

**厚生労働科学研究委託費（医薬品等規制調和・評価研究事業）**  
**委託業務成果報告（総括）**

**「コンパニオン診断薬の臨床性能のブリッジングのための評価手法に関する研究」**

**業務主任者：鈴木 孝昌 国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子医薬部・第4室・室長**

**研究要旨**

コンパニオン診断薬の臨床性能試験のブリッジングのための評価手法に関する研究として、今年度は主にコンパニオン診断薬に関する現状の把握と問題点の絞込みに重点を置き、以下の検討を行った。

**1. 国内外におけるコンパニオン診断薬開発の現状と問題点の把握**

**1-1. 専門家による検討会の立ち上げ**

本研究を遂行するにあたり、当該分野に見識および経験の深いメンバーからなる産学官の検討チームを立ち上げ、計3回の検討会を開催し、本研究の進め方および企業へのアンケート調査に関する助言を受けるとともに、コンパニオン診断薬に関する問題点に関して議論を行った。またPMDAのコンパニオン診断薬プロジェクトチームとも連携を取りながら、今後予想される問題点の絞込みを進めた。

特に後発のコンパニオン診断薬の取り扱いに関する問題は、双方において重要な課題と位置づけており、今後連携を取りながら必要に応じて合同での検討会を開催し、ガイドラインの作成等具体的な基準作りへ向けて活動を展開する予定である。

さらに検討会においては、現状で問題となっている具体的な承認事例等に関して情報提供を受けるとともに、今後の方向性に関して議論を行った。特に、同一のバイオマーカーに対して複数の薬剤及びコンパニオン診断薬が作製される事例があり今後も増加が想定されるため、相互のブリッジングをどう考えるかが重要な検討課題としてクローズアップされた。

**1-2. 企業向けアンケート調査の実施**

各企業におけるコンパニオン診断薬に対する取組状況、および問題意識と今後の方針などを調査するため、上記検討会での検討を経てWeb上にて回答を募集する形式でアンケートを実施した。アンケートは、製薬企業向け、診断薬企業向け、診断機器メーカー向け、および臨床検査センター向けに異なるサイトを準備し、一部共通した30-50問程度の設問を設定した。アンケートは、製薬協等の業界団体を通じて関連企業へ回答依頼をし、Webを介して回答を収集し、結果をまとめた。

**1-3. 海外での規制動向の調査**

欧米での規制動向に関しては、FDA等の規制に関する専門知識を有するコンサルタントより直接情報提供と解説を受けた。その結果、コンパニオン診断薬の規制に関しては、欧州に比べて米国の方が先行しており、本邦での規制を考える上では参考にできる点、しかし、保険償還制度の違いや、いわゆるLDT(Laboratory Developed Test)の存在など日本の制度とは異なる点も存在する

ため、単に米国に追随するのではなく日本独自の規制システムを構築することが重要である点が明らかとなった。

## 2. コンパニオン診断薬の特性に基づく分類と臨床性能試験のブリッジングの妥当性の検証

コンパニオン診断薬の特性に関する分類として、解析対象物質（例えば、DNA、タンパク質等）による分類に加えて、検出手法および検出目的により分類し、各項目における要素技術を抽出した。項目ごとに、ブリッジングの容易性、妥当性を検証するため、臨床性能試験のブリッジングが容易だと考えられる事例、難しいと考えられる事例を抽出し、前者に関して今後具体的指標の作成を検討した。ブリッジングが容易な事例としては、変異等 DNA の型を判定する手法が挙げられる。米国では遺伝子型判定のゴールドスタンダードとして、従来型の DNA シークエンサーの利用が推奨されているが、感度の面で優れている次世代シークエンサーデータ（NGS）をブリッジングのための標準法として活用する可能性についても考慮し、NGS データの解析についても経験を積み、データの信頼性および再現性に関する知見を集積した。今後診断への応用が予測される次世代シークエンサーを用いたゲノム解析に関しても将来検討に加えることを視野に入れた。

さらに、ブリッジングのための希少バリエーション標準品調製のための変異導入細胞株の作製に関して、BRAF 遺伝子変異をターゲットとして、日本人由来正常ヒト細胞株を利用したジーンターゲットング法によるモデル細胞株の作製に着手した。

## 3. 臨床性能試験データのブリッジングに必要な基本要件の抽出と分析

臨床性能試験データのブリッジングに必要な要件を考えるため、まずこれまでに承認申請されたコンパニオン診断薬に関する事例研究を行うこととした。また、開発過程におけるコンパニオン診断薬の選択が難しかった事例として、ALK 阻害剤アレクチニブにおける既存 FISH 法の利用が挙げられ、治療ターゲットを同じくするクリゾチニブの適応患者選択のためのコンパニオン診断薬との比較を含めて、重要な検討課題となることから、この問題に関して具体的に検討を加えることとした。

今後、2 の分類によりブリッジングが容易または可能であると判断されたコンパニオン診断薬について、将来的にガイドラインの作成を視野にいれて、基本要件の設定を行うとともに、必要に応じてブリッジングのための手法の開発に関する検討を行う予定である。

### 研究協力者

中央検査部 准教授

登 勉

三重大学大学院・医学系研究科

検査医学講座 特任教授

降旗 千恵

国立医薬品食品衛生研究所

遺伝子医薬部 客員研究員

中谷 中

三重大学 附属病院

小原 有弘  
独立行政法人 医薬基盤研究所  
難病・疾患資源研究部 研究サブリーター

## A．研究目的

個の医療の実現に向けた新薬開発においては、コンパニオン診断薬の同時開発が重要な課題となっている。両者は同時申請を前提としてセットで臨床性能試験を行うことが求められているが、既承認品に対するコンパニオン診断薬が必要な場合や、開発の途中で診断薬を変更する場合などには、異なる臨床性能試験データ等のブリッジングにより、目的とする診断薬の臨床性能を担保する必要性が生じる。この際、異なる診断薬や臨床データの同等性を保証したブリッジングが可能であるか、そのために必要な基本要件、及び追加試験の内容に関しては、診断薬の種類ごとに異なる検討が必要である。そこで、想定されるコンパニオン診断薬を検査対象物質や検査方法ごとに分類した上でそれらの問題点を抽出し、ブリッジングの可能性および方法に関して具体的な検討を行う。

コンパニオン診断薬の開発に関しては、海外の大手メーカーが先行しており、成功事例も蓄積してきているが、新規医薬品との同時承認がFDAで要求されたことから、これまでの診断薬とは違った開発手法および臨床性能評価が求められることとなり、コンパニオン診断薬の開発をめぐる状況はやや混沌としている。こうした状況を受け、我が国においても一昨年末に「コンパニオン診断薬及び関連する医薬品の開発に関する技術的ガイダンス」が発出され、一般的な技術要件としての道筋が示されたが、さらに個々の事例に対して具体的な手法や要件を明らかにすることが重要な課題として残されており、本研究は臨床性能試験データのブリッジングという観点からその課題を解決し、国内におけるコンパニオン診断薬の開発の促

進に貢献することを目的としている。

こうした目的の達成のため、企業等へのアンケート調査なども活用し、まずはコンパニオン診断薬の開発をめぐる現状と、問題点を明らかにするとともに、それらを診断薬の種類と特性を基に整理し、項目ごとに臨床性能試験データのブリッジングの可否、及びそのための基本要件および評価手法を明示する。こうした過程の中で、具体的事例に関して、標準物質を含めた評価手法の新たな開発が必要とされた場合には、それらを含めて対応をすることを目的として研究を行う。

コンパニオン診断薬に関する規制は米国が先行しているが、診断薬特にLDT（Laboratory Developed Test）の取り扱いをめぐる日米のシステムの違いを考慮し、日本独自の規制を構築する必要がある。本研究の最終的なアウトプットとしては、各種ガイドライン、技術ガイダンス等の素案や規制に関する政策提言として提供し、我が国の厚生労働行政の支援となることをめざす。

## B．研究方法

### 1 専門家による検討会

本研究を遂行するにあたり、当該分野に見識および経験の深い以下のメンバーからなる産学官の検討チームを立ち上げ、計3回の検討会を開催し、本研究の進め方および企業へのアンケート調査に関する助言を受けるとともに、コンパニオン診断薬に関する問題点に関して議論を行った。またPMDAのコンパニオン診断薬プロジェクトチームとも連携を取りながら、今後予想される問題点の絞込みを進めている。

（検討会メンバー）

登 勉（三重大学大学院 医学系研究科）  
中谷 中（三重大学附属病院 中央検査部）  
廣橋朋子、長澤 崇、岡安清香（ファイザー(株)）

田澤義明、西田美和(ロシュ・ダイアグノスティックス(株))

堤 正好(株SRL)

鈴木孝昌、降旗千恵(国立衛生研究所)

## 2 企業向けアンケート調査の実施

アンケートは Web 上で回答が行えるシステムとして(株)マクロミル社より提供されている Questant を利用した。調査対象企業は、製薬企業、診断薬企業、検査センター、医療機器企業とし、それぞれ別々のアンケートサイトと設問を用意した。

アンケートの協力依頼は、以下の関連団体を通じて行い、指定の URL へアクセスして、Web 上での回答をお願いした。

(製薬企業)

日本製薬工業協会(JPMA)

米国研究製薬工業協会(PhRMA)

欧州製薬団体連合会(EFPIA)

(診断薬企業)

一般社団法人 日本臨床検査薬協会(JACRI)

(検査センター)

一般社団法人 日本衛生検査所協会(JRCLA)

(医療機器企業)

一般社団法人 日本分析機器工業会(JAIMA)

アンケートの回答にあたっては、パスワードによるアクセス制限を設け、同一 PC より重複した回答を受け付けられない設定をした。

アンケート開始のアナウンスは、各関係団体を通じて 1 月 13 日に行い、アンケート回答の締切は 2 月 13 日とした。

## 3 海外での規制動向の調査

海外でのコンパニオン診断薬をめぐる規制動向に関する最新の情報を得るため、製薬企業やコンサルティングファームにおいて規制への対応等に従事し、FDA 等の規制に関する専門知識を有しており、京都大学、北里大学で非常勤講師を勤めているベーカー&マッキン

ジー法律事務所の Lu Chia-Feng 弁護士から直接情報提供と解説を受けた。情報の入手に関しては、基本的に業務主任者の鈴木が六本木のベーカー&マッキンジー法律事務所を訪問し、直接 Lu 氏と面会することにより執り行われ、10 月より 2 月まで、計 8 回のミーティングを行った。

Lu 氏からの情報提供に加え、本研究費を利用した海外調査とし、以下の学会に参加し、コンパニオン診断薬に関する最新の情報を入手した。

平成 27 年 2 月 15 日~2 月 20 日

Molecular Medicine TriConference

(米国、サンフランシスコ)

会議では主にコンパニオン診断薬および次世代シーケンサーに関するセッションに参加した。

これらの情報に加えて、利用可能な情報として以下の出版物を参照し、関連情報を入手した。

- HS レポート No. 79

平成 24 年度規制動向調査報告書

「コンパニオン診断薬を用いた個別化医療」  
-その開発と規制の動向- (HS 財団)

- 厚生労働科学研究費補助金(創薬基盤推進研究事業) 政策創薬マッチング研究事業(調査研究)

平成 24 年度(2012 年度) 国外調査報告書

「創薬基盤強化の新機軸を探る」  
-オープン・イノベーション、バイオマーカーを中心に- (HS 財団)

