



Idylla™ MSI Test「ニチレイバイオ」

承認番号：30400EZ00064000

【一般的な注意】

1. 本キットは体外診断用医薬品であり、それ以外の目的に使用しないこと。
2. 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断すること。
3. 添付文書の記載から逸脱した使用方法及び使用目的については保証しない。
4. 本キットでは判定が極めて困難なケースなど、検査法の限界で偽陰性もしくは偽陽性になることがある。ペムプロリズマブ(遺伝子組換え)又はニボルマブ(遺伝子組換え)の投与に際して、判定結果とその限界及び偽陰性もしくは偽陽性だった場合に考えられる不利益について十分に説明すること。
5. 十分な経験を有する医療従事者又は検査施設で検査を実施すること。
6. ヒト由来の検体は、感染の危険があるものとして取扱いに注意すること。
7. H&E(ヘマトキシリン・エオジン)染色した標本を用い、腫瘍細胞が標本に十分に含まれていることを確認してから検査に用いること。腫瘍検体は不均一であり、同じ腫瘍であっても部位により結果が一致しないことがある。
8. 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用すること。
9. 検査をする際には、本キットの使用目的欄に示されている医薬品の本邦における最新の添付文書を参照すること。

【形状・構造等(キットの構成)】

○構成試薬

MSI カートリッジ 6 個

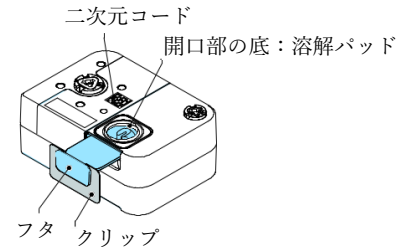
MSI BTBD7 プライマー、ビーコン
MSI RYR3 プライマー、ビーコン
MSI ACVR2A プライマー、ビーコン
MSI SEC31A プライマー、ビーコン
MSI DIDO1 プライマー、ビーコン
MSI MRE11 プライマー、ビーコン
MSI SULF2 プライマー、ビーコン
2'-デオキシアデノシン-5'-三リン酸 (dATP)
2'-デオキシチジン-5'-三リン酸 (dCTP)
2'-デオキシグアノシン-5'-三リン酸 (dGTP)
2'-デオキシチミジン-5'-三リン酸 (dTTP)
DNA ポリメラーゼ

【使用目的】

がん組織から抽出したゲノム DNA 中の高頻度マイクロサテライト不安定性(MSI-High)の検出
(ペムプロリズマブ(遺伝子組換え)の結腸・直腸癌患者への適応を判定するための補助、ニボルマブ(遺伝子組換え)の結腸・直腸癌患者への適応を判定するための補助、大腸癌におけるリンチ症候群の診断の補助、大腸癌における化学療法の選択の補助)
「使用目的に関連する使用上の注意」
大腸癌における化学療法の選択の補助に用いる場合は、切除可能な進行・再発の結腸・直腸癌における術後補助化学療法の選択の補助に用いること。

【測定原理】

本キットは、PCR 法と High-Resolution Melting(HRM：高解像度融解曲線分析)法を用いてがん組織から抽出したゲノム DNA 中の 7 種のバイオマーカー(ACVR2A、BTBD7、DIDO1、MRE11、RYR3、SEC31A、SULF2)変異を検出する。7 種中 2 種以上のバイオマーカー変異を検出した場合 MSI-High(陽性)と判定し、1 種のバイオマーカー変異を検出あるいはバイオマーカー変異が検出されない場合は MSS(陰性)と判定する。
ホルマリン固定パラフィン包埋(Formalin-Fixed Paraffin-Embedded：FFPE)組織切片をカートリッジに投入し、Idylla™ 遺伝子検査システム「ニチレイバイオ」のインストルメント(測定装置)にセットすると、カートリッジ内で、FFPE 組織の液化化、細胞溶解、核酸抽出、PCR 増幅と変異検出が行われる。Idylla™ 遺伝子検査システム「ニチレイバイオ」内でデータ分析が行われ、判定結果が Idylla™ 遺伝子検査システム「ニチレイバイオ」のコンソール(制御装置)画面に表示される。



カートリッジの外観

【操作上の注意】

○検体の準備・調製に関する注意

- (1)検体間のキャリーオーバーを防止するため、検体ごとに手袋を取り換えること。繰り返し使用するピンセットなどの器具は、使用後、丁寧に洗浄すること。
- (2)日本病理学会の「ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程」①を参照すること。
- (3)検体の採取や取扱い、固定を不適切な方法で行った場合、DNA の断片化や脱アミノ化が起こり、検査結果に影響する可能性がある。
- (4)融解温度が 60℃を超えるパラフィンで包埋された検体を使用すると、無効又は誤った結果につながるおそれがある。
- (5)作製後 5 年以内の FFPE 組織ブロックを使用すること。
- (6)薄切した FFPE 組織切片は、15-30℃で保管し 60 日以内に使用すること。

