

抗がん剤による末梢神経障害および悪心・嘔吐に関する研究

辰島, 瑤子
Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Kyushu University

<https://doi.org/10.15017/22023>

出版情報：九州大学, 2011, 博士（薬学）, 課程博士
バージョン：
権利関係：



抗がん剤による末梢神経障害および悪心・嘔吐に関する研究

2012 年

九州大学大学院 薬学府

医療薬科学専攻 医薬品情報解析学分野

辰島 瑤子

目次

序論	1
第 1 章 パクリタキセルによる末梢神経障害におけるサブスタンス P の関与 — オキサリプラチンとの比較研究 —	4
1. 緒言	4
2. 方法	6
2-1. 実験動物	6
2-2. 使用薬物	6
2-3. 末梢神経障害に関する検討	6
2-4. 培養 DRG 細胞からのサブスタンス P 遊離に関する検討	7
2-5. 統計解析	7
3. 結果	9
3-1. パクリタキセルならびにオキサリプラチンによる機械的アロディニア、 低温知覚異常の発現	9
3-2. パクリタキセルによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常に対する ペミロラストの抑制効果	11
3-3. オキサリプラチンによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常に対する ペミロラストの効果	12
3-4. パクリタキセルによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常に対する NK ₁ 受容体拮抗剤の抑制効果	14
3-5. パクリタキセルによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常に対する NK ₂ 受容体拮抗剤の抑制効果	15
3-6. パクリタキセルによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常に対する NK ₁ 受容体拮抗剤および NK ₂ 受容体拮抗剤の同時投与による抑制効果	16
3-7. 培養 DRG 細胞からのサブスタンス P 遊離に対するパクリタキセルならびに オキサリプラチンの影響	17
4. 考察	18
4-1. パクリタキセルによる培養 DRG 細胞からのサブスタンス P 遊離に対する ペミロラストの効果	18
4-2. パクリタキセルならびにオキサリプラチンによる末梢神経障害の発現	18
4-3. パクリタキセルによる末梢神経障害におけるペミロラストの効果	19
5. 小括	20

第2章 シスプラチンによる悪心・嘔吐に対するペミロラストの改善作用 21

1. 緒言	21
2. 方法	25
2-1. 実験動物および飼育方法	25
2-2. 使用薬物	25
2-3. カオリン飼料の作製	25
2-4. カオリンおよび通常飼料摂食量の測定	25
2-5. 脳脊髄液中サブスタンス P の定量	26
2-6. 統計解析	27
3. 結果	28
3-1. シスプラチンによるカオリン摂食量の変化	28
3-2. シスプラチン誘発カオリン摂食量の変化に対するオンダンセトロンおよび デキサメタゾンの作用	29
3-3. シスプラチン誘発カオリン摂食量の変化に対するアプレピタントの作用	30
3-4. シスプラチン誘発カオリン摂食量の変化に対するペミロラストの作用	31
3-5. シスプラチン誘発脳脊髄液中サブスタンス P 含有量増加に対する ペミロラストの影響	32
4. 考察	33
4-1. ラットにおけるカオリン摂食を指標としたシスプラチンの悪心・嘔吐モデル	33
4-2. シスプラチンによるカオリン摂食行動におけるサブスタンス P の関与	33
4-3. シスプラチンによるカオリン摂食行動に対するペミロラストの効果	34
4-4. シスプラチンによる悪心・嘔吐に対するペミロラストの有用性	34
5. 小括	35

第3章 オキサリプラチンによる末梢神経障害に対するカルシウム拮抗薬の有用性

— 後向き調査研究 —	36
1. 緒言	36
2. 方法	39
2-1. 対象患者	39
2-2. 化学療法	39
2-3. 調査方法	39
2-4. 急性神経障害の評価	40
2-5. 慢性末梢神経障害の評価	40
2-6. 統計解析	40
3. 結果	41
3-1. 患者選択	41
3-2. 患者背景	42
3-3. オキサリプラチンによる末梢神経障害に対するカルシウム拮抗薬の効果	44
4. 考察	45
4-1. オキサリプラチンによる急性神経障害に対するカルシウム拮抗薬の効果	45
4-2. オキサリプラチンによる慢性神経障害に対するカルシウム拮抗薬の効果	45
4-3. オキサリプラチンによる末梢神経障害の評価方法および影響する因子	45
4-4. オキサリプラチンによる末梢神経障害に対するカルシウム拮抗薬の有用性	46
5. 小括	46
総括	47
参考文献	49
本論文内容に関する発表論文	61
その他の発表論文	61
謝辞	62

略語一覽

5-HT	<u>5-Hydroxy</u> tryptamine
AChE	<u>A</u> cetyl <u>ch</u> oline <u>E</u> sterase
ANOVA	<u>A</u> nalysis of <u>V</u> ariance
CCB	<u>C</u> alcium <u>C</u> hannel <u>B</u> locker
CGRP	<u>C</u> alcitonin <u>G</u> ene- <u>R</u> elated <u>P</u> eptide
CSF	<u>C</u> erebrospinal <u>F</u> luid
CYP	<u>C</u> ytochrome <u>P</u> 450
DRG	<u>D</u> orsal <u>R</u> oot <u>G</u> anglion
EDTA	<u>E</u> thylendi <u>a</u> mine <u>t</u> etraacetic <u>A</u> cid
EIA	<u>E</u> nzyme <u>I</u> mmuno <u>a</u> ssay
HBSS	<u>H</u> anks' <u>B</u> alanced <u>S</u> alt <u>S</u> olution
IASP	<u>I</u> nternational <u>A</u> ssociation for the <u>S</u> tudy of <u>P</u> ain
mFOLFOX6	<u>m</u> odified <u>FOLFOX6</u>
NFAT	<u>N</u> uclear <u>F</u> actor of <u>A</u> ctivated <u>T</u> -cell
NIH	<u>N</u> ational <u>I</u> nstitutes of <u>H</u> ealth
NK	<u>N</u> eu <u>r</u> o <u>k</u> inin
Pt(dach)Cl ₂	<u>D</u> ich <u>l</u> oro(1,2- <u>D</u> iaminocyclo <u>h</u> exane) <u>P</u> latinum(II)
QOL	<u>Q</u> uality of <u>L</u> ife
rhuLIF	<u>R</u> ecombinant <u>H</u> uman <u>L</u> eukemia <u>I</u> nhibitory <u>F</u> actor
SEM	<u>S</u> tandard <u>E</u> rror of the <u>M</u> ean
TFA	<u>T</u> ri <u>f</u> luoroacetic <u>A</u> cid
TRP	<u>T</u> ransient <u>R</u> eceptor <u>P</u> otential
TRPM8	<u>T</u> ransient <u>R</u> eceptor <u>P</u> otential <u>M</u> elastatin <u>8</u>

序論

近年、がん患者の増加に伴い、より質の高いがん医療の推進が医療現場に対して求められており、2007年には「がんに関する専門的、学際的又は総合的な研究を推進すること」を基本理念に掲げた「がん対策基本法」が施行された。がんの治療法には主に、外科療法、放射線療法および薬物療法があるが、単にがんを治療するのではなく、患者の生活の質（Quality of Life; QOL）を十分に考慮した治療を行うことが最も重要である。一方、がん化学療法における神経障害や消化器障害などの副作用の発現は、患者の QOL を著しく低下させるだけでなく、がん治療の中止や変更を余儀なくさせることから、臨床上大きな問題となっている。

末梢神経障害はタキサン系、プラチナ系およびビンカアルカロイド系の抗がん剤により頻発する副作用であり、特にパクリタキセルやオキサリプラチンによって高頻度で発現する。パクリタキセルを使用した患者の 63.2%（承認時の調査における発現率）において末梢神経障害の発現がみられる。多くの場合は、手足のしびれ、知覚過敏、疼痛、感覚異常などの知覚障害が発現するが、重篤な場合はボタンがかけにくい、物がつかめない、転びやすいなどの運動機能障害を伴うこともある。一方、オキサリプラチンの末梢神経障害は急性障害と慢性障害に大別され、それぞれ特徴的な臨床症状を呈する（Gamelin et al., 2002）。急性神経障害はオキサリプラチンの投与直後から生じ（Pasetto et al., 2006; Quasthoff et al., 2002; Wilson et al., 2002）、全患者の 85-95%に発現する（Grothey, 2005）。症状は手、足や口唇周囲部等の感覚異常または知覚不全が代表的であり、冷感刺激により惹起されるのが特徴である（Extra et al., 1998; Grothey, 2005; Pasetto et al., 2006; Wilson et al., 2002）。一方、慢性神経障害ではオキサリプラチンの累積投与量の増加に伴って手足のしびれ感や疼痛、感覚異常の悪化や回復遅延が認められ、進行するとパクリタキセルの場合と同様に機能障害が現れる。これらの症状が現れた場合には減量、休薬、中止等の処置が必要となり、末梢神経障害の発現はパクリタキセルおよびオキサリプラチンの用量規制因子のひとつとなっている。これは患者の QOL の低下を招くばかりではなく、治療の継続を妨げるものともなる。

これまで、パクリタキセル誘発末梢神経障害に関する臨床試験において、アミフォスチン、グルタミン、アセチル-L-カルニチン、BNP7787（ジメスナ）、ビタミン E、組み換えヒト白血病阻害因子 rhuLIF などの効果が検討されてきた（Argyriou et al., 2005; Bianchi et al., 2005; Davis et al., 2005; Hilpert et al., 2005; Jacobson et al., 2003; Leong et al., 2003; Lorusso et al., 2003; Stubblefield et al., 2005; Takeda et al., 2002; Vahdat et al., 2001）。オキサリプラチンの末梢神経障害については、オキサリプラチンから脱離するオキサレート基が原因であるという考え方が広まり、オキサレート基とキレートを形成するカルシウム/マグネシウム製剤の静脈内投与の有効性が検討されている（Gamelin et al., 2008）。またガバペンチンはラットを用いた研究において抗がん剤による末梢神経障害に対する有効性が報告されており（Ling et al., 2007a）、神経障害性疼痛の第一選択薬として推奨されている（Dworkin et al., 2007）。しかしながら二重盲検無作為化第Ⅲ相試験では、化学療法による末梢神経障害に対するガバペンチンの有効性は認められなかった（Rao et al., 2007）。その他の薬剤も二重盲検無作為化比較試験では明確な効果が証明されておらず、臨床の現場ではほとんど何の薬剤も使用されていないのが現状である。

またがん化学療法による悪心・嘔吐については強力な制吐剤が開発されているものの、依然としてがん患者が最も苦痛を感じる副作用の 1 つであり（de Boer-Dennert et al., 1997; Lindley et al., 1999）、身体的

および精神的状態の悪化を招くため、化学療法の継続に支障をきたす原因となることも少なくない。そのため、悪心・嘔吐を予防あるいは軽減することは、がん患者の QOL を維持し、化学療法を継続する上できわめて重要である。特にシスプラチンによる悪心・嘔吐は発現頻度が高く、典型的な急性および遅発性の悪心・嘔吐を引き起こす (Hainsworth et al., 1992; Martin, 1996)。この悪心・嘔吐には様々な神経伝達物質の関与が示唆されているが、中でもセロトニン (5-hydroxytryptamine; 5-HT) とサブスタンス P の関与が大きいと考えられている。セロトニンは、消化管の腸クロム親和性細胞より産生され、主に求心性神経上に存在する 5HT₃ 受容体を刺激することで、急性の悪心・嘔吐に関与すると考えられている (Tyers et al., 1992)。また、第一世代の 5-HT₃ 受容体拮抗薬は、急性の悪心・嘔吐には有効であるが遅発性の悪心・嘔吐には効果がない (Navari, 2009)。一方、サブスタンス P は、抗がん剤投与により分泌が亢進し、延髄の最後野や孤束核に存在する NK₁ 受容体に結合することで、急性および遅発性の悪心・嘔吐に関与すると考えられている (Darmani et al., 2009; Dey et al., 2010; Gonsalves et al., 1996; Quartara et al., 1998; Rudd et al., 1996a; Singh et al., 1997; Tattersall et al., 2000; Watson et al., 1995)。

パクリタキセル、オキサリプラチンおよびシスプラチンは、いずれも現在のがん化学療法の中心となる薬剤であり、末梢神経障害および悪心・嘔吐を予防あるいは軽減することは、がん患者の QOL を維持し、化学療法を継続する上できわめて重要である。

当研究室では、これまでにパクリタキセルによる過敏症 (投与開始直後に生じる呼吸困難、血圧低下、肺浮腫など) にサブスタンス P が関与することを報告している (Itoh et al., 2004a; Sendo et al., 2004)。さらに、気管支喘息およびアレルギー性鼻炎に適応を有する抗アレルギー薬ペミロラストがサブスタンス P の遊離を抑制し、過敏症を改善することを明らかにしている (Itoh et al., 2004b; Yahata et al., 2006)。近年、サブスタンス P およびその主な受容体である NK₁ 受容体が、神経障害性疼痛に関与することや (Cahill et al., 2002; Coudoré-Civiale et al., 2000; Goff et al., 1998; Gonzalez et al., 2000; Vachon et al., 2004)、悪心・嘔吐にも関与する (Darmani et al., 2009; Dey et al., 2010; Gonsalves et al., 1996; Quartara et al., 1998; Rudd et al., 1996a; Singh et al., 1997; Tattersall et al., 2000; Watson et al., 1995) ことが報告されている。

また、これまでの当研究室における基礎実験から、オキサリプラチン (4 mg/kg、週 2 回腹腔内投与) をラットに連続投与すると、急性期 (投与 3 日目) から低温知覚異常が、慢性期 (投与 3 週目) から機械的アロディニアが発現することを報告している。さらに、低温知覚異常にはオキサリプラチンから脱離されるオキサレート基が、機械的アロディニアにはプラチナ活性体 Pt(dach)Cl₂ が関与することも明らかにしている (Sakurai et al., 2009)。一方、Gauchan ら (2009) は、オキサリプラチンによる冷感過敏症状を発現したマウスでは温度感受性チャネルの一つである transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8) の mRNA 量が増加していることを報告している。TRPM8 は、TRP ファミリーに属し低温 (<25°C) やメントールの刺激によって活性化する (McKemy et al., 2002; Peier et al., 2002)。当研究室では、培養 dorsal root ganglion (DRG) 細胞にオキサリプラチンおよびオキサレート基を処置すると、細胞内カルシウム濃度の上昇、nuclear factor of activated T-cell (NFAT) の核内移行、TRPM8 の発現上昇が起こることを明らかにした。またこれらの変化は、電位依存性 L 型および L/T 型カルシウムチャネル阻害薬であるニフェジピンおよびジルチアゼム、ナトリウムチャネル阻害薬であるメキシレチンの処置により抑制された。ラットにおいて、オキサリプラチンの投与は低温知覚異常を誘発し、同時に TRPM8 の発現を増加させた。また、ニフェジピン、ジルチアゼム、メキシレチンの併用により TRPM8 の発現増加が抑制され、低温知覚異常の発現が抑制された。以上より、急性神経障害でみられる低温知覚異常

の発現には、電位依存性ナトリウムチャネルおよび L/T 型カルシウムチャネル、NFAT の活性化を介した TRPM8 の発現増加が関与しており、メキシレチン、ニフェジピンおよびジルチアゼムの予防投与が効果的であることが明らかとなっている (Kawashiri et al., 2012; Fig. 15)。

本研究では、当研究室のこれまでの知見をもとに、抗がん剤による末梢神経障害および悪心・嘔吐に関する基礎研究ならびに臨床調査研究を行った。

まず、化学療法によって生じた末梢神経障害におけるサブスタンス P の関与はいまだ不明であることから、第 1 章では、パクリタキセル末梢神経障害におけるサブスタンス P の関与について、オキサリプラチン末梢神経障害との比較のもと検討した。サブスタンス P は NK₁ および NK₂ 受容体に結合するため (Regoli et al., 1988)、選択的 NK₁ 受容体拮抗剤 L-732,138 および選択的 NK₂ 受容体拮抗剤 GR159897 を用いてサブスタンス P の関与について検討した。

またペミロラストは、サブスタンス P や NK₁ 受容体が関与するシスプラチンの悪心・嘔吐を抑制する可能性があると考えられることから、第 2 章において、シスプラチンによる悪心・嘔吐に対するペミロラストの効果を、ラットのカオリン摂食行動を指標として検討を行った。

さらに第 3 章では、基礎研究で見出されたオキサリプラチンによる末梢神経障害に対するカルシウム拮抗薬の有効性を臨床において確認するため、オキサリプラチンを含む代表的な化学療法である modified FOLFOX6 (mFOLFOX6) 療法 (オキサリプラチン、レボホリナート、フルオロウラシル併用療法) を施行された患者を対象に後向き調査を行い、末梢神経障害に対するカルシウム拮抗薬の効果について評価を行った。

第1章 パクリタキセルによる末梢神経障害におけるサブスタンス P の関与

— オキサリプラチンとの比較研究 —

1. 緒言

パクリタキセルはイチイ科の針葉または小枝からの抽出物を原料として半合成されたタキサン環を有する抗悪性腫瘍薬で、微小管構造タンパクであるチューブリンの重合を促進し、脱重合を抑制することによって細胞分裂時の紡錘体の形成を阻害し、細胞周期を G2/M 期で停止させる作用を有する。本邦では卵巣がん、非小細胞肺癌、乳がん、胃がん、子宮体がんに適応を有している。特に卵巣がんや非小細胞肺癌における化学療法では、本剤とプラチナ製剤との併用療法がスタンダードとなっている。プラチナ製剤のひとつであるオキサリプラチンは、本邦において治癒切除不能な進行・再発の結腸・直腸がんおよび結腸がんにおける術後補助化学療法に適応を有し、大腸がん治療のキードラッグとして汎用されている。しかしながら、これらの薬剤の特徴的な副作用として末梢神経障害が高頻度で発現する。

パクリタキセルを使用した患者の 63.2%（承認時の調査における発現率）において末梢神経障害の発現がみられる。多くの場合は、手足のしびれ、知覚過敏、疼痛、感覚異常などの知覚障害が発現するが、重篤な場合はボタンがかけにくい、物がつかめない、転びやすいなどの運動機能障害を伴うこともある。パクリタキセル誘発末梢神経障害の危険因子としては、1 回投与量、累積投与量、投与間隔、シスプラチンの併用、糖尿病の既往、高齢などがあることが明らかとされている（Lee et al., 2006）。

一方、オキサリプラチンの末梢神経障害は急性障害と慢性障害に大別され、それぞれ特徴的な臨床症状を呈する（Gamelin et al., 2002）。急性神経障害はオキサリプラチンの投与直後から生じ（Pasetto et al., 2006; Quasthoff et al., 2002; Wilson et al., 2002）、全患者の 85-95%に発現する（Grothey, 2005）。症状は手、足や口唇周囲部等の感覚異常または知覚不全が代表的であり、冷感刺激により惹起されるのが特徴である（Extra et al., 1998; Grothey, 2005; Pasetto et al., 2006; Wilson et al., 2002）。一方、慢性神経障害ではオキサリプラチンの累積投与量の増加に伴って手足のしびれ感や疼痛、感覚異常の悪化や回復遅延が認められ、進行するとパクリタキセルの場合と同様に機能障害が現れる。これらの症状が現れた場合には減量、休薬、中止等の処置が必要となり、末梢神経障害の発現はパクリタキセルおよびオキサリプラチンの用量規制因子のひとつとなっている。これは患者の QOL の低下を招くばかりではなく、治療の継続を妨げるものともなる。

これまで、パクリタキセル誘発末梢神経障害に関する臨床試験において、アミフォスチン、グルタミン、アセチル-L-カルニチン、BNP7787（ジメスナ）、ビタミン E、組み換えヒト白血病阻害因子 rhuLIF などの効果が検討されてきた（Argyriou et al., 2005; Bianchi et al., 2005; Davis et al., 2005; Hilpert et al., 2005; Jacobson et al., 2003; Leong et al., 2003; Lorusso et al., 2003; Stubblefield et al., 2005; Takeda et al., 2002; Vahdat et al., 2001）。オキサリプラチンの末梢神経障害については、オキサリプラチンから脱離するオキサレート基が原因であるという考え方が広まり、オキサレート基とキレートを形成するカルシウム/マグネシウム製剤の静脈内投与の有効性が検討されている（Gamelin et al., 2008）。またガバペンチンはラッ

トを用いた研究において抗がん剤による末梢神経障害に対する有効性が報告されており (Ling et al., 2007a)、神経障害性疼痛の第一選択薬として推奨されている (Dworkin et al., 2007)。しかしながら二重盲検無作為化第Ⅲ相試験では、化学療法による末梢神経障害に対するガバペンチンの有効性は認められなかった (Rao et al., 2007)。その他の薬剤も二重盲検無作為化比較試験では明確な効果が証明されておらず、臨床の現場ではほとんど何の薬剤も使用されていないのが現状である。

一方、パクリタキセルは投与開始直後に呼吸困難、血圧低下、肺浮腫といった重篤な過敏反応を発現するために投与の中止を余儀なくされることがしばしばある。現在、過敏反応の予防目的でヒスタミン H_1 および H_2 受容体拮抗薬ならびにデキサメタゾンの前投薬が義務付けられているが、それでもなお10% 近くの発現率が報告されている (Markman et al., 2000)。これらの結果は、パクリタキセル誘発過敏反応にヒスタミン以外のメディエーターが関与している可能性を示唆している。当研究室では、パクリタキセル投与後のラット気管支肺胞洗浄液を用いた検討により、パクリタキセル投与によって知覚神経ペプチドであるサブスタンスP、ニューロキニンA、カルシトニン遺伝子関連ペプチド (calcitonin gene-related peptide; CGRP) が遊離されることを確認した。さらにこれらのうち、特にサブスタンスP、ニューロキニンAが過敏反応に関与することを明らかにした (Itoh et al., 2004a; Sendo et al., 2004)。また、これらの神経ペプチドの遊離は、抗アレルギー薬であるペミロラストにより抑制された (Itoh et al., 2004b)。ペミロラストはマスト細胞、好酸球からの化学伝達物質の遊離を抑制する抗アレルギー薬であり、臨床的には気管支喘息ならびにアレルギー性鼻炎に対し高い有用性が認められている。ペミロラストは動物実験においてパクリタキセル誘発過敏反応を改善し、臨床試験においてもパクリタキセル過敏反応発現予防に効果を示した (Yahata et al., 2006) ことから、パクリタキセル過敏反応予防薬としての有用性が示唆された。

