

201436003A

厚生労働科学研究委託費

医療技術実用化研究事業

早期探索的・国際水準臨床研究事業

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

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 鬼頭 浩史

平成27（2015）年 3月

本報告書は、厚生労働省の平成26年度厚生労働科学研究委託事業（医療技術実用化総合研究事業（早期探索的・国際水準臨床研究事業））による委託業務として、国立大学法人名古屋大学が実施した平成26年度「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」の成果を取りまとめたものです。

目 次

I. 委託業務成果報告（総括）

- 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..... 1
鬼頭浩史

II. 委託業務成果報告（業務項目）

1. メクリジン開発における医師主導治験実施の準備..... 7
石黒直樹、水野正明、植田康平、川上肇、中山忍
2. メクリジン血中濃度測定法の確立..... 13
植田康平
3. メクリジン単回投与における毒性試験..... 17
中山忍
4. モデルマウスでの薬効薬理試験..... 21
松下雅樹

III. 学会等発表実績..... 25

IV. 研究成果の刊行物・別刷..... 27

I. 委託業務成果報告（総括）

厚生労働科学研究委託費（早期探索的・国際水準臨床研究事業）
委託業務成果報告（総括）

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

業務主任者 鬼頭浩史 名古屋大学大学院医学系研究科 整形外科学 准教授

研究要旨

軟骨無形成症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、骨伸長の抑制因子であるFGFR3の活性型変異により発症する。我々は既存薬の網羅的薬効スクリーニング法により、メクリジン（一般用医薬品）にFGFR3シグナルを抑制する効果があることを見出し、種々の軟骨系細胞を用いたin vitro研究、モデルマウスを用いたin vivo研究において有効性を証明した。本研究では医師主導治験を実施するために必要な非臨床試験、治験デザイン、および実施の要件を明確にして、軟骨無形成症の低身長に対するメクリジンによる治療の臨床POCを取得することを最終的な目的とする。今年度は①平成26年12月11日にPMDA薬事戦略相談個別面談を実施した。②ラット、イヌおよびヒト血漿中メクリジンの濃度測定法バリデーション試験を実施した。③ラットおよびイヌにおけるメクリジンの1週間反復経口投与予備毒性試験を実施した。④メクリジンの投与液濃度分析バリデーションおよび純度分析バリデーション試験を実施した。また、治験の実施に向けて製薬企業と交渉を行い塩酸メクリジン製剤およびメクリジン原薬を確保した。

業務主任者

鬼頭浩史・名古屋大学大学院医学系研究科 整形外科学・准教授

担当責任者

石黒直樹・名古屋大学大学院医学系研究科 整形外科学・教授

松下雅樹・名古屋大学医学部附属病院 整形外科・病院助教

水野正明・名古屋大学医学部附属病院 先端医療・臨床研究支援センター・教授

植田康平・名古屋大学医学部附属病院

先端医療・臨床研究支援センター・特任教授

川上肇・名古屋大学医学部附属病院 先端医療・臨床研究支援センター・特任教授

中山忍・名古屋大学医学部附属病院 先端医療・臨床研究支援センター・薬剤師

A. 研究目的

軟骨無形成症は最も頻度の高い四肢短縮型小人症を呈する疾患で、骨伸長の抑制因子である FGFR3 の活性型変異に

より発症する。根治的治療への戦略としては、FGFR3 シグナルを抑制することとなるが、現状では複数の低分子化合物の有効性が基礎研究レベルでは実証されているが、非臨床試験での安全性が担保されていない。我々はモデル細胞を用いた薬効スクリーニング法により、塩酸メクリジンに FGFR3 シグナル抑制効果を見出し、複数の軟骨系細胞に FGFR3 活性化型変異を導入した *in vitro* 実験系や、胎生期マウスを用いた器官培養系、成長期のモデルマウスを用いた *in vivo* 実験系においてメクリジンの有効性を証明した。また、マウス実験におけるメクリジンの血漿中濃度は、ヒトにおけるこれまでの使用量における血漿中濃度の範囲内であったことから、メクリジンの治療を開始するための最低限の safety margin を確保できた。本研究では、メクリジンによる軟骨無形成症の低身長に対する根治的治療を開発することを目的として医師主導治験を実施し、臨床 POC を取得することを目指す。平成 26 年 12 月に本委託費を取得し、PMDA の薬事戦略相談を実施ののち、メクリジンの薬理・薬効試験を継続するとともに、年度内に実施可能な GLP レベルでの非臨床試験を外部委託することを年度内目標とする。

