

II. 芍薬成分ペオニフロリンによる末梢神経障害改善効果とペオニフロリン含有外用薬の開発

富山大学・大学院医学薬学研究部（薬学）

応用薬理学 安東 嗣 修

富山大学・大学院医学薬学研究部（医学）

産婦人科学 齋藤 滋

日本人の死亡原因の第一位は、「悪性新生物」いわゆる「がん（癌）」である。そのがん治療にとって重要なのが抗がん剤による治療である。しかし、嘔吐や末梢神経障害など副作用が問題となっている。現在では、嘔吐に関しては、5-HT₃セロトニン受容体拮抗薬やNK1タキキニン受容体拮抗薬が制吐目的で使用され有効性を示している。一方、末梢神経障害に関しては、有用な予防・治療薬が無いのが現状である。抗がん剤による末梢神経障害は、痛みや痺れなど異常感覚が指先やつま先から発生し、手袋一靴下型の分布を示す。この末梢神経障害の発生は、抗がん薬の休薬の1つの指標ともなっており、抗がん剤治療をうけている患者にとってマイナスの要因となっている。また、抗がん剤治療終了後も数か月～1年ちかく、末梢神経障害が持続する場合が多く、その予防と治療は重要な課題となっている。

漢方方剤 芍薬甘草湯は、芍薬と甘草から構成されており、筋肉のけいれん、腹痛、腰痛などに使用されている。臨床において、芍薬甘草湯の服用が抗がん薬投与患者の筋肉痛などの異常感覚を改善することが報告されている。さらに、動物実験では、甘草エキスの経口投与では抗がん薬による異常感覚をコントロールできないが、芍薬エキスの経口投与でコントロールできる可能性を示す報告がなされている。

そこで、本研究では、抗がん薬による末梢神経障害が手袋一靴下型の分布を示すことから、外用による予防および治療薬の開発を目指し、本年度（1年目）は、マウスを用いて芍薬のエタノール抽出エキス並びに芍薬の主要成分ペオニフロリンの抗がん薬パクリタキセル誘発異常感覚外用効果と抑制機序の一端の解明を試み、また、臨床治験に向けた準備を行った。

【各班のまとめ】

1. 動物モデルを用いた芍薬成分ペオニフロリンによる末梢神経障害改善効果の検討とペオニフロリン含有外用薬の開発の前臨床試験（応用薬理学：安東嗣修）

マウスに抗がん薬パクリタキセルを腹腔内注射すると、注射後13～14日をピークとする機械的アロディニア（通常感じない非侵害刺激に対して過敏状態になる）を生じる。本機械的アロディニアは、マウス後肢足蹠に von Frey フィラメント（0.69mN の強度）を接触させ、その後の後肢の応答（逃避、足振りなど）をスコア化し評価した。本マウスモデルの後肢足蹠を中心に芍薬エタノール抽出エキス並びにペオニフロリンをパクリタキセル注射翌日より 1 日 1 回外用するとパクリタキセル誘発の機械的アロディニアの発生を抑制した。また、抗がん薬による末梢神経障害に神経の脱髄の関与が指摘されている。そこで、末梢神経を用いた電子顕微鏡を用いた評価により、パクリタキセル注射マウスでは、脱髄が認められ、ペオニフロリン投与マウスでは脱髄を抑制する傾向が観察された。芍薬エタノール抽出エキスによるパクリタキセル誘発の機械的アロディニアの抑制効果機序は今後解析予定であるが、以上の結果から、少なくともペオニフロリンによる機械的アロディニアの抑制効果には、脱髄抑制が一部関与している可能性が考えられる。

2. 抗癌薬投与患者の末梢神経障害に対する芍薬甘草湯並びに芍薬成分ペオニフロリン含有外用薬の臨床試験（産婦人科学：齋藤 滋）

臨床試験は、倫理委員会への申請等で承認を得るために非常に時間を要する。そこで、本年度は、臨床評価に関する準備に重点を置いた。新規に倫理委員会への申請であった為、研究計画書、同意説明書、同意書を作成し、当大学倫理委員会へ提出、2 月中に承認を得る運びとなった。評価項目中で、機器をつかった神経伝導速度やサーモグラフィーを用いた皮膚表面温度の評価があり、ボランティアを用いて評価系として適切か確認を行い検査時の痛みは極めて軽微なものであり、外来診療時にも使用可能であることが確認された。このことにより、予定している評価すべて行えることとなった。

