目次

略号一覧 2
2.6.1 緒言 3
2.6.1.1 名称及び化学構造式 3
2.6.1.2 薬理作用 3
2.6.1.3 予定する効能または効果 3
2.6.1.4 予定する用法及び用量 4

略号一覧

略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
SERT	serotonin transporter	セロトニントランスポーター
$5\text{-}HT_x$	serotonin receptor subtupe x	セロトニン受容体サブタイプ X
MDD	major depressive disorder	大うつ病性障害

2.6.1 緒言

2.6.1.1 名称及び化学構造式

Lu AA21004 の名称及び化学構造式は以下のとおりである。

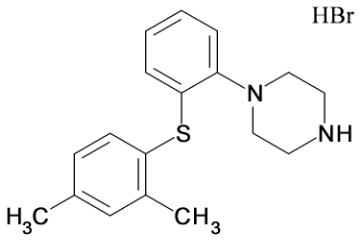
一般名：ボルチオキセチン臭化水素酸塩

化学名：1-[2-(2,4-ジメチルフェニルスルファニル)フェニル]ピペラジン 一臭化水素酸塩

分子式：$C_{18}H_{22}N_2S$・HBr

分子量：379.36

構造式：



2.6.1.2 薬理作用

Lu AA21004 は武田薬品工業株式会社と H. Lundbeck A/S 社によって共同開発されている化合物であり、現在承認されている抗うつ薬とは異なる構造と特有の薬理学的特性を有するビス-アリル-スルファニル誘導体と呼ばれる新しい化学的分類に属する。また、Lu AA21004 は、in vitro 薬理学的プロファイルとして、セロトニン再取り込み阻害・セロトニン受容体調節作用を有する薬剤であり、5-HT_3、5-HT_7 及び 5-HT_{1D} 受容体のアンタゴニスト、5-HT_{1B} 受容体の部分的アゴニスト、5-HT_{1A} 受容体のアゴニスト、セロトニントランスポーター（SERT）の阻害作用により、優れた有効性と、選択的セロトニン再取り込み阻害薬（SSRI）、セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬 (SNRI)、及びノルアドレナリン作動性・特異的セロトニン作動性抗うつ薬 (NaSSA) とは異なる安全性のプロファイルを示す。

in vitro 薬理学的プロファイルに一致して、Lu AA21004 は、抗うつ、抗不安、鎮痛作用の非臨床予測モデル、並びに認知機能（例えば、記憶や学習）の増強作用の予測モデルにおいて、その作用を示した。Lu AA21004 の臨床試験の結果、大うつ病性障害（MDD）の患者に対して、有効性と良好な忍容性が示された。Lu AA21004 の薬理学的試験、薬物動態試験、毒性試験を実施した。経口投与後、Lu AA21004 は急速に広範囲に吸収される。ラット及びイヌは、Lu AA21004 のヒトでの安全性を裏付けるための毒性評価に適した動物種であり、Lu AA21004 の毒性評価は、推定臨床治療暴露量を超える全身暴露量が達成可能な高用量の経口投与により実施した。

2.6.1.3 予定する効能または効果

うつ病・うつ状態

2.6.1.4 予定する用法及び用量

通常、成人にはボルチオキセチンとして 10 mg を 1 日 1 回経口投与する。なお、患者の状態により 1 日 20 mg を超えない範囲で適宜増減するが、増量は 1 週間以上の間隔をあけて行うこと。

目次

略号一覧表 4
2.6.2 薬理試験の概要文 9
2.6.2.1 まとめ 9
2.6.2.2 効力を裏付ける試験 13
2.6.2.2.1 *in vitro* 試験 14
2.6.2.2.2 *in vivo* 試験 18
2.6.2.3 副次的薬理試験 38
2.6.2.3.1 *in vitro* 試験 38
2.6.2.3.2 *in vivo* 試験 39
2.6.2.4 安全性薬理試験 46
2.6.2.4.1 中枢神経系 46
2.6.2.4.2 心血管系 47
2.6.2.4.3 呼吸系 52
2.6.2.4.4 腎・泌尿器系 53
2.6.2.4.5 胃腸管系 54
2.6.2.5 薬力学的薬物相互作用試験 55
2.6.2.6 総括及び結論 55
2.6.2.6.1 効力を裏付ける試験 55
2.6.2.6.2 副次的薬理試験 58
2.6.2.6.3 安全性薬理試験及びその他の試験 59
2.6.2.7 参考文献 65

表

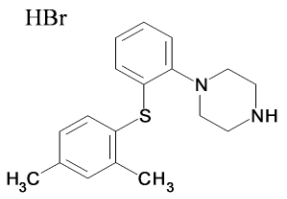
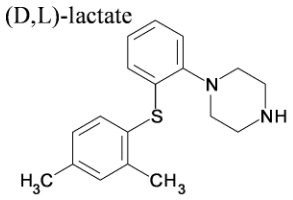
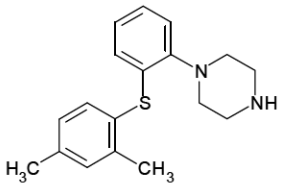
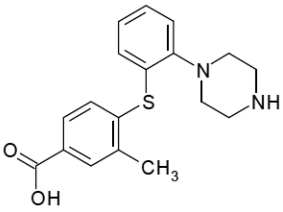
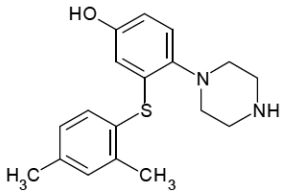
表 2.6.2.2-1 ヒト又はラット 5-HT_3、5-HT_7、5-HT_{1D}、5-HT_{1B}、5-HT_{1A} 受容体及び SERT を発現させた組換え細胞株／大脳皮質組織における Lu AA21004 の *in vitro* 特性 15
表 2.6.2.2-2 ラット脳内における Lu AA21004 の *ex vivo* 及び *in vivo* 占有率データの概要 21
表 2.6.2.2-3 Lu AA21004 の *in vivo* 作用機序試験の概要 34
表 2.6.2.2-4 抗うつ作用の予測モデルに対する行動試験 38
表 2.6.2.6-1 PR 間隔に関する所見 61
表 2.6.2.6-2 血圧 – 関連所見 62
表 2.6.2.6-3 *in vitro* 安全性薬理試験での Lu AA21004 曝露量 64
表 2.6.2.6-4 *in vivo* 安全性薬理試験の投与量における Lu AA21004 曝露量 64

図

図 2.6.2.1-1　セロトニン再取り込み阻害・セロトニン受容体調節作用を有する抗うつ薬 Lu AA21004 の作用機序（MOA）の概念図 10
図 2.6.2.1-2　5-HT_3 受容体アンタゴニストによる前頭前皮質のグルタミン酸作動性神経の神経活動増強作用 11
図 2.6.2.1-3　5-HT_{1A} 受容体アゴニストによる前頭前皮質の GABA 作動性神経の神経活動抑制作用とグルタミン酸作動性神経の神経活動増強作用 11
図 2.6.2.1-4　低濃度の 5-HT_{1A} 受容体アゴニストによる前頭前皮質の細胞外 DA 濃度の増加作用 12
図 2.6.2.1-5　ラット脳波測定における Lu AA21004 投与の覚醒レベルに対する影響 13
図 2.6.2.2-1　ラット脳内における *ex vivo* SERT 占有率 20
図 2.6.2.2-2　Lu AA21004 又は溶媒（Veh）投与のラット mPFC での 5-HT、NE、DA の細胞外濃度への影響 23
図 2.6.2.2-3　Lu AA21004 又は Veh 投与に対するラット VHip での 5-HT、NE、DA の細胞外濃度への影響 24
図 2.6.2.2-4　Lu AA21004 のラット mPFC での ACh 濃度への影響 25
図 2.6.2.2-5　Lu AA21004 のラット VHip での ACh 濃度への影響 25
図 2.6.2.2-6　溶媒又は Lu AA21004 投与の mPFC での細胞外 HA 濃度への影響 26
図 2.6.2.2-7　Lu AA21004 の 3 日間投与によるラット VHip での細胞外 5-HT 濃度及び SERT 占有率への影響 27
図 2.6.2.2-8　Lu AA21004、エスシタロプラム、溶媒 3 日間投与によるラット mPFC 及び VHip における細胞外 5-HT 濃度への影響 28
図 2.6.2.2-9　Lu AA21004、エスシタロプラム、溶媒 3 日間投与によるラット mPFC 及び VHip における細胞外 NE 濃度への影響 28
図 2.6.2.2-10　Lu AA21004、エスシタロプラム、溶媒 3 日間投与によるラット mPFC 及び VHip における細胞外 DA 濃度への影響 29
図 2.6.2.2-11　Lu AA21004 及びフルオキセチン急性投与のラット DRN における 5-HT ニューロンの発火活動の抑制作用とラットの脳スライス標本を用いて *ex vivo* 放射性リガンド結合試験で測定した SERT 占有率との対比 30
図 2.6.2.2-12　Lu AA21004 及びフルオキセチン慢性投与のラット DRN の 5-HT ニューロン発火活動に対する影響 31
図 2.6.2.2-13　対照ラット及び Lu AA21004 を 3 日間投与したラットにおける、フレシノキサン投与の 5-HT ニューロンの発火活動への影響 32
図 2.6.2.2-14　Lu AA21004 を単独で急性投与した場合と Lu AA21004 投与前に 5-HT_3 受容体アゴニスト SR57227 を投与した場合の DRN における 5-HT ニューロンの発火に対する影響の比較 33
図 2.6.2.3-1　ラット文脈的恐怖条件付け試験での Lu AA21004 の影響 41
図 2.6.2.3-2　ラット NOR での Lu AA21004 の影響 42
図 2.6.2.3-3　PCPA 誘発性認知機能障害ラットでの Lu AA21004 急性投与の影響 44

図 2.6.2.3-4　PCPA 誘発性認知機能障害ラットでのエスシタロプラム、デュロキセチン、
Lu AA21004 急性投与の影響 44
図 2.6.2.6-1　ラットでの Lu AA21004 各投与量における脳内標的占有率 56

略号一覧表

略号	一般名（略称）	化学名	化学構造式	由来
Lu AA21004-HBr	ボルチオキセチン臭化水素酸塩	1-[2-(2,4-Dimethylphenylsulfanyl)phenyl]piperazine monohydrobromide		原薬
Lu AA21004-(D,L)-lactate	ボルチオキセチン乳酸塩	1-[2-(2,4-Dimethylphenylsulfanyl)phenyl]piperazine (D,L)-lactate		原薬
Lu AA21004	ボルチオキセチン	1-[2-(2,4-Dimethylphenylsulfanyl)phenyl]piperazine		フリー体
Lu AA34443	—			代謝物
Lu AA39835	—			代謝物

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
5-HT	serotonin	セロトニン
5-HTP	5-hydroxytryptophan	5-ヒドロキシトリプトファン
5-HTx	serotonin receptor subtype x	セロトニン受容体サブタイプ X
8-OH-DPAT	(±)-8-Hydroxy-2-dipropylaminotetralin	-
α-BGTX	alpha-bungarotoxin	α-ブンガロトキシン
ACh	acetylcholine	アセチルコリン
aCSF	artificial cerebrospinal fluid	人工脳脊髄液
ADME	absorption, distribution, metabolism, and excretion	吸収・分布・代謝・排泄
A/G	albumin to globulin ratio	アルブミン/グロブリン比
AGP	α_1-acid glycoprotein	α_1酸性糖たん白質
ALP	alkaline phosphatase	アルカリホスファターゼ
ALT	alanine aminotransferase	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	aspartate aminotransferase	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
ANCOVA	analysis of covariance	共分散分析
ANOVA	analysis of variance	分散分析
aVF, aVL, aVR	augmented unipolar ECG lead	増大単極 ECG 誘導
AUC	area under the curve	血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC(0-inf)	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to infinity	0 時間から無限大時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
AUC(0-t)	area under the plasma concentration-time curve from time 0 to time t (hr)	0 時間から t 時間までの血漿中濃度－時間曲線下面積
BA	bioavailability	バイオアベイラビリティー
BAY	Bay-X-3702	-
BID	twice daily	1 日 2 回
BP	blood pressure	血圧
BrdU	5-bromo-2-deoxyuridine	5-ブロモ-2-デオキシウリジン
cAMP	cyclic adenosine monophosphate	環状アデノシン一リン酸
Caco-2	Human colon carcinoma	ヒト大腸がん由来細胞
Cdyn	dynamic lung compliance	動肺コンプライアンス
CHO	Chinese hamster ovary	チャイニーズハムスター卵巣
cIC_{50}	$cIC_{50}=IC_{50}/(1+S/Km)$, where S is the radio-substrate concentration and Km is the Michaelis-Menten rate constant for radio-substrate to the transporter	$cIC_{50}=IC_{50}/(1+S/Km)$：S は放射性基質濃度、Km はトランスポーターに対する放射性基質の Michaelis-Menten 定数
CLp	plasma clearance	血漿クリアランス
Cmax	maximum observed plasma concentration	最高血漿中濃度
CNS	central nervous system	中枢神経系
CV5RL	precordial chest ECG lead	胸部 ECG 誘導
CYP	cytochrome P-450	チトクローム P450
DA	dopamine	ドパミン
DAT	dopamine transporter	ドパミントランスポーター
dLVP/dt	rate of change in left ventricular pressure	左心室内圧の変化率
DMSO	dimethyl sulfoxide	ジメチルスルホキシド
DRN	dorsal raphe nucleus	背側縫線核
EC_{50}	50% effective concentration	50%有効濃度
ECAC	Executive Carcinogenicity Assessment Committee	がん原性評価委員会
ECG	electrocardiogram; electrocardiographic	心電図；心電図の
ED_{50}	median effective dose	50%有効量
EMEA	European Medicines Agency	欧州医薬品審査庁
FDA	US Food and Drug Administration	米国食品医薬品局
FLIPR	fluorometric imaging plate reader	蛍光測定画像解析用プレートリーダー
GABA	gamma-aminobutyric acid	γ-アミノ酪酸

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
GD	Gestation Day	妊娠日齢
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準
GTPγS	guanosine 5'-O-[gamma-thio]triphosphate	グアノシン 5'-O-[γ-チオ]三リン酸
hSERT	human serotonin transporter	ヒトセロトニントランスポーター
h5-HTx	human 5-HT receptor subtype x	ヒトセロトニン受容体サブタイプ X
HA	histamine	ヒスタミン
h β x	human beta-adrenergic receptor, subtype x	ヒト β-アドレナリン受容体、サブタイプ X
HBr	hydrobromide	臭化水素酸塩
hδ	human delta opioid	ヒトデルタ-オピオイド
HED	human equivalent dose	ヒト相当用量
HEK-293	human embryonic kidney - 293 variation	ヒト胎児由来腎臓細胞-293 変異株
HeLa	cell type in an immortal cell line derived from cervical cancer cells taken from human	ヒト子宮頚がん由来細胞株
hERG	human ether-à-go-go-related gene	ヒト遅延整流カリウムイオンチャンネル遺伝子
HLM	human liver microsomes	ヒト肝ミクロソーム
hμ	human μ opioid	ヒトミュー-オピオイド
hNAT	human noradrenaline transporter	ヒトノルアドレナリントランスポーター
HPLC	high performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
HP-β-CD	hydroxypropyl-beta-cyclodextrin	ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン
Hgb	hemoglobin	ヘモグロビン
HR	heart rate	心拍数
HSA	human serum albumin	ヒト血清アルブミン
IA	intrinsic activity	内因活性
IC_{50}	50% inhibitory concentration	50%阻害濃度
ICH	International Conference on Harmonisation	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IKr	rapid activating delayed rectifier potassium current	急速活性型遅延整流カリウム電流
IP	intraperitoneal(ly)	腹腔内
IV	intravenous(ly)	静脈内
Kb	binding constant	結合定数
Ki	inhibitory constant	阻害定数
LC	locus coeruleus	青斑核
LC/MS/MS	liquid chromatography/tandem mass spectrometry	液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析
LD	lactation day	哺育日数
Lead I, II, III	bipolar ECG leads	双極 ECG 誘導
LLNA	local lymph node assay	局所リンパ節試験
LLOQ	lower limit of quantification	定量下限
LSC	liquid scintillation counting	液体シンチレーションカウンター
LSD	least significant difference	最小有意差
Lu AA21004	test article	被験物質
Lu AA25790	sulfoxide metabolite (M4(a))	スルホキシド体代謝物（M4(a)）
Lu AA34443	carboxylic acid metabolite	カルボン酸体代謝物
Lu AA34994	hydroxy intermediate (of Lu AA34443)	（Lu AA34443 の）ヒドロキシ中間体
Lu AA39835	hydroxy metabolite (M8)	ヒドロキシ体代謝物（M8）
Lu AE22404	N-hydroxy intermediate (for M11 and M12)	（M11 及び M12 の）N-ヒドロキシ中間体
LVP	left ventricular pressure	左心室内圧
M3	glucuronide of Lu AA39835	Lu AA39835 のグルクロン酸抱合体
M4(a)	sulfoxide metabolite (Lu AA25790)	スルホキシド体代謝物（Lu AA25790）
M4(b)	acyl glucuronide of Lu AA34443	Lu AA34443 のアシルグルクロン酸抱合体
M8	hydroxy metabolite (Lu AA39835)	ヒドロキシ体代謝物（Lu AA39835）
M11	glucuronide of Lu AE22404	Lu AE22404 のグルクロン酸抱合体

