

## 家族歴を有する前兆を伴う片頭痛患者の遺伝子学的検討

主任研究者 坂井文彦 北里大学医学部内科（神経内科）教授

研究協力者 飯ヶ谷美峰 北里大学医学部内科（神経内科）

**研究要旨** 家族性片麻痺性片頭痛の遺伝子変異が同定され、病態的に、より FHM に近いと考えられる家族歴を有する「前兆を伴う片頭痛 (MA)」患者における CACNA1A 遺伝子の関与を明らかにするため、既報の変異の有無について検討した。今回の検討では明らかな遺伝子異常は認められなかった。

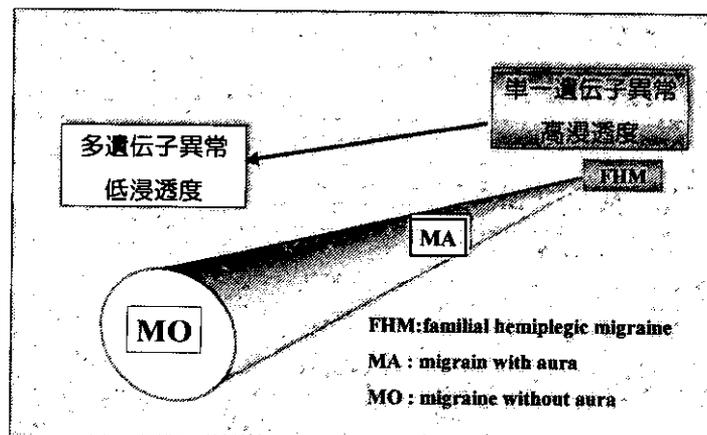
### A. 研究目的

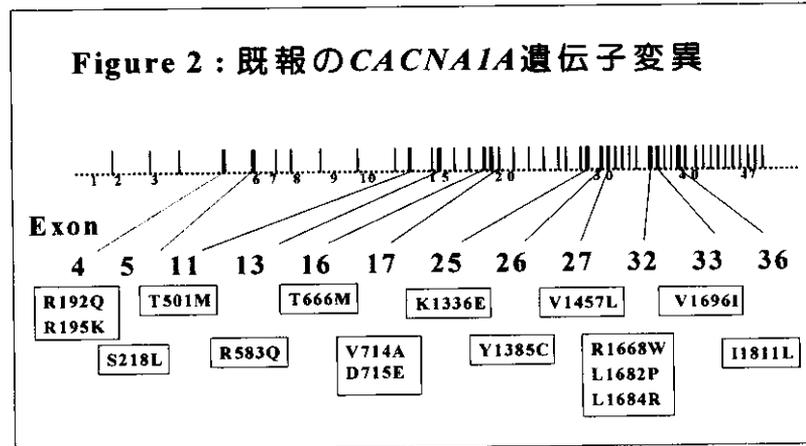
従来より片頭痛に遺伝的要因が関与している可能性が示唆されており、遺伝疫学的研究などの結果から、遺伝的リスクがあることは確実とされている<sup>1-9</sup>。片頭痛の特殊型であり、前兆を伴った片頭痛 (MA) の亜型である家族性片麻痺性片頭痛 (Familial Hemiplegic Migraine; FHM) はメンデルの常染色体優性遺伝の形式に該当し、近年、電位依存性カルシウムチャンネル $\alpha$ 1A サブユニット(CACNA1A)が原因遺伝子であることが同定された<sup>10</sup>。そのため、CACNA1A と一般的な片頭痛との関連が検討されて

いる。これまでの家系調査などから、FHM

は単一遺伝子異常で遺伝的に高浸透度、migraine with aura (MA), migraine without aura(MO) の順に多遺伝子異常、低浸透度であることが示唆されている。これをひとつのスペクトラム(figure 1)として捉えると、家族歴を有する MA は FHM により近い病態であることが考えられる。このような背景より、家族歴を有する日本人 MA 患者における CACNA1A 遺伝子異常の関与を明らかにすることを目的に遺伝子解析を行った(Figure1)。

Figure 1: Migraine Spectrum





**B. 研究方法**

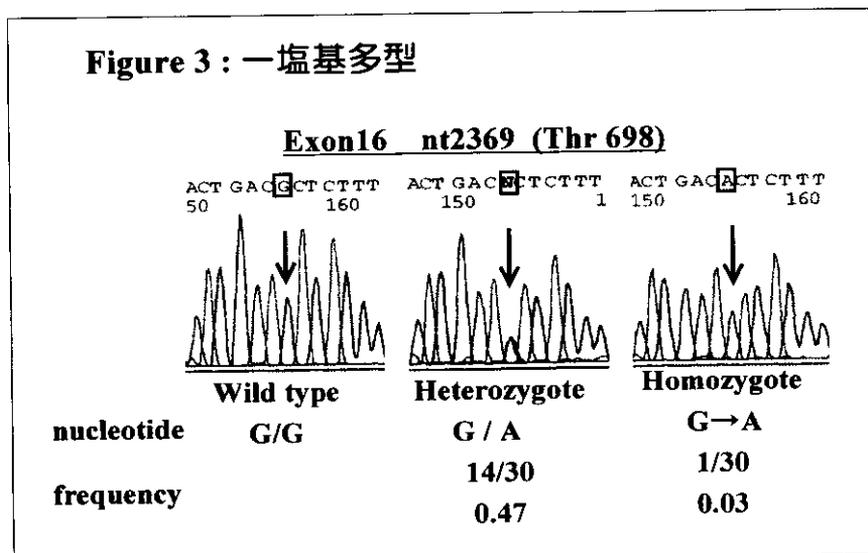
対象は平成13年8月より平成14年8月までに頭痛を主訴に北里大学病院および北里大学東病院を受診し、国際頭痛学会の診断基準<sup>11)</sup>を満たすMA患者のうち、家族歴を有する30例(3家系)である。(男性3名、女性27名、平均年齢42.1 ± 15.2歳)インフォームドコンセントを得た後、末梢白血球からゲノムDNAを抽出しCACNA1A遺伝子の47exonの中で過去にFHMにおける変異が指摘されている12exonをそれぞれPCRによって増幅し、ダイレクトシーケン

スを行い塩基配列を決定した<sup>12-17)</sup>(figure 2)。

研究に当たりヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針を遵守している。

**C. 研究結果**

1. 族歴を有する日本人MA患者において既知の遺伝子変異は認められなかった。これまでFHMでは12exonで16箇所の遺伝子変異が報告されている。今回の対象症例では既報の変異を含め、12exonのexon-intron接合部を含めた塩基配列を確認したが明らかな変異は認められなかった。



2. 30 例中 15 例において nt2369(Thr698)の G/A ヘテロあるいは G→A の一塩基多型を認めた。

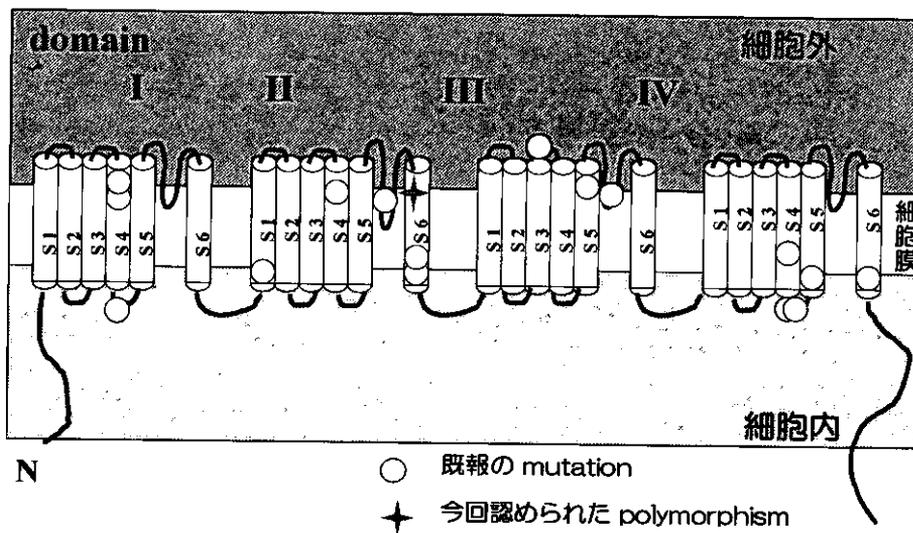
Wild type では Exon16 の 2369 番目のコドンはのグアニンだが、今回の研究ではアデニンのヘテロ接合体が 30 例中 14 例およびホモ接合体が 30 例中 1 例とあわせて 0.50 の頻度で認められた(Figure3)。これは Ophoff らにより多型であることが報告 (頻度 0.12) されているが、その頻度に比べて高頻度であった。この 1 塩基多型はドメイン II の S6 に位置しているがアミノ酸置換は伴わず病態への関与は不明である(Figure 4)。

