

核酸認証標準物質を用いた PCR 検査
の精度管理手法についての実証研究
試験臨床研究計画書

作成 2021 年 3 月 1 日 第 3 版
改訂年月日 版数

目次

1. 研究の名称.....	3
2. 研究の実施体制	3
3. 研究の目的及び意義	4
4. 研究の方法及び期間	5
5. 研究の科学的合理性の根拠.....	7
6. 研究の倫理的配慮.....	8
7. インフォームド・コンセントを受ける手続き等.....	8
8. 個人情報等の取扱い	8
9. 試料・情報（研究に用いられる情報に係る資料を含む。）の保管及び廃棄の方法.....	9
10. 研究機関の長への報告内容及び方法	10
11. 研究の資金源等、研究機関の研究に係る利益相反及び個人の収益等、研究者等の研究に係る利益相反に関する状況.....	10
12. 研究に関する情報公開の方法	11
13. 研究対象者等及びその関係者からの相談等への対応	11
14. 研究対象者等に経済的負担又は謝礼がある場合.....	11
15. 研究対象者から取得された試料・情報について、研究対象者等から同意を受ける時点では特定されない将来の研究のために用いられる可能性又は他の研究機関に提供する可能性があること.....	11

1. 研究の名称

核酸認証標準物質を用いた PCR 検査の精度管理手法についての実証研究

2. 研究の実施体制

(1) 研究機関の名称

産業技術総合研究所

(2) 研究責任者、研究分担者の所属、氏名

研究責任者：

産業技術総合研究所 物質計測標準研究部門 バイオメディカル標準研究グループ 加藤愛

研究分担者：

産業技術総合研究所 物質計測標準研究部門 バイオメディカル標準研究グループ 柴山祥枝

産業技術総合研究所 物質計測標準研究部門 バイオメディカル標準研究グループ 藤井紳一郎

産業技術総合研究所 バイオメディカル研究部門 バイオアナリティカル研究グループ 野田尚宏

(3) 事務局の設置場所、責任者名

産業技術総合研究所・加藤愛

(4) 個人情報管理責任者の所属・氏名

茨城県衛生研究所・永田紀子

(5) 他の研究機関と共同して研究を実施する場合

①他の研究機関と共同して研究を実施する旨

本申請における実証研究は PCR 法による Covid-19 行政検査の執行機関の一つである茨城県衛生研究所（以下、茨城衛研）と共同で実施

②共同して実施する全ての研究機関の名称及び研究者等の氏名、各研究機関における研究責任者の役割及び責任

共同研究機関：茨城衛研

研究責任者：永田紀子（茨城衛研）

役割：実験実施作業のデザイン、実験実施者への指示、進捗管理、環境安全管理、及び匿名化に関連する対応表の情報管理

責任：患者検体についての個人情報の匿名化、検体サンプルリスト（情報）の管理

研究実施者：後藤慶子、大澤修一（茨城衛研 ウイルス部）

役割：プロトコールに基づく患者検体を用いた測定の実施、返送用データのとりまとめ

責任：患者検体（試料）の保管、管理

③研究代表者（統括責任者）の氏名、役割、責任

加藤愛

役割：研究全体の統括、およびデータの管理

責任：匿名化済みの臨床情報（個人情報）を含まない返送データ（情報）の保管、管理

- (6) 共同して実施する研究機関以外の既存試料・情報の提供のみを行う者から既存試料・情報の提供を受ける場合
該当なし

3. 研究の目的及び意義

(1) 目的

本研究は、産業技術総合研究所（以下、産総研）が開発・供給する核酸認証標準物質の一つであるRNA認証標準物質(以下、RNA CRM)を内標準とした新型コロナウイルス感染症(COVID-19)検査のための精度管理手法について、実際の患者検体を使用した実証研究を茨城衛研にて行い、RNA CRMによる精度管理が可能かどうか、その有効性を確認することを目的とする。

(2) 意義

現在、PCRによるCOVID-19検査では、偽陰性（実際はCOVID-19に罹患しているが、検査結果が陰性となる現象）や偽陽性（COVID-19に罹患していないが、検査結果が陽性となる現象）がある一定の頻度で発生することが報告されており、院内感染を引き起こす原因や病床圧迫の原因となっている。COVID-19のPCR検査では、患者から採取された検体（咽頭スワブ、喀痰、だ液など）からRNAを抽出する工程、RNAをcDNAへ変換する逆転写反応の工程、cDNAを鋳型としてPCRを行う工程など複数の工程を経る必要がある。これらの工程の中で1つでもうまくいかない工程があると、偽陰性、擬陽性発生の原因となりうる。現状、国立感染症研究所(感染研)から陽性コントロールとして新型コロナウイルス(SARS-CoV2)ウイルス遺伝子を含む合成RNAが配布されており、検査時に同時に測定することで検査工程のチェック(精度管理)を行う工夫がなされているが、感染研の陽性コントロールを使用した精度管理は逆転写反応以降の工程のチェックしか行えず、抽出からPCRまでを含む全工程のチェックは行えない。RNA抽出の結果は、下流の検査工