サブスタンス P はパクリタキセル過敏反応を引き起こすほか、痛覚伝達物質としての作用も有し (Harrison et al., 2001)、脊髄後根神経節 (DRG) で合成される (Vedder et al., 1991)。サブスタンス P は一次求心性神経、特に小径の C 線維に多く存在し、末梢神経障害刺激により脊髄後角に放出され (Otsuka et al., 1993)、 NK_1 および NK_2 受容体に結合する (Regoli et al., 1988)。このことから、サブスタンス P は脊髄において一次知覚神経からの痛覚情報伝達に関与すると考えられている (De Koninck et al., 1991)。近年、神経障害ラットを用いた実験において、サブスタンス P およびその主な受容体である NK_1 受容体と神経障害性疼痛の関連が報告されている (Cahill et al., 2002; Goff et al., 1998; Gonzalez et al., 2000; Vachon et al., 2004)。さらに糖尿病性末梢神経障害ラットを用いた研究では、 NK_1 および NK_2 受容体が神経障害性疼痛に関与することが示されている (Coudoré-Civiale et al., 2000)。また、Miyano ら (2009) はパクリタキセルがラットの培養 DRG 細胞からのサブスタンス P 遊離を引き起こすことを報告している。しかしながら化学療法によって生じた末梢神経障害におけるサブスタンス P の関与はいまだ不明である。

そこで本研究ではパクリタキセル末梢神経障害におけるサブスタンス P の関与について、オキサリプラチン末梢神経障害との比較のもと検討した。

2. 方法

2-1. 実験動物

体重 200-250 g の雄性 Sprague-Dawley 系ラット（九動株式会社、佐賀）を用いた。ラットは恒温・恒湿および明暗 12 時間周期（明期 AM 8:00-PM 8:00）の条件下で飼育した。固形飼料および水は自由に摂取できるようにした。なお、動物実験は九州大学動物実験規則に準拠し、国際疼痛学会（International Association for the Study of Pain; IASP）のガイドラインに従い実施した（Zimmermann, 1983）。

2-2. 使用薬物

パクリタキセルはタキソール[®]注（ブリストル・マイヤーズ、東京；溶媒として 50%クレモホル EL および 50%エタノールを含有する）を使用した。オキサリプラチンはエルプラット[®]点滴静注液（ヤクルト株式会社、東京）を用い、5%ブドウ糖液で溶解した。ペミロラストは田辺三菱製薬工場株式会社（大阪）より提供を受けた。選択的 NK₁ 受容体拮抗剤 L-732,138（N-acetyl-L-tryptophan 3,5-bis(trifluoromethyl)benzylester）および選択的 NK₂ 受容体拮抗剤 GR159897（5-fluoro-3-[2-[4-methoxy-4-[(R)-phenylsulphonyl]methyl]-1-piperidinyl]ethyl]-1H-indole）はそれぞれ Enzo Life Sciences, Inc.（Farmingdale, NY, USA）、Tocris Bioscience（Ellisville, MO, USA）より購入した。

2-3. 末梢神経障害に関する検討

2-3-1. 実験スケジュール

パクリタキセル（6 mg/kg）は週に 1 回、4 週間連続で腹腔内投与した（days 1, 8, 15, 22）。オキサリプラチン（4 mg/kg）は週に 2 回、4 週間連続で腹腔内投与した（days 1, 2, 8, 9, 15, 16, 22, 23）。適宜、行動学的検討（von Frey test、acetone test）をブラインドで行った。ペミロラスト（0.01-1 mg/kg）は蒸留水に溶解し経口単回投与した。L-732,138 および GR159897（各 10-100 µg/body）は 100%ジメチルスルホキシド（Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, MO, USA）に溶解し髄腔内単回投与した。用量および投与スケジュールは文献を参考に設定した（Cahill et al., 2002; Jamieson et al., 2005; Kawashiri et al., 2009; Ling et al., 2007a; Sakurai et al., 2009）。

2-3-2. von Frey test

機械的アロディニア（mechanical allodynia）の指標として実施した。試験 30 分前よりラットを金網の上に置き、十分に馴化させた。その後、金網の下よりラット後足底を 1-15 g の von Frey フィラメント（The Touch Test Sensory Evaluator Set; Linton Instrumentation, Norfolk, UK）を用いて 1 回につきそれぞれ 6 秒ずつ刺激した。ラットが逃避反応を起こすフィラメント強度を逃避反応閾値として記録した。

2-3-3. acetone test

低温知覚異常（cold hyperalgesia）の指標として Flatters ら（2004）の方法を参考に実施した。試験 30 分前よりラットを金網の上に置き、十分に馴化させた。その後、金網の下よりラット後足底に 50 µL のアセトン（和光純薬工業株式会社、大阪）を Micro sprayer[®]（Penn Century Inc., Philadelphia, PA, USA）を

用いて噴霧し、刺激した。アセトンの噴霧後 40 秒間ラットの行動を観察し、逃避反応の回数を測定した。アセトンの噴霧は左右の足それぞれ 3 回ずつ行い、計 6 回の反応数の平均を算出し評価した。

2-4. 培養 DRG 細胞からのサブスタンス P 遊離に関する検討

2-4-1. DRG 初代培養

雄性 Sprague-Dawley 系ラット（九動株式会社、佐賀）より L 4-5 DRG を採取し、初代培養した。採取したラット DRG は 0.125% (w/v) コラゲナーゼタイプ 1 (Worthington Biochemicals, Freehold, NJ, USA) で 90 分、0.25% (w/v) トリプシン-EDTA (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) で 30 分処置したのち、2 mM L-グルタミン、100 Unit/mL ペニシリン、100 µg/mL ストレプトマイシン（以上、Invitrogen）、10%ウシ胎児血清（Cell Culture Technology, Hannover, Germany）を含有する Dulbecco's modified Eagle's 培地（MP Biomedicals Inc., Solon, OH, USA）にて培養した。なお、DRG は 2 DRG/well で 6 well plate (Nunc, Apogent Co., Roskilde, Denmark) に播種し、37°C、5% CO₂ の条件下で 10 日間培養した。

2-4-2. 薬剤処置

培養 DRG 細胞に Hanks' Balanced Salt Solution (HBSS; 8.00 g/L NaCl, 0.40 g/L KCl, 0.14 g/L CaCl₂, 0.10 g/L MgSO₄ · 7H₂O, 0.10 g/L MgCl₂ · 6H₂O, 0.06 g/L Na₂HPO₄ · 2H₂O, 0.06 g/L KH₂PO₄, 1.00 g/L glucose, 0.35 g/L NaHCO₃, pH 7.4) に溶解したペミロラスト (10–1000 nM) を 3 時間処置した。その後 HBSS に溶解したパクリタキセル (1–1000 ng/mL) もしくはオキサリプラチン (0.01–100 µg/mL) およびペミロラスト (10–1000 nM) を 10 分間曝露した。なお、サブスタンス P の分解を防ぐため HBSS にプロテアーゼ阻害剤アプロチニン (14 µL/mL、和光純薬工業株式会社、大阪) を添加した。

2-4-3. サブスタンス P 測定

薬剤処置後の各 well から HBSS をすべて回収し、遠心 (3000 rpm、5 分、4°C) した。この上清を精製しサンプルとし、EIA キット (Cayman Chemical Co., Ann Arbor, MI, USA) を用いて酵素免疫測定法により測定した。以下にその手順を示す。まずアセトニトリル (0.15 mL) および 1%トリフルオロ酢酸 (trifluoroacetic acid; TFA, 1.5 mL) で前処理した extraction cartridge (Oasis[®], HLB 1cc; Waters Co., Milford, MA, USA) に上清 200 µL をロードし、1% TFA (1.5 mL) で洗浄した。これをアセトニトリルおよび 1% TFA を 6:4 で混合した液 (0.75 mL) で溶出し、溶出液を窒素ガスにより乾燥させた。乾燥後、EIA キット付属の EIA buffer (200 µL) を加えて遠心 (15300 rpm、10 分、4°C) し、その上清をサンプルとした。

サンプルおよびサブスタンス P-AChE tracer、サブスタンス P 抗体 (各 50 µL/well) をともに EIA キット付属の 96 well plate に加え、インキュベート (4°C、18 時間) した。これを wash buffer で洗浄した後、Ellman's reagent (200 µL/well) を加え室温で 90-120 分間反応させた。この反応により生成した色素量を吸光プレートリーダー (Immuno-mini NJ-2300; インターメディカル、東京、測定波長: 405 nm) を用いて測定した。

2-5. 統計解析

データは、平均値 ± 標準誤差で示した。二群間の比較は Student's *t*-test により行った。多群間の比較は、一元配置分散分析 (one-way analysis of variance; ANOVA) あるいは二元配置分散分析 (two-way repeated

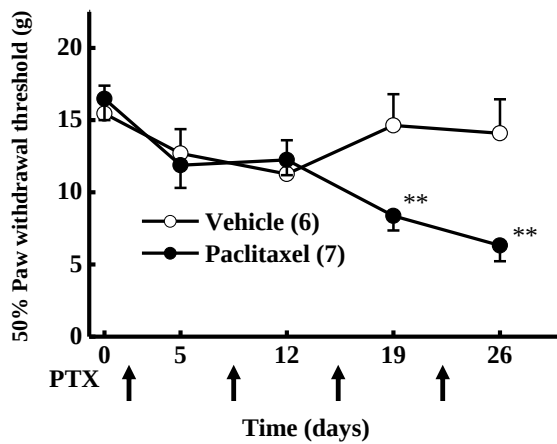
measures ANOVA) 後、Tukey-Kramer test により有意差検定を行った。検定には Stat View (Abacus Concept, Berkeley, CA, USA) を用い、有意水準を 5%とした。

3. 結果

3-1. パクリタキセルならびにオキサリプラチンによる機械的アロディニア、低温知覚異常の発現

パクリタキセル (6 mg/kg) の反復投与は von Frey test において、投与 3 週目より反応閾値の有意な低下を引き起こした ($P < 0.01$; Fig. 1A)。また、acetone test において、投与 3 週目より反応回数の有意な増加を引き起こした ($P < 0.01$; Fig. 1B)。

(A) Von Frey test



(B) Acetone test

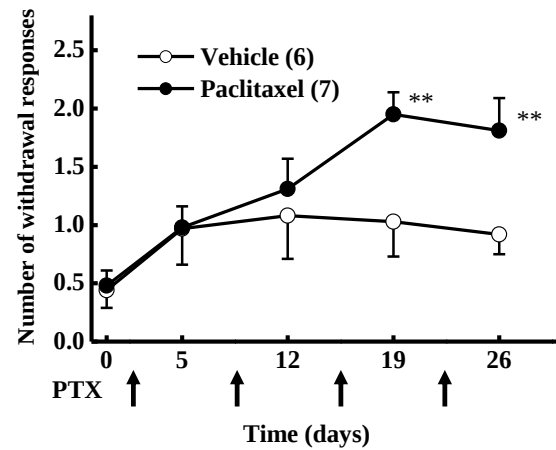
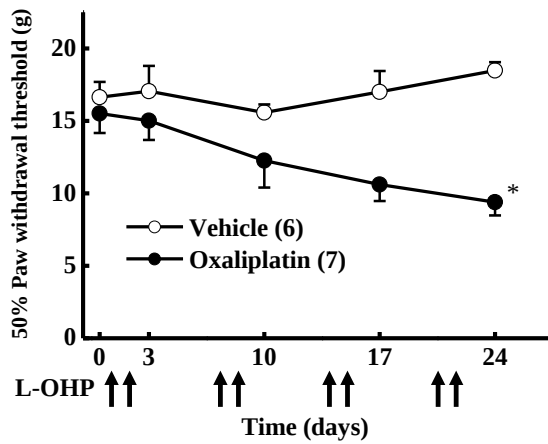


Fig. 1. Mechanical allodynia in the von Frey test (A) and cold hyperalgesia in the acetone test (B) induced by paclitaxel in rats. Rats were treated with paclitaxel (6 mg/kg, i.p.) once a week for 4 weeks. Number of animals was shown in each parenthesis. Values are expressed as the mean $\pm$ S.E.M on days 0, 5, 12, 19 and 26. ** $P < 0.01$ compared with day 0.

一方、オキサリプラチン（4 mg/kg）の反復投与は von Frey test において、投与 4 週目より反応閾値の有意な低下を引き起こした（ $P < 0.05$; Fig. 2A）。また、acetone test において、投与 1 週目より反応回数の有意な増加を引き起こした（ $P < 0.01$; Fig. 2B）。

(A) Von Frey test



(B) Acetone test

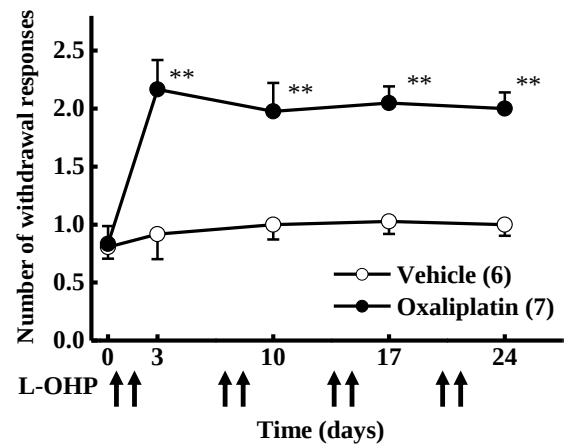


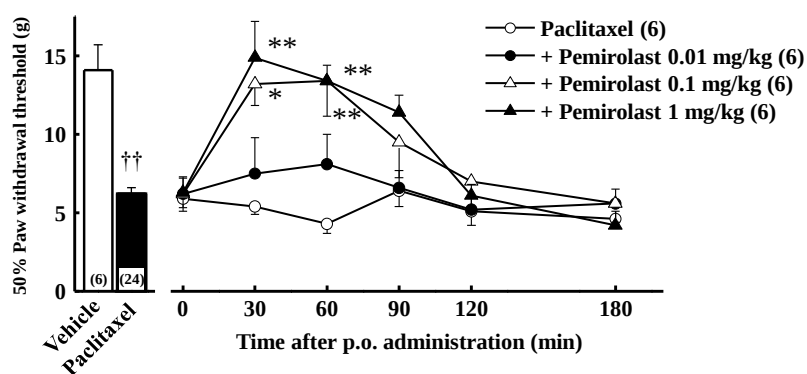
Fig. 2. Mechanical allodynia in the von Frey test (A) and cold hyperalgesia in the acetone test (B) induced by oxaliplatin in rats. Rats were treated with oxaliplatin (4 mg/kg, i.p.) twice a week for 4 weeks. Number of animals was shown in each parenthesis. Values are expressed as the mean $\pm$ S.E.M on days 0, 3, 10, 17 and 24. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with day 0.

3-2. パクリタキセルによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常に対するペミロラストの抑制効果

パクリタキセル (6 mg/kg) の反復投与は投与 4 週目において、von Frey test における反応閾値の低下および acetone test における反応回数の増加を引き起こした ($p < 0.01$; Figs. 3A, B)。

パクリタキセルによって誘発された von Frey test における反応閾値の低下は、ペミロラスト (0.1-1 mg/kg) の経口投与により、30-60 分をピークに一過性に抑制され、この作用は投与後 120 分にはほぼ完全に消失した ($P < 0.05$ or 0.01 ; Fig. 3A)。また、パクリタキセルによって誘発された acetone test における反応回数の増加は、ペミロラスト (1 mg/kg) の経口投与により、30 分をピークに一過性に抑制され、この作用は投与後 120 分にはほぼ完全に消失した ($P < 0.05$; Fig. 3B)。

(A) Von Frey test



(B) Acetone test

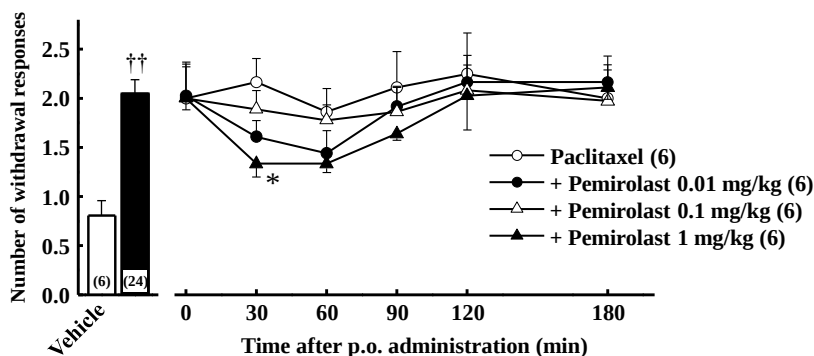


Fig. 3. Effect of pemirolast on mechanical allodynia in the von Frey test (A) and cold hyperalgesia in the acetone test (B) in paclitaxel-treated rats. Rats were treated with paclitaxel (6 mg/kg, i.p.) once a week for 4 weeks. Pemirolast (0.01-1 mg/kg) was administered orally. Number of animals was shown in each parenthesis. Values are expressed as the mean $\pm$ S.E.M. †† $P < 0.01$ compared with vehicle, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with paclitaxel alone.

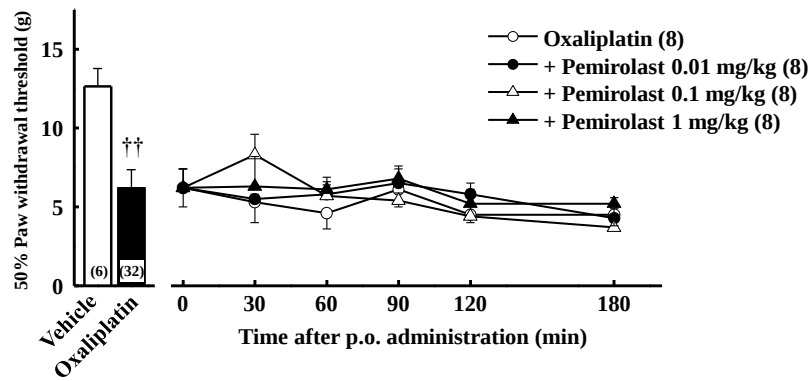
3-3. オキサリプラチンによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常に対するペミロラストの効果

オキサリプラチン (4 mg/kg) の反復投与は投与 4 週目において、von Frey test における反応閾値の低下を引き起こした ($P < 0.01$; Fig. 4A)。また、投与 1 週目から 4 週目にかけて acetone test における反応回数の増加を引き起こした ($P < 0.01$; Figs. 4B, C)。

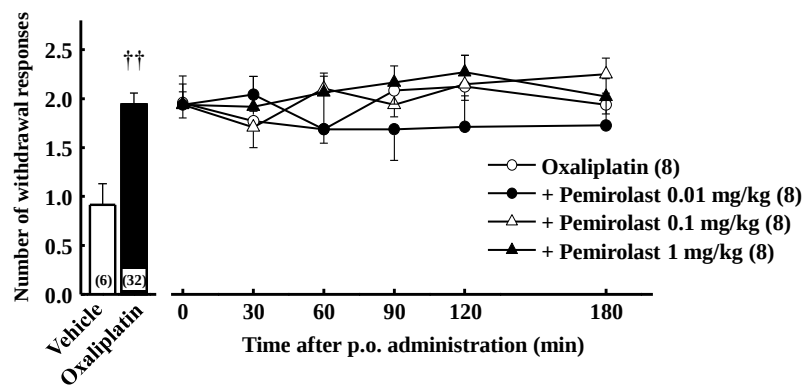
オキサリプラチンによって誘発された von Frey test における反応閾値の低下は、ペミロラスト (0.01-1 mg/kg) の経口投与では抑制されなかった (Fig. 4A)。同様に、acetone test における反応回数の増加もペミロラストの経口投与では抑制されなかった (Figs. 4B, C)。

Fig. 4. Effect of pemirolast on mechanical allodynia in the von Frey test (A) and cold hyperalgesia in the acetone test on 1st (B) and 4th weeks (C) in oxaliplatin-treated rats. Rats were treated with oxaliplatin (4 mg/kg, i.p.) twice a week for 4 weeks. Pemirolast (0.01-1 mg/kg) was administered orally. Number of animals was shown in each parenthesis. Values are expressed as the mean $\pm$ S.E.M. $\dagger\dagger P < 0.01$ compared with vehicle.

