。補完的な正当化事由を、作業計画における特定の項目と組み合わせてもよい。作業計画案は、優先事項及び目標期日も提唱するものとする。

初期作業計画は以下の項目で構成されることになる。

1. バイオテクノロジー分野で国際的に認められる専門用語の確立（最優先。TC創始の2年後に完了の見込み）
2. コンピューター処理ツール及び計量学の開発（高い優先度。特に酵素学及び配列決定データの処理に関するものを優先。TC創始の3年後に完了の見込み）
3. 解析手法及び診断手法のほか、法医学科学関連の手法の開発（総体的に高い優先度。遺伝子発現解析手法の標準化から着手）
4. 細胞培養製品及び使い捨てバイオリアクター製品、及びその他の使い捨て品目（最も低い優先度。ゆるやかな開始を想定及び許容）

関連性：

統一された専門用語は必然的に、この分野での他の標準化手順に重要なものとなる。項目1、2及び3は互いに直接関連しており、それは解析手法及び診断手法の実践の成否が大いに、既定の実験条件、標準化されたデータ形式、そして一義的な用語及び定義に掛かっているからである。

この（初期）作業計画は、ゆるやかで体系的な成長が前提となる。上記の項目は最も急を要すると見なされ、従って最優先で処理されるべきである。

<p>提案の下で作成されることが望ましい成果物の種類（これを「初期作業計画案」と組み合わせる方が好都合であれば、そうしてもよい）。</p> <p>ISO 規格「専門用語集」、場合によっては複数の部にわたるシリーズとして。 検証済みの解析手法及び診断手法に関する ISO 規格。未検証の手法については ISO 技術仕様。 コンピューター処理ツール、計量学、酵素学及び配列決定データに関する ISO 技術仕様及び／又は ISO 規格。 実験用使い捨て製品に関する ISO 規格。</p>
<p>国際、地域及び国別レベルで関連のある既存の文書のリスト（既知の関連文書（規格や規制等）を、出典を問わず列記し、それぞれの重要性も併記のこと）。</p> <p>バイオテクノロジー分野は新しい分野とは言いがたく、また関連刊行物は膨大な数にのぼるため、関連文書を少しだけ以下に挙げる。</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ FAO、バイオテクノロジー及び遺伝子工学用語集（ISO 用語集の作成に極めて重要） ・ E 1705-11、バイオテクノロジー関連規格専門用語集（ISO 用語集の作成に極めて重要） ・ ISO 25720、保健医療情報—ゲノム配列変異マークアップ言語（データの統合可能性に関して重要） ・ CEN/TC 233 より刊行の諸規格（1996年～2000年）。初期作業計画には重要でないが、必要であれば再検討及び更新 ・ 生物科学コンソーシアム（例：機能的ゲノミクスデータ学会）の諸規格（例：MIBBI、MIAME） ・ 連絡機関や関係機関より提供の関連文書
<p>作業案がどのように既存の作業、特に既存の ISO 及び IEC の成果物に対して関連又は影響するかに関する、提案者からの説明（提案者は、類似すると見られる作業と作業案の相違点を説明、或いは重複や相反を最小限に抑える方法を説明のこと。類似又は関連すると見られる作業が既に当機構の他の委員会の適用範囲に該当する、又は他の組織で行われている場合、適用範囲案において作業案と他の作業を区別することとする。提案者は、自らの提案について、既存の委員会の適用範囲の拡大又は新規委員会の創設によって対処可能かどうか、示すこと）。</p> <p>重複及び／又は相反は、関係のあるグループや機関を適時に組み入れることで最小限に抑えられることになる。この TC の意図は、既に実践に成功している工程、製品、手法を作り直すことではない。むしろ、ISO/TC「バイオテクノロジー」は効率性を最大限に高め、最新技術を確保できるよう、関連の国際的委員会同士の協調を追求することになる。</p> <p>この提案は、バイオテクノロジーを新規技術活動分野として扱うこと、そしてバイオテクノロジーが新規技術委員会の責任の下に置かれるようにすることが目的である。理由は以下の3点である。</p> <ol style="list-style-type: none"> (a) この分野の幅広さと複雑さは、既存のどの委員会にも該当しないこと。 (b) この分野の確立には、関連する委員会との自然な成長と構造化された連携を確保しつつ、漸進的な構築過程が必要であること。 (c) この分野は本質的に進歩のペースが速いため、小委員会を簡単に増設できる柔軟性のある構造が必要となること。
<p>提案対象が国別の商業的利益にとって重要な関連国のリスト。</p> <p>オーストラリア、ベルギー、ブラジル、カナダ、中国、デンマーク、フィンランド、フランス、ドイツ、アイスランド、インド、イスラエル、日本、オランダ、ニュージーランド、シンガポール、韓国、スペイン、スウェーデン、スイス、英国、米国</p>
<p>成果物の開発に際し連絡機関として関与することになる、関連の外部国際組織又は内部当事者のリスト（他の機関との相反又は作業の重複を避けるため、相反又は重複の可能性のある部分を全て示すことが重要である。他の関係機関とのコミュニケーションの結果も記載のこと）。</p> <p><u>ISO/TC 48「実験機器」</u> （実験機器規格は、大部分のバイオテクノロジー関連手法に不可欠である。ISO/TC「バイオテクノロジー」では適合性を追求し、また共通の関心の的となる争点について協調を図ることになる。）</p> <p><u>ISO/TC 212「臨床検査及び体外診断検査システム」</u> （ISO/TC「バイオテクノロジー」では、冗長性を避け、標準化活動を最適化すべく、協調を図ることになる。）</p>

ISO/TC 229「ナノテクノロジー」

(ナノ物質とその毒物学は、日用品での多目的な用途を背景に、重要性が高まりつつある。ISO/TC「バイオテクノロジー」では、バイオテクノロジー関連用途におけるナノ粒子関連テーマについて、協調を図ることになる。)

ISO/IEC/JTC1/SC 37「バイOMETRICS」

(特に解析手法における統一された計量学の導入に向け、積極的協調が求められる。)

CEN/TC 140「体外診断用医療器具」

(ウィーン協定に従った積極的協調が求められる。)

CEN/TC 233「バイオテクノロジー」

(2001年から休止中。規格は体系的再検討が前提となり、場合によっては更新される。)

CEN/TC 316「細胞、組織及び/又はそれらの派生物を活用する医療用製品」

(ウィーン協定に従った積極的協調が求められる。)

CEN/TC 411「バイオ製品」

(ISO/TC「バイオテクノロジー」では、特に専門用語及び生物溶媒について、ウィーン協定に従って協調を追求することになる。)

CEN/TC 419「プロジェクト委員会－法医学サービス」

(ISO/TC「バイオテクノロジー」では、ウィーン協定に従って協調を追求することになる。)

ASTME 48「バイオテクノロジー」

(最近、専門用語規格を撤廃した。ISO/TC「バイオテクノロジー」では、最新の専門用語規格の創出について、協調を追求することになる。)

影響を受ける関係者の分類(中小企業を含む)の特定、並びに関係者がそれぞれどのように成果物案の恩恵に与る又は影響を受けるかについての簡潔な説明。

世界中の研究機関が、この委員会による標準化作業の恩恵に与ることになる。研究機関は特定の規格の結果を独自の研究に取り入れることができるようになるだけでなく、TCは研究者がプロセスに参加し、バイオテクノロジーの進歩に一層貢献するための知識を共有することも可能にすることになる。生命科学者は、1つの組織だけでなく産業全体にとっても役立つ効率的なツールや手法の発見に向けた熱意を共有する。ISO/TC「バイオテクノロジー」はさらに、技術革新も積極的に促進することになる。企業、研究開発施設、NGOは、データの交換や統合を可能にするような、全世界的に受け入れられる手法の導入に向けた戦略を立てることができるようになる。これは転じて、参加当事者でない科学者や生命科学規格利用者に対しても、これらの手法やデータ形式を簡単に応用できるようにし、その結果、国際協調を推進するものとなる。

研究の基礎的な質は個々の規格で文書化され、信頼性を高め、その結果、**規制機関、商業及び研究**へ訴求するものとなる。

国際的専門家のグループにより創出される規格は、検証済みの実務、技術要件、そして工程、製品、サービスに関する専門用語を表すものであり、使用者(供給業者、試験所、依頼主、即ちバリューチェーンに沿った全ての関係者)がそれを導入すれば、普遍的なレベルの質を提供するものである。他の技術分野同様、国際的バイオテクノロジー規格は、最大限に効率的、安全で費用効果的な製品や手法を確保すべく、考案されることになる。結果として、中小企業は標準化された日常的解析手順を頼りにし、研究開発資金を将来の革新的技法へ配分できるようになる。

最後に、ISO/TC「バイオテクノロジー」は、小規模の研究開発試験所から大規模生産施設に至るまで、参加当事者や使用者にとって持続可能かつ環境的に安全な行動について議論するための、国際的な場を提供することになる。

提案が採用された場合に委員会事務局を提供する旨の、提案者からの誓約の表明。

DINは、提案する委員会の事務局の職務を請け負う意思がある。

DINは、委員長を指名する意思もある。

提案の目的及び正当化事由。(作成されることになる規格の目的及び正当化事由を明確にし、規格に含

まれることになる側面（特徴等）それぞれの標準化の必要性を正当化すること。ISO/IEC 指令第 1 部付属書 C の C.4.12.1 項から C.4.12.10 項に、提案の目的及び正当化事由の裏付けとなり得る関連資料について、提言又はアイデアがメニュー形式で記載されている。提案者はこれらの提言を考慮すべきであるが、それらに限定されるわけではなく、またそれらを厳格に守ることを要求されるわけでもない。最も重要なのは、提案者が自らの提案に対して最も関連性の高い、そして市場との関連性や提案の必要性について、実質的なビジネスケースを構成する、目的及び正当化事由の情報を策定し提供することである。目的及び正当化事由について綿密で内容が充実し、しっかりした資料を作成すれば、提案について、より見聞の広い考察が可能となり、究極的に ISO/IEC システムにおける成功の可能性に結び付く。）

はじめに

何世紀も前に遡る制御発酵の発明以来、バイオテクノロジーは我々の日常生活に多大な影響を与えてきた。バイオ燃料、バイオレメディエーション、医薬品、農作物、そして産業用酵素が代表例である。生体系、有機体及びそれらの派生物を適切に利用することが、現代社会においては、増加の一途を辿る世界人口の需要に応えつつ、環境面での安全と健康を保証する上で、最も重要である。これは特に、バイオテクノロジーの進歩における有形の生産物に当てはまる（ただしそれに限定されるわけではない）。

目的

収束的、学際的な特徴を背景に、バイオテクノロジー分野は分類又は統括することが難しく、そうした理由から、対象に含めたい全ての分野の完全な、或いはせめて完全に近い形のリストを、現段階で提案者が提供することは不可能である。しかし、多岐にわたり応用できる可能性があるため、専門用語を標準化する必要がある。バイオテクノロジーのあらゆる分野（赤（医療）、白（工業）、緑（環境））で専門用語を共通化すれば、科学研究機関や企業などが明確にコミュニケーションを図り、学際的研究を推進できるようになる。用語、略称及び頭字語を包括的に編纂したものは、バイオテクノロジー（及び関連の）産業の科学者、エンジニア、技術者、そして企業オーナーはもとより、研究機関や政府機関にとっても、便利な参考資料である。

よって、この標準化作業案の第一歩は、可能な学際的作業の実行であり、それは一層入り組んだ状況、例えば検証済みの解析手法の標準化といった作業を進めるに当たっての足掛かりとなる。

遺伝子発現解析、STR 解析、或いは関連の DNA プロファイリング技法などの解析手法の標準化は、工程の円滑化に繋がり、また既定の品質保証／品質管理対策に基づく、結果の全世界的な比較や交換が可能となる。

同様に、生物薬剤学的診断手法の標準化も、手軽な利用を拡大し、研究資金の積み増しにも繋がる。一方、診断手法又はハイスループット手法が生み出すデータは解釈を要し、それもやはり、国際的に認められた言語に書き換えねばならない。

最近、ハイスループット配列決定手法を手軽に利用できるようになった結果、必然的に、膨大な量の複雑なデータが、解析され整理されるのを待つ状況となった。従って、最も切迫した課題の 1 つが、有機体の遺伝子組成、及び有機体の健康に対するその重要性についての理解を向上させるための、コンピューター処理ツールの開発である。

データの迅速解析及び表示の手順を標準化すれば、プロテオミクス、メタボロミクス、薬理ゲノミクスといった分野が即座に進歩するという成果に繋がる。これらは全て、地理的起源を問わず、生物学的モデリングに利用可能となりそうな信頼性のある統合可能なデータに頼る部分が大きくなっている。

同様の需要が、法医学分野でも見受けられる。多数の国々が国内規格運用手順を個々の事例に当てはめている一方、グローバル化が進んだ世界での手法やデータの交換、そしてその後における応用は、標準化も規制もされていない。

今回提案する作業は、日常解析向けの現代的技法の提供によって、法医学者と規制機関の間の効果的な連携を構築し得るものである。

正当化事由

1990 年代中期、産業界と研究機関は欧州標準化委員会（CEN）と提携して、技術委員会 CEN/TC 233 「バイオテクノロジー」における、大規模生産工程、性能基準及び反応容器基準に関する規格を成功裏に実践した。使い捨て容器、バイオリクター、センサーの使用の増加（特に高価値製品の生産における増加）は、これらの品目に対する産業界の関心を明確に示すものである。金銭的節約は、調製時間や洗浄時間の節約と直接、相関関係にある。

1990 年、バイオテクノロジー研究に関する EU・米国共同タスクフォースが創設され、その目的は、グローバルレベルでの冗長な実験の削減と効率化に向け、欧州委員会と米国政府間で研究プログラムの調整を図ることであった。2011 年 6 月に発表された「戦略プラン 2011-2015」は、この分野の革新的潜在性を

活用することの重要性を明確に示すものである。このタスクフォースの焦点は動物バイオテクノロジー、バイオ製品、環境バイオテクノロジー、海洋ゲノミクス、植物バイオテクノロジー、そして合成生物学で、これらは全て、国際的に顕著な関心を集め、様々な関係者に大きく影響を与えている[1]。その上、標準化された手順は、品質保証検査の裏付けとなるほか、国際的な GMP/GLP 要件にも対応し、実践を推進するものである。

明確にしておくべき点として、学術研究又は中小企業研究を標準化するという試みは予定していない。しかし、ここ 10 年間で、研究機関と産業界の密接な協調が大きな進歩と便益の両方に結び付くことが分かった。

2009 年、ISO はバイオテクノロジーに関する独自のタスクフォースを創設し（理事会 25/2009）、その狙いはバイオテクノロジー分野での標準化に関して ISO 加盟機関や ISO 技術担当機関から寄せられた情報の解析である[2]。この解析の結果、ISO が 2011 年 6 月に用語及び定義に関するウェビナーを開催し[3]、続いて「バイオテクノロジーに関する国際規格」と題したワークショップが開かれた。このワークショップの要約が、本提案書に添付されている。

バイオテクノロジー分野への ISO の関与は、大部分の参加者が望ましいと捉え、またバイオテクノロジーに関する ISO 技術委員会新設の可能性についても同様であった[4]。

規格における特許

専門家が世界中から集まって実施する標準化作業は、現代社会の進歩における礎である。どの産業分野でも、規格の重要性はいくら強調しても足りないもので、また歴史が何らかの指針となるのなら、標準化の基本である開放性は、想像力に影響を与え続ける。対照的に、バイオテクノロジーやその他の生命科学分野は従来、知的財産権（IPR）を軸に進展するものであり、IPR は元来、発明を他者が実践することを排除する権利を特許所有者に与えるものである。しかし、特許の価値は、それが促す技術革新と同程度に過ぎない。

規格制定機関が従来、規格における特許の使用を懸念してきたとは言え、最近ではこうした留保が変わってきた。規格制定機関での IPR 開示は 1990 から 2005 年にかけて増加し続け[5] [6]、おそらく今後も同様と見られる。

現在、各国の標準化機関は、特許取得技術を規格に取り入れるという構想を抱き、研究開発部門に対しては技術革新を技術仕様に盛り込むことを積極的に奨励している。特許を規格に取り入れることは、例えば許諾技術へのアクセスの加速、補完的技術の向上、取引コストの削減、クロスライセンスの利用など、非常に多くの利点がある[7] [8]。