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
M12	glucuronide of Lu AE22404	Lu AE22404 のグルクロン酸抱合体
MABP	mean arterial blood pressure	平均動脈血圧
MDCK	Madin-Darby Canine Kidney	Madin-Darby Canine Kidney 細胞
MDD	major depressive disorder	大うつ病性障害
MDR1	Multidrugresistance 1	多剤耐性たん白質
MED	minimally effective dose	最小有効量
MIST	metabolites in safety testing	代謝物の安全性試験
MOA	mechanism of action	作用機序
mPFC	medial prefrontal cortex	内側前頭前皮質
mRNA	messenger ribonucleic acid	伝令リボ核酸
MS	mass spectrometry	質量分析
MS/MS	tandem mass spectrometry	タンデム質量分析
MTD	maximum tolerated dose	最大耐量
NAS	nucleus accumbens	側坐核
NAT	noradrenaline transporter	ノルアドレナリントランスポーター
NDA	New Drug Application	新薬承認申請
NE	norepinephrine	ノルエピネフリン
NOAEL	no-observed-adverse-effect level	無毒性量
NOEL	no-observed-effect level	無作用量
NOR	novel object recognition test	新奇物体認識試験
OB	olfactory bulbectomized	嗅球摘出
Papp	Permeation coefficient	透過係数
P peak/wave	ECG peak/wave in the PR interval	心電図 P 波
pCO_2	partial carbon dioxide pressure	二酸化炭素分圧
PCPA	4-chloro-DL-phenylalanine methyl ester hydrochloride	4-クロロ-DL-フェニルアラニンメチルエステル塩酸塩
Penh	enhanced pause, an index of airway constriction	エンハンスドポウズ、気道収縮の指標
P-gp	P-glycoprotein	P-糖たん白質
PK	Pharmacokinetic(s)	薬物動態（学）
PO	oral(ly)	経口
pO_2	partial oxygen pressure	酸素分圧
PQ interval	ECG interval representing conduction time through the cardiac atrium, atrioventricular node and the bundle of His	心電図 PQ 間隔：興奮が心房、房室結節及びヒス束を伝わる伝導時間を表す心電図間隔
PR interval	ECG interval representing conduction time through the cardiac atrium, atrioventricular node, the bundle of His and Purkinje fiber	心電図 PR 間隔：興奮が心房、房室結節、ヒス束及びプルキンエ線維を伝わる伝導時間を表す心電図間隔
Pyr	Pyramidal neuron	錐体神経細胞
QRS axis	sum of vectors during cardiac depolarization	心電図 QRS 軸：心室脱分極期のベクトルの合計
QRS interval	ECG interval representing conduction time for ventricular depolarization	心電図 QRS 間隔：心室脱分極の伝導時間を表す心電図間隔
QT interval	ECG interval representing the conduction time for ventricular de- and re-polarization	心電図 QT 間隔：心室脱分極から再分極までの伝導時間を表す心電図間隔
QTc	QT interval corrected for HR	心拍数で補正した心電図 QT 間隔
QTcV	QT interval corrected for HR by the use of Van de Water’s correction formula.	Van de Water の補正式を用いて、心拍数で補正した QT 間隔
R peak/wave	ECG peak/wave in the QRS complex	心電図 R 波：QRS 複合体のピーク／波
r5-HTx	rat 5-HT receptor subtype x	ラットのセロトニン受容体サブタイプ X
R_L	airway resistance	気道抵抗
rNa+	rat sodium ion	ラットのナトリウムイオン
RR interval	ECG interval representing the time between two successive ECG complexes	心電図 RR 間隔：2 つの連続した心電図波形間の時間を表す心電図間隔
SA	spontaneous alternation test	自発的交替行動試験

略号一覧表（続き）

略号	略していない表現（英語）	略していない表現（日本語）
SAL	saline	生理食塩水
SC	subcutaneous(ly)	皮下
SCN5A	cardiac sodium channel	心筋に発現するナトリウムチャネル
SERT	serotonin transporter	セロトニントランスポーター
SNRI	serotonin-norepinephrine reuptake inhibitor	セロトニン-ノルエピネフリン再取り込み阻害薬
SSRI	selective serotonin reuptake inhibitor	選択的セロトニン再取り込み阻害薬
t1/2	elimination half-life	消失半減期
TK	toxicokinetics	トキシコキネティクス
T wave	ECG wave representing cardiac ventricular repolarization	心電図 T 波：心室再分極を表す心電図波形
Tmax	time to reach Cmax	最高血漿中濃度到達時間
TOF-SIMS	time-of-flight secondary ion mass spectrometry	飛行時間型二次イオン質量分析法
UHP	ultra high purity	超高純度
USV	ultrasonic vocalization	超音波発声
UV	ultraviolet	紫外線
V_{10}	precordial chest ECG lead	標準胸部誘導
Vd	volume of distribution	分布容積
Veh	Vehicle	溶媒
Vss	volume of distribution at steady state	定常状態での分布容積
VHip	ventral hippocampus	腹側海馬
VTA	ventral tegmental area	腹側被蓋野

2.6.2 薬理試験の概要文

2.6.2.1 まとめ

Lu AA21004 は、選択的セロトニン再取り込み阻害薬（SSRI）、セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬（SNRI）、及びノルアドレナリン作動性・特異的セロトニン作動性抗うつ薬（NaSSA）とは異なり、複数のセロトニン（5-HT）受容体サブタイプへの直接的作用と、セロトニントランスポーター（SERT）阻害作用の両方を有する点で、新規の作用機序であるセロトニン再取り込み阻害・セロトニン受容体調節作用を有する抗うつ薬といえる。複数の 5-HT 受容体サブタイプへの直接作用を介することにより、SERT 阻害作用による薬理プロファイルを補完・強化する目的で、H. Lundbeck A/S 社が実施した一連の創薬研究から見出された。本薬理作用は、5 つの 5-HT 受容体サブタイプへの直接作用［セロトニン受容体サブタイプ 3（5-HT_3）、5-HT_7 及び 5-HT_{1D} 受容体アンタゴニスト作用、5-HT_{1B} 受容体部分アゴニスト作用、5-HT_{1A} 受容体アゴニスト作用］に加えて、SERT の阻害機能を組み合わせることで発揮されると想定され、非臨床薬理試験でこれまでに得られている知見から、その中でも特に 5-HT_3 受容体アンタゴニスト作用、5-HT_{1A} 受容体アゴニスト作用、SERT 阻害作用が主な作用点であると考えられる[1][2]。5-HT_3 受容体アンタゴニスト作用や 5-HT_{1A} 受容体アゴニスト作用は、5-HT 作動性神経のネガティブフィードバック機構の抑制や 5-HT_{1A} 受容体の脱感作、前頭葉における γ-アミノ酪酸（GABA）作動性神経系の抑制を介した神経の活性化制御に寄与することが非臨床試験で報告されている[3][4][5]。よって、これらの薬理作用を合わせ持つ Lu AA21004 は、SSRI を用いた場合の作用以上に細胞外 5-HT 濃度を増加させ、さらに非 5-HT 作動性神経上のヘテロ受容体への作用や、GABA 作動性神経系の抑制等を介して 5-HT 以外の神経伝達物質［ノルエピネフリン（NE）、ドパミン (DA)、アセチルコリン（ACh）、ヒスタミン（HA）等］の放出を促進させることが期待できる。これらの作用は、本薬の抗うつ、抗不安、うつ病に伴う認知機能障害に対する改善作用に寄与すると考えられる[3]。

Lu AA21004 の非臨床薬理試験の概要は、薬理試験概要表（以下、概要表）[2.6.3.1]に記載したとおりである。また、各試験の医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準（GLP）適合状況は概要表[2.6.3.4]に記載のとおりである。

生体試料分析業務を委託した試験施設（CRO）で一部 GLP からの逸脱が発生し、データの一部に不備が発生した。H. Lundbeck A/S 社及び武田薬品工業株式会社は、生体試料分析試験の評価におけるデータ不備の影響について検討し、問題解決のための是正措置を行った。本調査及び是正措置の詳細についてはモジュール 1.3 及びモジュール 4[4.2.3.7.7-6]に記載する。

以上の検討と是正措置の結果、生体試料分析データは信頼できるものであり、非臨床試験全体の評価に影響はないと判断した。従って、本非臨床試験は製造販売承認申請の目的に適合したものであると考えられる。

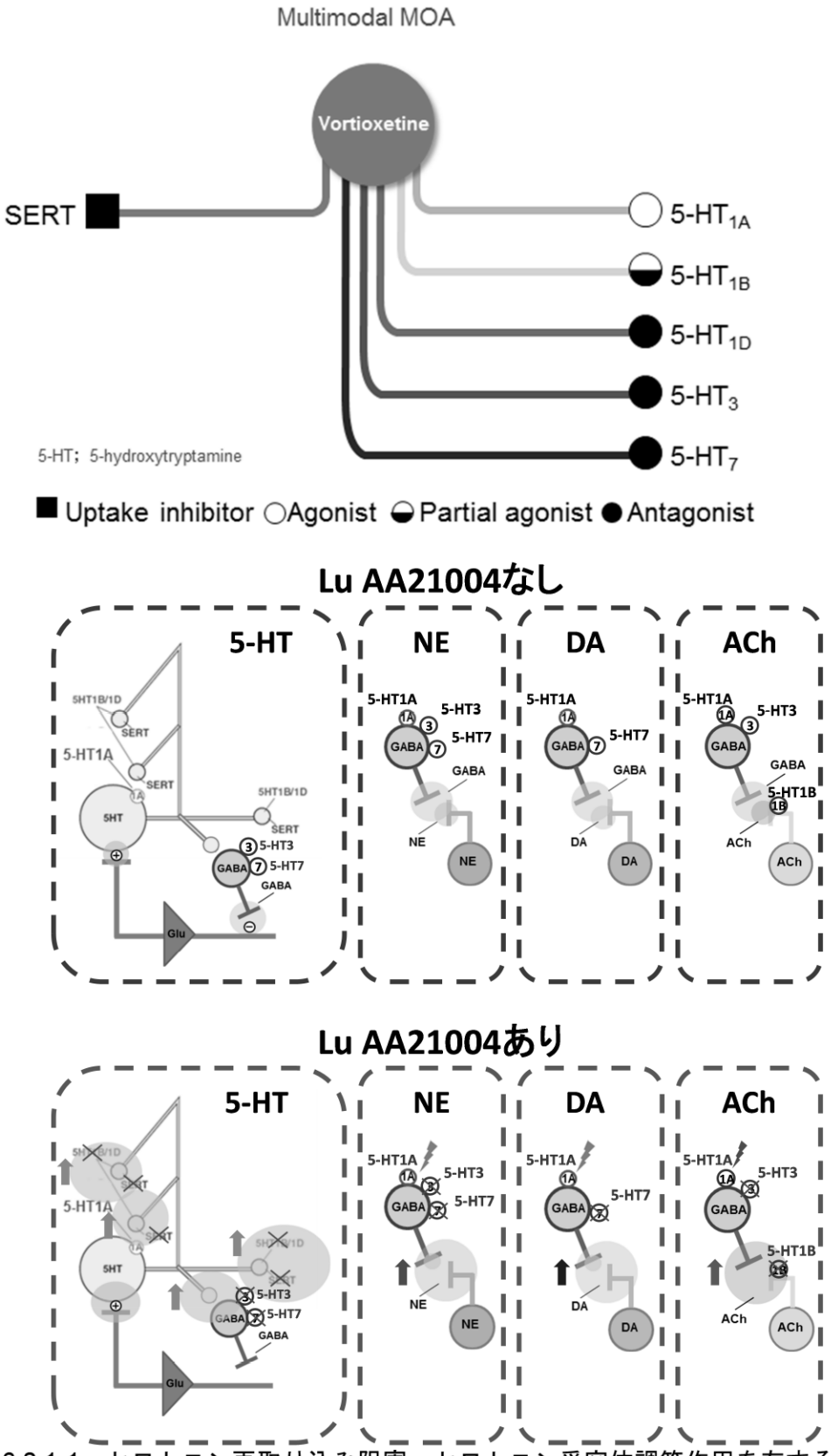


図 2.6.2.1-1　セロトニン再取り込み阻害・セロトニン受容体調節作用を有する抗うつ薬 Lu AA21004 の作用機序（MOA）の概念図

Lu AA21004 は、5 つの 5-HT 受容体サブタイプへの直接作用（5-HT$_3$、5-HT$_7$ 及び 5-HT$_{1D}$受容体アンタゴニスト作用、5-HT$_{1B}$受容体部分アゴニスト作用、5-HT$_{1A}$受容体アゴニスト作用）に加えて、SERT の阻害機能を組み合わせることでその薬理作用が発揮されることが想定され、非臨床薬理試験でこれまでに得られている知見から、その中でも特に 5-HT$_3$受容体アンタゴニスト作用、5-HT$_{1A}$受容体アゴニスト作用、SERT 阻害作用が主な作用点であると考えられる。内側前頭前皮質（mPFC）、錐体神経細胞（Pyr）、腹側被蓋野（VTA）、青斑核（LC）。Garnock-Jones[1]、Nutt[2]、Bang-Anderse 他[3]、Sanchez 他[6]、Pehrson 他[7][8]、Mørk 他[9]、Stahl[44]、Stahl[45]、Stahl[46]を基に作成。

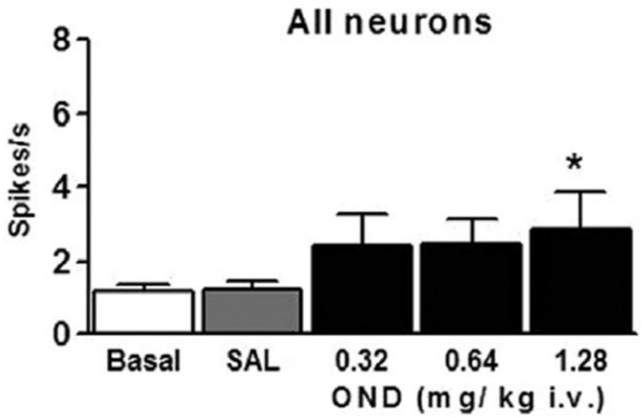


図 2.6.2.1-2　5-HT_3 受容体アンタゴニストによる前頭前皮質のグルタミン酸作動性神経の神経活動増強作用

ラットへの 5-HT_3 受容体アンタゴニストであるオンダンセトロン（OND）の静脈内投与（i.v.）後の前頭前皮質におけるグルタミン酸作動性神経の 1 秒間あたりの平均発火頻度の棒グラフ。値は平均±標準誤差で表示（n=11）。*対照群（生理食塩水（SAL）投与群）と有意差がある。*p<0.05［一元配置分散分析（1-way ANOVA）。後に post-hoc Duncan's test を行った］。Riga[4]から転載。