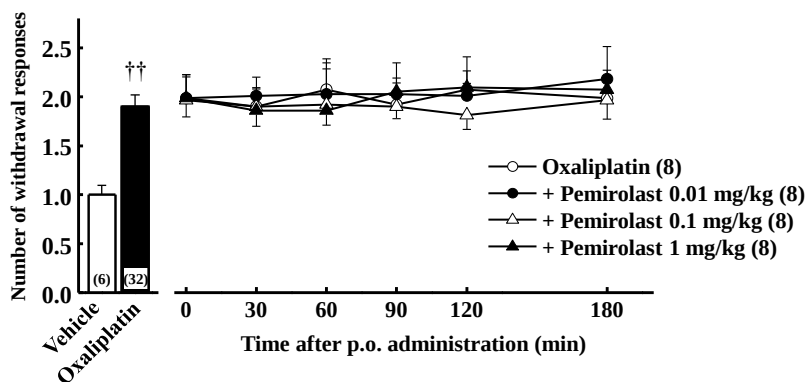
(A) Von Frey test



(B) Acetone test on 1st week



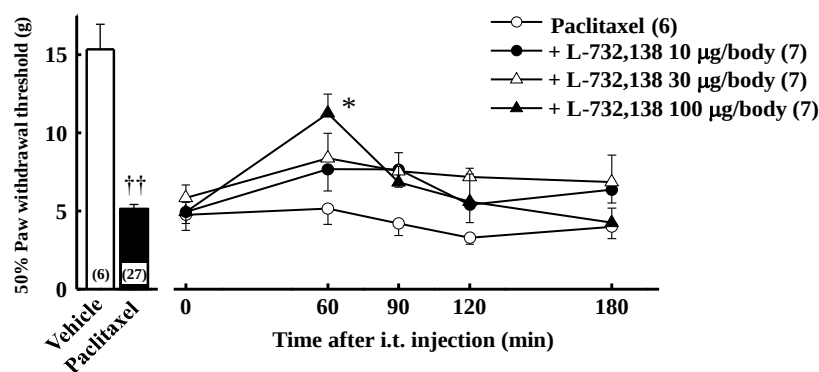
(C) Acetone test on 4th week



3-4. パクリタキセルによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常に対する NK₁ 受容体拮抗剤の抑制効果

パクリタキセルによって誘発された von Frey test における反応閾値の低下は、NK₁ 受容体拮抗剤 L-732,138 (100 µg/body) の髄腔内投与により 60 分をピークに一過性に抑制され、この作用は投与後 120 分にはほぼ完全に消失した ($P < 0.05$; Fig. 5A)。一方、acetone test における反応回数の増加は L-732,138 (100 µg/body) の髄腔内投与では抑制されなかった (Fig. 5B)。

(A) Von Frey test



(B) Acetone test

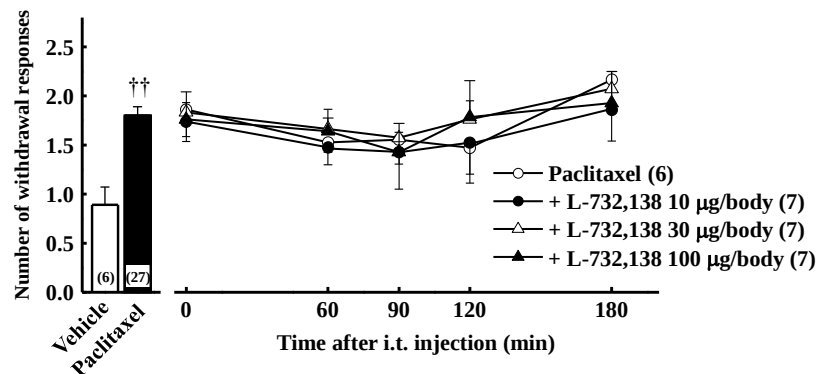


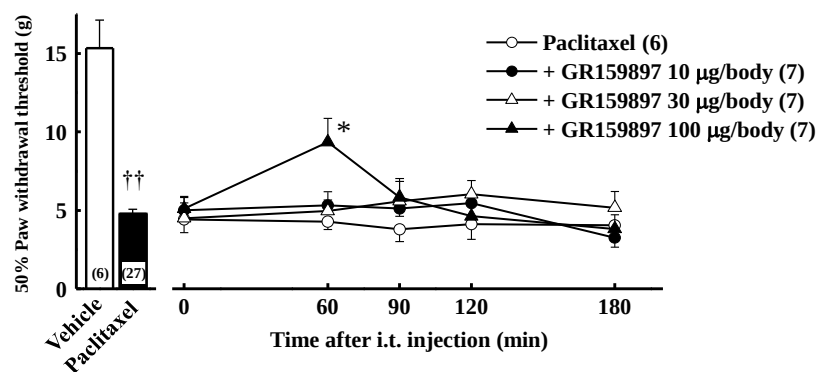
Fig. 5. Effect of L-732,138 on mechanical allodynia in the von Frey test (A) and cold hyperalgesia in the acetone test (B) in paclitaxel-treated rats. Rats were treated with paclitaxel (6 mg/kg, i.p.) once a week for 4 weeks. L-732,138 (10-100 µg/body) was administered i.t. Number of animals was shown in each parenthesis. Values are expressed as the mean $\pm$ S.E.M. $\dagger\dagger P < 0.01$ compared with vehicle, $*P < 0.05$ compared with paclitaxel alone.

3-5. パクリタキセルによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常に対する NK₂ 受容体拮抗剤の抑制効果

パクリタキセルによって誘発された von Frey test における反応閾値の低下は、NK₂ 受容体拮抗剤 GR159897 (100 µg/body) の髄腔内投与により 60 分をピークに一過性に抑制され、この作用は投与後 120 分にはほぼ完全に消失した ($P < 0.05$; Fig. 6A)。

一方、acetone test における反応回数の増加は GR159897 (100 µg/body) の髄腔内投与では抑制されなかった (Fig. 6B)。

(A) Von Frey test



(B) Acetone test

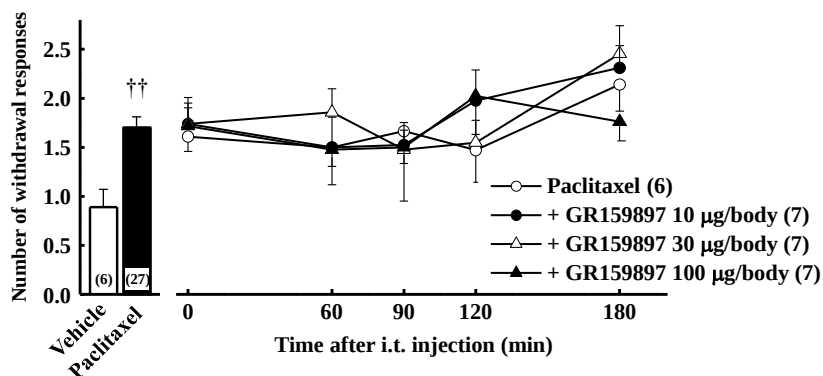


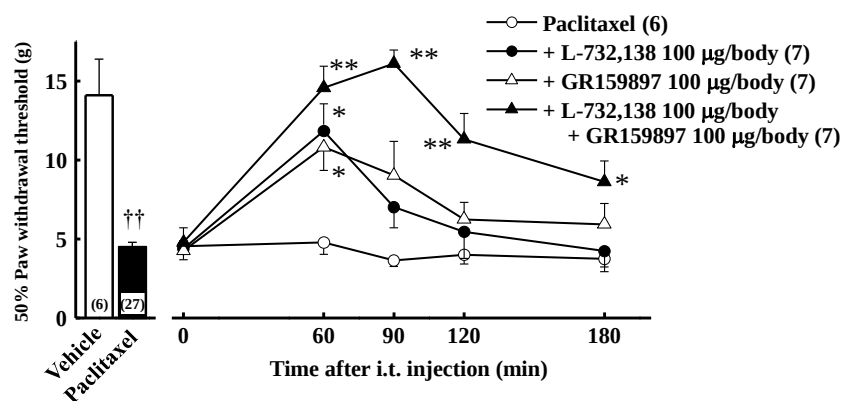
Fig. 6. Effect of GR159897 on mechanical allodynia in the von Frey test (A) and cold hyperalgesia in the acetone test (B) in paclitaxel-treated rats. Rats were treated with paclitaxel (6 mg/kg, i.p.) once a week for 4 weeks. GR159897 (10-100 µg/body) was administered i.t. Number of animals was shown in each parenthesis. Values are expressed as the mean $\pm$ S.E.M. $\dagger\dagger P < 0.01$ compared with vehicle, $*P < 0.05$ compared with paclitaxel alone.

3-6. パクリタキセルによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常に対する NK₁ 受容体拮抗剤および NK₂ 受容体拮抗剤の同時投与による抑制効果

パクリタキセルによって誘発された von Frey test における反応閾値の低下は、L-732,138 (100 µg/body, i.t.) および GR159897 (100 µg/body, i.t.) の同時投与により 60-90 分をピークにほぼ完全に抑制された。この作用は投与後 180 分まで持続していた ($P < 0.05$ or 0.01 ; Fig. 7A)。

また、パクリタキセルによって誘発された acetone test における反応回数の増加は、L-732,138 (100 µg/body, i.t.) および GR159897 (100 µg/body, i.t.) の同時投与により 60 分をピークに一過性に抑制され、この作用は投与後 120 分にはほぼ完全に消失した ($P < 0.01$; Fig. 7B)。

(A) Von Frey test



(B) Acetone test

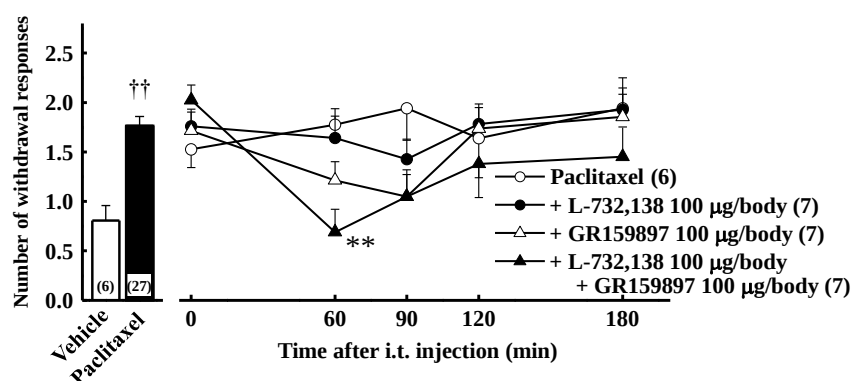


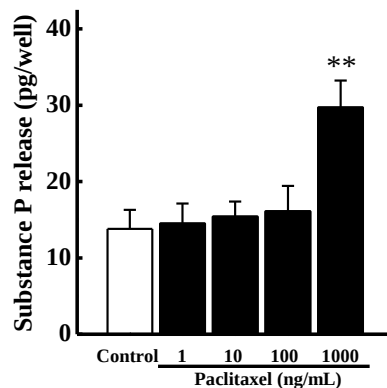
Fig. 7. Effect of co-administration of L732,138 and GR159897 on mechanical allodynia in the von Frey test (A) and cold hyperalgesia in the acetone test (B) in paclitaxel-treated rats. Rats were treated with paclitaxel (6 mg/kg, i.p.) once a week for 4 weeks. L-732,138 (100 µg/body) and GR159897 (100 µg/body) were administered i.t. Number of animals was shown in each parenthesis. Values are expressed as the mean $\pm$ S.E.M. $\dagger\dagger P < 0.01$ compared with vehicle, $*P < 0.05$, $**P < 0.01$ compared with paclitaxel alone.

3-7. 培養 DRG 細胞からのサブスタンス P 遊離に対するパクリタキセルならびにオキサリプラチンの影響

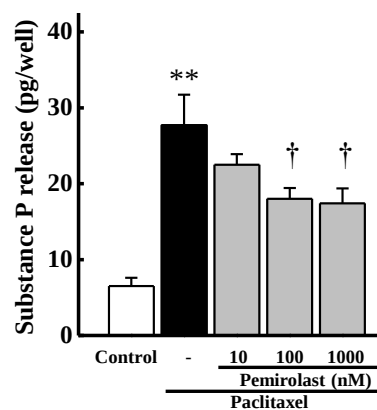
培養 DRG 細胞にパクリタキセル (1000 ng/mL) を処置すると、サブスタンス P 遊離が有意に亢進した ($P < 0.01$; Fig. 8A)。また、パクリタキセル (1000 ng/mL) によるサブスタンス P 遊離亢進は、ペミロラスト (100-1000 nM) の処置により有意に抑制された ($P < 0.05$; Fig. 8B)。

一方、オキサリプラチン (0.01-100 $\mu\text{g/mL}$) は培養 DRG 細胞からのサブスタンス P 遊離に影響しなかった (Fig. 8C)。

(A) Paclitaxel



(B) Pemirolast



(C) Oxaliplatin

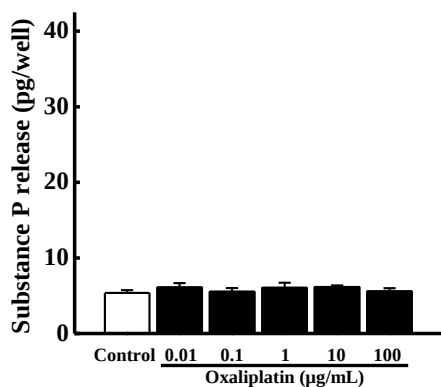


Fig. 8. Release of substance P from cultured adult rat DRG neurons. DRG neurons were pretreated with or without pemirolast [10-1000 nM (B)] for 3 h in HBSS, followed by the treatment with paclitaxel [1-1000 ng/mL (A)] or oxaliplatin [0.01-100 $\mu\text{g/mL}$ (C)] for 10 min at 37 °C. Values are expressed as the mean $\pm$ S.E.M of five experiments. ** $P < 0.01$ compared with control, † $P < 0.05$ compared with paclitaxel alone.

4. 考察

4-1. パクリタキセルによる培養 DRG 細胞からのサブスタンス P 遊離に対するペミロラストの効果

ラットの培養 DRG 細胞にパクリタキセルを処置すると、サブスタンス P 遊離が有意に亢進し (Fig. 8A)、Miyano ら (2009) の報告と一致する結果が得られた。一方 Apfel ら (1991) はマウスを用いた実験から、パクリタキセルによって DRG 細胞中のサブスタンス P が減少すると報告している。パクリタキセルは transient receptor potential (TRP) チャネルを介した細胞外カルシウムの流入によって培養 DRG 細胞からのサブスタンス P 遊離を引き起こす (Miyano et al., 2009)。一方、オキシリプラチンを処置してもサブスタンス P 遊離は亢進しなかった (Fig. 8C)。このことから、オキシリプラチンはパクリタキセルとは異なった作用を有しており、サブスタンス P 遊離経路には影響しないと考えられる。Ling ら (2007b) はオキシリプラチン (6 mg/kg) を単回腹腔内投与した 24 時間後の脊髄後角ではサブスタンス P 発現量が増加することを報告している。これらの矛盾は薬剤の処置方法などの実験方法の違いに起因するものと考えられる。

パクリタキセル処置によるサブスタンス P 遊離亢進は、ペミロラストの処置により有意に抑制された (Fig. 8B)。これまでの当研究室の研究において、ペミロラストは、ヒスタミンやロイコトリエンなどのケミカルメディエーターだけでなく、サブスタンス P、ニューロキニン A、CGRP などの知覚神経ペプチドの遊離も抑制することが明らかになった (Itoh et al., 2004b)。ペミロラストは、イノシトールリン脂質代謝、細胞外カルシウムの流入および細胞内貯蔵部位からのカルシウム遊離、ホスホジエステラーゼを阻害することが報告されている (Fujimiya et al., 1991, 1994; Yanagihara et al., 1988)。また、パクリタキセルによって誘発される培養 DRG 細胞からのサブスタンス P 遊離には、TRP チャネルを介した細胞外カルシウムの流入が関与している (Miyano et al., 2009)。したがって、ペミロラストは細胞外カルシウムの流入を阻害することによって、パクリタキセルによって生じるサブスタンス P の過剰な遊離を抑制すると考えられる。

4-2. パクリタキセルならびにオキシリプラチンによる末梢神経障害の発現

パクリタキセルならびにオキシリプラチンの投与により、von Frey test における反応閾値の低下 (機械的アロディニア、Figs. 1A, 2A) および acetone test における反応回数の増加 (低温知覚異常、Figs. 1B, 2B) が認められ、これまでの当研究室での知見と一致していた (Kawashiri et al., 2009; Sakurai et al., 2009)。

パクリタキセルは投与開始後 19 日、26 日において機械的アロディニアおよび低温知覚異常を引き起こした (Fig. 1)。我々は以前、パクリタキセルを連続投与したラットでは、投与開始後 25 日の坐骨神経において軸索の変性が生じていることを報告した (Kawashiri et al., 2009)。またタキサン系薬剤により神経障害を発症した患者の神経組織の調査では軸索の変性、脱髄などが確認され神経障害の発現機序との関連が示唆されている (Fazio et al., 1999; New et al., 1996; Sahenk et al., 1994)。これらの神経変性が、パクリタキセルによって引き起こされる機械的アロディニアおよび低温知覚異常に関与している可能性がある。

オキシリプラチンは投与開始後 17 日、24 日において機械的アロディニアを引き起こした (Fig. 2A)。これまでの動物を用いた研究においても、オキシリプラチンは神経の細胞体の障害および細胞核、核小

体の異常を引き起こし (Cavaletti et al., 2001; McKeage et al., 2001)、DRG 神経の萎縮を引き起こすことが報告されている (Jamieson et al., 2005)。さらに培養神経細胞を用いた研究においても、オキサリプラチンが細胞死および突起進展阻害を引き起こすことも報告されている (Luo et al., 1999; Ta et al., 2006)。DRG 神経に対するオキサリプラチンの神経毒性は、プラチナと DNA の結合に起因すると考えられている (Ta et al., 2006)。オキサリプラチンは生体内において、塩化物イオン存在下で非酵素的にオキサレート基が脱離し、ジクロロ 1,2-ジアミノシクロヘキサン白金 (dichloro(1,2-diaminocyclohexane)platinum(II); Pt(dach)Cl₂) をはじめとするプラチナ活性体へと変換される (Graham et al., 2000)。我々は以前の検討において、プラチナ活性体 Pt(dach)Cl₂ を投与すると、投与開始後 17 日、24 日において機械的アロディニアが認められる一方で、低温知覚異常は認められないことを明らかにした (Sakurai et al., 2009)。これらのことは、オキサリプラチンによって生じる機械的アロディニアにはプラチナ活性体による神経毒性が関与することを示唆している。一方、オキサリプラチンによって生じる低温知覚異常は、投与開始後 3 日というきわめて早い段階から認められた (Fig. 2B)。これは臨床におけるオキサリプラチンの急性神経障害と類似している。我々はオキサリプラチンから脱離するオキサレート基が、低温知覚異常に関与する一方で機械的アロディニアには関与しないことを明らかにした (Sakurai et al., 2009)。また、オキサレート基はカルシウムおよびマグネシウムをキレートすることによって低温知覚異常を引き起こすことを明らかとした (Sakurai et al., 2009)。以上のことから、低温知覚異常の発現メカニズムは機械的アロディニアの発現メカニズムとは異なると考えられる。

4-3. パクリタキセルによる末梢神経障害におけるペミロラストの効果

ペミロラストはパクリタキセルによって誘発された機械的アロディニアおよび低温知覚異常を一時的に改善したが (Fig. 3)、オキサリプラチンによって生じた機械的アロディニアおよび低温知覚異常に対しては影響しなかった (Fig. 4)。また、パクリタキセルは培養 DRG 細胞からのサブスタンス P 遊離を亢進したが、オキサリプラチンは遊離には影響しなかった (Figs. 8A, C)。さらに、パクリタキセル処置によるサブスタンス P 遊離亢進は、ペミロラストの処置により有意に抑制された (Fig. 8B)。このことから、サブスタンス P はパクリタキセルによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常には関与しているが、オキサリプラチンによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常には関与していないことが示唆される。また、ペミロラストはパクリタキセルによるサブスタンス P の過剰な遊離を抑制することによって、機械的アロディニアおよび低温知覚異常を改善すると考えられる。ペミロラストはパクリタキセルによるサブスタンス P 遊離亢進を完全には抑制しなかったが、パクリタキセルによって誘発された機械的アロディニアおよび低温知覚異常をほぼ完全に抑制した。したがって、ペミロラストはサブスタンス P のみならず CGRP などの他の知覚神経ペプチドの遊離も抑制している可能性がある。

本研究では、ラットにペミロラストを経口投与した。ペミロラストの血液脳関門透過性は低く、単回経口投与した際は最も濃度が高い時点でも全血中濃度の約 1/13 である。そのため、ペミロラストは主に末梢への作用によって、パクリタキセルによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常を改善したと推察される。また、パクリタキセル処置による培養 DRG 細胞からのサブスタンス P 遊離亢進がペミロラストによって抑制されたことから、ペミロラストは末梢への作用があると考えられる。さらに、NK₁ 受容体拮抗剤および NK₂ 受容体拮抗剤の髄腔内投与が、パクリタキセルによって生じた機械的アロディニアおよび低温知覚異常を抑制した (Figs. 5-7) ことから、これらの拮抗剤は脊髄での痛覚伝達を抑制

したと考えられる。したがって、パクリタキセルによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常には少なくとも脊髄においてサブスタンス P による痛覚伝達に関与することが示唆された。

サブスタンス P は NK_1 および NK_2 受容体に結合する (Regoli et al., 1988)。Vachon ら (2004) は、坐骨神経へのカフ移植による機械的アロディニアにはサブスタンス P 増加に関与することを報告している。また、Goff ら (1998) は絞扼性神経損傷 (chronic constriction injury) によって機械的刺激に対する過敏症状の発現と同時に NK_1 受容体の免疫反応性が増加することを報告した。糖尿病性末梢神経障害の動物モデルを用いた実験では、 NK_1 受容体拮抗剤および NK_2 受容体拮抗剤が鎮痛効果を示すことが報告されている (Coudoré-Civiale et al., 2000)。また NK_1 受容体拮抗剤は、末梢神経の損傷によって生じる機械的アロディニアおよび低温知覚異常を改善することが示されている (Cahill et al., 2002; Gonzalez et al., 2000)。Dionne ら (1998) は、術後の急性痛を NK_1 受容体拮抗剤が抑制することを臨床において明らかにした。

本研究において、 NK_1 受容体拮抗剤および NK_2 受容体拮抗剤の同時投与はパクリタキセルによって生じた機械的アロディニアおよび低温知覚異常をほぼ完全に抑制した (Fig. 7)。したがって NK_1 および NK_2 受容体は、パクリタキセルによる末梢神経障害において重要な役割を果たしていることが示唆された。さらに、パクリタキセルによる末梢神経障害にはサブスタンス P が関与していることも改めて示された。

5. 小括

第 1 章では、パクリタキセルならびにオキサリプラチンによる末梢神経障害におけるペミロラストの効果およびサブスタンス P の関与について検討を行った。パクリタキセルによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常はペミロラストの経口投与により一時的に抑制された。一方、ペミロラストはオキサリプラチンによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常を抑制しなかった。さらに、 NK_1 受容体拮抗剤ならびに NK_2 受容体拮抗剤の髄腔内投与は、パクリタキセルによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常を一時的に抑制した。また、パクリタキセルによる培養 DRG 細胞からのサブスタンス P 遊離亢進はペミロラストによって抑制された。オキサリプラチンは培養 DRG 細胞からのサブスタンス P 遊離には影響しなかった。以上のことより、パクリタキセルによる末梢神経障害にはサブスタンス P が関与しており、オキサリプラチンによる末梢神経障害とはメカニズムが異なることが示唆された。

