

パクリタキセル過敏反応における知覚神経ペプチドの関与

五郎丸 剛

Role of Sensory Nerve Peptides Rather than Mast Cell Histamine in Paclitaxel Hypersensitivity

Takeshi Goromaru

ABSTRACT

Paclitaxel is one of the most extensively used anticancer agents, however, its use is often limited by severe hypersensitivity reactions, including respiratory distress, bronchospasm, and hypotension, which can occur despite premedication with dexamethasone and histamine H₁ and H₂ antagonists. We demonstrated for the first time that sensory nerve peptides but not mast cell histamine are involved in paclitaxel hypersensitivity and that an anti-allergic agent pemirolast attenuates the paclitaxel response by inhibiting the release of sensory nerve peptides.

はじめに

パクリタキセル（商品名：タキソール）はイチイ科の植物の針葉又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、微小管構成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糸の形成を阻害し、細胞周期をG2/M期で停止させるといったユニークな作用を有する。パクリタキセルは世界的に非常に多く使用されている抗腫瘍薬の1つであり、日本では現在、卵巣癌、乳癌、胃癌および非小細胞肺癌に適応を有している。本剤とプラチナ製剤との併用療法は卵巣癌や非小細胞肺癌における化学療法のスタンダードとなっている。しかし、投与開始直後に発現する呼吸困難、血圧低下、肺浮腫といった重篤な過敏反応の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。

パクリタキセルは水に極めて難溶であるため、溶解補助剤としてポリオキシエチレン硬化ヒマシ油（クレモホールEL）が用いられている。しかし、クレモホールELには肥満細胞からのヒスタミン遊離作用があるため、パクリタキセル過敏反応の原因物質であろうと考えられている。さらに、パクリタキセル過敏反応にヒスタミンが関与することを示唆する理由として、過敏反応の症状がヨード造影剤による過敏反応と極めて類似していることがあげられる。ヨード造影剤は肥満細胞からのヒスタミン遊離作用を有し、過敏反応予防の目的でかつては副腎皮質ステロイドホルモンおよびヒスタミン受容体拮抗薬がかつて用いられていたことがある²⁾。こういった理由によりパクリタキセルの投与に際しても、過敏反応の予防目的でヒスタミンH₁およびH₂受容体拮抗薬ならびにデキサメタゾンの前投薬が行なわれるようになった。しかしながら、前投薬を行っていても卵巣癌患者においては、5-14%と高頻度に過敏反応が発現することが報告されている³⁻⁵⁾。したがって、パクリタキセル過敏反応にはヒスタミン以外のメディエーターの関与も考慮せねばならない。一方、パクリタキセル過敏反応の発現機序について調べた基礎的研究はこれまでほとんどない。そこで、パクリタキセル過敏反応に対してより有効な予防策を確立するために、ラットを用いた実験モデルを作成し、その発現機序の解明を試みた。

1. パクリタキセル誘発ラット肺障害におけるヒスタミンおよび肥満細胞の関与

パクリタキセルによる重篤な過敏反応は、呼吸困難等の呼吸器症状を呈する 경우가多く、また、浮腫や発疹等の血管透過性の亢進によって引き起こされるものが多い。筆者らはヨード造影剤をラットに投与することで肺血管透過性亢進による肺障害が誘発されることを確認しており、造影剤による過敏反応モデルを確立している⁶⁻⁸⁾。そこで、パクリタキセルをラットに投与し肺血管透過性の変化を確認し、ラット過敏反応モデルを作成した。

臨床用量の約3倍の投与量である15 mg/kgのパクリタキセル静脈内投与で有意なラット肺血管透過性の亢進が認められた (Fig. 1-A)。また、パクリタキセル投与5分後に一過性の動脈血中酸素分圧低下ならびに二酸化炭素分圧上昇が見られ、肺換気能障害も確認された (Fig. 2)。一方、パクリタキセル15 mg/kg相当の溶媒（クレモホールEL：エタノール=1：1）をラットに投

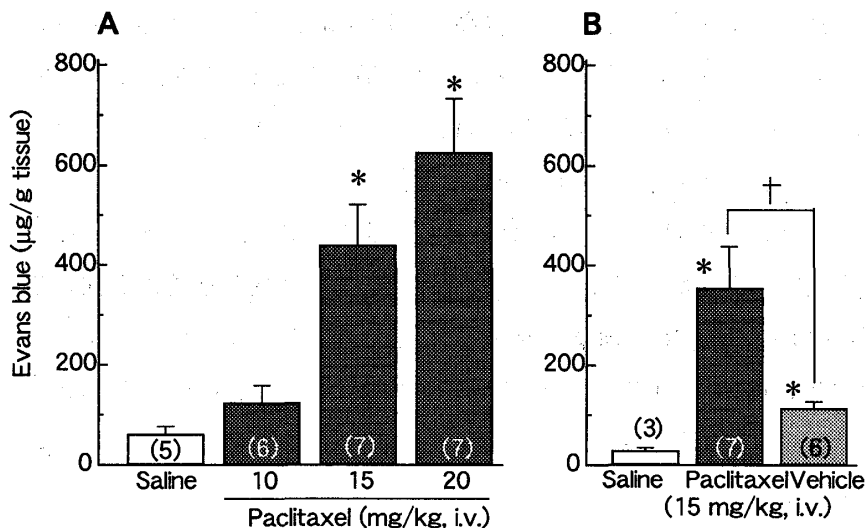


Fig. 1. Dose-dependent plasma extravasation induced by an intravenous injection of paclitaxel (A) and the comparative effects of paclitaxel and its vehicle Cremophor EL on the vascular permeability (B) in rat lungs. Anesthetized rats were injected with paclitaxel (10-20 mg/kg) in combination with Evans blue (20 mg/kg). For vehicle Cremophor EL was injected in same volume as Cremophor EL of paclitaxel 15 ml/kg. Each column represents the mean \pm S.E.M. Number of animals was shown in each parenthesis. *P < 0.05 vs. saline (Dunnett's test); †P < 0.05 vs. paclitaxel alone (Student's t-test).

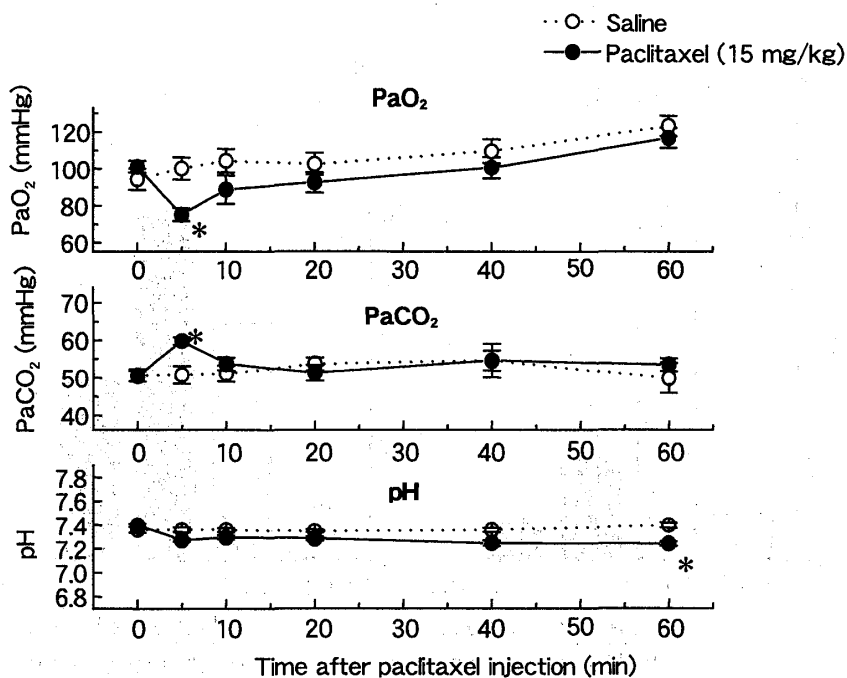


Fig. 2. Effect of paclitaxel on arterial PaO₂, PaCO₂ and pH in rats. Rats were anesthetized with pentobarbital-Na (50 mg/kg) and injected with paclitaxel (15 mg/kg). Arterial gasses were monitored by an automatic gas analyzer (i-STAT) during 60 min after paclitaxel injection. Each point represents the mean \pm S.E.M. of 5 experiments. *P < 0.05 vs. non-treated group.

