

クモ膜下出血と血管拡張性神経ペプチド ——神経線維数及び脳動脈反応性の変化と 治療薬としての可能性——

京都大学医学部脳神経外科学教室（指導：菊池晴彦教授）

野 崎 和 彦

〔平成元年10月1日〕

Reversal of Experimental Cerebral Vasospasm by Neuropeptides

KAZUHIKO NOZAKI

Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Kyoto University
(Director: Prof. Dr. Haruhiko Kikuchi)

Changes in the density of cerebroarterial nerve fibers containing calcitonin gene-related peptide (CGRP) and vasoactive intestinal polypeptide (VIP)-like substance, as well as changes in dilatory responses of isolated cerebral arteries to these neuropeptides, after subarachnoid hemorrhage (SAH) were examined in dogs. Moreover, the effects of these neuropeptides to the experimentally produced cerebral arterial spasm were also examined in dogs.

SAH was produced by a single injection of fresh autologous arterial blood (1 ml/kg body weight) or double injection of arterial blood (0.5 ml/kg body weight, 48 hours apart) into the cisterna magna. Constriction of basilar artery was most prominent on Day 3 in the single injection model, and on Day 7 in the double injection model.

The density of nerve fibers with CGRP-or VIP-like immunoreactivity (LI) was markedly decreased during 7-14 days or 3-7 days after SAH. Vasodilatory actions of CGRP and VIP to isolated basilar artery in vitro were markedly impaired during acute stage of post-SAH period and significantly enhanced during chronic stage of post-SAH period.

Intracisternal bolus injection of 10^{-10} mol/kg CGRP completely reversed cerebral arterial constriction on Day 3 of single injection SAH model, and intracisternal injection of 10^{-11} to 2×10^{-10} mol/kg CGRP reversed cerebral vasospasm dose-dependently. Intraarterial injection of CGRP could not reverse cerebral arterial constriction. The effects of VIP was much weaker than CGRP.

Key words: Subarachnoid hemorrhage, Calcitonin gene-related peptide, Vasoactive intestinal polypeptide, Dog cerebral artery, Vasospasm.

索引語：クモ膜下出血，カルシトニンジーン リレイテイド ペプチド，バゾアクティブ インテステイナルポリペプチド，イヌ脳動脈，脳血管攣縮。

Present address: Department of Neurosurgery, Faculty of Medicine, Kyoto University, 54 Shogoin Kawahara-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan

緒 言

クモ膜下出血後発生する脳血管攣縮は、手術用顕微鏡による早期手術が行われ動脈瘤再破裂による出血が予防されるようになった現在、患者の予後を左右する最も重要な合併症となっているが、その成因はいまだ明かでなく、一定した治療法も確立しているとはいえない^{1,2,3,4,5,6,7,8,9}。脳血管攣縮の成因として、1) クモ膜下出血腫自体あるいは隣接組織より遊離される血管作動物質、2) 血管内循環血液に由来する血管作動物質、3) 脳動脈内腔の機能的、器質的变化、4) 脳動脈中膜における収縮弛緩機構の機能的、器質的变化、5) 脳動脈外膜の血管支配神経の変化などが報告されており、単一の原因物質のみでは説明できず、複数個の因子が関与していると考えられている。一方、脳血管攣縮の治療としては、1) 主な原因物質であるクモ膜下腔の血腫の除去、2) 薬剤及び血管内手術による攣縮血管の拡張、3) 循環血液量や血圧の適切な維持、4) 脳虚血に対する薬剤投与などが行われているが、いずれもある程度の効果は期待されるものの充分とは言えない。

脳血管は、他の臓器と同じようにノルアドレナリンを伝達物質とする交感神経とアセチルコリンを伝達物質とする副交感神経の二重の神経支配を受け¹⁰、脳血流の神経調節は、これらの壁に神経により行われていると考えられてきたが、最近新しい伝達物質の存在が証明され、脳血管壁に神経の多様性が指摘されている^{9,11,12,13,14,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,31,32,33,34,35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47,48,49,50,51,52,53,54,55,56,57,58,59,60,61,62,63,64,65,66,67,68,69,70,71,72,73,74,75,76,77,78,79,80,81,82,83,84,85,86,87,88,89,90,91,92,93,94,95,96,97,98,99,100}。これらの伝達物質のうち、calcitonin gene-related peptide (CGRP)^{11,17,31,37,44,57,74} および vasoactive intestinal polypeptide (VIP)^{10,16,74} は従来の血管作動物質に比べ強力で、しかも持続性の血管拡張作用があり、正常および病的状態における脳血流の調節になんらかの役割を果たしていることは充分に考えられる^{15,56}。本研究では、クモ膜下出血後の脳血管壁の CGRP、VIP 含有神経線維の変化、クモ膜下出血後の脳血管の CGRP、VIP に対する反応性の変化を検討し、脳血管攣縮の治療薬としての可能性を探った。

実験材料および実験方法

実験には、体重 5-12 kg の雑種犬を用いた。ケタミン 5 mg/kg 筋肉内投与およびペントバルビタール 20 mg/kg 静脈内投与により麻醉し、必要により気管内挿管を行った。大動脈より採取した新鮮自家動脈血を大動脈に経時的に注入し頭部を30分間低位に傾かし実

験的クモ膜下出血 (SAH) を作成した。1 回注入モデルでは 1.0 ml/kg 体重、2 回注入モデルでは 0.5 ml/kg 体重を48時間間隔で注入し、経時的に椎骨動脈撮影を行い脳血管攣縮の程度を確認した。

実験 1 : 脳動脈に分布する CGRP、VIP 含有神経線維の染色

SAH 犬 (クモ膜下出血作成後 1, 3, 7, 14, 28, 42 日), sham 手術犬 (自家血の代わりに同量の乳酸加リンゲル液を大層内注入後、3, 7, 14 日生かしたものの)、正常犬をそれぞれ過量のペントバルビタールにて麻醉後、左心室より生理食塩水 (1 liter) に続いて Zamboni 固定液 (1% ピクリン酸、2% パラホルムアルデヒド含有リン酸緩衝液 pH 7.3, 1 liter/kg 体重) を灌流し固定した。固定後脳底部主幹動脈を顕微鏡下に摘出し、0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.3) にて充分洗浄した。この脳血管を 2% non-immune ヤギ血清を加えた 0.9% 生理食塩水含有 0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.3) で immuno-blocking を行った後、3000 倍希釈ウサギ抗-CGRP 血清 (Cambridge Research Biochemicals), 1500 倍希釈ウサギ抗-VIP 血清 (Immunonuclear) と室温にて 24 時間 incubate した。次にビオチン化ヤギ抗-ウサギ IgG 抗体 (Vector), アビジン-ビオチン化過酸化酵素複合体 (Avidin-Biotinylated Peroxidase Complex, Vector) とそれぞれ 3 時間室温にて incubate した。その後、免疫標識された過酸化酵素を発色させるため、血管片を 0.015% ジアミノベンチジン、0.003% 過酸化水素含有 50 mM Tris-HCl 緩衝液 (pH 7.6) 中に室温にて 15 分間反応させた。

CGRP、VIP の希釈抗血清をそれぞれ過剰の CGRP、VIP で吸収したところ、脳動脈の免疫活性は消失した。また免疫染色の過程において各抗血清を省略した場合、免疫活性が消失することを確認した。

実験 2 : CGRP、VIP の in vitro における脳血管拡張作用

正常犬、SAH 犬 (1 回注入モデルでは、クモ膜下出血作成後、3, 7, 14, 28 日目、2 回注入モデルでは、1 回目の血液注入後、7, 14, 28, 42, 63 日目) をケタミン、ペントバルビタール麻醉後、脱血屠殺し、脳底動脈を摘出した。血管は 3 mm の ring 標本として 20 ml の organ bath 中に懸垂し、一方を固定し、一方を張力トランスデューサー (strain gauge transducer, Toyo-Boldwin 社製) に接続した。栄養液として、modified Ringer-Locke 液 (組成 mM: Na^+ 139, K^+ 5.4, Ca^{2+} 2.2, Mg^{2+} 1.0, Cl^- 131.5, HCO_3^- 20.0,

glucose 5.6) を用い、37°C に保ち、95% O₂-5% CO₂ の混合ガスを持続的に通気して pH を 7.3 に保った。最も良く反応し、かつ安定した反応の出る resting tension として、1.5 g を負荷し張力が安定したところで、KCl 30 mM による収縮反応を得たのち、prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) 2.5×10^{-6} M 収縮下における CGRP, VIP の弛緩反応の強さを、PGF_{2α} 2.5×10^{-6} M による収縮安定状態から papaverine 10^{-4} M による弛緩までの差を 100% として百分率で表示した。CGRP, VIP (ペプチド研) は使用直前に 0.1% bovine serum albumin (BSA) に溶解し、cumulative に organ bath に投与した。正常犬より得た脳底動脈において機械的に内皮を擦過した ring 標本においても同様の実験を行った。内皮擦過の程度は substance P 10^{-6} M による弛緩の消失を目安とした。

