

綜 説

血管反応性の新しい薬理実験法の確立と展開
—カニューレ挿入法—

千葉 茂俊

信州大学医学部薬理学教室

Establishment of a New Isolated Vessel Preparation
for Pharmacological Analysis
—Cannula Inserting Method—

Shigetoshi CHIBA

Department of Pharmacology, Shinshu University School of Medicine

Key words: cannula inserting method, isolated vessel, perfused vessel preparation

カニューレ挿入法, 摘出血管, 灌流血管標本

I はじめに

摘出血管の反応性の生理薬理学的研究は膨大である。実質的には1960年のBohrら¹⁾によって家兎の脳動脈および腸間膜動脈の摘出螺旋状標本による薬物反応の相違を示した論文を代表としてあげることができよう。その後、主として螺旋状標本, リング状標本と灌流標本の三種の摘出血管標本が使用され, 種々の動物ならびに各種臓器からの摘出標本を用いた薬理学的実験が行われてきた。それらの研究成果は各種血管の機能的な性格, 特に受容体の種類, そのサブタイプの有無や分布密度ならびに血管周囲神経からの化学伝達物質遊離の機構などに相次いで報告されている。

信州大学医学部薬理学教室において摘出血管の研究を開始したのは血液灌流標本を用いたものが最初であった²⁾。次いで, 1983年に脳神経外科学教室から研究に来ていた本郷一博氏らにより考案されたいわゆる「カニューレ挿入法」³⁾が, やはり脳神経外科からの辻 勉氏らによって改良され⁴⁾, 一連の摘出血管の人工栄養液による灌流実験方法として確立された。この方法は, 次々に訪れた若い共同研究者の努力によって発展して, 次第に世界に認められるようになった。その理由は, 単純であるがユニークな方法であり, 少量

の薬液(活性物質)により血管反応を鋭敏にしかも繰り返して観察できることによる。その様にしてカニューレ挿入法は信大医学部薬理学方式として確立された。本文では, この方法を紹介するとともにこれまでの研究成果を総括したい。

II カニューレ挿入法による血管標本

図1はカニューレ挿入法の実験装置の模式図である。原理は単純であり, 一言で言えば, 「各種動物から摘出した円筒状血管の内に先盲で側孔を有するスチール製カニューレを挿入し血管内腔を定流量灌流する方法」である。摘出血管に分枝のある場合は分枝点で結紮する。図2に血管とカニューレの標本模式図を示す。この方法では比較的少量の定流量灌流で生体位に近似の灌流圧(50~80mmHg)を維持でき, 灌流しているので血管反応は一過性で再現性がよい等の利点がある。なお, 薬液を持続注入することで長期的な反応も観察することができる。方法の解説はすでに報告している⁵⁾ので参照していただきたい。血管周囲神経への経壁電気刺激により神経からの化学伝達物質遊離を促進して, 神経—筋伝達機構の薬理学的分析を行う場合は, 血管標本に装着した電極を灌流液槽の水面よりやや上部に固定し, さらに全体を蠟紙でラップして37°Cの高温を保ちながら実験を行っている。カニューレは注射針サイズであり, 27ゲージ(外径0.4mm)が現

別刷請求先: 千葉 茂俊 〒390-8621

松本市旭3-1-1 信州大学医学部薬理学

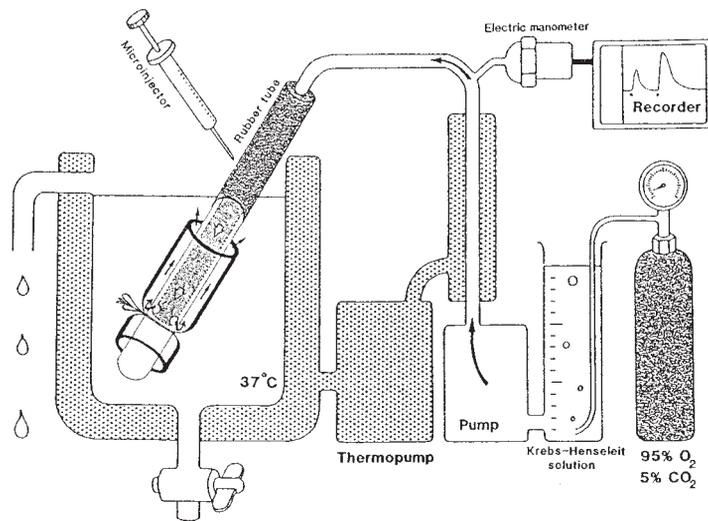


図1 カニューレ挿入法（信大薬理方式）摘出血管灌流標本模式図
 摘出血管はポンプを用いて37°Cの人口栄養液（クレープス・ヘンゼライト液）を定流量灌流している。血管反応は灌流圧の変化によって記録した。

III 自律神経作動薬の血管反応の研究

各臓器において、アドレナリン作動薬に対する摘出血管の反応性を検討しているが、イヌ腸間膜動脈を用いた成績では、この動脈には機能的アドレナリン作動性 α_1 -受容体は豊富に存在するが α_2 受容体はほとんどないことを報告した⁶⁾。イヌ脾動脈においても同様に α_1 受容体は豊富に存在するが α_2 受容体はほとんどないことを示した⁷⁾。イヌ中央耳介動脈では α_1 および α_2 受容体の両者が豊富に存在することを見出した⁸⁾。すなわち、 α_1 受容体アゴニストのフェニレフリンおよび α_2 アゴニストのクロニジンとザイラジン、さらに α_1 ならびに α_2 アゴニストであるノルアドレナリン、これら4種のアゴニストに対する血管収縮反応の用量-反応曲線には有意差がないことが示された。図3はその成績を示している。