B. 研究方法

1. 薬理薬効試験

妊娠 16.5 日よりマウス母体にメクリジンの混餌投与 (0.4g のメクリジンを 1kg の餌に混合) を開始し、生後 5 日目の仔モデルマウスの全身骨を採取し、アリザリンレッドとアルシアンブルーのダブル染色による透明骨格標本を作成する。次いで、頭蓋骨および胸腰椎を摘

出して軟骨結合の骨化を評価し、完全骨化を 2 点、不完全骨化を 1 点とスコア化して軟骨結合の骨化を定量する。

2. 薬物動態試験

妊娠 14.5 日のマウス母体にメクリジンを 3 日間混餌投与し、胎仔を採取して組織中のメクリジン濃度を測定する。

3. ラットにおけるメクリジン 1 週間反復経口投与予備毒性試験

塩酸メクリジンをラット (Cr1:CD(SD), 雌雄各 6 匹/群) に 100、150、300 及び 1000mg/kg の用量で 1 週間反復経口投与し、認められる毒性について確認する。対照群には媒体 (0.1% Tween 80 添加 0.5% カルボキシメチルセルロースナトリウム溶液) を投与する。本試験は株式会社 LSI メディエンスに外注する。

4. イヌにおけるメクリジン 1 週間反復経口投与予備毒性試験

塩酸メクリジンをイヌ (雌雄各 1 匹/群) に 100、150、300 及び 1000mg/kg の用量で 1 週間反復経口投与し、認められる毒性について確認する。対照群には媒体 (0.1% Tween 80 添加 0.5% カルボキシメチルセルロースナトリウム溶液) を投与する。本試験は株式会社 LSI メディエンスに外注する。

5. ラット、イヌ、ヒト血漿中メクリジンの濃度測定法バリデーション試験

ラット、イヌの血漿中メクリジン濃度を測定するための分析法 (LC-MS/MS 法) の妥当性を検証する。また、ヒト血漿中の濃度測定を LC-MS/MS 法で実施するにあたり、測定法の妥当性を検討する。なお、申請資料の信頼性の基準適用での実

施が必要であるため、ラットおよびイヌ血漿における試験は株式会社 LSI メディエンスに、ヒト血漿における試験は株式会社イナリサーチに外注する。

6. メクリジン投与液濃度分析バリデーション試験

メクリジンの投与液濃度分析を HPLC 法で実施するにあたり、測定法の妥当性を検討する。なお、申請資料の信頼性の基準適用での実施が必要であるため、株式会社 LSI メディエンスに外注する。

7. メクリジン純度分析バリデーション試験

メクリジンの純度分析を HPLC 法で実施するにあたり、測定法の妥当性を検討する。なお、申請資料の信頼性の基準適用での実施が必要であるため、株式会社 LSI メディエンスに外注する。

8. メクリジン製剤の確保

医師主導治験実施に向けて連携企業として大正製薬株式会社との交渉を進め、治験薬となり得るメクリジン製剤およびメクリジン原薬の確保のための交渉を行った。

(倫理面への配慮)

名古屋大学で行う実験に関しては、名古屋大学動物実験委員会にて名古屋大学における動物実験等に関する取扱規程（平成 19 年 3 月 12 日規程第 71 号）に基づき、動物実験の実施の適否及び留意点、改善点等に関して審査を行う。

メクリジンの 1 週間反復経口投与と毒性試験に関しては株式会社 LSI メディ

エンスの「動物実験に関する指針」に基づき、動物実験委員会審査及び試験研究センター長の承認を得て実施する。メクリジンの濃度測定法バリデーション試験は「医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに関するガイドライン」を遵守して実施する。

いずれにおいても、「動物の愛護及び管理に関する法律の一部を改正する法律」（平成 17 年法律第 68 号）、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」（平成 18 年 4 月 28 日環境省告示第 88 号）、「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」（平成 18 年 6 月 1 日文科科学省告示第 71 号）、動物実験の適正な実施に向けたガイドライン（日本学術会議 平成 18 年 6 月 1 日作成）等、必要な省令、通知を遵守して実験を実施する。

