

**2019年10月28日(第5版 承認事項一部変更承認による改訂)
*2019年4月16日(第4版)

承認番号: 23000BZX00089000

機械器具 17 血液検査用器具 その他の医用検体検査装置
高度管理医療機器 体細胞遺伝子変異解析システム(抗悪性腫瘍薬適応判定用)(71059003)

オンコマイン™ Dx Target Test マルチ CDx システム(テンプレート調製試薬)

【形状・構造及び原理等】

本品は、DNA シークエンサー、シークエンシングサンプル調製試薬、テンプレート DNA 調製試薬及び解析プログラムより構成されるコンパニオン診断システムである。本添付文書では、システム全体(テンプレート調製→DNA シークエンシング→データ解析)のうち、「テンプレート調製」の部分について記載する。

1. 形状・構造等(キットの構成)

- 1) Oncomine Dx Target Test and Controls
 - (1) Oncomine Dx Target Test - DNA and RNA Panel
 - ① DNA パネル 6×32 µL
 - ② RNA パネル 6×32 µL
 - (2) Oncomine Dx Target DNA Control
 - ① Oncomine Dx Target DNA Control 8×7 µL
 - (3) Oncomine Dx Target RNA Control
 - ① Oncomine Dx Target RNA Control 8×7 µL
 - (4) Oncomine Dx Target RNA Control Diluent
 - ① Oncomine Dx Target RNA Control Diluent 8×88 µL
 - (5) Ion Torrent Dx No Template Control Kit
 - ① No Template Control 8×30 µL
- 2) Ion PGM Dx Library Kit
 - (1) Ion PGM Dx Library Reagents
 - ① LIB HiFi Mix 6×252 µL
 - ② LIB FuPa 6×32 µL
 - ③ LIB Switch Soln 6×64 µL
 - ④ LIB DNA Ligase 6×32 µL
 - ⑤ BC1~16 各 12 µL
 - (2) Ion PGM Dx Library Equalizer
 - ① LIB AMPure Reagents 4.4 mL
 - ② LIB Beads 6×48 µL
 - ③ LIB Primers 6×36 µL
 - ④ LIB Capture 6×160 µL
 - ⑤ LIB Wash Soln 30 mL
 - ⑥ LIB Elution Soln 9.6 mL
- 3) Ion OneTouch Dx Template Kit
 - (1) Ion OneTouch Dx Template Reagents
 - ① TMPL Enzyme Mix 400 µL
 - ② TMPL Rgnt Mix 8×500 µL
 - ③ TMPL ISP 800 µL
 - ④ TMPL CF-1 40 µL
 - (2) Ion OneTouch Dx Template ES Beads
 - ① TMPL ES Beads 104 µL
 - (3) Ion OneTouch Dx Template Solutions
 - ① TMPL Oil 450 mL
 - ② TMPL Reaction Oil 22 mL
 - ③ TMPL Water 320 µL
 - ④ TMPL Recovery Solution 280 mL
 - ⑤ TMPL Wash Solution 15.2 mL
 - ⑥ TMPL Rgnt B 2×1.2 mL
 - ⑦ TMPL ES Rsp Soln 1.04 mL
 - ⑧ TMPL Neutral Soln 80 µL

⑨ TMPL Tween Solution 2.24 mL

(4) Ion OneTouch Dx Template Supplies 注1)

- ① TMPL Amplification Plate 8 枚
- ② TMPL Recovery Router 8 個
- ③ TMPL Recovery Tubes 16 本
- ④ TMPL Sippers 2 本
- ⑤ TMPL Reagent Tube 2 本
- ⑥ TMPL ES Tip 8 本
- ⑦ TMPL ES Strip Tube 1 パック
- ⑧ TMPL Cleaning Adapter 8 個
- ⑨ TMPL Emulsion Cartridge 8 個
- ⑩ TMPL Reagent Tube Labels 1 セット
- ⑪ TMPL Sample Collection Tube 1 パック

注1) 本品の構成成分ではなく、併用品

2. 原理

1) ライブラリ調製

ライブラリ調製の工程はターゲット領域の増幅から始まる。プライマーパネル (Oncomine Dx Target Test - DNA and RNA Panel) 及びポリメラーゼ (LIB HiFi Mix) を用いて、DNA 検体と DNA コントロール (Oncomine Dx Target DNA Control 及び Ion Torrent Dx No Template Control Kit) 及び RNA 検体と RNA コントロール (Oncomine Dx Target RNA Control 及び Ion Torrent Dx No Template Control Kit) を逆転写した cDNA のターゲット領域を特異的に増幅させる。この工程は本システムには含まない検体前処理装置 (アプライドバイオシステムズ VRTi Dx) (届出番号: 13B1X10227000004) で行う。