イヌおよびサルの脳底動脈には α 受容体がきわめて少ないこと⁹⁾、イヌ、サル、ヒトの内外眼動脈および毛様体動脈では α_1 受容体が豊富で α_2 受容体がほとんどないことも報告した¹⁰⁾⁻¹²⁾。イヌ舌動脈では α_1 受容体は優位に存在するが α_2 受容体の存在も示した¹³⁾¹⁴⁾。さらにサルにおいてはイヌより α_2 受容体が多いことを示した¹⁵⁾。イヌ下顎骨歯槽動脈では α_1 受容体が主であるが α_2 受容体も存在することを報告し、その受容体サブタイプは α_{1A} が優位であり、 α_{1B} 受容体は少なく、 α_{1D} はないことを示した¹⁶⁾。イヌやサルの大腿動脈においても α_1 受容体が豊富で α_2 受容体がほとんどないこと¹⁷⁾、大腿動脈から骨格筋へ分枝している血

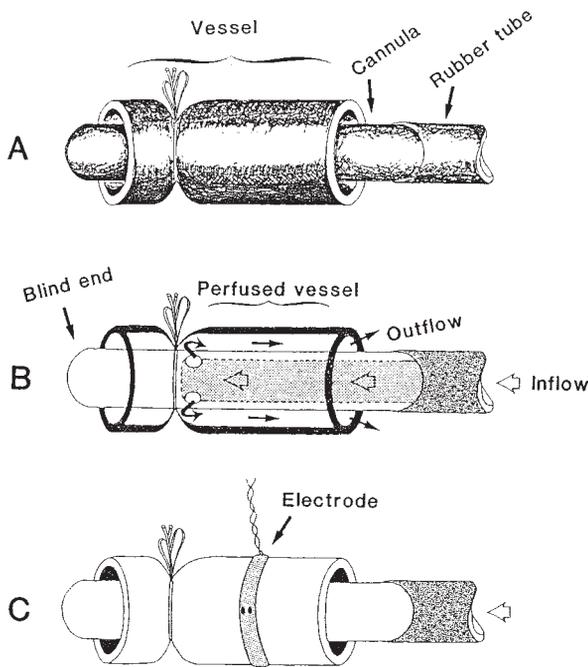


図2 摘出血管のカニューレ挿入法標本図
 A 摘出血管標本外観。
 B カニューレの構造と灌流液の流れ。
 C 血管周囲神経電気刺激のための電極装着図。

在までに使用した最も小さいサイズのカニューレである。血管を摘出した後、摘出血管の内径よりやや細かいカニューレを選び、内皮を損傷しないように慎重に血管内腔にカニューレを挿入し先端を固定する。内皮細胞の損傷の有無は ACh の投与で容易に確認できる。

管もほぼ同様な α 受容体分布であることを示した¹⁸⁾。またイヌ甲状腺動脈でも α_1 受容体が豊富であるが α_2 受容体はほとんどないことを明らかにした¹⁹⁾。

イヌ冠状動脈では α 受容体は α_1 のみであることを示し、それはサル冠状動脈でも同様であった²⁰⁾。またイヌ冠状動脈の太い血管では β_1 受容体が豊富であるが、細い動脈には β_2 受容体も相対的に多いことを示した²¹⁾。サル冠状動脈では ACh による血管拡張反応は内皮のムスカリン作動性 M_3 受容体を介するものであるが、 M_1 受容体も一部関与していることと、ACh による収縮反応は血管平滑筋の M_3 受容体を介するものであることを示した²²⁾。

家兎の総頸動脈、大腿動脈および腎動脈において α_2 受容体はほとんどなく、 α_1 受容体サブタイプでは α_{1A} であることを報告した²³⁾²⁴⁾。また家兎総頸動脈では β 受容体が非常に少ないことを報告した²³⁾²⁵⁾。ヒトの臍帯動脈では機能的アドレナリン作動性 α 受容体はほとんど存在しないことと、ACh の投与によって強い血管収縮反応が引き起こされることを報告した²⁶⁾。ラット総頸動脈では α_1 受容体が豊富に存在し、 α_2 受容体がほとんどないことと²⁷⁾、その受容体サブタイプは α_{1A} が最も多く存在し、 α_{1D} 受容体サブタイプ

もわずかに存在するが、 α_{1B} 受容体はないことを示した²⁸⁾。

次に、数は多くはないがカニューレ挿入法を用いた摘出静脈の実験成績も報告している。イヌ大腿静脈では大腿動脈とは異なり、 α_1 受容体および α_2 受容体の存在を示した¹⁷⁾²⁹⁾。サルの手の中指骨静脈においても、 α_1 および α_2 受容体の存在を報告した³⁰⁾。特異的なものとしては、イヌ摘出肺静脈を用いた実験である。新鮮な血管標本ではアドレナリン作動性の血管反応として α_1 受容体を介する反応が顕著であり、 α_2 受容体を介する反応はほとんど観察されない。しかし、標本の灌流時間が10時間以上長期に及ぶと α_2 受容体アゴニストによる明らかに強い血管収縮反応が観察される。この作用は α_1 受容体アンタゴニストによっては影響を受けないが、 α_2 アンタゴニストによって選択的に拮抗されるので α_2 受容体を介した反応であることは明らかである。この機構はきわめて特異なものであるが詳細は今後の検討課題である³¹⁾。

サルの顔面静脈には α_1 受容体は存在するが豊富ではなく、一方 α_2 受容体はほとんどない。しかし、豊富なアドレナリン作動性 β 受容体が存在する。たとえばノルアドレナリンの投与で血管収縮は惹起されな

