Review Article

The role of GABA_B receptor in spinal nociceptive transmission

Kaori Takeshima, Hidemasa Furue, and Megumu Yoshimura

Department of Integrative Physiology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University

[Received 25 December 2006, Accepted 2 February 2007]

Abstract

Gamma-aminobutyric acid (GABA) is one of the important inhibitory neurotransmitters in the central nervous system. GABA acts on GABA receptors classified into metabotropic G-protein-coupled GABA_B receptor and ionotropic GABA_A receptor. In the substantia gelatinosa (SG) of the spinal dorsal horn, noxious information is transmitted through A δ and C afferent fibers. In addition to the excitatory synaptic inputs from the noxious afferent fibers, SG neurons also receive abundant GABAergic synaptic inputs from spinal interneurons. Therefore, the SG is thought to have a critical role for GABA-mediated modulation of nociceptive transmission. In behavioral studies, intrathecal administration of baclofen, a selective GABA_B receptor agonist, produces antinociception. In order to determine the cellular mechanisms of GABA_B receptor-mediated modulation of spinal nociceptive transmission, we examined actions of baclofen on excitatory synaptic transmission in the SG using whole-cell patch-clamp recordings from spinal cord slices and *in vivo* preparations of rats. SG neurons in the slices exhibited miniature excitatory postsynaptic currents (mEPSCs) in the presence of TTX. Baclofen decreased the frequency but not amplitude of mEPSCs. Stimulation of the dorsal root attached to the slices evoked monosynaptic EPSCs in SG neurons mediated through activation of A δ and C afferent fibers. Baclofen more potently inhibited the amplitude of C fiber-evoked EPSCs than that of A δ fiber-evoked EPSCs. In the *in vivo* patch-clamp analysis, baclofen applied to the surface of the spinal cord, suppressed the amplitude of EPSCs in SG neurons evoked by pinch stimulation applied to the skin. Baclofen also induced outward currents which were blocked by GDP- β -S or Cs⁺ added to the patch pipette solution. These results suggest that baclofen acts on presynaptic terminals of mechano-sensitive C and A δ afferent fibers in the SG to reduce glutamate releases and on the postsynaptic membrane to induce membrane hyperpolarization by activation of K⁺ channels. Our findings provide a cellular explanation for the GABA_B receptor-mediated antinociception in the spinal cord.

Key words: GABA; Baclofen; Pain; Synaptic response; *in vivo* patch-clamp

PAIN RESEARCH 22 (2007) 1–9

脊髄内痛覚伝達における GABA_B 受容体の役割

竹島 香／古江 秀昌／吉村 恵

九州大学大学院 医学研究院 統合生理学

はじめに

Gamma-aminobutyric acid B (GABA_B) 受容体は主要な抑制性伝達物質である GABA の代謝型 (G 蛋白質共役型) 受容体であり, Cl⁻ イオンチャネル型の GABA_A 受容体とともに脳や脊髄内に広く分布し, 中枢神経系における情報伝達の抑制に中心的な役割を果たす。GABA_B 受容体が活性化されると, G 蛋白質の活性化を介するために数秒に及ぶ緩徐な過分極 (最終的に K チャネルを活性化する) が発生し, 速い抑制性シナプス応答 (数十ミリ秒) を惹起する GABA_A 受容体に比べ, ニューロンの興奮性をより長期に抑えることができる。また, GABA_B 受容体はシナプス終末部にも密に発現しているため, 伝達物質の放出量をシナプス前性に抑制する (Fig.1A)。したがって, GABA_A 受容体に比し, 抑制作用時間が長く, かつ入力する情報をシナプス前性に選択的に抑制できることが, GABA_B 受容体を介した抑制系の注目すべき特徴である^{2,15)}。

最近の神経因性疼痛モデル動物を用いた研究から, 脊髄後角表層において, Cl⁻ トランスポーターの発現量の変化が原因となり, Cl⁻ の平衡電位が脱分極側へシフトし, GABA_A 受容体を介するシナプス応答の抑制作用が減弱することが報告された^{3,4)}。また, 同種の神経因性疼痛モデルにおいて GABA 作動性ニューロンが脱落 (細胞死) することも報告されており^{13,16)}, GABA を介する脊髄痛覚抑制系の異常 (抑制作用の減弱) は, 神経因性疼痛発現機序の 1 つとして重要視されている。GABA_B 受容体が長時間かつ入力選択的な抑制能を有することから, GABA 作動性ニューロンの脱落による GABA_B 受容体を介した抑制作用の減弱も, 神経因性疼痛発症に大きく寄与するものと考えられる。一方, GABA 誘導体であり選択的

