

平成 30 年 6 月 6 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08673

研究課題名(和文) 脊髄後角における痛み伝達のオレキシンによる制御機構のパッチクランプ法による解析

研究課題名(英文) Analysis of the regulation by orexins of nociceptive transmission in the spinal dorsal horn by using the patch-clamp technique

研究代表者

熊本 栄一 (Eiichi, Kumamoto)

佐賀大学・医学部・客員研究員

研究者番号：60136603

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：オレキシン(OX)AやOXBを含む視床下部ニューロンは脊髄後角に下行性に投射し鎮痛に働くが、詳細は不明である。我々はOXAやOXBが痛み伝達の修飾に重要な役割を果たす脊髄膠様質ニューロンのシナプス伝達に及ぼす作用を調べた。その結果、OXAがオレキシン1(OX1)受容体、OXBがOX2受容体を活性化することにより濃度依存性に膜の脱分極や神経終末から起こるグルタミン酸の自発放出を増加させること、これらの作用により活動電位が発生し、OXAはGABAやグリシンの両方、OXBはグリシンのみを介する自発性の抑制性シナプス伝達を促進することを発見した。この作用がOXの鎮痛効果に寄与することが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Cellular mechanisms underlying the antinociceptive effects of hypothalamic neuropeptides orexins (OXs) in the spinal dorsal horn have not been fully investigated. We examined how OXA and OXB affect spontaneous synaptic transmission in spinal substantia gelatinosa (SG) neurons, which play a pivotal role in regulating nociceptive transmission, by using the patch-clamp technique and adult rat spinal cord slices. As a result, we found out that OXA and OXB concentration-dependently produce a membrane depolarization and/or increased spontaneous L-glutamate release from nerve terminals, both of which actions lead to an increase in neuronal activity of SG neurons, resulting in enhancement by OXA of both glycinergic and GABAergic spontaneous inhibitory transmission and by OXB of only glycinergic transmission; these activities are mediated by orexin-1 and orexin-2 receptor activation, respectively. These actions of OXA and OXB could contribute to their antinociceptive effects.

研究分野：神経生理学

キーワード：orexin A orexin B excitatory transmission inhibitory transmission inward current spinal dorsal horn pain patch clamp

1. 研究開始当初の背景

オレキシン A (OXA) とオレキシン B (OXB) は、それぞれ 33 個と 28 個のアミノ酸残基からなる神経ペプチドで、これらを含む視床下部外側部のニューロンは脳の様々な部位に投射して睡眠・覚醒、食欲および報酬系などの生理機能に働いている。また、このニューロンは脊髄後角浅層部へ下行性に投射して鎮痛に働くことを示す数多くの報告があるが、この作用機序はまだ十分に明らかにされていない。

2. 研究の目的

皮膚末梢から脊髄に到る痛み情報は脊髄後角第 II 層 (膠様質) へ伝えられ、内因性鎮痛物質や神経回路の働きにより制御を受けた後に上位中枢へ伝えられ痛みとして感じられる。すなわち、脊髄膠様質は痛み伝達制御の要となる部位である。本研究の目的は、膠様質ニューロンにおける興奮性や抑制性のシナプス伝達、および静止膜電位に及ぼす OXA や OXB の作用を調べ、痛み伝達制御におけるオレキシンの役割を明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1) 脊髄スライスの作製

成熟 Sprague-Dawley 系雄性ラット (6~8 週齢) をウレタン (腹腔内投与: 1.2~1.5 g/kg) で深麻酔後、腰仙部の椎弓切除を行った。1.5~2.0 cm の長さで脊髄を摘出し、冷却して酸素飽和したクレブス液 (1~3) に入れた。実体顕微鏡下で、硬膜やクモ膜や軟膜を除去した。これを寒天ブロックに設けた溝に置き、マイクロスライサーを用いて厚さ約 600 μm の横断スライスを作製した。

このスライス標本を除振台にあらかじめ固定した記録用チェンバー内のナイロンメッシュの上に置き、これを手動式マイクロマニピレーターで上から銀線に装置した EM グリッドで軽く固定した後、 36 ± 1 に加温して酸素負荷したクレブス液で灌流 (15~20 mL/分) した。使用したクレブス液の組成 (mM) は、NaCl, 117; KCl, 3.6; CaCl_2 , 2.5; MgCl_2 , 1.2; NaH_2PO_4 , 1.2; glucose, 11; NaHCO_3 , 25 (pH = 7.4) であった。

