Die sensible Atemwegsinnervation und die Tachykinine bei Asthma und chronisch-obstruktiver Lungenerkrankung (COPD)

Q. T. Dinh^{1,2}
B. F. Klapp¹
A. Fischer²

Airway Sensory Nerve and Tachykinins in Asthma and COPD

Zusammenfassung

Mit der Identifizierung und Charakterisierung von zahlreichen neuronalen Mediatoren gewann die Forschung der Innervierung der Atemwege in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung. Eine Reihe von Stimuli wie Capsaicin, Bradykinin, hyperosmotische Salzlösung, Zigarettenrauch, Allergene, Ozon, pro-inflammatorische Mediatoren und kalte trockene Luft sind in der Lage, sensible Atemwegsneurone zu aktivieren. Allergene können eine Freisetzung von Substanz P (SP) und Neurokinin A (NKA) induzieren. SP wird in den Zellkörpern der Atemwegsneurone des Ganglion trigeminale, des Ganglion jugulare und des Ganglion nodosum synthetisiert. Tachykinine haben einen pro-inflammatorischen Effekt auf die Atemwege und sind an neurogenen Entzündungen in den Atemwegen beteiligt. Weitere Tachykinine wie Virokinin und Hemokinin wurde vor kurzem entdeckt und charakterisiert. In den Atemwegen werden Tachykinine nach ihrer Freisetzung von Neutraler Endopeptidase (NEP) und einem angiotensinumwandelnden Enzym abgebaut. Tachykinine steuern den Tonus der glatten Atemwegsmuskulatur, die Schleimsekretion, die bronchialen Blutzirkulation sowie die Immunzellen nach Aktivierung des Neurokinin-1-(NK-1)- oder Neurokinin-2-(NK-2)-Rezeptors und sind vermutlich an der Pathogenese von Asthma bronchiale und COPD beteiligt. Während unterschiedliche Aspekte der neurogenen Entzündung im Tiermodell bisher mehr untersucht wurden, ist über die Rolle der neurogenen Atemwegsentszündung beim Menschen wenig bekannt. Um die genauere Rolle der sensiblen Atemwegsinnervation und der Tachykinine bei chronisch-entzündlichen Atemwegserkrankung

Abstract

The airway nerve has gained importance in the field of respiratory research as it is known to have the capacity to release numerous mediators which can cause pulmonary effects in the airways. Meanwhile, a broad range of stimuli including capsaicin, bradykinin, hyperosmolar saline, tobacco smoke, allergens, ozone, inflammatory mediators and cold dry air have been shown to activate sensory nerve fibres to release neuropeptides such as the tachykinins substance P (SP) and neurokinin A (NKA) to mediate neurogenic inflammation. SP is synthesized in cell bodies of airway neurons of the trigeminal, jugulare and nodose ganglia. Following their release, tachykinins are degraded by neutral endopeptidase (NEP) and an angiotensin-converting enzyme. Tachykinins have been proposed to play an important role in human respiratory diseases such as bronchial asthma and chronic obstructive diseases (COPD) as they have been shown to have potent effects on the tone of airway smooth muscle, airway secretions, bronchial circulation and on inflammatory and immune cells by activation of the neurokinin-1 (NK-1) and neurokinin-2 (NK-2) receptors. Recently, new tachykinins such as virokinin and hemokinin were identified and characterised. Different aspects of the neurogenic inflammation have been well studied in animal models of allergic airway inflammation, but only little is known about the role of neurogenic airway inflammation in human diseases. To address the precise role of tachykinins and airway sensory nerves in human asthma and COPD, experiments on sensory nerve sensitisation and neuro-immune interaction have to be carried out in future studies.