#### D. 考察

第 19 番染色体 FHM (FHM19) のキャリアで MA あるいは MO の症状を呈するが、片麻痺症状を呈さない症例がある。このため、FHM19 の locus における遺伝子異常がより一般的な片頭痛の病因となっている可能性があるのではないかと考えられるようになった。さらにカルシウムチャネルの異常が関

与するチャネロパチーである可能性についても検討されている。Hovatta ら<sup>18)</sup>は MA あるいは MO を呈するフィンランドの 4 家族の連鎖解析を行い、19 番染色体上の FHM locus をはさむ 50cM 領域のマーカを用いて陰性のロッドスコアを得たため、片頭痛の病因 locus から除外した。May ら<sup>19)</sup>による MA または MO を呈する 28 家における sibling pair 解析では、片頭痛症状を有する兄弟では同じマーカの一対立遺伝子を有することが有意に示され、19p13 上の FHM locus がより一般的な片頭痛に関係していることを支持している。Nyholt ら<sup>20)</sup>は典型的な片頭痛を呈する大家系で陽性のロッドスコア、同時分離および FHM19 locus 内または周囲 12.6 cM において連鎖の強いマーカを認め、この locus 内あるいは周囲の突然変異が片頭痛の原因となることを示唆した。このように FHM と一般的な片頭痛の関連を支持する報告の一方で、一般的な片頭痛の原因としての CACNA1A の役割に疑問を呈する報告も少なくない。Monari ら<sup>21)</sup>は典型的な片頭痛を有す

**Figure4:Membrane topology of CACNA1A**



る14家系でCACNA1Aへの連鎖は否定的であるという結果を示唆したし、MAを有する12症例および片頭痛性脳梗塞の既往のある15名にCACNA1A遺伝子変異を認めなかったと報告している。同様にKimら<sup>20)</sup>は、FHMおよび反復性発作性運動失調症に臨床的類似点があり、片頭痛および発作性眩暈を呈する常染色体優性遺伝を示す家系のうち9例の発端者においてCACNA1A遺伝子の全47エクソンのシーケンスを行ったが変異を確認できなかった。(figure5)本研究においては47エクソン中の12エクソンのみのシーケンスであり、CACNA1A自体の関与を否定することにはならないが、少なくともFHMで報告された遺伝子と日本人MA患者の関連はないと考えられる。CACNA1A遺伝子変異がより一般的な片頭痛の原因となるかについては依然不明のままである。これまで片麻痺のない片頭痛の家系で既知のCACNA1A遺伝子変異もしくは他の遺伝子変異の報告は認められていない。このことは一般的な片頭痛におけるCACNA1Aの関与を支持しないこととなるかもしれないが、片頭痛は遺伝学的に不均質の疾患であり、結論に達するには更なる家系あるいは集団での研究の蓄積が必要と思われる。

また、アミノ酸置換をともしない一塩基多型については日本人コントロールを用いて今後検討を重ねていく予定である。

#### E. 結論

日本人の家族歴を有するMA患者において既報のCACNA1A遺伝子変異は認められなかった。

#### <文献>

1. Devoto M et al Segregation analysis of migraine in 128 families. *Cephalalgia* 1986;6:101-105
2. D'Amico D et al Genetic transmission of migraine without aura: a study of 68 families. *Ital J Neurol Sci* 1991; 12:581-584
3. Russell MB et al Familial occurrence of migraine without aura and migraine with aura. *Neurology* 1993; 43:1369-73
4. Russell MB et al The genetics of migraine without aura and migraine with aura. *Cephalalgia* 1993; 13:245-8
5. Mochi M et al Testing models for genetic determination in migraine. *Cephalalgia* 1993;13:389-94
6. Larsson B et al . Genetic influence in headaches: a Swedish twin study. *Headache* 1995; 35:513-9
7. Russel NW et al. Inheritance of migraine investigated by complex segregation analysis. *Hum Genet* 1995; 96:726-30
8. Kalfakis N et al. Migraine with aura. Segregation and heritability estimation. *Headache*1996; 36:320-2
9. Ulrich V et al . Evidence of a genetic factor in migraine with aura: a population -based Danish twin study. *Ann Neurol* 1999; 45:242-6
10. Joutel A et al . A gene for familial hemiplegic migraine maps to chromosome 19. *Nat Genet* 1993; 5:40-45
11. Headache classification of the International Headache Society : *Cephalalgia* , 1988; 8 ( suppl 7: 1-96
12. Ophoff RA et al. Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca<sup>2++</sup> channel gene CACNL1A4. *Cell* 1996;87: 543-52
13. Ducros A et al. Characterization of CACNA1A

- mutations in familial and sporadic hemiplegic migraine. Neurology 1999;52(Suppl.2):A273-4
14. Gardner K et al. A new mutation in the Chr19p calcium channel gene CACN1A4 causing hemiplegic migraine with ataxia. Neurology 1999;52 (Suppl. 2):A1115
15. Ducros A et al. Recurrence of the T666M calcium channel CACNA1A gene mutation in familial hemiplegic migraine with progressive cerebellar ataxia. Am J Hum Genet 1999;64:89-98
16. Battistini S et al. A new CACNA1A gene mutation in acetazolamide-responsive familial hemiplegic migraine and ataxia. Neurology 1999;53:38-43
17. Vahedi K et al. Sporadic hemiplegic migraine with de novo CACNA1A missense mutation. Neurology 1999; (Suppl.2):A274
18. Hovatta I et al. Familial migraine: exclusion of the susceptibility gene from the reported locus of familial hemiplegic migraine on 19p. Genomics 1994; 23: 709-9
19. May A et al . Familial hemiplegic migraine locus on 19p13 is involved in the common forms of migraine with and without aura. Hum Genet 1995;96:604-8
20. Nyholt DR et al. Familial typical migraine: linkage to chromosome 19p13 and evidence for genetic heterogeneity. Neurology 1998;50:1428-32
21. Monari L, Searching for migraine genes: exclusion of 90 cM out of the whole human migraine genome. Ital J Neurol Sci 1997;1(8):277-82
22. Kim JS et al . Familial migraine with vertigo: no mutations found in CACNA1A. Am J Med Genet 1998; 79:148-5
- F.健康危険情報  
なし
- G. 研究発表  
1. 論文発表  
なし  
2. 学会発表  
なし
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)  
1. 特許取得  
なし  
2. 実用新案登録  
なし  
3. その他  
なし

## 多施設共同研究を基盤とした片頭痛の分子遺伝学的研究

分担研究者 辻 省次 東京大学大学院医学研究科脳神経医学専攻神経内科 教授

### 研究要旨

本研究では、多施設共同研究体制を構築し、片頭痛の発症に関与する遺伝子要因を解明することを目的として、研究体制の構築に関する検討を行った。片頭痛の発症に関与する遺伝子要因を解明するためには、罹患同胞対の集積を基盤とするノンパラメトリック連鎖解析と、case-control studyに基づく相関解析の2つのアプローチを統合して行うことが重要であると考えられた。これを実現していくための検体収集、臨床データベースの構築、研究の推進体制についての検討を行った。

#### A. 研究目的

本研究では、多施設共同研究体制を構築し、片頭痛の発症に関与する遺伝子要因を解明することを目的とする。

#### B. 研究方法

研究を推進していく上で大規模遺伝子多型解析をどのようなアプローチで進めることが重要であるかについての検討を行った。これを実現していくための検体収集、臨床データベースの構築、研究の推進体制についての検討を行った。倫理面についても、3省庁合同ガイドラインに基づき検討を行った。

#### C. 研究結果および考察

片頭痛の発症に遺伝的要因が関与することは確実であると考えられるが、その遺伝形式については、複数の遺伝子が関与する多遺伝子性遺伝の可能性、浸透率の低い常染色体優性遺伝の可能性が考えられる。従って、片頭痛の発症に関わる遺伝的要因を同定するアプローチとしては、通常行われている連鎖解析が必ずしも適切でないと考えられる。すなわち、遺伝形式をあらかじめ設定して解析するパラメトリック連鎖解析よりは、遺伝形式に依存せず連鎖解析ができるノンパラメトリック連鎖解析のア