得られた増幅産物 (アンプリコン) は、独自のバーコードアダプタとのライゲーションを行うために、LIB FuPa を用いてプライマー配列が部分的に消化される。

P1 アダプタと 16 種類の固有のバーコード配列付きの A アダプタで構成されているアダプタ (BC1~16) を、LIB DNA Ligase を用いたライゲーションでアンプリコンの末端に結合する。この手法により、由来を区別すべき複数の検体 (異なる患者の検体等) がプールの両末端部は、以降のステップで用いるプライマー結合のため、特有の領域を持つよう設計されている。アンプリコンは一方の末端に P1 アダプタ、反対側はバーコード配列付きの A アダプタを持つ。また、平滑化ライゲーションの結果、アンプリコンは順方向と逆方向の両者が等しく存在することになる。

ライゲーション後、バーコードが付加されたライブラリは、磁気ビーズ (LIB AMPure Reagents) にキャプチャーされ精製される。最後に、各バーコード付きライブラリの濃度を 100 pM にする。まず、LIB HiFi Mix と LIB Primers を用いてバーコード付きライブラリを増幅する。増幅後、一定量のアンプリコンを磁気ビーズ (LIB Beads) へキャプチャーし、LIB Wash Soln による一連の洗浄工程により精製する。これらの工程により取得された 100 pM のライブラリは、LIB Elution Soln を用いて、温度を上昇させることで磁気ビーズより溶離させて得られる。

ライゲーション後、バーコードが付加されたライブラリは、磁気ビーズ (LIB AMPure Reagents) にキャプチャーされ精製される。

最後に、各バーコード付きライブラリの濃度を 100 pM にする。まず、LIB HiFi Mix と LIB Primers を用いてバーコード付きライブラリを増幅する。増幅後、一定量のアンプリコンを磁気ビーズ (LIB Beads) へキャプチャーし、LIB Wash Soln による一連の洗浄工程により精製する。これらの工程により取得された 100 pM のライブラリは、LIB Elution Soln を用いて、温度を上昇させることで磁気ビーズより溶離させて得られる。

2) テンプレート調製

テンプレート調製では、イオントレント Ion OneTouch Duo Dx (届出番号: 13B1X10227000006) 及び Ion OneTouch Dx Template Kit を用いてマイクロビーズ上に、ライブラリ分子をクローンのように増幅し、濃縮する。

まず、ライブラリ調製によって得られた 100 pM の各バーコード付きライブラリを混合する。次いで、ポリメラーゼ (TMPL

ユーザーガイドを必ずご参照ください

Enzyme Mix)、dNTP とテンプレートプライマー (TMPL Rgnt Mix と TMPL Rgnt B)、マイクロビーズ (TMPL ISP) 及びコントロールフラグメント^{注2)} (TMPL CF-1) とライブラリを混合した反応液を調製する。テンプレートプライマーは、アダプタの A 領域及び P1 領域に相補的である。A 領域プライマーの一部がピオチン化され、続くステップのテンプレート調製でのテンプレート化ビーズの濃縮を可能にし、また P1 プライマーの部分は、マイクロビーズ上の B プライマーに相補的である。ISP は、ポリマー粒子及び粒子の表面に共有結合する B プライマーで構成される。B プライマー配列は、各アンプリコンの末端に位置する P1- B 配列の領域に相補的である。

エマルジョンカートリッジ (TMPL Emulsion Cartridge) に反応液を移す。エマルジョンカートリッジをイオントレント Ion OneTouch Duo Dx の Ion One Touch Dx に設置すると、反応液がエマルジョンカートリッジのフィルターの透過し、エマルジョン滴が生成される。クローン増幅のため各滴が単一の DNA 分子及び単一のマイクロビーズを含有するように調整されている。エマルジョン滴がペルチェブロックに挿入されたプレート (TMPL Amplification Plate) に導入される。エマルジョン滴がプレート内に導入された後、Ion One Touch Dx が PCR サイクル・プログラムを開始し、個々のエマルジョン滴内で増幅が行われ、シーケンシング用テンプレート (ライブラリ ISP) が作製される。