要約

既に証明済みであるように、国際規格での国際協調は、技術革新を促し、開発サイクルを短縮し、生命科学分野における持続可能な研究計画を支えるものである。こうした利点の定量化は不可能に近いが、2011 年に開かれたワークショップ「バイオテクノロジーに関する国際規格」で実証されたように、規格と研究を一体化する必要性はもとより、それに向けた献身や熱意も、全ての人々にとって過少評価されてきた期間が長過ぎた。その多用途性を背景に、バイオテクノロジーはナノテクノロジー同様、独自の技術委員会を必要としており、それは既存の委員会と協調できる委員会である（連絡機関参照）。

知識や、他の研究者が持つ検証済みの経験へ、研究者が制限なくアクセスできれば、科学はもっと急速に、もっと費用効率的に、進歩するであろう。

参考文献

- [1] US-EU Task Force on Biotechnology Research, Five Year Strategic Plan, 2011
- [2] ISO task force on biotechnology, council 25/2009, 2009
- [3] ISO task force on biotechnology, WEBINAR Terms and Definitions, 2011
- [4] ISO Workshop, “International Standards for Biotechnology” - Results and Directions for future actions, 2011
- [5] Shapiro, Carl: Navigating the patent thicket: cross license, patents pools and standard setting; in Jaffe, Adam B. et al., Innovation Policy and the Economy. I. Cambridge: MIT Press. pp. 119-150, 2001
- [6] Simcoe et al.: Competing of Standards? Entrepreneurship, intellectual property and the platform paradox, NBER Working Paper Series, 2007
- [7] Hargreaves, Ian: Digital Opportunity, A review of intellectual property and growth, 2011
- [8] Cukier, Kenneth Neil: Navigating the future(s) of biotech intellectual property, Nature Biotechnology, Vol. 24, 2006

提案者署名

【添付資料】

ISO ワークショップ

「バイオテクノロジーに関する国際規格－結果及び将来の行動方針」

1. ワークショップについて

目的

バイオテクノロジー分野の標準化に最も積極的な機関同士の対話を促進すること、主要関係者間での理解向上を促すこと、そして既存の ISO 技術統括機関へ検討を求めるため伝達されるインプット、関連事案に関する勧告、並びに可能性のある優先行動項目を把握すること。

強調しておくべき重要事項として、これらの勧告は本質的に前標準化的である。ISO がバイオテクノロジー分野での新規規格開発活動を開始する場合、これらは ISO の適正手続きを経て（利害関係者や影響を受ける関係者を代表する専門家が関わり、国別の規格制定機関網や国際的な関係者機関との連絡網を通じて）決定及び策定されることになる。

参加者

この分野における主要関係者の一部、即ち研究／学術環境と強く結び付いた「草の根（基幹的）」規格制定機関、生物科学向けの計量学に多大な関心を寄せる国別の計量学研究機関、バイオテクノロジーに特に関心を寄せる選定された ISO 委員会（典型的に特定の領域における「縦型」応用に関連する委員会）、並びに OECD や BIPM などの国際機関、これらを代表する、12 カ国から集まった約 40 名の専門家。

2. 結果及び将来の行動方針

情報交換

プレゼンテーション及びパネルディスカッションにて、以下に関する情報が提供された。

- － ワークショップ参加機関が請け負う標準化計画の適用範囲、目的及び成果物
- － 対処すべき最も重要なニーズ及び課題（特に専門用語、測定及び特性評価を重視）
- － 既存のイニシアティブの支援及び価値の付加に ISO が果たし得る役割、並びに部門ニーズに応えるため ISO が対処できる具体的な活動／優先事項

全ての発言者のプレゼンテーションは本ワークショップのウェブサイトに掲載されており、参照向けに閲覧可能である[<http://www.iso.org/sites/biotechnology2011/index.html>]。

ISO の役割

概して、ワークショップ参加者はこの分野での ISO の関与強化を支持した。

理由は以下の通り。

- ISOにおける認められた国際規格の策定（及び維持）や確立されたインフラストラクチャは、「基幹的」バイオテクノロジー規格グループなど他の機関が行う作業の強化／結束に役立つと考えられる。
- ISOは関連する部分について、諸機関が特定の領域に焦点を当てて請け負う作業が重複しないよう配慮しつつ、作業の整合化を推進できる。
- ISOの新たな作業は、より強固で効果的な規制機関との連携を構築することができ、その結果、ISOの規格策定プロセスから派生する正当性を健全な技術的内容と統合する規格がもたらされる。
- 規格（既存のグループが既に策定したものを含む）の利用者層拡大を促進し、あらゆる関係者グループをカバーするのに役立つと思われる。
- ISOの全世界的活動範囲は、発展途上国や新興経済国の関係者による関与や利用の増強の支援となり得る。

勧告

参加者から寄せられたインプットを集約する試みが為され、この分野でのISOの関与の指針とすべきいくつかの全般的基準や、バイオテクノロジー分野において新たにISOの作業となりそうな範囲とそれを構造化する方法に関するいくつかの具体的な目安について、一連の勧告が強調された。これらの勧告はISOの技術統括機関へ提出され、検討を求めることになる。

1. 全般的基準

前述の通り、バイオテクノロジー分野におけるISOの関与は、大部分の参加者が望ましいと捉えた。ディスカッションは、ISOの新たな作業の可能性の指針とすべき、以下に挙げる重要な基準の明瞭化に役立った。

- 広いカバー範囲、大きな効果：ISOが対処する対象事案は、多岐にわたる関係者にとって重要な関心の的となり、かつそれら関係者が応用可能な（そして特に、産業界のニーズに関連する）ものであるべきである。
- 包含性及び協力：何らかの新規規格作業を請け負うに当たり、ISOは標準化グループ及びその他、既にこの分野へ積極的に関わっている機関と共に、既に利用可能な成果物の連携、導入、一元化、或いは精緻化を視野に、関与及び／又は協力すべきである。
- 学術研究：学術研究を「標準化」しようとするべきではない。ただし、研究グループや学術グループとの強固な関係は望ましい。学術研究から産業への応用に至るまで、潜在的な連続体が存在し、またガイドラインは、技術革新の連鎖に関わる全ての関係者が信頼性のある「再現可能な研究」の達成を視野に、共通の言語で討議することの確保に役立ち得る。
- スピード：生物科学／バイオテクノロジーは広大で、極めて動きの速い分野である。これは、ニーズの急速な進化へ効果的に適応可能な手順（特異的な選択肢／変化を伴う）の適用を必要とする。肯定的な例が引き合いに出され、例えばPSI（HUPOプロテオミクス規格イニシアティブのプロセスでは規格の報告を約90日以内で承認す

ることを勘案し、またバイオテクノロジー産業や再生医療の関係者の支援となる BSIPAS 83 や PAS 93 では、文書の承認を 6 カ月から 12 カ月の時間枠で承認することを勘案している。

— ガイドライン及び規格：少なくとも第一段階では、一連の様々な機関の作業を考慮に入れ、様々な関係者グループの意識高揚に役立ち得るガイドラインの策定を重視することが望ましいと思われる。規格はもっと後の段階で適切となり、ガイドラインや利用者の実体験に基づいて開発するとよい場合もある。

2. 適用範囲

参加者は、この分野における標準化の課題（特に専門用語、測定及び特性評価）に対処する効果的な手段は、以下の要素から成るマトリックスに基づく、概念上の枠組を検討することであろう、という点で合意した。

— 片方の軸では、以下のような、アッセイの準備、実行及び結果に関する水平的な課題

- ・ 試料の調製
- ・ 試料の処理及び取り扱い
- ・ 実験方法論
- ・ データの構造化及び処理
- ・ 報告

— もう片方の軸では、生物科学／バイオテクノロジーにおける以下のような様々な専門分野と、特定の用途に関連するそれぞれの特性評価

- ・ ゲノミクス（例：保健医療）
- ・ プロテオミクス（例：生物薬剤）
- ・ 機能的ゲノミクス（例：細胞特性評価）
- ・ メタボロミクス（例：毒性遺伝学、食品安全性）

このようなマトリックスの開発（バイオシェアリングなど、既に進行中の取り組みを活用）は、共通性と格差、規格やガイドラインの有無の明確化を可能にすると共に、マトリックスの様々なセルをカバーする既存の成果物のポートフォリオの評価にも繋がる。

そうした枠組の開発を、新たな ISO 委員会の活動範囲に含めるべきであり、また例えば、最初に取り上げる作業の 1 つに挙げてもよい（TC 業務計画の策定との関連）。

1 つ又はいくつかの「縦型」優先領域を、共通の上質なガイドラインの策定を視野に取り上げ、そして第二段階で国際規格へと作り上げるといった可能性もある。

「ゲノム配列決定」¹のテーマは、特に様々な応用領域（保健医療、環境など）との関連性を踏まえ、優先度の高い分野とされた。

3. 構造

バイオテクノロジーに関する ISO 技術委員会の新設の可能性は、参加者から肯定的に捉えられた。

係る委員会は項目 2（「適用範囲」）に記載のような課題をカバーする基礎的な、「水平的」性質の委員会であるべきである。また、ISO の諸 TC/SC 及びその他のグループを含む多様な機関との（連絡機関又はその他、合同作業部会などの仕組みを通じた）協力に向け、門戸を開くべきである。

ISO TC 229「ナノテクノロジー」は、バイオテクノロジー分野に対処するため ISO が踏襲できる、有用な例に挙げられた。この委員会は、幅広い分野にまたがる用途をカバーする一連の技術担当機関と協力して取り組む、広範な専門分野の基礎的側面に焦点を当てている。

参考までに、TC 229 の適用範囲を以下に記しておく。

以下のいずれか又は両方を含む、ナノテクノロジー分野における標準化

- 1. サイズ依存的な現象の開始が通常、新規用途を可能にする、1 つ又は複数の寸法において典型的に、ただし排他的ではなく、100 ナノメートル以下のナノスケールでの物質及び工程を理解及び制御すること。
- 2. 個々の原子、分子、及びバルク物質の特性と異なるナノスケールの材料の特性を、その新しい特性を活かして改良された材料、装置、及びシステムを生み出す目的で活用すること。

具体的作業には以下の事項に関する規格の策定が含まれる：専門用語及び命名法、計量学及び計装（基準材料の仕様を含む）、試験方法論、モデリング及びシミュレーション、科学ベースの健康、安全、及び環境関連の慣行。

4. その他の課題

ワークショップで議論された他の課題の中で、バイオセーフティ及びバイオセキュリティのテーマに関するものがあった。特に、NEN（オランダの規格制定機関）及び SGS（Société Général de Surveillance）社の代表が、この分野で CEN が手掛けている作業と、これまでに公表された下記 2 件の CEN ワークショップ協定を強調した。

- CWA 15793:2008（研究所のバイオセーフティ及びバイオセキュリティに関する管理システムを記述）
- CWA 16335:2011（バイオセーフティ・プロフェッショナル（BSP）の適格性を記述）

ISO は、これらを ISO 文書に転換する可能性の検討を求められた。

¹ ディスカッションではゲノム配列決定の最前線（即ち「次世代の配列決定」又は「超ハイスループット配列決定」）に焦点を当てた。しかし、参加者は、そうした動きの速い分野では形容詞や最上級表現の使用も急速に進化する、という点に合意した。そのため、「ゲノム配列決定」という平易な定義が、それは最先端技術をカバーするはずであるとの理解に立って、好まれた。

3.5 DNA チップに関する実証試験

3.5.1 実験目的

205 個の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、アガリクス抽出物およびブレフェルディン A (Brefeldin A、BFA) のエストロゲン活性を評価することにより、混合物のチップ解析の信頼性を検証した。

3.5.2 実験方法

3.5.2 (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、上記 2 種類の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 1-12)。

3.5.2 (2) 実験方法の説明

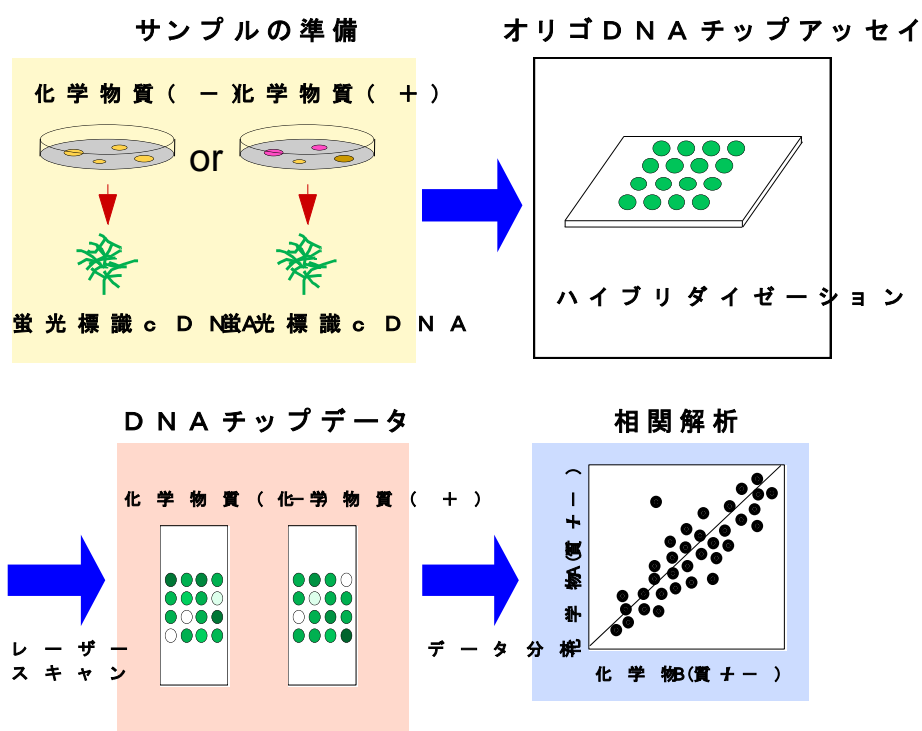


図 1. 実験方法。化学物質で処理なし (化学物質 (-)) あるいは処理した (化学物質 (+)) 細胞から、total RNAを抽出した。抽出したRNAからcDNAを合成し、蛍光色素で標識した後、オリゴDNAマイクロアレイに対してハイブリダイゼーションを行う。DNAチップ上のスポットの蛍光強度をレーザーキャナーにより計測し、測定されたデータはマイクロソフトエクセルを用いて分析した。各スポットについて、化学物質 (+) と化学物質 (-) の蛍光強度の比率を計算し、この比率を 28 個のコントロール遺伝子の値で補正して、 \log_2 値に変換した。化学物質AとBとの間の相関により化学物質の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

(a) トータル RNA の抽出

活性炭で処理した培地で三日間培養したヒト乳癌細胞 MCF-7 に化合物を加えて、さらに三日間培養した後、細胞を回収し、QIAGEN の RNeasy Plus Mini キットを使用して、細胞からトータル RNA を抽出した。DMSO で処理した細胞をコントロールとして用いた。

(b) mRNA の増幅

ジーンアレイのハイブリダイゼーションには多量の RNA が必要となる。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。

(a) 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。

(c) cDNA の合成および蛍光標識

(b) 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。

(d) DNA チップアッセイ及びデータ分析

(c) の標識法で調製した標識 cDNA を DNA チップに載せて、65°C で一晚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。

3.5.3 実験結果及び考察

今回の実験で評価した化合物の中に、アガリクス抽出物の平均値とエストロゲンとの間の相関係数は 0.65 である (3 回それぞれの相関係数 $R=0.57$, 0.52 , 0.59) (図 2A 参照)。BFA の平均値はエストロゲンとの間に 0.69 の相関係数が得られた (3 回それぞれの相関係数 $R=0.73$, 0.66 , 0.64) (図 2B 参照)。それぞれ 3 回行った結果において、安定した相関係数が得られたことがわかった。

アガリクス抽出物の解析結果については、論文で発表した結果 ($R=0.84$ 、文献 10 参照) と比べて低い相関性が示した。その原因として、サンプルの長期保存による沈殿物を生じたため、溶液中の有効成分の濃度が下がったと考えられる。BFA は市販の精製化合物であるため、論文で発表した結果 ($R=0.61$ 、文献 11 参照) と似た相関性を示した。