Institutsangaben

¹ Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Psychosomatik, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Germany, Freie Universität Berlin & Humboldt-Universität zu Berlin, Berlin (Leiter: Prof. Dr. B. F. Klapp)

² Allergie-Zentrum Charité, Klinischer Forschergruppe Allergologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Berlin (Leiter: Prof. Dr. A. Fischer)

Korrespondenzadresse

Q. Thai Dinh, MD · Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Psychosomatik und Klinische Forschergruppe Allergologie · Charité – Universitätsmedizin Berlin, Germany · Augustenburger Platz 1 · 13353 Berlin · Germany · E-mail: q-thai.dinh@charite.de

Eingang: 11. Juni 2004 · **Nach Revision akzeptiert:** 30. August 2005

Bibliografie

Pneumologie 2006; 60: 80–85 © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York
DOI 10.1055/s-2005-915587
ISSN 0934-8387

wie Asthma bronchiale und COPD verstehen zu können, sind in Zukunft jedoch weitere Studien im Hinblick auf die Aktivierung der sensiblen Nervenfasern und die Interaktion zwischen Entzündungszellen und Atemwegsneuronen erforderlich.

Einleitung

Unter Berücksichtigung der gegenwärtigen Ergebnisse der neuro-immunologischen Forschung kann Asthma bronchiale und die chronisch-obstruktive Lungenerkrankung (COPD) heute weder als eine rein immunologische noch als eine ausschließlich neuronale Erkrankung angesehen werden [1,2]. Die den entzündlichen Veränderungen zugrunde liegenden Mechanismen werden dabei von einer Vielzahl an Mediatoren beeinflusst. Im Bereich der Pathophysiologie und -biochemie des Asthma bronchiale sind mittlerweile bereits über fünfzig Mediatoren mit Effekten auf verschiedensten pulmonalen Funktionen beschrieben worden [3]. Fortschritte auf diesem Gebiet wurden vor allem durch die Entwicklung neuer, potenter Inhibitoren gemacht, die entweder die Rezeptoren der Mediatoren blockieren oder sie selbst inhibieren [4–6]. Der Ort der Synthese der einzelnen Mediatoren liegt sowohl im Bereich von Entzündungszellen wie Mastzellen, Eosinophile, Basophile, Neutrophile oder T-Lymphozyten, als auch im Bereich gewebsständiger Zellen wie Epithelzellen, Endothelzellen, Myozyten oder Atemwegsneurone [3].

Neben den klassischen Mediatoren Noradrenalin in postganglionären sympathischen Nervenfasern und Acetylcholin in parasympathischen Nervenfasern, existieren eine Reihe von Neuropeptiden, die ausgeprägte pharmakologische Effekte auf den Muskeltonus der Blutgefäße und der Bronchien, die Drüsensekretion und auf Entzündungs- und Immunzellen haben [3]. Diese Neuropeptide gehören zu keinem morphologischen eingrenzenden System. Die Effekte, die diese Neuropeptide hervorrufen, werden unter dem Begriff des nicht-adrenergen nicht-cholinergen (NANC)-System zusammengefasst.

Innervation der unteren Atemwege

Die unteren Atemwege beginnen mit dem Kehlkopf und setzen sich über die Trachea und die beiden Hauptbronchien, Bronchus principales dexter und sinister, bis zu den Bronchioli terminales fort. Über das Vorkommen einiger Nervenfasern um die Bronchien wurde bereits von Thomas Willis (1681) [7] berichtet. Heute ist bekannt, dass die Atemwege von zahlreichen Nervenfasern mit unterschiedlichem Ursprung innerviert werden. Die Nervenversorgung der unteren Atemwege wird nach klassischer Einteilung in ein autonomes efferentes System mit einem sympathischen und einem parasympathischen Anteil und in ein sensibles System gegliedert. Sympathische, parasympathische und sensible Nervenfasern vereinigen sich zu einem Nervenplexus um die Atemwege, das an der Hinterwand der Trachea liegt und am Lungenhilus in die Lunge eintritt (Abb. 1 und 2).

Abb. 1 Atemwegsinnervation der Mäuselunge.

Abb. 2 Die dichte Innervation der unteren Atemwege des Menschen wird dargestellt durch PGP-positive Nervenfasern in dem humanen Bronchus. Immunhistochemische Darstellung mittels eines gegen PGP 9,5 (Pan-neuronaler Marker) **A** und SP **B** gerichteten Primärantikörpers und eines fluoreszierenden Sekundärantikörpers. Die Nervenfasern verlaufen unter dem Epithel eines Bronchus. Originalvergrößerung $\times 250$.