程への影響が大きく、検査結果の質に直結する。特にCOVID-19検査では、ウイルス量が少ない検体についても検査を行う必要があるが、一般に存在量の少ないRNAを高効率で抽出するには一定の技術を要する。一方で、われわれ産総研が開発したRNA CRMを用いた精度管理手法はRNA抽出工程も含めた各検査工程の精度管理および各検査従事者の技能をより定量的に評価できるようになる可能性があり、ひいては検査結果の信頼性向上に寄与するものと考えられる。

4. 研究の方法及び期間

(1) 方法

ア. 研究デザイン

産総研で開発した「RNA認証標準物質を内標準としたCOVID-19検査のための精度管理手法」は、感染研から発表されている「病原体検出マニュアル 2019-nCov v. 2.9.1」をひな形として、RNA抽出からPCRまで、全ての工程の精度管理を可能とする手法である。この手法の有効性を確認するために、下記4種類の条件において、各試料におけるSARS-CoV2由来RNA及びRNA CRMのC_q値のデータを取得し、それらを統計解析することにより、RNA CRMを内標準とした精度管理手法の有効性を評価する。尚、本実証研究には、茨城衛研における日常診療の試料である「唾液や喀痰、咽頭ぬぐい液等の患者検体」の一部を匿名化して保管しているものを用いる。

- ① 種類の異なる複数の患者検体
- ② ウイルス量の異なる複数の患者検体
- ③ 異なる調製法で調製されたRNA CRMを内標準として添加
- ④ 異なる測定方法 (SARS Cov2遺伝子もしくはRNA CRMのいずれかを定量するsingleplex RT-qPCR、またはSARS Cov2遺伝子とRNA CRM の両方を同時定量するduplex RT-qPCR)による測定
- ⑤ 複数回の同一工程による繰り返し実験(RNA抽出～PCRまで)

イ. 対象となる試料

COVID-19の行政検査に使用した患者検体

ウ. 予定研究対象者数及びその設定根拠

- ① 研究全体の予定研究対象者数
最小10名、最大50名
- ② 設定根拠

下記の患者検体の種類の違いにより、当該精度管理手法が利用可能であるかを統計的に解析するにあたり、最低限必要な検体数であるため。

- ① 少なくとも3種類の異なる患者検体（咽頭スワブ、喀痰、だ液）
- ② 少なくとも3種類の異なるウイルス量の患者検体
- ③ 上記①と②の一通りの組み合わせについて同一工程による少なくとも2日間の繰り返し実験を実施

エ. 統計解析の方法

2元配置の分散分析を使用し、検体の種類や、検体に含まれるウイルス量、日間差の影響を評価

オ. 評価項目及び方法

①使用する試料

患者検体から抽出されたRNA溶液

②実施の方法・手順

1. 産総研から、RNA CRMを内標準としたCOVID-19検査のための内部精度管理に関するマニュアルおよび必要試薬類を茨城衛研へ送付
 2. 茨城衛研にて、上記マニュアル及び「日常診療における試料である「唾液や喀痰、咽頭ぬぐい液等の患者検体（茨城県内の保健所から送付されたもの）の一部を匿名化したもの」及び産総研から送付した必要試薬類を使用した実験を行う。
 3. 茨城衛研は、PCR実験の結果得られた検体の種類別、ウイルス量別のSARS-CoV2由来RNA及びRNA CRMのCq値のデータを所定のフォーマットに従い、産総研へ報告する。尚、茨城衛研における匿名化は対応表を用いて行われており、産総研側の研究者には開示されない。
 4. 産総研にて、茨城衛研より返送された結果についての統計的解析を行う。尚、本解析に使用する結果には、試料に対応したウイルス量の測定結果（情報）は含まれているものの、臨床情報（個人情報）は含まれていない。
- ① 評価項目 Singleplex RT-qPCRおよびDuplex RT-qPCR測定の結果得られた、Cq値。（尚、解析の目的は、患者検体に含まれるウイルス量の多い～少ないや、検体の種類に応じて、PCRで得られるCq値がどの程度変動するかを解析する予定である。）

