

#### 4.3. Immunohistochemical examination of the dura mater and the ganglia

Cryostat sections were preincubated with 10% normal donkey serum for 30 min. The sections and whole mounts were incubated with primary antibodies for 48–72 h at room temperature. The primary antibodies were then washed off with 0.01 M PBS, and the tissue specimens were incubated with species-specific secondary antibodies for 2 h at room temperature. The specimens were mounted in buffered glycerol (pH 8.6). The slides were labeled with anti-TRPV1 receptor antibody corresponding to residues 824–838 (EDAEVFKKDSMVPGEK) of rat TRPV1 (raised in rabbits; code, KM 018; TransGenic, Kumamoto, Japan; 1:50 for whole mounts, 1:200 for sections). To assess the specificity of the anti-TRPV1 receptor antibody, we performed the following adsorption test. After preincubation of the primary antiserum with 10 µg/ml of the TRPV1 carboxy-terminal peptide (code, ACC-030; Alomone Labs, Jerusalem, Israel), immunoreactivity for the TRPV1 receptor was abolished, as shown in Fig. 6.

The slides of the dura mater were double labeled with anti-TRPV1 receptor antibody and anti-CGRP antibody (raised in guinea pigs; code, B-GP 640-1; Euro-Diagnostics, 1:200 for whole mounts, 1:1000 for sections). Immunoreactivities with the primary antibodies were visualized with species-specific secondary antibodies raised in donkeys and conjugated to Cy3 or fluorescein isothiocyanate (FITC); all of the antibodies were obtained from Jackson Immunoresearch Laboratories (West Grove, PA).

Every third section was used for immunohistochemistry, and we analyzed twelve sections per ganglion in the TG and four sections per ganglion in the DRG. To analyze the proportion of the nerve fibers showing both TRPV1 and CGRP-IR to the nerve fibers with TRPV1-IR, the dural nerve fibers in the vicinity of the proximal part of the middle meningeal artery exhibiting TRPV1-IR were counted on whole-mount preparations made from three animals.

#### 4.4. Retrograde tracer study

The animals were anesthetized by intraperitoneal injection of ketamine hydrochloride (100 mg/kg) and xylazine hydrochloride (15 mg/kg). The heads of the animals were fixed in a stereotaxic frame, and a small burr hole was made in the left parietal

nociception to the central nervous system (Szallasi and Blumberg, 1999; Szallasi et al., 2006). Furthermore, it has been suggested that the excitation of TRPV1 receptors may directly activate mast cells (Biro et al., 1998). Mast cells are known to exist in the dura mater and to play a crucial role in neurogenic inflammation (Keller et al., 1991; Moskowitz, 1984). From these findings, it may be deduced that TRPV1 receptors in the dura mater may be closely involved in the pathogenesis of migraine. Moreover, clinical trials examining the efficacy of a small-molecule TRPV1 receptor antagonist (SB-705498) in patients with migraine are under way (Szallasi et al., 2006). We believe that our data provide important information for interpreting the outcome of these trials.

## 4. Experimental procedures

### 4.1. Animals

Experiments were performed on male Sprague-Dawley rats ( $n=9$ ; body weight, 200–250 g), four of which were used for immunohistochemistry and the remaining five of which were used for the combined retrograde tracer and immunohistochemical experiments. These experimental procedures were approved by the Animal Welfare Committee of Keio University (No. 040073). Furthermore, all the procedures were undertaken with the utmost caution to minimize the suffering of the animals.

### 4.2. Tissue preparation

The animals were deeply anesthetized using an intraperitoneal injection of pentobarbital (30 mg/kg body weight). They were then transcardially perfused with 200 ml of 0.01 M phosphate-buffered saline (PBS, pH 7.2) followed by a mixture of 2% formaldehyde and 0.2% picric acid in 0.1 M phosphate buffer, pH 7.0. Immediately after the perfusion-fixation, the dura mater and the cranial ganglia innervating the dura mater, i.e., the TG, DRG and SCG, were dissected out and immersed overnight in phosphate buffer containing 20% sucrose at 4 °C. The dura mater was processed as a whole-mount preparation, while the other specimens were processed into sections of 10 µm thickness using a cryostat (Reichert-Jung Cryocut 1800; Leica Instruments).

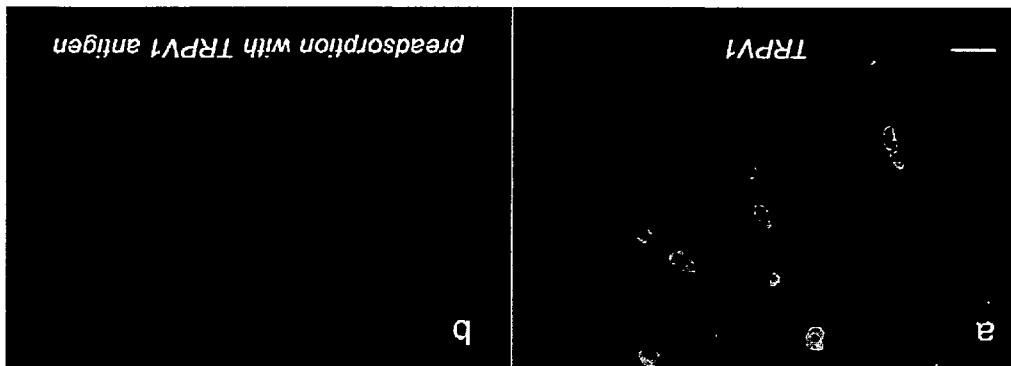


Fig. 6. – Sections of TG showing TRPV1-IR (a). After the adsorption test, no neurons with TRPV1-IR were observed (b). Scale bar, 50 µm for all.

bone around the middle meningeal artery, while ensuring that the dura mater was kept intact. A small bank was built around the burr hole using carboxylate cement (Durelon®; ESPE, Norristown, PA) to prevent the spreading of the tracer. A retrograde axonal tracer, True Blue (*trans*-1, 2-bis (5-amidino-2-benzofuranyl) ethylene-2 HCl; Molecular Probes, Eugene, OR) crystal (0.5 mg), was applied to the dura mater. After the application of the tracer, the application site was covered with carboxylate cement.

Two weeks after the tracer application, the animals were reanesthetized using an intraperitoneal injection of pentobarbital and perfused as described above. The following structures were dissected out from both sides: TG, DRG (C<sub>2</sub>), SPG, OTG and SCG. All specimens were processed for the preparation of cryostat sections, as described above. Sections were double labeled using a rabbit anti-TRPV1 receptor antibody and guinea pig anti-CGRP antibody. Secondary antibodies conjugated with FITC and Cy 3 were used to distinguish the immunolabeling from the labeling with True Blue.

To calculate the ratio of tracer-accumulated neurons, we counted the total number of TG neurons and the number of tracer-accumulated neurons in sections cut consecutively from the top to the bottom; cells were counted when their nuclei were visible. Two animals were used for the analysis.

To perform a quantitative analysis of the tracer experiment, we counted the number of tracer-accumulated neurons in every third section that contained nuclei. Four animals were used for the analysis.

#### 4.5. Microscopy and data acquisition

The immunolabeled specimens were examined under an Olympus BX 50 microscope (Olympus, Tokyo, Japan) fitted with highly discriminating filters. Images from the BX 50 microscope were captured via a Sony CCD video camera (model XCD-SX 900; Sony, Tokyo, Japan) connected to an EPSON computer. After the images were stored, the area of the cell bodies that contained nuclei was measured using image analysis software (CHORI Imaging Corporation, Yokohama, Japan). According to a system reported in previous studies (Ichikawa and Sugimoto, 2001), we categorized the neurons into small- and medium-sized (area  $\leq 1000 \mu\text{m}^2$ ) and large (area  $> 1000 \mu\text{m}^2$ ) neurons. The frequency data were analyzed using log-linear analyses (SPSS for Windows, version 14; SPSS Inc., Chicago, IL). Standardized residuals (*z* values) outside the range of  $-2.58$  to  $+2.58$  were considered to represent significant deviations from the null hypothesis.

#### Acknowledgments

This research was supported in part by a Grant-in-Aid for Scientific Research (No. 17390255) from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan.

#### REFERENCES

- Andres, K.H., von Düring, M., Muszynski, K., Schmidt, R.F., 1987. Nerve fibres and their terminals of the dura mater encephali of the rat. *Anat. Embryol. (Berl)* 175, 289–301.
- Akerman, S., Kaube, H., Goadsby, P.J., 2003. Vanilloid type 1 receptors (VR1) on trigeminal sensory nerve fibres play a minor role in neurogenic dural vasodilatation, and are involved in capsaicin-induced dural dilation. *Br. J. Pharmacol.* 140, 718–724.
- Akerman, S., Kaube, H., Goadsby, P.J., 2004. Anandamide acts as a vasodilator of dural blood vessels in vivo by activating TRPV1 receptors. *Br. J. Pharmacol.* 142, 1354–1360.
- Bartsch, T., Goadsby, P.J., 2002. Stimulation of the greater occipital nerve induces increased central excitability of dural afferent input. *Brain* 125, 1496–1509.
- Biro, T., Maurer, M., Modarres, S., Lewin, N.E., Brodie, C., Acs, G., Acs, P., Paus, R., Blumberg, P.M., 1998. Characterization of functional vanilloid receptors expressed by mast cells. *Blood* 91, 1332–1340.
- Dux, M., Sántha, P., Jancsó, G., 2003. Capsaicin-sensitive neurogenic sensory vasodilatation in the dura mater of the rat. *J. Physiol.* 552 (Pt 3), 859–867.
- Gardner, E.P., Martin, J.H., Jessell, T.M., 2000. The bodily senses. In: Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M. (Eds.), *Principles of Neural Science*, Fourth edition. McGraw-Hill, New York, pp. 430–450.
- Goadsby, P.J., Zagami, A.S., 1991. Stimulation of the superior sagittal sinus increases metabolic activity and blood flow in certain regions of the brainstem and upper cervical spinal cord of the cat. *Brain* 114, 1001–1011.
- Helliwell, R.J., McLatchie, L.M., Clarke, M., Winter, J., Bevan, S., McIntyre, P., 1998. Capsaicin sensitivity is associated with the expression of the vanilloid (capsaicin) receptor (VR1) mRNA in adult rat sensory ganglia. *Neurosci. Lett.* 250, 177–180.
- Henderson, T.A., Johnson Jr., E.M., Osborne, P.A., Jacquin, M.F., 1994. Fetal NGF augmentation preserves excess trigeminal ganglion cells and interrupts whisker-related pattern formation. *J. Neurosci.* 14, 3389–3403.
- Hou, M., Uddman, R., Tajti, J., Kanje, M., Edvinsson, L., 2002. Capsaicin receptor immunoreactivity in the human trigeminal ganglion. *Neurosci. Lett.* 330, 223–226.
- Ichikawa, H., Sugimoto, T., 2001. VR1-immunoreactive primary sensory neurons in the rat trigeminal ganglion. *Brain Res.* 890, 184–188.
- Jacquin, M.F., Hess, A., Yang, G., Adamo, P., Math, M.F., Brown, A., Rhoades, R.W., 1984. Organization of the infraorbital nerve in rat: a quantitative electron microscopic study. *Brain Res.* 290, 131–135.
- Jansen, I., Alafaci, C., Uddman, R., Edvinsson, L., 1990. Evidence that calcitonin gene-related peptide contributes to the capsaicin-induced relaxation of guinea pig cerebral arteries. *Regul. Pept.* 31, 167–178.
- Keller, J.T., Dimlich, R.V., Zuccarello, M., Lanker, L., Strauss, T.A., Fritts, M.J., 1991. Influence of the sympathetic nervous system as well as trigeminal sensory fibres on rat dural mast cells. *Cephalalgia* 11, 215–221.
- Koizumi, K., Kanazawa, N., Takiyama, Y., Hamada, J., 2005. Distribution of transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) in the trigeminovascular system of the rat. *Kitasato Med. J.* 35, 54–59.
- Levy, D., Strassman, A.M., 2002. Mechanical response properties of A and C primary afferent neurons innervating the rat intracranial dura. *J. Neurophysiol.* 88, 3021–3031.
- Liu, Y., Bromman, J., Edvinsson, L., 2004. Central projections of sensory innervation of the rat superior sagittal sinus. *Neuroscience* 129, 431–437.
- Messlinger, K., Hanesch, U., Baumgärtel, M., Trost, B., Schmidt, R.F., 1993. Innervation of the dura mater encephali of cat and rat: ultrastructure and calcitonin gene-related peptide-like and substance P-like immunoreactivity. *Anat. Embryol. (Berl)* 188, 219–237.
- Moskowitz, M.A., 1984. The neurobiology of vascular head pain. *Ann. Neurol.* 16, 157–168.