与すると肺血管透過性は亢進したがパクリタキセル投与群に比しその増加はわずかなものであった (Fig. 1-B)。クレモホールELはパクリタキセル過敏反応に多少は関与しているが、パクリタキセルそのものの関与がより大きいと考えられる。以上の結果より、パクリタキセル過敏反応モデルとして本モデルを用い種々の検討を行った。

次に、過敏反応予防薬の効果について検討した。副腎皮質ステロイドであるデキサメタゾン は2回の前投与 (6時間および30分前) でパクリタキセル誘発肺血管透過性亢進を顕著に抑制したが、30分前の1回投与では効果を示さなかった (Fig. 3)。デキサメタゾンの投与タイミングによる抑制効果の違いは、臨床においても報告されており、Kwonらは、12および6時間前の2回投与 (発現率:7.5%) に対し30分前の1回投与 (発現率:17.3%) は過敏反応発現率が高い結果を示している³⁾。

ヒスタミンH₁受容体拮抗薬ジフェンヒドラミン (10 mg/kg) およびH₂受容体拮抗薬ファモチジン (40 mg/kg) は両薬物ともまた併用によってもパクリタキセル誘発ラット肺血管透過性亢進に効果を示さなかった。また、肥満細胞から遊離され血管透過性亢進作用を有するトリプターゼの阻害薬であるナファモスタット (10 mg/kg) においても肺血管透過性亢進の抑制は見られなかった (Fig. 4)。これらヒスタミン受容体拮抗薬およびナファモスタットは同じ投与条件で造影剤によるラット肺血管透過性亢進を抑制している^{7,8)}。

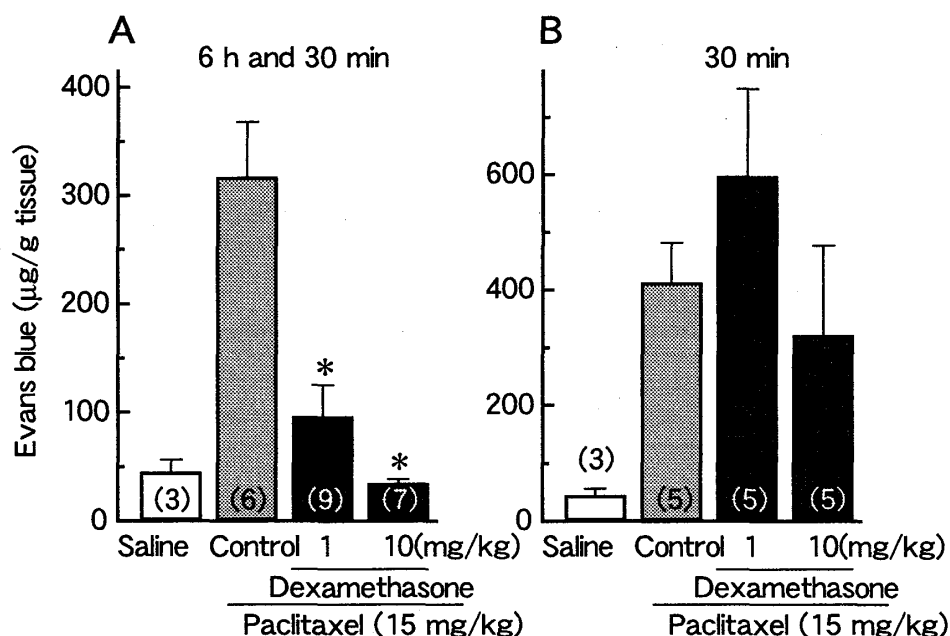


Fig. 3. Comparative effects of single and twice treatment with dexamethasone on paclitaxel-induced protein extravasation in rat lungs. Dexamethasone was administered twice at 6 h and 30 min (A) or once at 30 min (B) before paclitaxel injection. Each column represents the mean \pm S.E.M. Number of animals was shown in each parenthesis. *P < 0.05 vs. control (Dunnett's test).

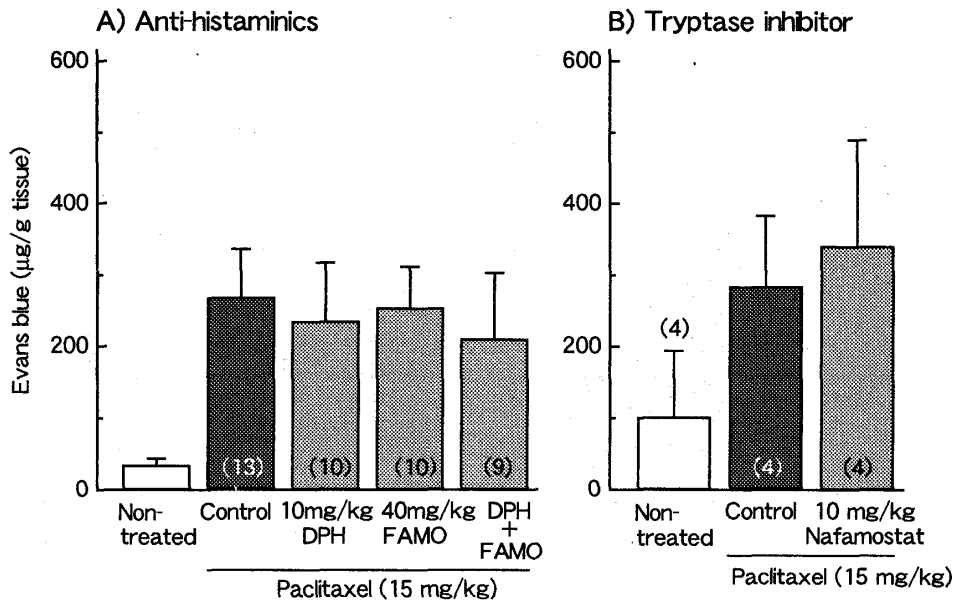


Fig. 4. Lack of effect of histamine H₁ and H₂ receptor antagonists or a tryptase inhibitor nafamostat mesilate on paclitaxel-induced protein extravasation in rat lungs. A H₁ antagonist diphenhydramine (DPH: 10 mg/kg) or an H₂ antagonist famotidine (FAMO: 40 mg/kg) were given alone or in combination at 30 min before paclitaxel injection, while nafamostat was injected 5 min before paclitaxel injection. Each column represents the mean \pm S.E.M. Number of animals was shown in each parenthesis.

肥満細胞の関与を明らかにするため、肥満細胞膜安定化作用を持つ薬物を用い検討した。クロモグリク酸 (30, 100 mg/kg) およびペミロラスト (0.1, 1 mg/kg) はパクリタキセル誘発肺血管透過性亢進に対し抑制効果を示した (Fig. 5)。ペミロラストは、モルモットにおける血小板活性化因子誘発の気管支収縮 (0.3 mg/kg) や抗原誘発の喘息 (1 mg/kg) に効果を示した投与量⁹⁾よりも同等か少ない用量で抑制効果を示した。また、クロモグリク酸はラットにおけるIgE誘発アナフィラキシー反応に抑制を示した投与量 (1.2 mg/kg)¹⁰⁾に比べかなり多い用量で抑制した。一方で、ケトチフェン (1 mg/kg) は抑制しなかった。肥満細胞膜安定化作用により、ケトチフェンはラットにおける抗原誘発皮膚アナフィラキシーや気道抵抗上昇にそれぞれ0.3, 0.023 mg/kgの投与量 (ED₅₀) で抑制作用を示す¹¹⁾。以上の結果から、パクリタキセルによる肺血管透過性亢進に肥満細胞は関与していないことが考えられる。そこで、肥満細胞欠損ラット (Ws/Ws) にパクリタキセルを投与し肺血管透過性を見たが、対照ラット (+/+) とほぼ同等の透過性亢進を示し (Fig. 6)、肥満細胞以外の関与を明確にした。

2. パクリタキセル誘発ラット肺障害における知覚神経ペプチドの関与

肺や気道における血管透過性亢進や浮腫の発現には知覚神経が関与しており、これは神経因性炎症として知られている。デキサメタゾンやサイトカインの産生を抑制することによって抗炎症作用を発揮するだけでなく、神経因性炎症に対しても抑制作用を示すことが報告されてい

