



# マウスの恐怖条件付け試験を用いた エスシタロプラム錠「明治」と レクサプロ<sup>®</sup>錠の抗不安作用の検討

今西泰一郎<sup>1)</sup> / 茂木麻実<sup>1)</sup> / 小林洋之<sup>2)</sup> / 村澤寛泰<sup>2)</sup> / 伊藤貴博<sup>2)</sup> /  
パブラック晶子<sup>2)</sup> / 平岡秀一<sup>1)</sup> / 三浦有紀<sup>1)</sup>

## ● 要約

Meiji Seika ファルマ株式会社が開発したエスシタロプラム錠「明治」(試験製剤)について、先発医薬品でうつ病・うつ状態と社会不安障害を効能又は効果とするレクサプロ<sup>®</sup>錠(持田製薬株式会社、標準製剤)を対照として、マウスを用いて抗不安作用を検討した。抗不安作用は、恐怖条件付け試験におけるすくみ行動を指標に評価した。

実験1日目にマウスに条件付けの電気刺激を与えた。両製剤を磨砕後に懸濁液を調製し、条件付け刺激終了直後から1日1回、7日間、反復経口投与した。両製剤の投与量は、エスシタロプラムとして3または10 mg/kgとした。7日目の投与1時間後に電気刺激を与えない条件下ですくみ行動を測定した。その結果、両製剤はともに用量依存的にすくみ行動を減少させ、抗不安作用が認められた。10 mg/kgでは、両製剤とも有意な効果が観察された。

以上のように、マウスの恐怖条件付け試験において、試験製剤は標準製剤と同様に抗不安作用を示した。

キーワード : エスシタロプラム, SSRI, 恐怖条件付け試験, 後発医薬品, マウス

## はじめに

エスシタロプラムシュウ酸塩は選択的セロトニン再取り込み阻害剤(Selective Serotonin Reuptake Inhibitor, 以下, SSRIと記載する)の一つである。経口投与後、脳内に移行し、セロトニン再取り込みを強力かつ選択的に阻害することにより、シナプス間隙のセロトニン量を高めてセロトニン作動性神経伝達を賦活化する<sup>1)2)</sup>。

Meiji Seika ファルマ株式会社が開発したエスシタロプラム錠「明治」(以下、試験製剤と記載する)は、うつ病・うつ状態と社会不安障害を効能又は効果とするレクサプロ<sup>®</sup>錠(持田製薬株式会社以下、標準製剤と記載する)と有効成分(エスシタロプラムシュウ酸塩)を同量含有する後発医薬品で

ある。

マウスやラットを用いた恐怖条件付け試験は抗不安作用の評価系の一つであり、電気ショックを負荷された動物が再び同じ環境に置かれると、電気ショックが負荷されなくても、過去に電気ショックを受けた環境に対して強いストレスを感じて動けなくなる「すくみ行動」を指標とする<sup>3)4)</sup>。そこで今回、マウスの恐怖条件付け試験を用いて試験製剤と標準製剤の抗不安作用を評価した。

## I. 材料および実験方法

### 1. 使用薬剤と薬剤の調製

試験製剤としてエスシタロプラム錠10 mg「明治」(Meiji Seika ファルマ株式会社)を、標準製剤としてレクサプロ<sup>®</sup>錠10 mg(持田製薬株式会社)

