

マウス体性感覚野可塑性における 末梢神経自発発火の役割

駒 形 成 司

新潟大学大学院医歯学総合研究科
生体機能調節医学専攻システム脳生理学分野
(主任：澁木克栄教授)

Induction of Mouse Somatosensory Cortical Plasticity after Disruption of Basal Firing in Peripheral Nerves

Seiji KOMAGATA

*Department of Neurophysiology
Brain Research Institute, Niigata University
(Director: Prof. Katsuei SHIBUKI)*

要 旨

末梢神経損傷は神経因性疼痛を引き起こす。これと同時に、末梢神経を切断すると大脳皮質一次体性感覚野の可塑性が数時間の内に生じる。しかし、神経因性疼痛と大脳皮質可塑性がどの様に関連しているのかは殆ど判っていない。本研究では、末梢神経切断によって急速に生ずる体性感覚野応答の可塑的变化をマウス経頭蓋フラビン蛋白蛍光イメージング法で記録し、その誘導メカニズムを解析した。麻酔下のマウスの前肢掌側を支配している正中・尺骨神経を切断すると、前肢掌側に馬毛ブラシで振動刺激を与えた時の体性感覚野応答は著しく減弱したが、切断後3時間以内に残存応答が増強された。その誘導メカニズムとして、末梢神経の自発発火が中枢に伝わらなくなると増強が生ずるのではないかと考えた。この可能性を支持する結果として、神経伝導をテトロドトキシンで阻害すると切断と同様な効果があった。また中枢側の神経断端に0.1Hzの電気刺激を与え続けたところ、体性感覚野応答の増強は生じなかった。次に神経軸索流によって中枢に運ばれる神経栄養因子が中枢に届かなくなると増強が生ずるのではないかという可能性についても検討した。まず、神経因性疼痛を鎮痛する効果が報告されているグリア細胞由来神経栄養因子(GDNF)を中枢側の神経断端に投与したところ、神経切断後の体性感覚野応答の増強が阻止された。様々な神経栄養因子のなかではGDNFが最も強い阻止効果を示した。しかし、このGDNFの効果はGDNFとテトロドトキシン(TTX)を同時に投与すると消失した。これらの結果から、神経切断後の体性感覚野応答の急速な増強は末梢神経の自発発火が中枢に伝わらなくなることによって生じ、その自発発火の発生にはGDNFが関与している可能性があることが示唆された。

キーワード：大脳皮質体性感覚野、フラビン蛋白蛍光イメージング、GDNF、神経因性疼痛

緒 言

外傷によって末梢神経が損傷されると、本来痛みを起こさない触刺激に対して痛みを感じるようになったり、侵害刺激に対してより痛みを強く感じるようになる (Bennett and Xie, 1988; Kim and Chung, 1992; Decosterd and Woolf, 2000). このような神経因性疼痛の発症メカニズムは複雑であり、様々な炎症反応や遺伝子発現を介しているため (Campbell and Meyer, 2006)、基本的な病態メカニズムの特定が難しく、未だに効果的な治療法が確立されていない。一方、末梢神経を損傷すると、大脳皮質体性感覚野脳地図の再編や、近傍の神経を介する皮質応答の増強が数時間の内に生じる (Calford and Tweedale, 1988; Hickmott and Merzenich, 2002). これまでこの2つの現象は別々のものとして研究されてきたが、慢性期の幻肢痛患者では、痛みの度合いと大脳皮質の可塑性との間に強い相関のあることが報告されている (Flor et al., 1995). 従って、急性期でも末梢神経損傷後に生じる神経因性疼痛と大脳皮質可塑性とが密接に関連する可能性がある。しかし、この仮説を検証するには従来の行動実験による評価方法を用いただけでは困難である。何故なら、神経因性疼痛を引き起こすための処置を施してから行動実験評価を行うまでに回復期間が必要となり、この間に様々な炎症反応や遺伝子発現が生じ、神経因性疼痛の初期段階が様々な修飾を受けてしまう可能性があるからである。また行動実験は動物の状態を直接評価できる利点がある反面、痛み以外の様々な要因に影響される可能性がある。

本研究では末梢神経損傷により生ずる大脳皮質体性感覚野の変化を直接研究するため、マウスの末梢神経を切断した後の大脳皮質一次体性感覚野応答の変化を経頭蓋フラビン蛋白蛍光イメージングによって解析した。脳組織中のミトコンドリアフラビン蛋白蛍光は神経活動依存的に変化する (Shibuki et al., 2003; Reinert et al., 2004). マウスは頭蓋骨が透明であるため、フラビン蛋白蛍光を経頭蓋的に観察し、脳機能イメージングを行うことが出来る (Tohmi et al., 2006; Kubota et al.,

2008; Kitaura et al., 2010). この方法は手術手技も簡便であり、マウスへの侵襲も最小限に抑えられる。フラビン蛋白蛍光は退色に強く、一旦退色しても自発的に回復するため (Kubota et al., 2008)、安定した脳活動の計測が可能である。本法によって、マウスの尾を切断したことによる体性感覚野脳地図の可塑性が記録できることが既に報告されている (Kitaura et al., 2010).