Sensible Innervation

Der größte Teil der afferenten (= sensiblen) Nervenfasern der Atemwege verläuft mit dem Nervus vagus und endet mit der zentralen Projektion in den Nukleus des Tractus solitarius. Die Perikaryen dieser pseudounipolaren Neurone liegen in den vagalen sensiblen Ganglien (Ganglion jugulare und Ganglion nodosum) (Abb. 1) [8,9]. Außerdem wurde eine zusätzliche afferente Versorgung der Atemwege aus den thorakalen Spinalganglien nachgewiesen. Diese afferenten Nervenfasern verlaufen zusammen mit den sympathischen Axonen, durchqueren die sympathischen Grenzstrangganglien und ziehen über die Hinterwurzel zu den Laminae I und II (Substantia gelatinosa) im Hinterhorn des Rückenmarks. Die Zellkörper dieser Neurone liegen in den Spinalganglien [8,10,11].

Die afferente Innervation der Atemwege erhält Erregungen durch Berührungs- und Dehnungsrezeptoren an der Trachea, den Bronchi und den Bronchioli, aber auch von denen unter der Pleura. Weiterhin ist bekannt, dass die sensiblen Nervenfasern durch exogene (Capsaicin) und endogene (Histamin, Bradykinin und Prostaglandine) Stimuli aktiviert werden können [12]. Aufgrund dieser und weiterer elektrophysiologischer Eigenschaften lassen sich die sensiblen Nervenfasern in drei Klassen einteilen:

1. Langsam adaptierende Dehnungsrezeptoren (Slowly adapting stretch receptors = SAR) sind hauptsächlich in der glatten Muskulatur der Trachea und des Bronchus lokalisiert. Durch ihre myelinisierten Axone erreichen sie eine relativ hohe Leitungsgeschwindigkeit (5,8 m/s).
2. Schnell adaptierende Dehnungsrezeptoren (Rapidly adapting stretch receptors = RAR) befinden sich sowohl im respiratorischen Epithel als auch in der glatten Atemwegsmuskulatur. Ihre Axone sind ebenfalls myelinisiert.
3. Die C-Fasern sind in der Trachea, dem Bronchus und dem Lungparenchym anzutreffen. Sie leiten aufgrund ihrer unmyelinisierten Axone sehr langsam (< 1 m/s, [13]).

Ergebnisse aus elektrophysiologischen Untersuchungen, der Immunhistochemie und der retrograden Tracing-Experimente zeigten, dass RAR und C-Fasern nicht nur elektrophysiologisch, sondern auch neuroanatomisch verschiedenen Populationen angehören [14]. Die Perikaryen der RAR des Meerschweinchens befinden sich im Ganglion nodosum, die der C-Fasern im Ganglion jugulare.

Die sensiblen Nervenfasern setzen an der Synapse der zentralen Projektion klassische erregende (exzitatorische) Transmitter wie Glutamat bzw. Aspartat frei [10]. Außerdem kann eine Freisetzung von weiteren Mediatoren durch adäquate Reizung oder durch antidrome Stimulation an den peripheren Nervenfasern bewirkt werden [15]. Zu den am besten untersuchten Mediatoren der Atemwege zählt die Familie der Tachykinine zu denen die Neuropeptide-Substanz P (SP) und Neurokinin A (NKA) gehören. Ein weiteres wichtiges Neuropeptid der sensiblen Nervenfasern ist Calcitonin Gene-Related Peptid [8,16]. Diese Mediatoren üben je nach ihren pharmakologischen Eigenschaften eine lokale effektorische Funktion aus [15].

Mediatoren

Aufgrund physiologischer und pharmakologischer Erkenntnisse können die Mediatoren in klassische und NANC-Mediatoren eingeordnet werden [17,18] (Übersicht Tab. 1). Die NANC-Mediatoren werden in zwei funktionelle Gruppen des exzitatorischen NANC-Systems (e-NANC) und des inhibitorischen NANC-Systems (i-NANC) eingeteilt. Die Tachykinine und CGRP einerseits gehören zum exzitatorischen NANC-System (eNANC) [19], NOS, VIP und NPY andererseits zum inhibitorischen NANC-System (i-NANC) [20,21]. In den letzten Jahren erlangten die NANC-Mediatoren immer mehr Bedeutung, da sie möglicherweise an der Pathogenese des Asthmas bronchiale beteiligt sind.

