

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 早期探索的・国際水準臨床研究事業
(英語) Early-phase / Exploratory or International-standard Clinical Research

研究開発課題名： (日本語) ドラッグ・リポジショニングによる軟骨無形成症治療薬の開発研究
(英語) Development of therapeutic drugs for achondroplasia by drug repositioning strategies

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人名古屋大学 大学院医学系研究科 総合医学専攻
運動形態外科学講座 整形外科学 准教授 鬼頭浩史

所属 役職 氏名： (英語) Department of Orthopaedic Surgery, Nagoya University Graduate School of Medicine, Associate Professor, Hiroshi Kitoh

実施期間： 平成26年12月11日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語) 医師主導治験の準備及び治験実施

開発課題名： (英語) Preparation and implementation of investigator-initiated clinical trial

研究開発分担者 (日本語) 整形外科学 教授 石黒直樹

所属 役職 氏名： (英語) Department of Orthopaedic Surgery, Nagoya University Graduate School of Medicine, Professor, Naoki Ishiguro

分担研究 (日本語) 医師主導治験実施に必要な非臨床試験の実施 治験実施の準備及び実施

開発課題名： (英語) Implementation of preclinical studies for investigator-initiated clinical trial, preparation and implementation of investigator-initiated clinical trial

研究開発分担者 (日本語) 整形外科 病院助教 松下雅樹
 所属 役職 氏名 : (英 語) Department of Orthopaedic Surgery, Nagoya Hspital, Assistant Professor, Masaki Matsushita

分担研究 (日本語) 医師主導治験実施に必要な非臨床試験の実施 治験実施の準備及び実施
 開発課題名 : (英 語) Implementation of preclinical studies for investigator-initiated clinical trial, preparation and implementation of investigator-initiated clinical trial

研究開発分担者 (日本語) 整形外科 寄附講座助教 三島健一
 所属 役職 氏名 : (英 語) Department of Orthopaedic Surgery, Nagoya University Graduate School of Medicine, Assistant Professor, Kenichi Mishima

分担研究 (日本語) 医師主導治験の準備及び実施
 開発課題名 : (英 語) Preparation and implementation of investigator-initiated clinical trial

研究開発分担者 (日本語) 整形外科 病院講師 酒井忠博
 所属 役職 氏名 : (英 語) Department of Orthopaedic Surgery, Nagoya University Hospital, Lecturer, Tadahiro Sakai

分担研究 (日本語) 薬効薬理試験の実施および指導
 開発課題名 : (英 語) Implementation and coaching of pharmacological studies

研究開発分担者 (日本語) 神経遺伝情報学 教授 大野欽司
 所属 役職 氏名 : (英 語) Division of Neurogenetics, Center for Neurological Diseases and Cancer, Nagoya University Graduate School of Medicine, Professor, Kinji Ohno

分担研究 (日本語) メクリジンの医師主導治験に必要な非臨床試験 (G L P) 計画を含む治験実施支援全般
 開発課題名 : (英 語) Support of preclinical studies (including GLP) for investigator-initiated clinical trial of meclizine

研究開発分担者 (日本語) 先端医療・臨床研究支援センター 病院教授 水野正明
 所属 役職 氏名 : (英 語) Center for Advanced Medicine and Clinical Research, Nagoya University Hospital, Professor, Masaaki Mizuno

分担研究 (日本語) 治験の症例登録・データマネジメント業務支援
 開発課題名: (英語) Case registration, data management for clinical trial

研究開発分担者 (日本語) 先端医療・臨床研究支援センター 准教授 安藤昌彦
 所属 役職 氏名: (英語) Center for Advanced Medicine and Clinical Research, Nagoya
 University Hospital, Associated Professor, Masahiko Ando

分担研究 (日本語) 治験の統計解析支援
 開発課題名: (英語) Support of statistical analysis for clinical trial

研究開発分担者 (日本語) 先端医療・臨床研究支援センター 講師 平川晃弘
 所属 役職 氏名: (英語) Center for Advanced Medicine and Clinical Research, Nagoya
 University Hospital, Lecturer, Akihiro Hirakawa

分担研究 (日本語) 薬事支援
 開発課題名: (英語) Support of pharmaceutical affairs

研究開発分担者 (日本語) 先端医療・臨床研究支援センター 病院講師 清水忍
 所属 役職 氏名: (英語) Center for Advanced Medicine and Clinical Research, Nagoya
 University Hospital, Lecturer, Shinobu Shimizu