本研究では、経頭蓋フラビン蛋白蛍光イメージングによりマウスの前肢掌側を支配する正中・尺骨神経を切断し、数時間以内に生ずる大脳皮質一次体性感覚野の応答変化を解析した。また、この応答変化が末梢神経の自発発火が中枢に伝わらなくなることによってトリガーされること、末梢神経の自発発火の発生に GDNF が関与する可能性のあることを明らかにした。

材料及び方法

本研究は新潟大学実験動物倫理委員会の承認を得て行われた。実験には雄の C57BL/6 マウス (チャールズリバー) を使用した。

手術

ウレタン (1.5-1.65 g/kg) を腹腔内に投与してマウスを麻酔した。シリコンラバーヒーターを使用して体温を維持した。頭皮を剃毛し、局所麻酔剤 (Mercain; Astra Zeneca) を皮下注射し、右側体性感覚野を露出するように切開した。頭部の固定は、歯科用レジン (Super Bond; サンメディカル) で金属片を頭蓋骨に接着し、その金属片をマニピュレータに固定する方法を用いた。露出した頭蓋骨表面は流動パラフィンとワセリンの混合物を塗布し、透明度を保った。必要に応じて、ウレタン (0.1-0.2 g/kg, s.c.) の追加投与を行った。

フラビン蛋白蛍光イメージング

脳活動の計測は麻酔をかけてから 60 分以降に開始した。落射蛍光実体顕微鏡 (MZ FL III; Leica) のキセノンランプ光源 (75 W) からフィルターを介して青色光 ($\lambda = 470-490 \text{ nm}$) を取り出し

て頭蓋骨表面へ照射し、右側一次体性感覚野を含む緑色 ($\lambda = 500-550 \text{ nm}$) 蛍光画像 (128 × 160 ピクセル, 2.56 × 3.20 mm) を顕微鏡に装備した冷却 CCD カメラ (ORCA-ER; 浜松ホトニクス) で毎秒 9 枚計測した。左前肢の掌側を機械刺激装置 (DPS-290; ダイアメディカルシステム) に取り付けられた馬毛ブラシで刺激し (振幅 0.2 mm, 50 Hz, 600 ms), 前後の蛍光変化を記録した。この試行を 50 秒毎に行い, 16 ~ 24 試行の結果を加算平均した。さらに, 5 × 5 ピクセルの空間加算平均によって画質をスムーズ化した。処理をした画像は, 刺激直前 5 枚の画像の平均を 100% とする相対的蛍光変化 ($\Delta F/F_0$) を計算し, 擬似スケールで提示した。反応振幅は 20 × 20 ピクセル (400 × 400 μm) 内の最大値 $\Delta F/F_0$ として評価した。計測終了後, マウスはペントバルビタールの過剰投与により安楽死させた。

末梢神経切断

左前肢の掌側を支配している正中・尺骨神経 (Medial and ulner nerves, 以下 M/U 神経) を左腕神経叢の位置で切断した。M/U 神経を腕神経叢からピンセットを使って解離し, 神経に縫合糸を通した状態で計測を行った。その後, 神経に通している縫合糸の両端を引き, マウス頭部を移動させずに神経を露出させ, 剪刀で切断した。さらに切断直後及び 3 時間後の体性感覚野応答を計測した。

末梢神経伝導障害

末梢神経の伝導障害には, Na^+ チャンネル阻害剤であるテトロドトキシン (TTX) と TTX 抵抗性 Na^+ チャンネル阻害剤であるタランチュラ毒 (ProTx-I) を使用した (Middleton et al., 2002)。TTX は生理食塩水で溶かしたフィブリノゲン (100mg/ml) と混合し, トロンビン (100 U/ml) を加えてフィブリンクロットを作り, M/U 神経周囲に投与した。TTX 等が神経以外に作用しないように, フィブリンクロットと神経の周りをシリコンチューブで囲み, さらにパラフィルムで周辺組織と分離した。

電気刺激を M/U 神経の中枢側断端に与える際には, 双極電極を断端に取り付け, 神経切断直後から単相の電流パルス (100 μs , 10 μA) を 0.1 Hz の頻度で与え続けた。