1) Meiji Seika ファルマ株式会社 2) 株式会社日本バイオリサーチセンター

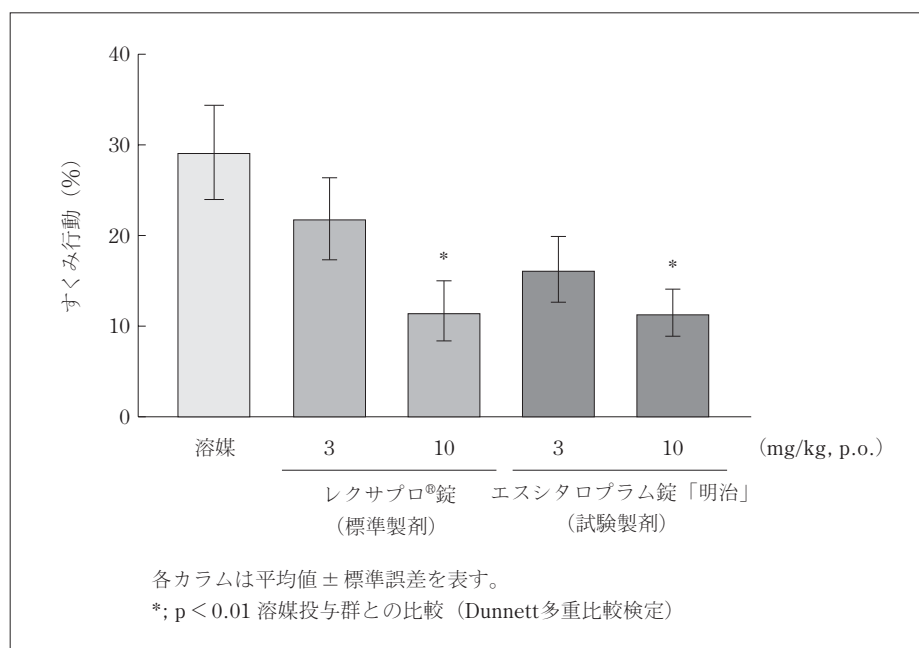


図1 標準製剤および試験製剤のマウス恐怖条件付け試験における効果

を使用した。両製剤は、濃度毎に必要な錠数をメノウ乳鉢に入れてよく磨砕後、0.5%メチルセルロース(以下、溶媒と記載する)で懸濁液を調製した。エシタロプラムとして0.3ならびに1 mg/mLの2濃度の懸濁液を調製した。

## 2. 使用動物

C57BL/6NCrI系雄性マウス(日本チャールス・リバー株式会社)を10週齢で入荷し、床敷(サンフレーク, 日本チャールス・リバー株式会社)を入れたプラスチック製ケージ(W 175 × D 245 × H 125 mm)を用いて1ケージ5匹までの群飼育とした。動物は5日間の検疫期間, その後2日間以上の馴化期間を設け, 実験に用いた。設定温度: 23°C(許容範囲: 20.0 ~ 26.0°C), 設定湿度: 55%(許容範囲: 40.0 ~ 70.0%), 明暗各12時間(照明: 午前6時~午後6時), 換気回数: 12回/時(フィルターを通した新鮮空気)に維持された飼育室で動物を飼育した。固型飼料(CRF-1, オリエンタル酵母工業株式会社)および水道水は自由に摂取させた。

## 3. 試験方法

恐怖条件付け試験は, マウスをフェアードコンディション計測装置(Actimetrics社)の中に入れ, 15秒毎に0.4 mA, 1秒間の電気刺激負荷を4分間行い, 条件付けた。条件付けの日を1日目とし, 7日目にマウスを再びフェアードコンディション計

測装置に入れ, 電気刺激なしの条件で4分間のすくみ行動を測定した。すくみ行動は動物が動いた時のモニター画像のズレにより検出し, 4分間中のすくみ行動発現時間を%として算出した。試験製剤および標準製剤の懸濁液または溶媒は, 1日目の条件付け刺激終了直後から1日1回, 7日間反復経口投与(10 mL/kg)した。なお, 7日目はすくみ行動測定1時間前に投与した。各群の例数は12匹とした。

## 4. 統計学的処理

データは平均値および標準誤差で示した。溶媒に対する試験製剤または標準製剤の有意差検定には, Dunnett多重比較検定を用いた。両製剤の同一用量間の検定には, Studentのt検定を用いた。有意水準は両側5%とした。なお, 有意差検定には, 統計プログラムGraphPad Prism9(GraphPad Software, Inc)を使用した。

## 5. 動物倫理

本試験は, Meiji Seikaファルマ株式会社動物実験管理委員会および株式会社日本バイオリサーチセンター実験動物委員会で審査・承認された方法に従い, 株式会社日本バイオリサーチセンター羽島研究所で実施した。

## II. 結 果

試験製剤および標準製剤の恐怖条件付け試験での成績について図1に示した。溶媒投与群のすくみ

行動は4分間の観察時間中、29.3%であったが、標準製剤の3および10 mg/kgはすくみ行動を21.9および11.7%に用量依存的に減少させ、10 mg/kgでは有意差が認められた(3 mg/kg;  $p=0.484$ , 10 mg/kg;  $p=0.009$ )。一方、試験製剤の3および10 mg/kgもすくみ行動を16.3および11.5%に用量依存的に減少させ、10 mg/kgでは有意差が認められた(3 mg/kg;  $p=0.077$ , 10 mg/kg;  $p=0.008$ )。両製剤の同一用量間比較では有意な差異は認められなかった(3 mg/kg;  $p=0.346$ , 10 mg/kg;  $p=0.959$ )。