第2章 シスプラチンによる悪心・嘔吐に対するペミロラストの改善作用

1. 緒言

がん化学療法による悪心・嘔吐は、がん患者が最も苦痛を感じる副作用の1つであり (de Boer-Dennert et al., 1997; Lindley et al., 1999)、身体的および精神的状態の悪化を招くため、化学療法の継続に支障をきたす原因となることも少なくない。そのため、悪心・嘔吐を予防あるいは軽減することは、がん患者のQOLを維持し、化学療法を継続する上できわめて重要である。

がん化学療法によって誘発される悪心・嘔吐は、抗がん剤投与開始後24時間以内に発現する急性、24時間以降に発現する遅発性、化学療法開始前に発生する予測性の3種類に分類される。またその発現頻度は抗がん剤の種類、投与量、投与経路などにより異なり、悪心・嘔吐の発現頻度によって抗がん剤は、高度催吐性、中等度催吐性、最小度催吐性などに分類される (Table 1)。

シスプラチンは代表的な高度催吐性抗がん剤であり (Table 1)、典型的な急性および遅発性の悪心・嘔吐を引き起こす (Hainsworth et al., 1992; Martin, 1996)。この悪心・嘔吐には様々な神経伝達物質の関与が示唆されているが、中でもセロトニン (5-hydroxytryptamine; 5-HT) とサブスタンス P の関与が大きいと考えられている。セロトニンは、消化管の腸クロム親和性細胞より産生され、主に求心性神経上に存在する 5HT₃ 受容体を刺激することで、急性の悪心・嘔吐に関与すると考えられている (Tyers et al., 1992)。また、第一世代の 5-HT₃ 受容体拮抗薬は、急性の悪心・嘔吐には有効であるが遅発性の悪心・嘔吐には効果がない (Navari, 2009)。一方、サブスタンス P は、抗がん剤投与により分泌が亢進し、延髄の最後野や孤束核に存在する NK₁ 受容体に結合することで、急性および遅発性の悪心・嘔吐に関与すると考えられている (Darmani et al., 2009; Dey et al., 2010; Gonsalves et al., 1996; Quartara et al., 1998; Rudd et al., 1996a; Singh et al., 1997; Tattersall et al., 2000; Watson et al., 1995)。2009年に本邦でも承認された NK₁ 受容体拮抗薬であるアプレピタントは、急性の悪心・嘔吐のみならず、既存薬の効果が不十分とされてきた遅発性の悪心・嘔吐に対しても高い制吐効果を示し (Hesketh et al., 2003; Schmoll et al., 2006)、国内外の制吐療法ガイドラインにおいて、高度催吐性および一部の中等度催吐性の抗がん剤使用時に使用が推奨されている薬剤である (Table 2)。

Table 1. Emetic risk of intravenously administered antineoplastic agents

日本癌治療学会分類	海外のガイドラインにおける分類	薬剤・レジメン
高度（催吐性）リスク	High emetic risk （催吐頻度>90%）	シスプラチン シクロホスファミド（>1,500 mg/m ² ） ダカルバジン ドキシソルビン+シクロホスファミド（AC） エビルビン+シクロホスファミド（EC） altretamine carmustine（>250 mg/m ² ） mechlorethamine streptozocin
中等度（催吐性）リスク	Moderate emetic risk （催吐頻度30~90%）	インターロイキン2 （>12~15 million units/m ² ） ブスルファン（>4 mg/day） カルボプラチン シクロホスファミド（≤1,500 mg/m ² ） シタラビン（>200 mg/m ² ） アクチノマイシンD ダウノルビン ドキシソルビン エビルビン イダルビン イホスファミド インターフェロンα（≥10,000 units/m ² ） イリノテカン メルファラン（≥50 mg/m ² ） メトトレキサート（250~1,000 mg/m ² ） オキサリプラチン（≥75 mg/m ² ） ネダプラチン※ エノシタビン※ テラルビン※ アムルビン※ 亜ヒ酸 テモゾロミド amifostine（≥300 mg/m ² ） azacitidine bendamustine carmustine（≤250 mg/m ² ） clofarabine
軽度（催吐性）リスク	Low emetic risk （催吐頻度10~30%）	インターロイキン2 （≤12 million units/m ² ） シタラビン（100~200 mg/m ² ） ドセタキセル リポソーマルドキシソルビン エトポシド 5-フルオロウラシル ゲムシタビン インターフェロンα （5,000~10,000 units/m ² ） メトトレキサート（50~250 mg/m ² ） マイトマイシンC ミトキサントロン バクリタキセル ベメトレキセド トポテカン ベントスタチン ニムスチン※ ラニムスチン※ amifostine（<300 mg/m ² ） ixabepilone paclitaxel-albumin
最小度（催吐性）リスク	Minimal emetic risk （催吐頻度<10%）	L-アスパラギナーゼ ベバズマブ ブレオマイシン ボルテゾミブ セツキシマブ クラドリビン シタラビン（<100 mg/m ² ） フルダラビン ゲムツズマブオゾガマイシン メトトレキサート（≤50 mg/m ² ） リツキシマブ トラスツズマブ ネララビン ビンブラスチン ピンクリスチン ビノレルビン ビンデシン※ ペブロマイシン※ alemtuzumab decitabine denileukin diftitox dexrazoxane panitumumab pegaspargase temsirolimus valrubicin

注1：英語表記は本邦未承認。

注2：「※」は海外のガイドラインには記載がないが、わが国では使用可能な薬剤。

注3：下線付きの薬剤は20年以上前に開発された薬剤（ネダプラチンとアムルビンを除く）。

一般社団法人日本癌治療学会 編. 制吐薬適正使用ガイドラインより一部改変

Table 2. Drug regimens for the prevention of chemotherapy-induced emesis by emetic risk category

	day 1 (抗がん剤投与前)	day 2	day 3	day 4	day 5
高度催吐性リスク					
アプレビタント (mg)	125	80	80		
5-HT ₃ 受容体拮抗薬	○				
デキサメタゾン (mg)	9.9	8	8	8	[8]
中等度催吐性リスク					
5-HT ₃ 受容体拮抗薬	○				
デキサメタゾン (mg)	9.9 (6.6)	8	8	[8]	
(オプション)					
アプレビタント (mg)	125	80	80		
5-HT ₃ 受容体拮抗薬	○				
デキサメタゾン (mg)	4.95 (3.3)	[4]	[4]	[4]	
軽度催吐性リスク					
デキサメタゾン (mg)	6.6 (3.3)				
最小度催吐性リスク	通常、予防的な制吐療法は推奨されない				
	急性	遅発性			

注 1 : 各薬剤の推奨用量をダイアグラム内に数値で示した。

注 2 : デキサメタゾンは、day 1 は注射薬（リン酸デキサメタゾンナトリウム 4 mg/mL 中にデキサメタゾン 3.3 mg/mL を含有）、day 2 以降は経口薬とし、一般的推奨用量と代替用量を参考値として（ ）内に表記した。また、経口投与が困難な場合は注射薬での投与を検討する。

注 3 : デキサメタゾンの日数については、[]は状況に応じて選択できるものとする。

一般社団法人日本癌治療学会 編、制吐薬適正使用ガイドラインより一部改変

嘔吐に関する基礎研究は、フェレット、ジャコウネズミやトガリネズミの一種 (*Suncus murinus*, *Cryptotis parva*) など嘔吐行動を示す動物が汎用されている。しかしながら、これらの嘔吐行動を示す小型の哺乳動物は、ラットやマウスに比べて入手が困難であることや、生物学的な情報量が著しく少ないなどの問題がある。一方、ラットは嘔吐行動を示さないが、抗がん剤を投与すると通常の食餌とはまったく異なるものを摂食する異食行動 (*pica*) を示す。そのため、この異食行動は悪心・嘔吐の指標として用いられている (Takeda et al., 1993)。さらに、Yamamoto ら (2007) の報告では、ラットに抗がん剤を投与した際のカオリン (ケイ酸アルミニウム酸化物) の摂食行動と臨床における催吐作用との相関性が示されている。また、カオリンの摂食行動は制吐薬のスクリーニングにも用いられており、デキサメタゾン、5-HT₃ 受容体拮抗薬オンダンセトロン、NK₁ 受容体拮抗剤 GR205171 および HSP-117 がシスプラチンによるカオリン摂食行動を抑制することが確認されている (Malik et al., 2007; Saeki et al., 2001; Takeda et al., 1993)。またシスプラチンによるカオリン摂食行動が NK₁ 受容体拮抗剤により抑制されることから、カオリン摂食行動におけるサブスタンス P の関与が示唆される (Malik et al., 2007; Saeki et al., 2001)。

当研究室では、これまでにパクリタキセルによる過敏症や末梢神経障害にサブスタンス P が関与することを報告している (Itoh et al., 2004a; Sendo et al., 2004; Tatsushima et al., 2011)。さらに、抗アレルギー薬ペミロラストがサブスタンス P の遊離を抑制しこれらの症状を改善することを明らかにしている (Itoh et al., 2004b; Tatsushima et al., 2011; Yahata et al., 2006)。これらのことから、ペミロラストはサブスタンス P や NK₁ 受容体が関与するシスプラチンの悪心・嘔吐を抑制する可能性があると考えられる。そこで本章では、シスプラチンによる悪心・嘔吐に対するペミロラストの効果を、ラットのカオリン摂食行動を指標として検討を行った。

2. 方法

2-1. 実験動物および飼育方法

6 週齢（体重 160-250 g）の Wistar 系雄性ラット（九動株式会社、佐賀）を用いた。ラットは恒温、恒湿及び明暗 12 時間周期（明期 7:00-19:00）の条件下で、個別ケージ（225×338×140 mm）内で飼育した。ケージには餌箱を 2 つ（通常飼料およびカオリン飼料用）入れ、通常飼料を約 70 g、カオリン飼料を約 30 g 設置した。さらに、ケージの床面に金網とキムタオル（食べ残した通常飼料およびカオリン飼料を回収するため）を設置した。それぞれの飼料および飲料水（約 200 mL）は自由に摂取できるようにした。なお、動物実験は九州大学動物実験規則に準拠し、米国立衛生研究所（National Institutes of Health; NIH）ガイドラインに従い実施した。

2-2. 使用薬物

シスプラチン（cis-diamineplatinam (II) dichloride）、5-HT₃ 受容体拮抗薬オンダンセトロン（ondansetron hydrochloride dihydrate）、副腎皮質ステロイド剤デキサメタゾン（dexamethasone 21-phosphate disodium salt）は Sigma-Aldrich, Inc.（St. Louis, MO, USA）より購入し、生理食塩水に溶解した。NK₁ 受容体拮抗薬アプレピタント（イメンドカプセル[®]、小野薬品工業株式会社、大阪）は、Tattersall ら（2000）の方法を参考に 60%プロピレングリコール（和光純薬工業株式会社、大阪）、10%エタノール（和光純薬工業株式会社、大阪）を含む蒸留水に懸濁した。ペミロラストは田辺三菱製薬工場株式会社（大阪）より提供を受け、蒸留水に溶解した。

2-3. カオリン飼料の作製

カオリン飼料は Saito ら（2006）の方法を参考に作製した。カオリン（和光純薬工業株式会社、大阪）に 7%アラビアゴム末（関東化学株式会社、東京）を混合し、蒸留水を添加してペースト状にした。これをチューブに詰め、乾燥機で半日乾燥した後、チューブから取り出し、通常飼料と同じ大きさに切り分けた。これをさらに乾燥機で完全に乾燥して使用した。

2-4. カオリンおよび通常飼料摂食量の測定

実験は Fig. 9 に示すスケジュールに従って行った。

ラットは、環境適応期間として薬物投与 3 日前から、カオリン飼料を約 30 g、通常飼料を約 70 g 入れた個別ケージで飼育した。24 時間におけるカオリンおよび通常飼料摂食量は、毎日 16 時前後に測定した。摂食量は、餌箱中のカオリンまたは正常飼料とキムタオル上の食べこぼしの重量の和を、前日に餌箱に設置した際の各々の重量から差し引いて求めた。キムタオル上の食べこぼしは尿や飲料水などの水分を含むため、完全に乾燥させた後に測定した。なお、3 日間の環境適応期間のカオリン摂食量が 1.0 g を超えているラットは、薬物投与によるカオリン摂食量の変化が評価できないため除外した。

シスプラチン（2-10 mg/kg）は環境適応期間の 3 日間の後に腹腔内投与した。オンダンセトロン（2 mg/kg）、デキサメタゾン（2 mg/kg）は、シスプラチン投与の 10 分前に腹腔内投与し、さらに 24、48、72 および 96 時間後に投与した（計 5 回）。オンダンセトロンおよびデキサメタゾンは、それぞれ反対側

に投与した。アプレピタント（3-30 mg/kg）およびペミロラスト（3-10 mg/kg）は、シスプラチン投与のそれぞれ 1 時間前、30 分前に経口投与し、さらに 24、48、72 および 96 時間後に投与した（計 5 回）。用量および投与スケジュールは文献を参考に設定した（Fujisaki et al., 2001; Miyazawa et al., 1997; Rudd et al., 2002; Saeki et al., 2001; Tattersall et al., 2000）。

カオリンおよび通常飼料摂食量は各薬物を投与してから 5 日もしくは 7 日間測定した。

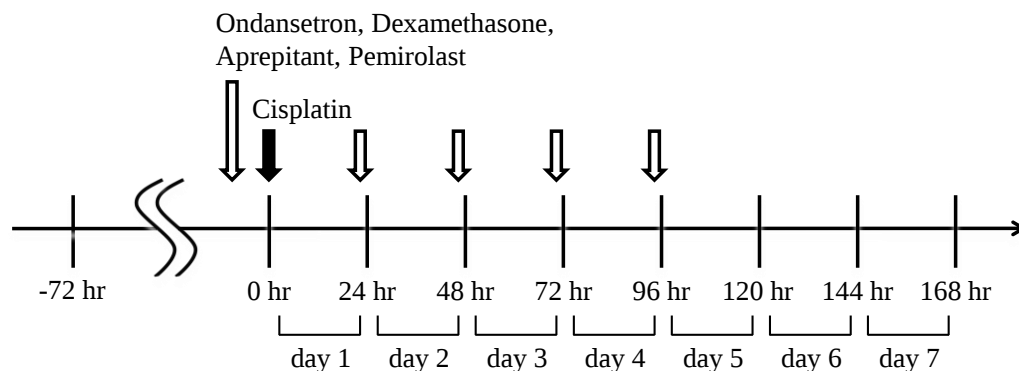


Fig. 9. Schematic diagram of experimental protocol. The animals were injected i.p. with vehicle or cisplatin (2–10 mg/kg) at the same time as placement of the new pellets after adaptation. Ondansetron (2 mg/kg, i.p.) and dexamethasone (2 mg/kg, i.p.) were administered 10 min before and 24, 48, 72 and 96 h (five times in total) after administration of cisplatin. Aprepitant or pemirolast was administered 1 h or 30 min before and 24, 48, 72 and 96 h (five times in total) after administration of cisplatin.

2-5. 脳脊髄液中サブスタンス P の定量

実験は Fig. 9 の days 1-3 に示すスケジュールに従って行った。

ラットにシスプラチン（5 mg/kg）およびペミロラスト（10 mg/kg）を投与し、day 3 の脳脊髄液中のサブスタンス P を定量した。なお、ペミロラストはシスプラチン投与の 30 分前および 24、48、72 時間後に投与した（計 4 回）。

脳脊髄液はペミロラストの最終投与から 1 時間後に、ペントバルビタールナトリウム塩（50 mg/kg, i.p., ナカライテスク株式会社、京都）麻酔下で大槽穿刺にて採取した。サブスタンス P の分解を防ぐため、採取した脳脊髄液にアプロチニン（6400 KIU/mL、生化学用、ウシ肺由来、和光純薬工業株式会社、大阪）、EDTA・2Na（同仁化学研究所、熊本）および 4% TFA（和光純薬工業株式会社、大阪）を、最終濃度がそれぞれ 12.2 μ L/mL、1 mg/mL および 150 μ L/mL となるよう添加した。

脳脊髄液を遠心（1,000 G、10 分、4°C）後、上清を精製しサンプルとし、第 1 章と同様の手順で EIA キット（Cayman Chemical Co., Ann Arbor, MI, USA）を用いて測定した。

2-6. 統計解析

データは、平均値 $\pm$ 標準誤差で示した。多群間の比較は、一元配置分散分析（one-way ANOVA）あるいは二元配置分散分析（two-way repeated measures ANOVA）後、Tukey-Kramer test により有意差検定を行った。検定には Stat View（Abacus Concept, Berkeley, CA, USA）を用い、有意水準を 5%とした。

3. 結果

3-1. シスプラチンによるカオリン摂食量の変化

シスプラチン 5 mg/kg 投与群では、投与 1-7 日後におけるカオリン摂食量が有意に増加した ($P < 0.05$ or 0.01 ; Fig. 10A)。また投与 1-5 日後における通常飼料摂食量が有意に低下した ($P < 0.01$; Fig. 10B)。シスプラチン 10 mg/kg 投与群では通常飼料摂食量が有意に低下したが ($P < 0.01$; Fig. 10B)、カオリン摂食量の増加はみられなかった (Fig. 10A)。シスプラチン 5 mg/kg 投与群、10 mg/kg 投与群では体重が有意に低下した ($P < 0.05$ or 0.01 ; Fig. 10C)。

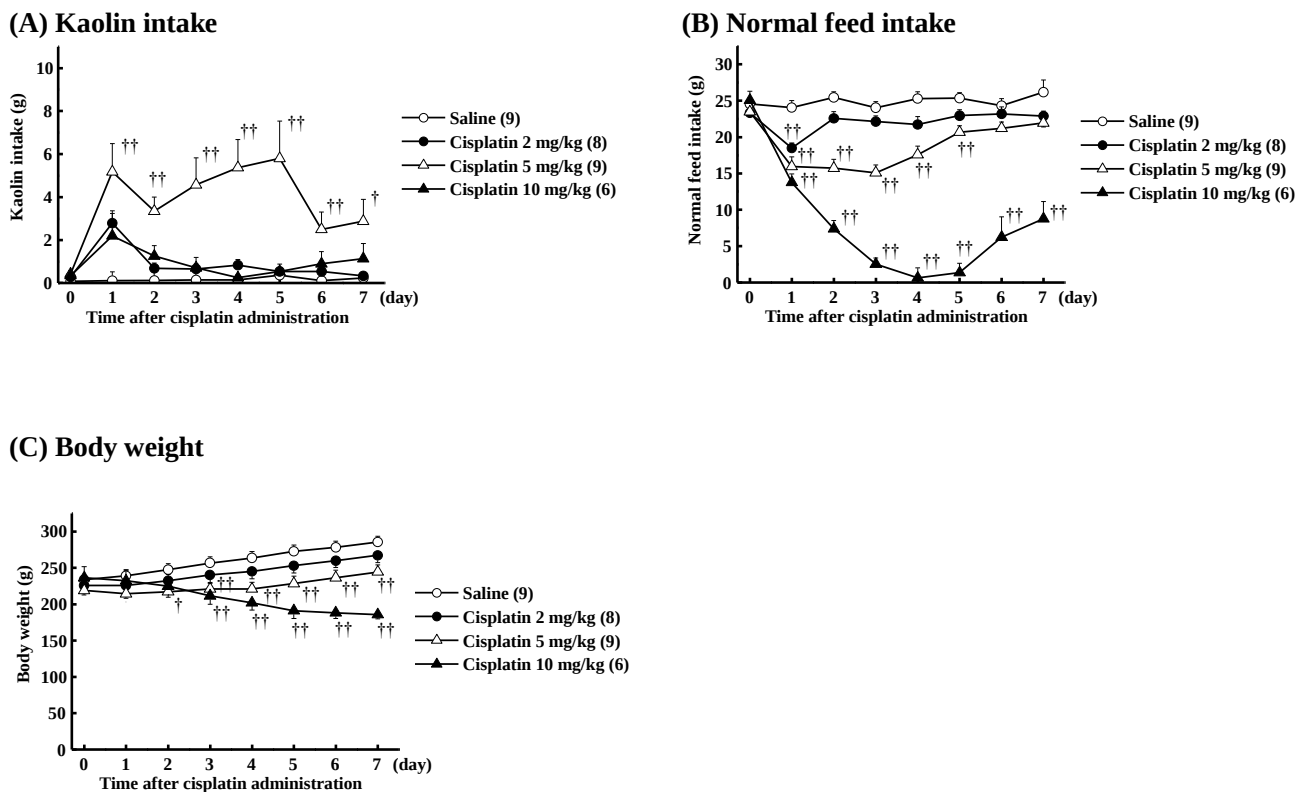
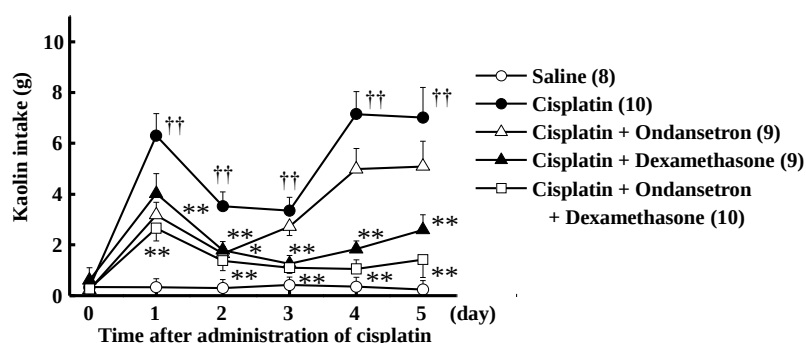


Fig. 10. Effects of cisplatin on intakes of kaolin (A) and normal feed (B), and body weight (C) in rats. Cisplatin (2–10 mg/kg, i.p.) or vehicle was administered on day 0. Data are expressed as mean $\pm$ SEM. The number of animals is shown in each parenthesis. † $P < 0.05$, †† $P < 0.01$ compared with vehicle.

