ICH E18：基因組採樣與基因組數據管理指引

(Guideline on Genomic Sampling and Management of Genomic Data)

（草案）

衛生福利部食品藥物管理署

中華民國 111 年○月

前言

國際醫藥法規協和會 (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, ICH) 於 2017 年發布 ICH E18 (Guideline on Genomic Sampling and Management of Genomic Data)指引，提供臨床試驗相關的基因組採樣及基因組數據管理之基本原則，並提供精準採樣、儲存及妥善使用等建議，以利基因組研究。

目錄

一、 引言 3

(一)目的 3

(二)背景 3

(三)適用範圍 3

(四)通則 4

二、基因組採樣 4

(一)採集與處理樣本 5

1、樣本類型 5

2、採集樣本的時機.....5

3、存放樣本的條件 6

4、樣本的穩定性與降解 6

5、樣本的體積與組成 6

6、影響基因組樣本質與量的參數.....7

7、干擾的來源.....7

(二)運輸與存放樣本 7

1、運輸樣本.....7

2、存放樣本.....7

3、控管樣本庫 8

三、基因組數據 8

(一)產生基因組數據 8

(二)處理與儲存基因組數據 9

四、 隱私與機密性.....10

(一)對樣本與數據作編碼 10

(二)資料取得與透明化 10

五、知情同意 11

六、告知試驗結果 11

E18: 基因組採樣與基因組數據管理指引

一、 引言

（一）目的

本指引提出與臨床試驗相關的基因組採樣與基因組數據管理之統整性建議，期望在基因組樣本與數據的無偏差採集、儲存、最佳使用等方面達成共識，使基因組研究在實行上有所依據；本指引亦期望能提升對受試者隱私、數據保護、取得知情同意之必要性、考量研究結果透明度之必要性等方面的認知，以符合當地法規要求。本指引欲促進藥品開發商、研究人員及主管機關的互動，並鼓勵臨床試驗範疇內的基因組研究。

（二）背景

由臨床試驗取得的基因組數據受到的關注及認知與日俱增。在藥品開發的各階段皆可透過基因組研究，分析藥品反應與基因組的關聯，並瞭解致病機轉或藥理機制。找出與藥品反應變化相關之基因組生物標記，對病人治療最佳化、促進臨床試驗效率及充實藥品資訊等方面都極有價值。此外，執行臨床試驗與藥品開發計畫所採集之基因組數據以及對該數據之詮釋，可以促進對藥理與病理機制的瞭解，並協助找出新藥標的。

ICH之各區域主管機關均有各自的公布規範，以鼓勵於藥品完整生命週期中採集基因組樣本。然而，缺乏統整性的ICH指引來規範臨床試驗的基因組採樣與基因組數據管理，使全球臨床試驗委託者與研究者在臨床試驗的基因組採樣與基因組研究方面沒有一致的標準可遵循。

基因組樣本可廣泛用於多種分析，如：單基因分析、基因集分析以及全基因組分析。臨床試驗計畫可以在採集樣本前預先明定樣本將運用於何種分析之中，亦可不預作規定。

（三）適用範圍

本指引之適用範圍包括介入型與非介入型臨床試驗之基因組採樣與基因組數據管理。基因組研究可在臨床試驗期間或其後進行之。臨床試驗計畫書可以預先訂定基因組研究的細節，亦可不預作規定。本指引對基因組樣本與數據之使用作出規範，不限定於進行分析的時機以及試驗計畫是否已對用途預作規定。本指引所

討論之基因組樣本與數據在去氧核醣核酸（DNA）與核醣核酸（RNA）兩方面之特性與ICH E15[1]指引所規範的一致。

本指引之重點係在知情同意的前提下建立基因組樣本或數據於採集、處理、運輸、儲存、廢棄等方面之通則。

本指引因考量到基因組採樣與數據生成兩方面的技術發展日新月異，於適當處對技術層面有所著墨。

生物資料庫與倫理層面係屬赫爾辛基宣言（Declaration of Helsinki）與國家法規之範疇，故本準則並未對其提供詳細指引。同理，本準則並未對隱私權／資料保護提供詳細指引。本準則所提出之原則適用於任何以源自人體之材料所作之基因組研究。