- 市場調査レポート

「個別化医療の普及と医薬品・診断薬・臨床検査ビジネスの今後の方向性」(シード・プランニング)

- 市場調査レポート

「世界におけるコンパニオン診断市場の規制

## 概要」 Global Regulatory Overview For Companion Diagnostics Market

(Frost & Sullivan)

- Maham Ansari

“The Regulation of Companion Diagnostics: A Global Perspective” Therapeutic Innovation & Regulatory Science 47(4) 405-415 (2013)

### 4. 臨床性能試験データのブリッジングに関する検討

まず、コンパニオン診断薬の分類として、以下の項目に関して検討を行った。

- 検出対象物質による分類
- 検出手法に関する分類
- 検出目的による分類
- 定性 or 定量
- 新規開発医薬品 or 既存医薬品
- 新規開発診断薬 or 既存診断薬
- 診断薬 or LDT
- Single marker or Multiple marker

このうち検出対象物質と手法に関する分類をもとに、カテゴリーごと臨床性能試験データのブリッジングの容易さと可否について検討した。

さらに臨床性能試験データのブリッジングが必要となる事例に関して、具体例を交えながら検討を加えた。

### 5. 変異導入リファレンス細胞株の作製

ブリッジングのための希少バリエーション標準品調製のための変異導入細胞株の作製に関して、BRAF 遺伝子変異をターゲットとして、日本人由来正常ヒト細胞株を利用したジーンターゲットング法によるモデル細胞株の作製に着手した。ゲノム編集の技術を使って既知の BRAF 変異を導入するため、BRAF 遺伝子のコドン 600 付近の deletion mutant を作製するため

の Crisper システムの設計を行った。

BRAF ターゲット遺伝子情報から sgRNA (single-guide RNA) 配列を設計し、設計した sgRNA 配列を導入した動物細胞発現用プラスミドベクター (U6 プロモーター) 及び Cas9 タンパク発現プラスミドベクター (EF-1 $\alpha$  プロモーター) を構築した。同時に、13 種類の変異導入オリゴマーをデザインし、合成した。上記作業については、タカラバイオ㈱に委託した。

### C. 研究結果および考察

#### 1. 専門家による検討会

コンパニオン診断薬を含めた臨床検査に関する造詣の深い三重大学の登教授に協力を依頼し、すでにコンパニオン診断薬に関する開発、使用経験のある製薬企業、診断薬企業、検査センターからの担当者からなる産学官からなる検討会を立ち上げて、本研究班の支援を頂けることとなった。検討会は5機関10名からなり、以下の計3回の検討会を開催し、企業向けアンケート調査の内容、コンパニオン診断薬の分類、コンパニオン診断薬をめぐる諸課題等に関して議論を行った。

- 第一回検討会

日時：平成26年10月15日(水)

午後1時から3時

場所：SRL 新宿会議室(新宿三井ビル8F)

- 第二回検討会

日時：平成26年12月1日(月)

午後2時より4時

場所 国立医薬品食品衛生研究所

- 第三回検討会

日時：平成26年12月1日(月)

午後2時より4時

場所 国立医薬品食品衛生研究所

\* 議事録を報告書巻末の資料として添付する。

本検討会を通じて、コンパニオン診断薬に関する企業向けのアンケートを作成するとともに、関係団体に対するアンケート調査依頼の取次をお願いした。

さらに、これまでの経験からコンパニオン診断薬の規制に関して現状で問題となっている点、および今後問題となると予想される課題に関して、詳しい議論が行われた。そして、以下のような問題点がクローズアップされた。

- コンパニオン診断薬と開発医薬品の1対1対応の厳密性をどこまで要求するか
- コンパニオン診断薬は新薬との同時開発が原則だが、既存の医薬品に対するいわゆる後付けのコンパニオン診断薬をどう扱うか。
- コンパニオン診断薬と関連して、日本におけるLDTの取り扱いをどう考えるか。
- コンパニオン診断薬へのNGSの利用
- 同一バイオマーカーに対して複数の医薬品およびそれと対応したコンパニオン診断薬が混在する問題
- PMDAにおけるコンパニオン診断薬の新薬との同時評価体制について

本検討会の内容については、PMDAのコンパニオン診断薬プロジェクトチームと情報の共有を図った。また、PMDAからの要請により、来年度からは医療機関における病理診断の専門家にも検討委員として加わっていただく予定である。

## 2. 企業向けアンケート調査

調査対象としては、製薬企業、診断薬企業、検査センター、医療機器企業とし、基本的には同様な設問とするが一部業種特異的な設問も加えるため、回答をしやすいようにそれぞれ単

独のアンケートとし、Web上も別々のURLとしてアクセスしてもらう形式にした。大学や医療機関、関連学会については、まだ具体的にコンパニオン診断薬の取り扱い経験が少ないことから、期待した回答が得られにくいと考えられたため、今回の調査対象には含めなかった。

設問にはなるべく選択肢を設けて回答がしやすくしたが、一部は記述式で意見を募集した。アンケート期間は平成27年2月13日から3月13日の1ヶ月間とした。その結果、表1に示すように、製薬企業48機関、診断薬企業23機関、検査センター5機関、医療機器企業2機関より回答が寄せられた。業種によって回答の回収率に差が見られたが、これは各業界におけるコンパニオン診断薬へ関心の差を反映するものであると考えられる。最も多くの回答が寄せられた製薬企業における関心は非常に高く、ついで開発の当事者である診断薬企業からも多くの意見が寄せられた。

全般的に企業によってコンパニオン診断薬への取組状況や関心に差が見られ、様々な意見が寄せられた。設問には、内資系/外資系、年商に関する項目があり、比較的多くの回答が得られた製薬企業と診断薬企業に関して、これらの回答ごとにコンパニオン診断薬の開発経験および今後の取り組みの予定に関してクロス集計を行った結果を図1に示す。

製薬企業に関しては、コンパニオン診断薬の開発経験がある企業は3割程度であった。内資系、外資系で比較するとやはり外資系企業の取り扱い経験が高く、約5割であった。また、企業規模(年商)毎に比較してみると、予想された通り大きい企業ほど取り扱い経験が高い傾向に有ることがわかった。今後開発予定のある企業は約半数近くを占めたが、こちらも業種により同様の傾向を示した。

一方で、診断薬企業については、コンパニオン診断薬の開発経験がある企業は4割強と製

薬会社よりも高かったが、製薬企業と同様に外資系の企業での経験が7割と高かった。また、興味深いことに企業規模(年商)毎に比較した際には製薬企業とは違った傾向が見られ、あまり企業規模との相関が見られず、大企業での取り組みがないことに加え、比較的事業規模の小さな会社でも、取組率が高いという傾向が見られた。

今後の販売予定に関しても同様の傾向が見られ、事業規模にかかわらずほぼ同じ割合で推移し、年商50億円未満の分類にあたる小さな企業でも7割を超えるに開発予定がある点は注目に値する。この結果から、比較的大きな製薬企業が、小回りの利く比較的小さな診断薬企業と組んでコンパニオン診断薬の開発を行うという状況も想像できる。

アンケート結果全体の集計結果については、なるべく同様の設問を業種間で横に比較できるような形で巻末に資料としてまとめた。また、その他の部分の回答や記述式の回答については、寄せられた意見を別紙にまとめた。

### (アンケート結果の要約)

- 製薬企業、診断薬企業とも回答者の約4割が外資系企業であったが、臨床検査企業はすべて内資系企業であった
- 製薬企業が診断薬企業を関連企業としている割合が3割弱であったが、その内訳は、これを外資系15.8%、内資系34.5%と後者の方が高かった。
- 製薬企業、診断薬企業側から見ると、検査センターを関連企業として持つ割合は低かったが、検査センター側から見れば、回答が得られた5社中4社は少なくともどちらかを関連会社として持っていた。
- コンパニオン診断薬を取り扱う部署、チームもしくは専門家が社内存在するか

という問いに対しては、製薬企業、診断薬企業とも約半数がありと回答した。

- コンパニオン診断薬に関する規制や申請データに関する知識を十分持っているかに対しては、診断薬企業に対して製薬企業の方が知識が不足している傾向にあった。
- コンパニオン診断薬の開発経験のある企業は、製薬企業で3割、診断薬企業で約4割であったが、開発予定のある企業は約半数を占め、数年以内に予定している企業が多かった。
- コンパニオン診断薬に使用した技術、対象マーカーは多岐にわたっていた。
- 対象疾患としては想定通り悪性腫瘍分野がメインであったが、その他の分野への取り組みも見られた。
- 半数の企業が、製薬企業と診断薬企業での共同開発を経験または予定しているが、そのパートナーは関連企業とは限らず、他社であるケースが多かった。
- 製薬企業においてコンパニオン診断薬の導入が与える影響、および開発のどの段階から準備、提携を開始するかに関しても、企業間で回答はばらついたが、製品によってケースバイケースという回答もあり、まだ標準化されたアプローチが難しいと考えられた。
- コンパニオン診断薬の発展に対して重要な役割を果たすのはという設問に対しては、比較的業種間でも同様の回答となり、製薬企業、診断薬企業、検査センターの順番であったが、行政に対する回答が1-2位を占め、期待の高さが伺われた。
- 開発コストに関しては作業に応じて分配するケースが多かったが、製薬企業が負担する例も2-3割あった。
- 開発品が実用化されなかった場合の開発

コストに関する取り決めはない場合が多かったが、一部は製薬企業が全額負担するケースもあった。その他ケースバイケースという意見も多かった。

- コンパニオン診断薬開発における課題については、様々な意見が寄せられ、一様ではないことが浮き彫りとなった。
- これまでに発出された通知によって、コンパニオン診断薬の開発方針が明確になったかという設問に対しては、明確になったが不明な部分もありという意見が強かった。
- 明確となっていない内容に関しては、審査側の経験不足から来る不明瞭さや、後発品に対する取り扱いなど、様々な意見が寄せられた。
- 後発コンパニオン診断薬の開発に関しては、予定を含めて取り組みは少ないようである。
- 後発コンパニオン診断薬に対しては、それに対応したガイドラインの必要性が指摘されている。
- 実際の経験は少ないが、臨床性能試験データのブリッジングに関しても、問題意識は多岐にわたっている。
- 人種差の問題に関しては、意見は分かれているが、製薬企業に比べて診断薬企業や検査センターの方が人種差を考慮した国内臨床性能試験の必要性を重視しているようである。
- 利用する検査機関に関しては、診断薬という性格上特定機関には限定されないようだが、LDT 的な使用が考慮された場合には、検査機関が限定される可能性がある。
- 製薬企業、診断薬企業における検査センターの位置づけに関しては、使用者として独立した立場を保つという意見が多い

ものの、開発への関与を希望する意見もある程度あった点は注目に値する。さらに、検査センター側では、積極的に開発に関わりたいという意見が多く、今後どのような形で提携が行われるかに期待がかかる。