3-2. シスプラチン誘発カオリン摂食量の変化に対するオンダンセトロンおよびデキサメタゾンの作用

シスプラチン (5 mg/kg) によって誘発されたカオリン摂食量の増加は、オンダンセトロン (2 mg/kg) の投与により days 1-2 において有意に抑制された ($P < 0.01$; Fig. 11A)。また、デキサメタゾン (2 mg/kg) の投与により days 2-5 において有意に抑制された ($P < 0.05$ or 0.01 ; Fig. 11A)。さらに、オンダンセトロンおよびデキサメタゾンの併用は、シスプラチンによって誘発されたカオリン摂食量増加を days 1-5 において有意に抑制した ($P < 0.01$; Fig. 11A)。オンダンセトロンおよびデキサメタゾンはシスプラチンによる通常飼料摂食量の低下には影響しなかった (Fig. 11B)。

(A) Kaolin intake



(B) Normal feed intake

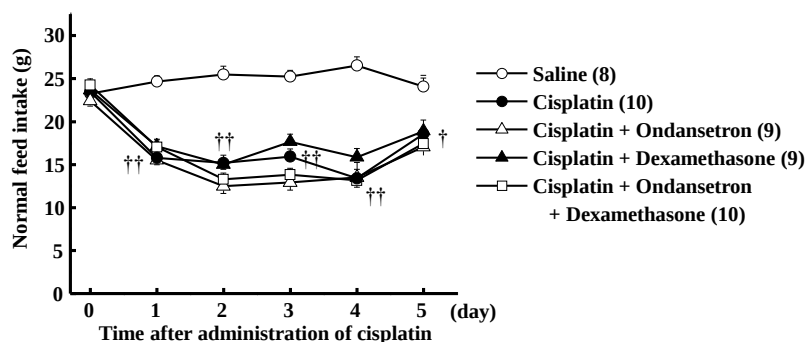
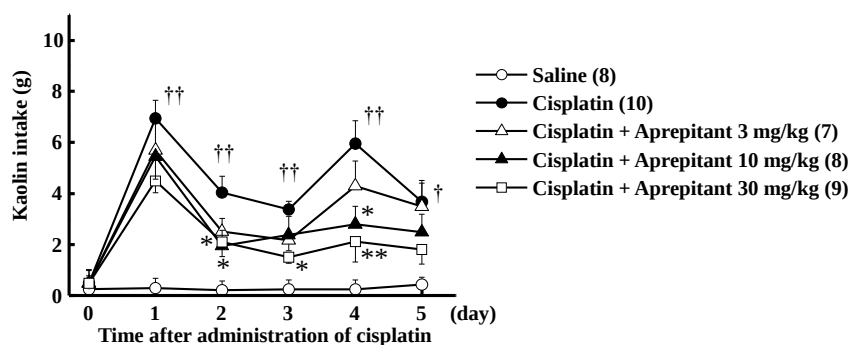


Fig. 11. Effects of ondansetron and dexamethasone on cisplatin-induced increase in kaolin intake (A) and decrease in normal feed intake (B) in rats. Cisplatin (5 mg/kg, i.p.) or vehicle was administered on day 0. Ondansetron (2 mg/kg, i.p.) and dexamethasone (2 mg/kg, i.p.) were administered 10 min before and 24, 48, 72 and 96 h after cisplatin. Data are expressed as mean $\pm$ SEM. The number of animals is shown in each parenthesis. $\dagger P < 0.05$, $\dagger\dagger P < 0.01$ compared with vehicle, $*P < 0.05$, $**P < 0.01$ compared with cisplatin alone.

3-3. シスプラチン誘発カオリン摂食量の変化に対するアプレピタントの作用

シスプラチン (5 mg/kg) によって誘発されたカオリン摂食量の増加は、アプレピタント (10, 30 mg/kg) の経口投与により days 2-4 において有意に抑制された ($P < 0.05$ or 0.01 ; Fig. 12A)。アプレピタントはシスプラチンによる通常飼料摂食量の低下には影響しなかった (Fig. 12B)。

(A) Kaolin intake



(B) Normal feed intake

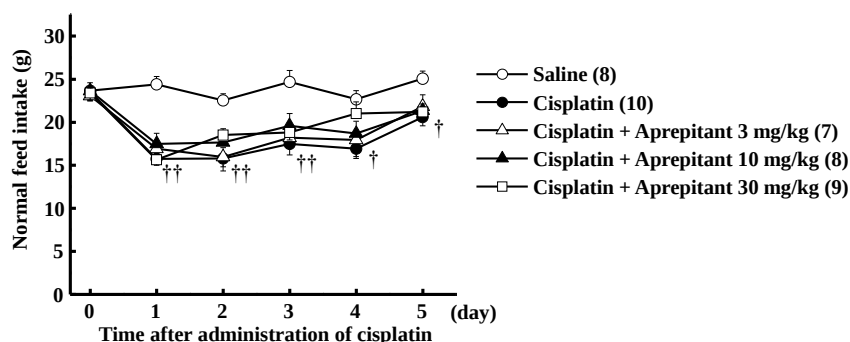
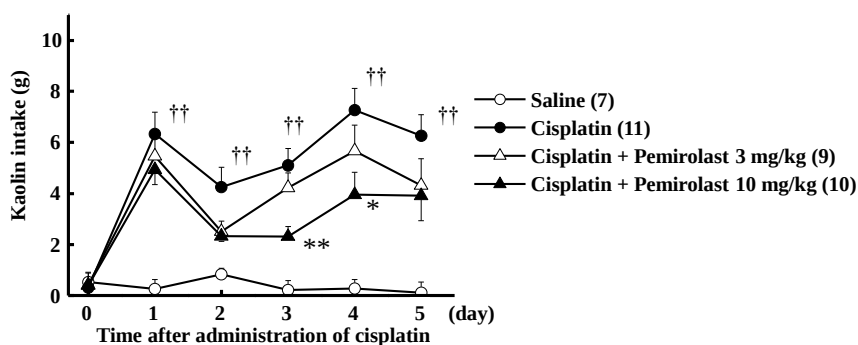


Fig. 12. Effects of aprepitant on cisplatin-induced increase in kaolin intake (A) and decrease in normal feed intake (B) in rats. Cisplatin (5 mg/kg, i.p.) or vehicle was administered on day 0. Aprepitant (3–30 mg/kg, p.o.) was administered 1 h before and 24, 48, 72 and 96 h after cisplatin. Data are expressed as mean $\pm$ SEM. The number of animals is shown in each parenthesis. $\dagger P < 0.05$, $\dagger\dagger P < 0.01$ compared with vehicle, $*P < 0.05$, $**P < 0.01$ compared with cisplatin alone.

3-4. シスプラチン誘発カオリン摂食量の変化に対するペミロラストの作用

シスプラチン (5 mg/kg) によって誘発されたカオリン摂食量の増加は、ペミロラスト (10 mg/kg) の経口投与により days 3-4 において有意に抑制された ($P < 0.05$ or 0.01 ; Fig. 13A)。ペミロラストはシスプラチンによる通常飼料摂食量の低下には影響しなかった (Fig. 13B)。

(A) Kaolin intake



(B) Normal feed intake

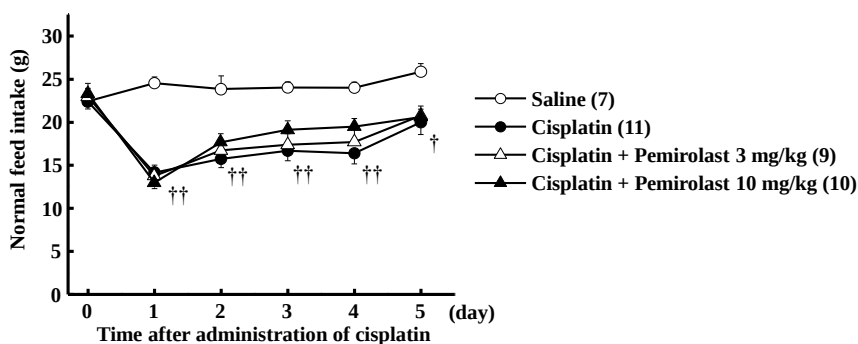


Fig. 13. Effects of pemirolast on cisplatin-induced increase in kaolin intake (A) and decrease in normal feed intake (B) in rats. Cisplatin (5 mg/kg, i.p.) or vehicle was administered on day 0. Pemirolast (3 and 10 mg/kg, p.o.) was administered 30 min before and 24, 48, 72 and 96 h after cisplatin. Data are expressed as mean $\pm$ SEM. The number of animals is shown in each parenthesis. † $P < 0.05$, †† $P < 0.01$ compared with vehicle, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with cisplatin alone.

3-5. シスプラチン誘発脳脊髄液中サブスタンス P 含有量増加に対するペミロラストの影響

Vehicle 群の脳脊髄液中サブスタンス P 量は 50.48 ± 1.79 pg/mL であったが、シスプラチン (5 mg/kg) 投与により 65.17 ± 3.00 pg/mL にまで増加した ($P < 0.01$; Fig. 14)。

また、シスプラチンによる脳脊髄液中サブスタンス P 量の増加は、ペミロラスト (10 mg/kg) の投与により 54.89 ± 3.15 pg/mL にまで抑制された ($P < 0.05$; Fig. 14)。

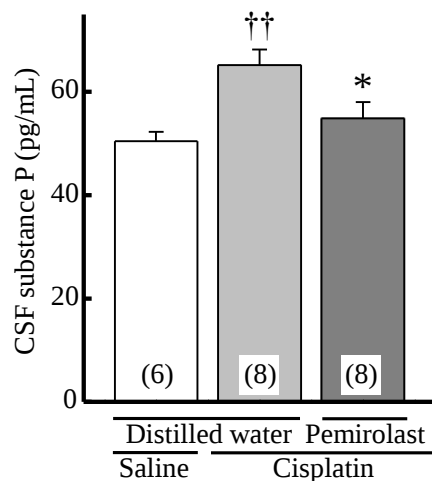


Fig. 14. Effects of cisplatin and pemirolast on substance P levels in cerebrospinal fluid (CSF) of rats. Cisplatin (5 mg/kg, i.p.) or vehicle was administered on day 0. Pemirolast (10 mg/kg, p.o.) was administered 30 min before and 24, 48 and 72 h after cisplatin. The CSF was collected from rats anesthetized with sodium pentobarbital 1 h after the last administration of pemirolast. Data are expressed as mean $\pm$ SEM. The number of animals is shown in each parenthesis. †† $P < 0.01$ compared with vehicle, * $P < 0.05$ compared with cisplatin alone.

4. 考察

4-1. ラットにおけるカオリン摂食を指標としたシスプラチンの悪心・嘔吐モデル

シスプラチン (5 mg/kg) の単回投与によりカオリン摂食量が増加し、通常飼料摂食量が低下した (Figs. 10A, B)。またカオリン摂食量は day 1 および days 4-5 をピークに、2 峰性の増加を示した (Fig. 10A)。これらは臨床現場で発現するシスプラチンの急性悪心・嘔吐 (24 時間以内) および遅発性悪心・嘔吐 (24 時間以降) に類似していた。シスプラチン 10 mg/kg 投与群においては、カオリンの摂食量は増加せず、通常飼料摂食量および体重の減少がみられた (Fig. 10)。また、一部のラットで下痢の発現や死亡が確認された。したがって、シスプラチンによる悪心・嘔吐のラットモデルとして、5 mg/kg 投与が適切と考えられた。また、5 mg/kg 投与群では days 6-7 においてカオリンの摂食量が低下していることから (Fig. 10A)、シスプラチンの効果が消失していると考えられた。よって以後の検討では観察期間を day 5 までとした。

次に、臨床で広く用いられている制吐薬であるオンダンセトロン、デキサメタゾンおよびアプレピタントを用い、このモデルの妥当性を確認した。オンダンセトロンの反復投与は、シスプラチンによって誘発されたカオリン摂食量の増加を days 1-2 において抑制したが、その効果は day 3 以降では消失した (Fig. 11A)。またデキサメタゾンの反復投与は、シスプラチンによって誘発されたカオリン摂食量の増加を days 2-5 において抑制し、オンダンセトロンおよびデキサメタゾンの併用は、days 1-5 においてカオリン摂食行動を抑制した (Fig. 11A)。アプレピタントの反復投与もまた、シスプラチンによるカオリン摂食量の増加を days 2-4 において抑制した (Fig. 12A)。これらの薬剤の効果については、フェレットを用いた実験において同様の報告がなされており (Rudd et al., 1996b; Tattersall et al., 2000)、臨床における制吐効果とも一致している (Cocquyt et al., 2001; Hesketh et al., 1994, 2003; Schmoll et al., 2006; Smith et al., 1991)。

なお、オンダンセトロン、デキサメタゾンおよびアプレピタントは、シスプラチンによる通常飼料摂食量の低下には影響しなかった (Figs. 11B, 12B)。したがってこれらの薬剤がシスプラチンによるカオリン摂食行動を抑制する作用は、食思抑制作用とは異なると考えられる。

以上より本研究で用いたモデルは、シスプラチンによる悪心・嘔吐を評価する上で適切なモデルであると考えられた。

4-2. シスプラチンによるカオリン摂食行動におけるサブスタンス P の関与

サブスタンス P は延髄 (最後野、弧束核、迷走神経背側運動核) の NK_1 受容体や、延髄に投射している腹部求心性迷走神経の NK_1 受容体を介して嘔吐を引き起こすことが報告されている (Darmani et al., 2008; Minami et al., 1998, 2001; Saito et al., 2003)。また NK_1 受容体作動薬/拮抗薬は中枢移行性がなければ催吐/制吐作用を示さないことが報告されている (Darmani et al., 2008; Rupniak et al., 1997; Tattersall et al., 1996)。

本研究において、シスプラチンの腹腔内投与はカオリン摂食量および脳脊髄液中サブスタンス P 量を増加させた (Figs. 13A, 14)。シスプラチンによる遅発性のカオリン摂食行動は、アプレピタントの反復投与により days 2-4 において抑制された (Fig. 12A)。ペミロラストの反復投与は、シスプラチンによ

て誘発された遅発性のカオリン摂食行動を days 3-4 において抑制 (Fig. 13A) すると同時に、脳脊髄液中サブスタンス P 量の増加を抑制した (Fig. 14)。本研究では脳脊髄液を大槽より採取したが、大槽は第 4 脳室とつながっているため、第 4 脳室底に存在する最後野などのサブスタンス P 量を反映すると考えられる。したがってシスプラチンによる遅発性のカオリン摂食行動には、中枢のサブスタンス P および NK₁ 受容体が関与することが示された。

4-3. シスプラチンによるカオリン摂食行動に対するペミロラストの効果

ペミロラストは肥満細胞膜安定化作用を有し、カルシウム動員抑制によりヒスタミンなどのケミカルメディエーターの遊離を抑制する (Fujimiya et al., 1991; Yanagihara et al., 1988)。我々は以前の検討において、ペミロラストがサブスタンス P 遊離抑制作用を有することを明らかにした (Itoh et al., 2004b; Tatsushima et al., 2011; Yahata et al., 2006)。本研究においてもペミロラストによって、シスプラチンによる脳脊髄液中のサブスタンス P 量増加が抑制された (Fig. 14)。ペミロラストの血液脳関門透過性は低く、単回経口投与した際は最も濃度が高い時点でも全血中濃度の約 1/13 である。しかしながら本章の検討ではペミロラストの用量を第 1 章での検討よりも高く設定しており (第 1 章: 0.01-1 mg/kg、第 2 章: 3-10 mg/kg)、ペミロラストが中枢へ移行し脳からのサブスタンス P 遊離を抑制している可能性が考えられる。サブスタンス P の遊離にはカルシウム動員が関与していることから (Rane et al., 1987; White, 1996)、ペミロラストによるサブスタンス P 遊離抑制作用はカルシウム動員抑制に基づくと考えられる。

また、ペミロラストはヒスタミン H₁ 受容体拮抗作用がないものの (Yanni et al., 1997)、ヒスタミン遊離抑制作用をもつ (Minami et al., 2005)。ヒスタミンは動揺病による悪心・嘔吐に関与し (Takeda et al., 1986)、ジフェンヒドラミンなどのヒスタミン H₁ 受容体拮抗薬が用いられている。しかしながら H₁ 受容体拮抗薬はシスプラチンによる悪心・嘔吐にはほとんど効果がないことが臨床試験によって示されている (Tsukuda et al., 1995)。また、シスプラチンによって誘発されるラットのカオリン異食行動に対しても効果がない (Takeda et al., 1995)。よってシスプラチンによるカオリン摂食行動をペミロラストが抑制する効果には、ヒスタミン遊離抑制作用は関係しないと考えられる。

シスプラチンは脳および消化管においてサブスタンス P の mRNA 量およびタンパク量を増加させる (Darmani et al., 2009; Dey et al., 2010)。また、ヒトにおいて、シスプラチンなどの抗がん剤によって血清サブスタンス P 量が増加することが確認されており (Higa et al., 2009; Yamada et al., 2007)、血清中のサブスタンス P は血液脳関門を通過し、中枢へ移行する (Chappa et al., 2006; Freed et al., 2002)。

したがってペミロラストは、シスプラチンによる脳および消化管からのサブスタンス P 遊離を抑制することによって脳脊髄液中のサブスタンス P 量を減少させ、カオリン摂食行動を抑制すると考えられる。

4-4. シスプラチンによる悪心・嘔吐に対するペミロラストの有用性

本研究において、ペミロラストはシスプラチンによる遅発性のカオリン摂食行動を抑制した。このことから、ペミロラストは特に遅発性の悪心・嘔吐に有効であることが示唆された。現在、臨床では遅発性の悪心・嘔吐に対してデキサメタゾンやアプレピタントが用いられているが、十分な抑制効果は得られていない。また、デキサメタゾンは副作用が多く、慎重に投与しなければならない。アプレピタントは cytochrome P450 (CYP) 3A4 の阻害作用ならびに誘導作用、CYP2C9 の誘導作用を有するため、薬物相互作用に注意する必要がある (Navari, 2004)。これに対して、ペミロラストは副作用が全症例中 1.71%

（再審査終了時における発現率）と少なく、その大半が眠気・腹痛等の軽微なものである。さらに薬価も安く、相互作用もないことから臨床において使用しやすい薬剤であると考えられる。

5. 小括

第2章では、シスプラチンによる悪心・嘔吐に対するペミロラストの効果を、ラットのカオリン摂食行動を指標として検討した。シスプラチンによるカオリン摂食行動は、オンダンセトロン、デキサメタゾンおよびアプレピタントによって抑制され、臨床における制吐作用を反映した指標であることが確認された。ペミロラストの反復投与は、シスプラチンによる遅発性のカオリン摂食行動を抑制した。またこの作用は、シスプラチンによるサブスタンス P 遊離を抑制することによって脳脊髄液中のサブスタンス P 量を減少させる作用に基づくことが示唆された。以上より、ペミロラストはシスプラチンによる悪心・嘔吐のコントロールに有用である可能性が示唆された。

第3章 オキサリプラチンによる末梢神経障害に対する

カルシウム拮抗薬の有用性 — 後向き調査研究 —

1. 緒言

オキサリプラチンの末梢神経障害は急性障害と慢性障害に大別され、それぞれ特徴的な臨床症状を呈する (Table 3)。とりわけ急性神経障害はオキサリプラチンに特徴的な症状であり、投与直後から生じ (Pasetto et al., 2006; Quasthoff et al., 2002; Wilson et al., 2002)、全患者の 85-95% に発現する (Grothey, 2005)。症状は手、足や口唇周囲部等の感覚異常または知覚不全が代表的であり、冷感刺激により惹起されるのが特徴である (Extra et al., 1998; Grothey, 2005; Pasetto et al., 2006; Wilson et al., 2002)。さらに、咽頭喉頭の感覚異常や絞扼感、発声困難も生じる (Berretta et al., 2004; de Gramont et al., 2000; Hill et al., 2010)。一方、慢性神経障害ではオキサリプラチンの累積投与量の増加に伴って手足のしびれ感や疼痛、感覚異常の悪化や回復遅延が認められる。進行すると、文字を書きにくい、ボタンをかけにくい、歩きにくい等の機能障害が現れる。これらの症状が現れた場合には減量、休薬、中止等の処置が必要となる。

当研究室における基礎実験から、オキサリプラチン (4 mg/kg、週 2 回腹腔内投与) をラットに連続投与すると、急性期 (投与 3 日目) から低温知覚異常が、慢性期 (投与 3 週目) から機械的アロディニアが発現することを報告している。さらに、低温知覚異常にはオキサリプラチンから脱離されるオキサレート基が、機械的アロディニアにはプラチナ活性体 Pt(dach)Cl_2 が関与することも明らかにしている (Sakurai et al., 2009)。一方、Gauchan ら (2009) は、オキサリプラチンによる冷感過敏症状を発現したマウスでは温度感受性チャネルの一つである TRPM8 の mRNA 量が増加していることを報告している。TRPM8 は、TRP ファミリーに属し低温 (<25°C) やメントールの刺激によって活性化する (McKemy et al., 2002; Peier et al., 2002)。当研究室では、培養 DRG 細胞にオキサリプラチンおよびオキサレート基を処置すると、細胞内カルシウム濃度の上昇、NFAT の核内移行、TRPM8 の発現上昇が起こることを明らかにした。またこれらの変化は、電位依存性 L 型および L/T 型カルシウムチャネル阻害薬であるニフェジピンおよびジルチアゼム、ナトリウムチャネル阻害薬であるメキシレチンの処置により抑制された。ラットにおいて、オキサリプラチンの投与は低温知覚異常を誘発し、同時に TRPM8 の発現を増加させた。また、ニフェジピン、ジルチアゼム、メキシレチンの併用により TRPM8 の発現増加が抑制され、低温知覚異常の発現が抑制された。以上より、急性神経障害でみられる低温知覚異常の発現には、電位依存性ナトリウムチャネルおよび L/T 型カルシウムチャネル、NFAT の活性化を介した TRPM8 の発現増加が関与しており、メキシレチン、ニフェジピンおよびジルチアゼムの予防投与が効果的であることが明らかとなっている (Kawashiri et al., 2012; Fig. 15)。

Table 3. Clinical characteristics of oxaliplatin-associated acute neuropathy and chronic neurotoxicity

Characteristic	Acute Neuropathy	Chronic Neurotoxicity
Incidence	85%-95%; incidence and severity correlated with peak dose of oxaliplatin	Grade 3/4 in 12%-18%; incidence correlated with cumulative dose
Dose-Limiting Toxicity	No	Yes
Symptoms	Paresthesia, dysesthesia	Paresthesia, dysesthesia, sensory ataxia
Location	Extremities, perioral	Extremities
Trigger	Cold exposure	None (surgery?)
Motor Symptoms	Rare muscle spasms	None
Onset	Acute	Delayed
Recovery	Rapid, complete	Less slow, more complete
Schedule Dependence	Yes	Probably none
Other	Laryngopharyngeal dysesthesias	None
Etiology	Functional interference with sodium channels in cell membranes of nerve cells?	Gradual accumulation of platinum in dorsal root ganglia?