分担研究 (日本語) 治験の症例登録・データマネジメント業務支援
 開発課題名: (英語) Case registration, data management for clinical trial

研究開発分担者 (日本語) 先端医療・臨床研究支援センター 病院助教 鋤塚八千代
 所属 役職 氏名: (英語) Center for Advanced Medicine and Clinical Research, Nagoya
 University Hospital, Assistant Professor, Yachiyo Kuwatsuka

分担研究 (日本語) 非臨床試験・治験実施計画の作成及び支援全般
 開発課題名: (英語) Preparation of protocol for preclinical studies and clinical
 trial

研究開発分担者 (日本語) 先端医療・臨床研究支援センター 特任教授 植田康平
 所属 役職 氏名: (英語) Center for Advanced Medicine and Clinical Research, Nagoya
 University Hospital, Appointed Professor, Kohei Ueda

分担研究 (日本語) 知財管理
 開発課題名: (英語) Management of intellectual property

研究開発分担者 (日本語) 先端医療・臨床研究支援センター 特任教授 川上肇
所属 役職 氏名: (英 語) Center for Advanced Medicine and Clinical Research, Nagoya
University Hospital, Appointed Professor, Hajime Kawakami

分担研究 (日本語) プロジェクトマネジメント 非臨床試験・治験の計画支援
治験実施支援及び進捗管理

開発課題名: (英 語) Project management, planning support for preclinical studies
and clinical trial, progress management

研究開発分担者 (日本語) 先端医療・臨床研究支援センター 薬剤師 中山忍
所属 役職 氏名: (英 語) Center for Advanced Medicine and Clinical Research, Nagoya
University Hospital, Pharmacist, Shinobu Nakayama

II. 成果の概要 (総括研究報告)

・ 研究開発代表者による報告の場合

本研究ではメクリジンのドラッグ・リポジショニングによる軟骨無形成症の低身長に対する根治的治療法の開発を進めている。メクリジンの経口投与による医師主導治験の実施により臨床 POC を取得することを目指す。

軟骨無形成症 (achondroplasia: ACH) は、著しい低身長を特徴とする最も頻度の高い骨系統疾患であり、軟骨細胞における骨伸長の抑制因子である線維芽細胞増殖因子受容体 3 (fibroblast growth factor receptor 3: FGFR3) の恒常的活性型遺伝子変異により発症する先天性難治性希少疾患である。現在、FGFR3 シグナルを抑制する根本的治療法はない。我々は既存薬のスクリーニングにより、一般用医薬品 (OTC 医薬品) の乗り物酔い防止薬の成分であるメクリジンが各種軟骨系細胞において異常に活性化した FGFR3 シグナルを抑制することを見出した。また、二つの胎生期マウス脛骨器官培養系において、メクリジンはいずれの系でも骨伸長作用を示した。メクリジンの内服による ACH の治療は、FGFR3 シグナルの抑制により骨伸長障害を改善する根本的治療法であり、ACH に対する現状治療の注射や手術に比べて低侵襲で、医療費の低減や小児への長期投与におけるコンプライアンスも期待される治療である。本事業による成果の概要を下記に示す。

まず、非臨床試験用のメクリジン原体および治験薬を購入し、薬物濃度測定法バリデーションを確立した。また、血漿中凍結保存試験を実施し、保存可能であることを確認した。さらに、ラットおよびイヌの単回投与 TK 試験、ラットおよびイヌの 1 週間・2 週間反復投与毒性試験を実施した。ラットとイヌで毒性に種差を認めたため、蛋白結合率・肝代謝固有クリアランス・代謝物プロファイリング試験を追加し、ラット

ではヒト、イヌで認められない代謝物（二水酸化体）が存在することを確認した。最後に安全性薬理試験（心血管系、呼吸器系、中枢系）および遺伝毒性試験を実施した。

薬効薬理試験として、成長期の ACH モデルマウスに OTC 医薬品で得られる血漿中濃度の範囲内に相当するメクリジン（メクラジン）を混餌投与し、モデルマウスの骨伸長促進作用を確認した。次いで有効用法、用量を決定するために、ゾンデによる強制経口投与試験を実施した。まず、臨床使用用量に相当する C_{max} および AUC を示すマウスへの投与量を決定し、その範囲内での有効性を検討した。7 週齢のモデルマウスに 1 日 2 回、2mg/kg/day のメクリジンを 10 日間強制経口投与することにより、モデルマウスの骨伸長が促進するだけでなく長管骨や脊椎の骨量も増大した。また骨幹端部の骨質の改善も認め、*in vivo* における FGFR3 抑制作用に関するデータを蓄積した。さらに、組織学的にも成長軟骨における肥大軟骨細胞層の幅の拡大も認め、*in vivo* における FGFR3 抑制作用を確証した。