Ion One Touch Dx によって作製されたライブラリ ISP を回収し、ストレプトアビジンでコーティングした磁気ビーズ (TMPL ES Beads) と共にインキュベートする。磁気ビーズはマイクロビーズ上に増幅されたライブラリのピオチン標識 2 本鎖 DNA に結合する。増幅が認められないマイクロビーズ、プライマー、プライマーダイマー及び dNTP は、イオントレント Ion OneTouch Duo Dx の Ion OneTouch ES Dx で一連の洗浄工程により除去される。アルカリ溶液を用いて DNA 鎖を変性させることで、1 本鎖 DNA 状態のライブラリ ISP が生じる。濃縮されたライブラリ ISP は中和溶液 (TMPL Neutral Soln) によって pH が中和され、TMPL Sample Collection Tube に採取される。

^{注2)} コントロールフラグメント CF-1 は、両末端に A 領域及び P1 領域を持つ 2 本鎖オリゴヌクレオチドであり、テンプレート調製の反応液に添加される。CF-1 の A 領域は、ライブラリと区別する為の独自の配列を含む。CF-1 は、テンプレート調製及びシーケンシングが正しく行われた事を確認する為のクオリティチェックに使用される。

**3) 本品の検出対象変異

本品は、BRAF 遺伝子 V600E 変異、EGFR 遺伝子変異、ALK 融合遺伝子、ROS1 融合遺伝子を検出対象とする。

本品の EGFR 遺伝子測定対象変異一覧

エクソン	ヌクレオチド変異	アミノ酸変異	COSMIC ID
18	c.2125G>A	E709K	12988
18	c.2126A>C	E709A	13427
18	c.2126A>G	E709G	13009
18	c.2126A>T	E709V	12371
18	c.2155G>A	G719S	6252
18	c.2155G>T	G719C	6253
18	c.2156G>C	G719A	6239
18	c.2156G>A	G719D	18425
19	c.2233 2247 del15	K745 E749del	26038
19	c.2234 2248 del15	K745 A750 delinsT	1190791
19	c.2235 2246 del10	E746 E749del	28517
19	c.2235 2249 del15	E746 A750del	6223
19	c.2235 2252>AAT	E746 T751 delinsI	13551
19	c.2236 2250 del15	E746 A750del	6225

19	c.2236 2253 del18	E746 T751del	12728
19	c.2237 2251 del15	E746 T751 delinsA	12678
19	c.2237 2253>TTGC T	E746 T751 delinsVA	12416
19	c.2237 2255>T	E746 S752 delinsV	12384
19	c.2238 2248>GC	L747 A750 delinsP	12422
19	c.2238 2252>GCA	L747 T751 delinsQ	12419
19	c.2238 2255 del18	E746 S752 delinsD	6220
19	c.2239 2247 del9	L747 E749del	6218
19	c.2239 2248 TTAAGAGAAG>C	L747 A750 delinsP	12382
19	c.2239 2251>C	L747 T751 delinsP	12383
19	c.2239 2256 del18	L747 S752del	6255
19	c.2239 2258>CA	L747 P753 delinsQ	12387
19	c.2240 2251 del12	L747 T75 delinsS	6210
19	c.2240 2254 del15	L747 T751del	12369
19	c.2240 2257 del18	L747 P753 delinsS	12370
20	c.2303G>T	S768I	6241
20	c.2369C>T	T790M	6240
21	c.2573T>G	L858R	6224
21	c.2582T>A	L861Q	6213
21	c.2582T>G	L861R	12374

**【使用目的又は効果】

本品は、下表の医薬品の非小細胞肺癌患者への適応判定の補助を目的として、対応する遺伝子変異等を検出する。

遺伝子変異等	関連する医薬品
BRAF 遺伝子 V600E 変異	ダブラフェニブメシル酸塩及びトラメチニブ ジメチルスルホキシド付加物の併用投与
EGFR 遺伝子変異	ゲフィチニブ、エルロチニブ塩酸塩、アファチニブマレイン酸塩、オシメルチニブメシル酸塩
ALK 融合遺伝子	クリゾチニブ、アレクチニブ塩酸塩
ROS1 融合遺伝子	クリゾチニブ

【使用方法等】

*1. 使用方法の概略

詳細についてはユーザーガイドを参照すること。

1) サンプル調製

- 非小細胞肺癌組織から抽出・精製した DNA 及び RNA が以下の条件に合致することを確認する (インプット検体量としては、DNA 10 ng、RNA 10 ng を使用)。その他の検体の条件に関してはユーザーガイドを参照すること。