Grothey. *Clin Colorectal Cancer* 2005, 5 Suppl 1:S38-46. より一部改変

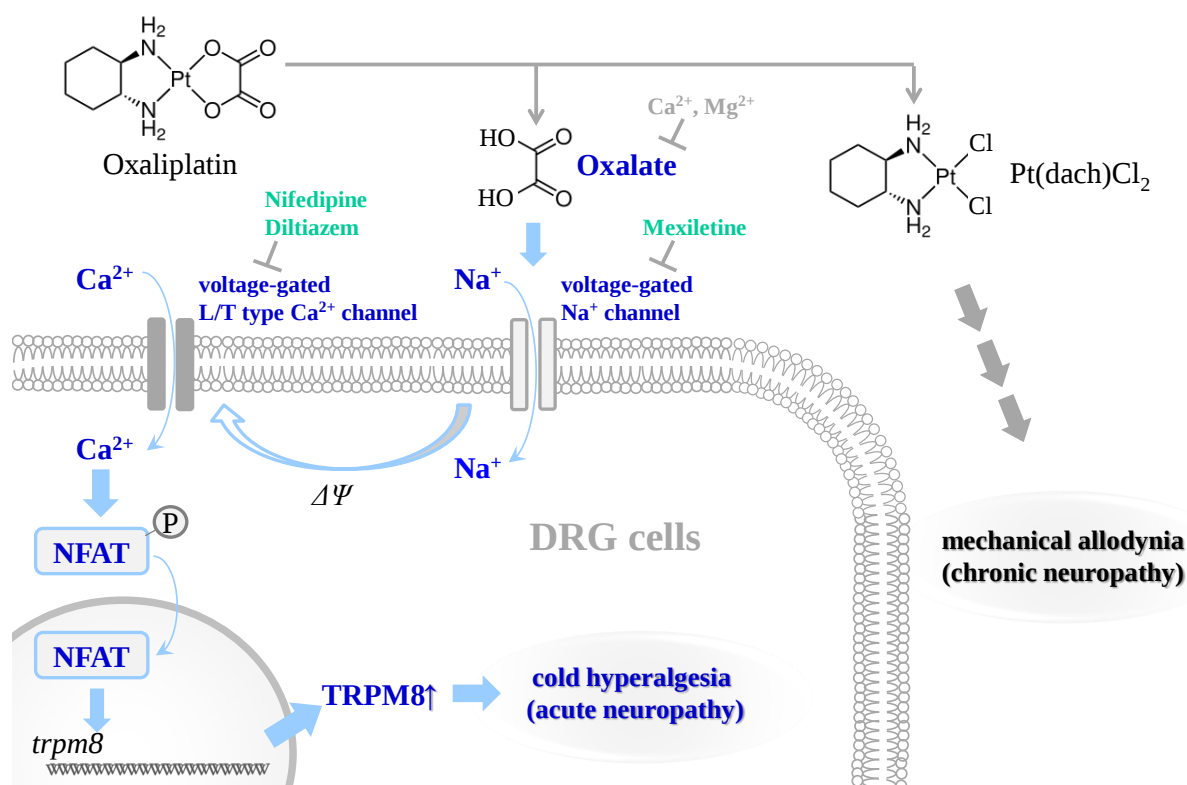


Fig. 15. Mechanism of oxaliplatin-induced peripheral neuropathy. Oxalate derived from oxaliplatin is involved in oxaliplatin-induced cold hyperalgesia via Ca²⁺ influx through voltage-gated L/T type Ca²⁺ channels, NFAT activation and TRPM8 overexpression in DRG.

本邦の高血圧治療ガイドライン（2009）では、カルシウム拮抗薬は第一選択薬の一つとして推奨されている。平成 18 年国民健康・栄養調査によれば日本人の高血圧症（140 mmHg/90 mmHg 以上）有病者の比率は年齢とともに増加し、60 歳代では 61.4%、70 歳代では 72.3%と報告されている（健康・栄養情報研究会 編, 国民健康・栄養の現状-平成 18 年厚生労働省国民健康・栄養調査報告より-, 2009）。一方、オキサリプラチンの適応である大腸がんの罹患率も年齢とともに上昇し、特に 60 歳代以降の罹患率が顕著である（がんの統計編集委員会 編, がんの統計'10, 2010）。そのためオキサリプラチンを用いた化学療法を受けている大腸がん患者の中にもカルシウム拮抗薬を服用している患者がある程度存在しているのではないかと推測される。そこで本章では、基礎研究で見出されたカルシウム拮抗薬の有効性を臨床において確認するため、オキサリプラチンを含む代表的な化学療法である mFOLFOX6 療法（オキサリプラチン、レボホリナート、フルオロウラシル併用療法）を施行された患者を対象に後向き調査を行い、末梢神経障害に対するカルシウム拮抗薬の効果について評価を行った。

2. 方法

2-1. 対象患者

2008年1月1日～2010年12月31日に九州大学病院にてオキサリプラチンを処方された患者のうち、以下の除外基準に抵触しない患者を対象とした。

除外基準

- 1) オキサリプラチンの投与歴がある患者
- 2) mFOLFOX6 以外のオキサリプラチン含有レジメン (FOLFOX4、XELOX、GEMOX) を施行された患者
 - ※ FOLFOX4 : オキサリプラチン 85 mg/m² (day 1)、レボホリナート 100 mg/m² (days 1-2)、フルオロウラシル 400 mg/m² 急速静注 (days 1-2)、フルオロウラシル 600 mg/m² 22 時間持続点滴 (days 1-2)
 - ※ XELOX : カペシタビン 2000 mg/m²/day (days 1-14)、オキサリプラチン 130 mg/m² (day 1)
 - ※ GEMOX : ゲムシタビン 1000 mg/m² (days 1, 8)、オキサリプラチン 100 mg/m² (day 1)
- 3) mFOLFOX6 療法開始時の電子カルテ調査ができない患者 (電子カルテ導入前の患者)
- 4) 脳転移がある患者
- 5) mFOLFOX6 療法開始前より末梢神経障害、麻痺がある患者
- 6) mFOLFOX6 療法 1 クール目から、末梢神経障害の評価に影響する薬剤 (オピオイド、牛車腎気丸、ビタミン B₁₂、ガバペンチン) を併用している患者

なお本研究は、ヘルシンキ宣言に従って行い、九州大学医学系地区部局臨床研究倫理委員会の承認を得て実施した (許可番号 : 22-147)。

2-2. 化学療法

mFOLFOX6 療法は、オキサリプラチン 85 mg/m² (day 1)、レボホリナート 200 mg/m² (day 1)、フルオロウラシル 400 mg/m² 急速静注 (day 1)、フルオロウラシル 2400 mg/m² 46 時間持続点滴 (days 1-2) を 2 週間おきに投与するレジメンである。重篤な骨髄抑制や末梢神経障害が生じた場合、各薬剤の減量や休薬期間の延長が行われた。

2-3. 調査方法

電子カルテより、対象患者の背景 (年齢、性別、原発部位、合併症、化学療法施行歴、原発部位手術歴)、オキサリプラチン投与量を調査した。さらに mFOLFOX6 療法 1 クール目から 4 クール目におけるオキサリプラチンの Relative Dose Intensity (RDI) を算出した。末梢神経障害の発現の有無は、電子カルテに記載された患者の訴えおよび医療者の副作用評価から調査した。

抗がん剤による末梢神経障害の評価は National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria を用いたグレード評価が一般的であり、九州大学病院でも使用されている。しかしこの評価方法は、日常生活動作の制限の程度を指標としたものであり、オキサリプラチンの急性神経障害の特徴である冷感刺激により惹

起される一過性の症状を評価するには不適切と考えられた。また、この評価方法では咽頭喉頭の感覚異常や絞扼感、発声困難の評価が困難という問題点もあった。そのため本研究では、急性神経障害については症状の有無のみを評価した。また、慢性神経障害に対しては mFOLFOX6 療法のスケジュール変更や神経障害の軽減を目的とした薬剤の追加などの対策が日常的に行われており、正確なグレード評価が困難であった。なお、神経障害のように客観的評価が困難な副作用のグレード評価では、医療者による評価と患者による評価との間に大きな相違がみられることも指摘されている (Stephens et al., 1997)。そこで慢性神経障害については代替的指標として mFOLFOX6 療法のスケジュール変更および薬剤 (牛車腎気丸、ビタミン B₁₂) の追加の有無を評価した。

2-4. 急性神経障害の評価

急性神経障害に特徴的な症状として、冷感刺激により惹起される手足の感覚異常、咽頭喉頭の感覚異常や絞扼感、発声困難を調査した。観察期間は mFOLFOX6 療法 1 クール目から 4 クール目 (オキサリプラチン累積投与量 340 mg/m²) までとした。これはオキサリプラチンの慢性神経障害は累積投与量 540 mg/m² 以上から顕著になる (Cersosimo, 2005) ことに加え、同じプラチナ製剤であるシスプラチンの末梢神経障害が累積投与量 350 mg/m² 付近より生じる (Thompson et al., 1984) ことを考慮し、慢性神経障害を除外するためである。

2-5. 慢性末梢神経障害の評価

慢性神経障害の代替的指標として、末梢神経障害による mFOLFOX6 療法のスケジュール変更 (延期、減量、フルオロウラシル+レボホリナートのみの投与、レジメン変更) および末梢神経障害に対する薬剤 (牛車腎気丸、ビタミン B₁₂) の追加状況を調査した。これらは、オキサリプラチンの慢性神経障害の重篤化を防ぐために一般的に行われる対策である。したがって末梢神経障害のグレードよりも、上記の対策の実施状況を調査するほうが慢性神経障害の発現状況を評価するうえで適切と考えられる。なお、観察期間は mFOLFOX6 療法の全クールとした。

2-6. 統計解析

対象患者を対照群 (カルシウム拮抗薬非併用群) とカルシウム拮抗薬併用群とに分け、患者背景および末梢神経障害の発現状況を比較した。患者背景の比較には Mann-Whitney U test (年齢、RDI)、Fisher's exact test (原発部位)、 χ^2 test with Yate's correction (糖尿病、化学療法施行歴、原発部位手術歴) を用いた。末梢神経障害の累積発現率は Kaplan-Meier 法を用いて算出し、その有意差検定には log-rank test を用いた。データ解析は Stat view (Abacus Concepts, Berkeley, CA, USA) を用い、有意水準を 5% とした。

3. 結果

3-1. 患者選択

患者選択の結果を Fig. 16 に示す。2008 年 1 月 1 日から 2010 年 12 月 31 日にオキサリプラチンが処方された患者 200 名から、除外基準に抵触する患者 84 名を除外した。適格患者 116 名中、男性は 69 名、女性 は 47 名であった。このうちカルシウム拮抗薬併用患者は男性 26 名、女性 3 名であり、女性のカルシウム拮抗薬併用患者が極端に少なかった ($P < 0.0005$, χ^2 test with Yates' correction)。したがって男性患者のみを対象に解析を行うこととした。

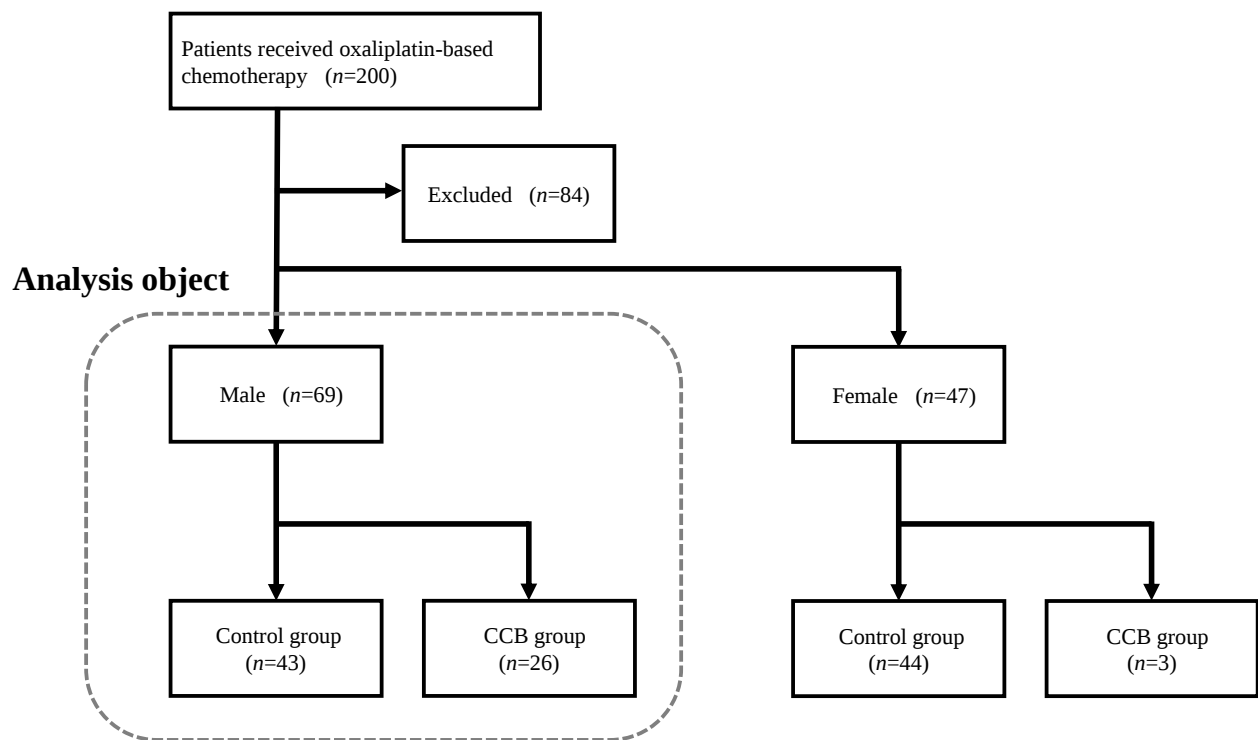


Fig. 16. Consort diagram.

CCB: calcium channel blocker

3-2. 患者背景

男性の解析対象患者 69 名の患者背景を Table 4 に示す。カルシウム拮抗薬併用群の年齢が対照群に比べ有意に高かった ($P < 0.005$) ものの、それ以外の項目では両群に有意な差は認められなかった。

カルシウム拮抗薬併用群が使用していた薬剤はアムロジピンが最も多かった (Table 5)。

Table 4. Patients characteristics.

	Control group, $n=43$	Calcium channel blocker group, $n=26$	P value
Age (year)			
Median (range)	62 (36-83)	70 (42-84)	0.0015 ¹⁾
Primary tumor, N (%)			
Colorectal	39 (91)	22 (85)	0.4637 ²⁾
Others	4 (9)	4 (15)	
Diabetes, N (%)			
With	6 (14)	9 (35)	0.0855 ³⁾
Without	37 (86)	17 (65)	
Relative dose intensity of oxaliplatin (%)			
Median (range)	89 (47-102)	88 (47-98)	0.5731 ¹⁾
Prior chemotherapy, N (%)			
Yes	11 (26)	6 (23)	>0.9999 ³⁾
No	32 (74)	20 (77)	
Surgery of primary tumor, N (%)			
Yes	34 (79)	21 (81)	>0.9999 ³⁾
No	9 (21)	5 (19)	

¹⁾ Mann-Whitney U test, ²⁾ Fisher's exact test, ³⁾ χ^2 test with Yates' correction

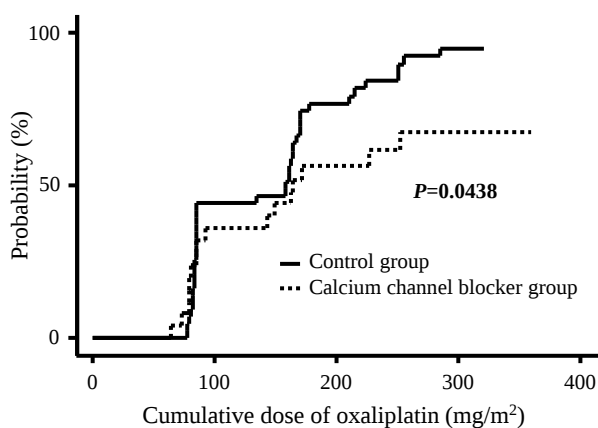
Table 5. Breakdown of calcium channel blockers.

	No. (%)
Amlodipine	12 (46)
Nifedipine	6 (23)
Azelnidipine	2 (8)
Diltiazem	2 (8)
Benidipine	1 (4)
Cilnidipine	1 (4)
Nilvadipine	1 (4)
Amlodipine and nilvadipine	1 (4)

3-3. オキサリプラチンによる末梢神経障害に対するカルシウム拮抗薬の効果

オキサリプラチンの累積投与量増加に伴い、急性および慢性の神経障害の累積発現率も増加した (Fig. 17)。急性神経障害の累積発現率はカルシウム拮抗薬併用群において有意に低かった ($P < 0.05$; Fig. 17A)。一方、慢性神経障害では両群に有意な差は認められなかった (Fig. 17B)。

(A) Acute neuropathy



(B) Chronic neuropathy

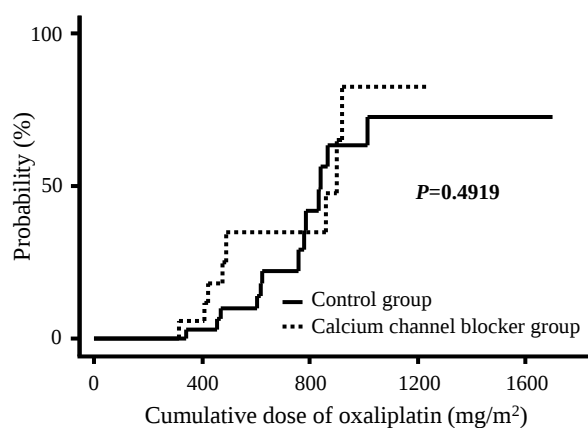


Fig. 17. Probability of acute neuropathy (A) and Chronic neuropathy (B) by cumulative dose of oxaliplatin in patients treated with or without calcium channel blockers. The incidence of acute and chronic neuropathy increased with increasing cumulative dose of oxaliplatin. The cumulative incidence curve of acute neuropathy was significantly lower in the calcium channel blocker group ($P=0.0438$, log-rank test). Calcium channel blocker had no effect on the incidence of chronic neuropathy ($P=0.4919$, log-rank test).