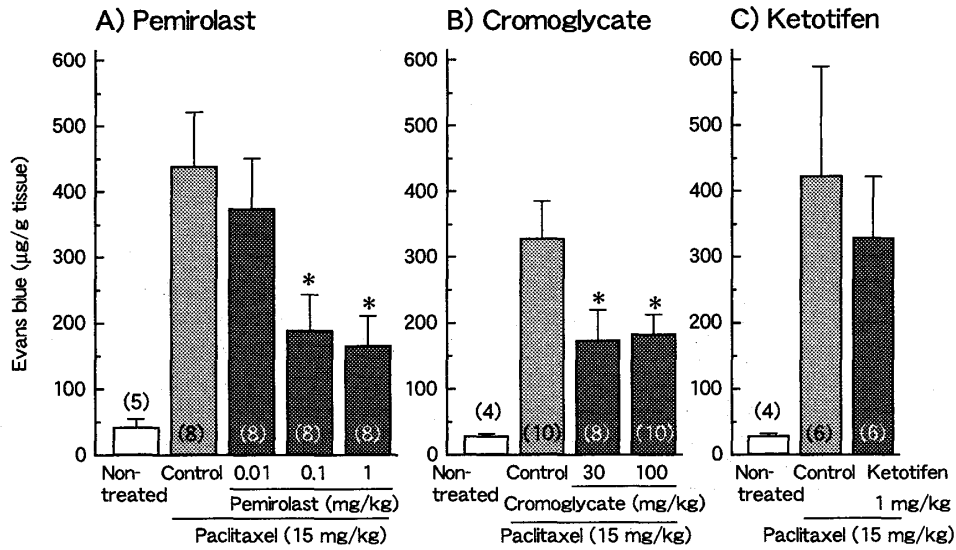


Fig. 5. Comparative effects of pemirolast (A), cromoglycate (B) and ketotifen (C) on the paclitaxel-induced protein extravasation in rat lungs. Cromoglycate, pemirolast and ketotifen were administered at 5 min, 30 min and 60 min before paclitaxel (15 mg/kg), respectively. Each column represents the mean \pm S.E.M. Number of animals was shown in each parenthesis. * $P < 0.05$ vs. Control (Dunnett's test)

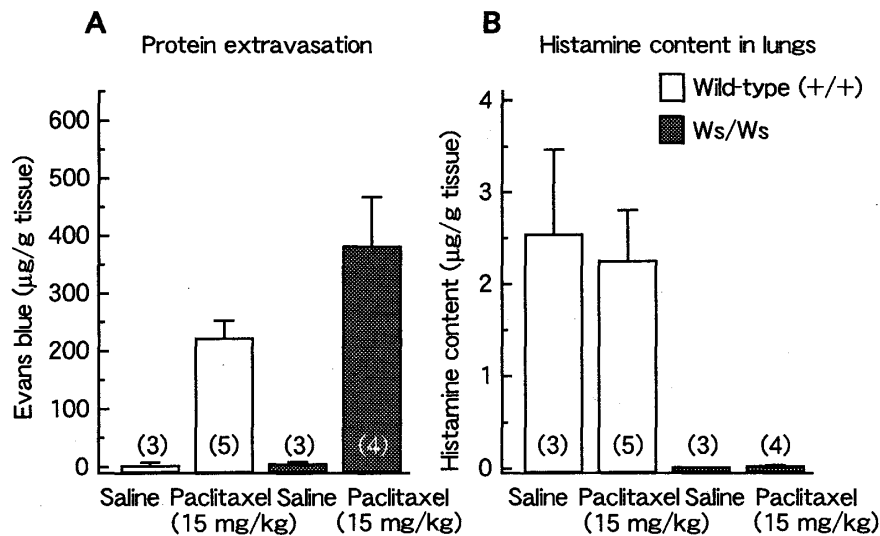


Fig. 6. Protein extravasation (A) and changes in lung histamine concentration (B) after paclitaxel infusion in mast cell-deficient (Ws/Ws) and wild-type rats. Ws/Ws or wild-type rats were infused with paclitaxel (15 mg/kg). Protein extravasation was evaluated 10 min after paclitaxel infusion by the leakage of Evans blue into lung tissues. Histamine content in lungs was determined by HPLC with post-column fluorescence derivatization method. Each column represents the mean \pm S.E.M. Number of animals per group are shown in parentheses (A, B).

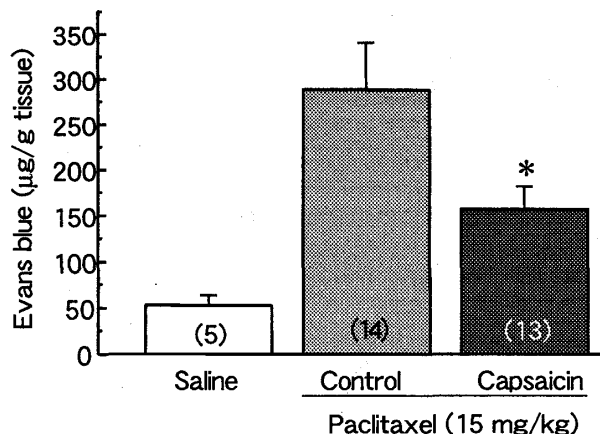


Fig. 7. Reversal of paclitaxel-induced protein extravasation in rat lungs by pretreatment with capsaicin. Capsaicin (2.5 mg/kg) was injected i.p. 5 times a day for 2 days. Each column represents the mean \pm S.E.M. Number of animals was shown in each parenthesis. *P < 0.05 vs. paclitaxel alone.

る¹²⁾。知覚神経から遊離される神経ペプチドの Substance P や Neurokinin A は、静脈内投与することで、気管支や肺において血漿成分の漏出を引き起こし^{13, 14)}、神経因性炎症を誘発する¹⁵⁾。これら神経ペプチドの受容体である NK₁ および NK₂ 受容体は気道や肺に存在することが確認されている¹⁶⁾。Marek らはトルエンによって引き起こされるアセチルコリン誘発気道過敏性の亢進が、NK₁ および NK₂ 受容体拮抗薬あるいはカプサイシン処置によって抑制されたことから、トルエンは知覚神経からの神経ペプチド遊離の促進により神経因性の気道過敏を誘発すると報告している¹⁷⁾。カプサイシンは知覚神経に作用し神経ペプチドを遊離する作用をもつが、連投することにより神経ペプチドを枯渇させることが知られている¹⁸⁾。

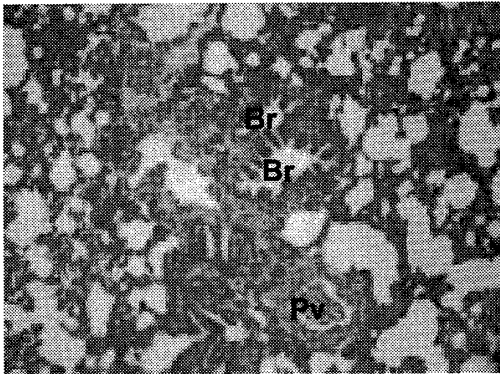
カプサイシン連投により神経ペプチドを枯渇させたラットに、パクリタキセルを投与すると肺血管透過性亢進が軽減し、肺浮腫が改善された (Fig. 7, 8-A)。また、パクリタキセル投与後のラット気管支肺胞洗浄液 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 中のタンパク濃度は上昇し血漿タンパクの漏出が確認された。同時に BALF 中の Substance P、Neurokinin A および CGRP 濃度は上昇し、パクリタキセルによる神経ペプチド遊離が確認された (Fig. 9)。

次に Substance P、Neurokinin A および CGRP は、それぞれ NK₁、NK₂ および CGRP 受容体に主に作用することから、各アンタゴニストを使用しパクリタキセル肺障害への神経ペプチドの関与について検討した。パクリタキセル肺血管透過性亢進に対し NK₁ および NK₂ 受容体拮抗薬は抑制効果を示し、Substance P および Neurokinin A の関与が明らかとなった (Fig. 10-A)。一方で、CGRP はパクリタキセル投与により、肺組織の免疫染色において肺胞壁に存在が認められ (Fig. 8-B)、BALF 中においても濃度上昇が見られたが (Fig. 9)、CGRP 受容体拮抗薬はパクリタキセル誘発肺血管透過性亢進に対し影響しなかった (Fig. 10-B)。CGRP は知覚神経の C-fiber において Substance P と共存するペプチドとして知られている¹⁹⁾。CGRP は、Substance P、Neurokinin A と異なり、血管透過性に対し影響しない^{13, 14)}が、血管拡張作用を有している²⁰⁾。パクリタキセル投与により発現する潮紅は、CGRP による血管拡張が影響している可能性も考えられる。

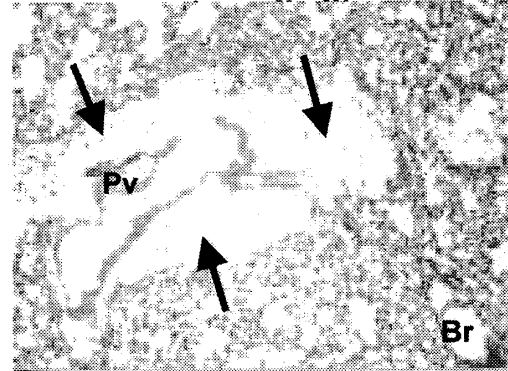
肥満細胞膜安定化作用をもつクロモグリク酸およびベミロラストは、パクリタキセル投与後のラット BALF 中のタンパク濃度上昇を抑え、同時に各神経ペプチド濃度上昇も抑制した