- 検査センターとしてコンパニオン診断薬導入に関して困っている点に関しても、多岐にわたり意見が寄せられた。
- 「コンパニオン診断薬の開発における課題は」という記述式の設問には数多くの意見が寄せられ、規制、LDT、保険償還、開発・申請のスケジュールなどが課題となっている。
- 後発コンパニオン診断薬の開発に当たって困っている点に関しては、低コストでの後発品の参入が先発企業の利益を脅かすため、添付文書への記載のルールを明瞭化を期待する意見があった他、通知がカバーできない可能性を指摘している。
- PMDA からの要請で困った点に関しては、具体的な事例も含めて数多くの意見が寄せられた。
- 薬事承認申請に関わる課題に関しては、審査機関の連携、審査期間の短縮、規制の整備と明瞭化に関する要望が寄せられた。
- 診断薬企業における、コンパニオン診断薬の販売に関する課題として、製薬企業の協力の必要性および薬価、保険点数の問題が挙げられた。
- その他の課題としては、グローバル化を含めたビジネス戦略、ブリッジング等の問題が挙げられたが、特に診断薬としてのコンパニオン診断薬自体の採算性の問題は、製薬企業の協力なしには解決できない問題として捉えられている。
- 製薬企業側からは、承認申請に関わる診



断薬企業の経験と協力が期待がかかり、診断薬企業側からは、製薬企業に向け、検体や情報の共有に関する要望が強いようである。

- 行政に対しては、規制や審査体制の整備、審査の迅速化など大きな期待が寄せられている。
- LDT の問題に関しては、コンパニオン診断薬としての取り扱いに関して多くの意見が寄せられ重要な課題となっていることが伺われる。コンパニオン診断薬としては、キット化された診断薬を使用し LDT とは区別すべきという意見と、コンパニオン診断薬として LDT を有効利用できる仕組みを考えるべきという両方の意見が存在した。
- 「検査センターや検査担当者の質をどのように担保すべきか」という設問に対しては、認証制度と教育制度の必要性に関する意見が多かった。
- コンパニオン診断薬の将来像、方向性についてはマルチプレックス診断の重要性とそれに対応する規制整備が主な課題として挙げられている他、LDT の問題、新薬とコンパニオン診断薬の 1 対 1 対応の問題などが指摘されており、急速な変化が予測されるこの領域に対する迅速な対応が要求されている。

### 3. 海外での規制動向の調査

海外での規制動向調査として、主に欧米での規制動向に関する情報を、FDA 等の規制に関する専門知識を有するベーカー&マッキンゼー法律事務所の Chia-Feng Lu 弁護士からコンサルタントとして直接情報提供と解説を受けた。国内外の規制の特徴を図 2 にまとめ、以下に各国での規制とコンパニオン診断薬の取り扱いに関して解説する。

### (米国での規制)

米国においては医薬食品局 (FDA) が体外診断薬 (IVD) の規制に関わっているが、IVD は医療機器 (Medical device) のカテゴリーに入り、医療機器・放射線保健センター (Center for Devices and Radiological Health : CDRH) がその審査に当たる。コンパニオン診断薬の取り扱いに関しての対応は早く、2011 年 7 月にガイダンス案“Draft guidance for industry and FDA staff, In Vitro Companion Diagnostics Device”を公表した。そして、2014 年 8 月に正式なガイダンスとなった (巻末に資料として添付)。ここでは、コンパニオン診断薬は“An IVD companion diagnostic device is an in vitro diagnostic device that provides information that is essential for the safe and effective use of a corresponding therapeutic”として定義され、原則としてコンパニオン診断薬とそれを利用する医薬品は同時承認とするという姿勢が示された。この背景には、より簡便な LDT がコンパニオン診断薬として使われるケースが懸念されており、これまで FDA の承認を得ることなく使われてきた LDT もコンパニオン診断薬として使用する場合には、通常の IVD と同様の申請を義務付けた。コンパニオン診断薬はリスクに基づく分類では最もリスクの高い classIII に分類され、通常市販前承認 (Premarket Approval) が必要となる。審査に当たっては、医薬品評価・研究センター (Center for Drug Evaluation and Research : CDER) の新薬審査部門と CDRH の体外診断薬審査部門が密接に連携をとりながら審査に当たることが示されている。

こうしたスキームで既に米国においては多くのコンパニオン診断薬が承認を取得しており、医薬品とのクロスラベリングが行われている。現在 FDA にて承認されているコンパニオン診断薬のリストを表 2 に示す。注目すべき点

は、最近承認された Myriad Genetic Laboratories 社の乳癌関連遺伝子検査である BRACAnalysis CDx™は LDT であったが、初めてコンパニオン診断薬としての承認を取得した事例となった。米国においては、LDT も IVD の一部であり本来 FDA の管理下に置かれるべきものであるが、実質的には試験機関として CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments) の認証を取ったラボで行われるテスト (LDT) として流通していた。近年 FDA は LDT に対する管理を強めようという狙いで、2014 年 10 月に “Framework for Regulatory Oversight of Laboratory Developed Tests (LDTs)” and “FDA Notification and Medical Device Reporting for Laboratory Developed Tests (LDTs)” というドラフトガイダンスを発表したことから、今後の LDT をめぐる規制動向が注目される。

### （欧州での規制）

欧州 (EU) においては、新薬審査のとりまとめ機関である欧州薬品庁 (European Medicines Agency: EMA) がコンパニオン診断薬に関して、2010 年 6 月に以下の二つの Reflection paper のドラフトのなかで言及している。

- Reflection Paper on Methodological Issues Associated with Pharmacogenomic Biomarkers in Relation to Clinical Development and Patient selection
- Reflection paper on co-development of pharmacogenomics biomarkers and Assays in the context of drug development

その内容はゲノムバイオマーカーを利用した医薬品の開発におけるコンパニオン診断薬を用いた患者の選択に関して言及したものであり、具体的にコンパニオン診断薬に関する指針を示したものではない。事実 EU においては、EMA は新薬審査には関与しているが、体

外診断薬の審査には関わっておらず、コンパニオン診断薬は最もリスクの高い class D に分類されるものの、その承認申請は通常の体外診断薬と同様に各所属国における管理のもと、民間の第三者認証機関 (Notified Body) が取り扱っている。そして、いったん CE マークを獲得すれば、EU 内の各国において流通可能となる。医療機器として取り扱われる体外診断薬の統一の評価に関しては、欧州委員会 (EC) に設置されている、Medical Device Coordination Group (MDCG) が諮問機関として機能すると考えられる。

こうした背景から、EU においてはコンパニオン診断薬に関する統一的な規制をとるのが難しく、新薬と診断薬の同時評価は難しいと考えられる。よって日本でのコンパニオン診断薬の規制を考える場合に、EU の事例はあまり参考にならない。ただし、我が国と類似した国民保健サービス (National Health Service, NHS) を持つイギリスにおいては、国立医療技術評価機構 (National Institute for Health and Clinical Excellence, NICE) が保険償還のための診断薬の評価を実施しており、コンパニオン診断薬の評価も重要な位置づけとなっているため、参考になる情報が得られる可能性があり、今後の動向を注目したい。

(Byron et al., The Health Technology Assessment of Companion Diagnostics: Experience of NICE. Clin Cancer Res; 20(6); 1469–76. 2014)

### （その他海外での規制）

その他の国での具体的な動きはまだないが、カナダにおける規制の動向は注目に値する。カナダは米国からは独立した独自の規制システムを持つが、組織としては Health Canada が担当している。他国と同様、リスクに基づいたリスク分析によるクラス分けをしているが、コンパニオン診断薬は遺伝子検査 (genetic

testing)として class III に分類されることになる。最も高リスクが class IV であり、少しリスクが低く扱われるのが特徴である。カナダではケベック州政府の癌治療における個別化医療の促進に関する官民共同研究に対する 4 年間の予算補助や Cancer Care Ontario による同様のアプローチなど、個別化医療の実現に向けた州レベルでの取り組みもあり、その中でコンパニオン診断薬も重要な位置づけを果たすと考えられるため、その評価に関する今後の動向が注目される。

### (日本での規制)

日本では体外診断薬は医療機器ではなく医薬品として分類され、薬事法による製品としての規制を受けるが、行政的な分類としては、他国と同様に医療機器と同一の部門で取り扱われ、厚生労働省においては医療機器・再生医療等製品審査管理室がその業務を担当し、独立行政法人医薬品医療機器総合機構 (PMDA) においては、医療機器審査第二部がその審査を担当している。体外診断薬はこれまで、酵素免疫的検出法 (ELISA) を中心として比較的標準的かつ単純な検出原理に基づく手法が主であったが、近年のゲノム解析技術の進歩や DNA チップ等の新規診断技術の利用により、いわゆる次世代型の診断薬が普及してきており、その評価は複雑性を増している。コンパニオン診断薬においてもこうした次世代型の診断技術が応用されるケースが増えると予想され、その評価が課題となっている。コンパニオン診断薬に関しては、欧米で関連ドラフトガイダンスが発出されたことを受け、国内規制の整備が望まれていたが、2013 年 7 月 1 日に厚生労働省医薬食品局管理課長通知として「コンパニオン診断薬等及び関連する医薬品の承認申請に関わる留意事項について」(薬食審査発 0701 第 10 号)が発出され、基本的な姿勢が示されるとともに、

2013 年 12 月 24 日に事務連絡として「コンパニオン診断薬及び関連する医薬品の開発に関する技術的ガイダンス」が出された。

これらの中で、コンパニオン診断薬は、効果がより期待される患者や副作用が発現するおそれの高い患者を特定し、用法・用量の最適化又は投与可否の判断を適切に実施するための診断薬として定義され、米国 FDA と同様にコンパニオン診断薬と医薬品は原則、同時期に申請することを原則とした。そして、医薬品とコンパニオン診断薬、それぞれの審査担当部が連携して対応することが明記された。技術的ガイダンスにおいては、コンパニオン診断薬に関連する医薬品の臨床試験の留意点を示し、コンパニオン診断薬の承認申請に関わる基本的な考え方を示した。この中では、早期臨床試験におけるバイオマーカー陰性例の組み込み、前向きな検証的臨床試験実施の必要性、医薬品開発とコンパニオン診断薬のバリデーション実施時期などについて言及されており、医薬品及びコンパニオン診断薬の申請者間の連携の重要性および事前の PMDA への相談の活用が強調されている。

さらに、平成 26 年 3 月 28 日付薬食機発 0328 第 7 号において「コンパニオン診断薬等に該当する体外診断用医薬品の製造販売承認申請に際し留意すべき事項についての質疑応答集」において、解説が補足され、コンパニオン診断薬の審査に関する規制の基本的な考え方が示されたと考えられる。

基本的には、先行する米国 FDA のガイダンスを反映するもので、開発が先行する米国での承認事例 (表 2) を参考にできると考えられ、国際的なハーモナイゼーションにも役立つと予想されるが、体外診断薬をめぐる日米の規制システムの違いや、保険償還制度の違いにより、単純に米国での規制を参考にできない問題も生じることが予想される。特に注目すべき点と

して、つい最近 FDA はいわゆる LDT (Laboratory Developed Test) である BRCA 遺伝子検査をコンパニオン診断薬として初めて承認したが、日本には LDT のシステムが存在しないため、同様のアプローチを取れないという問題がある。この点は企業に対するアンケート結果においても重要な課題として挙げられていた。また米国においては、民間のシステムにより保険償還が行われるため、FDA による承認とは切り離して考えられているが、日本においては国民健康保険制度のもと、薬事承認が保険償還の大前提となっている。現状の制度のもとで、今後開発見込まれる新しい診断法を積極的に利用するためには、LDT を含めて先進医療制度を上手く活用せざるを得ない。