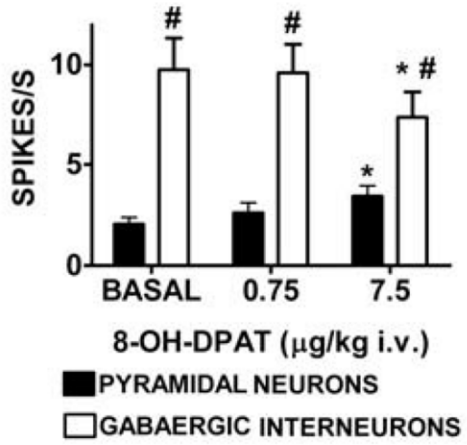


図 2.6.2.1-3　5-HT_{1A} 受容体アゴニストによる前頭前皮質の GABA 作動性神経の神経活動抑制作用とグルタミン酸作動性神経の神経活動増強作用

ラットへの 5-HT_{1A} 受容体アンタゴニストである 8-OH-DPAT（(±)-8-Hydroxy-2-dipropylaminotetralin）の静脈内投与（i.v.）後の前頭前皮質におけるグルタミン酸作動性神経（PYRAMIDAL NEURONS）と推定 GABA 作動性神経（GABAERGIC INTERNEURONS）の神経発火 1 秒間あたりの平均発火頻度の棒グラフ。値は平均±標準誤差で表示（n=19-20）。*薬物投与前（BASAL）との有意差がある。*p<0.05。#各処置におけるグルタミン酸作動性神経との有意差がある。#p<0.0001。Lladó-Pelfort 他[5]から転載。

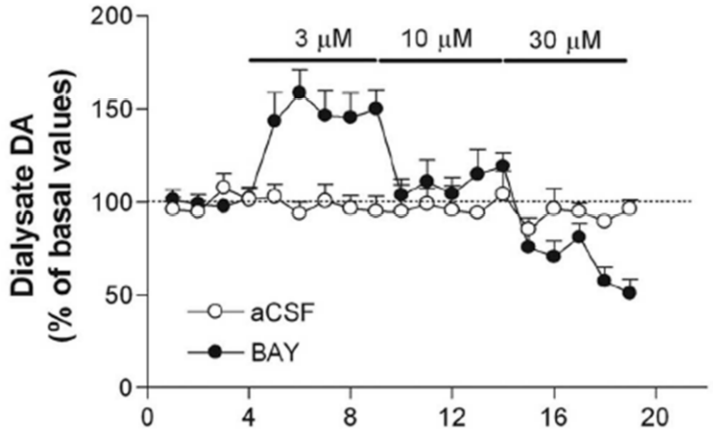


図 2.6.2.1-4　低濃度の 5-HT_{1A} 受容体アゴニストによる前頭前皮質の細胞外 DA 濃度の増加作用

ラットの前頭前皮質への 5-HT_{1A} 受容体アゴニスト Bay-X-3702（BAY）の局所投与による前頭前皮質での細胞外 DA 濃度の変化。値は平均±標準誤差で表示（n=5）。3 μM の BAY の投与により溶媒（人工脳脊髄液（aCSF））投与群と比較して、DA 濃度の有意な増加がみられた。p<0.0001（repeated-measures ANOVA）。Díaz-Mataix 他[10]から転載。

in vitro データから、Lu AA21004 は、SSRI、SNRI、及び NaSSA とは異なる作用機序を有するセロトニン再取り込み阻害・セロトニン受容体調節剤であり、5-HT_3、5-HT_7、5-HT_{1D} 受容体のアンタゴニスト作用、5-HT_{1B} 受容体の部分アゴニスト作用、5-HT_{1A} 受容体のアゴニスト作用、及び SERT の阻害を介した薬力学的作用を持つことが示されている。非臨床薬理試験でこれまでに得られた知見から、特に 5-HT_3 受容体アンタゴニスト作用、5-HT_{1A} 受容体アゴニスト作用、SERT 阻害作用が主な作用点であると考える[1][2][3]。また、*in vitro* 及び *in vivo* データから、同定された代謝物はいずれも中枢神経系（CNS）における Lu AA21004 の薬理作用に寄与しないことが示唆される。マイクロダイアリシス試験では、ラットへの Lu AA21004 急性投与の結果、mPFC 及び腹側海馬（VHip）において、シナプス外 5-HT、NE、DA、ACh 濃度の用量依存的な増加が認められた。さらに、Lu AA21004 投与により mPFC のシナプス外 HA 濃度の増加が確認され、ラット脳波測定による解析では覚醒レベルの増加も報告されている[11]。Lu AA21004 は、浸透圧ミニポンプを用いた皮下（SC）投与開始後、背側縫線核（DRN）の 5-HT ニューロンの発火を急激に抑制し、24 時間以内にニューロンの発火は対照群と同程度にまで戻った。一方、同様の試験条件下で SSRI であるフルオキセチンを投与した場合、ニューロンの発火が対照群と同程度に戻るまで 7～14 日間の投与を要した。Lu AA21004 は、一連の動物モデルにおいて、抗うつ、抗不安、鎮痛及びうつ病に伴う認知機能障害の改善が予測される作用を示した。さらに、Lu AA21004 の長期投与により、雄性ラットの性行動への影響は見られなかった。以上の非臨床試験結果から、Lu AA21004 は、現在臨床現場で使用されている SSRI、SNRI、及び NaSSA と比べて異なるプロファイルを有するセロトニン再取り込み阻害・セロトニン受容体調節剤であり、5 つの 5-HT 受容体への直接作用及び SERT 阻害作用の 2 つの異なる薬理作用機序を介して多様な薬理作用を示すことで優れた有効性と、異なる安全性のプロファイルを発揮すると考えられる。

Lu AA21004 の安全性薬理試験として、中枢神経系（2 試験）、心血管系（7 試験）、呼吸系（3 試験）、腎／泌尿器系（1 試験）及び胃腸管系（1 試験）に関する合計 14 試験を実施

した。さらに、イヌを用いた反復投与毒性試験（4, 13, 52 週間）において心血管系評価を行った。

安全性薬理試験の結果から、Lu AA21004 は、想定される臨床用量において、中枢神経、心血管、呼吸、腎・泌尿器及び胃腸管系に安全性上問題となるような有害作用は認められなかった。

Lu AA21004 の薬力学的薬物相互作用試験は実施しなかった。

非臨床薬理試験において、Lu AA21004 を塩酸塩及び臭化水素酸塩（HBr）の形で使用したが、本概要文に記載したすべての試験で Lu AA21004 を水溶液として使用したため、以下のセクションではこれらの塩を区別していない。Lu AA21004 の濃度及び用量の単位は、ng/mL 又は mg/kg（freebase）で表記した。

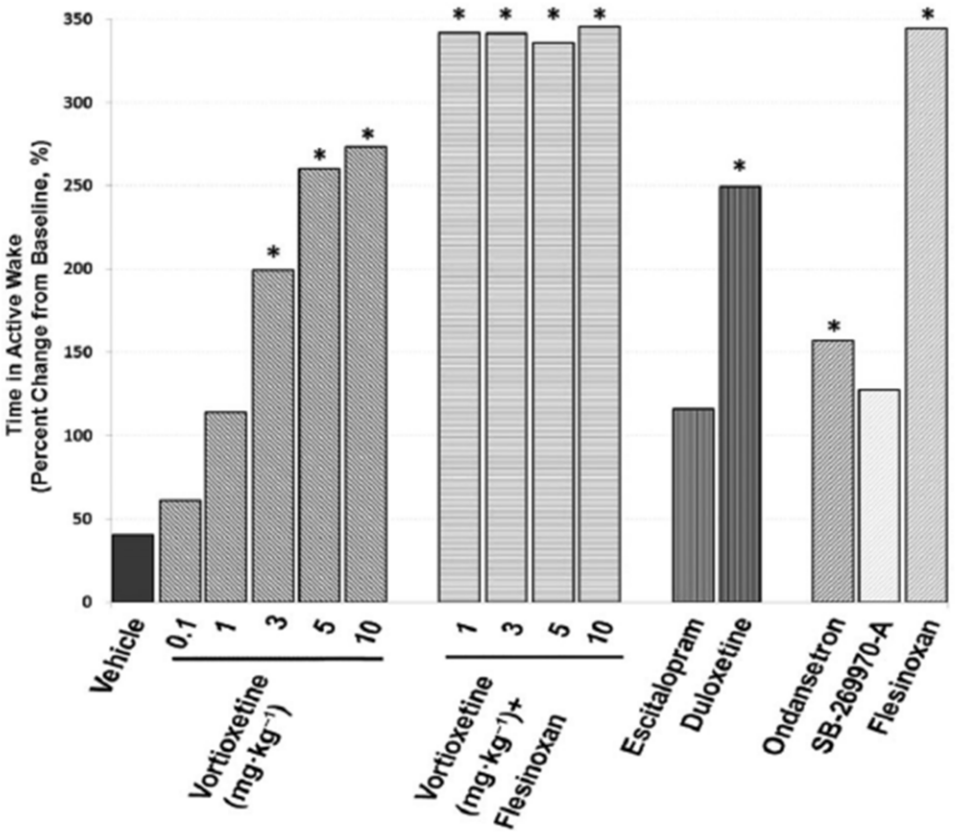


図 2.6.2.1-5　ラット脳波測定における Lu AA21004 投与の覚醒レベルに対する影響

ラットへの化合物の皮下投与後 4 時間の覚醒レベルの変化の棒グラフ。薬物投与前の値に対する%変化で表示（n=8-12）。*対照群（溶媒投与群）との有意差がある。*p<0.05［1-way ANOVA。事後検定として最小有意差 （LSD）検定を行った］。Lu AA21004（vortioxetine 0.1-10 mg/kg）、フレシノキサン（flesinoxan, 5-HT_{1A}受容体アゴニスト, 2.5 mg/kg）、エスシタロプラム（escitalopram, SSRI, 2 mg/kg）、デュロキセチン（duloxetine, SNRI, 10 mg/kg）、オンダンセトロン（ondansetron, 5-HT_3受容体アンタゴニスト, 0.3 mg/kg）、SB-269970-A（5-HT_7受容体アンタゴニスト, 10 mg/kg）。Leiser 他[11]から転載。

2.6.2.2 効力を裏付ける試験

Lu AA21004 は、新規の作用機序であるセロトニン再取り込み阻害・セロトニン受容体調節作用を有する抗うつ薬であり、複数の 5-HT 受容体サブタイプへの直接作用を介することにより、SERT 阻害による抗うつ作用を補完・強化する目的で、H. Lundbeck A/S 社が実施した

一連の創薬研究から見出された。本薬理作用は、5 つの 5-HT 受容体サブタイプへの直接作用に加えて SERT の阻害機能を組み合わせることで、ネガティブフィードバック機構の抑制等を介して SSRI を用いた場合の作用以上に細胞外 5-HT 濃度を増加させ、さらに本薬が非 5-HT 作動性神経上のヘテロ受容体や GABA 作動性神経系の抑制等を介して、5-HT 以外の神経伝達物質（NE、DA、ACh、HA）の放出を促進するという仮説に基づいている。本創薬研究の開始前、SSRI を β 受容体アンタゴニスト及び $5\text{-HT}_{1A/B}$ 受容体部分アゴニストであるピンドロールと併用することによって SSRI の抗うつ作用を増強できることが臨床研究によって報告されていた[12][13]。こうしたピンドロールの作用は、細胞体樹状突起の 5-HT_{1A} 自己受容体に対する作用によるものであるとされた。H. Lundbeck A/S 社による非臨床試験や文献に報告されている試験の結果から、様々な 5-HT 受容体サブタイプの調節により、SSRI の 5-HT 増加作用及び抗うつ薬様作用を増強することができることが示された[14][15]。本創薬研究は、複数の 5-HT 受容体サブタイプへの直接作用と SERT 阻害作用を単分子に組み入れた、SSRI、SNRI、及び NaSSA とは著しく異なるセロトニン再取り込み阻害・セロトニン受容体調節作用を有する化合物を発見することを目指した[3]。

Lu AA21004 の非臨床薬理試験プログラムには、Lu AA21004 及びその代謝物の主及び副次的薬理作用を検討する *in vitro* 及び *in vivo* 試験が含まれている。Lu AA21004 の治療効果に関連していると見られる標的分子への *in vitro* の結合及び機能試験は、ヒト及びラットの標的分子発現細胞を用いて実施された。さらに、ヒトの受容体及びトランスポーターを用いた *in vitro* スクリーニング試験で、Lu AA21004 及び主代謝物の選択性を検討した。*in vivo* の Lu AA21004 作用機序試験では、脳内の標的（5-HT_3、5-HT_{1B}、5-HT_{1A} 及び SERT）占有率及び神経伝達への作用、すなわちマイクロダイアリシス法によって測定される神経伝達物質の放出量、並びに DRN、LC、VTA におけるそれぞれ 5-HT、NE、DA ニューロンの発火について評価した。さらに、Lu AA21004 の抗うつ及び抗不安作用を予見する行動試験や認知機能改善作用を評価する試験も実施した。副次的薬理試験では、Lu AA21004 の鎮痛作用やラットの性行動に対する作用を評価した。

2.6.2.2.1 *in vitro* 試験

Lu AA21004 の *in vitro* 結合親和性及び機能性試験を実施した。これらの検討結果を以下に簡潔にまとめた。各試験の概要は、概要表[2.6.3.1]に示した。

2.6.2.2.1.1 ヒト受容体の結合親和性プロファイル

h5-HT_3、h5-HT_7、h5-HT_{1D}、h5-HT_{1B}、h5-HT_{1A} の各受容体及び hSERT に対する Lu AA21004 の結合親和性は 100 nmol/L 未満であった（表 2.6.2.2-1）。こうした結合親和性はいずれも、Lu AA21004 の治療効果に関連しているものと考えられる。

表 2.6.2.2-1　ヒト又はラット 5-HT_3、5-HT_7、5-HT_{1D}、5-HT_{1B}、5-HT_{1A} 受容体及び SERT を発現させた組換え細胞株／大脳皮質組織における Lu AA21004 の *in vitro* 特性