### Ⅲ. 考 察

レキサプロ<sup>®</sup>錠は海外ではルンドベック社にて開発され、日本では持田製薬株式会社によって開発された医薬品であり、本邦では2011年にうつ病・うつ状態を効能又は効果として承認され、その後、2015年に社会不安障害の効能又は効果が追加承認されている。Meiji Seika ファルマ株式会社が開発したエシタロプラム錠「明治」は、レキサプロ<sup>®</sup>錠の後発医薬品であり、「後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン」に従い製剤評価(溶出試験およびヒトでの生物学的同性試験)を実施し、先発医薬品と同等であることが認められ<sup>5)</sup>、製造販売承認された医薬品である。

エシタロプラムは国内ではフルボキサミン、パロキセチン、セルトラリンに続くSSRIとして登場した。エシタロプラムは他のSSRIと比べて、①ノルアドレナリンおよびドパミン再取り込み作用と比べたセロトニン再取り込み作用の選択性が最も高く、いずれも1000倍以上乖離していること<sup>1)</sup>、②CYPに対する阻害作用が弱く、薬物間相互作用のリスクが少ないこと<sup>6)</sup>、③開始用量＝有効量であるため漸増が不要であること<sup>7)</sup>などの特徴を有する。また、最近の論文で散見されるネットワーク・メタ解析では、抗うつ薬21種の中で有効性は8番目であり、忍容性は3番目に高い結果であった。Head-to-head比較に絞ると有効性、忍容性とも3番目に高いことが示されている<sup>8)</sup>。日本臨床精神神経薬理学会に所属する専門医114名を対象に2019年に実施されたエキスパート・コンセンサスのアンケートでは、不安の症状が前景にあるうつ病の最善の治療薬としてエシタロプラムを選択した専門医が最も

多かった<sup>9)</sup>。エシタロプラムの不安症状に対する有効性には、上述のセロトニン再取り込み作用の選択性の高さが寄与している可能性が示唆される。

エシタロプラムが効能又は効果とする社会不安障害の動物モデルとして確立されたものはないが、不安障害モデルにおけるエシタロプラムの抗不安作用として、ラットの電撃誘発による超音域発声抑制と恐怖条件付けモデルにおける探索行動距離の延長、隔離飼育マウスの攻撃行動の抑制が報告されている<sup>10)</sup>。また、エシタロプラムの抗うつ作用については、マウスを用いた強制水泳モデルにおける無動時間の短縮<sup>11)</sup>、ラットを用いた慢性緩和ストレスモデルにおけるショ糖溶液摂取量減少の改善<sup>11)12)</sup>と、社会的ストレスモデルにおいては居住ラットの侵入ラットに対する攻撃行動の減少<sup>7)</sup>が報告されている。一方で、これらの報告ではいずれの試験においても皮下または腹腔内投与で評価されており、臨床適応経路である経口投与での評価は見当たらない。そこで本稿では、マウスの不安モデルとして汎用される恐怖条件付けモデル試験におけるすくみ行動を指標として、エシタロプラム錠「明治」と先発医薬品であるレキサプロ<sup>®</sup>錠の抗不安作用について、経口投与により比較した。

恐怖条件付け試験は、一度電気ショックを負荷された動物が再び同じ環境に置かれた時、電気ショックが負荷されなくても、過去に電気ショックを受けた環境に対して強いストレスを感じ動けなくなる行動を観察することが多い<sup>3)4)</sup>。上記に記述したエシタロプラムの既報では探索行動距離を測定しているが、今回はすくみ行動を指標として検討した。ラットやマウスを用いた恐怖条件付け試験において、ベンゾジアゼピン系抗不安薬や5-HT<sub>1A</sub>作動薬のブスピロンがすくみ行動を短縮することが報告されており、シタロプラム、フルボキサミンなどのSSRIに対しても抗不安作用の検出に優れた動物モデルである<sup>13)~15)</sup>。以上のことから、恐怖条件付け試験は不安障害を効能又は効果とするセロトニン系の薬剤が有効性を示す不安障害モデルとしての有用性が示唆されている。

今回の評価により、標準製剤、試験製剤とも用量依存的にすくみ行動を減少させ、3 mg/kgではすくみ行動に有意な影響を示さなかったが、10 mg/kgの投与では両製剤ともすくみ行動を有意に減少させ

た。両製剤の同一用量間で有意な差は認められなかった。以上の結果より、試験製剤はマウスを用いた恐怖条件付け試験において標準製剤と同様の抗不安作用を示すことが明らかになった。

