

くも膜下出血後の脳血管平滑筋収縮性亢進の分子機構

吉川, 雄一郎
九州大学大学院医学研究院分子細胞情報学分野

佐々木, 富男
九州大学大学院医学研究院脳神経外科学分野

平野, 真弓
九州大学大学院医学研究院分子細胞情報学分野

平野, 勝也
九州大学大学院医学研究院分子細胞情報学分野

<https://doi.org/10.15017/20469>

出版情報：福岡醫學雜誌. 102 (12), pp.325-332, 2011-12-25. Fukuoka Medical Association
バージョン：
権利関係：

総 説

くも膜下出血後の脳血管平滑筋収縮性亢進の分子機構

¹⁾九州大学大学院医学研究院 分子細胞情報学分野

²⁾九州大学大学院医学研究院 脳神経外科学分野

吉川 雄一郎¹⁾²⁾, 佐々木 富 男²⁾, 平野 真 弓¹⁾, 平野 勝 也¹⁾

はじめに

脳血管攣縮は、くも膜下出血発症後4日目から14日目頃にかけて遅発性に生じる脳動脈の可逆的狭窄である。脳血管攣縮は、血管造影上約70%の患者に認められ、脳虚血症状の出現頻度は20~30%とされている。血管攣縮は、重篤な神経障害や死をもたらす場合があり、急性期を脱したくも膜下出血患者の機能予後および生命予後を決定する重要な合併症といえる¹⁾。脳血管攣縮は、くも膜下出血発症後一定の時期を経て、遅発性に生じるため、予防的治療、早期診断、発症後の迅速な治療などの対応が可能な病態である。そのため、脳血管攣縮発症機構の解明や治療法の開発をめざして、多くの基礎研究および臨床研究が活発に行われてきた。現在、いくつかの薬剤や治療法が臨床で用いられ、一定の効果が得られている。しかしながら、未だ、攣縮発症の完全予防には至っておらず、新たな予防、治療法の開発には、攣縮発症の分子機構を明らかにすることが重要と思われる。

脳血管攣縮の発症メカニズムは、攣縮誘発因子の産生と血管反応性の増大という二つの側面からとらえることができる¹⁾²⁾。トロンビン³⁾⁴⁾、オキシヘモグロビン⁵⁾、エンドセリン (ET-1)⁶⁾、トロンボキサン A₂ (TXA₂)⁷⁾⁸⁾、血小板由来増殖因子 (PDGF)⁹⁾、スフィンゴシン-1 リン酸 (SIP)¹⁰⁾ など、動物モデルなどで血管収縮作用が認められる様々な血液および血小板由来物質が髄液中に増加し、脳動脈に対する直接的な収縮刺激として作用する。一方、血管反応性の増大は、平滑筋細胞の収縮性亢進¹⁾²⁾、あるいは血管内皮細胞の弛緩作用の障害¹¹⁾¹²⁾に起因し、脳血管攣縮の遅発性発症の基盤として重要な役割を果たすと考えられる。また、攣縮誘発因子は、直接的な収縮刺激として作用するだけでなく、血管反応性変化を引き起こし、攣縮誘発に関与する可能性もある。本稿では、これまでに得られた著者らの知見を中心に、脳血管平滑筋の収縮性亢進の観点から、脳血管攣縮の発症メカニズムを考察したい。

1. くも膜下出血における受容体の発現亢進 (図1①)

自家血を大槽内に2回注入して作製したウサギくも膜下出血モデル (SAH モデル) より脳底動脈を摘出し、アゴニストに対する収縮反応性および受容体の発現を解析した。トロンビンは、正常脳底動脈では高濃度を用いた場合に一過性の僅かな収縮反応を引き起こした。SAH 後3日目から収縮反応性が亢進し、7日目には正常と比べより低い濃度から収縮作用を示すようになり、1 U/mL 以上で強力かつ持続的な収縮が認められた³⁾。さらに、くも膜下出血後5~7日目をピークにトロンビン受容体 PAR₁ の発現が亢進した。一方、ヘパリンあるいはトロンビン阻害剤アルガトロバンを自家血と同時に脳槽内に投与した SAH モデルでは、トロンビンおよび PAR₁ 活性化ペプチドに対する収縮反応性が減弱した。さらに、選択的トロンビン受容体拮抗薬 E5555 の投与により、受容体の発現亢進とトロンビンに対する収縮反応性の増大はいずれも抑制された⁴⁾。すなわち、くも膜下出血後に髄液中に産生される多量のトロンビンは、自身

Yuichiro KIKKAWA¹⁾²⁾, Tomio SASAKI²⁾, Mayumi HIRANO¹⁾, Katsuya HIRANO¹⁾

¹⁾Division of Molecular Cardiology and ²⁾Department of Neurosurgery, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University.