プローチが望ましいと考えられる。具体的には、一定の診断基準を設定し、その基準を満たすような罹患同胞対の集積を行って、ノンパラメトリック連鎖解析を行うことが望ましいと考えられる。一方、片頭痛の病態機序についてはこれまでの研究成果からセロトニンの動態の異常などが指摘されており、そのような病態機序に基づき候補遺伝子を設定してアプローチをする方法も、連鎖解析を補完するものであると期待される。従って、大規模患者-対照研究というアプローチも重要であると考えられる(図)。

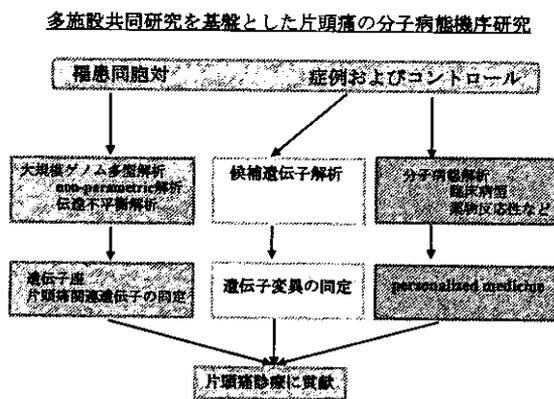
このような解析を進めていく上で最も重要なことは、正確な臨床診断に基づき、大規模な検体収集と臨床データベースの構築を実現することである。検体収集を効率よく実施していくために、現場で実施がしやすいようなシステムの構築が必須であると考えられる。

具体的には、つぎのような課題が重要であると考えられる。

1. 研究班内に研究推進委員会の設置
2. 研究班内に倫理委員会の設置
3. 共同研究施設の設定(遺伝子倫理審査委員会への書類の作成)
4. コントロールの検体をどのように収集するか。

5. 依頼票の中にどのような項目を盛り込むべきか。
6. 検体の流れ、匿名化作業に問題はないか。
7. 患者に有用な情報をフィードバックすべきか。
8. 全ての検体を cell line 化するか。
9. ゲノム DNA 抽出, cell line 化をアウトソーシングすることの問題点は何か。
10. 費用負担をどのように考えるか。

図. 多施設共同研究を基盤とした片頭痛の分子病態機序研究



#### E. 結論

これらの問題点を、本研究班において、検討をし指針を決定して研究の推進をすることが必要である。

#### F. 研究発表

1. Funayama, M., Hasegawa, K., Kowa, H., Saito, M., Tsuji, S. and Obata, F.: A new locus for Parkinson's disease (PARK8) maps to chromosome 12p11.2-q13.1. *Annals of Neurology* 51(3): 296-301, 2002
2. Takahashi T., Igarashi S., Kimura T., Hozumi I., Kawachi I., Onodera O., Takano H., Saito M. and Tsuji S.: Japanese cases of familial hemiplegic migraine with cerebellar ataxia

carrying a T666M mutation in the CACNA1A gene. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 72: 675-680, 2002

3. Arai, A., Tanaka, K., Igarashi, S., Kobayashi, H., Asaka, T., Date, H., Saito, M., Tanaka, H., Kawasaki, S., Uyama, E., Mizusawa, H., Fukuhara, N. and Tsuji, S.: A novel mutation in the GNE gene and a linkage disequilibrium in Japanese pedigrees. *Ann Neurol* 52:516-519,2002
4. Silveria, I., Miranda, C., Guimarães, L., Moreira, M.-C.,Alonso,I., Mendonça, P., Ferro, A., Pinto-Basto, J., Coelho, J., Ferreirinha, F., Poirier, J., Parreira, E., Vale, J., Januário, C., Barbot, C., Tuna, A., Barros, J., Koide, R., Tsuji, S., Holmes, S.E., Margolis, R.L., Jardim, L., Pandolfo, M., Coutinho, P. and Sequeiros, J.: Trinucleotide repeats in 202 families with ataxia. A small expanded(CAG)<sub>n</sub> allele at the SCA17 locus. *Arch Neurol* 59: 623-629, 2002

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

## 片頭痛における transient 型パターンリバーサル視覚誘発電位(VEP)の特徴

分担研究者 岩田 誠 東京女子医科大学脳神経センター 所長

研究要旨：発作間歇期の前兆を伴わない片頭痛 (MO) と前兆を伴う片頭痛 (MA) に対し、VEP を施行しその特徴について検討したところ、1) MO、MA ともに潜時には異常はみられず、2) MA において VEP の振幅が有意に増大し、3) 高振幅の VEP を伴うものは左右での振幅差がみられ、4) 前兆のみで頭痛を伴わない片頭痛においても典型的な前兆を伴う片頭痛と同様な所見がみられた。これは、前兆を伴う片頭痛における特徴的な後頭葉での潜在性の機能異常を反映する所見であると考えられた。

### A. 研究目的

片頭痛は有病率からみても頻度の高い神経疾患の一つである 1)。片頭痛の発症の機序に関しては、血管説、神経説、三叉神経血管説が提唱されているがいまだ病態は明らかにされていない。transient 型の視覚誘発電位 (VEP) は図形反転の刺激が 4 Hz 以下で誘発される視覚誘発電位で、波形の解析が容易であることから広く臨床応用されている 2)。今回われわれは片頭痛のなかで特異的な症状である前兆症状に注目し、発作間歇期における片頭痛の視機能を VEP を用いて検討した。

### B. 研究方法

対象は最初に発作間歇期の頭痛を伴わない片頭痛 (MO) 19 例 (男 4、女 15)、年齢 20-62 歳 (平均 40.3)、前兆を伴う片頭痛 (MA) 14 例 (男 5、女 9)、年齢 20-70 歳 (47.6)、健常対照群 43 名で検討した。次に、MA の亜型である典型的な前兆を伴う片頭痛 (MtA) 20 例 (男 5、女 15)、年齢 20-62 歳 (平均 40.7)、前兆のみで頭痛を伴わないもの (ME) 19 例 (男 6、女 13)、年齢 20-70 歳 (平均 47.6)、健常対照群名 34 名についても検討した。50 歳以上では VEP の潜時、振幅ともに加齢変化が明らかになることよりそれぞれの群を 49 歳以下と 50 歳以上に分けて検討した。また、前兆出現側に注目し前兆出現側 (左または右側) と VEP 所見と

の相関についても検討を加えた。片頭痛の診断は国際頭痛学会の診断基準にもとづき行い、前兆症状は視覚性前兆を伴うものとした。

VEP は黒白格子縞模様の反転の時間間隔 1 Hz (2 回/秒)、チェックサイズ 30 分、コントラスト 80%、全視野・単眼刺激、分析時間 200 ms、加算回数 100 回で施行した。記録電極は後頭結節から上方 5 cm の正中後頭部 (MO)、基準電極は鼻根部から上方 12 cm に置いた。VEP については N75、P100、N145 の各潜時、N75-P100 振幅、P100-N145 振幅について 2 回施行した平均値を検討した。MtA と ME の検討では記録電極を MO から左右に 5 cm 側方の後頭部電極 (LO、RO) にも置き、左右の振幅差を算出した。振幅差は、LO で 2.8  $\mu$ V、RO で 2.6  $\mu$ V の場合、 $(2.8-2.6/2.8) \times 100 = 7\%$  と計算した。

(倫理面への配慮)

全例からインフォームドコンセントを得て検査を行った。

### C. 研究結果

MO と MA についての検討では、N75、P100、N145 の各潜時に有意な差はみられなかったが N75-P100 振幅は健常対照群に比較して有意な振幅の増大が認められた。P100-N145 振幅については有意な差は認められなかった。MtA と ME の検討では P100 成分 (P100 潜時、P100 振幅、N75-P100 振幅) について行った。両

群ともに正中後頭部とともに前兆出現と反対側の頭皮上の電極部位で健常対照群と比較し有意な振幅の増大が認められた。この所見は49歳以下と50歳以上のいずれの群においても同様に認められた。振幅差については49歳以下のMtA、MEと50歳以上のMEにおいて有意な増大を認めた。

#### D. 考察

片頭痛のVEPを用いた研究についてはこれまで21の報告がある。しかし、その結果は、正常、潜時の延長、振幅の増大などであり一定の見解に達していないが、本研究と同様の高振幅VEPを示す報告もある。VEPの刺激条件のうちチェックサイズ、反転の時間間隔の条件については、もっとも陽性率が高いものはチェックサイズが30～60分で反転の時間間隔が2 Hz未満で施行したものであると考えられる。今後、片頭痛における視機能の異常の特徴をより詳細に評価するために、コントラストなどの他の刺激条件を考慮した研究が必要である。

