

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 26 日現在

機関番号：17201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500461

研究課題名(和文)ラット脊髄後角の痛み伝達制御におけるオキシトシン作用のシナプスレベルの解析

研究課題名(英文)Analysis of the action of oxytocin at synapse level in regulating nociceptive transmission in rat spinal dorsal horn

研究代表者

熊本 栄一(Kumamoto, Eiichi)

佐賀大学・医学部・教授

研究者番号：60136603

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：成熟ラットから脊髄薄切片を作製し、痛みの制御に重要な役割を果たす膠様質ニューロンにパッチクランプ法を適用してオキシトシン(OXY)作用を調べた。OXYは脱分極を生じる一方、興奮性シナプス伝達に影響しなかった。OXY応答はホスホリパーゼCとIP3誘起Ca<sup>2+</sup>放出を介したK<sup>+</sup>やNa<sup>+</sup>の膜透過性変化により生じることが示された。一方、OXYはNa<sup>+</sup>チャネル阻害薬依存性に自発性抑制性シナプス伝達を促進した。以上のOXY応答は、OXY受容体作動薬によりみられる一方、その受容体阻害薬存在下で消失した。以上より、OXY受容体の活性化による脱分極を介した抑制性シナプス伝達の促進が鎮痛に寄与すると示唆された。

研究成果の概要(英文)：We examined how oxytocin affects synaptic transmission in substantia gelatinosa (SG) neurons by applying the patch-clamp technique to the SG neurons of adult rat spinal cord slices. Bath-applied oxytocin unaffected excitatory transmission while producing an inward current at -70 mV and enhancing spontaneous inhibitory transmission. These activities were mimicked by oxytocin-receptor agonist. The oxytocin current was inhibited by oxytocin-receptor antagonist, U-73122, 2-aminoethoxydiphenyl borate but not dantrolene, chelerythrine, dibutyryl cyclic-AMP and tetrodotoxin, while the spontaneous inhibitory transmission enhancement was depressed by tetrodotoxin. It is concluded that oxytocin produces a membrane depolarization mediated by oxytocin receptors, which increases neuronal activity, resulting in the enhancement of inhibitory transmission, a possible mechanism for antinociception. This depolarization is possibly mediated by phospholipase C and IP3-induced Ca<sup>2+</sup>-release.

研究分野：神経生理学

キーワード：オキシトシン 鎮痛 脊髄後角 興奮性シナプス伝達 抑制性シナプス伝達 脱分極 ラット パッチクランプ法

## 1. 研究開始当初の背景

オキシトシンは視床下部のニューロンで合成され下垂体後葉から神経分泌されて子宮筋収縮や射乳の作用を持つことはよく知られている。最近、オキシトシンは学習や記憶、社会認識、および痛みなど、上記以外の作用が注目されている。視床下部から脊髄後角へ到るオキシトシン作動性の神経経路が鎮痛に働いている証拠があるが、その作用機序はまだ十分に調べられていなかった。

## 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オキシトシンの作用を調べ、痛み伝達制御におけるオキシト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。約 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  $\mu\text{m}$  の横断スライスを作製した。後根を付した標本を得る場合には、一側の L5 の後根を残し、他の前根や後根を全て切除した後、温存した後根の周囲を除きクモ膜と軟膜を除去し、その後、厚さ約 650  $\mu\text{m}$  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、約 36 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;  $\text{CaCl}_2$ , 2.5;  $\text{MgCl}_2$ , 1.2;  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 1.2; glucose, 11;  $\text{NaHCO}_3$ , 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、興奮性シナプス後電流 (EPSC) を記録する際には K-gluconate, 135; KCl, 5;  $\text{CaCl}_2$ , 0.5;  $\text{MgCl}_2$ , 2; EGTA, 5; HEPES, 5; Mg-ATP, 5 (pH = 7.2) を、抑制性シナプス後電流 (IPSC) を記録する際には Cs-sulfate, 110;  $\text{CaCl}_2$ , 0.5;  $\text{MgCl}_2$ , 2; EGTA, 5; HEPES, 5; TEA, 5; Mg-ATP, 5 (pH = 7.2) を用いた。EPSC は -70 mV ( $\text{Cl}^-$  チャンネル電流の逆転電位近く) の保持膜電位で IPSC が記録されない条件下で行う一方、IPSC は 0 mV (AMPA 受容体チャンネル電流の逆転電位近く) において EPSC が記録されない条件下で行った。GABA 作動性の IPSC はグリシン受容体阻害薬のストリキニンの存在下で、グリシン作動性の IPSC は  $\text{GABA}_A$  受容体阻害薬のピキュキュリン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。