な GABA_B 受容体作動薬であるバクロフェンは, 脳梗塞や脊髄損傷後に起こる筋緊張の亢進 (痙縮) に対する治療薬として使用されている。筋緊張の軽減が目的であるが, 同時に鎮痛作用を示すことも知られている。

バクロフェンの鎮痛作用は動物を用いた行動薬理学的研究により明確にされている^{11,18)} が, 近年我々は, 脊髄スライスパッチクランプ法や *in vivo* パッチクランプ法などの電気生理学的手法^{7, 19,21,23,24)} を用い, その脊髄における抑制作用機序の詳細をシナプスレベルで明らかにした^{1,8)}。本稿では, 現在までに得られた我々の研究成果を紹介し, GABA_B 受容体を介した脊髄痛覚伝達系における抑制作用機序を概説したい。

脊髄膠様質における興奮性シナプス伝達に対する GABA_B 受容体作動薬バクロフェンの作用

脊髄後角第 II 層, いわゆる膠様質は, 痛みを伝える A δ線維や C 線維の密な投射を受けるとともに, GABA 作動性ニューロンが多く存在するなど, 痛みの伝達やその調節に重要な役割を果たすと考えられている (Fig.1B)^{5,10,17,20,22)}。そこで, 成熟ラットの脊髄スライス標本を用い, 膠様質ニューロンからパッチクランプ記録を行い, バクロフェンの鎮痛作用機序を解析した。膜電位を -70 mV に固定すると, 下向きの自発性興奮性シナプス後電流 (excitatory postsynaptic current, EPSC) が記録された。この保持電位は Cl⁻ の平衡電位とほぼ一致するため, 抑制性シナプス後電流 (inhibitory postsynaptic current, IPSC) は観察されず, 興奮性のシナプス入力のみを観察することができる。また, 電位依存性 Na⁺ チャネルの阻害薬であるテトロドトキシン (TTX) 存在下でも観察

Fig.1 Schematic diagrams of synaptic modulation mediated through activation of GABA_B receptor and nociceptive transmission in the SG of the spinal cord.

A. Activation of G-protein-coupled GABA_B receptors expressed in the postsynaptic membrane produces an outward current by the opening of K channels. On the other hand, GABA_A receptors mainly mediate fast IPSCs. The time course of the GABA_B mediated outward currents is much longer than that of the IPSCs. GABA_B receptors are also expressed in the presynaptic terminals. Activation of the presynaptic receptors results in inhibition of transmitter release.

B. Nociceptive Aδ and C afferent fibers make an excitatory synaptic contact with SG neurons. In addition of the excitatory synaptic inputs from periphery SG neurons also receive abundant GABAergic synaptic inputs from spinal interneurons.

される EPSC は miniature EPSC (微小興奮性シナプス後電流, mEPSC) と呼ばれ, 活動電位がシナプス終末部に伝わらない時でも興奮性の伝達物質であるグルタミン酸が自発的にシナプス終末部から放出されるために誘起されるシナプス電流である. mEPSC は AMPA 受容体の阻害薬である

CNQX により抑制される^{5,14}). 我々はバクロフェンのシナプス前性の作用を調べるため, G 蛋白質の活性化を抑える GDP-β-S, および K⁺ チャネルの阻害薬である Cs⁺ を記録電極内に添加し, シナプス後性の作用を抑制した. この条件下でバクロフェンを灌流投与すると, **Fig.2** に示すように記

Fig.2 Effect of baclofen on miniature EPSCs evoked in SG neurons. **A.** Continuous chart recordings of mEPSCs under the voltage-clamp condition showing the baclofen (100 μ M) action. The holding potential (V_H) was -70 mV. Three consecutive traces of mEPSCs as shown in an expanded time scale. **B, C.** Cumulative distributions of the amplitude and inter-event interval of mEPSCs, before (continuous line) and during (dotted line) the action of baclofen showing that baclofen decreased the frequency of mEPSCs but not amplitude.