ユーザーガイドを必ずご参照ください

検体	必要濃度
DNA	0.83 ng/μL 以上
RNA	1.43 ng/μL 以上

- (2) Torrent Suite Dx Software からサンプル情報を入力する。
- (3) Ion Torrent Dx FFPE Sample Preparation Kit 付属の Ion Torrent Dx cDNA Synthesis Kit(推奨)を用いて RNA 検体、Oncomine Dx Target RNA Control Diluent であらかじめ希釈された Oncomine Dx Target Test RNA Control、No Template Control の逆転写をアプライドバイオシステムズ VRTi Dx (届出番号: 13B1X10227000004) で行う。

2) ライブラリ調製

- (1) Torrent Suite Dx Software からライブラリ情報を入力する。
- (2) DNA パネル、RNA パネル、LIB HiFi Mix を使用し、DNA 検体、Oncomine Dx Target Test DNA Control、No Template Control、逆転写した RNA 検体及びコントロールからターゲット領域の増幅をアプライドバイオシステムズ VRTi Dx (届出番号: 13B1X10227000004) で行う。
- (3) LIB FuPa を使用し、アンプリコンの末端の消化をアプライドバイオシステムズ VRTi Dx で行う。
- (4) LIB Switch Soln、BC1~16、LIB DNA Ligase を使用し、バーコードアダプタの結合をアプライドバイオシステムズ VRTi Dx で行う。
- (5) LIB AMPure Reagent を使用し、バーコード付きライブラリの精製を行う。
- (6) LIB HiFi Mix、LIB Primers を使用し、精製したバーコード付きライブラリの増幅をアプライドバイオシステムズ VRTi Dx で行う。
- (7) LIB Wash Soln を使用し、LIB Beads の調製を行う。
- (8) 増幅したライブラリに LIB Capture の添加を行う。
- (9) 増幅したライブラリに調製済みの LIB Beads を加え、LIB Wash Soln で洗浄を行う。
- (10) LIB Elution Soln を使用し、ライブラリの溶出を行う。

3) テンプレート調製

- (1) Torrent Suite Dx Software から Planned Run を作成し、実行を行う。
- (2) サンプルライブラリとコントロールライブラリの混合を行う。
- (3) イオントレント Ion OneTouch Duo Dx (届出番号: 13B1X10227000006) の Ion OneTouch Dx のクリーニングを行う。
- (4) Ion OneTouch Dx Template Reagents、Ion OneTouch Dx Template Solutions の一部試薬、Ion OneTouch Dx Template Supplies の一部消耗品を使用し、イオントレント Ion OneTouch Duo Dx の Ion OneTouch Dx のセットアップを行い、設定した Planned Run を呼び出して、ランを実行する。
- (5) Ion OneTouch Dx Template ES Beads、Ion OneTouch Dx Template Solutions の一部試薬、Ion OneTouch Dx Template Supplies の一部消耗品を使用し、イオントレント Ion OneTouch Duo Dx の Ion OneTouch ES Dx のセットアップを行い、ランを実行する。
- (6) 濃縮されたライブラリ ISP の回収を行う。

4) シークエンシング及び解析

解析機器の添付文書を参照すること。

2. 使用方法等に関連する使用上の注意

詳細についてはユーザーガイドを参照すること。

- 1) サンプル調製、ライブラリ調製、テンプレート調製、シーケンシングの各工程で使用されるキットは、すべて有効期限内の指定されたロットでの組み合わせでしか使用できない。操作を行う前に、有効期限及びロット番号の組み合わせを必ず確認すること。
- 2) 酵素などの一部の試薬以外は室温 (15~30°C) に戻して使用すること。
- 3) 粘性のある試薬のピペット操作はゆっくりと行うこと。