C. 研究結果

頭蓋底における軟骨結合の骨化スコアは、コントロール群 (n=5) は 5.0 ± 1.0 、メクリジン投与群 (n=3) は 2.7 ± 0.6 であり、メクリジンはモデルマウスにおける大後頭孔周囲の軟骨結合の早期骨化を有意に抑制した ($p < 0.05$)。また、胸腰椎移行部における椎弓軟骨結合の骨化スコアは、コントロール群 (n=5) は 7.0 ± 0.7 、メクリジン投与群 (n=3) は 4.0 ± 2.6 とメクリジンは椎弓軟骨結合の早期骨化を有意に抑制した ($p < 0.05$)。

胎仔の組織中メクリジン濃度 (n=4) は 56.91 ± 20.05 mg/g であり、メクリジンの胎盤移行性を確認した。

ラットにおける反復投与の結果、1000mg/kg 群の雌雄全例、および

300mg/kg 群の雄 4 例、雌 2 例が第 5～8 日に死亡した。100mg/kg、150mg/kg の群における死亡例はなく、これら濃度では一般状態観察試験でも明らかな異常は認めなかった。一方、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査などでは肝肥大、ASAT および ALAT の高値などの異常所見を認めた。

イヌにおける反復投与では、1000mg/kg 群の雌雄でのみ嘔吐が散見された。また、1000mg/kg 群の雄で摂餌量の低下および軽度の体重減少を認めた。その他、1000mg/kg 群の雌雄、300mg/kg 群の雄で総コレステロール値の低下を認めたが、いずれも重篤ではなかった。150mg/kg 群および 100mg/kg 群では異常を認めなかった。

ラットおよびイヌ血漿中メクリジン濃度を測定するための分析法(LC-MS/MS 法)の妥当性を確認した。また、ヒト血漿中メクリジンの濃度測定を LC-MS/MS 法で実施するにあたり、測定法の妥当性を確認した。

メクリジン投与液濃度(メクリジンフリー体濃度)を HPLC 法で測定するにあたり、測定法の妥当性を確認した。

また、メクリジンの純度測定を HPLC 法で実施するにあたり、測定法の妥当性を確認した。

医師主導治験実施において治験薬となり得るメクリジン単味製剤を確保した。また、メクリジン原薬を購入し非臨床試験を実施した。

D. 考察

本研究ではメクリジンの胎盤移行性

を確認し、母体投与により軟骨無形成症でしばしば認められる大後頭孔および脊柱管における軟骨の早期骨化をモデルマウスにて抑制した。このことは、すでに確認しているメクリジンのモデルマウスの長管骨に対する骨伸長効果に加え、新たな有効性を示したことになる。軟骨無形成症では頭蓋底や脊柱において早期より軟骨結合が骨化することが知られており、骨化以前から薬剤の投与を開始する必要がある、今後はメクリジンの投与開始時期の検討が必要と思われる。

メクリジンの 1 週間反復経口投与予備毒性試験に関しては、ラットとイヌでは薬剤感受性が著しく異なっていた。ラットでは 300mg/kg 以上の用量群において死亡が発現し、100mg/kg 以上の用量では肝臓への影響が示唆されたため、より長期の反復投与試験を実施する場合、最高用量には 300mg/kg よりも低用量を設定するのが望ましいと考えられた。一方、イヌでは 1000mg/kg までの用量において重篤な所見を認めなかったことから、より長期間の反復投与毒性試験の高用量として、1000mg/kg を設定することは可能であると思われた。

メクリジン投与液濃度分析バリデーション、ラットおよびイヌにおける血漿メクリジン濃度測定法のバリデーションを確立できたことから、今後の非臨床試験におけるトキシコキネティクス試験、ファーマコキネティクス試験などの実施可能であることを確認し得た。また、ヒト血漿中のメクリジン濃度測定法を確立できたことから、医師主導治験における薬物動態試験や安全性試験などの

ハードルをクリアできることを確証した。メクリジン純度分析バリデーションを確立できたことから、製造承認申請資料に必要な原薬に関する純度測定の実施および測定結果の提出が可能となったことを確認した。