From Iyadomi et al., 2000 with permission.

録したすべての膠様質ニューロンにおいて mEPSC の発生頻度が著明に減少した。一方、その振幅には変化はみられなかった。シナプス終末部からのグルタミン酸放出頻度のみが変化したことから、バクロフェンはシナプス前性に作用し、その放出頻度を減少させることが明らかになった。1 nM から 100 μ M の異なる濃度のバクロフェンを投与すると、濃度依存性に mEPSC の発生頻度が減少し

Fig.3 Dose-dependent inhibition of the mEPSCs frequency by baclofen.

A. Inhibition of mEPSCs by baclofen at various concentrations. Each of the records was obtained from the same neuron.

B. Frequency (○) and amplitude (■) of mEPSCs under the action of baclofen, relative to those in the control, which are plotted against baclofen concentration. IC_{50} value for baclofen was estimated to be 5.04 μ M.

From Iyadomi et al., 2000 with permission.

た。 IC_{50} は約 5 μ M であった。一方、試したどの濃度のバクロフェンも mEPSC の振幅には影響を与えなかった (**Fig.3**)。以上の結果より、バクロフェンは膠様質におけるグルタミン酸作動性ニューロンの終末部に発現する GABA_B 受容体を活性化してグルタミン酸放出頻度を減少させ、興奮性シナプス伝達を抑制することが示された⁸⁾。

Fig.4 Effects of baclofen on monosynaptic A δ and C fiber-evoked EPSCs.

A, B, C. Average traces of 12 consecutive EPSCs are shown before (left), during (middle) and after (left) the application of baclofen (1 μ M). Monosynaptic EPSCs were evoked by A δ – (**A**), C– (**B**), and both A δ – and C–afferent stimuli (**C**). Baclofen inhibited the amplitude of both A δ – and C–fiber-evoked EPSCs. Note that inhibition of the amplitude of C fiber-evoked EPSCs is greater than that of A δ –fiber-evoked EPSCs. **D.** Summary showing effects of baclofen on A δ and C fiber-evoked EPSCs. **E.** Effects of baclofen on monosynaptic A δ and C fiber-evoked EPSCs in the absence and presence of CGP35348, a selective antagonist of GABA_B receptor. From Ataka et al., 2000 with permission.

抑制性シナプス伝達に対する バクロフェンの作用

固定電位を EPSC の逆転電位 (平衡電位) である 0 mV にすると EPSC は観察されず, IPSC のみが上向きの電流として記録される. 膠様質ニューロンには, GABA_A 受容体を介した IPSC とグリシン受容体を介した IPSC が誘起される. グリシン受容体阻害薬であるストリキニンと TTX 存在下で, GABA 作動性 mIPSC に対するバクロフェンの作用を解析した. バクロフェンは濃度依

存性に mIPSC の発生頻度を著明に減少させた. IC₅₀ は約 5 μ M であった. 一方, 振幅には影響を与えなかった. バクロフェンは GABA 作動性ニューロンのシナプス終末部にも作用して, その伝達物質の放出を抑制することが示された⁸⁾.

A δ 線維や C 線維を介した 興奮性シナプス伝達に対する バクロフェンの効果

A δ 線維や C 線維を介した興奮性シナプス伝達

に対するバクロフェンの作用を解析するため、後根を付した脊髄スライス標本を作製した。膠様質ニューロンから記録を行い後根を電気刺激すると、潜時の短い EPSC と潜時の長い EPSC が誘起される。潜時と後根の長さから求めた伝導速度や刺激閾値から膠様質ニューロンに inputs する線維を同定することができる。また、後根を頻回刺激したときに、応答発生の failure がなく潜時が一定であることを基準に、単シナプス性の inputs であるか否かを同定できる^{1,12,19,21)}。膠様質ニューロンには A δ 線維（伝導速度： ~ 7 m/s）あるいは C 線維（伝導速度： ~ 0.5 m/s）を介した単シナプス性 EPSC が誘起された。Fig.4 に示すように、A δ 線維あるいは C 線維のみの inputs を受ける細胞と A δ 線維と C 線維の双方の inputs を受ける細胞が観察された。バクロフェン（1 μ M）を投与すると、A δ 線維および C 線維誘起の EPSC の振幅はともに可逆的に減少した。興味深いことに、その抑制率は C 線維誘起の EPSC が約 80%、A δ 線維誘起の EPSC は約 55% となり、バクロフェンは C 線維誘起の EPSC の振幅を有意に強く抑制することが明らかになった。GABA_B 受容体選択的阻害薬である CGP35348 存在下でバクロフェンを投与すると、バクロフェンによる A δ 線維や C 線維誘起の EPSC に対する抑制効果は消失した。すなわち、バクロフェンによる抑制作用は GABA_B 受容体を介することが確認された¹⁾。