○妨害物質・妨害薬剤

- (1)壊死組織が 50%存在する組織検体について、本キットを用いて試験を行った結果、判定への影響は認められなかった。
- (2)次の妨害物質について本キットを用いて試験を行った結果、判定への影響は認められなかった。

妨害物質			
ヘモグロビン	2mg/mL	パラフィン	1×10 μ m 厚切片
トリグリセリド	37mM	粘液細胞	0-60%含有

- (3)H&E 染色やパパンニコロウ染色(PAP 染色)など、染色された組織切片は使用しないこと。

【用法・用量(操作方法)】

○検体の準備

(1)FFPE 組織ブロック

腫瘍を含む組織を用いて、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)ブロックを作製する。

DNA の過度な断片化を避けるため、固定時間は可能な限り 72 時間未満に抑えること。

(2)FFPE 組織切片

FFPE 組織ブロックを 4-10 μ m の厚さに薄切する。

カートリッジに投入できる検体量は、下表の通りである。

組織切片の厚さ	組織面積
4 μ m	62.5-750 mm ²
5 μ m	50-600 mm ²
10 μ m	25-300 mm ²

薄切した FFPE 組織切片のうち 1 枚を用いて H&E 染色を行い、腫瘍細胞含有率を確認する。
腫瘍細胞含有率が 33%以上の FFPE 組織切片を検査に用いる。腫瘍細胞含有率が 33%未満の場合は、マクロダイセクションを行い、腫瘍細胞含有率が 33%以上にしてから検査に用いる。必要に応じて複数(最大 5 枚)の FFPE 組織切片を使用する。

○検体の調製

[必要な試薬、器具]

- ・スライドガラス
- ・定性ろ紙 (例 Whatman®, グレード 1、10 mm 丸型)
- ・スクレアーゼ不含有水 (例 分子生物学用試薬(Sigma-Aldrich®など))
- ・ピンセット (例 溝なしが望ましい)
- ・洗浄剤 (例 70%エタノール)
- ・かみそりの刃 (例 片刃かみそり)

[検体の調製方法]

FFPE 組織切片から調製する場合

- (1) 2 枚のろ紙をピンセットでスライドガラス上に重ならないように置き、スクレアーゼ不含有水で湿らせる。
- (2) ピンセットを使用し、湿らせたろ紙の 1 枚に FFPE 組織切片を置く。
- (3) ピンセットを使用し、FFPE 組織切片上に、湿らせた 2 枚目のろ紙を置く。

スライドガラスに貼付した FFPE 組織切片から調製する場合

- (1) 2 枚のろ紙をピンセットでスライドガラス上に重ならないように置き、スクレアーゼ不含有水で湿らせる。
- (2) 未使用のかみそりの刃で、FFPE 組織切片が貼付されたスライドガラスから FFPE 組織切片を剥がし、湿らせたろ紙の 1 枚の上に置く。
- (3) 複数の組織切片を使用する場合は、同じかみそりの刃で(2)を繰り返す。
- (4) ピンセットを使用し、FFPE 組織切片上に、湿らせた 2 枚目のろ紙を置く。
- (5) かみそりの刃を廃棄する。

※ろ紙は 1 枚ずつ使用し、重なっていないことを十分に確認すること。
※FFPE 組織切片はろ紙から可能な限りはみださないようにすること。

○操作方法

[必要な機器]

- ・Idylla™ 遺伝子検査システム「ニチレイバイオ」

[構成試薬の調製方法]

カートリッジは、室内温度(18-25℃)に戻してからアルミパウチを開封して使用する。冷蔵保管していた場合は 1 時間、室内温度に置く。

[操作方法]

- (1) カートリッジのアルミパウチを開封し、カートリッジを取り出す。
- (2) 検体情報を入力するために、Idylla™ 遺伝子検査システム「ニチレイバイオ」コンソールのバーコードリーダーで検体情報をスキャンする、あるいはタッチパネルから入力する。
- (3) カートリッジ情報を入力するために、コンソールのバーコードリーダーで、カートリッジ上部の二次元コードをスキャンする。
- (4) カートリッジ本体を持ち、フタを引いて開ける。
- (5) ピンセットを使用して、調製済の検体をろ紙ごとカートリッジ開口部の底の溶解パッドの中央に慎重に載せる。ピンセットや指が溶解パッドに触れないよう注意すること。
- (6) クリップを外し、検体がカートリッジに密閉されるようフタを押して閉じる。フタを軽く引き、ロックされていることを確認する。
- (7) Idylla™ 遺伝子検査システム「ニチレイバイオ」インストルメントのトレイを開け、カートリッジをセットする。
- (8) 全自動で測定が行われる。測定時間は約 150 分である。
- (9) 測定が完了すると、コンソール画面に結果が表示される。