神経栄養因子投与

グリア細胞由来神経栄養因子 (GDNF) の他に, NGF, BDNF, NT-3, NT-4 の効果を解析した。これらの栄養因子は生理食塩水で溶かし, フィブリンクロットに混入して M/U 神経の中枢側断端に与えた。神経栄養因子が周辺組織に作用しないよう, 神経断端とフィブリンクロットをパラフィルムで包んだ。

試薬

TTX, フィブリノゲン, トロンビン, NGF, BDNF 及び NT-4 は和光純薬工業から購入した。ProTx-I はペプチド研究所から購入した。NT-3 と GDNF は PeproTech (London, UK) から購入した。

統計

実験データの統計的有意性の評価には StatView (SAS Institute, Cary, NC) を使用し, Wilcoxon signed rank test 及び Mann-Whitney *U* test で評価した。

結 果

末梢神経切断後の体性感覚野応答増強

マウスの左前肢掌に馬毛ブラシ刺激を与えると, 右体性感覚野のフラビン蛋白蛍光信号は刺激開始後 0.4-0.5 秒でピークに達し, その後血管反応が観察された (図 1A)。

末梢神経切断後の大脳皮質一次体性感覚野応答の消長を解析するために, 左前肢掌の支配神経である正中・尺骨 (M/U) 神経 (図 1B, C) を切断した。M/U 神経を切断した直後 (0 h), 体性感覚野応答は切断前 (Before) に比べて著しく減弱する (図 1C)。しかし, 経時的に計測を続けると 3 時間後 (3 h) には体性感覚野応答の増強が生じ

た。M/U神経切断直後(0h)の体性感覚野応答振幅を1.0として各時間における応答振幅を比較すると、切断前は 3.7 ± 0.4 (mean \pm SEM, $n=6$)であった応答が切断直後に1.0となり、切断3時間後には 2.0 ± 0.2 まで応答が回復し、切断直後に比べて有意に増強した(図1D, $n=6$, $P < 0.03$)。シャム手術では計測期間中に有意な体性感覚野応答の変化は観察されなかった($n=7$)。

末梢神経の薬理的伝導阻害後に生じる体性感覚野応答の増強

M/U神経切断後に生ずる体性感覚野応答の増強がどのように引き起こされるのかを解明するために、本研究では二つの仮説を検証した。第一は末梢神経には自発発火が存在し、神経切断によってこの発火が中枢に伝わらなくなると増強が生じるという仮説である。第二は末梢神経の軸索流によって中枢に運ばれる神経栄養因子が神経切断によって中枢に到達しなくなると増強が生じるという可能性である。まず、第一の仮説を検証するために神経の伝導を薬理的に阻害する実験を行った(図2A)。TTX ($160 \mu\text{M}$)を含んだフィブリンクロットをM/U神経に投与したところ、神経切断と同様な体性感覚野応答の増強が観察された。TTXを投与した直後0hの応答振幅を1.0とすると投与3時間後の応答振幅は有意に上昇し、 2.2 ± 0.2 となった($n=12$, $P < 0.01$, 図2A, C)。予め前肢背側を支配している橈骨・筋皮神経(Radial and musculocutaneous nerves, 以下R/Mc神経)を切断した状態でTTXをM/U神経に投与しても応答の増強は起こらなかった($n=10$, 図2A, C)。この結果は、M/U神経の伝導を阻害するとR/Mc神経の感度が急速に増加することを示している。末梢神経にはTTX抵抗性の Na^+ チャンネルが存在しており、神経因性疼痛に関与するとの報告がある(Lai et al., 2004)。そこで、TTXにTTX抵抗性 Na^+ チャンネルのブロッカーであるProTx-I ($50 \mu\text{M}$)を加えて神経に投与したが、TTX単独投与と同等の結果しか得られなかった。

薬理的伝導阻害の実験から、神経が切断された場合でも中枢側の神経断端に活動電位を発生さ

せれば体性感覚野応答の増強を阻害できると考えられる。M/U神経の中枢側神経断端に0.1 Hzの電気刺激を切断直後から与え続けると、切断後3hの体性感覚野応答と切断直後との比は 1.3 ± 0.1 となり、神経切断単独に比べて有意に抑圧された($n=7$, $P < 0.02$, 図2B, C)。これらの結果は、末梢神経の自発発火が中枢に伝わらなくなると体性感覚野応答が増強するという仮説を支持している。