- Murata, Y., Masuko, S., 2006. Peripheral and central distribution of TRPV1, substance P and CGRP of rat corneal neurons. *Brain Res.* 1085, 87-94.
- Ray, B.S., Wolff, H.G., 1940. Experimental studies on headache: Pain-sensitive structures of the head and their significance in headache. *Arch. Surg.* 41, 813-856.
- Reuss, S., Riemann, R., Vollrath, L., 1992. Substance P- and calcitonin gene-related peptide-like immunoreactive neurons in the rat trigeminal ganglion—with special reference to meningeal and pineal innervation. *Acta Histochem.* 92, 104-109.
- Suzuki, N., Hardebo, J.E., Owman, C., 1988. Origins and pathways of cerebrovascular vasoactive intestinal polypeptide-positive nerves in rat. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 8, 697-712.
- Szallasi, A., Blumberg, P.M., 1999. Vanilloid (capsaicin) receptors and mechanisms. *Pharmacol. Rev.* 51, 159-212.
- Szallasi, A., Cruz, F., Geppert, P., 2006. TRPV1: a therapeutic target for novel analgesic drugs? *Trends Mol. Med.* 12, 545-554.
- Uddman, R., Hara, H., Edvinsson, L., 1989. Neuronal pathways to the rat middle meningeal artery revealed by retrograde tracing and immunocytochemistry. *J. Auton. Nerv. Syst.* 26, 69-75.

## Altered levels of serotonin in lymphoblasts derived from migraine patients

Eiichiro Nagata <sup>a,\*</sup>, Junichi Hamada <sup>b</sup>, Toshihiko Shimizu <sup>c</sup>, Mamoru Shibata <sup>d</sup>,  
Shigeaki Suzuki <sup>c</sup>, Takashi Osada <sup>c</sup>, Rie Takaoka <sup>c</sup>, Masahiro Kuwana <sup>c</sup>, Norihiro Suzuki <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Department of Neurology, Saitama City Hospital, 2560 Mimuro, Midori-ku, Saitama City 336-8522, Japan

<sup>b</sup> Department of Neurology, Kitasato University School of Medicine, Japan

<sup>c</sup> Department of Neurology, Keio University School of Medicine, Japan

<sup>d</sup> Department of Neurology, National Hospital Organization Tokyo Medical Center, Japan

<sup>e</sup> Institute for Advanced Medical Research, Department of Internal Medicine, Keio University School of Medicine, Japan

Received 16 July 2006; received in revised form 16 September 2006; accepted 11 October 2006

Available online 27 November 2006

### Abstract

We previously reported that dysfunctions in the autonomic nervous systems of patients with migraines occur not only in the brain, but throughout the whole body. Serotonin and neuropeptides are also known to have important roles in the pathophysiology of migraine. With this background in mind, we analyzed human lymphoblast cell lines from migraine with aura (MWA) patients to investigate the pathophysiology of migraine. The characteristics of these lymphoblasts and the involvement of the lymphoblasts in serotonin metabolism were examined. The lymphoblasts expressed serotonin receptors as well as some enzymes related to serotonin metabolism. The serotonin level in the MWA lymphoblasts was higher than that in the control cells. However, serotonin uptake into the lymphoblasts in MWA patients was similar to that in the control subjects. These findings suggest that lymphoblasts in MWA patients have altered levels of serotonin metabolism. Moreover, we propose that this lymphoblast cell system could serve as a novel modality for migraine research.

© 2006 Elsevier Ireland Ltd and the Japan Neuroscience Society. All rights reserved.

**Keywords:** Migraine with aura; Serotonin; Human lymphoblast; A novel modality for migraine research; Aromatic L-amino acid decarboxylase; Tryptophan hydroxylase

### 1. Introduction

Migraine is a common, chronic, incapacitating neurovascular disorder that is characterized by attacks of severe headaches, autonomic nervous system dysfunction, and, in some patients, an aura accompanied by neurologic symptoms (Goasby, 2000; Edvinsson, 2001; Goadsby, 2003; Edvinsson and Uddman, 2005).

One hypothesis explaining the pathophysiology of migraine is that the aberrant activation of the trigeminovascular system might trigger a migraine attack and be provoked by cortical spreading depression, the latter of which is a self-propagating depolarization associated with depressed neuronal bioelectrical activity that sometimes occurs during migraine attacks,

especially in migraines with aura (Bolay et al., 2002; Grusoy-Ozdemir et al., 2004). Moreover, the meninges are densely innervated by small-caliber trigeminal axons, some of which bifurcate in proximity to small blood vessels branching from middle meningeal arteries (Silberstein, 2004). However, research on the pathophysiology of migraine is difficult to perform, mainly because of the lack of an appropriate animal model for migraine.

Recently, selective serotonin (5-HT) receptor agonists that constrict dilated vessels have been used to relieve headaches (Nilsson et al., 1999; Raymond et al., 2001). This treatment strategy led to the development of triptans, which are 5-HT 1B/D receptor agonists. These drugs dramatically attenuate migraine headaches (Mathew and Loder, 2005; Taylor, 2005), suggesting that 5-HT plays an important role in the pathophysiology of migraine (Ferrari et al., 1989; Ferrari and Saxena, 1993).

We have developed a novel modality for migraine research utilizing lymphoblasts from migraine patients. Using this

\* Corresponding author. Tel.: +81 48 873 4111; fax: +81 48 873 5451.

E-mail address: [e-nagata@umin.ac.jp](mailto:e-nagata@umin.ac.jp) (E. Nagata).

model, we investigated 5-HT metabolism in migraine patients by examining the expression levels of various molecules in these lymphoblasts.

## 2. Materials and methods

Data were collected from five patients who visited the Neurology Outpatient Clinic complaining of symptoms consistent with migraine with aura (MwA). All of the patients were carefully interviewed and examined by two different neurologists to confirm the MwA diagnosis. The new IHC criteria (ICHD-II) were utilized in this study (HCSHS, 2004). At this time, we just investigated MwA patients because it is easier to diagnose MwA which has distinctive visual aura than migraine without aura patients. None of the patients presented evidence of any other neurologic disease; the presence of tension-type headaches, in particular, was excluded. Each patient had been free of migraine attacks and had taken no medicine for at least 7 days prior to blood sampling. The main clinical data concerning the patients' group are summarized in Table 1.

The University Ethics Committee reviewed the study's protocol, and the patients gave their informed consent after receiving an explanation of the procedure. Lymphoblasts were obtained from the peripheral blood of five MwA patients (one man, four women; mean  $\pm$  S.D. age,  $29 \pm 7$  years) and seven volunteers (all women; mean age,  $27 \pm 2$  years; control group) using Lymphoprep (Nycomed Pharma, Oslo, Norway). The lymphoblasts were infected by Epstein-Barr viruses and then, Epstein-Barr virus-immortalized lymphoblast cell lines were established. The duration of freezing was the same for the cells from each group. Both the control and migraine cells were thawed at the same time (within 4 weeks of use in the experiments) and maintained under exactly the same conditions in RPMI 1640 medium plus 10% fetal bovine serum. No differences in adventitious factors, dietary treatments or drug treatments were likely to impact our experimental results.

### 2.1. Western blot analysis

Lymphoblasts were collected and centrifuged at 3000 rpm for 10 min at 4 °C and washed twice with PBS. The cells were then sonicated with a homogenizing buffer (10 mM Tris-HCl [pH 9.5], 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM EGTA, 1 mM DTT). Protein concentrations were determined using a Protein Assay Kit (Bio-Rad Laboratories, CA, USA) utilizing bovine serum albumin as a standard. The samples were then separated using 4–12% gradient gel electrophoresis. After electrophoretic transfer to Immobilon-P (polyvinylidene fluoride [PVDF], Millipore, MA, USA), the membranes were blocked with 4% skim milk in PBS. The membranes were then washed and incubated with the primary antibodies at 4 °C overnight. After incubation with the primary antibodies, the membranes were washed with PBS-T (0.1% Tween 20) and incubated with appropriate horseradish peroxidase-labeled secondary antibodies (Vector Laboratories, CA, USA) for 2 h at room temperature. Then, an enhanced chemiluminescence system was performed using an ECL Western blotting system (Amersham-Pharmacia, NJ, USA). In the present study, we used antibodies against 5-HT<sub>1B</sub> receptor (Imgenex, CA, USA), aromatic L-amino acid decarboxylase (AADC) (a generous gift from Dr. Ichinose, Tokyo Institute of Technology), tryptophan hydroxylase (TH), and serotonin transporter (SERT) (Oncogene Research

Products, MA, USA). Equal amounts of proteins were confirmed with  $\beta$ -actin (Sigma-Aldrich, MO, USA) and  $\alpha$ -tubulin (Sigma-Aldrich).

