

## マウス拘束ストレスモデルにおいて見出された ミルナシプランの有害作用

梶屋二郎<sup>1,2)</sup> 武田弘志<sup>2)</sup> 辻 稔<sup>2)</sup>  
松宮輝彦<sup>2)</sup> 飯森眞喜雄<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>東京医科大学精神医学講座

<sup>2)</sup>東京医科大学薬理学講座

**【要旨】** 本研究では、マウス拘束ストレスモデルを用いて、フルボキサミン（選択的セロトニン再取込み阻害薬）およびミルナシプラン（セロトニン・ノルアドレナリン再取込み阻害薬）の薬理効果の特徴付けを行った。フルボキサミン（5-20 mg/kg, i.p.）は、拘束ストレス刺激の60分負荷により誘発されるマウスの情動性の低下を、用量依存的かつ有意に抑制した。一方、ミルナシプラン（5-10 mg/kg, i.p.）の投与は、拘束ストレス刺激負荷マウスを用量依存的に致死させた。プロプラノロール（5-20 mg/kg, i.p.; アドレナリン $\beta$ 受容体拮抗薬）、アテノロール（5-20 mg/kg, i.p.; アドレナリン $\beta_1$ 受容体拮抗薬）、メトプロロール（5-20 mg/kg, i.p.; アドレナリン $\beta_1$ 受容体拮抗薬）およびケタンセリン（0.5-2 mg/kg, i.p.; 5-HT<sub>2</sub>受容体拮抗薬）は、いずれもミルナシプラン（20 mg/kg, i.p.）の致死作用を抑制した。しかし、フェントラミン（5-20 mg/kg, i.p.; アドレナリン $\alpha$ 受容体拮抗薬）およびプラゾシン（0.5-2 mg/kg, i.p.; アドレナリン $\alpha_1$ 受容体拮抗薬）は抑制しなかった。また、ミルナシプラン（20 mg/kg, i.p.）は、拘束ストレス刺激負荷マウスの心拍数および収縮期血圧を有意に増加させたが、これらの効果はアテノロール（20 mg/kg, i.p.）の投与により消失した。アテノロール（20 mg/kg, i.p.）投与マウスにおいて、ミルナシプラン（5-20 mg/kg, i.p.）は、拘束ストレス刺激の負荷により誘発される情動性の低下を抑制した。以上の結果より、フルボキサミンは、ストレス刺激が誘因となる情動異常を改善する効果を有することが明らかとなった。さらに、ミルナシプランは、過度のストレス状況下では、アドレナリン $\beta_1$ 受容体および5-HT<sub>2</sub>受容体の活性化を介した循環器系機能の異常を引き起こす可能性が示唆された。

### はじめに

うつ状態ならびに抑うつ気分は、うつ病をはじめとする精神科領域の疾患の中で最も一般的に認められる症状の一つである。世界保健機構（WHO）の報告によれば、2020年には、うつ病を中心とする気分障害が、「人類の生活上の障害となる疾患」の第2位となることが予測されており、現時点においても、「個人や社会に負荷を与える疾患」の第4位に位置づけられている<sup>1)</sup>。また、日本における疫学的調査では、大うつ病性

障害の生涯有病率は14.0%とされており、およそ7人に1人は生涯の中で大うつ病性障害に罹患することが報告されている<sup>2)</sup>。さらに、現代の「ストレス社会」といわれる社会状況を反映して、ライフイベントがストレス源となり発症するうつ病の罹患率は年々上昇の一途をたどっている。すなわち、うつ病はもはや特殊な疾患ではなく、精神科のみならず他の診療科でもうつ病患者に遭遇する機会が増えているのが現状である。

1950年代に三環系抗うつ薬が開発されて以来、本薬

2005年2月3日受付、2005年2月17日受理

キーワード：フルボキサミン、ミルナシプラン、拘束ストレス、情動性、有害作用、マウス

（別冊請求先：〒160-0023 東京都新宿区西新宿6-7-1 東京医科大学精神医学講座 梶屋二郎）

物は、うつ病の薬物療法において中心的役割を担ってきた。しかし、三環系抗うつ薬は、抗うつ効果の発現機序として重要であるセロトニンおよびノルアドレナリン再取り込み阻害作用に加えて、抗コリン作用、抗 $\alpha_1$ アドレナリン作用、キニジン様作用、抗ヒスタミン作用などを有しており、これら非選択的な作用が、臨床上さまざまな副作用をもたらす原因となっていた<sup>3)</sup>。したがって、セロトニンおよびノルアドレナリン再取り込みのみを選択的に阻害する薬物の開発が進められ、近年本邦では、選択的セロトニン再取り込み阻害薬 (selective serotonin reuptake inhibitor: SSRI) としてフルボキサミンおよびパロキセチンが、また、セロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬 (serotonin noradrenaline reuptake inhibitor: SNRI) としてミルナシプランが開発され市場導入されている。

現在、SSRI および SNRI は、その副作用の少なさや安全性の高さからうつ病治療の第一選択薬とされており、精神科のみならず他の診療科での処方量も急激に増加している<sup>4,5)</sup>。また、これに呼応するように、両抗うつ薬のうつ病治療における有効性に関する臨床医学的研究も精力的に行われている<sup>6-8)</sup>。一方、基礎医学の分野では、SNRI の臨床導入時には、既に SSRI が抗うつ薬としての一定の評価を得ていたことに起因してか、両抗うつ薬の薬効の特徴を比較検討した報告は少ない。しかし、今後うつ病患者に対して、科学的根拠に基づいた、より質の高い薬物治療を提供するためには、基礎医学研究において両抗うつ薬の薬効の特徴を明らかにし、その情報を臨床にフィードバックすることが重要である。そこで本研究では、ストレス研究で繁用されるモデル動物である急性拘束ストレスモデル<sup>9-11)</sup>を用いて、フルボキサミンおよびミルナシプランの薬理効果の特徴について、行動薬理学的側面から比較検討した。

## 研究材料および方法

### 1. 実験動物

実験には、体重 30-40 g の健常な ICR 系雄性マウス (日本チャールスリバー) を用いた。マウスは、予備飼育および実験期間を通じて、室温 23±1°C、湿度 55±5% の恒温恒湿条件下で飼育した。また、固形飼料 (MF 固形飼料、オリエンタル酵母工業) および飲料水 (水道水) は自由摂取とし、明暗条件は、6 時点灯-18 時消灯の 12 時間サイクルとした。尚、本研究は、動物