神経栄養因子投与

次に、第二の可能性として神経栄養因子の役割について解析した。神経栄養因子の中でもGDNFは神経因性疼痛を鎮痛する効果が報告されている(Boucher et al, 2000)。そこでまずM/U神経の中枢側断端にGDNF (1 ng/ml)を与え、その効果を見た。投与直後を1.0とした投与3時間後の応答振幅は 1.0 ± 0.1 であり、神経切断単独に比べて有意な応答の増強を生じなかった($n=8$, $P < 0.01$, 図3A, C)。GDNFは三叉神経核(Takeda et al., 2010)や中脳のドーパミン作動性ニューロン(Yang et al., 2001)において K^+ チャンネルを阻害し、興奮性を増強することが報告されている。従ってGDNFは中枢に運ばれて作用を現わすのではなく、神経断端に直接作用して活動電位を発生させた可能性がある。そこでGDNFにTTX ($20 \mu\text{M}$)を混ぜて投与したところ、GDNFの効果は消失した(図3B, C)。即ちGDNFが神経断端に作用して活動電位を発生させることで、体性感覚野応答の増強を抑圧したと考えられる。

図4はその他の代表的な神経栄養因子であるNGF, BDNF, NT-3及びNT-4について同様な解析を行い、投与3時間後の応答振幅をまとめたものである。NGF以外の神経栄養因子にはGDNFと同様に体性感覚野の増強を抑圧する効果があった。しかしこれらの神経栄養因子の中でGDNFが最も強い効果を現わした。