Molecular Mechanisms Underlying the Increased Contractility of Smooth Muscle in Cerebral Artery after Subarachnoid Hemorrhage

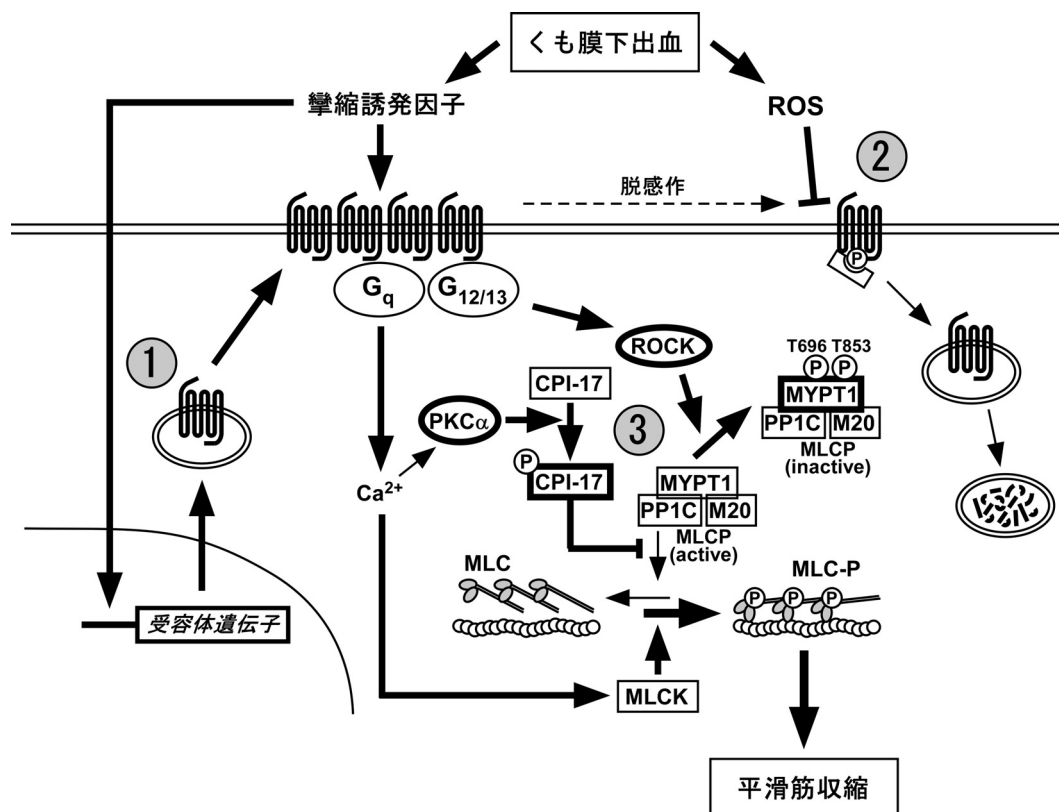


図1 くも膜下出血後の脳血管平滑筋収縮性亢進の分子機構

くも膜下出血後、脳血管平滑筋に、①受容体の発現亢進、②受容体脱感作機構の障害、③収縮装置カルシウム感受性の増大が起こり、収縮性が亢進する。受容体発現亢進は、トロンビン受容体 PAR₁、エンドセリン A 型受容体、 α_1 受容体で確認された³⁾⁴⁾¹⁴⁾。しかしながら、受容体発現亢進を引き起こす因子については不明な点が残る。少なくとも PAR₁ 発現亢進にはトロンビンが関与することが明らかとなっている⁴⁾。受容体の脱感作機構の障害には酸化ストレスの関与が示唆された¹³⁾。しかしながら、受容体リン酸化、 β アレスチン結合、エンドサイトーシス、リゾソーム分解などの脱感作機構のどの過程が障害されているかは不明である。収縮装置のカルシウム感受性増大には、Rho キナーゼ (ROCK)、PKC α アイソフォームの発現亢進、ミオシン脱リン酸化酵素調節サブユニット MYPT1 および 1 型脱リン酸化酵素阻害蛋白質 CPI-17 のリン酸化の亢進が重要な役割を果たすことが示唆された²⁴⁾。

CPI-17, PKC-potentiated phosphatase inhibitor of 17 kDa ; MLC, myosin light chain ; MLC-P, phosphorylated MLC ; MLCK, myosin light chain kinase ; MLCP, myosin light chain phosphatase ; M20, 20-kDa non-catalytic subunit of MLCP ; PKC α , α isoform of protein kinase C ; PP1C, a catalytic subunit of type1 protein phosphatase ; ROCK, Rho-associated coiled-coil kinases ; ROS, reactive oxygen species ;