実験に関する日本薬理学会指針および東京医科大学動物実験指針を遵守して行った。

### 2. 使用薬物

実験には、フルボキサミン (SSRI; 明治製菓)、ミルナシプラン (SNRI; 旭化成)、プロプラノロール (アドレナリン $\beta$ 受容体拮抗薬; Sigma)、ナドロール (アドレナリン $\beta$ 受容体拮抗薬; Sigma)、アテノロール (アドレナリン $\beta_1$ 受容体拮抗薬; Sigma)、メトプロロール (アドレナリン $\beta_1$ 受容体拮抗薬; Sigma)、フェントラミン (アドレナリン $\alpha$ 受容体拮抗薬; Sigma)、プラゾシン (アドレナリン $\alpha_1$ 受容体拮抗薬; Sigma) およびケタンセリン (セロトニン (5-hydroxytryptamine; 5-HT)<sub>2</sub>受容体拮抗薬; Sigma) を用いた。プラゾシンおよびケタンセリンは 1% Tween 20 溶液を、また、その他の薬物は生理食塩液を溶媒として用時溶解して使用した。各薬物は、それぞれの溶媒をコントロールとして、10 ml/kg の用量で腹腔内投与 (i.p.) した。

### 3. マウスの情動性の評価

マウスの情動性の評価は、自動ホールボード試験装置 (Model ST-1、室町機械)<sup>12-14)</sup>を用いて行った。

#### 3.1. 健常マウスの情動性の評価

マウスを自動ホールボード試験装置内に入れ、装置内でマウスが示す種々の探索行動 (総移動距離、立ち上がり行動の回数と時間、穴のぞき行動の回数と時間、穴をのぞくまでの潜時) を測定した。フルボキサミン (5-20 mg/kg, i.p.) およびミルナシプラン (5-20 mg/kg, i.p.) は、ホールボード試験開始の 30 分前に投与した。

#### 3.2. 拘束ストレス刺激負荷マウスの情動性の評価

マウスをプラスチック製の円筒 (直径 3 cm、長さ 7 cm) 内に 60 分間強制拘束し、拘束解除直後に、ホールボード装置内における探索行動の変化を 5 分間測定した。フルボキサミン (5-20 mg/kg, i.p.) およびミルナシプラン (5-20 mg/kg, i.p.) は、拘束開始の 30 分前に投与した。また、アテノロール (20 mg/kg, i.p.) は、ミルナシプラン (5-20 mg/kg, i.p.) 投与の 30 分前に投与した。

### 4. 拘束ストレス刺激負荷マウスで認められるミルナシプランの有害作用の評価

#### 4.1. 致死率の評価

マウスに溶媒あるいはミルナシプラン (5-20 mg/kg, i.p.) を投与し、30 分後に拘束ストレス刺激を負荷した。その後 60 分間に死亡するマウスの匹数を検討

し、死亡率 (死亡したマウスの匹数/マウスの総匹数)×100) を算出した。プロプラノロール (5-20 mg/kg, i.p.)、ナドロール (5-20 mg/kg, i.p.)、アテノロール (5-20 mg/kg, i.p.)、メトプロロール (5-20 mg/kg, i.p.)、フェントラミン (5-20 mg/kg, i.p.)、プラゾシン (0.5-2 mg/kg, i.p.) およびケタンセリン (0.5-2 mg/kg, i.p.) は、いずれもミルナシプラン (20 mg/kg, i.p.) 投与の30分前に投与した。

4.2. 血圧および心拍数の評価

マウスに溶媒あるいはミルナシプラン (20 mg/kg, i.p.) を投与し、30分後に拘束ストレス刺激を負荷した。拘束ストレス刺激の負荷開始10分後における心拍数および収縮期血圧を、無加温型非観血式血圧計 (Model MK-2000, 室町機械)<sup>15)</sup> を用いて測定した。また、アテノロール (20 mg/kg, i.p.) は、ミルナシプラン (20 mg/kg, i.p.) 投与の30分前に投与した。

統計処理

統計学的有意差検定には、一元配置分散分析および Student-Newman-Keuls 多重比較検定を用い、危険率 5% 未満 ( $P < 0.05$ ) の場合を有意差有りとして評価した。

結 果

1. 健常マウスの情動性に及ぼすフルボキサミンおよびミルナシプランの影響

健常マウスの情動性に及ぼすフルボキサミンおよ

びミルナシプランの影響を Table 1 および 2 に示した。フルボキサミン (2.5-10 mg/kg, i.p.) (Table 1) およびミルナシプラン (2.5-10 mg/kg, i.p.) (Table 2) の投与は、ともにホールボード装置内でのマウスの探索行動に有意な影響を与えなかった。

2. 拘束ストレス刺激の負荷が誘発する情動変化に対するフルボキサミンの効果

ストレス刺激の負荷が誘発する情動性の変化に対するフルボキサミンの効果を Fig. 1 に示した。拘束ストレス刺激の負荷により、マウスの移動距離の短縮、立ち上がり行動の回数と時間の減少、穴のぞき行動の回数と時間の減少、および穴をのぞくまでの潜時の延長、などの探索行動の低下が誘発された。これらの行動変化の中でも移動距離の短縮のみが、フルボキサミン (5-20 mg/kg, i.p.) の投与により用量依存性的かつ有意に抑制された (Fig. 1A)。

3. 拘束ストレス刺激負荷マウスにおけるミルナシプランの致死作用

フルボキサミンと同様に、拘束ストレス刺激の負荷が誘発する情動性の変化に対するミルナシプランの効果についても検討を試みた。しかし、ミルナシプラン (5-10 mg/kg, i.p.) の投与は、拘束ストレス刺激負荷マウスを用量依存的に致死させた (Fig. 2)。

Table 1 Effect of fluvoxamine on exploratory behavior in mice tested on the help-board