実験 3 : CGRP, VIP による脳血管攣縮緩解効果

クモ膜下出血 1 回注入モデル、2 回注入モデルを用い、脳血管攣縮極期に CGRP, VIP を大槽内あるいは椎骨動脈内に bolus で 1 回投与し脳血管撮影上、脳血管攣縮緩解効果を検討した。正常犬、SAH 犬をケタミン、ペントバルビタール麻酔下に気管内挿管し調節呼吸とし、必要に応じてペントバルビタールを追加し麻酔を維持した。大腿動脈より Seldinger 法により椎骨動脈撮影を行い、投与前の脳底動脈径を 100% とし投与後の脳底動脈径の変化を写真上比較検討した。同時に、脈拍数、血圧、呼吸数、動脈血の pO₂, pCO₂, pH, BE のモニターも行った。CGRP, VIP は 0.1% bovine serum albumin (BSA) を vehicle として用い、in vitro で得られた用量依存曲線より最大弛緩が得られると思われる量を投与した。

結 果

本実験のクモ膜下出血 1 回注入モデルにおいて、クモ膜下血腫はクモ膜下出血作成後、1, 3, 7 日目に脳底部を中心に認められ (Fig. 1), 14 日目には消失していた。2 回注入モデルでは、3, 7, 14 日目に認められ、28 日目には消失していた。血管写上の脳血管攣縮の極期は、1 回注入モデルでは 3 日目 (50±5%), 2 回注入モデルでは 7 日目 (47±7%) に見られ、前者では 28 日目に正常レベルまで回復したが、後者では 63 日目 (80±5%) においても正常レベルまでは回復しなかった (Fig. 2)。

1) 脳動脈に分布する CGRP, VIP 含有神経線維

正常犬の脳底部主幹動脈には、CGRP, VIP 免疫陽

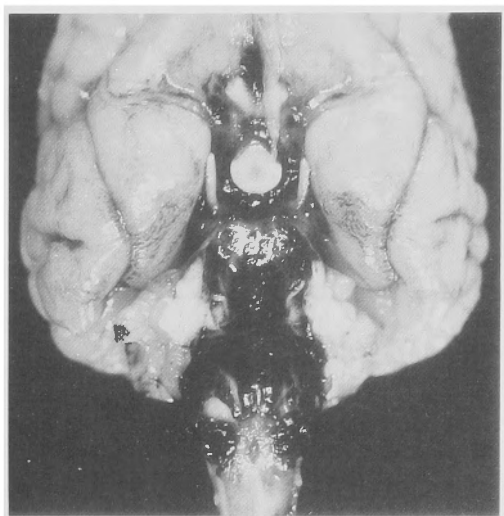


Fig. 1 The ventral aspect of a dog brain, 3 days after single injection of fresh autologous arterial blood into the cisterna magna.

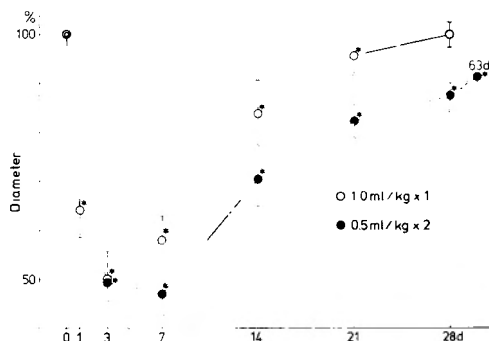


Fig. 2 Changes of diameters of the basilar artery after single (open circle), or double (closed circle) injection of autologous arterial blood into the cisterna magna. Vertical bars indicate two standard errors of the mean (n=6). * = $p < 0.01$.

性線維が varicose fiber として密に存在していた。CGRP 免疫陽性線維は、内頸動脈終末部、総前大脳動脈、脳底動脈 (近位部) に特に多く認められ、前大脳動脈、中大脳動脈、後大脳動脈の末梢部では少なかった (Fig. 3a, c)。一方、VIP 免疫陽性線維は、Willis 輪前半部で特に多く認められ、脳底動脈では少なかった (Fig. 4a, c)。

クモ膜下出血 1 回注入モデルにおいて、SAH 後 1 日目では各線維に大きな変化は認められなかったが、以降線維の減少が見られ、CGRP 免疫陽性線維は

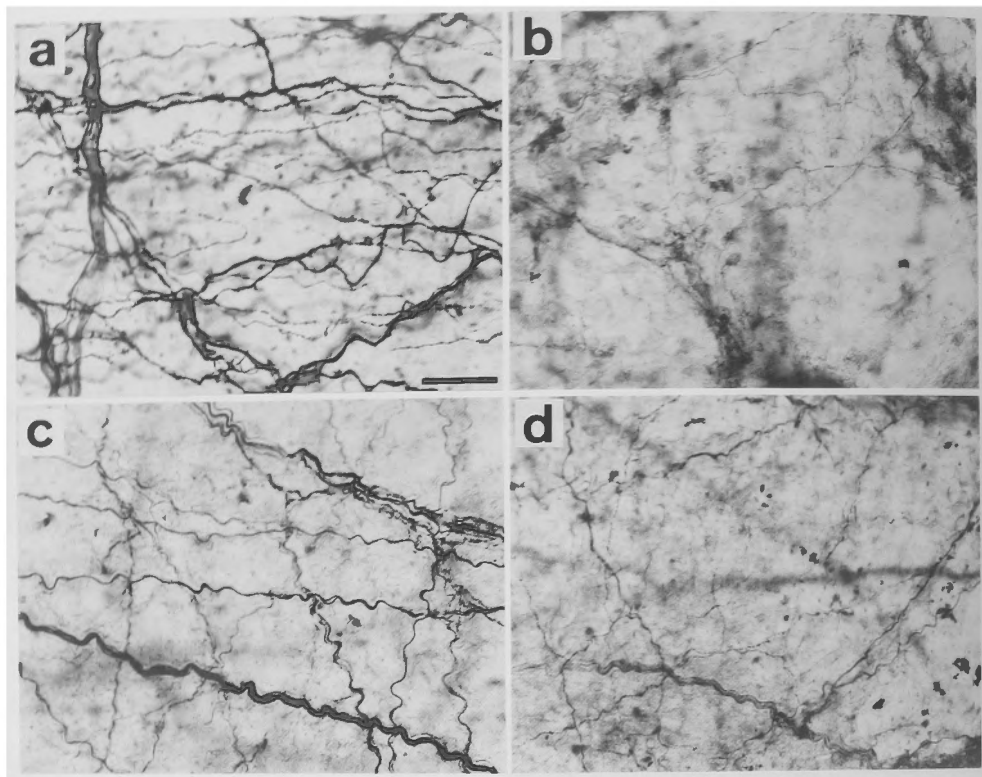


Fig. 3 Photomicrographs of CGRP-immunostained basilar arteries (a) (b), and middle cerebral arteries (c) (d), taken from a normal dog (a) (c) and from a dog with induced SAH that was allowed to survive for 7 days (b) (d). Bar = 50 μ m.