以上の結果より、バクロフェンは A δ 線維、C 線維のシナプス終末部に発現する GABA_B 受容体に作用し、グルタミン酸の放出量を減少して興奮性シナプス伝達を抑制する。また、A δ 線維に対する抑制効果よりも、C 線維に対する効果が強いことが示された。このバクロフェンによる A δ 線維と C 線維に対する抑制作用の違いは、それぞれのシナプス終末部に発現する GABA_B 受容体数が

異なる、あるいは、発現する GABA_B 受容体のサブタイプが異なることに起因すると考えられた。C 線維を介した興奮性シナプス inputs をより強く抑制するというバクロフェンの選択的抑制作用は、GABA_B 受容体を介するシナプス前性の抑制系が、A δ 線維を介する速い痛みの伝達より C 線維を介する遅い痛みを有効に抑制することを意味している。

In vivo パッチクランプ法を用いた 機械的痛みシナプス伝達に対する バクロフェンの効果

バクロフェンが実際にどのような痛みの伝達を抑制するかを調べるため、*in vivo* パッチクランプ記録法を用いた解析を行った。*In vivo* パッチクランプ法は、皮膚へ生理的な痛み刺激を加え、それによって誘起される膠様質ニューロンのシナプス応答を詳細に解析できる特徴を持つ^{5,7,23,24)}。そこで *in vivo* パッチクランプ法を用い、ラット後肢に加えた機械的痛覚刺激に対するバクロフェンの作用を解析した。麻酔下にラットを、椎弓切除を行って腰部脊髄を露出した後、脳-脊髄固定装置にセットした。脊髄表面から記録電極を膠様質に刺入し、膠様質ニューロンからパッチクランプ記録を行った。まず、K-gluconate を主成分とする通常の電極内液を用い、膠様質ニューロンの膜電位変化を電流固定下に記録した。膠様質ニューロンは約 -70 mV の静止電位を有し、自発性の興奮性シナプス後電位（excitatory postsynaptic potential, EPSP）が観察された。有鉤ピンセットを用いて後肢皮膚にピンチ刺激を加えると、EPSP の発生頻度と振幅が著明に増大し、膠様質ニューロンに活動電位が発生した^{5,9)}。バクロフェンを脊髄表面から投与すると膠様質ニューロンは 10 mV 程

Fig.5 Effects of baclofen on action potentials (APs) elicited by noxious mechanical stimulation *in vivo*.

A. Action potentials elicited by cutaneous pinch stimulation before (left), during (middle) and after (right) application of baclofen (10 μ M) showing baclofen inhibition. Baclofen hyperpolarized the recorded SG neuron and inhibited pinch-elicited APs. **B.** Postsynaptic action of baclofen. Baclofen produced an outward current under the voltage-clamp condition.

度過分極した。バクロフェン存在下で同様にピンチ刺激を加えると EPSP は発生したが、活動電位は発生しなかった。バクロフェンを washout すると過分極は消失し、コントロールと同様にピンチ刺激によって活動電位が発生した (**Fig.5A**)。次に、 -70 mV の電位固定下でバクロフェンを投与すると約 35 pA の大きな外向き電流が発生した (**Fig.5B**)。記録電極内に GDP- β -S あるいは Cs^+ を添加し、記録開始から約 20 分経過すると、この外向き電流 (バクロフェンのシナプス後性の作用) は完全に抑制された。そこで、シナプス後性の外向き電流あるいは過分極を抑制した条件下で、機械的痛み刺激によって誘起される EPSC に対するバクロフェンの抑制作用を解析した。ピンチ刺激

によって膠様質ニューロンに振幅の大きな EPSC が発生した。これら振幅の大きな EPSC は TTX により完全に抑制された。バクロフェンを投与すると、ピンチ刺激によって誘起された振幅の大きな EPSC の発生頻度と振幅がともに抑制された。