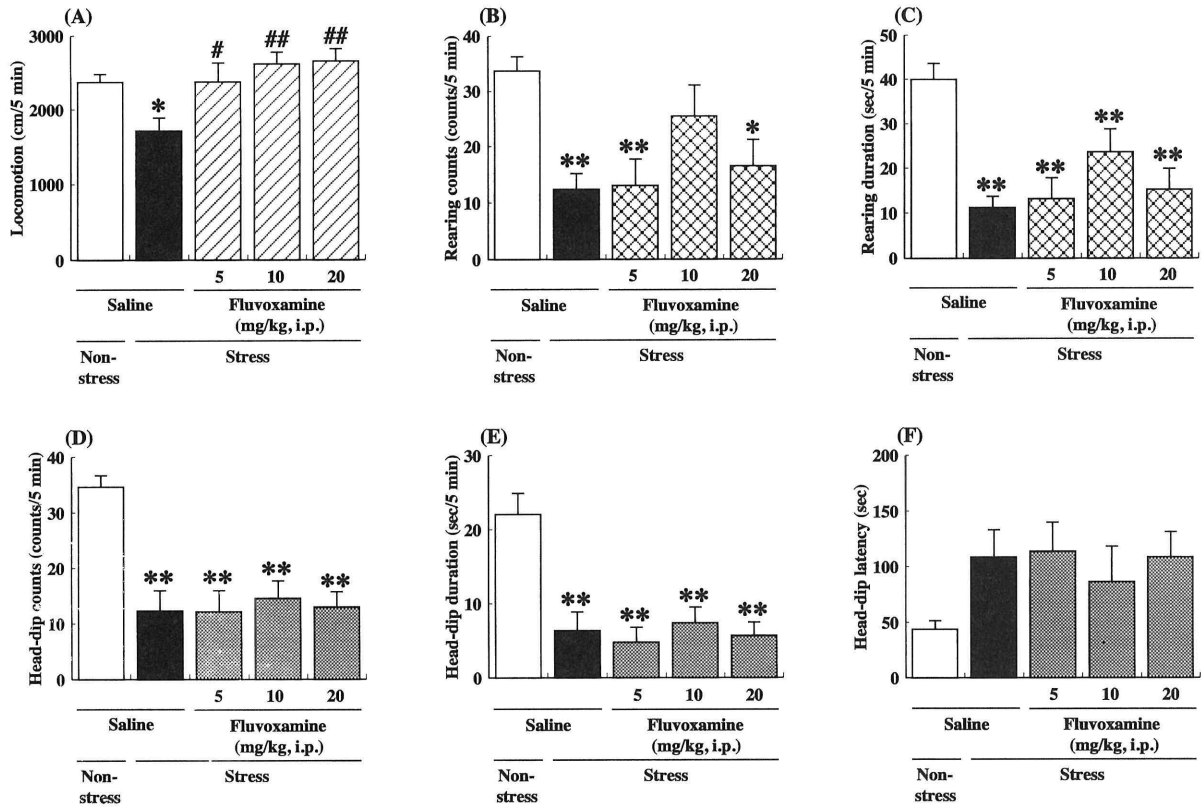
Drug treatment	Locomotion (cm)	Rearing		Head-dips		
		Counts	Duration (sec)	Counts	Duration (sec)	Latency (sec)
Saline	2,489.0±102.1	34.7±6.5	42.5±9.0	30.9±4.8	15.5±2.6	35.5± 9.7
Fluvoxamine (5)	2,607.0±158.1	30.8±4.7	34.6±7.5	28.1±2.6	20.9±3.0	46.3± 8.3
	(10) 2,797.7± 75.3	37.7±4.0	37.4±4.0	24.9±3.2	14.9±2.6	45.4±12.0
	(20) 2,650.6± 89.1	26.7±4.1	26.7±4.1	24.2±2.5	13.0±2.4	45.0± 7.2

Fluvoxamine (5-20 mg/kg, i.p.) or saline (10 ml/kg, i.p.) was injected 30 min prior to the measurement of exploratory behavior of mice on the hole-board. Each column represents the mean with S.E.M. of 7-9 mice.

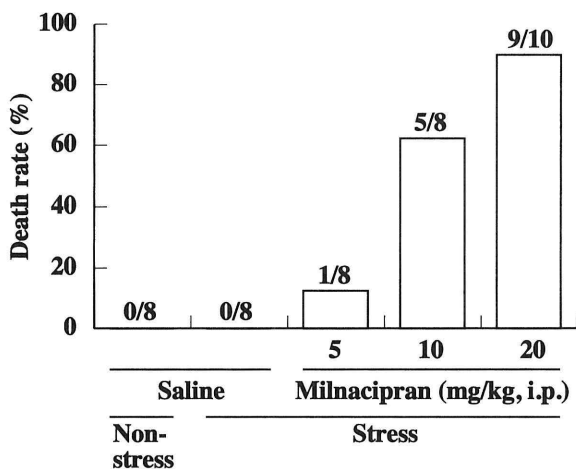
Table 2 Effect of milnacipran on exploratory behavior in mice tested on the help-board

Drug treatment	Locomotion (cm)	Rearing		Head-dips		
		Counts	Duration (sec)	Counts	Duration (sec)	Latency (sec)
Saline	2,426.8±132.7	33.6±2.6	36.1±5.2	32.5±3.4	18.7±3.1	30.9±6.5
Milnacipran (5)	2,657.7±118.2	33.8±3.5	41.2±6.2	29.3±3.0	14.8±1.9	22.8±6.1
	(10) 2,361.8±100.6	30.4±2.5	37.2±5.0	26.0±2.6	15.3±2.2	34.8±7.7
	(20) 2,341.2±112.6	30.6±3.3	32.5±4.9	25.2±2.1	14.4±1.7	41.1±8.6

Milnacipran (5-20 mg/kg, i.p.) or saline (10 ml/kg, i.p.) was injected 30 min prior to the measurement of exploratory behavior of mice on the hole-board. Each column represents the mean with S.E.M. of 8-9 mice.



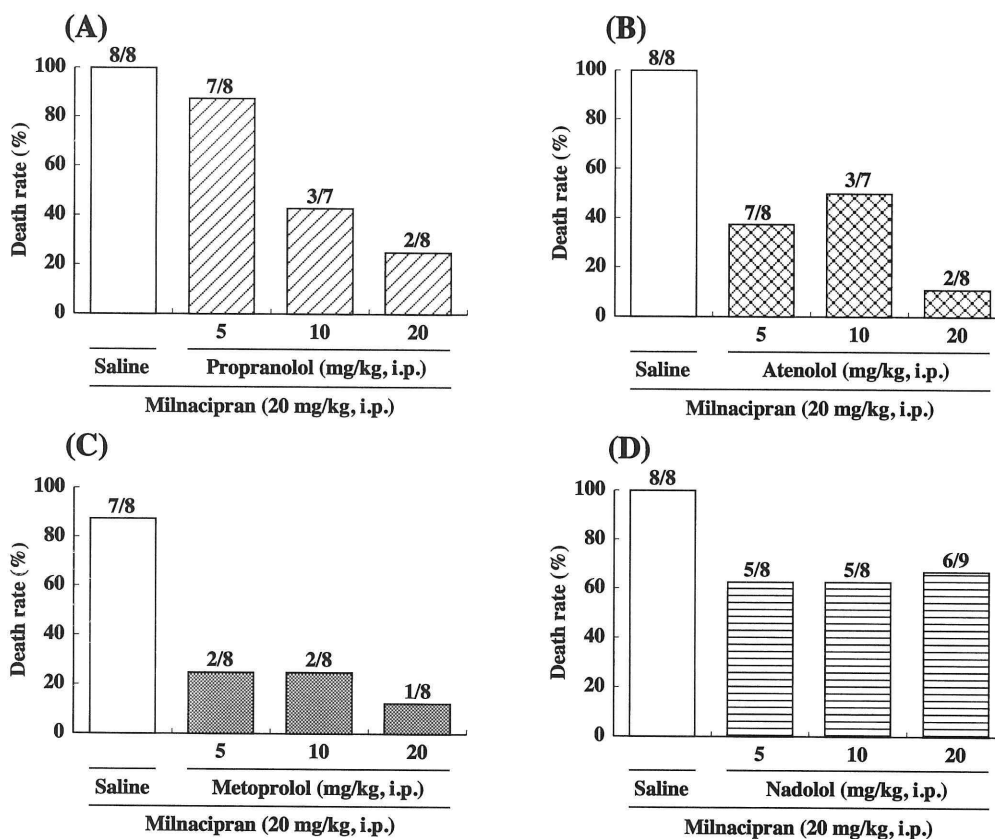
**Fig. 1** Effect of fluvoxamine on the restraint stress-induced decrease in exploratory behavior of mice in the hole-board test. Mice were given fluvoxamine (5-20 mg/kg, i.p.) or saline (10 ml/kg, i.p.). Thirty minutes later, mice were exposed to acute restraint stress (60 min), and exploratory behavior on the hole-board was then measured for 5 min. Each column represents the mean with S.E.M. of 10-11 mice. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs. saline plus non-stressed group. # $P < 0.05$ , ## $P < 0.01$  vs. saline plus stressed group.