これらの結果から、このマイクロアレイ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を得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。

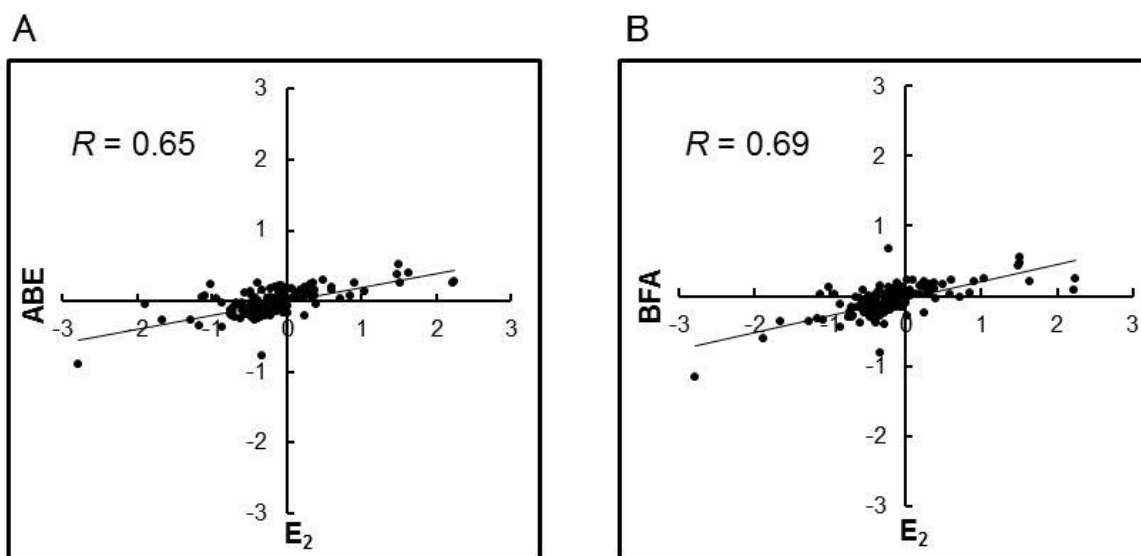


図 2. 各化合物の DNA マイクロアレイアッセイの結果とエストロゲンの結果の間の遺伝子発現プロファイルの相関解析。150 個のエストロゲン反応遺伝子を用いて、解析を行った。縦軸と横軸はシグナルの蛍光強度を \log_2 値で示している。

3.5.4 参考文献

1. Inoue, A., Yoshida, N., Omoto, Y., Oguchi, S., Yamori, T., Kiyama, R. and Hayashi, S. (2002) Development of cDNA microarray for expression profiling of estrogen-responsive genes. *J. Mol. Endocrinol.* 29, 175-192.
2. Terasaka, S., Aita, Y., Inoue, A., Hayashi, S., Nishigaki, M., Aoyagi K., Sasaki, H., Wada-Kiyama, Y., Sakuma, Y., Akaba, S., Tanaka, J., Sone, H., Yonemoto, J., Tanji, M. and Kiyama, R. (2004) Expression profiling of the estrogen responsive genes for evaluation of estrogen activity among natural estrogens and industrial chemicals using a customized DNA microarray. *Environ. Health Persp.* 112, 773-781.
3. Ise, R., Han, D., Takahashi, Y., Terasaka, S., Inoue, A., Tanji, M. and Kiyama, R. (2005) Expression Profiling of the Estrogen Responsive Genes in Response to Phytoestrogens Using a Customized DNA Microarray. *FEBS Lett.* 579, 1732-1740.
4. Terasaka, S., Inoue, A., Tanji, M. and Kiyama, R. (2006) Expression profiling of estrogen-responsive genes in breast cancer cells treated with alkylphenols, chlorinated phenols, parabens, or bis- and benzoylphenols for evaluation of estrogenic activity. *Toxicol. Lett.* 163, 130-141.
5. Dong, S., Inoue, A., Zhu, Y., Tanji, M. and Kiyama, R. (2007) Activation of rapid signaling pathways and the subsequent transcriptional regulation for the proliferation of breast cancer MCF-7 cells by the treatment with an extract of glycyrrhiza glabra root. *Food Chem. Toxicol.* 45, 2470-2478.
6. Parveen M, Inoue A, Ise R, Tanji, M. and Kiyama, R. (2008) Evaluation of estrogenic activity of phthalate esters by gene expression profiling using a focused microarray (EstrArray). *Environ. Toxicol. Chem.* 27, 1416-1425.

7. Parveen, M., Zhu Y. and Kiyama, R. (2009) Expression profiling of the genes responding to zearalenone and its analogues using estrogen-responsive genes. *FEBS Letters* 583, 2377-2384.
8. Dong, S. and Kiyama, R. (2009) Characterization of estrogenic activity of ginsenosides in MCF-7 cells using a customized DNA microarray. *Food Chem.* 113, 672-678.
9. Xu, Q., Hamada, T., Kiyama, R., Sakuma, Y. and Wada-Kiyama, Y. (2008) Site-specific regulation of gene expression by estrogen in the hypothalamus of adult female rats. *Neurosci. Letts.* 436, 35-39.
10. Dong, S., Furutani, Y., Suto, Y., et al. (2012) Estrogen-like activity and dual roles in cell signaling of an *Agaricus blazei* Murrill mycelia-dikaryon extract. *Microbiol. Res.* 167(4), 231-237.
11. Dong, S., Furutani, Y., Kimura, S., et al. (2013) Brefeldin A is an estrogenic, Erk1/2-activating component in the extract of *Agaricus blazei* mycelia. *J. Agric. Food Chem.* 61(1), 128-136.
12. Zhu, Y., Kitamura, K., Maruyama, A., Higashihara, T., Kiyama, R. (2012) Estrogenic activity of biodegradation products of C-heavy oil revealed by gene-expression profiling using an oligo-DNA microarray system. *Environ. Pollut.* 168, 10-14.

4. 検討結果

4.1 標準化資料「DNA チップを用いた医療用診断装置の評価法に関する指針」

(確定作業中のため本文の掲載は省略)

5. 平成 24 度の総括と今後の展望

5.1. 平成 24 度の総括

平成 24 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、遺伝子発現解析用 DNA チップに関する標準化資料の作成を進めた。遺伝子診断用 DNA チップに関する最新情報を得るために、特定非営利活動法人バイオチップコンソーシアムの福島達伸氏（三菱レイヨン株式会社）による国内外の開発動向に関する話題提供（「遺伝子発現解析用 DNA チップ開発状況及び標準化動向調査 今年度調査概要と予備調査について」：「3.2.1 話題提供（1）」項参照）と、東洋鋼板株式会社の岡村浩委員による話題提供（「ジーンシリコン及び専用蛍光検出器用いた遺伝子診断～ダイヤモンドライクカーボンのバイオチップへの応用～」：「3.2.2 話題提供（2）」項参照）及び、九州大学の久原哲委員による話題提供（「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開発：サブテマ テーラーメイドがんワクチン療法適格性予測診断キット開発」：「3.2.3 話題提供（3）」項参照）と、事務局による「本年度 DNA チップ開発ガイドライン事業の説明」（第 1 回開発ワーキンググループ委員会：参考資料「1. 本年度ガイドライン事業の説明資料」及び「2. 本年度 DNA チップ開発ガイドライン事業の説明資料」参照）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（「3.3 委託調査」項参照）、遺伝子発現解析用 DNA チップに関する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。また、本年度ガイドライン策定に必要な情報として、SPIDIA ニュースレターと「ISO/TS/P 231 関連資料」の翻訳資料を作成した（「3.4 欧米における DNA チップ関係の規制及び報告書」項参照）。また、DNA チップに関するアプリケーションと信頼性の評価例をいくつかの化学物質について試験した結果を実証試験例として示した（「3.5 DNA チップに関する実証試験」項参照）。

話題提供に関しては、「3.2 話題提供」にまとめたので参照されたい。事務局によるガイドラインの説明は参考資料にまとめた（「参考資料」参照）。バイオチップコンソーシアムが行った調査は「3.3 委託調査」にまとめた。なかでも重要と考えられる、EU/SPIDIA の動向、FDA/MAQC-III の動向及び ISO 新 TC の設立動向は、今後の DNA チップに関する標準化に重要に関わるので、以下にまとめる。

【EU/SPIDIA の動向】

SPIDIA（Standardization and improvement of Pre-analytical procedures for In vitro DIagnostics）は、欧州共同体（EU）において、ヨーロッパ域内で共通の臨床サンプルの採取、取扱い、輸送、処理、保管など前処理（プレアナリシス）段階での品質保証のためのガイドラインを作成することを目標として 2007 年にスタートした。臨床検査の現場で起こる問題の 60-70% がプレアナリシス段階にあるとされている。このため、プレアナリシスの標準化を進めるために、ヨーロッパの 7 公的研究機関、8 企業及び標準化委員会（European Committee for Standardization：CEN）がコンソーシアムを結成し、SPIDIA プロジェクトが発足した。コーディネーター役は大手試薬メーカーのキアゲン社が務めている。プロジェクト期間は、2008 年 10 月から 4 年間とされていたが、2013 年 3 月まで延長された。主な取組内容は、（1）体外診断用前処理の品質保証スキーム・ガ

イドラインの確立、(2) 組織、血液サンプルの安定化をはじめとする技術革新、(3) 管理面、倫理面における情報の流通、コンプライアンス確立、の3点である。

また、本事業において、SPIDIA 事務局に対して行ったヒアリングにより、以下の点が明らかになった(バイオチップコンソーシアム報告書による)。まず、2012年の主な成果として、ヨーロッパ各国のラボが参加し、血液からRNAを抽出した際の品質を相互に比較し、キアゲン社の採血管PAXgeneを用いて調製したRNAの品質が上回っていることを示した。この結果は、欧州規格委員会(CEN)のTC140において、NWIP(New Work Item Proposal)として承認され、今後、同委員会の中で、文書化を行う予定である。当初は、Technical Reportとして2013年4~6月頃を目処に原案が作成されるが、CEN承認には、3~5年掛かる。

また、血液RNAリングトライアルではRNA品質管理のパラメーターを探索した。ヨーロッパ全域の多施設ラボで血液採取、運搬によるRNA品質への影響をIL1B、IL8、FOS、GAPDHの遺伝子発現をもとに検証した。

【FDA/MAQC-IIIの動向】

FDAが主導しているMAQC-IIIは、SEQC(sequencing quality control)として次世代シーケンサーの技術性能を評価するために実施している。具体的には、シーケンサー同士のデータ互換性及びRNA-seqデータ(遺伝子発現のシーケンス解析)とマイクロアレイのデータ比較を行っている。これらの成果をもとに、FDAが薬事承認を与えるときのガイドラインをまとめる。個人化医療のためのトランスレーショナル・レギュラトリーサイエンス促進に向けて、マイクロアレイに続き、次世代シーケンサーの互換性、性能評価を行っている。今後開始されるMAQC-IVでは、副作用の予測と患者個別の薬物/タンパク質のインタラクトーム(相互作用)の解析を進める予定である。

【ISO新TCの設立動向】

ISOにおいてバイオテクノロジー分野を横断的に扱うTCを起ち上げる動きがあり、ドイツ規格委員会(DIN)が設立提案書をISO事務局へ提出した(2012年7月)。全29国の投票結果は賛成23国、反対2国、棄権4国であったため、2013年中に設立する見込みである。事務局はDINが務める。日本は、日本工業標準調査会(JISC)を通じて、賛成票を投じた。これに対し、米国国家規格協会(ANSI)は反対の立場を表明しており、米国対各国の構図になっている。本TCでは、用語の定義・測定法・分析、診断法・コンピューターツール(バイオインフォマティクス)・バイオサンプル、バイオバンク・バイオリクターを対象とし、バイオセーフティ・マネジメントシステム、生物学的製剤のリスクマネジメント、法医学は除外される。

これらの情報をもとに、平成24年度の開発ワーキンググループ委員会では、「測定装置」、「評価法」、「標準物質」に分けて標準化項目について検討し、その結果をJISのTSのフォーマットを用いてまとめた(図「遺伝子発現解析用DNAチップに関する標準化資料」及び「4.2標準化資料」項参照)。

遺伝子発現解析用DNAチップに関する標準化資料

標準化資料

本年度成果

「DNAチップを用いた医療用診断装置の評価法に関する指針」

1. 適用範囲

2. 引用規格

3. 用語及び定義

4. 評価方法

- 4.1 他の発現解析手法との比較による評価
- 4.2 データ解析及び解析ソフトに関する評価
- 4.3 妥当性の確認
- 4.4 臨床性能試験
- 4.5 判定アルゴリズム
- 4.6 データの管理に関する評価
- 4.7 判定に関するリスク評価
- 4.8 安全性に関する評価

附属書A DNAチップを用いた医療診断装置の原理、構造等

- A.1 一般
- A.2 原理と構造
 - A.2.1 RNAの検出原理
 - A.2.1.1 サンプル調製方法
 - A.2.1.2 標識方法
 - A.2.1.3 検出方法
 - A.2.2 チップと装置の構造
- A.3 方法
 - A.3.1 検出の概要
 - A.3.2 装置の機能

- A.4 特異性、感度、ダイナミックレンジ及び再現性
 - A.4.1 特異性
 - A.4.2 感度・ダイナミックレンジ
 - A.4.3 再現性
 - A.4.4 検査の品質管理
 - A.4.5 その他、性能特性に影響する要因
- A.5 必要とする検体・サンプル、サンプルの前処理・保存、試薬等
 - A.5.1 検体・サンプル
 - A.5.2 サンプルの前処理
 - A.5.3 サンプルの保存
 - A.5.4 試薬
 - A.5.5 試薬の保存性・安全性
 - A.5.6 自動化
- A.6 ソフトウェア
 - A.6.1 装置を構成するソフトウェアの概要
 - A.6.2 判定アルゴリズムの原理と概要
- A.7 データ処理
- A.8 品質管理
 - A.8.1 DNAチップ
 - A.8.2 検査装置

附属書B 標準物質

- B.1 目的
- B.2 標準物質に求められる要件
 - B.2.1 標準物質の選定
 - B.2.2 標準物質の管理
 - B.2.3 標準物質の入手

- ・評価法を中心にまとめた
- ・国際規格への提案を視野に入れた修正
- ・引用規格など前例を記載

5.2. 今後の展望

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）に提言として提出され、検討された（平成 25 年 3 月 4 日、第 12 回合同検討会）。

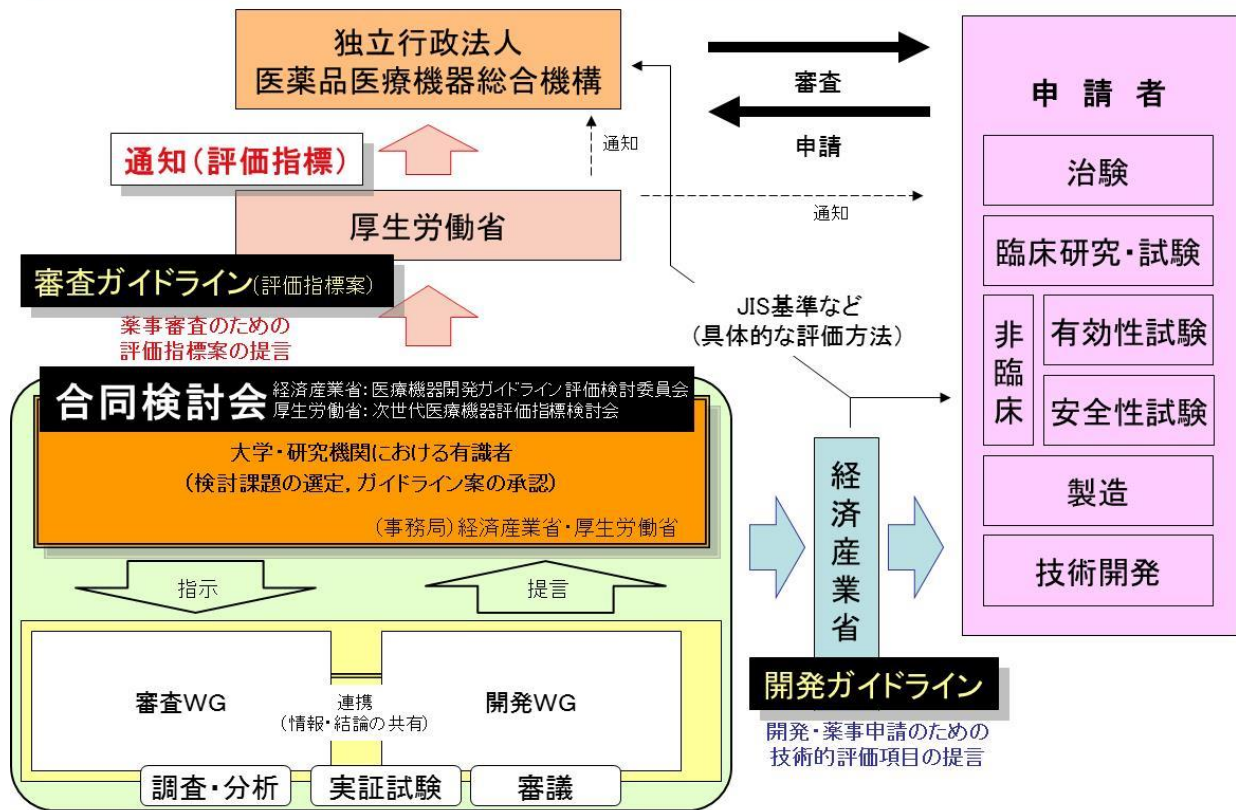
本事業の成果は、それぞれの省において以下の様な形で公表・活用される予定である（図「次世代医療機器に対する開発ガイドラインと評価指標」参照）。

