

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09766

研究課題名(和文) 大脳皮質拡延性抑制動物モデルを用いた、片頭痛随伴症状の悪心嘔吐発生機序の解明

研究課題名(英文) Correlation between the cortical spreading depression and nausea and vomiting as an associated symptom of migraine.

研究代表者

工藤 千穂 (Kudo, Chiho)

大阪大学・歯学研究科・准教授

研究者番号：20533110

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：大脳皮質拡延性抑制(CSD)を誘発させる片頭痛動物モデルを用い、片頭痛の主な随伴症状である悪心嘔吐の発生メカニズムについて検討した。その結果、CSDにより痛覚伝導路の一次中継核だけでなく、悪心嘔吐発生に関わっている延髄最後野および孤束核の活性化が認められた。また、これらの活性化およびCSDの発生はドパミンD2受容体拮抗薬投与により抑制された。以上より、片頭痛発症メカニズムに深く関与しているCSDは随伴症状である悪心嘔吐発生にも関わっていること、片頭痛治療薬の一つであるドパミンD2受容体拮抗薬はCSDを抑制することにより片頭痛発作と悪心嘔吐の両方を抑制する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

片頭痛は反復性の激しい頭痛発作を主症状とするだけでなく、悪心嘔吐、光過敏、音過敏などの随伴症状を呈する複雑な疾患であるため、患者のQOLは著しく阻害され、また、医療費、生産性の損失といった経済的影響も大きな問題となっていることより、多くの患者に有効な治療薬、予防薬の開発が強く求められている。本研究の結果より、片頭痛の発症と悪心嘔吐には共通のメカニズムが存在することが示唆された。この結果を基にさらに研究を進めることで、片頭痛急性期の悪心嘔吐に対する新たな治療法の確立へとつながっていくことが期待される。

研究成果の概要(英文)：We tested the effect of cortical spreading depression (CSD) on the mechanism of nausea and vomiting which is one of associated symptoms of migraine, using CSD rat model widely known as the migraine model. First, CSD activated not only the pain pathway but also the area postrema (AP) and solitary nucleus (NTS) which are associated with the pathogenesis of nausea and vomiting. Second, these activations and the occurrence of CSD were inhibited by metoclopramide, the dopamine D2 receptor antagonist. Taken together, the blockade of the dopamine D2 receptor may inhibit the both pathways of the headache and the nausea and vomiting via the inhibition of CSD.

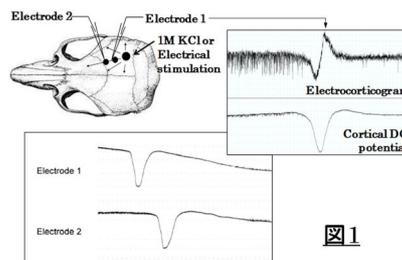
研究分野：歯科麻酔学

キーワード：片頭痛 大脳皮質拡延性抑制 悪心嘔吐

1. 研究開始当初の背景

片頭痛は、日本では人口の10%近くが罹患している慢性的な疾患であり、身体面、心理面、社会的側面において幅広く機能障害を生じることが知られている。片頭痛は単なる頭痛とは異なり、中等度から重度の強さの片側性、拍動性の頭痛で、日常的な動作により頭痛が増悪することが特徴的である。そしてこのような発作が月に数回起こるため、日常生活の継続が困難となり、患者のQOLは著しく阻害される。また、医療面、生産性の損失といった経済的影響も大きな問題となっている。

片頭痛の発症機序はいまだ解明されていないが、大脳皮質拡張性抑制 (Cortical Spreading Depression, CSD) との関与が最も有力とされている。CSDは電氣的、化学的あるいは機械的の刺激によって大脳皮質、小脳、海馬で誘発され、神経細胞、グリア細胞の脱分極に伴って脳内を拡散する脱分極波として定義される (図1) (引用論文1)。このCSDが脳髄膜に分布する三叉神経血管系の三叉神経終末を刺激することによってカルシウム遺伝子関連ペプチドやサブスタンスPなどの神経ペプチドが放出され、神経原性炎症や血管拡張が生じる。それと同時に、三叉神経末端の興奮は求心線維により三叉神経核から脳幹、より上部の痛覚処理系へと伝達され、頭痛が発現するものと考えられている (引用文献2)。



片頭痛前兆や発作の際の主な随伴症状は、悪心嘔吐、光過敏や音過敏、感覚症状、言語症状であり、特に成人の片頭痛症例において50%以上で悪心嘔吐が認められると報告されている (引用文献3)。