(2) パッチクランプ記録

脊髄スライスへ下から透過光を当てると、実体顕微鏡下において脊髄後角の膠様質は半透明なバンド状として視認可能である。この膠様質ニューロンにブラインド・ホールセル・パッチクランプ法を適用して膜電流を記録した。パッチ電極内液の組成 (mM) について、自発性興奮性シナプス後電流 (sEPSC) を記録する際には K-gluconate, 135; KCl, 5; CaCl_2 , 0.5; MgCl_2 , 2; EGTA, 5; HEPES, 5;

Mg-ATP, 5 (pH = 7.2) を、自発性抑制性シナプス後電流 (sIPSC) を記録する際には Cs-sulfate, 110; CaCl_2 , 0.5; MgCl_2 , 2; EGTA, 5; HEPES, 5; TEA, 5; Mg-ATP, 5 (pH = 7.2) を用いた。sEPSC の記録は -70 mV (Cl^- チャネル電流の逆転電位近く) の保持膜電位で sIPSC が記録されない条件下で行う一方、sIPSC の記録は 0 mV (AMPA 受容体チャネル電流の逆転電位近く) において sEPSC が記録されない条件下で行った。GABA 作動性の sIPSC はグリシン受容体阻害薬のストリキニン (1 μM) の存在下で、グリシン作動性の sIPSC は GABA_A 受容体阻害薬のピキュキュリン (10 μM) の存在下で記録した。膜電流は膜電位固定用増幅器で増幅し、データ取得装置を介してコンピューターに取り込み、記録・解析用ソフトを用いて解析した。

4. 研究成果

(1) OXB の作用

脊髄において、OXB は OXA よりも豊富に存在することが報告されているので、まず OXB の作用を調べた。

膜電位を -70 mV に固定して OXB (0.05 μM) を 2 分間灌流投与すると、調べたニューロンの 16% において、自発性興奮性シナプス伝達に変化せずに内向き膜電流が発生した。一方、18% においては、保持膜電流や sEPSC の振幅に影響せずに、その発生頻度を増加させた。32% では、内向き膜電流と sEPSC の発生頻度増加の両方が見られた。その内向き膜電流の平均振幅は 6.5 pA、その発生頻度の平均は OXB の投与開始後 2 分において投与開始前の 171% であった。この増加は sEPSC の振幅の変化を伴っていなかった。残りの 34% のニューロンは OXB に応答しなかった。そのような OXB 応答は 20 分の時間間隔で繰り返し見られた。

次に、OXB (0.05 μM) 作用に活動電位の発生が関与しているかどうか知るために電位作動性 Na^+ チャネル阻害薬テトロドトキシン (TTX; 0.5 μM) の効果を調べた。その結果、TTX 非存在下と存在下における OXB による sEPSC の発生頻度の増加と内向き膜電流の振幅の大きさには有意な差はなかった。これより、OXB の作用は活動電位の発生を介さないことがわかった。それらの 2 つの OXB 作用は濃度の増加と共に大きくなった。Hill プロットに従って解析すると、最大効果の半分を示す濃度である EC_{50} 値は、sEPSC の発生頻度の増加については 0.039 μM 、内向き膜電流の振幅については 0.020 μM であることがわかった。

オレキシン受容体 (OXR) には OX1R と OX2R の 2 つの型が知られているので、それぞれの阻害薬である SB334867 と JNJ10397049 が OXB 作用にどのような影響を及ぼすか調べた。SB334867 (1 μM) 存在下と非存在下で OXB の 2 つの応答の大きさには有意な差はなかった。一方、JNJ10397049 (1 μM) 存在下で OXB の 2 つの作用は有意に抑制された。以上の結果は