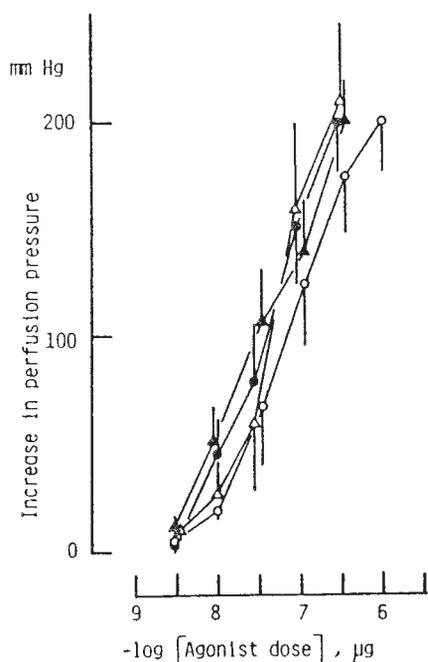


図3 イヌ中央耳動脈における α 受容体アゴニストの用量-反応曲線

○フェニレフリン (n=14), △キシラジン (n=12), ▲クロニジン (n=13) および●ノルアドレナリン (n=13)。

値は平均値±標準誤差 (文献8より引用)。

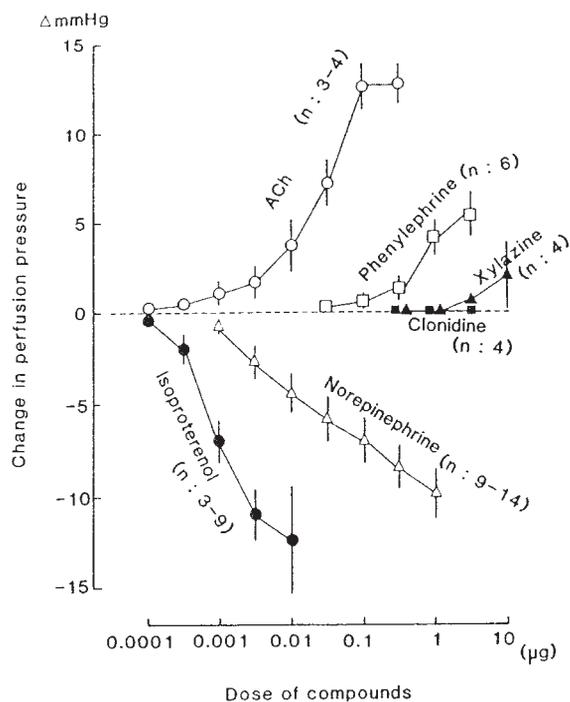


図4 サル顔面静脈における ACh, フェニレフリン, キシラジン, クロニジン, イソプロテレノールおよびノルアドレナリンの用量-反応曲線 (文献33より引用)

いが、顕著な血管拡張反応のみが出現する³²⁾。一方この静脈においては、AChの投与では血管拡張は示されず、強い血管収縮反応が示された。この収縮反応はムスカリン作動性 M₃受容体サブタイプを介する反応であることを報告した³³⁾。図4はサル顔面動脈に投与した各種自律神経作動薬の血管反応をまとめたものである³³⁾。

イヌ舌動脈で、ムスカリン作動性血管拡張反応は内皮の内皮由来血管拡張因子 (EDRF) を介するものであるが、その受容体サブタイプは主に M₃ であり、一部 M₁ が関与することも報告している³⁴⁾。

IV 血管内皮剝離標本による研究

Furchgott と Zawadzki³⁵⁾ は摘出血管の内皮を機械的に擦過剝離することによって ACh の反応が弛緩から反転して収縮となることを示し、内皮細胞の存在が血管反応に重要な役割を演じていることを証明した。彼らのこの発見により内皮細胞に存在する種々の血管張力の調節因子が明らかとなり、血管生理薬理学の発展に貢献したことは間違いない。しかし、内皮細胞の剝離に限って言えば、コントロールの血管反応と内皮剝離血管での血管反応を同一血管で正確に観察できる方法としてわれわれが開発したカニューレ挿入法を用いた実験方法は現在最も優れているといえる。理由として、コントロールの薬物反応を観察した後灌流液に適量のサポニン溶液を単回用いることにより、血管内皮細胞の剝離を容易にできるからである³⁶⁾。サポニンの投与量の決定に当たっては、伊藤信夫氏 (当時第1病理学助教授) に内皮細胞の有無ならびに他の組織の損傷の有無を光学および電子顕微鏡レベルで組織学的

に検討していただいた。その結果、適用量のサポニンは内皮のみを選択的に除去することが確認された。

われわれが明らかにした成績としては、イヌ腸間膜動脈において塩化カルシウムの収縮反応が内皮剝離によって有意に増強すること、また塩化カリウムの反応も同様の成績であった。内皮細胞が Ca イオンの流入を抑制的に調節していることが示唆された。イヌとサルの大腿動脈においても内皮剝離すると塩化カリウムの反応は有意に増強された³⁰⁾。イヌ脳底動脈では内皮剝離により ACh の血管収縮反応が増強されることを報告している³⁷⁾。しかしイヌ冠状動脈では内皮剝離により ACh の弛緩作用は抑制されるが、収縮作用が増強されることはなかった³⁸⁾。血管平滑筋に分布するムスカリン受容体の濃淡の差がこの様な結果を導くものと思われる。イヌ内頸動脈においてオキシヘモグロビンを前処置して内皮の機能を抑制しておくこと、ACh の血管拡張反応は抑制されることも報告している³⁹⁾⁴⁰⁾。実験例を図5に示しているが、これはサル冠状動脈における ACh の拡張反応がサポニン投与により、同一標本でありながら収縮に転じている²²⁾。

V 特異的な現象を薬理的に分析した研究

新しい方法による実験では予期しない結果が数多く発見される。視点を変えて実験することの重要性は研究者にとって大切なポイントであろう。カニューレ挿入法により見つけられた現象を薬理的に分析した例を若干記述する。

交感神経作動物質のチラミンがイヌ中央耳動脈できわめて大きい反応を示したこと⁴¹⁾、同動脈で冷所 (4°C) 保存によりヒスタミンの収縮反応が増強され

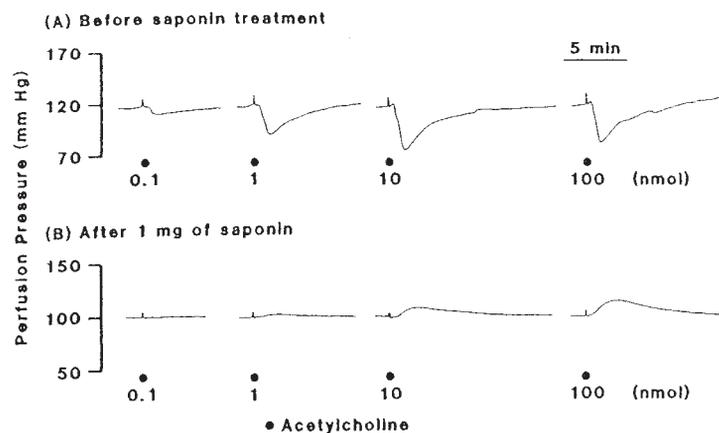


図5 サル冠状動脈の内皮剝離と ACh の反応
(A)コントロールの ACh の反応, (B)サポニン 1 mg の投与による内皮剝離血管における ACh の作用 (文献22より引用)。