後根刺激誘起の EPSC を記録する際には、吸引電極を用いてアイソレーターを介し刺激装置から持続時間 0.1 ms で様々な大きさを持つ矩形波の電気刺激を与えた。この刺激は特別の場合を除き 0.2 Hz の頻度で行った。刺激電極は手動式マイクロマニピレーターで目的とする位置に固定した。

## 4. 研究成果

オキシトシン (1  $\mu\text{M}$ ) は -70 mV の保持膜電位で記録される自発性、A および C 線維を介する単シナプス性のグルタミン酸を介する興奮性シナプス伝達に影響を及ぼさずに内向き膜電流 (脱分極) を誘起した。一方、0 mV で記録される抑制性シナプス伝達を促進した。

### (1) 内向き膜電流

3 分間灌流投与すると、灌流投与中にその振幅が減少 (脱感作) した。オキシトシンを繰り返し投与すると、30 分の時間間隔で、2 回目投与では 1 回目投与に比べて振幅の 8 割程度の回復が見られた。つまり脱感作は速く起こり、脱感作からの回復には時間を要した。オキシトシン応答は電位作動性  $\text{Na}^+$  チャンネル阻害薬テトロドトキシン、AMPA 受容体阻害薬 CNQX および無  $\text{Ca}^{2+}$  により影響を受けなかったことから、オキシトシンの直接作用であることがわかった。このオキシトシン作用は濃度依存性であり、その  $\text{EC}_{50}$  値は 0.021  $\mu\text{M}$  であった。オキシトシンと同様な作用は、オキシトシン受容体の作動薬により見られ、オキシトシン受容体阻害薬存在下ではオキシトシン応答は見られなかったため、オキシトシン受容体の活性化を介することがわかった。オキシトシン受容体は代謝調節型受容体であるが、このことと一致して、パッチ電極内に GDP- $\beta$ -S を含めるとオキシトシン応答は抑

制された。

次に、その内向き膜電流の発生機序を調べた。オキシトシン電流の電流-電圧関係は、調べたニューロンの30%でK<sup>+</sup>の平衡電位近くで逆転したが、残りの細胞では逆転しなかった。オキシトシン膜電流の振幅は、高いK<sup>+</sup>濃度や低いNa<sup>+</sup>濃度を持つクレープス液中では小さくなった。また、ホスホリパーゼC阻害薬U-73122やIP<sub>3</sub>誘起Ca<sup>2+</sup>放出阻害薬2-アミノエトキシジフェニルボラートはオキシトシン膜電流の振幅を減少させたが、Cキナーゼ阻害薬ケレリスリン、Ca<sup>2+</sup>誘起Ca<sup>2+</sup>放出阻害薬ダントロレンおよびジブチリル環状AMPは作用しなかった。以上より、オキシトシン膜電流はホスホリパーゼCとIP<sub>3</sub>誘起Ca<sup>2+</sup>放出を介したK<sup>+</sup>やNa<sup>+</sup>の膜透過性変化により生じることが示唆された。