一般に健常者におけるVEPの頭皮上の分布は、左右の後頭部に電極を置いた時、正中後頭部を中心に左右対称性に記録される。後頭葉における脳梗塞で同名半盲を呈する病態では、半盲側でのVEPの振幅が低下する。本研究で認められた前兆出現側と反対側での高振幅VEPは、光過敏性てんかんにみられるような視覚野に両側性に広範囲に記録されるVEPの特徴と異なる<sup>5)</sup>。片頭痛においては、経頭蓋磁気刺激を用いた研究で、後頭葉における潜在性の抑制系の機能異常の存在も示唆されている。本研究でみられた所見はこのような視覚野における興奮性の変化を反映しているものと推測される。

#### E. 結論

振幅差を伴う高振幅のVEPは、刺激条件であるチェックサイズや反転の時間間隔からみた時、前兆を伴う片頭痛における特徴的な後頭葉での潜在性の機能異常を反映する所見であると考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- (1) 岩田 誠:頭痛診療の将来展望。診断と治療 90: 946-950, 2002
- (2) 橋本しをり、岩田 誠:新しい片頭痛治療薬 -Zolmitriptan。脳の科学 24: 275-279, 2002.
- (3) 柴田興一、岩田 誠:Eletriptan。成人病と生活習慣病 32: 759-766, 2002.
- (4) 岩田 誠: 特集 頭痛・疼痛 序文。神経進歩 46(3): 329-330, 2002.
- (5) 岩田 誠、篠原幸人: 対談 頭痛診療の新しい展開。成人病と生活習慣病 32: 689-700, 2002.
- (6) 福内靖男、岩田 誠、間中信也、筒井末春、花岡一雄: [座談会] 慢性頭痛の現状と今後の問題。日医雑誌 128: 1591-1606, 2002.
- (7) 柴田興一: 視覚前兆の神経生理学。神経研究の進歩 46: 377-389, 2002.

##### 2. 学会発表

- (1) 清水俊彦、岩田 誠: 患者嗜好度からみたスマトリプタン50 mgとエレクトリプタン20 mgによる比較試験。第30回日本頭痛学会総会 2002年11月22-23日, 横浜

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## 慢性頭痛ガイドライン作成のためのエビデンスの収集・整理と 片頭痛の病因・病態へのサイトカインの関与の検討

分担研究者：中島健二 鳥取大学医学部・脳神経内科 教授

研究協力者：井尻珠美，福原葉子，古和久典，竹島多賀夫

(鳥取大学医学部・脳神経内科)

要旨：ガイドライン作成のためには臨床試験等の結果を網羅的に収集し解析する必要がある。日本神経学会の頭痛治療ガイドライン委員会が収集した資料を基礎として新たな情報，文献等を追加収集した。次に論文，資料等の各エビデンスの整理と抄録の電子化に着手しデータベースの構築を進めている。片頭痛の三叉神経血管説によれば神経原性炎症が片頭痛発作の中心的病態で，慢性炎症や炎症準備状態が片頭痛の発症閾値を変化させている可能性がある。協力が得られた片頭痛患者 69 例と非頭痛健常対照 55 例において 3 種類の血清サイトカイン (IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ ) を発作間欠期に測定した。片頭痛において TNF- $\alpha$  濃度が有意に低下しており，炎症反応のメディエーターとして片頭痛への関与が示唆された。

### A. 研究目的

片頭痛をはじめとした慢性頭痛の治療ガイドラインを根拠に基づいた方法で作成するために必要なエビデンスの収集と，病因・病態を解明することを目的として頭痛治療文献の収集と解析方法を検討し，また，片頭痛患者において炎症性サイトカインの変動を検討した。

### B. 研究方法

これまでに作成されている頭痛治療ガイドラインについて調査し，問題点を検討し本研究におけるガイドライン作成方法について検討を行った。国内・国外で過去に公開されている頭痛治療ガイドライン<sup>1,2)</sup>を検証するとともに，エビデンスの収集と整理を行う方法につき検討した。

また，鳥取大学医学部・脳神経内科，頭痛外来を受診した患者で，国際頭痛学会の診断基準<sup>3)</sup>に従い片頭痛又は緊張型頭痛と診断した慢性頭痛患者のうち，本研究への参加に文書で同意がえられた頭痛患者 105 例 (片頭痛 69 例，緊張型頭痛 36 例) の頭痛発作間欠期に静脈血を採取した (表 1)。

非頭痛健常対照 55 例も同様に採血した。検体は血清分離したのち凍結保存した。血清中 IL-6, 8, TNF- $\alpha$  は各々 Bender medsystems 社製 human ELISA を用いて測定した。統計学的な検定には ANOVA (有意水準  $p=0.05$ ) を用いた。

表 1 対象

	例数	男:女	平均年齢 $\pm$ SD(才)
非頭痛健常対照 (CTL)	55	24:31	32.5 $\pm$ 8.7
片頭痛患者 (MIG)	69	21:48	34.1 $\pm$ 13.4
前兆を伴う片頭痛	16	6:10	36.4 $\pm$ 16.1
前兆を伴わない片頭痛	53	15:38	33.5 $\pm$ 12.6
緊張型頭痛患者 (TH)	36	12:24	35.2 $\pm$ 8.7

### C. 研究結果

片頭痛治療に関する文献を PubMed を用いて検索し 2002 年 8 月までに公開されているものはすべて収集した。書誌情報は Reference Manager (ISI 社製データベースソフトウェア) を用いて検索可能な形式で電子化データとして保存した。また，Reference Manager と連携をとり，Microsoft Access を用いて，文献のアブストラクトテーブルを作成し，一部はアブストラクトフォームの作成を試みた。

サイトカイン濃度は IL-6 は健常対照群 23.4 $\pm$ 3.2(平均 $\pm$ S.E.) pg/ml，片頭痛群 11.0 $\pm$ 4.6pg/ml，緊張型頭痛群 18.8 $\pm$ 6.5pg/ml であった (図 1)。IL-8 は健常対照群 120.8 $\pm$ 48.4pg/ml，片頭痛群 65.8 $\pm$ 22.7 pg/ml，緊張型頭痛群 187.0 $\pm$ 31.2pg/ml であった (図 2)。TNF- $\alpha$  は健常対照群 70.0 $\pm$ 3.3pg/ml，片頭痛群 51.8 $\pm$ 6.2pg/ml，緊張型頭痛群 84.0 $\pm$ 5.2pg/ml であった (図 3)。TNF- $\alpha$  濃度において片頭痛群，緊張型頭痛群ともに対照群と比較し有意に低値であり，また片頭痛群と緊張

張型頭痛群の比較では片頭痛群で有意に低値であった。IL-6,8では統計学的な有意差は認められなかった。

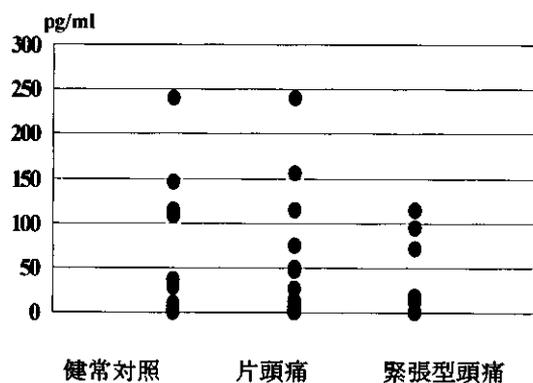


図1 血清 IL-6 濃度

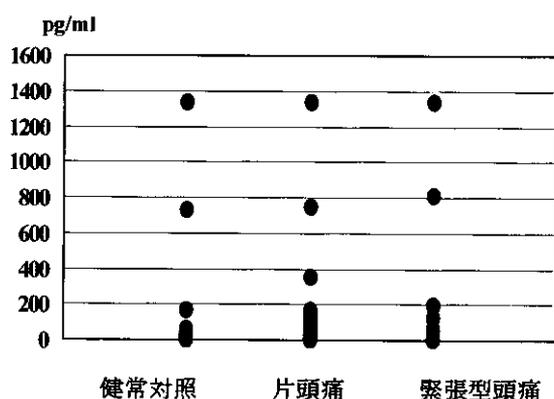


図2 血清 IL-8 濃度

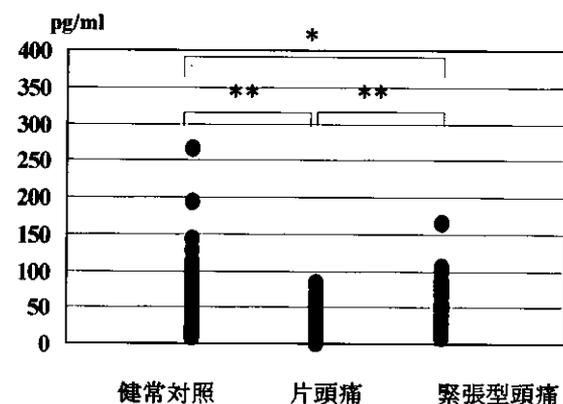


図3 血清 TNF-α 濃度 \* : p<0.05

#### D. 考察

慢性頭痛の代表である片頭痛は本邦では840万人以上が罹患している疾患<sup>4)</sup>であり、緊張型頭痛など他の慢性頭痛も含めるとさらに多くの患者が医療を必要としている。本邦の頭痛診療の向上のためにはガイドラインの作成とともに頭痛に関する知識の普及とそのための頭痛に関する情報を充実し、本邦の医師、薬剤師をはじめとする医療提供者と頭痛患者が

