

(別紙 1)

ファーマコゲノミクス・バイオマーカー相談に関する記録

平成 22 年 5 月 31 日

独立行政法人医薬品医療機器総合機構

相談申込のあった下記のファーマコゲノミクス・バイオマーカー相談において、相談申込者（以下、「相談者」）が提出した資料及び独立行政法人医薬品医療機器総合機構（以下、「機構」）における評価の概略は、以下のとおりである。

記

受付日・受付番号	平成 21 年 8 月 12 日・#P-BM1
相談の対象となったバイオマーカー	尿中腎障害分子（Kim-1）、尿中クラスタリン、尿中アルブミン、尿中 Trefoil factor-3（TFF3）、尿中シスタチン C、尿中 β 2-マイクログロブリン、尿中総タンパク
相談区分	ファーマコゲノミクス・バイオマーカー相談
相談申込者	Critical Path Institute's Predictive Safety Testing Consortium (PSTC)
担当部（担当分野）	オミックスプロジェクトチーム

1. 提出された資料の概略

(1) 背景

薬剤誘発性の急性腎障害を早期に診断することは、障害の原因となっている薬剤の投与中止や障害の治療方針等を早期に判断するために重要である。現在のところ、血清中クレアチニン（以下、「sCr」）及び血中尿素窒素（以下、「BUN」）等が、臨床及び非臨床において腎障害のバイオマーカー（以下、「BM」）として使用されているが、特異度及び感度において十分とは言い難い。

そこで相談者は、これら従来の急性腎障害の BM よりも特異度及び感度が優れた急性腎障害の新規 BM を探索するため、合計 23 の尿中 BM（アルブミン、 β 2-マイクログロブリン、Calbindin d28、クラスタリン、シスタチン C、EGF、GST α 、GST μ 、腎障害分子（以下、「Kim-1」）、Lipocalin2 (NGAL)、Macrophage Migration Inhibitory Factor、Monokine Induced by Interferon γ 、Interferon γ Induced 10Kda Protein、NAG、Osteoactivin、Osteopontin、Podocin、RPA1、Timp1、Trefoil factor-3（以下、「TFF3」）、総タンパク、Uromodulin (Tamm-Horsfall)、VEGF) について検討した。その結果、相談者は、現時点で 7 種類の新規 BM（尿中 Kim-1、尿中クラスタリン、尿中アルブミン、尿中 TFF3、尿中シスタチン C、尿中 β 2-マイクログロブリン、尿中総タンパク；以後特記しない場合、これらは尿中の BM であることを意味する）については、薬剤誘発性の急性腎障害の BM としての有用性が収集でき、特定の使用方法に関し適格性が確認されたと考え、その適切性を確認するために今般の相談を申し込んだ。なお、相談者は、当該 7 種類の新規 BM の適格性を確認するために、2008 年に FDA

と EMEA（現：EMA）に同様の資料を提出しており、非臨床試験でのラットの急性腎障害を検出するための BM として、適格性が確認されたと判断されていることを説明した。

(2) 相談事項

本相談の BM 適格性確認のための資料提出の目的として、相談者より以下の 3 項目が提示された。

- 1) いくつかの薬剤誘発性の急性腎障害 BM に関して、相談者が入手した結果を報告すること。
- 2) 今回提出した 7 種類の新規 BM に関する非臨床試験のデータは、公表文献中の臨床試験結果も踏まえると、それぞれの新規 BM の適格性に関する相談者の見解を裏付けるものであるとの考えについて、機構の合意を求めること。
- 3) 7 種類の新規 BM 及びその他の有望な薬剤誘発性腎障害 BM を承認申請に使用することについて、より広く受け入れられ、より理解されるように、提案している継続試験及び適格性確認のための戦略を説明し、それに対して機構の合意を求めること。

(3) 相談者により実施された試験の概略

今回の相談では、7 種類の新規 BM（Kim-1、クラスタリン、アルブミン、TFF3、シスタチン C、 β 2-マイクログロブリン、総タンパク）に関し、薬剤誘発性の急性腎障害の BM としての有用性が確認できたと考えられ、別紙 2 の資料が相談者から提出された。その内容は、急性腎障害を引き起こすことが知られている既存の化学物質を用いた短期（3 週間）ラット毒性試験の成績であり、試験は、メルク（20 試験）、ノバルティス ファーマ（10 試験）及び FDA（4 試験）の三者で実施された。また、臨床試験に関する公表文献の評価結果も併せて提出された。

ラット毒性試験では系統の異なる 2 種類のラットが用いられ、ノバルティス ファーマの試験では Han Wistar ラットが、メルク及び FDA の試験では Sprague-Dawley ラットが用いられた。実施されたラット毒性試験の概要を表 1 に示す。

表 1：試験の概要

実施施設	メルク	ノバルティス ファーマ	FDA
ラットの系統	Sprague-Dawley	Han Wistar	Sprague-Dawley
雌雄	雄 ^a	雄	雄
各群の動物数	4~6	6	3~6
腎毒性物質 ^b の数	11	8	4
非腎毒性物質 ^c の数	9	2	0
測定された BM	Kim-1、アルブミン、 TFF3、sCr、BUN	Kim-1、クラスタリン、 シスタチン C、β2-マイ クログロブリン、総タン パク、sCr、BUN	Kim-1、sCr、BUN

a：カルバペネムを用いた 1 試験のみ雌を含む

b：ゲンタマイシン、バンコマイシン、ドキシソルビシン、フロセミド、炭酸リチウム、シスプラチン、
ピューロマイシン、タクロリムス、カルバペネム、シクロスポリン、チオアセタミド、ヘキサ
クロプロタジエン、アロプリノール、フェニルアントラニル酸、D-セリン、プロピレンイミン、
塩化第二水銀、ニクロム酸ナトリウム

c：α-naphtyl-isothiocyanate、メタピリレン、イロプロテレノール、フラン、ゲニピン、セリバスタチ
ン、テトラクロロメタン、トリクロロプロモメタン、水、2%塩化ナトリウム水溶液、4%スクロー
ス水溶液