また、塩酸メクリジン単味製剤を購入し、医師主導治験実施に必要な治験薬の準備を進めることが可能となった。

E. 結論

1. 胎生期よりメクリジンを投与することにより、モデルマウスの大後頭孔や脊柱管における軟骨結合の早期骨化を予防し得た。
2. ラット、イヌ、ヒトにおける血漿中メクリジンの濃度測定法バリデーション、メクリジン投与液濃度分析バリデーション、およびメクリジン純度分析バリデーションを確立した。
3. ラットおよびイヌにおけるメクリジン 1 週間反復経口投与予備毒性試験を施行した。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Olney RC, Prickett TCR, Espiner EA, Mackenzie WG, Duker A, Ditro C, Zabel B, Hasegawa T, Kitoh H, Aylsworth AS, Bober MB : C-type natriuretic peptide (CNP) plasma levels are elevated in subjects with achondroplasia,

hypochondroplasia, and thanatophoric dysplasia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Feb; 100(2) :E355-E359.

- 2) 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 Feb;156(2) :548-542.

2. 学会発表

- 1) 松下雅樹、鬼頭浩史、三島健一、西田佳弘、石黒直樹、大野欽司 : 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。第 28 回日本軟骨代謝学会、2015. 3. 6-7 (東京)
- 2) Masaki Matsushita, Hiroshi Kitoh, Kenichi Mishima, Yoshihiro Nishida, Naoki Ishiguro, Kinji Ohno : Meclozine enhances skeletal growth in transgenic achondroplasia mice with a constitutive active FGFR3 mutation. Annual meeting of Orthopaedic Research Society. 2015. Mar. 28-31 (Las Vegas)

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

(ただし、既に本開発治療薬であるメクリジンに関する特許の PCT 出願

を行った)

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Ⅱ. 委託業務成果報告（業務項目）

厚生労働科学研究委託費（早期探索的・国際水準臨床研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

メクリジン開発における医師主導治験実施の準備

業務主任者

鬼頭浩史 名古屋大学大学院医学系研究科 整形外科学 准教授

担当責任者

石黒直樹 名古屋大学大学院医学系研究科 整形外科学 教授

水野正明 名古屋大学医学部附属病院 先端医療・臨床研究支援センター 教授

植田康平 名古屋大学医学部附属病院 先端医療・臨床研究支援センター 特任教授

川上 肇 名古屋大学医学部附属病院 先端医療・臨床研究支援センター 特任教授

中山 忍 名古屋大学医学部附属病院 先端医療・臨床研究支援センター 薬剤師

研究要旨

名古屋大学医学部附属病院におけるドラック・リポジショニングによる軟骨無形成症治療薬の提供を推進するにあたり、軟骨無形成症を対象に、ICH-GCPに基づいた医師主導治験実施のための支援体制を提供するための整備を進めた。

まずは、医師主導治験の実施に必要となる非臨床試験データの収集を行ったが、非常に古くから使用されている一般用医薬品であることから治験の実施に耐え得る非臨床データはなく、海外でも局方品等としての情報のみであるのが現状であった。軟骨無形成症を対象とした医師主導治験を実施するため、非臨床試験データの現状および治験計画案の骨子を基に、医薬品医療機器総合機構（PMDA）と協議を行い、開発方針を決定した。今後、引き続きPMDAと協議しながら、治験の実施に必要な非臨床試験の実施を進めるとともに、質の高い治験成績が得られるよう、治験実施計画書の作成を継続して検討し、適切に医師主導治験が実施できる体制を構築することとする。

A. 研究目的

人を対象にした臨床試験においては、安全性が十分担保された環境で実施する必要がある。その規範となるのが1964年に世界医師会総会で採択されたヘルシンキ宣言であり、この宣言はその後、数回の改訂が加わり、現在に至っている。ここでは、1) 科学的・倫理的に

適正な配慮を記載した臨床試験実施計画書を作成すること、2) 倫理審査委員会で臨床試験計画の科学的・倫理的な適正さが承認されること、3) 被験者に、事前に説明文書を用いて臨床試験計画について十分に説明し、臨床試験への参加について自由意思による同意を文書で得ることが基本原則に掲げられてい

る。この宣言に則り、我が国においては1997年に「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令（平成9年3月27日厚生省令第28号）（ICH-GCP省令）が発行され、国際基準に則った臨床試験の基盤が整備された。

一方、名古屋大学医学部附属病院は2012年度から文部科学省「橋渡し研究加速ネットワークプログラム」及び厚生労働省「臨床研究中核病院整備事業」にそれぞれ採択され、我が国における第一線の臨床研究実施施設を目指し、革新的な医薬品・医療機器の開発を行う事を目標としている。