OXB 作用が OX2R の活性化によることを示している。

次に、グリシンや GABA を介する自発性抑制性シナプス伝達に及ぼす OXB の作用を調べた。膜電位を 0 mV に固定して OXB (0.05 μ M) を 2 分間灌流投与すると、調べたニューロンの 71%において、グリシン作動性 sIPSC の発生頻度と振幅は、それぞれ平均で 110% と 54% だけ増加した。残りの 29%のニューロンでは OXB は作用しなかった。そのような OXB によるグリシン作動性シナプス伝達の促進は 20 分の時間間隔で繰り返し見られた。一方、GABA 作動性 sIPSC の発生頻度と振幅は、調べたニューロンの 92%において、OXB による影響を受けなかった。残りの 8% (2 つ) のニューロンでは、発生頻度は 149% (25%)、振幅は 36% (35%) だけ増加した。

次にグリシン作動性 sIPSC に及ぼす OXB (0.05 μ M) の促進作用に活動電位の発生が関与しているかどうか知るために TTX (0.5 μ M) の効果を調べたところ、TTX 存在下で OXB の作用は消失した。これより OXB によるグリシン作動性の自発性抑制性シナプス伝達の促進は活動電位の発生を介することが明らかになった。

さらに OXB 作用における OXR の関与を明らかにするために、SB334867 (1 μ M) と JNJ10397049 (1 μ M) の作用を検討した。SB334867 の非存在下と存在下のいずれでも OXB は促進作用を示した一方、JNJ10397049 非存在下で見られた OXB 作用は JNJ10397049 存在下で消失した。以上の結果は OXB 作用が OX2R の活性化によることを示している。

以上より、OXB は OX2R を活性化して内向き膜電流(膜の脱分極)と sEPSC の発生頻度(神経終末から起こるグルタミン酸の自発放出)の増加を起こし、その結果、膠様質ニューロンの膜興奮性が増加して活動電位が発生することによりグリシン作動性の抑制性シナプス伝達が促進されることが明らかになった。これが OXB の鎮痛作用機序であることが示唆される。

(2) OXA の作用

行動生理学の研究により脊髄腔内に投与された OXB と OXA は異なる鎮痛効果を示すことが知られている。これが OXB と OXA による膠様質ニューロンのシナプス伝達修飾作用の違いによるかどうか明らかにするために、OXB 同様、OXA が膠様質ニューロンのシナプス伝達に及ぼす作用の詳細を調べた。

膜電位を -70 mV に固定して OXA (0.05 μ M) を 2 分間灌流投与すると、調べたニューロンの 18%において、自発性興奮性シナプス伝達に変化せずに内向き膜電流が発生した。一方、19%においては、保持膜電流や sEPSC の振幅に影響せずに、その発生頻度を増加させた。50%では、内向き膜電流と sEPSC の発生頻度増加の両方が見られた。その内向き膜電流の平均振幅は 5.9 pA、その発生頻度の平均は OXA の

投与開始後 2 分において投与開始前の 154%であった。この増加は sEPSC の振幅の変化を伴っていなかった。残りの 13%のニューロンは OXA に応答しなかった。そのような OXA 応答は 20 分の時間間隔で繰り返し見られた。このように OXA 応答は OXB 応答と同様であったが、応答を示すニューロンの割合やその大きさはそれぞれの応答で異なっていた。

次に、OXA (0.05 μ M) 応答に活動電位の発生が関与しているかどうか知るために TTX (0.5 μ M) の効果を調べた。その結果、TTX 非存在下と存在下における sEPSC の発生頻度の増加と内向き膜電流の振幅の大きさには有意な差がなかった。これより OXA 応答も活動電位の発生を介さないことがわかった。それらの 2 つの OXA 応答の大きさは濃度の増加と共に大きくなった。Hill プロットに従って解析すると、 EC_{50} 値は、sEPSC の発生頻度の増加では 0.030 μ M、内向き膜電流の振幅では 0.0045 μ M であることがわかった。前者の値は OXB 応答の値とほぼ同じであったが、後者の値は OXB 応答の値よりも 4 倍位小さかった。

さらに、OXA 応答に及ぼす OXR 阻害薬の作用を調べた。SB334867 (1 μ M) 存在下で OXA の 2 つの作用は有意に抑制された。一方、JNJ10397049 (1 μ M) 存在下と非存在下で OXA の 2 つの応答の大きさには有意な差はなかった。以上より、OXA 応答は OXB 応答と異なり OX1R の活性化によることがわかった。