Table 1 Effect of SAH on isometric tension induced by KCl, PGF α and papaverine in ring segments of the basilar arteries**

Control	KCl 30 mM	PGF 2α 2.5×10^{-6} M	papaverine 10^{-4} M
	2249 $\pm$ 150 mg	1413 $\pm$ 142 mg	374 $\pm$ 80 mg
Single SAH			
Day 1	2009 $\pm$ 192	1446 $\pm$ 146	562 $\pm$ 136
Day 3	1884 $\pm$ 216*	1435 $\pm$ 106	595 $\pm$ 160
Day 7	1442 $\pm$ 182*	960 $\pm$ 104*	190 $\pm$ 68*
Day 14	2002 $\pm$ 238	1010 $\pm$ 110*	220 $\pm$ 78
Day 28	2215 $\pm$ 280	1424 $\pm$ 164	389 $\pm$ 76
Double SAH			
Day 3	1614 $\pm$ 196*	1263 $\pm$ 122	446 $\pm$ 84
Day 7	1040 $\pm$ 105*	943 $\pm$ 96*	367 $\pm$ 74
Day 14	1086 $\pm$ 92*	1065 $\pm$ 76*	120 $\pm$ 62*
Day 28	1470 $\pm$ 110*	1010 $\pm$ 80*	50 $\pm$ 52*
Day 42	1460 $\pm$ 106*	1015 $\pm$ 84*	110 $\pm$ 62*
Day 63	1472 $\pm$ 102*	1020 $\pm$ 80*	102 $\pm$ 64*

** Contractions induced by 30 mM KCl and 2.5×10^{-6} M PGF 2α are expressed as increase in the tension (mg) above baseline, and relaxation induced by 10^{-4} M papaverine are expressed as a decrease in the tension (mg) below baseline. Data are shown as means $\pm$ standard error of the means. n = 15. * = p < 0.01.

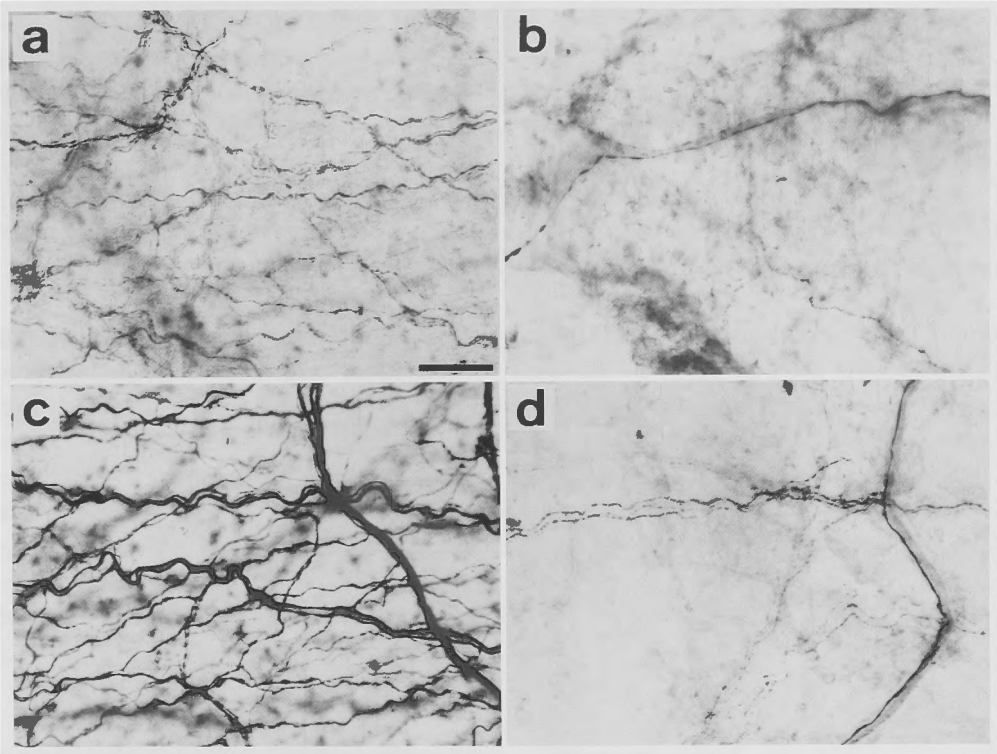


Fig. 4 Photomicrographs of VIP-immunostained basilar arteries (a) (b), and middle cerebral arteries (c) (d), taken from a normal dog (a) (c) and from a dog with induced SAH that was allowed to survive for 3 days (b) (d). Bar = 50 μ m.

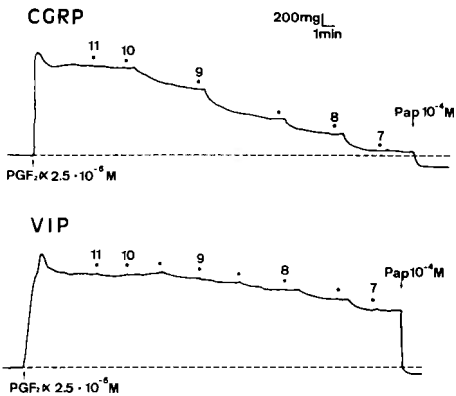


Fig. 5 Vasodilatory effects of CGRP and VIP to dog basilar arteries which were precontracted with prostaglandin F $_{2\alpha}$ (PGF $_{2\alpha}$) 2.5×10^{-6} M. Relaxation induced by papaverine (Pap) 10^{-4} M was also shown.

SAH 後 7-14 日目に (Fig. 3b, d), VIP 免疫陽性線維は SAH 後 3-7 日目に著減し (Fig. 4b, d), 以降徐々に回復し 42 日目には正常レベルに戻った。この変化は血腫

の多いところほど強く認められ, また細い線維ほど強い変化を示した。クモ膜下出血 2 回注入モデルでは, 1 回注入モデルより強い線維の減少が観察され, SAH 後 63 日目においてかなりの回復が認められるものの正常レベルまでは回復しなかった。

乳酸加リンゲルを注入した sham 犬においては, 正常犬と同様の CGRP, VIP 免疫陽性線維を認めた。

2) 脳底動脈に対する CGRP, VIP の弛緩作用

正常犬より摘出した脳底動脈において, KCl 30 ml, PGF $_{2\alpha}$ 2.5×10^{-6} M, papaverine 10^{-4} M による収縮および弛緩はそれぞれ 2249 ± 150 mg, 1413 ± 142 mg, 374 ± 80 mg であった (Table 1)。CGRP (10^{-11} - 10^{-7} M), VIP (10^{-11} - 5×10^{-7} M) はともに用量依存性の強力な弛緩作用を示し, その作用は持続性であった (Fig. 5)。CGRP, VIP の脳血管拡張作用は内皮擦過により影響を受けず (Fig. 6), CGRP は VIP に比べ, より強い弛緩作用を示した。

クモ膜下出血 1 回注入モデルより摘出した脳底動脈において, KCl 30 mM, PGF $_{2\alpha}$ 2.5×10^{-6} M,

papaverine 10^{-4} M による反応は, SAH 後可逆性の減弱を示した (Table 1). CGRP, VIP による最大弛緩は, SAH 後 3-7 日目に減弱したのち 14 日目に亢進傾向を示し 28 日目に正常レベルに回復した (Fig. 7). SAH 後 ID50 に有意の変化は見られなかった.

クモ膜下出血 2 回注入モデルより摘出した脳底動脈において, KCl 30 mg, PGF 2α 2.5×10^{-6} M, papaverine 10^{-4} M による反応は, SAH 後減弱し 63 日目においても低下したままであった (Table 1). CGRP, VIP による最大弛緩は, SAH 後 7-14 日目に減弱し 28-42 日目に亢進傾向を示したのち 63 日目に正常レベルに回復した (Fig. 8). SAH 後 7 日目において, VIP による弛緩はほとんど消失していたが, CGRP はなお有意の弛緩作用を呈した. SAH 後 ID50 に有意の変化は見られなかった.