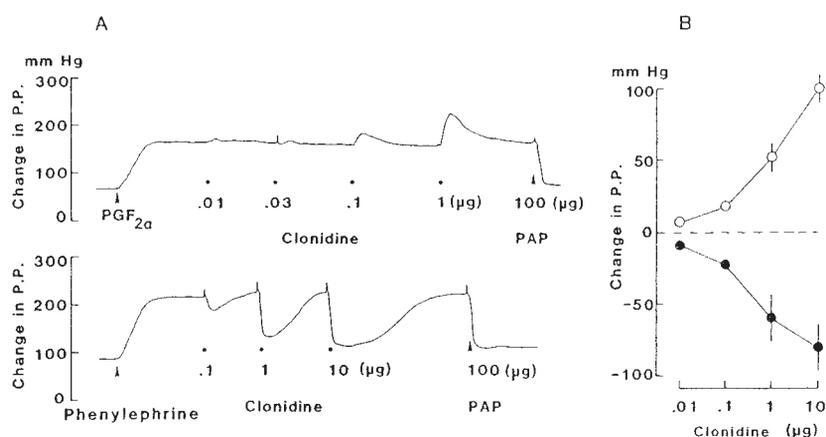


図6 イヌ舌動脈におけるクロニジン (α_2 受容体アゴニスト) の反応
 A上：PGF_{2α}で収縮した血管に対するクロニジンの作用，A下：フェニレフリンで前収縮した血管に対するクロニジンの作用，B：○PGF_{2α}収縮時のクロニジンの作用，●フェニレフリン収縮時のクロニジンの作用（文献15より引用）。

たこと⁴²⁾、バルビツレート系薬剤が脳底動脈を収縮させること⁴³⁾、アデノシンがサル冠状動脈で収縮を引き起こす機構にプロスタグランジンの関与があること、アドレナリン作動性 α_1 受容体を介する血管反応が α_2 受容体アゴニストによって特異的に拮抗すること⁴⁴⁾ 等である。 α_1 と α_2 受容体の相互作用についてはラット総頸動脈⁴⁴⁾、イヌおよびサルの舌動脈で報告した¹⁵⁾。図6はイヌ舌動脈における実験のまとめであるが、PGF_{2α}で前収縮させている標本においては α_2 受容体アゴニストのクロニジンは全く拡張作用を示さずむしろ収縮作用を示している。一方、 α_1 受容体アゴニストであるフェニレフリンにより前収縮させた標本においては、クロニジンは用量依存的な拡張反応を示した¹⁵⁾。これらは典型的な α_1 – α_2 受容体相互作用と呼べるものといえる。

別の相互作用の例であるが、家兎総頸動脈において α_1 アゴニストで前収縮させた血管では各種 β アゴニストは血管拡張作用を示すが、PGF_{2α}で前収縮させた血管では何ら作用を示さないことを報告した。すなわちこの血管には β 受容体はほとんどないが、 α_1 受容体の活性化に対して β アゴニストが選択的に拮抗すると結論した²⁵⁾。

VI 血管周囲神経電気刺激による研究

ラットの胸部大動脈などの例外を除いて、哺乳動物の血管は自律神経線維が濃密に分布する組織である。したがって、血管周囲に電極を装着して適切な条件下に電気刺激を行えば血管平滑筋を直接刺激することなく選択的に血管周囲神経を刺激することができる。

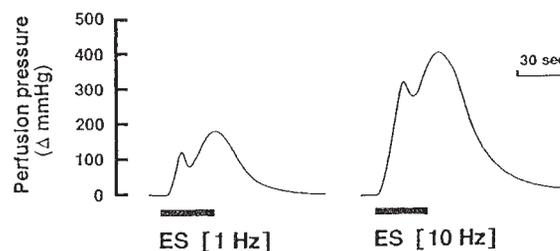


図7 イヌ脾動脈の血管周囲神経電気刺激 (ES) (低、高頻度) による二峰性収縮反応 (10V, 1 ms, 30s)

われわれのカニューレ挿入法においても、血管周囲神経電気刺激 (PNS) を行って遊離される内因性化学伝達物質の作用についての研究を行ってきた。まずイヌ腸間膜動脈の PNS により引き起こされる収縮反応はテトロドトキシン処置で完全に抑制されるが、アドレナリン作動性 α_1 受容体アンタゴニスト処置では一部抑制されない部分が残る、ノルアドレナリン以外の伝達物質の存在を示した⁴⁵⁾。イヌ脾動脈を用いた実験では低頻度 (1 Hz) の PNS の収縮反応は α_1 受容体アンタゴニスト前処置により、むしろ増強されるが、プリン作動性 P_{2X} 受容体アンタゴニスト前処置により抑制される⁴⁶⁾。また高頻度 (10Hz) PNS による反応は、その逆であり α_1 アンタゴニストで強く抑制され、抑制されず残った反応は P_{2X} アンタゴニストで抑制されることが示された⁴⁶⁾。これらの成績は低頻度の PNS では ATP が遊離され、高頻度 PNS ではノルアドレナリンと ATP が遊離されることを示す。イヌ中央耳介動脈においても同様の成績が得られた⁴⁷⁾。その後、イヌ脾動脈標本を用いて、PNS により引き起こされる反応を詳細に分析し、PNS によって急速な収