**Fig. 2** Fatal effect of milnacipran in mice exposed to restraint stress. Mice were given milnacipran (20 mg/kg, i.p.) or saline (10 ml/kg, i.p.), and 30 min later were exposed to acute restraint stress for 60 min. Each column represents the percentage of deaths of 8-10 mice.

#### 4. 拘束ストレス刺激負荷マウスにおけるミルナシプランの致死作用に及ぼすアドレナリンβ受容体拮抗薬の影響

拘束ストレス刺激負荷マウスにおけるミルナシプランの致死作用に及ぼすアドレナリンβ受容体拮抗薬の影響を Fig. 3 に示した。ミルナシプラン (20 mg/kg, i.p.) の投与により誘発される致死作用は、アドレナリンβ受容体拮抗薬であるプロプラノロール (5-20 mg/kg, i.p.) の前投与により用量依存的に抑制された (Fig. 3A)。また、同様の抑制効果は、アドレナリンβ<sub>1</sub>受容体拮抗薬であるアテノロール (5-20 mg/kg, i.p.) (Fig. 3B) およびメトプロロール (5-20 mg/kg, i.p.) (Fig. 3C) の前投与によっても認められた。一方、中枢移行性に乏しいアドレナリンβ受容体遮断薬であるナドロール (5-20 mg/kg, i.p.) の前投与は、ミルナシプラン (20 mg/kg, i.p.) の致死作用を部分的に抑制するのみであった (Fig. 3D)。



**Fig. 3** Effects of  $\beta$ -adrenoceptor antagonists on the fatal effect of milnacipran in mice exposed to restraint stress. Mice were administered with milnacipran (20 mg/kg, i.p.) or saline (10 ml/kg, i.p.), and 30 min later, acute restraint stress was applied for 60 min. Pretreatment with propranolol (5–20 mg/kg, i.p.), nadolol (5–20 mg/kg, i.p.), atenolol (5–20 mg/kg, i.p.) or metoprolol (5–20 mg/kg, i.p.) was given 30 min prior to administration of milnacipran (20 mg/kg, i.p.). Each column represents the percentage of deaths of 8–9 mice.

**5. 拘束ストレス刺激負荷マウスにおけるミルナシプランの致死作用に及ぼすアドレナリン  $\alpha$  受容体拮抗薬の影響**

拘束ストレス刺激負荷マウスにおけるミルナシプランの致死作用に及ぼすアドレナリン  $\alpha$  受容体拮抗薬の影響を Fig. 4 に示した。アドレナリン  $\alpha$  受容体拮抗薬であるフェントラミン (5–20 mg/kg, i.p.) (Fig. 4A) およびアドレナリン  $\alpha_1$  受容体拮抗薬であるプラゾシン (Fig. 4B) の前投与は、ともにミルナシプラン (20 mg/kg, i.p.) の致死作用に影響を与えなかった。

**6. 拘束ストレス刺激負荷マウスの心拍数および血圧に対するミルナシプランの効果**

拘束ストレス刺激負荷マウスの心拍数および収縮期血圧に対するミルナシプランの効果を Fig. 5 に示した。ミルナシプラン (20 mg/kg, i.p.) の投与により、マウスの心拍数は有意に増加した (Fig. 5A)。また、収縮期血圧には個体間のばらつきが生じたが、平均値は有意に上昇した (Fig. 5B)。さらに、これら心拍数および収縮期血圧の変化は、アテノロール (20 mg/kg, i.p.)

の投与により有意に抑制された。

**7. 拘束ストレス刺激負荷マウスにおけるミルナシプランの致死作用に及ぼす 5-HT<sub>2</sub> 受容体拮抗薬の影響**

拘束ストレス刺激負荷マウスにおけるミルナシプランの致死作用に及ぼす 5-HT<sub>2</sub> 受容体拮抗薬の影響を Fig. 6 に示した。ミルナシプラン (20 mg/kg, i.p.) の投与により誘発される致死作用は、5-HT<sub>2</sub> 受容体拮抗薬であるケタンセリン (0.5–2 mg/kg, i.p.) の前投与により用量依存的に抑制された。

**8. 拘束ストレス刺激の負荷が誘発するアテノロール投与マウスの情動変化に対するミルナシプランの効果**

拘束ストレス刺激の負荷が誘発するアテノロール投与マウスの情動変化に対するミルナシプランの効果を Fig. 7 に示した。ホールボード装置内におけるアテノロール投与マウスの探索行動は、拘束ストレス刺激の負荷により著明に低下した。また、ミルナシプラン (5–20 mg/kg, i.p.) の投与は、フルボキサミンと同

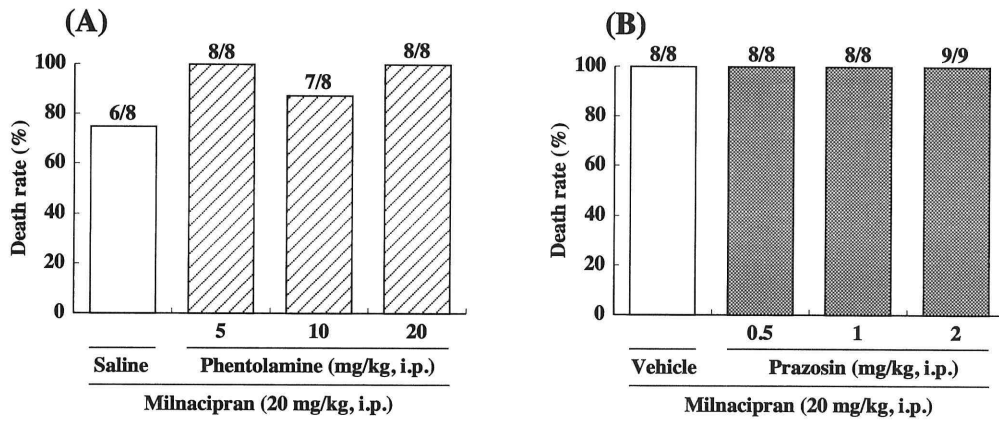


Fig. 4 Effects of  $\alpha$ -adrenoceptor antagonists on the fatal effect of milnacipran in mice exposed to restraint stress. Mice were given milnacipran (20 mg/kg, i.p.) or saline (10 ml/kg, i.p.), and 30 min later, acute restraint stress was applied for 60 min. Pretreatment with phentolamine (5–20 mg/kg, i.p.) or prazosin (0.5–2 mg/kg, i.p.) was given 30 min prior to administration of milnacipran (20 mg/kg, i.p.). Each column represents the percentage of deaths of 8–9 mice.