容易にアクセスすることができる必要がある。ガイドラインとして治療薬の選択肢を呈示すること、それぞれの治療薬のエビデンスの質を吟味し明示することが必要であるが、我が国において頭痛診療が向上するためには、これらに加えて、エビデンスとしての研究報告の具体的内容に比較的容易に参照できるデータベースの公開が必要と考えられる。膨大な量のエビデンスを収集整理し、アブストラクトフォームを作成し公開する必要がある。

TNF $\alpha$ は多機能サイトカインで単球、マクロファージなどが産生している。その作用は多岐にわたっており、抗腫瘍・抗ウイルス活性の増強作用や、生体防御反応、細胞機能の調節において重要な役割を果たしており、慢性炎症性疾患では増加しており、種々の炎症反応のメディエーターとして知られている。今回の我々の検討では頭痛発作間欠期の片頭痛患者及び緊張型頭痛患者ではともに健常対照群よりも有意に血清 TNF $\alpha$ が低値であり、片頭痛群で特に顕著であった。これまでに慢性頭痛における TNF $\alpha$ の検討は7報あり、血清 TNF濃度を測定した報告は4件あり、Martelletti<sup>5)</sup>は健常対照群と比較して発作間欠期片頭痛患者の血清 TNF- $\alpha$ が有意差はないものの低値であったと報告している。発作間欠期に低値を示すメカニズムはさらなる検討が必要であるが、免疫系の慢性的異常の存在により基礎分泌が低下している可能性、頭痛発作時に TNF $\alpha$ 分泌が亢進して、その後のフィードバックにより間欠期では分泌が抑制されている可能性、頭痛発作期の過剰分泌により TNF $\alpha$ が枯渇する可能性などが考えられる。頭痛発作時の TNF $\alpha$ 濃度を継続的に観察することなどによりさらなる検討が必要である。

#### E. 結論

慢性頭痛ガイドライン作成のためのエビデンスの収集・整理について方法論と電子化の必要性を検討した。片頭痛及び慢性緊張型頭痛患者において頭痛間欠期に血清 TNF- $\alpha$ が低下していることが明らかになった。

#### 文献

1. Silberstein SD, US Headache Consortium : Practice parameter: Evidence-based guidelines for migraine headache (an evidence-based review) - Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 55: 754-762, 2000

2. 慢性頭痛治療ガイドライン作成小委員会, 坂井文彦, 荒木信夫, 五十嵐久佳, 濱田潤一, 作田学, 平田幸一, 鈴木則宏, 竹島多賀夫, 山根清美, 若田宣雄, 岩田誠, 中島健二. 日本神経学会治療ガイドライン 慢性頭痛治療ガイドライン2002. 臨床神経 42: 330-362, 2002
3. Headache Classification Committee of the International Headache Society : Classification and diagnostic criteria for headache disorders, cranial neuralgias and facial pain. *Cephalalgia* 8 Suppl 7: 1-96, 1988
4. Sakai F, Igarashi H : Prevalence of migraine in Japan: a nationwide survey. *Cephalalgia* 17: 15-22, 1997
5. Martelletti P, Stirparo G, Giacobozzo M : Proinflammatory cytokines in cervicogenic headache. *Funct Neurol* 14: 159-162, 1999

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Ishizaki K, Mori N, Takeshima T, Fukuhara Y, Ijiri T, Kusumi M et al. Static stabilometry in patients with migraine and tension-type headache during a headache-free period. *Psychiatry Clin Neurosci* 56: 85-90, 2002.
- 2) 石崎公郁子, 竹島多賀夫, 井尻珠美, 福原葉子, 中島健二. Hemicrania continua の1例 : 本邦第1例. 臨床神経 42 ; 754-756, 2002.
- 3) 井尻珠美, 竹島多賀夫, 石崎公郁子, 福原葉子, 古和久典, 中島健二. 頭痛患者における helicobacter pyroli 感染率の検討. 日本頭痛学会誌 29 : 75-77, 2002.
- 4) 古和久典, 石崎公郁子, 井尻珠美, 楠見公義, 竹島多賀夫, 中島健二. 片頭痛患者における ecNOS 遺伝子 4b/a 多型性の検討. 日本頭痛学会誌 29 : 32-33, 2002
- 5) 福原葉子, 竹島多賀夫, 石崎公郁子, 井尻珠美, 楠見公義, 古和久典, 中島健二. 頭痛 QOL スケールの開発と

薬物療法の評価 : 塩酸ロメリジンの検討. 日本頭痛学会誌 29 : 141-143, 2002

- 6) 竹島多賀夫, 井尻珠美, 福原葉子, 楠見公義, 古和久典, 足立芳樹, 中島健二. 片頭痛の遺伝子研究. 神経研究の進歩 46 : 351-359, 2002.

### 2. 学会発表

- 1) ACE 阻害薬が片頭痛様発作予防に有効であった1例. 古和久典, 竹島多賀夫, 福原葉子, 井尻珠美, 荒木治子, 中島健二. 第30回日本頭痛学会総会, 平成14年11月22日・23日, 横浜
- 2) 頭痛治療のEBM : Ca拮抗薬のエビデンス解析. 福原葉子, 竹島多賀夫, 井尻珠美, 荒木治子, 中島健二. 第30回日本頭痛学会総会, 平成14年11月22日・23日, 横浜
- 3) 頭痛治療のEBM :  $\beta$ 遮断薬のエビデンス解析. 井尻珠美, 竹島多賀夫, 福原葉子, 荒木治子, 中島健二. 第30回日本頭痛学会総会, 平成14年11月22日・23日, 横浜
- 4) 頭痛治療のEBM : 抗てんかん薬のエビデンス解析. 荒木治子, 竹島多賀夫, 井尻珠美, 福原葉子, 足立芳樹, 中島健二. 第30回日本頭痛学会総会, 平成14年11月22日・23日, 横浜
- 5) 慢性頭痛患者では頭痛発作間欠期の血清 TNF- $\alpha$  が低下している. 井尻珠美, 竹島多賀夫, 石崎公郁子, 福原葉子, 楠見公義, 古和久典, 中島健二. 第30回日本頭痛学会総会, 平成14年11月22日・23日, 横浜
- 6) 慢性頭痛患者における Helicobacter pylori, Chlamydia pneumoniae 感染率の検討. 井尻珠美, 竹島多賀夫, 石崎公郁子, 福原葉子, 中島健二. 第43回日本神経学会総会, 平成14年5月29~31日, 札幌.

## 片頭痛患者における免疫アレルギー学的背景の検討

分担研究者 吉良潤一 九州大学大学院医学研究院附属脳神経病研究施設神経内科 教授  
研究協力者 徳永秀明 小副川学

九州大学大学院医学研究院附属脳神経病研究施設神経内科

### A. 研究目的

片頭痛と気管支喘息やアレルギー性鼻炎、花粉症といった気道アレルギーとの関連は以前から報告があり、我々の以前に行なった **prospective study** でも片頭痛にアレルギー性鼻炎の合併が多くみられた。また、片頭痛と血小板の関連はセロトニンをはじめ多数の報告がなされている。そこで、片頭痛患者における免疫アレルギー学的背景を検討した。

### B. 研究方法

対象は、発作間欠期の前兆のない片頭痛患者 11 例、健常対照 12 例。片頭痛の診断基準としては 1988 年国際頭痛学会の診断基準を基にした。方法は、片頭痛患者群および健常対照群にアレルギー問診を行なった。クエン酸加末梢血を用いて血清 IgE の測定を ELISA 法で行った。血小板低親和性 IgE 受容体である CD23 を抗 CD23 抗体で、さらに血小板マーカーとして CD41 を抗 CD41 抗体にて二重染色を行い、その割合をフローサイトメトリー法にて測定した。また、同時に CD4 陽性リンパ球、CD28 陽性リンパ球（活性化リンパ球）の CD23 発現率も測定した。