本研究ではこの流れに沿って、軟骨無形成症における新たな治療薬の提供を推進するにあたり、信頼性の高い臨床試験成績を創出するため、ICH-GCPに基づいた臨床試験の支援体制を提供するための整備を進めた。平成25年度に研究責任者（本委託業務での業務主任者）及び研究分担医師に加え、臨床試験を実施する上で、必要な臨床試験支援スタッフとして、プロジェクトマネージャー、企画立案担当、生物統計家、データマネージャー、薬事担当、知財担当からなるDesign Build-up Team (DBT) を構成した。

B. 研究方法

1. プロジェクトの総合推進

ヘルシンキ宣言、薬事法及びICH-GCPに準拠するために制定された各種関連省令・指針を参照し、支援体制の構築を進めた。

また、医師主導治験実施および承認申請に必要な非臨床試験データの収集を行うとともに、治験実施計画案の骨子を作成し、医師主導治験の実施につい

て、医薬品医療機器総合機構（Pharmaceuticals and Medical Devices Agency : PMDA）と薬事戦略相談を行うこととした。

医師主導治験実施のため、非臨床および臨床試験計画の企画・支援体制を整え、計画を適切に進めることとする。

2. 医師主導治験実施のための検討会議の実施

医師主導治験実施に必要な非臨床試験に関するデータ収集および文献等の情報収集を行う。それらの情報を精査した結果に基づき、非臨床試験実施の計画を決定する。また、治験実施計画書の検討およびPMDA対応の準備などを実施する。

3. 知財管理

本研究の開発治療薬である塩酸メクリジンの特許は既に取得している。当該知財の管理および外国出願などを行うとともに、必要に応じて塩酸メクリジンの知財に関する調査を実施する。

4. 治験用製剤および原薬の確保

医師主導治験の実施および実施に必要な非臨床試験実施のために、治験用製剤および原薬を塩酸メクリジン製造販売企業等より確保する。

（倫理面への配慮）

ICH-GCPに基づいた臨床試験の支援体制を提供するための整備を進める。また、臨床試験計画の作成に際しては、ICH-GCP および、「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」（平成9年3月27日 厚生省令第28号）、非臨床試験計画の作成等に際しては、「動物の愛

護及び管理に関する法律の一部を改正する法律」(平成17年法律第68号)、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」(平成18年4月28日環境省告示第88号)、「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」(平成18年6月1日文部科学省告示第71号)、動物実験の適正な実施に向けたガイドライン(日本学術会議平成18年6月1日作成)および医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令(平成9年3月26日厚生省令第21号)等、必要な省令、指針、通知等に対応するよう配慮している。

また、非臨床試験の受注業者は医薬品GLP適合性評価「A」取得及びAAALAC International完全認証取得施設であることを選定条件とする。

C. 研究結果

1. プロジェクトの総合推進

本研究課題のうち、軟骨無形成症に対するメクリジンの有効性については、現在、モデルマウス等を用いた動物実験にて確認し、最低限の非臨床試験POCは取得したと考えており、引き続き薬効薬理等の試験を行っている。これらの結果を基にメクリジンの軟骨無形成症に対する治療薬としての開発を目指し、ヘルシンキ宣言、薬事法及びICH-GCPに準拠するために制定された各種関連省令・指針を参照し、支援体制を構築した。

また、医師主導治験実施および承認申請に必要な非臨床試験データの収集を行うとともに、治験実施計画書の骨子を作成し、医師主導治験の実施について、平成26年12月11日に医薬品医療機器総合機構(Pharmaceuticals and Medical Devices Agency: PMDA)と薬事

戦略相談個別面談を実施し、臨床使用は長期にされておいるが、現在の治験実施に使用できる非臨床試験データがほとんどないことから、まずはPMDAと協議が可能となる非臨床試験の実施を行い、PMDAと引き続き治験の実施に向けて協議することとなった。