次に、グリシンや GABA を介する自発性抑制性シナプス伝達に及ぼす OXA の作用を調べた。膜電位を 0 mV に固定して OXA (0.05 μ M) を 2 分間灌流投与すると、調べたニューロンの 79%において、グリシン作動性 sIPSC の発生頻度と振幅は、それぞれ平均で 85% と 38% だけ増加した。残りの 21%のニューロンでは OXA は作用しなかった。GABA 作動性のシナプス伝達については、OXB 作用と異なり、調べたニューロンの 51%において OXA により促進された。その発生頻度と振幅は、それぞれ平均で 119% と 33%だけ増加した。残りの 49%のニューロンは OXA による影響を受けなかった。そのような OXA による抑制性シナプス伝達の促進は 20 分の時間間隔で繰り返し見られた。

次に OXA (0.05 μ M) 作用に活動電位の発生が関与しているかどうか知るために TTX (0.5 μ M) の効果を調べたところ、TTX 存在下で OXA の作用は消失した。これより OXA によるグリシン作動性と GABA 作動性の自発性抑制性シナプス伝達の促進は活動電位の発生を介することがわかった。

さらに、OXA 応答に及ぼす OXR 阻害薬の作用を調べた。SB334867 (1 μ M) 存在下で OXA によるグリシン作動性と GABA 作動性の自発性抑制性シナプス伝達の促進の大きさは有意に小さくなった。一方、JNJ10397049 (1 μ M) 存在下と非存在下で OXA による 2 つの抑制性シナプス伝達の促進の大きさには有意な差はなかった。以上より、OXA は、OXB と同様、

内向き膜電流と sEPSC の発生頻度の増加、それに引き続き抑制性シナプス伝達の促進を誘起するが、OXB 作用と異なり OX1R の活性化によることがわかった。

以上の結果をまとめると、OXA 応答と OXB 応答は、(1) 内向き膜電流 (膜の脱分極) を誘起する効率、(2) 活性化させる OXR の型、(3) GABA 作動性シナプス伝達の促進の有無、の3つの点で異なることが明らかになった。これらの差が OXA と OXB の鎮痛効果の差に寄与することが示唆される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 23 件)

Chong Wang, Tsugumi Fujita, Eiichi Kumamoto: Orexin B modulates spontaneous excitatory and inhibitory transmission in lamina II neurons of adult rat spinal cord. *Neuroscience*, **383**,114-128 (2018). (査読有) DOI: 10.1016/j.neuroscience.2018.04.048.

Chong Wang, Tsugumi Fujita, Eiichi Kumamoto: Modulation by orexin A of spontaneous excitatory and inhibitory transmission in adult rat spinal substantia gelatinosa neurons. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **501**, 105-105 (2018). (査読有) DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.04.182.

Chong Wang, Tsugumi Fujita, Nobuya Magori, Rika Suzuki, Fan Yang, Eiichi Kumamoto: Actions of orexin B on spontaneous inhibitory synaptic transmission in adult rat spinal superficial dorsal horn neurons. *Peptide Science 2017*, in press (査読有) DOI および URL なし.

Rika Suzuki, Tsugumi Fujita, Kotaro Mizuta, Eiichi Kumamoto: Inhibition by non-steroidal anti-inflammatory drugs of compound action potentials in frog sciatic nerve fibers. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **103**, 326-335 (2018). (査読有) DOI: 10.1016/j.biopha.2018.04.041.

Nobuya Magori, Tsugumi Fujita, Eiichi Kumamoto: Hinokitiol inhibits compound action potentials in the frog sciatic nerve. *European Journal of Pharmacology*, **819**, 254-260 (2018). (査読有) DOI: 10.1016/j.ejphar.2017.12.014.

Ryo Hirao, Tsugumi Fujita, Ai Sakai, Eiichi Kumamoto: Compound action potential inhibition produced by various antidepressants in the frog sciatic nerve. *European Journal of Pharmacology*, **819**, 122-128 (2018). (査読有) DOI: 10.1016/j.ejphar.2017.11.047.

Eiichi Kumamoto, Tsugumi Fujita, Rika Suzuki, Nobuya Magori, Chong Wang: Modulation of TRP activation and nerve conduction for analgesia. *Analgesia & Resuscitation: Current Research* **7**:2 (2018). (査読有) DOI:10.4172/2324-903X.1000159.