片頭痛の症状は多岐にわたる。そのため、片頭痛の病態解明には疼痛発症メカニズムだけでなく、その他の随伴症状が誘発されるメカニズムも解明する必要がある。片頭痛と光過敏や感覚異常の関連性については近年さまざまな報告が増えているが (引用文献4, 5) 片頭痛と悪心嘔吐の関連性については、悪心嘔吐が日常生活に重大な障害を引き起こすにもかかわらず、その関連性を解明するための基礎的研究、特に片頭痛前兆の発生メカニズムとして最も有力なCSDに着目した悪心嘔吐発生メカニズムについての研究は行われていないのが現状である。片頭痛とこれと同時に発生する随伴症状に対する確実な治療法を確立するためには、片頭痛発症メカニズムだけでなく、随伴症状が誘発されるメカニズムも解明することが必要であり、これらの発生メカニズムには共通の因子が存在すると推測される。

2. 研究の目的

本研究の目的は、片頭痛の病態メカニズムとして最も有力であるCSDに着目し、CSDが随伴症状の1つである悪心嘔吐の発生に関わっているかどうかを解明することである。今までのところ、片頭痛の随伴症状の一つである悪心嘔吐とCSDの関連に着目した詳細な研究は行われていない。本研究において、CSDによる悪心嘔吐への影響のメカニズムを明らかにすることで、将来的には悪心嘔吐を含めた片頭痛に対する新たな治療戦略の確立へとつながっていくものと期待される。

3. 研究の方法

(1) CSD動物モデルの作製

イソフルラン、亜酸化窒素で全身麻酔を行い、気管切開を行う。

両側大腿静脈に薬物投与用のカテーテル、左側大腿動脈に動脈圧測定用のカテーテルを留置する。筋弛緩薬の持続投与と開始後、ベンチレータに接続し、脳定位固定装置に固定する。

プレグマとラムダの間の右側頭蓋骨を電気ドリルにて穴を3か所開け、そのうちの1つは皮質表面を損傷しないように硬膜を剥離し、皮質表面を露出させる。

他の2つの穴より電極を皮質表面から300 μ m下に挿入する。

麻酔をウレタンに切り替える。

大脳皮質表面に1M KClによる化学的刺激を30分間与え、CSDを誘発する (CSD発生群) あるいはコントロール群として生理食塩水を投与する (コントロール群)。

(2) 中枢神経系における痛覚伝導路および悪心嘔吐発生に関わる部位の活性化の検討

(1)でのCSD誘発30分後に生理食塩水でKClをwashoutし、その90分後に還流固定を行い、三叉神経脊髄路核および上部頸髄を取り出す。神経細胞活性化の指標であるc-Fosタンパク質発現を、痛覚伝導路の一次中継核である三叉神経脊髄路核尾側亜核 (Vc) および上部頸髄 (C1-2) と、悪心嘔吐発生メカニズムに関わる延髄最後野 (AP) および孤束核 (NTS) において確認する。

(3) CSDを介した悪心嘔吐を誘発する化学的入力への検討

ドパミンD₂受容体拮抗薬であるメトクロプラミド (プリンペラン®) と、5-HT₃受容体拮抗薬

であるグラニセトロン(カイトリル®)は生理食塩水に溶解させ、NK1 受容体拮抗薬であるアプレピタント(イメンド®)は5%ジメチルスルホキシドと5% Tween80 を含む生理食塩水に溶解させる。

(1)と同様の手術を行い、CSD 誘発 30 分前にメトクロプラミド 15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、アプレピタント 10 mg/kg 、グラニセトロン 0.1 mg/kg のいずれかを腹腔内投与する。

(1)と同様に CSD を誘発し、Powerlab®による脳波および DC potential の記録を行う。免疫染色により、Vc および C1-2、AP および NTS における c-Fos 発現の検討を行う。

(4) 統計学的解析

CSD 発生数、抗 c-Fos 抗体陽性細胞数の統計学的解析には、Student's t-test あるいは一元配置分散分析 (post hoc Tukey-Kramer test) を用いた。危険率は $p < 0.05$ で有意差ありとした。

4. 研究成果

(1) CSD 発生による c-Fos 発現

CSD 記録時の循環動態および呼吸状態は、コントロール群、KCl 群とも正常範囲内であった。

KCl 群では、KCl 刺激により CSD 波形が認められた。生理食塩水による washout により、CSD の発生は減少した(図 2)。一方、コントロール群では CSD は発生しなかった。

KCl 群の脳切片において、大部分の抗 c-Fos 抗体陽性細胞は Vc、C1-2 の層と層の腹外側に密集して分布していた。吻尾的には、Obex より 600~800 μm 尾側と 3120~3240 μm 尾側において、コントロール群と比較して、KCl 群では抗 c-Fos 抗体陽性細胞数の有意な増加が認められた(図 3)。