Tab. 1 Vorkommen von Mediatoren in sympathischen, parasympathischen und sensiblen Ganglien der unteren Atemwegen

funktionelles System	Herkunft	klassischer Transmitter	NANC-Mediatoren
Trachea			
sympathisch	Ganglion cervicale superius Ganglion stellatum	NA	NPY, VIP, NO Dynorphin
parasympathisch	lokale Ganglien	ACh	VIP, NO, Enkephalin*
sensibel	Ganglion nodosum Ganglion jugulare Spinalganglien	Aspartat Glutamat	SP, NKA, CGRP, NO, Dynorphin
Lunge			
sympathisch	Ganglion cervicale superius Ganglion stellatum Grenzstrangganglien T3 – T5	NA	NPY, VIP, NO Dynorphin
parasympathisch	lokale Ganglien	ACh	VIP, NO, Enkephalin*
sensibel	Ganglion nodosum Ganglion jugulare Spinalganglien C7 – T6	Aspartat Glutamat	SP, NKA, CGRP, NO, Dynorphin

Einteilung der Atemwegsinnervation (nach Kummer [8],

* = Shimosegawa [53])

Tachykinine

Bei den Tachykininen handelt es sich um eine Familie von Neuropeptiden, die an ihrem C-terminalen Ende die gleiche Aminosäuresequenz (Phe-X-Gly-Leu-Met-NH₂, X steht für eine variable Aminosäure) aufweisen. Der am längsten bekannte und am besten untersuchte Vertreter der Tachykinin-Familie ist Substanz P. Sie wurde erstmals 1931 beschrieben [22], jedoch erst 1971 sequenziert [23]. Die in den Atemwegen neben Substanz P vorkommenden Tachykinine sind Neurokinin A (NKA), sowie deren N-terminal verlängerte Peptide Neuropeptid K (NPK) [24] und Neuropeptid γ [25]. Diese Peptide werden vom gleichen Gen, dem Präprotachykinin A (PPT-A)-Gen kodiert [26]. Aus dem Präprotachykinin-A-Gen wird mRNA transkribiert und alternativ gespleißt, so dass 4 mRNA-Formen ($\alpha, \beta, \gamma, \delta$) entstehen können [26]. Allen vier Formen ist gemeinsam, dass die entsprechenden Prä-pro-Peptide die Sequenz von Substanz P (SP) enthalten. Neurokinin A (NKA) und seine N-terminal verlängerten Formen, Neuropeptid K und Neuropeptid γ entstehen nur in solchen Zellen, die von diesem Gen die β -(Neuropeptid K) oder γ -Form der mRNA (Neuropeptid γ) spleißen. Ein weiterer Vertreter der Tachykinine ist das in den Atemwegen bisher nicht nachgewiesene Neurokinin B (NKB). Es wird vom PPT-B-Gen kodiert [27].

Die Tachykinine (Substanz P, Neurokinin A und Neuropeptid K) wurden in den Nervenfasern der unteren Atemwege des Meerschweinchens, der Ratte, der Maus und des Menschen mit immunhistochemischen Methoden nachgewiesen [21,28]. Heute ist bekannt, dass jedes Kompartiment der unteren Atemwege mit Ausnahme der Knorpelspangen von tachykinin-haltigen Axonen durchzogen wird. Diese Nervenfasern besitzen neben