腎毒性物質及び非腎毒性化合物の投与後、病理組織学的検査データ、血液検査・臨床化
学検査データ、及び 7 種類の新規 BM のデータが収集され、共通のデータベースに集積さ
れた。これら 7 種類の新規 BM と現在の標準的な腎障害の BM である sCr 及び BUN の有用
性を比較するために、ROC (Receiver Operating Characteristic) 解析が実施された。BM には
変動が認められた一方で、病理組織学的変化が認められなかった場合、それが病理組織学
的变化に先行した BM の変動なのか、偽陽性なのか厳密に判断することは困難であるため、
ROC 解析では病理組織学的変化が認められなかった腎毒性物質投与群のデータを解析から
除外する exclusion 解析が実施され、主な結果として示された。なお、別途、上記の被験動
物データを含む全検体での inclusion 解析も実施された。また、実験によるアーチファクト
の影響（給水瓶の漏れ、被験物質の薬理作用又は毒性作用による摂水行動、並びに尿量に
対する影響等）を最小化するため、腎障害の BM の測定値は、尿中クレアチニン（以下、
「UCr」）値で補正された。

主な ROC 解析の結果を図 1 及び表 2（尿細管障害）、図 2 及び表 3（糸球体障害）に示
す。

1) 尿細管障害について

表 2：各施設における ROC 解析 (exclusion) 結果

実施施設	BM	AUC ^a	閾値 ^b	相対感度 ^b	被験動物数 (対照群 ^c / 疾患群 ^d)	p 値 ^e
メルク	Kim-1	0.99 (0.00)	1.88	99	46/77	<u>0.00001</u>
	アルブミン	0.90 (0.01)	2.23	71	246/224	<u>9.99E-10</u>
	TFF3 (UCr)	0.90 (0.02)	2.01	78	105/134	0.70557
	TFF3 (分泌量)	0.92 (0.02)	2.15	77	106/111	0.27375
	TFF3 (濃度)	0.93 (0.02)	2.47	87	117/135	0.07381
	sCr	0.77 (0.02)	1.22	48	246/224	-
	BUN	0.82 (0.02)	1.26	61	246/224	-
ノバルティス ファーマ	Kim-1	0.91 (0.02)	1.87	79	283/132	<u>3.02E-07</u>
	クラスタリン	0.88 (0.02)	1.85	70	289/132	<u>1.16E-04</u>
	sCr	0.73 (0.03)	1.15	40	289/132	-
	BUN	0.79 (0.03)	1.20	51	289/132	-
FDA	Kim-1 (補正なし)	0.77 (0.04)	1.39	64	28/131	3.62E-01
	Kim-1	0.84 (0.03)	1.77	68	28/129	<u>9.53E-03</u>
	sCr	0.72 (0.05)	1.42	34	28/134	-
	BUN	0.76 (0.04)	1.22	62	28/133	-

a： () 内は標準誤差、b：95～97%の特異度に対する値

c：腎特異的な病変/病理組織学的変化がみられなかった動物

d：腎特異的な病変/病理組織学的変化がみられた動物

e：p<0.05 (DeLong 検定：各新規 BM の AUC vs sCr の AUC) を下線で示す。

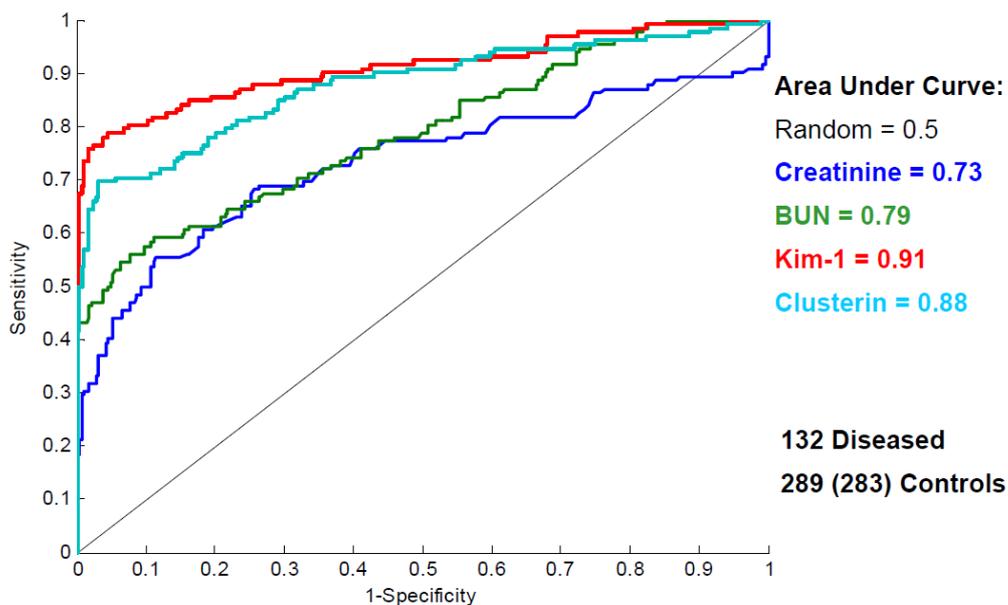


図 1：ノバルティス ファーマによる尿細管障害 (変性、壊死、アポトーシス、細胞脱落) の評価

Kim-1 の測定は、メルク (n=4) 、ノバルティス ファーマ (n=10) 、FDA (n=4) が実施した合計 18 の試験で行われ、その測定結果は、同一の解析方法を用いて評価された。表 2 及び図 1 で示すように、いずれの施設において実施された解析結果からも、Kim-1 は AUC、感度ともに最も高値を示した。特異度 97 %、95 %、96 % (メルク、ノバルティス ファーマ、FDA の順) に対する Kim-1 の診断閾値はそれぞれ 1.88、1.87、1.77 であり、複数試験施設において、独立して Kim-1 による検出の性能が評価されたが、一貫性のある結果が得られた。また、メルクにおいて上記 ROC 解析と併せて実施された変性、壊死、拡張及び再生の個々の病理組織学的所見に関する ROC 解析の結果から、尿細管障害の種類によらず Kim-1 は sCr 及び BUN 並びに他の新規 BM (アルブミン、TFF3) に比べ優れていると考えられた。