- (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 などの標準の検討。

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。

平成 24 年度は、本事業において、ガイドラインの普及活動として標準化資料の作成を行った。標準化資料のフォーマットとしては JIS の標準仕様書（TS）を用いたが、単に JIS 化を進めるだけでなく、国際標準化を志向した標準化資料を目指した。今後は ISO の新 TC などにおいて本資料が参考となり遺伝子診断用 DNA チップの標準化が進められることを期待したい。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。

次世代医療機器に対する開発ガイドラインと評価指標



なお最後になるが、本報告書にまとめたような成果を得ることができたのは開発ワーキンググループ委員の活動のおかげである。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

1. 本年度ガイドライン事業の説明資料
2. 本年度 DNA チップ開発ガイドライン事業の説明資料
3. 委託調査報告
- 3.1 「遺伝子発現解析用 DNA チップ開発状況及び標準化動向調査-調査報告-」
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

1. ガイドライン事業の説明

開発ガイドライン事務局による本年度ガイドライン事業の説明

(第1回開発ワーキンググループ委員会資料)

医療機器等の開発・実用化促進のための ガイドライン策定事業(経済産業省)

The Guideline Program for Medical Device Development

次世代医療機器に対する開発ガイドラインと評価指標

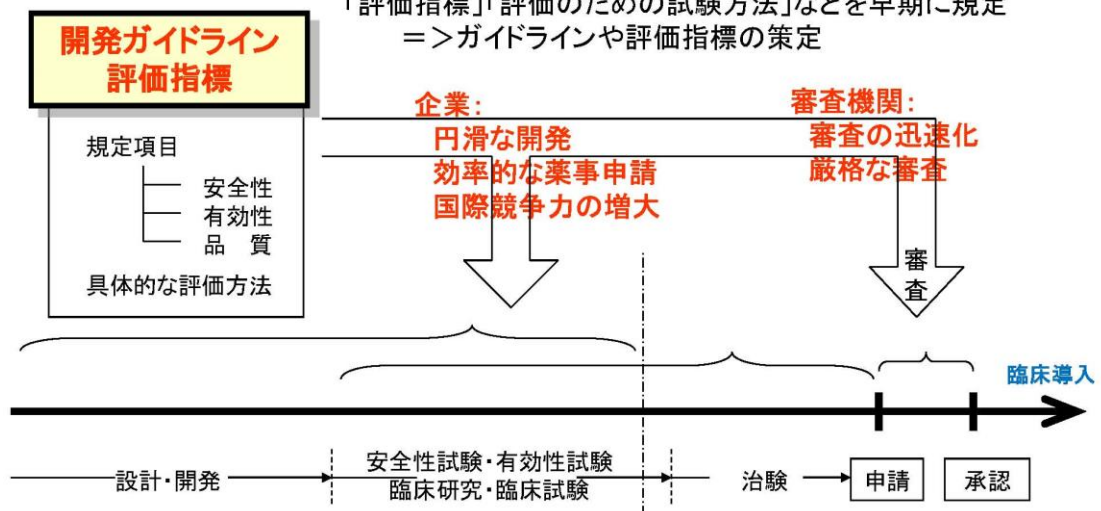
「国民の長寿」と「質の高い生活」を実現

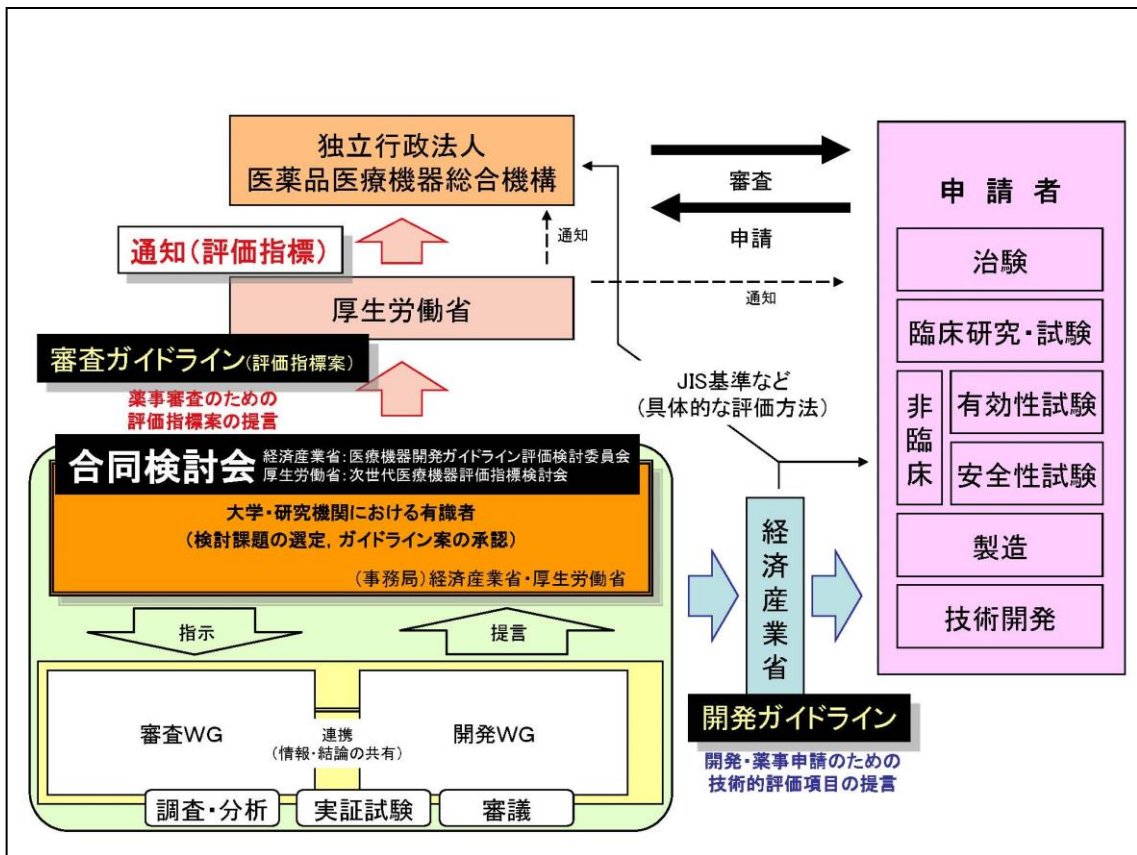
=>新しい医療機器の開発と円滑な臨床導入が不可欠

医療機器産業の育成・新規参入、国際競争力の強化

=>円滑な開発、効率的な薬事申請、迅速な薬事審査が必要

「評価指標」「評価のための試験方法」などを早期に規定
=>ガイドラインや評価指標の策定





提案した開発ガイドラインおよび評価指標

(平成17年度～平成22年度)

医療機器開発ガイドライン (開発のための)	医療機器評価指標 (審査のための)
高機能人工心臓システム DNAチップ 骨折整復支援システム 脳腫瘍焼灼レーザスキャンシステム ナビゲーション医療分野共通 次世代(高機能)人工股関節 ハイブリッド型人工骨・骨補填材 ヒト細胞培養加工装置についての設計ガイドライン(改訂版を含む) 植込み型神経刺激装置 ナビゲーション医療機器の位置的性能の品質担保 除染パスボックス設計ガイドライン カスタムメイド骨接合材料 無菌接続インターフェース設計ガイドライン(案) カスタムメイド人工股関節の開発ガイドライン(案) 遺伝子発現解析用DNAチップ(案) コンピュータ検出支援装置の性能評価項目(案) 医療機器におけるソフトウェア品質管理(案) トレーニングシステム開発ガイドライン(案)	次世代型高機能人工心臓の臨床評価のための評価指標 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 骨折整復支援装置に関する評価指標 関節手術支援装置に関する評価指標 骨形成因子(BMP)含有人工骨に関する評価指標(案) 重症心不全細胞治療用細胞シートに関する評価指標 角膜上皮細胞シートに関する評価指標 角膜内皮細胞シートに関する評価指標 軟組織に適用するコンピュータ支援手術装置に関する評価指標 関節軟骨再生評価指標 神経機能修飾装置に関する評価指標 整形外科用骨接合材料カスタムメイドインプラントに関する評価指標 歯周組織治療用細胞シートに関する評価指標(案) カスタムメイド人工股関節に関する評価指標(案) DNAチップ等を用いる遺伝子発現解析装置(案) コンピュータ診断支援装置に関する評価指標(案)

医療機器開発ガイドラインの公開

http://www.meti.go.jp/policy/mono_info_service/service/iryou_fukushi/index.html

コンソーシアムの設立

「バイオチップコンソーシアム、JMAC(企業68社)」(平成19年10月)

承認に寄与したガイドライン

埋込み型補助人工心臓 2品目
DNAチップ 2品目

厚生労働省・通知「次世代医療機器評価指標の公表について」

- (1) 薬食機発第0404002号、平成20年4月4日
2品目: 高機能人工心臓システムとDNAチップ
- (2) 薬食機発第0118第1号、平成22年1月18日
4品目: 骨折整復支援装置、関節手術支援装置、重症心不全細胞治療用細胞シート、角膜上皮細胞シート
- (3) 薬食機発0528 第1号、平成22年05月28日
2品目: 角膜内皮細胞シート、軟組織に適用するコンピュータ支援手術装置
- (4) 薬食機発1215第1号、平成22年12月15日
3品目: 関節軟骨再生、神経機能修復装置、整形外科用骨接合材料カスタムメイドインプラント

医療・福祉機器


開発ガイドライン
経済産業省のHPIにて公開

医療機器開発ガイドライン策定事業


http://www.meti.go.jp/policy/mono_info_service/service/iryou_fukushi/index.html


【平成19年5月公表】

1. DNAチップ (PDF形式:180KB) 


2. 高性能人工心臓システム (PDF形式:202KB) 


【平成20年6月公表】


3. ナビゲーション医療分野共通部分 (PDF形式:974KB) 

4. 骨折修復支援システム (PDF形式:236KB) 

5. 脳腫瘍焼灼レーザスキャンシステム (PDF形式:232KB) 

6. 次世代(高性能)人工股関節 (PDF形式:198KB) 

7. ハイブリッド型人工骨・骨補填材 (PDF形式:183KB) 

8. ヒト細胞培養加工装置の設計ガイドライン (PDF形式:1664KB) 

医療機器審査管理室長通知



薬食機発第 0404002 号
 平成 20 年 4 月 4 日

各都道府県衛生主管部（局）長 殿

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

厚生労働省では、医療ニーズが高く実用可能性のある次世代医療機器について、審査時に用いる技術評価指標等をあらかじめ作成し、公表することにより、製品開発の効率化及び承認審査の迅速化を図る目的で、

今後、次世代型人工心臓、人工関節等について、必要と考えられる機器については、上記の指標に基づき、記に留意の上、販売承認を希望する機器については、事前に本通知の写しを提出していただくこととする。

なお、本通知の写しを提出していただく際には、社団法人日本臨床工学技士会、社団法人日本臨床検査技師会及び欧州ビジネス協会等を通じて提出していただく。

- (1) 薬食機発第0404002号、平成20年4月4日
2品目：高性能人工心臓、DNAチップ
- (2) 薬食機発第0118第1号、平成22年1月18日
4品目：骨折修復支援装置、関節手術支援装置、重症心不全細胞治療用細胞シート、角膜上皮細胞シート
- (3) 薬食機発0528第1号、平成22年05月28日
2品目：角膜内皮細胞シート、軟組織に適用するコンピュータ支援手術装置
- (4) 薬食機発1215第1号、平成22年12月15日
3品目：関節軟骨再生、神経機能修復装置、整形外科用骨接合材料カスタムメイドインプラント

開発WGの事業報告書:産業技術総合研究所のHPにて公開

開発ガイドライン 独立行政法人
産業技術総合研究所(産総研)

産総研ホーム ニュース 研究紹介・成果 相談・手続き・問合せ

> 出版物・ビデオ > 報告書類 > 委託事業報告書

委託事業報告書 http://www.aist.go.jp/aist_j/aistinfo/report/entrust/index.html

■平成19年度 経済産業省委託事業
 ▶平成19年度戦略的技術開発委託費 医療機器ガイドライン策定事業 事業報告書

審査WGの事業報告書:国立医薬品食品衛生研究所のHPにて公開

審査ガイドライン

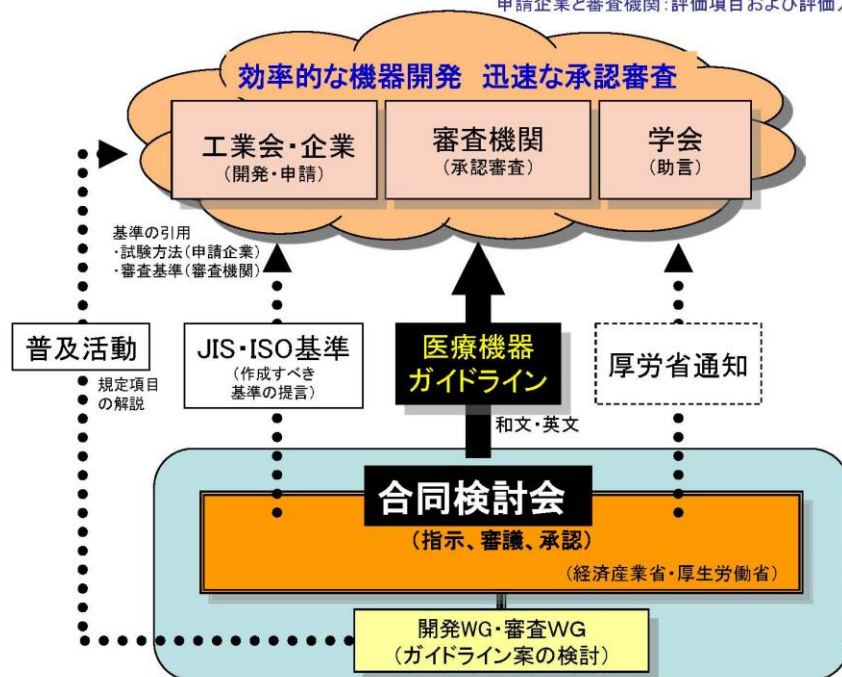
次世代医療機器評価指標検討会
 医療機器評価指標ガイドライン策定
 審査ワーキング・グループ(WG)

<http://dmd.nihs.go.jp/jisedai/>

想定される成果

(従来) 申請企業が独自に検討 → 申請・審査における評価項目の把握
 評価項目に対する具体的な評価方法の把握

申請企業と審査機関: 評価項目および評価方法の共有




2. 本年度ガイドライン事業の説明

開発ガイドライン事務局による本年度 DNA チップ開発ガイドライン事業の説明
(第1回開発ワーキンググループ委員会資料)