【測定結果の判定法】

○判定方法

Idylla™ 遺伝子検査システム「ニチレイバイオ」での測定が完了すると、コンソール画面に、MSI-H(MSI-High)、MSS、Invalid(無効)のいずれかの判定結果と、陽性バイオマーカー数が表示される。

○判定基準

判定結果		基準
陽性	MSI-H (MSI-High)	7 種の MSI バイオマーカーのうち、2 種以上のバイオマーカー変異が検出された場合
陰性	MSS	7 種の MSI バイオマーカーのうち、1 種のバイオマーカー変異が検出された場合、あるいはバイオマーカー変異が検出されなかった場合
無効	Invalid	7 種の MSI バイオマーカーのうち、3 種以上のバイオマーカーが適切に増幅されなかった場合

判定結果が Invalid(無効)となった場合、以下の原因が考えられる。

(1)検体

- ・検体中に妨害物質が存在する。
- ・ホルマリン固定時間が長すぎたことで DNA が過度に断片化している。
- ・FFPE 組織ブロック又は FFPE 組織切片の保管期間が長い。
- ・カートリッジへの検体の投入が適切に行われていない。
- ・検体量が許容範囲外である。
- ・検体がカートリッジに投入されていない。

(2)カートリッジ

- ・カートリッジが適切に保管されていなかった。
- ・カートリッジ開封後の保管期間を過ぎていた。
- ・カートリッジを落とすなど振動を加えた。
- ・溶解パッドの外部あるいは内部に触れた。
- ・カートリッジに検体を投入した後、測定開始までの時間が長い。
- ・カートリッジ自体に不具合があった。

再検査

判定結果が無効と判断された場合は、検体の準備・調製に関する注意、判定結果が無効になった原因等を確認し再検査を実施すること。

○判定上の留意事項

- (1) 判定結果に基づく臨床診断、使用目的欄に記載の医薬品の適用については、本製品の結果、及び他の関連する検査結果や臨床症状と合わせて、担当医師が総合的に判断すること。
- (2) 本キットは、大腸癌の診断又はモニタリングの目的で使用することはできない。
- (3) 本検査は定性的試験であるため、対立遺伝子頻度の定量値を測定することはできない。
- (4) 定められた基準を満たしていない検体を使用した場合、結果が信頼性に欠けたり、無効となったりする可能性がある。

【臨床的意義】

本キットは、PCR 法と High-Resolution Melting(HRM：高解像度融解曲線分析)法を用いて、がん組織から抽出したゲノム DNA 中の高頻度マイクロサテライト不安定性(MSI-High)を検出し、ベムプロリズマブ(遺伝子組換え)の結腸・直腸癌患者への適応を判定するための補助、ニボルマブ(遺伝子組換え)の結腸・直腸癌患者への適応を判定するための補助、大腸癌におけるリンチ症候群の診断の補助⁽²⁾⁽³⁾、大腸癌における化学療法の選択の補助⁽⁴⁾を行う。

○ベムプロリズマブ、ニボルマブの適応判定

同等性試験により、本キットと比較対照品の PCR 法との同等性が評価され、本キットを結腸・直腸癌患者におけるベムプロリズマブ、ニボルマブの適応判定に用いることの有用性が示された。

【性能】

○品質管理の方法

用法・用量の操作方法に基づいて感度・正確性・同時再現性試験及びバイオマーカー試験を行った場合、下記の規格に適合する。

(1)感度・正確性・同時再現性試験

- 1) 本キットの操作方法に従い、MSI-High 組織を 3 重以上で測定するとき、いずれも MSI-High(陽性)の結果を得る。
- 2) 本キットの操作方法に従い、MSS 組織を 3 重以上測定するとき、いずれも MSS(陰性)の結果を得る。

(2)バイオマーカー試験

本キットの操作方法に従い、MSI-High 組織を 6 重以上で測定するとき、7 種のバイオマーカーごとの合格基準に基づき変異を検出する。

注 1) MSI-High 組織

7 種のバイオマーカー(ACVR2A、BTBD7、DIDO1、MRE11、RYS3、SEC31A、SULF2)の変異を有する MSI-High 陽性組織を 13.34-20.0%含むよう調製されたホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織検体。