3. その他（応用薬理学：安東嗣修）

本製剤開発に向け、富山県くすり政策課職員（担当：藤岡）、本学リエゾンオフィス職員（担当：金田）と共に富山県内製薬関連企業と面談を行った。

Ⅱ－１ 動物モデルを用いた芍薬成分ペオニフロリンによる末梢神経障害改善効果の検討とペオニフロリン含有外用薬の開発の前臨床試験

富山大学・大学院医学薬学研究部（薬学） 応用薬理学

准教授 安東 嗣 修

【研究目的】

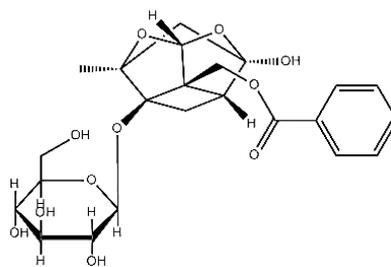
抗がん薬の副作用の一つに末梢神経障害による異常感覚（痛みや痺れなど）が認められる。しかし、既存の鎮痛薬や鎮痛補助薬では、抗がん薬による末梢神経障害をコントロールすることは難しい。そこで、新規治療薬および予防薬の開発が必要となってくる。

漢方方剤芍薬甘草湯は、芍薬と甘草から構成されており、「体力に関わらず使用でき、筋肉の急激なけいれんを伴う痛みのあるものの次の諸症：こむらがえり、筋肉のけいれん、腹痛、腰痛」（ツムラ添付文書）に一般的に処方される。臨床において、芍薬甘草湯が抗がん薬投与患者の筋肉痛などの異常感覚を改善することが報告されている。動物実験においても、我々は抗がん薬投与マウスの疼痛様行動を芍薬甘草湯が抑制することを見出している。芍薬甘草湯の疼痛様行動抑制作用の作用点に関して、電気生理学的に解析したところ、芍薬甘草湯は一部末梢レベルで効果を発揮していることを見出した。抗がん薬の末梢神経障害は、手袋一靴下型と言われており、指先やつま先から異常感覚が発生する。そのため、末梢神経障害が進行するとボタンをかけられなくなったり、物をつかんで持ち挙げられなくなったり、つまずいたりなど日常生活に支障をきたすようになる。そこで、芍薬甘草湯の作用が末梢であること、甘草エキスより芍薬エキスの経口投与により抗がん薬による疼痛様行動が抑制されるという報告があることから、外用による治療・予防効果の可能性を期待し、本研究では、芍薬エタノール抽出エキスならびに芍薬の主要成分のペオニフロリンの外用による抗がん薬パクリタキセル誘発疼痛様行動（機械的アロディニア：健常状態では感じない刺激に対して、過敏状態となっている状態）に対する影響を検討し、疼痛様行動抑制作用機序の解析を行った。



芍 薬

(和漢医薬学総合研究所 民族薬物資料館)



ペオニフロリン

(和漢医薬学総合研究所 伝統医薬データベース)

【研究方法】

(実験動物)

実験には、雄性 C57BL/6 マウスを使用した。

(抗がん薬)

抗がん薬パクリタキセル (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) は、Cremophor EL, 100 % エタノール及び生理食塩水を 1:1:8 の割合で調製した溶媒にて溶解し、5 mg/kg の用量で単回腹腔内注射した。

(芍薬エキス及びペオニフロリン)

芍薬刻み生薬 (栃本天海堂, 大阪) を用いエタノール抽出を行い、抽出エキスをエタノールに溶解し塗布した。また、ペオニフロリン (和光純薬工業, 大阪) は、エタノールに溶解し塗布した。これらエタノール溶液は、1日2回マウスの後肢の足首より指先側 (足掌, 足背, 指) に塗布した。

(行動評価：機械的アロディニア)

マウス後肢足蹠に von Frey フィラメント (0.69mN) を適用し、この機械的刺激に対する後肢の反応を3段階のスコア化しアロディニアを評価した。

0：反応なしまたは後肢を横にずらす行動

1：後肢の引き上げ行動 (lifting)

2：後肢の振り動作 (flinching) または刺激部位へのなめ行動 (licking)

(電気生理学的評価)