標的	ヒト			ラット		
	結合親和性	機能的活性		結合親和性	機能的活性	
	Ki (nmol/L) (a)	IC_{50}/EC_{50} (nmol/L)	Kb (b) (nmol/L)	Ki (nmol/L) (a)	IC_{50} (nmol/L)	Kb (nmol/L)
5-HT_3受容体アンタゴニスト作用	3.7 (d) [4.2.1.1-1]	12 (e)(p) 10 (f)(p) [4.2.1.1-15]及び[4.2.1.1-16]	3.5 (e)(o)(p)	1.1 (d) [4.2.1.1-4]	0.18 (e)(p) [4.2.1.1-16]	ND
参照化合物 (c)	4.6 (d)(k) MDL 72222	0.09 (e)(p) オンダンセトロン	0.03 (e)(n)(p) オンダンセトロン	13.8 (a) MDL 72222	0.16 (e)(p) オンダンセトロン	ND
5-HT_7受容体アンタゴニスト作用	19.2 (d)(k) [4.2.1.1-2]及び [4.2.1.1-3]	1271 (f) [4.2.1.1-17]	450 (f) [4.2.1.1-17]	200 (f) [4.2.1.1-20]	11,000 (f) [4.2.1.1-21]	2080 (f) [4.2.1.1-21]
参照化合物	0.2 (f) 5-HT	56 (f) メチオテピン	22 (f) メチオテピン	2.8 (f) メチオテピン	2 (f) メチオテピン	0.4 (f) メチオテピン
5-HT_{1D}受容体アンタゴニスト作用	54.2 (d) [4.2.1.1-4]	369 (d) [4.2.1.1-4]	25	3.7(d) [4.2.1.1-22]	260(d) [4.2.1.1-23]	43 (d) [4.2.1.1-23]
参照化合物	2.9 5-HT	152 (d) メチオテピン	11	0.58 (d)(k) 5-HT	370 (d) メチオテピン	62(d) メチオテピン
5-HT_{1B}部分的アゴニスト作用	33 (g) [4.2.1.1-5]	120, IA=55% (h) 460, IA=22% (i) [4.2.1.1-5]	NR	17 (j)(k) [4.2.1.1-24]及び[4.2.1.1-25]及び [4.2.1.1-3]	ND	NR
参照化合物	1.2 5-HT	40, IA=51% (h) ジプラシドン	NR	6.1 (k) 5-HT	ND	NR
5-HT_{1A}アゴニスト作用	15 (d) [4.2.1.1-6]	200, IA=96% (a) [4.2.1.1-6]	NR	232 (j) [4.2.1.1-26]	ND	NR
参照化合物	1.6 (d) メテルゴリン	9.7 (d) 5-HT	NR	20 (j) 5-HT	ND	NR
SERT 阻害作用	1.06 (f) [4.2.1.1-7] 1.6 (l) [4.2.1.1-8]	5.9 (d)	5.4 (d)(m) [4.2.1.1-8]	ND	5.3 (n) [4.2.1.1-27]	ND
参照化合物	0.577 (f) 1.0 (l) エスシタロプラム	ND	1.6 (d) (m) エスシタロプラム	ND	7.7 (n) シタロプラム	ND

IA=固有活性（フルアゴニストと比較した相対的有効性）、ND=測定せず、NR=関連性なし。
(a) Y nmol/L Lu AA21004 = 0.29845 x Y ng/mL Lu AA21004
(b) Kb = IC_{50}/(1 + ([A]/(本試験のアゴニストの EC_{50})) 、EC_{50} は 50%有効濃度、[A]はアゴニストの濃度。
(c) 各報告書に記載の参照化合物データ。
(d) チャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞
(e) アフリカツメガエル卵母細胞
(f) ヒト胎児由来腎臓細胞-293 変異株（HEK-293）細胞
(g) ヒト子宮頚がん由来細胞株（HeLa）細胞
(h) HeLa 細胞でのグアノシン 5'-O-[γ-チオ]三リン酸（GTPγS）測定試験
(i) HeLa 細胞での環状アデノシン一リン酸（cAMP）測定試験
(j) 大脳皮質
(k) 参照した報告書に記載された結果の平均値。
(l) Peak Rapid 293 細胞
(m) cIC_{50} = IC_{50}/(1+S/Km)。S は放射能-基質濃度、Kn はトランスポーターの放射能-基質濃度に対する Michaelis-Menton 定数。
(n) シナプトソーム
(o) 報告書に記載されたデータをもとに算出。
(p) 5-HT_{3A}受容体に対する作用

Lu AA21004 はノルアドレナリントランスポーター（NAT）［Ki=113 nmol/L、CHO 細胞での評価］[4.2.1.1-8]、h5-HT_{1E} 受容体（Ki=714 nmol/L、CHO 細胞での評価）、h5-HT_{1F} 受容体（Ki=829 nmol/L、CHO 細胞での評価）[4.2.1.1-4]、h5-HT_{5A} 受容体（Ki=250 nmol/L、CHO 細胞での評価）及び h5-HT_6 受容体（Ki=200 nmol/L、CHO 細胞での評価）[4.2.1.1-2]に対して 100～1000 nmol/L の親和性を示した。

また、Lu AA21004 は 1000 nmol/L までの濃度範囲で他の標的へのリガンド結合において有意な作用を示さなかった［これにはともに薬物乱用性に関係しているとされる GABA-A 受容体及びドパミントランスポーター（DAT）を含む。］[4.2.1.1-2, 4.2.1.1-8, 4.2.1.1-9, 4.2.1.1-10, 4.2.1.1-11, 4.2.1.1-12, 4.2.1.1-13, 4.2.1.1-14]。

2.6.2.2.1.2 ヒト 5-HT_3 受容体での機能的活性

：添付資料番号 4.2.1.1-15（参考）、-16（参考）

Lu AA21004 の 5-HT_3 受容体に対する機能的活性を、HEK-293 細胞を用いた安定発現系、及びアフリカツメガエル卵母細胞における一過性発現系を用いて検討した。Lu AA21004 はアフリカツメガエル卵母細胞に発現させた h5-HT_{3A} 受容体の機能的アンタゴニストとして作用し、50%阻害濃度（IC_{50}）は 12 nmol/L（n=47）（表 2.6.2.2-1）であった。一方、5-HT_3 受容体アンタゴニストであるオンダンセトロンの IC_{50} 値は 0.09 nmol/L であった（n=17）[4.2.1.1-15, 4.2.1.1-16, 概要表 2.6.3.2A]。高濃度においては、Lu AA21004 は h5-HT_{3A} 及び h5-HT_{3A+3B} 受容体に対してアゴニスト作用を有し、EC_{50} 値はそれぞれ 2100 nmol/L 及び 1900 nmol/L を示した。しかし、こうした高濃度でのアゴニスト様反応は初回投与後に消失したため、Lu AA21004 は 5-HT_3 受容体に対して機能的なアンタゴニストとして働くことが確認された[4.2.1.1-15]。

HEK-293 細胞に発現した h5-HT_{3A} 受容体に対し、Lu AA21004 はアンタゴニストとして作用し、その IC_{50} 値は 10 nmol/L であった（n=5）（表 2.6.2.2-1）[4.2.1.1-15]。

2.6.2.2.1.3 ヒト 5-HT_7 受容体での機能的活性

：添付資料番号 4.2.1.1-17（参考）

蛍光測定画像解析用プレートリーダー（FLIPR）を使用した試験で、h5-HT_7 受容体に対する Lu AA21004 の機能的活性を測定した。Lu AA21004 は HEK-293 細胞に発現させたクローン化 h5-HT_7 受容体において、10 nmol/L の 5-HT による作用に対してアンタゴニストとして作用し、その Kb 値は 450 nmol/L であった（n=4）（表 2.6.2.2-1）[4.2.1.1-17, 概要表 2.6.3.2A]。参照化合物として使用したアンタゴニストのメチオテピンの Kb 値は 22 nmol/L であった。

2.6.2.2.1.4 ヒト 5-HT_{1D} 受容体での機能的活性

：添付資料番号 4.2.1.1-4（評価）

h5-HT_{1D} 受容体を発現させた CHO 細胞の誘電スペクトロスコピーを使用した試験で、h5-HT_{1D} 受容体における Lu AA21004 の機能的作用を評価した。Lu AA21004 は h5-HT_{1D} 受容体のアンタゴニストとして作用し、その Kb 値は参照化合物であるメチオテピンの 11 nmol/L に近い 25 nmol/L であった（n=3）（表 2.6.2.2-1）[4.2.1.1-4, 概要表 2.6.3.2A]。

2.6.2.2.1.5 ヒト 5-HT_{1B} 受容体での機能的活性

：添付資料番号 4.2.1.1-5（参考）

h5-HT_{1B} 受容体を発現させた HeLa 細胞を用いて、GTPγS 結合及び、cAMP 生成を指標とした機能試験により、Lu AA21004 の機能的プロファイリングを実施した。Lu AA21004 は両機能試験において、付加的な低親和性部位を伴う 2 相性の濃度-反応相関を示した。これら 2 つの部位について、GTPγS 結合試験でさらに詳しく評価した結果、h5-HT_{1B} 受容体のインバースアゴニストであるメチオテピンは低親和性部位では作用を示さなかったのに対して、高親和性部位で Lu AA21004 の効力を完全に阻害することが明らかとなった。このことから、Lu AA21004 はメチオテピンが結合しない h5-HT_{1B} 受容体の低親和性部位に結合すること、又はこの低親和性結合部位は h5-HT_{1B} 受容体には関係していないことが示唆された。膜標本を用いた GTPγS 結合試験において、Lu AA21004 は高親和性部位で h5-HT_{1B} 受容体の部分的アゴニストであり、その EC_{50} 値と Emax 値はそれぞれ 120 nmol/L 及び 55%、また生細胞での cAMP 生成試験ではそれぞれ 460 nmol/L 及び 22%であった（n=20）（表 2.6.2.2-1）[4.2.1.1-5, 概要表 2.6.3.2A]。参照化合物である 5-HT の EC_{50} 値は、GPTγS 結合試験で 4.9 nmol/L、cAMP 生成試験では 2.2 nmol/L であった。

2.6.2.2.1.6 ヒト 5-HT_{1A} 受容体での機能的活性

：添付資料番号 4.2.1.1-6（参考）

h5-HT_{1A} 受容体を発現させた CHO 細胞を用いて[^{35}S]GTPγS 結合試験を実施した。Lu AA21004 は h5-HT_{1A} 受容体に対しアゴニストとして作用し、参照化合物である 5-HT の EC_{50} 値 9.7 nmol/L に対して、Lu AA21004 の EC_{50} 値は 200 nmol/L、固有活性（IA）は 96%であった（n=3）（表 2.6.2.2-1）[4.2.1.1-6, 概要表 2.6.3.2A]。

2.6.2.2.1.7 ヒト SERT、NAT 及び DAT での機能的活性

：添付資料番号 4.2.1.1-8（参考）

hSERT、hNAT、およびヒト DAT を発現させた CHO 細胞での基質取り込み阻害を測定する機能的試験において、Lu AA21004 は hSERT の強力な阻害薬（cIC_{50}=5.4 nmol/L）（表 2.6.2.2-1）、hNAT の中等度の阻害薬（cIC_{50}=107 nmol/L）及びヒト DAT の軽度の阻害薬（cIC_{50}=1470 nmol/L）であることが確認された[4.2.1.1-8, 概要表 2.6.3.2A]。参照化合物として使用した SERT、NAT 及び DAT 阻害薬（それぞれエスシタロプラム、ニソキセチン、及び GBR12909）の cIC_{50} 値は 1.6 nmol/L（エスシタロプラム）、0.6 nmol/L（ニソキセチン）及び 33 nmol/L（GBR12909）であった。

2.6.2.2.1.8 その他ヒトの標的における機能的活性

：添付資料番号 4.2.1.1-18（参考）、-19（参考）

Lu AA21004 は、CHO 細胞に発現させた h5-HT_{2B} 受容体に対して 1000 nmol/L までアゴニスト活性を示さず、軽度（最高 29%）のアンタゴニスト活性を示したに過ぎなかった[4.2.1.1-18, 概要表 2.6.3.2A]。一方、CHO 細胞に発現させた h5-HT_6 受容体に対しては 1000 nmol/L までアゴニスト及びアンタゴニスト活性を示さなかった[4.2.1.1-19, 概要表 2.6.3.2A]。

2.6.2.2.1.9 ラットにおける Lu AA21004 の *in vitro* プロファイル

r5-HT_3 及び r5-HT_{1D} 受容体を用いた試験において、Lu AA21004 はヒト受容体に比べ、やや高活性のアンタゴニストとして作用した。また、r5-HT_7 受容体では、ヒト受容体に比べ、やや低活性のアンタゴニストとして作用した。Lu AA21004 は r5-HT_{1B} 及び h5-HT_{1B} 受容体で同程度の活性を示し、r5-HT_{1A} 受容体に対して h5-HT_{1A} 受容体に対するよりも低い親和性を示した[4.2.1.1-3, 4.2.1.1-4, 4.2.1.1-5, 4.2.1.1-15, 4.2.1.1-20, 4.2.1.1-21, 4.2.1.1-22, 4.2.1.1-23, 4.2.1.1-24, 4.2.1.1-25, 4.2.1.1-26, 4.2.1.1-27, 概要表 2.6.3.2A]。ラットの *in vitro* プロファイルの概要については、表 2.6.2.2-1 に示す。

2.6.2.2.1.10 代謝物の *in vitro* 及び *in vivo* 試験

合計 75 の受容体を含む標準的なパネルスクリーニングにより、Lu AA21004 代謝物である Lu AA34443（C-434）及び Lu AA25790（C-432）の *in vitro* 薬理学的解析を実施した。これらの解析の結果、主代謝物はオピオイド作動性、5-HT 作動性、NE 作動性、コリン作動性、DA 作動性の標的を含むすべての標的に対して、ごくわずかな親和性を示したに過ぎなかった[4.2.1.1-28, 4.2.1.1-29, 4.2.1.1-30, 概要表 2.6.3.2A]。

イヌ及びヒトの血漿中の Lu AA34443（C-434）の前駆体 Lu AA34994（C-441）の濃度は、Lu AA21004 の濃度の 1%未満であった[4.2.3.2-13, 4.2.2.4-5, 5.3.3.1-4-01]。Lu AA34994（C-441）は IC_{50} 値 7.9 nmol/L で SERT を強力に阻害した[4.2.1.1-31, 概要表 2.6.3.2A]。Lu AA34994（C-441）は、ヒトのオピオイド受容体へのリガンド結合を軽度に阻害し（Ki = 150-250 nmol/L）[4.2.1.1-35]、N ニューロン α-ブンガロトキシン（α-BGTX）-非感受性受容体（α4β24）及び N ニューロン α-BGTX-感受性（α7）受容体には作用しなかった[4.2.1.1-36, 概要表 2.6.3.2A]。

Lu AA21004 の代謝物 Lu AA39835（C-448）は、hSERT 阻害薬としては Lu AA21004 と等活性であるが（Ki=15.5 nmol/L）[4.2.1.1-31, 概要表 2.6.3.2A]、パネルスクリーニングに含まれるその他すべての標的に対して、ほとんど親和性を示さなかった[4.2.1.1-37, 4.2.1.1-38, 4.2.1.1-39]。しかし、Lu AA39835（C-448）は血液脳関門をあまり透過しないため[4.2.1.1-40]、SERT への親和性が *in vivo* で CNS での作用につながるとは想定できない。この見解は、マウスの 5-ヒドロキシトリプトファン（5-HTP）増強行動試験において Lu AA39835（C-448）が 12.3 mg/kg までの皮下投与で作用を示さなかったことからも支持される（n=7）[4.2.1.1-40, 概要表 2.6.3.2B]。

2.6.2.2.2 *in vivo* 試験

複数の動物モデルを用いた作用機序試験及び行動試験で、Lu AA21004 の抗うつ又は抗不安作用及び認知機能改善作用を検討した。すべての EC_{50} および最小有効量（MED）は mg/kg（freebase）で表記した。特別に記載していない限り、10%ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン（HP-β-CD）を溶媒として使用した。Lundbeck で実施された試験では、動物は基本的に 2 匹ペアでケージに収容し、明暗周期 12 時間（午前 6 時に照明オン）、温度及び湿度を制御した環境下で飼育した。国内で実施した試験では、4 匹毎にケージに収容し、明暗周期 12 時間（午前 7 時に照明オン）の環境下で飼育した。餌と水は自由に摂取させた。試験開始前 5 日間以上、マウスとラットを動物実験施設で馴化飼育した。3 日間の投薬用には、無菌

状況下で浸透圧ミニポンプに薬液を注入し、そのポンプをハイプノーム-ドルミカムによる麻酔下で皮下に埋め込んだ。実験はミニポンプを埋め込んだ状態で実施した。

2.6.2.2.2.1 ラット脳内における *ex vivo* 及び *in vivo* 標的占有率試験

本試験の結果概要については、表 2.6.2.2-2 に示す。

（1）ラット脳内における 5-HT_3 の *ex vivo* 受容体占有率試験

：添付資料番号 4.2.1.1-41（参考）

ラットの脳スライス標本を用いて 5-HT_3 受容体選択的アンタゴニストである[^{3}H]LY278584 を用いた結合置換試験を行い、5-HT_3 受容体の占有率を測定した。雄性 Sprague-Dawley ラットへの Lu AA21004 の急性皮下投与により、5-HT_3 受容体占有率は 0.001～1.0 mg/kg の範囲で用量依存的に増加し（32～103%）、投与後 1 時間の 50%有効量（ED_{50}）値は 0.004 mg/kg であった（表 2.6.2.2-2）[4.2.1.1-41, 概要表 2.6.3.2B]。