注 2) MSS 組織

7 種のバイオマーカーすべてに変異の無い、ホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)組織検体。

注 3) 品質管理に使用する MSI-High 組織は、組織の対立遺伝子頻度ごとに各バイオマーカーの合格基準を定めている。

○最小検出感度

最小検出感度(例示) 15%(MSI 陽性 DNA 量/総 DNA 量)

○同等性試験⁽⁴⁾

大腸癌検体を対象として、比較対照品(PCR 法)と本キットを比較した結果を示した。

本 キ ッ ト	比較対照品		
		陽性	陰性
	陽性	73	0
	陰性	0	239
	合計	73	239

陽性一致率：100% (73 例／73 例)

陰性一致率：100% (239 例／239 例)

全体一致率：100% (312 例／312 例)

330 例を対象に試験を実施したところ、本キットでは 3 例、比較対照品では 18 例が判定できなかった。本キット及び比較対照品で有効な結果の得られた 312 例を対象に解析した。

本試験は海外で実施された。本試験に用いた比較対照品は本邦における既承認品と同等品である。

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上(危険防止)の注意

- (1) 検体組織には、HIV、HBV などの感染のおそれがあるので、取扱いには十分注意すること。
- (2) 検査にあたっては、感染の危険を避けるため、使い捨て手袋、試験着などの保護衣及び保護用眼鏡を着用すること。
- (3) 試薬や検体が誤って目や口に入ったり、皮膚に付着したりした場合には水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当てなどを受けること。

2. 使用上の注意

- (1) カートリッジは 2-30℃で保存すること。
- (2) 使用前に、カートリッジ又はカートリッジのアルミパウチに記載されている使用期限を確認する。使用期限の切れたカートリッジは使用しないこと。
- (3) カートリッジは使用直前にアルミパウチから取り出すこと。アルミパウチはハサミ等を使用せずに手で開けること。
- (4) カートリッジは、開封後 5 日以内に使用すること。すぐに使用しない場合は、遮光して保管すること。
- (5) カートリッジは単回使用品である。再使用しないこと。
- (6) アルミパウチを開封して検体を投入した後は、8 時間以内に測定を開始すること。すぐに測定しない場合は、遮光すること。
- (7) アルミパウチに穴が開いているなど損傷の形跡が見られる場合は、カートリッジを使用しないこと。
- (8) 目に見える損傷があるカートリッジや、落下など振動が加えられたりしたカートリッジは、無効な結果をもたらす可能性があるため使用しないこと。
- (9) カートリッジ及び検体は、消毒済の清浄な作業台上で扱うこと。
- (10) 溶解パッドの外部あるいは内部に触れないこと。
- (11) 測定の準備ができるまで、カートリッジのフタを開けないこと。
- (12) カートリッジに検体を投入した後は、カートリッジを水平に維持すること。
- (13) 検体を投入してフタを閉めた後、ならびに測定実施後は、カートリッジのフタを開けないこと。
- (14) 開封後のカートリッジは、温度 30℃又は相対湿度 75%を超える環境にさらさないこと。

3. 廃棄上の注意

- (1) 検査に用いたカートリッジ、検体組織に接触した器具等は、感染の危険があるので、滅菌処理や消毒を行った後、廃棄物の処理及び清掃に関する法律等の規定に従って処理すること。
- (2) カートリッジから検体や試薬の漏出が発生した場合は、Idylla™ 遺伝子検査システム「ニチレイバイオ」の操作マニュアルに従い、手袋及び隙間のない安全ゴーグルを着用して対処すること。蒸気の吸入を避けるため、十分な換気を行う。漏出した物質を人体に取り込まないように注意する。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法：2-30℃で保存

有効期間：18 ヶ月

【包装単位】

製品名	コード	包装単位
Idylla™ MSI Test「ニチレイバイオ」	BC22011	6 個

【主要文献】

- (1) ゲノム診療用病理組織検体取扱い規程 日本病理学会
- (2) 遺伝性大腸癌診療ガイドライン 2020 年版 大腸癌研究会
- (3) 大腸がん診療における遺伝子関連検査等のガイダンス 第 4 版 (2019 年 12 月) 日本臨床腫瘍学会
- (4) Zwaenepoel K, et al. Clinical Performance of the Idylla MSI Test for a Rapid Assessment of the DNA Microsatellite Status in Human Colorectal Cancer. J Mol Diagn. 2020 Mar;22(3):386-395.

【問合せ先、製造販売元、販売元】

○問合せ先、製造販売元、販売元

株式会社ニチレイバイオサイエンス 

〒104-8402 東京都中央区築地 6-19-20

TEL : 03-3248-2208 FAX : 03-3248-2243

○製造元

Biocartis N.V.