本指引係提供原則性之建議，其應用仍應符合各地政府對於基因組研究之法律規範。。

（四）通則

隨著科學進展與對基因組進一步的認知，使將採集到的樣本及由樣本取得的數據價值最大化成為一種需求與契機。因此，鼓勵廠商在臨床發展各階段與各相關試驗採集基因組樣本。此外，基因組研究的品質取決於是否能對樣本作不偏差的採集與分析，理想狀況下，應採集所有試驗受試者的樣本，以期能完整代表試驗的受試族群。

因為樣本完整性對樣本的科學性應用將產生極大影響，故維護基因組樣本的完整性相當重要。樣本的質與量，以及檢測方式的技術效能（如：正確性、精準度、敏感性、特異性、再現性等），將決定基因組數據是否可靠。將基因組樣本的處理與加工標準化，有利於將取自不同平台的數據加以整合，亦有利於決策。

基因組樣本與數據應如同非基因組樣本與健康資訊般存放於安全處，並對使用者進行管制。

[1] ICH E15 指引將基因組生物標記（genomic biomarker）定義為：「一種可以測量的 DNA 及／或 RNA 特性，可作為正常生理學、致病機轉、對治療性介入或其他介入所產生之反應等方面之指標。」

二、 基因組採樣

基因組研究涵蓋的方法與應用範圍極為廣泛，包含但不限於核酸定序與基因分型（genotyping）、對多種核糖核酸進行分析、基因表現或調控、偵測表觀遺傳修飾(epigenetic modifications)等。可以預期隨著科技持續進步，將會帶來更多應用。研究範圍將決定欲評估之樣本類型及分析物（analyte），同時也會決定萃取分析物的方法以及妥善註記後的樣本應如何存放。樣本的質和量會影響基因組數據的正確性與可信度，因此，生物樣本的採集、存放、準備等步驟對研究過程極為重要。

分析前的差異性應藉由制定並記錄標準化的基因組樣本採集、處理、運輸、存放程序而降至最低。各程序以及品質監控應依據樣本類型、分析物、欲執行之檢驗而訂。正式執行試驗計畫前，各試驗單位(study site)的前置樣本處理製備程序須預先定義、記錄與確認。採集樣本的時機、方法、地點（例如：試驗單位）以及樣本狀況（例如：儲存溫度與期限、固定時間[fixation time]等）務必記錄。每一份樣本在生命週期內若與預先制定的程序有任何偏差或改變，均應詳細記錄。應記錄所有樣本及其等分試樣（aliquot）於收集、處理和分析的所有階段之監視鏈（chain of custody），並包括執行每一步驟的時間點。強烈建議應有品質管制計畫。整體而言，執行採集、處理、運輸、存放的各項指示均須有所定義並予以採用，以確保生物樣本自採集至應用能維持一貫品質。

（一）採集與處理樣本

發展樣本採集與處理策略時須先考量分析前變因（pre-analytical variable），以確保樣本適用於基因組檢驗。若參與臨床試驗的各單位逕自使用不同的樣本採集與處理程序，則後續之檢驗效能恐怕也各不相同，因而影響數據解釋與整合，且可能導致所得結果失準。各試驗單位之工作人員須受過充分訓練且通曉標準作業程序。樣本的採集與標註在執行上須遵守適當的生物安全性規定、受試者隱私規範及知情同意。

1、 樣本類型

許多類型的臨床樣本與基質（例如：血球、組織、口腔拭子、唾液、骨髓液、尿液、糞便等）皆可用以萃取核酸。新的組織衍生核酸來源（如：游離DNA、循環腫瘤細胞等）可能需要搭配獨特的分離方法。本指引所述原則亦適用此類核酸來源。採集之樣本類型必須適用於預計之用途，舉例而言，某些樣本類型可同時適用於DNA與RNA分析，但另有些樣本類型因為分析物不穩定而無法應用於RNA分析。

