

特 集

外科医のための Kampo EBM UP TO DATE

6. 抗癌剤の副作用と漢方薬

1) 札幌東徳洲会病院先端外科センター, 2) 北海道大学大学院薬学研究院,
3) 国立がん研究センターがん患者病態生理研究分野

河野 透¹⁾, 武田 宏司²⁾, 上園 保仁³⁾

キーワード 大建中湯, 抑肝散, 半夏瀉心湯, 六君子湯, 牛車腎気丸

I. 内容要旨

漢方薬は西洋薬が単一成分であるのと異なり, 多成分であり, 治療のため意図した多くの標的に作用することで治療目的を達成する。最近の研究で作用メカニズムの理解が進み, 従来の西洋薬では十分な対応が出来ない抗癌剤治療による副作用, 食欲不振, 口内炎, 口唇炎, 下痢, 神経毒性, 異常行動, だるさなど体力低下, 血小板減少に効果を発揮できる代表的な漢方薬, 六君子湯, 半夏瀉心湯, 大建中湯, 牛車腎気丸, 芍薬甘草湯, 抑肝散そして補剤である補中益気湯, 十全大補湯, 人参養栄湯について概説した。

II. はじめに

厚労省の第3次対がん総合戦略研究事業がん治療における「がん治療の副作用軽減ならびにがん患者のQOL 向上のための漢方薬の臨床応用とその作用機構の解明」研究班(研究代表者: 上園保仁)によって行われた市民公開講座におけるアンケート調査で患者さんの70~80%は漢方薬を使用して欲しいと答えているにもかかわらず, 自由記載をみると漢方薬の処方をお願いしたら, 抗癌剤の効果のみを見たいと断られたなど医療サイドの漢方薬に対する否定的な事例ばかりであった。それでは, このような医療サイドの漢方薬に対するネガティブな考えはどこから来るのか¹⁾。それは西洋薬と漢方薬の違いをしっかりと理解されてこなかった事にあると考える(表1)。理想的な西洋薬

は単一成分が単一標的に作用して単一の効果を生むもので, この場合には副作用は理論的にはゼロ。しかしながら多くの西洋薬は単一成分でありながら意図しない複数の標的に作用し, 予期しない副作用を生じている。一方, 漢方薬は多成分であり, 意図した多くの標的に作用することで治療目的を達成する。したがって副作用が少ないのも理解できる。しかしながらこれまで漢方薬は成分レベルでの意図された多標的を組み合わせた薬理作用メカニズムがほとんど解明されてこなかったため, 多くの医師が理解できなかったことが原因であると推察される。そこで, 最近, 薬物動態など薬理作用メカニズム解明が進んできた漢方薬を中心に作用メカニズム的に抗癌剤治療による副作用への効果について概説する。

III. 食欲不振に対する六君子湯 (Rikkunshito)

西洋薬での対応は難しいとされる食欲不振の原因は様々であるが, 静脈内投与によって食欲を増加させる

表1 西洋薬と漢方の違い

西洋薬	単一成分	単一標的 マジックブレット	単一治療効果 副作用なし
		意図しない 多標的	治療効果と 重篤な副作用
漢方薬	複数成分	意図した 多標的	治療効果と 少ない副作用

KAMPO MEDICINE FOR THE TREATMENT OF ADVERSE EFFECTS CAUSED BY ANTICANCER DRUGS

Toru Kono¹, Hiroshi Takeda² and Yasuhiro Uezono³

Advanced Surgery Center, Sapporo Higashi Tokushukai Hospital¹, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University², Division of Cancer Pathophysiology, National Cancer Center Research Institute, Tokyo, Japan³

6. 抗癌剤の副作用と漢方薬

唯一の消化管ホルモンであるグレリンに関する食欲不振に六君子湯が効果がある。このタイプの食思不振を招くシスプラチンは、胃や小腸など消化管に多く存在するエンテロクロマフィン細胞を刺激してセロトニン産生放出を促し、生体がもつ唯一の食欲増進ペプチドであるグレリン分泌細胞の抑制受容体であるセロトニン受容体 5HT-2B を刺激、結果としてグレリン分泌が抑制され、食思不振が起こる。その薬効メカニズムは、六君子湯の構成生薬の1つである陳皮（温州ミカンの皮）の主要成分であるヘプタメソキシフラボンがセロトニン受容体 5HT-2B に対してエンテロクロマフィン細胞から放出されたセロトニンに拮抗的に働いて、胃や十二指腸に多く存在するグレリン分泌細胞のグレリン分泌抑制を防ぐことが明らかとなった²³⁾。さらに、最近ではグレリン分泌細胞の感受性を高める成分が含まれていることが明らかとなって来ている⁴⁾。抗癌剤による食欲不振を検討したものではないが、漢方薬のプラセボ作成が困難な時代に行われた多施設二重盲検前向き試験で常用量の1/30という低用量と常用量との比較で食欲不振改善効果が確認されている。また、最近の臨床試験で2週間投与後少なくとも2週間はグレリン血中濃度が高く維持されることも報告されている⁵⁾。使用上の安全性ではグリチルリチンを主成分とする甘草が多く含まれているため、長期連用する際には、偽アルドステロン症・低カリウム血症に注意が必要である。

IV. 口内炎に対する半夏瀉心湯 (Hangeshashinto)

口内炎に対する西洋薬のアプローチによる有効な治療手段はほとんど無いといえる。その口内炎発症のメカニズムは抗癌剤によって発生する活性酸素による口腔粘膜細胞のDNA障害、各種サイトカインなどによるアポトーシス誘導などがあげられ、口内炎における痛みは増強した各種炎症性プロスタグランジンによる神経刺激で起こる。口内炎による痛みは摂食障害の原因となり、潰瘍があっても痛みが無ければ食事は可能となる。したがって、口内炎による痛みをコントロールすることが大きな目標となる。半夏瀉心湯はその作用メカニズム的に口内炎による痛みを軽減でき、潰瘍治療効果も期待できることが明らかとなった。半夏瀉心湯に含まれる乾姜をはじめ多くの生薬成分が炎症部位の痛み発生物質であるプロスタグランジン誘導型E2を濃度依存性に産生抑制効果が報告されており、

痛みを早期に減弱させる効果が期待できる。また細胞遊走能を増強させ潰瘍病変を早期に治癒させる効果も確認されている。抗癌剤による免疫力低下に伴い口腔内細菌叢による二次感染も口内炎増悪への関与が示唆されているが、半夏瀉心湯の構成生薬である黄連の主要成分であるベルベリンは広い抗菌作用を有しており、細菌性細胞障害に対する抑制効果が報告されていることから、口腔内の細菌増殖抑制効果が期待される。当初、われわれは培養細胞実験から多くの作用メカニズムを明らかにしてきたが、そこでの試適濃度を臨床に反映させるために半夏瀉心湯の局所投与、すなわち水溶液による口腔内投与を考案した。具体的には半夏瀉心湯1包(2.5g)を少量の熱湯に溶かし、コップ半分程度に希釈し、数回に分けて口腔に含んでゆすいでもらう。痛みは10~20分程度で軽減され、速効性がある。大腸癌抗癌剤治療中に発生した口内炎に対して半夏瀉心湯を使用した小規模後ろ向き臨床試験を行ったところ90%以上有効であった⁶⁾。その後、多施設プラセボ対照前向き二重盲検第II相試験(HANGESHA試験)を行い、大腸癌化学療法中に発生した痛みを伴い治療が必要な口内炎(グレード2以上)が治癒するまでの期間がプラセボに比較して半分になるなど有効性が証明された。

V. 下痢に対する半夏瀉心湯と大建中湯 (Daikenchuto)

抗癌剤による下痢で有名なのはイリノテカンによる遅発性下痢であり、その予防薬として半夏瀉心湯が頻用されている。イリノテカンによる下痢の特徴は、投与開始24時間以内に発現する早期性下痢と24時間以降とくに投与数日後に発現することが多い遅発性下痢の2種類に分かれる。早期性下痢の原因はイリノテカンのアセチルコリンエステラーゼ阻害作用により副交感神経が刺激され、下痢を起こす。遅発性下痢はイリノテカンの活性代謝物SN-38のグルクロン酸抱合体が、腸内細菌のβ-グルクロニダーゼによりSN-38に脱抱合され、これが腸管粘膜の細胞傷害をきたし下痢を起こす。半夏瀉心湯はこの遅発性下痢に対して作用メカニズム的に効果を発現できることが明らかとなっている⁷⁾。半夏瀉心湯の構成生薬である黄芩の成分フラボノイド配糖体のバイカリンにはβ-グルクロニダーゼを阻害する活性があるため活性型の腸管での再生成を抑え、イリノテカンの遅発性下痢を抑制すると考えられている。一方、早期性下痢には西洋薬による

6. 抗癌剤の副作用と漢方薬

アプローチでも対応可能だが、前述の神経因子による腸動亢進型早期下痢以外に腸炎によるプロスタグランジン E2 産生に伴う腸液分泌型の水溶性下痢がある。このタイプの下痢には作用メカニズム的に半夏瀉心湯と大建中湯が効果を発揮する⁸⁾。両者に共通の作用メカニズムはプロスタグランジン抑制効果である。大建中湯には半夏瀉心湯と共通の生薬、強力なプロスタグランジン抑制効果を持つ乾姜と大建中湯独自の山椒、この二つの生薬成分がプロスタグランジン抑制効果を有している。大建中湯は腸動亢進させる作用メカニズムがあるが、その作用ポイントは各種神経系因子である。従って神経因子がすでに使われている腸動亢進型の下痢を悪化させることはない。その理由は神経因子がすでに使われており大建中湯が作用を発現することができないためである。

VI. 神経毒性に対する牛車腎気丸 (Goshajinkigan), 芍薬甘草湯 (Shakuyakukanzoto)

抗癌剤による末梢神経障害は蓄積性に悪化し、進行すると日常生活での大きな障壁となるだけでなく、使用する抗癌剤の種類も量も制限される。その対策が重要であるにもかかわらず未だ有効な治療法が開発されていない。抗癌剤でもタキサン系、白金製剤、オキサリプラチンが報告されている⁹⁾。作用メカニズム的に牛車腎気丸、芍薬甘草湯がこれらの神経毒性対策に使用されている¹⁰⁻¹²⁾。牛車腎気丸の作用メカニズムについて一酸化窒素 (NO) 誘導による血流改善やダイノルフィン、オピオイド受容体を介した鎮痛作用が推測されており、タキサン系の抗癌剤による痛みや筋肉痛に対して芍薬甘草湯による抑制効果は速効性がある。神経毒性の発現機序について、脊髄後根神経節に蓄積し、代謝産物のシュウ酸がナトリウムチャンネルに作用し、神経障害が発現すると考えられている¹³⁾。そのためシュウ酸をキレートするカルシウムやマグネシウムの投与が試みられ、プラセボ二重盲検試験が行われたが、その有効性は極めて限局的であった¹⁴⁾。そこでわれわれは再発進行大腸癌 90 症例を対象とした後ろ向き試験で牛車腎気丸の末梢神経障害発生を抑制する可能性を報告した¹⁵⁾。さらに小規模前向き試験を行った結果、牛車腎気丸の有効性が再び示唆された¹⁶⁾。多施設プラセボ対照前向き二重盲検第 II 相試験 (GONE 試験) を行った結果、治療継続が困難となるグレード 3 の発生率を 50% 低下させることが明