den Tachykininen auch Immunreaktivität gegen das Calcitonin-Gen-verwandte Peptid (CGRP). Durch den kombinierten Einsatz der retrograden neuronalen Markierung und der Immunhistochemie konnten die sensiblen Vagusganglien (insbesondere das Ganglion jugulare) [29–31] und die oberen thorakalen Spinalganglien als die Ursprungsstätten SP/NKA/CGRP-immunreaktiver Nerven der Lunge unter physiologischen Bedingung bei der Maus [32] und der Ratte [11] gezeigt werden. Eine Induktion von Tachykininen in sensible Neurone unter pathophysiologischen Situation beim Meerschweinchen konnte auch nachgewiesen werden [8,9,33–35]. Tachykinin-immunreaktive Neurone mit Projektionen zur nasalen Schleimhaut wurden im Ganglion trigeminal der Maus und Ratte mittels retrograder neuronaler Markierung und Immunhistochemie identifiziert [33,36–38]. Tachykinerge Nervenfasern sind in der Lamina propria, der glatten Muskulatur der Atemwege und Blutgefäßen in den Randbezirken des lymphatischen Gewebes und in den kleinen parasympathischen Ganglien der Trachea und Bronchien lokalisiert [21]. Tachykinine konnten in sympathischen Ganglien bisher nicht nachgewiesen werden [39]. Ihre Wirkungen vermitteln die Tachykinine über die Tachykinin-Rezeptoren (NK1-, NK2-Rezeptor) [40], die sowohl im Trachea- und Bronchialmuskel, als auch im Drüsen- und respiratorischen Epithel sowie in den einzeln liegenden Zellen der Lamina propria nachgewiesen werden konnten [41]. Durch die unterschiedliche Affinität der Tachykinine zu ihren Rezeptoren lassen diese sich pharmakologisch differenzieren. Nach der Freisetzung werden Tachykinine sehr schnell von Neutraler Endopeptidase (NEP) und eines Angiotensin-umwandelnden Enzyms abgebaut. Der NK3-Rezeptor, der in den intrinsischen Ganglien des Meerschweinchens vorkommt [42], bindet bevorzugt das Neurokinin B, das in der Lunge bislang nicht nachgewiesen wurde. Insgesamt können die Wirkungen der Tachykinine in den Atemwegen als proinflammatorisch bezeichnet werden [18,43].

Effekte von Tachykininen in den Atemwegen

Tachykinine wie Substanz P und Neurokinin A können unterschiedliche Effekte in den verschiedenen Zielzellen der Atemwege hervorrufen. Substanz P vermittelt ihre Wirkung bevorzugt über einen NK1-Rezeptor und Neurokinin A bevorzugt über einen NK2-Rezeptor [42,44,45]. Die Dichte der Tachykinin-Rezeptoren in den Atemwegen ist sehr unterschiedlich. Während der NK-1-Rezeptor überwiegend im Epithel, in den Drüsen und an den Gefäßen der Atemwege lokalisiert ist, wird der NK-2-Rezeptor verstärkt in der glatten Atemwegsmuskulatur gefunden [6]. Tachykinine, insbesondere Neurokinin A kann humane glatte Atemwegsmuskulatur in vitro kontrahieren, vermittelt über den NK-2-Rezeptor. Die kontraktile Wirkung der Tachykinine ist besonders in den kleinen Bronchien zu beobachten, während in den großen Bronchien cholinerge Fasern eine dominierende Rolle spielen [46]. Interessanterweise sind kleine Bronchien für die Pathogenese der chronisch obstruktiven Lungenerkrankung (COPD) von großer Bedeutung.

In den letzten Jahren wurden die Effekte von Tachykininen im Tiermodell und in vitro verstärkt untersucht. So führt bei Asthmatikern intravenöse oder inhalative Gabe von Neurokinin A zu Bronchokonstriktion [47]. Experimente in vitro zeigten, dass

nach der Entfernung des Epithels die kontraktile Wirkung von Tachykininen steigt [48]. Tachykinine spielen daher eine wichtige Rolle bei Erkrankungen mit Epithelschaden wie beim Asthma bronchiale und COPD.

Es wurde weiterhin gezeigt, dass Tachykinine an den allergischen Atemwegsentszündungen des Meerschweinchens und der Maus mitwirken. Allergene Provokation kann zu einer Induktion von Tachykininen in den atemwegspezifischen sensiblen Neuronen führen, deren Freisetzung eine Verstärkung der allergischen Atemwegsentszündungen nach sich zieht [9,30,34,35]. Behandlungen mit Tachykinin-Rezeptor-Antagonisten wie dem NK1-Antagonist kann Plasmaextravasation nach vagaler Stimulation und Zigarettenrauch verhindern [49]. NK1- oder NK2-Antagonist können allergische Atemwegsentszündungen im Asthma-Mausmodell abschwächen [50]. Weiterhin ist bekannt, dass Tachykinine einen stimulierenden Effekt auf die Schleimsekretion der submukösen Drüsen und auch die der Becherzellen haben. Weitere Effekte wie Vasodilatation und Plasmaexsudation werden über den NK1-Rezeptor vermittelt [44]. Klinische Studien mit Tachykinin-NK2-Rezeptor-Antagonisten wie Nepadutant und Saregutant für die Behandlung von Asthmatikern erweisen sich als ergebnislos. Selektivere Tachykinin-Rezeptor-Antagonisten gegen verschiedene Tachykinin-Rezeptor-Subtypen müssen in Zukunft entwickelt und in klinischen Studien überprüft werden [51].