若試驗對象為兒童，所能採集之血液或其他組織量可能有限，因此，可以考慮改採非侵入式替代方法，如：唾液、乾血點（dried blood spot）、皮膚刮屑等。

某些類型的樣本，如：血液、肌肉切片等，應留意無菌採集。有可能遭到非受試者的DNA與RNA所污染之生物性材料，如：口腔拭子與唾液，在使用上亦須格外謹慎。

2、 採集樣本的時機

制定採樣策略時，須依臨床試驗之目的考量受試者自身以及彼此之間的變異性，舉例而言，日變化（diurnal variation）以及所施予的治療都可能影響基因表現，故於選擇採樣時間點時須將此因素納入考量。表觀遺傳因素，如：DNA甲基化，也可能隨時間（如：受試者年齡）改變。雖然生殖細胞系（germline）的DNA序列在時間變化方面相對穩定，由腫瘤DNA與RNA所得之資訊卻有可能受到採樣來源、方法、時機等因素之影響。

3、 存放樣本的條件

盛裝樣本的容器，以及添加劑、穩定劑、防腐劑等藥劑的使用需求和種類，須視目標核酸、樣本類型、所需樣本大小或體積、可用的檢測方法與技術等因素而定，舉例而言，血液和骨髓液須以試管採集，並視所欲萃取的核酸類型，於試管中盛載適當的抗凝劑或添加劑。組織樣本可以液態氮急速冷凍，或以適當的防腐劑保存。

組織通常需要先行固定處理方能長期保存，此時應考慮的因素包括：固定劑的種類、固定時間、濕度、氧合作用、溫度等，同時亦須考慮後續核酸萃取方法。

建議臨床試驗須評估組織固定以及添加劑對目標分析物有何影響，和採集樣本前須要先進行何種檢測。此外，樣本組織的類型與體積可能對固定的最佳時間長度有影響，故亦須納入考量。固定樣本後所採用之樣本處理方法也可能影響樣本的完整性。

4、 樣本的穩定性與降解

應有適當之樣本處理措施以防止樣本採集與加工過程中之核酸降解或基因組變化。核酸片斷化（fragmentation）以及基因表現產生明顯變化都是可能發生之情況，並受酸鹼值、低氧（hypoxia）、內核酸酶以及其他與組織相關的因素所影響。此外，自採樣至冷凍、固定、加工的時間，以及樣本存放的時間，應視需求予以最佳化。所採用之參數必須記錄於樣本採集與處理指示、訓練教材以及樣本報告書。建議應監測樣本存放與處理之條件，舉例而言，應監測溫度變化並予以記錄，確保各樣本均處於一致的條件下。

5、 樣本的體積與組成

樣本的採集量應審慎考量，應考量以達到預期目的（例如：分析方法）所需之最

低組織量或細胞含量，使受試者的負擔降至最低。最適當的組織量須依組織的結構（比如細胞數量較高的組織僅需小量便已足夠）以及特定細胞類型相對於整體樣本所占比例（比如切片中腫瘤及／或其他病徵所占比例）而定。若僅能採集到少量組織，可考慮採集其他生物性材料代替之（見「樣本類型」段落）。由於腫瘤組織可能呈現分子異質性（molecular heterogeneity），亦即鑲嵌型變異（mosaicism），而且腫瘤切片通常含有一部分正常組織，因此在進行基因組分析前先對樣本作病理分析並加以記錄，或許會有幫助。若樣本是成對收集的（例如：腫瘤組織與正常組織、治療前樣本與治療後樣本、產前樣本與產後樣本等），則可能須額外考量其他因素（例如：採集的樣本、細胞類型必須相匹配）以利樣本的比較。

6、 影響基因組樣本質與量的參數

萃取核酸的質與量兩方面都受到諸多因素影響（見p.6樣本的體積與組成），其中之一是樣本的品質。因此，萃取程序須依樣本的處理狀況與類型定義並驗證。不同類型的樣本在特徵與成分上的差異可能影響核酸的回收率，因此在選擇核酸萃取方法時必須將其納入考量。舉例而言，對於不同的組織和體液樣本，細胞裂解（cell lysis）程序可能有所不同，移除細胞中特定成分的程序亦可能因樣本組成而異。須注意的是，不同的程序有可能連帶影響基因表現，因而產生非預期的誤導性結果。若須自相同樣本中萃取DNA與RNA，便須考量究竟是同時自同一份樣本萃取為佳，抑或是在採集時便將樣本分割較佳。考量RNA較DNA不安定，分離RNA時須採額外的預防措施，例如使用不帶核糖核酸酶（RNase）的設備與試劑。在萃取核酸前重複將樣本冷凍再解凍會影響基因組樣本的完整性，故應盡可能避免或評估其影響。為確認所欲萃取的核酸在質與量兩方面是否足以進行後續基因組檢測，應針對欲測量之分析物採取適當的品質管制措施。