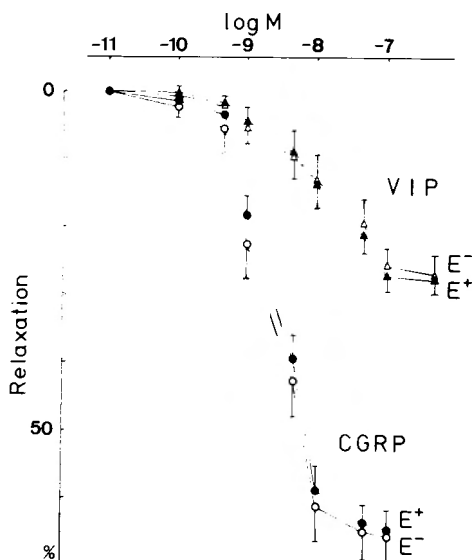


Fig. 6 Dose-response curves for relaxation by CGRP and VIP in the basilar arteries from normal dogs, which were precontracted with 2.5×10^{-6} M PGF 2α . Data are mean values expressed as a percentage of the maximum relaxation induced by 10^{-4} M papaverine. Vertical bars indicate two standard errors of the mean ($n=12$). Filled circles and filled triangles respectively indicate effects of CGRP and VIP on the basilar arteries with intact endothelium (E^+). Open circles and open triangles respectively indicate effects of CGRP and VIP on the basilar arteries which were devoid of endothelium (E^-).

3) CGRP, VIP による脳血管攣縮緩解効果

正常犬において, CGRP 10^{-10} mol/kg 体重を大槽内投与すると, 投与後 30-60 分において脳底動脈は $150 \pm 10\%$ にまで拡張し, この拡張効果は少なくとも 4 時間持続し, 24 時間後には消失した (Fig. 9, upper). VIP 10^{-10} mol/kg 体重を大槽内投与すると, 投与後 5-15 分において $130 \pm 15\%$ にまで拡張し, この拡張効果は少なくとも 2 時間持続し, 4 時間後に消失した.

クモ膜下出血 1 回注入モデルの 3 日目に, VIP 10^{-10} mol/kg 体重を大槽内投与すると, 脳底動脈は投与後 $86 \pm 7\%$ にまで拡張したが, この効果は CGRP に比べると弱かった. クモ膜下出血 2 回注入モデルの 7 日目に, CGRP 10^{-11} - 2×10^{-10} mol/kg 体重を大槽内投与すると, 攣縮した脳底動脈は用量依存性の持続性の拡張を示し, 2×10^{-10} mol/kg 体重ではほぼ完全な攣縮の緩解が見られた (Fig. 9, lower). VIP 10^{-10} mol/kg 大槽内投与では極めて弱い拡張効果しか得られなかった. これらの CGRP, VIP 大槽内投与において, 平均血圧の一過性の低下と脈拍数の一過性の増加が認められたが, 変化はわずかであった (Fig. 10a). また他のパラメーターに有意の変化は認められなかった.

クモ膜下出血 2 回注入モデルの 7 日目に, CGRP 10^{-10} mol/kg 体重を椎骨動脈内に 1 回注入しても攣縮した脳底動脈は拡張効果を示さない一方, 平均血圧の著明な低下と脈拍数の著明な増加を認めた (Fig. 10b).

考 察

1) 脳動脈に分布する CGRP, VIP 含有神経線維

ヒトを含め多くの動物種の脳動脈壁にさまざまな神経ペプチド含有神経線維が存在することが知られている (4, 13, 15-20, 22, 29, 37, 47, 54, 88). 本実験では, イヌの脳血管壁においても CGRP, VIP 免疫陽性線維が密に存在すること, イヌではこれらの神経線維の分布様式が著しく異なることを示した. モルモット⁸⁴⁾, ラット⁷⁶⁾, ネコ^{17, 56, 79)} では CGRP 含有神経線維は Willis 輪前半部に密に存在すると言われており脳底動脈にも密に存在するイヌと異なる. VIP 含有神経線維が Willis 輪前半部に密に存在することはラット^{38, 54)}, ネコ²⁹⁾, イヌ^{81, 82)}, ヒト¹⁸⁾, において共通のようである.

SAH 後急性期において脳動脈壁に神経線維の減少は, CGRP, VIP 以外 noradrenaline, neuropeptide Y, substance P, についても報告されており^{71, 82)}, SAH による血腫の暴露を受けた神経軸索終末では, 何らかの器質あるいは機能的変化が引き起こされるようであ

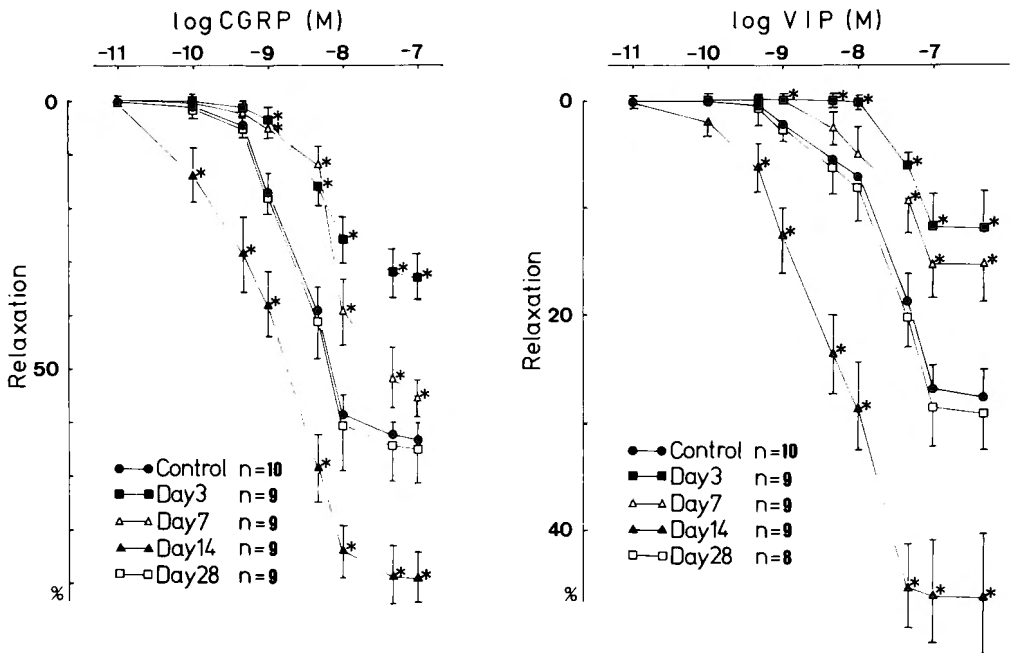


Fig. 7 Effects of CGRP and VIP on PGF2 α -induced contraction of the basilar arteries in the single injection model of SAH. Data are mean values expressed as a percentage of the maximum relaxation induced by 10^{-4} M papaverine. Vertical bars indicate two standard errors of the mean. * = $p < 0.01$ (vs. control values).

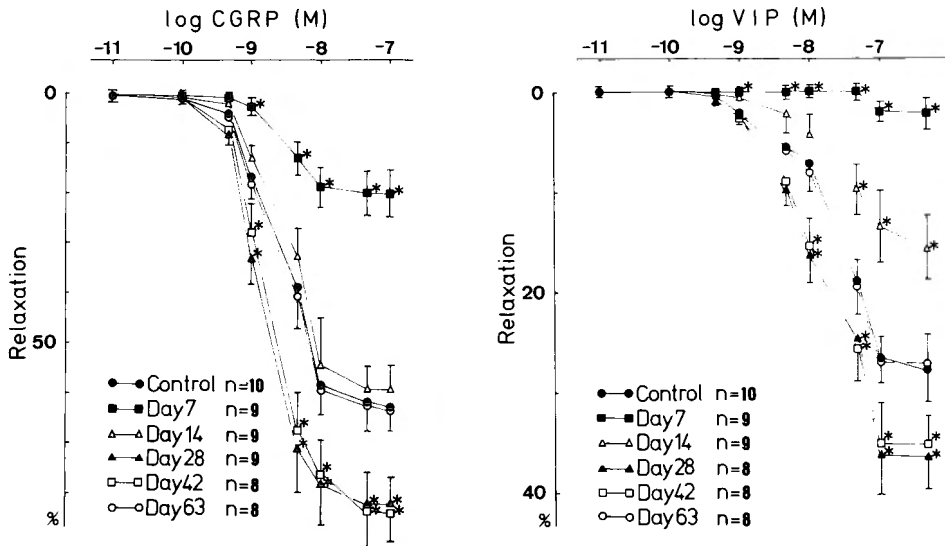


Fig. 8 Effects of CGRP and VIP on PGF2 α -induced contraction of the basilar arteries in the double injection model of SAH. Data are mean values expressed as a percentage of the maximum relaxation induced by 10^{-4} M papaverine. Vertical bars indicate two standard errors of the mean. * = $p < 0.01$ (vs. control values).