また、メルク及びノバルティス ファーマにより実施された ROC 解析結果から、アルブミン及びクラスタリンは、いずれも薬剤誘発性の急性腎尿細管障害の検出において sCr 及び BUN よりも有意に優れていることが示された。TFF3 は、尿細管障害の検出において sCr 及び BUN に対する有意差は認められなかったものの、メルクにより実施された個々の病理組織学的所見に関する ROC 解析の結果から、薬剤誘発性の急性腎尿細管再生及び拡張の検出において、sCr 及び BUN を上回る有用性が示唆されたと考えられた。

2) 糸球体障害について

表 3：ノバルティスファーマにおける ROC 解析 (exclusion) 結果

BM	AUC ^a	閾値 ^b	相対感度 ^b	被験動物数 (対照群 ^c /疾患群 ^d)	p 値 ^e
シスタチン C	0.91 (0.03)	3.11	65	291/40	<u>1.47E-06</u>
β2-マイクログロブリン	0.89 (0.03)	3.59	73	291/40	<u>1.72E-05</u>
総タンパク	0.86 (0.04)	1.90	78	291/40	<u>1.12E-05</u>
sCr	0.53 (0.05)	0.91	30	291/40	-
BUN	0.80 (0.04)	1.29	48	291/40	-

a： () 内は標準誤差、b：99%の特異度に対する値

c：腎特異的な病変/病理組織学的変化がみられなかった動物

d：腎特異的な病変/病理組織学的変化がみられた動物

e：p<0.05 (DeLong 検定：各新規 BM の AUC vs sCr の AUC) を下線で示す。

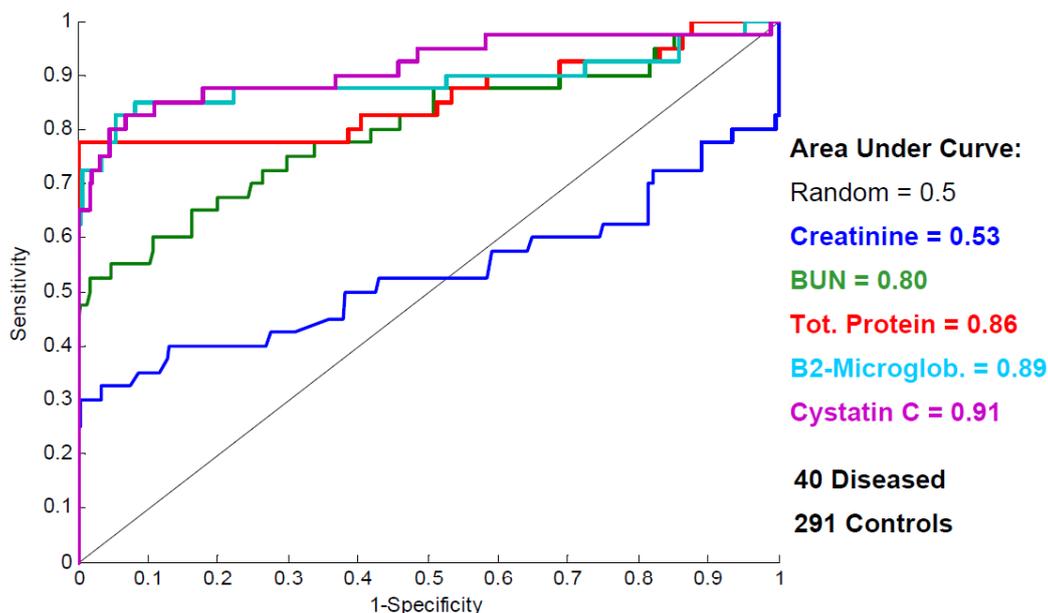


図 2：ノバルティス ファーマによる糸球体障害の評価

シスタチン C、 β 2-マイクログロブリン、及び総タンパクは、糸球体障害及びその後の尿細管再吸収障害の検出において、sCr よりは有意に優れており、また、BUN を上回ることが示唆された。

さらに、ROC 解析の結果に基づき算出された相対感度（99%の特異度に対する値）及び相対特異度（85%の感度に対する特異度）は、それぞれシスタチン C で 65%及び 92%、 β 2-マイクログロブリンで 73%及び 89%、総タンパクで 78%及び 49%、sCr で 30%及び 0%、BUN で 48%及び 49%であり、シスタチン C と β 2-マイクログロブリンは、軽度の糸球体障害とその後の尿細管再吸収障害の検出において感度が高く、一方、総タンパクは、糸球体障害及びその後の尿細管再吸収障害の検出において特異度が高いことが示されたと考えられた。

(4) 公表文献中の臨床試験結果に関する評価

Kim-1、アルブミン、シスタチン C、 β 2-マイクログロブリン及び総タンパクの臨床使用を裏付ける臨床試験結果を報告した公表文献の評価結果が BM 毎に提示され、5 種類の新規 BM のいずれについても、ヒトにおいて感度の高い腎障害 BM であるとの考察が示された（別添 2、資料番号 5）。また、前項に概略を示した非臨床試験結果に加え、本評価結果を踏まえた場合、5 種類の新規 BM のうち、特定の被験薬投与により動物試験において十分な感度で変動が生じることが明らかとなったものについては、早期臨床試験で使用することも適切であるとの相談者の主張が示された。