7、 干擾的來源

潛在的干擾與汙染會對基因組檢測造成影響，干擾與汙染的來源可能是內生性或外生性物質。確認所用樣本類型內通常含有哪些內生性物質（如：血液中的血紅素、皮膚中的黑色素等）至關重要，上述可能影響比如聚合酶連鎖反應（polymerase chain reaction，PCR）之效率；同理，確認樣本中有哪些外生性物質（例如：抗凝劑、添加劑、固定劑、核酸分離試劑等）亦相當重要，上述會對特定檢測方法有影響。在發展檢驗方法時應考量會影響檢驗成效之因素。

（二） 運輸與存放樣本

運輸與存放的條件隨樣本類型與目標核酸而異。一般而言，運輸與存放時不可將樣本曝

露於可能影響目標核酸安定定性的環境中。

1、 運輸樣本

在運送樣本前須先建立適當的運輸條件。為確保樣本及／或萃取之分析物是在可接受之條件下運輸，其運輸與接收日期，及收到樣本時大致的樣本溫度，均須予以記錄。運送中應盡可能將樣本維持於適合該樣本類型以及目標分析物的儲存溫度下。若運輸條件與計畫有異，須予以記錄。

2、 存放樣本

強烈建議將樣本長期存放（即在藥品開發計畫過程中及完成後持續保存），以利重複使用及將來之需。樣本或萃取之核酸之存放條件應適於預計採行的基因組檢測應用。建議將樣本與萃取之核酸分成許多等分試樣（aliquot）存放，以避免重複冷凍／解凍以及潛在汙染風險，將等分試樣分別存放在數個地點可避免同時損失所有試樣。若因再度使用某樣本而將其重複冷凍／解凍，則須記錄每次冷凍／解凍循環包括每一個步驟之溫度與時間等參數。

樣本須存放在硬體設施中，並有嚴謹的實驗室資料與數據管理系統與之搭配。將樣本收入生物資料庫（biorepository）前，須考量品質保證與品質管理計畫、樣本追溯系統、資訊安全性、當地法規、知情同意等事項。強烈建議將樣本存放在建有適當的不斷電系統與災害防範計畫的硬體設施之中。在任何時間點，樣本的保存由哪方承擔責任均須有明確規定，而其監視鏈（chain of custody）亦須有詳細記錄。保留樣本的時間不得超過知情同意書所規定的時限。此外，亦須有適當措施確保當受試者不同意使用其樣本或樣本已達前述保留時限後，將樣本妥善銷毀。

3、 控管樣本庫

樣本庫須依以下條件監測與控管：樣本應用許可、依樣本存放政策所設定之存放期限、將樣本自生物資料庫撤回之要求、樣本銷毀紀錄。使用樣本前，須依上述項目核對每件樣本。各樣本間（例如：樣本的等分試樣、腫瘤組織–正常組織配對樣本、治療前–治療後樣本配對等）身分可以利用基因組的一致性（genomic concordance）確認。

三、 基因組數據

人類基因組數據可源自遺傳自雙親的生殖細胞系（germline）、體細胞（例如：腫瘤組織突變）或粒線體（例如：追溯母系血統）。取自人體的生物性樣本有可能包含源於非人類基因組的分子，例如：細菌的DNA或其他致病性因子。樣本

所產生的基因組數據隨分析物與應用技術平台而異。若欲完整比較基因組，則可能需要自單一受試者採集多份DNA或RNA樣本，並同時涵蓋健康組織與罹病組織、不同的組織類型，及／或不同的採樣時間點。