### 2.2. RT-PCR

Total RNA was extracted from the lymphoblasts using Trizol (Invitrogen, CA, USA). We then performed reverse transcription of the RNA samples using random hexamers and amplified the resulting cDNAs using the following primers: AADC (non-neuronal type), 5'-GCG GAT CCT CAA TGC CTT CCA TGT AGT T-3' for the antisense primer, 5'-AAG GAA TTC GAA TTT CCA GCA T-3' for the sense primer; AADC (neuronal type), 5'-GCG GAT CCT CAA TGC CTT CCA TGT AGT T-3' for the antisense primer, 5'-AAG GAA TTC GAA TTT CCA GCA T-3' for the sense primer. The amplification conditions were as follows: 30 cycles of denaturation at 94 °C for 30 s, annealing at 55 °C for 30 s, and extension at 72 °C for 1 min. The amplified DNA fragments were electrophoresed on a 1% agarose gel.

### 2.3. Measurement of 5-hydroxytryptophan (5-HTP) and 5-HT in lymphoblasts

After centrifugation at 3000 rpm for 10 min at 4 °C, the pellets were collected and washed twice with PBS. The supernatants were removed, and perchloric acid was added to the pellets. We measured and evaluated the 5-hydroxytryptophan (5-HTP) and 5-HT levels in the two groups of the MwA and control lymphoblasts using an HPLC apparatus (HTEC-500, Eicom, Japan). The samples were injected (20  $\mu$ l) into the HPLC apparatus. The flow rate was 0.3 ml/min and the electro detection was performed at 0.65 V. The composition of the mobile phase contains 50 mM citric acid, 10 mM sodium citrate, 0.5 mM octyl sulfate, 13.4  $\mu$ M EDTA-2Na, 15% methanol.

The statistical analyses were performed using Mann-Whitney *U*-test.

### 2.4. 5-HT uptake assay

5-HT uptake assays were performed using bottle-type 250-ml flasks. Cells were incubated in a total volume of 100 ml of RPMI 1640 in the presence of 1 nM [<sup>3</sup>H] 5-HT for 1 h at 37 °C. Afterwards, the cells were centrifuged and washed five times with PBS. Then, the cells were collected, and ACS-II (Amersham-Pharmacia, NJ, USA) was added. Afterwards, the [<sup>3</sup>H] levels were counted using a liquid scintillation counter (TRI-CARB 3100TR, Packard, USA). The statistical analyses were performed using Mann-Whitney *U*-test.

## 3. Results

### 3.1. Serotonin receptors and serotonin-related enzymes in human lymphoblasts

5-HT<sub>1B</sub> receptor, and SERT were identified in the human lymphoblasts. Moreover, enzymes needed for serotonin synthesis, like TH and AADC, were also identified. No significant differences in the protein levels of these receptors

Table 1  
Clinical features of the migraine patients

Patient	Age	Gender	Drugs		Mean of attack duration time (h)	Annual frequency of attacks
			Prophylaxis	Symptomatic		
1	21	F	No	Triptans	24	12
2	36	F	No	Triptans	8	120
3 24	29	F	No	Triptans	6	24
4	22	F	No	Triptans	24	6
5	37	M	No	Triptans	36	48
Mean	29				19.6	42
S.D.	7				12.5	46

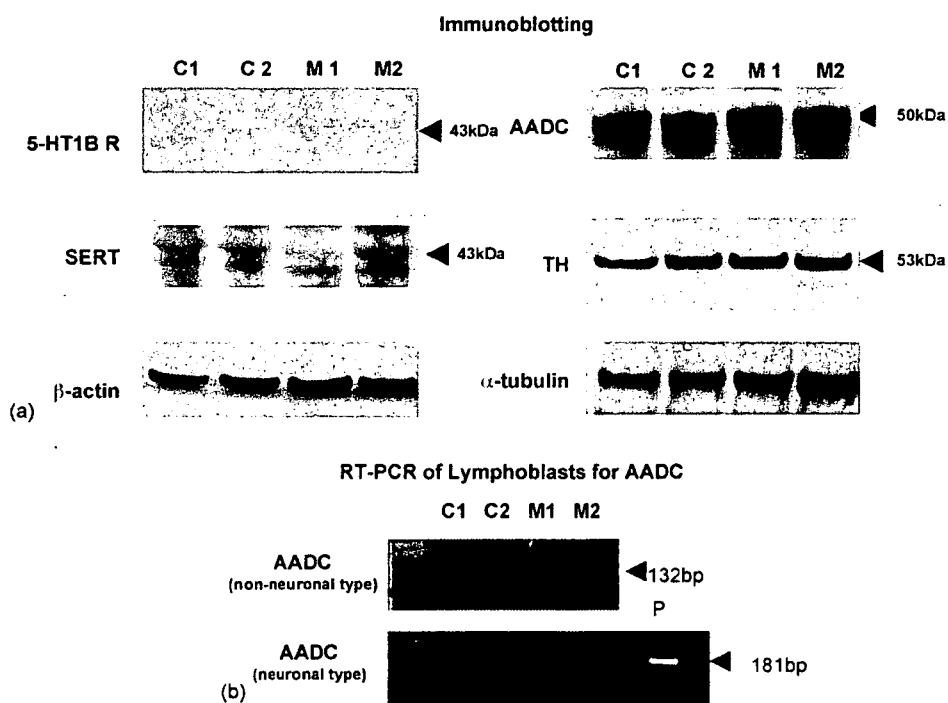


Fig. 1. (a) Immunoblotting showing the expression of 5-HT1B receptor, serotonin transporter, tyrosine hydroxylase, and aromatic L-amino acid decarboxylase in lymphoblasts. All of these molecules were seen in lymphoblasts from both MwA patients and control subjects. M1, M2: migraine with aura; C1, C2: control; 5-HT1B R: 5-HT1B receptor; SERT: serotonin transporter; AADC: aromatic L-amino acid decarboxylase; TH: tyrosine hydroxylase. (b) The expression level of AADC was examined using RT-PCR. The expression of non-neuronal type AADC was seen in lymphoblasts from both MwA patients and control subjects, whereas the expression of neuronal type AADC was not seen in both lymphoblasts. P: positive control (mouse brain).

and enzymes were seen between the MwA and control cells (Fig. 1(a)).

As for AADC, non-neuronal type was found in the human lymphoblasts employing RT-PCR (Fig. 1(b)).

### 3.2. 5-HTP and 5-HT levels in human lymphoblasts

On the other hand, the 5-HT level in the MwA lymphoblasts ( $1.77 \pm 0.66$  pg/ $10^4$  cells) was significantly higher than that in the control cells ( $0.51 \pm 0.34$  pg/ $10^4$  cells) (Fig. 2), whereas no

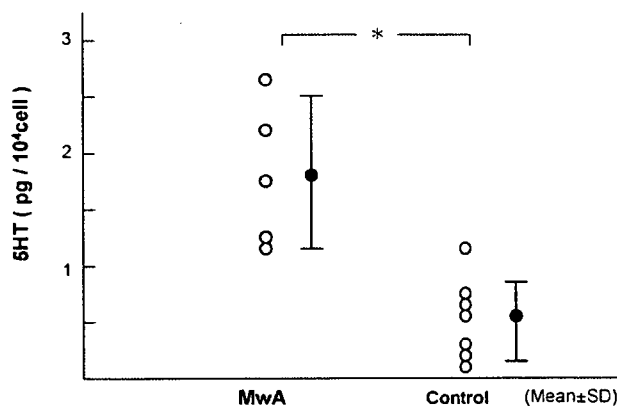


Fig. 2. 5-HT levels in lymphoblasts. The 5-HT concentration was significantly higher in lymphoblasts from MwA patients than in those from control subjects. \*  $p < 0.01$ .

significant difference in the 5-HTP concentration was seen between the MwA lymphoblasts ( $0.79 \pm 0.41$  pg/ $10^6$  cells) and the control cells ( $6.4 \pm 9.3$  pg/ $10^6$  cells) (Fig. 3). However, there was no correlation between 5-HT level in the MwA lymphoblasts and any specific features of migraine attack in each migraine patient.

Moreover, no significant difference in the uptake of 5-HT into the lymphoblasts was seen between the MwA lymphoblasts ( $4.90 \pm 0.87$  DPM/ $10^4$  cells) and the control cells ( $4.91 \pm 0.97$  DPM/ $10^4$  cells) (Fig. 4).

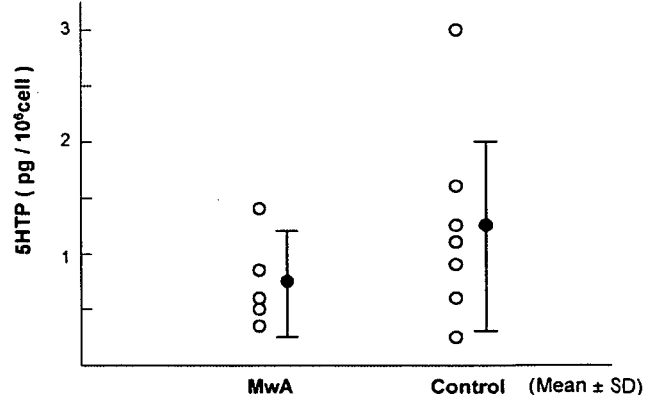


Fig. 3. 5-HTP levels in lymphoblasts. No notable difference was seen between the MwA patients and the control subjects.

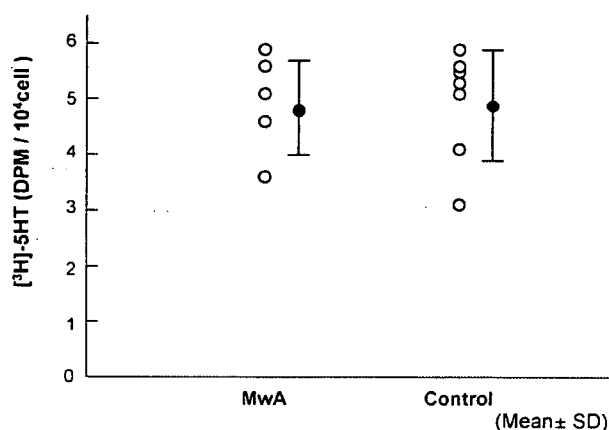


Fig. 4. [ $^3\text{H}$ ] 5-HT uptake in lymphoblasts. No significant difference in [ $^3\text{H}$ ] 5-HT uptake was observed between lymphoblasts from MWA patients and those from control subjects.

#### 4. Discussion

Infection with Epstein-Barr virus *in vitro* easily transforms resting B cells obtained from human peripheral blood into actively proliferating lymphoblast cell lines. The percentage of B cells susceptible to transformation has been estimated to be 10–100%. In general, these cells become immortalized without becoming tumorigenic. They also have an unlimited life span with no other additional changes, although they usually have a normal diploid karyotype (Sugimoto et al., 2004; Miller, 1990). Previously, we used a gene array to examine expressions in Epstein-Barr virus-immortalized lymphoblast cell line and B cell from the same control subject. No significant differences in the expression of molecules related to 5-HT metabolism, such as 5-HT receptors and enzymes, were detected between the two groups (data were not shown).