膠様質には様々な型のニューロンが存在しているため、同じニューロンでオキシトシンとニコチン型アセチルコリン(ACh)受容体作動薬ニコチンあるいはムスカリン型ACh受容体作動薬カルバモイルコリンの作用を調べた。いずれの作動薬もオキシトシンと同様に膜を脱分極させたので、オキシトシンは内因性鎮痛物質のAChと同様な機序で鎮痛に働いていることが示唆された。

オキシトシン膜電流に対するバゾプレッシンV<sub>1A</sub>受容体阻害薬TMAの作用を調べたところ、TMAはその電流を抑制した。その受容体作動薬アルギニンバゾプレッシンは、オキシトシンと同様に内向き膜電流を誘起したが、両者の大きさの間に相関がなかった。その結果、TMAは非特異的にオキシトシン受容体を抑制したと推察した。

#### (2) 抑制性シナプス伝達の促進

オキシトシンはGABAやグリシンを介する自発性抑制性シナプス後電流の発生頻度を濃度依存性に増加し、それらのEC<sub>50</sub>値は、それぞれ、0.024μMと0.038μMであった。これらの作用はオキシトシンの繰り返し投与によっても見られ、テトロドトキシン存在下で消失した。これらのオキシトシン作用は、いずれもオキシトシン受容体作動薬でも見られる一方、オキシトシン受容体阻害薬の存在下で消失した。

#### (3) 生後発達

雌の成熟ラットでは、雄と同様、オキシトシンは膜の脱分極を誘起し、それらの大きさは雌雄間で有意差を示さなかった。また、生後14日目の幼若雄ラットでは、成熟雄ラットでは見られなかったオキシトシンによるグルタミン酸の自発放出の増加が見られる一方、成熟雄ラットと同様、自発性の抑制性シナプス伝達の促進が見られた。

以上より、成熟ラットでのオキシトシンの鎮痛作用機序は、バゾプレッシン受容体ではなくオキシトシン受容体の活性化、膜の脱分極、活動電位発生、抑制性シナプス伝達

の促進、であることが明らかになった。この機序は、雌雄いずれのラットでも見られる一方、生後発達を示す可能性も示された。オキシトシンと同様な鎮痛機序はAChによっても生じることが示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者および研究分担者には下線)

(雑誌論文)(計27件)

Qin Kang, Chang-Yu Jiang, Tsugumi Fujita, Eiichi Kumamoto: Spontaneous L- glutamate release enhancement in rat substantia gelatinosa neurons by (-)-carvone and (+)-carvone which activate different types of TRP channel. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **459** (3), 498-503 (2015). (査読有) DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.02.127.

Yasuhiko Kawasaki, Tsugumi Fujita, Kun Yang, Eiichi Kumamoto: Anandamide depresses glycinergic and GABAergic inhibitory transmissions in adult rat substantia gelatinosa neurons. *Pharmacology & Pharmacy*, **6** (3), 103-117 (2015). (査読有) <http://dx.doi.org/10.4236/pp.2015.63013>.

Sena Ohtsubo, Tsugumi Fujita, Akitomo Matsushita, Eiichi Kumamoto: Inhibition of the compound action potentials of frog sciatic nerves by aroma-oil compounds having various chemical structures. *Pharmacology Research & Perspectives*, **3** (2), e00127 (2015). (査読有) DOI: 10.1002/prp2.127.

大坪瀬奈, 藤田亜美, 宮原萌, 松下晋大, 蔣昌宇, 徐志昊, 熊本栄一: アロマ精油成分による化学構造に依存した蛙坐骨神経の複合活動電位抑制. *Pain Research*, **30** (1), 16-29 (2015). (査読有) <http://dx.doi.org/10.11154/pain.30.16>.

Qing-Tian Luo, Tsugumi Fujita, Chang-Yu Jiang, Eiichi Kumamoto: Carvacrol presynaptically enhances spontaneous excitatory transmission and produces outward current in adult rat spinal substantia gelatinosa neurons. *Brain Research*, **1592**, 44-54 (2014). (査読有) DOI: 10.1016/j.brainres.2014.10.021.