（2）ラット脳内における 5-HT_{1B} の *ex vivo* 受容体占有率試験

：添付資料番号 4.2.1.1-42（参考）

ラットの脳スライス標本を用いて 5-HT_{1B} 受容体選択的アンタゴニストである[^{3}H]GR125743 を用いた結合置換試験を行い、5-HT_{1B} 受容体の占有率を測定した。5-HT_{1B} 受容体選択的アンタゴニスト SB216641（7.5 mg/kg 皮下投与）を対照薬として使用した。雄性 Sprague-Dawley ラットへの Lu AA21004 の急性皮下投与により、5-HT_{1B} 受容体占有率は用量依存的に増加し、投与後 1 時間の ED_{50} 値は 3.3 mg/kg であった（n=3）（表 2.6.2.2-2）[4.2.1.1-42, 概要表 2.6.3.2B]。対照薬である SB216641 の 7.5 mg/kg 皮下投与後 1 時間の受容体占有率は約 30%であった。

（3）ラット脳内における 5-HT_{1A} の in vivo 受容体占有率試験

：添付資料番号 4.2.1.1-43（参考）

雄性 Sprague-Dawley ラットを用いて WAY-100635 をトレーサーリガンドとした *in vivo* cold 競合結合試験を行い、液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析法による定量により Lu AA21004 の 5-HT_{1A} 受容体占有率を評価した。2.5, 5, 10, 20 mg/kg の用量で Lu AA21004 を急性皮下投与した結果、投与後 1 時間でそれぞれ 6.8%, 28.4%, 34.7%, 43.8%の用量依存的な 5-HT_{1A} 受容体占有率の増加を示した（n=3）。同試験で対照薬であるピンドロールを 3 mg/kg の用量で静脈内投与した結果、73.1%の受容体占有率を示した（表 2.6.2.2-2）[4.2.1.1-43, 概要表 2.6.3.2B]。

（4）ラット脳内における SERT 占有率試験

：添付資料番号 4.2.1.1-44（参考）、-45（参考）

[^{3}H]-N,N-ジメチル-2-（2-アミノ-4-シアノフェニルチオ）ベンジルアミン、又は[^{3}H]-N,N-ジメチル-2-（2-アミノ-4-メチルフェニルチオ）ベンジルアミンを放射性リガンドとして用いた *ex vivo* 及び *in vivo* 試験で、ラット脳内の SERT 占有率を測定した。

雄性 Sprague-Dawley ラットへの急性皮下又は経口投与により、Lu AA21004 の SERT 占有率は用量依存的に増加し、ED_{50} 値はそれぞれ 0.63 mg/kg 又は 11.7 mg/kg となった（n=3）（図

2.6.2.2-1）[4.2.1.1-44, 概要表 2.6.3.2B]。雄性 Sprague-Dawley ラットに埋め込み浸透圧ミニポンプで 3 日間、2.5 mg/kg/日及び 5 mg/kg/日の用量で Lu AA21004 を亜慢性皮下投与した結果、VHip の SERT 占有率は、それぞれ 22%（推定値）及び 41%（n=11）[4.2.1.1-45, 概要表 2.6.3.2B]、それに対応する血漿中濃度は 36 ng/mL 及び 87 ng/mL であった。この占有率に関する結果の概要を表 2.6.2.2-2 に示す。

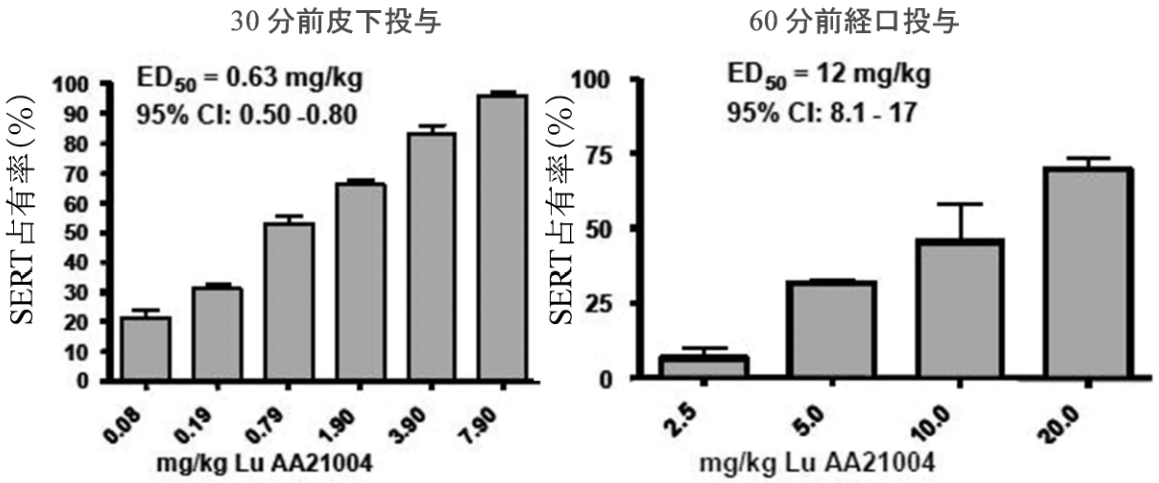


図 2.6.2.2-1　ラット脳内における *ex vivo* SERT 占有率

各用量の Lu AA21004 を急性投与し、*ex vivo* での脳内 SERT 占有率を測定した（n=3）。値は平均±標準誤差で表示。CI=信頼区間。

表 2.6.2.2-2　ラット脳内における Lu AA21004 の *ex vivo* 及び *in vivo* 占有率データの概要

占有率試験					
試験名	皮下投与量 (mg/kg)	血漿中曝露量 (ng/mL)	脳内曝露量 (ng/g)	占有率 (%)	添付資料番号
ラット脳内の 5-HT_3 占有率、 急性投与	0.0010 0.010 0.10 1.0	- 0.8 6.8 63	4.5 8.7 107 660	32 56 94 103	[4.2.1.1-41] 及び Pehrson 他 [7]
対照薬：オンダンセトロン	1.0 (a)			39	
ラット脳内の 5-HT_{1B} 占有率、 急性投与	2 4 8 16	80 198 514 663	770 1967 7757 12,333	36 53 79 81	[4.2.1.1-42]
対照薬： SB216641	7.5	ND	ND	31	
ラット脳内の 5-HT_{1A} 占有率	2.5 5 10 20	166 283 463 898	1849 6104 15,572 19,759	6.8 28 35 44	[4.2.1.1-43]
対照薬：ピンドロール	3 (b)	ND	ND	73	
ラット脳内の SERT 占有率、 急性投与	0.08 0.19 0.79 1.95 3.9 7.9 2.5 (c) 5.0 (c) 10 (c) 20 (c)	9 20 188 142 486 619 4 19 33 86	73 200 1308 1287 3639 10,104 130 350 859 2561	約 20 (d) 約 30 (d) 約 50 (d) 約 65 (d) 約 80 (d) 約 95 (d) 5 (d) 約 30 (d) 約 45 (d) 75 (d)	[4.2.1.1-44]
ラット脳内の SERT 占有率、 亜慢性投与	2.5, 3 日間 5.0, 3 日間	36 87	ND	22, VHip 41, VHip	[4.2.1.1-45]

ND=測定せず。
(a) 腹腔内投与
(b) 静脈内投与
(c) 経口投与
(d) 図 2.6.2.2-1 の計測データ参照

2.6.2.2.2.2 Lu AA21004 の *in vivo* 作用機序試験

試験結果の概要については、表 2.6.2.2-3 に示す。

（1）マウスにおける 5-HTP 誘発行動への作用の増強

：添付資料番号 4.2.1.1-40（参考）

SERT 阻害薬は 5-HT 前駆体である 5-HTP の併用により一連の行動変化（例えば、平状体姿勢、頭部痙攣縮、振戦、挙尾反応）を誘発するが、単独投与の際には、これらの変化は起こさない[16]。こうした一連の行動変化は「セロトニン症候群」と呼ばれ、これに基づく 5-HTP 増強試験は簡便な行動試験として利用できる。Lu AA21004 は雄性 CD-1 マウスに 5-HTP と併用した際、7.9 mg/kg 及び 15.8 mg/kg の用量で皮下投与後 30～55 分で 5-HT に関連した顕著

な行動変化を誘発した（n=7）。これらの作用は、脳内曝露量がおよそ 3000 ng/g に達した時点から認められた（表 2.6.2.2-3）[4.2.1.1-40, 概要表 2.6.3.2B]。

（2）Lu AA21004 の 5-HT_3 受容体に対する in vivo 活性

：添付資料番号 4.2.1.1-46（参考）

5-HT_3 受容体作動薬により誘発される Bezold-Jarisch 血圧反射で、Lu AA21004 による 5-HT_3 受容体の全身性アンタゴニスト作用を定量した。Lu AA21004 を 0.01～3 mg/kg 及び対照薬として 5-HT_3 受容体アンタゴニストのオンダンセトロンを 0.003～0.3 mg/kg の用量で皮下投与すると、いずれの場合も Bezold-Jarisch 反射が用量依存的に抑制され、ED_{50} 値はそれぞれ 0.11 mg/kg 及び 0.021 mg/kg であった[4.2.1.1-46, 概要表 2.6.3.2B]。

（3）Lu AA21004 の急性及び亜慢性投与のラット脳内における細胞外神経伝達物質濃度への影響

自由行動下の雄性 Wistar ラット又は雄性 Sprague-Dawley ラットに対する Lu AA21004 の急性投与後及び 3 日間亜慢性投与後の、VHip、mPFC 及び側坐核（NAS）における細胞外神経伝達物質濃度に対する作用を、マイクロダイアリシス法で検討した。本試験データの概要については、表 2.6.2.2-3 に示す。

1）Lu AA21004 の急性投与によるラット脳内における 5-HT、NE、DA、ACh の細胞外濃度への影響

：添付資料番号 4.2.1.1-47（参考）、-48（参考）

Lu AA21004 の急性投与により（2.5, 5, 10 mg/kg 皮下投与）、mPFC 及び VHip の 5-HT、NE 及び DA 濃度に統計学的に有意な増加が認められた。本試験において、mPFC の 5-HT、NE、DA に対する MED は、それぞれ 2.5 mg/kg、5 mg/kg、10 mg/kg であった。一方で、同じ試験データを異なる手法で解析した論文報告では、DA に対する MED は 5 mg/kg であったが、10 mg/kg 投与により DA 濃度に統計的な有意差は見られなかった[17]。さらに、VHip の 5-HT、NE、DA 濃度に対する MED は、それぞれ 2.5 mg/kg、5 mg/kg、5 mg/kg であった。同じ試験データを異なる手法で解析した論文報告では、NE、DA に対する MED は共に 10 mg/kg であった[17]（図 2.6.2.2-2 及び図 2.6.2.2-3）。これらの試験において、Lu AA21004 投与によるグルタミン酸や ACh 濃度への影響は見られなかった[4.2.1.1-47, 4.2.1.1-48, 概要表 2.6.3.2B]。

Lu AA21004 の急性投与により（2.5, 5, 10 mg/kg 皮下投与）、NAS においては 5-HT 濃度のみに統計学的に有意な上昇が認められ、NE 及び DA 濃度には有意な変化は認められなかった[4.2.1.1-48, 概要表 2.6.3.2B]。

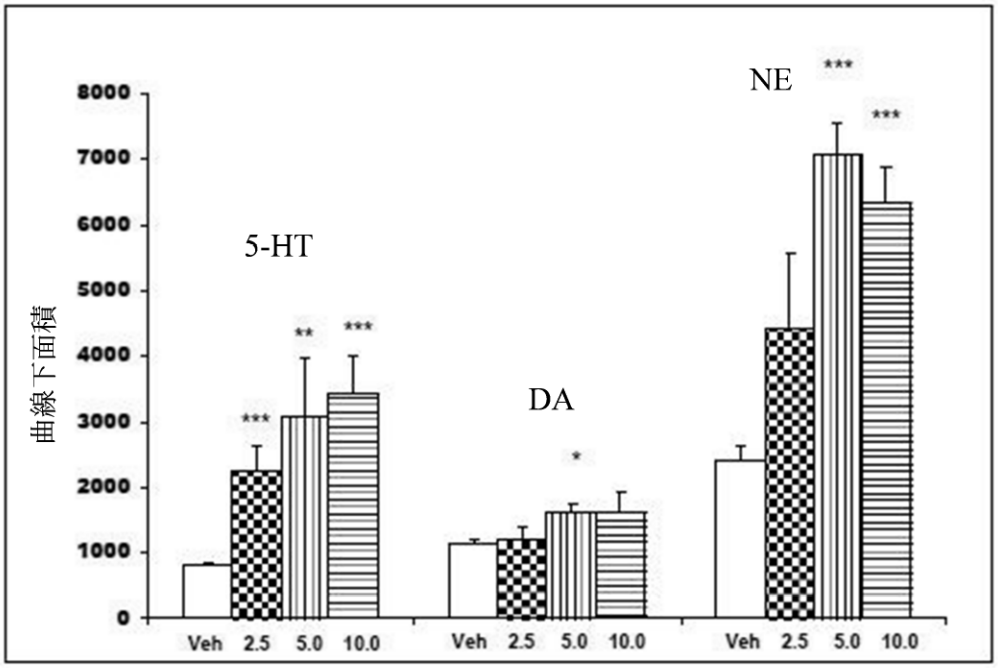


図 2.6.2.2-2　Lu AA21004 又は溶媒（Veh）投与のラット mPFC での 5-HT、NE、DA の細胞外濃度への影響

曲線下面積（AUC）は、各ポイントのペアをサンプル期間（180 分間）で乗じた平均値に基づき、トラペゾイド法を用いて計算した。溶媒に対して比較して*p<0.05; 溶媒に対して比較して**p<0.01; 溶媒に対して比較して***p<0.001（ベースライン AUC を連続共変数として、Lu AA21004 の用量をカテゴリー変数とした一元配置共分散分析（1-way ANCOVA）。後に Dunnett テストを用いた post-hoc pairwise 分析を行った）。データは平均±標準誤差で表示、n=5-7 である。用量単位は mg/kg で表示した。上記の図は Mørk 他により発表されたものである[17]。