【使用上の注意】

*1. 重要な基本的注意

詳細についてはユーザーガイドを参照すること。

1) 測定検体の性質、採取法

- (1) 測定検体はがん組織から抽出したヒトゲノム DNA 及び RNA を用いること。ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 試料からの核酸の抽出、単離には、Ion Torrent Dx FFPE Sample Preparation Kit の使用を推奨する。
- (2) 本品はがん組織から抽出した核酸検体を解析対象としているが、FFPE 試料から抽出する場合は、日本病理学会のゲノム診療用病理組織検体取扱い規程に則り、以下の点に留意すること。
 - ・採取した組織は速やかに固定を行うこと
 - ・10%中性緩衝ホルマリン溶液で 6~48 時間の固定を行うこと
 - ・抽出した核酸は、蛍光法による dsDNA 濃度の測定等を行い、純度や収量を確認すること
 - ・FFPE 試料が過固定等による核酸の品質低下が懸念される場合、核酸品質の確認を行うこと
 - ・その他詳細は本取扱い規程に従うこと
- (3) 核酸抽出の前に、採取した組織の HE 染色を行い、腫瘍割合が 30%以上であるよう注意すること。それを満たさない場合 (腫瘍割合が 10%以上 30%未満) は用手的に非腫瘍部分の除去操作 (マクロダイセクション) を実施すること。詳細は日本病理学会のゲノム診療用病理組織検体取扱い規程を参照すること。
- (4) 検体取り扱い時のクロスコンタミネーションを避けること。検体チューブのキャップが緩んだ状態あるいは開いたときの検体の飛散に注意すること。検体容器どうしを接触させないこと、及び使用済みの器材を捨てる時は、開いた容器の上を通過させないことを守ること。
- (5) 検体の輸送時は、指定された検体の保存環境を維持すること。
- (6) 適切な量の検体を用いていたとしても検体抽出用の洗浄バッファの残留によって反応が妨害される可能性があり、その結果は判定不能となる。
- (7) EGFR T790M 陽性患者に対する二次治療としてのオシメルチニブの適応判定の補助を行う既承認の体外診断用医薬品との同等性は評価されていない。

2) 妨害物質・妨害薬剤・交差反応性

(1) 妨害物質の影響

本品はがん組織から抽出した核酸検体を解析対象としているが、Ion Torrent Dx FFPE Sample Preparation Kit を用いて FFPE 試料から核酸抽出した影響について検討した結果、以下は本試験の結果に影響を及ぼさなかった。他の抽出キットに関しては、検討を行っていない。

- ① パラフィン: FFPE 試料作製に用いられる包埋物質 (通常想定されるレベルの 4 倍)。
- ② キシレン: 核酸抽出前の脱パラフィンの工程に用いられる化学物質 (通常想定される残量の 6 倍)。
- ③ エタノール: 核酸抽出前の脱パラフィンの工程に用いら

ユーザーガイドを必ずご参照ください

れる化学物質（通常想定される残量の4倍超）。

- ④ プロテアーゼ K: 核酸抽出の工程中に用いる酵素（熱処理の工程後に残留すると想定されるプロテアーゼ K の量の10倍超）。
 - ⑤ 核酸精製の工程の洗浄バッファーを精製済み核酸に添加（溶出液に Wash 2 が持越された場合の約10%に相当）。
 - ⑥ ヘモグロビン: 内因性タンパク質（4 mg/mL、CLSI EP7-A2（Appendix D）における推奨量の2倍）
- (2) 交差反応性

オンコマイン™ Dx Target Test マルチ CDx システムの DNA パネル及び RNA パネルにおけるプライマーを *in silico* 交差反応性解析により標的シーケンスへの特異性を評価した。ヒト、菌類、細菌、及びウイルスのゲノムに対して Bowtie (v0.12.7) を用いて比較した。その結果、本品の DNA パネル及び RNA パネルにあるプライマー設計は当初の規格を満たし、プライマーには特異性があることが確認された。

**2. その他の注意

詳細についてはユーザーガイドを参照すること。

- 1) ダブラフェニブメシル塩酸塩及びトラメチニブ ジメチルスルホキシド付加物の併用投与、ゲフィチニブ、エルロチニブ塩酸塩、アファチニブマレイン酸塩、オシメルチニブメシル酸塩、クリゾチニブ、アレクチニブ塩酸塩に関する本邦における最新の添付文書を参照の上使用すること。
- 2) 本品は、検査に用いられた DNA 又は RNA に下記に示す LOD 以上のバリエーションが含まれる場合に陽性と判定されることが確認されている。本品の性能には限界がある。

遺伝子	バリエーション	LOD (% AF)
BRAF	V600E	6.4% AF
EGFR	<u>SNV</u>	5.3% AF ^{注3)}
EGFR	<u>Deletions</u>	4.4% AF ^{注4)}

^{注3)} EGFR L858R の AF

^{注4)} EGFR Exon19 deletions の AF

遺伝子	バリエーション	LOD (リード数)
ROS1	SLC34A2-ROS1.S13R32.COSF1259	515.9 リード
ROS1	CD74-ROS1.C6R34.COSF1200	454.0 リード
ALK	EML4-ALK.E13A20.AB462411	367.1 リード
ALK	EML4-ALK.E6aA20.AB374361	508.5 リード