の受容体の発現を亢進させ、トロンビンに対する脳動脈の収縮反応性を増大させることが示唆された。

さらに、くも膜下出血後の収縮反応性の増大は、エンドセリン-1 (ET-1)、フェニレフリン、アンギオテンシン II、バゾプレッシン、プロスタグランジン F_{2 α} (PGF_{2 α})、血小板由来増殖因子 (PDGF) に対しても認められた⁹⁾¹³⁾¹⁴⁾。この中で、 α_1 アドレナリン受容体およびエンドセリン A 型受容体 (ET_A) の発現亢進が認められた¹⁴⁾。くも膜下出血後の血管収縮反応性の増大に、受容体の発現亢進が重要な役割を果たすことが示唆される。

2. くも膜下出血における受容体脱感作機構の障害 (図1②)

アゴニストに対する収縮反応性は、長期刺激や刺激の繰り返しにより、減弱することが知られている。これらの現象は、それぞれ脱感作及びタキフィラキシーと呼ばれ、過剰な受容体刺激から生体を防御する生理的フィードバック制御機構として重要な役割を果たす¹⁵⁾。受容体のフィードバック制御機構の障害が、低酸素、癌、糖尿病などの病態で報告されている¹⁶⁾⁻¹⁸⁾。

ET-1, トロンビン, PAR₁ 活性化ペプチド, フェニレフリン, アンギオテンシン II, バゾプレッシンが引き起こす収縮反応は, 正常血管においては一過性の時間経過を示したのに対し, SAH モデルでは持続反応に転じた³⁾¹³⁾¹⁴⁾. また, 一過性反応から持続反応への転換は, 細胞質カルシウム濃度およびミオシン軽鎖 (MLC) リン酸化においても観察された¹⁴⁾. さらに, PAR₁ 活性化ペプチド, フェニレフリン, アンギオテンシン II, バゾプレッシンを用いて繰り返し刺激を行うと, 正常血管では2回目の反応が1回目と比べて著しく減弱するのに対し, SAH モデルでは2回目の反応は1回目の反応と同程度に保たれていた¹³⁾¹⁴⁾.

トロンビン受容体 PAR₁ は, 細胞外領域が特定の部位でトロンビンによる切断を受けると活性化される特殊な受容体である¹⁹⁾. 切断の結果生じる新たな N 末端領域がリガンドとして作用し, 受容体を活性化する. 従って, トロンビンによる受容体の活性化は不可逆的な過程である. しかしながら, 正常では, 受容体のリン酸化, β アレスチンの結合, エンドサイトーシス, リソゾーム分解により, シグナル伝達が終息する. SAH モデルにおいて, トロンビン収縮は, 刺激を中止した後も不可逆的に持続することを見出した³⁾¹⁴⁾. この不可逆的収縮は, リガンド領域を除去するトリプシン²⁰⁾ や G_{αq} 活性化を阻害する YM254890 により阻害された¹⁴⁾. くも膜下出血において, トロンビンによって活性化された受容体は細胞表面に留まり, 収縮シグナルを発生し続けることが示唆される. 以上の結果から, くも膜下出血においては, 受容体の脱感作機構が障害され, 収縮性亢進に寄与することが示唆される. 脱感作機構の障害は, 様々な受容体に認められるが, 蛋白質分解によって活性化される PAR₁ のシグナル活性に重大な影響を及ぼし, 一旦活性化された受容体はトロンビンが除去された後でも収縮を発生させることになる.

くも膜下出血の病態のどの因子が, 脱感作機構のどの過程に作用するのかなど, くも膜下出血における受容体の脱感作障害の機序には未だ不明な点が残る. SAH モデルにおいて, アルガトロバンによりトロンビン活性を阻害すると, トロンビンや PAR₁ 活性化ペプチドによる収縮反応性は減弱したが, 収縮の持続性, 繰り返し刺激における2回目の反応性, トロンビンによる不可逆的収縮反応は認められた. アルガトロバンに加え, 抗酸化作用を有するビタミン C あるいはテンプルを併用すると, 収縮反応は一過性となり, 連続刺激における2回目の反応性も減弱し, トロンビン収縮の可逆性も回復し, 受容体の脱感作障害が改善された¹³⁾. くも膜下出血後に酸化ストレスが亢進することは, 脳底動脈直下の脳組織を用いた解析で確認された¹³⁾. さらに, アンギオテンシン II, バゾプレッシン, PGF_{2α} の収縮反応性に対するアルガトロバンと抗酸化剤の作用の比較から, 脱感作障害の影響を受けやすい受容体と受けにくい受容体が存在することが明らかとなった¹³⁾. 以上の結果から, 酸化ストレスが受容体脱感作障害の発生に重要な役割を果たすことが示唆された¹³⁾.