A) HE stain

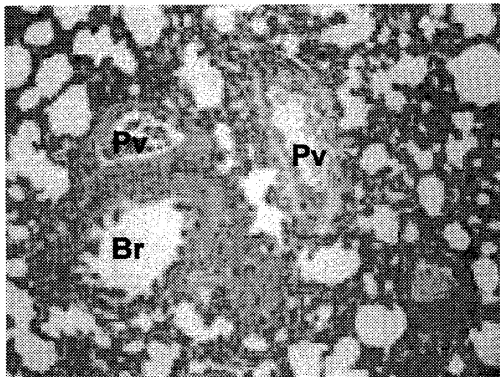
Non - treatment



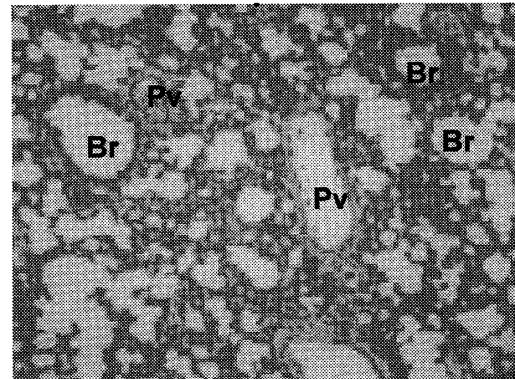
Paclitaxel (15 mg/kg)



Paclitaxel + dexamethasone

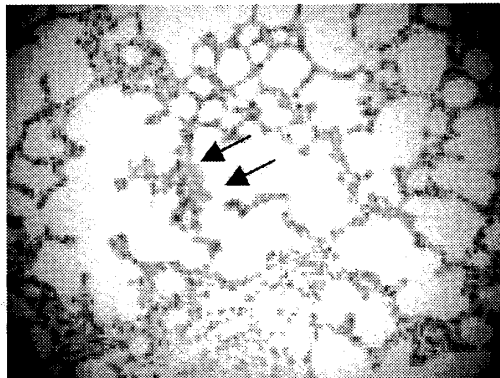


Paclitaxel + capsaicin



B) Immunostain

CGRP - like IR



Substance P - like IR

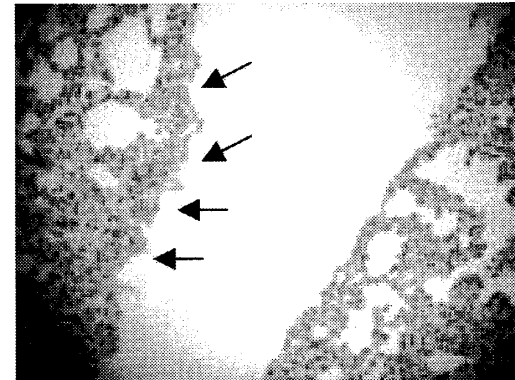


Fig. 8. Representative photographs showing hematoxylin and eosin stain (A) and immunostain (B) with monoclonal antibodies raised against calcitonin gene-related peptide (CGRP) and substance P in pulmonary sections of control and paclitaxel-treated rats. The middle lobe of lungs was obtained 10 minutes after injection with paclitaxel in the absence or presence of pretreatment with dexamethasone (10 mg/kg, 30 minutes and 6 hours), and capsaicin (2.5 mg/kg x 5 times/day, for 2 days). The marked perivascular edema shown by arrows was observed only in rats treated with paclitaxel alone. Magnification of each photograph was x 100. Br = bronchiolus; Pv = pulmonary vessel.

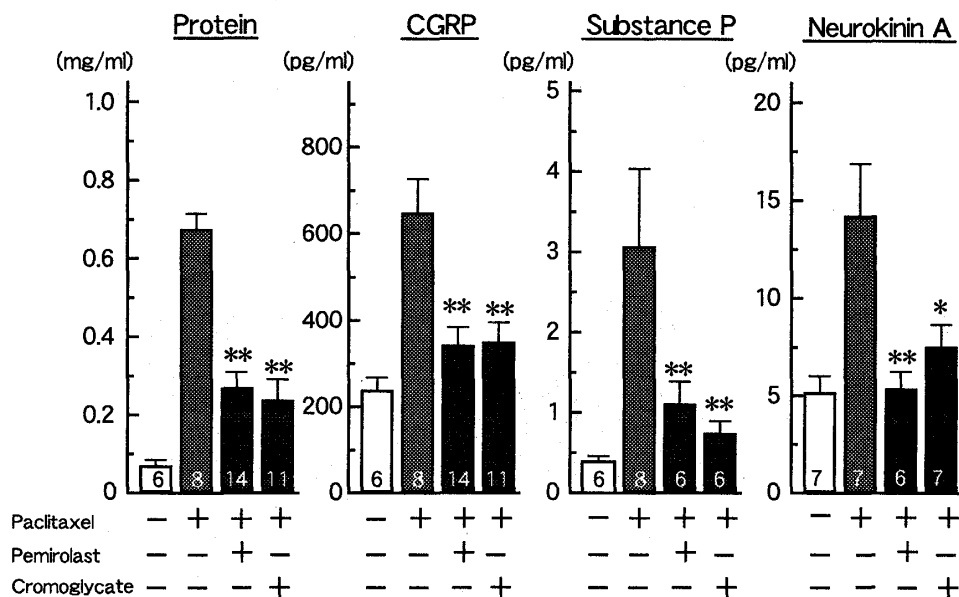


Fig. 9. Elevation of the concentrations of proteins and sensory neuropeptides including CGRP, substance P and neurokinin A in rat bronchoalveolar lavage fluid (BALF) after intravenous injection of paclitaxel, and their reversal by cromoglycate and pemirolast. Rats were injected with paclitaxel (15 mg/kg) and BALF was collected 10 min later. Sensory nerve peptides were determined by the enzymatic immunoassay. Cromoglycate (100 mg/kg) and pemirolast (1 mg/kg) were injected i.v. at 5 min and 30 min before paclitaxel injection, respectively. Each column represents the mean \pm S.E.M. Number of animals is shown in the bottom of each column. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs. Paclitaxel alone (Dunnnett's test).

(Fig. 9)。クロモグリク酸がヒトの皮膚においてSubstance P誘発の浮腫をNK₁受容体の遮断により軽減した報告は過去にあるが²¹⁾、クロモグリク酸もしくはペミロラストが知覚神経からの神経ペプチド遊離を抑制し神経因性炎症を改善したという報告は今までに無い。特にペミロラストはパクリタキセルラット肺障害に対し、0.1 mg/kgという臨床用量 (0.2 mg/kg) よりも少ない投与量で効果を示した。ペミロラストは臨床においても現在使用されており、副作用も全症例中1.71% (アレギサール添付文書) と少なく、その大半が眠気・腹痛等の軽度なものである。臨床試験においても、パクリタキセル施行前にペミロラストを前投薬した患者には過敏反応が一例も認められず (Fig. 11)、パクリタキセル過敏反応予防薬としてのペミロラストの有用性が示唆された。

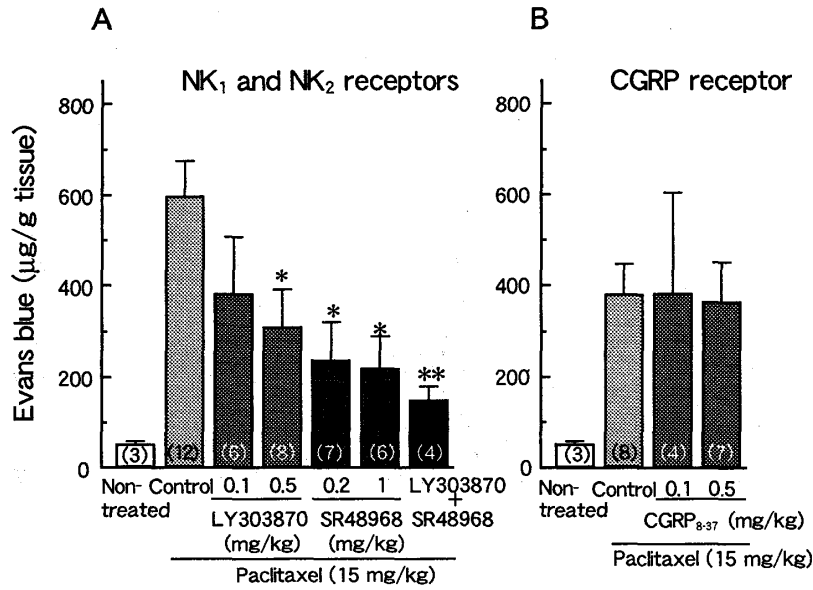


Fig. 10. Reversal by NK₁ and NK₂ antagonists (A) but not by a CGRP antagonist (B) of paclitaxel-induced protein extravasation in rat lungs. Rats were pretreated with an NK₁ antagonist LY303870, an NK₂ antagonist SR48968, or both (A) or a CGRP₁ receptor antagonist CGRP₈₋₃₇ (B). Each column represents the mean ± S.E.M. Number of animals is shown in each parenthesis. *P < 0.05, **P < 0.01 vs. control (Dunnett's test).