AP、NTS においても、コントロール群と比較して、KCl 群では抗 c-Fos 抗体陽性細胞数の有意な増加が認められた(図 4A,B)。

(2) CSD 発生ラットに対する各種受容体拮抗薬の影響

各受容体拮抗薬投与群において、それぞれ CSD 波形は認められたものの、KCl 群と比較して CSD 発生数の減少が認められた。KCl 刺激開始から washout までの 30 分間における CSD 発生数は、メトクロプラミド投与群、グラニセトロン投与群において KCl 群と比較して有意に減少した(図 5)。KCl 刺激開始から脳波記録終了までの 120 分間における CSD 発生数は、すべての受容体拮抗薬投与群において、KCl 群と比較して有意に減少した。

全ての群において、大部分の抗 c-Fos 抗体陽性細胞は、Vc、C1-2 の層と層の腹外側に密集して分布していた。メトクロプラミド投与群では Obex より 840、3000~3360、3600、3960~4080 μm 尾側において、KCl 群と比較して抗 c-Fos 抗体陽性細胞数が有意に減少した。一方、アプレピタント投与群およびグラニセトロン投与群では、KCl 群と比較して、抗 c-Fos 抗体陽性細胞数は減少傾向であったものの、Obex より 840 μm 尾側以外では有意な減少が認められなかった(図 6)。AT、NTS では、メトクロプラミド投与群、アプレピタント投与群、グラニセトロン投与群のすべての受容体拮抗薬投与群において、KCl 群と比較して、それぞれ抗 c-Fos 抗体陽性細胞数が有意に減少した(図 7)。

(3) 考察

KCl 刺激により、痛覚伝導路の一次中継核である Vc と C1-2 において、コントロール群と比較して、抗 c-Fos 抗体陽性細胞数が有意に増加した。この結果は、今までに報告されている他の片頭痛動物モデルを用いた実験結果とほぼ一致することより、今回用いた CSD モデルにおいても痛覚伝導路の活性化が確認できたと考えられる。

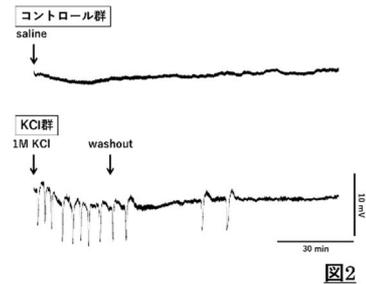


図2

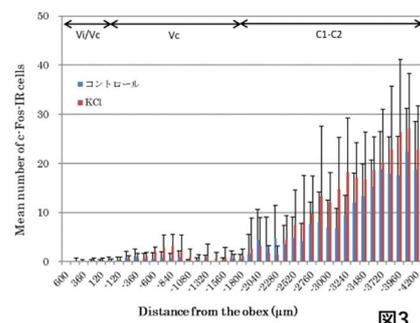


図3

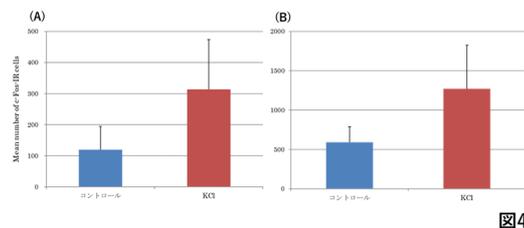


図4

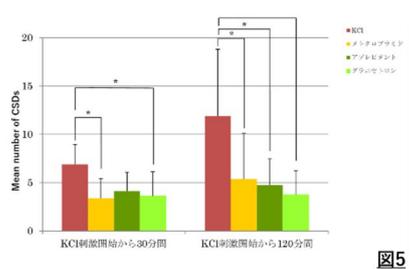


図5

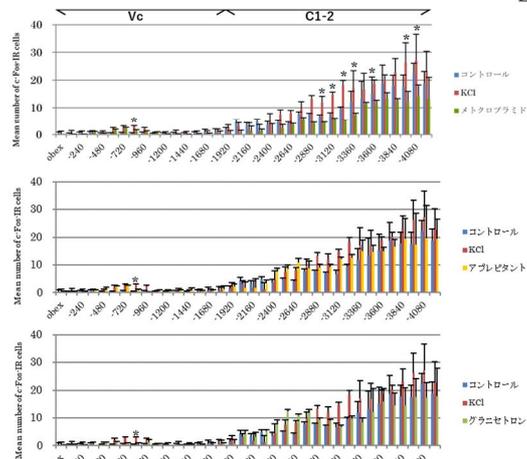


図6

一般的に悪心嘔吐は、主に、摂取した有害物質による胃腸粘膜の化学的刺激などによる腹部内臓からの迷走神経を求心路とした神経性入力、血液中に吸収された毒物や有害代謝産物による AP に存在する CTZ を介した化学的入力、回転運動などの直接的前庭器官刺激や回転や動揺する視覚性入力などにより引き起こされるといわれている。