カ. 検体の利用目的

COVID-19のPCR行政検査

キ. 他機関に情報を提供することが含まれる場合にはその旨該当なし

- (2) 研究期間（研究開始から研究完了までを具体的に記載）
審査承認日から1年間

5. 研究の科学的合理性の根拠

(1) 先行する研究の概要

COVID-19検査において認証標準物質を外部から添加して内標準とすることでPCR検査の精度管理を目指した手法開発に関する先行研究は存在しない。一方で、COVID-19検査を対象とはしていないものの、S. Ellefsenら (Improved normalization of real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction data using an external RNA control, *Analytical Biochemistry*, 376, 1, 2008, pp. 83-93) はリアルタイム逆転写PCRにおける遺伝子定量の精度管理、具体的には標的遺伝子の発現量の正規化を目的として、特定のRNAを内標準として添加してPCR工程を経て得られた発現量データの評価・正規化を行っている

(2) 先行研究で明らかでない点

先行研究では魚類の遺伝子発現解析における精度管理や発現量の正規化を目指して、藻類の遺伝子を内標準として試料に添加している。内標準を用いることでリアルタイム逆転写PCRの定量データの正規化がより厳密に行えることを示している。しかし、先行研究ではCOVID-19検査における内標準RNAの効果などについて応用展開できるような結果は得られていないため、COVID-19検査における内標準RNAの効果は明らかとなっていない。

(3) 研究結果が有用であるとする根拠

先行研究 (Improved normalization of real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction data using an external RNA control, *Analytical Biochemistry*, 376, 1, 2008, pp. 83-93) の研究結果はRNAの定量を目的の一つとした遺伝子発現解析における精度管理や発現量の正規化において内標準RNAの添加することで標的RNAの発現量の正規化がより厳密に行えることを述べており、その点において実験デザインなどが本研究の遂行にとっても有用であるとする。

(4) 研究計画が日常診療と異なる点

研究計画では茨城衛研における日常診療において匿名化して保管している試料にRNA CRMを添加して、RNA内標準としての効果を評価するものであり、日常診療とはRNA CRMの添加の有無や、Cq値をより厳密に評価する

点、逆転写PCRにおいて複数の遺伝子を同時計測する点において異なる。

6. 研究の倫理的配慮

遵守する指針

本研究の実施にあたっては人を対象とする医学系研究に関する倫理指針（平成26年12月22日制定、平成29年2月28日一部改正）を遵守して実施する。

7. インフォームド・コンセントを受ける手続き等

(1) インフォームド・コンセントを受ける場合：

該当なし

(2) インフォームド・コンセントを受けない場合：

理由、研究の実施について通知・公表等を行う事項と方法（通知・公表文書の見本添付など）

本研究は茨城衛生研究所において既に保有している既存資料を用いて実施を行うものであり、再び研究対象者からインフォームド・コンセントをうけることは物理的・時間的に難しい。そのため、あらかじめ本研究に関する情報について茨城県衛生研究所のホームページで公開し、研究対象者等が拒否できる機会を保障する方法をとる。

- ① 試料・情報の利用目的および利用方法（他の機関へ提供される場合はその方法も含む）
- ② 利用し、または提供する試料・情報の項目
- ③ 利用する者の範囲
- ④ 試料・情報の管理について責任を有する者の氏名または名称
- ⑤ 研究対象者又はその代理人の求めに応じて、研究対象者が識別される試料・情報の利用または他の研究機関への提供を停止すること
- ⑥ ⑤の研究対象者またはその代理人の求めを受け付ける方法

8. 個人情報等の取扱い

(1) 匿名化の時期（具体的に）

本研究を開始する前に、日常診療における試料である「唾液や喀痰、咽頭ぬぐい液等の患者検体の一部を匿名化する。

(2) 匿名化の方法

- ① 対応表を作成すること

茨城衛研において、研究対象者の個人情報、氏名、生年月日などを削り研究のための特有の番号に割付けた対応表を作成し、匿名化を行う。作成された対応表は、産業技術総合研究所の研究者には開示されない。

②対応表の保管責任者所属・氏名

茨城県衛生研究所・永田紀子

③対応表の保管場所（施錠の有無、パスワード設定の有無、外部との接続の有無等セキュリティ対策に関する事項を含む）

匿名化（対応表有）の対応表及びデータは、上記責任者がそれぞれパスワードを設定したファイルに記録し、USBメモリに保存して、鍵の掛かるキャビネットに保管する。同意書も同様に鍵の掛かるキャビネットに保管する。匿名化（対応表有）された検体は、専用フリーザーに施錠して保管する。

(3) 個人情報等の安全管理措置（患者さんのプライバシーがどのように保護されているのか具体的に記載）

研究対象者の個人情報は、匿名化する段階で氏名、生年月日などを削り研究のための特有の番号に割付ける。その際の対応表は茨城衛研内で保管・管理し、研究所外へはもちださない。データはパスワード設定のあるUSBで管理し、研究責任者の室内の鍵のかかる棚で保管する。データ閲覧の際にはスタンドアローンのパスワード設定されたパソコンで閲覧する。研究結果の公表時には個人を特定する情報は含まない。