らかとなった¹⁷⁾。大規模プラセボ対照前向き二重盲検第 III 相試験 (GENIUS 試験) が行われたが、その有効性が残念ながら証明できなかった。現在、別の試験が計画されているが、神経毒性の評価を含めて副作用の多くで客観的評価法がなく、今後の解決すべき問題点である。

VII. 麻薬せん妄、老年性異常行動に対する抑肝散 (Yokukansan)

抗癌剤の適応年齢が高齢化し、認知症が無い場合でも手術や抗癌剤治療のストレスで異常行動を起こす場合もある。作用メカニズム的に抑肝散の予防投与、治療に用いることが推奨される。抑肝散は異常行動を起こすメカニズムのなかで神経興奮作用をもつグルタミン酸という神経伝達物質の再吸収を行っているグリア細胞のグルタミン酸トランスポーターを活性化してグルタミン酸の作用を抑制する働きを持っていることが明らかとなり、その有効成分まで明らかとなっている。これまで西洋薬では向精神薬が頻用されてきたが、ターゲットがグルタミン酸でなく、ADL に影響をおよぼすドーパミンやセロトニン神経系であったため、薬剤自体による生活の質の低下が顕著であったため、使用が難しかった。一方、抑肝散は ADL に影響を与えないため使用が易しい。臨床における EBM で最も高い Ia に相当するランダム化比較試験のメタ分析で抑肝散の認知症による異常行動抑制効果が明らかとなっている¹⁸⁾。抑肝散は有効生薬、甘草を含んでいるためその副作用は六君子湯と同じく長期連用で発現する可能性があるため電解質異常に注意である。抑肝散の効果は持続性があるので、中止してもしばらく抑制効果は継続される。最近、緩和医療における麻薬使用量が増加しているが、麻薬による異常行動は看過できない副作用であり、抑肝散の効果が期待できる。

VIII. 補剤の役割

補剤は漢方薬用語であり詳細は触れないが、補中益気湯、十全大補湯、人參養榮湯が多く使用されている。癌化学療法による体のだるさなど自覚症状改善に使用され、順番は補中益気湯、十全大補湯、人參養榮湯の順が一般的である。補中益気湯は主に免疫力改善を目的に使用され、抗ウイルス作用、抗菌作用、NK 細胞活性化などが基礎的研究で明らかとなりつつある。十全大補湯は骨髓幹細胞を刺激する脂肪酸成分が含まれて

いることが報告され、骨髄造血能低下の改善に使用される¹⁹⁾。治療困難な血小板減少に効果があることが特色であるが、その詳細な機序は不明である。補剤は長期連用になりがちだが、含有する生薬、甘草に注意を要する。

IX. おわりに

癌治療における漢方薬の効果を実感できる可能性が高い漢方薬を概説した。漢方薬の成分ひとつひとつが優秀な楽器演奏者であり奏でる楽曲を最高に表現するためにオーケストラや四重奏団などを構成し、1000年以上、奏でる楽曲、つまり治療を完成するために楽器の入れ替えを行ってきたと考えている。

文 献

- 1) Kono T, Kanematsu T, Kitajima M: Exodus of Kampo, traditional Japanese medicine, from the complementary and alternative medicines: is it time yet? *Surgery*, 146: 837-840, 2009.
- 2) Takeda H, Muto S, Nakagawa K, et al.: Rikkunshito as a ghrelin enhancer. *Methods Enzymol*, 514: 333-351, 2012.
- 3) Takeda H, Sadakane C, Hattori T, et al.: Rikkunshito, an herbal medicine, suppresses cisplatin-induced anorexia in rats via 5-HT₂ receptor antagonism. *Gastroenterology*, 134: 2004-2013, 2008.
- 4) Uezono Y, Miyano K, Sudo Y, et al.: A review of traditional Japanese medicines and their potential mechanism of action. *Curr Pharm Des*, 18: 4839-4853, 2012.
- 5) Matsumura T, Arai M, Yonemitsu Y, et al.: The traditional Japanese medicine Rikkunshito increases the plasma level of ghrelin in humans and mice. *Journal of gastroenterology*, 45: 300-307, 2010.
- 6) Kono T, Satomi M, Chisato N, et al.: Topical Application of Hangeshashinto (TJ-14) in the Treatment of Chemotherapy-Induced Oral Mucositis. *World Journal of Oncology*, 1: 232-235, 2010.
- 7) Kase Y, Hayakawa T, Aburada M, et al.: Preventive effects of Hange-shashin-to on irinotecan hydrochloride-caused diarrhea and its relevance to the colonic prostaglandin E₂ and water absorption in the rat. *Japanese journal of pharmacology*, 75: 407-413, 1997.
- 8) Kase Y, Hayakawa T, Ishige A, et al.: The effects of Hange-shashin-to on the content of prostaglandin E₂ and water absorption in the large intestine of rats. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 20: 954-957, 1997.
- 9) Kaley TJ, Deangelis LM: Therapy of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Br J Haematol*, 145: 3-14, 2009.
- 10) Kono T, Mamiya N, Chisato N, et al.: Efficacy of goshajinkigan for peripheral neurotoxicity of oxaliplatin in patients with advanced or recurrent colorectal cancer. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2011: 418-481, 2011.
- 11) Yoshida T, Sawa T, Ishiguro T, et al.: The efficacy of prophylactic Shakyaku-Kanzo-to for myalgia and arthralgia following carboplatin and paclitaxel combination chemotherapy for non-small cell lung cancer. *Support Care Cancer*, 17: 315-320, 2009.
- 12) Hidaka T, Shima T, Nagira K, et al.: Herbal medicine Shakyaku-kanzo-to reduces paclitaxel-induced painful peripheral neuropathy in mice. *Eur J Pain*, 13: 22-27, 2009.
- 13) Park SB, Goldstein D, Lin CS, et al.: Neuroprotection for oxaliplatin-induced neurotoxicity: what happened to objective assessment? *J Clin Oncol*, 29: e553-554; author reply e555-556, 2011.
- 14) Grothey A, Nikcevich DA, Sloan JA, et al.: Intravenous calcium and magnesium for oxaliplatin-induced sensory neurotoxicity in adjuvant colon cancer: NCCTG N04C7. *J Clin Oncol*, 29: 421-427, 2011.
- 15) Nishioka M, Shimada M, Kurita N, et al.: The Kampo medicine, Goshajinkigan, prevents neuropathy in patients treated by FOLFOX regimen. *International journal of clinical oncology*, 16: 322-327, 2011.
- 16) Kono T, Mishima H, Shimada M, et al.: Preventive effect of goshajinkigan on peripheral neurotoxicity of FOLFOX therapy: a placebo-controlled double-blind randomized phase II study (the GONE Study). *Japanese journal of clinical oncology*, 39: 847-849, 2009.
- 17) Matsuda Y, Kishi T, Shibayama H, et al.: Yokukansan in the treatment of behavioral and psychological symptoms of dementia: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Hum Psychopharmacol*, 28: 80-86, 2013.
- 18) Hisha H, Yamada H, Sakurai MH, et al.: Isolation and identification of hematopoietic stem cell-stimulating substances from Kampo (Japanese herbal) medicine, Juzen-taiho-to. *Blood*, 90: 1022-1030, 1997.

利益相反

謝礼金（講演料）：株式会社ツムラ

宣伝用資料執筆料（原稿料）：株式会社ツムラ

研究費：株式会社ツムラ

6. 抗癌剤の副作用と漢方薬

KAMPO MEDICINE FOR THE TREATMENT OF ADVERSE EFFECTS
CAUSED BY ANTICANCER DRUGS

Toru Kono¹, Hiroshi Takeda² and Yasuhito Uezono³

Advanced Surgery Center, Sapporo Higashi Tokushukai Hospital¹

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University²

Division of Cancer Pathophysiology, National Cancer Center Research Institute, Tokyo, Japan³

In contrast to conventional single-target drugs, multicomponent Kampo medicines are designed to achieve therapeutic effects through multiple drug targets. This article discusses recent advances in mechanistic studies and the clinical effects of eight representative Kampo formulations (Rikkunshito, Hangeshashinto, Daikenchuto, Goshajinkigan, Yokukansan, and the tonics Hochuekkito, Juzentaihoto, and Ninjinyoeito) for the treatment of adverse effects caused by anticancer drugs such as anorexia, oral mucositis, diarrhea, neurotoxicity, abnormal behavior, malaise, weakness, and thrombocytopenia, which Western pharmaceuticals fail to address adequately.

© Japan Surgical Society Journal Web Site : <http://journal.jssoc.or.jp>

外科医のための Kampo EBM UP TO DATE

2. 周術期における大建中湯の有用性と作用メカニズム

1) 藤田保健衛生大学消化管外科, 2) 札幌東徳洲会病院先端外科センター

前田耕太郎¹⁾, 勝野 秀稔¹⁾, 河野 透²⁾

キーワード 周術期, 漢方, 大建中湯, 腸管運動

I. 内容要旨

本邦でその成分が調整された Kampo である大建中湯は, 山椒(サンショウ, *Zanthoxylum piperitum*), 乾姜(カンキョウ, *Zingiber officinale*), 人參(ニンジン, *Panax ginseng*), 膠飴(コウイ, *Saccharum granorum*) の4成分からなり, アセチルコリン分泌促進作用やモチリン分泌促進作用, バニロイド受容体を介した作用により腸管運動を促進し, CGRP や ADM などの作用により腸管血流や抗炎症作用, 抗炎症性サイトカイン作用を有する. これらの作用により周術期の腸管運動促進や腸閉塞などの改善に有用と考えられる. さらに大建中湯に対するエビデンスの集積が進められており, 周術期管理における大建中湯の有用性が示されることが期待される.

II. はじめに

従来, 西洋医学として使用されてきた薬剤 (medicine) は単体の薬物であり, 日常臨床のなかでその有用性ととも限界も明らかになりつつある. 漢方は種々の生薬の合剤であり古くから使用されてきたが, その有用性と副作用の少なさは認識されてきたものの, その成分は必ずしも均一のものではなかったと考えられ, 必ずしも西洋医学からは十分認知されていなかった. 近年, 詳細な成分の調整がなされた製剤が "Kampo" として本邦で製品化され, 西洋医学の薬剤と同様に成分が均一な薬剤 (medicine) として認識されつつある. さらに, 近年その作用機序や有用性も益々

明らかにされつつあり, 西洋医学の薬剤と同様な位置づけの薬剤として欧米でも "Kampo" として認知されつつある¹⁾. 本稿では, Kampo の一つである大建中湯の有用性と作用メカニズムについて概説する.