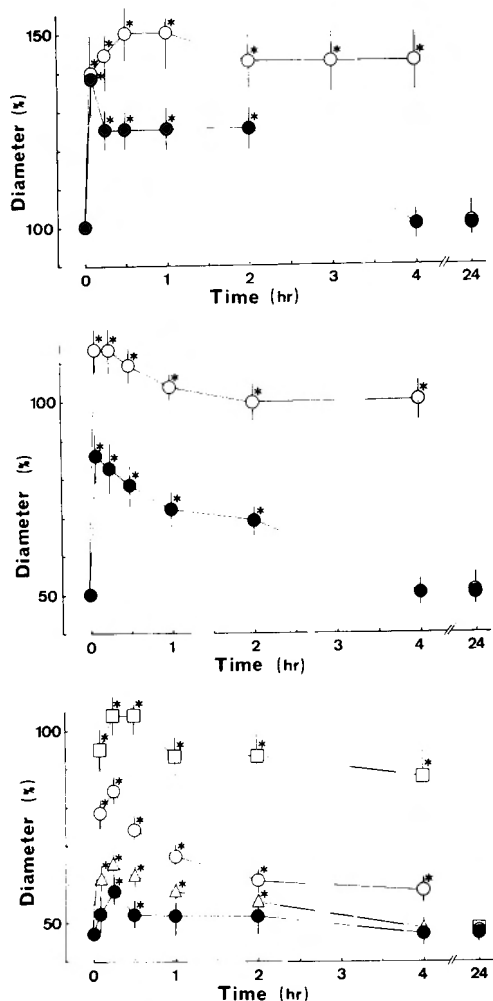


Fig. 9 Time course of effects produced by intracisternal administration of 10^{-10} mol/kg CGRP (open circle) or VIP (closed circle) upon the diameter of the basilar arteries in normal dogs (upper), single injection model on Day 3 after SAH (middle), and by intracisternal administration of 10^{-11} (open triangle), 10^{-10} (open circle), 2×10^{-10} (open square) mol/kg CGRP, or 10^{-10} mol/kg VIP (closed circle) upon the diameters or the basilar arteries in double injection model on Day 7 after SAH (lower). Data are mean values expressed as a percentage of the basilar artery diameter before SAH. Vertical bars indicate two standard errors of the mean ($n=6$). $*=p<0.01$.

る。同教室の上村らは、電子顕微鏡による観察において神経軸索終末より免疫活性物質が消失していることより、神経終末における伝達物質の異常放出が免疫活

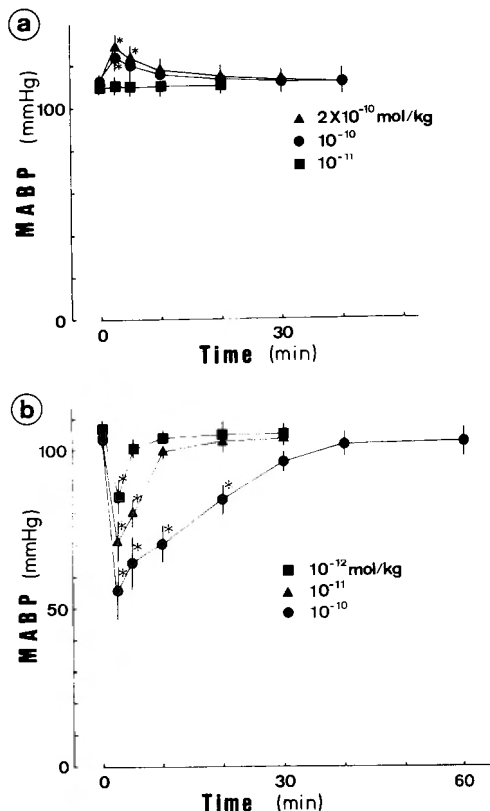


Fig. 10 Changes of the mean arterial blood pressure (MABP) after intracisternal injection of 10^{-11} , 10^{-10} , 2×10^{-10} mol/kg CGRP (a), and intracisternal injection of 10^{-12} , 10^{-11} , 10^{-10} mol/kg CGRP (b). Data are mean values. Vertical bars indicate two standard errors of the mean ($n=6$). $*=p<0.01$.

性低下の原因であると述べている⁸⁰。また、SAH 後 substance P 免疫陽性線維の脳動脈壁よりの減少とともにその起始細胞である三叉神経ニューロンにおいて tachykinin mRNA の増加が認められたとの報告もある⁵¹。しかし、免疫活性低下のメカニズムは明かでない。

SAH 後慢性期における CGRP, VIP 免疫活性の回復は、これら神経線維による脳血管支配の回復を示唆する。このような形態学的な回復の意味については、これらの拡張性神経ペプチドに対する脳血管自体の反応性の SAH 後の変化も考慮した上で後述する。

2) CGRP, VIP による脳血管の拡張作用

CGRP, VIP は多くの動物種において、脳動脈^{9,16-18,37,68} および末梢動脈^{11,32,33,37,44,74} を強力に拡張

することが知られている。イヌの脳底動脈においても、同様の強い、しかも持続性の拡張作用があることが確かめられた。この拡張作用は内皮擦過によっても障害されなかった。拡張作用の内皮依存性においては、特に CGRP において、種差、部位差が認められているが^{11,32,33,46)}、脳血管においては内皮非依存性に弛緩させるとの報告が多い。CGRP は VIP より明かに強い拡張作用を呈した。Substance P は CGRP と同様の強い脳血管拡張作用があるが、この作用は持続が短く、内皮依存性であることが知られている^{21,22)}。

クモ膜下出血後急性期において、CGRP, VIP による脳血管拡張作用は減弱した。ウサギ脳底動脈において SAH 後 CGRP の拡張作用は変化しないとの報告もあるが⁴⁰⁾、この違いには種差やクモ膜下出血の程度の差が関与していると思われる。クモ膜下出血 2 回注入モデルでは 1 回注入モデルより強い持続性の脳血管攣縮が作成されるが、このような血管では単に CGRP, VIP による拡張反応だけでなく、KCl, PGF₂ α , papaverine による収縮や弛緩反応も長期にわたって障害されていた^{8,36,75)}。この結果は SAH 後の脳血管では単にレセプターレベルでの機能障害だけでなく、収縮弛緩機構の双方にかなり広範囲な障害が生じていることを示している。一方今回の実験から、このモデルの 7 日目において VIP による脳血管拡張作用はほとんど消失していたが、CGRP がなお有意の拡張作用を有していたこともわかった。すなわち SAH によるレセプターレベルでの障害の受けやすさは、伝達物質の種類により多少異なることも事実で、このことは、 α , β adrenergic receptor でも示されている^{77,78)}。CGRP, VIP はともに cAMP を介し^{14,21,41,46)}、細胞内カルシウムに依存した血管拡張作用を有すると言われている^{41,45)}。一方 SAH 後の CGRP, VIP の脳血管拡張作用の亢進は、CGRP, VIP 免疫陽性線維の回復時期と一致していた。強力な血管拡張作用を有する PGI₂ や内皮依存性の血管拡張作用を有する ATP ではこのような反応性亢進は見られなかった (unpublished data)。このメカニズムとして、神経終末の器質的あるいは機能的回復に伴うレセプターの数や感受性の増加が関与していることは充分考えられる。以前よりクモ膜下出血後急性期において noradrenaline や serotonin に対する脳血管の反応の亢進が指摘され^{53,71)}、脳血管攣縮の原因の一つとして、これらの収縮物質に対する denervation supersensitivity を上げる人もいる。この拡張性神経ペプチドに対する血管反応性亢進は、脳血管攣