Chong Wang, Tsugumi Fujita, Nobuya Magori, Rika Suzuki, Ryo Hirao, Eiichi Kumamoto: Synaptic modulation through orexin-2 receptor activation by orexin B in the adult rat spinal substantia gelatinosa. *Peptide Science* **2016**, 153-154 (2017). (査読有) DOI および URL なし.

王 翀, 藤田亜美, 余 婷, 馬郡信弥, 鈴木里佳, 平尾 峻, 熊本栄一: オレキシン B は成熟ラット脊髄膠様質ニューロンの興奮性シナプス伝達を促進する. *脊髄機能診断学*, **38** (1), 24-32 (2017). (査読有) DOI および URL なし.

余 婷, 藤田亜美, 王 翀, 鈴木里佳, 馬郡信弥, 平尾 峻, 熊本栄一: 成熟ラット脊髄膠様質ニューロンにおける植物由来物質の膜過分極作用. *脊髄機能診断学*, **38** (1), 14-23 (2017). (査読有) DOI および URL なし.

Kotaro Mizuta, Tsugumi Fujita, Hiroki Yamagata, Eiichi Kumamoto: Bisphenol A inhibits compound action potentials in the frog sciatic nerve in a manner independent of estrogen receptors. *Biochemistry and Biophysics Reports*, **10**, 145-151 (2017). (査読有) DOI: 10.1016/j.bbrep.2017.03.006.

Lian-Hua Piao, Tsugumi Fujita, Ting Yu, Eiichi Kumamoto: Presynaptic facilitation by tetracaine of glutamatergic spontaneous excitatory transmission in the rat spinal substantia gelatinosa – involvement of TRPA1 channels. *Brain Research*, **1657**, 245-252 (2017). (査読有) DOI: 10.1016/j.brainres.2016.12.021.

蒋 昌宇, 藤田亜美, 王 翀, 余 婷, 平尾 峻, 鈴木里佳, 熊本栄一: オキシトシンによるラット脊髄膠様質ニューロンのシナプス伝達の修飾の性差と生後発達. *脊髄機能診断学*, **37** (1), 30-38 (2016). (査読有) DOI および URL なし.

朱 蘭, 藤田亜美, 王 翀, 余 婷, 平尾 峻, 鈴木里佳, 熊本栄一: シトラールは TRPA1 を活性化してラット脊髄膠様質ニューロンの自発性興奮性シナプス伝達を促進する. *脊髄機能診断学*, **37** (1), 19-29 (2016). (査読有) DOI および URL なし.

Chang-Yu Jiang, Tsugumi Fujita, Eiichi Kumamoto: Developmental change and sexual difference in synaptic modulation produced by oxytocin in rat substantia gelatinosa neurons. *Biochemistry and Biophysics Reports*, **7**, 206-213 (2016). (査読有) DOI: 10.1016/j.bbrep.2016.06.011.

Chang-Yu Jiang, Tsugumi Fujita, Chong Wang, Ting Yu, Ryo Hirao, Eiichi Kumamoto: Sexual and developmental change in synaptic modulation by oxytocin in rat spinal dorsal horn neurons. *Peptide Science* **2015**, 239-242 (2016). (査読有) DOI および URL なし.

Akitomo Matsushita, Tsugumi Fujita, Sena Ohtsubo, Eiichi Kumamoto: Traditional Japanese medicines inhibit compound action potentials in the frog sciatic nerve. *Journal of Ethnopharmacology*, **178**, 272-280 (2016). (査読有) DOI: 10.1016/j.jep.2015.12.018.

Lan Zhu, Tsugumi Fujita, Chang-Yu Jiang,

Eiichi Kumamoto: Enhancement by citral of glutamatergic spontaneous excitatory transmission in adult rat substantia gelatinosa neurons. *NeuroReport*, **27**, 166-171 (2016). (査 読 有) DOI: 10.1097/WNR.0000000000000518.

Chang-Yu Jiang, Chong Wang, Nian-Xiang Xu, Tsugumi Fujita, Yuzo Murata, Eiichi Kumamoto: 1,8- and 1,4-cineole enhance spontaneous excitatory transmission by activating different types of transient receptor potential channels in the rat spinal substantia gelatinosa. *Journal of Neurochemistry*, **136**, 764-777 (2016). (査 読 有) DOI: 10.1111/jnc.13433.