III. 大建中湯の成分と安全性

大建中湯は山椒(サンショウ, *Zanthoxylum piperitum*), 乾姜(カンキョウ, *Zingiber officinale*), 人參(ニンジン, *Panax ginseng*), 膠飴(コウイ, *Saccharum granorum*) の4成分からなる. これらの成分はすべて食材であり, 特殊な材料は含まれていない. 現在, 本邦で頻用されている大建中湯 (TJ-100, TU-100, 株式会社ツムラ) の Three-dimensional high-performance liquid chromatography (3D-HPLC) による分析 (図1) でも, 成分は均一であり, 農薬, 抗生物質, 貴金属などの有害物質は全く含まれず, 精度・安全性が高い²⁾. また, 3,284 例の副作用発現頻度調査でも, 副作用は1.9% と非常に少なく, 重篤な副作用もほとんど見られていない³⁾.

IV. 臨床における大建中湯の現状

現在, 大建中湯の適応は "腹が冷えて痛み, 腹部膨満感のあるもの" とされ, 腹部膨満, 下腹部痛, 便秘などに使用されるとともに, 術後の腸管麻痺運動改善目的や腸閉塞の治療に一日7.5~15g 使用されている.

外科領域における漢方薬の使用に関するアンケート調査でも, 漢方薬は本邦の外科医に多く使用されてい

EFFECTIVENESS AND MOTION MECHANISM OF TAIKENCYUTO IN THE PERIOPERATIVE PERIOD

Koutarou Maeda¹, Hidetoshi Katsuno¹ and Toru Kono²

Department of Surgery, Fujita Health University¹, Advanced Surgery Center, Sapporo Higashi Tokusyuukai Hospital, Sapporo, Japan²

TJ-100 大建中湯 3D HPLC Pattern

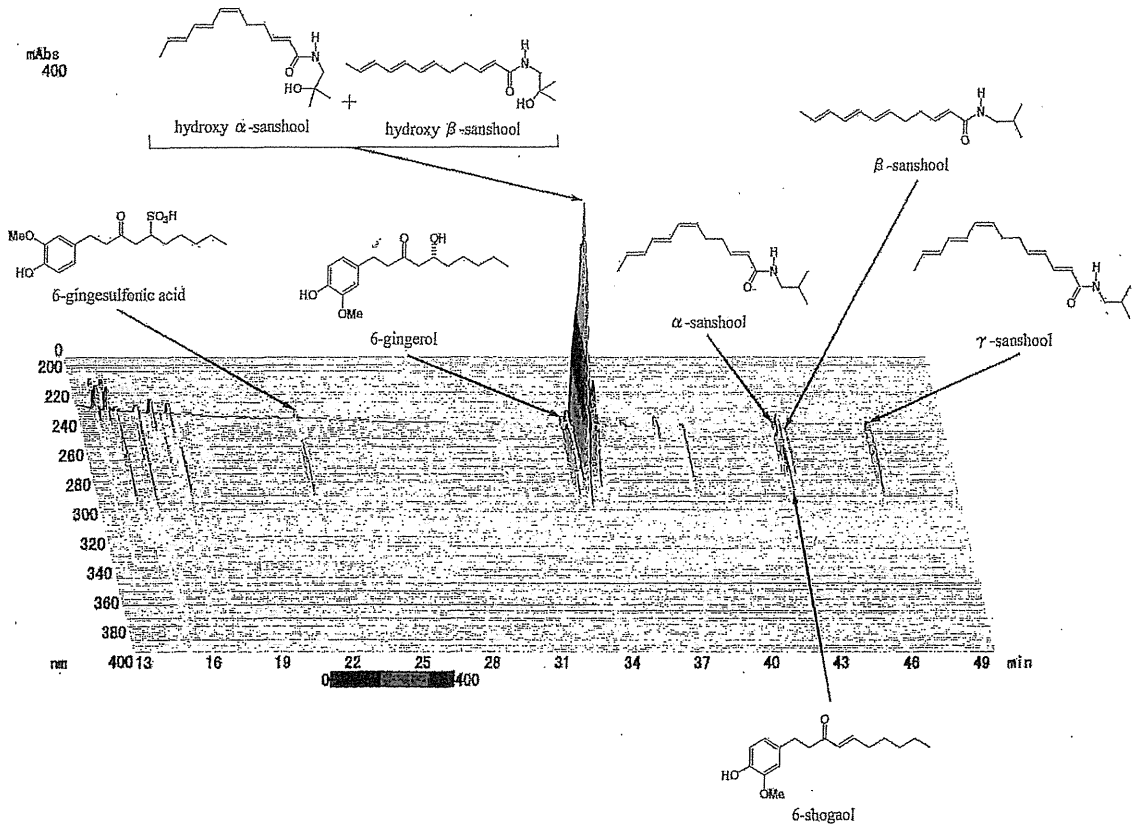


図1 大建中湯の成分

るが、そのなかでも大建中湯は最も高頻度に外科医が使用している薬剤の一つである⁴⁾。

V. 腸管運動や消化器症状に対する大建中湯に対するエビデンス

Mayo Clinicで行われた健常人を対象とした二重盲検プラセボ対照比較試験では、シンチグラムによる消化管の内容物通過状態において、大建中湯投与群ではプラセボ群に比較して小腸と上行結腸の内容物通過時間が有意に短縮したと報告されている⁵⁾。

便秘に関しては、センノサイド使用の慢性便秘患者に大建中湯を追加使用することにより腹部膨満や腹痛の症状を有意に改善し、ガスの量も有意に減少させたと報告されている⁶⁾。この研究では、腹痛に対する効

果は用量依存性であったとも報告されている。

VI. 大建中湯の作用メカニズム

大建中湯の作用メカニズムに関しては、近年多くの報告がなされてきた^{7)~15)}。大別すると、腸管平滑筋の収縮を促し腸管運動を改善するメカニズム^{7)~11)}、腸管の血管を拡張して血流改善を行うメカニズム^{12)~14)}(図2)、さらには周術期の炎症抑制効果に対する作用¹⁵⁾である。

腸管運動に関しては、大建中湯がセロトニン受容体を介してアセチルコリンの遊離を促進して筋層間神経叢に作用して腸管運動を促進することが報告されている^{7a)}(図2, 3)。また、大建中湯は、モチリン分泌を促進して平滑筋層に作用したり⁹⁾、パニロイド受容体

2. 周術期における大建中湯の有用性と作用メカニズム

を介して粘膜に直接作用してサブスタンスPを放出することにより腸管の運動を促進することも明らかになっている¹⁰⁾¹¹⁾(図3)。

カルシトニン遺伝子関連ペプチド (calcitonin gene-related peptide: CGRP) は微小血管拡張作用が最強の神経ペプチドであり、神経末梢から放出され血管平滑筋に作用し血管拡張を起こすことが知られている¹²⁾。大建中湯の腸管運動亢進作用に CGRP が関連することは報告されていたが¹⁰⁾、大建中湯により実験的に腸管血流増加が起こり、その血流増加が CGRP 拮抗薬により選択的に抑制されることも証明され¹³⁾、大建中湯の腸管血流増加に CGRP が重要な機序因子であることが示唆されている。受容体レベルでの検討では、CGRP の受容体だけではなく、同じカルシトニンファミリーペプチドであるアドレノメデュリン (adrenomedulin: ADM) も大建中湯の血流改善機序に関与していることも示唆されている¹⁴⁾。

腹腔鏡下大腸切除術後に大建中湯を1週間投与する

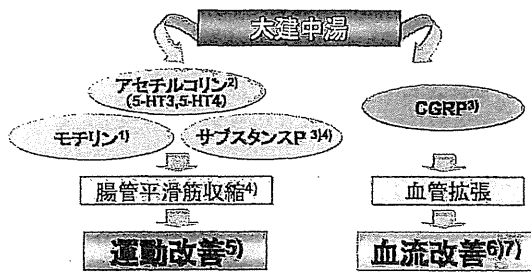


図2 腸管に対する大建中湯の作用

ことにより、術後3日目のCRPが有意に減少したとの報告がある¹⁵⁾。前述したCGRPやADMはともに抗炎症作用、抗炎症性サイトカイン作用がある¹⁴⁾ことを考慮すると大建中湯の作用メカニズムを理解するうえで興味深い。

VII. 周術期における大建中湯の有用性

直腸癌に対する開腹による低位前方切除後に、大建中湯を投与した群と対照群に対するSITZMARKSによる消化管通過時間の検討では、大建中湯群で小腸通過時間が有意に短縮し¹⁶⁾、この傾向は開腹の結腸部分切除の検討でも同様であったと報告されている¹⁷⁾。

大建中湯投与により、開腹の大腸癌手術症例で術後の初回排ガスまでの日数や術後入院日数が短縮し、在院期間中の腸閉塞の発生予防にも有用であったと報告¹⁸⁾されている。この報告では、入院日数短縮の効果は特に術後1~2日目に大建中湯を投与した群でのみ有意であったとしており、術後早期からの投与の重要性が示唆されている。

現在がん集学的治療研究財団のDKTフォーラムの研究において、大建中湯に対する周術期の効果をさらに検討するために、偽薬を用いた多施設共同ランダム化二重盲検プラセボコントロール群間比較試験の症例の集積が終了し、最終結果の解析中である。