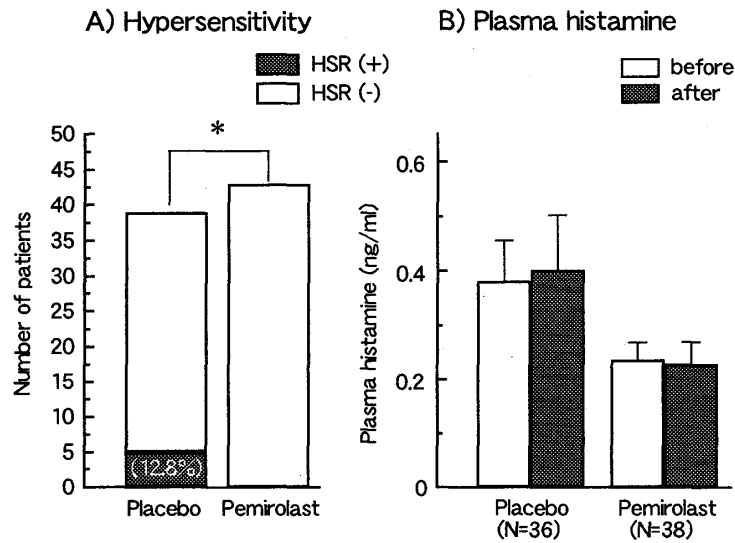


Fig. 11. Effect of additional dosing of pemirolast to the premedication of paclitaxel chemotherapy on the incidence of hypersensitive reaction (HSR) (A) and changes in plasma histamine concentration during infusion of paclitaxel (B) in patients with ovarian cancer. Premedication including 20 mg dexamethasone infusion, 50 mg ranitidine infusion and 50 mg diphenhydramine ingestion was carried out in all patients 30 min before paclitaxel infusion, and 10 mg oral dose of pemirolast was administered 2 h before paclitaxel infusion. Blood was taken 30 min before and 5 min after start of paclitaxel infusion. Plasma histamine concentration was determined by HPLC with fluorescence detection. *The incidence of hypersensitivity during the total course of paclitaxel treatment was significantly (P < 0.05) lower in pemirolast-treated patients (χ^2 -test).

3. パクリタキセル誘発ラット肺障害に及ぼす卵巣摘除の影響

前投薬を施した患者におけるパクリタキセル過敏反応の発現率は多くの報告において5%未満であるが^{4, 22-26)}、10%以上の発現率が見られた報告もある。高発現率の報告は、卵巣癌患者において補助的に投与した場合に多く見られるが²⁷⁻³⁰⁾、その原因は不明である。卵巣癌患者へのパクリタキセル投与は一般に卵巣を摘除した後に行なうケースが多いことから、卵巣摘除がパクリタキセル過敏反応発現を高めている可能性が考えられる。

更年期は心疾患や骨粗鬆症、精神障害における重要なリスクファクターである^{31, 32)}。更年期におけるエストロゲン補充療法は、心疾患リスク低下^{33, 34)}等の種々の更年期症状を予防する。主要なエストロゲンであるエストラジオールは、摘出ラット胸部大動脈および肺動脈において内皮依存性の血管拡張増強作用を有し、それが、内皮型一酸化窒素合成酵素 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS) 発現量の増加によるものと報告されている³⁵⁻³⁷⁾。卵巣癌患者におけるパクリタキセル過敏反応発現率の増加は、卵巣摘除によるエストロゲン量の低下に伴ったeNOS活性の低下と関連している可能性が考えられる。そこで、パクリタキセル過敏反応における卵巣摘除の影響について検討した。

第1章において、雄性ラットにパクリタキセル15 mg/kgを投与することにより肺障害が確認されたが、雌性ラットにおいても15 mg/kgの投与量で雄に比べ若干弱い肺血管透過性の有意な亢進が見られた (Fig. 12)。また、通常ではわずかな亢進しか見られないパクリタキセル10 mg/kgの用量で、卵巣摘除したラットは顕著な肺血管透過性亢進を呈した (Fig. 13)。同時に肺換気能障害および血管周囲の浮腫も認められた (Fig. 14, 15)。これら卵巣摘除ラットの低用量パクリタキセルによる肺障害はエストラジオールを補充投与することでほぼ完全に抑えられた。

第2章において、パクリタキセル誘発肺血管透過性亢進はカプサイシン処置やニューロキニンNK₁およびNK₂アンタゴニスト投与により有意な抑制効果を示した。また、パクリタキセル投与により、ラットBALF中のSubstance PやNeurokinin Aといった神経ペプチド濃度が上昇した。それら結果より、パクリタキセル肺障害における神経ペプチドの関与が大きいことを示唆した。臨床においても、パクリタキセル投与後の患者血漿中のヒスタミン濃度は特に変化は見られなかったが、Substance P濃度は投与前と比べ有意に上昇した³⁸⁾。しかしながら、今回卵巣摘除ラットにおいて顕著な肺障害が見られた10 mg/kgの低用量のパクリタキセル投与で、BALF中の神経ペプチド濃度に有意な上昇は認められなかった (Fig. 16)。一方で、Substance Pの皮内投与により皮膚血管透過性は、卵巣摘除ラットにおいて大きく亢進し、対照群に対し有意な差が見られた (Fig. 17)。これらの結果より、卵巣摘除によるパクリタキセル誘発肺障害の悪化は、Substance P等の神経ペプチドに対する感受性の増大によるものと考えられる。

これまでに、卵巣摘除により血管内皮におけるNOS活性が低下することや、その低下がエストラジオールにより回復することが報告されている^{35, 37, 39-41)}。今回、NO供与体であるsodium nitroprussideが、卵巣摘除によるパクリタキセル誘発肺血管透過性亢進の増悪に対し抑制効果を示した。さらに、非選択的NOS阻害薬のN^G-nitro-L-arginine methyl esterは、無処置ラットにお

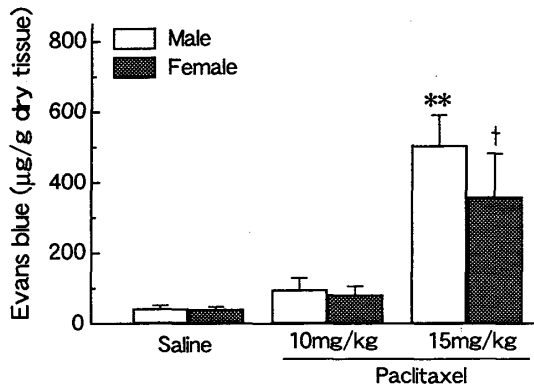


Fig. 12. Comparison of the effect of paclitaxel on the extravasation of plasma proteins between male and female rats. Each column represents the mean \pm S.E.M. of 5 animals. **P<0.01 vs. Male saline-treated group, †P<0.05 vs. Female saline-treated group (Dunnett's test).

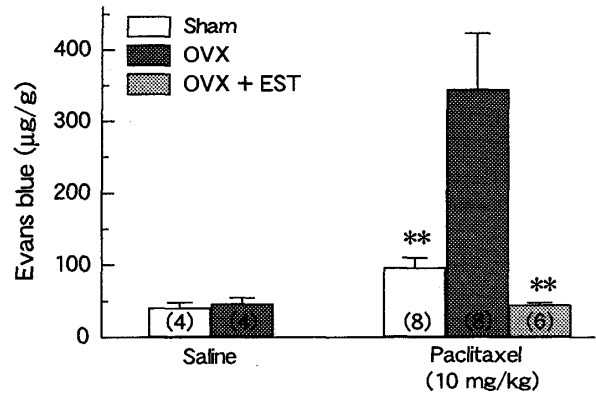


Fig. 13. Aggravation of paclitaxel-induced extravasation of plasma proteins in lungs of ovariectomized (OVX) rats and its reversal by repeated administration of estradiol. Rats were subjected to sham-operation or ovariectomy 4 weeks before paclitaxel injection. Estradiol (EST: 1 mg/kg) was injected i.m. once a week for 3 times. Each column represents the mean \pm S.E.M. Number of animals was shown in each parenthesis. **P<0.01 vs. Control (Dunnett's test).