3) 一般的な注意

- (1) ユーザーガイドに記載している操作以外は行わないこと。添付文書に記載された使用目的及び用法・用量に従って使用すること。
- (2) 本品は **BRAF 遺伝子 V600E 変異**、**EGFR 遺伝子変異**、**ALK 融合遺伝子**、**ROS1 融合遺伝子**の検出に用いるキットであり、ダブラフェニブメシル塩酸塩及びトラメチニブ ジメチルスルホキシド付加物の併用投与、ゲフィチニブ、エルロチニブ塩酸塩、アファチニブマレイン酸塩、オシメルチニブメシル酸塩、クリゾチニブ、アレクチニブ塩酸塩の非小細胞肺癌患者への適応を判定するための補助に使用すること。記載された使用目的及び用法・用量以外での使用については、測定結果の信頼性を保証し兼ねる。
- (3) 一部の操作に関しては保護手袋、保護眼鏡、保護衣などを着用すること。
- (4) トラブルが発生したときは、ユーザーガイドに記載された範囲で処置をし、それ以外は弊社まで問い合わせること。

4) 廃棄上の注意

- (1) 生じた廃液については、検体などと同様に滅菌又は消毒の処置を行うこと。また、これらを廃棄する場合には、各都道府県によって定められた規程に従うこと。
- (2) 使用後の容器を廃棄する場合には、廃棄物に関する規程に従って医療廃棄物又は産業廃棄物など区別して処理すること。
- (3) 遺伝子検査後の核酸試料及び増幅された DNA の廃棄は、次亜塩素酸剤を加えて有効塩素濃度 5000 ppm、0.5% になるように混和後一晩放置するなど、DNA を破壊してから廃棄すること。
- (4) DNA を扱ったピペットチップ及びプラスチック容器などは、次亜塩素酸剤（有効塩素濃度 5000 ppm、0.5%）に一晩浸すなどにより DNA を破壊してから焼却処理または密閉できるビニール袋を2重に施し、医療廃棄物として処理すること。

【臨床成績】

1. BRAF V600E 変異

- (1) ダブラフェニブメシル塩酸塩及びトラメチニブ ジメチルスルホキシド付加物の併用投与に関する国際共同第 II 相試験 (E2201 試験) の概略

BRAF V600E 変異を有する^{注3)} 切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌患者を対象に、ダブラフェニブ（1回 150 mg を1日2回連日投与）とトラメチニブ（2 mg を1日1回連日投与）の併用投与（①白金系抗悪性腫瘍剤を含む化学療法歴のある患者 57 例、②化学療法歴のない患者 36 例）を検討する第 II 相非盲検非対照試験を実施した。奏効率 (%) はそれぞれ①63.2 (95% 信頼区間 (CI) : 49.3-75.6) ^{注4)} 及び②61.1 (95% CI : 43.5-76.9) ^{注5)} であった。

^{注3)} 米国の Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) 認定又は同等と考えられる検査機関で任意の遺伝子検査法 (Local Laboratory Test, LLT) を用いて検査された。オンコマイン™ Dx Target Test CDx システムは当該検査法との同等性が確認されている。

^{注4)} 2015 年 10 月 7 日データカットオフ。

^{注5)} 2016 年 8 月 8 日データカットオフ。

- (2) 進行非小細胞肺癌患者集団を対象とした本品に関するブリッジング試験

国際共同第 II 相臨床試験 (E2201 試験) で、対照法 (LLT) で BRAF V600E 変異陽性が確認された被験者を試験に組み入れ、LLT と本品の一致率の検討及びダブラフェニブとトラメチニブの併用投与が適格である非小細胞肺癌患者を選別するカンパオン診断としての本品の臨床的有効性を確認した。

表 1 に、PAS-A (ダブラフェニブ単剤療法コホートの主要解析対象集団)、PAS-B (本ブリッジング試験で 2 次治療以上の治療を受けた併用療法コホートの主要解析対象集団)、PAS-C (本ブリッジング試験で 1 次治療を受けた併用療法コホートの主要解析対象集団) の混合コホート (PAS-A/PAS-B/PAS-C) における本品と LLT による検査結果の一致率を示す。本品での Invalid 及び No Call の結果を除外した場合、陽性一致率 (PPA)、陰性一致率 (NPA) 及び全体一致率 (OPA) の点推定値はそれぞれ 90.0%、99.1% 及び 95.4% であった。