麻酔下マウス後肢伏在神経を露出、剥離し双極電極で吊り自発発火並びに von Frey フィラメント (0.69mN) 刺激による発火を記録した。

(電子顕微鏡による評価)

マウス後肢足蹠より末梢神経を摘出し、電子顕微鏡による観察を行った。

【結果】

(1) パクリタキセル誘発機械的アロディニアに対する芍薬エタノール抽出エキス及びペオニフロリンの外用による効果

パクリタキセルを単回腹腔内注射することにより、注射後13-14日をピークとする機械的アロディニアが認められた。芍薬エタノール抽出エキス及びペオニフロリンをエタノールに溶解し、パクリタ

キセル投与翌日より繰り返し1日2回マウス後肢の足首より先全体（足掌，足背，指）に塗布した。芍薬エタノール抽出エキス及びペオニフロリンの繰り返し塗布によりパクリタキセル誘発機械的アロディニアの発生は抑制された。本繰り返し塗布による塗布局所の腫脹等の障害性所見は認められなかった。

(2) パクリタキセル投与マウスの末梢神経活動の増加に対するペオニフロリンの外用による効果

パクリタキセル投与マウスでは，パクリタキセルの溶媒投与コントロールマウスとくらべ，伏在神経の自発的発火ならびに von Frey フィラメント（0.69mN）によって誘発される発火の増加が認められた。ペオニフロリンの繰り返し塗布処置を行ったパクリタキセル投与マウスでは，伏在神経の自発的発火ならびに von Frey フィラメントによって誘発される発火の増大は，抑制された。

(3) パクリタキセル投与マウスの末梢神経の電子顕微鏡による解析

パクリタキセル投与マウスにおいて末梢神経における脱髄神経の増加が認められた。ペオニフロリンの繰り返し塗布処置により，パクリタキセル誘発の脱髄神経の増加は抑制された。

【考察と今後の展望】

本研究では，婦人科系のがんに用いられる主要な抗がん薬であるパクリタキセル投与マウスへの芍薬エタノール抽出エキス並びに芍薬の主要な活性成分であるペオニフロリンの繰り返し塗布による機械的アロディニアへの効果を検討した。芍薬エタノール抽出エキス及びペオニフロリンの繰り返し塗布は，パクリタキセル誘発機械的アロディニアの発生を抑制した。このことにより，これら薬物の繰り返し塗布（外用）は，抗がん薬誘発機械的アロディニアの発生の予防に有効であることが示唆される。一方，パクリタキセル誘発機械的アロディニアに対して，ペオニフロリンの単回塗布は，抑制効果を示さなかった（データ未掲載）。したがって，これら塗布の急性効果を期待することは難しいと考えられる。

ペオニフロリンの繰り返し塗布は，パクリタキセル誘発末梢神経活動の増加を抑制した。また，ペオニフロリンを塗布していない反対足ではペオニフロリンの繰り返し塗布によるパクリタキセル誘発機械的アロディニアに対する抑制効果は認められなかった。このことは，ペオニフロリンが塗布局所で効果を発揮していることを示唆する。

パクリタキセルの投与により末梢神経の脱髄が認められることが報告されている。脱髄は，神経の異常発火に関与し，神経障害性疼痛の発生機序の1つとして考えられている。パクリタキセル投与マウスにおいて，後肢足蹠神経の電子顕微鏡解析により脱髄神経数の増加が認められた。この増加は，ペオニフロリンの繰り返し塗布により抑制された。したがって，ペオニフロリンの繰り返し塗布による機械的アロディニアの抑制作用に一部末梢神経の脱髄抑制が関与していることが示唆される。

パクリタキセルなど抗がん薬は、投与開始のタイミングが明確であることから、予防的に芍薬エタノール抽出エキス或いはペオニフロリンの外用をすることで末梢神経障害の発生を抑制することが期待される。今後、繰り返し外用による治療効果に加え、他の抗がん薬誘発末梢神経障害性疼痛や糖尿病性末梢神経障害性疼痛への効果や、安全性に関する病理組織学的検討を行い、臨床試験を行う準備を行う予定である。