これらの結果を基に、医薬品医療機器総合機構（PMDA）との薬事戦略個別面談、事前面談を実施し、医師主導治験に向けての計画を検討した。POC 試験実施のためには 2 種類の動物による長期毒性試験が必須であるとの指摘を受けたため、治験計画としては、まずは ACH 患者を対象とした Phase I 試験で薬物動態および安全性を確認する計画を立てた。2016 年度終了時には Phase I 試験の開始に最低限必要な非臨床安全性試験は終了するため、次年度には Phase I 試験を開始し、平行して POC 試験に必要な非臨床安全性試験等を完了して POC 試験の開始に向けての準備を進める予定である。企業との連携に関しては、ノーベルファーマ株式会社と秘密保持契約を締結した。その他、数社ともマッチングを推進しており、民間企業との連携を進めていく予定である。

We are developing a radical therapy for short stature in achondroplasia (ACH) by drug repositioning strategies. From our previous studies, meclizine, a commonly used drug to treat motion sickness, could be a candidate drug. The purpose of this study is to obtain clinical proof-of-concept by investigator initiated clinical trial (Chicken) of oral administration of meclizine for ACH children.

ACH is the most common short-limbed skeletal dysplasia characterized by rhizomelic shortening of the extremities. ACH is caused by activating mutations in the fibroblast growth factor receptor 3 (FGFR3) gene, which is a negative regulator of longitudinal bone growth. No effective treatments for short stature in ACH are currently available. By comprehensive drug screening, we identified that meclizine, an over-the-counter (OTC) drug for motion sickness, ameliorated abnormally activated FGFR3 signaling in various chondrocytic cell lines. Meclizine also promoted longitudinal bone growth of embryonic tibiae in bone explant cultures from ACH mutant mice as well as from wild-type mice mediated by FGF2. Oral drug for the treatment of short stature in ACH children is extremely beneficial from the viewpoint of quality of life (QOL). It is less invasive than the current treatments including growth hormone injection and limb

lengthening surgery, and expected not only to reduce medical expenses but also to improve compliance in long-term administration to children. Followings are results of this project.

We first obtained an original drug for non-clinical studies and an investigational product for Chiken, and established a validation of measurements of drug concentration. We also confirmed that this drug can be stored frozen by plasma cryopreservation studies. We further performed single-dose toxico-kinetic (TK) studies with rats and dogs, and one-week and two-weeks repeated dose toxicity studies with rats and dogs. These data identified the differences in no-observed adverse effect level (NOAEL) between rats and dogs. Drug metabolism studies found rat specific metabolites (bi-hydroxide) that were not in dog and human metabolites. Finally, we completed genotoxicity studies and safety pharmacology studies.

In pharmacology studies, we first demonstrated that meclizine-treated ACH mice were significantly larger than those of untreated ACH mice by ad libitum dietary administration of meclizine within clinical usage. A single dose PK test demonstrated that the plasma concentration of 2mg/kg of meclizine administered to mice was similar to that of 25mg/body tablet used to human for motion sickness. We demonstrated that oral administration of 2mg/kg/day of meclizine twice a day to 7-week-old mice for 10 days significantly accelerated longitudinal bone growth of mutant mice. In addition, not only bone volume of long tubular bones and vertebrae but also metaphyseal bone quality of long bones were improved by meclizine treatment. Histologically, we confirmed widening of the hypertrophic chondrocytes zone in the growth plate. These data indicated inhibitory effects of meclizine on FGFR3 signaling in vivo.

Based on consultation with Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA), we planned the phase I clinical trial, which will be examined pharmacokinetics and safety for ACH children. In parallel, under the advice of a toxic metabolic specialist, we will prove that the toxicity observed in rats is rodent specific. We also accumulate preclinical safety data for the initiation of one-year treatment clinical trial for ACH children (phase II). Regarding cooperation with pharmaceutical companies, we signed a confidentially agreement with Nobelpharma Co. Ltd. We will further promote cooperation with other private companies.

