

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 4 月 24 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22592265

研究課題名（和文）

延髄領域の神経及びグリアの片頭痛に随伴する光過敏症発症に対する関与

研究課題名（英文）

Involvement of medulla neurons and glia in migraine model rat with photophobia

研究代表者

岡田 明子（OKADA AKIKO）

日本大学・歯学部・准教授

研究者番号：10434078

研究成果の概要（和文）：

片頭痛に随伴する光過敏は日常生活に重大な支障をきたすことがあるが、その発症機構は全く分かっていない。本研究により、ラット頭部硬膜を起炎させた片頭痛モデルラットでは、頭部硬膜の炎症により上部頸髄の神経細胞が強く活性化された。また、網膜に対する光刺激により上部頸髄の同神経細胞が活性化された。以上の結果より、片頭痛に随伴する光過敏には上部頸髄の神経細胞が深く関与している可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：

It is well known that migraine patients are highly sensitive to the light. Thus, many of migraine patients suffer from bright light. However, mechanism underlying the photophobia with migraine is not fully understood. In the present study, the ipsilateral C₂ neurons of rats were activated following the inflammation of dura (migraine model). Photostimulation to the eye caused activation of the same ipsilateral C₂ neurons. The present findings suggested that C₂ neurons are involved in photophobia associated with migraine.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	900,000	270,000	1,170,000
2012 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：歯学外科系歯学

キーワード：神経科学，生理学，脳・神経，細胞・組織，脳神経疾患

1. 研究開始当初の背景

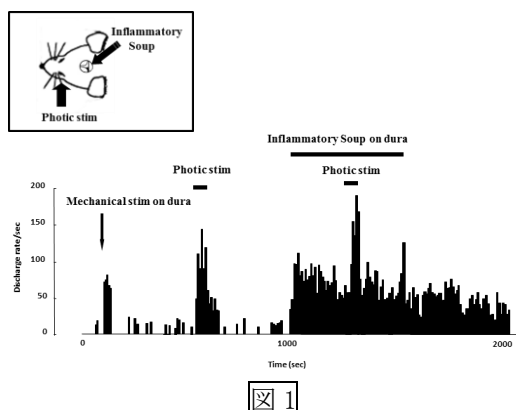
有病率が高い片頭痛の重要なサインの一つとして光過敏がある。光過敏は、本来なら眩しく感じない弱い光刺激を眩しく感じてしまう症状であり、日常生活に重大な支障をきたす。片頭痛の治療だけでなく、頭痛に随伴する光過敏を治療することは、片頭痛患者

の QOL を改善する上で、非常に重要な課題である。我々は従来、適麻酔を施したラットの頭部硬膜に 10%マスタードオイルを投与し起炎させた片頭痛モデルラットを作製し、片頭痛の中枢神経機構を研究してきた。その過程で、上部頸髄における片頭痛関連ニューロンが光刺激にも応答することを確かめた（図 1）。

また、近年、光刺激が三叉神経侵害受容ニューロンを興奮させるという報告がなされ (Okamoto et al 2009, 2010), 片頭痛に随伴する光過敏症には三叉神経脊髄路核ニューロンが関与する可能性が示された。しかし、片頭痛と光過敏の関連性に関する神経機構は全く不明である。しかし、片頭痛患者において、いかなるメカニズムで光過敏が発症するかについてはまだまだ不明な点が残されている。

(1) Okamoto, K., Tashiro, A., Chang, Z., Bereiter, D.A., Bright light activates a trigeminal nociceptive pathway. *Pain*, 149 (2010) 235-242.

(2) Okamoto, K., Thompson, R., Tashiro, A., Chang, Z., Bereiter, D.A., Bright light produces Fos-positive neurons in caudal trigeminal brainstem. *Neuroscience*, 160 (2009) 858-864.