PMDA相談の結果を受けて、医師主導治験実施を支援するために、非臨床および臨床試験計画の企画・支援体制を整え、計画を適切に進めることとした。

2. 医師主導治験実施のための検討会議の実施

医師主導治験の実施に必要な非臨床試験データの収集を行ったが、メクリジンが非常に古くから使用されている一般用医薬品であることから治験の実施に耐え得る非臨床データはなく、海外でも局方品等としての情報のみであるのが現状であり、論文においてはヒトの血漿中濃度測定等に関する情報であった。それらの情報を精査した結果およびPMDA薬事戦略相談の結果に基づき、非臨床試験実施について、「純度分析バリデーション試験」、「メクリジンの投与液濃度分析バリデーション試験」、「ラット・イヌおよびヒト血漿中メクリジンの濃度測定法バリデーション試験」、「ラットおよびイヌにおけるメクリジンの1週間反復経口投与予備毒性試験」の実施計画を決定した。また、治験実施計画書の検討も引き続き行った。

3. 知財管理

本研究に関するメクリジンの特許について外国出願を行った。

4. 治験用製剤および原薬の確保

一般用医薬品として塩酸メクリジン製剤を製造販売している大正製薬株式会社と医師主導治験実施への協力について協議を進め、塩酸メクリジン製剤の購入およびメクリジン原薬の輸入についても協力を得て購入し、治験用製剤および原薬を確保した。

D. 考察

ドラッグ・リポジショニングによる新たな軟骨無形成症治療薬の提供を推進するにあたり、信頼性の高い臨床試験成績を創出するため、ICH-GCP 等に基づいた臨床試験の支援体制を提供するための整備を進めることは、文部科学省・厚生労働省の「臨床研究・治験活性化 5 か年計画 2012」（平成 24 年 3 月 30 日）においても求められている。名古屋大学医学部附属病院は、2012 年度から文部科学省「橋渡し研究加速ネットワークプログラム」及び厚生労働省「臨床研究中核病院整備事業」にそれぞれ採択され、質の高い臨床研究を実施できる体制の整備を、病院長を中心に、先端医療・臨床研究支援センターにおいて、進めている。本研究課題の臨床試験を支援するために、DBT を組織し、非臨床試験計画の企画・実施から治験実施計画案作成・実施までを一連に支援する体制が整備され、医師主導治験の実施を迅速かつ適切に進めることが可能となった。知財管理においても外国出願を行い、治験の実施に必要な調査がある場合は実施する体制を整えている。また、治験の実施に必要な治験用製剤およびメクリジン原薬の確保については、一般用医薬品として塩酸メクリジン製剤を製造販売している大正製薬株式会社と医師主導治験実施への協力について協議を進め、塩

酸メクリジン製剤およびメクリジン原薬の輸入についても協力を得て購入し確保できた。

今回実施した非臨床試験（「純度分析バリデーション試験」、「メクリジンの投与液濃度分析バリデーション試験」、「ラット・イヌおよびヒト血漿中メクリジンの濃度測定法バリデーション試験」、「ラットおよびイヌにおけるメクリジンの 1 週間反復経口投与予備毒性試験」）結果を基に、次年度実施する GLP 適用非臨床試験などについて PMDA と薬事戦略相談で議論しながら、治験実施の必要な最低限の非臨床試験の実施に及び医師主導治験デザインについて決定する予定としている。

また、今後、医師主導治験実施に向けて、実施計画書のほか、説明文書・同意文書（見本）の作成、治験薬概要書の作成、各種標準業務手順書の作成、奨励報告書の作成等を行い、モニタリングや監査の方法を含め、継続して検討し、適切な治験が実施できる体制を構築することを目指す。

E. 結論

今回、ドラッグ・リポジショニングによる新たな軟骨無形成症治療薬の提供を推進するにあたり、信頼性の高い臨床試験成績を創出するため、ICH-GCP に基づいた臨床試験の支援体制を提供するための整備を進め、DBT を組織した。

PMDA との薬事戦略相談においてメクリジンの開発における医師主導治験の実施に向けては多くの非臨床試験の実施が必要であることが判明し、今後も PMDA と協議しながら、開発方針を決定することとし、非臨床試験実施に関しては実施の体制構築も順次進めた。今後、

本研究課題について質の高い臨床試験成績が得られるよう治験実施計画の作成を継続して検討し、適切な治験が実施できる体制を構築する。また、GLP 適用非臨床試験の実施および治験実施計画については、継続して、PMDA と協議しながら開発を進めていくこととする。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

（ただし、既に本開発治療薬であるメクリジンに関する特許の PCT 出願を行った）

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究委託費（早期探索的・国際水準臨床研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