Eiichi Kumamoto, Tsugumi Fujita: Differential activation of TRP channels in the adult rat spinal substantia gelatinosa by stereoisomers of plant-derived chemicals. *Pharmaceuticals*, **9**(3), 46 (2016). (査 読 有) DOI: 10.3390/ph9030046.

②① 熊本栄一, 藤田亜美: Transient receptor potential チャネル活性化による神経終末からのグルタミン酸自発放出の促進. *生物物理* **56**(3), 145-148 (2016). (査 読 有) DOI: 10.2142/biophys.56.145.

②② Eiichi Kumamoto, Tsugumi Fujita: Cellular mechanisms for antinociception produced by neuropeptides in the rat spinal dorsal horn. *Current Topics in Peptide & Protein Research* **16**, 19-35 (2015). (査 読 有) DOI および URL なし.

②③ Zhi-Hao Xu, Chong Wang, Tsugumi Fujita, Chang-Yu Jiang, Eiichi Kumamoto: Action of thymol on spontaneous excitatory transmission in adult rat spinal substantia gelatinosa neurons. *Neuroscience Letters*, **606**, 94-99 (2015). (査 読 有) DOI: 10.1016/j.neulet.2015.08.042.

[学会発表](計 29 件)

鈴木里佳、藤田亜美、水田恒太郎、馬郡信弥、王 翀、楊 帆、熊本栄一: 様々な化学構造の非ステロイド性抗炎症薬による蛙坐骨神経の複合活動電位抑制. 第95回日本生理学会大会. 2018.3.29. サポートホール高松・かがわ国際会議場(香川県高松市).

馬郡信弥、藤田亜美、鈴木里佳、王 翀、楊 帆、熊本栄一: 蛙坐骨神経の複合活動電位に及ぼすヒノキチオール関連物質の作用. 第95回日本生理学会大会. 2018.3.28. サポートホール高松・かがわ国際会議場(香川県高松市).

王 翀、藤田亜美、馬郡信弥、鈴木里佳、楊 帆、熊本栄一: オレキシン B は成熟ラット脊髄膠様質ニューロンのグリシン作動性の自発性抑制性シナプス伝達を促進する. 第95回日本生理学会大会. 2018.3.28. サポートホール高松・かがわ国際会議場(香川県高松市).

王 翀、藤田亜美、馬郡信弥、鈴木里佳、楊 帆、熊本栄一: オレキシン B によるラット脊髄膠様質ニューロンの自発性抑制性シナプス伝達の促進. 第39回脊髄機能診断研究会. 2018.2.10. エーザイ株式会社本社5階ホール(東京).

王 翀、藤田亜美、馬郡信弥、鈴木里佳、楊 帆、熊本栄一: オレキシン B による脊髄膠様質ニューロンの自発性抑制性シナプス伝達の促進. 生理学研究所研究会「痛みを中心とする有害状況適応の神経戦略バイオロジー」. 2017.12.15. 岡崎カンファレンスセンター(愛知県岡崎市).

Chong Wang, Tsugumi Fujita, Nobuya Magori, Suzuki Rika, Fan Yang, Eiichi Kumamoto: Effects of orexin A and orexin B on spontaneous synaptic transmission in adult rat spinal substantia gelatinosa neurons. *Neuroscience* 2017. 2017.11.15. Washington, D.C., USA.

Ting Yu, Tsugumi Fujita, Chong Wang, Rika Suzuki, Nobuya Magori, Fan Yang, Eiichi Kumamoto: Plant-derived compound-induced outward current in adult rat spinal substantia gelatinosa neurons and the chemical structure of the compound. *Neuroscience* 2017. 2017.11.15. Washington, D.C., USA.

Rika Suzuki, Tsugumi Fujita, Kotaro Mizuta, Nobuya Magori, Chong Wang, Fan Yang, Masaru Ishimatsu, Eiichi Kumamoto: Non-steroidal anti-inflammatory drugs inhibit compound action potentials in frog sciatic nerve fibers. *Neuroscience* 2017. 2017.11.12. Washington, D.C., USA.

Nobuya Magori, Tsugumi Fujita, Rika Suzuki, Chong Wang, Fan Yang, Eiichi Kumamoto: Inhibitory action of β -thujaplicin on compound action potentials in frog sciatic nerve fibers. *Neuroscience* 2017. 2017.11.12. Washington, D.C., USA.