Yuhei Uemura, Tsugumi Fujita, Sena Ohtsubo, Naomi Hirakawa, Yoshiro Sakaguchi, Eiichi Kumamoto: Effects of various antiepileptics used to alleviate neuropathic pain on compound action potentials in frog sciatic nerves - Comparison with those of local anesthetics. *BioMed Research International*, **2014**, 540238 (2014). (査読有) DOI: 10.1155/2014/540238.

Chang-Yu Jiang, Tsugumi Fujita, Eiichi Kumamoto: Synaptic modulation and inward current produced by oxytocin in substantia gelatinosa neurons of adult rat spinal cord slices. *Journal of Neurophysiology*, **111** (5), 991-1007 (2014). (査読有) DOI: 10.1152/jn.00609.2013.

Eiichi Kumamoto, Tsugumi Fujita, Chang-Yu Jiang: TRP channels involved in spontaneous L-glutamate release enhancement in the adult rat spinal substantia gelatinosa. *Cells*, **3** (2), 331-362 (2014). ( 査読有 ) DOI: 10.3390/cells3020331.

蒋昌宇, 藤田亜美, 徐志昊, 大坪瀬奈, 松下晋大, 熊本栄一: ラット脊髄後角第II層ニューロンに及ぼすオキシトシンの作用 - 鎮痛作用機序. *Pain Research*, **29** (4), 215-231 (2014). ( 査読有 ) <http://dx.doi.org/10.11154/pain.29.215>.

蒋昌宇, 藤田亜美, 大坪瀬奈, 松下晋大, 徐志昊, 熊本栄一: 成熟ラット脊髄膠様質ニューロンのオキシトシンによる膜脱分極の解析. *脊髄機能診断学*, **35** (1), 16-24 (2014). ( 査読有 ) DOI および URL なし.

徐年香, 蒋昌宇, 藤田亜美, 大坪瀬奈, 松下晋大, 徐志昊, 熊本栄一: シネオールによる TRP 活性化を介したラット脊髄膠様質の自発性グルタミン酸放出の促進. *脊髄機能診断学*, **35** (1), 36-45 (2014). ( 査読有 ) DOI および URL なし.

羅清甜, 藤田亜美, 蒋昌宇, 大坪瀬奈, 康欽, 松下晋大, 徐志昊, 熊本栄一: カルバクロールによる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促進と膜過分極. *脊髄機能診断学*, **35** (1), 25-35 (2014). ( 査読有 ) DOI および URL なし.

大坪瀬奈, 藤田亜美, 松下晋大, 蒋昌宇, 熊本栄一: カエル坐骨神経の複合活動電位に及ぼすアロマ精油成分の抑制作用. *Pain Research*, **29** (1), 17-30 (2014). ( 査読有 ) <http://dx.doi.org/10.11154/pain.29.17>.

Toshiharu Yasaka, Sheena Y.X. Tiong, Erika Polgár, Masahiko Watanabe, Eiichi Kumamoto, John S. Riddell, Andrew J. Todd: A putative relay circuit providing low-threshold mechanoreceptive input to lamina I projection neurons via vertical cells in lamina II of the rat dorsal horn. *Molecular Pain*, **10**:3 (2014) ( 査読有 ) DOI: 10.1186/1744-8069-10-3.

Hai-Yuan Yue, Chang-Yu Jiang, Tsugumi Fujita, Eiichi Kumamoto: Zingerone enhances glutamatergic spontaneous excitatory transmission by activating TRPA1 but not TRPV1 channels in the adult rat substantia gelatinosa. *Journal of Neurophysiology*, **110** (3), 658-671 (2013). ( 査読有 ) DOI: 10.1152/jn.00754.2012.

Tao Liu, Chang-Yu Jiang, Tsugumi Fujita, Shi-Wen Luo, Eiichi Kumamoto: Enhancement by interleukin-1 $\beta$  of AMPA and NMDA receptor-mediated currents in adult rat spinal superficial dorsal horn neurons. *Molecular Pain*, **9**:16 (2013). ( 査読有 ) DOI: 10.1186/1744-8069-9-16.