ヒトにエスシタロプラムの臨床有効投与量である10 mgを反復経口投与した時、CYP2C19の遺伝子型がEM (extensive metabolizer) の被験者における血中濃度Cmaxは26.8 ng/mLであることが示されている<sup>7)</sup>。一方、ラットを用いた結果ではあるが、エスシタロプラムの10 mg/kgを反復経口投与した時のCmaxは20 ng/mLであった<sup>10)</sup>。ヒトでの10 mgとラットでの10 mg/kgではほぼ同程度のCmaxが得られることから、今回、マウスにエスシタロプラムの10 mg/kgを反復経口投与した場合にもヒトに臨床有効投与量を投与した時と同程度のCmaxに到達し、その結果、抗不安作用が示された可能性が考えられる。今回の試験では、有効成分であるエスシタロプラムだけでなく、両製剤ともに添加剤も含む製剤を粉碎・懸濁して評価を実施したが、両製剤に明らかな差異はなく、同じ投与量で抗不安作用が発揮された。

以上、エスシタロプラム錠「明治」の抗不安作用について、先発医薬品であるレクサプロ®錠を比較対照として、マウスの恐怖条件付け試験により検討した。その結果、エスシタロプラム錠「明治」はレクサプロ®錠と同様に抗不安作用を示すことが確認できた。

### 利益相反

本試験は、Meiji Seika ファルマ株式会社が起案し、試験計画書作成、試験実施と統計解析を株式会社日本バイオリサーチセンターで委託実施した。なお、今西泰一郎、茂木麻実、平岡秀一、三浦有紀はMeiji Seika ファルマ株式会社の社員であり、小林洋之、村澤寛泰、伊藤貴博、パブラック晶子は株式会社日本バイオリサーチセンターの社員である。

### 文献

- 1) Owens MJ, Knight DL, Nemeroff CB. Second-generation SSRIs: human monoamine transporter binding profile of escitalopram and R-fluoxetine. *Biol Psychiatry*. **50**: 345-50, 2001
- 2) Ceglia I, Acconcia S, Fracasso C, et al. Effects of chronic treatment with escitalopram or citalopram on extracellular 5-HT in the prefrontal cortex of rats: role

- of 5-HT1A receptors. *Br J Pharmacol*. **142**: 469-78, 2004
- 3) Fanselow MS, Helmstetter FJ. Conditional analgesia, defensive freezing, and benzodiazepines. *Behav Neurosci* **102**: 233-43, 1988
- 4) 斎藤顕宜, 山口和正, 村澤寛泰, 他. 動物モデルによる抗うつ薬の創薬: 「恐怖条件付けストレスモデル」および「嗅球摘出モデル」を用いた抗うつ薬創薬のアプローチ. *日本神経精神薬理学雑誌* **23**: 75-82, 2003
- 5) Meiji Seika ファルマ株式会社. 社内資料, 2022
- 6) Spina E, Santoro V, D'Arrigo C. Clinically relevant pharmacokinetic drug interactions with second-generation antidepressants: an update. *Clin Ther*. **30**: 1206-27, 2008
- 7) 持田製薬株式会社. レクサプロ®錠 医薬品インタビューフォーム 2021年1月改訂 (第11版)
- 8) Cipriani A, Furukawa TA, Salanti G, et al. Comparative efficacy and acceptability of 21 antidepressant drugs for the acute treatment of adults with major depressive disorder: a systematic review and network meta-analysis. *Lancet*. **391**: 1357-66, 2018
- 9) Sakurai H, Uchida H, Kato M, et al. Pharmacological management of depression: Japanese expert consensus. *J Affect Disord*. **266**: 626-32, 2020
- 10) 持田製薬株式会社. レクサプロ®錠の医薬品製造承認申請資料
- 11) Sánchez C, Bergqvist PB, Brennum LT, et al. Escitalopram, the S-(+)-enantiomer of citalopram, is a selective serotonin reuptake inhibitor with potent effects in animal models predictive of antidepressant and anxiolytic activities. *Psychopharmacology (Berl)* **167**: 353-62, 2003
- 12) Montgomery SA, Loft H, Sánchez C, et al. Escitalopram (S-enantiomer of citalopram): clinical efficacy and onset of action predicted from a rat model. *Pharmacol Toxicol*. **88**: 282-6, 2001
- 13) Inoue T, Tsuchiya K, Koyama T. Serotonergic activation reduces defensive freezing in the conditioned fear paradigm. *Pharmacol Biochem Behav* **53**: 825-31, 1996
- 14) Li XB, Inoue T, Hashimoto S, et al. Effect of chronic administration of flesinoxan and fluvoxamine on freezing behavior induced by conditioned fear. *Eur J Pharmacol* **425**: 43-50, 2001
- 15) Kakui N, Yokoyama F, Yamauchi M, et al. Anxiolytic-like profile of mirtazapine in rat conditioned fear stress model: Functional significance of 5-hydroxytryptamine 1A receptor and alpha1-adrenergic receptor. *Pharmacol Biochem Behav* **92**: 393-8, 2009