以上のように、日米欧においては多少の背景の差があり、コンパニオン診断薬に対する温度差はあるものの、その重要性は認識されており、高いリスク分類に基づく評価がなされるという点では共通している。日本ではクラス III に分類され、大臣承認が必要な品目となる。コンパニオン診断薬の開発・規制が進んでいるのは米国であるため、そこでの例を参考としつつ、日本の実情にあった独自の規制を確立していくことが重要であると言える。この際、日本の規制当局が“policy”と“vision”を持って望むことが大事であることは、米国での事情に詳しい Lu 氏も指摘する点であり、コンパニオン診断薬の利用推進に向けて行政サイドも大きな役割を担っている。

#### 4. 臨床性能試験データのブリッジングに関する検討

コンパニオン診断薬の評価にあたっては、本研究のテーマでもある臨床性能試験データのブリッジングが重要な課題となることが予測される。実際にブリッジングが必要とされる場

面に関しては、以下のようなケースが想定される。

##### • 開発過程での変更

- RUO (Research Use Only) / LDT 的テストから製品版
- 既存の診断薬からコンパニオン診断薬へ
- 製品の見直し、改良に伴う仕様変更

##### • 異なる製品間でのブリッジング

- 同じターゲットを検出する異なる診断薬
- 同じターゲットを検出する異なる診断法

##### • 異なるサンプルに対するブリッジング

- 適応臓器の拡大
- 適応サンプルの拡大

##### • 既存の医薬品に対する後付けのコンパニオン診断薬

こうした局面においてどのような手法を用いてその同等性を評価すればよいのかというのは審査側の直面する課題であるとともに、開発サイドにおいても何らかの指針が必要とされる。しかし、現時点において、そもそもブリッジングが可能かどうかを含めて、その手法に関する検討は全く行われていなかったため、本研究班では、こうした事例に関して何らかの指針や評価手法を提案することを目指とした。

一口にコンパニオン診断薬といっても、その内容は多岐にわたり、その評価にはケースバイケースでの対応が求められる場面も多いと予想される。こうした複雑な状況下、少しでも物事を整理して効率的に考えるため、まずはコンパニオン診断薬を以下の観点から分類してみることとした。

1. 検出対象物質による分類
2. 検出手法に関する分類

3. 検出目的による分類
4. 定性 or 定量
5. 検体の種類による分類
6. 新規開発医薬品 or 既存医薬品
7. 新規開発診断薬 or 既存診断薬
8. 診断薬 or LDT
9. Single marker or Multiple markers

## 1) 検出対象物質による分類

### ● 核酸

DNA ... 配列情報 (SNP), 量的情報 (コピー数), 修飾 (メチル化)

RNA ... mRNA, miRNA 発現情報

染色体 ... 構造異常、数的異常

### ● タンパク質 ... 構造 (異常), 修飾、発現量、酵素活性

### ● 細胞(組織) ... 形態、数

### ● 代謝産物 ... 内在性物質、薬物代謝物

### ● 細菌、ウイルス

## 2) 検出手法に関する分類

### (核酸)

direct sequencing, RT-PCR, DNA Chip, 特異的PCR、ハイブリダイゼーション、ミスマッチcleavage、蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (FISH) 等

### (タンパク)

抗体 (ELISA, Western, 免疫染色), 質量分析 (SRM/MRM)

### (細胞、組織)

フローサイトメーター、イメージング、病理診断

### (代謝産物)

LC-MS、抗体、RI、酵素反応

## 3) 検出目的による分類

### ➤ 薬の効き具合を予測する

比較的多いのがこの分類に属するもので、分子標的薬などにおける標的分子の有無の判定はこのカテゴリーに属する。バイオマーカー陽性となった患者が投与対象となる。

### ➤ 薬の毒性を予測する

イリノテカンにおけUGT1A1遺伝子多型のように、代謝酵素の多型による機能低下により毒性が強くなり発現する場合であり、バイオマーカー陽性となった場合には投与を中止するか投与量を減らすといった選択が行われる。

### ➤ 薬の効果を判定する

患者選択に直接使われる前二者のケースに比べるとマイナーではあるが、事前判定ではなく、薬を投与後の効果判定のために用いられるマーカーも、その薬のコンパニオン診断薬と位置づけることができる。また、OncotypeDxやMammaprintのような癌の予後予測を行い、治療方針を決定するような場合も、広い意味でのコンパニオン診断検査と捉えればこ

のカテゴリーに含まれる。

#### 4) 定性 or 定量

遺伝子変異の有無や特定タンパク質の発現など、陽性、陰性の定性的な判断が求められる試験が、特にバイオマーカーを標的とした場合には多い。遺伝子変異については、+/- の絶対的な判定を求められるが、タンパク質の過剰発現など測定値としては連続的な定量値が得られ、そこからカットオフ値を用いて+/- の定性的判定を下す場合もある。

一方、遺伝子の発現量や代謝物濃度などは定量値として得られ、臨床データから求められるカットオフ値または判定アルゴリズムを使って患者の選択を行うものである。一般に後者に比べて、前者のほうが絶対的な判定を下せるという点で解析は単純であり、臨床性能試験データのブリッジングも比較的容易であると考えられる。一方で、ブリッジングが難しい例としては、異なる DNA チップを使った遺伝子発現解析が挙げられ、DNA チップ自体の再現性に関するブリッジングのみならず、判定結果を導くための判定アルゴリズム間のブリッジングも必要となるため、その検証は容易ではないことが予想できる。

#### 5) 検体の種類による分類

検査対象となる生体試料の種類により、以下のよう分類できる。

- 血液 (血清、血漿)
- 尿
- 脳脊髄液
- 関節液
- その他の体液 (汗、唾液、涙液等)
- 便
- 組織 (癌)
- 細胞 (血球細胞、CTC、肺洗浄液等)
- その他 (画像診断)

最も多い例は血液と考えられるが、コンパニオン診断薬が用いられるケースが多い悪性腫瘍領域においては、組織標本の利用も多いと考えられる。コンパニオン診断薬の基本性能を考える場合には、検体の取り扱いが非常に重要となり、検査目的に最適化された生体試料の調製が臨床性能を担保するうえでの課題となる。特に病理診断の場合には組織標本の作製法が結果に影響を与えるため注意が必要である。

#### 6) 新規開発医薬品 or 既存医薬品

狭義のコンパニオン診断薬は、新規開発医薬品との同時開発を前提としており、この場合必ず対象となるコンパニオン診断薬での臨床試験データが存在するため評価が容易であるが、既存の医薬品に対して、新たな後発コンパニオン診断薬の開発が要望される場合が存在する。この場合、後発コンパニオン診断薬の開発を目的とした新たな臨床試験を立ち上げることは困難であることから、一般にはレトロスペクティブな解析が用いられる場合が多く、新薬の申請データとのデータのブリッジングが要求される場面が想定される。当面は、この後付けのコンパニオン診断薬に関する取り扱いも課題になると考えられる。

#### 7) 新規開発診断薬 or 既存診断薬

新規バイオマーカーに対する医薬品開発においては、診断薬も新規に開発されることになり、コンパニオン診断薬として初めて評価が行われることになる。この場合には、新薬の臨床試験データがそのまま診断薬の臨床性能試験データになるという点でわかりやすいが、既存のバイオマーカーに対する医薬品開発の場合には、承認済みの体外診断薬が存在している場合がある。抗癌剤の適応臓器を拡大するような場合もこれに該当する。この場合、承認済みの

体外診断薬を用いて臨床試験が行われることから、全く新たな診断薬をコンパニオン診断薬として同時開発するケースは少ないと考えられる。新薬の開発時に既存の診断薬を用いて臨床試験データを取るという原則に基づけば、評価上問題は生じないが、カットオフ値の変更やサンプルの調製方法の変更などが生じる場合も想定され、こうした際に既存データとのブリッジングの必要性が生じる。また、承認済みの体外診断薬をあえて当該医薬品のコンパニオン診断薬に格上げすべきかという議論も生じる。

また、逆のケースとして、新規にコンパニオン診断薬として開発されたものを、疾病の診断の目的で一般的な体外診断薬として利用する可能性も考えられる。このような場合には、利用目的に応じた新たな臨床性能試験の実施が必要と考えられるが、基本性能試験データ等はそのまま流用することが可能であると想定できる。臨床性能試験データに関しても、データのブリッジングを行うことにより、コンパニオン診断薬申請時のデータを有効利用できることが期待される。

## 8) 診断薬 or LDT

米国とは違い、日本の薬事承認のシステム上は、コンパニオン診断薬は体外診断薬として流通可能な製品版のキットが存在することが大原則であり、いわゆる LDT は“もの”としての体外診断薬としては扱われないことから、LDT はコンパニオン診断薬とはなりえないと現時点では理解できる。しかし、企業向けアンケートの回答にもあったように、今後 LDT をコンパニオン診断(薬)として活用すべきであるという意見もある。特に、一般の体外診断薬と比べ、コンパニオン診断薬は単回での使用で済んでしまう、対象の患者が限られる、複雑な検出法の場合に普及させることが難しいなど開発

コストをかけても採算に見合わない場合が多く、製薬企業側で一定コストのカバーを求めている事例もあった。そこで、より小回りがきき、検査機関が限定され、複雑な検査でもクオリティコントロールがしやすい LDT の方がコンパニオン診断(薬)としては有効である場面も十分に想定できる。これまで、試験としての評価ができなかった LDT に対して、コンパニオン診断薬という枠組みを活用して体外診断薬と同等の評価を与え、有効活用できるシステムを構築することが将来的には望ましいのかもしれない。

コンパニオン診断薬は、単なる病気の診断ではなく、当該医薬品の使用を判断する上で不可欠なものという観点でより高リスクの診断薬であるという側面から、一般に普及し、どこでも検査ができるという通常の体外診断薬に比べて、すべての項目においてより高い基準が求められている。その意味では、経験を積んだ検査機関に限定して再現性の高いデータを取得できるという意味での LDT の活用が、日本独自のシステムとしてコンパニオン診断薬の開発を推進する手法になり得るかも知れない。

一方で、企業アンケートにおいても、コンパニオン診断薬としては一般的な体外診断薬を開発すべきで、LDT とは区別すべきであるという意見もあり、LDT の問題は重要な課題として今後も引き続き議論を加えていきたい。

## 9) Single marker or Multiple markers

従来の体外診断薬に関する検査は、単一のマーカーを使って行われる場合が一般的であり、コンパニオン診断薬においても、単一のバイオマーカーを用いた診断法が今のところ中心となっていて、この場合には評価がしやすい。ただし、マーカーとしては単一でも、BRAF 遺伝子変異のように検出する対象変異が複数有り、複数のアナライズを同時に用いて判定をする

ケースも増えてきている。この場合には、個々のアナライトの評価の統合として診断性能を評価する必要があり、より複雑な判断が必要とされる。さらには、データの蓄積とともに新たな変異も発見され、追加検出すべき変異にどう対応すべきか、という課題も生じている。究極の Multiple marker テストとしての次世代シーケンサー(NGS)の活用も最近注目されており、コンパニオン診断薬としての利用も検討されている。この問題についても、重要な課題として捉え、今後議論を深めていきたい。

また、もう一つ現実的な Multiple marker テストとして、DNA チップやリアルタイム PCR を用いた遺伝子発現解析による診断が重要になることが予測される。こうした解析においては、他因子の測定結果から診断結果を導くためのアルゴリズムの構築が重要であり、その部分はブラックボックスとなっている場合も多い。その内容からアルゴリズムの妥当性を検証することは非常に難しく、適切な検体を用いた臨床性能試験結果から評価をせざるを得ない。