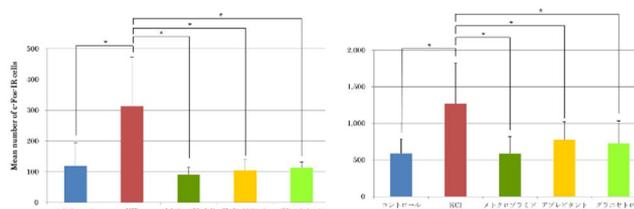


図7

1949年に Borison と Wang により、延髄網様体の嘔吐中枢の存在が報告され(引用文献6) さらに、血液中に吸収された有害物質が第4脳室の門吻側部の AP に存在する CTZ を介して嘔吐が誘発されること、また、腹部迷走神経や CTZ からの催吐性入力は NTS に収束することが明らかにされている。神経細胞の活性化のマーカーとしては c-Fos タンパクが広く用いられているが、現在までに、シスプラチンやアポモルフィンといった悪心嘔吐を誘発する薬物によって AP や NTS において c-Fos が増加するという報告があることより、悪心嘔吐発生メカニズムにおける AP や NTS の活性化はそれらの部位における c-Fos 発現が1つの指標となると考えられる。本研究において、CSD は AP および NTS における c-Fos 発現の有意な増加が見られたことより、片頭痛の随伴症状としての悪心嘔吐は、CSD による AP および NTS の活性化を介して発生していると考えられる。

悪心嘔吐発生メカニズムにおいて、AP に存在する CTZ が重要な役割を担っているが、この部位は血液脳関門が疎であることより、同部位のニューロンは容易に種々の化学物質などを検知し反応する。CTZ にはドパミン D₂ 受容体、NK1 受容体、5-HT₃ 受容体が存在し、血中の化学物質がそれらの受容体を介して悪心嘔吐を誘発するといわれている。

本研究では、上記の各受容体拮抗薬を投与した場合、CSD 発生数および Vc、C1-2、AP、NTS における c-Fos 発現が影響を受けるかについて検討した。その結果、それぞれの受容体拮抗薬により、CSD 発生数が有意に減少した。さらに、AP および NTS における c-Fos 発現も有意に減少した。これらの結果により、各受容体拮抗薬の AP および NTS における c-Fos 発現抑制の効果は、AP に存在する各受容体に対する拮抗作用だけでなく、CSD 発生自体の抑制も影響している可能性が考えられた。CSD が片頭痛発症に深く関与していることは今までの動物実験、臨床実験によってほぼ明らかであるが、ヒトの脳において CSD そのものが発生するメカニズムに関しては未だ説明されていないため、どのようにこれらの各受容体拮抗薬が CSD 発生閾値に影響を及ぼしているかについては今後さらなる検討が必要である。

また、メトクロプラミド投与でのみ、AP および NTS だけでなく Vc および C1-2 領域における c-Fos 発現の有意な減少が認められた。これは、メトクロプラミドが悪心嘔吐だけでなく、片頭痛発作も抑制することを示唆するものであり、メトクロプラミドが随伴症状である悪心嘔吐だけでなく片頭痛発作も抑制するという臨床報告(引用文献7, 8)を裏付けるものである。以上より、臨床におけるドパミン D₂ 受容体拮抗薬の片頭痛抑制効果は、CSD 発生を介して三叉神経系の痛覚伝導路の活性化を阻害することによると考えられた。

【引用文献】

Leão A. Spreading depression of activity in cerebral cortex. *J. Neurophysiol.* 7, 359-390 (1944)

Bolay H et al. Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model. *Nat Med.* 8(2): 136-142 (2002)

Hansen JM et al. Variability of clinical features in attacks of migraine with aura. *Cephalalgia.* 36(3): 216-224 (2016)

Burstein R et al. Chemical stimulation of the intracranial dura induces enhanced responses to facial stimulation in brain stem trigeminal neurons. *J. Neurophysiol.* 79(2): 964-982 (1998)

Nosedar et al. A neural mechanism for exacerbation of headache by light. *Nat. Neurosci.* 13(2): 239-245 (2010)

Borison HL et al. Functional localization of central coordinating mechanism for emesis in cat. *J. Neurophysiol.* 12: 305-313 (1949)

Colman I et al. Parenteral metoclopramide for acute migraine: meta-analysis of randomized controlled trials. *BMJ.* 329(7479): 1369-1373

Najjar M et al. Metoclopramide for acute migraine treatment in the emergency department: An effective alternative to opioids. *Cureus.* 9(4): e1181 (2017)

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	丹羽 均 (Niwa Hitoshi) (30218250)	大阪大学・歯学研究科・教授 (14401)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	加藤 隆史 (Kato Takafumi) (50367520)	大阪大学・歯学研究科・教授 (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関