王 翀、藤田亜美、馬郡信弥、鈴木里佳、楊 帆、熊本栄一: ラット脊髄膠様質ニューロンにおける自発性の GABA やグリシンを介する抑制性シナプス伝達に及ぼすオレキシン B の作用. 第68回西日本生理学会. 2017.10.6. 福岡大学中央図書館多目的ホール(福岡県福岡市).

鈴木里佳、藤田亜美、水田恒太郎、馬郡信弥、平尾 峻、岩崎貴士、王 翀、熊本栄一: 蛙坐骨神経の複合活動電位に及ぼす非ステロイド性抗炎症薬の抑制作用. 第40回日本神経科学大会. 2017.7.23. 幕張メッセ(千葉県千葉市).

馬郡信弥、藤田亜美、鈴木里佳、平尾 峻、王 翀、熊本栄一: ヒノキチオールは蛙坐骨神経の複合活動電位を抑制する. 第40回日本神経科学大会. 2017.7.23. 幕張メッセ(千葉県千葉市).

藤田亜美、余 婷、王 翀、鈴木里佳、馬郡信弥、熊本栄一: 植物由来物質により誘起されるラット脊髄膠様質ニューロンの外向き膜電流とその化学構造. 第40回日本神経科学大会. 2017.7.20. 幕張メッセ(千葉県千葉市).

王 翀、藤田亜美、馬郡信弥、鈴木里佳、熊本栄一: 成熟ラット脊髄膠様質ニューロンの自発性興奮性シナプス伝達に及ぼすオレキシン A とオレキシン B の促進作用の比較. 第40回日本神経科学大会. 2017.7.20. 幕張メッセ(千葉県千葉市).

余 婷、藤田亜美、王 翀、鈴木里佳、馬郡信弥、楊 帆、熊本栄一: ラット脊髄膠様質の TRPA1 チャネルの植物由来物質による活性

化の構造活性連関. 生理学研究所研究会「第13回 TRP チャネル研究会 TRP channel conference～オルガネラ Ca²⁺シグナルの重要な媒介分子～」. 2017.6.23. 岡崎カンファレンスセンター(愛知県岡崎市).

馬郡信弥, 藤田亜美, 鈴木里佳, 平尾 峻, 王 翀, 熊本栄一: 蛙坐骨神経の複合活動電位に及ぼすヒノキチオールとその関連物質の効果. 第 39 回日本疼痛学会. 2017.6.16. 神戸国際会議場(兵庫県神戸市).

王 翀, 藤田亜美, 馬郡信弥, 鈴木里佳, 熊本栄一: オレキシン A とオレキシン B による成熟ラット脊髄膠様質ニューロンの自発性興奮性シナプス伝達の修飾. 第 39 回日本疼痛学会. 2017.6.16. 神戸国際会議場(兵庫県神戸市).

Eiichi Kumamoto, Tsugumi Fujita, Chang-Yu Jiang, Chong Wang, Rika Suzuki, Nobuya Magori: Activation of transient receptor potential channels by various plant-derived compounds in the adult rat spinal substantia gelatinosa. 4th Symposium of Subcommittee of Translational Research on Pain (TRPs). 2017.4.1. ShenZhen, GuangDong, China.

馬郡信弥, 藤田亜美, 鈴木里佳, 平尾 峻, 王 翀, 熊本栄一: 蛙坐骨神経の複合活動電位に及ぼすヒノキチオールの作用. 第94回日本生理学学会大会. 2017.3.28. アクトシティ浜松(静岡県浜松市).

王 翀, 藤田亜美, 馬郡信弥, 鈴木里佳, 平尾 峻, 熊本栄一: オレキシン A と B による成熟ラット脊髄膠様質ニューロンの自発性興奮性シナプス伝達の促進. 第 94 回日本生理学学会大会. 2017.3.28. アクトシティ浜松(静岡県浜松市).

②①鈴木里佳, 藤田亜美, 水田恒太郎, 岩崎貴士, 馬郡信弥, 平尾 峻, 王 翀, 熊本栄一: フェニル酢酸系 NSAID は蛙坐骨神経の複合活動電位を抑制する. 第 94 回日本生理学学会大会. 2017.3.28. アクトシティ浜松(静岡県浜松市).