(5) 相談者が考える今後の方針

1) 実験的戦略

本相談の次の段階の計画として、相談者より以下の検討事項が提示された。

- ① 本相談に当たり実施されたラット毒性試験の未使用サンプルを用いて、7種類の新規 BM、sCr 及び BUN に関する追加評価を行うこと。
- ② ①で示した未使用サンプルを用いて、別の BM 候補（NAG、GST- α 、GST- μ 、オステオポンチン、リポカリン-2、ウロモジュリン、RPA-1、オステオアクチビン、カルビンディン d28）の腎障害検出に対する性能を評価すること。
- ③ 非腎毒性物質の試験から得られた検体を用いて、7種類の新規 BM の腎障害検出のための特異度をさらに評価すること。
- ④ ラット及びヒトにおいて少数の追加試験を行い、7種類の新規 BM の使用に関する追加主張を検討すること。

2) 潜在的ギャップ

7種類の新規 BM に関する次の適格性確認において検討すべき潜在的ギャップとして、相談者より以下の項目が提示された。

- ① 本相談では急性毒性試験に焦点が当てられているため、腎毒性物質の用量、投与期間及び観察期間を適切に設定した試験により、慢性的な腎障害に対する新規 BM の変動も評価も行う必要がある。
- ② 腎臓における病変が出現するまで、並びに病変が消失又は回復するまでの新規 BM の変動についても評価する必要がある。
- ③ 新規 BM の変動の生物学的意義を確認するため、ラット以外の動物種においても、新規 BM の評価を行う。
- ④ 初期の臨床試験における安全性モニタリングに新規 BM を用いる場合は、所定の臨床母集団におけるヒストリカルコントロール（正常）値を確立する必要がある。
- ⑤ 7種類の新規 BM 以外で、非臨床において薬剤誘発性急性腎障害の検出に対する有用性が確認され、臨床での使用経験が得られていない BM について、臨床試験で使用するものの妥当性を示すために、小規模の臨床試験による評価を検討する。

2. 評価の概略

各新規 BM の適格性に関する相談者の見解及び機構における評価の概略は、以下のとおりである。

(1) 相談事項 2. 各新規 BM の適格性確認についての相談者の見解について

相談者は、提出した資料に基づき、7 種類の新規 BM の使用方法として以下の 1-3 の適格性が確認できたと考える旨を説明した（表 4）。

- 1) ラット毒性試験において、薬剤誘発性急性腎尿細管変化もしくは薬剤誘発性急性糸球体変化・障害の早期診断 BM として、7 種類のうち TFF3 を除く 6 種類の新規 BM（Kim-1、クラスタリン、アルブミン、シスタチン C、 β 2-マイクログロブリン及び総タンパク）は、BUN 及び sCr の両方もしくは一方より優れ、BUN と sCr から得られる情報に付加価値があること。また TFF3 は、BUN 及び sCr より優れたものではなかったが、薬剤誘発性急性腎尿細管変化の早期診断 BM として BUN 及び sCr から得られる情報に加えて、追加情報を提供すること。
- 2) 治験の安全な実施を裏付けるために実施するラット GLP 試験において、薬剤誘発性急性腎尿細管の変化もしくは薬剤誘発性急性糸球体変化・障害がモニター可能であることを示すために、治験依頼者が自発的にこれら 7 種類の新規 BM を使用することに関して、規制上の意思決定¹⁾に使用できる場合があることの適格性は確認されていると考えること。
- 3) 動物を用いた毒性試験の所見から、尿細管の変化もしくは糸球体の変化・障害とそれに伴う尿細管障害を生じる可能性について懸念が生じ、またはそのような動物試験によって可逆的な腎障害が早期に検出されることが示された場合、医薬品の臨床開発を進める（例えば、第 I 相試験、第 II 相試験）ために、腎障害の BM として 7 種類のうちクラスタリン及び TFF3 を除く 5 種類の新規 BM（Kim-1、アルブミン、シスタチン C、 β 2-マイクログロブリン及び総タンパク）を使用することに関して、規制上の意思決定¹⁾に使用できる場合があることの適格性は確認されていると考えること。

¹⁾ 機構が早期の臨床試験計画を評価する際に、今回提出した新規 BM に関するデータを安全性評価に利用し得ること。

表4：相談者の新規BMの使用方法に関する主張

BM	腎障害時の測定値の変化	新規 BM の使用方法に関する主張			臨床的有用性に関する主張を支持する既存の公表データ
		BUN 及び/又は sCr との優越性	BUN 及び/又は sCr に追加して測定する価値	モニターする腎障害の種類 ^a	
Kim-1	増加	BUN 及び sCr に優る	あり	尿細管	あり
クラスタリン	増加	BUN 及び sCr に優る	あり	尿細管	なし
アルブミン	増加	BUN 及び sCr に優る	あり	尿細管	あり
TFF 3 (UCr 補正)	減少	優れていない	あり	尿細管	なし
シスタチン C	増加	sCr に優る	あり	糸球体	あり
β2-マイクログロブリン	増加	sCr に優る	あり	糸球体	あり
総タンパク	増加	sCr に優る	あり	糸球体	あり

a：尿細管は薬剤誘発性急性腎尿細管変化を、糸球体は薬剤誘発性急性糸球体変化・障害とそれに伴う尿細管再吸収障害を示す。

1) 提示された新規 BM の使用方法

① アルブミンについて

機構は、アルブミンに関して、病理組織学的変化で捉えられる尿細管障害のうち、尿細管の拡張及び再生に対しては、ROC 解析 (inclusion) の結果において sCr、BUN と比較して数値的に低い AUC 及び感度 (アルブミン、sCr 及び BUN (以下同順) の尿細管拡張の AUC は 0.88 ± 0.05 、 0.95 ± 0.03 、 0.86 ± 0.05 、尿細管拡張の感度は 0.50、0.71、0.63、尿細管再生の AUC は 0.78 ± 0.05 、 0.84 ± 0.05 、 0.85 ± 0.05 、尿細管再生の感度は 0.41、0.59、0.55) が得られていることから、アルブミンを Kim-1、クラスタリン、TFF3 と同様に「腎尿細管変化」の有用な BM と位置付けることが適切であるか (あるいは、より限定した使用方法とする必要がないか) について、相談者に説明を求めた。