2. 研究の目的

上記背景のもと、我々は中枢神経系における片頭痛に随伴する光過敏の神経機構を詳細に解明し、光過敏に対する新たな治療法の開発を目指すことを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 片頭痛モデルラットの作製

片頭痛モデルラットは、我々が過去に報告した方法 (Okada-Ogawa et al, 2009) を改良して行った。ペントバルビタールナトリウム 50 mg/kg の腹腔内投与によりラットを麻酔し、脳固定装置に固定した。ドリルにて、左側の transverse sinus 上の頭蓋骨に直径 7mm の小孔を注意深くあけ、硬膜を露出させた。次に、生理食塩水で満たしたカニューレを硬膜の表面にあたるように植立し、頭蓋骨に歯科用レジンにて固定した。植立 4 日後にカニューレより 10% マスタードオイル (MO, 片頭痛モデル群)、またはその溶媒のミネラルオイル

(コントロール群) 10 μ l をマイクロシリンジを用いて硬膜に注入した。

① Okada-Ogawa, A., Porreca, F., Meng I.D., Sustained morphine-induced sensitization and loss of diffuse noxious inhibitory controls in dura-sensitive medullary dorsal horn neurons. *J Neurosci.*, 29 (2009) 15828-15835.

(2) 光刺激

MO またはミネラルオイル注入 2 時間後、両群にウレタン (1.3g/kg, i.p.) 麻酔を施し、右眼を黒ビニルテープにて覆った。左眼には 37°C に温めた生理食塩水を垂らし、角膜の乾燥を防止した。次に、左眼に光刺激装置 (ERG photic stimulator) を用いて、ストロボ光刺激 (2 joule, 2Hz) を 10 分間与えた。

(3) トレーサー実験

ペントバルビタールナトリウム (50 mg/kg) の腹腔内投与による麻酔を施し、ラットの網膜に 31 ゲージ注射針を用いて、4% FluoroGold (FG) 10 μ l を注入した。その後、三叉神経節で標識された細胞の分布様式を詳細に調べた。

(4) 組織学的検討

刺激を与えた片頭痛モデル群とコントロール群は光刺激終了から 2 分後にペントバルビタールナトリウムの腹腔内過量投与下に 1% パラホルムアルデヒド (PFA)、その次に 4% PFA を用いて灌流固定した。次に、三叉神経脊髄路核と上部頸髄を含む脳幹を取り出し、一次抗体である抗 c-Fos 抗体を用いて、0.035% DAB にて発色させた。次に一次抗体である抗 pERK 抗体 (anti-Phospho-P44/42

-Map Kinase) を用いて、Vector SG にて発色させた。その後、ゼラチンコートスライドに貼り付け、アルコール脱水後に封入した。

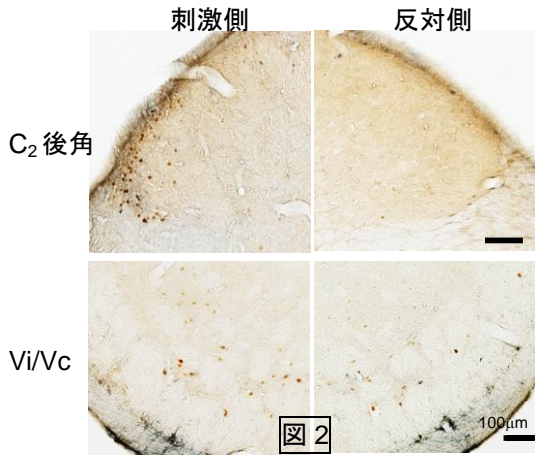
また、網膜に FG を注入したラットは、注入 3 日後に同様にして灌流固定し、三叉神経節を取り出した。そして、凍結切片を作製し、ゼラチンコートスライドに貼り付け、アルコール脱水後封入した。

脳幹と三叉神経節を光学顕微鏡下にて詳細に観察した。脳幹においては、c-Fos 陽性細胞数をカウントし、陽性細胞数の平均値を算出した。さらに、c-Fos と pERK の二重陽性細胞についても観察した。

4. 研究成果

頭部硬膜の炎症により三叉神経脊髄路核から上部頸髄にかけて、多数の c-Fos 発現が認められたが、コントロール群ではほとんど認められなかった。特に、三叉神経脊髄路核中間亜核及び尾側亜核移行部 (Vi/Vc) と第 2

頸髄(C₂)後角に多くの発現が見られた(図2).