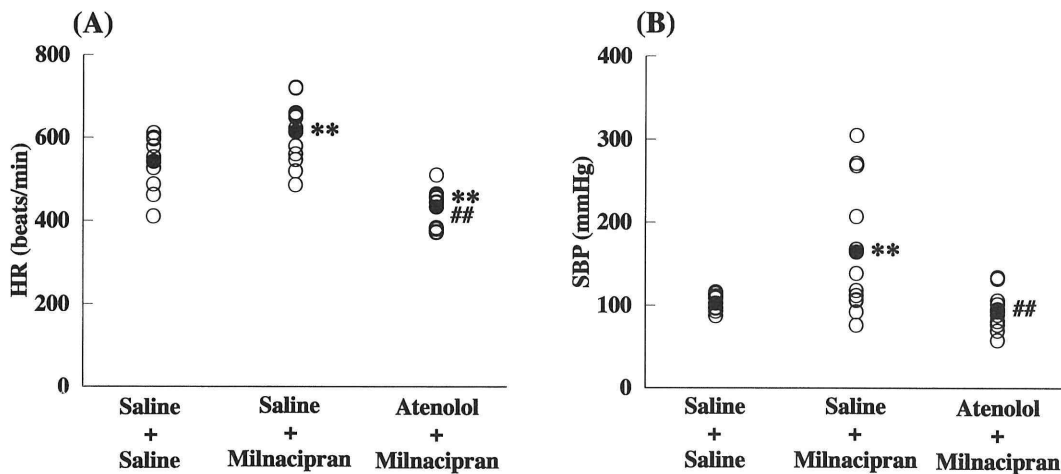


Fig. 5 Effects of milnacipran on the heart rate and blood pressure of mice exposed to restraint stress. Mice were given milnacipran (20 mg/kg, i.p.) or saline (10 ml/kg, i.p.), and 30 min later acute restraint stress was applied. Heart rate (HR) and systolic blood pressure (SBP) were measured 10 min after the start of exposure to restraint stress. Pretreatment with atenolol (20 mg/kg, i.p.) was given 30 min prior to administration of milnacipran (20 mg/kg, i.p.). Each point represents the individual level of HR or SBP of 11–12 mice (solid dots represent the mean of each group). \*\* $P < 0.01$  vs. saline plus saline group. ## $P < 0.01$  vs. saline plus milnacipran group.

様に、移動距離の短縮のみを用量依存的かつ有意に抑制した (Fig. 7A)。

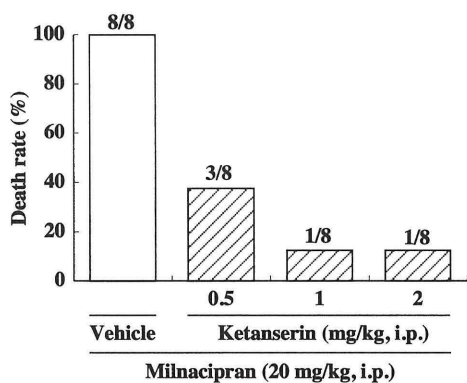
### 考 察

本研究では、まず新奇環境であるホールボード試験装置内でのマウスの探索行動を指標として、健常マウスの情動性に及ぼす SSRI であるフルボキサミンおよび SNRI のミルナシプランの影響について検討した。その結果、フルボキサミンおよびミルナシプランは、ともにマウスの探索行動に特筆すべき変化を生じさせなかった。これらの結果は、両薬物が、健常状態における情動性に対しては特に影響を及ぼさない薬物

であることを示唆する。さらに、拘束ストレス刺激の負荷は、マウスのホールボード試験装置内での探索行動を著明に抑制したが、これら探索行動の変化の一部 (移動距離の短縮) は、フルボキサミンの投与により用量依存的かつ有意に抑制された。したがって、フルボキサミンは、ストレス刺激が誘因となる情動異常を改善する効果を有することが明らかとなり、この効果が、ストレス刺激がリスクファクターとなるうつ病や不安障害などの気分障害に対するフルボキサミンの有効性に関与しているものと考えられる。