（一）產生基因組數據

已有許多不同的技術平台及方法可用以產生基因組數據，且技術發展日新月異。對受試者做廣泛的基因剖析（genomic profiling）在技術上已屬可行，且可將所產生之數據予以儲存並於日後重複使用。依據基因組數據的預期用途選擇合適的技術平台與方法實為重要，因此，須了解數據生成過程中是否採用研究級或有更多驗證之方法。當基因組數據運用於臨床決策時，應依據當地法規與政策採用適當等級之檢驗方法確效。若屬於探索性研究，則可使用研究級試劑與儀器以產生基因組數據，而這些試劑和儀器可能未經確效以支持臨床用途。然而，即便探索性研究不要求臨床級確效，分析方法仍須經充分確效以確保檢測結果達到合理詮釋所需之正確性與一致性。

對於基因組研究，各階段樣本處理與分析流程之紀錄須符合對上游樣本採集與處理的紀錄所應有的詳細程度，此紀錄應包括各分析階段所使用之工具、版本及參數、所使用之參考基因組與資料庫之來源與版本(例如：基因組結構[build]、轉錄組組成[transcriptome assembly]、變異註記資料庫[variant annotation database])以及用於處理數據的計算環境與資源等。此外，流程各階段須設有適當的品質管制措施與度量閾值(metric thresholds)，且上述須固定後方能進入下游分析。若可行，針對個別檢驗方法與預期產出數據之品質管制措施與閾值應固定，以確保不同數據集之間的一致性；同理，生物資訊學（bioinformatics）工具、演算法與相關參數須在進入下游分析前即已選定，且針對個別檢驗方法、分析物及預期產出應盡可能保持一致。

雖然基因組研究的生物資訊學方法持續發展與變化，且已有許多工具、資源與分析法可供運用，設計工作流程時仍須考量業界已奉為圭臬之作法與資源。強烈建議採用公開的註記（annotation）資源以利跨平台比較與整合不同試驗間的基因組結果與非基因組（例如：蛋白質組）結果。最後，任何用以將基因組數據與臨床或生物學數據合併的演算法（包括研究或臨床人員用以詮釋試驗結果的簡單推斷）或統計檢測方法均須有適當紀錄。

試驗委託者應確保樣本與基因組數據之使用合乎規範，須符合許可之使用目的。基因組數據的應用須合乎各地區／政府所許可之試驗計畫與知情同意程序。

（二） 處理與儲存基因組數據

了解不同類型的基因組數據如何產生、處理、分析與儲存有其必要性。一般而言，首先由儀器產生一至多份原始數據檔案，再將檔案處理與轉換為適於與臨床或生物學數據合併的格式。除了處理完成的最終資料集，建議亦保留存有原始數據完整特徵的數據檔，上述可以是原始數據檔，或是與工作流程文件搭配（可用於重建原始數據）之經處理過可立即用於分析的數據檔。基因組數據檔應儲存於適於長期儲存的安全媒介中，亦須能連結至其他臨床數據，以利當下或日後使用。雖然基因組樣本可在受試者要求下予以銷毀，然而數據的破壞實與科學完整性（scientific integrity）原則相牴觸，在臨床試驗的環境下尤為如此。實際上，一旦數據完成分析且納入試驗結果之後，便不可能既銷毀數據又不損害臨床試驗之科學完整性，因此，建議應保留已產生並使用於臨床試驗中之數據。適當情況下，可發展能依受試者要求處置數據的程序。

四、 隱私與機密性

基因組樣本與數據在加工與處理上須採用能保障受試者隱私的方式，正如同其他臨床數據一般，採用代碼以及安全存取程序有助於維護數據機密性。樣本的採集、運輸、分析及存放的各步驟均應有適當的安全措施，如：編碼基模（coding schemata）與存取限制等。此外，尚須考量各政府有關於數據保護與機密性的法規與政策。

（一）對樣本與數據作編碼

基因組數據之保密性須比照其他臨床數據採用高標準。ICH E15指引[2]提及數種對基因組樣本與數據作編碼的方式，包括單一編碼（single coding）與雙重編碼（double coding）。本指引建議基因組樣本與數據採用單一編碼以降低複雜性及錯誤風險，但亦須符合當地法規。匿名化的作法，依ICH E15指引的定義為將編碼鍵（coding key）刪除以避免由編碼逆推受試者身分，然此作法有其侷限性。隨著基因組資訊與分析方法愈發普及，有時僅僅消除受試者識別碼（identifier）與編碼之間的連結已不足以防止受試者身分受到辨識。此外，匿名化有雙重影響：1）匿名化使得先前已去連結（de-linked）的基因組資料無法與基因表現型數據（phenotypic data）相連結；2）無法依撤銷知情同意或長期臨床監測需求而銷毀樣本。處理基因組數據時，研究人員與試驗委託者均應遵守相關的隱私權與數據保護法規。