【その他活動】

臨床への応用を目指し、臨床試験で使用可能な製剤作製に関して、富山県くすり政策課職員（担当：藤岡）と共に富山県内製薬関連企業と面談を行った。

【特許出願】

- [1] （発明の名称）末梢神経障害誘発感覚異常を改善する外用剤
（発明者）安東嗣修，小林奈央，倉石 泰
（出願人）国立大学法人 富山大学
（出願番号）特願2014-107362（2014.5.23）
- [2] （発明の名称）末梢神経の脱髄抑制剤
（発明者）安東嗣修，小林奈央，倉石 泰
（出願人）国立大学法人 富山大学
（出願番号）特願2014-141841（2014.7.10）

【学会発表】

Andoh T, Kobayashi N, Kitamura R, Kuraishi Y. Repetitive topical paeoniflorin inhibits the increase in saphenous nerve activity after paclitaxel administration and prevents paclitaxel-induced peripheral neuropathic pain. The 44th Annual Meeting of the Society for Neuroscience; 2014 Nov 15-19; Washington D.C., USA.

【研究協力者】

富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）応用薬理学

小林 奈央，倉石 泰

富山大学和漢医学総合研究所和漢薬の科学基盤形成拠点 拠点推進室

李峰

Ⅱ－２ 抗癌薬投与患者の末梢神経障害に対する芍薬甘草湯 並びに芍薬成分ペオニフロリン含有外用薬の臨床試験

富山大学・大学院医学薬学研究部（医学） 産婦人科学

教授 齋藤 滋
准教授 吉野 修
助教 島 友子

【研究目的】

抗がん剤使用によりがんの治療成績が向上しており、がんサバイバーも増加している。その一方で、抗がん剤による嘔吐、血液毒性、易感染性、脱毛、肝機能障害などの副作用があるため、種々の対策がなされてきた。一方、抗がん剤による末梢神経障害（痛みや痺れなど）は、生命予後を悪化させないが、治療終了後の患者のQOLを著しく低下させる。これまで抗がん剤による末梢神経障害の発症の詳細な機序が判っておらず、臨床的に大きな問題点となっている。我々は芍薬甘草湯の芍薬がパクリタキセル誘導の末梢性の痛みに対して有用であることを報告し（Eur. J Pain ; 13 : 22-27, 2009）、臨床例においても芍薬甘草湯がパクリタキセルによる筋肉痛に有用であることを報告している（産婦人科漢方のあゆみ ; 28 : 40-45, 2011）。しかし、これまでの報告は患者による主観的評価法に頼っており、客観的な評価法が求められている。申請代表者である安東 嗣修は、電気生理学的手法を用いた検討から、抗がん剤投与マウスの末梢神経において痺れた相当する自家発火が増加していること、ならびに抗がん剤使用後に末梢循環障害が生じ、このことが痛み、痺れにつながることで、世界で初めて見出した。そこで、今回、婦人科がん患者でタキソール製剤を使用する症例に筋電計（T & T メディカル社ニューロスタディー）および末梢温度を評価するサーモグラフィー（Fluku社Ti-32）を用いて、末梢神経障害を評価し、芍薬甘草湯による末梢神経障害を客観的に評価する方法の確立を目的とした。

【研究方法】

富山大学臨床研究倫理審査に研究承認を依頼しており、現在審査中である。対象は富山大学附属病院産婦人科で外来、入院管理し、タキソールを含む抗がん剤投与症例100例を目標症例とする。

同意を得られた患者に投与前、投与4日、7日後に筋電計による電気生理学的方法で、電極を2カ所に装着し軽微な電流を流すことで電極間の神経伝達速度を計測する。また手掌をサーモグラフィーにかざすことで、非侵襲的に表面体温評価を行なう（図1）。