メクリジン血中濃度測定法の確立

業務主任者

鬼頭浩史 名古屋大学大学院医学系研究科 整形外科学 准教授

担当責任者

植田康平 名古屋大学医学部附属病院 先端医療・臨床研究支援センター 特任教授

研究要旨

本研究では、名古屋大学医学部附属病院におけるドラック・リポジショニングによる軟骨無形成症治療薬（塩酸メクリジン）の提供を推進するにあたり、軟骨無形成症を対象に、ICH-GCPに基づいた医師主導治験の実施を目指している。医師主導治験の実施に必要な非臨床試験データの収集を行ったが、塩酸メクリジンは非常に古くから使用されている一般用医薬品であることから治験の実施に耐え得る非臨床データはなく、海外でも局方品等としての情報のみであるため、医師主導治験実施に必要な非臨床試験の実施が必要と判断した。

本年度内に実施可能な分析バリデーション試験を検討し、ラット、イヌおよびヒト血漿中メクリジンの濃度測定法バリデーション試験の実施、メクリジンの投与液濃度分析バリデーション試験および純度分析バリデーション試験を実施し、各々の分析バリデーションを確立した。

A. 研究目的

本研究では、名古屋大学医学部附属病院におけるドラック・リポジショニングによる軟骨無形成症治療薬（塩酸メクリジン）の提供を推進するにあたり、軟骨無形成症を対象に、ICH-GCPに基づいた医師主導治験の実施を目指している。医師主導治験の実施に必要な非臨床試験データの収集を行ったが、塩酸メクリジンは非常に古くから使用されている一般用医薬品であることから治験の実施に耐え得る非臨床データはなく、海外でも局方品等としての情報のみであるため、医師主導治験実施に必要な非臨床

試験の実施が必要と判断した。

本年度内に実施可能な分析バリデーション試験を検討し、ラット、イヌおよびヒト血漿中メクリジンの濃度測定法バリデーション試験の実施、メクリジンの投与液濃度分析バリデーション試験および純度分析バリデーション試験を実施し、各々の分析バリデーションを確立する。

B. 研究方法

1. ラット、イヌ、ヒト血漿中メクリジンの濃度測定法バリデーション試験
ラット、イヌの血漿中メクリジン濃度

を測定するための分析法 (LC-MS/MS 法) の妥当性を検証する。

〔確認項目〕 選択性、直線性、特異性、真度及び精度、キャリアオーバー、日内及び日間再現性、回収率、マトリックス効果、希釈再現性、オートサンプラー内の安定性、血漿中安定性、凍結融解安定性、長期保存安定性、標準溶液及び内標準溶液の安定性

また、ヒト血漿中の濃度測定を LC-MS/MS 法で実施するにあたり、測定法の妥当性を検討する。

〔確認項目〕 選択性、検量線の直線性、特異性、真度及び精度、定量限界、キャリアオーバー、日内及び日間再現性、回収率、マトリックス効果、前処理後安定性、希釈再現性、オートサンプラー内の安定性、血漿中安定性、凍結融解安定性、長期保存安定性、標準溶液及び内標準溶液の安定性、システム適合性

なお、申請資料の信頼性の基準適用での実施が必要であるため、ラットおよびイヌ血漿における試験は株式会社 LSI メディエンスに、ヒト血漿における試験は株式会社イナリサーチに外注する。

2. メクリジン投与液濃度分析バリデーション試験

メクリジンの投与液濃度分析を HPLC 法で実施するにあたり、測定法の妥当性を検討する。

〔確認項目〕 検量線の直線性、測定の再現性、特異性、真度及び精度、オートサンプラー内の安定性、回収率

なお、申請資料の信頼性の基準適用での実施が必要であるため、株式会

社 LSI メディエンスに外注する。

3. メクリジン純度分析バリデーション試験

メクリジンの純度分析を HPLC 法で実施するにあたり、測定法の妥当性を検討する。

〔確認項目〕 直線性、再現性、特異性、定量下限確認、システム適合性

なお、申請資料の信頼性の基準適用での実施が必要であるため、株式会社 LSI メディエンスに外注する。

(倫理面への配慮)