表 1 本品と LLT との一致率 (PAS-A/PAS-B/PAS-C)

一致率の基準	一致率 (N)	95% CI ^{注6)}
PPA	90.0% (72/80)	(81.2%, 95.6%)
NPA ^{注7)}	99.1% (114/115)	(95.3%, 100.0%)
OPA	95.4% (186/195)	(91.4%, 97.9%)

^{注6)} Clopper-Pearson 法を用い 95% CI を算出
^{注7)} PCR 法による BRAF V600E 変異検査により陰性確認

ユーザーガイドを必ずご参照ください

ダブルフェニブとトラメチニブの併用投与による臨床的評価結果では、LLT 及び本品による BRAF V600E 変異陽性集団と LLT による BRAF V600E 変異陽性集団で検討した臨床的有効性は同様であり、治験医師の評価による奏効率（完全奏効（CR）＋部分奏効（PR））は、PAS-B で、それぞれ 72.7%と 66.7%（表 2）、PAS-C で、それぞれ 60.9%と 61.1%（表 3）であった。

表 2 PAS-B の（LLT 陽性、本品陽性）及び LLT 陽性集団での医師の評価による奏効率^{注5)}

臨床転帰	(LLT 陽性、本品陽性) N=22	LLT 陽性 N=57
最良効果		
完全奏効 (%)	2 (9.1)	3 (5.3)
部分奏効 (%)	14 (63.6)	35 (61.4)
安定 (%)	4 (18.2)	8 (14.0)
進行 (%)	1 (4.5)	7 (12.3)
評価不能 (%)	1 (4.5)	4 (7.0)
奏効		
CR + PR (%)	16 (72.7)	38 (66.7)
奏効率 [95% CI ^{注6)}]	(49.8, 89.3)	(52.9, 78.6)

表 3 PAS-C の（LLT 陽性、本品陽性）及び LLT 陽性集団での治験医師の評価による奏効率^{注5)}

臨床転帰	(LLT 陽性、本品陽性) N=23	LLT 陽性 N=36
最良効果		
完全奏効 (%)	2 (8.7)	2 (5.6)
部分奏効 (%)	12 (52.2)	20 (55.6)
安定 (%)	1 (4.3)	5 (13.9)
進行 (%)	5 (21.7)	5 (13.9)
評価不能 (%)	3 (13.0)	4 (11.1)
奏効		
CR + PR (%)	14 (60.9)	22 (61.1)
奏効率 [95% CI ^{注6)}]	(38.5, 80.3)	(43.5, 76.9)

2. EGFR 遺伝子変異、ALK 融合遺伝子、ROS1 融合遺伝子

「非小細胞肺癌の治療標的遺伝子診断における Oncomine™ Dx Target Test の臨床性能評価」（国内試験）において、非小細胞肺癌の臨床検体を用いて、治療標的遺伝子（EGFR 遺伝子変異、ALK 融合遺伝子、ROS1 融合遺伝子）検出における、本品の性能評価（既存診断薬との相関性評価）を実施した。

Oncomine™ Comprehensive Assay（もしくは RT-PCR）により、下記の遺伝子異常の有無が判明している計 200 例を対象検体とした。

- EGFR 遺伝子変異陽性 80 例（Exon 19 deletions (ex19del) が 37 例、L858R が 43 例）
 - ALK 融合遺伝子陽性 50 例
 - ROS1 融合遺伝子陽性 50 例
 - EGFR 遺伝子変異/ALK 融合遺伝子/ROS1 融合遺伝子のいずれも陰性 20 例
- 上記 200 例の中から、陰性例の解析対象として下記を選定した。
- EGFR 遺伝子変異陰性 40 例
 - ALK 融合遺伝子陰性 39 例
 - ROS1 融合遺伝子陰性 68 例

(1) EGFR 遺伝子変異

本品と対照診断薬（コバス® EGFR 変異検出キット v2.0、以下「コバス」）による各変異及び変異を合算した場合の陽性一致率（PPA）、陰性一致率（NPA）及び全体一致率（OPA）を表 4 に示す。EGFR 遺伝子変異のうち ex19del については、コバス陽性であった 37 例のうち、本品では 36 例が陽性、1 例が No Call として判定された。また、L858R については、コバス陽性であった 41