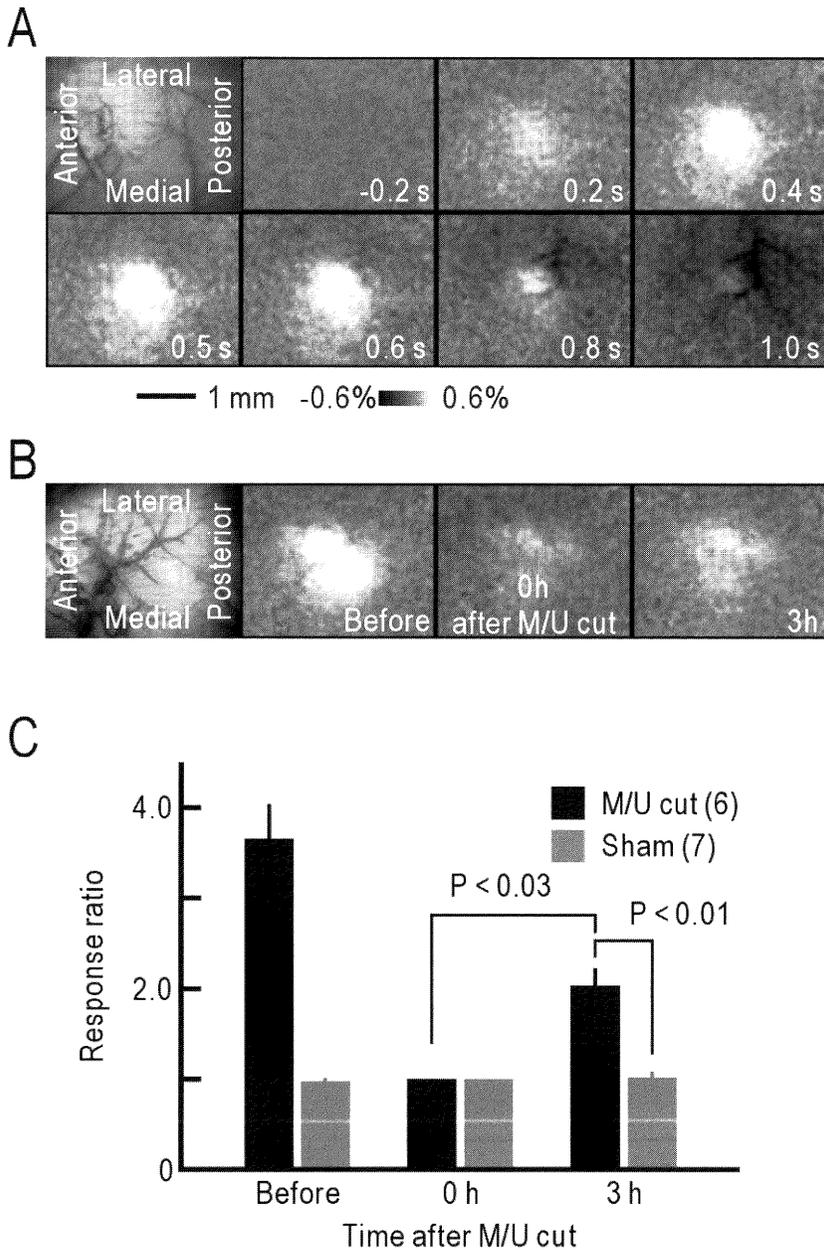


図1 末梢神経切断後に誘発される体性感覚野応答の増強

- A：左前肢掌側のブラシ刺激によって誘導される右一次体性感覚野のフラビン応答の経時変化。左上隅は蛍光画像，その他は擬似スケール画像。擬似スケール画像内の数字は刺激開始後の時間を示す。
- B：前肢掌側を支配する正中・尺骨（M/U）神経を切断する前後の体性感覚野応答。切断前（Before），切断直後（0 h）及び切断3時間後（3 h）。
- C：切断直後の応答を1.0とした時の切断前，切断3時間後の応答振幅。Mean ± SEM で表記。括弧内の数値はマウスの匹数。