- ・ 研究開発分担者による報告の場合

研究開発代表者： 名古屋大学大学院医学系研究科・整形外科学・鬼頭浩史
総括研究報告を参照。

II. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 2 件、国際誌 3 件）

1. Matsushita M, Hasegawa S, Kitoh H, Mori K, Ohkawara B, Yasoda A, Masuda A, Ishiguro N, Ohno K. Meclozine promotes longitudinal skeletal growth in transgenic mice with achondroplasia carrying a gain-of-function mutation in the FGFR3 gene. *Endocrinology* 2015;156:548-554
2. Matsushita M, Kitoh H, Mishima K, Kadono I, Sugiura H, Hasegawa S, Nishida Y, Ishiguro N. Low bone mineral density in achondroplasia and hypochondroplasia. *Pediatr Int* 2016;58:705-708
3. Matsushita M, Mishima K, Esaki R, Ishiguro N, Ohno K, Kitoh H. Maternal administration of meclozine for the treatment of foramen magnum stenosis in transgenic mice with achondroplasia. *J Neurosurg Pediatr* 2017;19:91-95
4. 鬼頭浩史、松下雅樹. ドラッグ・リポジショニング (DR) による医薬品開発 乗り物酔い薬メクロジンによる低身長治療. 月刊 BIO INDUSTRY 2014;31:23-28
5. 松下雅樹、鬼頭浩史、三島健一、石黒直樹、大野欽司. 乗り物酔い止め薬 meclozine は FGFR3 シグナルを抑制して軟骨無形成症の低身長をレスキューする. 第 32 回小児代謝性骨疾患研究会報告書 2014;32:9-10

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 乗り物酔い止め OTC 薬 meclozine は FGFR3 シグナルを抑制して軟骨無形成症の低身長をレスキューする, 口演, 松下雅樹, 鬼頭浩史, 三島健一, 石黒直樹, 大野欽司, 大阪, 2014/12/6, 国内
2. 骨系統疾患における小児期の諸問題, 口演, 鬼頭浩史, 名古屋, 2015/2/7, 国内
3. Meclozine はオフラベル効能により FGFR3 シグナルを抑制し軟骨無形成症の根本的治療薬となりうる, 口演, 松下雅樹, 鬼頭浩史, 三島健一, 西田佳弘, 石黒直樹, 大野欽司, 東京, 2015/3/6, 国内
4. Meclozine enhances skeletal growth in transgenic achondroplasia mice with a constitutive active FGFR3 mutation, 口演, Masaki Matsushita, Hiroshi Kitoh, Kenichi Mishima, Naoki Ishiguro, Kinji Ohno, Las Vegas, 2015/3/30, 国外
5. Meclozine promotes longitudinal bone growth in transgenic achondroplasia mice with gain-of-function mutation in FGFR3 gene, 口演, Masaki Matsushita, Hiroshi Kitoh, Kenichi Mishima, Naoki Ishiguro, Atlanta, 2015/4-30, 国外
6. 骨系統疾患の診断と治療-わが国の現状と展望-, 口演, 鬼頭浩史, 三島健一, 松下雅樹, 杉浦洋, 長谷川幸, 北村暁子, 石黒直樹, 神戸, 2015/5/22, 国内