②②平尾 峻, 藤田亜美, 坂井愛子, 鈴木里佳, 馬郡信弥, 王 翀, 熊本栄一: 抗うつ薬は化学構造特異的に蛙坐骨神経の複合活動電位を抑制する. 第 94 回日本生理学学会大会. 2017.3.28. アクトシティ浜松(静岡県浜松市).

②③王 翀, 藤田亜美, 鈴木里佳, 馬郡信弥, 平尾 峻, 熊本栄一: 成熟ラット脊髄膠様質ニューロンの自発性興奮性シナプス伝達に及ぼすオレキシン A とオレキシン B の作用. 生理学研究所研究会「痛みの理解を目指した先端的研究アプローチ」. 2017.1.31. 岡崎カンファレンスセンター(愛知県岡崎市).

②④Ryo Hirao, Tsugumi Fujita, Ai Sakai, Chong Wang, Rika Suzuki, Nobuya Magori, Masaru Ishimatsu, Eiichi Kumamoto: Compound action potential inhibition by various antidepressants in the frog sciatic nerve. Neuroscience 2016. 2016.11.15. San Diego, CA, USA.

②⑤Chong Wang, Tsugumi Fujita, Ting Yu, Ryo Hirao, Nobuya Magori, Rika Suzuki, Eiichi Kumamoto: Inward current and spontaneous excitatory transmission enhancement produced by orexin B in adult rat spinal substantia

gelatinosa neuron. Neuroscience 2016. 2016.11.15. San Diego, CA, USA.

②⑥Lan Zhu, Tsugumi Fujita, Chang-Yu Jiang, Chong Wang, Tin Yu, Ryo Hirao, Rika Suzuki, Nobuya Magori, Eiichi Kumamoto: Citral enhances spontaneous excitatory transmission in adult rat spinal substantia gelatinosa neurons by activating TRPA1 channels. Neuroscience 2016. 2016.11.13. San Diego, CA, USA.

②⑦王 翀, 藤田亜美, 平尾 峻, 鈴木里佳, 馬郡信弥, 熊本栄一: ラット脊髄膠様質ニューロンの自発性興奮性シナプス伝達に及ぼすオレキシン B の作用. 第 67 回西日本生理学学会. 2016.10.8. 国民宿舎レインボー桜島(鹿児島県 鹿児島市).

②⑧王 翀, 藤田亜美, 余 婷, 平尾 峻, 鈴木里佳, 熊本栄一: オレキシン B により誘起される成熟ラット脊髄膠様質ニューロンの自発性興奮性シナプス伝達の促進と内向き膜電流. 第 39 回日本神経科学大会. 2016.7.21. パシフィコ横浜(神奈川県横浜市).

②⑨王 翀, 藤田亜美, 余 婷, 平尾 峻, 鈴木里佳, 熊本栄一: 成熟ラット脊髄膠様質ニューロンにおけるグルタミン酸作動性の自発性興奮性シナプス伝達に及ぼすオレキシン B の作用. 第 93 回日本生理学学会大会. 2016.3.22. 札幌コンベンションセンター(北海道札幌市).

〔図書〕(計 2 件)

安藤祥司, 熊本栄一, 坂本寛, 弟子丸正伸: 化学同人(京都). ライフサイエンスのための化学. (2017).

Akio Hiura, Hiroshi Nakagawa, Eiichi Kumamoto, Tao Liu, Tsugumi Fujita, Chang-Yu Jiang: Bentham Science Publishers. (Sharjah, United Arab Emirates). Frontiers in Clinical Drug Research; Anti Allergy Agents, Vol. 2. Atta-ur-Rahman (Ed.). pp.149-206 (2016).

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)なし

取得状況(計 0 件)なし

〔その他〕

ホームページ等 なし

6. 研究組織

(1)研究代表者

熊本 栄一(Kumamoto, Eiichi)

佐賀大学・医学部・客員研究員

研究者番号: 60136603

(2)研究分担者

藤田 亜美(Fujita, Tsugumi)

佐賀大学・医学部・准教授

研究者番号: 70336139

(3)連携研究者 該当無し

(4)研究協力者 該当無し