3. くも膜下出血における平滑筋収縮装置のカルシウム感受性の亢進 (図 1 ③)

平滑筋収縮の程度は, 細胞質カルシウム濃度上昇が同じであっても, 収縮装置のカルシウム感受性の程度によって異なる²¹⁾. 平滑筋収縮を規定する MLC のリン酸化レベルは, リン酸化酵素と脱リン酸化酵素の活性のバランスによって決定され, MLC 脱リン酸化酵素 (MLCP) の活性低下はカルシウム感受性亢進に繋がる. MLCP の活性は, 調節サブユニット MYPT1 がリン酸化されると抑制される. また, MLCP は, リン酸化された脱リン酸化酵素阻害蛋白質 CPI-17 による阻害を受ける. アゴニスト刺激は, Rho キナーゼ (ROCK) や PKC の活性化を介して, MYPT1 や CPI-17 のリン酸化を引き起こし, 平滑筋収縮装置のカルシウム感受性を亢進させる. くも膜下出血後の脳血管において, ROCK²²⁾ や PKC²³⁾ の活性亢進が報告されており, 収縮装置のカルシウム感受性亢進が脳血管反応性増大に重要な役割を果たすことが示唆される.

α 毒素脱膜化標本を用いると細胞内カルシウム濃度を一定に保ったままで収縮反応を観察することができ, 収縮装置のカルシウム感受性を直接に評価することが可能となる²⁴⁾. 正常脳底動脈において ET-1 は一過性にカルシウム感受性を亢進させるが, SAH モデルにおいて, この作用は増大し, かつ, 持続作用に転じた²⁴⁾. さらに, GTP γ S により受容体を迂回して下流の GTP 依存性シグナル蛋白質を活性化した際の

カルシウム感受性の増大も一過性から持続性に転じた¹⁴⁾。すなわち、くも膜下出血後の脳血管において、受容体の不活性化機能の障害に加え、カルシウム感受性の不活性化機構にも障害があることが示唆される。

正常血管においてET-1が引き起こすカルシウム感受性の増大は、PKC阻害剤やROCK阻害剤により阻害されたが、SAHモデルにおけるカルシウム感受性の増大はこれらの阻害剤に対する抵抗性を獲得した²⁴⁾。さらに、SAHモデルの脳底動脈には、PKC α およびROCK2の発現が増加し、静止期におけるMYPT1 (T853)およびCPI-17のリン酸化レベルも増大した²⁴⁾。ET-1は、正常血管においてMYPT1 (T853)の一過性のリン酸化を引き起こしたが、SAHモデルにおいては持続的なリン酸化を引き起こした。さらに、SAHモデルでは、正常血管では認められなかったMYPT1 (T696)のリン酸化が認められた²⁴⁾。以上の結果から、くも膜下出血後の脳血管においては、PKC α およびROCK2の発現亢進、MYPT1およびCPI-17のリン酸化の亢進により、アゴニスト刺激によるカルシウム感受性亢進作用が増強、且つ持続し、これがくも膜下出血後の収縮反応性亢進に寄与することが示唆される。しかしながら、PKC α やROCKの発現亢進、MYPT1やCPI-17のリン酸化の亢進の機序は明らかではない。

4. 脳血管攣縮に対する予防と治療の現状と新たな提案

動脈瘤破裂によるくも膜下腔における血腫の形成から、攣縮誘発物質の産生、血管攣縮による血管径の狭小化を経て、脳虚血に到るという発想に基づき、様々な予防や治療が行われている。破裂脳動脈瘤に対する急性期治療の後、脳血流の維持を目的に、Triple-H療法 (Induced-hypertension, hypervolemia, hemodilution)が広く行われてきたが、現在ではnormovolemiaを基本とした脳血流改善治療が推奨されるようになってきている²⁵⁾。また、くも膜下腔の血腫除去も攣縮予防として広く行われ、有効性が報告されている²⁶⁾²⁷⁾。

脳血管攣縮予防の薬物療法は、欧米と日本とでやや異なる。欧米ではカルシウム拮抗薬ニモジピンの経口投与が標準的治療として行われている。日本ではニモジピンは承認されておらず、カルシウム拮抗薬を用いる場合、ニカルジピンの静脈内投与や徐放性ペレットを用いた持続脳槽内投与が行われる²⁸⁾。日本では、ROCK阻害剤ファスジル²⁹⁾およびTXA₂合成酵素阻害剤オザゲレル⁷⁾³⁰⁾の静脈内投与が標準的治療として用いられている。PDE3阻害剤シロスタゾール^{31)~33)}、フリーラジカル除去剤エダラボン³⁴⁾³⁵⁾も主に日本で試みられている治療薬であり、攣縮予防効果や予後改善効果が報告されている。海外では、エリスロポエチン静注療法の臨床効果や³⁶⁾、動物モデルにおけるアデノシン受容体アゴニストの有効性などが近年報告されている³⁷⁾³⁸⁾。