一方、フルボキサミンと同様に、拘束ストレス刺激負荷マウスの情動変化に対するミルナシプランの効



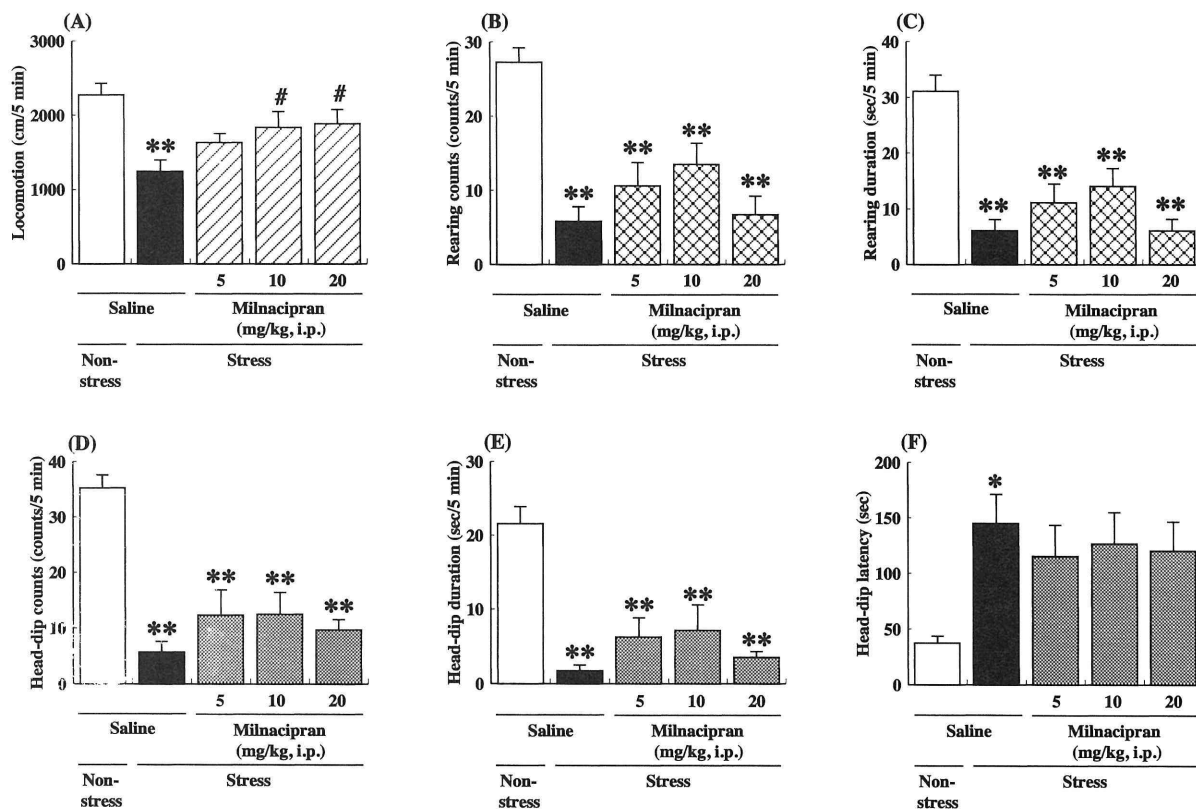


**Fig. 6** Effects of 5-HT<sub>2</sub> receptor antagonist on the fatal effect of milnacipran in mice exposed to restraint stress. Mice were given milnacipran (20 mg/kg, i.p.) or saline (10 ml/kg, i.p.), and 30 min later, acute restraint stress was applied for 60 min. Pretreatment with ketanserin (0.5–2 mg/kg, i.p.) was given 30 min prior to administration of milnacipran (20 mg/kg, i.p.). Each column represents the percentage of deaths of 8 mice.

果についても検討を試みたところ、ミルナシプランは、拘束ストレス刺激負荷マウスを用量依存的に致死させた。この結果を、ミルナシプランが、フルボキサ

ミン<sup>16)</sup>とは異なり、セロトニンとともにノルアドレナリンの再取り込みをも阻害し、シナプス間隙のセロトニンおよびノルアドレナリン量を増大させる<sup>17)</sup>ことや、イミプラミンに代表される三環系抗うつ薬とは異なり、他の各種神経伝達物質の受容体への親和性が極めて低いこと<sup>18)</sup>、さらに、ストレス刺激がノルアドレナリン神経系を活性化する<sup>19–23)</sup>などの従来の報告と考え合わせると、拘束ストレス刺激負荷マウスで認められたミルナシプランの致死作用の発現機構には、主としてノルアドレナリン神経系の過度の活性化が関与していることが推察される。

ノルアドレナリンは、アドレナリン  $\alpha$  および  $\beta$  受容体を介して種々の生理活性を発現する。そこで、本研究では、拘束ストレス刺激負荷マウスで認められたミルナシプランの致死作用に及ぼす各種アドレナリン  $\alpha$  および  $\beta$  受容体拮抗薬影響について検討した。その結果、ミルナシプランの致死作用は、アドレナリン  $\beta$  受容体拮抗薬であるプロプラノロールの併用投与により抑制された。また、同様の抑制効果は、アド



**Fig. 7** Effect of milnacipran on the restraint stress-induced decrease in exploratory behavior of atenolol-pretreated mice in the hole-board test. Mice were administered with milnacipran (5–20 mg/kg, i.p.) or saline (10 ml/kg, i.p.). Thirty minutes later, mice were exposed to acute restraint stress (60 min), and exploratory behaviors on the hole-board were then measured for 5 min. Pretreatment with atenolol (20 mg/kg, i.p.) was given 30 min prior to administration of milnacipran (20 mg/kg, i.p.). Each column represents the mean with S.E.M. of 11–12 mice. \*\* $P < 0.01$  vs. saline plus non-stressed group. # $P < 0.05$  vs. saline plus stressed group.

レナリン  $\beta_1$  受容体拮抗薬であるアテノロールおよびメトプロロールの併用投与によっても認められた。一方、アドレナリン  $\alpha$  受容体拮抗薬であるフェントラミンおよびアドレナリン  $\alpha_1$  受容体拮抗薬であるプラゾシンは、何の特筆すべき効果を示さなかった。したがって、拘束ストレス刺激負荷マウスにおけるミルナシプランの致死作用の発現機構として、アドレナリン  $\beta$  受容体、特に  $\beta_1$  受容体の活性化の関与が示唆される。また、中枢移行性に乏しいアドレナリン  $\beta$  受容体遮断薬であるナドロール<sup>24-26)</sup> の効果についても検討したところ、本薬物の抑制効果は部分的なものであった。プロプラノロール、アテノロールおよびメトプロロールはいずれも中枢移行性が高い<sup>24-26)</sup> ことを考慮すると、ミルナシプランの致死作用の発現には、末梢組織のみならず脳内に存在するアドレナリン  $\beta$  受容体の活性化も一部関与していることが示唆される。

これまでに、ヒト対象の研究において、強度の身体的・精神的ストレスにより副腎髄質や交感神経末端からのアドレナリン・ノルアドレナリン分泌が増加し、血圧の上昇をきたすことが明らかにされている<sup>19,20)</sup>。また、同様の知見は、マウスあるいはラットを用いた基礎医学研究においても報告されている<sup>21-23)</sup>。そこで、本研究では、拘束ストレス刺激負荷マウスの心拍数と収縮期血圧に及ぼすミルナシプランの影響について検討した。その結果、ミルナシプランの投与により、心拍数および収縮期血圧の上昇が惹起された。さらに、これらミルナシプランの効果は、アテノロールの併用投与により抑制された。したがって、前述したように、ミルナシプランの致死作用がアドレナリン  $\beta_1$  受容体拮抗薬の併用により抑制されることを踏まえると、拘束ストレス状況下では、ミルナシプランの投与によりアドレナリン  $\beta_1$  受容体を介した循環器系機能の過剰亢進が引き起こり、このことが致死作用発現の一因となっている可能性が示唆される。

また、本研究では、ミルナシプランはノルアドレナリン神経系のみならずセロトニン神経系をも活性化すること、5-HT<sub>2</sub> 受容体が血管平滑筋の収縮機構に関与していること<sup>27)</sup>、さらに欧米では5-HT<sub>2</sub> 受容体拮抗薬であるケタンセリンが降圧薬として臨床使用されていること<sup>28)</sup> を考慮し、ミルナシプランの致死作用に及ぼすケタンセリンの影響についても検討した。その結果、ケタンセリンの併用投与によってもミルナシプランの致死作用は抑制された。したがって、ミルナシプランの致死作用の発現には、5-HT<sub>2</sub> 受容体の活

性化も関与していることが示唆される。しかし、本研究において、セロトニン神経系に選択的に作用するフルボキサミンは致死作用を示さなかったことを考え合わせると、ミルナシプランの致死作用が発現する主たる要因はノルアドレナリン神経系 (特に  $\beta_1$  受容体) の過度の活性化であり、5-HT<sub>2</sub> 受容体はこの機序に対して補足的に働きかけていることが考えられる。