### C. 研究結果

アレルギー問診の結果では患者群で 11 例中 4 例 (36%)、対照群で 12 例中 2 例 (17%) のアレルギー疾患の合併があり、両群の間に有意差を認めなかった。血清 IgE は患者群で 1 例高値を示したのみであった。CD23 を発現している CD4 陽性リンパ球、CD23 を発現している CD28 陽性リンパ球の割合は患者群と対照群と

で有意差を認めなかった。しかし、CD23 を発現している血小板の割合は患者群で  $2.7 \pm 1.6\%$ 、対照群では  $11.9 \pm 10.1\%$  と著明な差を認め、患者群で対照群よりも有意に低下していた。

### D. 考察

CD23 は IgE により **upregulate** されること、片頭痛がアレルギー疾患と関連があるということから、患者群では対照群よりも高値になると予想していたが、それとは逆の結果となった。今回は片頭痛の発作間欠期について検討しており、今後発作期についても検討していく必要があると思われる。

### E. 結論

前兆のない片頭痛患者群の発作間欠期では、健常対照群と比較して血小板 CD23 の発現量が有意に低値であった。今後の課題として片頭痛の発作間欠期と発作期における CD23 発現量の比較検討を行い、その意義を明らかにしていく必要があると考えた。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

## 片頭痛と一酸化窒素

分担研究者 福内 靖男 足利赤十字病院 院長  
研究協力者 濱田 潤一 慶應義塾大学内科学教室（神経内科）専任講師

要旨 我々は、片頭痛の病態生理を多方面から生化学的に検討している。今回は、一酸化窒素(NO)と片頭痛との関連について検討した。片頭痛患者では、発作間欠期においてもNO産生能の亢進状態が存在すること、また他の神経ペプチドとの関連が正常コントロールと異なることを明らかにした。この結果より、片頭痛患者においては発作時ではない間欠期においてもNO産生能を含めた反応様式が異なることが考えられ、これが血管レベルで片頭痛の発症に関与していることが推測された。

### A. 研究目的

NOは、血管系においては内皮を介する拡張作用を有するとともに、神経系に対して対しても様々な神経伝達物質の作用を調節するmodulatorの作用を有する。しかも、神経保護的な作用と神経障害性の作用をともに有することから、様々な神経疾患への関与が考えられてきた。一方、片頭痛の病態生理を説明する仮説として、従来の血管説と神経説に加えて三叉神経血管説が、現象を比較的合理的に説明できることから最近提唱されている。しかし、未だにこれらだけでは説明できない臨床症状があることも事実であり、我々はもっと領域の広い、神経系と血管系双方に要因がありしかもこれらの異常が同時平行的に進行するようなメカニズムを推測し、検討している。そこで、今回は神経系と血管系のいずれにも作用を有するNOの片頭痛の病態生理への関与について、ヒトの血漿を使用して検討を行った。

### B. 研究方法

前兆を伴う片頭痛および前兆を伴わない片頭痛患者を45例と、年齢をマッチさせた健常コントロール10例に対して、以下の様な検査を施行した。ただし、全例に対してすべての項目の分析を行っているわけではない。

1. 検査前日の午後9時30分（検査12時間前）以後の禁酒・禁煙・禁食の条件を守ってもらう。また、飲水は可とするが、カフェインを含む飲料は禁止した。

2. 以上の条件で、午前9時30分より以下の検査を行う。

3. なお、検査の直前3日前までに片頭痛発作が出現したり、薬剤を服用していたり月経時の患者は検査を施行せず、極力条件を均一化する様に努めた。

4. 以上の条件で、左の肘部上腕動脈にて23ゲージのテフロン針を刺入し、留置・固定後トランスデューサーを連結し、血圧を連続的に記録する。この条件で30分以上の仰臥位にての安静を保持する。

5. 血圧の変化が比較的安定した状態に

あることを確認したうえで、緩徐に動脈血を定速にて採取する。もし、以下に述べる様な L-arginine などの静脈内投与前後に血液を採取する場合は投与前より投与中・投与後にわたり血圧変動についても注意を払った。

6. 採取した動脈血は、直ちに血漿分離を行い、すぐに以下に述べる様な物質の定量を行った。なえ、生化学的な定量を後日行う場合は、 $-80^{\circ}\text{C}$  で冷凍保存して、定量時に解凍して使用した。

7. アミノ酸 (アルギニン、シトルリン) は、高速液体クロマトグラフを使用して定量した。

8. L-arginine 静脈内負荷テストは、L-arginine 500mg/kg を30分間かけて静脈内に点滴静注して、その前後に血圧の変化を観察した。また、投与前後に動脈血を採取して神経ペプチドをラジオイムノアッセイで定量した。

9. NO を直接定量することは困難であり、このため血漿中の nitrite を定量した。Nitrite は、Griess 反応と比色法により定量した。

## C. 結果

### 1. 血中アミノ酸濃度

血中アルギニン濃度は、前兆を伴う片頭痛および前兆を伴わない患者ともに健常コントロールに比較して、有意に低値を示した。

血中シトルリン濃度は、片頭痛の患者群では、健常コントロールとの間に有意な差を認めなかった。

### 2. L-arginine 負荷試験

L-arginine を静注すると、健常コントロ

ールにおいて軽度の血圧低下 (平均動脈血圧の低下) を認めるが、片頭痛患者群においてはこの血圧低下の程度がコントロールに比べて有意に大であった。

血漿中の各種の神経ペプチドを L-arginine 投与前後で比較すると、substance P 濃度は投与後に有意に低下するが、健常コントロールと片頭痛群との間に差は認めなかった。

次に、calcitonin gene-related peptide (CGRP) について同様に比較したところ、健常コントロールでは、CGRP の濃度は有意に低下を示したが、片頭痛群では投与前後で CGRP 濃度の変化を認めなかった。また、human atrial natriuretic peptide (hANP) についても同様に検討したが、健常コントロールでは hANP 濃度は投与後で投与前に比べて有意に高値を示したが、片頭痛患者でも同様な変化を示した。他方、血管収縮性のペプチドである endothelin-1 についても検討したが、健常群でも片頭痛群でも L-arginine 投与前後で有意な変化を認めなかった。

血中 nitrite 濃度についても L-arginine 負荷前後で比較を行った。健常コントロールでは L-arginine 投与前後で血漿中の nitrite 濃度は有意な変化を認めなかった。しかし、片頭痛患者群では L-arginine の投与前に比べて、投与後に nitrite 濃度は有意に高値を示した。また、この時血圧低下の程度と nitrite 濃度は有意な相関を有した。

## D. 考察

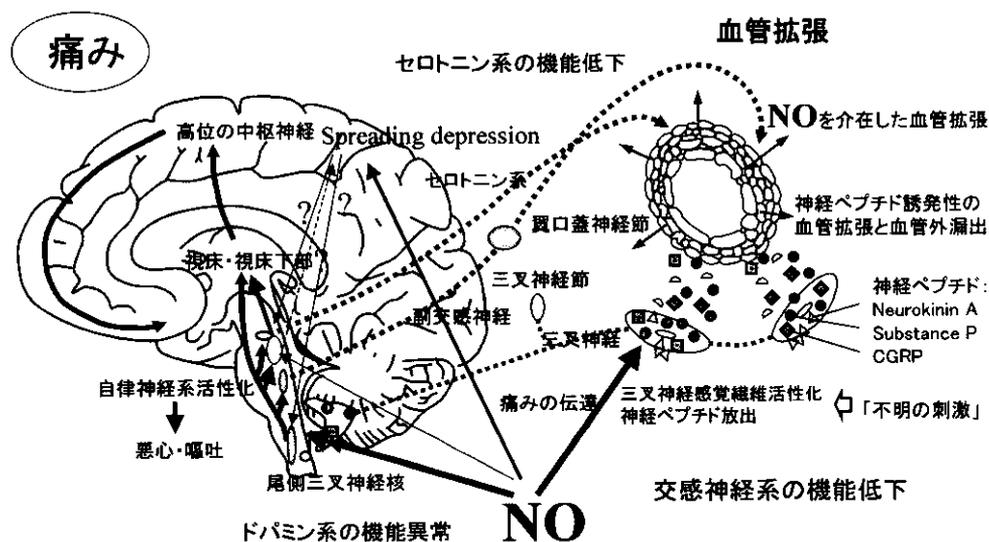
NO 産生の基質となるアルギニンとシトルリン濃度の結果から、少なくとも血漿中において片頭痛間欠期において、NO の産