また、片頭痛モデルの網膜へ光刺激を与えると、C₂後角表層のみに pERK 発現が認められた。さらに、この領域においては多くの細胞に c-Fos と pERK に対し共陽性が認められたことから、これらの細胞が片頭痛における光過敏発症に深く関与している可能性が示された(図3)。

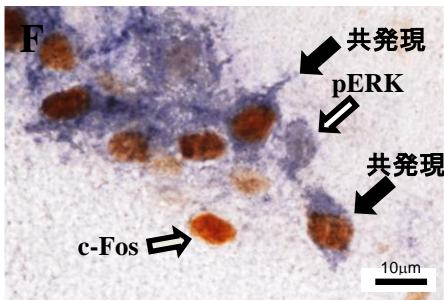


図3

また、網膜に FG 投与 3 日後、三叉神経節第 1 枝領域に小型から中型の多くの細胞が FG 陽性を示したが、大型の細胞には見られなかった。また、第 2 枝、第 3 枝領域には FG の発現が見られなかった。この結果は、C 線維や Aδ 線維などの侵害受容神経細胞を含む三叉神経第 1 枝の神経線維が網膜に分布している可能性を示した。

以上の結果より、片頭痛を起こしていない健康な状態では光刺激の影響を受けないが、片頭痛を発症すると、光刺激により上部頸髄の神経細胞が強く活性化され、光過敏を引き起こす可能性が示された(図4)。

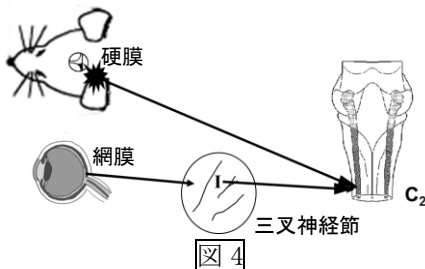


図4

本研究は光刺激による上部頸髄ニューロン活動の変調機構の一端を解明したもので、片頭痛と光過敏症の治療方法の開発につながることを期待される。

さらに我々は、光刺激の受容体が存在する網膜の視細胞層に、CGRP、SPやTRPV1レセプターなどの侵害受容に関与する、神経ペプチドや受容体の発現を確認した。しかし、視細胞と侵害情報伝達との関与を示唆する報告は過去にない。よって、パッチクランプ法などの電気生理学的手法も用いてそれらの関与を詳細に調べていく予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計7件)

- ① 岡田明子 (他6名, 1番目) (2013) ラット下歯槽神経切断による神経障害性疼痛に対する GABA 介在神経細胞の関与. *Pain Research*. 28:33-41. <http://mol.medicalonline.jp/archive/search?jo=ci3painr&ye=2013&vo=28&issue=1>. 査読有
- ② Okada-Ogawa A, Shinoda M, Honda K, Iwata K. (2012) New models of experimental parotitis and parotid gland distension in rats. *Methods Mol Biol*. 851:133-134. doi:10.1007/978-1-61779-561-9_9. 査読有
- ③ Hitomi S, Shinoda M, Suzuki I, Iwata K (2012) Involvement of transient receptor potential vanilloid 1 in ectopic pain following inferior alveolar nerve transection in rats. *Neurosci Lett*. 513:95-99. doi: 10.1016/j.neulet.2012.02.018. 査読有
- ④ 岡田明子 (他5名, 1番目) 上部頸髄ニューロンにおける光過敏発症を随伴する片頭痛モデル ラットの研究 (2011) *Pain Res*. 26:29-38. <http://mol.medicalonline.jp/archive/search?jo=ci3painr&ye=2011&vo=26&issue=1> 査読有
- ⑤ Suzuki I, Honda K (他10名, 1番目, 5番目) (2011) Involvement of ERK phosphorylation of trigeminal spinal subnucleus caudalis neurons in thermal hypersensitivity in rats with infraorbital nerve injury. *PLoS One*. 8: e57278. doi: 10.1371/journal.pone.0057278. 査読有
- ⑥ Honda K, Noma N, Shinoda M (他7名, 1番目) (2011) Involvement of peripheral