世界規模で臨床試験が行われた主な薬剤として、ET_A受容体拮抗薬、HMG-CoA還元酵素阻害薬 (スタチン)、硫酸マグネシウムが挙げられる。欧米ではET_A受容体拮抗薬クラゾセタン静注療法の多施設共同試験が行われ、攣縮抑制効果が認められている³⁹⁾。その一方で、肺水腫、呼吸窮迫症候群、低血圧などの合併症が増加し、3か月後の予後が改善しないことが明らかになった (CONSCIOUS-1)³⁹⁾。その後の第3相多施設共同試験においても、クリッピング治療患者に対するクラゾセタンの予後改善効果は認められなかった (CONSCIOUS-2)⁴⁰⁾。現在、コイル塞栓治療群に対するクラゾセタンの攣縮予防効果が引き続き検討されている (CONSCIOUS-3)⁴¹⁾。

スタチンは、内皮機能改善作用、eNOS増強作用、抗炎症作用、抗血小板作用、抗酸化作用などのさまざまな機序により、攣縮発症を抑制すると考えられている⁴²⁾。2005年、プラバスタチンおよびシンバスタチン内服が症候性脳血管攣縮の発症率を有意に低下させることが示されたが⁴³⁾⁴⁴⁾、その後の臨床試験においては攣縮抑制効果に否定的な結果が得られている⁴⁵⁾⁴⁶⁾。いずれの臨床試験も患者数が少ないため、スタチンの攣縮予防効果は、今後、大規模多施設共同試験により再検討される必要がある。

電位依存性カルシウムチャンネルに対する非競合的拮抗薬として古くから攣縮予防に用いられている硫酸マグネシウムには、NMDA受容体拮抗作用を介した神経保護効果があることが示されている⁴⁷⁾⁴⁸⁾。近年、アジア諸国とオーストラリアにおいて行われた硫酸マグネシウム静注療法に対する第3相多施設臨床試験では (IMASH study)⁴⁹⁾、脳血管攣縮に対する予防効果は認められなかった。現在、ヨーロッパにお

いて、1000人を超える患者を対象とした第3相多施設試験（MASH-II study）が進行中である⁴⁹⁾。

画像診断上、脳血管攣縮の発症が明らかになると、経皮的経管的血管形成術（PTA；percutaneous transluminal angioplasty）⁵⁰⁾や、塩酸パパペリン⁵¹⁾、ファスジル⁵²⁾、ミルリノンなどの血管拡張薬の選択的動注療法により、狭窄の解除が試みられることになる。

SAHモデルを用いた著者らの知見から、攣縮の予防、治療に関して、トロンビン受容体と G_{α_q} 蛋白質を標的とした2つの新たな戦略が提案される。正常のくも膜下腔にトロンビンは検出されないが、くも膜下出血により大量のトロンビンがくも膜下腔に産生される。また、くも膜下出血後、主にオキシヘモグロビンを由来として酸化ストレスが発生する。これらの結果、脳血管平滑筋において PAR_1 発現亢進や脱感作機構の障害が起こり、トロンビンが強力かつ不可逆的な収縮反応を引き起こすと考えられる。SAHモデルにおいて、 PAR_1 発現亢進と収縮反応性亢進に対するトロンビン受容体拮抗薬の予防効果が認められた⁴⁾。トロンビン受容体拮抗薬は新たな攣縮治療薬となる可能性がある。さらに、受容体の脱感作障害の予防には抗酸化剤の併用が必要であることから、トロンビン受容体拮抗薬と抗酸化剤の併用は、血管反応性を正常に保つ新たな戦略として期待される。一方、 G_{α_q} 阻害薬YM254890は、様々な攣縮誘発物質による血管収縮反応を抑制することが期待される。YM254890が、トロンビンによる不可逆的収縮反応に加え、種々のアゴニスト収縮に対して強力な抑制効果を示すことを摘出脳底動脈で明らかにした¹⁴⁾。しかしながら、これらの薬物の臨床応用の前には、動物モデルを用いた攣縮予防効果や安全性の十分な検証が必要と考えられる。