Akitomo Matsushita, Sena Ohtsubo, Tsugumi Fujita, Eiichi Kumamoto: Inhibition by TRPA1 agonists of compound action

potentials in the frog sciatic nerve. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **434** (1), 179-184 (2013). ( 査読有 ) DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.02.127.

Daisuke Tomohiro, Kotaro Mizuta, Tsugumi Fujita, Yukiko Nishikubo, Eiichi Kumamoto: Inhibition by capsaicin and its related vanilloids of compound action potentials in frog sciatic nerves. *Life Sciences*, **92** (6-7), 368-378 (2013). ( 査読有 ) DOI: 10.1016/j.lfs.2013.01.011.

Hiroki Kawasaki, Kotaro Mizuta, Tsugumi Fujita, Eiichi Kumamoto: Inhibition by menthol and its related chemicals of compound action potentials in frog sciatic nerves. *Life Sciences*, **92** (6-7), 359-367 (2013). ( 査読有 ) DOI: 10.1016/j.lfs.2013.01.012.

松下晋大, 藤田亜美, 水田恒太郎, 大坪瀬奈, 蒋昌宇, 上村裕平, 小杉寿文, 熊本栄一: カエル坐骨神経の複合活動電位に及ぼす漢方薬の作用. *Pain Research*, **28** (1), 9-21 (2013). ( 査読有 ) <http://dx.doi.org/10.11154/pain.28.9>.

②1 Kotaro Mizuta, Tsugumi Fujita, Eiichi Kumamoto: Inhibition by morphine and its analogs of action potentials in adult rat dorsal root ganglion neurons. *Journal of Neuroscience Research*, **90** (9), 1830-1841 (2012). ( 査読有 ) DOI: 10.1002/jnr.23059.

②2 Masanari Inoue, Tsugumi Fujita, Masaaki Goto, Eiichi Kumamoto: Presynaptic enhancement by eugenol of spontaneous excitatory transmission in rat spinal substantia gelatinosa neurons is mediated by transient receptor potential A1 channels. *Neuroscience*, **210**, 403-415 (2012). ( 査読有 ) DOI: 10.1016/j.neuroscience.2012.02.040.

②3 Satoko Uemura, Tsugumi Fujita, Yoshiro Sakaguchi, Eiichi Kumamoto: Actions of a novel water-soluble benzodiazepine-receptor agonist JM-1232(-) on synaptic transmission in adult rat spinal substantia gelatinosa neurons. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **418** (4), 695-700 (2012). ( 査読有 ) DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.01.080.

②4 Kotaro Mizuta, Tsugumi Fujita, Eiichi Kumamoto: Actions of morphine and its related drugs on primary-afferent neurons - their clinical significances. *Advances in Medicine and Biology*, **45**, 27-52 (2012). ( 査読なし ) [https://www.novapublishers.com/catalog/product\\_info.php?products\\_id=29847&osCsId=94fb67ca2fa1440efdeab6082ec04ac5](https://www.novapublishers.com/catalog/product_info.php?products_id=29847&osCsId=94fb67ca2fa1440efdeab6082ec04ac5).

②5 川崎弘貴, 水田恒太郎, 藤田亜美, 熊本栄一: Menthol とその類似物質による蛙坐骨神経の複合活動電位の抑制. *Pain Research*, **27** (1), 37-51 (2012). ( 査読有 ) <http://dx.doi.org/10.11154/pain.27.37>.

②6 蒋昌宇, 藤田亜美, 楊柳, 水田恒太郎, 井上将成, 川崎弘貴, 徐年香, 松下晋大,

柳 涛, 熊本栄一: 成熟ラット脊髄膠様質ニューロンに及ぼすオキシトシンの作用. *脊髄機能診断学*, **34** (1), 30-39 (2012). (査読有) DOI および URL なし.