これらを芍薬甘草湯非投与時（初回）と芍薬甘草湯投与時（2回目以降）とで比較し、あわせて自覚症状の改善度とあわせて評価する（図2、図3）。

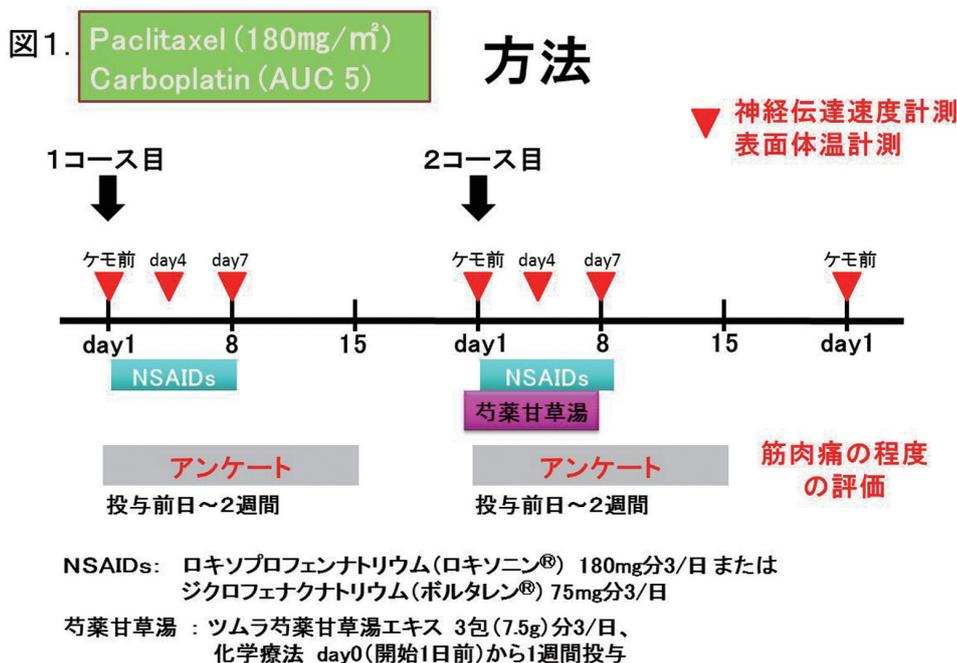


図2. Paclitaxel 投与に伴う筋肉痛の程度の評価

Pain scale	CTCAE ver4.0	痛み(自覚症状)	痛み(他覚症状)
4	3	耐えられない 痛くてじっとしてられない 全く眠れない	耐えられない痛み ペンタゾシンのような強い鎮痛剤を要す
3	3	テレビ、ラジオも嫌だ トイレに行くのもおっくうだ ほとんど眠れない	臥床を要し、睡眠も妨げられ、 内服の鎮痛剤を頻回に要する ような強い痛み
2	2	トイレに行ったりして動くと痛い 病院であれば売店までいける 自宅であれば家の中は動ける 夜中ときどき目が覚める	臥床を要するほどではないが、 トイレにいたりして動くと痛い 夜中ときどき目がさめる 内服の鎮痛剤を1～2回要する
1	1	痛みはあるが、普段と同じように生活できる 散歩できる 気になるが眠れないほどではない	気にはなるが、普段と同じように 生活でき、鎮痛剤を要しない 程度の軽度の痛み
0		痛くない ぐっすり眠れた	無痛

TOYAMA v2015

図3 Paclitaxel 投与に伴う筋肉痛の程度の評価

NRS: Numerical Rating Scale

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

痛みが全くないものを0点
考えうる最悪の痛みを10点とし痛みを評価

【結果】

研究計画書，同意説明書，同意書を作成し，当大学倫理委員会の承認が未だのため，基礎データのみの取得を行なった。まずは筋電図による神経伝達速度を，ボランティアを用いて行った。検査時の痛みは極めて軽微なものであり，外来診療時にも使用できることが判明した。

サーモグラフィーの装着も極めて安易であり，データ集積も可能であった。倫理審査で承認され次第，研究を開始できる状態にある。なお，倫理委員会は2月中に承認される見込みである。

【考察と今後の展望】

これまで，抗がん剤による痛みや末梢神経障害の評価法は主観的であったが，客観的な評価法を確立し，また芍薬甘草湯による効果が客観的な評価でも証明されれば，臨床的に極めて大きな意義がある。しかも，本法は手技が容易であることから，本評価法を確立すれば早めの医療介入も可能となる。また，芍薬甘草湯や牛車腎気丸による抗がん剤の副作用軽減が臨床的に証明されれば，多くの癌症例にとって有益となる。

【学会発表】

- 1) 齋藤 滋：女性医学のために漢方にできること。第29回日本女性医学学会，2014,11,1, 東京.
- 2) 齋藤 滋: 明日から実践できる漢方治療。第66回日本産科婦人科学会学術講演会 ランチョンセミナー ; 2014.4.18-20, 東京.

島友子 産婦人科漢方研究会（2015年9月13日）シンポジウム発表が決定

【研究協力者】

富山大学大学院医学薬学研究部（医学）産婦人科学

吉野 修，島 友子