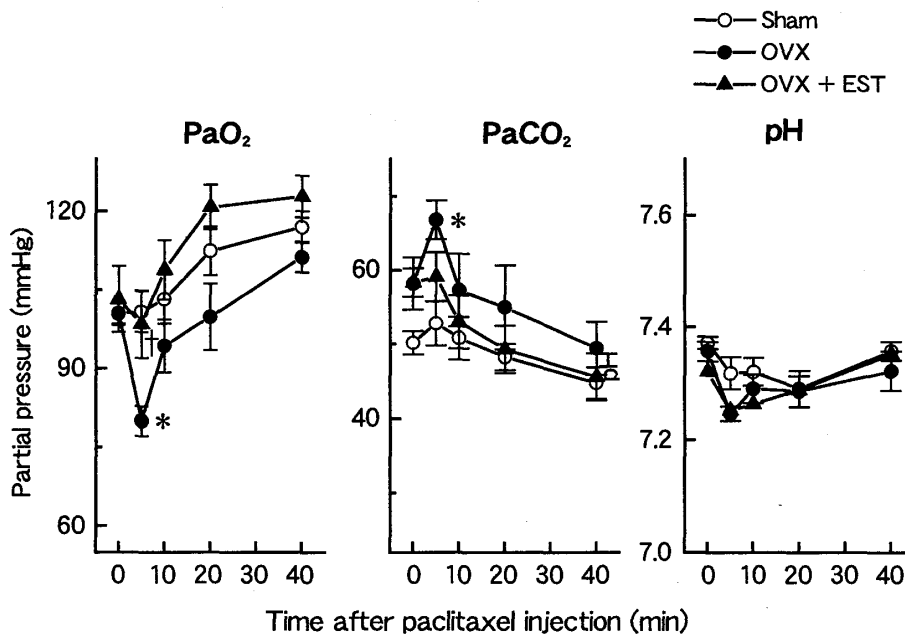


Fig. 14. Aggravation of paclitaxel-induced decrease in arterial PaO₂ by ovariectomy in rats. Rats were subjected to ovariectomy (OVX) 4 weeks before paclitaxel (10 mg/kg) injection. Estradiol (EST: 1 mg/kg) was injected i.m. once a week for 3 times. Arterial gasses were monitored by an automatic gas analyzer (i-STAT) during 40 min after paclitaxel injection. Each point represents the mean \pm S.E.M. of 5 experiments. *P<0.05 vs. respective control (Dunnett's test).

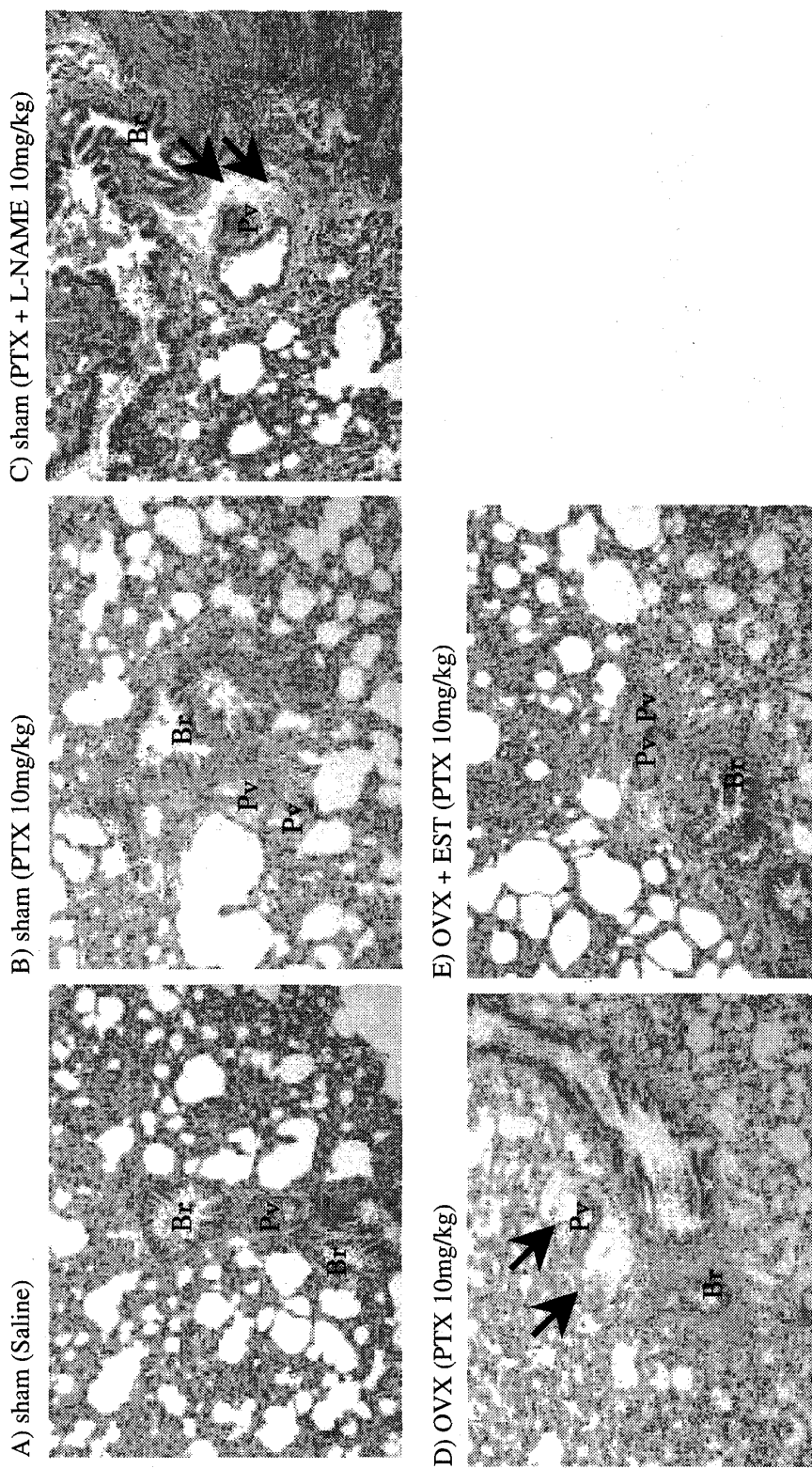


Fig. 15. Representative photographs showing hematoxylin and eosin stain in pulmonary sections of rats. The middle lobe of lungs was obtained 10 minutes after injection with paclitaxel (10mg/kg, i.v.) in the absence or presence of pretreatment with L-NAME (10mg/kg, 10 minutes, i.v.), and estradiol (1mg/kg/week x 3 times, i.m.). The marked perivascular edema was shown by arrows. Magnification of each photograph was x 100. Br: bronchiolus; Pv: pulmonary vessel.

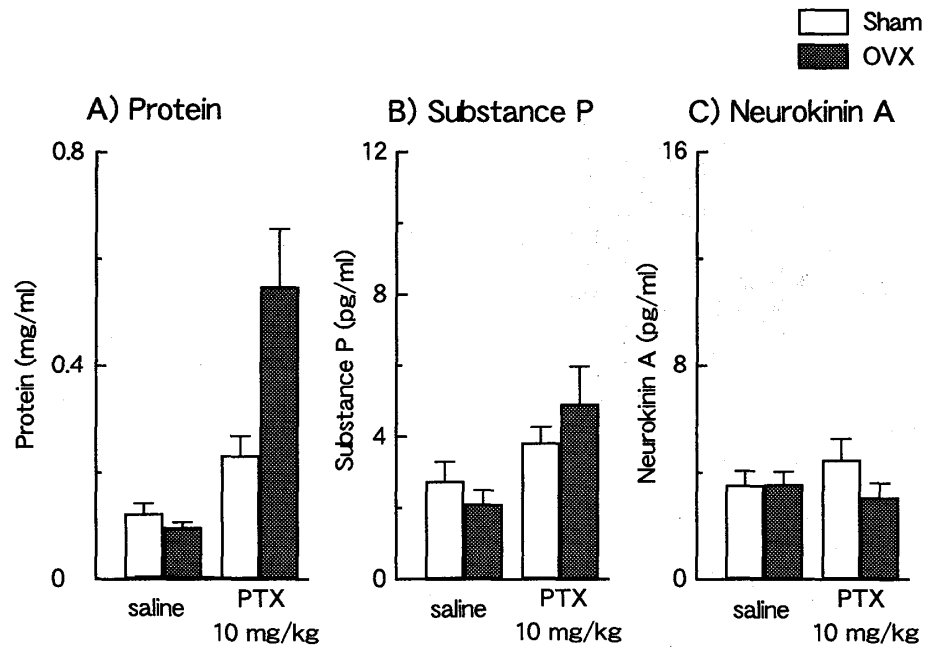


Fig. 16. Comparative effects of paclitaxel (10 mg/kg) on the concentrations of protein, substance P and neurokinin A in BALF between sham-operated and ovariectomized rats. Each column represents the mean \pm S.E.M. of 5 experiments

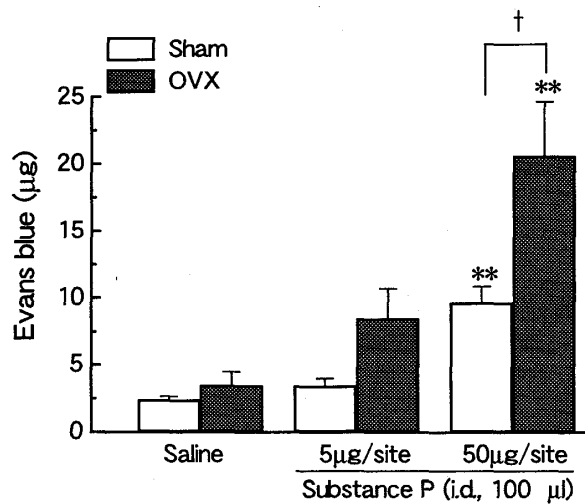


Fig. 17. Enhancement of substance P-induced increase in protein extravasation in skin in ovariectomized (OVX) rats. Substance P was injected intradermally into the dorsal skin in a volume of 100 μ l, then Evans blue was injected i.v. 10 min later. Thirty minutes after Evans blue injection, the rats were perfused systemically with 100 ml of physiological saline and the blotted parts of skin were clipped. The amount of Evans blue was determined. Each column represents the mean \pm S.E.M. of 4 experiments. ** P <0.01 vs. respective saline, † P <0.05.