相談者は、以下のように回答した。

まず、本相談で提示した 7 種類の新規 BM は、いずれも sCr 及び BUN の代替指標を意図したものではなく、sCr 及び BUN と併用して使用する位置付けであり、現時点で入手可能な根拠に基づきアルブミンの適格性は確認できたと考える。次に「尿細管障害」のうち「尿細管変性又は壊死」、「尿細管再生」、「尿細管拡張」の 3 つの尿細管病変毎にスコアを示したメルクのデータから、アルブミンが最も有用なのは尿細管上皮による管腔からのアルブミンの再吸収を障害する尿細管の病理学的変化、特に変性又は壊死 (これに限らない) がみられる場合であると考えており、病変毎のデータの解析においては、多重性を考慮して sCr 及び BUN に対する統計学的検定は実施されておらず、尿細管変性又は壊死以外の病変の検出についてアルブミンが他の BM に劣ることを意味するものではないと考える。一方で、統計学的検定 (DeLong 検定) により、アルブミンは薬剤誘発性急性腎尿細管変化の検出に関し sCr 及び BUN に優る可能

性があるという全般的な結論が Maximum Composite スコア²⁾を用いた解析により得られている。以上より、アルブミンについては、現時点において使用目的を尿細管変性又は壊死のみに限定させる必要はないと考える。

機構は、相談者からの回答を踏まえ、アルブミンの上昇が認められた場合に、それが構造的あるいは病理学的プロセスを伴わない尿細管の機能的変化に留まる場合と、尿細管変性又は壊死を含む構造的変化に至る場合の可能性をどのように区別するのかについて、非臨床試験で尿中アルブミンの上昇が認められた検体のうち、尿細管変性又は壊死を含む構造変化が認められたものと認められなかったものの割合を示した上で説明するよう、相談者に求めた。また機構は、アルブミンを腎構造障害の BM として用いる場合、尿細管再生及び拡張の変化の検出には適さないことが示唆されていることから、使用に当たっては他の新規 BM (Kim-1 や TFF3 等) と併用して用いる方が適切ではないか検討するよう、相談者に求めた。

相談者は、以下のように回答した。

メルクが実施した全20試験における全700例について基質的变化又は機能的変化が認められた例数を計数した結果、95 %の特異度を示す閾値 (exclusion基準: 2.23倍) を上回るアルブミン上昇が認められたのは240例で、その内訳は、「変性・壊死」が認められたものが158例、「変性・壊死」は認められなかったが「拡張」又は「再生」が認められたものが15例、「変性・壊死」、「拡張」又は「再生」のいずれも認められなかったものが67例であった。したがって、アルブミン上昇が認められた検体のうち、病理組織学的腎変化が認められなかった検体の割合は28 % (67/240例) であった。また、病理組織学的腎変化が認められなかった検体においてもアルブミン上昇が認められたことから、アルブミン上昇は場合によっては病理組織所見よりも感度が高い可能性、あるいは近位尿細管上皮による機能性タンパク質の取込みを薬物が直接阻害する (メガリン-キュブリン輸送体複合体の特異的な競合阻害剤によるものといった、細胞障害を伴わない機序) ことにより、病理組織学的に腎障害が認められない状況でタンパク尿が発現する可能性が示唆された。近位尿細管上皮による機能性タンパク質の取込みが、細胞障害を伴わない機序により直接阻害される場合には、Kim-1のように細胞障害に伴って尿中に放出されるBMは上昇しないが、尿タンパクは上昇すると考えられ、アルブミン及びKim-1を同時に測定することで、機能的変化のみで基質的障害が認められない事例を判別できる可能性はあるが、その有用性は現時点で明確になっていないと考える。特定のBMを複数組み合わせることにより、ある特異的な事例を判別できる可能性については、慎重にデザインされた試験での検討がさらに必要であり、今後の課題であると考えている。

機構は、特異的な事例を判別するために、特定のBMを複数併用することについては、今後の課題であるとの相談者の説明に同意するが、アルブミンについては、細胞障害

²⁾ 尿細管変性又は壊死、尿細管再生、その他 (尿細管拡張等) の3つの病理組織学的所見のスコアうち、最も高いスコア

を伴わない機序により影響される可能性を否定することができないことから、今後測定を実施する場合には可能な限り単独で評価するのではなく、Kim-1、TFF3等と併用しながら検討を進めていくことが望ましいと考える。

② TFF3について

機構は、TFF3は今回提案された尿細管障害の新規BM（Kim-1、クラスタリン、アルブミン、TFF3）において唯一DeLong検定の結果から、sCr及びBUNより優れている結果が得られなかったことから（表2及び4）、提案された使用方法に関する適切性について、相談者に説明を求めた。また機構は、TFF3の補正について「UCr」、「分泌」、「濃度」と複数のパラメータにより解析及び検討が行われていることから、いずれを用いることが適切と考えているのかについても、相談者に説明を求めた。

相談者は、以下のように回答した。

TFF3を単独で使用した場合にsCr又はBUNより優れているという証拠は得られていないが、TFF3の寄与を評価するため、統計モデルにおいてTFF3により得られた追加情報を検討した。その結果、sCr及びBUNのモデル（sCr及びBUNを腎臓の病理組織学的反応の説明変数とした二項ロジスティック回帰モデル）にTFF3を加えることで、モデルから算出された尤度比統計量は187.3から224.4に増加したことから、TFF3は急性腎障害の検出に有用な情報をもたらす新規BMであり、TFF3は現行の標準的BMと併用して用いることが適切と考える。またTFF3の補正については、障害を伴わない排尿過多あるいは夜間尿採取時における給水瓶の漏れ等の結果として、TFF3濃度が減少し偽陽性と判定することを防止するため、現時点ではUCrにより補正するのが最善であると考える。しかし、TFF3は7種類の新規BMのうち腎障害に反応して減少する唯一のBMであり、十分な経験が集積されていないため、UCr補正の適切性については、さらなる経験とデータの集積を踏まえた上で検討が必要であると考えており、今回は3種類の補正データを提示することが適切と判断した。