VIII. おわりに

Kampoである大建中湯の作用メカニズムと有用性を概説した。さらにエビデンスが集積され、その有用

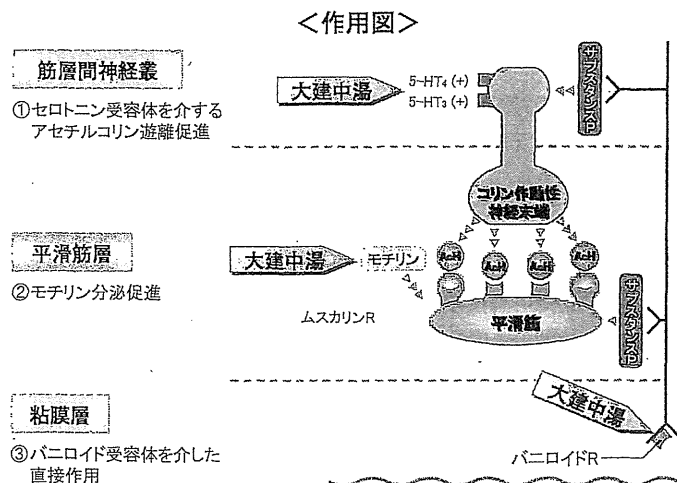


図3 大建中湯の腸管運動亢進作用

2. 周術期における大建中湯の有用性と作用メカニズム

性が明らかになることが期待される。

文 献

- 1) Kono T, Kanematsu T, Kitajima M: Exodius of Kampo Japanese medicine, from the complementary and alternative medicine: Is it time yet? *Surgery*, 146: 837-840, 2009.
- 2) 河野 透: 漢方のCAMからの脱出: 大建中湯を中心に. *日薬理誌*, 137: 13-17, 2011.
- 3) 香取征典, 塚本理史, 上之園秀基: ツムラ大建中湯エキス顆粒 (医療用) に関する副作用発現頻度調査. *Prof Med*, 32: 1973-1982, 2012.
- 4) 関川浩司, 中川幹夫, 岩泉清久, 他: アンケート調査からみた外科領域における漢方薬の使用状況と今後も展望. *Prog Med*, 31: 173-177, 2010.
- 5) Manabe N, Camilleri M, Rao A, et al.: Effect of daikennyuto (TJ-100) on gastrointestinal and colonic transit in humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 298: G970-G975, 2010.
- 6) Horiuchi A, Nakayama Y, Tanaka N: Effect of traditional Japanese medicine, Daikennyuto (TJ-100) in patients with chronic constipation. *Gastroenterology Reserach*, 3: 151-155, 2010.
- 7) Shibata C, Sasaki I, Naito H, et al.: The herbal medicine Dai-Kennyu-Tou stimulates upper gut motility through cholinergic and 5-hydroxytryptamine 3 receptors in conscious dogs. *Surgery*, 126: 918-924, 1999.
- 8) Satoh K, Hayakawa T, Kase Y, et al.: Mechanisms for contractile effect of Dai-Kencyuto in isolated guinea pig ileum. *Dig Dis Sci*, 46: 250-256, 2001.
- 9) Nagano T, Ito H, Takeyama T, et al.: Effect of Dai-Kencyu-to on levels of 3 brain-gut peptides (motilin, gastrin and somatostatin) in human plasma. *Biol Pharm Bull*, 22: 1131-1133, 1999.
- 10) Sato Y, Katagiri F, Inoue S, et al.: Dai-Kencyu-to raises levels of calcitonin gene-related peptide and substance P in human plasma. *Biol Pharm Bull*, 27: 1875-1877, 2004.
- 11) Satoh K, Hashimoto K, Hayakawa T, et al.: Mechanism of atropine-resistant contraction induced by Dai-Kencyu-to in guinea pig ileum. *Jan J Pharmacol*, 86: 32-37, 2001.
- 12) Martinez V, Tache Y: Calcitonin gene-related peptide and gastrointestinal function. In: Kastin AJ (ed), *Handbook of biologically active peptides*, Elsevier, London, pp1005-1011, 2006.
- 13) Kono T, Koseki T, Chiba S, et al.: Colonic vascular conductance increased by Daikennyuto via calcitonin gene-peptide and receptor-activity modifying protein 1. *J Surg Res*, 150: 78-84, 2008.
- 14) 河野 透, 上園保仁: 腸管血流からみた大建中湯の役割. *医学のあゆみ*, 241: 163-169, 2012.
- 15) Yoshikawa K, Shimada M, Nishioka M, et al.: The effects of the Kampo medicine (Japanese herbal medicine) "Daikennyuto" on the surgical inflammatory response following laparoscopic colorectal resection. *Surg Today*, 42: 646-651, 2012.
- 16) 永嶋裕司, 田中宣威, 古川清憲, 他: 大腸癌術後腸管麻痺に対する大建中湯 (TJ-100) の効果. *Prog Med*, 18: 903-905, 1998.
- 17) 菅 隼人, 内田英二, 松本智司, 他: 大建中湯の腸管運動に対する効果. *日外科系連合誌*, 37: 719-723, 2012.
- 18) 壁島康郎, 高橋洋子, 亀山哲義, 他: 大腸癌手術症例における大建中湯を用いた術後リハビリテーションの検討. *日消外会誌*, 38: 592-597, 2005.

利益相反: なし

EFFECTIVENESS AND MOTION MECHANISM OF TAIKENGYUTO IN THE PERIOPERATIVE PERIOD

Koutarou Maeda¹, Hidetoshi Katsuno¹ and Toru Kono²

Department of Surgery, Fujita Health University¹

Advanced Surgery Center, Sapporo Higashi Tokusyuukai Hospital, Sapporo, Japan²

Taikencyuto (TJ-100) is a Japanese herbal (Kampo) medicine that contains *Zanthoxylum* and *piperitum*, *Zingiber officinale*, *Panax ginseng*, and *Saccharum granorum*. TJ-100 enhances intestinal motility, is thought to promote acetylcholine and motilin release, and is a vanilloid receptor. Furthermore, TJ-100 increases intestinal blood flow and works as an antiinflammatory and anticytokine agent by producing calcitonin gene-related peptide and adrenomedullin. TJ-100 is considered to be useful for promoting intestinal motility and preventing ileus during the perioperative period. Further studies must be performed to confirm its usefulness in perioperative care.

癌化学療法の副作用と漢方

オキサリプラチンによるしびれ—牛車腎気丸

Kampo for the treatment of adverse effects caused by anticancer drugs. Oxaliplatin-induced neurotoxicity

—Goshajinkigan

札幌東徳洲会病院先端外科センター¹ 北海道大学大学院薬学研究院臨床病態解析学²
 国立がんセンター研究所がん患者病態生理研究部³
 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部消化器・移植外科学講座⁴

河野 透^{1,2} 上園保仁³ 武田宏司²笠井章次¹ 佐藤宏彦⁴ 島田光生⁴

【ポイント】

- ◆ 漢方薬は多成分で多標的を基本とし、西洋薬は単一成分で単一標的であり、大きく異なることを理解する。
- ◆ オキサリプラチンによる神経毒性を予防することが重要であるが、カルシウム・マグネシウム投与は臨床試験でその効果が否定された。
- ◆ 牛車腎気丸の基礎薬理的検討、臨床試験から、オキサリプラチンによる神経障害発生を予防する効果が期待される。

臨外 68(12):1319~1323, 2013

牛車腎気丸の使用にあたっての
エビデンス

■漢方薬と西洋薬の違いを理解しよう

癌患者への最近のアンケート調査によれば、70%以上の患者が漢方薬の使用を望んでいるという結果で、しかも効果を実感している患者は70%に達している[「がん治療の副作用軽減ならびにがん患者のQOL向上のための漢方薬の臨床応用とその作用機構の解明」厚生労働省第3次対がん総合戦略研究事業。がん治療研究班(研究代表者:上園保仁)]。しかしながら、医療サイドはまったく反対の結果である。その原因は漢方薬に対する偏見と無知であり、漢方薬に対する理解なくして積極的かつ上手に使うことはできない¹⁾。しかし、東洋医学的理解が必要かといえ、実臨床では必要としない。薬理学的理解を必要とする。

つまり、われわれが頻用している西洋薬は単一成分が基本であり、開発段階から単一標的に作用して単一の効果を生むものとして進められる。理想的には副作用は起きないのがベストである。オキサリプラチンは日本で基礎的開発が行われ、殺作用を有する抗癌剤と

して開発されてきた。しかしながら多くの西洋薬と同様に、単一成分でありながら意図しない複数の標的に作用し、予期しない副作用を生じている。つまり、神経毒性もその1つである。

一方、漢方薬は最初から多成分を基本として臨床開発された薬である。臨床試験を繰り返して、多くの標的に作用する成分を繰り返し試行錯誤すること2000年間の長期間に及ぶ。したがって、副作用が少ないのも理解できる。しかしながら西洋薬と異なり、漢方薬として誕生するまでにまったく基礎研究、薬物動態の解明などは行われてきていない。最近は大建中湯などごく一部の漢方薬で薬理機序の基礎研究が急速に行われているが、牛車腎気丸はまだそのレベルには達していない。しかしながら薬物動態や基礎研究が少しずつ行われてきている。そこで、最近、薬物動態などの薬理作用メカニズムの解明が進んできた漢方薬を中心に、作用メカニズム的に抗癌剤治療による副作用への効果について概説する。

■オキサリプラチンの末梢神経障害

オキサリプラチンは大腸癌化学療法のキードラッグ

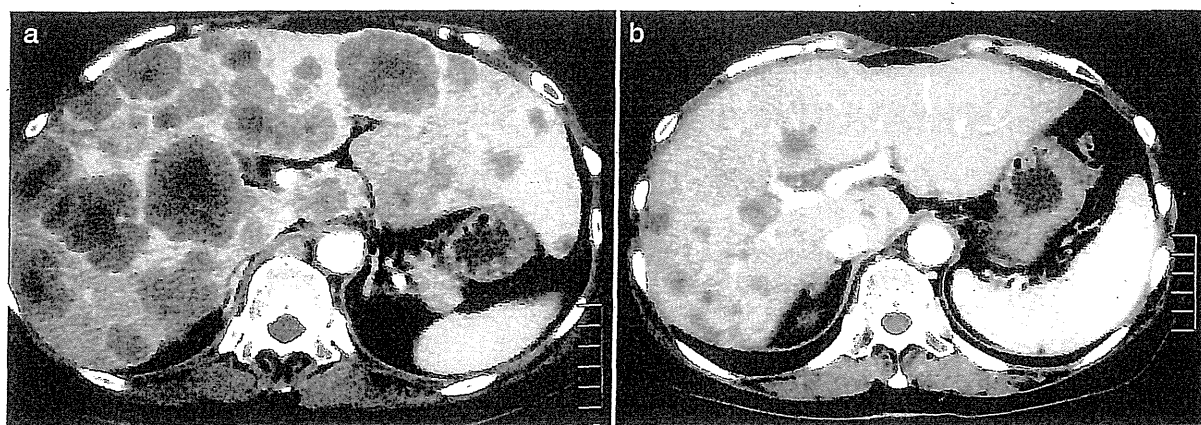


図1 大腸癌切除不能肝転移のFOLFOX 著効例

a: 化学療法前, b: 8クール終了後.

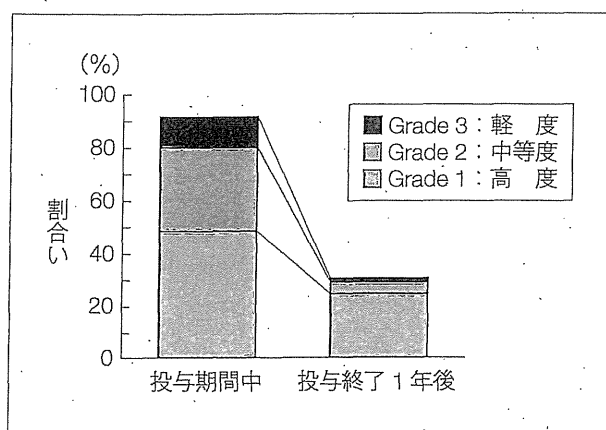


図2 FOLFOX 治療臨床試験 (MOSAIC 試験) の神経毒性発現率

(文献2をもとに作成)

で、FOLFOX 療法による治療効果は大きい (図1)。しかしながら神経毒性を誘発することが問題視されている。

オキサリプラチンの末梢神経障害は2つに大別される。投与直後から数日は続く急性毒性、特に冷覚・知覚過敏を特徴としている。もう1つは蓄積毒性で数クール以降に発症することが多く、オキサリプラチン使用制限の主要原因となっている。この慢性毒性の特徴は主にしびれであるが、痛みも出現する。当初、神経毒性は他のシスプラチンなどと異なり可逆性であるといわれていたが、オキサリプラチンベースの化学療法大規模臨床試験のMOSAICでは、投与期間終了1年後でも30%の神経毒性が残ることが判明した (図2)²⁾。最近では神経機能だけでなく神経細胞自体へのダメージも起こる可能性が指摘されており、予防的治療薬が待望されている。他の抗癌剤で神経毒性を起しやすいパクリタキセルなどは軸索障害で、タクロリ