[2] 參閱 ICH E15 指引第 2.3.2 節

（二）資料取得與透明化

基因組樣本與數據之使用可能在取得受試者知情同意之前提下長時間重複多次取用，取用者可能是試驗委託的組織內部人員，亦可能是在試驗委託組織監督下的合作夥伴或外部研究者。取用的內容包括個人層級數據及／或經過整合的結果。應制定涉及系統的政策及程序以嚴格管控取用權限，包括取用任何基因組樣本與數據均須在使用者存取紀錄（user access log）中留下紀錄，如同其他臨床資料的管理。管控取用權限的政策及程序須將損害個別受試者隱私的風險，以及損害數據品質與詮釋的風險，一併納入考量。

獲得知情同意的研究機構內部及可分享樣本與數據的外部機構均須遵守一套以風險管理為基礎的作法來取用基因組樣本與數據。若欲將樣本的儲存、基因組分析、數據儲存等作外包，合約條款中應註明責任方須以適當方式監督外包單位以確保樣本及／或數據安全無虞。

與外部組織或研究者分享數據及／或樣本有助醫學進展，並具有多層面之效益，同時亦可提升研究結果之透明度。若欲向第三方分享個人層級數據(包括：公共資料庫)，須確實遵守相關之各地法規。

五、　知情同意

根據ICH E6指引，知情同意乃藥品優良臨床試驗規範（Good Clinical Practices，GCP）之一部分。基因組研究同意書可包含於臨床試驗同意書內，亦可另立文件。基因組研究應符合相關當地法規且不可超出受試者同意書所規定的範疇，包括採集與儲存基因組樣本和數據。受試者同意書須以簡單易懂的敘述說明所欲採集生物型材料之類型與數量、採集程序以及對於基因組數據結果之回報原則。若有機會可接受遺傳諮詢（genetic counseling），宜將此訊息納入受試者同意書中。受試者同意書對於須有法定代理人或監護人同意方能參與試驗的受試者（如：未成年人或失智症病人）須另作特別考量。

雖然當前受試者同意書係受所在地法規之規範，針對採集與使用基因組樣本制定可於全球通行之共同必要內容，將有助於基因組研究之執行。

採集與使用基因組樣本的受試者同意書應允許廣泛的樣本分析（例如：基因集、轉錄組分析、全基因組定序等）而不對執行分析的時間點設限。理想情況下，受試者同意書應允許樣本的廣泛應用，例如：發展檢測方法、疾病研究、藥品反應、藥品安全監視等用途。受試者同意書須符合所在地之規範與政策。

六、　告知試驗結果

在臨床試驗中基因組研究透過分析藥品反應與基因組的關聯，藉此增進對疾病生理及／或藥理機轉的瞭解。基因組數據有時並非試驗之主要目標，但仍可能具有臨床相關性，部分甚至有可能在臨床上另作應用。舉例而言，在原本並非以探討癌症風險為目的之研究中，全基因組定序可能檢驗出*BRCA1*基因突變。

本指引鼓勵研究機構與試驗委託者採取適當之基因組數據回報原則與機制予受試者，應說明試驗結果與非試驗目的之偶然發現（incidental findings）是否將告知受試者。理想情況下，還應說明告知時機（臨床試驗期間或之後）、由誰告知（例如：研究人員、醫師、遺傳諮詢師等）、告知對象（受試者本人或主要照護者，若受試者為兒童或失智症病人則告知法定監護人）等事項。將結果告知受試者時，應評估遺傳諮詢的適切性；試驗結果對治療決策的影響須經臨床判斷並與受試者（或主要照護者、法定監護人）討論。須尊重受試者是否有意願並同意收到上述資訊。此外，亦須考量所採用之檢測方法與其確效等級，因上述可能影響試驗結果之正確性與可信度。