以上、様々な観点からコンパニオン診断薬の分類を考えたが、臨床性能試験データのブリッジングを考える上で、1 検出対象物質による分類、2. 検出手法に関する分類 3. 定性 or 定量を利用してカテゴリー分けを行い、表 3 にまとめた。そして、各カテゴリーにおけるデータブリッジングの容易さに関して色分けを行った。

この中で、ブリッジングが比較的容易であると考えられるのは、DNA を対象として遺伝子型を判定する方法であり、標準化の手法として NGS の利用が有効であると考えられる。従来は標準法としてはサンガー法によるシーケンズ確認が推奨されてきたが、感度等の面において NGS の利用がより適切である場面が増えると予想される。

## 5. 臨床性能試験データのブリッジングに必要な基本要件の抽出と分析

臨床性能試験データのブリッジングに必要な要件を考えるため、まずこれまでに承認申請されたコンパニオン診断薬に関する事例研究を行うこととした。

コンパニオン診断薬および関連医薬品のこれまでの承認事例については、参考資料別刷「コンパニオン診断薬の現状と課題」の表 1 にまとめられているが、診断標的としては主に癌関連遺伝子変異、および融合遺伝子となっている。本邦でのコンパニオン診断薬に関するガイドラインが発出される以前に既に承認を受けている例が多いが、代表的なものとして乳癌における HER2 遺伝子増幅またはタンパク質の過剰発現を検出し、トラスツズマブの投与を検討するコンパニオン診断薬として PathVysion(Abbot)および Herceptest(DAKO)が存在する。それぞれ、FISH 法と免疫染色(IHC)法という異なる手法を用いており、検出する標的分子も DNA およびタンパクと異なっている。こうした理由もあって、同一検体を用いて両手法による結果が異なる場合もあり、データのブリッジングが必要となるが、そもそも検出ターゲットが異なる場合には、ブリッジングが難しいと考えられる。結果の不一致の場合の真値がどちらにあるかは、再試験等により確認が必要であるが、それでも一致しない場合に実際の薬剤に対するレスポンスを参考にせざると得ない。こうしたブリッジングには、臨床データが既に出ている解答付きのサンプルを用いたレトロスペクティブな解析が有効であると考えられる。

同様のケースとして、非小細胞肺癌における分子標的薬クリゾチニブのターゲットである ALK 融合遺伝子を検出するための FISH 法である Vysis ALK Break Apart FISH (Abbott)がコンパニオン診断薬として承認さ



れた。その後、二番目の ALK 阻害剤として最近承認されたアレクチニブのコンパニオン診断薬として IHC 法によるキット [ヒストファイン ALK iAEP (ニチレイバイオサイエンス)] が承認され、アレクチニブの投与を検討する際には、両者が用いられている。

両薬剤の分子標的は同じであるが、薬剤によりコンパニオン診断薬の指定が異なるのは、臨床試験に用いられた厳密な意味での 1 対 1 対応の診断薬を使用すべきであるという原則に基づくものであるが、日本肺癌学会からの声明 (2014 年 9 月) にも見られるように、臨床現場での取り扱いの混乱を招いている。今後どこまで厳密な対応をすべきか、また同一の分子標的に対しては、臨床性能試験データのブリッジングにより同種のコンパニオン診断薬を併用することを可能とできるかは引き続き議論が必要である。同一バイオマーカーを分子標的とした新薬の開発は今後さらに進むと考えられ、異なるコンパニオン診断薬の同一性の評価が重要になると考えられる。

本研究ではこうしたケースも含めて、臨床性能試験データのブリッジングが必要とされるケースに対して、その可否と具体的手法を提供することを目的としており、今後、2 の分類によりブリッジングが容易または可能であると判断された診断法について、将来的にガイドラインの作成を視野に置いて、基本要件の設定を行うとともに、必要に応じてブリッジングのための手法の開発に関する検討を行う予定である。

## 6. 変異導入リファレンス細胞株の作製

癌の分子標的薬の開発においては、Ras 遺伝子変異のように癌関連遺伝子の突然変異がバイオマーカーとなるケースが多く、遺伝子変異を検出する試験がコンパニオン診断薬とな

る。この場合、癌化形質を与える遺伝子変異が限定されている場合には、臨床検体において十分な量の変異サンプルが得られ、性能を十分に評価できるが、変異のパターンが多岐にわたり、頻度の低い変異が含まれる場合には実際の臨床検体において企画した変異検出の性能が検証できない場合もある。こうした例においては、主に合成核酸を使って診断薬の性能を評価せざるを得ないが、より生体試料に近い状態での検証が望まれている。

こうした問題を克服するための手法として、目的変異を導入した培養細胞株を作製し、リファレンス細胞として安定供給することを企画した。

近年ゲノム編集技術の進歩により、様々な生物種において標的遺伝子を比較的容易に改変することが可能となっている。人工ヌクレアーゼ (CRISPER や TALEN) を DNA の標的部位に結合させ、制限酵素による DNA 切断を起こさせることにより、欠失変異を導入し、標的遺伝子を破壊する。この際に、標的配列と相同性を持ち目的変異を持つ合成 DNA を共存させることにより、欠失部分を変異 DNA で置き換えて目的部位に特定の変異を人工的に導入することが可能となる。

我々はこうした変異導入細胞作製のモデルとして、最近悪性黒色腫の治療標的として注目されている BRAF 遺伝子変異を選び、日本人由来正常ヒト細胞株を利用したジーンターゲット法によるモデル細胞株の作製に着手した。ゲノム編集の技術を使って既知の BRAF 変異を導入するため、BRAF 遺伝子のコドン 600 付近の deletion mutant を作成するための Crisper を用いた RGEN システム (TAKARA BIO) の設計を行った (図 3)。

BRAF ターゲット遺伝子情報から sgRNA (single-guide RNA) 配列を設計し、設計した sgRNA 配列を導入した動物細胞発現用プラス

ミドベクター (U6 プロモーター) 及び Cas9 タンパク発現プラスミドベクター (EF-1 $\alpha$  プロモーター) を構築した(図 4)。

同時に、既に報告されている BRAFV600 近傍の遺伝子変異をリストアップし、これらの変異をすべて網羅するため、13 種類の変異導入オリゴマーをデザインし、合成した (表 4)。

今後、作製したプラスミドおよび合成オリゴを使って、日本人由来正常不死化ヒト細胞株への変異導入を行う予定である。

#### D. 結論

- コンパニオン診断薬をめぐる規制動向調査から、日本では先行する米国 FDA での規制を基本的に踏襲しながら、LDT の取り扱い等システム上合わせられない部分に関しては、日本独自の規制を構築し、コンパニオン診断薬の利用促進につなげることが重要であることがわかった。
- 企業向けアンケート調査の結果から、日本におけるコンパニオン診断薬に対する取組状況が把握できたとともに、様々な問題点が浮き彫りとなった。特に、ビジネスモデルや規制の整備と明瞭化、後付けのコンパニオン診断薬の問題、LDT の取り扱いなどが重要な課題となっていた。
- コンパニオン診断薬を検査対象分子と検査手法によって分類し、ブリッジングが比較的容易であると考えられる、DNA を用いた遺伝子型判定に関する項目、および代謝産物 (低分子) の測定に関する項目について、今後具体的な手法を検討していきたい。
- 後付けのコンパニオン診断薬の問題など、評価が難しく、臨床性能試験データのブリッジングが要求される事例に関して、今後更に議論を深める必要がある。

- 希少変異導入細胞株を、コンパニオン診断薬の臨床性能評価として活用するためのモデルとして、BRAF 遺伝子変異パネル細胞株の作製に着手した。

#### E. 謝辞

本研究班における協力研究員および検討会メンバーとしてご尽力をいただいた、三重大大学の登勉先生、中谷中先生および国立医薬品食品衛生研究所の降旗千恵先生に感謝致します。

また、企業から検討会メンバーとして参加いただき、活発な議論をしていただいた、ファイザー(株)の廣橋朋子様、長澤崇様、岡安清香様、ロシュ・ダイアグノスティックス(株)の田澤義明様、西田美和様、および(株)SRL の堤正好様に深く感謝致します。

さらに、企業向けアンケート調査の窓口としてご協力いただいた、日本製薬工業協会、米国研究製薬工業協会、欧州製薬団体連合会、一般社団法人 日本臨床検査薬協会、一般社団法人 日本衛生検査所協会、および一般社団法人 日本分析機器工業会の各団体の皆様とアンケート調査にご協力いただいた会員の皆様方に感謝致します。

変異導入細胞株の作製に関してご協力をいただいた、小原有弘博士に感謝致します。

最後に、専門家コンサルタントとして海外の規制動向調査に関する詳しい解説をいただいたベーカー & マッキンゼー法律事務所の Lu Chia-Feng 氏に感謝致します。

表1．企業向けアンケート調査の回答状況

タイトル	ステータス	回答数
診断機器メーカー向けアンケート	終了	2
臨床検査センター向けアンケート	終了	5
製薬企業向けアンケート	終了	48
診断薬メーカー向けアンケート	終了	23

表3 コンパニオン診断薬の分類と臨床性能試験のブリッジングの容易さ

検査対象分子	DNA	RNA	miRNA	タンパク	代謝物 (低分子)	細胞、組織	細菌、ウイルス
定性的	(検査項目)						
	遺伝子型(変異、SNP)	Sequencing (NGS)	RNA-seq	RNA-seq	ELISA 酵素活性 Mass	LC(-MS)	培養
		特異的PCR	RT-PCR	RT-PCR		酵素反応	特異的PCR
		DNA Chip					Sequencing
	メチル化						
	修飾						
	構造変化 (融合遺伝子)	FISH					
		特異的PCR					
		染色体検査					
	がん細胞	NGS				FCM	
				IHC		病理	
定量的	発現量(コピー数)	CGH	Microarray	IHC	LC-MS	FCM	
			RT-PCR			病理	
		FISH		ELISA 酵素活性 Mass			
ブリッジングの容易さ							
		容易	→				困難