- ⑳ 楊 柳, 藤田亜美, 蔣 昌宇, 水田恒太郎, 井上将成, 川崎弘貴, 徐 年香, 松下晋大, 柳 涛, 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ピペリンとオルパニルの作用の差. *脊髄機能診断学*, **34** (1), 20-29 (2012). (査読有) DOI および URL なし.

[学会発表] (計 2 8 件)

藤田亜美, 徐 志昊, 蔣 昌宇, 朱 蘭, 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チモールの作用. 第 92 回日本生理学会大会. 2015.3.21. 神戸国際会議場・展示場(兵庫県神戸市).

蔣 昌宇, 藤田亜美, 徐 年香, 朱 蘭, 熊本栄一: 1,8-と 1,4-シネオールは互いに異なった仕方でシナプス前性に成熟ラット脊髄後角浅層ニューロンの自発性興奮性シナプス伝達を促進する. 第 92 回日本生理学会大会. 2015.3.21. 神戸国際会議場・展示場(兵庫県神戸市).

Eiichi Kumamoto, Tsugumi Fujita, Chang-Yu Jiang, Lan Zhu, Chong Wang: TRP activation by plant-derived chemicals in the adult rat superficial dorsal horn. The 12th Korea-Japan Joint Symposium of Brain Sciences, and Cardiac and Smooth Muscle Sciences. 2015.1.23. Yongin (Republic of Korea).

Chang-Yu Jiang, Tsugumi Fujita, Lan Zhu, Chong Wang, Eiichi Kumamoto: Synaptic modulation by oxytocin in adult rat superficial dorsal horn neurons. The 12th Korea-Japan Joint Symposium of Brain Sciences, and Cardiac and Smooth Muscle Sciences. 2015.1.22. Yongin (Republic of Korea).

Chang-Yu Jiang, Tsugumi Fujita, Nian-Xiang Xu, Sena Ohtsubo, Akitomo Matsushita, Eiichi Kumamoto: Enhancements by 1,8- and 1,4-cineole of spontaneous excitatory transmission in adult rat spinal substantia gelatinosa neurons. *Neuroscience* 2014. 2014.11.17. Washington, D.C. (USA).

藤田亜美, 松下晋大, 大坪瀬奈, 蔣 昌宇, 熊本栄一: 蛙坐骨神経の複合活動電位の漢方薬による抑制 - 生薬間の相互作用. 第 37 回日本神経科学大会. 2014.9.13. パシフィコ横浜(神奈川県横浜市).

蔣 昌宇, 藤田亜美, 岳 海源, 熊本栄一: 成熟ラット脊髄膠様質ニューロンにおけるジングロン誘起 TRPA1 チャンネルの活性化. 37 回日本神経科学大会. 2014.9.11. パシフィコ横浜(神奈川県横浜市).

蔣 昌宇, 藤田亜美, 朱 蘭, 熊本栄一: 成熟ラット脊髄後角浅層ニューロンのシナプス伝達に及ぼすオキシトシンの作用: 鎮痛作用

機序. 第 24 回日本病態生理学会大会. 2014.8.9. 北九州国際会議場(福岡県北九州市).

蔣 昌宇, 藤田亜美, 徐 志昊, 大坪瀬奈, 松下晋大, 熊本栄一: ラット脊髄後角第 II 層ニューロンのオキシトシン誘起内向き膜電流の細胞内機序. 第 36 回日本疼痛学会. 2014.6.20. KKR ホテル大阪(大阪府大阪市).

蔣 昌宇, 藤田亜美, 大坪瀬奈, 松下晋大, 徐 志昊, 熊本栄一: 成熟ラット脊髄膠様質ニューロンにおけるオキシトシン誘起内向き膜電流の発生機序. 第 91 回日本生理学会大会. 2014.3.16. 鹿児島大学郡元キャンパス(鹿児島県鹿児島市).