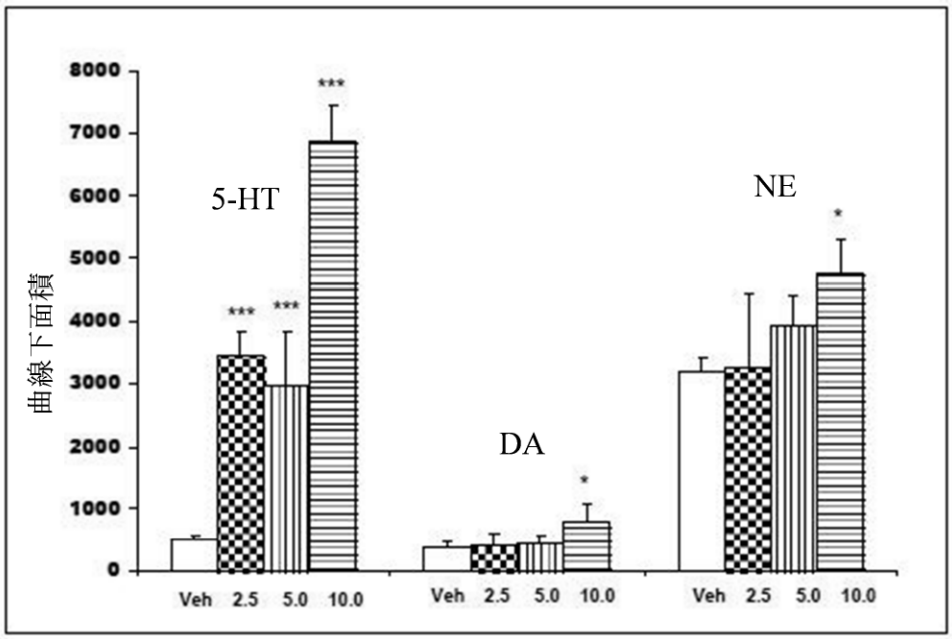


図 2.6.2.2-3　Lu AA21004 又は Veh 投与に対するラット VHip での 5-HT、NE、DA の細胞外濃度への影響

AUC は、各ポイントのペアをサンプル期間（180 分間）で乗じた平均値に基づき、トラペゾイド法を用いて計算した。溶媒に対して比較して*p<0.05; 溶媒に対して比較して***p<0.001（ベースライン AUC を連続共変数として、Lu AA21004 の用量をカテゴリー変数とした 1-way ANCOVA テスト。後に Dunnett テストを用いた post-hoc pairwise 分析を行った）。データは平均±標準誤差で表示、n=5-6 である。用量単位は mg/kg で表示した。上記の図は Mørk 他により発表されたものである[17]。

2）Lu AA21004 急性投与によるラット脳内細胞外 ACh 濃度への影響（コリンエステラーゼ阻害薬を灌流液に添加した条件下）

：添付資料番号 4.2.1.1-49（参考）

灌流液にネオスチグミン（可逆的コリンエステラーゼ阻害薬）500 nmol/L を添加した条件で、自由行動下の雄性 Sprague-Dawley ラットを用いた Lu AA21004 の急性投与試験（2.5, 5, 10 mg/kg 皮下投与）を実施した。この条件下において、VHip 及び mPFC の細胞外 ACh 濃度に統計学的に有意な上昇が認められた（MED=5 mg/kg）（図 2.6.2.2-4 及び図 2.6.2.2-5）[4.2.1.1-49, 概要表 2.6.3.2B]。上記の結果から、過去に実施されたマイクロダイアリシス試験[4.2.1.1-47 及び 4.2.1.1-48]で ACh 濃度の上昇が認められなかったのは、コリンエステラーゼによる ACh の急速な酵素分解が原因と考えられた。

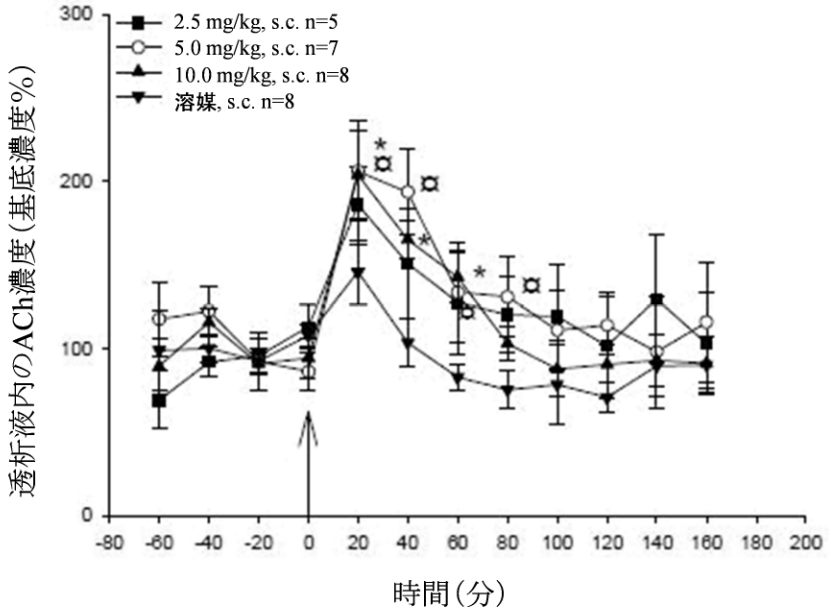


図 2.6.2.2-4　Lu AA21004 のラット mPFC での ACh 濃度への影響

* p<0.05 ［Lu AA21004 の 10 mg/kg 皮下投与（s.c.）を溶媒投与の動物と比較］。¤ p<0.05 （Lu AA21004 の 5 mg/kg, s.c.を溶媒投与の動物と比較）。2-way ANOVA。後に post-hoc Bonferroni テストを行った。添付資料番号:[4.2.1.1-49]。矢印は投与時間を示している。

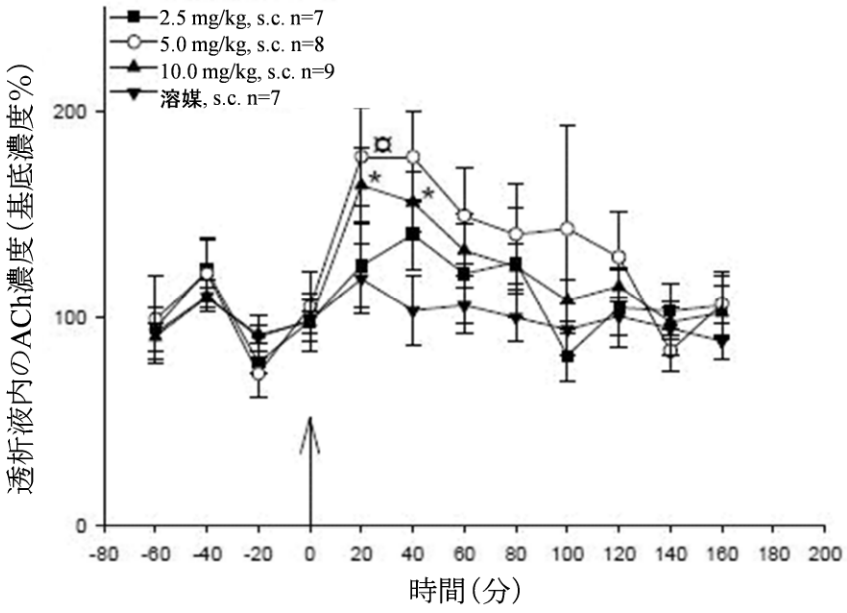


図 2.6.2.2-5　Lu AA21004 のラット VHip での ACh 濃度への影響

* p<0.05 ［Lu AA21004 の 10 mg/kg 皮下投与（s.c.）と溶媒投与の動物を比較］。¤ p<0.05 （Lu AA21004 の 5 mg/kg, s.c.と溶媒投与の動物を比較）。2-way ANOVA。後に post-hoc Bonferroni テストを行った。添付資料番号[4.2.1.1-49]。矢印は投与時間を示している。

3）Lu AA21004 急性投与によるラット脳内の HA 及び GABA の細胞外濃度への影響

：添付資料番号 4.2.1.1-50（参考）

Lu AA21004 の 5, 10 mg/kg 皮下投与により、雄性 Wistar ラットの mPFC の細胞外 HA 濃度に統計学的に有意な上昇が認められた（図 2.6.2.2-6）。一方、この脳領域における GABA 濃度に影響は見られなかった[4.2.1.1-50, 概要表 2.6.3.2B]。

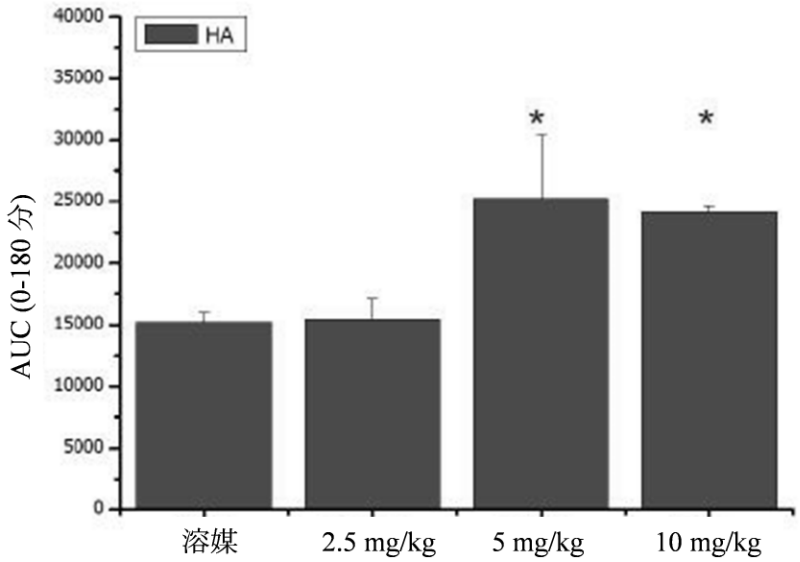


図 2.6.2.2-6　溶媒又は Lu AA21004 投与の mPFC での細胞外 HA 濃度への影響

データは 0 分から 180 分までの AUC±標準誤差で表示している。溶媒に対して比較して*p<0.05（2-way ANOVA。後に Student-Newman-Keuls post-hoc テストを行った）。添付資料番号:[4.2.1.1-50]

4）Lu AA21004 の 3 日間投与によるラット脳内細胞外 5-HT 濃度への影響

：添付資料番号 4.2.1.1-45（参考）

Lu AA21004 を 5 mg/kg/日の用量で、埋め込み浸透圧ミニポンプを用いて 3 日間皮下投与した結果、雄性 Sprague-Dawley ラットの VHip の細胞外 5-HT 濃度に統計学的に有意な上昇が認められた。この用量の投与において、*in vivo* 結合実験で評価した結果、SERT 占有率は約 41%であった（図 2.6.2.2-7）[4.2.1.1-45, 概要表 2.6.3.2B]。

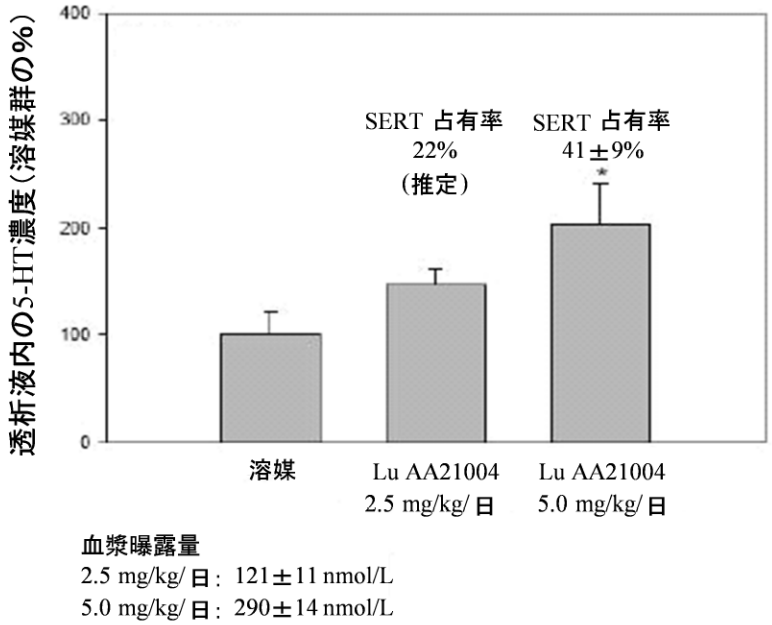


図 2.6.2.2-7　Lu AA21004 の 3 日間投与によるラット VHip での細胞外 5-HT 濃度及び SERT 占有率への影響

溶媒に対して比較して*p<0.05（1-way ANOVA）。121 nmol/L 及び 290 nmol/L の曝露量はそれぞれ 36 ng/mL 及び 87 ng/mL に相当する（n=11）。Lu AA21004 の 2.5 mg/kg/日投与による SERT 占有率を以下の Hill の式で推定した。占有率= [Lu AA21004 の各投与量における血漿曝露量] / (EC_{50} + [Lu AA21004 の各投与量における血漿曝露量])。EC_{50} は 5 mg/kg 投与時の占有率及び血漿中濃度から算出している。

5）Lu AA21004 の 3 日間投与によるラット脳内細胞外神経伝達物質濃度への影響
：添付資料番号 4.2.1.1-51（参考）、-52（参考）

添付資料番号 4.2.1.1-51 と添付資料番号 4.2.1.1-52 の試験データをプールして解析した結果を論文報告している[7]。自由行動下のラットを用いて、Lu AA21004 の亜慢性投与による mPFC 及び VHip の細胞外 5-HT、NE、DA 及び ACh 濃度の変化を検討した。雄性 Wistar ラットに対して、埋め込み浸透圧ミニポンプを用いて、エスシタロプラムを 7.5 mg/kg/日、又は Lu AA21004 を 5, 10, 19 又は 28 mg/kg/日で 3 日間皮下投与した。Lu AA21004 の亜慢性投与により（投与量 10, 19, 28 mg/kg/日、SERT 占有率 57～98%[7]）、溶媒投与の対照群との比較において、mPFC の細胞外 5-HT 濃度に統計学的に有意な上昇が認められた。さらに、Lu AA21004 投与により（投与量 19 又は 28 mg/kg/日、SERT 占有率 89～98%）、VHip の細胞外 5-HT 濃度も対照群に比べて有意に上昇した（図 2.6.2.2-8）。Lu AA21004 を 28 mg/kg/日の用量で投与することにより、mPFC 及び VHip の NE 濃度はともに統計学的に有意に上昇した（SERT 占有率 98%）（図 2.6.2.2-9）。mPFC の細胞外 DA 濃度は Lu AA21004 投与により（投与量 28 mg/kg/日、SERT 占有率 98%）、統計学的に有意な上昇を示したが、VHip の細胞外 DA 濃度は上昇しなかった（図 2.6.2.2-10）。同様に、エスシタロプラムの 7.5 mg/kg/日の用量での投与により（SERT 占有率 90%超）、mPFC の細胞外 DA 濃度に統計学的に有意な上昇が見られたが、VHip では認められなかった。エスシタロプラム投与により mPFC 及び VHip の細胞外 5-HT 濃度も上昇したが、細胞外 NE 濃度には変化がなかった。急性投与試験[4.2.1.1-47, 4.2.1.1-48, Pehrson 他[7]]の結果と同様に、本試験では Lu AA21004 投与による ACh 濃度の変

動は見られなかった。これは ACh の酵素分解を防ぐためのコリンエステラーゼ阻害薬を灌流液に添加しなかったことが原因と考えられる。

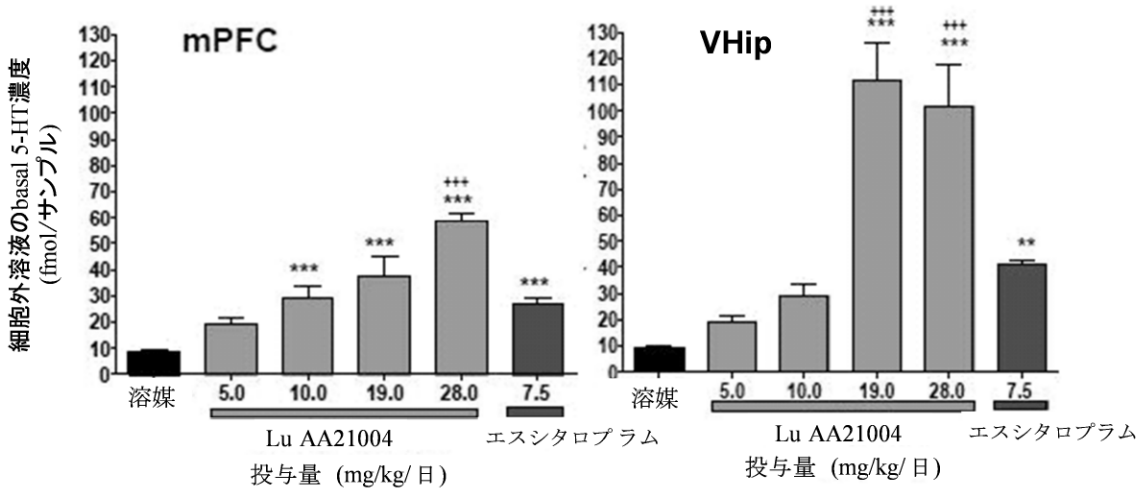


図 2.6.2.2-8　Lu AA21004、エスシタロプラム、溶媒 3 日間投与によるラット mPFC 及び VHip における細胞外 5-HT 濃度への影響

溶媒に対して比較して**p＜0.01 及び***p<0.001，エスシタロプラムに対して比較して+++p<0.001（1-way ANOVA。後に post-hoc Neuman–Keuls テストを行った）。データは平均±標準誤差で表示、n=5-10 である。上記の図は Pehrson 他により発表されたものである[7]。