To date, lymphoblast cell lines have been used for a variety of purposes, such as sources of DNA, cells to study various genetic disorders, and the study of cell biology. Moreover, we previously reported the use of lymphoblasts from patients with Huntington disease to reveal mitochondrial dysfunction and morphological alterations (Sawa et al., 1999, 2005; Nagata et al., 2004).

We prepared the human lymphoblast cell lines used in the present study using cells obtained from MWA patients and healthy controls. Careful attention was given to the cell culture conditions used for both cell lines: the duration of freezing was the same, the cells were thawed at the same time (within 4 weeks of the experiments), and the cells were maintained in the same medium (RPMI 1640 plus 10% fetal bovine serum). No differences in adventitious factors, dietary treatments, or drug treatment were likely to impact our experimental results.

Recent evidence has shown that 5-HT is closely related to migraine pathophysiology. 5-HT is synthesized from an essential amino acid, tryptophan, in a two-step process: hydroxylation of tryptophan, catalyzed by the enzyme TH, producing 5-HTP, and decarboxylation of 5-HTP, catalyzed by the enzyme AADC (Ichinose et al., 1992). TH is the rate limiting enzyme in the biosynthesis of 5-HT, catalyzing the

oxygenase reaction. On the other hand, SERTs are localized on presynaptic axon terminals and are widely known as the site of action of serotonin reuptake inhibitors (Lima and Urbina, 2002). A polymorphism of the SERT gene promoter might be involved in the polygenic etiology of MWA (Yilmaz et al., 2001; Marziniak et al., 2005).

Human lymphoblasts express receptors and enzymes relevant to 5-HT metabolism, like 5-HT<sub>1B/D</sub> receptors, AADC, and SERT. Our data suggest that no significant differences in the expression levels of these molecules exist in lymphoblasts from MWA patients and control subjects.

We previously reported that the plasma 5-HT level was significantly lower in the MWA group than in the control group, whereas no significant difference in the plasma 5-HTP concentration was seen between the MWA group and the controls group (Nagata et al., 2006). However, the 5-HT level in the lymphoblasts of MWA patients was higher than that in the lymphoblasts of control patients. [ $^3\text{H}$ ] 5-HT uptake into the lymphoblasts was similar in the MWA patients and the control subjects. Moreover, the 5-HTP concentration was similar in the lymphoblasts from the MWA patients and the control subjects. Thus, the level of 5-HT synthesis was likely similar in the lymphoblasts from the MWA patients and the control subjects. Therefore, lymphoblasts in MWA patients have altered levels of serotonin metabolism. Those results support that several previous papers also have reported platelet dysfunction in patients with migraines (Rishpon et al., 1976; Malmgran et al., 1980; Gawel and Rose, 1982; Oxman et al., 1982).

However, platelet cell lines cannot be established. The lack of a model system is one reason why the pathophysiology of migraine has yet to be clarified. This study suggests that lymphoblasts could be used as a model system for studying the pathophysiology of migraine. That is, we can investigate the mechanisms of the migraine pathophysiology not only in brain, but also in peripheral blood. Moreover, lymphoblast cell lines could be used to customize treatments, since lymphoblasts carry an individual's genetic information. A notable advantage of our system is that it enables us to perform repeated genetic and biochemical analyses using only a single blood sample. Moreover, this method could be applied to a variety of diseases other than migraine.

We emphasize that this lymphoblast model for studying migraine could be very useful for the elucidation of the migraine pathophysiology.

#### Acknowledgements

We thank Dr. Akira Sawa for fruitful discussion. This study was supported by Japan Research Foundation for Clinical Pharmacology (to T.S.).

#### References

- Bolay, H., Reuter, U., Dunn, A.K., Hung, Z., Boas, D.A., Moskowitz, M.A., 2002. Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model. *Nat. Med.* 8, 136–142.
- Edvinsson, L., 2001. Aspects on the pathophysiology of migraine and cluster headache. *Pharmacol. Toxicol.* 89, 65–73.

- Edvinsson, L., Uddman, R., 2005. Neurobiology in primary headache. *Brain Res. Rev.* 48, 438–456.
- Ferrari, M.D., Saxena, P.R., 1993. On serotonin and migraine: a clinical and pharmacological review. *Cephalalgia* 13, 151–165.
- Ferrari, M.D., Odink, J., Tapparelli, C., Van Kempen, G.M., Pennings, E.J., Bruy, G.W., 1989. Serotonin metabolism in migraine. *Neurology* 39, 1239–1242.
- Goasby, P., 2000. The pharmacology of headache. *Prog. Neurobiol.* 62, 509–525.
- Goadsby, P.J., 2003. Migraine: diagnosis and management. *Intern. Med. J.* 33, 436–442.
- Gawel, M.J., Rose, C., 1982. Platelet function in migraineurs. In: Critchley, M., Friedman, A., Gorini, S., Sicuteri, F. (Eds.), *Advances in Neurology*. Raven Press, New York, pp. 237–242.
- Gursoy-Ozdemir, Y., Qiu, J., Matsuoka, N., Bolay, H., Bempohl, D., Jin, H., Wang, X., Rosenberg, G.A., Lo, E.H., Moskowitz, M.A., 2004. Cortical spreading depression activates and upregulates MMP-9. *J. Clin. Invest.* 113, 1447–1455.
- Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society, 2004. The International Classification of Headache Disorders: second edition. *Cephalalgia* 24 (Suppl. 1), 9–160.
- Ichinose, H., Ichinose, C.S., Ohye, T., Hagino, Y., Fujita, K., Nagatsu, T., 1992. Tissue-specific alternative splicing of the first exon generates two types of mRNAs in human aromatic L-amino acid decarboxylase. *Biochemistry* 31, 11546–11550.
- Lima, L., Urbina, M., 2002. Serotonin transporter modulation in blood lymphocytes from patients with major depression. *Cell. Mol. Neurobiol.* 22, 797–804.
- Miller, G., 1990. Epstein-Barr virus biology, pathogenesis and medical aspects. In: Fields, B.N., Knipe, K.M. (Eds.), *Virology*. Raven Press, New York, pp. 1921–1958.
- Mathew, N.T., Loder, E.W., 2005. Evaluating the triptans. *Am. J. Med.* 118 (Suppl. 1), 28S–35S.
- Malmgran, R., Olsson, P., Tornling, G., Unge, G., 1980. The 5-hydroxytryptamine take-up mechanism in normal platelets and platelets from migraine and asthmatic patients. *Thromb. Res.* 18, 733–741.
- Marziniak, M., Mossner, R., Schmitt, A., Lesch, K.P., Sommer, C., 2005. A functional serotonin transporter gene polymorphism is associated with migraine with aura. *Neurology* 64, 157–159.
- Nilsson, T., Longmore, J., Shaw, D., Pantev, E., Bard, J.A., Branchek, T., Edvinsson, L., 1999. Characterisation of 5-HT receptors in human coronary arteries by molecular and pharmacological techniques. *Eur. J. Pharmacol.* 372, 49–56.
- Nagata, E., Sawa, A., Ross, C.A., Snyder, S.H., 2004. Autophagosome-like vacuole formation in Huntington's disease lymphoblasts. *NeuroReport* 15, 1325–1328.
- Nagata, E., Shibata, M., Hamada, J., Shimizu, T., Katoh, Y., Gotoh, K., Suzuki, N., 2006. Plasma 5-hydroxytryptamine (5-HT) in migraine during an attack-free period. *Headache* 46, 592–596.
- Oxman, T.E., Hitzemann, R.J., Smith, R., 1982. Platelet membrane lipid composition and the frequency of migraine. *Headache* 22, 261–267.
- Rishpon, D.A., Zolotow, N.I., Korczyn, A.D., 1976. Release of platelet 5-hydroxytryptamine by plasma taken from patients during and between migraine attacks. *Pain* 2, 315–318.
- Raymond, J.R., Mukhin, Y.V., Gelasco, A., Turner, J., Collinsworth, G., Gettys, T.W., Grewal, J.S., Garnovskaya, M.N., 2001. Multiplicity of mechanisms of serotonin receptor signal transduction. *Pharmacol. Ther.* 92, 179–212.
- Silberstein, S.D., 2004. Migraine pathophysiology and its clinical implications. *Cephalalgia* 24 (Suppl. 2), 2–7.
- Sawa, A., Wiegand, G.W., Cooper, J., Margolis, R.L., Sharp, A.H., Lawler Jr., J.F., Greenamyre, J.T., Snyder, S.H., Ross, C.A., 1999. Increased apoptosis of Huntington disease lymphoblasts associated with repeat length-dependent mitochondrial depolarization. *Nat. Med.* 5, 1194–1198.
- Sawa, A., Nagata, E., Sutcliffe, S., Dulloor, P., Cascio, M.B., Ozeki, Y., Roy, S., Ross, C.A., Snyder, S.H., 2005. Huntingtin is cleaved by cytoplasmic caspases and translocated to the nucleus via perinuclear sites in Huntington's disease patient lymphoblasts. *Neurobiol. Dis.* 20, 267–274.
- Sugimoto, M., Tahara, H., Ide, T., Furuichi, Y., 2004. Steps involved in immortalization and tumorigenesis in human B-lymphoblastoid cell lines transformed by Epstein-Barr virus. *Cancer Res.* 64, 3361–3364.
- Taylor, F.R., 2005. Migraine headache: options for acute treatment. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 5, 86–92.
- Yilmaz, M., Erdal, M.E., Herken, H., Cataloluk, O., Barlas, O., Bayazit, Y.A., 2001. Significant of serotonin transporter gene polymorphism in migraine. *J. Neurol. Sci.* 186, 27–30.