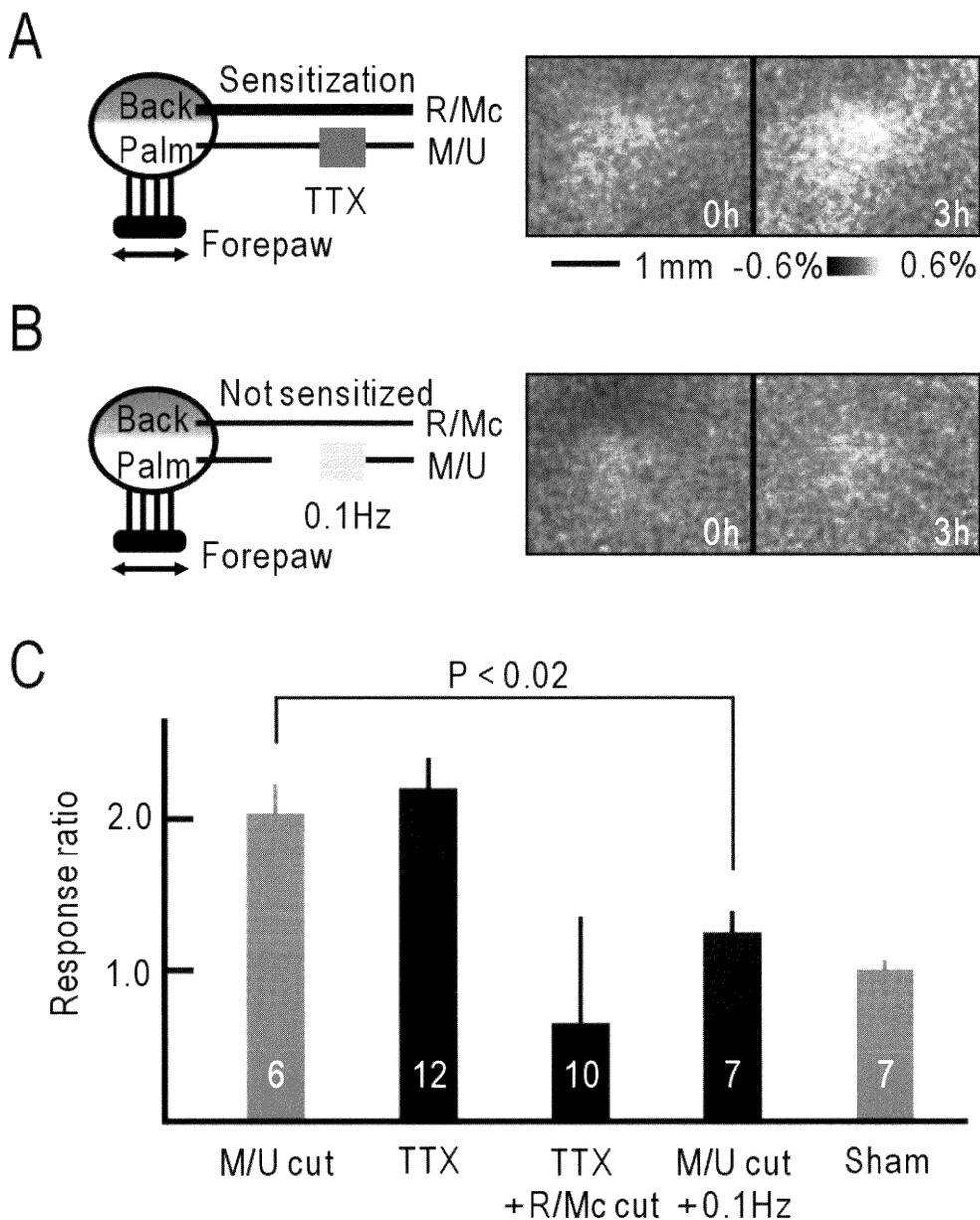


図2 末梢神経の薬理的伝導阻害によって生ずる体性感覚野応答の増強

- A: 左端の図は薬理的伝導阻害実験の概要. 擬似スケール画像は, 左から TTX (160 μ M) を M/U 神経に投与した直後 (0 h) 及び投与3時間後 (3 h) の体性感覚野応答.
- B: 左端の図は中枢側断端への電気刺激実験の概要. 擬似スケール画像は, 左から 0.1 Hz の電気刺激を M/U 神経の中枢側断端に与えた直後 (0 h) 及び与え続けてから 3 時間後 (3 h) の体性感覚野応答.
- C: 各処置を行った直後 (0 h) を 1.0 にした場合の処置 3 時間後の応答振幅. 棒グラフ内の数値はマウスの匹数.