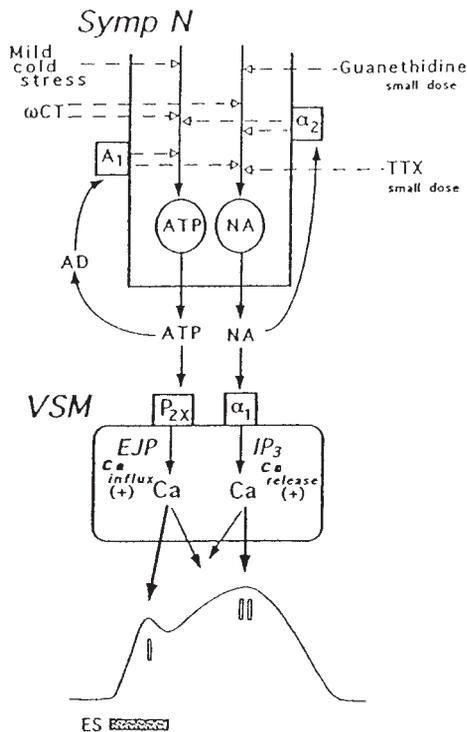


図8 交感神経 (Symp N) 電気刺激により引き起こされる二峰性血管収縮反応機構の模式図 (文献54より引用)
破線矢印は抑制効果, 実線矢印は促進効果。

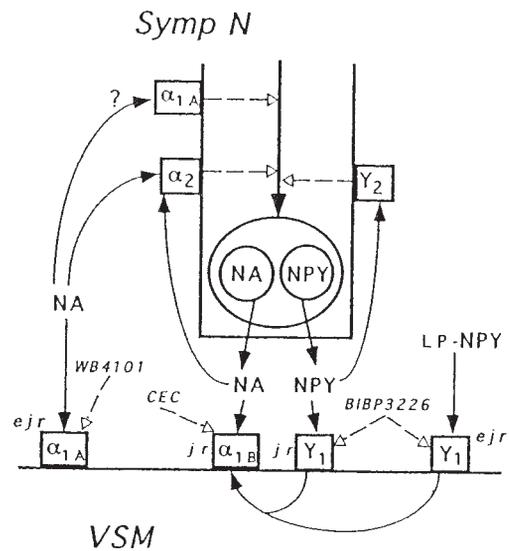


図9 交感神経末端におけるノルアドレナリン (NA) と NPY の遊離機構, ならびに神経筋接合部および非接合部の異なるアドレナリン作動性受容体サブタイプ
← 活性化, ←--- 抑制 (文献56より引用)。
ejr: 非接合部内受容体, jr: 接合部受容体。

縮反応 (第1峰) とやや遅い持続性収縮反応 (第2峰) という二峰性血管収縮反応が引き起こされることを確認した⁴⁸⁾。

図7はイヌ脾動脈のPNSによる二峰性血管収縮反応の模式図である。第1峰は主にプリン作動性の反応であり, 第2峰は主に α_1 アドレナリン作動性反応であること, それらの伝達物質が相互に作用していることを薬理的な分析により明らかにして報告している⁴⁸⁾。またテトロドトキシンは少量では第2峰を強く抑制すること⁴⁹⁾, グアネシジンも少量では第2峰のみ抑制することを報告した⁵⁰⁾。ATPとノルアドレナリンの遊離機構は細かい点で異なっていることを示しているが, 前シナプスにおける伝達物質の貯蔵部位の相違や分泌 (遊離) 様式の相違などについてさらに詳細な検討が必要である。

電気刺激条件を特定すればPNSによりプリン作動性伝達物質の遊離を選択的に起こすことも示した⁵¹⁾。また冷所保存 (4°C, 4日間) を行った血管ではPNSによる第1峰の反応のみ抑制されること, すなわちプリン作動性伝達物質遊離が選択的に抑制されることも

報告した⁵²⁾。第1峰と第2峰を同程度に抑制するものとしては大量のテトロドトキシン⁴⁹⁾やNタイプCa拮抗薬の ω コノトキシンがあげられる⁵³⁾。これらPNSによる神経終末からのATP遊離機構の内容は綜説としてまとめている⁵⁴⁾。図8はPNS (ES) によって引き起こされる二峰性血管収縮反応の機構をノルアドレナリンとATPに絞って模式的に示したものである。

現在, 交感神経末端から遊離される物質のうち主なものはノルアドレナリン, ATPおよびニューロペプチドY (NPY) の三物質が考えられている。われわれはイヌ脾動脈を用いてNPYの役割についてかなり詳細な実験を行っている。NPYは神経側 (前シナプス) ではNPY Y_2 受容体を介して神経伝達物質の遊離を抑制するが, 後シナプス側ではNPY Y_1 受容体を介してアドレナリン作動性 α_1 受容体の活性を増強することを見出した⁵⁵⁾。脾動脈のPNSによって引き起こされる二峰性反応の薬理的な分析によって得られたわれわれの成績を基に第2峰の収縮機構をNPYの役割を示しながら模式的に示したのが図9である⁵⁶⁾。

PNS によって生ずる α_1 受容体を介する反応は主に α_{1B} 受容体サブタイプを介して引き起こされ、 α_{1A} サブタイプの関与のないことも判明した。一方、外部から投与されたノルアドレナリンの収縮反応は α_{1A} サブタイプを介することも示した⁵⁶⁾。その後の研究ではシナプス接合部内には α_{1B} と α_{1D} 受容体が存在し、シナプス外の血管平滑筋には α_{1A} 受容体サブタイプが存在する可能性を機能的実験で報告した⁵⁷⁾⁵⁸⁾。さらに NPY Y_1 受容体の活性化で生ずるアドレナリン作動性反応は α_{1B} 受容体を介するという成績も得られている (投稿中)。

他に血管周囲神経の電気刺激によらない神経伝達物質の遊離機構に関する実験も行っており、腸間膜動脈を用いたアセトアルデヒドによるノルアドレナリン遊離機構に関する論文では、アセトアルデヒド誘発ノルアドレナリン遊離はチラミン様作用でもなくニコチン様作用でもない別の遊離メカニズムを考えなくてはならないとするもので、評価の高い論文となった⁵⁹⁾。アセトアルデヒドの反応にはタキヒラキシスが存在するが、それがチラミンの投与で劇的に回復する。現在もその詳細なメカニズムの研究を進めている。