機構は、相談者の回答を踏まえ、TFF3は今回検討された7種類の新規BMの中で、唯一、尿中での減少を指標としていることから、TFF3の使用に当たって腎障害による減少と検出能力の不全による減少とをどのように区別するのかについて、相談者に説明を求めた。

相談者は、以下のように回答した。

TFF3の分析性能については、最初にバリデーション（定量下限の決定、並びに尿、被験物質及び既知の混入物質による影響がないことの確認）を実施した。また分析毎に遺伝子組み換えTFF3をバッファーに添加した陽性対照を設定し、かつ反復測定を行う追加のバリデーションを実施した。

機構は、追加のバリデーション実施に当たり、陽性対照を設定したことは評価できるものとする。しかしながら、TFF3については、バリデーションが完了した後においても、腎障害に起因する減少と検出感度による減少との判別は困難であるため、今後実施される試験では、原則として分析毎に陽性対照群を設定することが望ましいと考える。

さらに機構は、TFF3が今回提案された尿細管障害BMにおいて、sCr及びBUNより優れている統計解析結果が得られなかったこと、また、今回提案された7種類の新規BMにおいて唯一、腎障害に反応して減少するBMであり、「陽性対照」を設定しない場合には、腎障害による影響と検出能力の低下による判別が、TFF3単独使用では困難と考えられることから、アルブミンの場合と同様にTFF3についても、今後測定を実施する場合には可能な限り単独で評価するのではなく、Kim-1あるいはアルブミン等と併用しながら検討を進めていくことが望ましいと考える。

2) 新規BM測定値のUCr値による補正について

機構は、提出された文献 (Han WK et al, *J. Am. Soc. Nephrol.* 16: 1126-1134. 2005) において、UCrによるKim-1値の補正は、急性腎障害患者のクレアチニンバランスが安定しないため問題があり、補正実施の有無において大きな差異はなかったと報告されていること、また新規BMのUCrによる補正は事前に規定されていたが、Kim-1及びTFF3の場合には補正した値と補正しなかった値の両方が提示される等、二つの異なる方法が混在して評価されており、補正の評価方法及び適切性については、あくまで得られた試験結果をみた上での経験則に基づき判断されていること等から、解析方法としての科学性を保持する上で、全ての新規BMについてUCrによる補正を行うことの適切性について、相談者に説明を求めた。

相談者は、以下のように回答した。

尿中BMをUCrにより補正することで、実験によるアーチファクト（例えば、動物試験における給水瓶の漏れ、薬理又は毒性作用による摂水行動への影響及び尿量に対する薬理作用により、腎障害と関連のない尿中BM濃度の変動が生じる可能性）を防ぐことができ、投薬に関連した腎障害による変動を正確に評価することが可能になると考える。しかしながら、Hanらが報告しているように、クレアチニンの糸球体濾過及び尿排泄に急性の著しい変化が生じ、sCrとUCr排泄の間で安定平衡に到達するまでの間は、UCr濃度に対する補正が適切に機能しない可能性があることは認識している。したがって、UCrによる補正を実施する際には、発症後24時間以内の急性腎機能不全のように、sCr増加前にUCrが減少する可能性がある場合には、UCr濃度の変化を評価しながら注意深く実施する必要があり、異常な結果が疑われる場合には採尿及び測定を反復することが必要と考える。以上を踏まえ、現時点ではTFF3も含め、7種類の新規BMの値をUCrにより補正することが最善の評価方法と考える。

機構は、UCrによる補正を実施する場合には、相談者が説明している「UCr濃度の変化を評価しながら注意深く実施する必要がある」という点が重要であると考えており、今回提案された全てのBMの評価においては、この点が遵守されたことが前提になると考える。また機構は、今後の検討に際しては、UCr濃度の変化についても詳細に検討した結果が提示されるべきであると考えている。

3) 病理組織学的評価の盲検化について

メルク及びノバルティス ファーマにおいて実施された病理組織学的評価は、当初盲検

下で実施されておらず、FDA/EMEA VXDS合同会議での議論を踏まえ、メルク及びノバルティス ファーマ並びにSRI International（以下、「SRI」）において病理組織学的評価が盲検下で再度実施された。

機構は、これら盲検下で実施された病理組織学的な再評価結果に基づくROC解析に関し、SRI、メルク及びノバルティス ファーマでの評価結果をみると、7種類の新規BMのうち、ほとんどの新規BMにおいて、メルク及びノバルティス ファーマで実施した結果の方が、SRIでの結果よりも高いAUCが得られた理由について、相談者に説明を求めた。

相談者は、以下のように回答した。

メルク及びノバルティス ファーマで実施した結果の方が、SRIでの結果よりも高いAUCが得られた主な理由として、これら各評価施設における評価基準の差異（用語の違い、重症度分類の違い、病理学者間で異なる閾値等）が影響していると考えており、例えば、同じ尿細管障害の所見について、SRIの病理学者は非常に軽度と分類し偽陰性と判断した一方で、メルクの病理学者は診断の閾値を下回ると考え、正常な変動と判断したこと等が原因であると考え。しかしながら、これら3施設でのROC解析（exclusion）の結果は表5-1及び表5-2のとおりであり、SRIでの評価の方がAUCは低値を示しているが、各BMの相対的位置関係はほぼ同様で変動はごくわずかと考えられ、各施設での評価基準の差異を踏まえると、各施設間で認められた解析結果の差は提案している7種類の新規BMの使用法の適切性を説明する上で、大きな影響を及ぼすものではないと考える。