4. 考察

4-1. オキサリプラチンによる急性神経障害に対するカルシウム拮抗薬の効果

当研究室では、ラットを用いた基礎研究により、急性期からみられる低温知覚異常の発現には、電位依存性ナトリウムチャネルおよび L/T 型カルシウムチャネル、NFAT の活性化を介した TRPM8 の発現増加が関与しており、カルシウム拮抗薬であるニフェジピンおよびジルチアゼムの予防投与が効果的であることを明らかにした (Kawashiri et al., 2012)。この結果を受け、本研究では mFOLFOX6 療法施行患者を対象とした後向き調査を行い、末梢神経障害に対するカルシウム拮抗薬の影響を評価した。

カルシウム拮抗薬併用群では、mFOLFOX6 療法 1-4 クールにおける急性神経障害の発現が有意に抑制されていた (Fig. 17A)。これは基礎実験の結果と一致しており、ヒトにおいてもカルシウム拮抗薬が急性神経障害に有効である可能性が示唆された。ラットを用いた基礎実験においては、オキサリプラチンによる低温知覚異常の発現は、ニフェジピン (10-30 mg/kg) あるいはジルチアゼム (10-30 mg/kg) の同時投与によりほぼ完全に予防され、これらの用量はラットにおいて降圧作用が報告されている用量 (Nagao et al., 1985) と同程度であった。しかしながら本研究では、カルシウム拮抗薬併用群でも急性神経障害が発現しており、完全な抑制効果は認められなかった。これは、本研究ではカルシウム拮抗薬の使用量や種類による層別化を行わず、少量投与の症例やニフェジピン、ジルチアゼム以外のカルシウム拮抗薬を服用している症例を含めて解析したことが影響していると考えられる。

4-2. オキサリプラチンによる慢性神経障害に対するカルシウム拮抗薬の効果

カルシウム拮抗薬は急性神経障害の発現を有意に抑制する一方で、慢性神経障害の発現には影響しなかった (Fig. 17B)。当研究室では、オキサリプラチンの慢性神経障害でみられる機械的アロディニアにはプラチナ活性体 Pt(dach)Cl₂ による末梢神経の軸索変性および細胞障害が関連していることを報告している (Kawashiri et al., 2011; Sakurai et al., 2009)。一方、低温知覚異常が発現する急性期には軸索変性や細胞障害が発現していないことから、この障害は機械的アロディニアとは全く異なるメカニズムによって発現していることが推察される。本研究において、カルシウム拮抗薬が慢性神経障害に効果を示さないことから、慢性神経障害は急性神経障害とは発現機序が異なっていると考えられた。

4-3. オキサリプラチンによる末梢神経障害の評価方法および影響する因子

本研究では、女性のカルシウム拮抗薬服用患者が極端に少ないという結果となった (Fig. 16)。これは女性患者群の年齢中央値が 59 歳 (データ未記載) であり、男性患者群 (年齢中央値; 対象群 62 歳、カルシウム拮抗薬併用群 70 歳) よりもやや若く、高血圧患者が少なかったことが一因と推測される。日本人の 60-70 歳代男性の高血圧症有病率は 66.7-71.4% であるのに対し、50 歳代女性では 39.2% と著しく少ない (健康・栄養情報研究会 編, 国民健康・栄養の現状-平成 18 年厚生労働省国民健康・栄養調査報告より-, 2009) ことが影響しているのかもしれない。

Gamelin ら (2004) は、オキサリプラチン/フルオロウラシル/ロイコボリンによる化学療法を施行された患者を対象とした後向き調査において、オキサリプラチンの末梢神経障害の発現率は男女で等しいが、女性の方がより重篤な神経障害を呈すると報告している。痛みについては、一般的に女性の方が男性よ

り感受性が高く、疼痛を発現しやすい (Berkley, 1997)。よって本研究では性差の影響も除外するため、男性患者のみを解析対象とした。また、今回カルシウム拮抗薬併用群は対照群に比べて有意に年齢が高かった (Table 4) が、これは高齢の患者の方が高血圧などの疾患によってカルシウム拮抗薬の使用頻度が高いためと考えられる。なお、オキサリプラチンや他の抗がん剤による末梢神経障害においては、年齢はリスク因子とならないことが示されており (Argyriou et al., 2006; Gamelin et al., 2004; Sugimoto et al., 2009; Tofthagen et al., 2012)、両群の年齢差は今回の末梢神経障害の発現率には影響していないと考えられる。

4-4. オキサリプラチンによる末梢神経障害に対するカルシウム拮抗薬の有用性

本研究において、mFOLFOX6 療法を施行された男性患者 69 名中、26 名 (37.7%) においてカルシウム拮抗薬が使用されていることが明らかとなった。カルシウム拮抗薬はオキサリプラチンとの相互作用がなく、その抗腫瘍効果や副作用への影響を示唆する報告もない。大腸がん治療においてはオキサリプラチンにベバシズマブが併用されることも多いが、副作用として高血圧を引き起こすことも知られている。このような場合にも、末梢神経障害の予防の観点からカルシウム拮抗薬の使用が適していると考えられる。しかしながら、今回の臨床調査は後向き調査であり、より信頼性の高い結果を得るためには前向き観察研究を行い、用量およびそれぞれのカルシウム拮抗薬ごとの効果や、抗腫瘍効果への影響についても検証する必要があると思われる。

5. 小括

第 3 章では、mFOLFOX6 療法施行患者を対象とした後向き調査により、カルシウム拮抗薬がオキサリプラチンによる急性神経障害を抑制することを示した。これは基礎実験の結果と一致しており、ヒトにおいても急性神経障害に対してカルシウム拮抗薬が予防的効果を有する可能性を示唆している。一方、カルシウム拮抗薬は慢性神経障害には影響しないことから、別の対策が必要であると考えられた。

総括

末梢神経障害はタキサン系、プラチナ系およびビンカアルカロイド系の抗がん剤により頻発する副作用であり、特にパクリタキセルやオキサリプラチンによって高頻度で発現する。またシスプラチンによる悪心・嘔吐は発現頻度が高く、身体的および精神的状態の悪化を招くため、化学療法の継続に支障をきたす原因となることも少なくない。これらの薬剤はいずれも現在のがん化学療法の中心となる薬剤であり、末梢神経障害および悪心・嘔吐を予防あるいは軽減することは、がん患者の QOL を維持し、化学療法を継続する上できわめて重要である。そこで本研究では、当研究室のこれまでの知見をもとに、抗がん剤による末梢神経障害および悪心・嘔吐に関する基礎研究ならびに臨床調査研究を行った。

まず、第 1 章では、パクリタキセルならびにオキサリプラチンによる末梢神経障害におけるペミロラストの効果およびサブスタンス P の関与について検討を行った。ペミロラストは、パクリタキセルによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常を一時的に抑制したが、オキサリプラチンによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常を抑制しなかった。さらに、NK₁ 受容体拮抗剤ならびに NK₂ 受容体拮抗剤の髄腔内投与は、パクリタキセルによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常を一時的に抑制した。また、パクリタキセルによる培養 DRG 細胞からのサブスタンス P 遊離亢進はペミロラストによって抑制された。オキサリプラチンは培養 DRG 細胞からのサブスタンス P 遊離には影響しなかった。このことから、サブスタンス P はパクリタキセルによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常には関与しているが、オキサリプラチンによる機械的アロディニアおよび低温知覚異常には関与していないことが示唆される。また、ペミロラストはパクリタキセルによるサブスタンス P の過剰な遊離を抑制することによって、機械的アロディニアおよび低温知覚異常を改善すると考えられる。サブスタンス P 遊離に対するパクリタキセルおよびオキサリプラチンの影響の違いは、サブスタンス P 遊離経路に対する作用の相違に起因すると考えられる。ペミロラストはパクリタキセルによるサブスタンス P 遊離亢進を完全には抑制しなかったが、パクリタキセルによって誘発された機械的アロディニアおよび低温知覚異常をほぼ完全に抑制した。したがって、ペミロラストはサブスタンス P のみならず CGRP などの他の知覚神経ペプチドの遊離も抑制している可能性がある。

また、第 2 章では、シスプラチンによる悪心・嘔吐に対するペミロラストの効果を、ラットのカオリン摂食行動を指標として検討した。シスプラチンによるカオリン摂食行動は、オンダンセトロン、デキサメタゾンおよびアプレピタントによって抑制され、臨床における制吐作用を反映した指標であることが確認された。ペミロラストの反復投与は、シスプラチンによる遅発性のカオリン摂食行動を抑制すると同時に、脳脊髄液中サブスタンス P 量の増加を抑制した。シスプラチンは脳および消化管においてサブスタンス P の mRNA 量およびタンパク量を増加させる (Darmani et al., 2009; Dey et al., 2010)。また、ヒトにおいて、シスプラチンなどの抗がん剤によって血清サブスタンス P 量が増加することが確認されており (Higa et al., 2009; Yamada et al., 2007)、血清中のサブスタンス P は血液脳関門を通過し、中枢へ移行する (Chappa et al., 2006; Freed et al., 2002)。したがってペミロラストは、シスプラチンによる脳および消化管からのサブスタンス P 遊離を抑制することによって脳脊髄液中のサブスタンス P 量を減少させ、カオリン摂食行動を抑制すると考えられる。ペミロラストは副作用が少ないだけでなく、既存の制吐薬に比べ薬価が安く、相互作用もないことから臨床において使用しやすい薬剤であると考えられる。

以上のことからペミロラストはシスプラチンによる悪心・嘔吐のコントロールに有用である可能性が示唆された。

さらに、第3章では、mFOLFOX6療法施行患者を対象とした後向き調査により、カルシウム拮抗薬がオキサリプラチンによる急性神経障害を抑制することを示した。これは基礎実験の結果と一致しており、ヒトにおいても急性神経障害に対してカルシウム拮抗薬が予防的効果を有する可能性を示唆している。カルシウム拮抗薬は急性神経障害の発現を有意に抑制する一方で、慢性神経障害の発現には影響しなかった。当研究室では、オキサリプラチンの慢性神経障害でみられる機械的アロディニアにはプラチナ活性体 Pt(dach)Cl_2 による末梢神経の軸索変性および細胞障害が関連していることを報告している

(Kawashiri et al., 2011; Sakurai et al., 2009)。一方、低温知覚異常が発現する急性期には軸索変性や細胞障害が発現していないことから、この障害は機械的アロディニアとは全く異なるメカニズムによって発現していることが推察される。本研究において、カルシウム拮抗薬が慢性神経障害に効果を示さないことから、慢性神経障害は急性神経障害とは発現機序が異なっていることが示唆され、別の対策が必要であると考えられた。カルシウム拮抗薬はオキサリプラチンとの相互作用がなく、その抗腫瘍効果や副作用への影響を示唆する報告もない。大腸がん治療においてはオキサリプラチンにベバシズマブが併用されることも多いが副作用として高血圧を引き起こすことも知られている。このような場合にも、末梢神経障害の予防の観点からカルシウム拮抗薬の使用が適していると考えられる。しかしながら、今回の臨床調査は後向き調査であり、より信頼性の高い結果を得るためには前向き観察研究を行い、用量およびそれぞれのカルシウム拮抗薬ごとの効果や、抗腫瘍効果への影響についても検証する必要があると思われる。

本研究により、抗がん剤による末梢神経障害は薬剤や症状によって発現機序が異なることが示された。したがって、それぞれの原因薬剤や症状、発現時期に合った対策を行うことが重要であると考えられる。さらに、パクリタキセルによる末梢神経障害ならびにシスプラチンによる悪心・嘔吐に対してペミロラストが改善作用を示すことが明らかとなった。また、カルシウム拮抗薬がオキサリプラチンによる急性神経障害を予防することが後向きの臨床調査において明らかとなった。今後臨床現場におけるエビデンスの確立により、これらの知見が臨床現場に反映されることを期待する。

参考文献

- Apfel SC, Lipton RB, Arezzo JC, Kessler JA. Nerve growth factor prevents toxic neuropathy in mice. *Ann Neurol*. 1991, 29:87-90.
- Argyriou AA, Chroni E, Koutras A, Ellul J, Papapetropoulos S, Katsoulas G, Iconomou G, Kalofonos HP. Vitamin E for prophylaxis against chemotherapy-induced neuropathy: a randomized controlled trial. *Neurology*. 2005, 64:26-31.
- Argyriou AA, Polychronopoulos P, Koutras A, Iconomou G, Gourzis P, Assimakopoulos K, Kalofonos HP, Chroni E. Is advanced age associated with increased incidence and severity of chemotherapy-induced peripheral neuropathy? *Support Care Cancer*. 2006, 14:223-229.
- Berkley KJ. Sex differences in pain. *Behav Brain Sci*. 1997, 20:371-380; discussion 435-513.
- Berretta M, Taibi R, Bearz A, La Mura N, Berretta S, Tirelli U, Frustaci S. Dysphonia as an unusual toxic event of oxaliplatin-based chemotherapy. *J Chemother*. 2004, 16:595-598.
- Bianchi G, Vitali G, Caraceni A, Ravaglia S, Capri G, Cundari S, Zanna C, Gianni L. Symptomatic and neurophysiological responses of paclitaxel- or cisplatin-induced neuropathy to oral acetyl-L-carnitine. *Eur J Cancer*. 2005, 41:1746-1750.
- Cahill CM, Coderre TJ. Attenuation of hyperalgesia in a rat model of neuropathic pain after intrathecal pre- or post-treatment with a neurokinin-1 antagonist. *Pain*. 2002, 95:277-285.
- Cavaletti G, Tredici G, Petruccioli MG, Dondè E, Tredici P, Marmiroli P, Minoia C, Ronchi A, Bayssas M, Etienne GG. Effects of different schedules of oxaliplatin treatment on the peripheral nervous system of the rat. *Eur J Cancer*. 2001, 37:2457-2463.
- Cersosimo RJ. Oxaliplatin-associated neuropathy: a review. *Ann Pharmacother*. 2005, 39:128-135.
- Chappa AK, Audus KL, Lunte SM. Characteristics of substance P transport across the blood-brain barrier. *Pharm Res*. 2006, 23:1201-1208.
- Cocquyt V, Van Belle S, Reinhardt RR, Decramer ML, O'Brien M, Schellens JH, Borms M, Verbeke L, Van Aelst F, De Smet M, Carides AD, Eldridge K, Gertz BJ. Comparison of L-758,298, a prodrug for the selective neurokinin-1 antagonist, L-754,030, with ondansetron for the prevention of cisplatin-induced emesis. *Eur J*

- Cancer*. 2001, 37:835-842.
- Coudoré-Civiale M, Courteix C, Boucher M, Fialip J, Eschalier A. Evidence for an involvement of tachykinins in allodynia in streptozocin-induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol*. 2000, 401:47-53.
- Darmani NA, Crim JL, Janoyan JJ, Abad J, Ramirez J. A re-evaluation of the neurotransmitter basis of chemotherapy-induced immediate and delayed vomiting: evidence from the least shrew. *Brain Res*. 2009, 1248:40-58.
- Darmani NA, Wang Y, Abad J, Ray AP, Thrush GR, Ramirez J. Utilization of the least shrew as a rapid and selective screening model for the antiemetic potential and brain penetration of substance P and NK1 receptor antagonists. *Brain Res*. 2008, 1214:58-72.
- Davis ID, Kiers L, MacGregor L, Quinn M, Arezzo J, Green M, Rosenthal M, Chia M, Michael M, Bartley P, Harrison L, Daly M. A randomized, double-blinded, placebo-controlled phase II trial of recombinant human leukemia inhibitory factor (rhuLIF, emfilermin, AM424) to prevent chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Clin Cancer Res*. 2005, 11:1890-1898.
- de Boer-Dennert M, de Wit R, Schmitz PI, Djontono J, v Beurden V, Stoter G, Verweij J. Patient perceptions of the side-effects of chemotherapy: the influence of 5HT3 antagonists. *Br J Cancer*. 1997, 76:1055-1061.
- de Gramont A, Figier A, Seymour M, Homerin M, Hmissi A, Cassidy J, Boni C, Cortes-Funes H, Cervantes A, Freyer G, Papamichael D, Le Bail N, Louvet C, Hendler D, de Braud F, Wilson C, Morvan F, Bonetti A. Leucovorin and fluorouracil with or without oxaliplatin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *J Clin Oncol*. 2000, 18:2938-2947.
- De Koninck Y, Henry JL. Substance P-mediated slow excitatory postsynaptic potential elicited in dorsal horn neurons in vivo by noxious stimulation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991, 88:11344-11348.
- Dey D, Abad J, Ray AP, Darmani NA. Differential temporal changes in brain and gut substance P mRNA expression throughout the time-course of cisplatin-induced vomiting in the least shrew (*Cryptotis parva*). *Brain Res*. 2010, 1310:103-112.
- Dionne RA, Max MB, Gordon SM, Parada S, Sang C, Gracely RH, Sethna NF, MacLean DB. The substance P receptor antagonist CP-99,994 reduces acute postoperative pain. *Clin Pharmacol Ther*. 1998, 64:562-568.
- Dworkin RH, O'Connor AB, Backonja M, Farrar JT, Finnerup NB, Jensen TS, Kalso EA, Loeser JD, Miaskowski

- C, Nurmikko TJ, Portenoy RK, Rice AS, Stacey BR, Treede RD, Turk DC, Wallace MS. Pharmacologic management of neuropathic pain: evidence-based recommendations. *Pain*. 2007, 132:237-251.
- Extra JM, Marty M, Brienza S, Misset JL. Pharmacokinetics and safety profile of oxaliplatin. *Semin Oncol*. 1998, 25:13-22.
- Fazio R, Quattrini A, Bolognesi A, Bordogna G, Villa E, Previtali S, Canal N, Nemni R. Docetaxel neuropathy: a distal axonopathy. *Acta Neuropathol*. 1999, 98:651-653.
- Flatters SJ, Bennett GJ. Ethosuximide reverses paclitaxel- and vincristine-induced painful peripheral neuropathy. *Pain*. 2004, 109:150-161.
- Freed AL, Audus KL, Lunte SM. Investigation of substance P transport across the blood-brain barrier. *Peptides*. 2002, 23:157-165.
- Fujimiya H, Nakashima S, Kumada T, Nakamura Y, Miyata H, Nozawa Y. An antiallergic drug, pemirolast potassium, inhibits inositol 1,4,5-trisphosphate production and Ca^{2+} mobilization in antigen-stimulated rat basophilic leukemia (RBL-2H3) cells. *Arerugi*. 1994, 43:142-151.
- Fujimiya H, Nakashima S, Miyata H, Nozawa Y. Effect of a novel antiallergic drug, pemirolast, on activation of rat peritoneal mast cells: inhibition of exocytotic response and membrane phospholipid turnover. *Int Arch Allergy Appl Immunol*. 1991, 96:62-67.
- Fujisaki Y, Yamauchi A, Shuto H, Niizeki M, Makino K, Kataoka Y, Oishi R. Pharmacological characterization of cyclosporine A-induced kaolin intake in rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2001, 70:267-271.
- Gamelin E, Gamelin L, Bossi L, Quasthoff S. Clinical aspects and molecular basis of oxaliplatin neurotoxicity: current management and development of preventive measures. *Semin Oncol*. 2002, 29:21-33.
- Gamelin L, Boisdron-Celle M, Delva R, Guérin-Meyer V, Ifrah N, Morel A, Gamelin E. Prevention of oxaliplatin-related neurotoxicity by calcium and magnesium infusions: a retrospective study of 161 patients receiving oxaliplatin combined with 5-Fluorouracil and leucovorin for advanced colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 2004, 10:4055-4061.
- Gamelin L, Boisdron-Celle M, Morel A, Poirier AL, Berger V, Gamelin E, Tournigand C, de Gramont A. Oxaliplatin-related neurotoxicity: interest of calcium-magnesium infusion and no impact on its efficacy. *J Clin Oncol*. 2008, 26:1188-1189.

- Gauchan P, Andoh T, Kato A, Kuraishi Y. Involvement of increased expression of transient receptor potential melastatin 8 in oxaliplatin-induced cold allodynia in mice. *Neurosci Lett*. 2009, 458:93-95.
- Goff JR, Burkey AR, Goff DJ, Jasmin L. Reorganization of the spinal dorsal horn in models of chronic pain: correlation with behaviour. *Neuroscience*. 1998, 82:559-574.
- Gonsalves S, Watson J, Ashton C. Broad spectrum antiemetic effects of CP-122,721, a tachykinin NK1 receptor antagonist, in ferrets. *Eur J Pharmacol*. 1996, 305:181-185.
- Gonzalez MI, Field MJ, Hughes J, Singh L. Evaluation of selective NK(1) receptor antagonist CI-1021 in animal models of inflammatory and neuropathic pain. *J Pharmacol Exp Ther*. 2000, 294:444-450.
- Graham MA, Lockwood GF, Greenslade D, Brienza S, Bayssas M, Gamelin E. Clinical pharmacokinetics of oxaliplatin: a critical review. *Clin Cancer Res*. 2000, 6:1205-1218.
- Grothey A. Clinical management of oxaliplatin-associated neurotoxicity. *Clin Colorectal Cancer*. 2005, 5 Suppl 1:S38-46.
- Hainsworth JD, Hesketh PJ. Single-dose ondansetron for the prevention of cisplatin-induced emesis: efficacy results. *Semin Oncol*. 1992, 19:14-19.
- Harrison S, Geppetti P. Substance p. *Int J Biochem Cell Biol*. 2001, 33:555-576.
- Hesketh PJ, Grunberg SM, Gralla RJ, Warr DG, Roila F, de Wit R, Chawla SP, Carides AD, Ianus J, Elmer ME, Evans JK, Beck K, Reines S, Horgan KJ; Aprepitant Protocol 052 Study Group. The oral neurokinin-1 antagonist aprepitant for the prevention of chemotherapy-induced nausea and vomiting: a multinational, randomized, double-blind, placebo-controlled trial in patients receiving high-dose cisplatin--the Aprepitant Protocol 052 Study Group. *J Clin Oncol*. 2003, 21:4112-4119.
- Hesketh PJ, Harvey WH, Harker WG, Beck TM, Ryan T, Bricker LJ, Kish JA, Murphy WK, Hainsworth JD, Haley B. A randomized, double-blind comparison of intravenous ondansetron alone and in combination with intravenous dexamethasone in the prevention of high-dose cisplatin-induced emesis. *J Clin Oncol*. 1994, 12:596-600.
- Higa GM, Auber ML, Altaha R, Kurian S, Hobbs G. Concordance between substance P levels and antiemetic guidelines. *J Support Oncol*. 2009, 7:138-142.
- Hill A, Bergin P, Hanning F, Thompson P, Findlay M, Damianovich D, McKeage MJ. Detecting acute

neurotoxicity during platinum chemotherapy by neurophysiological assessment of motor nerve hyperexcitability. *BMC Cancer*. 2010, 10:451.

Hilpert F, Stähle A, Tomé O, Burges A, Rossner D, Späthe K, Heilmann V, Richter B, du Bois A;

Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie (AGO) Ovarian Cancer Study Group. Neuroprotection with amifostine in the first-line treatment of advanced ovarian cancer with carboplatin/paclitaxel-based chemotherapy--a double-blind, placebo-controlled, randomized phase II study from the Arbeitsgemeinschaft Gynäkologische Onkologie (AGO) Ovarian Cancer Study Group. *Support Care Cancer*. 2005, 13:797-805.

Itoh Y, Sendo T, Hirakawa T, Goromaru T, Takasaki S, Yahata H, Nakano H, Oishi R. Role of sensory nerve peptides rather than mast cell histamine in paclitaxel hypersensitivity. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004a, 169:113-119.

Itoh Y, Sendo T, Hirakawa T, Takasaki S, Goromaru T, Nakano H, Oishi R. Pemirolast potently attenuates paclitaxel hypersensitivity reactions through inhibition of the release of sensory neuropeptides in rats. *Neuropharmacology*. 2004b, 46:888-894.

Jacobson SD, Loprinzi CL, Sloan JA, Wilke JL, Novotny PJ, Okuno SH, Jatoi A, Moynihan TJ. Glutamine does not prevent paclitaxel-associated myalgias and arthralgias. *J Support Oncol*. 2003, 1:274-278.

Jamieson SM, Liu J, Connor B, McKeage MJ. Oxaliplatin causes selective atrophy of a subpopulation of dorsal root ganglion neurons without inducing cell loss. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2005, 56:391-399.