縮の緩解にも役立っているかもしれない。

強力でしかも持続性の脳血管拡張作用を有する CGRP, VIP 含有神経線維がクモ膜下出血後急性期に減少すること、CGRP, VIP の脳血管拡張作用がクモ膜下出血後急性期に減弱すること、これらの変化が脳血管攣縮の発生時期と一致することは、脳血管攣縮の発生、憎悪にこれらの脳血管拡張神経線維による血管トーンスの維持の障害が関与している可能性を示唆している。クモ膜下出血 2 回注入モデルの極期における攣縮血管に対して CGRP が、減弱するもののなお有意の弛緩作用を示したことは、CGRP を治療薬として用いる可能性を残している。

3) CGRP, VIP による脳血管攣縮緩解効果

脳血管攣縮の治療法として、現在までに多くの攣縮血管拡張物質の検索がなされてきたが、動物実験において明かに有効な物質でも臨床の場においては無効であるものがほとんどである^{30,72,89)}、最近のサルを用いた実験で nimodipine 髄腔内投与は脳血管攣縮を緩解させなかった⁵⁰⁾。カルシウム全身投与による有効例も散見されるが^{3,7,72)}、多くは無効であり^{23,30,59,83)}、著明な全身血圧の低下を伴うため使用が制限される。また臨床例において、カルシウム拮抗剤は患者の予後をある程度改善するが、攣縮血管を拡張させることはできていない^{2,5,28,34,52,63,65,66,69,86)}。現在では、hypervolemic hyperdynamic therapy などを用いて脳血流を維持する方法や、CT 上の血腫量と脳血管攣縮との相関が指摘されてから²⁶⁾、クモ膜下出血血腫自体をできるだけ除去するために脳槽灌流などを行う施設が増えており、ある程度の効果は期待されるようである。

本実験において、イヌのクモ膜下出血 1 回、2 回注入モデル極期の脳血管攣縮が CGRP 大槽内投与により完全に緩解された。正常ヒトの血液中、髄液中には微量ながら収縮性神経ペプチドである neuropeptide Y の増加が認められ脳血管攣縮の発生、維持に関与しているかも知れないという報告もある⁹⁾。本実験における CGRP, VIP 大槽内投与による脳血管攣縮緩解効果は、正常髄液濃度の 10^3 – 10^4 倍において認められたものであり、補充療法というより薬物療法である⁶¹⁾。ラットにおける報告と同様²⁷⁾、イヌにおいても CGRP 髄腔内投与による脈拍数の増加および全身血圧の上昇、CGRP 全身投与による全身血圧の低下が観察された。CGRP 髄腔内投与による胃腸系に対する影響²⁴⁾、CGRP 全身投与による胃液、腸液分泌の変化^{49,67)} も報告されている。また投与後の分解代謝経

路も明かではない^{12,90)}。しかし従来脳血管攣縮の治療役として用いられてきたものは、カルシウム拮抗剤をはじめとする生体外物質がほとんどである。また、クモ膜下出血後血管の内皮は機能的あるいは器質的に障害を受けることが報告されており^{25,39,55,58,64,73)}、治療薬としては内皮非依存性の弛緩作用を有する物質が望ましい。CGRP は脳血管にたいし内皮非依存性の拡張作用を持つ生体内物質であり、他の薬剤に比べ極めて少ない1回投与量により数時間におよぶ攣縮緩解が得られたことは、臨床における使用の可能性を示唆するものと考えられる。

ま と め

- 1) イヌ脳動脈壁には CGRP, VIP 免疫陽性線維が密に存在し、クモ膜下出血後急性期に、これらの免疫活性は強く低下した。
- 2) イヌ脳底動脈に対し CGRP, VIP は強力な持続性の拡張作用を示した。クモ膜下出血後急性期にこの血管拡張作用は強く障害を受け、慢性期には亢進する傾向を示した。
- 3) クモ膜下出血後急性期における CGRP, VIP 免疫陽性線維の減少および CGRP, VIP による脳血管拡張作用の減弱は、脳血管攣縮の発生時期と一致しており、脳血管攣縮の発生、憎悪に関与している可能性がある。
- 4) CGRP は、クモ膜下出血急性期に in vitro, in vivo の両方の系において攣縮血管を強く弛緩させ、CGRP 髄腔内投与による脳血管攣縮の治療の可能性を示唆していた。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました京都大学脳神経外科菊池晴彦教授に深謝致します。また新たに実験の場をお与え頂き、組織学のみならず多岐にわたり御指導、御鞭達頂きました京都大学解剖学第一講座水野昇教授、同講座の諸先生方に深謝致します。また、終始御指導頂いた京都大学脳神経外科岡本新一郎先生（現滋賀県立成人病センター脳神経外科部長）に感謝致します。

文 献

- 1) Abel PW, Han C, Noe BD, et al: Neuropeptide Y: vasoconstrictor effects and possible role in cerebral vasospasm after experimental subarachnoid hemorrhage. *Brain Res* 463: 250-258, 1988.
- 2) Allen GS, Ahn HS, Preziosi TJ, et al: Cerebral arterial spasm—a controlled trial of nimodipine in patients with subarachnoid hemorrhage. *N Engl J Med* 308: 619-624, 1983.
- 3) Allen GS, Bahr AL: Cerebral arterial spasm: Part 10. Reversal of acute and chronic spasm in dogs with orally administered nifedipine. *Neurosurgery* 4: 43-47, 1979.
- 4) Allen JM, Schon F, Todd N, et al: Presence of neuropeptide Y in human circle of Willis and its possible role in cerebral vasospasm. *Lancet* ii: 550-552, 1984.
- 5) Auer LM: Acute operation and preventive nimodipine improve outcome in patients with ruptured cerebral aneurysms. *Neurosurgery* 15: 57-65, 1984.
- 6) Berrettini WH, Nurnberger JI Jr, Dimaggio DA: Neuropeptide Y immunoreactivity in human cerebrospinal fluid. *Peptides* 7: 455-458, 1986.
- 7) Bevan JA, Bevan RD, Frazee JG: Chronic cerebrovascular spasm in the monkey: protection by diltiazem. In *Vascular Neuroeffector Mechanism*, edited by Bevan JA, Godfraind T, Maxwell RA, et al, Amsterdam, Elsevier, 1985, pp. 211-217.
- 8) Bevan JA, Bevan RD, Frazee JG, et al: Functional arterial changes in chronic cerebrovasospasm in monkeys: An in vitro assessment of the contribution to arterial narrowing. *Stroke* 18: 472-481, 1987.
- 9) Bevan JA, Guga GM, Moskowitz MA, et al: In vitro evidence that vasoactive intestinal peptide is transmitter of neuro-vasodilation in the head of the cat. *Neuroscience* 19: 597-604, 1986.
- 10) Bevan JA, Moskowitz M, Said SI, et al: Evidence that vasoactive intestinal polypeptide is dilator transmitter to some cerebral and extracerebral cranial arteries. *Peptides* 5: 385-388, 1984.
- 11) Brain SD, Williams TJ, Tippins JR, et al: Calcitonin gene-related peptide is potent vasodilator. *Nature* 313: 54-56, 1985.
- 12) Braslis KG, Shulkes A, Fletcher DR, et al: Pharmacokinetics and organ-specific metabolism of calcitonin gene-related peptide in sheep. *J Endocrinol* 118: 25-31, 1988.
- 13) Chan-palay V: Innervation of cerebral blood vessels by norepinephrine, substance P and neurotensin fibers and the leptomeningeal indoleamine axons: Their roles in vasomotor activity and local alteration of brain blood composition. In *Neurogenic Control of the Brain Circulation* edited by Owman C, Edvinsson L, Oxford, Pergamon Press, 1977, p. 39.
- 14) Crossman D, McEwan J, Mac Dermot J, et al: Human calcitonin gene-related peptide activates adenylate cyclase and releases prostacyclin from human umbilical vein endothelial cells. *Br J Pharmacol* 92: 695-701, 1987.