ionotropic glutamate receptors in orofacial thermal hyperalgesia in rats. Mol Pain. 7:75. doi: 10.1186/1744-8069-7-75. 査読有

- ⑦ Okada-Ogawa A, Kurose M, Meng ID. (2010) Attenuation of cannabinoid-induced inhibition of medullary dorsal horn neurons by a kappa-opioid receptor antagonist. Brain Res. 1359:81-89. doi:10.1016/j.brainres.2010.08.073. 査読有

[学会発表] (計 10 件)

- ① 岡田明子他；咀嚼筋筋膜患者における筋圧痛閾値と筋硬度の検討. 第 22 回日本歯科医学会総会 (大阪府) 2012 年 11 月 9 日.
- ② 岡田明子；慢性疼痛とグリア. 第 17 回日本口腔顔面痛学会学術大会 (東京都) 2012 年 11 月 3 日 (招待講演).
- ③ 岡田明子他；下歯槽神経切断ラットに発症する神経障害性疼痛に対する GABA 介在神経の関与. 第 25 回日本口腔診断学会 (東京都) 2012 年 9 月 21 日
- ④ 岡田明子他；ラット下歯槽神経切断による神経障害性疼痛に対する GABA 介在神経細胞の関与. 第 34 回日本疼痛学会
- ⑤ Okada-Ogawa A et al. ;Functional change in GABAergic interneurons is involved in orofacial neuropathic pain in the inferior alveolar nerve-transected rats. 4th FADAS (兵庫県) 2011 年 10 月 9 日.
- ⑥ 岡田明子他；ラット下歯槽神経切断による神経障害性疼痛に対する GABA 介在ニューロンの関与. 第 16 回日本口腔顔面痛学会 (兵庫県) 2011 年 10 月 9 日.
- ⑦ 岡田明子他；咀嚼筋筋膜痛患者に対する筋圧痛と筋硬度による検討. 第 24 回口腔診断学会総会・学術大会 (東京都) 2011 年 5 月 22 日.
- ⑧ 岡田明子他；上部頸髄神経における片頭痛に随伴する光過敏症発症の神経機構. 第 38 回日本歯科麻酔学会総会・学術集会 (神奈川県) 2010 年 10 月 9 日.
- ⑨ 岡田明子他；片頭痛に随伴する光過敏症発症における上部頸髄ニューロンの関与. 第 32 回日本疼痛学会 (京都府) 2010 年 7 月 3 日.
- ⑩ 岡田明子他；上部頸髄ニューロンにおける片頭痛に随伴する光過敏症発症の解明. 第 23 回日本口腔診断学会学術集会 (千葉県) 2010 年 5 月 30 日.

[図書] (計 1 件)

- ① 岡田明子, 今村佳樹 歯科麻酔・生体管

理学—9 章疼痛治療・緩和治療 学建書院 (2012) 223-244.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡田 明子 (OKADA AKIKO)
日本大学・歯学部・准教授
研究者番号：10434078

(2) 研究分担者

今村 佳樹 (IMAMURA YOSHIKI)
日本大学・歯学部・教授
研究者番号：90176503
鈴木 郁子 (SUZUKI IKUKO)
日本大学・歯学部・助手
研究者番号：60459906
人見 涼露 (HITOMI SUZURO)
九州歯科大学・歯学部・助教
研究者番号：70548924
本田 訓也 (HONDA KUNIYA)
日本大学・歯学部・ポスト・ドクトラル・フェロー
研究者番号：20548945