Ⅶ その他、生理活性物質を用いた研究

薬理学における生理活性物質の研究は留まる所を知らず、いわゆるオータコイドと呼ばれる物質の血管作用に関するわれわれの研究は多数に上りここでは紹介しきれない。ヒスタミン⁶⁰⁾⁶¹⁾、セロトニン⁶²⁾⁶³⁾、プリン作動性物質^{64)–66)}、等の論文は一部を挙げるにとどめるが、当教室が取り組んだ研究の中でいずれ詳細な薬理学的分析の必要を感じたものとしてはバゾプレシン⁶⁷⁾、ブラジキニン⁶⁸⁾、エンドセリン⁶⁹⁾等の活性物質がある。これら生体内活性物質は身体のほとんど全ての組織に広く分布しているし、生物体内における活性効力が強力でありながら循環動態に及ぼす生理的役割の本質はいまだ不明といわざるを得ないからである。

Ⅷ おわりに

信大医学部薬理学教室において、血管の薬理学的研究を始めて約20年にもなる。カニューレ挿入法という信大薬理方式の血管標本を作製して、その研究成果が徐々に世界のジャーナルに掲載され、いつの間にか心臓の研究とともに2本の柱となった。今回は研究の流れを綜説としてまとめてみたが、書きながら当教室で

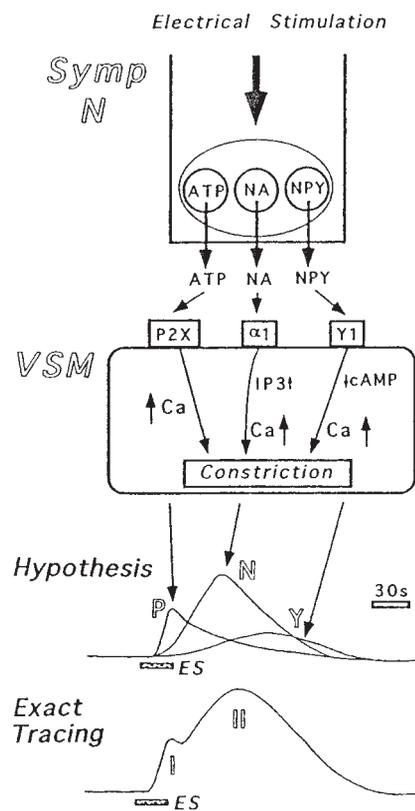


図10 交感神経の主な伝達物質ノルアドレナリン (NA)、ATP および NPY 遊離と血管収縮様式の模式図

Symp N: 交感神経, VSM: 血管平滑筋, P: プリン作動性, N: ノルアドレナリン作動性, Y: NPY 作動性, ES: 血管周囲神経刺激。

の数多くの若い研究者 (当時の) との討論が蘇ってきた。また多くの未解決の課題も次々と頭をよぎりなかなか筆が進まなかった。その中では、やはり最近になって精力的に力を注いだ楊 小平助手の脾動脈を用いた実験成果はノルアドレナリン、ATP および NPY という三種の化学伝達物質が内因性に、また複雑に相互作用を及ぼすことが明らかとなり、薬理学的分析の面白さを十分に発揮できたものとして印象深い。最後の図10はその成果のまとめとして交感神経末端からの伝達物質三種類の関係を模式図として示す。

これまでの血管研究の全体の中で中心的な役割を担っていたのは中根登紀男助教授である。さらに私の意図した実験に直接かわり、自らも研究にかかわった塚田美代子技官、ならびに血管研究にかかわった全ての諸氏に感謝したい。

文 献

- 1) Bohr DF, Goulet PL, Taquini AC : Direct tension recording from smooth muscle of resistance vessels from various organs. *Angiology* 12 : 478-485, 1961
- 2) Chiba S, Ohhashi T, Azuma T : Comparison of the vascular effects of adenosine, AMP, ADP and ATP on isolated blood-perfused internal and external carotid arteries of dogs. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 7 : 195-198, 1980
- 3) Hongo K, Chiba S : A new method for measuring vascular responsiveness of relatively larger arteries of dogs. *J Pharmacol Meth* 9 : 83-91, 1983
- 4) Tsuji T, Chiba S : Potentiating effect of methysergide on norepinephrine-induced constriction of the isolated internal carotid artery of the dog. *Jpn J Pharmacol* 34 : 95-100, 1984
- 5) 千葉茂俊 : 摘出血管標本の灌流実験—カニューレ挿入法. *日薬理誌* 102 : 371-378, 1993
- 6) Chiba S, Tsukada M : Vasoconstrictor responses of isolated and perfused canine mesenteric arteries to alpha-adrenoceptor agonists. *Arch Intern Pharmacodyn Ther* 271 : 241-248, 1984
- 7) Ren L-M, Nakane T, Chiba S : Characteristics of the responses to vasoactive substances and to periarterially electrical stimulation. *Jpn J Pharmacol* 64 : 19-25, 1994
- 8) Ito T, Chiba S : Existence of two types of postjunctional alpha adrenoceptors in the isolated canine intermediate auricular artery. *J Pharmacol Exp Ther* 234 : 698-702, 1985
- 9) Tsuji T, Chiba S : α -Adrenoceptor mechanism in isolated, perfused canine and simian basilar arteries. *Asia Pacif J Pharmacol* 2 : 19-24, 1987
- 10) Ohkubo H, Chiba S : Pharmacological analysis of vasoconstriction of isolated canine ophthalmic and ciliary arteries to alpha-adrenoceptor agonists. *Exp Eye Res* 45 : 263-270, 1987
- 11) Ohkubo H, Chiba S : Responses of isolated canine ophthalmic and ciliary arteries to vasoactive substances. *Jpn J Ophthal* 31 : 627-634, 1987
- 12) Ohkubo H, Chiba S : Vascular reactivities of isolated and perfused human ciliary arteries. *Jpn J Pharmacol* 32 : 450-456, 1988
- 13) Skrbic R, Chiba S : Pharmacological features of vascular responses of isolated dog and monkey lingual arteries to vasoactive substances. *Jpn J Pharmacol* 57 : 99-107, 1991
- 14) Skrbic R, Chiba S : Pharmacological properties of α_1 -adrenoceptor-mediated vasoconstrictions in dog and monkey lingual arteries : Evidence for subtypes of α_1 -adrenoceptors. *Heart Vessels* 7 : 82-90, 1992
- 15) Skrbic R, Chiba S : Dominant antagonistic action of α_2 -adrenoceptor agonists on α_1 -agonist-induced vasoconstriction. *Eur J Pharmacol* 230 : 131-137, 1993
- 16) Taguchi Y, Yang X-P, Chiba S : Existence of α_{1A} and α_{1B} -adrenoceptor subtypes in canine mandibular alveolar arteries. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 28 : 716-720, 2001
- 17) Kawai K, Chiba S : Vascular responses of isolated canine and simian femoral arteries and veins to α -adrenoceptor agonists. *Arch Intern Pharmacodyn Ther* 284 : 201-211, 1986
- 18) Sinanovic O, Chiba S : Responsiveness of skeletal muscle before and after cold storage. *Arch Intern Pharmacodyn Ther* 287 : 146-156, 1987
- 19) Chiba S, Tsukada M : Pharmacological analysis of reactivity of isolated and perfused arterial vasculature of the dog trachea. *Asia Pacif J Pharmacol* 4 : 25-31, 1989
- 20) Nakane Y, Chiba S : Postjunctional α -adrenoceptor subtypes in isolated and perfused epicardial coronary arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 10 : 651-657, 1987
- 21) Nakane Y, Tsujimoto G, Hashimoto K, Chiba S : Beta adrenoceptors in the canine large coronary arteries : Beta-1 adrenoceptors predominate in vasodilation. *J Pharmacol Exp Ther* 245 : 936-943, 1988
- 22) Ren L-M, Nakane T, Chiba S : Muscarinic receptor subtypes mediating vasodilation and vasoconstriction in