経済産業省委託

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 開発ガイドライン事業

本年度DNAチップ開発ガイドライン事業の説明

 産業技術総合研究所
バイオメディカル研究部門
木山亮一

2012年11月12日

1

乳癌の診断・治療

日本人の死因の第1位は癌（1981年以降現在まで）で、およそ3人に1人は癌でなくなっています。

乳癌は乳房組織に発生する癌腫で、西側諸国では女性のおよそ10%（日本人女性の場合25人～30人に1人、欧米は8～10人に1人）が一生の間に罹患し、このうちおよそ20%が死亡します。そのため早期発見と効果的な治療法が必要です。

【様々なリスク要因】

- ・年齢、遺伝的家系的リスク、妊娠・出産歴がない、高脂肪の食事、飲酒喫煙、不規則な生活など。

【診断・治療法】

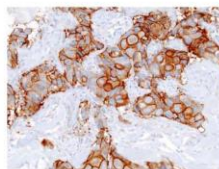
- ・機器による診断：超音波検査、乳腺撮影（マンモグラフィ）、CTスキャン、MRIなど。
- ・生化学法による診断：腫瘍マーカー、生検（免疫組織化学法）など。
- ・新しい診断法：遺伝子診断による方法（DNAチップ法やPCR法など）。
- ・治療法：乳房温存療法、放射線治療、抗癌剤治療、ホルモン療法など。

機器による診断



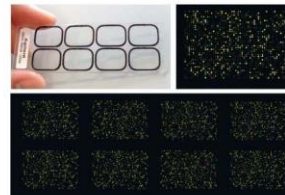
乳癌のX線画像（矢印）

生化学法による診断



HER2遺伝子の過剰発現
（免疫組織化学法）

遺伝子診断



MammaPrintによる
DNAチップ解析

体外診断薬

- ・体外診断薬（薬事法では「体外診断用医薬品」）は、「専ら疾病の診断に使用されることが目的とされている医薬品のうち、人又は動物の身体に直接使用されることのないものをいう」。
- ・体外診断薬は、医療機器規制国際整合化会議（GHTF。日本、EU、アメリカ合衆国、カナダ、オーストラリアによって構成。）の定義では医療機器になるが、日本の薬事法では医薬品扱い。
- ・ただし、体外診断薬は、医療機器同様の認証制度が導入されているほか、規制はGHTFの定義にあわせて医療機器同様に扱われている。

単一の遺伝子の状態を検査する



インフルエンザウイルスの迅速測定キット「クイックナビ™-Flu」

大塚製薬株式会社が販売する、感染症分野の体外診断用医薬品。イムノクロマト法を用いて、鼻腔拭い液又は鼻腔吸引液中のインフルエンザウイルス抗原を、迅速かつ特異的に検出することが可能な測定キット。ウイルスの検出を8分以内で最終判定することが可能。「クイックナビシリーズ」では、インフルエンザウイルス、アデノウイルス、ノロウイルス、及び、RSVを対象とした測定キットを販売。

複数の遺伝子の状態を検査する



MammaPrint（蘭国Agendia社）：乳癌診断用DNAチップ。
 ・細胞周期、浸潤、転移、血管新生などに関わる遺伝子70個を同時に測定し、特別のアルゴリズムを用いて、遠隔転移リスクをスコアで示す。
 ・FDA承認（2007年2月6日）。

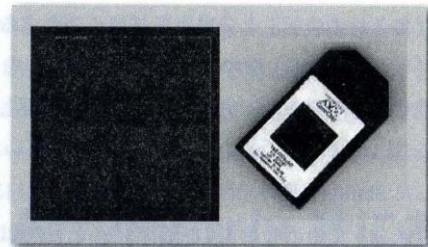
DNAチップとは？

【DNAチップの特徴】

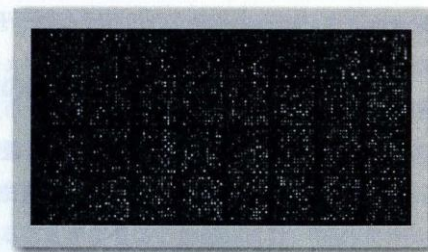
- ・塩基配列の異なる短いDNAを数センチ角の基盤の上に何千何万種と格子状に整列させた一種のセンサー。
- ・基板上のDNAと特異的に結合するものを高感度で検出。
- ・一度に数千～数万種のDNAを解析できることから多数の遺伝子に発現解析、個人により異なる多型（SNPs）の同時解析が可能。

【DNAチップの種類】

- ・「DNAマイクロアレイ」とも呼ぶ。
- ・アレイヤーを使ってcDNAやオリゴヌクレオチドを基板上にのせて作成するStanford型。
- ・光リソグラフィ法で核酸のカップリング反応を制御して作成したAffymetrix社のGeneChip。
- ・その他、電気式的検出方を利用したもの、中空線維を利用したものなどがある。



(a) Affymetrix社製 GeneChip®（数万～数十万プローブ/cm²）



(b) Stanford型のDNAチップ（～数千プローブ/cm²）

図1 2種類のDNAチップ

「注目先端技術成功の理由」（武田計測先端知財団編）より

遺伝子診断用DNAチップ

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（2009年薬事承認）
- ・ ウイルスの遺伝子型判定（2009年薬事承認）
- ・ 多くの場合、一度判定すると再検は不必要
- ・ がんの遺伝子型判定にも利用可（開発段階）

特徴

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
- ・ IVDMIA（体外診断多変指標測定）として有効
- ・ がんの遺伝子発現解析に特に有効

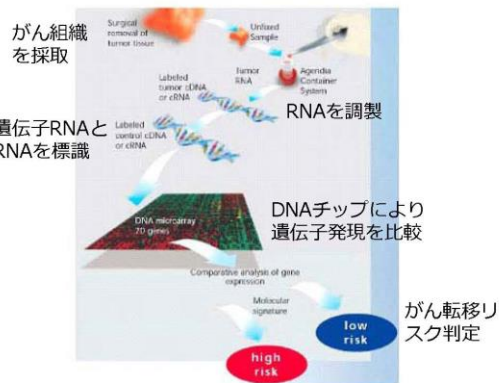
東芝：蛍光色素を用いない電流検出型DNAチップ



技術・製品例

MammaPrint（蘭国Agendia社）

- ・ 細胞周期、浸潤、転移、血管新生などに関わる遺伝子70個を同時に測定し、特別のアルゴリズムを用いて、遠隔転移リスクをスコアで示す。



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

診断用DNAチップの開発動向

遺伝子型判定用DNAチップ

ロシュがP450の型判別DNAチップを体外診断薬として申請

ロシュ・ダイアグノスティクス（ロシュ・ダイア）は、薬物代謝酵素であるシトクロムP450の遺伝子型を調べるDNAチップ「AmpliChip CYP450」の体外診断薬としての申請を2007年2月5日に行った。

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

- ・ 「AmpliChip CYP450」の医薬品の製造販売承認を取得した（2009年5月12日）。



東芝ら3社、医療用DNAチップを薬事申請

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

同製品について製造販売承認を取得した（2009年7月30日）。



DNAチップカセット



医療用DNA検査装置

診断用DNAチップの開発動向

遺伝子発現解析用DNAチップ

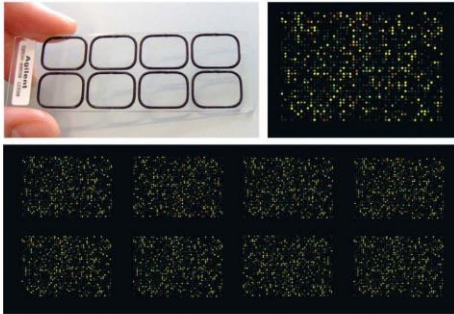
Agendia MammaPrint

MammaPrint は乳癌の手術を受けた患者の転移・再発の可能性について情報を提供するサービス。手術によって切除された腫瘍における70 遺伝子の活性を測定することにより、患者の疾病の転移・再発リスクの高低を調べる。

2007年2月、MammaPrint は世界に先駆けて、多変量解析による遺伝子発現の検査として、アメリカ食品医薬品局(FDA)の初めての承認を受けた。

測定方法：マイクロアレイによる遺伝子発現解析 (RNA チェック)

サービス価格：¥380,000 (税別) ※健康保険適用外



Tissue of Origin Test

米食品医薬品局 (FDA) が、患者の腫瘍から、癌の種類を決定する遺伝子診断装置「Pathwork Tissue of Origin test」を承認 (2008年7月31日)

マイクロアレイによる測定結果を乳癌や結腸直腸癌、胃癌など、15の悪性腫瘍の結果と比較して、原発組織の可能性を提示するIVDMIA。

477凍結バイオプシーサンプルの検査の結果、89%のサンプルで原発組織が特定され、少なくとも8種類の原発組織を92%以上の精度で特定できると報告されている。

FDAは、2007年7月、診断用の検査「in vitro diagnostic multivariate index assay (IVDMIA)」に関するガイダンス案の2稿目を発表「MammaPrint」に次いで2番目のIVDMIA装置となる。



GeneChip® マイクロアレイ解析システム GCS 3000Dx

ガイドラインの必要性

DNAチップ開発の問題点

- ・ 単一の遺伝子の情報を得る方法に比べて複雑なため開発が難しい。
- ・ 検査開発メーカーは、検査コンテンツの申請毎にDNAチップ・試薬安定性や再現性、および性能に関する試験が必要であり、負担が大きい。
- ・ 臨床検体の調製法が多様なため、信頼ある測定が難しい。検体調製法や判定アルゴリズムなども考慮する必要がある。
- ・ 検査開発用のプラットフォームが確立しないため、前処理にあたる「検体品質管理」の技術課題を定義できず、関連技術開発が進まない。

必要なガイドラインの内容

- ・ GMP製造され、安定性・再現性・性能が認められたDNAチップ・試薬を検査開発用のプラットフォームとして承認するための開発ガイドライン。
- ・ 各検査メーカーは、体外診断薬の承認申請毎にDNAチップ・試薬の基本性能試験を行う必要がなくなり、診断に応じたシグネチャー（遺伝子の組み合わせ）を開発し薬事申請する。

企業からの要望（調査内容のサマリー）

ガイドラインに記載すべき事柄

- ・ガイドラインで定めた内容と、実施内容の差異や誤差がどの程度までなら問題ないのかの基準
- ・評価の基準、用語の定義
- ・用語の定義、感度／精度／安定性の評価方法、臨床性能試験方法、その他薬事申請に必須の項目
- ・アレイ性能の保証の方法
- ・検査項目
- ・プローブの精度評価方法
- ・搭載位置の保証、感度や再現性等、各種パラメータの具体的な測定方法
- ・チップ使用期限
- ・保管方法
- ・診断用として用いるので、特にデータの安定性に関する事項
- ・医療機器であればGMP製造を必須とすること
- ・チップメーカーにDNAを供給する立場であるため、ガイドラインはチップメーカーグループのコンセンサスが得られたものが前提となります。

その他

- ・医療申請は前例もなく、認可へのタイムスパンが読めず対応が難しい。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。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している企業が多い。

バイオチップコンソーシアム調査

ガイドラインに関連する活動

地域	ガイドライン	時期	内容等
欧州	•SPIDIAプロジェクト	2008-	前処理過程の標準化
米国	•MAQC I and 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	Draft Guidance for Industry, Clinical Laboratories, and FDA 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 2007
	•PGxデータ提出ガイドライン	2007	
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）	2008	•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ための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 sequences

バイオチップコンソーシアム調査

MicroArray Quality Control (MAQC) Project

ホームページ : <http://www.fda.gov/>

概要

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

活動内容

Phase I : DNAマイクロアレイの技術性能

2005年2月～2006年9月

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

Phase II : 個別化医療のための分類予測法の評価

2006年9月～2009年3月

Nature Biotechnology誌 (2010年8月号) にて成果報告

Phase III : 次世代シーケンサーの性能評価

2008年12月～

11

バイオチップコンソーシアム (JMAC)

ホームページ : <http://www.jmaqc.org/>

日本語名 : **バイオチップコンソーシアム**

英語名 : Japan MicroArray Consortium (略称 : JMAC)

平成19年9月26日プレスリリース

平成19年10月19日設立総会開催

参加企業 (理事法人)

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

目標

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

ワーキンググループと活動内容

WG1 : 事業企画・推進ワーキンググループ産業化のための出口戦略を討議

WG2 : 標準化ワーキンググループ標準化や公認事業について討議

WG3 : 対外連携ワーキンググループMAQC を中心に国内外との連携を推進

12

国際標準化の動向

TC212 (Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems)

Scope: **Standardization and guidance in the field of laboratory medicine and in vitro diagnostic test systems.** This includes, for example, quality management, pre- and post-analytical procedures, analytical performance, laboratory safety, reference systems and quality assurance.

TS/P231 【新しいTCの提案】

Scope: **Standardization in the field of Biotechnology seeks internationally recognized and accepted terms and definitions, analytical and diagnostic methods, computing tools and metrology for international comparability and integratability of data.** The new committee would not seek to standardize academic or SME research, but would instead encourage experts of these groups to actively participate in the standardization of biotechnological products, techniques and processes. The proposed Technical Committee would hence also be responsible for the timely incorporation of innovative ideas into the standardization works of this field.

関連する国際標準化委員会：ISO/TC212 (Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems), ISO/TC229 (Nanotechnology), ISO/IEC/JTC1/SC37 (Biometrics), CEN/TC140 (In-vitro diagnostic medical devices), CEN/TC233 (Biotechnology), CEN/TC316 (Medical products utilizing cells, tissues and/or their derivatives), CEN/TC411 (Bio-based products), CEN/TC419 (Project Committee- Forensic Science Services)

参加予定国：オーストラリア、ベルギー、ブラジル、カナダ、中国、デンマーク、フィンランド、フランス、ドイツ、アイスランド、インド、イスラエル、日本、オランダ、ニュージーランド、シンガポール、韓国、スペイン、スイス、イギリス、アメリカ

13

標準化関連の海外動向

SPIDIAとは

- ・「**S**tandardisation and improvement of generic **p**re-analytical tools and procedures for **i**n vitro **d**iagnostics」の略
 - ・ 4年間（2009～2012年）で1,300万ユーロの予算（ECは900万ユーロ支出）6か月間の延長申請中
 - ・ 7つの公的研究機関、8つの企業、ヨーロッパの標準化機関がコンソーシアムを設立
 - ・ 体外診断薬に利用するプレアナリシスの標準化と改善を目標
 - ・ 新規のアッセイ法や標準化バイオマーカーの探索により得られる科学的根拠をもとにプレアナリシスツールの最適化のためのガイドラインを策定
- SPIDIA事務局：キアゲン社（ドイツ）に設置

具体的な取組内容

1. 体外診断用前処理の品質保証スキーム・ガイドラインの確立
2. 組織、血液サンプルの安定化をはじめとする技術革新
3. 管理面、倫理面における情報の流通、コンプライアンス確立

平成18年度開発WG成果（平成19年5月）

「テラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）
開発ガイドライン2007-遺伝子型（ジェノタイプ）
検定用DNAチップに関して-」

経済産業省ホームページにて公開：

http://www.meti.go.jp/policy/mono_info_service/service/iryou_fukushi/index.html

(A) 測定装置(DNAチップと解析装置)の諸特性

A-1 測定装置の特異性など

1. 特異性
2. 感度・ダイナミックレンジ
3. 再現性
4. 検査の品質管理
5. その他、性能特性に影響する要因に関する記載

A-2 サンプル・検体、その前処理・保存等、試薬

A-3 ソフトウェア（解析、判別）

A-4 データ処理

A-5 品質管理

(B) 評価法

B-1 評価項目

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

B-2 塩基配列決定法との比較

B-3 データ解析、解析ソフトについて

B-4 有意性の検定

B-5 データの管理について

B-6 安全性について

(C) 標準物質

C-1 外部参照物質に求められる要件

C-2 外部参照物質の選定、管理、入手

平成22年度開発WG成果（平成24年8月）

「テラーメイド医療用診断機器分野 遺伝子発現解
析用DNAチップ開発ガイドライン2012」

1. 概要

- ・遺伝子発現解析用DNAチップ
- ・本ガイドラインの目的と範囲など

2. 測定装置(チップと装置)