ムスは髄鞘障害とされ、抗癌剤による障害部位は異なっている。

■末梢神経障害に対するカルシウム・マグネシウム投与

有力な神経毒性発症機序が推定されるとともに、後ろ向き臨床試験でそれに対する抑制効果が期待されたのがカルシウム (Ca)、マグネシウム (Mg) 投与である。これまで報告された神経障害の発現機序は、オキサリプラチンが感覚神経細胞の神経節である脊髄後根神経節に蓄積し、その代謝産物であるシュウ酸が神経細胞のナトリウムチャンネルを刺激し続けるため、神経細胞の異常興奮が発生し、神経毒性が発現するというシナリオであった³⁾。その仮説にしたがってCaとMgをオキサリプラチン投与前後で静脈注射し、シュウ酸をキレートするという臨床試験で、見事な抑制効果が発揮された。引き続き、比較的小規模の無作為化試験であるN04C7試験でもその有効性が報告された。しかし、N04C7試験 (CONcePT試験) では、症例集積が開始されたが、オキサリプラチンの抗腫瘍効果をCaとMgが減弱させる可能性が指摘され、最終結果に到達せずに終了した。その部分的な解析が行われ、その有効性は極めて限局的であるが、急性毒性に関して筋痙攣は抑制する可能性を残していた。しかしながら実臨床においてその効果を実感することはほとんどなく、世界的にもその効果が疑問視されていたところ、比較的大規模なプラセボ対照二重盲検試験であるN08CB試験 (NCT01099449) が実施された。2013年の米国癌治療学会 (ASCO) においてすべてのグレードでの神経毒性抑制効果が否定され、オキサリプラチン誘発神経毒性の予防治療として推奨されな

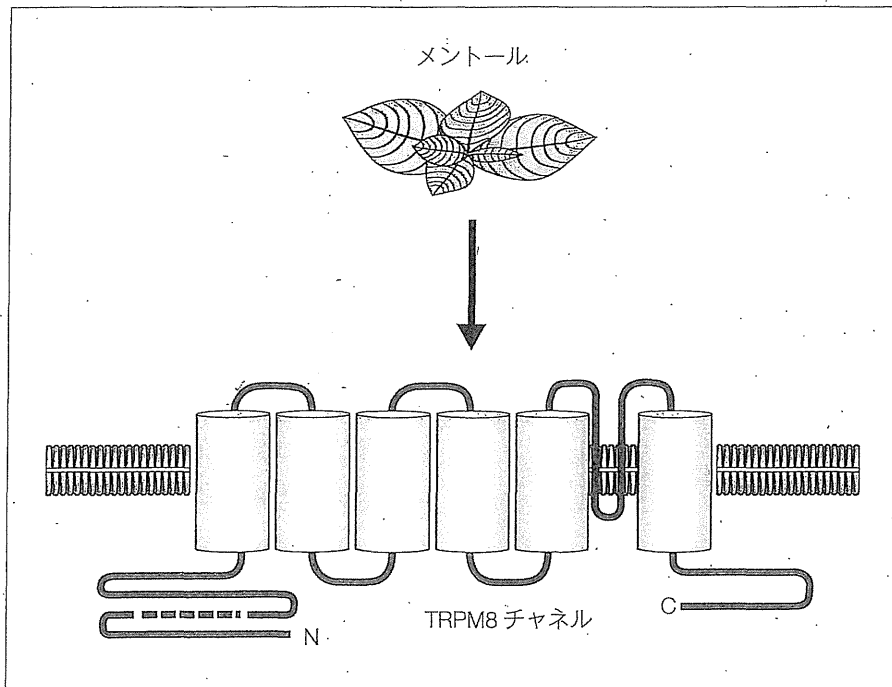


図3 メントールに反応する TRPM8 チャンネル

いという最終報告がなされた。

■牛車腎気丸の登場

1. 臨床

神経毒性が副作用として多く出現する抗癌剤はタキサン系、白金製剤、オキサリプラチンが報告されている⁴⁾。牛車腎気丸や芍薬甘草湯がこれら抗癌剤の神経毒性対策に臨床応用されてきた⁵⁻⁷⁾。牛車腎気丸は、その作用機序として一酸化窒素 (NO) 誘導による血流改善や、ダイノルフィン、オピオイド受容体を介した鎮痛作用が推測されている。実際、血流に関してしびれとともに血流低下が観察されている。

そこでわれわれは、再発進行大腸癌 90 症例を対象とした非無作為化試験で牛車腎気丸の末梢神経障害発生を抑制する可能性を Ca と Mg との比較で行い、牛車腎気丸投与群ではオキサリプラチン治療継続が困難となるグレード3の発現率が有意に低下し、オキサリプラチン投与期間が有意に延長することを報告した⁸⁾。次に小規模であるが無作為化試験を行った結果、牛車腎気丸投与群では神経毒性発現率が有意に低下し、発現までの期間も延長する可能性が再び示唆された⁹⁾。他の施設からも牛車腎気丸の有用性が多数報告されたことから、プラセボ対照二重盲検第II相試験 (GONE 試験) を行った結果、グレード3の発生率を50%低下させ、アンケート調査でもその有効性が示唆され、

第III相試験を行うべき根拠を得ることができた¹⁰⁾。その後、比較的大規模なプラセボ対照二重盲検第III相試験 (GENIUS 試験) が行われたが、その有効性が残念ながら証明できなかった。問題点として牛車腎気丸の投与方法、症例設定数、神経毒性評価法などが挙げられ、現在、別の臨床試験が計画・進行中である。

2. 基礎

オキサリプラチンの急性毒性の特色は冷覚に関する知覚過敏である。冷覚は TRP (transient receptor potential) チャンネルと呼ばれる Ca チャンネルが主役であり、特に TRPM8 がその代表である¹¹⁾。この TRPM8 のリガンドとして有名なものがメントールである。メントール入りのガムを噛むと口腔内に清涼感が出るのは、口腔内にある感覚神経終末にある TRPM8 チャンネルをメントールが刺激しているからである (図3)。冷湿布にもメントールが入っているのはそのためである。つまり、オキサリプラチンの急性神経毒性にこの TRP チャンネルが関与していることが推察される。

オキサリプラチンが、蓄積しやすい後根神経節の神経細胞に発現する TRP チャンネルを刺激し (図4)、増加させている可能性が基礎的研究から明らかになりつつあり、われわれは臨床例においてメントールを利用した舌刺激試験によってその可能性を支持した¹²⁾。さらに、牛車腎気丸がこの TRP チャンネルの発現増加

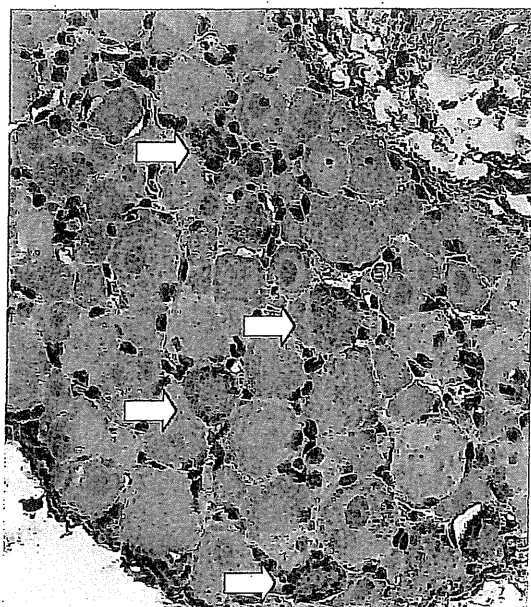


図4 TRPM8抗体を用いた免疫染色
矢印はラットの後根神経節に発現するTRPM8。

を抑制している可能性が動物実験で報告されている^{13,14}。牛車腎気丸の薬物動態試験が行われ（未公表）、多くの成分が血中に確認され、神経保護作用や鎮痛作用を示す既知の成分であることが明らかとなってきている。つまり、漢方薬の特徴である多成分による多標的を見事に示す結果となった。

臨床での有用な使用法

■投与目的と方法

基礎的研究や臨床試験結果から考える有用な使用法は予防投与が最も推奨される。オキサリプラチンの作用による感覚神経細胞に対する毒性軽減目的で、オキサリプラチン投与前に牛車腎気丸の有効成分濃度を高めておく必要がある。

ヒトにおける薬物動態データが利用できない現状では、適切な投与時間を設定することは困難であるが、FOLFOX療法初日のオキサリプラチン投与30分前までに服用する必要がある。その後のオキサリプラチンの後根神経節での蓄積期間などが不明であるため断定はできないが、オキサリプラチン単回投与後504時間後でも、オキサリプラチンが肝臓をはじめ主要臓器で確認できることから、牛車腎気丸を治療中に継続して服用することは重要である。8時間ごと（1包2.5g）など血中濃度を意識した配慮が必要で、患者にも理解していただく必要がある。

■投与期間

予防投与のため、治療期間中は継続的に使用することは当然である。投与終了後も後根神経節に蓄積するオキサリプラチンの作用を軽減することを考慮し、MOSAIC試験での抗癌剤治療終了後の神経毒性が年単位で残る結果を鑑みると、年単位で継続使用することが勧められる。

■ブシマツの追加

牛車腎気丸に含まれているブシマツによる鎮痛効果をさらに強めることを期待して、ブシマツを追加して処方する場合も報告されている。

使用にあたって留意すべき事項

■投与時間と方法

漢方薬に共通していることであるが、糖鎖が多く、食直後に服薬すると食物繊維に吸着して成分吸収率が低下する可能性が指摘されており、食直後だけは服薬を回避し、食間に服薬するように指導したほうがよい。服薬方法はそのままでもよいが、漢方薬は熱水抽出した成分、つまり水溶性成分の集合体であり、顆粒を熱湯に再び溶かし、水やお茶、ココアなどに混入してもまったく問題がなく、かえって飲みやすく、ペットボトルで常時帯同することも推奨される。

■副作用

特に重篤なものは報告されておらず、他の漢方製剤との併用も可能である。ブシマツの追加で注意する点は、ブシマツによる副作用が報告されており、0.5g以下から増量することが推奨されている。

おわりに

漢方薬が西洋薬と同じように理解され、使用される時代の到来にはまだ時間が必要である。本稿では、わが国において癌治療に携わるすべての医師、薬剤師、看護師が癌治療における漢方薬の効果を実感できる可能性が高い牛車腎気丸を紹介した。

文献

- 1) Kono T, Kanematsu T, Kitajima M : Exodus of Kampo, traditional Japanese medicine, from the complementary and alternative medicines : is it time yet? Surgery 146 : 837-840, 2009