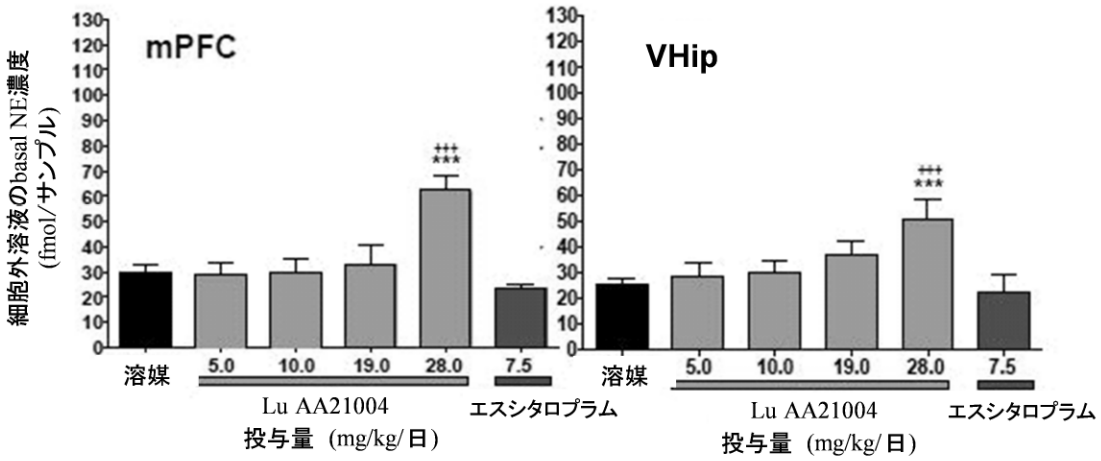


図 2.6.2.2-9　Lu AA21004、エスシタロプラム、溶媒 3 日間投与によるラット mPFC 及び VHip における細胞外 NE 濃度への影響

溶媒に対して比較して***p<0.001，エスシタロプラムに対して比較して+++p<0.001（1-way ANOVA。後に post-hoc Neuman–Keuls テストを行った）。データは平均±標準誤差で表示、n=5-9 である。上記の図は Pehrson 他により発表されたものである[7]。

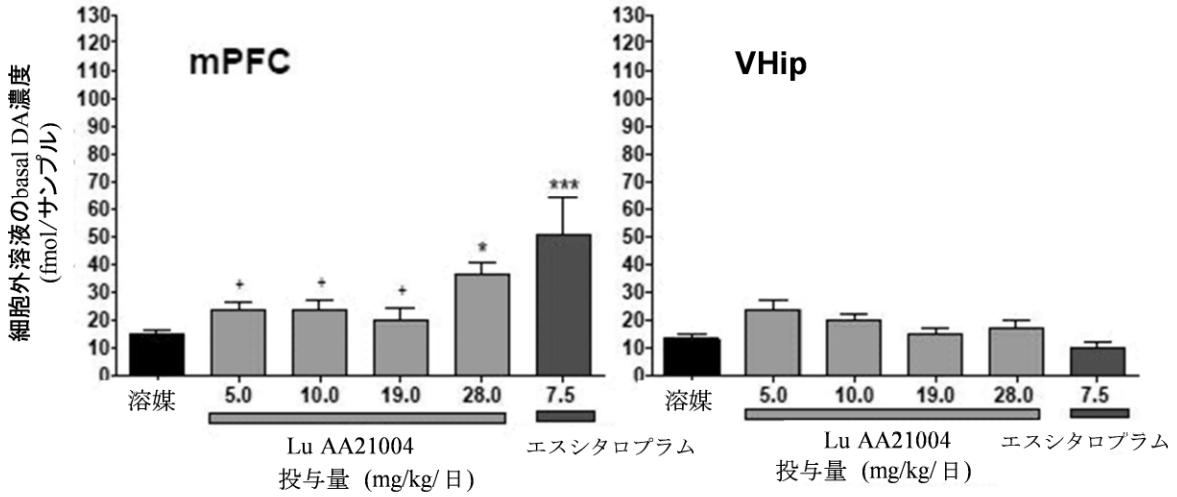


図 2.6.2.2-10　Lu AA21004、エスシタロプラム、溶媒 3 日間投与によるラット mPFC 及び VHip における細胞外 DA 濃度への影響

溶媒に対して比較して*p<0.05., エスシタロプラムに対して比較して+p<0.05（1-way ANOVA。後に post-hoc Neuman–Keuls テストを行った）。データは平均±標準誤差で表示、n=4-8 である。上記の図は Pehrson 他により発表されたものである[7]。

（4）Lu AA21004 投与による DRN における 5-HT 作動性ニューロン発火への影響

：添付資料番号 4.2.1.1-53（参考）、-54（参考）

Lu AA21004 投与による、雄性 Sprague-Dawley ラットの DRN における 5-HT 作動性ニューロン発火への影響を、*in vivo* 電気生理試験により評価した。この記録期間中、ラットは抱水クロラールで麻酔した（投与量 400 mg/kg、腹腔内投与）。

Lu AA21004 の急性静脈内投与により、DRN の 5-HT ニューロン発火が用量依存的に抑制され、その ED_{50} 値は 0.55 mg/kg であった。これは、$5\text{-}HT_{1A}$ 受容体アンタゴニスト WAY-100635 の投与により回復するため、細胞体樹状突起の $5\text{-}HT_{1A}$ 受容体を介した作用と考えられる（表 2.6.2.2-3）[4.2.1.1-53, 概要表 2.6.3.2B]。2 回目の急性投与試験においても同様の結果が得られ、Lu AA21004 の 5-HT ニューロン発火抑制作用が確認された（ED_{50}=0.44 mg/kg）（図 2.6.2.2-11）[4.2.1.1-54, 概要表 2.6.3.2B]。興味深いことに、Lu AA21004 投与により約 50%の SERT 占有率でニューロン発火活動が 50%抑制されたが、フルオキセチンではニューロン発火活動の 50%抑制に 80%以上の SERT 占有率が必要であった。これらの試験結果から、Lu AA21004 はフルオキセチンとは異なる薬理学的作用機序を介して 5-HT ニューロンの発火を制御していることが示唆された。

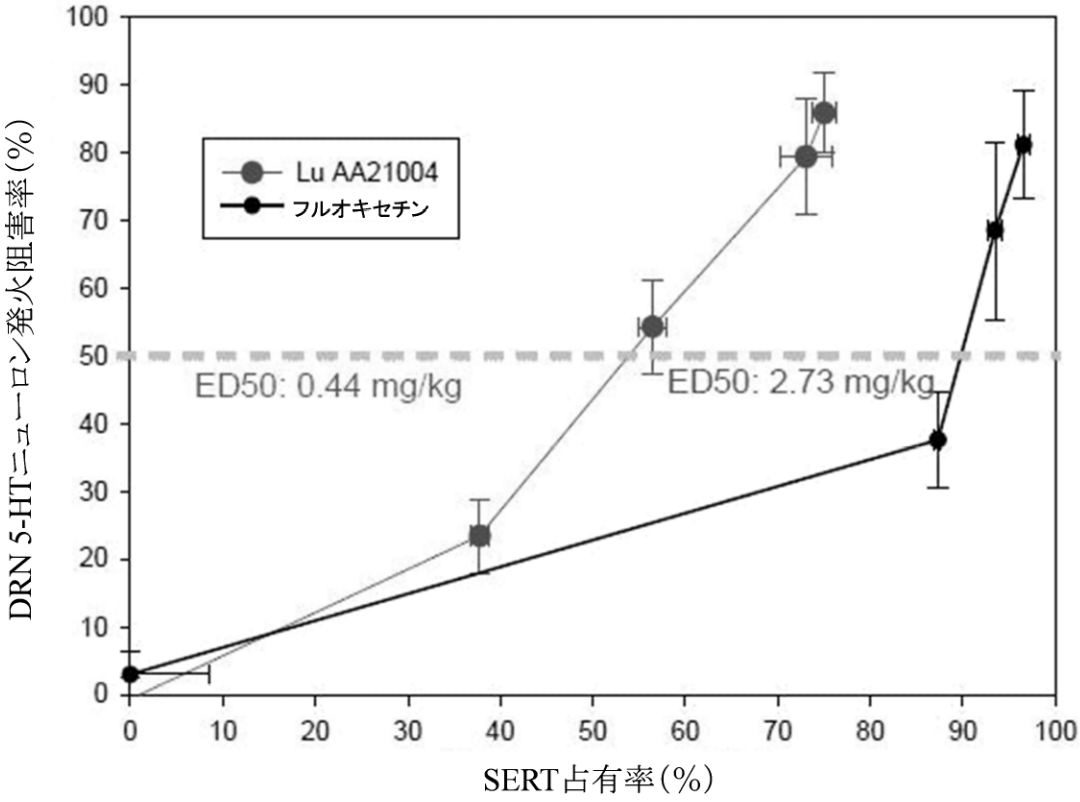


図 2.6.2.2-11　Lu AA21004 及びフルオキセチン急性投与のラット DRN における 5-HT ニューロンの発火活動の抑制作用とラットの脳スライス標本を用いて *ex vivo* 放射性リガンド結合試験で測定した SERT 占有率との対比

添付資料番号:[4.2.1.1-54]。

Lu AA21004 を浸透圧ミニポンプを用いて皮下投与し、血漿中濃度を定常状態に維持した状況下で（5 mg/kg/日を皮下投与、SERT 占有率 40～50%に相当[4.2.1.1-51]）、投与後 10 時間まで統計学的に有意な DRN におけるニューロンの発火の抑制が認められた[4.2.1.1-54]。発火頻度は投与後 24 時間で対照群と同程度にまで回復した（図 2.6.2.2-12 の A）[4.2.1.1-53]。Lu AA21004 投与によりに見られた急速な回復とは異なり、SSRI であるフルオキセチン（10 mg/kg/日）を皮下投与した場合、ニューロン発火が対照群と同程度にまで回復するのに、7～14 日間を要した（図 2.6.2.2-12 の B）。

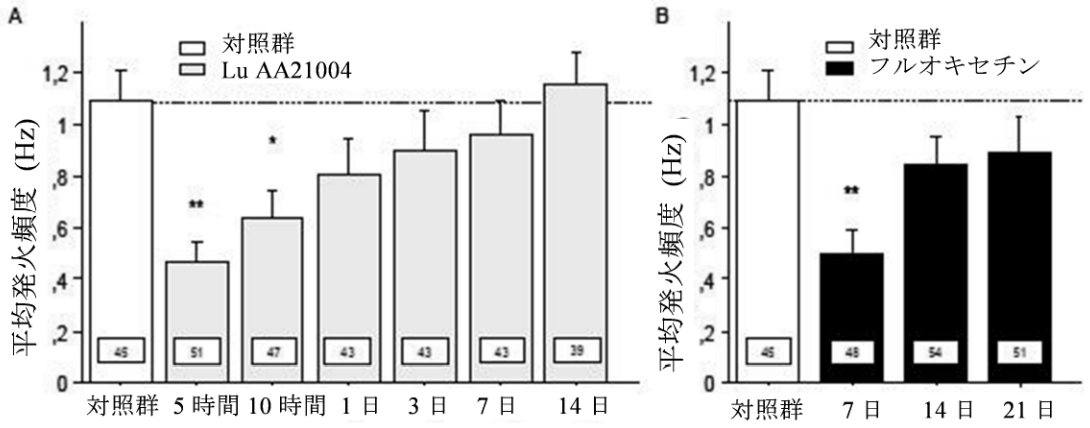


図 2.6.2.2-12　Lu AA21004 及びフルオキセチン慢性投与のラット DRN の 5-HT ニューロン発火活動に対する影響

対照群との比較で**p<0.01 及び*p<0.05（1-way ANOVA。後に post-hoc Dunnett テストを行った）。測定した細胞数を枠内に示す。

これらの所見と一致して、Lu AA21004（投与量 5 mg/kg/日）を浸透圧ミニポンプで 3 日間皮下投与した結果、5-HT_{1A}受容体アゴニストであるフレシノキサン（100～700 µg/kg を静脈内投与）への応答の低下が認められた。この結果は細胞体樹状突起の 5-HT_{1A}受容体の脱感作を示唆するものであった（図 2.6.2.2-13）[4.2.1.1-53]。

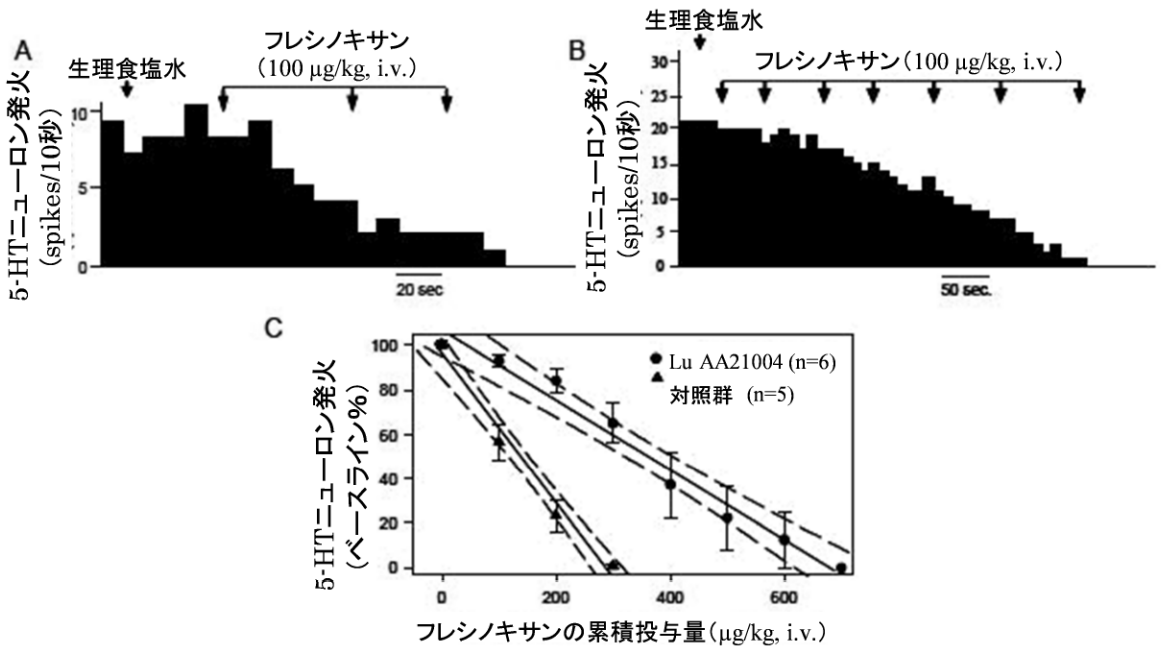


図 2.6.2.2-13　対照ラット及び Lu AA21004 を 3 日間投与したラットにおける、フレシノキサン投与の 5-HT ニューロンの発火活動への影響

(A)ラットへのフレシノキサン累積投与量［（100～300 μg/kg、静脈内投与（i.v.）］に対する DRN の 5-HT ニューロンの全体的な発火率のヒストグラム
(B) Lu AA21004 の 3 日間投与後､1 日間の休薬期間を経たラットのフレシノキサン投与後の累積投与量（100～700 μg/kg, i.v.）に対する DRN の 5-HT ニューロンの全体的な発火率のヒストグラム
(C) Lu AA21004 の 3 日間投与と 1 日間の休薬期間を経たラットと対照ラットに対するフレシノキサンの抑制作用の用量-反応曲線。各シンボルは DRN の 5-HT ニューロンの発火頻度の平均減少量（%±標準誤差）を表している。曲線を描いた点線は回帰直線の標準誤差を表している。2 本の用量-反応曲線の傾きには統計学的な有意差が認められた（$p<0.0001$ Student の t-検定を使用）。

