

(様式10)

【16mk0102010j0003】

平成 29年 5月 31日

平成 28 年度医療研究開発推進事業費補助金
(医薬品等規制調和・評価研究事業) 成果報告書

I. 基本情報

事業名 : (日本語) 医薬品等規制調和・評価研究事業
(英語) Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices

補助事業課題名 : (日本語) 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
(英語) Studies on the method of evaluation of the companion diagnostics for a bridging of their clinical performance.

補助事業担当者 (日本語) 国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子医薬部 室長 鈴木孝昌
所属 役職 氏名 : (英語) National Institute of Health Sciences, Division of Molecular Target and Gene Therapy Products, Section Chief, Takayoshi Suzuki

実施期間 : 平成 28年 4月 1日 ~ 平成 29年 3月 31日

II. 成果の概要（総括研究報告）

（和文）

・ 評価指標の作成

研究に際し、まず産学官の専門家及び PMDA、厚生労働省の関係者からなる検討委員会を立ち上げた。初年度においては、国内外のコンパニオン診断薬をめぐる開発及び規制動向を調査するとともに、関連企業へ向けたアンケート調査を Web 上にて行なった。そして、コンパニオン診断薬の特性に関する分類を行い、各項目における要素技術を抽出した。これらの検討をもとに、検討委員会における議論を重ね、後発品の同等性評価をターゲットとして、コンパニオン診断薬の種類別に評価指標を作成する方針を定め、最終的な合意文書として「遺伝子配列の判定に基づくコンパニオン診断薬と同等のコンパニオン診断薬を開発する際の臨床性能の評価指標に関する考え方」及び「病理検査に基づくコンパニオン診断薬と同等のコンパニオン診断薬を開発する際の臨床性能の評価指標に関する考え方」をとりまとめた。またこれらとは別に、開発過程におけるプロトタイプから製品版へのブリッジングを含めた全般的な考え方を、「コンパニオン診断薬の臨床性能のブリッジングに関する検査項目別評価指標の考え方」として報告書添付資料としてまとめた。

・ 遺伝子配列解析の妥当性検証のためのリファレンス細胞株の作製

癌関連遺伝子の変異を網羅的に解析する癌遺伝子パネルにおいては、次世代シーケンサーとの組み合わせによりハイスループットな解析が可能となるが、その分析学的妥当性を示すことは課題となる。既知の変異遺伝子をリファレンスとして用いることが有効であるが、すべての遺伝子に対して一度にバリデーションを行うことが難しいため。既知の変異を持つ細胞株パネルを準備し、標準品として安定供給できる体制が望まれる。そこで、臨床的に有用性の高い遺伝子に対して、既知変異をゲノム編集の手法で人為的に導入した細胞株を作成するとともに。並行する JCRB 細胞バンク細胞のシーケンス解析結果から、既存細胞で変異をまかなえない遺伝子に対して、同様にゲノム編集の既知変異のノックイン細胞を作成した。HEK293T/17 細胞をもとに、NCC オンコパネル搭載 35 遺伝子に対して Crispr/Cas9 法によるゲノム編集を行い、すべての遺伝子に対して合計で 96 変異株を樹立した。JCRB 細胞バンクの既存細胞と合わせて、27 細胞株により NCC オンコパネルの 90 遺伝子を網羅するリファレンス細胞パネルを準備することができた。これらは、今後 All-in-one 標準サンプルとして JCRB 細胞バンクより配布する計画である。また、ゲノム編集が難しいとされる浮遊細胞（TK6）においても、Piggy-Bac ベクターを用いた方法により目的変異のノックイン細胞の取得に成功した。

・ JCRB 細胞バンクの既存細胞のシーケンス確認

COSMIC 変異データベースに登録されている JCRB 細胞バンク保有細胞株を対象として、NCC オンコパネル搭載の 90 遺伝子の変異情報をもとに、851 領域の遺伝子配列情報を取得し、次世代シーケンサーによる変異の解析を行った。33 細胞株のシーケンスによる変異解析により 81 遺伝子の遺伝子変異を確認したが、9 遺伝子に関しては既存細胞において変異リファレンスを供給できないことが判明した。

(英文)

· Establishment of the guidance for an evaluation of companion diagnostics (CDx)

At the beginning of the research, a review committee was set up with members consisting of experts from industry, academia and government, together with concerned officers in PMDA, and MHLW. In the first fiscal year, we surveyed a status for CDx development and regulation and conducted a questionnaire survey against related companies on the Web. Then we classified the CDx based on their characteristics and extracted essential elements. Based on these investigations, we repeated discussions at the review committee and reached to a policy to prepare evaluation criteria focused on the follow-on CDx, and, finally, we established two guidance documents as “Considerations on the evaluation criteria for clinical performance of the equivalent CDx against an existing product for sequence determinations” and “Considerations on the evaluation criteria for clinical performance of the equivalent CDx against an existing product for pathological examinations”. In addition, as a general idea including bridging from a prototype to a final product version in the development process, "Concept for an evaluation of clinical performance of CDx based on their diagnostic categories " was described in this report.