生が亢進している可能性が推測された。また、L-arginine の負荷テストでは、nitirte 濃度と血圧変動の程度から片頭痛患者では有意に NO 産生能が亢進していることが示された。また、神経ペプチドのなかで CGRP の反応性の差から、片頭痛患者では CGRP と NO の連関が機能的な異常を呈している可能性が考えられた。

三叉神経血管説に見られる様に、三叉神経により過剰な脳または硬膜血管の拡張反応が痛みとして感じられると同時に、三叉神経末端より放出される CGRP などの神経ペプチドがさらに血管拡張をさらに著明にさせる。我々のデータでは、必ずしも脳よりサンプリングを行っているわけではなく、通常の動脈血を使用しているが、このような型で血管内での血管作動性物質の変化が認められた。全身の血管における神経ペプチドや血管作動性物質の起源は明らかではないが、脳血管と同様な支配があるとすれ

ば、よく合致する結果であり、また血管において NO が関与することも矛盾しない結果と考えられる。また、CGRP などの神経ペプチドと NO の関連については、ペプチドが放出されるシナプスレベルでの作用と、より中枢における三叉神経核や痛覚処理系に含まれる諸神経核における CGRP と NO 合成酵素との関連からこれらの部位での NO の作用などが動物実験より推測されており、NO は血管および神経系において作用を有し、病態生理に関与するものと考えられる (図)。今後、さらに NO 産生系に関与する様々な物質の代謝系の検討を行う必要がある。

図 血管・神経系を中心とする片頭痛のメカニズムとNO



# ラット片頭痛モデルの脳血流増加現象に及ぼす CGRP 受容体阻害および 5-HT<sub>1B/1D</sub> 受容体刺激の影響に関する研究 —片頭痛発作における CGRP の重要性について—

分担研究者 鈴木則宏 北里大学医学部内科（神経内科）助教授

研究協力者 福田倫也 北里大学医学部内科（神経内科）

塚原信也 北里大学医学部内科（神経内科）

研究要旨：片頭痛の病態に関しては様々な研究が行われているものの、まだその発症機序は完全には明らかではない。片頭痛動物モデルを用いた片頭痛発作の病態解明のため、ラットの三叉神経脳血管枝である、鼻毛様体神経を頭蓋外で電気刺激するラット片頭痛発作モデルを作成し、このモデルを用いて、片頭痛発作時の局所脳血流変化および脳血管拡張に関与する神経伝達物質とその受容体との関連について検討を行った。結果として、鼻毛様体神経電気刺激にて刺激同側脳表血流と刺激対側視床血流が増加すること、この脳血流増加現象が、5-HT<sub>1B/1D</sub> 受容体刺激および CGRP 受容体阻害で抑制され、NK<sub>1</sub> 受容体阻害で抑制されないことが明らかとなった。この結果から、片頭痛発作時の脳血管拡張には、三叉神経終末から放出される SP, NKA, CGRP の関与が考えられるが、中でも CGRP がその受容体を介して、脳血管拡張に強く関与していることが推察された。

## A. 研究目的

片頭痛の患者は多く、過去の疫学的統計では日本人の 8.4% が片頭痛に罹患していると報告された。しかし、片頭痛の病態に関しては様々な研究が行われているものの、まだその発症機序は完全には明らかではない。より有用な治療を目指して原因に関する研究が行われており、片頭痛の発症機序に関しては、血管説、神経説、三叉神経血管説が提唱されてきた。現在では、三叉神経血管説が、セロトニン受容体の片頭痛治療への応用から注目されるようになり、最も有力な説となっている。三叉神経血管説と密接な関連があるニューロトランスミッターとして calcitonin gene related peptide (CGRP)、substance P (SP)、neurokinin A (NKA) がある。三叉神経の軸索に何らかの刺激が作用し、これらのニューロトランスミッターが遊離され、neurogenic inflammation が発生し、血管拡張、血漿蛋白の漏出と肥満細胞の脱顆粒が生じる。これにより、三叉神経では痛覚を中枢へ伝える順行性伝導が生じ痛みを起こすと考えられている。また、CGRP

は、片頭痛の発作期に静脈血中の濃度が上昇することが報告されている。一方セロトニン 5-HT<sub>1B/1D</sub> 受容体の agonist である sumatriptan succinate が片頭痛の病態に影響を及ぼし発作を抑制しうることは既に明らかであるが、この機序として、sumatriptan succinate が脳血管周囲の三叉神経終末の受容体に結合し、SP, NKA, CGRP などの血管拡張性ニューロトランスミッターの放出を抑制していることが推察されている。しかし、neurogenic inflammation を引き起こす SP, NKA, CGRP とそれらが作用する受容体との関係や、また 5-HT<sub>1B/1D</sub> 受容体の neurogenic inflammation における役割には不明な点が多いのが現状である。そこで我々は、片頭痛動物モデルを用いた片頭痛発作の病態解明のため、従来の脳血管特異性が低い、三叉神経節刺激等による片頭痛動物モデルを用いるのではなく、新たにラットの三叉神経脳血管枝である、鼻毛様体神経を頭蓋外で電気刺激するラット片頭痛発作モデルを作成した（図 1）。

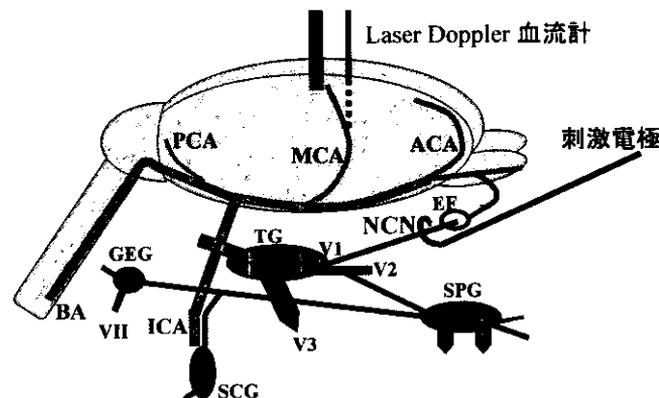


図1 ラット三叉神経鼻毛様体神経電気刺激モデル

図1：略号の説明

NCN：nasociliary nerve, TG：trigeminal ganglion, V1：ophthalmic nerve, V2：maxillary nerve, V3：mandibular nerve, SPG：sphenopalatine ganglion, GEG：geniculate ganglion, SCG：superior cervical ganglion, VII：facial nerve, EF：ethmoidal foramen, ICA：internal carotid artery, ACA：anterior cerebral artery, MCA：middle cerebral artery, PCA：posterior cerebral artery, BA：basilar artery

ラットにおいては、すでに三叉神経の脳血管への分布が詳細に研究されており、三叉神経第一枝が鼻毛様体神経を経由して前頭蓋窩に入り、脳血管に分布することが明らかとなっている<sup>5)</sup>。また、この神経の興奮が脳血管を拡張して脳血流を増加させ、硬膜血管より血漿蛋白漏出をきたすことが報告されており、我々のモデルにおいても鼻毛様体神経電気刺激で局所脳血流が増加することが確認された。そしてこのモデルを用いて、片頭痛発作時の脳血管拡張に関与する神経伝達物質とその受容体との関連を明らかにすることを目的とした。

#### B. 研究方法

以下に示す系統で実験を行った。

(1) ラット鼻毛様体神経電気刺激で起こる脳血流増加現象に与える血管内皮NK<sub>1</sub>受容体阻害と5-HT<sub>1B/1D</sub>受容体刺激の影響に関して：

体重340~380gの雄性Sprague-Dawleyラット13匹を腹腔内麻酔後、右頭頂部に骨窓を作成し、脳表及び刺激対側視床に相当する脳深部にLaser-Doppler血流計のプロローブを装着・

挿入した(図1)。鼻毛様体神経に刺激電極を固定し、コントロールとして電気刺激を30秒間行い、刺激開始より60秒後まで脳血流変化を観察した。次に、選択的NK<sub>1</sub>受容体阻害薬(SDZ NKT 343 400 μg/kg)を静脈内投与10分後同様に電気刺激を行い、脳血流の変化を観察した。最後に5-HT<sub>1B/1D</sub>受容体刺激薬(sumatriptan succinate 25 μg/kg)を静脈内投与10分後電気刺激を行い脳血流変化を観察した。刺激強度は各々、血圧等生理学的パラメーターに変動を及ぼさない値で設定した。統計学的分析は、反復測定分散分析(ANOVA)及び、post hoc検定としてBonferroni/Dunnを用いた。