Die Ergebnisse der experimentellen in-vivo und in-vitro-Studien lassen sich nicht immer auf den Menschen übertragen. Es herrscht aber kein Zweifel daran, dass die Atemwegsinnervation mit ihren zahlreichen Neuropeptiden und Mediatoren an der Pathogenese der Lungenerkrankungen beim Menschen eine nicht unbedeutende Rolle spielt und dass viele Hauptsymptome bei Asthma und COPD direkt mit der Aktivierung der Nerven in den Atemwegen in Verbindung stehen [2,3,52]. Um die genauere Rolle von neurogenen Entzündungen in Asthma und COPD verstehen zu können, sind im Hinblick auf die Aktivierung der sensiblen Nervenfasern und die Interaktion zwischen Entzündungszellen und Atemwegsneuronen weitere Studien in Zukunft erforderlich.

Literatur

- 1 Barnes PJ. Asthma as an axon reflex. *Lancet* 1986; 1 (8475): 242–245
- 2 Barnes PJ. Mediators of chronic obstructive pulmonary disease. *Pharmacol Rev* 2004; 56 (4): 515–548
- 3 Barnes PJ, Chung KF, Page CP. Inflammatory mediators of asthma: an update. *Pharmacol Rev* 1998; 50 (4): 515–596
- 4 Eynott PR, Groneberg DA, Caramori G et al. Role of nitric oxide in allergic inflammation and bronchial hyperresponsiveness. *Eur J Pharmacol* 2002; 452 (1): 123–133
- 5 Eynott PR, Paavolainen N, Groneberg DA et al. Role of nitric oxide in chronic allergen-induced airway cell proliferation and inflammation. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 304 (1): 22–29
- 6 Joos GF, Pauwels RA et al. Tachykinin receptor antagonists: potential in airways diseases. *Curr Opin Pharmacol* 2001; 1 (3): 235–241
- 7 Willis T. *Opera omnia* 1681; Band II. Sect. 1, Cap. XI
- 8 Kummer W, Fischer A, Kurkowski R et al. The sensory and sympathetic innervation of guinea-pig lung and trachea as studied by retrograde neuronal tracing and double-labelling immunohistochemistry. *Neuroscience* 1992; 49 (3): 715–737
- 9 Fischer A, McGregor GP, Saria A et al. Induction of tachykinin gene and peptide expression in guinea pig nodose primary afferent neurons by allergic airway inflammation. *J Clin Invest* 1996; 98 (10): 2284–2291
- 10 Dalsgaard CJ, Lundberg JM. Evidence for a spinal afferent innervation of the guinea pig lower respiratory tract as studied by the horseradish peroxidase technique. *Neurosci Lett* 1984; 45 (2): 117–122
- 11 Springall DR, Cadieux A, Oliveira H et al. Retrograde tracing shows that CGRP-immunoreactive nerves of rat trachea and lung originate from vagal and dorsal root ganglia. *J Auton Nerv Syst* 1987; 20: 155–166
- 12 Saria A, Martling CR, Yan Z et al. Release of multiple tachykinins from capsaicin-sensitive sensory nerves in the lung by bradykinin, histamine, dimethylphenyl piperazine, and vagal nerve stimulation. *Am Rev Respir Dis* 1988; 137 (6): 1330–1335
- 13 Coleridge JC, Coleridge HM. Afferent vagal C fibre innervation of the lungs and airways and its functional significance. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1984; 99: 1–110
- 14 Ricco MM, Kummer W, Biglari B et al. Interganglionic segregation of distinct vagal afferent fibre phenotypes in guinea-pig airways. *J Physiol* 1996; 496 (Pt 2): 521–530
- 15 Stretton D. Non-adrenergic, non-cholinergic neural control of the airways [editorial]. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1991; 18 (10): 675–684