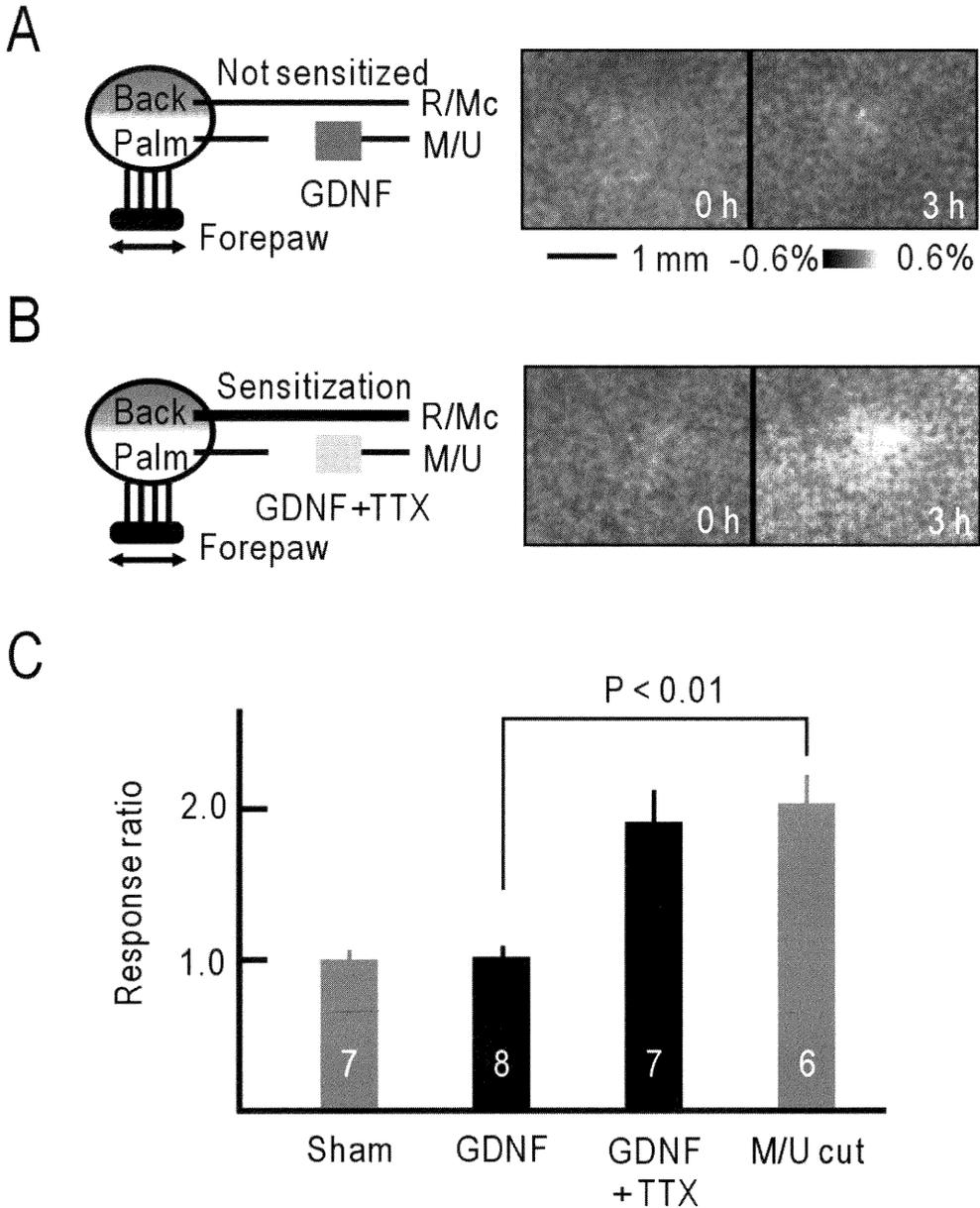


図3 GDNFによる体性感覚野応答増強の阻止効果

- A：左端の図はGDNF投与実験の概要。擬似スケール画像は、左からGDNF(1 ng/ml)をM/U神経の中樞側断端に投与直後(0 h)及び投与3時間後(3 h)の体性感覚野応答。
- B：左端の図はGDNFとTTXの混合を投与した実験の概要。擬似スケール画像は、左からGDNF(1 ng/ml)にTTX(20 μ M)を混ぜてM/U神経の中樞側断端に与えた直後(0 h)及び与えてから3時間後(3 h)の体性感覚野応答。
- C：各処置を行った直後(0 h)を1.0にした場合の処置3時間後の応答振幅。棒グラフ内の数値はマウスの匹数。

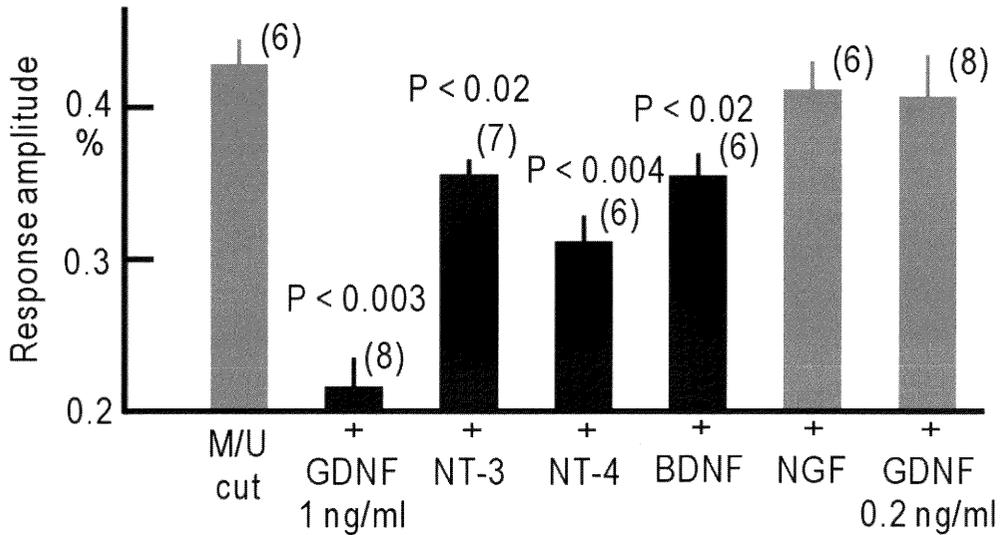


図4 神経断端への神経栄養因子投与の効果

神経栄養因子投与3時間後の応答振幅. 括弧内の数値はマウスの匹数. GDNFの濃度は1 ng/ml, もしくは0.2 ng/ml. NT-3, NT-4, BDNF及びNGFの濃度は1 ng/ml. P値は神経切断単独との比較

考 察

末梢神経切断による一次体性感覚野応答の増強メカニズム

本研究では, 前肢掌側を支配しているM/U神経を切断した後, マウス一次体性感覚野応答の変化を解析し, M/U神経切断後3時間以内に体性感覚野応答の増強が生ずることを見出した. この急速な増強がどのように引き起こされるのかを解明するために二つの仮説を立てた. 第一の仮説は, 末梢神経の自発発火が中枢に伝わらなくなることで増強が生ずるということであり, 第二の仮説は, 神経軸索流によってGDNFのような神経栄養因子が中枢に運ばれなくなると増強が生ずるということである. TTXによる伝導障害実験と, 切断後の中枢側断端の刺激実験は第一の仮説を支持したが, GDNFを中枢側断端に与えても体性感覚野応答が阻止された. しかし, このGDNFの効果はGDNFにTTXを加えて投与すると消失した. 従

って, GDNFが中枢に運ばれて効果を現わすのではなく, 神経断端において活動電位を生じさせることで効果を現わすと思われる.

末梢神経の自発発火の役割

末梢神経の自発発火は感覚機能の発達に重要な役割を担っている. 視覚系では, 網膜の自発発火が皮質回路の形成に必要であることが報告されている(Katz & Shatz, 1996). 聴覚系に於いても, 蝸牛神経節の自発的な活動が聴覚野の周波数マップの微調整や維持に重要であることが報告されている(Tritsch et al., 2007). 本研究では末梢神経に自発発火が存在し, 体性感覚系の恒常性を維持している可能性が示唆された. 中枢側神経断端を0.1 Hzで電気刺激すると体性感覚野応答の増強が生じなくなり, 自発発火もこの程度の周波数であると想定される. 一方, 末梢神経が損傷されると, 損傷部位に形成される神経腫(Matzner and Devor, 1994) 或いは後根神経節(Kajander and