- 2) André T, Boni C, Mounedji-Boudiaf L, et al : Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin as adjuvant treatment for colon cancer. *N Engl J Med* 350 : 2343-2351, 2004
- 3) Park SB, Goldstein D, Lin CS, et al : Neuroprotection for oxaliplatin-induced neurotoxicity : what happened to objective assessment? *J Clin Oncol* 29 : e553-554 ; author reply e555-556, 2011
- 4) Kaley TJ, Deangelis LM : Therapy of chemotherapy-induced peripheral neuropathy. *Br J Haematol* 145 : 3-14, 2009
- 5) Kono T : Kampo medicine daikenchuto—Its Exodus from the complementary and alternative medicines. *Nihon Yakurigaku Zasshi* 137 : 13-17, 2011
- 6) Yoshida T, Sawa T, Ishiguro T, et al : The efficacy of prophylactic Shakuyaku-Kanzo-to for myalgia and arthralgia following carboplatin and paclitaxel combination chemotherapy for non-small cell lung cancer. *Support Care Cancer* 17 : 315-320, 2009
- 7) Hidaka T, Shima T, Nagira K, et al : Herbal medicine Shakuyaku-kanzo-to reduces paclitaxel-induced painful peripheral neuropathy in mice. *Eur J Pain* 13 : 22-27, 2009
- 8) Kono T, Mamiya N, Chisato N, et al : Efficacy of Goshajinkigan for peripheral neurotoxicity of oxaliplatin in patients with advanced or recurrent colorectal cancer. *Evid Based Complement Alternat Med* 2011 [doi : 10.1093/ecam/nep200]
- 9) Nishioka M, Shimada M, Kurita N, et al : The Kampo medicine, Goshajinkigan, prevents neuropathy in patients treated by FOLFOX regimen. *Int J Clin Oncol* 16 : 322-327, 2011
- 10) Kono T, Mishima H, Shimada M, et al : Preventive effect of goshajinkigan on peripheral neurotoxicity of FOLFOX therapy : a placebo-controlled double-blind randomized phase II study (the GONE Study). *Jpn J Clin Oncol* 39 : 847-849, 2009
- 11) McKemy DD : How cold is it? TRPM8 and TRPA1 in the molecular logic of cold sensation. *Mol Pain* 1 : 16, 2005
- 12) Kono T, Satomi M, Suno M, et al : Oxaliplatin-induced neurotoxicity involves TRPM8 in the mechanism of acute hypersensitivity to cold sensation. *Brain Behav* 2 : 68-73, 2012
- 13) Hirotsani Y, Doi A, Takahashi T, et al : Protective effects of the herbal medicine goshajinkigan in a rat model of non-alcoholic fatty liver disease. *Biomed Res* 33 : 373-376, 2012
- 14) Ushio S, Egashira N, Sada H, et al : Goshajinkigan reduces oxaliplatin-induced peripheral neuropathy without affecting anti-tumour efficacy in rodents. *Eur J Cancer* 48 : 1407-1413, 2012

KONO Toru, et al

札幌東徳洲会病院先端外科センター

〒065-0033 北海道札幌市東区北 33 条東 14 丁目 3-1

Full Paper

Goshajinkigan, a Traditional Japanese Medicine, Prevents Oxaliplatin-Induced Acute Peripheral Neuropathy by Suppressing Functional Alteration of TRP Channels in Rat

Keita Mizuno¹, Toru Kono^{2,3,*}, Yasuyuki Suzuki¹, Chika Miyagi¹, Yuji Omiya¹, Kanako Miyano⁴, Yoshio Kase¹, and Yasuhito Uezono⁴

¹Tsumura Research Laboratories, Tsumura & Co., 3586 Yoshiwara, Ami-machi, Inashiki-gun, Ibaraki 300-1192, Japan

²Center for Clinical and Biomedical Research, Sapporo Higashi Tokushukai Hospital, 3-1, N-33, E-14, Higashi-ku, Sapporo 065-0033, Japan

³Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University, W-6, N-12, Kita-ku, Sapporo 060-0812, Japan

⁴Division of Cancer Pathophysiology, National Cancer Center Research Institute, 5-1-1 Tsukiji, Chuo-ku, Tokyo 104-0045, Japan

Received November 20, 2013; Accepted March 23, 2014

Abstract. The acute peripheral neuropathy induced by oxaliplatin treatment occurs very frequently and is aggravated by exposure to cold. Goshajinkigan (GJG), a traditional Japanese (*kampo*) medicine, was recently shown to be effective against oxaliplatin-induced acute neuropathy. However, because the effects of GJG and its mechanism in relation to those of its ingredients and its mechanism are not well understood, we examined the effects of GJG on acute neuropathy. Further, we investigated whether GJG affects the functions and gene expressions of transient receptor potential (TRP) channels using a rat model of oxaliplatin-induced neuropathy. Administration of oxaliplatin increased withdrawal responses from cold stimulation, and GJG or calcium gluconate/magnesium sulfate significantly inhibited the oxaliplatin-induced cold hypersensitivity. Application of menthol, a TRPA1/TRPM8 agonist, or allyl isothiocyanate (AITC), a selective TRPA1 agonist, to the hind paw of oxaliplatin-treated rats enhanced the nocifensive behaviors evoked by each agonist, whereas oxaliplatin had no significant effect on nocifensive behaviors evoked by capsaicin, a TRPV1 agonist. GJG treatment reduced menthol- or AITC-evoked withdrawal responses potentiated by oxaliplatin. Furthermore, GJG suppressed the increase of TRPA1 and TRPM8 mRNA expression induced by oxaliplatin in dorsal root ganglia. These findings suggest that GJG prevented oxaliplatin-induced acute peripheral neuropathy by suppressing functional alteration of TRP channels, especially TRPA1 and TRPM8.

Keywords: Goshajinkigan, calcium and magnesium infusion, oxaliplatin, acute peripheral neuropathy, TRP channel

Introduction

Oxaliplatin, a third-generation platinum drug, is widely used with 5-fluorouracil/leucovorin (5-FU/LV) for treatment of advanced/recurrent colorectal cancer (1–3). Peripheral neuropathy occurs as an adverse effect of oxaliplatin with extraordinary frequency and is the most common dose-limiting factor for oxaliplatin treatment

(4–6). Peripheral neuropathy observed with oxaliplatin treatment can be classified as two distinct symptoms: 1) acute peripheral neuropathy, which occurs during or immediately after infusion of oxaliplatin and remains for a few days, and 2) dose-limiting, cumulative sensory neuropathy. Acute neuropathy is observed in approximately 90% of patients after administration of oxaliplatin, and it presents as paresthesia and dysesthesia in the extremities and perioral region, with jaw tightness. These characteristic responses to oxaliplatin may be triggered or potentiated by exposure to cold (7, 8). In most cases, the acute neuropathy attributed to oxaliplatin occurs at

*Corresponding author. kono@toru-kono.com
Published online in J-STAGE on April 29, 2014
doi: 10.1254/jphs.13244FP

every treatment, although it is ameliorated after cessation of the drug. Prevention and improvement of the peripheral neuropathy related to oxaliplatin therapy is very important to ameliorate the patient's quality of life and to encourage continuation of the treatment. However, at present, there are no effective treatments or preventive measures for oxaliplatin-associated neuropathy. As treatment for oxaliplatin-induced peripheral neuropathy, Gamelin et al. (11) reported that infusion of calcium gluconate and magnesium sulfate (Ca/Mg), which chelates oxalate, a metabolite of oxaliplatin, before and after oxaliplatin treatment might reduce the incidence and intensity of acute neuropathy and delay cumulative neuropathy in clinical trials. This medication is currently expected to treat oxaliplatin-induced neuropathy, but the effectiveness of Ca/Mg infusions against oxaliplatin-induced acute neuropathy remains controversial in clinical practice (12, 13).

Goshajinkigan (GJG), a traditional Japanese (*kampo*) medicine, is composed of 10 herbal medicines in fixed proportions. GJG is widely used to treat rhigosis or numbness in the extremities, low back pain, melosalgia, dysuria, and diabetic neuropathy (14–16). Recently, Kono et al. reported that GJG prevented oxaliplatin-induced neurotoxicity in a placebo-controlled double-blind randomized phase II study (the GONE Study) (17). The effect of GJG against cumulative oxaliplatin-induced neuropathy was indicated, but the efficacy of GJG against acute neuropathy remains unproved. On the other hand, a basic study of a rodent model of oxaliplatin-induced neuropathy also demonstrated that GJG ameliorated oxaliplatin-induced neuropathy and notably relieved the cold hypersensitivity caused by oxaliplatin (18). However, the mechanism of how GJG prevents oxaliplatin-induced acute neuropathy remains uncertain.

Transient receptor potential (TRP) channels, Ca²⁺-permeable nonselective cation channels, are suggested to serve as thermal, chemical, and mechanical sensors (19, 20). Among the TRP channels, TRPV1 responds to noxious heat (21–23), whereas TRPA1 and TRPM8 respond to noxious cold (21, 24, 25) and innocuous cooling (26, 27), respectively. These TRP channels are expressed in sensory neurons of dorsal root ganglia (DRG) and trigeminal ganglia (TG), and they are primary detectors of various environmental insults (28, 29). Recently, accumulating evidence indicates that these TRP channels are responsible for chemotherapy-induced neuropathy. In particular, TRPA1 and TRPM8 have been reported to be involved in acute oxaliplatin-induced neuropathy (29–36).

In this study, we examined the effect of GJG on acute neuropathy using an oxaliplatin-induced neuropathy rat model. Then, to elucidate the mechanism of the amelio-

rating effect of GJG, we focused on functional alterations of TRP channels induced by oxaliplatin and investigated whether GJG affects the functions of TRP channels.

Materials and Methods

Animals

Male Sprague-Dawley rats weighing 200–300 g (Japan SLC, Shizuoka) were used. They were housed in groups of 3–4 per cage under a controlled temperature of 23°C ± 3°C, relative humidity of 50% ± 20%, and 12-h light/dark cycles. Animals were allowed free access to solid food and water. All experimental procedures were performed according to the "Guidelines for the Care and Use of Laboratory Animals" approved by the Laboratory Animal Committee of Tsumura & Co.

Drugs

Oxaliplatin, allyl isothiocyanate, capsaicin, calcium gluconate, magnesium sulfate, and (l)-menthol were purchased from Wako Pure Chemical Industries, Ltd. (Osaka). GJG (No. 2120107010) is composed of 10 herbal medicines: *Rehmanniae* radix (5.0 g), *Achyranthis* radix (3.0 g), *Corni* fructus (3.0 g), *Moutan* cortex (3.0 g), *Alismatics* rhizome (3.0 g), *Dioscoreae* rhizome (3.0 g), *Plantaginis* semen (3.0 g), *Hoelen* (3.0 g), processed *Aconiti* tuber (1.0 g), and *Cinnamomi* cortex (1.0 g). This drug was prepared as a spray-dried powder from a hot-water extract (yield 16%) and obtained from Tsumura & Co. (Tokyo). Oxaliplatin was dissolved in 5% glucose solution. GJG, calcium gluconate and magnesium sulfate were dissolved in distilled water.