- 16 Verastegui C, Prada Oliveira A, Fernandez-Vivero J et al. Calcitonin gene-related peptide immunoreactivity in adult mouse lung. *Eur J Histochem* 1997; 41 (2): 119–126
- 17 Fischer A, Folkerts G, Geppetti P et al. Mediators of asthma: nitric oxide. *Pulm Pharmacol Ther* 2002; 15 (2): 73–81
- 18 Springer J, Geppetti P, Fischer A et al. Calcitonin gene-related peptide as inflammatory mediator. *Pulm Pharmacol Ther* 2003; 16 (3): 121–130
- 19 Karlsson JA, Finney MJ, Persson CG et al. Substance P antagonists and the role of tachykinins in non-cholinergic bronchoconstriction. *Life Sci* 1984; 35 (26): 2681–2691
- 20 Li CG, Rand MJ. Evidence that part of the NANC relaxant response of guinea-pig trachea to electrical field stimulation is mediated by nitric oxide. *Br J Pharmacol* 1991; 102 (1): 91–94
- 21 Lundberg JM, Hokfelt T, Martling CR et al. Substance P-immunoreactive sensory nerves in the lower respiratory tract of various mammals including man. *Cell Tissue Res* 1984; 235 (2): 251–261
- 22 Euler US, Gaddum JH. An unidentified depressor substance in certain tissue extracts. *J Physiol* 1931; 72: 74–87
- 23 Chang MM, Leeman SE, Niall HD. Amino-acid sequence of substance P. *Nat New Biol* 1971; 232 (29): 86–87
- 24 Tatemoto K, Lundberg JM, Jornvall H et al. Neuropeptide K: isolation, structure and biological activities of a novel brain tachykinin. *Biochem Biophys Res Commun* 1985; 128 (2): 947–953
- 25 Harmar AJ, Hyde V, Chapman K. Identification and cDNA sequence of delta-preprotachykinin, a fourth splicing variant of the rat substance P precursor. *FEBS Lett* 1990; 275 (1–2): 22–24
- 26 Nawa H, Hirose T, Takashima H et al. Nucleotide sequences of cloned cDNAs for two types of bovine brain substance P precursor. *Nature* 1983; 306 (5938): 32–36
- 27 Kotani Y, Hirota Y, Sugiyama K et al. Effects of noxious stimuli and anesthetic agents on substance P content in rat central nervous system. *Jpn J Pharmacol* 1986; 40 (1): 143–147
- 28 Hua XY, Theodorsson-Norheim E, Brodin E et al. Multiple tachykinins (neurokinin A, neuropeptide K and substance P) in capsaicin-sensitive sensory neurons in the guinea-pig. *Regul Pept* 1985; 13 (1): 1–19
- 29 Dinh QT, Groneberg DA, Peiser C et al. Expression of substance P and nitric oxide synthase in vagal sensory neurons innervating the mouse airways. *Regul Pept* 2005; 126 (3): 189–194
- 30 Dinh QT, Mingomataj E, Quarcoo D et al. Allergic airway inflammation induces tachykinin peptides expression in vagal sensory neurons innervating mouse airways. *Clin Exp Allergy* 2005; 35 (6): 820–825
- 31 Kollarik M, Dinh QT, Fischer A et al. Capsaicin-sensitive and -insensitive vagal bronchopulmonary C-fibres in the mouse. *J Physiol* 2003; 551 (3): 869–879
- 32 Dinh QT, Groneberg DA, Peiser C et al. Substance P expression in TRPV1 and trkA-positive dorsal root ganglion neurons innervating the mouse lung. *Respir Physiol Neurobiol* 2004; 144 (1): 15–24
- 33 Hunter DD, Myers AC, Undem BJ. Nerve growth factor-induced phenotypic switch in guinea pig airway sensory neurons. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161 (6): 1985–1990
- 34 Myers AC, Kajakar R, Undem BJ. Allergic inflammation-induced neuropeptide production in rapidly adapting afferent nerves in guinea pig airways. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 282 (4): L775–781