例の全てが本品でも陽性として判定された。ただし、L858R では、コバス陰性であった 2 例が、本品では陽性として判定された。

全ての一致率は 95%以上であり、対照診断薬と本品の測定結果が高い確率で一致していることが示された。

表 4 コバスを対照診断薬とした測定結果の各一致率

一致率の基準	ex19del + L858R		ex19del		L858R	
	一致率	95%CI ^{注8)}	一致率	95%CI ^{注8)}	一致率	95%CI ^{注8)}
PPA	100% (77/77)	(95.3%, 100%)	100% (36/36)	(90.3%, 100%)	100% (41/41)	(91.4%, 100%)
NPA	95.2% (40/42)	(83.8%, 99.4%)	100% (40/40)	(91.2%, 100%)	95.2% (40/42)	(83.8%, 99.4%)
OPA	98.3% (117/119)	(94.1%, 99.8%)	100% (76/76)	(95.3%, 100%)	97.6% (81/83)	(91.6%, 99.7%)

^{注8)} Clopper-Pearson 法を用いて 95%CI を算出

(2) ALK 融合遺伝子

本品と対照診断薬（Vysis® ALK Break Apart FISH プローブキット及びヒストファイン ALK iAEP® キット、以下「Vysis FISH」及び「ヒストファイン IHC」）による陽性一致率（PPA）、陰性一致率（NPA）及び全体一致率（OPA）を表 5 に示す。

Vysis FISH 及びヒストファイン IHC がいずれも陽性であった検体は 45 例、いずれも陰性であった検体は 35 例であり、本品との陽性一致率及び陰性一致率は、ともに 100%であった。

表 5 Vysis FISH 及びヒストファイン IHC を対照診断薬とした測定結果の各一致率

一致率の基準	一致率	95%CI ^{注8)}
PPA	100% (45/45)	(92.1%, 100%)
NPA	100% (35/35)	(90.0%, 100%)
OPA	100% (80/80)	(95.5%, 100%)

(3) ROS1 融合遺伝子

本品と対照診断薬（OncoGuide® AmoyDx® ROS1 融合遺伝子検出キット、以下「Amoy」）による陽性一致率（PPA）、陰性一致率（NPA）及び全体一致率（OPA）を表 6 に示す。

全ての一致率は 100%であり、Amoy と本品の測定結果が高い確率で一致していることが示された。

表 6 Amoy を対照診断薬とした測定結果の各一致率

一致率の基準	一致率	95%CI ^{注8)}
PPA	100% (50/50)	(92.9%, 100%)
NPA	100% (68/68)	(94.7%, 100%)
OPA	100% (118/118)	(96.9%, 100%)

【保管方法及び有効期間等】

1. 保管方法

1) Oncomine Dx Target Test and Controls

構成品名	保管条件
Oncomine Dx Target Test - DNA and RNA Panel	-30~-10°C
Oncomine Dx Target DNA Control	-30~-10°C
Oncomine Dx Target RNA Control	-90~-60°C
Oncomine Dx Target RNA Control Diluent	-90~-60°C
Ion Torrent Dx No Template Control Kit	15~30°C

2) Ion PGM Dx Library Kit

構成品名	保管条件
Ion PGM Dx Library Reagents	-30~-10°C
Ion PGM Dx Library Equalizer	2~8°C

3) Ion OneTouch Dx Template Kit

ユーザーガイドを必ずご参照ください

構成品名	保管条件
Ion OneTouch Dx Template Reagents	-30~-10°C
Ion OneTouch Dx Template ES Beads	2~8°C
Ion OneTouch Dx Template Solutions	15~30°C
Ion OneTouch Dx Template Supplies ^{注9)}	15~30°C

^{注9)} 本品の構成品ではなく、併用品

2. 有効期間

12 ヶ月（安定性試験継続中）

【製造販売業者及び製造業者の氏名又は名称等】

製造販売業者

ライフテクノロジーズジャパン株式会社
〒108-0023
東京都港区芝浦四丁目2番8号 住友不動産三田ツインビル東館

問い合わせ先

ライフテクノロジーズジャパン株式会社
使用方法等に関する問い合わせ TEL：0120-477-392
修理等に関する問い合わせ TEL：0120-203-885

製造業者

ライフテクノロジーズコーポレーション, フレデリック ファ
シリティー
Life Technologies Corporation, Frederick Facility (米国)

ライフテクノロジーズコーポレーション, プレザントン ファ
シリティー
Life Technologies Corporation, Pleasanton Facility (米国)

ユーザーガイドを必ずご参照ください