(4) 共同研究の場合

①共同利用する個人情報等の項目（氏名、年齢、性別、病歴等の情報）

本研究では、試料に対応したウイルス量の測定結果（情報）のみを使用するため、臨床情報（個人情報）は用いない。

②共同研究機関における安全管理措置

産総研の研究者には匿名化に使用した対応表は開示されず、また産総研において臨床情報（個人情報）は取り扱わないため該当なし。

③個人情報の機関間移動等の際の情報の受渡しにおける留意事項

臨床情報（個人情報）は、茨城衛研で特定の個人を識別することができないように個人と関わりのない番号等におきかえたうえで、産総研へ送付する。送付する情報にはパスワードを付与し、別途パスワードは電話等により連絡する。

9. 試料・情報（研究に用いられる情報に係る資料を含む。）の保管及び廃棄の方法

測定に用いる試料の匿名化や試料の測定は茨城衛研が行い、産総研は測定

データのみを受け取る。また測定データは試料に対応したウイルス量の測定結果（情報）を含むものの、臨床情報（個人情報）は含まない。データの送付は、パスワードを付与した電子ファイルをEメールサービスにより送付し、パスワードは別途電話等により連絡する。

以下、「茨城衛研における試料および情報の管理」と「産総研における情報の管理」について別個に記す。

【茨城衛研における試料および情報の保管および廃棄】

- 1) 保管場所(施錠、パスワード設定、外部との接続等のセキュリティ対策を含め具体的に)
匿名化を行った情報および測定データについては、上記責任者がそれぞれパスワードを設定したファイルに記録し、USBメモリに保存して、鍵の掛かるキャビネットに保管する。同意書も同様に鍵の掛かるキャビネットに保管する。匿名化（対応表有）された検体は、専用フリーザーに施錠して保管する。
- 2) 保管責任者
永田紀子（茨城衛研）
- 3) 保管期間
研究開始日より5年間
- 4) 保管期間終了後の取り扱い（廃棄等）
- 5) 茨城衛研は「他の研究機関への試料・情報の提供に関する届出書」を当該試料・情報の提供をした日から3年間保管する

【産総研におけるデータの保管および廃棄】

- 1) 保管場所
茨城衛研より受け取った電子データについては、ネットワークに定常的に接続されていないUSB等のメディアに保管する。また、電子データそのものにはパスワードをかけ、研究責任者、研究分担者のみがみられる状態にする。またデータを適切に保管するために、定期的なセキュリティシステムの保持、データのバックアップ等の実施を行う。
- 2) 保管責任者
加藤 愛（産総研）
- 3) 保管期間
研究開始日より5年間
- 4) 保管期間終了後の取り扱い（廃棄等）
茨城衛研より受け取ったデータは、保管期間が終了した時点で、データ

が保管されていたUSB等のメディアから削除する。

5) 産総研は「他の研究機関への試料・情報の提供に関する記録」を当該研究の終了について報告された日から5年を経過した日まで保管する

10. 研究機関の長への報告内容及び方法

研究責任者は研究経過報告書また終了報告書により、年度内の1.実験結果および成果、2.有害事象発生の有無等を報告する。

11. 研究の資金源等、研究機関の研究に係る利益相反及び個人の収益等、研究者等の研究に係る利益相反に関する状況

(1) 研究の資金源

国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED)
「ウイルス等感染症対策技術開発事業」

(2) 資金源との関係

本研究は公的外部資金により実施されるものであり、個人の収益には結びつかない

(3) 研究機関、研究者等の利益相反の有無

研究機関及び研究者において利益相反はない。

12. 研究に関する情報公開の方法

本研究により得られる一切の情報は、先に得られている被験者の同意のもと、患者検体管理者およびデータ管理者の責任において厳重に保管され、プロトコールに記載された研究および個人識別情報とリンクしない形でのデータの二次利用のみの目的に使用する。研究成果を公表する場合も、患者を特的できるようなデータの発表は行わない。

13. 研究対象者等及びその関係者からの相談等への対応

(1) 相談等への対応プロセスの明確化

本研究成果は研究対象者を特定できるようなデータの発表は行わないため、研究対象者およびその関係者等からの相談はないものと想定される。

(2) 相談窓口の設置

上記のような理由から設置の予定なし

(2) FAQ のホームページ掲載等

該当なし

14. 研究対象者等に経済的負担又は謝礼がある場合

該当なし

15. 研究対象者から取得された試料・情報について、研究対象者等から同意を受ける時点では特定されない将来の研究のために用いられる可能性又は他の研究機関に提供する可能性があること

該当なし