(2) ラット鼻毛様体神経電気刺激で起こる脳血流増加に与えるCGRP受容体阻害と5-HT<sub>1B/1D</sub>受容体刺激の影響に関して：

体重340~380gの雄性Sprague-Dawleyラット7匹を腹腔内麻酔後、頭頂部に骨窓を作成し、脳表及び刺激対側視床に相当する脳深部にLaser-Doppler血流計のプロローブを装着・挿入した。鼻毛様体神経が篩骨孔に入る直前で

刺激可能な様に、刺激用双極電極を固定した(図1)。コントロールとして電気刺激を30秒間行い、刺激開始より60秒後まで脳血流変化を観察した。次に、CGRP受容体阻害薬(hCGRP 8-37, 60  $\mu$ g/kg)を静脈内投与10分後同様に電気刺激を行い、脳血流の変化を観察した。最後に5-HT<sub>1B/1D</sub>受容体刺激薬(sumatriptan succinate 25  $\mu$ g/kg)を静脈内投与10分後電気刺激を行い脳血流変化を観察した。刺激強度は各々、血压等生理学的パラメーターに変動を及ぼさない値で設定した。統計学的分析は、反復測定分散分析(ANOVA)を用いた。

### C. 研究結果

(1) 電気刺激により脳表血流は、コントロール群では刺激20秒後に104.4 $\pm$ 1.5%( $p < 0.05$ )と刺激前と比較して有意に増加した(図2)。また、SDZ NKT 343投与群においても刺激20秒後に104.2 $\pm$ 0.8%( $p < 0.05$ )と有意に増加した(図2)。一方、sumatriptan succinate投与群の電気刺激では脳表血流の増加は抑制された(図2、図3)。視床血流は、コントロール群では刺激30秒後106.3 $\pm$ 2.1%( $p < 0.05$ )と刺激前と比較して有意に増加した(図4)。また、SDZ NKT343投与群においても視床血流

は、刺激前と比較して30秒後105.3 $\pm$ 1.5%( $p < 0.05$ )と有意に増加した(図4)。それに対し、sumatriptan succinate投与群の電気刺激では視床血流の増加は抑制された(図4、図5)。脳表および視床血流の変化においてコントロール群、SDZ NKT343投与群とsumatriptan succinate投与群の血流増加は統計学的にも有意差をもってsumatriptan succinate投与群では抑制されていた。

(2) コントロール群において、脳表血流は刺激30秒後18.5 $\pm$ 7.7%( $p < 0.05$ )、視床血流は23.5 $\pm$ 9.9%( $p < 0.05$ )と刺激開始時と比較して有意差をもって増加した(図6、図7)。この電気刺激による脳血流増加現象は、CGRP受容体阻害群では刺激20秒後、脳表血流2.8 $\pm$ 1.4%、視床血流6.3 $\pm$ 2.0%と変化し、5-HT<sub>1B/1D</sub>受容体刺激群では刺激25秒後、脳表血流3.1 $\pm$ 2.1%、視床血流3.8 $\pm$ 1.5%と変化したが、いずれにおいても統計学的に有意な変化ではなかった。また、コントロール群との比較において、各群は有意差をもって抑制されていた(図6、図7)。一方、脳表および視床血流において、CGRP受容体阻害による脳血流増加抑制効果は、5-HT<sub>1B/1D</sub>受容体刺激とほぼ同等の効果であった。

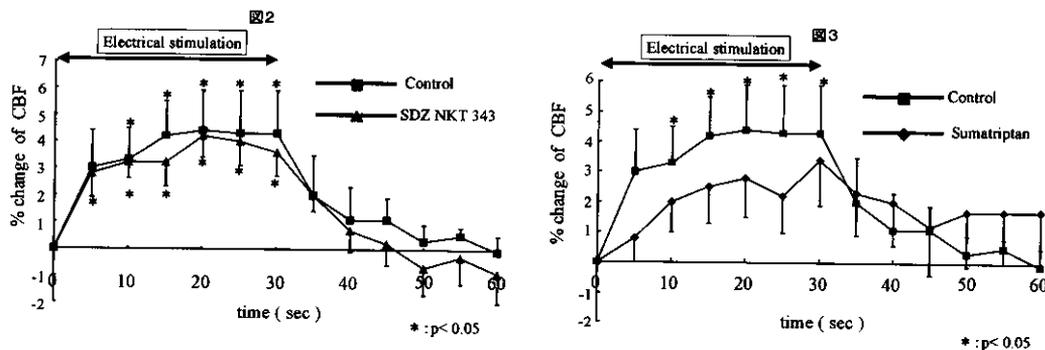


図2、図3：脳表血流の変化

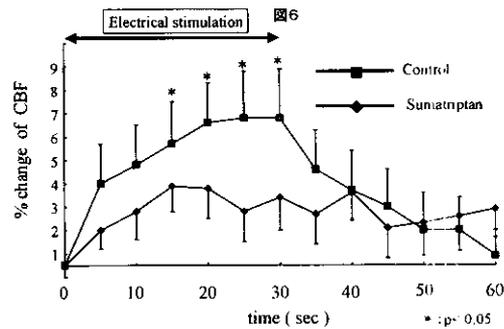
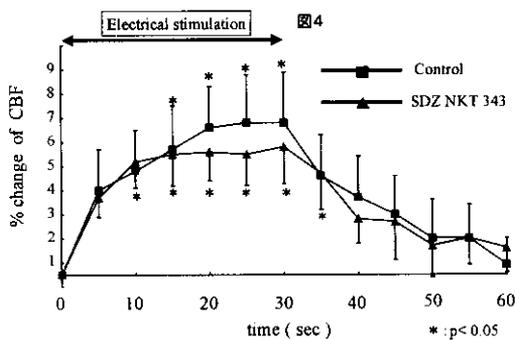
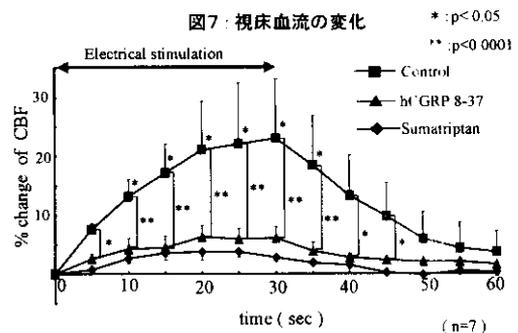
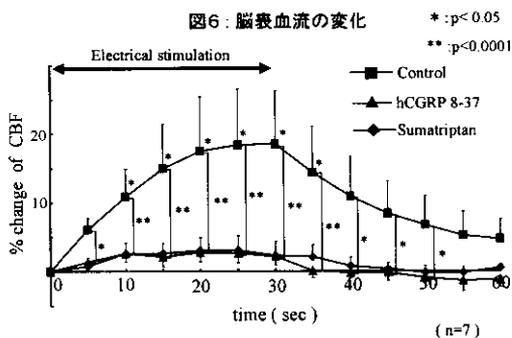


図4、図5：視床血流の変化



#### D. 考察

第一段階として、ラット片頭痛発作時の脳血流増加現象が、5-HT<sub>1B/1D</sub> 受容体刺激で抑制され、NK<sub>1</sub> 受容体阻害で抑制されないことが明らかとなり、この結果から、脳血管拡張には、三叉神経終末から放出される SP, NKA, CGRP の中でも CGRP がその受容体を介して、脳血管拡張に強く関与していることが推察された。第二段階として、CGRP とその受容体が片頭痛発作時の脳血管拡張に果たす役割を明確にするため、鼻毛様体神経電気刺激前に CGRP 受容体の阻害を行い、脳血流の変化を観察した。その結果、CGRP 受容体阻害は、5-HT<sub>1B/1D</sub> 受容体刺激と同等に脳血流増加現象を抑制することが明らかとなった。この事実から、片頭痛発作時の脳血管拡張には、三叉神経終末から放出される CGRP が強く関与していることが推察され、また、スマトリプタンと同様に片頭痛頓挫薬として CGRP 受容体阻害薬の可能性が示唆された。

#### E. 結論

ラット三叉神経脳血管枝の電気刺激による脳血流増加現象の一因として、CGRP の関与が大きいことが推察された。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

塚原信也、鈴木則宏、福田倫也、土橋かおり、坂井文彦：鼻毛様体神経電気刺激によるラット脳血流変化に及ぼす NK<sub>1</sub> 受容体阻害および 5-HT<sub>1B/1D</sub> 受容体刺激の影響。脳循環代謝 14: 8-17, 2002.

##### 2. 学会発表

1) 塚原信也、鈴木則宏、福田倫也、土橋かおり、坂井文彦：鼻毛様体神経電気刺激によるラット脳血流変化に及ぼす NK<sub>1</sub> 受容体阻害および 5-HT<sub>1B/1D</sub> 受容体刺激の影響。脳循環代謝