メクリジンの濃度測定法バリデーション試験は「医薬品開発における生体試料中薬物濃度分析法のバリデーションに関するガイドライン」を遵守して実施する。また、本試験結果は今後の医師主導治験の実施に必要な非臨床試験の実施において使用する分析方法になることから、「動物の愛護及び管理に関する法律の一部を改正する法律」(平成 17 年法律第 68 号)、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」(平成 18 年 4 月 28 日環境省告示第 88 号)、「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」(平成 18 年 6 月 1 日文科科学省告示第 71 号)、動物実験の適正な実施に向けたガイドライン(日本学術会議 平成 18 年 6 月 1 日作成)等、必要な省令、通知を遵守して非臨床試験を実験でき、医薬品 GLP 適合性評価「A」取得及び AAALAC International 完全認証取得施設で実施することを選定条件とする。

C. 研究結果

ラットおよびイヌ血漿中メクリジン

濃度を測定するための分析法(LC-MS/MS法)の妥当性を確認した。また、ヒト血漿中メクリジンの濃度測定を LC-MS/MS法で実施するにあたり、測定法の妥当性を確認した。

メクリジン投与液濃度(メクリジンフリー体濃度)を HPLC 法で測定するにあたり、測定法の妥当性を確認した。

また、メクリジンの純度測定を HPLC 法で実施するにあたり、測定法の妥当性を確認した。

D. 考察

メクリジン投与液濃度分析バリデーション、ラットおよびイヌにおける血漿メクリジン濃度測定法のバリデーションを確立できたことから、今後の非臨床試験におけるトキシコキネティクス試験、ファーマコキネティクス試験などの実施可能であることを確認し得た。

ヒト血漿中のメクリジン濃度測定法を確立できたことから、医師主導治験における薬物動態試験や安全性試験などのハードルをクリアできることを確認した。

また、メクリジン純度分析バリデーションを確立できたことから、製造承認申請資料に必要な原薬に関する純度測定の実施および測定結果の提出が可能となったことを確認した。

E. 結論

ラット、イヌ、ヒトにおける血漿中メクリジンの濃度測定法バリデーション、メクリジン投与液濃度分析バリデーション、およびメクリジン純度分析バリデーションを確立した。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究委託費（早期探索的・国際水準臨床研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

メクリジン単回投与における毒性試験

業務主任者

鬼頭浩史 名古屋大学大学院医学系研究科 整形外科学

准教授

担当責任者

中山 忍 名古屋大学医学部附属病院 先端医療・臨床研究支援センター 薬剤師

研究要旨

本研究では、名古屋大学医学部附属病院におけるドラック・リポジショニングによる軟骨無形成症治療薬（塩酸メクリジン）の提供を推進するにあたり、軟骨無形成症を対象に、ICH-GCPに基づいた医師主導治験の実施を目指している。医師主導治験の実施に必要な非臨床試験データの収集を行ったが、塩酸メクリジンは非常に古くから使用されている一般用医薬品であることから治験の実施に耐え得る非臨床データはなく、海外でも局方品等としての情報のみであるため、医師主導治験実施に必要な非臨床試験の実施が必要と判断した。

本年度内に単回投与毒性試験の実施を検討していたが、PMDAとの薬事戦略相談の結果を基に次年度の治験実施に関する協議を行うための毒性試験結果が必要と判断したことから、単回投与毒性の確認も含めてラットおよびイヌにおける塩酸メクリジンの1週間反復経口投与予備毒性試験を実施した。その結果を基に、次年度実施するGLP適用の2週間反復投与毒性試験計画を検討する。

A. 研究目的

本研究では、名古屋大学医学部附属病院におけるドラック・リポジショニングによる軟骨無形成症治療薬（塩酸メクリジン）の提供を推進するにあたり、軟骨無形成症を対象に、ICH-GCPに基づいた医師主導治験の実施を目指している。医師主導治験の実施に必要な非臨床試験データの収集を行ったが、塩酸メクリジンは非常に古くから使用されている一般用医薬品であることから治験の実施に耐え得る非臨床データはなく、海外でも局方品等としての情報のみである

ため、医師主導治験実施に必要な非臨床試験の実施が必要と判断した。

本年度内に単回投与毒性試験の実施を検討していたが、PMDAとの薬事戦略相談の結果を基に次年度の治験実施に関する協議を行うための毒性試験結果が必要と判断したことから、単回投与毒性の確認も含めてラットおよびイヌにおける塩酸メクリジンの1週間反復経口投与予備毒性試験を計画し、実施する。

B. 研究方法

1. ラットにおけるメクリジン 1 週間反