けるパクリタキセル肺障害を悪化させた。しかし、選択的神経型 NOS (nNOS) 阻害薬である 7-nitroindazole に増悪作用は見られなかった (Fig. 18)。従って、内皮型 NOS (eNOS) 由来の NO が血管透過性亢進に対し抑制的に働くと考えられる。

今回、パクリタキセル 15 mg/kg 投与における肺血管の反応性は、雌性ラットが雄性に比べわずかであるが低かった。大動脈および心臓における Ca^{2+} 依存性の NOS 活性は雌性ラットが雄性に比べ高いこと⁴⁰⁾から、この血管反応性の違いにはエストロゲンによる eNOS 活性亢進が関係し

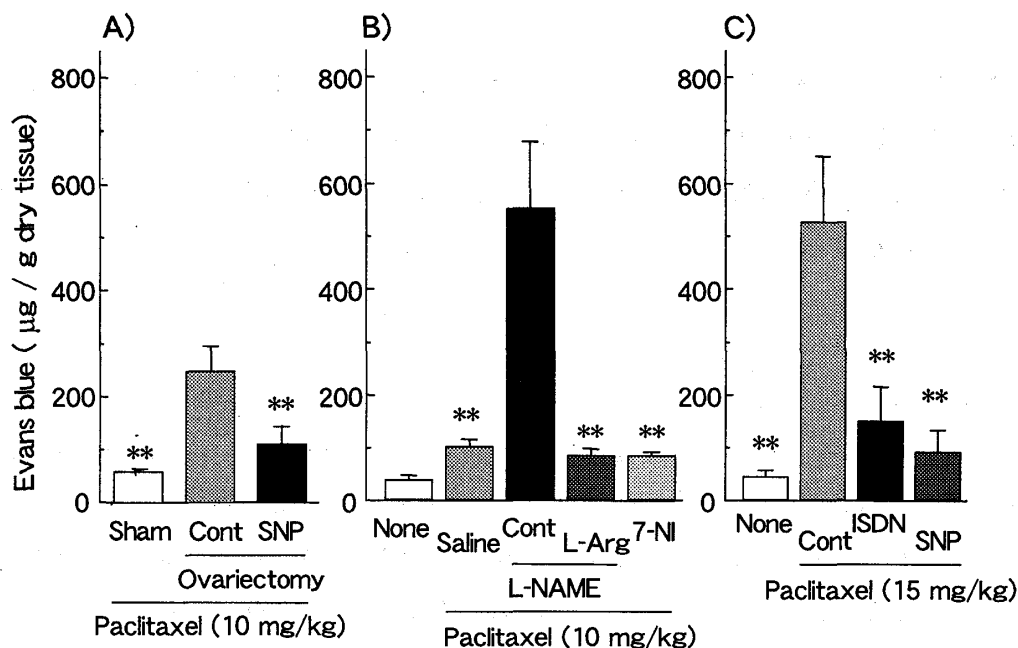


Fig. 18. Effects of nitric oxide donors and NOS inhibitors on paclitaxel-induced pulmonary vascular hyperpermeability in rats. Doses of test compounds were 10 mg/kg for N^G-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) and 7-nitroindazole (7-NI), 1 mg/kg for isosorbide dinitrate (ISDN), 20 µg/kg for sodium nitroprusside (SNP) and 300 mg/kg for L-arginine (L-Arg). Each column represents the mean ± S.E.M. of 5-7 experiments. *P<0.05, **P<0.01 vs control group.

ていると考えられる。また、ChoらもエストロゲンがeNOS依存性のcGMP産生を活性化することで培養ヒト臍静脈内皮細胞の透過性を低下させると報告している⁴²⁾。

おわりに

本研究では、ラットを用いてパクリタキセル過敏反応の実験モデルを作成し、その発現機序について調べた。パクリタキセル投与により、肺換気能低下、血管透過性亢進、肺浮腫といった臨床症状と類似した作用が投与直後に発現した。この作用にはヒスタミンや肥満細胞の関与はほとんどなく、知覚神経からの Substance P や Neurokinin A の遊離に基づくと考えられた。さらに、ペミロラストはパクリタキセルによる知覚神経ペプチドの遊離を抑制し、肺障害を抑制したことから、パクリタキセル過敏反応の予防薬として有用であると考えられた。事実、小規模の臨床試験において、ペミロラストの有効性が証明された。したがって、本研究結果はこれまで常識的に考えられていたパクリタキセル過敏反応におけるヒスタミン仮説を否定するものであり、臨床において用いられているパクリタキセル過敏反応に対する予防的前投薬法（ヒスタミン受容体拮抗薬）の有用性を見直す必要があると考えられた。一方、卵巣摘除ラットにパクリタキセルを投与すると肺障害が増悪され、この作用にはエストロゲン低下によるeNOS発現の低下が関与する可能性が考えられた。このことは、卵巣癌患者においてパクリタキセル過敏反応の発現率が特に高いことと関連すると思われる。

謝辞

本研究は九州大学大学院薬学府医薬品情報解析学分野 大石了三教授の御指導のもとに行われたものであり、先生の御懇切な御指導と御教示に心より深く感謝致します。また、本研究の遂行にあたり、直接御指導、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 伊藤善規助教授に深謝致します。

引用文献

- 1) Price KS, Castells MC. Taxol reactions. *Allergy Asthma Proc* 2002; 23: 205-8.
- 2) Myers GE, Bloom FL. Cimetidine (Tagamet) combined with steroids and H1 antihistamines for the prevention of serious radiographic contrast material reactions. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1981; 7: 65-9.
- 3) Kwon JS, Elit L, Finn M, Hirte H, Mazurka J, Moens F, Trim K. A comparison of two prophylactic regimens for hypersensitivity reactions to paclitaxel. *Gynecol Oncol* 2002; 84: 420-5.
- 4) Bookman MA, Kloth DD, Kover PE, Smolinski S, Ozols RF. Short-course intravenous prophylaxis for paclitaxel-related hypersensitivity reactions. *Ann Oncol* 1997; 8: 611-4.
- 5) Sendo T, Sakai N, Itoh Y, Ikesue H, Kobayashi H, Hirakawa T, Nakano H, Oishi R. Incidence and risk factors for paclitaxel hypersensitivity during ovarian cancer chemotherapy. *Cancer Chemother Pharmacol* 2005; 56: 91-6.
- 6) Sendo T, Kataoka Y, Takeda Y, Furuta W, Oishi R. Nitric oxide protects against contrast media-increased pulmonary vascular permeability in rats. *Invest Radiol* 2000; 35: 472-8.
- 7) Goromaru T, Sendo T, Itoh Y, Sakai N, Teshima D, Oishi R. Evidence for involvement of mast cell degranulation and subsequent stimulation of histamine H1 and H2 receptors in radiographic contrast media-increased vascular permeability in rats. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2002; 366: 605-12.
- 8) Sendo T, Itoh Y, Goromaru T, Sumimura T, Saito M, Aki K, Yano T, Oishi R. A potent tryptase inhibitor nafamostat mesilate dramatically suppressed pulmonary dysfunction induced in rats by a radiographic contrast medium. *Br J Pharmacol* 2003; 138: 959-67.
- 9) Yanagihara Y, Kasai H, Matsui S, Ninomiya K. Immunopharmacological studies on TBX, a new antiallergic drug (3). Inhibitory effects on histamine release from lung fragments and bronchoconstriction in guinea pigs. *Jpn J Pharmacol* 1989; 51: 83-92.
- 10) Miller P, James GW. Inhibition of experimental immediate hypersensitivity reactions by a novel xanthone, RU 31156. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1978; 231: 328-39.
- 11) Martin U, Romer D. The pharmacological properties of a new, orally active antianaphylactic compound: ketotifen, a benzocycloheptathiophene. *Arzneimittelforschung* 1978; 28: 770-82.
- 12) Piedimonte G, McDonald DM, Nadel JA. Neutral endopeptidase and kininase II mediate glucocorticoid inhibition of neurogenic inflammation in the rat trachea. *J Clin Invest* 1991; 88: 40-4.