Kawashiri T, Egashira N, Itoh Y, Shimazoe T, Ikegami Y, Yano T, Yoshimura M, Oishi R. Neurotrophin reverses paclitaxel-induced neuropathy without affecting anti-tumour efficacy. *Eur J Cancer*. 2009, 45:154-163.

Kawashiri T, Egashira N, Kurobe K, Tsutsumi K, Yamashita Y, Ushio S, Yano T, Oishi R. L type Ca²⁺ channel blockers prevent oxaliplatin-induced cold hyperalgesia and TRPM8 overexpression in rats. *Mol Pain*. 2012, 8:7.

Kawashiri T, Egashira N, Watanabe H, Ikegami Y, Hirakawa S, Mihara Y, Yano T, Ikesue H, Oishi R. Prevention of oxaliplatin-induced mechanical allodynia and neurodegeneration by neurotrophin in the rat model. *Eur J Pain*. 2011, 15:344-350.

Lee JJ, Swain SM. Peripheral neuropathy induced by microtubule-stabilizing agents. *J Clin Oncol*. 2006, 24:1633-1642.

- Leong SS, Tan EH, Fong KW, Wilder-Smith E, Ong YK, Tai BC, Chew L, Lim SH, Wee J, Lee KM, Foo KF, Ang P, Ang PT. Randomized double-blind trial of combined modality treatment with or without amifostine in unresectable stage III non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2003, 21:1767-1774.
- Lindley C, McCune JS, Thomason TE, Lauder D, Sauls A, Adkins S, Sawyer WT. Perception of chemotherapy side effects cancer versus noncancer patients. *Cancer Pract*. 1999, 7:59-65.
- Ling B, Authier N, Balayssac D, Eschalier A, Coudore F. Behavioral and pharmacological description of oxaliplatin-induced painful neuropathy in rat. *Pain*. 2007a, 128:225-234.
- Ling B, Coudoré-Civiale MA, Balayssac D, Eschalier A, Coudoré F, Authier N. Behavioral and immunohistological assessment of painful neuropathy induced by a single oxaliplatin injection in the rat. *Toxicology*. 2007b, 234:176-184.
- Lorusso D, Ferrandina G, Greggi S, Gadducci A, Pignata S, Tateo S, Biamonte R, Manzione L, Di Vagno G, Ferrau' F, Scambia G; Multicenter Italian Trials in Ovarian Cancer investigators. Phase III multicenter randomized trial of amifostine as cytoprotectant in first-line chemotherapy in ovarian cancer patients. *Ann Oncol*. 2003, 14:1086-1093.
- Luo FR, Wyrick SD, Chaney SG. Comparative neurotoxicity of oxaliplatin, ormaplatin, and their biotransformation products utilizing a rat dorsal root ganglia in vitro explant culture model. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1999, 44:29-38.
- Malik NM, Liu YL, Cole N, Sanger GJ, Andrews PL. Differential effects of dexamethasone, ondansetron and a tachykinin NK1 receptor antagonist (GR205171) on cisplatin-induced changes in behaviour, food intake, pica and gastric function in rats. *Eur J Pharmacol*. 2007, 555:164-173.
- Markman M, Kennedy A, Webster K, Kulp B, Peterson G, Belinson J. Paclitaxel-associated hypersensitivity reactions: experience of the gynecologic oncology program of the Cleveland Clinic Cancer Center. *J Clin Oncol*. 2000, 18:102-105.
- Martin M. The severity and pattern of emesis following different cytotoxic agents. *Oncology*. 1996, 3 Suppl 1:26-31.
- McKeage MJ, Hsu T, Screnci D, Haddad G, Baguley BC. Nucleolar damage correlates with neurotoxicity induced by different platinum drugs. *Br J Cancer*. 2001, 85:1219-1225.

- McKemy DD, Neuhauss WM, Julius D. Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation. *Nature*. 2002, 416:52-58.
- Minami K, Hossen MA, Kamei C. Increasing effect by simultaneous use of levocabastine and pemirolast on experimental allergic conjunctivitis in rats. *Biol Pharm Bull*. 2005, 28:473-476.
- Minami M, Endo T, Kikuchi K, Ihira E, Hirafuji M, Hamaue N, Monma Y, Sakurada T, Tan-no K, Kisara K. Antiemetic effects of sendide, a peptide tachykinin NK1 receptor antagonist, in the ferret. *Eur J Pharmacol*. 1998, 363:49-55.
- Minami M, Endo T, Yokota H, Ogawa T, Nemoto M, Hamaue N, Hirafuji M, Yoshioka M, Nagahisa A, Andrews PL. Effects of CP-99, 994, a tachykinin NK(1) receptor antagonist, on abdominal afferent vagal activity in ferrets: evidence for involvement of NK(1) and 5-HT(3) receptors. *Eur J Pharmacol*. 2001, 428:215-220.
- Miyano K, Tang HB, Nakamura Y, Morioka N, Inoue A, Nakata Y. Paclitaxel and vinorelbine, evoked the release of substance P from cultured rat dorsal root ganglion cells through different PKC isoform-sensitive ion channels. *Neuropharmacology*. 2009, 57:25-32.
- Miyazawa N, Umemura K, Kondo K, Nakashima M. Effects of pemirolast and tranilast on intimal thickening after arterial injury in the rat. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1997, 30:157-162.
- Nagao T, Yamaguchi I, Narita H, Nakajima H. Calcium entry blockers: antihypertensive and natriuretic effects in experimental animals. *Am J Cardiol*. 1985, 56:56H-61H.
- Navari RM. Aprepitant: a neurokinin-1 receptor antagonist for the treatment of chemotherapy-induced nausea and vomiting. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2004, 4:715-724.
- Navari RM. Pharmacological management of chemotherapy-induced nausea and vomiting: focus on recent developments. *Drugs*. 2009, 69:515-533.
- New PZ, Jackson CE, Rinaldi D, Burris H, Barohn RJ. Peripheral neuropathy secondary to docetaxel (Taxotere). *Neurology*. 1996, 46:108-111.
- Otsuka M, Yoshioka K. Neurotransmitter functions of mammalian tachykinins. *Physiol Rev*. 1993, 73:229-308.
- Pasetto LM, D'Andrea MR, Rossi E, Monfardini S. Oxaliplatin-related neurotoxicity: how and why? *Crit Rev Oncol Hematol*. 2006, 59:159-168.
- Peier AM, Moqrich A, Hergarden AC, Reeve AJ, Andersson DA, Story GM, Earley TJ, Dragoni I, McIntyre P,

- Bevan S, Patapoutian A. A TRP channel that senses cold stimuli and menthol. *Cell*. 2002, 108:705-715.
- Quartara L, Maggi CA. The tachykinin NK1 receptor. Part II: Distribution and pathophysiological roles. *Neuropeptides*. 1998, 32:1-49.
- Quasthoff S, Hartung HP. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *J Neurol*. 2002, 249:9-17.
- Rane SG, Holz GG 4th, Dunlap K. Dihydropyridine inhibition of neuronal calcium current and substance P release. *Pflugers Arch*. 1987, 409:361-366.
- Rao RD, Michalak JC, Sloan JA, Loprinzi CL, Soori GS, Nikceovich DA, Warner DO, Novotny P, Kutteh LA, Wong GY; North Central Cancer Treatment Group. Efficacy of gabapentin in the management of chemotherapy-induced peripheral neuropathy: a phase 3 randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial (N00C3). *Cancer*. 2007, 110:2110-2118.
- Regoli D, Drapeau G, Dion S, Couture R. New selective agonists for neurokinin receptors: pharmacological tools for receptor characterization. *Trends Pharmacol Sci*. 1988, 9:290-295.
- Rudd JA, Jordan CC, Naylor RJ. The action of the NK1 tachykinin receptor antagonist, CP 99,994, in antagonizing the acute and delayed emesis induced by cisplatin in the ferret. *Br J Pharmacol*. 1996a, 119:931-936.
- Rudd JA, Naylor RJ. An interaction of ondansetron and dexamethasone antagonizing cisplatin-induced acute and delayed emesis in the ferret. *Br J Pharmacol*. 1996b, 118:209-214.
- Rudd JA, Yamamoto K, Yamatodani A, Takeda N. Differential action of ondansetron and dexamethasone to modify cisplatin-induced acute and delayed kaolin consumption ("pica") in rats. *Eur J Pharmacol*. 2002, 454:47-52.
- Rupniak NM, Tattersall FD, Williams AR, Rycroft W, Carlson EJ, Cascieri MA, Sadowski S, Ber E, Hale JJ, Mills SG, MacCoss M, Seward E, Huscroft I, Owen S, Swain CJ, Hill RG, Hargreaves RJ. In vitro and in vivo predictors of the anti-emetic activity of tachykinin NK1 receptor antagonists. *Eur J Pharmacol*. 1997, 326:201-209.
- Saeki M, Sakai M, Saito R, Kubota H, Ariumi H, Takano Y, Yamatodani A, Kamiya H. Effects of HSP-117, a novel tachykinin NK1-receptor antagonist, on cisplatin-induced pica as a new evaluation of delayed emesis in rats. *Jpn J Pharmacol*. 2001, 86:359-362.

- Sahenk Z, Barohn R, New P, Mendell JR. Taxol neuropathy. Electrodiagnostic and sural nerve biopsy findings. *Arch Neurol*. 1994, 51:726-729.
- Saito R, Takano Y. Easy method for emesis using rats. *Nihon Yakurigaku Zasshi*. 2006, 127:461-466.
- Saito R, Takano Y, Kamiya HO. Roles of substance P and NK(1) receptor in the brainstem in the development of emesis. *J Pharmacol Sci*. 2003, 91:87-94.
- Sakurai M, Egashira N, Kawashiri T, Yano T, Ikeshue H, Oishi R. Oxaliplatin-induced neuropathy in the rat: involvement of oxalate in cold hyperalgesia but not mechanical allodynia. *Pain*. 2009, 147:165-174.
- Schmoll HJ, Aapro MS, Poli-Bigelli S, Kim HK, Park K, Jordan K, von Pawel J, Giezek H, Ahmed T, Chan CY. Comparison of an aprepitant regimen with a multiple-day ondansetron regimen, both with dexamethasone, for antiemetic efficacy in high-dose cisplatin treatment. *Ann Oncol*. 2006, 17:1000-1006.
- Sendo T, Itoh Y, Goromaru T, Hirakawa T, Ishida M, Nakano H, Oishi R. Role of substance P in hypersensitivity reactions induced by paclitaxel, an anticancer agent. *Peptides*. 2004, 25:1205-1208.
- Singh L, Field MJ, Hughes J, Kuo BS, Suman-Chauhan N, Tuladhar BR, Wright DS, Naylor RJ. The tachykinin NK1 receptor antagonist PD 154075 blocks cisplatin-induced delayed emesis in the ferret. *Eur J Pharmacol*. 1997, 321:209-216.
- Smith DB, Newlands ES, Rustin GJ, Begent RH, Howells N, McQuade B, Bagshawe KD. Comparison of ondansetron and ondansetron plus dexamethasone as antiemetic prophylaxis during cisplatin-containing chemotherapy. *Lancet*. 1991, 338:487-490.
- Stephens RJ, Hopwood P, Girling DJ, Machin D. Randomized trials with quality of life endpoints: are doctors' ratings of patients' physical symptoms interchangeable with patients' self-ratings? *Qual Life Res*. 1997, 6:225-236.
- Stubblefield MD, Vahdat LT, Balmaceda CM, Troxel AB, Hesdorffer CS, Gooch CL. Glutamine as a neuroprotective agent in high-dose paclitaxel-induced peripheral neuropathy: a clinical and electrophysiologic study. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2005, 17:271-276.
- Sugimoto S, Katano K, Kanazawa A, Yoshimura H, Kidani A, Takeda H, Makino M, Ozaki N, Tanaka T, Ikeguchi M. Multicenter safety study of mFOLFOX6 for unresectable advanced/recurrent colorectal cancer in elderly patients. *J Exp Clin Cancer Res*. 2009, 28:109.

- Ta LE, Espeset L, Podratz J, Windebank AJ. Neurotoxicity of oxaliplatin and cisplatin for dorsal root ganglion neurons correlates with platinum-DNA binding. *Neurotoxicology*. 2006, 27:992-1002.
- Takeda K, Negoro S, Matsui K, Kudoh S, Nakagawa K, Fukuoka M, Katsura T, Nonaka S, Hausheer F. Phase I safety and pharmacokinetic trial of BNP7787 in patients receiving cisplatin (CDDP) and paclitaxel (PTX) for advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): An Osaka phase I study group trial. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 2002, 21:abstr 453.
- Takeda N, Hasegawa S, Morita M, Horii A, Uno A, Yamatodani A, Matsunaga T. Neuropharmacological mechanisms of emesis. II. Effects of antiemetic drugs on cisplatin-induced pica in rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*. 1995, 17:647-652.
- Takeda N, Hasegawa S, Morita M, Matsunaga T. Pica in rats is analogous to emesis: an animal model in emesis research. *Pharmacol Biochem Behav*. 1993, 45:817-821.
- Takeda N, Morita M, Kubo T, Yamatodani A, Watanabe T, Wada H, Matsunaga T. Histaminergic mechanism of motion sickness. Neurochemical and neuropharmacological studies in rats. *Acta Otolaryngol*. 1986, 101:416-421.
- Tatsushima Y, Egashira N, Kawashiri T, Mihara Y, Yano T, Mishima K, Oishi R. Involvement of substance P in peripheral neuropathy induced by paclitaxel but not oxaliplatin. *J Pharmacol Exp Ther*. 2011, 337:226-235.
- Tattersall FD, Rycroft W, Cumberbatch M, Mason G, Tye S, Williamson DJ, Hale JJ, Mills SG, Finke PE, MacCoss M, Sadowski S, Ber E, Cascieri M, Hill RG, MacIntyre DE, Hargreaves RJ. The novel NK1 receptor antagonist MK-0869 (L-754,030) and its water soluble phosphoryl prodrug, L-758,298, inhibit acute and delayed cisplatin-induced emesis in ferrets. *Neuropharmacology*. 2000, 39:652-663.
- Tattersall FD, Rycroft W, Francis B, Pearce D, Merchant K, MacLeod AM, Ladduwahetty T, Keown L, Swain C, Baker R, Cascieri M, Ber E, Metzger J, MacIntyre DE, Hill RG, Hargreaves RJ. Tachykinin NK1 receptor antagonists act centrally to inhibit emesis induced by the chemotherapeutic agent cisplatin in ferrets. *Neuropharmacology*. 1996, 35:1121-1129.
- Thompson SW, Davis LE, Kornfeld M, Hilgers RD, Standefer JC. Cisplatin neuropathy. Clinical, electrophysiologic, morphologic, and toxicologic studies. *Cancer*. 1984, 54:1269-1275.
- Toftthagen C, Overcash J, Kip K. Falls in persons with chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Support*

Care Cancer. 2012, 20:583-589.

Tsukuda M, Furukawa S, Kokatsu T, Enomoto H, Kubota A, Furukawa M. Comparison of granisetron alone and granisetron plus hydroxyzine hydrochloride for prophylactic treatment of emesis induced by cisplatin chemotherapy. *Eur J Cancer*. 1995, 31A:1647-1649.

Tyers MB, Freeman AJ. Mechanism of the anti-emetic activity of 5-HT₃ receptor antagonists. *Oncology*. 1992, 49:263-268.

Vachon P, Massé R, Gibbs BF. Substance P and neurotensin are up-regulated in the lumbar spinal cord of animals with neuropathic pain. *Can J Vet Res*. 2004, 68:86-92.

Vahdat L, Papadopoulos K, Lange D, Leuin S, Kaufman E, Donovan D, Frederick D, Bagiella E, Tiersten A, Nichols G, Garrett T, Savage D, Antman K, Hesdorffer CS, Balmaceda C. Reduction of paclitaxel-induced peripheral neuropathy with glutamine. *Clin Cancer Res*. 2001, 7:1192-1197.

Vedder H, Otten U. Biosynthesis and release of tachykinins from rat sensory neurons in culture. *J Neurosci Res*. 1991, 30:288-299.

Watson JW, Gonsalves SF, Fossa AA, McLean S, Seeger T, Obach S, Andrews PL. The anti-emetic effects of CP-99,994 in the ferret and the dog: role of the NK1 receptor. *Br J Pharmacol*. 1995, 115:84-94.

White DM. Mechanism of prostaglandin E₂-induced substance P release from cultured sensory neurons. *Neuroscience*. 1996, 70:561-565.

Wilson RH, Lehky T, Thomas RR, Quinn MG, Floeter MK, Grem JL. Acute oxaliplatin-induced peripheral nerve hyperexcitability. *J Clin Oncol*. 2002, 20:1767-1774.

Yahata H, Saito M, Sendo T, Itoh Y, Uchida M, Hirakawa T, Nakano H, Oishi R. Prophylactic effect of pemirolast, an antiallergic agent, against hypersensitivity reactions to paclitaxel in patients with ovarian cancer. *Int J Cancer*. 2006, 118:2636-2638.

Yamada T, Tanaka N, Yokoi K, Ishikawa N, Seya T, Horiba K, Kanazawa Y, Shirakawa T, Ohkawa K, Kudoh H, Koizumi M, Yoshioka M, Tajiri T. Substance P and anticancer drug-induced emesis. *Gan To Kagaku Ryoho*. 2007, 34:903-906.

Yamamoto K, Nakai M, Nohara K, Yamatodani A. The anti-cancer drug-induced pica in rats is related to their clinical emetogenic potential. *Eur J Pharmacol*. 2007, 554:34-39.

- Yanagihara Y, Kasai H, Shida T. Immunopharmacological studies on TBX, a new antiallergic drug (2). Inhibitory effects on histamine release from peritoneal mast cells and lung fragments of rats. *Jpn J Pharmacol.* 1988, 48:103-112.
- Yanni JM, Miller ST, Gamache DA, Spellman JM, Xu S, Sharif NA. Comparative effects of topical ocular anti-allergy drugs on human conjunctival mast cells. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1997, 79:541-545.
- Zimmermann M. Ethical guidelines for investigations of experimental pain in conscious animals. *Pain.* 1983, 16:109-110.
- 一般社団法人日本癌治療学会 編. 制吐薬適正使用ガイドライン 2010 年 5 月【第 1 版】. 金原出版, 東京, 2010.
- がんの統計編集委員会 編. がんの統計'10. 財団法人がん研究振興財団, 東京, 2010.
- 健康・栄養情報研究会 編. 国民健康・栄養の現状-平成 18 年厚生労働省国民健康・栄養調査報告より-. 第一出版, 東京, 2009.
- 日本高血圧学会高血圧治療ガイドライン作成委員会. 高血圧治療ガイドライン 2009. 日本高血圧学会, ライフサイエンス出版, 東京, 2009.

本論文内容に関する発表論文

Tatsushima Y, Egashira N, Kawashiri T, Mihara Y, Yano T, Mishima K, Oishi R. Involvement of substance P in peripheral neuropathy induced by paclitaxel but not oxaliplatin. *J Pharmacol Exp Ther*. 2011, 337:226-235.

Tatsushima Y, Egashira N, Matsushita N, Kurobe K, Kawashiri T, Yano T, Oishi R. Pemirolast reduces cisplatin-induced kaolin intake in rats. *Eur J Pharmacol*. 2011, 661:57-62.

Tatsushima Y, Egashira N, Narishige Y, Fukui S, Kawashiri T, Oishi R. A hypothesis based on a retrospective chart review: calcium channel blockers reduce oxaliplatin-induced acute neuropathy. (*submitted*)

Kawashiri T, Egashira N, Itoh Y, Shimazoe T, Ikegami Y, Yano T, Yoshimura M, Oishi R. Neurotrophin reverses paclitaxel-induced neuropathy without affecting anti-tumour efficacy. *Eur J Cancer*. 2009, 45:154-163.

Kawashiri T, Egashira N, Watanabe H, Ikegami Y, Hirakawa S, Mihara Y, Yano T, Ikesue H, Oishi R. Prevention of oxaliplatin-induced mechanical allodynia and neurodegeneration by neurotrophin in the rat model. *Eur J Pain*. 2011, 15:344-350.

その他の発表論文

斉藤麻美, 伊達祐子, 江頭伸昭, 辰島瑤子, 村上裕子, 三嶋一登, 小林裕明, 大石了三. がん化学療法で使用するデキサメタゾンの糖尿病合併がん患者の血糖値に及ぼす影響. *日本病院薬剤師会雑誌* 2011, 47:1261-1264.

謝辞

本研究に際し、終始懇切な御指導と御鞭撻を賜りました九州大学大学院薬学府医薬品情報解析学分野教授 大石了三先生に謹んで感謝の意を表します。

本研究の遂行にあたり、数々の御助言と御指導を賜りました九州大学大学院薬学府医薬品情報解析学分野准教授 江頭伸昭先生に謹んで感謝申し上げます。

本研究をまとめるに際し、貴重な御意見と御校閲を賜りました九州大学大学院薬学府薬剤学分野教授 大戸茂弘先生ならびに同薬理学分野准教授 津田誠先生に謹んで感謝申し上げます。

本研究の遂行にあたり、御協力を賜りました九州大学病院薬剤部副薬剤部長 川重誠先生、末安正典先生、園田正信先生に謹んで感謝申し上げます。

本研究の遂行にあたり、多大な御指導と御助言を賜りました九州大学病院薬剤部 野中敏治先生、矢野貴久先生、山田孝明先生、池末裕明先生をはじめとする諸先生方ならびに、九州大学大学院薬学府臨床育薬学分野准教授 窪田敏夫先生に深く感謝申し上げます。

本研究の遂行にあたり、多大な御指導と御協力を賜りました九州大学病院薬剤部 川尻雄大先生に心より感謝申し上げます。

本研究の遂行にあたり、多くの御協力を頂きました三原由記修士、松下尚弘修士、黒部健太郎修士、成重友莉氏、福井史織氏をはじめとする九州大学大学院薬学府医薬品情報解析学分野の皆様に深く感謝いたします。

最後に、本研究を陰ながら支えてくれた家族、友人に深く感謝します。