綜合臨牀 第56卷第4号  
(平成19年4月1日発行 別刷)

## 頭痛と神経伝達物質

*Neurotransmitters related to migraine headache*

清水 利彦      鈴木 則宏  
*SHIMIZU Toshihiko      SUZUKI Norihiro*

永 井 書 店

## わかってきた頭痛の発症メカニズム

## 頭痛と神経伝達物質

*Neurotransmitters related to migraine headache*

清水 利彦 鈴木 則宏\*

SHIMIZU Toshihiko

SUZUKI Norihiro

## 頭痛診療の実際

Key words 片頭痛 神経伝達物質 セロトニン 一酸化窒素(NO) アミノ酸

頭痛，なかでも片頭痛に関連する神経伝達物質として，カテコールアミンやセロトニンなどのモノアミン作動系の神経伝達物質，substance P(SP)やcalcitonin gene-related peptide(CGRP)などの神経ペプチドおよび興奮性アミノ酸や抑制性アミノ酸など，神経の興奮性に関連する物質があげられている。これらの物質は片頭痛発作発生の機序として考えられている血管説，神経説および三叉神経血管説との関連がいわれているもので，それぞれの物質についてさまざまな角度から多くの検討が行われている。血管説(vascular theory)は，片頭痛発作の原因を頭蓋血管の反応性の異常によるものとする観点から，血管作動性を有する神経伝達物質であるカテコールアミンやセロトニンさらに神経ペプチドなどの関連が考えられている<sup>1)</sup>。拡延性抑制(spreading depression)のような大脳皮質の神経細胞の過剰興奮が始めに生ずるとする神経説では，アミノ酸の関与が注目されている<sup>2)3)</sup>。三叉神経血管説(trigeminovascular theory)は三叉神経が支配する脳血管周囲や硬膜血管周囲の神経原性炎症が片頭痛発作に関与すると説明するものである。脳底部の主幹動脈から大脳皮質表面の軟膜動脈および硬膜血管には，三叉神経節由来の無髄神経線維が分布し頭蓋内の痛覚を中枢へ伝える働きをしている。三叉神経節を実験的に刺激すると，図1に示すように血管拡張と硬膜に神経原性炎症(neurogenic inflammation)が生じることから，三叉神経血管説(trigeminovascular theory)では，片頭痛においてもこれらと同様の病態が発生し，頭痛を引き起こしている可能性が考えられている<sup>4)</sup>。

三叉神経血管説では，何らかの刺激が硬膜の血管周囲に存在する三叉神経の軸索に作用すると，神経終末から substance P, calcitonin gene-related peptide(CGRP)，ニューロキニン A などの神経伝達物質であり，かつ血管作動性物質の神経ペプチドが放出され，硬膜周辺で肥満細胞の脱顆粒や血管透過性の亢進，血漿蛋白の流出，血管拡張などの神経原性炎症が惹起され疼痛をき

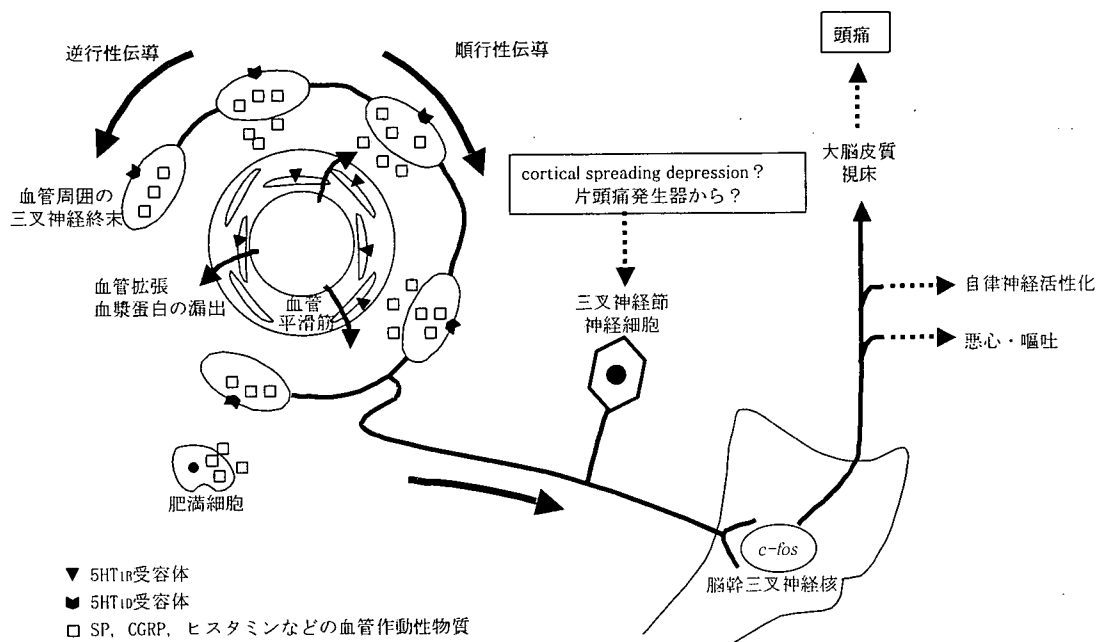


図1 三叉神経血管説

硬膜血管周囲の三叉神経の軸索に何らかの刺激(cortical spreading depressionを介するものや、片頭痛発生器からの信号などの可能性があるが現在詳細は不明)が加わり、SPやCGRPなどが遊離され、血管拡張、血漿蛋白の漏出および肥満細胞からのヒスタミンの遊離などにより神経原性炎症が生じる。三叉神経終末の刺激が順行性に伝えられると三叉神経核に至り、同部位での*c-fos*の産生を促す。さらに視床を経由し大脳に至り痛みとして自覚される。トリプタン系薬剤は、頭蓋内血管平滑筋に存在する5-HT<sub>1B</sub>受容体を介し血管収縮作用を示し、三叉神経終末に存在するセロトニン受容体中の5-HT<sub>1D</sub>受容体により神経ペプチド放出を抑制し、神経原性炎症を抑制し、頭痛発作改善に効果を示すと考えられている。(文献4を一部改変)

たすと考えている。その後、三叉神経では順行性および逆行性の伝導が起こり、順行性の伝導は脊髄の三叉神経脊髄路核に至り悪心、嘔吐、自律神経の活性化などを引き起こすとともに、逆行性の伝導により substance P の遊離などが促進され炎症を助長し、疼痛が増強していくと考えられている。本稿では、これら片頭痛の病態生理に関連した神経伝達物質について中心に概説する。

### ノルアドレナリン(noradrenaline)

ノルアドレナリンは、3,4-dihydroxylated benzene ringであるカテコール基をもち、ドパミンやアドレナリンと同様に生体アミンに分類される。必須アミノ酸であるチロシンから5つの酵素を含む共通の経路を経て、チロシン→ドーパ→ドパミン→ノルアドレナリン→アドレナリンの順に合成される<sup>5)</sup>。

中枢神経では大部分が青斑核に存在し、脳の広

い領域に至り、睡眠と覚醒サイクルの調節、脊髄への連絡路を介した運動調節、視床下部への連絡を介したホルモン分泌調節、大脳辺縁系の連絡による感情・行動への影響、および脳血管に線維を送り脳血流調節に関与していると考えられている<sup>5)</sup>。

また、末梢では交感神経節後線維の神経伝達物質として、自律神経の調節に関与している。交感神経系の神経伝達物であるノルアドレナリンは、血管収縮作用を有し、上頸神経節を起源とする脳血管支配神経線維中にも存在することが知られて

いる。片頭痛患者では、発作間欠期においてノルアドレナリンの血中濃度が低値を示すことから、交感神経系の機能低下およびdenervation hypersensitivityが存在し、これに伴い血管反応性の異常が生じ、片頭痛発作の一部に関与している可能性も考えられている<sup>6)</sup>。

## セロトニン (serotonin)

セロトニンは動植物に広く分布する生理活性アミンで、血清中にある血管収縮物質として発見されたため“serotonin”と命名された。その後、化学構造がインドール基を有する1-(β-アミノエチル)-5-ヒドロキシインドールと同定されると、5-ヒドロキシトリプタミン(5-hydroxytryptamine; 5-HT)とも呼ばれ、現在でもセロトニンまたは5-HTと2つの名前で呼ばれている<sup>5)7)</sup>。セロトニンはアミノ酸であるトリプトファン(tryptophan)から、5-ヒドロキシトリプトファン(5-hydroxytryptophan)を経て生合成される。

セロトニン作動性ニューロンは、脳内では縫線核を中心に存在し、睡眠、感情や行動の調節に関与している。また、延髄大縫線核等より脊髄に投射する脊髄下行路は、脊髄後角に終わる痛覚一次線維の神経伝達を抑制し、痛みを減弱させる。なお縫線核には、中脳水道中心灰白質からの連絡線維によりコントロールされることから、下行性痛覚抑制経路として注目されている。

しかし、片頭痛とセロトニンとの関係はむしろセロトニンの末梢血管に対する作用から始まっている。1961年にSicuteriらが片頭痛患者の尿中セロトニンの代謝産物である5-HIAAが健常人より高いことを発見し、セロトニンが片頭痛の病態に関係している可能性を提唱した<sup>8)</sup>。以後もセロトニンが片頭痛発生との関連を示す報告が示され、片頭痛発作治療薬としてセロトニンを使用することが考えられたが、副作用のため脳血管に選択的に作用するセロトニン作動薬の開発が必要とされた<sup>9)</sup>。

その後の検討で、セロトニンには5HT<sub>1</sub>から5HT<sub>7</sub>までの7種類の受容体が存在し、脳血管の収縮は主に5HT<sub>1</sub>受容体を介することが明らかにされ、5HT<sub>1</sub>受容体の作動薬であるスマトリプタンが開発された<sup>10)</sup>。さらにその後の研究で、5HT<sub>1</sub>受容体は5HT<sub>1A</sub>~5HT<sub>1F</sub>までのサブタイプを有し、スマトリプタンが5HT<sub>1B</sub>および5HT<sub>1D</sub>受容体のアゴニストであることが明らかにされるとともに、多くのトリプタン系薬剤が開発されるに至った。現在トリプタン系薬剤は頭蓋内血管平滑筋に存在する5-HT<sub>1B</sub>受容体を介し血管収縮作用を示すと同時に、三叉神経終末に存在する5-HT<sub>1D</sub>受容体に作用し、神経ペプチドの放出を抑制することで効果を示すと考えられている<sup>11)</sup>。

## Substance P (SP)

SPはCGRPと同様におもに感覚、とくに痛覚の伝達に関与しているがその他、血管透過性の亢進や肥満細胞からの脱顆粒、白血球の活性化、内皮依存性の血管拡張作用を有するため炎症に寄与するメディエーターの1つとして神経原性炎症(neurogenic inflammation)に関わっていることも明らかにされている<sup>12)</sup>。三叉神経節由来のSPを含有する無髄C線維が脳硬膜に分布し神経原性炎症に関与していることから、片頭痛においても注目されるようになった<sup>1)</sup>。

SPは11個のアミノ酸からなるポリペプチドで、1931年、von Euler および Gaddum らにより哺乳類の脳および腸管に存在することが見い出され、その後 neurokinin A や neurokinin B と同様に、ペプチドのC末端部に共通構造(Phe-X-Gly-Leu-Met-NH<sub>2</sub>)を持ち tachykinin family に属することが明らかにされた。またこれらの tachykinin は、neurokinin 受容体を介し機能することが知られ、さらに neurokinin 受容体は NK<sub>1</sub>、NK<sub>2</sub>、NK<sub>3</sub>の3つのサブタイプに分類され、NK<sub>1</sub>受容体は substance P に、NK<sub>2</sub>受容体は neurokinin A に、NK<sub>3</sub>受容体は neurokinin B にそれぞれ

れ高い親和性を持っている<sup>12)</sup>。



### Calcitonin gene-related peptide (CGRP)

CGRP はアミノ酸37個よりなるペプチドで、SP と同様に三叉神経節や後根神経節での存在が認められている。血管に対し内皮非依存性の血管拡張を示し、その程度は SP による血管拡張より強く、この傾向は脳血管においても同様であることが知られている。脳血管外膜には、三叉神経節をおもな起源とする CGRP および SP を含有する神経線維が分布している<sup>13)14)</sup>。ラットにおいて、脳血管に至る三叉神経の第一枝の分枝である鼻毛様体神経を電気刺激すると、脳血管拡張および脳血流増加が生じ、これらの反応には脳血管を支配する神経線維に含まれている CGRP および SP が関与すると考えられている<sup>14)15)</sup>。また一側の三叉神経節刺激により、外頸静脈中の CGRP 濃度の上昇が報告されている<sup>16)</sup>。

