

学位論文の内容の要旨

氏 名

Pleumsamran Juntima Pattamanont

論文題目

The role of calcitonin gene-related peptide in migraine prevention by botulinum toxin type A

(論文要旨)

Objectives: Calcitonin gene-related peptide (CGRP) is currently considered to be a major contributing factor in migraine headache. Botulinum toxin type A (BTXA) was found to be effective in migraine prevention. However, the mechanism of action in patients was unknown. Using injection as in clinical setting, the study aimed to determine whether BTXA could decrease the sensitization of the trigeminovascular nociceptive system through the reduction of CGRP action.

Methods: Adult male Wistar rats were pretreated with normal saline solution or BTXA before KCl application to induce cortical spreading depression (CSD) or NaCl application as a control. Regional cerebral blood flow at parietal cortex was measured for 90 min after KCl or NaCl application. Tissues from trigeminal ganglion (TG) and trigeminal nucleus caudalis (TNC) were then collected for CGRP and c-Fos measurement respectively.

Results: BTXA pretreatment significantly decreased the cumulative blood flow and number of hyperemic peaks induced by KCl. Numbers of CGRP positive cells at TG and c-Fos positive cells at TNC were also reduced by BTXA.

Conclusion: BTXA pretreatment reduced CGRP production and release from the TG leading to lessen CSD production and persistent activation of TNC which played a major role in migraine headache.

【はじめに】

片頭痛はヨーロッパでは女性の17%、男性の8%が罹患している病気であり、WHOでも20の重要な健康問題のひとつと挙げているほど重要な問題となっている。現在、片頭痛の治療には2種類あり、急な頭痛に対して軽減を図る治療と、頻繁に生じる片頭痛に対する予防的治療である。ボトックス (Botox®) はClostridium botulinumが賛成するボツリヌス毒素であり神経毒として知られている。精製ボツリヌス毒素Type AはUS Food and Drug Administration (FDA)により認可を受けている。美容目的でBotox®の治療を受けた人に、片頭痛が軽減することが偶然に見つかり、2010年には、Botox®注射が慢性片頭痛患者への適応が認められた。しかしながらBotox®の作用メカニズムは十分に解明されていない。

カルシトニン遺伝子関連ペプチド(calcitonin gene-related peptide: CGRP)が病態に関与していることが示され片頭痛時に血中濃度が高まる。また片頭痛患者にCGRPを投与すると発作そのものが誘発されることも報告されている。CGRP受容体拮抗薬やCGRP受容体抗体の有効性も示されている。

本研究においては、三叉神経血管系を活性化させ頭痛発生のtriggerとなる可能性が示されているCGRPの作用が、ボツリヌス毒素投与により軽減することを示す。

【方法】

8~10週齢 (300-350 g体重) の雄性Wistarラットを用いた。大脳皮質拡延性抑制 (cortical spreading depression ; CSD) は、片頭痛の前兆として大脳に生じる前兆とされ、その後何らかの機序により三叉神経血管系が活性化され頭痛がおこると考えられている。CSDは脳表 (Bregmaの7 mm後方で1 mm外側) に3mgのKCl結晶を投与することにより再現できるとされている。一方対照としてはCSDを起こさないNaCl結晶を用いた。KClあるいはNaCl投与の3時間前に、ボツリヌス毒素(Botox®, Allergan Inc.)を3, 10 and 30単位/kg体重の量、生理食塩水に溶かしてラット眼瞼に注射投与した。1) 片頭痛で血管拡張が起こり脳血流量が増加することは、鉛筆型のBlood Flow Meter (780nm波長) でモニターし、CSDが起こっていることを確認した。2) 三叉神経脊髄路核尾側亜核 (trigeminal nucleus caudalis: TNC)における初期遺伝子c-Fosは抗c-Fos抗体を用いた免疫組織染色法により同定した。3) 三叉神経節におけるCGRP遺伝子発現は、抗CGRP抗体を用いた免疫組織染色法により同定した。

【結果と考察】

- 1) CSDモデルにおいて、KClでは明らかに血流量が増加した。NaClではこの現象は認められなかったため、モデルが確立できていることが確認できた。(Figure 1,2)
- 2) 脳血流増加が生理食塩水の $16.72 \pm 2.77 \times 10^3$ Blood Perfusion Unit 10 (BPU)から、3, 10 and 30単位/kg体重のボツリヌス毒素を投与すると 6.28 ± 1.70 、 4.68 ± 0.87 、 $1.16 \pm 0.31 \times 10^3$ BPUと、容量依存性に抑制された (Figure 2)。血流のピーク値も抑制された (Figure 3)
- 3) TNCにおける初期遺伝子c-Fosは、第I層と第II層で認められたが、KClグループで平均c-Fos陽性細胞が 16.21 ± 2.23 個であったのに対し、NaClでは 1.50 ± 0.76 個に比べ優位に多く、KClがTNCを刺激していることが示された。(Figure 4,5) ボツリヌス毒素を投与することでc-Fos陽性細胞は 3.04 ± 0.59 個に減っていた。
- 4) 三叉神経節におけるCGRP陽性細胞の割合は、KCl投与の場合には全体の細胞の $57.81 \pm 2.22\%$ であったが、NaClでは $39.11 \pm 0.49\%$ であった。(Figure 6,7) ボツリヌス毒素を30単位/kg体重の量投与することで $35.71 \pm 3.82\%$ とNaClのレベル以下に減った。
- 5) 以上のように、ボツリヌス毒素は三叉神経を介したc-FosやCGRPの発現を抑制することで疼痛シグナルを抑制することを直接示すことができた。さらにボツリヌス毒素はCSDが拡がることを直接血流増加を防ぐことで抑制していることを示唆した。
- 6) 今後さらなる解析を続け、ボツリヌス毒素の応用に役立てたい。

掲載誌名	NEUROLOGY ASIA (in press) 第 卷, 第 号		
(公表予定) 掲載年月	平成30年 3月 掲載予定	出版社(等)名	ASEAN Neurological Association
Peer Review	有 無		

(備考) 論文要旨は、日本語で1, 500字以内にまとめてください。