藤田亜美, 羅 清甜, 蔣 昌宇, 康 欽, 大坪瀬奈, 松下晋大, 熊本栄一: ラット脊髄膠様質ニューロンにおいてカルバクロールにより誘起される自発性興奮性シナプス伝達の促進と外向き膜電流. 第 91 回日本生理学会大会. 2014.3.16. 鹿児島大学郡元キャンパス(鹿児島県鹿児島市).

熊本栄一, 藤田亜美, 蔣 昌宇, 徐 志昊, 大坪瀬奈, 松下晋大: TRP チャンネルとシナプス活動. 第 91 回日本生理学会大会. 2014.3.18. 鹿児島大学郡元キャンパス(鹿児島県鹿児島市).

Chang-Yu Jiang, Tsugumi Fujita, Hai-Yuan Yue, Sena Ohtsubo, Akitomo Matsushita, Zhi-Hao Xu, Eiichi Kumamoto: Vanilloid zingerone enhances spontaneous excitatory transmission by activating TRPA1 but not TRPV1 channels in the adult rat substantia gelatinosa. The 5th Asian Pain Symposium. 2013.12.18. 岡崎カンファレンスセンター(愛知県岡崎市).

Chang-Yu Jiang, Tsugumi Fujita, Qing-Tian Luo, Qin Kang, Sena Ohtsubo, Akitomo Matsushita, Eiichi Kumamoto: Modulation by oxytocin of excitatory and inhibitory synaptic transmission in adult rat spinal substantia gelatinosa neurons. *Neuroscience* 2013. 2013.11.13. San Diego (USA).

Qing-Tian Luo, Tsugumi Fujita, Chang-Yu Jiang, Qin Kang, Toshiharu Yasaka, Sena Ohtsubo, Akitomo Matsushita, Eiichi Kumamoto: Effect of carvacrol on glutamatergic spontaneous excitatory transmission in adult rat spinal substantia gelatinosa neurons. *Neuroscience* 2013. 2013.11.13. San Diego (USA).

Chang-Yu Jiang, Tsugumi Fujita, Sena Ohtsubo, Akitomo Matsushita, Zhi-Hao Xu, Eiichi Kumamoto: Cellular mechanisms for inward currents produced by oxytocin in adult rat spinal superficial dorsal horn neurons. The 4th Asia-Pacific International Peptide Symposium. 2013.11.6. Hotel Hankyu Expo Park(大阪府吹田市).

羅 清甜, 藤田亜美, 蔣 昌宇, 康 欽, 大坪瀬奈, 松下晋大, 熊本栄一: 成熟ラット脊髄膠様質ニューロンの自発性のグルタミン酸作動性興奮性シナプス伝達に及ぼすカルバ

クローラ作用. 第 35 回日本疼痛学会. 2013.7.12. 大宮ソニックシティ(埼玉県大宮市).

蔣 昌宇, 藤田亜美, 羅 清甜, 康 欽, 大坪瀬奈, 松下晋大, 熊本栄一: 成熟ラットの脊髄後角におけるオキシトシンによる鎮痛作用の細胞レベル機序. 第 35 回日本疼痛学会. 2013.7.12. 大宮ソニックシティ(埼玉県大宮市).

蔣 昌宇, 藤田亜美, 羅 清甜, 康 欽, 大坪瀬奈, 松下晋大, 熊本栄一: 成熟ラットの脊髄後角におけるオキシトシンの鎮痛作用機序. 第 36 回日本神経科学大会. 2013.6.20. 国立京都国際会館(京都府京都市).

藤田亜美, 徐 年香, 蔣 昌宇, 羅 清甜, 康 欽, 八坂敏一, 大坪瀬奈, 松下晋大, 熊本栄一: 1,8-および 1,4-シネオールは成熟ラット脊髄膠様質ニューロンのグルタミン酸作動性の自発性興奮性シナプス伝達を促進する. 第 36 回日本神経科学大会. 2013.6.20. 国立京都国際会館(京都府京都市).