表2 FDAにて承認されているコンパニオン診断薬のリスト

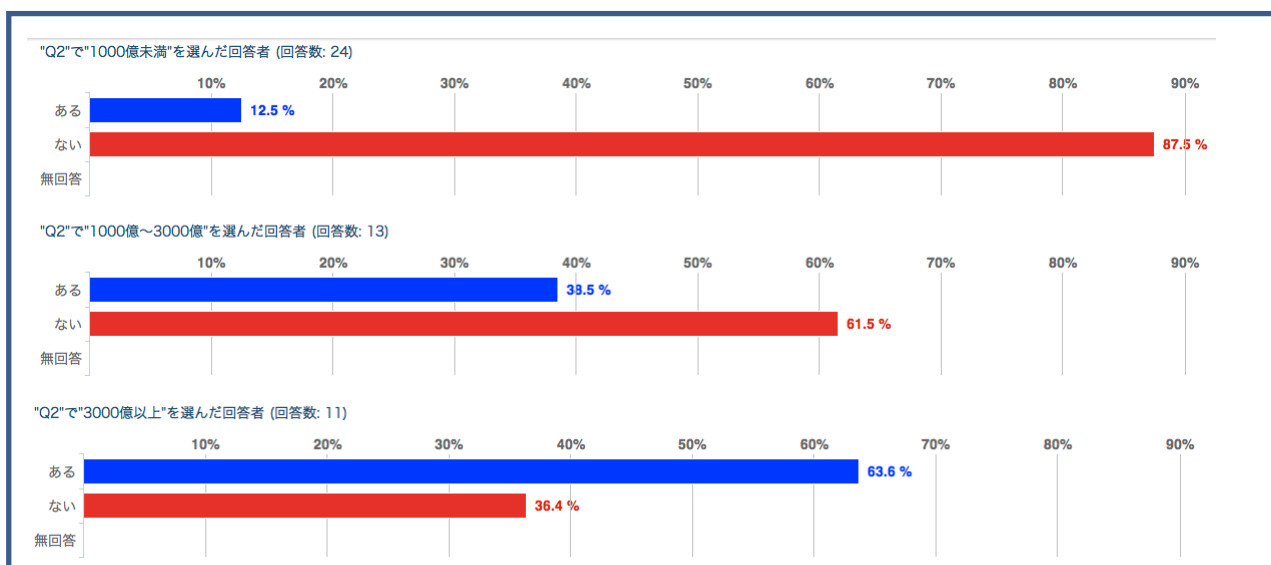
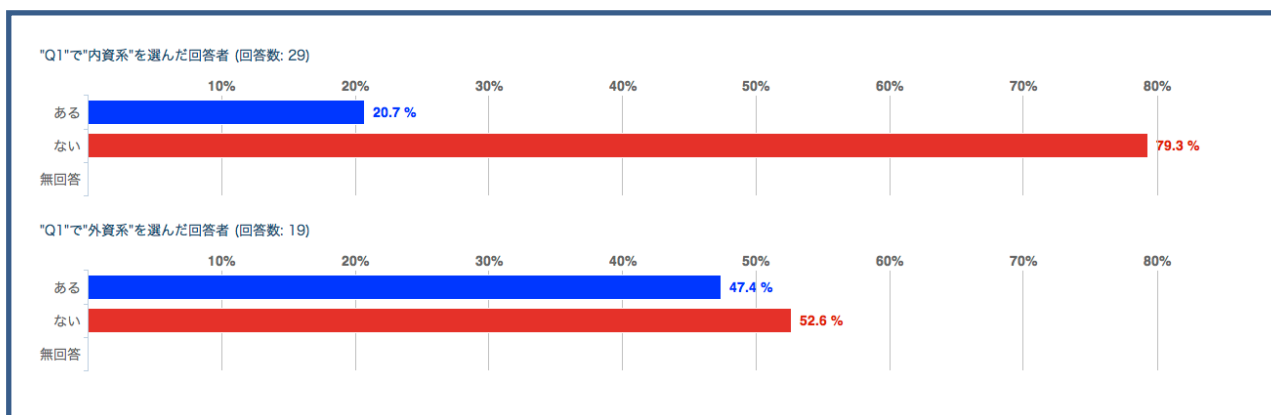
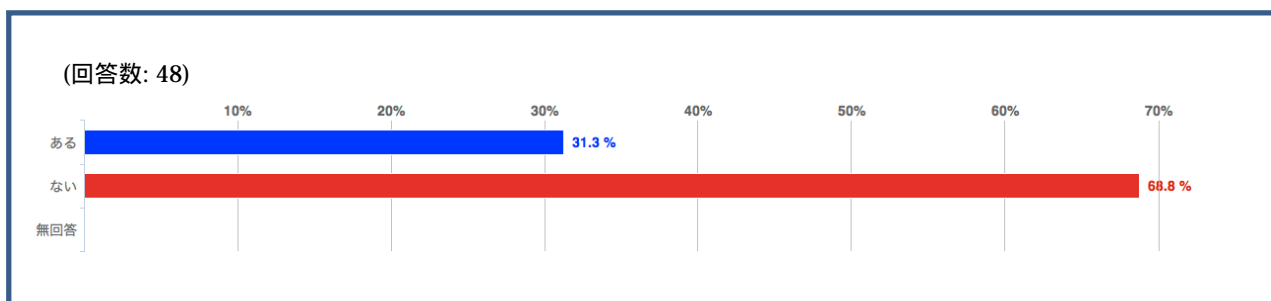
薬名 (一般名)	新薬承認申請(NDA)/生物製剤承認申請(BLA)	診断薬商品名	PMA	製造者	Intended Use (IU)/ Indications for Use (IFU) 使用目的 (IU) / 使用の適応 (IFU)
Erbix (cetuximab);  Vectibix (panitumumab)	BLA 125084;  BLA 125147	DAKO EGFR PharmDx Kit	P030044S 001-S002	Dako North America, Inc.	The EGFR pharmDx™ assay is a qualitative immunohistochemical (IHC) kit system to identify epidermal growth factor receptor (EGFR) expression in normal and neoplastic tissues routinely-fixed for histological evaluation EGFR pharmDx specifically detects the EGFR (HER1) protein in EGFR-expressing cells.  EGFR pharmDx is indicated as an aid in identifying colorectal cancer patients eligible for treatment with Erbix (cetuximab) or Vectibix (panitumumab).
Exjade (deferasirox)	NDA 021882	Ferriscan	K124065	Resonance Health Analysis Services Pty Ltd	The Ferriscan R2-MRI Analysis System is intended to measure liver iron concentration to aid in the identification and monitoring of non-transfusion dependent thalassemia patients receiving therapy with deferasirox.
Gilotrif (afatinib)	NDA 201292	therascreen EGFR RGQ PCR Kit	P120022	Qiagen Manchester, Ltd.	The therascreen EGFR RGQ PCR Kit is a real-time PCR test for the qualitative detection of exon 19 deletions and exon 21 (L858R) substitution mutations of the epidermal growth factor receptor (EGFR) gene in DNA derived from formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) non-small cell lung cancer (NSCLC) tumor tissue. The test is intended to be used to select patients with NSCLC for whom GILOTRIF (afatinib), an EGFR tyrosine kinase inhibitor (TKI), is indicated. Safety and efficacy of GILOTRIF (afatinib) have not been established in patients whose tumors have L861Q, G719X, S768I, exon 20 insertions, and T790M mutations, which are also detected by the therascreen EGFR RGQ PCR Kit.  Specimens are processed using the QIAamp DSP DNA FFPE Tissue Kit for manual sample preparation and the Rotor-Gene Q MDx instrument for automated amplification and detection.
Gleevec/Glivec (imatinib mesylate)	NDA 021335;  NDA 021588	DAKO C-KIT PharmDx	P040011S 001-S002	Dako North America, Inc.	The c-Kit pharmDX assay is a qualitative immunohistochemical (IHC) kit system used on the Dako Autostainer, for the identification of c-kit protein/CD 117 antigen (c-kit protein) expression in normal and neoplastic formalin-fixed paraffin-embedded tissues for histological evaluation. The c-Kit pharmDX rabbit polyclonal antibodies specifically detect the c-kit protein in CD 117 antigen-expressing cells.  The c-Kit pharmDx is indicated as an aid in the differential diagnosis of gastrointestinal stromal tumors (GIST). After diagnosis of GIST, results from c-Kit pharmDx may be used as an aid in identifying those patients eligible for treatment with Gleevec/Glivec (imatinib mesylate).  Results from hematoxylin and eosin (H&E) stains and a panel of antibodies can aid in the differential diagnosis of GIST. Interpretation must be made by a qualified pathologist, within the context of a patient's clinical history, proper controls, and other diagnostic tests.
Herceptin (trastuzumab)	BLA 103792	INFORM HER-2/NEU	P940004S 001	Ventana Medical Systems, Inc.	The Inform Her-2/Neu gene detection system is a fluorescence in situ hybridization (FISH) DNA probe assay that determines the qualitative presence of Her-2/Neu gene amplification on formalin-fixed, paraffin embedded human breast tissue as an aid to stratify breast cancer patients according to risk for recurrence or disease-related death. It is indicated for use as an adjunct to existing clinical and pathologic information currently used as prognostic indicators in the risk stratification of breast cancer in patients who have had a priori invasive, localized breast carcinoma and who are lymph node-negative.
Herceptin (trastuzumab)	BLA 103792  BLA 103792	PATHVYSION HER-2 DNA Probe Kit  INSITE HER-2/NEU KIT	P980024S 001-S012  P040030	Abbott Molecular Inc.  Biogenex Laboratories, Inc.	The PathVysion HER-2 DNA Probe Kit (PathVysion Kit) is designed to detect amplification of the HER-2/neu gene via fluorescence in situ hybridization (FISH) in formalin-fixed, paraffin-embedded human breast cancer tissue specimens. Results from the PathVysion Kit are intended for use as an adjunct to existing clinical and pathologic information currently used as prognostic factors in stage II, node-positive breast cancer patients. The PathVysion Kit is further indicated as an aid to predict disease-free and overall survival in patients with stage II, node positive breast cancer treated with adjuvant cyclophosphamide, doxorubicin, and 5-fluorouracil (CAF) chemotherapy. The Pathvysion Kit is indicated as an aid in the assessment of patients for whom herceptin (trastuzumab) treatment is being considered (see herceptin package insert).  InSite Her-2/neu Mouse Monoclonal Antibody (Clone C1B11) kit is intended for In Vitro Diagnostic use in Immunohistochemistry (IHC) assays to semi-quantitatively localize by light microscopy the over-expression of Her-2/neu (i.e., c-erbB-2) in formalin-fixed, paraffin-embedded normal and neoplastic tissue sections. InSite Her-2/neu is indicated as an aid in the assessment of breast cancer patients for whom Herceptin (Trastuzumab) therapy is being considered. Clinical interpretation of InSite Her-2/neu immunostaining results (absence or presence, semi-quantitative intensity score) should be complemented by appropriate controls and morphological tissue analysis and be evaluated by a qualified pathologist within the context of patient clinical history and other diagnostic results.
Herceptin (trastuzumab)	BLA 103792	SPOT-LIGHT HER2 CISH Kit	P050040S 001-S003	Life Technologies, Inc.	For In Vitro Diagnostic Use.  The SPOT-Light HER2 CISH Kit is intended to quantitatively determine HER2 gene amplification in formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) breast carcinoma tissue sections using Chromogenic In Situ Hybridization (CISH) and brightfield microscopy.  This test should be performed in a histopathology laboratory.  The SPOT-Light HER2 CISH Kit is indicated as an aid in the assessment of patients for whom Herceptin (trastuzumab) treatment is being considered. The assay results are intended for use as an adjunct to the clinicopathological information currently being used as part of the management of breast cancer patients. Interpretation of test results must be made within the context of the patient's clinical history by a qualified pathologist.
(trastuzumab)	BLA 103792	Bond Oracle Her2 IHC System	P090015S 001	Leica Biosystems	The Bond Oracle Her2 IHC system is a semi-quantitative immunohistochemical (IHC) assay to determine Her2 (human epidermal growth factor receptor 2) oncoprotein status in formalin-fixed, paraffin-embedded breast cancer tissue processed for histological evaluation following automated staining on the bond-max slide staining instrument. The Bond Oracle Her2 IHC system is indicated as an aid in the assessment of patients for whom herceptin (trastuzumab) treatment is being considered.