前述のように、アテノロールがミルナシプランの致死作用を抑制したことから、本研究の最後では、アテノロール処置マウスに拘束ストレス刺激を負荷することで惹起される情動変化に対するミルナシプランの効果について、ホールボード試験を用いて検討した。その結果、ミルナシプランは、フルボキサミンと同様に、拘束ストレス刺激の負荷により低下する探索行動の一部 (移動距離の短縮) を、用量依存性的かつ有意に抑制した。したがって、ミルナシプランも、アドレナリン  $\beta_1$  受容体が遮断された条件下では、ストレス刺激が誘因となる情動異常に対する抑制効果を示すことが明らかとなった。

近年の臨床研究では、SSRI と比較して、SNRI の方がより強力な抗うつ効果を示すこと<sup>6-8)</sup> や、即効性に長けていること<sup>6,7)</sup> が報告されている。これらの報告は、セロトニン神経系のみを標的とするいわゆる“シングルアクション”のSSRI よりも、セロトニン神経系とノルアドレナリン神経系を標的とする“デュアルアクション”のSNRI の方が、うつ病に対する治療効果が高いことを示唆する。さらに、SSRI とSNRI は、ともに三環系抗うつ薬と比較して副作用が軽度であることが知られているが<sup>8,29)</sup>、特にミルナシプランに関しては、SSRI で問題となっている肝代謝酵素チトクローム P450 の阻害作用も有していないことから、併用注意・禁忌の薬剤がほとんど存在しない<sup>30)</sup>。したがって、安全性の面からみても、ミルナシプランは、フルボキサミンをはじめとするSSRI と比較して、すぐれた薬物であることが示唆されている。しかし、本研究では、拘束ストレスという、循環器系に負荷のかかる強度のストレス状況下では、ミルナシプランが致死作用を示すことが明らかとなった。これまでに、SNRI の投与により、血圧の上昇をはじめとする種々の循環器系への影響が出現することがヒトにおいても報告されている<sup>31-33)</sup>。したがって、本研究結果は、ミルナシプランは、うつ病の治療薬として有効性、即効性、安全性、いずれにおいても優れた薬物であるものの、特に循環器系に過度の負荷がかかるような状況下では、



その使用に注意を払う必要があることを示唆する。

## 結 論

本研究では、急性拘束ストレスモデルを用いて、フルボキサミンおよびミルナシプランの薬理効果の特徴付けを行動薬理学的側面から行い、以下の知見を得た。

1. SSRIであるフルボキサミンは、マウスに拘束ストレス刺激を負荷することにより誘発される情動性の低下を、用量依存的かつ有意に抑制した。

2. SNRIのミルナシプランは、拘束ストレス刺激負荷マウスを用量依存的に致死させた。

3. アドレナリン $\beta$ 受容体拮抗薬であるプロプラノロールおよびナドロール、アドレナリン $\beta_1$ 受容体拮抗薬であるアテノロールおよびメトプロロール、5-HT $_2$ 受容体拮抗薬であるケタンセリンは、いずれもミルナシプランの致死作用を抑制した。

4. ミルナシプランは、拘束ストレス刺激負荷マウスの心拍数および収縮期血圧を有意に上昇させ、これらミルナシプランの効果はアテノロールにより抑制された。

5. ミルナシプランは、アテノロール投与マウスにおいて、拘束ストレス刺激の負荷により誘発される情動性の低下を抑制した。

6. 以上の結果より、フルボキサミンはマウス拘束ストレスモデルにおいて、ストレス刺激が誘因となる情動異常を改善する効果を有することが明らかとなった。またミルナシプランは、過度のストレス状況下では、アドレナリン $\beta_1$ 受容体および5-HT $_2$ 受容体の活性化を介した循環器系機能の異常を引き起こす可能性が示唆された。しかしアドレナリン $\beta_1$ 受容体を遮断した状態ではミルナシプランもマウス拘束ストレスモデルにおいて、ストレス刺激が誘因となる情動異常を改善する効果を有することが明らかとなった。

## 文 献

- 1) Kendell RE: Much diversities, many categories, no entities. In May M, Sartorius N (Eds): *Depressive Disorders*. John Wiley, Chichester, pp. 52-54, 1999
- 2) Kawakami N, Iwata N, Tanigawa T, Tanigawa T, Oga H, Araki S, Fujihara S, Kitamura T: Prevalence of mood and anxiety disorders in a working population in Japan. *J Occup Environ Med* **38**: 899-905, 1996

- 3) Delini-Stula A, Milnacipran: An antidepressant with dual selectivity of action on noradrenaline and serotonin uptake. *Hum Psychopharmacol Clin Exp* **15**: 255-260, 2000
- 4) Olfson M, Marcus SC, Pincus HA, Zito JM, Thompson JW, Zarin DA: Antidepressant prescribing practices of outpatient psychiatrists. *Arch Gen Psychiatry* **55**: 310-316, 1998
- 5) 山田和夫: うつ病、うつ状態に対する各新規抗うつ薬の有用性と安全性。 *臨床精神薬理* **5**: 701-713, 2002
- 6) Lopez-Ibor J, Guelfi JD, Pletan Y, Tournoux A, Prost JF: Milnacipran and selective serotonin reuptake inhibitors in major depression. *Int Clin Psychopharmacol* **11**: 41-46, 1996
- 7) Clerc G and the Milnacipran/Fluvoxamine Study group: Antidepressant efficacy and tolerability of milnacipran, a dual serotonin and noradrenaline reuptake inhibitor: a comparison with fluvoxamine. *Int Clin Psychopharmacol* **16**: 145-151, 2001
- 8) Puech A, Montgomery SA, Prost JF, Solles A, Briley M: Milnacipran, a new serotonin and noradrenaline reuptake inhibitor: an overview of its antidepressant activity and clinic tolerability. *Int Clin Psychopharmacol* **12**: 99-108, 1997
- 9) 小手川勤、盛政忠臣、金行孝雄、岡田英俊、庄盛敏廉、中野重行: 急性および慢性拘束ストレスによる脳内セロトニンおよびドパミン代謝回転の変化。 *NEUROSCIENCES* **18**: 49-52, 1992
- 10) Tanaka M, Ida Y, Tsuda A: Effects of various stresses on brain noradrenaline metabolism and their modifications by the anxiolytic drug, diazepam. *Shinshin-Igaku* **27**: 765-772, 1987
- 11) Tanaka M, Kohno Y, Tsuda A, Nakagawa R, Ida Y, Iimori K, Hoaki Y, Nagasaki N: Differential effects of morphine on noradrenaline release in brain regions of stressed and non-stressed rats. *Brain Res* **275**: 105-115, 1983
- 12) Takeda H, Tsuji M, Matsumiya T: Changes in head dipping behavior in the hole-board test reflect the anxiogenic and/or anxiolytic state in mice. *Eur J Pharmacol* **350**: 21-29, 1998
- 13) Tsuji M, Takeda H, Matsumiya T: Different effects of 5-HT $_{1A}$  receptor agonists and benzodiazepine anxiolytics on the emotional state of naive and stressed mice: a study using the hole-board test. *Psychopharmacology* **152**: 157-166, 2000
- 14) Tsuji M, Takeda H, Matsumiya T: Protective effects of 5-HT $_{1A}$  receptor agonists against emotional changes produced by stress stimuli are related to their neuroendocrine effects. *Br J Pharmacol* **134**: 598-595, 2001
- 15) Kato Y, Iwase M, Kanazawa H, Nishizawa T, Zhao YL, Takagi K, Nagata K, Noda A, Koike Y, Yokota M: Validity and application of noninvasive measurement of blood pressure in hamsters. *Exp*