参 考 文 献

- 1) Kassell NF, Sasaki T, Colohan AR and Nazar G : Cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 16 : 562-572, 1985.
- 2) Kai Y, Maeda Y, Sasaki T, Kanaide H and Hirano K : Basic and translational research on proteinase-activated receptors : the role of thrombin receptor in cerebral vasospasm in subarachnoid hemorrhage. *J. Pharmacol. Sci.* 108 : 426-432, 2008.
- 3) Maeda Y, Hirano K, Kai Y, Hirano M, Suzuki SO, Sasaki T and Kanaide H : Up-regulation of proteinase-activated receptor 1 and increased contractile responses to thrombin after subarachnoid haemorrhage. *Br. J. Pharmacol.* 152 : 1131-1139, 2007.
- 4) Kai Y, Hirano K, Maeda Y, Nishimura J, Sasaki T and Kanaide H : Prevention of the hypercontractile response to thrombin by proteinase-activated receptor-1 antagonist in subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 38 : 3259-3265, 2007.
- 5) Sasaki T, Wakai S, Asano T, Watanabe T, Kirino T and Sano K : The effect of a lipid hydroperoxide of arachidonic acid on the canine basilar artery. An experimental study on cerebral vasospasm. *J. Neurosurg.* 54 : 357-365, 1981.
- 6) Ide K, Yamakawa K, Nakagomi T, Sasaki T, Saito I, Kurihara H, Yosizumi M, Yazaki Y and Takakura K : The role of endothelin in the pathogenesis of vasospasm following subarachnoid haemorrhage. *Neurol. Res.* 11 : 101-104, 1989.
- 7) Sasaki T, Wakai S, Asano T, Takakura K and Sano K : Prevention of cerebral vasospasm after SAH with a thromboxane synthetase inhibitor, OKY-1581. *J. Neurosurg.* 57 : 74-82, 1982.
- 8) Ellis EF, Nies AS and Oates JA : Cerebral arterial smooth muscle contraction by thromboxane A2. *Stroke*. 8 : 480-483, 1977.
- 9) Maeda Y, Hirano K, Hirano M, Kikkawa Y, Kameda K, Sasaki T and Kanaide H : Enhanced contractile response of the basilar artery to platelet-derived growth factor in subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 40 : 591-596, 2009.
- 10) Tosaka M, Okajima F, Hashiba Y, Saito N, Nagano T, Watanabe T, Kimura T and Sasaki T : Sphingosine 1-phosphate contracts canine basilar arteries in vitro and in vivo : possible role in pathogenesis of cerebral vasospasm. *Stroke*. 32 : 2913-2919, 2001.
- 11) Sasaki T, Kassell NF, Zuccarello M, Nakagomi T, Fujiwara S, Colohan AR and Lehman M : Barrier disruption in the major cerebral arteries during the acute stage after experimental subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. 19 : 177-184, 1986.