7. Meclozine has a potential effect on short stature and foramen magnum stenosis in transgenic mice with achondroplasia, 口演, Masaki Matsushita, Hiroshi Kitoh, Kenichi Mishima, Hiroshi Sugiura, Sachi Hasegawa, Akiko Kitamura, Naoki Ishiguro, Ohno Kinji, Salzburg, 2015/6/29, 国外
8. 小児整形外科疾患の診断と治療, 口演, 鬼頭浩史, 四日市, 2015/8/5, 国内
9. 軟骨無形成症における大後頭孔および脊柱管狭窄に対する meclozine による根本的治療の可能性, 口演, 松下雅樹, 鬼頭浩史, 三島健一, 杉浦洋, 長谷川幸, 北村暁子, 西田佳弘, 石黒直樹, 大野欽司, 富山, 2015/10/22, 国内
10. 軟骨無形成症では骨密度が低下する, 口演, 松下雅樹, 鬼頭浩史, 三島健一, 門野泉, 杉浦洋, 長谷川幸, 北村暁子, 石黒直樹, 岐阜, 2015/12/4, 国内
11. 軟骨無形成症における根本的治療薬の開発, 口演, 松下雅樹, 鬼頭浩史, 三島健一, 杉浦洋, 長谷川幸, 北村暁子, 西田佳宏, 石黒直樹, 大野欽司, 岐阜, 2015/12/5, 国内
12. Treatment strategies for short stature in achondroplasia, 口演, Hiroshi Kitoh, Naoki Ishiguro, Kinji Ohno, Kenichi Mishima, Masaki Matsushita, Nagoya, 2016/1/18, 国内
13. 軟骨無形成症の低身長に対する治療, 口演, 鬼頭浩史, 三島健一, 松下雅樹, 名古屋, 2016/1/23, 国内
14. Meclozine は FGFR3 シグナルを抑制し軟骨無形成症における低身長を改善しうる, 口演, 松下雅樹, 鬼頭浩史, 三島健一, 西田佳弘, 石黒直樹, 大野欽司, 広島, 2016/2/20, 国内
15. 軟骨無形成症児の治療, 口演, 鬼頭浩史, 札幌, 2016/2/27, 国内
16. Radical therapeutic strategy for foramen magnum stenosis and spinal canal stenosis in achondroplasia, 口演, Masaki Matsushita, Hiroshi Kitoh, Kenichi Mishima, Hiroshi Sugiura, Sachi Hasegawa, Akiko Kitamura, Naoki Ishiguro, Kinji Ohno, Orland, 2016/3/7, 国外
17. Treatment strategies for short stature in achondroplasia, 口演, Hiroshi Kitoh, Kenichi Mishima, Masaki Matsushita, Kyoto, 2016/4/5, 国内
18. Clinically attainable concentration of meclozine promotes bone growth in transgenic mice with achondroplasia, 口演, Masaki Matsushita, Hiroshi Kitoh, Kenichi Mishima, Yoshihiro Nishida, Naoki Ishiguro, Kinji Ohno, Hong-Kong, 2016/6/6, 国外
19. 軟骨無形成症の低身長に対する治療, 口演, 鬼頭浩史, 三島健一, 松下雅樹, 大阪, 2016/7/22, 国内
20. Meclozine による軟骨無形成症の根本的治療の可能性と限界, 口演, 松下雅樹, 鬼頭浩史, 三島健一, 杉浦洋, 西田佳弘, 石黒直樹, 大野欽司, 大阪, 2016/7/23, 国内
21. Clinically attainable concentration of meclozine has a potent effect on promoting bone growth in achondroplasia, 口演, Masaki Matsushita, Hiroshi Kitoh, Kenichi Mishima, Naoki Ishiguro, Kinji Ohno, Gold Coast, 2016/8/22, 国外
22. Clinical feasibility of oral administration of meclozine for the treatment of short stature in achondroplasia, 口演, Masaki Matsushita, Hiroshi Kitoh, Kenichi Mishima, Naoki Ishiguro, Kinji Ohno, Atlanta, 2016/9/18, 国外

23. FGFR3-targetted therapy for short stature in achondroplasia, 口演, Hiroshi Kitoh, Masaki Matsushita, Kenichi Mishima, Naoki Ishiguro, Incheon, 2016/10/20, 国外
24. Meclozine は乗り物酔い止め薬としての効能を発揮する用量の連続投与により軟骨無形成症における骨伸長を促進しうる, 口演, 松下雅樹, 鬼頭浩史, 三島健一, 杉浦洋, 西田佳弘, 石黒直樹, 大野欽司, 福岡, 2016/10/13, 国内
25. Treatment strategies for short stature in achondroplasia, 口演, Hiroshi Kitoh, Tokyo, 2016/11/18, 国内
26. 軟骨無形成症に対する根本的治療の開発, 口演, 松下雅樹, 鬼頭浩史, 三島健一, 杉浦洋, 長谷川幸, 北村暁子, 石黒直樹, 仙台, 2016/12/1, 国内
27. 軟骨無形成症の根本的治療法を目指した meclozine の有効投与量の検討, 口演, 松下雅樹, 鬼頭浩史, 三島健一, 杉浦洋, 北村暁子, 西田佳弘, 石黒直樹, 京都, 2017/3/4, 国内
28. 小児整形外科疾患の画像診断, 口演, 鬼頭浩史, 金沢, 2017/3/11, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 軟骨無形成症の治療の現在と未来、松下雅樹、第 32 回つくしんぼ総会、大阪、2016/4/29、国内。

(4) 特許出願

特願 2015-505352

EP14763917.3

AU2014232030