Experimental schedule

To investigate the effects of GJG on oxaliplatin-induced acute neuropathy, we first established an oxaliplatin-induced acute neuropathy rat model according to the previous report of Sakurai et al. (37). Oxaliplatin (4 mg/kg) or its vehicle (5% glucose solution) was injected intraperitoneally (i.p.) in a volume of 1 ml/kg of body weight once a day on days 1 and 2. To clarify the effects of GJG on oxaliplatin-induced acute neuropathy, rats were orally administered GJG (0.3 or 1 g/kg) on days 1 and 2 at a volume of 10 ml/kg of body weight. A mixture of calcium gluconate and magnesium sulfate (Ca/Mg, 0.5 mmol/kg) was administered once a day on days 1 and 2 by i.p. injection 30 min before administration of oxaliplatin to examine its effect on oxaliplatin-induced acute neuropathy. A mixture of Ca/Mg (0.08 mmol Ca + 0.16 mmol Mg / kg), whose concentration corresponds to that of GJG (1 g/kg) solution, was administered orally once daily for two days. Behavioral tests were performed on day 3.

Cold stimulation

Oxaliplatin-induced cold hyperalgesia was assessed using a cold plate according to the method described by Sakurai et al (37). Briefly, rats were placed on a hot/cold plate analgesia meter (MK-350HC; Muromachi Kikai Co., Ltd., Tokyo) with the temperature of the plate at 4°C. The latency and the number of withdrawal responses such as elevating and licking of a hind paw during 150 s were recorded.

Cold allodynia induced by oxaliplatin was assessed by measuring acute nocifensive responses to acetone evaporation-evoked cooling (acetone test). The animals were habituated to a cage with a wire mesh floor for more than 30 min prior to testing. Acetone (250 μ l; Wako Pure Chemical Ltd., Osaka) was sprayed onto the plantar skin of the right hind paw with a micro-syringe, and the time spent in elevating and licking the stimulated hind paw was measured for 60 s. The acetone test was performed twice at a 15-min interval, and the average of withdrawal response time was calculated.

Allyl isothiocyanate (AITC)-induced nocifensive behavioral test

AITC, a TRPA1 agonist, was used to activate peripheral TRPA1 and elicit nocifensive behaviors in rats (38). The AITC-induced nocifensive behavioral test was performed on day 3. Following habituation to the testing apparatus, 100 μ l AITC (1% in saline) was injected into the plantar surface of the right hind paw, and the total number of nocifensive behaviors (lifting, licking, and flinching of the injected paw) was recorded for 5 min. In the control group, the hind paw was injected with an equal volume of saline.

Menthol-induced nocifensive behavioral test

Menthol, a TRPM8/TRPA1 agonist, evokes a cooling sensation when applied to the skin (36, 39). To assess the effect of menthol on nocifensive behaviors in an oxaliplatin-induced acute neuropathy model, a menthol test was carried out on day 3. Following habituation to the testing apparatus, 250 μ l of (l)-menthol (100 mM in 90% DMSO and 10% PBS) or its vehicle was applied to the plantar surface of the right hind paw, and the duration of menthol-induced nocifensive behaviors (licking and flinching of the stimulated hind paw) was measured for 5 min. This test was performed twice with a 15-min interval, and the average of response time was calculated.

Capsaicin-induced eye wiping test

Capsaicin is known to be a TRPV1 agonist. Especially when applied to the eyes, capsaicin evokes eye wiping movements through TRPV1 activation (40). On day 3, rats were placed in a plastic cage to habituate themselves

for more than 15 min and 50 μ l of capsaicin (0.1%, dissolved in 10% ethanol, 10% Tween80, and 80% saline) or vehicle alone was dropped into the right eye of the rats. The number of eye wiping movements was recorded for 2 min.

Real-time polymerase chain reaction (PCR)

Lumbar L4-L6 DRG were isolated from each group on day 3 of oxaliplatin treatment. Total RNA was isolated from tissues using a tissue homogenizer (Micro Smash TM MS-100R; Tomy Seiko, Ltd., Tokyo), QIAzol lysis reagent, and an RNeasy mini kit (Qiagen, Germany), according to the manufacturer's instructions. The amounts of total RNA in each sample were quantified on a Nanodrop ND-1000 spectrophotometer (V3.0.1; LMS Co., Ltd., Tokyo). Reverse transcription of 1 μ g total RNA was carried out using a High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA) according to the manufacturer's directions. Two sets of primer-probe were designed by the Primer Express Software (Applied Biosystems). The primers and TaqMan MGB probes for rat transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 1 (TRPV1, Rn00583117_m1, FAM), transient receptor potential cation channel, subfamily A, member 1 (TRPA1, Rn01473803_m1, FAM), transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 8 (TRPM8, Rn00592665_m1, FAM), and glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH, Rn01775763_g1, FAM) were purchased from Applied Biosystems. Quantitative real-time PCR was performed using a 7900HT Fast Real Time PCR system (Applied Biosystems). Experiments were performed in triplicate. The fold change of each target was calculated relative to the internal control GAPDH mRNA levels.

Statistical analyses

All results are expressed as the means \pm S.E.M. All statistical analyses were performed with StatLight2000 (Yukms Co., Ltd., Tokyo). The statistical significance of the difference between control and oxaliplatin-treated groups was calculated using Student's *t*-test. The behavioral data for GJG and calcium gluconate/magnesium sulfate tests and real time-PCR data were analyzed by a one-way analysis of variance and post hoc multiple comparison using Dunnett's test. A difference was considered significant at $P < 0.05$.

Results

Goshajinkigan or Ca/Mg injections prevented oxaliplatin-induced cold hypersensitivity in rats

Administration of oxaliplatin (4 mg/kg, i.p., once

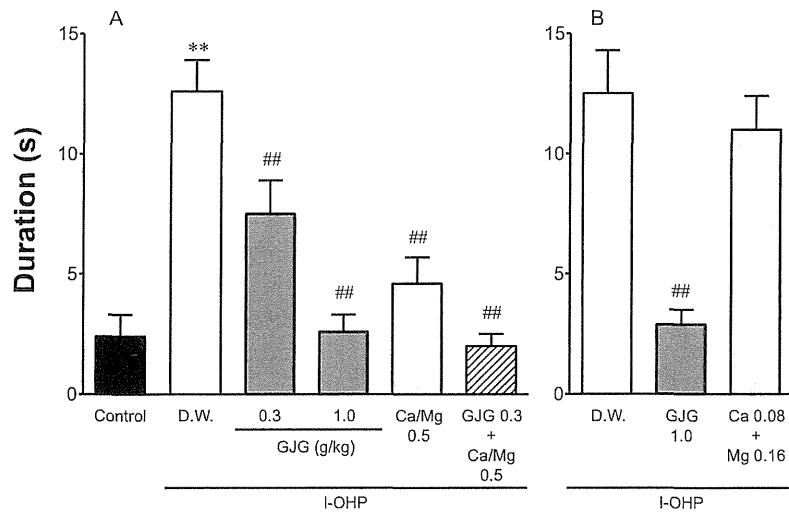


Fig. 1. Effects of goshajinkigan and Ca/Mg on cold allodynia induced by oxaliplatin. Oxaliplatin (I-OHP, 4 mg/kg) or its vehicle (5% glucose solution as a control) was administered intraperitoneally on days 1 and 2. The acetone test was performed on day 3. A) Goshajinkigan (GJG, 0.3 or 1 g/kg) was injected orally immediately after administration of oxaliplatin. The mixture of calcium gluconate and magnesium sulfate (Ca/Mg, 0.5 mmol/kg) was injected intraperitoneally 30 min before administration of oxaliplatin. Distilled water (D.W.) was used as the vehicle of GJG or Ca/Mg. B) The mixture of Ca/Mg (0.08 mmol Ca + 0.16 mmol Mg / kg) was injected orally after administration of oxaliplatin. ** $P < 0.01$, compared with control group; ## $P < 0.01$, compared with the D.W.-treated group. Data are expressed as the mean \pm S.E.M., $n = 10 - 13$ per group.

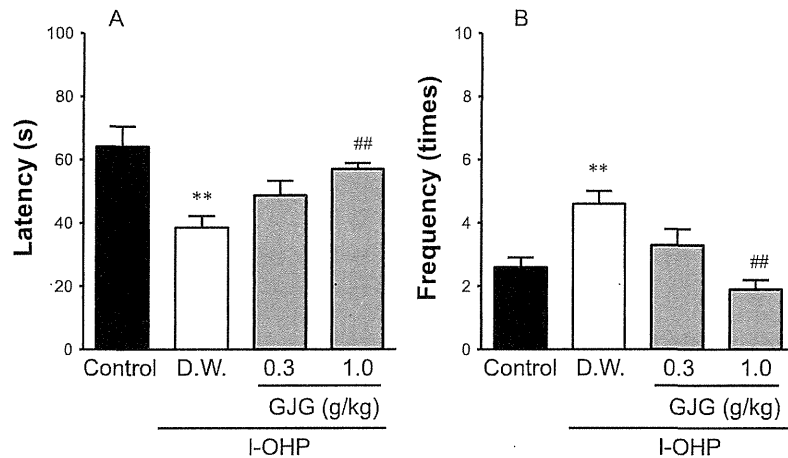


Fig. 2. Effect of goshajinkigan on cold hyperalgesia induced by oxaliplatin. Oxaliplatin (I-OHP, 4 mg/kg) or its vehicle (5% glucose solution as a control) was injected intraperitoneally on days 1 and 2. The latency (A) and number (B) of withdrawal responses in the cold plate test were recorded on day 3. Goshajinkigan [GJG, 0.3 or 1 g/kg in distilled water (D.W.)] was administered orally immediately after injection of oxaliplatin. ** $P < 0.01$, compared with the control group; ## $P < 0.01$, compared with the D.W.-treated group. Data are expressed as the mean \pm S.E.M., $n = 8$ per group.

daily for 2 days) significantly increased the duration of withdrawal responses to cold stimulation by acetone (Fig. 1) and the cold plate (Fig. 2). In the acetone test, GJG (0.3 or 1 g/kg, p.o., once daily for 2 days) prevented cold allodynia induced by oxaliplatin in a dose-dependent manner (Fig. 1A). Furthermore, GJG also inhibited the oxaliplatin-induced reduction of latency for cold stimulation in the cold plate test (Fig. 2). Similarly, i.p. injections of Ca/Mg (0.5 mmol/kg), 30 min before administration of oxaliplatin suppressed the oxaliplatin-induced cold allodynia in the acetone test (Fig. 1A). On the other hand, there were no significant differences in the latency of withdrawal response to cold stimulation between Ca/Mg [0.08 mmol Ca + 0.16 mmol Mg / kg, a concentration that corresponds to that of GJG (1 g/kg) solution, p.o., once daily for 2 days] on the acetone test in oxaliplatin-treated groups (Fig. 1B). Combination treatment with

both Ca/Mg and GJG potentiated the effects of 0.3 g/kg GJG treatment without counteracting the effect of each on cold hypersensitivity induced by oxaliplatin (Fig. 1A).