In vivo パッチクランプ記録法から得られた結果と脊髓スライス標本から得られた結果を合わせて考察すると、バクロフェンは、1) シナプス前性に作用してグルタミン酸の放出量を減少させ、機械的痛みを伝える C 線維や A δ 線維、特に C 線維を介した興奮性のシナプス伝達を著明に抑制する、2) シナプス後性に作用して G 蛋白質を介して K^+ チャネルを活性化し、細胞を過分極させて膠様質ニューロンの興奮性を低下させる、したがって、3)

Fig.6 Schematic diagram of the modulation of nociceptive transmission in the SG mediated through activation of GABA_B receptors.

Activation of GABA_B receptors expressed on presynaptic terminals of mechano-sensitive A δ and C afferent fibers and also GABAergic interneurons results in inhibition of transmitter release, whereas activation of postsynaptic GABA_B receptors hyperpolarizes SG neurons.

バクロフェンは膠様質ニューロンに入力する単シナプス性の興奮性入力を減弱させるとともに、興奮性介在ニューロンを介する多シナプス性入力数も減少させ、膠様質ニューロンへの痛みの伝達を抑制することが明らかになった (Fig.6)。

る⁶⁾。そして、このような研究が新たな治療法や鎮痛薬の開発に寄与することが期待される。

文 献

- 1) Ataka, T., Kumamoto, E., Shimoji, K., Yoshimura, M., Baclofen inhibits more effectively C-afferent than A δ -afferent glutamatergic transmission in substantia gelatinosa neurons of adult rat spinal cord slices, *Pain*, 86 (2000) 273-282.
- 2) Bettler, B., Kaupmann, K., Mosbacher, J., Gassmann, M., Molecular structure and physiological functions of GABA_B receptors, *Physiol. Rev.*, 84 (2004) 835-867.
- 3) Coull, J.A., Boudreau, D., Bachand, K., Prescott, S.A., Nault, F., Sik, A., De Koninck, P., De Koninck, Y., Trans-synaptic shift in anion gradient in spinal lamina I neurons as a mechanism of neuropathic pain, *Nature*, 424 (2003) 938-942.
- 4) Coull, J.A., Beggs, S., Boudreau, D., Boivin, D., Tsuda, M., Inoue, K., Gravel, C., Salter, M.W., De Koninck, Y., BDNF from microglia causes the shift in neuronal anion gradient underlying neuropathic pain, *Nature*, 438 (2005) 1017-1021.
- 5) Furue, H., Narikawa, K., Kumamoto, E., Yoshimura, M., Responsiveness of rat substantia gelatinosa neurones to mechanical but not thermal stimuli revealed by in vivo patch-clamp recording, *J. Physiol. (Lond.)*, 521 (1999) 529-535.

おわりに

GABA_B 受容体作動薬であるバクロフェンは、シナプス前性に作用し、興奮性および抑制性のシナプス伝達を抑制すること、特に、A δ 線維よりもC線維を介した機械的痛みの入力を強く抑えることが明らかになった。今後、GABAを介する脊髄痛覚抑制系に異常が生じる神経因性疼痛モデルなど、種々の疼痛モデルを用い、GABA_B 受容体を介する抑制系がいかなる可塑的变化を起こすかを明らかにすることが重要である。それには、ここに紹介した脊髄スライス標本や *in vivo* パッチクランプ法を用いた統合的な機能解析を行い、神経因性疼痛の発現機序を明確にすることが必要であ