Goadsby らは、片頭痛患者および群発頭痛患者において発作時に頸静脈血中の CGRP 濃度が上昇することを報告し<sup>17)</sup>、さらに群発頭痛患者では酸素またはスマトリプタン投与で CGRP 濃度が正常のレベルに戻ることを報告している<sup>18)</sup>。また片頭痛発作間欠期では、SP と同様に健常者と比較し低値を示すことが報告されており<sup>19)</sup>、SP および CGRP 受容体に denervation hypersensitivity が生じている可能性も考えられている。



### 一酸化窒素 (nitric oxide ; NO)

一酸化窒素 (nitric oxide ; NO) は、血管内皮細胞由来の血管弛緩物質 (内皮由来弛緩因子 ; endothelium derived relaxing factor ; EDRF) の1つであるが、その後の研究で神経伝達物質としての性質を有することも明らかにされた。NO は、L-arginine を基質として NO 合成酵素 (nitric oxide synthase ; NOS) により生合成される<sup>5)</sup>。

神経系での局在は、神経型 cNOS (neural constitutive NOS ; ncNOS) の抗体を用いた免疫組織化学で検討されて、中枢神経系および自律神経系での存在が認められている<sup>30)</sup>。NO は、シナプスの可塑性、グルタミン酸受容体の活性化機構の調節、神経細胞死と神経細胞保護、血管拡張作用などに関与していると考えられている。さらに、ncNOS のほかに血管内皮細胞に主に見られる血管内皮型 cNOS (endothelial constitutive NOS ; ecNOS) と、平滑筋やマクロファージなどに認められる誘導型 NOS (inducible NOS ; iNOS) の2種類のアイソフォームがあり、神経細胞のみならず多くの組織で産生されるため、神経伝達物質としての性質のみならず、生命現象を修飾する細胞間メッセンジャーとして広く機能していると考えられている<sup>20)</sup>。

NO donor の一つである glyceryl trinitrate (GTN) を健常者に投与すると、すぐに軽度から中等度の片頭痛様の頭痛発作が誘発される<sup>21)</sup>。さらにこの頭痛発作は、光過敏や音過敏などを欠いているがスマトリプタンで改善することから、GTN は片頭痛に類似した病態を誘発している可能性が推察されている<sup>22)</sup>。GTN は体内で速やかに代謝されるため、正常人では頭痛は短時間で消失するが、片頭痛患者では長時間にわたり強い頭痛が継続することから、片頭痛患者では NO に対する感受性亢進の存在も推測されている。NO がこのような片頭痛様の頭痛発作を誘発させる原因として直接的な血管拡張作用の他に、NO の三叉神経終末からの CGRP 放出促進作用があげられている。このことは、動物実験において三叉神経の切断や CGRP 受容体アンタゴニスト投与により、NO の血管拡張作用が減弱する結果からも矛盾しないと考えられている<sup>23)</sup>。このほか、三叉神経脊髄路核での *c-fos* の上昇や、髄膜でのインターロイキン1βや6の上昇が報告されており<sup>24)25)</sup>、血管の他に痛覚伝導路など、神経系のさまざまな部位に作用していると考えられている。

## アミノ酸

グルタミン酸、GABAなどはアミノ酸に属する神経伝達物質である。グルタミン酸(glutamate)は、クエン酸回路の一員である2-オキソグルタル酸が、グルタミン酸トランスフェラーゼの作用により他のアミノ酸からアミノ基の転移を受けることで合成される。グルタミン酸は、興奮性神経伝達物質としての機能のほかに内因性興奮毒としての性質を持っている。中枢神経系において主要な興奮性神経伝達物質として広く分布し、記憶・学習などの脳高次機能に重要な役割を果たしている。しかし、その機能的な重要性の反面、過剰なグルタミン酸は神経細胞障害作用を持ち、さまざまな神経疾患に伴う神経細胞死などの原因と考えられている。なおグルタミン酸には、イオン透過型および代謝調節型の2種類の受容体があり、さらにこれらの受容体に対し多くのサブタイプが存在することは、グルタミン酸の持つ機能の多様性を裏付けるものである<sup>9)</sup>。

$\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA)は、神経細胞に対し抑制性の機能を有する神経伝達物質である。GABAは大脳皮質や小脳のPurkinje cellなどのほかに、脊髄後角や三叉神経脊髄路核のlamina IやII層など多くの部位に分布している<sup>9)</sup>。

片頭痛と神経伝達物質作用をもつアミノ酸についてはneuron theoryに基づき髄液や血中濃度の測定が行われ、健常者と異なる傾向を示すことが報告されている<sup>26)~28)</sup>。さらに抗てんかん薬などが効果を示す点からも、片頭痛との関連が示唆されている。GABA類似の作用を示すバルプロ酸が、片頭痛発作の予防効果を示すことは以前から知られているが、このほかトピラメートや最近本邦で使用可能となったガバペンチン(ガバペン<sup>®</sup>)も片頭痛発作に対する予防効果を有している。トピラメートは神経終末にあるGABA<sub>A</sub> receptorに作用し、神経細胞の抑制機能を増強す

るとともにグルタミン酸のAMPA/kainate受容体に働き興奮機能を抑制することから、これらアミノ酸と片頭痛の関係が示唆されている。ガバペンチンは神経終末の電位依存性カルシウムチャネルの $\alpha^2\delta$ サブユニットに結合し、Ca<sup>2+</sup>の流入を抑制しグルタミン酸の遊離抑制やGABAトランスポーターの活性化により、興奮性アミノ酸抑制と抑制性アミノ酸の増強作用を示すと考えられている<sup>29)</sup>。

さらにGABAは、中枢神経のほかに三叉神経節や硬膜など末梢の侵害受容神経内での存在も報告されている<sup>30)</sup>。さらに、三叉神経を刺激により生じる神経原性炎症がGABA<sub>A</sub> receptorのアンタゴニスト投与で抑制されることから、脳硬膜でのGABA<sub>A</sub> receptorが存在し、片頭痛治療におけるGABA作動薬の新たな作用部位となる可能性も考えられている<sup>31)</sup>。

## おわりに

これまで述べてきた、神経伝達物質と片頭痛の病態との関連について図2に記す。ノルアドレナリン、セロトニン、SP、CGRPなどは血管反応性に関与する点では、血管説や三叉神経血管説などとの関連が考えられる。また、セロトニン中枢神経系の下行性痛覚抑制経路に含有され、痛覚の抑制にも関与している。NOは直接的な血管拡張作用の他に、CGRPなどの神経伝達物質の放出を促し、間接的にも血管を拡張させる可能性が考えられる。アミノ酸は、中枢神経内において神経細胞の興奮性を調節している点で神経説と関連しているが、GABAは三叉神経脊髄路核や末梢の三叉神経に働き痛覚を抑制している可能性が考えられる。

このように、さまざまな神経伝達物質がお互いに関連し、片頭痛の病態を形成している可能性があり、今後は一つ一つの役割の解明がより治療薬の開発に結びついていくと考えられる。

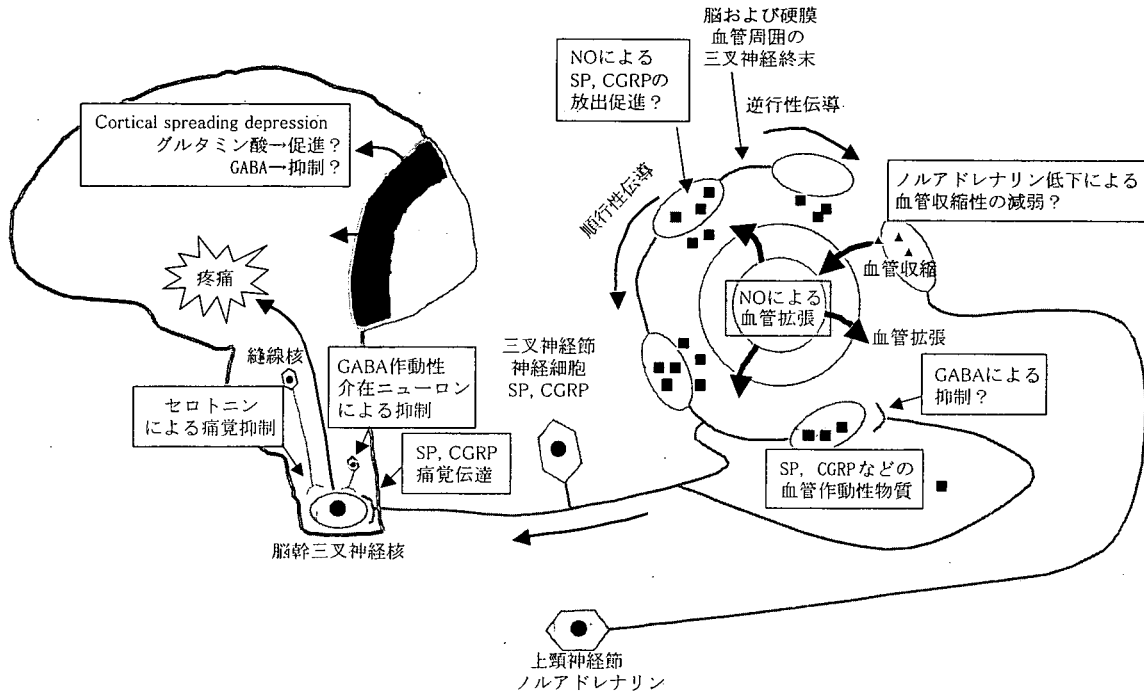


図2 片頭痛の病態と神経伝達物質との関係

ノルアドレナリン、セロトニン、SP、CGRP および NO などは血管反応性に関与する。このほかセロトニンは中枢神経内の下行性痛覚抑制経路で痛覚の抑制、SP、CGRP などは侵害刺激の伝達、NO は CGRP などの放出作用なども有している。アミノ酸は中枢神経内において神経細胞の興奮性を調節しているほか、GABA は三叉神経脊髄路核や三叉神経節、硬膜において痛覚抑制などに関与している可能性がある。