- 13) Martling CR. Sensory nerves containing tachykinins and CGRP in the lower airways. Functional implications for bronchoconstriction, vasodilatation and protein extravasation. *Acta Physiol Scand Suppl* 1987; 563: 1-57.
- 14) Rogers DF, Belvisi MG, Aursudkij B, Evans TW, Barnes PJ. Effects and interactions of sensory neuropeptides on airway microvascular leakage in guinea-pigs. *Br J Pharmacol* 1988; 95: 1109-16.
- 15) Holzer P. Local effector functions of capsaicin-sensitive sensory nerve endings: involvement of tachykinins, calcitonin gene-related peptide and other neuropeptides. *Neuroscience* 1988; 24: 739-68.
- 16) Strigas J, Burcher E. Autoradiographic localization of tachykinin NK2 and NK1 receptors in the guinea-pig lung, using selective radioligands. *Eur J Pharmacol* 1996; 311: 177-86.
- 17) Marek W, Potthast JJ, Marcynski B, Baur X. Role of substance P and neurokinin A in toluene diisocyanate-induced increased airway responsiveness in rabbits. *Lung* 1996; 174: 83-97.
- 18) Bret-Dibat JL, Creminon C, Couraud JY, Kelley KW, Dantzer R, Kent S. Systemic capsaicin pretreatment fails to block the decrease in food-motivated behavior induced by lipopolysaccharide and interleukin-1beta. *Brain Res Bull* 1997; 42: 443-9.
- 19) Lundberg JM, Franco-Cereceda A, Hua X, Hokfelt T, Fischer JA. Co-existence of substance P and calcitonin gene-related peptide-like immunoreactivities in sensory nerves in relation to cardiovascular and bronchoconstrictor effects of capsaicin. *Eur J Pharmacol* 1985; 108: 315-9.
- 20) Tan KK, Brown MJ, Hargreaves RJ, Shephard SL, Cook DA, Hill RG. Calcitonin gene-related peptide as an endogenous vasodilator: immunoblockade studies in vivo with an anti-calcitonin gene-related peptide monoclonal antibody and its Fab' fragment. *Clin Sci (Lond)* 1995; 89: 565-73.
- 21) Crossman DC, Dashwood MR, Taylor GW, Wellings R, Fuller RW. Sodium cromoglycate: evidence of tachykinin antagonist activity in the human skin. *J Appl Physiol* 1993; 75: 167-72.
- 22) Micha JP, Rettenmaier MA, Dillman R, Fraser P, Birk C, Brown JV. Single-dose dexamethasone paclitaxel premedication. *Gynecol Oncol* 1998; 69: 122-4.
- 23) Hainsworth JD, Burris HA 3rd, Erland JB, Morrissey LH, Meluch AA, Kalman LA, Hon JK, Scullin DC Jr, Smith SW, Greco FA. Phase I/II trial of paclitaxel by 1-hour infusion, carboplatin, and gemcitabine in the treatment of patients with advanced nonsmall cell lung carcinoma. *Cancer* 1999; 85: 1269-76.
- 24) Morere JF, Piperno-Neumann S, Coulon MA, Vaylet F, L'Her P, Brunet A, Quinaux E, Breau JL. Dose-finding study of paclitaxel and carboplatin in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Anticancer Drugs* 2000; 11: 541-8.
- 25) Ito Y, Horikoshi N, Watanabe T, Sasaki Y, Tominaga T, Okawa T, Tabei T, Kuraishi Y, Tamura K, Abe R, Kitajima M, Yamaguchi S, Kobayashi T, Koyama H, Orita K, Takashima S, Nomura Y, Ogawa M. Phase II study of paclitaxel (BMS-181339) intravenously infused over 3 hours for advanced or metastatic breast cancer in Japan. BMS-181339 Breast Cancer Study Group. *Invest New Drugs* 1998; 16: 183-90.
- 26) Riccardi A, Pugliese P, Danova M, Brugnattelli S, Grasso D, Giordano M, Bernardo G, Giardina G,

- Fava S, Montanari G, Pedrotti C, Trotti G, Rinaldi E, Poli MA, Tinelli C. A phase II study of sequential 5-fluorouracil, epirubicin and cyclophosphamide (FEC) and paclitaxel in advanced breast cancer (Protocol PV BC 97/01). *Br J Cancer* 2001; 85: 141-6.
- 27) Weiss RB, Donehower RC, Wiernik PH, Ohnuma T, Gralla RJ, Trump DL, Baker JR Jr, Van Echo DA, Von Hoff DD, Leyland-Jones B. Hypersensitivity reactions from taxol. *J Clin Oncol* 1990; 8: 1263-8.
- 28) Markman M, Kennedy A, Webster K, Kulp B, Peterson G, Belinson J. Carboplatin plus paclitaxel in the treatment of gynecologic malignancies: the Cleveland Clinic experience. *Semin Oncol* 1997; 24 (5 Suppl 15): 26-9.
- 29) Cormio G, Di Vagno G, Melilli GA, Cazzolla A, Di Gesu G, Carriero C, Cramarossa D, Loverro G, Selvaggi L. Hypersensitivity reactions in ovarian cancer patients receiving paclitaxel. *J Chemother* 1999; 11: 407-9.
- 30) Cantu MG, Buda A, Parma G, Rossi R, Floriani I, Bonazzi C, Dell'Anna T, Torri V, Colombo N. Randomized controlled trial of single-agent paclitaxel versus cyclophosphamide, doxorubicin, and cisplatin in patients with recurrent ovarian cancer who responded to first-line platinum-based regimens. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1232-7.
- 31) Greendale GA, Lee NP, Arriola ER. The menopause. *Lancet* 1999; 353: 571-80.
- 32) Pearce MJ, Hawton K. Psychological and sexual aspects of the menopause and HRT. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol* 1996; 10: 385-99.
- 33) Stampfer MJ, Willett WC, Colditz GA, Rosner B, Speizer FE, Hennekens CH. A prospective study of postmenopausal estrogen therapy and coronary heart disease. *N Engl J Med* 1985; 313: 1044-9.
- 34) Ross RK, Paganini-Hill A, Mack TM, Arthur M, Henderson BE. Menopausal oestrogen therapy and protection from death from ischaemic heart disease. *Lancet* 1981; 1: 858-60.
- 35) Gonzales RJ, Walker BR, Kanagy NL. 17beta-estradiol increases nitric oxide-dependent dilation in rat pulmonary arteries and thoracic aorta. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 280: L555-64.
- 36) Bucci M, Roviezzo F, Cicala C, Pinto A, Cirino G. 17-beta-oestradiol-induced vasorelaxation in vitro is mediated by eNOS through hsp90 and akt/pkb dependent mechanism. *Br J Pharmacol* 2002; 135: 1695-700.
- 37) Widder J, Pelzer T, von Poser-Klein C, Hu K, Jazbutyte V, Fritzemeier KH, Hegele-Hartung C, Neyses L, Bauersachs J. Improvement of endothelial dysfunction by selective estrogen receptor-alpha stimulation in ovariectomized SHR. *Hypertension* 2003; 42: 991-6.
- 38) 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: 1205-8.
- 39) Xu HL, Galea E, Santizo RA, Baughman VL, Pelligrino DA. The key role of caveolin-1 in estrogen-mediated regulation of endothelial nitric oxide synthase function in cerebral arterioles in vivo. *J Cereb Blood Flow Metab* 2001; 21: 907-13.

- 40) Morschl E, Bretus I, Nemcsik J, Laszlo F, Pavo I. Estrogen-mediated up-regulation of the Ca-dependent constitutive nitric oxide synthase in the rat aorta and heart. *Life Sci* 2000; 68: 49-55.
- 41) Stirone C, Chu Y, Sunday L, Duckles SP, Krause DN. 17 Beta-estradiol increases endothelial nitric oxide synthase mRNA copy number in cerebral blood vessels: quantification by real-time polymerase chain reaction. *Eur J Pharmacol* 2003; 478: 35-8.
- 42) Cho MM, Ziats NP, Pal D, Utian WH, Gorodeski GI. Estrogen modulates paracellular permeability of human endothelial cells by eNOS- and iNOS-related mechanisms. *Am J Physiol* 1999; 276: C337-49.