⑳ 藤田亜美, 徐 年香, 蔣 昌宇, 羅 清甜, 康 欽, 八坂敏一, 松下晋大, 大坪瀬奈, 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 1,8-および 1,4-シネオールの作用. 第 90 回日本生理学会大会. 2013.3.28. タワーホール船堀(東京都江戸川区).

㉑ 蔣 昌宇, 藤田亜美, 徐 年香, 羅 清甜, 康 欽, 松下晋大, 大坪瀬奈, 熊本栄一: オキシトシンは成熟ラットの脊髄膠様質ニューロンの興奮性シナプス伝達に影響せずに抑制性シナプス伝達を促進する. 第 90 回日本生理学会大会. 2013.3.28.

㉒ Chang-Yu Jiang, Tsugumi Fujita, Nian-Xiang Xu, Akitomo Matsushita, Sena Ohtsubo, Tao Liu, Eiichi Kumamoto: Oxytocin modulates the membrane excitability of adult rat spinal substantia gelatinosa neurons in a biphasic manner. *Neuroscience* 2012. 2012.10.15. New Orleans, (USA).

㉓ Nian-Xiang Xu, Tsugumi Fujita, Chang-Yu Jiang, Akitomo Matsushita, Sena Ohtsubo, Toshiharu Yasaka, Kotaro Mizuta, Tao Liu, Eiichi Kumamoto: Effects of cineole on spontaneous excitatory synaptic transmission in adult rat spinal substantia gelatinosa neurons. *Neuroscience* 2012. 2012.10.15. New Orleans, (USA).

㉔ 蔣 昌宇, 藤田亜美, 羅 清甜, 康 欽, 松下晋大, 大坪瀬奈, 熊本栄一: 成熟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オキシトシンによる促進. 第 49 回ペプチド討論会. 2012.11.8. 鹿児島県民交流センター(鹿児島県鹿児島市).

㉕ 蔣 昌宇, 藤田亜美, 徐 年香, 八坂敏一, 松下晋大, 熊本栄一: オキシトシンは成熟ラット脊髄膠様質ニューロンの膜興奮性を二相性に制御する. 第 35 回日本神経科学大会. 2012.9.19. 名古屋国際会議場(愛知県名古屋市).

㉖ 熊本栄一, 藤田亜美, 松下晋大, 大坪瀬奈, 蔣 昌宇, 羅 清甜, 康 欽: オピオイドの末梢神経に対する作用: 神経生理学の立場から. 第 22 回日本病態生理学会. 2012.8.5. 湯布院厚生年金病院(大分県由布市).

㉗ 蔣 昌宇, 藤田亜美, 松下晋大, 八坂敏一, 上村聡子, 熊本栄一: 成熟ラット脊髄膠様質ニューロンの抑制性シナプス伝達に及ぼすオキシトシン作用. 第 34 回日本疼痛学会. 2012.7.21. 熊本市国際交流会館(熊本県熊本市).

#### [図書](計3件)

熊本栄一, 藤田亜美: 文光堂(東京). 痛みの Science&Practice 5. 痛み診療キーポイント. 川真田樹人(編). pp.45-46 (2014).

熊本栄一, 藤田亜美: 丸善出版(東京). 脳とニューロンの生理学 - 情報伝達・発生・意識. 小島比呂志(編). pp.104-145 (2014).

Eiichi Kumamoto, Kotaro Mizuta, Tsugumi Fujita: Nova Science Publishers. (New York, USA). *Frogs: Biology, Ecology and Uses*. James L. Murray (Ed.). pp.89-106 (2012).

#### [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]

研究代表者の所属研究室のホームページ:  
<http://www.neurophysiology.med.saga-u.ac.jp>

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

熊本 栄一(Kumamoto, Eiichi)  
佐賀大学・医学部・教授  
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