（5）Lu AA21004 の DRN の 5-HT ニューロン発火への作用における 5-HT_3 受容体アゴニスト作用の関与

：添付資料番号 4.2.1.1-54（参考）

麻酔した Sprague-Dawley ラットを用いた *in vivo* 電気生理試験により、Lu AA21004 単独投与又は選択的 5-HT_3 受容体アゴニストである SR57227 併用投与による、DRN における 5-HT ニューロンの発火への急性作用を評価した。複数の異なるラット群に対して、5 mg/kg/日の用量で Lu AA21004 を 5 時間から 14 日間の間、埋め込み浸透圧ミニポンプを用いて持続皮下投与した。記録期間中、ラットを抱水クロラールで麻酔した（400 mg/kg、腹腔内投与）[4.2.1.1-54, 概要表 2.6.3.2B]。

別記の通り（2.6.2.2.2.2 （4））、Lu AA21004 の急性投与（0.25～1.25 mg/kg、静脈内投与）により DRN の 5-HT ニューロン発火は用量依存的に抑制されたが、本試験において 5-HT_3 受容体アゴニスト SR57227（5 μg/kg、静脈内投与）は、Lu AA21004 の発火抑制作用を阻害した（図 2.6.2.2-14）、（表 2.6.2.2-3）、[4.2.1.1-54, 概要表 2.6.3.2B]。

さらに､Lu AA21004 持続投与による 5-HT ニューロン発火頻度の低下からの急速な回復（24 時間）は、5-HT_3 受容体アゴニスト SR57227 の併用により遅延した。これらの所見は、Lu AA21004 の 5-HT_3 受容体アンタゴニスト作用が 5-HT ニューロン発火活動の制御に重要な

役割を果たしているとの見解をさらに裏付けるものであり、この化合物の *in vivo* 薬理学的プロファイル全体に寄与する可能性を示すものである。

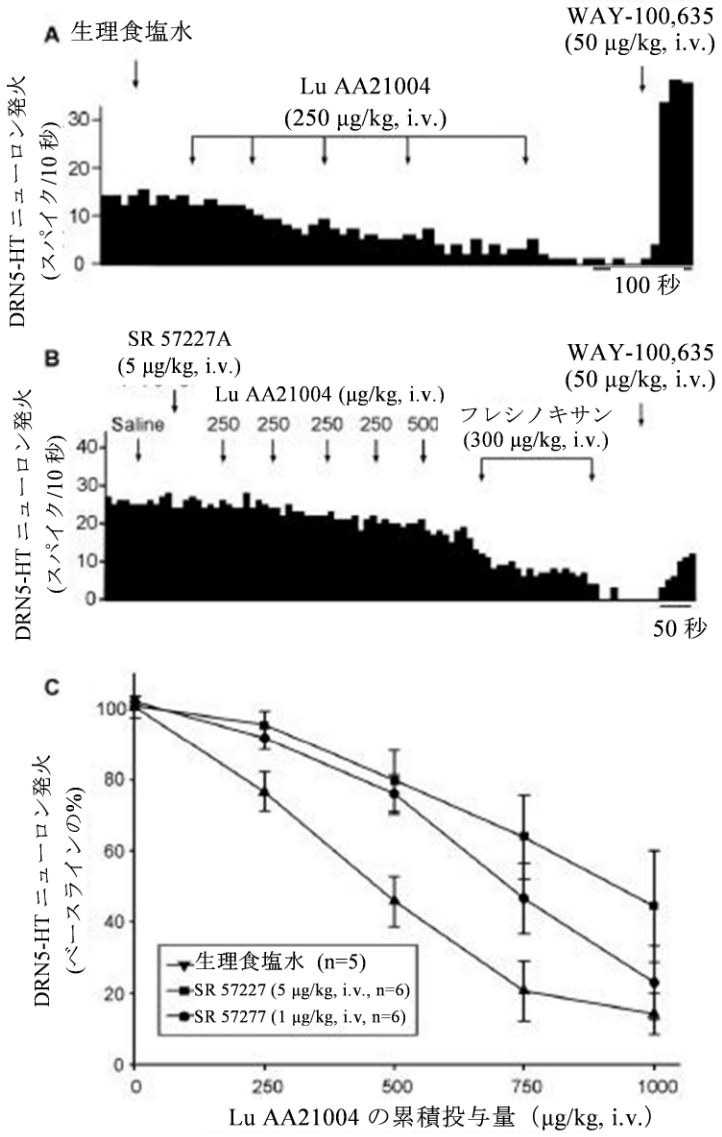


図 2.6.2.2-14　Lu AA21004 を単独で急性投与した場合と Lu AA21004 投与前に 5-HT$_3$ 受容体アゴニスト SR57227 を投与した場合の DRN における 5-HT ニューロンの発火に対する影響の比較

(A) Lu AA21004 の累積投与量（250～1250 µg/kg、静脈内投与）に対する DRN の 5-HT ニューロンの全体的な発火率のヒストグラム
(B) SR57227 ［5 µg/kg, 、静脈内投与（i.v.）］前投与後の Lu AA21004 の累積投与量（250～1500 µg/kg, i.v.）に対する DRN の 5-HT ニューロンの全体的な発火率のヒストグラム
(C) Lu AA21004 単剤投与又は SR57227（1 又は 5 µg/kg, i.v.）前投与時の Lu AA21004 の累積投与（250-1000 µg/kg, i.v.）における抑制作用の用量-反応曲線。各シンボルは DRN の 5-HT ニューロンの発火頻度の平均減少量（%±標準誤差、n=5）を表している。

（6）LC および VTA における NE 及び DA 作動性ニューロン発火への Lu AA21004 の影響：添付資料番号 4.2.1.1-54（参考）

麻酔した Sprague-Dawley ラットを用いた *in vivo* 電気生理試験により、Lu AA21004 投与による DA および NE ニューロンの発火への急性作用を VTA および LC で評価した。Lu AA21004

の累積投与（2.5～10 mg/kg、静脈内投与）の結果、VTA の DA ニューロン発火には影響が見られず、LC の NE ニューロン発火にわずかな影響（20%程度の低下）が認められた（表 2.6.2.2-3）[4.2.1.1-54, 概要表 2.6.3.2B]。

表 2.6.2.2-3　Lu AA21004 の *in vivo* 作用機序試験の概要

試験名	Lu AA21004: 用量 (mg/kg)/ (mg/kg/day) 及び投与方法	血漿曝露量 (ng/mL) (a)	作用 MED (mg/kg) / (mg/kg/day)	添付資料番号
マウスの 5-HTP 誘発行動の増強	3.9, SC 7.9, SC 15.7, SC	約 800 / 約 2000 (b)(c) 約 800 / 約 3400 (b)(c) 約 1400 / 約 8500 (b)(c)	MED 7.9	[4.2.1.1-40]
ラット 5-HT_3 受容体への *in vivo* 力価 全身作用	0.01, 0.03, 0.08, 0.1, 0.3, 0.8, 及び 3, SC	2.72 (d)	0.11 (ED_{50})	[4.2.1.1-46]
オンダンセトロン：	0.003, 0.01, 0.02, 0.03, 0.1, 及び 0.3, SC	0.93 (d)	0.021 (ED_{50})	
ラットへの急性投与による mPFC の 5-HT、NE、DA,グルタミン酸及び ACh の細胞外濃度	2.5, 5, 及び 10, SC	ND	5-HT: 2.5 NE: 5 DA: 10 同じ試験データを異なる手法で解析した論文報告では、DA に対して 5 で作用あり、10 で作用なし。 Glu 及び ACh 濃度に影響なし。	[4.2.1.1-47]及び Mørk 他 [17]
ラットへの急性投与による VHip 及び NAS の 5-HT、NE、DA、グルタミン酸、ACh の細胞外濃度	2.5, 5, 及び 10, SC	ND	5-HT: 2.5 で VHip に作用あり。 NE: 5 で VHip に作用あり。 DA: 5 で VHip に作用あり。 同じ試験データを異なる手法で解析した論文報告では、NE、DA に対して共に 10 で作用あり。 VHip の Glu 及び ACh 濃度に作用なし。 NAS において、NE、DA ではなく、5-HT の濃度が統計学的に有意に上昇した。	[4.2.1.1-48]及び Mørk 他[17]
ラットへの急性投与後の mPFC 及び VHip の ACh （コリンエステラーゼ阻害薬灌流条件下）	2.5, 5, 及び 10, SC	ND	5	[4.2.1.1-49]
ラット mPFC 細胞外 HA 及び GABA 濃度	2.5, 5, 及び 10, SC	ND	HA: 5 GABA 濃度に影響なし。	[4.2.1.1-50]

脚注は巻末に示す。

表 2.6.2.2-3　Lu AA21004 の in vivo 作用機序試験の概要（続き）

試験名	Lu AA21004: 用量 (mg/kg)/ (mg/kg/day) 及び投与方法	血漿曝露量 (ng/mL) (a)	作用 MED (mg/kg) / (mg/kg/day)	添付資料番号
ラットへの 3 日間投与後の VHip の 5-HT 細胞外濃度	2.5, 5, SC, 3 日間	36 87	SERT 占有率 22% ~ 41%	[4.2.1.1-45]
ラットへの 3 日間投与後の mPFC 及び VHip の 5-HT 細胞外濃度	5 及び 10, SC, 3 日間	173（SERT 占有率は約 40%） 411（SERT 占有率は約 60%）	mPFC の 5-HT: 10 及び VHip: 作用なし mPFC 及び VHip の NE: 作用なし mPFC 及び VHip の DA: 作用なし	[4.2.1.1-51]及び Pehrson 他[7]
ラットへの 3 日間投与後の VHip 及び mPFC の 5-HT 細胞外濃度	19 及び 28, SC, 3 日間	曝露データはなし。SERT 占有率は 89%-98%	mPFC 及び VHip の 5-HT: 19 mPFC の NE: 28 VHip の NE: 19 mPFC の DA: 28 VHip の DA: 作用なし	[4.2.1.1-52]及び Pehrson 他[7]
ラット DRN の 5-HT ニューロン発火への作用	0.250 – 1.25, IV 5, SC, 14 日間	ND	急性投与: 0.55（ED_{50}）DRN の 5-HT ニューロン発火活動を抑制。 慢性投与 : 投与後 5 時間及び 10 時間の時点で発火活動を抑制。投与後 24 時間、3, 7, 14 日目に発火頻度が正常化。	[4.2.1.1-53]
フルオキセチン	10, SC, 21 日間		投与 7 日目まで発火活動を抑制。	
ラットの電気生理学的及び神経解剖学的特徴： 5-HT_3 受容体ブロックの重要な役割。	急性投与：0.25-1.25, 0.25-1.5, 及び 2.5-10 IV SR57227 を 1 又は、5 µg/kg 併用 慢性投与：5、SC、14 日間	ND	Lu AA21004 IV は DRN の 5-HT ニューロン発火活動を抑制。SR57227 はこの作用を妨げた。 5-HT ニューロン発火活動の急速（24 時間）な回復は SR57227 の併用によって遅延した。Lu AA21004 の急性及び慢性投与は VTA の DA ニューロン及び LC の NE ニューロンの発火活動に有意な作用を持たなかった。	[4.2.1.1-54]

SC=皮下投与、IV=静脈内投与、ND=測定せず。
(a) Lu AA21004 の換算係数：Y nmol/L = 0.29845 x Y ng/mL
(b) 脳内曝露量の単位：ng/g
(c) 添付資料[4.2.1.1-40]に記載の図 1 から測定。
(d) EC_{50} に相当する血漿濃度。

2.6.2.2.2.3 抗うつ作用の予測モデルにおける行動試験、並びに海馬細胞増殖および成熟に対する影響

試験結果の概要については、表 2.6.2.2-4 に示す。

（1）マウス新規性誘発摂食抑制試験

：添付資料番号 4.2.1.1-55（参考）

オープンフィールドのような新規の嫌悪環境下に置かれたマウスは、空腹時でも摂食しようとしない。抗うつ薬又は抗不安薬の慢性投与により、この摂食潜時が短縮される。新規性誘発摂食抑制に関する本試験において、オープンフィールド環境下の 129SvEvTac マウスを 5 分間観察した。本行動試験の実施前 24 時間、ホームケージからすべての餌を取り除いた。試験時、餌ペレット 1 個（普通食）を箱の中心に置かれた白い紙のプラットフォーム上に置き、摂食潜時を記録した。Lu AA21004 を 5 mg/kg/日の用量で 21 日間経口投与した結果、ホームケージ内での摂食量には影響は見られず、摂食潜時に統計学的に有意な短縮が認められたことから（20 mg/kg/日での経口投与では認められなかった）、Lu AA21004 は抗うつ／抗不安薬様作用を有することが示唆された。この結果は、フルオキセチンを 18 mg/kg/日の用量で 21 日間経口投与した場合に摂食潜時や摂食量への影響が見られなかったという結果とは相反するものであった（n=17）[4.2.1.1-55, 概要表 2.6.3.2B]。公表されている他の試験結果ではフルオキセチンの統計学的に有意な作用が示されているが、これは 28 日間に及ぶ投与の結果に基づいたものである[18]。このため、フルオキセチン投与による作用が見られなかったのは、Lu AA21004 とフルオキセチンに作用発現までの時間に差があることが原因であった可能性がもっとも高いと考えられる。

（2）マウス海馬歯状回における細胞増殖、成熟、生存の測定

：添付資料番号 4.2.1.1-55（参考）

臨床で使用されている抗うつ薬を慢性投与すると、海馬の細胞の増殖率が上昇し、新生ニューロンの成熟及び機能的統合に影響を及ぼすことが明らかとなっている。Lu AA21004 及び対照薬であるフルオキセチンを投与したマウスの 5-ブロモ-2-デオキシウリジン（BrdU）陽性クラスター／細胞数を測定するため、上記新規性誘発摂食抑制試験の 129SvEvTac マウスに BrdU を投与（150 mg/kg、腹腔内投与、安楽死処分 2 時間前）し、細胞増殖を評価した。Lu AA21004 を 5 mg/kg/日の用量で 21 日間経口投与した結果、海馬歯状回において BrdU 様の免疫反応性を認めるクラスター数に統計学的に有意な上昇が認められた（n=6-11）（20 mg/kg/日の用量での 21 日間投与では認められなかった）。

また、新生ニューロン前駆細胞の生存率を評価するため、別のマウス群に投薬開始前の 3 日間、BrdU を 1 日 2 回投与した。Lu AA21004（5 及び 20 mg/kg/日で経口投与）及びフルオキセチン（18 mg/kg/日で経口投与）を 21 日間投与した結果、対照群との比較において、ダブルコルチン陽性未熟型ニューロンに三次元構造の樹枝状分枝の増加が認められた。これらの結果から、新規性誘発摂食抑制試験に有効性を示す用量での Lu AA21004 の持続的な曝露により、神経新生と未熟型ニューロンの成熟が促進されることが示唆された[4.2.1.1-55, 概要表 2.6.3.2B]。

（3）マウス尾懸垂試験

：添付資料番号 4.2.1.1-56（評価）、-57（参考）

抗うつ作用の評価に広く用いられている齧歯類モデルであるマウスの尾懸垂試験で Lu AA21004 を評価した。雄性 BALB/cCr マウスに 1.0, 3.9, 15.7 mg/kg の用量で Lu AA21004