- isolated, perfused simian coronary artery. *J Cardiovasc Pharmacol* 22 : 841-846, 1993
- 23) Fujiwara T, Chiba S : Alterations of vascular α_1 -adrenergic contractile response in hypercholesterolemic rabbit common carotid arteries. *J Cardiovasc Pharmacol* 22 : 58-64, 1993
 - 24) Fujiwara T, Chiba S : Vascular responsiveness of rabbit common carotid, renal and femoral arteries to α -adrenoceptor agonists. *Jpn J Pharmacol* 61 : 171-176, 1983
 - 25) Fujiwara T, Chiba S : Vascular alpha-1 antagonistic and agonistic effects of beta adrenoceptor agonists in rabbit common carotid arteries. *J Pharmacol Exp Ther* 263 : 457-461, 1992
 - 26) Yoshikawa F, Chiba S : Pharmacological analysis of vasoconstrictor responses of isolated and perfused human umbilical arteries. *Heart Vessels* 6 : 197-202, 1991
 - 27) Chiba S, Tsukada M : Pharmacological features of vascular responses of isolated rat common carotid arteries to vasoactive substances revealed by the cannula inserting method. *Tohoku J Exp Med* 157 : 199-204, 1989
 - 28) Chiba S, Tsukada M : Existence of functional α_{1A} - and α_{1D} - but no α_{1B} -adrenoceptor subtypes in rat common carotid arteries. *Jpn J Pharmacol* 88 : 146-150, 2002
 - 29) Chiba S, Kawai K : Responses of isolated canine and simian femoral arteries and veins to phenylephrine, xylazine and KCl after removal of endothelium. *J Auton Pharmacol* 7 : 3-10, 1987
 - 30) Ito T, Chiba S : Vascular responsiveness of isolated and perfused simian metacarpal veins to several vasoconstrictor substances. *Jpn J Pharmacol* 44 : 358-360, 1987
 - 31) Haniuda M, Itoh N, Chiba S : Time-dependent enhancement of xylazine-induced alpha-2 adrenoceptor-mediated vasoconstriction in isolated and perfused canine pulmonary veins. *J Pharmacol Exp Ther* 249 : 340-347, 1989
 - 32) Chiba S, Tsukada M : Dominant vasodilator action of norepinephrine in isolated, non-precontracted simian facial vein. *Jpn J Pharmacol* 53 : 267-270, 1990
 - 33) Chiba S, Tsukada M : Predominant acetylcholine-induced vasoconstriction in isolated, perfused simian facial veins. *Eur J Pharmacol* 191 : 131-138, 1990
 - 34) Chiba S, Tsukada M : Possible involvement of muscarinic M_1 and M_3 receptor subtypes mediating vasodilation in isolated, perfused canine lingual arteries. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 23 : 839-843, 1996
 - 35) Furchgott RF, Zawadzki JV : The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 288 : 373-376, 1980
 - 36) Chiba S, Tsukada M : Vasoconstrictor responses induced by α -adrenoceptor agonists before and after removal of the endothelial cells of dog mesenteric arteries. *J Auton Pharmacol* 4 : 257-260, 1984
 - 37) Chiba S, Itoh N, Tsuji T : Vascular responses to intraluminal acetylcholine in isolated, perfused canine and simian basilar arteries. *J Auton Pharmacol* 6 : 101-107, 1986
 - 38) Nakane T, Itoh N, Chiba S : Responses of isolated and perfused dog coronary arteries to acetylcholine, norepinephrine, KCl, and diltiazem before and after removal of the endothelial cells by saponin. *Heart Vessels* 2 : 221-227, 1986
 - 39) Tanaka Y, Chiba S : Potentiating effects of extraluminal oxyhemoglobin to intraluminal 5-hydroxytryptamine in isolated canine internal carotid arteries. *J Neurosurg* 69 : 263-268, 1988
 - 40) Tanaka Y, Chiba S : Relationship between extraluminal oxyhemoglobin and endothelium-dependent vasodilation in isolated perfused canine internal carotid arteries. *Neurosurgery* 23 : 158-161, 1988
 - 41) Chiba S, Ito T : Predominant sensitivity to tyramine in the isolated intermediate auricular artery of the dog. *J Auton Pharmacol* 5 : 109-114, 1985
 - 42) Ito T, Chiba S : Effects of prolonged cold storage on the responsiveness of isolated and perfused canine intermediate auricular artery. *Arch Intern Pharmacodyn Ther* 275 : 13-21, 1985
 - 43) Tsuji T, Chiba S : Responses of isolated canine and simian basilar arteries to thiopentone by a newly designed pharmacological method for measuring vascular responsiveness. *Arch Neurochirur* 80 : 57-61, 1986