- 2.1 原理と構造
- 2.2 方法
- 2.3 特異性、感度・ダイナミックレンジ、
- 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
- 2.5 ソフトウェア
- 2.6 データ処理
- 2.7 品質管理

3. 評価法

- 3.1 評価項目
- 3.2 他の発現解析手法との比較
- 3.3 データ解析、解析ソフトについて
- 3.4 比較試験・臨床評価試験
- 3.5 判定アルゴリズム
- 3.6 データの管理について
- 3.7 安全性について

4. 標準物質

- 4.1 目的
- 4.2 標準物質に求められる要件
- 4.2.1 標準物質の選定
- 4.2.2 標準物質の管理
- 4.2.3 外部標準物質の入手

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

平成20年4月4日公表（厚労省医薬品食品局審査官理課医療機器審査管理室長）

- ・評価指標は承認申請資料の収集やその審査の迅速化などの観点から、製品の評価において着目すべき次項（評価項目）を示すものである。
- ・DNAチップは専用の測定・解析装置とともに使用され、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。したがって、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などが評価の対象になる。
- ・本評価指標は、DNAチップを用いた遺伝子発現解析用診断薬など関連する製品にも参考になる。
- ・ヒトの遺伝子多型や病原微生物の遺伝子型を判定する診断薬を対象とする。
- ・DNAチップ法は、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。
- ・DNAチップはクラスⅢ体外診断用医薬品、専用の測定・解析装置はクラスⅠ医療機器として扱われる。

評価指標の主な事項

1. 品目の概要に関する事項
臨床的意義（有用性）、測定原理、プライマー／プローブ等の塩基配列、DNAチップ構成、対照物質、アッセイ条件、ソフトウェア
2. 仕様及び安定性に関する事項
品質管理の方法、感度／特異性／測定範囲、測定装置の較正、安定性に関する資料（保存条件や有効期限）
3. 性能に関する事項
遺伝子型判定の精度（ヘテロ・ホモ接合性データなど）、対照試料、操作上のコンタミネーション対策、検体の調製（高品質なDNA・RNA試料採取のための採取・保管・運搬の方法）
4. リスク分析に関する事項（誤診のリスクなど）

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

「RNAプロファイリングに基づく診断装置の評価指標案」意見募集（2012年07月03日～08月01日）
厚生労働省医薬食品局審査管理課医療機器審査管理室

RNAプロファイリングに基づく診断装置の評価指標（案）

【概要、対象、位置づけ】

- ・解析装置が導き出す医療情報の有用性と信頼性を確認し、診断装置としての承認審査の道しるべ。
- ・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の考え方を踏襲。
- ・血液や病変部等のRNAプロファイルから医療情報を導き出す診断装置を対象。
- ・診断装置から得られる情報の臨床的意義については、個別の事例ごとに検証。
- ・本評価指標が対象とする製品の評価に当たっては、柔軟に対応する必要がある。

【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：1) 臨床的意義、2) 対象とする被験者の範囲と添付文書への記載、3) RNA測定装置及び測定原理、4) 遺伝子の選択、5) プライマー、プローブ等の塩基配列、6) DNAチップ構成、7) DNAチップに搭載される対照遺伝子の配列、8) アッセイ条件、9) ソフトウェア、10) 判定アルゴリズム
 - (2) 仕様及び安定性に関する事項：1) 品質管理の方法、2) 分析的妥当性（感度、特異性）、測定範囲、3) データの標準化、4) 測定装置の較正（較正用チップ、標準試料）、5) 安定性に関する資料、6) 試薬
 - (3) 性能に関する事項：1) プロファイル取得の精度、2) 検体と共に測定する対照試料、3) 再現性、頑健性（標準試料を用いた3回以上の測定による再現性。測定日や作業者を替えた測定や、複数施設における測定）、4) コンタミネーション防止対策、データ取り違え対策、5) RNA試料の調製（遺伝子関連検査検体管理マニュアル（日本臨床検査標準協議会JCCLS）を参照）、6) 測定装置（DNAチップ等と測定装置は一体として評価）、7) 判定アルゴリズム
 - (4) 臨床性能に関する事項：1) 被験者集団の妥当性、2) 検体（2施設以上で150以上の検体を用いた臨床試験成績。統計学的に有意性を示すことができれば、150以上の検体数でなくとも許容。過去に集めた検体、市販の検体も評価資料として使用できる）、3) 海外で行われた臨床性能試験成績の扱い（海外での臨床性能試験の成績）、4) 医療情報の提示（病変の存在確率%、2年以内の再発確率%や5年生存率%など）、5) 倫理面の配慮
 - (5) リスク分析に関する事項、(6) データの保存と医療情報の表示方法に関する事項
- 【その他の事項】 (1) アルゴリズムの変更、(2) 適応範囲の変更

17

評価指標・ガイドラインの活用 (DNAチップ)

平成
17年度 18年度 19年度 20年度 21年度 22年度

評価指標・ガイドラインの検討
(審査WG & 開発WG)

国内企業初の薬事承認

評価指標（案）・ガイドラインの
公開
(平成19年5月)

厚生労働省医療機器審査管理室長通知
次世代医療機器評価指標の公表について
(薬食機発第0404002号、平成20年4月4日)

薬事申請
(平成19年2月5日；
平成19年5月31日)

薬事承認
(平成21年5月12日；
平成21年7月30日)

テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ）開発WG 平成23年度活動内容

開発WGメンバー構成

林 慎一 東北大学医学部保健学科分子検査学分野 教授（座長）
 秋山 英雄 東レ株式会社先端融合研究所 主任研究員
 油谷 浩幸 東京大学先端科学技術研究センター 教授
 楠岡 英雄 国立病院機構大阪医療センター 院長
 久原 哲 九州大学大学院農学研究院 教授
 桑 克彦 日本臨床検査標準協議会（JCCLS） 理事
 住谷 知明 プレシジョンシステムサイエンス株式会社 執行役員・事業開発部長
 橋本 幸二 東芝ディスプレイ・部品材料統括 新デバイス開発センター 参事

平成23年度の活動

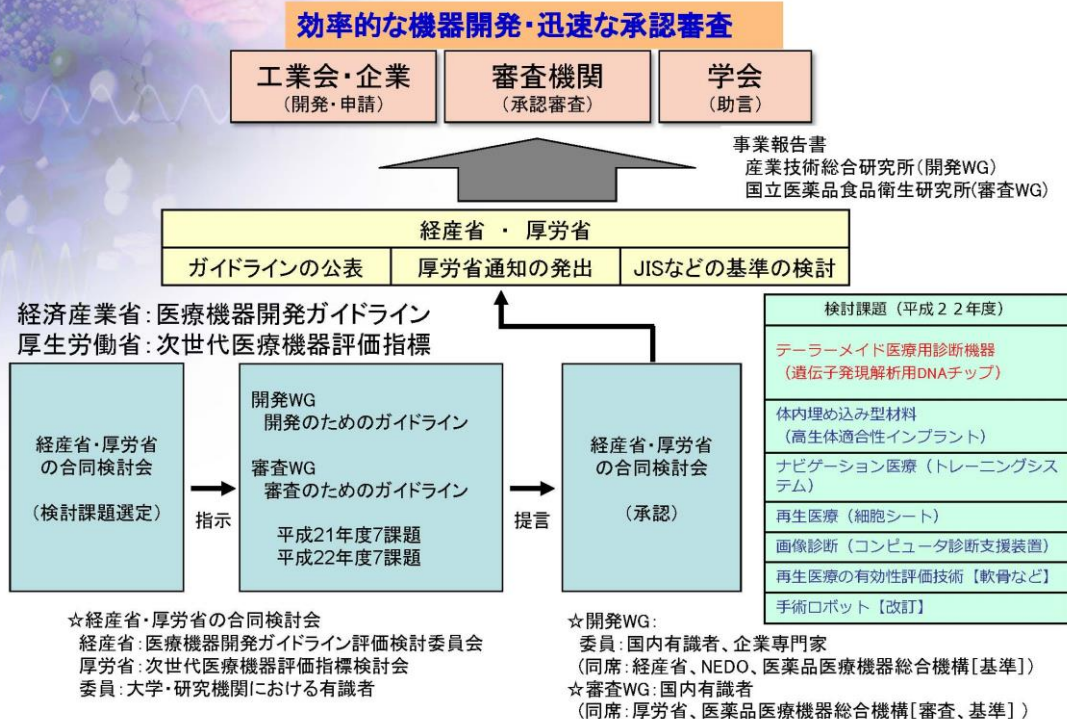
- ・WG：3回開催
- ・バイオチップコンソーシアムによる開発や標準化などの現状調査
- ・遺伝子発現解析用DNAチップ開発に関わるガイドライン項目の検討
- ・開発ガイドライン（平成22年度の改訂版）案の策定と経済産業省への報告
- ・第11回合同検討会にて活動報告

平成24年度の活動予定

- ・WG：3回開催予定（11月12日、2013年1月30日、2月15日）

19

ガイドライン作成及び公表のプロセス



TS(標準仕様書)、TR(標準情報)公開までのフロー

(1)TS、TR原案の作成

- ・原案は団体、企業等で作成。
- ・書式は、JISテンプレートで作成。
- ・書式、表現ぶり等については、日本規格協会にチェックを依頼することも可能。

(2)TS、TR原案の登録申請

- ・原案作成団体から、原案、その他申請書類を日本工業標準調査会のe-JISCに電子申請。
- ・産総研の申請は、同研究所の工業標準部が電子申請の窓口。

(3)担当課での諸手続き

- ・当省では基準認証ユニット(環境生活標準化推進室)が大臣諮問の手続き等を実施。
- ・厚労省との共管の場合は、医療機器審査管理室でも大臣諮問の手続きを実施。

(4)日本工業標準調査会での審議

- ・医療用具技術専門委員会で審議。
- ・専門委員会は、議題数に応じて適宜開催。
- ・専門委員会事務は、環境生活標準化推進室で実施。

(5)TS、TRの公開

- ・通常は専門委員会議決後、2~3か月程度で官報掲載。
- ・厚労省との共管の場合は、両省で同日付けで官報掲載。
- ・関連事務は、環境生活標準化推進室で実施。

平成19年度開発WG委員会資料より

平成19年度開発WG

DNAチップ開発ガイドラインTS原案作成委員会(準備会)

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

小林 秀司	経済産業省商務情報政策局サービス産業課医療・福祉機器産業室技術係長
吉澤 由香	経済産業省製造産業局生物化学産業課 知財・標準化係長
比嘉 剛	経済産業省製造産業局生物化学産業課
小倉 悟	経済産業省産業技術環境局環境生活標準化推進室 課長補佐
森武 春男	(財)日本規格協会 規格開発部(調査役)
松田 宏雄	産業技術総合研究所 産学官連携推進部門 工業標準部長
平塚 智章	産業技術総合研究所 産学官連携推進部門 工業標準部 工業標準企画室 主幹
関口 勇地	産業技術総合研究所 生物機能工学研究部門 バイオメジャー研究グループ長

<事務局>

木山 亮一	産業技術総合研究所 シグナル分子研究ラボ 主任研究員/課題担当
井上 幸子	産業技術総合研究所 シグナル分子研究ラボ
菊地 勝男	産業技術総合研究所 人間福祉医工学研究部門
本間 一弘	産業技術総合研究所 人間福祉医工学研究部門 副研究部門長

平成19年度開発WG

テーラーメイド医療用診断機器（DNAチップ） 標準仕様書（TS）素案（概要）

タイトル：DNAチップを用いた医療用診断装置の評価法に関する指針

まえがき：日本工業標準調査会の審議を経て、厚生労働大臣及び経済産業大臣が公表した標準仕様書である。

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

1. **適用範囲**：DNAチップを用いた医療診断装置のうち遺伝子型を判定するもの
2. **引用規格**：JIS（医療機器—品質マネジメントシステム）、ISO（対外診断用医薬品・医療機器—生物試料の定量測定）を引用。
3. **用語及び定義**：「遺伝子型判定用DNAチップ」と「SNP」を説明。
4. **評価方法**：DNAチップを用いた医療診断装置の評価方法を規定。
 - 4.1 **塩基配列決定法との比較による評価**：塩基配列決定法などとの比較について。
 - 4.2 **データ解析及び解析ソフトに関する評価**：正答率の目安など。
 - 4.3 **有意性の検定に関する評価**：分析内及び分析間の再現性について。
 - 4.4 **データの管理に関する評価**：生データの保存やデータベースについて。
 - 4.5 **安全性に関する評価**：感染などの危険性について。

附属書A（規定） DNAチップを用いた医療診断装置の原理、構造等
附属書B（規定） 標準物質

3. 「遺伝子発現解析用 DNA チップ開発状況 及び標準化動向調査-調査報告-」
（第 3 回開発ワーキンググループ委員会：平成 25 年 2 月 21 日）
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

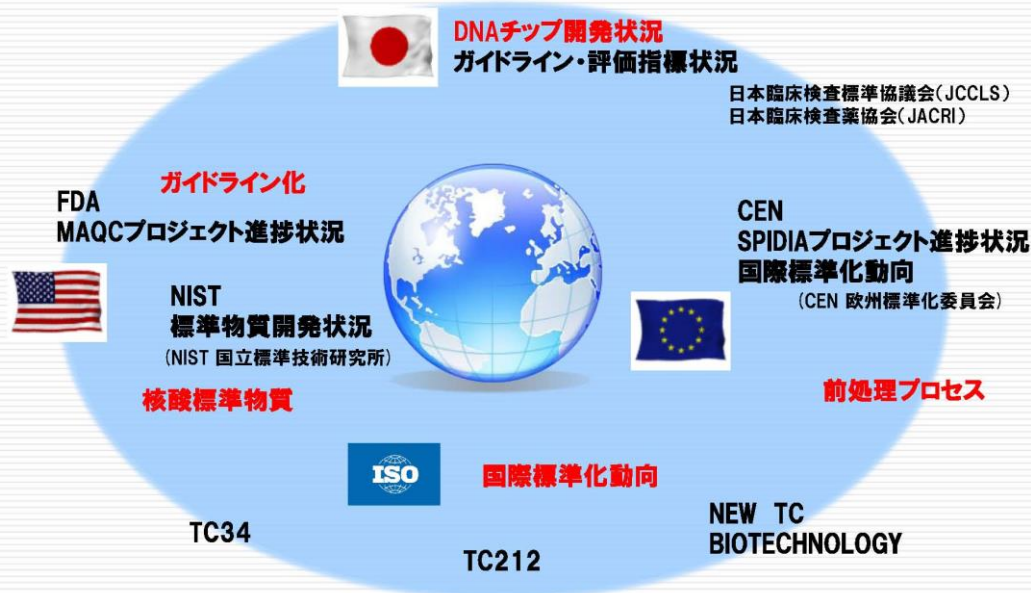
遺伝子発現解析用DNAチップ開発状況 及び標準化動向調査 —調査報告—

2013年2月21日
JMAC
特定非営利法人バイオチップコンソーシアム

©JMAC 2007-2013. All Rights Reserved

調査テーマ(以下の項目に沿って報告を行う)

調査項目	調査のテーマ
1. DNAチップ開発状況	国内におけるDNAチップ開発状況
2. SPIDIAプロジェクト	EU主導。キアゲン社協力。2008年発足、2012年9月終了予定。体外診断薬前処理工程標準化。プロジェクト最終報告の内容、DNAチップ測定への影響と実態について調査する。
3. MAQC プロジェクト	FDA主導。フェーズ3(MAQC-III/SEQC)では、次世代シーケンサープラットフォームの技術的再現性を測定・評価している。その目的は、FDAの評価指標向けの根拠である。プロジェクト期間2009年～2012年。DNAチップデータの評価との対比を含め、実態について調査する。
4. 核酸標準物質開発状況	NIST(米国立標準技術研究所)が開発、MAQCプロジェクトで採用されている標準物質ERCCを調査。
5. ISO動向調査	ISO TC34,TC212, 新TCであるバイオテクノロジーについて、国際標準化動向調査を行う。



1.DNAチップ開発状況

DNAチップ開発状況の一例(2012年10月現在)