- 15) Edvinsson L: Function role of perivascular peptides in the control of cerebral circulation. *Trends Neurosci* 8: 126-131, 1985.
- 16) Edvinsson L, Ekman R: Distribution and dilatory effects of vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in human cerebral arteries. *Peptides* 5: 329-331, 1984.
- 17) Edvinsson L, Ekman R, Jansen I, et al: Calcitonin gene-related peptide and cerebral blood vessels: Distribution and vasomotor effects. *J Cereb Blood Flow Metab* 7: 720-728, 1987.
- 18) Edvinsson L, Ekman R, Jansen I et al: Peptide-containing nerve fibers in human cerebral arteries: Immunocytochemistry, radioimmunoassay and in vitro pharmacology. *Ann Neurol* 21: 431-437, 1987.
- 19) Edvinsson L, Emson P, McCulloch J, et al: Neuropeptide Y: Cerebrovascular innervation and vasomotor effects in the cat. *Neurosci Lett* 43: 79-84, 1983.
- 20) Edvinsson L, Emson P, McCulloch J, et al: Neuropeptide Y: Immunocytochemical localization to and effects upon feline pial arteries and veins in vitro and situ. *Acta Physiol Scand* 122: 155-163, 1984.
- 21) Edvinsson L, Fredholm BB, Hamel E, et al: Perivascular peptides relax cerebral arteries concomitant with stimulation of cyclic adenosine monophosphate accumulation or release of an endothelium-derived relaxing factor in the cat. *Neurosci Lett* 58: 213-217, 1985.
- 22) Edvinsson L, McCulloch J, Uddman R: Substance P: Immunohistochemical localization and effect upon cat pial arteries in vitro and in situ. *J Physiol (Lond)* 318: 251-258, 1981.
- 23) Espinosa F, Weir B, Overton T, et al: A randomized placebo-controlled double-blinded trial of nimodipine after SAH in monkeys. Part 1: Clinical and radiological findings. *J Neurosurg* 60: 1167-1175, 1984.
- 24) Fargeas MJ, Fioramonti J, Bueno L: Calcitonin gene-related peptide: Brain and spinal action on intestinal motility. *Peptides* 6: 1167-1171, 1985.
- 25) Fein JM, Flor WJ, Cohan SL, et al: Sequential changes of vascular ultrastructure in experimental cerebral vasospasm. Myonecrosis of subarachnoid arteries. *J Neurosurg* 41: 49-58, 1974.
- 26) Fisher CM, Kistler JP, Davis JM, et al: Relation of cerebral vasospasm to SAH visualized by computerized tomographic scanning. *Neurosurgery* 6: 1-9, 1980.
- 27) Fisher LA, Kikkawa DO, River JE, et al: Stimulation of noradrenergic sympathetic outflow by calcitonin gene-related peptide. *Nature* 305: 534-536, 1983.
- 28) Flamm ES, Adams HP Jr, Beck DW, et al: Dose-escalation study of intravenous nicardipine in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 68: 393-4000, 1988.
- 29) Gibbins IL, Bradyden JE, Bevan JA: Perivascular nerves with immunoreactivity to vasoactive intestinal polypeptide in cephalic arteries of the cat: Distribution, possible origins and functional implications. *Neuroscience* 13: 1327-1346, 1984.
- 30) Gioia AE, White RP, Bakhtian B, et al: Evaluation of the efficacy of intrathecal nimodipine in canine models of chronic cerebral vasospasm. *J Neurosurg* 62: 721-728, 1985.
- 31) Girgis SI, MacDonald DWR, Stevenson JC, et al: Calcitonin gene-related peptide: potent vasodilator and major products of calcitonin gene. *Lancet* 2: 14-16, 1985.
- 32) Grace GC, Dusting GJ, Kemp BE, et al: Endothelium and vasodilator action of rat calcitonin gene-related peptide (CGRP). *Br J Pharmacol* 91: 729-733, 1987.
- 33) Greenberg B, Rhoden K, Branes P: Calcitonin gene-related peptide is a potent non-endothelium dependent inhibitor of coronary vasomotor tone. *Br J Pharmacol* 92: 789-794, 1987.
- 34) Grotenhuis JA, Bettag W, Fiebach BJO: Intracarotid slow bolus injection of nimodipine during angiography for treatment of cerebral vasospasm after SAH. A preliminary report. *J Neurosurg* 61: 231-240, 1984.
- 35) 半田 肇: 脳血管攣縮の発生機転. *脳卒中* 7: 453-460, 1985.
- 36) 半田 寛: 脳血管攣縮の発生機序に関する実験的研究—特に新鮮ヒト脳動脈の収縮性および、クモ膜下出血後の血管反応性の変化について—*日外宝* 56: 124-137, 1987.
- 37) Hanko J, Hardebo JE, Kahrstorm J, et al: Calcitonin gene-related peptide is present in mammalian cerebrovascular nerve fibers and dilates pial and peripheral arteries. *Neurosci Lett* 57: 91-95, 1985.
- 38) Hara H, Hamill GS, Jacobowitz DM: Origins of cholinergic nerves to the rat major cerebral arteries: coexistence with vasoactive intestinal polypeptide. *Brain Res Bull* 14: 179-188, 1985.
- 39) Hongo K, Kassel NF, Nakagomi T, et al: Subarachnoid hemorrhage inhibition of endothelium-derived relaxing factor in rabbit basilar artery. *J Neurosurg* 69: 247-253, 1988.
- 40) Hongo K, Tsukahara T, Kassel NF, et al: Effect of subarachnoid hemorrhage on calcitonin gene-related peptide-induced relaxation in rabbit basilar artery. *Stroke* 20: 100-104, 1989.
- 41) Itoh T, Sasaguri T, Kassel NF, et al: Mechanisms

- of vasodilation induced by vasoactive intestinal polypeptide in rabbit mesenteric artery. *Am J Physiol* 249 (Heart Circ Physiol): H231-H240, 1985.
- 42) Iwayama T, Furness B, Burnstock G: Dual adrenergic and cholinergic innervation of the cerebral arteries of the rat. An ultrastructural study. *Circ Res* 26: 635-646, 1970.
 - 43) Kassel H, Sasaki T, Colohan ART, et al: Cerebral vasospasm following aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 16:562-572, 1985.
 - 44) Kawasaki H, Takasaki K, Saito A, et al: Calcitonin gene-related peptide acts as novel vasodilator neurotransmitter in mesenteric resistance vessels of the rat. *Nature* 335: 164-167, 1988.
 - 45) Kline L, Pang P: Calcitonin gene-related peptide relaxed rat tail artery helical strips in vitro in an intracellular calcium-dependent manner. *Eur J Pharmacol* 150: 233-238, 1988.
 - 46) Kubota M, Moseley JM, Butera L, et al: Calcitonin gene-related peptide stimulates cyclic AMP formation in rat aortic smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 132: 88-94, 1985.
 - 47) Larsson L-I, Edvinsson L, Fahrenkrug J, et al: Immunohistochemical localization of a vasodilatory polypeptide (VIP) in cerebrovascular nerves. *Brain Res* 113: 400-404, 1976.
 - 48) Lee TJJ, Saito A, Berezin I: Vasoactive intestinal polypeptide-like substance: The potential transmitter for cerebral vasodilation. *Science* 224: 898-901, 1984.
 - 49) Lenz HJ, Mortrud MT, Rivier JE, et al: Calcitonin gene-related peptide inhibits basal, pentagastrin, histamine, and bethanecol stimulated gastric acid secretion *Gut* 26: 550-555, 1985.
 - 50) Lewis PJ, Weir BKA, Nosko MG, et al: Intrathecal nimodipine therapy in a primate model of chronic cerebral vasospasm. *Neurosurgery* 22: 492-500, 1988.
 - 51) Linnik MD, Sakas DE, Uhl GR, et al: Subarachnoid blood and headache: Altered trigeminal tachykinin gene expression. *Ann Neurol* 25: 179-184, 1989.
 - 52) Ljunggren B, Brandt L, Saveland H, et al: Outcome in 60 consecutive patients treated with early aneurysm operation and intravenous nimodipine. *J Neurosurg* 61: 864-873, 1984.
 - 53) Lobata RD, Marin J, Salas M, et al: Cerebrovascular reactivity to noradrenaline and serotonin following experimental subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 53: 477-479, 1980.
 - 54) Matsuyama T, Shiosaka S, Matsumoto M, et al: Overall distribution of vasoactive intestinal polypeptide-containing nerves on the wall of cerebral arteries: an immunohistochemical study using whole mounts. *Neuroscience* 10: 89-96, 1983.
 - 55) Mayberg MR, Houser OW, Sundt TM Jr: Ultrastructural changes in fine arteries endothelium following subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 48: 49-57, 1978.
 - 56) McCulloch J, Uddman R, Kingman TA, et al: Calcitonin gene-related peptide: Functional role in cerebrovascular regulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 83: 5731-5735, 1986.
 - 57) Mejia JA, Pernow J, von Holst H, et al: Effects of neuropeptide Y, calcitonin gene-related peptide, substance P and capsaicin on cerebral arteries in man and animals. *J Neurosurg* 69: 913-918, 1988.
 - 58) Nakagomi T, Kassel NF, Sasaki T, et al: Effects of subarachnoid hemorrhage on endothelium-dependent vasodilation. *J Neurosurg* 66: 915-923, 1987.
 - 59) Nosko M, Reir B, Krueger C, et al: Nimodipine and chronic vasospasm in monkeys: Part 1: Clinical and radiological findings. *Neurosurgery* 16: 129-136, 1985.
 - 60) Nozaki K, Kikuchi H, Mizuno N: Changes of calcitonin gene-related peptide (CGRP)-like immunoreactivity in cerebrovascular nerve fibers in the dog after experimentally produced subarachnoid hemorrhage (SAH). *Neurosci Lett* 102: 27-32, 1989.
 - 61) Nozaki K, Uemura Y, Okamoto S, et al: Relaxant effect of calcitonin gene-related peptide on cerebral arterial spasm induced by experimental subarachnoid hemorrhage in dogs. *J Neurosurg* (in press).
 - 62) Ohman J, Heiskanen O: Effect of nimodipine on the outcome of patients after aneurysmal subarachnoid hemorrhage and surgery. *J Neurosurg* 69: 683-686, 1988.
 - 63) Owman C, Hanko J, Hardebo JE, et al: Neuropeptides and classical autonomic transmitters in the cardiovascular system: Existence, coexistence, action, interaction. In *Neural Regulation and Cerebral Circulation*, edited by Owman C, et al, Amsterdam, Elsevier, 1986, pp. 299-331.
 - 64) Peterson JW, Bun T, Zervas NT: Plasma-borne vasoactivity and modulation by the endothelium as determinants of cerebrovascular tone: Possible role during cerebral vasospasm. In *Cerebrovascular Diseases, Fifteenth Research (Princeton) Conference* edited by Powers WJ, et al: New York, Raven Press, 1987, pp. 187-199.
 - 65) Petruk KC, West M, Mohr G, et al: Nimodipine treatment in poor-grade aneurysm patients. Results of a multicenter double-blind placebo-controlled trial. *J Neurosurg* 68: 505-517, 1988.