Oxaliplatin potentiated AITC and menthol-evoked nociceptive response in rat

In oxaliplatin-treated rats, intraplantar injection of 1% AITC, a selective TRPA1 agonist, potentiated the nociceptive behaviors (duration of licking and flinching of the injected hind paw) compared to that of vehicle-treated rats (Fig. 3A). Moreover, application of 100 mM (l)-menthol, a TRPA1 and TRPM8 agonist, to the plantar surface of the hind paw also enhanced nociceptive behaviors in the oxaliplatin-treated group (Fig. 3B), whereas no significant difference in the number of eye-wiping movements evoked by capsaicin, a TRPV1 agonist, was seen between groups (Fig. 3C). As shown in

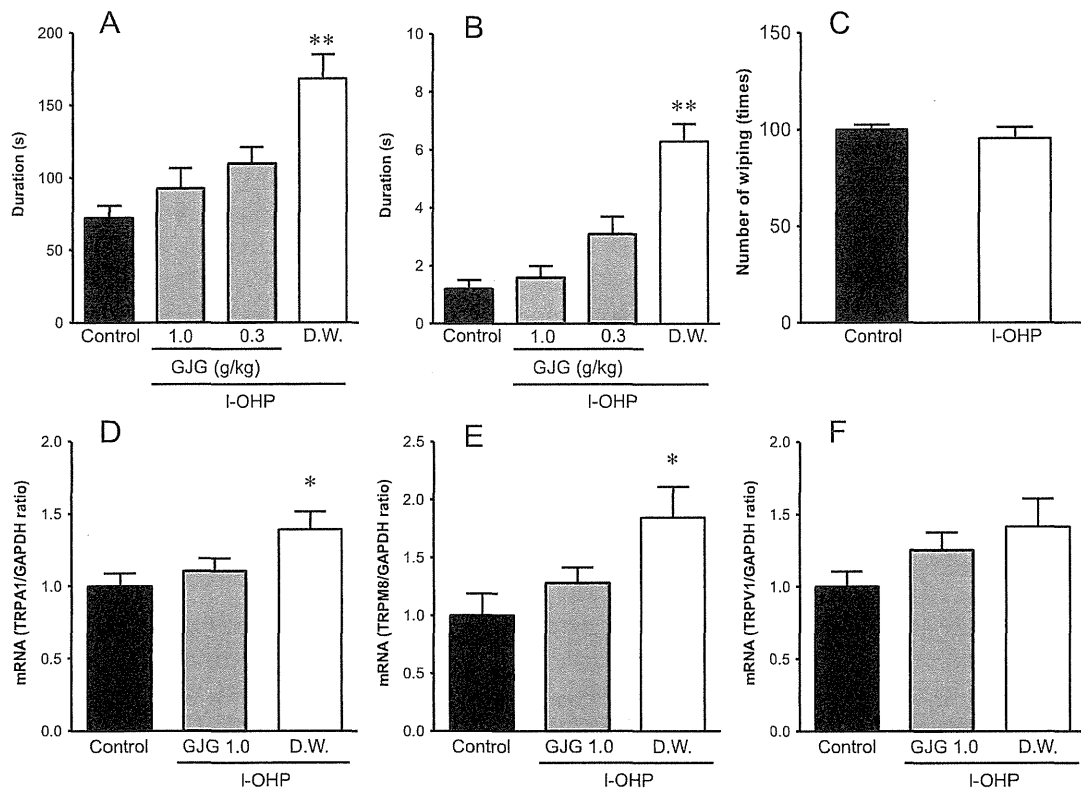


Fig. 3. Goshajinkigan prevented AITC- or menthol-evoked nocifensive response in oxaliplatin-treated rats. Oxaliplatin (I-OHP, 4 mg/kg) or its vehicle (5% glucose solution as a control) was injected intraperitoneally on days 1 and 2. Goshajinkigan [GJG, 0.3 or 1 g/kg in distilled water (D.W.)] was administered orally immediately after injection of oxaliplatin. Each behavioral test was performed on day 3. A: Allyl isothiocyanate (AITC)-evoked nocifensive responses. AITC or its vehicle was injected into the right hind paw of a rat, and the total duration of nocifensive behaviors was recorded. B: Menthol test. (l)-Menthol (100 mM in 90% DMSO and 10% PBS) or its vehicle was applied to the plantar surface of the right hind paw, and the duration of menthol-evoked nocifensive behaviors was measured. C: Capsaicin-evoked eye-wiping test. Capsaicin (50 μ l of 0.1% capsaicin dissolved in 10% ethanol, 10% Tween80, and 80% saline) or its vehicle was dropped into the right eye of rats. The number of capsaicin-evoked eye-wiping movements was recorded. D–F: Lumbar L4-6 DRG were isolated from each group on day 3 after oxaliplatin treatment. Relative mRNA levels of TRPA1 (D), TRPM8 (E), and TRPV1 (F) were measured by quantitative real-time PCR, and the results are expressed as fold change of each target after normalizing to GAPDH mRNA levels. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with the control group. Results are presented as the mean \pm S.E.M., $n = 8$ per group.

Fig. 3: D–F, TRPA1 and TRPM8 mRNA expression levels were significantly increased in DRG on day 3 after oxaliplatin treatment. However, the expression level of TRPV1 mRNA was not altered by oxaliplatin.

Goshajinkigan suppressed AITC- and menthol-evoked nocifensive response in oxaliplatin-treated rats

As shown in Fig. 3, A and B, co-administration of GJG (0.3 or 1 g/kg, p.o., once daily for 2 days) suppressed the duration of AITC-evoked withdrawal responses enhanced by oxaliplatin in a dose-dependent manner. GJG also prevented menthol-evoked withdrawal responses potentiated by oxaliplatin, whereas administration of GJG did not produce a significant increase

in the expression levels of TRPA1 or TRPM8 mRNA compared with control groups (Fig. 3: D–F).

Discussion

In the present study, we demonstrated that GJG was as efficacious as injections of Ca/Mg in ameliorating oxaliplatin-induced acute neuropathy using a rat model. Further, we found that GJG inhibited the menthol- and AITC-evoked withdrawal responses enhanced by oxaliplatin treatment. These results suggest that TRPM8 and/or TRPA1 are involved in the preventive effects of GJG against cold hypersensitivity induced by oxaliplatin.

Oxaliplatin, a third-generation platinum drug, is widely

used as a standard chemotherapy for advanced/recurrent colorectal cancer (1–3). Peripheral neuropathy observed with oxaliplatin can be classified as acute or chronic neuropathy (the cumulative sensory neuropathy) according to the different symptoms (4–6). The acute neuropathy occurs frequently during or immediately after infusion of oxaliplatin and presents as paresthesia and dysesthesia in the extremities and perioral region with jaw tightness that is aggravated by exposure to cold (7, 8). On the other hand, the chronic neuropathy is characterized by sensory ataxia, functional impairment, jaw pain, eye pain, ptosis, leg cramps, and visual and voice changes (4–6); and it resembles that of other platinum-based agents such as cisplatin (5, 9, 10). Therefore, the chronic neuropathy can be dose-limiting and may require discontinuation of treatment. Although the acute neuropathy is not a reason to reduce the dose or discontinue the medication, the use of drugs that prevent the symptoms has an important clinical implication because it improves the patient's quality of life during continued treatment. At present, there is no established effective treatment or preventive measure for peripheral neuropathy associated with oxaliplatin therapy. Basically, the current approach for oxaliplatin-induced peripheral neuropathy is the "stop and go" therapy of dose reduction and a change to other drugs if symptoms worsen. As medication for oxaliplatin-induced peripheral neuropathy, Gamelin et al. (11) reported that infusion of Ca/Mg, working as oxalate chelators, before and after oxaliplatin treatment might reduce the incidence and intensity of acute neuropathy and delay the cumulative neuropathy in clinical trials. Indeed, as shown in Fig. 1A, injection of Ca/Mg before administration of oxaliplatin prevented the oxaliplatin-induced cold hypersensitivity in our rodent model.

GJG, a traditional Japanese herbal medicine, is widely used to treat rhizalgia or numbness in the extremities, low back pain, melosalgia, dysuria, and diabetic neuropathy (14–16). Recently, Kono et al. reported that GJG exhibited a preventive effect against oxaliplatin-induced peripheral neurotoxicity in a placebo-controlled double-blind randomized phase II study (17), and it has been attracting attention as a therapeutic drug for chemotherapy-induced peripheral neuropathy. Furthermore, in a rodent model, administration of GJG improved the peripheral neuropathy induced by oxaliplatin treatment, and it notably relieved the cold hypersensitivity caused by oxaliplatin (18). However, the mechanism by which GJG ameliorates the oxaliplatin-induced acute peripheral neuropathy remains to be defined. Our behavioral study on the oxaliplatin-induced neuropathy rat model demonstrated that administration of GJG significantly inhibited cold hypersensitivity induced by oxaliplatin in a dose-

dependent manner (Figs. 1, 2). Especially, 1 g/kg GJG showed equivalent efficacy to infusions of Ca/Mg for cold hypersensitivity. These results suggest that the mechanism of action of GJG on oxaliplatin-induced acute peripheral neuropathy is likely to have a mechanism similar to that of Ca/Mg infusions. However, according to the description of the ingredients of GJG described in the information sheet, the amounts of calcium and magnesium in the 1-g extract powder of GJG used in our behavioral tests are about 10% of the applicable dose of Ca/Mg (0.5 mmol/kg body weight). Therefore, we examined the effect of Ca/Mg (0.08 mmol Ca + 0.16 mmol Mg / kg), a concentration corresponding to that of GJG (1 g/kg) solution, on acute neuropathy. As shown in Fig. 1B, the administration of Ca/Mg had no effect on cold allodynia induced by oxaliplatin. Thus, the mechanism of action of GJG on oxaliplatin-induced acute neuropathy might not be the same as that of Ca/Mg infusions.

A medication containing Ca/Mg is currently expected to treat oxaliplatin-induced neuropathy, but the effectiveness of infusions of Ca/Mg against oxaliplatin-induced acute neuropathy in clinical practice remains controversial (12, 13). Therefore, we investigated whether a combination of Ca/Mg and GJG produces additional effects on oxaliplatin-induced acute peripheral neuropathy. As shown in Fig. 1A, treatment with a combination of Ca/Mg and GJG potentiated the effects of 0.3 g/kg GJG treatment without counteracting the beneficial effect of each on the cold hypersensitivity induced by oxaliplatin. Thus, combination therapy with Ca/Mg and GJG may be expected to improve the symptoms of patients who did not respond adequately to monotherapy.

TRP channels, Ca²⁺-permeable nonselective cation channels, have been proposed to serve as thermal, chemical, and mechanical sensors (19, 20). These TRP channels are expressed in nerve endings of sensory neurons in the peripheral nervous system, and they are the primary detector of various environmental insults (28, 29). Recently, accumulating evidence indicated that these thermosensitive TRP channels are responsible for the chemotherapy-induced peripheral neuropathy (29–36). In particular, TRPA1 and TRPM8, which respond to noxious cold stimulation (21, 24, 25), and innocuous cooling (26, 27), respectively, have been reported to be involved in oxaliplatin-induced cold hypersensitivity (31–36). Several studies with TRPA1-null mice and a TRPA1 antagonist improved oxaliplatin-induced cold allodynia (31, 34, 35). Likewise, deletion of the TRPM8 gene and treatment with capsazepine, a TRPM8 antagonist, attenuated cold hypersensitivity in oxaliplatin-induced neuropathic pain models (32, 33, 36). According to our real-time PCR results, administra-