企業	区分	用途	備考
東芝	医療用	感染症診断用、薬効・副作用判定用、疾病早期・予後診断用	ジェネライザー電流検出型
	産業向け	バイオテロ対策用、食品検査用、個人認証用チップ	ジェネライザー電流検出型
東洋製罐	産業向け	人体および食品に悪影響を及ぼす施設環境中の主要なカビや菌の検出用途 食品の食中毒菌検査用途	GENOGATE(ジェノゲート) ジーンシリコン 蛍光検出型
東洋鋼鈑	医療用	診断用チップ開発中	
東レ	研究用	ヒト全遺伝子型DNAチップ 消化器がん研究用チップ microRNA研究用DNAチップ 等	3D-Gene® 蛍光検出型
三菱レイヨン	研究用	皮膚、美白、食品感受性評価、酸化ストレス、免疫、メタボリック、アレルギー、マイクロRNA 等	GenoPal® 繊維型DNAチップ 蛍光検出型

5

©JMAC 2007-2013. All Rights Reserved

DNAチップ開発状況の事例(分子生物学会2012より)



東洋鋼鈑株式会社(ポスター発表)

- ◆ KRAS変異を検出できるDNAチップ開発
- ◆ 本開発は医療用第二弾として準備中
KRAS変異は、抗EGFR抗体薬の有効性を示すバイオマーカーとして知られている。すなわち、KRAS変異を示す患者においては、薬剤の有効性が確認されない。また、KRAS変異遺伝子検査は、既に厚生労働省保険局から保険点数が適応されている検査であり、肺癌、大腸癌、膵癌の患者が対象となっている。
- ◆ 遺伝子の権利関係上、ライセンス料の支払いが生じることがビジネス上の検討課題

DNAチップ研究所(ポスター発表)

- ◆ アレイCGH解析を用いた幹細胞培養細胞の安全性評価を紹介
- ◆ マイクロアレイ基板: 米国アジレントテクノロジー社
- ◆ 再生医療関連技術の中で、DNAチップを用いた安全性評価法

東レ株式会社(セミナー発表)

- ◆ 慶應大学との共同研究
- ◆ iPS細胞の形成過程の解析として、始原生殖細胞からの多能性幹細胞への脱分化のプロセスを評価(同社のプラットフォーム)

6

©JMAC 2007-2013. All Rights Reserved

マイクロアレイを用いたaCGHによる細胞評価系の確立

- ゲノムレベルでの異常検出

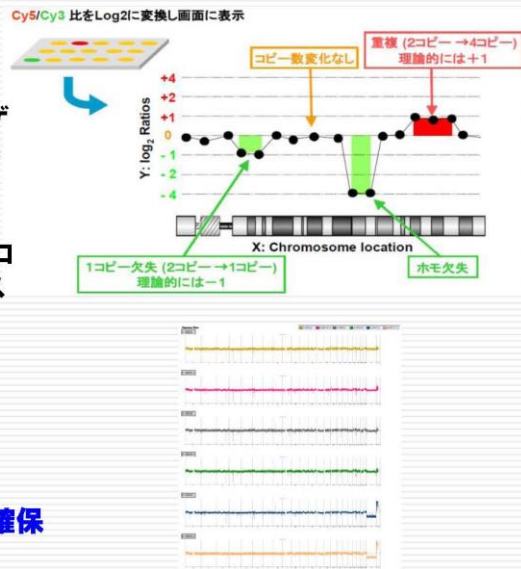
Comparative genomic hybridization (CGH)法を用いて解析を進め、幹細胞の継代数とゲノムレベルでの異常蓄積の関係データを取得

- ゲノム異常検出アルゴリズムの検討

生データからゲノム異常を検出するためのプログラム条件検討を行い、ノイズとシグナルのスレッシュフォールドを検討し、具体的な数値を決定



幹細胞加工医薬品等の品質及び安全性の確保が可能となる。



2.SPIDIAプロジェクト

SPIDIAプロジェクト



事務局:キアゲン社(ドイツ)内
プロジェクトコーディネーター:Dr. Uwe Oelmuller (キアゲン社)

目的:体外診断用の前処理ツール・プロセスの改善および標準化

計画:4年間の時限プロジェクト(2008-2012)

組織:コンソーシアム

7公共研究機関

8民間研究機関

欧州標準化機構(CEN)

予算:1,300万ユーロ(ECから900万ユーロ)

取組内容:

1. 体外診断用前処理の品質保証スキーム・ガイドラインの確立
2. 組織、血液サンプルの安定化をはじめとする技術革新
3. 管理面、倫理面における情報の流通、コンプライアンス確立

SPIDIAヒアリング実施(2013年1月10日)



ヒアリング先

Dr. Ralf Wyrich, Senior Scientist R&D, Qiagen

Dr. Christian Lenz, Senior Director, Qiagen

ヒアリング内容

1. 血液RNA Ring トライアル実施について

成果は次の2報へと集約された

- ◆ SPIDIA-RNA: First external quality assessment for the pre-analytical phase of blood samples used for RNA based analyses. (Methods, 59 Jan. 2013 M. Pazzagli et.al)
- ◆ Implementation of a proficiency testing for the assessment of the preanalytical phase of blood samples used for RNA based analysis. (Clin. Chim. Acta 413 2012 779-786)

2. 文書化・標準化の内容について

文書はこの時点では起草・書き出しの段階。項目は、組織DNA、血液DNA、組織RNA、血液RNA、血漿DNAなどとし、精度担保方法について記述する。2013年6月頃を目処に完成を目指す。


3. CEN/TC140との取組みについて

CEN(欧州規格委員会)で新規作業項目(NWIP)として承認された。(2012年10月)

RNA解析用血液サンプルの前処理フェーズにおける測定の精度管理


Clinica Chimica Acta 413 (2012) 779–786

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect



Clinica Chimica Acta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/clinchim



Implementation of a proficiency testing for the assessment of the preanalytical phase of blood samples used for RNA based analysis

Kalle Günther ^{a,g,1}, Francesca Malentacchi ^{b,g,1}, Paolo Verderio ^{c,g}, Sara Pizzamiglio ^{c,g}, Chiara Maura Ciniselli ^{c,g}, Ales Tichopad ^{d,e,g}, Mikael Kubista ^{d,f,g}, Ralf Wyrich ^{a,g}, Mario Pazzagli ^{b,g,*}, Stefania Gelmini ^{b,g}

^a QJAGEN GmbH, Hilden, Germany
^b University of Florence (UNIFI), Clinical Biochemistry Unit, Department of Clinical Physiopathology, Italy
^c Fondazione IRCCS, Istituto Nazionale dei Tumori, Milan, Italy
^d Institute of Biotechnology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic
^e Charles University, Faculty of Medicine in Pilsen, Pilsen, Czech Republic
^f TATA Biocenter AB, Gothenburg, Sweden
^g The SPIDIA Consortium

RING Trial 血液サンプルRNA品質評価

背景: 血液サンプル由来RNAの体外診断用アッセイの下流においては技術が大幅に改善されたが、前処理ワークフローは統一的なプロトコルが存在しない。

方法: ヨーロッパ全域の多施設で血液採取、運搬による影響を検証した。RNA品質には次のパラメータを用いた。生成、純度、完全度、RT-qPCR干渉、IL1B, IL8, FOS, GAPDHの遺伝子発現値。実験はモデルAとモデルBを採用。

実験モデルA: 10ラボで各1ドナーから血液を採取する。安定剤入り採血管、安定剤なし採血管に各1本。ある時間差を取って2回実施する。

実験モデルB: 一人のドナーから採血し、安定剤入り採血管、安定剤なし採血管に入れた血液各1本を10ラボに送付する。

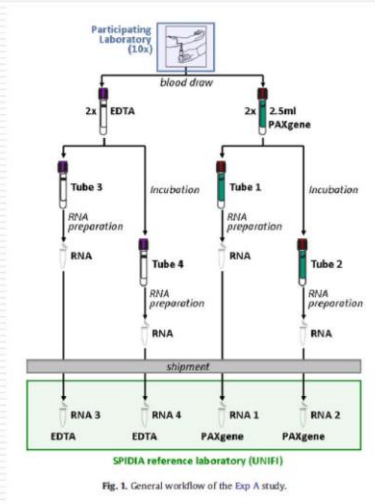
結果: どちらのモデル、どちらの採血管でも純度、生成、GAPDH発現、RT-qPCR干渉において信頼性のある結果が得られた。モデルAでは、RIN値にかなりバラツキがあった。モデルBでは、安定剤なしの採血管でIL1B, IL8およびFOSのトランスクリプションレベルにかなりバラツキがあった。全体として、安定剤なしの採血管で得たサンプルにはデータに高いバラツキがあった。

結語: 全ヨーロッパに拡大して実施するリングトライアルのための実験デザインを決定した。下流の実験で、血液由来RNAの品質を見るマーカーたり得る可能性が証明された。

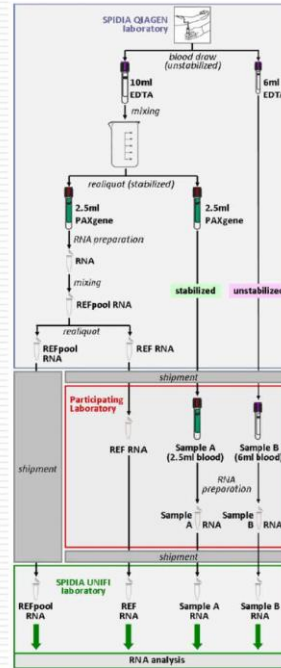
実験モデルA, B



実験モデルA



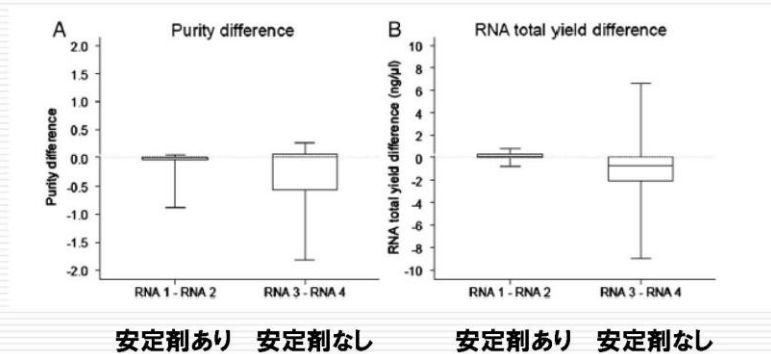
実験モデルB



13

©JMAC 2007-2013. All Rights Reserved

実験モデルA

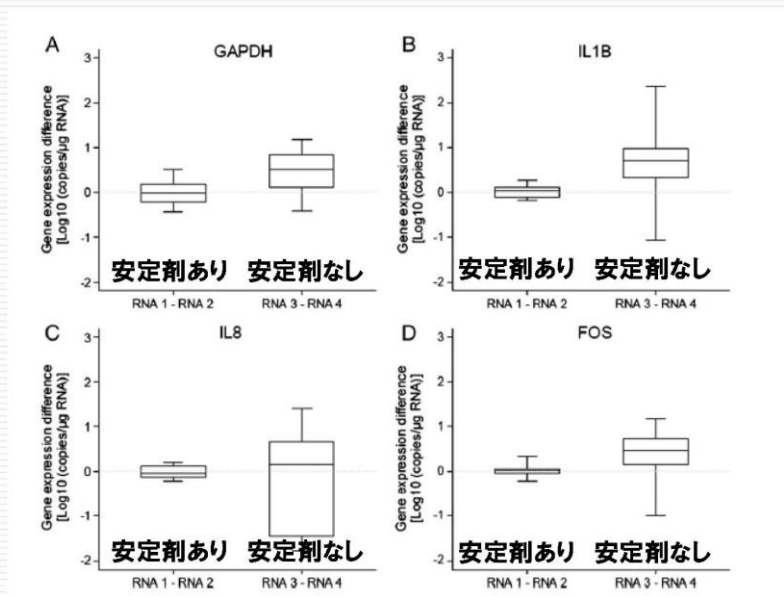


安定剤あり、なしに関わらず、純度、生成とも良好。
但し、安定剤がない場合、ばらつきが大きい。

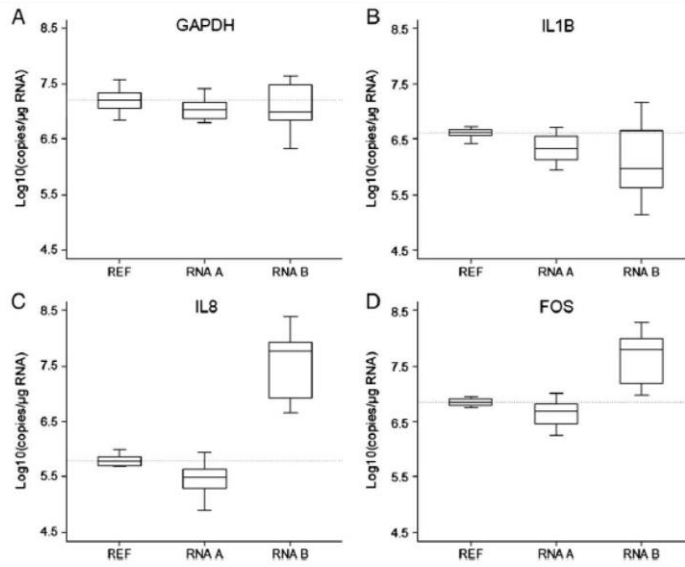
※安定剤なし(EDTA管)の場合、採血後、24時間以上経過してRNA抽出を行うとRIN値が極端に悪くなる。

14

©JMAC 2007-2013. All Rights Reserved



GAPDH以外は、ばらつきが大きい。



リファレンス vs. 安定剤あり vs. 安定剤なし
 安定剤なしの場合、GAPDH以外はばらつきが大きい→品質管理マーカー候補

SPIDIA-RNA



RNA解析用血液サンプル前処理フェーズについて、初の外部による品質評価

Methods 59 (2013) 20–31

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Methods

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ymeth



SPIDIA-RNA: First external quality assessment for the pre-analytical phase of blood samples used for RNA based analyses

M. Pazzagli^{a,*}, F. Malentacchi^a, L. Simi^a, C. Orlando^a, R. Wyrich^b, K. Günther^b, C.C. Hartmann^b, P. Verderio^c, S. Pizzamiglio^c, C.M. Ciniselli^c, A. Tichopad^{d,e,f}, M. Kubista^e, S. Gelmini^a

^a Department of Clinical Physiopathology, University of Florence, Italy
^b Qiagen GmbH, Hilden, Germany
^c Fondazione IRCCS Istituto Nazionale dei Tumori, Milan, Italy
^d Charles University, Pilsen, Czech Republic
^e TATAA Biocenter AB, Gothenburg, Sweden
^f Institute of Biotechnology, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic

実験モデル

全ヨーロッパのラボから募集



124ラボ申込み



124ラボへ血液サンプル2本(EDTA or PAXgene)

血液サンプル: センターラボで7ドナー血液*350mlをプールして分注
EDTA管の場合: 5ml PAXgeneの場合: 2.5ml



各ラボでの通常プロトコルでRNA抽出(EDTA or PAXgene)

1本目: 受取次第すぐ (RNA A)
2本目: 受取後24時間後 (RNA B)



93ラボのRNAがセンターラボへ到着

EDTA管使用ラボ:PAXgene使用ラボ = 63:30

同時に採血に関するアンケートを実施

通常使用採血管 EDTA65% PAXgene24% その他11%
採血量 1.5~10ml RNA抽出 採血後12時間以内
採血目的 RT-PCR/RT-qPCR

実験データ



各ラボで実験データ入力

センターラボにおける検証

使用パラメータ: 純度、生成量、RIN値、RT-qPCR発現値
(c-fos IL-1b IL-8 GAPDH)

データ解析 (ブートストラップ解析)

Out of control: 2.5th以下 97.5th以上

Warning: 10th以下、90th以上

In control: 10~90thの間

Table 2
Classification of the performance of the laboratories.