- 6) Furue, H., Katafuchi, T., Yoshimura, M., Sensory processing and functional reorganization of sensory transmission under pathological conditions in the spinal dorsal horn, *Neurosci. Res.*, 48 (2004) 361-368.
- 7) Furue, H., Yoshimura, M., Electrophysiological analysis of plastic changes in nociceptive transmission, *Pain Clinic*, 28 (2007) 93-105.
- 8) Iyadomi, M., Iyadomi, I., Kumamoto, E., Tomokuni, K., Yoshimura, M., Presynaptic inhibition by baclofen of miniature EPSCs and IPSCs in substantia gelatinosa neurons of the adult rat spinal dorsal horn, *Pain*, 85 (2000) 385-393.
- 9) Kato, G., Yasaka, T., Katafuchi, T., Furue, H., Mizuno, M., Iwamoto, Y., Yoshimura, M., Direct GABAergic and glycinergic inhibition of the substantia gelatinosa from the rostral ventromedial medulla revealed by in vivo patch-clamp analysis in rats, *J. Neurosci.*, 26 (2006) 1787-1794.
- 10) Kumazawa, T., Perl, E. R., Excitation of marginal and substantia gelatinosa neurons in the primate spinal cord: indications of their place in dorsal horn functional organization, *J. Comp. Neurol.*, 177 (1978) 417-434.
- 11) Malan, T.P., Mata, H.P., Porreca, F., Spinal GABA_A and GABA_B receptor pharmacology in a rat model of neuropathic pain, *Anesthesiology*, 96 (2002) 1161-1167.
- 12) Matayoshi, S., Jiang, N., Katafuchi, T., Koga, K., Furue, H., Yasaka, T., Nakatsuka, T., Zhou, X.F., Kawasaki, Y., Tanaka, N., Yoshimura, M., Actions of brain-derived neurotrophic factor on spinal nociceptive transmission during inflammation in the rat, *J. Physiol. (Lond)*, 569 (2005) 685-695.
- 13) Moore, K.A., Kohno, T., Karchewski, L.A., Scholz, J., Baba, H., Woolf, C.J., Partial peripheral nerve injury promotes a selective loss of GABAergic inhibition in the superficial dorsal horn of the spinal cord, *J. Neurosci.*, 22 (2002) 6724-6731.
- 14) Nakatsuka, T., Ataka, T., Kumamoto, E., Tamaki, T., Yoshimura, M., Alteration in synaptic inputs through C-afferent fibers to substantia gelatinosa neurons of the rat spinal dorsal horn during postnatal development, *Neuroscience*, 99 (2000) 549-556.
- 15) Ong, J., Kerr, D.I., Clinical potential of GABA_B receptor modulators, *CNS Drug Rev.*, 11 (2005) 317-334.
- 16) Scholz, J., Woolf, C.J., Can we conquer pain?, *Nat. Neurosci.*, 5 Suppl (2002) 1062-1067.
- 17) Sugiura, Y., Lee, C.L., Perl, E.R., Central projections of identified, unmyelinated (C) afferent fibers innervating mammalian skin, *Science*, 234 (1986) 358-361.
- 18) von Heijne, M., Hao, J.X., Sollevi, A., Xu, X.J., Effects of intrathecal morphine, baclofen, clonidine and R-PIA on the acute allodynia-like behaviours after spinal cord ischaemia in rats, *Eur. J. Pain*, 5 (2001) 1-10.
- 19) Yang, K., Li, Y., Kumamoto, E., Furue, H., Yoshimura, M., Voltage-clamp recordings of postsynaptic currents in substantia gelatinosa neurons in vitro and its applications to assess synaptic transmission, *Brain Res. Brain Res. Protoc.*, 7 (2001) 235-240.
- 20) Yoshimura, M., Jessell, T.M., Primary afferent-evoked synaptic responses and slow potential generation in rat substantia gelatinosa neurons in vitro, *J. Neurophysiol.*, 62 (1989) 96-108.
- 21) Yoshimura, M., Nishi, S., Blind patch-clamp recordings from substantia gelatinosa neurons in adult rat spinal cord slices: pharmacological properties of synaptic currents, *Neuroscience*, 53 (1993) 519-526.
- 22) Yoshimura, M., Slow synaptic transmission in the spinal dorsal horn, *Prog. Brain Res.*, 113 (1996) 443-462.
- 23) 吉村恵, 古江秀昌, In vivo パッチクランプ法. In: 岡田泰伸 (Eds.), 新パッチクランプ実験技術法, 吉岡書店, 京都, 2001, pp140-146.
- 24) 古江秀昌, 園畑素樹, 吉村恵, マウス及びラット脊髄後角細胞からの in vivo パッチクランプ記録法, *日本生理学雑誌*, 65 (2003) 315-321.

Address for correspondence: Hidemasa Furue

Department of Integrative Physiology

Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University

3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan

Tel: 092-642-6089 / Fax: 092-642-6093

E-Mail: furueh@physiol.med.kyushu-u.ac.jp