- 12) Sasaki T, Kassell NF, Yamashita M, Fujiwara S and Zuccarello M : Barrier disruption in the major cerebral arteries following experimental subarachnoid hemorrhage. *J. Neurosurg.* 63 : 433-440, 1985.
- 13] Kameda K, Kikkawa Y, Hirano M, Matsuo S, Sasaki T and Hirano K : Combined argatroban and anti-oxidative agents prevents increased vascular contractility to thrombin and other ligands after subarachnoid hemorrhage. *Br. J. Pharmacol.* doi : 10. 1111/j. 1476-5381. 2011. 01485. x. (published online May 13, 2011).
- 14] Kikkawa Y, Kameda K, Hirano M, Sasaki T and Hirano K : Impaired feedback regulation of the receptor activity and the myofilament Ca^{2+} sensitivity contributes to increased vascular reactivity after subarachnoid hemorrhage. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 30 : 1637-1650, 2010.
- 15) Ferguson SS : Evolving concepts in G protein-coupled receptor endocytosis : the role in receptor desensitization and signaling. *Pharmacol. Rev.* 53 : 1-24, 2001.
- 16) Hinton M, Gutsol A and Dakshinamurti S : Thromboxane hypersensitivity in hypoxic pulmonary artery myocytes : altered TP receptor localization and kinetics. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 292 : L654-663, 2007.
- 17) Endo K, Matsumoto T, Kobayashi T, Kasuya Y and Kamata K : Diabetes-related changes in contractile responses of stomach fundus to endothelin-1 in streptozotocin-induced diabetic rats. *J. Smooth Muscle Res.* 41 : 35-47, 2005.
- 18) Booden MA, Eckert LB, Der CJ and Trejo J : Persistent signaling by dysregulated thrombin receptor trafficking promotes breast carcinoma cell invasion. *Mol. Cell Biol.* 24 : 1990-1999, 2004.
- 19) Macfarlane SR, Seatter MJ, Kanke T, Hunter GD and Plevin R : Proteinase-activated receptors. *Pharmacol. Rev.* 53 : 245-282, 2001.
- 20) Nakayama T, Hirano K, Shintani Y, Nishimura J, Nakatsuka A, Kuga H, Takahashi S and Kanaide H : Unproductive cleavage and the inactivation of protease-activated receptor-1 by trypsin in vascular endothelial cells. *Br. J. Pharmacol.* 138 : 121-130, 2003.
- 21) Hirano K : Current topics in the regulatory mechanism underlying the Ca^{2+} sensitization of the contractile apparatus in vascular smooth muscle. *J. Pharmacol. Sci.* 104 : 109-115, 2007.
- 22) Sato M, Tani E, Fujikawa H and Kaibuchi K : Involvement of Rho-kinase-mediated phosphorylation of myosin light chain in enhancement of cerebral vasospasm. *Circ. Res.* 87 : 195-200, 2000.
- 23) Nishizawa S, Obara K, Nakayama K, Koide M, Yokoyama T, Yokota N and Ohta S : Protein kinase C delta and alpha are involved in the development of vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *Eur. J. Pharmacol.* 398 : 113-119, 2000.
- 24] Kikkawa Y, Matsuo S, Kameda K, Hirano M, Nakamizo A, Sasaki T and Hirano K : Mechanisms underlying potentiation of endothelin-1-induced myofilament Ca^{2+} sensitization after subarachnoid hemorrhage. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* (in press).
- 25) Lennihan L, Mayer SA, Fink ME, Beckford A, Paik MC, Zhang H, Wu YC, Klebanoff LM, Raps EC and Solomon RA : Effect of hypervolemic therapy on cerebral blood flow after subarachnoid hemorrhage : a randomized controlled trial. *Stroke.* 31 : 383-391, 2000.
- 26) Kodama N, Sasaki T, Kawakami M, Sato M and Asari J : Cisternal irrigation therapy with urokinase and ascorbic acid for prevention of vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Outcome in 217 patients. *Surg. Neurol.* 53 : 110-117; discussion 117-118, 2000.
- 27) Usui M, Saito N, Hoya K and Todo T : Vasospasm prevention with postoperative intrathecal thrombolytic therapy : a retrospective comparison of urokinase, tissue plasminogen activator, and cisternal drainage alone. *Neurosurgery.* 34 : 235-244; discussion 244-235, 1994.
- 28) Kasuya H, Onda H, Sasahara A, Takeshita M and Hori T : Application of nicardipine prolonged-release implants : analysis of 97 consecutive patients with acute subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery.* 56 : 895-902; discussion 895-902, 2005.
- 29) Shibuya M, Suzuki Y, Sugita K, Saito I, Sasaki T, Takakura K, Nagata I, Kikuchi H, Takemae T and Hidaka H et al. : Effect of AT877 on cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage. Results of a prospective placebo-controlled double-blind trial. *J. Neurosurg.* 76 : 571-577, 1992.
- 30) Suzuki S, Sano K, Handa H, Asano T, Tamura A, Yonekawa Y, Ono H, Tachibana N and Hanaoka K : Clinical study of OKY-046, a thromboxane synthetase inhibitor, in prevention of cerebral vasospasms and delayed cerebral ischaemic symptoms after subarachnoid haemorrhage due to aneurysmal rupture : a randomized double-blind study. *Neurol. Res.* 11 : 79-88, 1989.
- 31) Yoshimoto T, Shirasaka T, Fujimoto S, Yoshidumi T, Yamauchi T, Tokuda K, Kaneko S and Kashiwaba T :