表5-1：メルクでのBM値を用いたROC解析（exclusion）結果

BM	AUC（メルク） ^a	AUC（SRI） ^b
Kim-1	1.00 (NA)	0.98 (0.02)
アルブミン	0.99 (0.01)	0.96 (0.02)
TFF3 (UCr)	1.00 (0.01)	0.97 (0.02)
sCr	0.95 (0.03)	0.90 (0.04)
BUN	0.90 (0.04)	0.91 (0.04)

a：メルクで実施された盲検下の病理組織学的評価結果に基づくROC解析により得られたAUC；（）内は標準誤差

b：SRIで実施された盲検下の病理組織学的評価結果に基づくROC解析により得られたAUC；（）内は標準誤差

表5-2：ノバルティス ファーマでのBM値を用いたROC解析（exclusion）結果

BM	AUC（ノバルティス ファーマ） ^a	AUC（SRI） ^b
Kim-1	0.95 (0.02)	0.82 (0.04)
クラスタリン	0.93 (0.03)	0.84 (0.04)
sCr	0.66 (0.06)	0.62 (0.06)
BUN	0.54 (0.06)	0.53 (0.07)

a：ノバルティスファーマで実施された盲検下の病理組織学的評価結果に基づくROC解析により得られたAUC；（）内は標準誤差

b：SRIで実施された盲検下の病理組織学的評価結果に基づくROC解析により得られたAUC；（）内は標準誤差

機構は、盲検下での病理組織学的な再評価の際に、評価を実施した施設毎に異なる用語及び重症度分類を用いた理由について、相談者から明確な説明は提示されていないと考えており、施設間での結果を厳密に比較することは困難であると考えている。その上で機構は、病理組織学的な再評価に基づくROC解析でのAUCで、メルク及びノバルティス ファーマによる結果とSRIでの結果の差異は大きくないと考えており、ROC解析 (exclusion) により得られた各BMの相対的な位置関係も大きく異なっていなかったことから、これらの評価結果の差異が相談者より提案されている7種類の新規BMの使用法の内容を評価する上で、大きな影響を及ぼす可能性は低いと考える。なお、今後実施する新規BMの適格性確認に際しては、評価結果の信頼性を適切に担保するため、病理組織学的評価は盲検下で実施すべきであると考えている。

4) 新規BMの腎障害部位の特異性について

機構は、提案されている糸球体障害に関する新規 BM (β 2-マイクログロブリン、シスタチン C、総タンパク) の値は、糸球体及び尿細管がともに障害されているような検体だけでなく、尿細管に限局して障害が認められた場合にも増加する可能性がないか、相談者に説明を求めた。

相談者は、以下のように回答した。

多くの場合、糸球体障害の新規 BM 値は、尿細管再吸収障害を伴う糸球体の障害が発現した検体で増加し、尿細管に限局して障害が認められた検体では、増加しなかった。しかしながら、糸球体障害を誘発しないと考えられるゲンタマイシンを投与した群では糸球体障害の新規 BM 値が増加していたことから、尿細管再吸収機能に影響を及ぼすような因子の関与により、これら糸球体障害の BM 値が増加する可能性は否定できないと考える。

機構は、尿細管再吸収障害を伴う薬剤誘発性の糸球体障害を検出する新規 BM として β 2-マイクログロブリン、シスタチン C 及び総タンパクの有用性は示唆されていると考えるが、糸球体障害が認められていない場合にも、これらの糸球体障害に関する新規 BM 値が増加する可能性は否定できないと考えており、これら BM 値が変動する要因については、さらに検討が必要と考える。

5) Kim-1 の定量方法について

機構は、本相談で提示された Kim-1 値の多くは、新たに開発された Luminex マイクロビーズ法に基づくものであったことから、Luminex マイクロビーズ法による Kim-1 の定量に関し、ELISA 法等の他の定量方法と比較しながら、その信頼性について説明するよう相談者に求めた。

相談者は、以下のように回答した。

メルクが実施した 4 試験における一部の同一サンプルを用いて、Kim-1 の濃度を Luminex マイクロビーズ法 (J. Bonventre, Brigham & Women's Hospital にて実施) 及び Mesoscale Discovery 化学発光 ELISA 法 (以下、「Mesoscale 法」) (Z. Erdos, Merck & Co., Inc. にて実施) で測定し、相関係数 (R^2) を算出したところ R^2 の平均値は約 0.8 (0.83、

0.80、0.64、0.78) であり、二つの定量法間には相関性があると考え。一方、それぞれの回帰直線の勾配は、0.48、0.50、0.55 及び 1.8 と変動しており、これは測定した時点で Mesoscale 法の開発が非常に初期の段階であったことや、Mesoscale 法で使用した Kim-1 標準品が Bonventre 研究所で使用した標準品とは異なっていたこと等が原因と考えられる。しかし Kim-1 の評価は、同時対照又は投与前値と比較した変化率に基づき実施していることから、異なる標準品を使用して得られた絶対濃度には依存しないと考えており、今回の測定結果には十分な信頼性があると考え。

機構は、以上の相談者の説明を了承した。

(2) 相談事項 3. 新規 BM のさらなる適格性確認について

1) 新規BMのさらなる適格性確認におけるBMの選択、組合せの基準について

機構は、今回提出された薬剤誘発性急性腎障害に対する7種類の新規BMを使用する際の選択、組合せに関する基準について、相談者に説明を求めた。

相談者は、以下のように回答した。

特定の対象群に1種類の新規BMを適用するか数種類の新規BMを併用するかは、薬剤の開発者が意図するBMの検討目的によって異なると考えており、各BMの有用性に関する既知の情報、閾値及び限界を十分に認識した上で使用することが必要と考える。したがって、これら新規BMの臨床的適格性を確認するために、今後実施する臨床試験においては、可能な限り多数のBMを使用し、それらの結果から各BMの長所と欠点を把握し、同一サンプルで測定したBM値を収集することで、各BMの相対的な関係を検討する予定である。

機構は、相談者の考えを了承した。

2) 新規BMの使用方法に関する見解の潜在的ギャップ、課題解決のための試験計画について

機構は、相談者より、新規BMの適格性を確認する上での潜在的ギャップとして、多様な腎毒性物質投与時の病変発現及び回復との関係からみたBMの動態評価(持続性)が挙げられていることに関し、以下の点について、相談者に説明を求めた。