表 4 既知の BRAF 遺伝子変異と変異導入 Oligo の設計

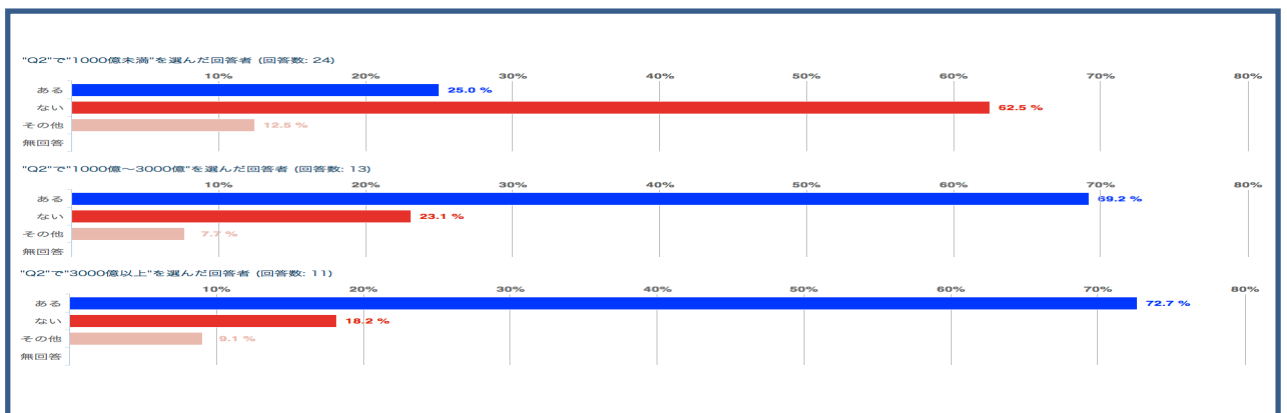
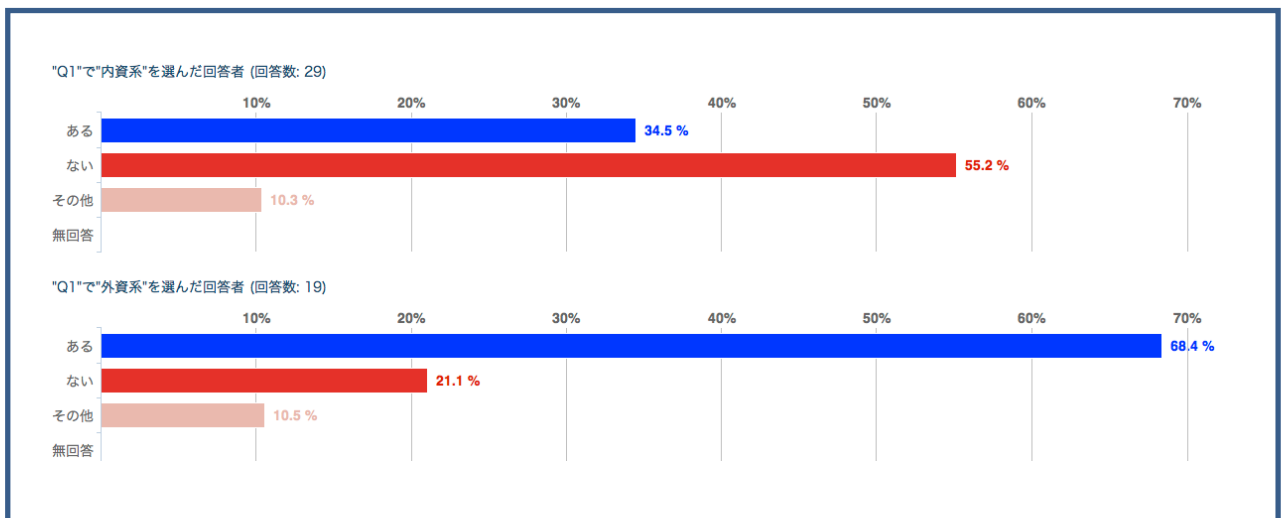
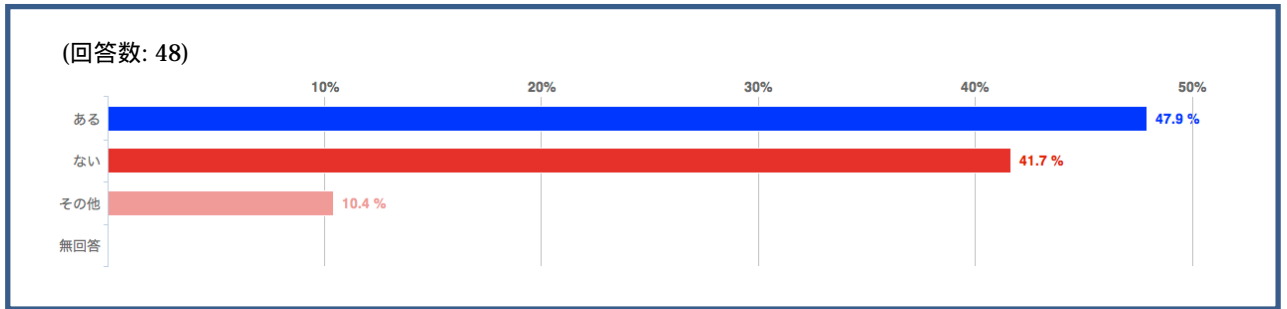
Base Number at BRAF	Based on BRAF sequence			Base on hg19 sequence			Oligo DNA Bse Sequence		
	1798	1799	1800	1800	1799	1798	140453135	140453136	140453137
Ch7 Number in hg19	140453137	140453136	140453135	140453135	140453136	140453137	140453135	140453136	140453137
Group									
Wild Base	G	T	G	C	A	C			
Mutant Base									
1	A C T	T T T	G G G	C C C	A A A	T G A	C	A	T G A
2	A A C C	A G A G	G G G G	C C C C	T C T C	T T G G	C	T C	T G
3	G G G	A C G	G G G	C C C	T G C	C C C	C	T G C	C
4	G G G	A A A	A C T	T G A	T T T	C C C	T G A	T	C

図1 アンケート結果のクロス集計結果

(製薬企業)

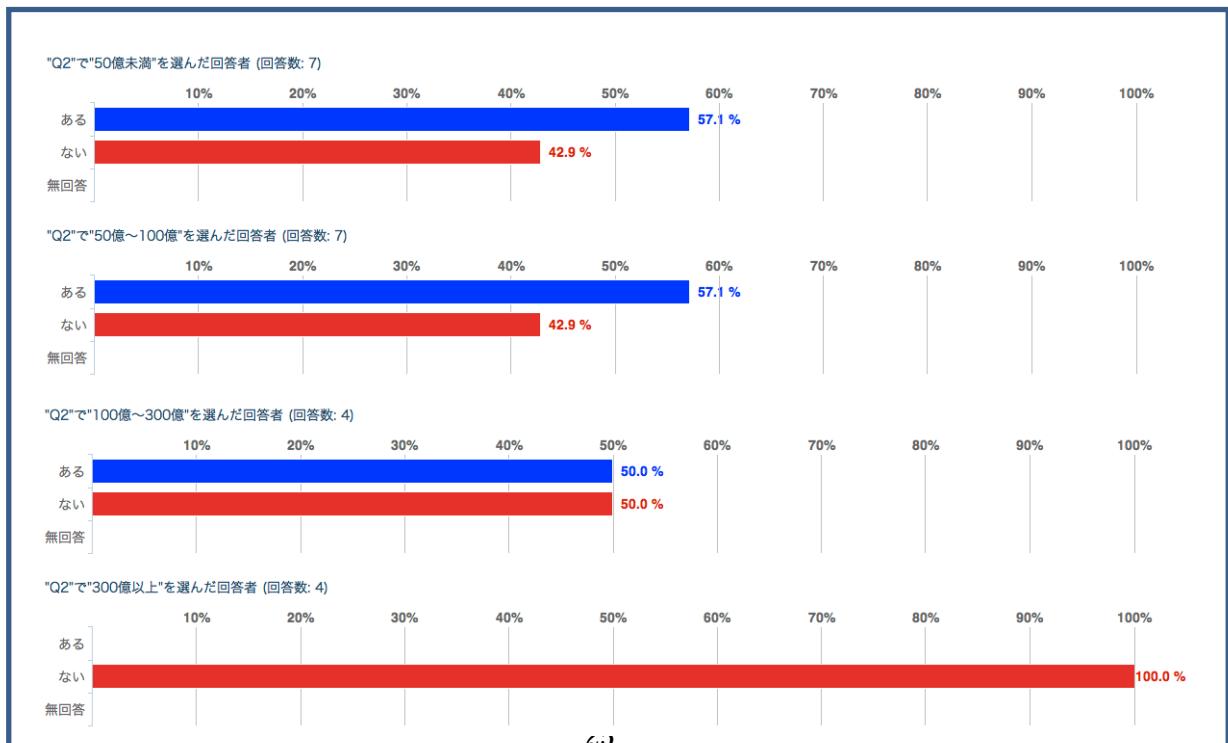
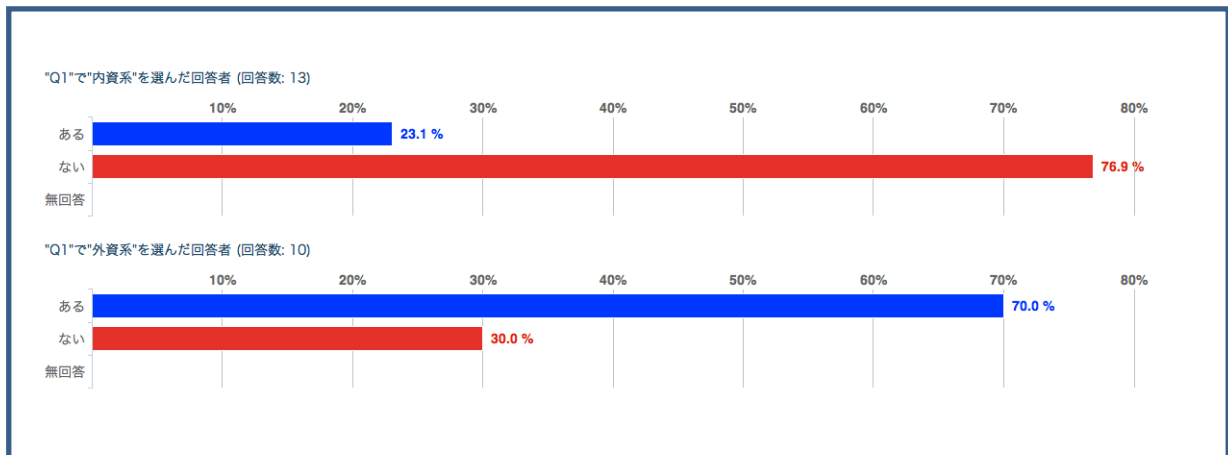
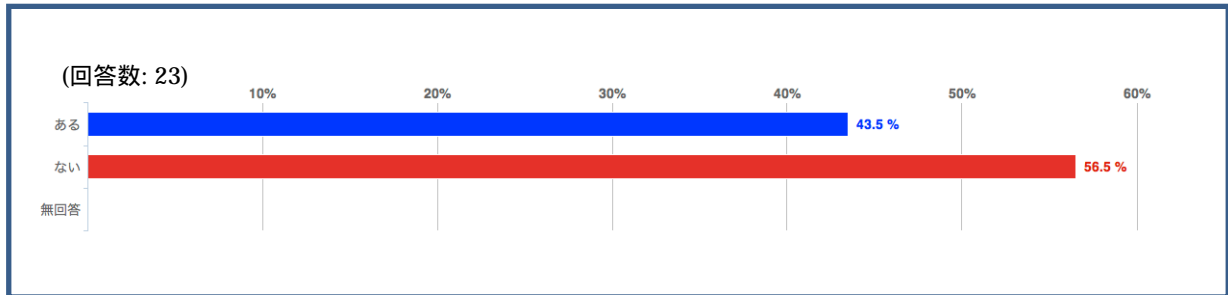