文 献

- 1) Graham JR, Wolff HG : Mechanism of migraine headache and action of ergotamine tartrate. Arch Neurol Psychiatry 39:737-763, 1938.
- 2) Leão AAP : Spreading depression of activity in the cerebral cortex. J Neurophysiol 78 : 359-390, 1944.
- 3) Olesen J, Friberg L, Olsen TS, et al : Timing and topography of cerebral blood flow, aura, and headache during migraine attacks. Ann Neurol 28 : 791-798, 1990.
- 4) Moskowitz MA : The neurobiology of vascular head pain. Ann Neurol 16 : 157-168, 1984.
- 5) 清水利彦, 鈴木則宏 : 「神経伝達物質」, 山浦 晶, 河瀬 斌(編). 脳神経外科学大系 1 神経科学. 東京, 中山書店, 83-98, 2006.
- 6) Gotoh F, Komatsumoto S, Araki N, et al : Noradrenergic nervous activity in migraine. Arch Neurol 41 : 951-955, 1984.
- 7) Barnes NM, Sharp T : A review of central 5-HT receptors and their function. Neuropharmacology 38 : 1083-152, 1999.
- 8) Sicuteri F, Testi A, Anselmi B : Biochemical investigations in headache : increase in hydroxyindoleacetic acid excretion during migraine attacks. Int Arch Allergy appl Immunol 19 : 55-58, 1961.
- 9) Curran DA, Hinterberger H, Lance JW : Total plasma serotonin, 5-hydroxyindoleacetic acid and p-hydroxy-m-methoxymandelic acid excretion in normal and migrainous subjects. Brain 88 : 997-1010, 1965.
- 10) Humphrey PP, Feniuk W, Perren MJ, et al : GR43175, a selective agonist for the 5-HT1-like receptor in dog isolated saphenous vein. Br J Pharmacol 94 : 1123-1132, 1988.
- 11) 清水利彦, 鈴木則宏 : トリプタンの使用法. カレントセラピー 22 : 1006-1013, 2004.
- 12) Severini C, Improta G, Falconieri-Ersparmer G, et al : The Tachykinin Peptide Family. Pharmacol Rev 54 : 285-322, 2002.
- 13) Suzuki N, Hardebo JE, Owman Ch : Origins and pathways of cerebrovascular nerves storing subst-

- ance P and calcitonin gene-related peptide in rat. *Neuroscience* 31 : 427-438, 1989.
- 14) 鈴木則宏 : 脳血管の神経支配. *脳神経* 45 : 6-19, 1993.
  - 15) Suzuki N, Hardebo JE, Kahrstrom J, et al : Effect on cortical blood flow of electrical stimulation of trigeminal cerebrovascular nerve fibres in the rat. *Acta Physiol Scand* 138 : 307-316, 1990.
  - 16) Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R : Release of vasoactive peptides in the extracerebral circulation of humans and the cat during activation of the trigeminovascular system. *Ann Neurol* 23 : 193-196, 1988.
  - 17) Goadsby PJ, Edvinsson L, Ekman R : Vasoactive peptide release in the extracerebral circulation of humans during migraine headache. *Ann Neurol* 28 : 183-187, 1990.
  - 18) Goadsby PJ, Edvinsson L : Human in vivo evidence for trigeminovascular activation in cluster headache. Neuropeptide changes and effects of acute attacks therapies. *Brain* 117 : 427-434, 1994.
  - 19) 清水利彦, 福内靖男, 荒木信夫ほか : 前兆を伴う片頭痛患者(migraine with aura)の発作間欠期における血管作動物質の検討. *自律神経* 30 : 385-389, 1993.
  - 20) 清水利彦, 鈴木則宏 : 中枢神経と一酸化窒素. *日本集中治療医学会雑誌* 3 : 69-82, 1996.
  - 21) Olesen J, LL Thomsen, et al : Nitric oxide is a key molecule in migraine and other vascular headaches. *Trends Pharmacol Sci* 15 : 149-153, 1994.
  - 22) Iversen HK, J Olesen : Headache induced by a nitric oxide donor (nitroglycerin) responds to sumatriptan. A human model for development of migraine drugs. *Cephalalgia* 16 : 412-418, 1996.
  - 23) Wei EP, MA Moskowitz, et al : Calcitonin gene-related peptide mediates nitroglycerin and sodium nitroprusside-induced vasodilation in feline cerebral arterioles. *Circ Res* 70 : 1313-1319, 1992.
  - 24) Pardutz A, I Krizbai, et al : Systemic nitroglycerin increases nNOS levels in rat trigeminal nucleus caudalis. *Neuroreport* 11 : 3071-3075, 2000.
  - 25) Reuter U, H Bolay, et al : Delayed inflammation in rat meninges : implications for migraine pathophysiology. *Brain* 124 (Pt 12) : 2490-2502, 2001.
  - 26) Welch KMA, Chabi EVA, Bartosh K, et al : Cerebrospinal fluid  $\gamma$  aminobutyric acid levels in migraine. *Br Med J* 3 : 516-517, 1975.
  - 27) Ferrari MD, Odink J, Bos KD, et al : Neuroexcitatory plasma amino acids are elevated in migraine. *Neurology* 40 : 1582-1586, 1990.
  - 28) Alam Z, Coombes N, Waring RH, et al : Plasma levels of neuroexcitatory amino acids in patients with migraine or tension headache. *J Neurol Sci* 156 : 102-106, 1998.
  - 29) Silberstein SD, Tfelt-Hansen P : Antiepileptid drugs in migraine prophylaxis. In : J Olesen, PJ Goadsby, NM Ramadan, P Tfelt-Hansen, KMA Welch (Ed.), *The Headache* (3rd Edition), Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp545-551, 2006.
  - 30) 清水利彦, 鳥海春樹, 鈴木則宏 : ラット脳硬膜における GABA 陽性神経の分布と起源について. *日本頭痛学会誌* 33 : 60, 2006.
  - 31) Lee WS, Limmroth V, Ayata C, et al : Peripheral GABAA receptor-mediated effects of sodium valproate on dural plasma protein extravasation to substance P and trigeminal stimulation. *Br J Pharmacol* 116 : 1661-1667, 1995.



## 片頭痛

慶應義塾大学神経内科教授

鈴木 則 宏

(聞き手 山内俊一)

片頭痛の患者をよく経験します。その中で片頭痛薬が原因ではないかと思われるいわゆる薬物乱用頭痛を疑う症例にでくわしますが、どのように対応していけばよろしいでしょうか。重大な神経障害を起こす可能性がある、片麻痺性片頭痛、脳底性片頭痛、片頭痛性脳梗塞についてもご教示下さい。

<三重県勤務医>

山内 鈴木先生、まずこの片頭痛で、ありふれたといえればありふれた病気ではあります。もう一度特徴な点につき整理したいんですが。

鈴木 頭痛というのは、非常にありふれた症状ですが、原因が多岐にわたる、特に慢性頭痛の場合は客観的な検査所見がありません。したがって、非常に診断がつけにくい、ドクターにとってはアプローチしにくい疾患の一つといえます。

特に、片頭痛は、字面を見ますと「片側の頭痛」と書きますので、患者さんも、ドクターも、片側の頭だけが痛ければ片頭痛ではないかと勘違いすることがあるんですね。実際問題、片頭痛というのは確かに片側が痛むこと

が多いのですが、痛みの性質が、血管が拍動しているように痛んでいると感ずるといのが最も大きな特徴です。ですから、締めつけられるとか、刺さるようなというよりは、ドクッ、ドクッと、脈を打っているという表現を患者さんはなさいます。

それから、片頭痛発作のときは、7～8割の方が吐いてしまします。また、吐くと症状が少し楽になるといふこともあります。

痛みは1週間も2週間も続くことはなくて、長くても3日です。片頭痛はこのように短い間で完結するという発作性の疾患です。

また、片頭痛発作のときには、光や音が嫌だ、あるいは、においも嫌だと、

そういう過敏症状が出るというのが特徴です。

**山内** それから、やはり何と云っても病院に来る動機は、生活に支障を来して困っていることです。つまり、生活がストップしてしまふ。家事ができないう会社を休まなければいけない。どうにかならぬか、ということでは病院にいらつしやる。したがって、病院に来るような頭痛は、大多数が片頭痛ではないかということになります。

**山内** 我慢ができないうぐらひひどい頭痛と見てよろしいわけですね。

**鈴木** そうですね。自制できないということになるんでしょうね。

**山内** 診断についてですが、いま自覚所見でお話いただきましたような特徴のみでも診断がつくんでしょうか。それとも、補助診断みたいなものがあるのでしょうか。

**鈴木** 補助診断として大きなものはありませんが、とにかく二次性の頭痛、脳腫瘍とか脳梗塞のような器質性のもがないということが大前提です。そういう意味では検査はある程度必要だと思ふんです。全く器質性の疾患がなく、重度の頭痛を訴える場合は、片頭痛を疑わなければいけないということになります。

ただ、患者さんと話して、問診から引き出すことのできる情報が最大の診断の手がかりになりますから、患者さんとのコミュニケーションをしっかりと

取るということが大事です。

しかし、患者さんの記憶というのはとかくあいまいなことが多いので、最近よく補助診断として使われるのは頭痛の日記です。初診のときに日記をお渡しして、再来のときにチェックします。例えば週末に多いとか、あるいは女性の場合だと生理と関連して起こっているとか、そういうものが明らかになると、かなり確定診断の手がかりになります。

**山内** 何か若い女性に比較的多いような印象もありますが、これはいかがなんですか。

**鈴木** まさにそのとおりです。好発年齢は、10~40代ぐらいに集積しています。男性より圧倒的に女性に多いのが特徴です。

**山内** さて、そういった方で、この質問に戻りますが、薬物乱用頭痛ですが、これは片頭痛の薬でも来るのではないかということですが、このあたりは先生、いかがなんでしょう。

**鈴木** これは最近、注目され、話題になってきている頭痛の一つです。いわゆる慢性頭痛の中でこのようなものがあるということですが、最近まであまり注目されておりました。治すために飲んである薬によって頭痛が起こっているという、非常に奇妙な病態ということができます。

**山内** 厄介ですね。

**鈴木** そうですね。特に、たくさん

お薬を飲んでいらつしやる方、痛いから飲むのは当然なんですけれども、痛くなるのが嫌だ、あるいは痛くなるのが怖いということで、どんどん量が増えていく方がいらつしやるんです。そうすると、知らず知らずのうちに悪循環にはまり、飲んでいくことが悪いこととは気がつかずに量が増えていって、頭痛が起こってくるわけです。

**山内** そうしますと、常用量をはるかに超えた量を飲んでいと理解してよろしいんでしょうか。

**鈴木** そういう場合が多いですけれども、常用量として1日に何錠までというのは決まっています。例えば、1カ月のうちに3週間ずっと飲み続けるというふうな方では、この薬物乱用頭痛に移行する可能性が出てきます。ですから、非常識な量でなくとも、連日、痛み止めなどを飲んでいらつしやる方には起こりうる病態だといわれていきます。

**山内** そうしますと、痛み止めの薬だと何の種類でもありうると見てよろしいわけですか。

**鈴木** そうですね。この頭痛を起さる薬は、いわゆる鎮痛にかかわるものすべてが出てくるといわれています。例えば、NSAIDsがそうですし、それからカプセルゴット、最近話題のトリプタンでも連用しますと、薬物乱用頭痛が起こるといえることがいわれて