- 66) Philippon J, Grob R, Dagreou F, et al: Prevention of vasospasm in subarachnoid hemorrhage. A controlled study with nimodipine. *Acta Neurochir (Wien)* 82: 110-114, 1986.
- 67) Reasbeck PG, Burns SM, Shulks A: Calcitonin gene-related peptide: Enteric and cardiovascular effects in the dog. *Gastroenterology* 95: 966-971, 1988.
- 68) Saito A, Masaki T, Uchiyama Y, et al: Calcitonin gene-related peptide and vasodilator nerves in large cerebral arteries of cats. *J Pharmacol Exp Ther* 248: 455-462, 1988.
- 69) Saveland H, Lunggren B, Brandt L, et al: Delayed ischemic deterioration in patients with early aneurysm operation and intravenous nimodipine. *Neurosurgery* 18: 146-150, 1986.
- 70) Sharples NS, Thal LJ, Perlow MJ, et al: Vasoactive intestinal peptide in cerebral fluid. *Peptides* 5: 429-433, 1984.
- 71) Svendgaard NA, Edvinsson L: On the pathophysiology of cerebral vasospasm: Transmitter changes in perivascular sympathetic nerves, and increased pial artery sensitivity to norepinephrine and serotonin. In *Neurogenic Control of the Brain Circulation*, edited by Owman C and Edvinsson L, Oxford, Pergamon Press, 1977, p. 143.
- 72) Takayasu M, Suzuki Y, Shibuya M, et al: The effects of HA compound calcium antagonists on delayed cerebral vasospasm in dogs. *J Neurosurg* 65: 80-85, 1986.
- 73) Tanabe Y, Sakata K, Yamada H, et al: Cerebral vasospasm and ultrastructural changes in cerebral arteries wall An experimental study. *J Neurosurg* 49: 229-238, 1978.
- 74) Thom SMcG, Hughes AD, Goldberg P, et al: The actions of calcitonin gene-related peptide and vasoactive intestinal polypeptide as vasodilators in man in vivo and in vitro. *Br J Pharmacol* 24: 139-144, 1987.
- 75) Toda N, Ozaki T, Ohta T: Cerebrovascular sensitivity to vasoconstricting agents induced by SAH and vasospasm in dogs. *J Neurosurg* 46: 296-303, 1977.
- 76) Tsai S-H, Tew JM, McLean JH, et al: Cerebral arterial innervation by nerve fibers containing calcitonin gene-related peptide (CGRP): I. Distribution and origin of CGRP perivascular innervation in the rat. *J Comp Neurol* 271: 435-444, 1988.
- 77) Tsukahara T, Taniguchi T, Fujiwara M, et al: Biochemical characterization of alpha-adrenergic receptors in human cerebral arteries and the influence of subarachnoid hemorrhage. *J Cereb Blood Flow Metab* 5 (suppl): s425-s426, 1985.
- 78) Tsukahara T, Taniguchi T, Miwa S et al: Presynaptic and postsynaptic α_2 -adrenergic receptors in human cerebral arteries and their alteration after subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 19: 80-83, 1988.
- 79) Uddman R, Edvinsson L, Ekman R, et al: Innervation of the feline cerebral vasculature by nerve fibers containing calcitonin gene-related peptide: Trigeminal origin and co-existence with substance P. *Neurosci Lett* 62: 131-136, 1985.
- 80) 上村喜彦: クモ膜下出血後のイヌ脳動脈神経ペプチドの変化—脳血管攣縮との関連について—*日外宝* 56: 551-562, 1987.
- 81) Uemura Y, Sugimoto T, Okamoto S, et al: Changes of vasoactive intestinal polypeptide-like immunoreactivity in cerebrovascular nerve fibers after subarachnoid hemorrhage: and experimental study in the dog. *Neurosci Lett* 71: 137-141, 1986.
- 82) Uemura Y, Sugimoto T, Okamoto S, et al: Changes of neuropeptide immunoreactivity in cerebrovascular nerve fibers after experimentally produced SAH. Immunohistochemical study in the dog. *J Neurosurg* 66: 741-747, 1987.
- 83) Varsos VG, Liszczak TM, Han DH, et al: Delayed cerebral vasospasm is not reversible by aminophylline, nifedipine, or papaverine in a "two-hemorrhage" canine model. *J neurosurg* 58: 11-17, 1983.
- 84) Wanaka A, Matsuyama T, Yoneda S, et al: Origins and distribution of calcitonin gene-related peptide-containing nerve in the wall of the cerebral arteries of the guinea pig with special reference to the coexistence with substance P. *Brain Res* 369: 185-192, 1986.
- 85) Wellum GR, Peterson JW, Zervas NT: The relevance in vitro smooth muscle experiments to cerebral vasospasm. *Stroke* 16: 573-581, 1985.
- 86) Wilkins RH: Attempts at prevention or treatment of intracranial arterial spasm: An update. *Neurosurgery* 18: 808-825, 1986.
- 87) Wimalawansa SJ, MacIntyre I: The presence of calcitonin gene-related peptide in human cerebrospinal fluid. *Brain* 110: 1647-1655, 1987.
- 88) Yamamoto K, Matsuyama T, Shiosaka S, et al: Overall distribution of substance P-containing nerves in the wall of the cerebral arteries of the guinea pig and its origins. *J Comp Neurol* 215: 421-426, 1983.
- 89) Zabramski J, Spetzler RF, Bonstelle C: Chronic cerebral vasospasm: Effect of calcium antagonists. *Neurosurgery* 18: 129-135, 1986.
- 90) Zaidi M, PJR, Girgis SI, et al: Circulating CGRP comes from the perivascular nerves. *Eur J Pharmacol* 117: 283-284, 1985.