- 44) Chiba S, Tsukada M: Pharmacological analysis of vasodilator responses to α_2 -adrenoceptor agonists in isolated rat common carotid arteries. *Jpn J Pharmacol* 53 : 135-143, 1990
- 45) Chiba S, Tsukada M: Different sensitivity of blocking effects of α -adrenoceptor blocking agents on vascular responses to intraluminal norepinephrine and periarterial stimulation in isolated dog arteries. *Jpn J Pharmacol* 38 : 83-89, 1985
- 46) Ren M-R, Nakane T, Chiba S: Purinergic and adrenergic transmission and their presynaptic modulation in canine isolated perfused splenic arteries. *Eur J Pharmacol* 295 : 61-68, 1996
- 47) Haniuda K, Nakane T, Chiba S: Different contribution of ATP and noradrenaline to neurotransmission in the isolated canine intermediate auricular artery. *Eur J Pharmacol* 333 : 163-168, 1997
- 48) Yang X-P, Chiba S: Pharmacological analysis of double peaked vasoconstrictor responses to periarterial electric stimulation. *J Auton Pharmacol* 18 : 343-347, 1998
- 49) Yang X-P, Chiba S: Differential blocking effects of tetrodotoxin on double peaked vasoconstrictor responses to periarterial nerve stimulation in canine isolated, perfused splenic artery. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 26 : 784-789, 1999
- 50) Yang X-P, Chiba S: Dissociation of inhibitory effects of guanethidine on adrenergic and purinergic transmission in isolated canine splenic artery. *Eur J Pharmacol* 380 : 5-11, 1999
- 51) Yang X-P, Chiba S: Pharmacological analysis of vasoconstrictor responses to periarterial purinergic nerve stimulation. *J Auton Pharmacol* 19 : 359-364, 1999
- 52) Yang X-P, Chiba S: Effects of prolonged cold storage on double peaked vasoconstrictor responses to periarterial nerve stimulation in canine splenic arteries. *Br J Pharmacol* 126 : 1810-1814, 1999
- 53) Yang X-P, Chiba S: Effects of ω -conotoxin GVIA and diltiazem on double peaked vasoconstrictor responses to periarterial electric nerve stimulation in isolated canine splenic artery. *Br J Pharmacol* 129 : 47-52, 2000
- 54) 千葉茂俊: 交感神経伝達物質としての ATP の作用機構. *日薬理誌* 116 : 85-92, 2000
- 55) Yang X-P, Chiba S: Effects of a selective neuropeptide Y Y_1 receptor antagonist BIBP 3226 on double peaked vasoconstrictor responses to periarterial nerve stimulation in canine splenic arteries. *Br J Pharmacol* 130 : 1699-1705, 2000
- 56) 千葉茂俊: 血管周囲神経からの遊離伝達物質ニューロペプチド Y の役割について—イヌ摘出血管からの考察. *日薬理誌* 117 : 187-194, 2001
- 57) Yang X-P, Chiba S: Existence of different α_1 -adrenoceptor subtype in junctional and extrajunctional neurovascular regions in canine splenic arteries. *Br J Pharmacol* 132 : 1852-1858, 2001
- 58) 千葉茂俊: 血管における神経—筋シナプス内外のアドレナリン作動性 α_1 受容体サブタイプの相違. *血管* 24 : 123-127, 2001
- 59) Chiba S, Tsukada M: Possible mechanism of acetaldehyde-induced noradrenaline release from sympathetic nerve terminals in isolated blood vessels. *Br J Pharmacol* 95 : 177-182, 1988
- 60) Nakane T, Chiba S: Possible involvement of histamine H_2 -receptors in the vasodilator effect of clonidine on isolated and perfused canine coronary arteries. *Eur J Pharmacol* 132 : 327-331, 1986
- 61) Chiba S, Tsukada M: Mechanisms for histamine H_1 -receptor mediated vasodilation in isolated canine lingual arteries. *Eur J Pharmacol* 329 : 63-68, 1997
- 62) Sinanovic O, Chiba S: Pharmacological analysis of 5-HT-induced vasoconstriction in isolated, perfused dog skeletal muscle arteries. *Eur J Pharmacol* 143 : 353-360, 1987
- 63) Noguchi M, Nakane T, Chiba S: Characterization of 5-HT receptors in simian isolated gastroepiploic artery. *Eur J Pharmacol* 234 : 101-107, 1993
- 64) Nakane T, Chiba S: Pharmacological analysis of vasodilation induced by extracellular adenosine 3',5'-cyclic monophosphate in the isolated and perfused canine coronary artery. *J Pharmacol Exp Ther* 264 : 1253-1261, 1993

- 65) Matsumoto T, Nakane T, Chiba S : Pharmacological analysis of responses to ATP in the isolated and perfused canine coronary artery. *Eur J Pharmacol* 334 : 173-180, 1997
- 66) Matsumoto T, Nakane T, Chiba S : UTP induces vascular responses in the isolated and perfused canine epicardial coronary artery via UTP-perferring P_{2Y} receptors. *Br J Pharmacol* 122 : 1625-1632, 1997
- 67) Chiba S, Tsukada M : Potent antagonistic action of OPC-31260, a vasopressin V_2 receptor antagonist on $[Arg^8]$ vasopressin-induced vasoconstriction in isolated simian femoral arteries. *Eur J Pharmacol* 221 : 393-395, 1992
- 68) Tsukada M, Chiba S : Bradykinin-induced vascular responses in dog isolated lingual artery. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 26 : 456-460, 1999
- 69) Haniuda K, Ito T, Chiba S : Characteristics of vascular responses to endotheline-1 of simian digital arteries that distribute their branches to the skin. *J Invest Dermatol* 97 : 1024-1027, 1991

(H 14. 7. 23 受稿)