## Q11. 今後、コンパニオン診断薬の開発予定（外部委託を含む）はありますか？ （製薬企業）



## Q10. これまでにコンパニオン診断薬の開発経験はありますか？

( 診断薬メーカー )





## Q14. 今後、コンパニオン診断薬の販売予定はありますか？

( 診断薬メーカー )

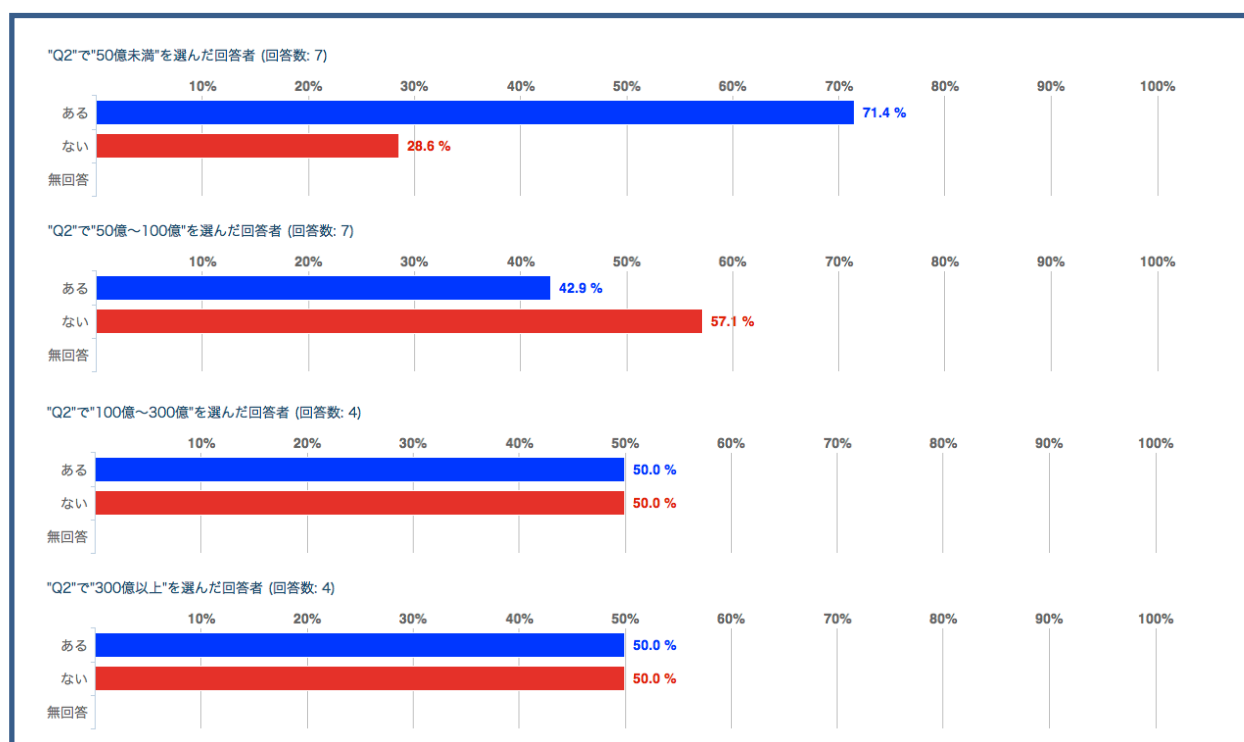
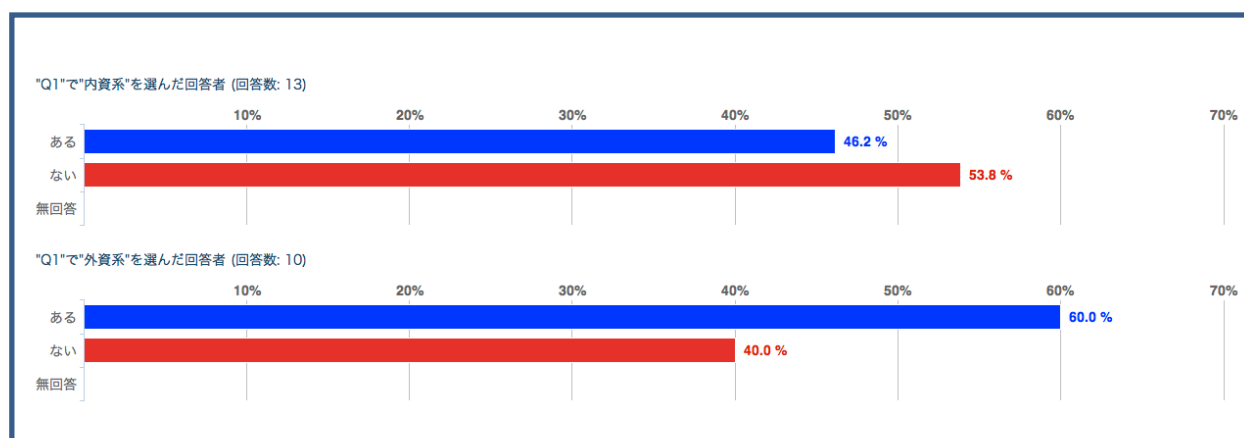
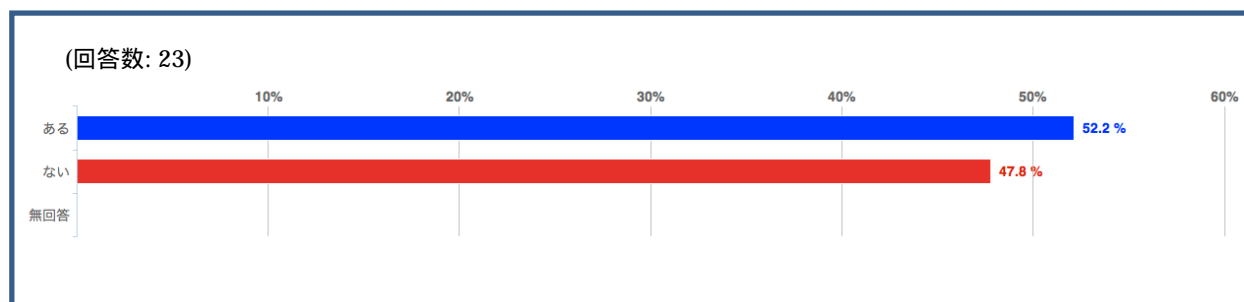


図2 コンパニオン診断薬をめぐる国内外の規制動向のまとめ

## 海外の規制の特徴

- 米国(FDA)
  - [Guidance for industry and FDA staff, In Vitro Companion Diagnostic Devices. \(August 6, 2014\)](#)
  - LDTもIVDの一部としてFDAの規制対象であるが、現実的にはCLIAによるラボ認証のみで流通
  - FDAの承認を取らなくても保険適応になる
  - CDxのガイダンスにより、LDTはIVDとしての申請が要求される
- 欧州(EMA)
  - [Reflection paper on co-development of pharmacogenomic biomarkers and assays in the context of drug development \(draft\). 24 June, 2010](#)
  - [Reflection paper on methodological issues associated with pharmacogenomic biomarkers in relation to clinical development and patient selection \(draft\). 9 June, 2011](#)
  - IVD(CDx)は基本的に各国のNotified Bodyが評価
  - EU commissionが全体を把握。MDCG(Medical Device Coordinate Group)

UK,Canadaの独自の動きに関しても注目

## 日本の規制の特徴

- 厚生労働省
  - 体外診断薬は医療機器・再生医療等製品審査管理室が担当
  - 薬事法にて製品としてのIVDを規制
  - [薬事審査第701第10号「コンパニオン診断薬等及び関連する医薬品の承認申請に係る留意事項について」\(平成25年7月1日\)](#)
- 医薬品医療機器総合機構(PMDA)
  - 医療機器審査第二部が担当
  - CDxに関するプロジェクトチームが発足  
(新薬審査部、医療機器審査部、安全部、規格基準部等)
  - [薬機発第1224029号「コンパニオン診断薬及び関連する医薬品に関する技術的ガイダンス等について」\(平成25年12月24日\)](#)

基本的にはFDAの考え方を踏襲  
ただし、LDTに関しては、日米で状況は異なる。

## RNA-Guided Endonuclease (RGEN) system の概略

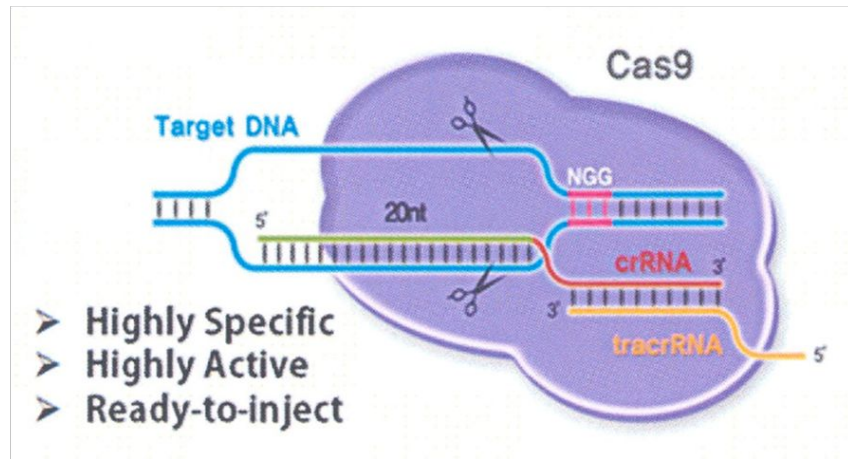
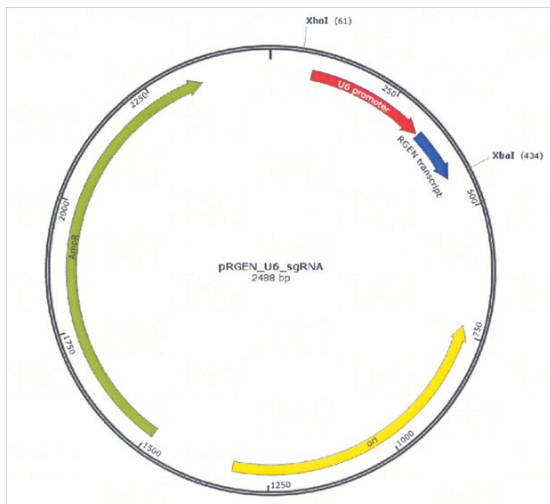


図 4 ゲノム編集用 RGEN ベクターの作製

### 1. pRGEN\_Human-BRAF\_U6\_SG 1

Target sequence of dRGEN  
(underlined are PAM sequence, not included in sgRNA but recognized by Cas9 protein)

TAGCTACAGTGAAATCTCGATGG



### 2. pRGEN-Cas9-EF1α

**Selection marker:** Ampicillin

**Promoter:** EF1α

**Cas9 gene** (human codon-optimized, HA epitope-tagged, NLS included)

