

Nelson-Maney NP, et al. Meningeal lymphatic CGRP signaling governs pain via cerebrospinal fluid efflux and neuroinflammation in migraine models. *J Clin Invest.* 2024 May 14:e175616. doi: 10.1172/JCI175616.

**【背景・目的】** CGRP 関連薬剤による CGRP 受容体シグナル伝達の阻害は、片頭痛発作の頓挫と予防に有効である。しかし、それらの薬剤がどのように片頭痛のメカニズムを抑制するのかについてはいまだ不明な点が多い。リンパ管組織は CGRP に反応してシグナル伝達が起動される。硬膜にリンパ管が存在することが知られているが、硬膜リンパ管の CGRP 反応性の詳細については十分検討されていない。本研究では、マウス慢性片頭痛モデルを作成し、硬膜リンパ管の CGRP 受容体シグナル伝達の役割について詳細に解析している。

**【方法・結果】** 遺伝子改変マウス *Calcrl<sup>fl/fl</sup>;Vegfr3<sup>CreERT2/+</sup>* (*Calcrl<sup>LEC</sup>*) にタモキシフェンを投与することで硬膜リンパ管でのみ CGRP 受容体構成成分であるカルシトニン受容体様受容体 (calcitonin receptor-like receptor: CLR) 発現をノックアウトした。慢性片頭痛モデルは、ニトログリセリン 10 mg/kg を 5 回隔日投与することにより作成し、痛み刺激に対する顔しかめ (mean grimace score: MGS)、光過敏、明所における行動などで発症を確認した。野生型マウスでは、ニトログリセリン投与によって、MGS は経時的に上昇した。しかし、上記 CLR ノックアウトマウスでは、MGS 上昇は抑制されていた。さらに、CLR と共に CGRP 受容体を構成する RAMP1 発現を全身でノックアウトしたマウスでも MGS 上昇の抑制が確認された。以上より、マウスでの慢性片頭痛様の病態惹起に、硬膜リンパ管での CGRP 受容体を介したシグナル伝達に関与することが明らかとなった。また、上記ニトログリセリン投与によって、野生型マウスは明所を回避するようになり、暗所においても身体活動性低下を示したが、CLR 発現ノックアウトマウスでは、そのような変化は観察されなかった。続いて、ニトログリセリン投与によって野生型マウスの硬膜リンパ管内皮細胞で引き起こされる遺伝子発現変化が RiboTag 法を用いて検討された。これは、リボゾームタンパク質に HA タグが発現するように遺伝子改変を加えることで、活発に転写されている mRNA を免疫沈降法で検出する新規研究手法である。その結果、細胞貪食、コレステロール生合成、G タンパク質共役受容体シグナリング、CREB タンパク質関連シグナリング、アクチン細胞骨格シグナリングなどに関与する遺伝子の転写レベルがニトログリセリン投与によって上昇することが明らかとなった。その中で、特に硬膜リンパ管 CGRP 受容体シグナリングと関連の深い遺伝子候補として *Gjc2*, *Ptx3*, *Madcam1* が挙げられた。さらに、培養ヒト皮膚リンパ管内皮細胞へのニトログリセリン投与でも、Connexin-47 (*Gjc2* 遺伝子産物)、Pentraxin3 (*Ptx3* 遺伝子産物)、MADCAM1 (*Madcam1* 遺伝子産物) の発現誘導が確認された。Connexin-47 はリンパ管内皮間の細胞接着に関与することが知られている。一方、Pentraxin3 は内皮細胞機能異常や炎症に伴って分泌されるタンパク質であり、内皮損傷のバイオマーカーと考えられている。MADCAM1 は内皮細胞の細胞接着分子であり免疫細胞上に発現する  $\alpha 4/\beta 7$  インテグリンと相互作用することでリンパ管内外の免疫細胞の移動や遊走に関与する。脳脊髄液と免疫細胞は髄膜リンパ管を經由して中枢神経系から頸部リンパ節へと退出すると考えられている。CGRP の投与によって、 $\alpha 4/\beta 7$  インテグリン陽性 CD4 陽性リンパ球の硬膜リンパ管内での増加が観察された。また、CGRP は培養ヒトリンパ管内皮細胞における VE-カドヘリンの配列変化と透過性低下を引き起こし、この変化は CGRP 受容体拮抗薬 olcegepant による阻害を受けた。さらに、マウスへの CGRP 投与は、脳脊髄液の中枢神経系から深頸リンパ節へのドレナージを阻害した。

**【結論・コメント】** 三叉神経が分布する硬膜は片頭痛発作時の頭痛発生の場合と考えられている。硬膜にはリンパ管が存在することが知られているが、本研究の結果は、マウス慢性片頭痛モデルにおいて硬膜リンパ管の CGRP 受容体を介したシグナリングがリンパ球増加、リンパ管内皮損傷、透過性抑制などの変化を引き起こし、結果として脳脊髄液の中枢神経系から頸部リンパ節へのドレナージが阻害されることを明らかにした。実際の片頭痛患者において、このよ

うな変化が生じているのかは現時点で明らかでないものの、片頭痛の頭痛発生機序を考える上で興味深いデータと考えられる。