- Cilostazol may prevent cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage. *Neurol. Med. Chir. (Tokyo)*. 49 : 235-240 ; discussion 240-231, 2009.
- 32) Yamaguchi-Okada M, Nishizawa S, Mizutani A and Namba H : Multifaceted effects of selective inhibitor of phosphodiesterase III, cilostazol, for cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage in a dog model. *Cerebrovasc. Dis.* 28 : 135-142, 2009.
 - 33) Ito H, Fukunaga M, Suzuki H, Miyakoda G, Ishikawa M, Yabuuchi Y and Taki W : Effect of cilostazol on delayed cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage in rats : evaluation using black blood magnetic resonance imaging. *Neurobiol. Dis.* 32 : 157-161, 2008.
 - 34) Munakata A, Ohkuma H, Nakano T, Shimamura N, Asano K and Naraoka M : Effect of a free radical scavenger, edaravone, in the treatment of patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Neurosurgery*. 64 : 423-428; discussion 428-429, 2009.
 - 35) Tosaka M, Hashiba Y, Saito N, Imai H, Shimizu T and Sasaki T : Contractile responses to reactive oxygen species in the canine basilar artery in vitro : selective inhibitory effect of MCI-186, a new hydroxyl radical scavenger. *Acta Neurochir. (Wien)*. 144 : 1305-1310; discussion 1310, 2002.
 - 36) Tseng MY, Hutchinson PJ, Richards HK, Czosnyka M, Pickard JD, Erber WN, Brown S and Kirkpatrick PJ : Acute systemic erythropoietin therapy to reduce delayed ischemic deficits following aneurysmal subarachnoid hemorrhage : a Phase II randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clinical article. J. Neurosurg.* 111 : 171-180, 2009.
 - 37) Lin CL, Shih HC, Lieu AS, Lee KS, Dumont AS, Kassell NF, Howng SL and Kwan AL : Attenuation of experimental subarachnoid hemorrhage-induced cerebral vasospasm by the adenosine A2A receptor agonist CGS 21680. *J. Neurosurg.* 106 : 436-441, 2007.
 - 38) Chang CZ, Dumont AS, Simsek S, Titus BJ, Kwan AL, Kassell NF and Solenski NJ : The adenosine 2A receptor agonist ATL-146e attenuates experimental posthemorrhagic vasospasm. *Neurosurgery*. 60 : 1110-1117; discussion 1117-1118, 2007.
 - 39) Macdonald RL, Kassell NF, Mayer S, Ruefenacht D, Schmiedek P, Weidauer S, Frey A, Roux S and Pasqualin A : Clazosentan to overcome neurological ischemia and infarction occurring after subarachnoid hemorrhage (CONSCIOUS-1) : randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2 dose-finding trial. *Stroke*. 39 : 3015-3021, 2008.
 - 40) Macdonald RL, Higashida RT, Keller E, Mayer SA, Molyneux A, Raabe A, Vajkoczy P, Wanke I, Bach D, Frey A, Marr A, Roux S and Kassell N : Clazosentan, an endothelin receptor antagonist, in patients with aneurysmal subarachnoid haemorrhage undergoing surgical clipping : a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial (CONSCIOUS-2). *Lancet Neurol.* 10 : 618-625, 2011.
 - 41) Macdonald RL, Higashida RT, Keller E, Mayer SA, Molyneux A, Raabe A, Vajkoczy P, Wanke I, Frey A, Marr A, Roux S and Kassell NF : Preventing vasospasm improves outcome after aneurysmal subarachnoid hemorrhage : rationale and design of CONSCIOUS-2 and CONSCIOUS-3 trials. *Neurocrit. Care.* 13 : 416-424, 2010.
 - 42) Sabri M and Macdonald RL : Statins : a potential therapeutic addition to treatment for aneurysmal subarachnoid hemorrhage? *World Neurosurg.* 73 : 646-653, 2010.
 - 43) Tseng MY, Czosnyka M, Richards H, Pickard JD and Kirkpatrick PJ : Effects of acute treatment with pravastatin on cerebral vasospasm, autoregulation, and delayed ischemic deficits after aneurysmal subarachnoid hemorrhage : a phase II randomized placebo-controlled trial. *Stroke*. 36 : 1627-1632, 2005.
 - 44) Lynch JR, Wang H, McGirt MJ, Floyd J, Friedman AH, Coon AL, Blessing R, Alexander MJ, Graffagnino C, Warner DS and Laskowitz DT : Simvastatin reduces vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage : results of a pilot randomized clinical trial. *Stroke*. 36 : 2024-2026, 2005.
 - 45) Vergouwen MD, Meijers JC, Geskus RB, Coert BA, Horn J, Stroes ES, van der Poll T, Vermeulen M and Roos YB : Biologic effects of simvastatin in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage : a double-blind, placebo-controlled randomized trial. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 29 : 1444-1453, 2009.
 - 46) Chou SH, Smith EE, Badjatia N, Nogueira RG, Sims JR, 2nd, Ogilvy CS, Rordorf GA and Ayata C : A randomized, double-blind, placebo-controlled pilot study of simvastatin in aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke*. 39 : 2891-2893, 2008.
 - 47) Nowak L, Bregestovski P, Ascher P, Herbet A and Prochiantz A : Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature*. 307 : 462-465, 1984.
 - 48) Lin JY, Chung SY, Lin MC and Cheng FC : Effects of magnesium sulfate on energy metabolites and glutamate

- in the cortex during focal cerebral ischemia and reperfusion in the gerbil monitored by a dual-probe microdialysis technique. *Life Sci.* 71 : 803-811, 2002.
- 49) Dorhout Mees SM : Magnesium in aneurysmal subarachnoid hemorrhage (MASH II) phase III clinical trial MASH-II study group. *Int. J. Stroke.* 3 : 63-65, 2008.
 - 50) Zubkov YN, Nikiforov BM and Shustin VA : Balloon catheter technique for dilatation of constricted cerebral arteries after aneurysmal SAH. *Acta Neurochir. (Wien).* 70 : 65-79, 1984.
 - 51) Kaku Y, Yonekawa Y, Tsukahara T and Kazekawa K : Superselective intra-arterial infusion of papaverine for the treatment of cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage. *J. Neurosurg.* 77 : 842-847, 1992.
 - 52) Tachibana E, Harada T, Shibuya M, Saito K, Takayasu M, Suzuki Y and Yoshida J : Intra-arterial infusion of fasudil hydrochloride for treating vasospasm following subarachnoid haemorrhage. *Acta Neurochir. (Wien).* 141 : 13-19, 1999.

(参考文献のうち、数字がゴシック体で表示されているものについては、著者により重要なものと指定された分です.)