· Establishments of the reference cell lines for a validation of DNA sequence analysis

In the oncogene panel that comprehensively analyzes mutations in cancer-related genes, high throughput analysis becomes possible by combining with the next generation sequencer, but it is difficult to show its analytical validity. It is effective to use known mutant genes as a reference, but it is difficult to perform validation at once for all genes. It is desirable to prepare a panel of cell strains with known mutations and provide a stable supply as standard products. Therefore, we created a cell line artificially introducing known mutations by genome editing techniques against clinically useful genes. Based on the parallel analysis on the mutations in cells in the JCRB cell bank, we created knock-in cells of known mutations for the gene which could not covered by the existing cells in JCRB. Using the HEK293T/17 cells, genomic editing was performed for 35 genes on the NCC Oncopanel by the Crispr/Cas9 method, and a total of 96 mutant strains were established for all genes. Together with existing cells in the JCRB, a reference cell panel covering 90 genes of NCC Oncopanel could be prepared by 27 cell lines. These are planned to be distributed from the JCRB as an all-in-one standard sample. We also succeeded in establishing a knock-in mutant in a suspension cell (TK6), which is difficult for genome editing, by the method using the Piggy-Bac vector.

· Sequence analysis of existing cells in JCRB cell bank

DNA sequence analysis was performed by the NGS on the existing cells in JCRB, which is registered in the COSMIC database, by using the information on 90 genes in the NCC Oncopanel and DNA sequence in 851 regions. Mutations in 81 genes were confirmed with 33 cell lines but it was found that mutation reference can not be supplied for 9 genes by the existing cells in JCRB.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 1 件、国際誌 1 件)

1. 鈴木孝昌. コンパニオン診断薬開発の現状と課題に関するアンケート調査の概要. *臨床病理レビュー* 「コンパニオン診断の進展 2016-2017 - 個別化医療の新展開に向けて」 2016; 157, 51-6.
2. Furihata C, Watanabe T, Suzuki T, Hamada S, Nakajima M. Collaborative studies in toxicogenomics in rodent liver in JEMS MMS; a useful application of principal component analysis on toxicogenomics. *Genes and Environment*. 2016, 38, 15.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Proteomic Data Sharing by the "ProteoMap Online", ポスター, Suzuki T, Suresh T, 15th Human Proteome Organization World Congress, 2016/9, 国外.
2. 遺伝子検査のバリデーションのため変異導入標準細胞株の作成., ポスター, 鈴木孝昌, 築茂由則, 小原有弘, 内藤幹彦, 第 75 回日本癌学会学術総会, 2016/10, 国内
3. 再生医療と環境変異原研究との接点, 口頭, 鈴木孝昌, 日本環境変異原学会第 45 回大会, 2016/11, 国内
4. 次世代シーケンサーを用いたマウス短期大腸発癌モデルによる発がん物質の変異シグニチャー解析, 口頭&ポスター, 鈴木孝昌, スレッシュ・ティルパッティ, 降旗千恵, 小山直己, 鳥塚尚樹, 朝倉省二, 羽倉昌志, 日本環境変異原学会第 45 回大会, 2016/11, 国内
5. 主成分分析による Open TG-GATEs Database の分析, ポスター, 降旗千恵, 鈴木孝昌, 日本環境変異原学会第 44 回大会, 2016/11, 国内
6. Development of a cell line panel for mutation standards against cancer-related genes for clinical sequencing, ポスター, Suzuki T, Tsukumo Y, Naito M, Kasai F, Mihara M, Kohara A, Revolutionizing Next-Generation Sequencing, 2017/3, 国外
7. Regulatory Issues on the companion diagnostics in Japan, 口頭, 鈴木孝昌, The Essentials of Companion Diagnostic Development, 2017/3, 国外

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

なし

(4) 特許出願

なし