- Anim **52**: 359-363, 2003
- 16) 笹 征史: SSRI の薬効・薬理。臨床精神薬理 **2**: 721-727, 1999
  - 17) 北村佳久、長谷 忠、高尾勝幸、橋本伸二、笠原憲一、望月大介、山田慎二、佐々木泰治、小山 司: 新規抗うつ薬 Milnacipran の薬理学的作用の検討。神経精神薬理 **17**: 25-34, 1995
  - 18) Mochizuki D, Tsujita R, Yamada S, Kawasaki K, Otsuka Y, Hashimoto S, Hattori T, Kitamura Y, Miki N: Neurochemical and behavioural characterization of milnacipran, a serotonin and norepinephrine reuptake inhibitor in rats. Psychopharmacology **162**: 323-332, 2002
  - 19) Herd JA: Cardiovascular response to stress. Physiol Rev **71**: 305-330, 1991
  - 20) Dimsdale JE, Moss J: Plasma catecholamines in Stress and Exercise. JAMA **243**: 340-342, 1980
  - 21) Bernatova I, Key MP, Lucot JB, Morris M: Circadian differences in stress-induced pressure reactivity in mice. Hypertension **40**: 768-773, 2002
  - 22) Takita M, Kigoshi S, Muramatsu I: Effects of bevantolol HCL on immobilization stress-Induced hypertension and central  $\beta$ -adrenoceptors in rats. Pharmacol Biochem Behav **45**: 623-627, 1993
  - 23) Takita M, Oda Y, Kigoshi S, Muramatsu I: Effects of propranolol and atenolol on immobilization stress-induced hypertension and down-regulation of central  $\beta$ -adrenoceptors in rats. Pharmacol Biochem Behav **50**: 225-232, 1995
  - 24) Woods PB, Robinson ML: An investigation of the comparative liposolubilities of beta-adrenoceptor blocking agents. J Pharm Pharmacol **33**: 172-173, 1981
  - 25) Cruickshank JM, Neil-Dwyer G:  $\beta$ -blocker brain concentrations in man. Eur J Clin Pharmacol **28**: 21-23, 1985
  - 26) Cruickshank JM, Neil-Dwyer G, Cameron MM, Mcainsh J:  $\beta$ -adrenoceptor-blocking agents and the blood-brain barrier. Clinical Science **59**: 453-455, 1980
  - 27) Yildiz O, Smith JR, Purdy RE: Serotonin and vasoconstrictor synergism. Life Sci **19**: 1723-1732, 1998
  - 28) Breckenridge A: Ketanserin- a new antihypertensive agents. J Hypertens **4**: 13-16, 1986
  - 29) Montgomery SA, Prost JF, Solles A, Briley M: Efficacy and tolerability of milnacipran: an overview. Int Clin Psychopharmacol **11**: 47-51, 1996
  - 30) 鶴田一壽、鶴井一幸、岡崎勝也、植田幸治、川澄さと子、島田典招、澤田康文: 塩酸ミルナシプランのヒト P-450 を介する薬物相互作用の検討。医薬品研究 **31**: 659-667, 2000
  - 31) Yoshida K, Higuchi H, Takahashi H, Shimizu T: Elevation of blood pressure induced by high-dose milnacipran. Hum Psychopharmacol Clin Exp **17**: 431, 2002
  - 32) Caron J, Libersa C, Hazard JR, Lacroix D, Faq E, Guedon-Moreau L, Fautrez V, Solles A, Puozzo C, Kacet S, Thomas C, Dupuis B, Lekieffre J: Acute electrophysiological effects of intravenous milnacipran, a new antidepressant agent. Eur Neuropsychopharmacol **3**: 493-500, 1993
  - 33) Thase ME: Effects of venlafaxine on blood pressure: a meta-analysis of original data from 3744 depressed patients. J Clin Psychiatry **59**: 502-508, 1998

## Adverse effects of milnacipran in restraint-stressed mice

Jiro MASUYA<sup>1,2</sup>, Hiroshi TAKEDA<sup>2</sup>, Minoru TSUJI<sup>2</sup>,  
Teruhiko MATSUMIYA<sup>2</sup>, Makio IIMORI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Psychiatry, Tokyo Medical University

<sup>2</sup>Department of Pharmacology, Tokyo Medical University

**Abstract**

The present study was designed to characterize the pharmacological effects of fluvoxamine (selective serotonin reuptake inhibitor) and milnacipran (serotonin noradrenaline reuptake inhibitor) using a restraint-stressed model in mice. Fluvoxamine (5–20 mg/kg, i.p.) dose-dependently and significantly inhibited the decrease in emotionality induced by exposure to restraint stress in mice. In contrast, milnacipran (5–10 mg/kg, i.p.) dose-dependently caused death in restraint-stressed mice. The fatal effect of milnacipran (20 mg/kg, i.p.) was suppressed by propranolol (5–20 mg/kg, i.p.;  $\beta$ -adrenoceptor antagonist), atenolol (5–20 mg/kg, i.p.;  $\beta_1$ -adrenoceptor antagonist), metoprolol (5–20 mg/kg, i.p.;  $\beta_1$ -adrenoceptor antagonist) and ketanserin (0.5–2 mg/kg, i.p.; 5-HT<sub>2</sub> receptor antagonist), whereas phentolamine (5–20 mg/kg, i.p.;  $\alpha$ -adrenoceptor antagonist) and prazosin (0.5–2 mg/kg, i.p.;  $\alpha_1$ -adrenoceptor antagonist) were ineffective. Milnacipran (20 mg/kg, i.p.) increased the heart rate and systolic blood pressure of restraint-stressed mice, and these effects of milnacipran were also suppressed by atenolol (20 mg/kg, i.p.). Furthermore, milnacipran (5–20 mg/kg, i.p.) inhibited the decrease in emotionality induced by restraint stress in mice pretreated with atenolol (20 mg/kg, i.p.). These results indicate that both fluvoxamine and milnacipran have an ability to improve emotional abnormality induced by stress stimuli. Furthermore, it is also suggested that milnacipran possibly induces the abnormality of circulatory functions under severe stressful situations via activation of  $\beta_1$ -adrenoceptors and 5-HT<sub>2</sub> receptors.

---

<Key words> Fluvoxamine, Milnacipran, Restraint stress, Emotionality, Adverse effect, Mice

---