Categories	N	%
All in control or warning performance	24	25.81
One out of control performance and/or one or more missing	38	40.86
Two or more out of control performance with or without missing	31	33.33
Total	93	100.00

4遺伝子パラメータ RT-qPCR結果

93施設中

24施設 すべてIn control

38施設 1項目がOut of Control

31施設 2項目以上Out of Control

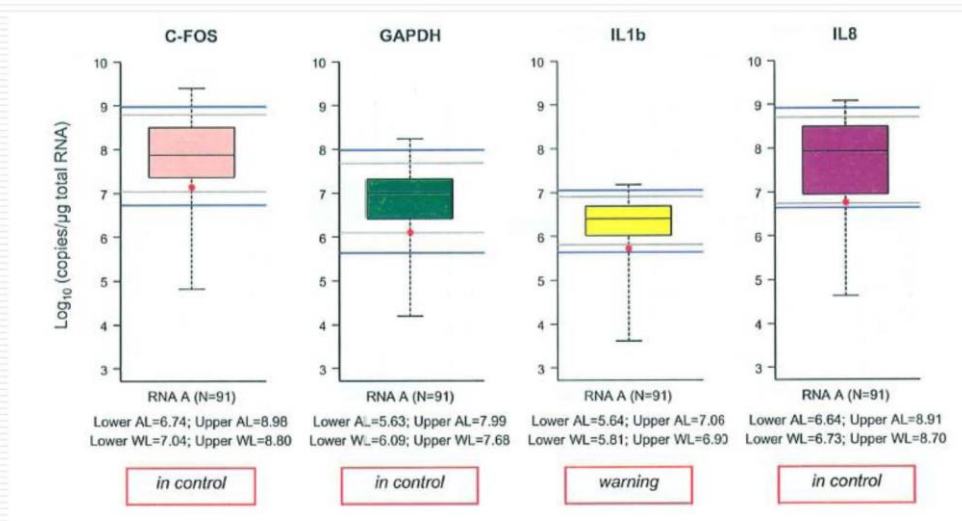
19

©JMAC 2007-2013. All Rights Reserved

4遺伝子パラメータ RT-qPCR結果



各施設の値は●で表示 全93施設



20

©JMAC 2007-2013. All Rights Reserved

3.MAQC-III/SEQCプロジェクト

©JMAC 2007-2013. All Rights Reserved

MAQCプロジェクト構図

	プロジェクトテーマ	成果
MAQC-I 2005~2006	<ul style="list-style-type: none"> ◆ プラットフォーム間差・互換性 ◆ 各種統計解析法で同定された発現遺伝子の差を評価 ◆ FDAのファーマコジェノミクス承認用ガイドライン向けのデータを更新 	Nature Biotechnology (2006)
MAQC-II 2007~2010	<ul style="list-style-type: none"> ◆ 臨床エンドポイント、トキシコロジカルエンドポイントを予測する分類モデルの開発方法、検証方法の評価 ◆ ゲノム研究の再現性→新規FDAガイドラインの開発に貢献 	Nature Biotechnology (2010) Pharmacogenomics Journal (2010)
MAQC-III 2009~2012	<ul style="list-style-type: none"> ◆ SEQC (sequencing quality control) 次世代シーケンサーの技術性能評価 ◆ RNA・DNA解析の情報解析法の特長と限界を評価 	2013年2月? Nature Biotechnologyへ投稿予定
MAQC-IV 2013~	<ul style="list-style-type: none"> ◆ 患者特異的ゲノム情報の精度 ◆ 深刻な薬物副作用を及ぼす特異的状況回避 	

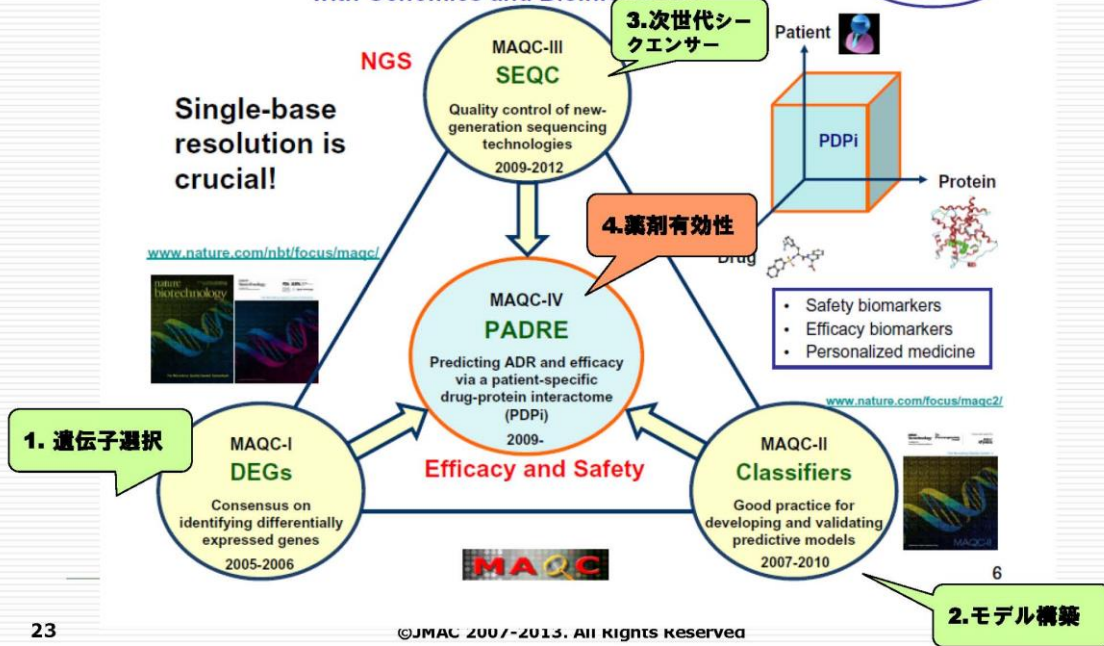
MAQCプロジェクト:フェーズ1~4



FDA承認(個人化医療 承認申請)に資するためのデータ構築

The MAQC/SEQC Project: Enabling Personalized Medicine with Genomics and Bioinformatics

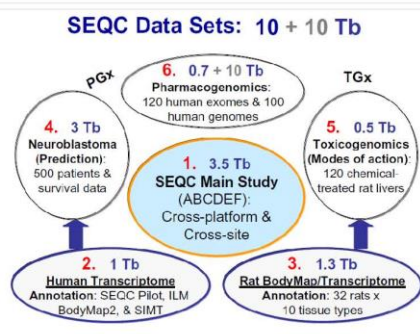
$$Y = f(X)$$



MAQC III/SEQCプロジェクト



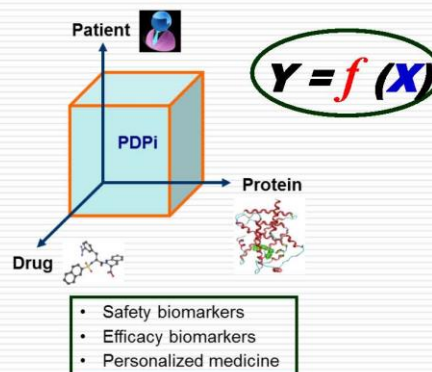
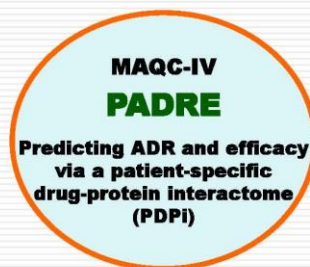
研究テーマ	サンプルサイズ
メインスタディ	A.B.C.D.E.F. サンプル6種 3.5Tb
ヒト トランスクリプトーム アノテーション	SEQC Pilot イルミナBodyMap2データ ベース利用
ラット トランスクリプトーム アノテーション	32匹*10組織(部位別) 1.3Tb
癌患者の生存を予測	神経芽腫 500症例 3Tb
トキシコゲノミクス研究	ラット肝臓へ120タイプの薬 剤を投与 0.5Tb
ファーマーコゲノミクス研究	ヒトエクソーム120例 ヒトゲノム100例 0.7+10Tb



成果 → 2013年2月時点
投稿準備中
Nature Biotechnology
(9報?)

MAQC-IVについてヒアリング

- ◆ Predicting ADR and efficacy via a patient-specific drug-protein interactome (PADRE) を開始予定
- ◆ 副作用の予測と患者個別の薬物-たんぱくのインタラクトーム(相互作用)
- ◆ 日本からもプロジェクトに参画できる可能性はあるとのことであった。これを受け、日本でのプロジェクト化について情報を収集中。



4.核酸標準物質

核酸標準物質



認証標準物質(SRM2374)

- ◆ NIST(米国国立標準技術研究所)がコンソーシアムを立ち上げてspike-inコントロール用RNAを開発
- ◆ 外部から測定対象と異なる既知量のDNAあるいはRNA分子を添加して利用(スパイクイン)
- ◆ 毎回の測定の妥当性評価が可能
- ◆ 96種のセットが認証標準物質として販売されている
- ◆ MAQC-IIIプロジェクトが実験に採用
- ◆ ワーキングスタンダード
→Life Technologies社が頒布
ERCC RNA Spike-In コントロールミックス



ワーキングスタンダード



NIST 認証標準物質(SRM2374)

27

©JMAC 2007-2013. All Rights Reserved

核酸標準物質



産総研とJMACが共同開発中の標準物質

- ◆ 異なる人工配列を持つ複数種類のDNAおよびRNAを標準DNA、標準RNAとして、その測定結果を異なるDNAマイクロアレイプラットフォーム間で比較

利点

1. セルラインから得られた複合RNAを利用する場合と異なり、既知量のDNA分子あるいはRNA分子を人為的に混ぜ合わせたものを標準とすることで分析妥当性を正確に評価できる
 2. 毎回同じ人工配列を持つDNAおよびRNAをスパイクインコントロールDNA、RNAとして利用し、毎回の測定の分析妥当性評価(品質管理)を行うことができる
- ◆ 異なるDNAマイクロアレイプラットフォーム、施設、実験者による違いなど、分析妥当評価を1つのものさしで評価できるシステム。
 - ◆ スパイクインDNA→すでに産総研から認証標準物質として頒布

28

©JMAC 2007-2013. All Rights Reserved

5. ISO国際標準化動向



©JMAC 2007-2013. All Rights Reserved

ISO 新TC Biotechnology

◆ 設立の経緯

- 2008年頃より ISO内のコンセンサス 新TC設立の動き
- 2011年10月 ISO Workshop (設立前の総合議論の場)
- 2012年7月 ドイツ規格委員会 (DIN) が設立の提案書を提出
- 2012年11月 投票結果 29カ国より 賛成23 反対2 棄権4カ国
- 2013年春頃 設立の見込み

◆ 日米の立場

- 
 日本は設立賛成の立場(経産省、JISC、JBA、JCCLS等ほか)
 - 再生医療隆盛との好タイミング
- 
 アメリカANSI(米国国家規格協会)の強い反対
 - スcopeが広すぎる
 - 計測学的側面に絞るべき
 - 産業用途・環境用途アプリに絞るべき
 - 他の国際標準との重複を避けるべき

ISO 新TC Biotechnology



ドイツ規格委員会(DIN)の担当者にヒアリング実施 (2013年1月)



Joachim Loenin氏, Innovation manager, Business Development, Innovation Management

スコープを絞ることで修正をかける(以下は含める)

- 用語の定義
- 測定法
- 分析、診断法("-omics" technologies)
- コンピューターツール(バイオインフォマティクス)
- バイオサンプル、バイオバンク
- バイオリアクター

除外予定(アメリカの意を受け)

- 実験室バイオセーフティ・マネジメントシステム
- 生物学的製剤のリスクマネジメント
- 法医学

ドイツ規格委員会(DIN)の担当者にヒアリング (2013年1月)

各国の意見を踏まえ考慮すべき点:

- 既存のTCの範囲と区別が必要
- バイオセーフティ及びバイオセキュリティの取扱い是非
- OECD、WHO、その他の用語定義を取り入れる
- 法医学、バイオ製剤の取扱い除外の是非
- バイオレメディエーション(生物による環境修復技術)、農業バイオ技術、工業原料の採用の是非
- マイクロアレイ、PCRの取扱い(韓国の意見)

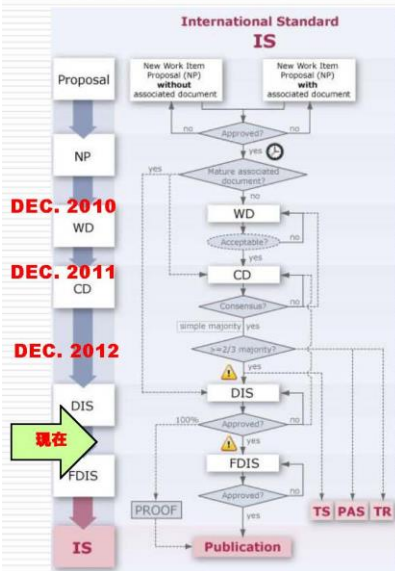
設立されれば:

- 核酸(DNA・RNA)プローブ、プライマー等のオリゴ品質担保のISO提案先として有力な候補
- マイクロアレイなどのプラットフォーム(食品検査含む)にも理想的な窓口

ISOにおけるマイクロアレイの取扱い



ISO/TC 34/SC 16 N168 Draft International Standard (DIS) 2012年12月



ISO/TC 34/SC 16 N 168

ISO/TC 34/SC 16
ISO/TC 34/SC 16 - Horizontal methods for molecular biomarker analysis
Email of secretary: richard.cantrill@suocs.org
Secretariat: ANSI

Results voting ISO DIS 16578

Document type: Summary of voting

Date of document: 2012-12-11

Expected action: ACT

Action due date: 2013-03-11

Background: The results of voting indicate that the committee has accepted the current draft of this document as a DIS. The project leader and experts are asked to address the comments and make corrections to the DIS so that it can be submitted for FDIS approval. This action should be completed by 2013-03-11.

Richard Cantrill
Secretary ISO/TC 34/SC 16

Committee URL: <http://sotc.iso.org/livelink/livelink/open?c34sc16>

Summary of the results

✓Yes : 11 countries

✓No : 1 country

✓Abstain : 9 countries

FDISの投票も同様程度
となると想定される

次のステップとしてISO/TC212(医療用途)への提案が策定されている。

33

©JMAC 2007-2013. All Rights Reserved

まとめ



1. DNAチップ開発状況においては、特段に新規な発表などは見られなかったが、広く研究用途等において一般普及している。産業用は、安全性評価用途や環境アセスメント(カビや菌など)向けの開発が先行している。医療向けは規制の壁があることから進出しづらいことが背景にある。
2. SPIDIAプロジェクトは、2013年3月で終了予定であり、実証実験はすでに終了した。昨年10月、CEN TC140において、NWIPとして承認されており、今後、文書作成が本格化する。最終承認、標準化まで数年かかると予測される。
3. MAQCプロジェクトは、第3フェーズがほぼ終了し、論文投稿直前の段階である。次世代シーケンサーによるRNA-seqの性能と特性を明らかにするのが目的。RNA-seqは、新規配列・トランスクリプト探索に役立ち、マイクロアレイで定量することにより、相乗効果があるとしている。
4. RNAの標準物質として、NISTから認証標準物質として、SRM2374が販売されている。そのワーキングスタンダードとして、ERCC RNA Spike-In コントロールミックスがLife Technologiesより販売されている。日本では産総研が、JMACと共同でRNAスパイクインコントロールを開発中である。
5. ISO国際標準化動向として、2013年6月頃にTC Biotechnologyが発足の見込みである。スコープは、各国コメントを考慮し、提案文書よりは絞られるが、それでも広範囲にわたるものとなる。マイクロアレイやPCRの取扱いには、むしろ最適なTCとなる可能性もあり、今後も情報を追っていくべきである。

34

©JMAC 2007-2013. All Rights Reserved

**特定非営利活動法人
バイオチップコンソーシアム
(JMAC: Japan MicroArray Consortium)**

この報告書は、平成24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24年度 戦略的技術開発委託費
医療機器等の開発・実用化促進のための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 (DNAチップ)
開発ワーキンググループ報告書

連絡先

〒100-8901
東京都千代田区霞が関1-3-1
経済産業省商務情報政策局 ヘルスケア産業課
医療・福祉機器産業室
TEL : 03-3501-1562
FAX : 03-3501-0315
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/FAX : 029-861-7840
E-Mail : human-ws-ml@aist.go.jp