います。

**山内** このあたりのメカニズムは何かわかつているんでしょうか。

**鈴木** これが非常に難しいですね。そういうものがあるというのは、いふわかつてきたんですけれども、なぜそういう状態になるのかというメカニズムはまだ不明といつてよろしいのではないかと思ふます。

**山内** 対応についてですが、これはどうしたらよろしいんでしょうか。

**鈴木** 対応は、まず薬をやめていただくことが大原則です。ただ、頭痛がある状態で、急に薬をやめるというのは非常に辛いことだと思ふますので、まず減らしていただく。それから、1日おき、あるいは3日おきに内服していただくというふうな形でやつていきますけれども、なかなか外来では難しいことがあります。このような場合は入院していただいて、薬を医療者側で管理して、薬剤の量を減らしていただくことが行われているようです。

**山内** 薬剤管理のための入院ということですね。

**鈴木** そういうことです。薬を中止することによって、本来患者さんが持っていた頭痛が何であるかがわかつてきますので、適切な治療、すなわち痛み止めではなくて、原因治療を施すことができるといふことになります。

**山内** 痛み止めならばあらゆる種類、例えばNSAIDsでもあるということでは

すから、別の目的、例えば腰痛や生理痛の薬も疑わなければならぬことがあるわけですね。

**鈴木** そうですね。可能性はありますね。ですので、患者さんがいま飲んでお薬がどんな薬で、どのように入っているかというサーベイは、アナムネーゼのときに必要ではないかなと思います。

**山内** これは中止をしたら速やかによくなる、頭痛が取れると考えるとよいでしょう。

**鈴木** 中止後2カ月以内に速やかにという条件が国際頭痛学会の新しい診断基準にありましたが、最近どうも速やかには消失しないという例が多くなっているからわかっています。薬剤によって誘発されるような頭痛であれば、こういうふうには呼べるのではないかと、この反省の時期になってきています。

**山内** そうすると、気長にということになりますか。

**鈴木** そうですね。

**山内** なかなか対応が厄介なものですね。

**鈴木** 治療はかなり長くなる可能性はあります。

**山内** このご質問の最後に、特殊なパターンとして片麻痺性片頭痛、あるいは脳底性片頭痛、片頭痛性脳梗塞、こういったものが並んでいますが、このあたりというのはどういった状態なんでしょうか。

**鈴木** これは片頭痛の特殊型というてよろしいと思います。片頭痛には、前兆のあるものと前兆のないものがあります。前兆のある片頭痛の通常の

前兆というのは、目の前に光がチカチカして、そのチカチカの真ん中が暗くなって見えにくくなる。いわゆる閃輝性暗点というものです。それが回復消失して激しい頭痛が来る。あるいは、手足が痺れて頭痛が来るというパターンが通常の前兆のある片頭痛ですが、

その中で時々、片麻痺を起す。つまり、右の手足がきかなくなることから頭痛が来るとか、それから例えば物がダブって見えたり、あるいはめまいがしたり、そういう症状を伴った後に、あるいは伴ったと同時に痛くなるという特殊型があります。これは通常の片頭痛と同じに考えていいかどうかというのは、まだまだ病因論的に議論があり、治療も脳血管を収縮させる作用のある通常使うトリプタンは使わないようにという推奨になっています。

**山内** 脳神経症状ですね。脳の神経の症状は、これは一過性なんですか。

**鈴木** 一過性です。大体1時間以内に消えるというのが特徴といわれています。

**山内** あまり後遺症としては神経障害を残さないということですね。

**鈴木** はい。それが通常のこれらの片頭痛のパターンです。

**山内** 最後にあります片頭痛性脳梗

塞、これはちょっと様相が違いますか。

**鈴木** これはまたそのカテゴリーとは別で、片頭痛の合併症に分類されます。ただ、合併症とは何ぞやということになるんですけれども、片頭痛というのには現在、いわゆる血管性頭痛という概念よりも、中枢神経性の頭痛、あるいは神経血管性頭痛というふうに呼ばれています。かつては脳血管が収縮して、目がチカチカしたり、痺れたり、次に脳血管が開いて頭痛が来るというような、単純な図式で考えられていたんですが、どうも脳血流の時間的推移を調べてみると、そういう簡単なものではないらしいことがわかっています。つまり、脳の神経細胞自体が活性化したり、抑制化したりして前兆の神経症状が出るといわれているの

が現在のコンセンサスです。しかし、こういう合併症のあるものに関しては、脳血管収縮のフェーズがやはりあるんだらうということが考えられます。

片頭痛性脳梗塞というのは、片頭痛の前兆として麻痺が起こって、それが頭痛が消えても残ってしまっている場合をいいます。この場合、MRIなどで頭部の画像検査で、症状に対応する病巣が認められるという場合に診断されますが、これは実はまれなケースだといつてよいと思います。

**山内** この治療は脳梗塞に準ずるんでしょうか。

**鈴木** 脳梗塞という診断がございましたら、急性期脳梗塞の治療に移行すべきです。

**山内** ありがとうございます。

# 頭痛

鈴木 則宏 慶應義塾大学教授  
すずき のりひろ 神経内科

## はじめに

頭痛の診察は、その原因を明らかにして、適切な原因治療を行うことが最も重要である。しかし、多くの場合、臨床検査や画像などによっても異常が検出できず、患者本人からの頭痛に関する情報聴取(問診)のみが診断の拠り所となる。したがって頭痛は、診断と治療に患者とのコミュニケーションがきわめて重要な疾患であるといえる。頭痛は大きく3つに分類される。

## 病態と診断

片頭痛は、日常生活に支障をきたすほどの一側頭部の激しい拍動性の痛みを主徴とする、悪心・嘔吐、光過敏・音過敏などを伴う疾患である。片頭痛はこれまで長い間、頭蓋内外の血管自体の疾患、すなわち「血管性頭痛」であると考えられてきた。しかし、片頭痛前兆の研究や新薬トリプタンの薬理作用機序などから現在では、血管疾患ではなく、脳幹あるいは間脳付近に頭痛発生器が想定される、セロトニンの全般的な機能低下を伴う中枢神経疾患、としてとらえるべきであるという概念となっている。

片頭痛には、前兆のある型とない型があり、国際頭痛分類(第2版)の診断基準に基づいて診断するが、臨床像の特徴を簡便にまとめると次のようになる。① 10歳台後半から40歳台の女性に多い。② 拍動性疼痛。③ 頭痛は片側性のことが多い。④ 強い痛みが数時間から3日程度持続し、寝込むなど日常生活に支障をきたす。⑤ 体動や、力みで痛みがひどくなる。⑥ 悪心・嘔吐を伴う。⑦ 音や光あるいは匂いに敏感になる。⑧ 前兆のある型においては、発作前30分から1時間の間に、閃輝暗点が出現する。⑨ 頭痛は月2~3回から、年に数回発現する。⑩ 週末やストレスから解放されたとき、あるいは月経の前後に発症することが多い。

典型的な前兆を伴う例では比較的診断は容易であるが、非典型例では1~2回の診察で確定診断にいたるのが困難なことが多い。ただし、わが国では、特に動作による悪化・悪心・光過敏・臭過敏のうち2項目以上が頻繁に見られる場合は、その患者の持つ頭痛が片頭痛である可能性が極めて高いことが調査により明らかにされている。なお、日記による連続数ヶ月間の患者の頭痛情報は診断を確実にするので、患者に積極的に日記を勧めることは頭痛診療上極めて有用である。

## 治療方針

片頭痛の治療で最も重要なことは、その診断の確実性である。片頭痛では頭痛の発現が発作性であるため、その治療は発作急性期治療(発作頓挫治療)と発作予防治療に分けられる。

すなわち、二日酔い・アイスクリーム頭痛などのような日常的小おこる病的要素の少ない頭痛、くも膜下出血、脳出血、脳腫瘍、髄膜炎、副鼻腔炎などの頭蓋内外の器質性疾患に随伴する頭痛(二次性頭痛あるいは症候性頭痛)、そしていわゆる頭痛持ちの頭痛(一次性頭痛あるいは慢性頭痛)である。この項目では症候性頭痛を鑑別診断した上での、慢性頭痛、すなわち片頭痛、緊張型頭痛、群発頭痛の具体的な治療について述べる。

## 片頭痛

### A. 発作急性期治療

#### 1) 軽度の頭痛発作の場合

<処方例>下記のいずれかを用いる。

- ① バファリン錠(330 mg) 1錠 発作時に頓用 または
- ② ボルタレン錠(25 mg) 1錠 発作時に頓用 1日3回まで 悪心・嘔吐が著しい場合は
- ③ ナウゼリン錠(10 mg) 1錠を併用

#### 2) 中等度の頭痛発作の場合

<処方例>下記のいずれかを用いる。

- ① クリアミンA錠 1錠 発作時に頓用
- ② カフェルゴット錠 1錠 発作時に頓用 悪心・嘔吐が著しい場合は
- ③ ナウゼリン(10 mg) 1錠を併用

#### 3) 重症の頭痛発作の場合

<処方例>下記のいずれかを用いる。

- ① イミグラン錠(50 mg) 1錠 発作時に頓用 あるいは
- ② ゾーミッグ錠(2.5 mg) または ゾーミッグRM錠(2.5 mg) 1錠 発作時に頓用 あるいは
- ③ レルパックス錠(20 mg) 1錠 発作時に頓用 あるいは
- ④ マクサルトル錠(10 mg) または マクサルトルRPD錠(10 mg) 1錠 発作時に頓用

効果不十分のときは、追加は2時間以上あけて1~2錠可。症状により適宜増減可で、1日4錠まで(ただし、レルパックスおよびマクサルトルは1日2錠まで)

悪心が強い場合は、以下を併用

- ⑤ ナウゼリン(10 mg) 1錠

#### 4) 重症で悪心・嘔吐も著しいとき

<処方例>下記のいずれかを用いる。

- ① イミグラン注3(3 mg) 1アンブル 皮下注

初回投与で頭痛が軽減した場合には、24時間以内におこった次の発作に対して追加投与できるが、2回目の投与との間には少なくとも1時間の間隔をあげ、投与総量が1日6mgを越えないように注意する。

- ② イミグラン点鼻液20(20 mg/0.1 ml) 0.1 ml 鼻腔内投与

初回投与で効果が不十分な場合は、追加投与できるが、前回の投与から2時間以上あけ、1日の総投与量を40 mg以内とする。

### B. 発作予防治療

発作予防薬は片頭痛発作が月2回以上あり日常生活に支障をきたす場合や、急性期治療薬が使用できない場合に適応となる。

<処方例>下記のいずれかを用いる。

- ① テラナス錠またはミグシス錠(5 mg) 2錠 分2
- ② インデラル錠(10 mg) 2~6錠 分3
- ③ トリプタノール錠(10 mg) 1~3錠 分3

(ただし、インデラル錠、トリプタノール錠は保険適用外)