- ① 腎機能障害の進行や回復と新規BM値の経時的な変化との関係を検討するための非臨床及び臨床試験の実施予定について。
- ② 潜在的ギャップに対する解決策として提示された試験の中でのBM値の経時的な評価の詳細について。

相談者は、以下のように回答した。

- ① 非臨床試験については、数種の異なる腎毒性物質(例えば、ゲンタマイシン、カルバペネムA)をラットに投与し、その後の回復性を確認する試験を複数実施しており、これらの試験では、個々の動物で経時的な評価及び投与終了後の様々な時点での動物群の屠殺を計画している。また、別途、ゲンタマイシン、アドリアマイシン、バシトラシン、シスプラチン及びピューロマイシン等を用いたラット回復性試験を

計画中又は既に実施中である。一方、臨床試験については、頭頸部癌の治療のためにシスプラチンの標準的な投与を受けている患者あるいはアミノグリコシドの標準的な投与を受けている嚢胞性線維症の患者で、薬剤の投与中及び投与後におけるBMの経時的な変化を評価する試験の実施について検討している。

② ①で記載している非臨床試験のうち、一部の試験において、新規BMを経時的（たとえば3、7及び14日目の測定値）に評価する予定である。これらの試験では新規BMに加えその他のBMについても追加予定であり、各BMについての各時点における値と観察された活動性の病理組織学的プロセスとの正確な関連性を慎重に評価する計画である。さらに、短期間の試験で忍容性が良好であることが確認された用量で継続的に腎毒性物質を長期間曝露する非臨床試験も計画している。

機構は、相談者の考えを了承した。

3. 機構の見解

(1) 相談事項 1. 薬剤誘発性急性腎障害 BM に関する検討結果の報告について

機構は、薬物応答に関連する新規 BM を医薬品開発に用いることで、より効果が高く、副作用の少ない医薬品の創出の促進と実現につながると期待されるが、その一方で、十分な検討を行うことなく新規 BM を医薬品開発に利用することは、誤った判断につながる可能性があることから、医薬品開発へ新規 BM を広く利用する前の段階で、新規 BM の利用目的及び範囲等の適格性を確認することは重要なプロセスであると考えている。今回提出された相談者が実施した解析結果は、非臨床に限定した内容ではあったものの、機構は、このような積極的な検討が行われたことには意義があると考えており、今回得られた成果は、今後の医薬品開発において有用な基礎データになるものと考えている。また機構は、今後とも新規 BM のさらなる適格性確認のために、非臨床及び臨床での検討が継続して積極的に実施されることを期待しており、新たな成果が得られた段階で、再度、適格性確認のための評価を実施することが必要と考える。

(2) 相談事項 2. 各新規 BM の適格性確認についての相談者の主張について

機構は、今回提出された薬剤誘発性急性腎障害の検出に関する7種類の新規BMについて、提出された試験結果及び臨床に関する公表文献での結果を踏まえると、相談者が提案している7種類の新規BMの使用法に関する見解1-3（「2. (1) 相談事項2. 各新規BMの適格性確認についての相談者の見解について」の項参照）については、これら7種類の新規BMの使用は、ラットGLP試験で、薬剤誘発性の急性腎尿細管変化又は急性糸球体変化・障害を検出するためであり、既存のBM（sCr及びBUN）と併用した使用であることを前提とすれば、付加的な情報を与えるBMとして受け入れ可能であると考えている。

しかしながら機構は、早期の臨床試験（第I相試験等）でこれら7種類の新規BMを薬剤誘発性急性腎障害の検出のために一般的に広く使用することについては、十分な適格性が確認されているとは言えず、個々に有用性を判断する必要があり、今後実施される国内外での医薬品の臨床開発あるいはBMの適格性確認の過程で、これら7種類のBMに関する検討を適宜実施し、積極的なデータ収集が行われることを期待する。

その上で機構は、今回提出された資料に基づけば、少なくとも以下に示す非臨床での課題について、今後さらに積極的な検討を行うことが望ましいと考える。

- 1) 今回提出された非臨床試験の結果は、短期のラット毒性試験に基づくものであり、長期に投与した際のBMの経時的推移（経時的な変動や持続性）及びその可逆性（回復性）については明確になっていないと考える。
- 2) 全34試験のうち1試験を除き、雄のみで実施されているため、性差に関する検討が不十分であると考ええる。
- 3) 用いた被験物質の臓器特異性（用いた腎毒性物質の腎以外の臓器への影響、用いた非腎毒性物質の腎臓への影響）、及び尿細管あるいは糸球体の部位特異性についての情報は、十分に集積されておらず、腎臓以外の臓器、及び腎臓の特定部位の障害が新規BMに及ぼす影響については明確になっていないと考える。

また、機構は、病理組織学的変化が認められなかった被験動物のデータを解析から除外するexclusion解析と、全検体を対象とするinclusion解析との間で、異なる統計解析結果となった検討項目も認められたことを踏まえると、exclusion解析の信頼性については、今後も継続的に検討する必要があると考える。

(3) 相談事項 3. 新規 BM のさらなる適格性確認について

機構は、新規BM及びその他の有用性が期待される薬剤誘発性腎障害BMのさらなる適格性確認のために、相談者が提示した非臨床での継続的な試験計画については、上記の(2)項で機構が示した今後の課題に関するデータを収集する上で有用であると考ええる。一方で機構は、今回提出された7種類の新規BMの臨床使用に関しては、既存のBMとの併用で、付加的な情報が提供される可能性はあると考えるが、ヒトにおける薬剤誘発性腎障害の検出のためのBMと一般的に広く使用するためには、さらに多くの臨床試験を実施して、広範な検討を行う必要があると考える。したがって、機構は、今後実施する臨床試験では、探索的な位置付けで、7種類の新規BMを既存のBMと併用して用いる等、その有用性等を継続的に評価することが必要であり、今後とも積極的な検討が行われることを期待する。

以上