- ³⁵ Undem BJ, Hunter DD, Liu M et al. Allergen-induced sensory neuroplasticity in airways. *Int Arch Allergy Immunol* 1999; 118 (2–4): 150–153
- ³⁶ Sikora ER, Stone S, Tomblyn S et al. Asphalt exposure enhances neuropeptide levels in sensory neurons projecting to the rat nasal epithelium. *J Toxicol Environ Health* 2003; 66 (11): 1015–1027
- ³⁷ Hunter DD, Satterfield BE, Huang J et al. Toluene diisocyanate enhances substance P in sensory neurons innervating the nasal mucosa. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161 (2 Pt 1): 543–549
- ³⁸ Dinh QT, Groneberg DA, Mingomataj E et al. Expression of substance P and vanilloid receptor (VR1) in trigeminal sensory neurons projecting to the mouse nasal mucosa. *Neuropeptides* 2003; 37 (4): 245–250
- ³⁹ Dinh QT, Groneberg DA, Witt C et al. Expression of Tyrosine Hydroxylase and Neuropeptide Tyrosine in Mouse Sympathetic Airway-specific Neurons under Normal Situation and Allergic Airway Inflammation. *Clin Exp Allergy* 2004; 34 (9): 1934–1941
- ⁴⁰ Helke CJ, Krause JE, Mantyh PW et al. Diversity in mammalian tachykinin peptidergic neurons: multiple peptides, receptors, and regulatory mechanisms. *Faseb J* 1990; 4 (6): 1606–1615
- ⁴¹ Fischer A, Kummer W, Couraud JY et al. Immunohistochemical localization of receptors for vasoactive intestinal peptide and substance P in human trachea. *Lab Invest* 1992; 67 (3): 387–393
- ⁴² Canning BJ, Fischer A, Undem BJ. Pharmacological analysis of the tachykinin receptors that mediate activation of nonadrenergic, noncholinergic relaxant nerves that innervate guinea pig trachealis. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 284 (1): 370–377
- ⁴³ Joos GF, Germonpre PR, Pauwels RA. Role of tachykinins in asthma. *Allergy* 2000; 55 (4): 321–337
- ⁴⁴ Frossard N, Advenier C. Tachykinin receptors and the airways. *Life Sci* 1991; 49 (26): 1941–1953
- ⁴⁵ Joachim RA, Sagach V, Quarcoo D et al. Neurokinin-1 receptor mediates stress-exacerbated allergic airway inflammation and airway hyperresponsiveness in mice. *Psychosom Med* 2004; 66 (4): 564–571
- ⁴⁶ Frossard N, Barnes PJ. Effect of tachykinins in small human airways. *Neuropeptides* 1991; 19 (3): 157–161
- ⁴⁷ Crimi N, Oliveri R, Polosa R et al. Effect of oral terfenadine on bronchoconstrictor response to inhaled neurokinin A and histamine in asthmatic subjects. *Eur Respir J* 1993; 6 (10): 1462–1467
- ⁴⁸ Frossard N, Rhoden KJ, Barnes PJ. Influence of epithelium on guinea pig airway responses to tachykinins: role of endopeptidase and cyclooxygenase. *J Pharmacol Exp Ther* 1989; 248 (1): 292–298
- ⁴⁹ Lei YH, Barnes PJ, Rogers DF. Inhibition of neurogenic plasma exudation in guinea-pig airways by CP-96,345, a new non-peptide NK1 receptor antagonist. *Br J Pharmacol* 1992; 105 (2): 261–262
- ⁵⁰ Quarcoo D, Schulte-Herbruggen O, Lommatzsch M et al. Nerve growth factor induces increased airway inflammation via a neuropeptide-dependent mechanism in a transgenic animal model of allergic airway inflammation. *Clin Exp Allergy* 2004; 34 (7): 1146–1151
- ⁵¹ Mazzone SB. Targeting tachykinins for the treatment of obstructive airways disease. *Treat Respir Med* 2004; 3 (4): 201–216
- ⁵² Barnes PJ, Shapiro SD, Pauwels RA. Chronic obstructive pulmonary disease: molecular and cellular mechanisms. *Eur Respir J* 2003; 22 (4): 672–688
- ⁵³ Shimosegawa T, Foda HD, Said SI. [Met]enkephalin-Arg6-Gly7-Leu8-immunoreactive nerves in guinea-pig and rat lungs: distribution, origin, and co-existence with vasoactive intestinal polypeptide immunoreactivity. *Neuroscience* 1990; 36 (3): 737–750