Bennett, 1992) から 10-50 Hz の自発発火が発生し、これによって中枢神経系内に神経因性疼痛を発症させるという報告もある (Woolf and Salter, 2000). 本研究では神経切断後数時間以内の現象を解析したが、さらに時間が経つとこれらの報告のように高頻度自発発火が生じ、神経因性疼痛を促進するという可能性がある。

神経損傷による皮質の可塑性は体性感覚野のみでなく、視覚野や聴覚野においても生じる。光を異常に強く感じてしまう羞明が視神経の損傷によって引き起こされ (Kawasaki and Purvin, 2002), 内耳の有毛細胞の損傷によって耳鳴りが生ずると報告されている (Saunders, 2007). これらの感覚異常は恐らく体性感覚系における神経因性疼痛発症機構と類似したメカニズムで起きるのかも知れない。

神経栄養因子と基底発火

神経栄養因子が神経活動を調節することは以前から報告されている (Lohof et al., 1993). 本研究では、GDNF の抑圧効果が TTX によって阻害されたことから (図 3), GDNF が神経断端において活動電位を発生させていると思われる。末梢神経には GDNF と GDNF のリガンド受容体である $GFR\alpha 1$ が発現し (Paratcha and Ledda, 2008, Naveilhan et al., 1997), 末梢神経の損傷によって神経断端におけるこれらの分子の発現が促進されると報告されている (Naveilhan et al., 1997). 従って神経損傷時に神経断端が GDNF の作用によって異常発火する可能性がある。一方、正常な状態でも、末梢神経の自発発火と GDNF との関係があるかも知れない。GDNF の活動電位を誘導する機序については不明だが、GDNF は K^+ チャネルを抑制するので (Yang et al., 2001, Takeda et al., 2010), これによって神経の興奮性が促進される可能性がある。

大脳皮質可塑性と感覚モダリティ変化

大脳皮質の可塑性は神経を切断してから 1 時間以内に誘導され、その後長期間持続する (Merzenich et al., 1983; Calford and Tweedale, 1988; Hickmott

and Merzenich, 2002). 今回の報告では前肢掌側を支配する M/U 神経を切断してから 3 時間以内の体性感覚野応答の変化を解析し、体性感覚野の増強が実際に生ずることを実証した。本研究では前肢刺激するために細い馬毛ブラシを用いた。このブラシの刺激によって誘導される体性感覚野応答は触覚を反映していると思われる。しかし、神経切断後の急速な体性感覚野応答の増強が神経因性疼痛の初期過程であれば応答には触覚だけでなく痛覚も含まれることが考えられる。末梢からの感覚入力はモダリティによって脊髄内で上行経路が違ふ。即ち、触覚は入力側と同側の後索・内側毛帯路 (Jain et al., 1995) を、温度覚・痛覚は対側の脊髄視床路 (Peschanski et al., 1985) をそれぞれ上行する。もし刺激側と同側の後索・内側毛帯路を破壊しても神経切断後の体性感覚野応答の増強が現れれば、その応答は痛覚と認めることが出来ると思われる。これらが検証できれば、フラビン蛋白蛍光イメージング法によって簡便に客観的な疼痛の評価を行うことが出来るようになり、より効果的に神経因性疼痛のメカニズムの解析や治療法の開発が行えるのではないかと期待される。

謝辞

本研究を行うにあたり御指導頂きました湊木克栄教授、柴田実教授、菱田竜一准教授、陳山林先生に深く感謝致します。技術的な御協力を頂きました丸山佐英子さん、松島綾乃さんに深く感謝致します。

参考文献

- 1) Bennett GJ and Xie YK: A peripheral mononeuropathy in rat that produces disorders of pain sensation like those seen in man. *Pain* 33: 87-107, 1988.
- 2) Boucher TJ, Okuse K, Bennett DLH, Munson JB, Wood JN and McMahon SB: Potent analgesic effects of GDNF in neuropathic pain states. *Science* 290: 124-127, 2000.
- 3) Calford MB and Tweedale R: Immediate expansion of receptive fields of neurons in area 3b of

- macaque monkeys after digit denervation. *Somatosens. Mot Res* 8: 249 - 260, 1991.
- 4) Campbell JN and Meyer RA: Mechanisms of neuropathic pain. *Neuron* 52: 77 - 92, 2006.
 - 5) Decosterd I and Woolf CJ: Spared nerve injury: an animal model of persistent peripheral neuropathic pain. *Pain* 87: 149 - 158, 2000.
 - 6) Flor H, Elbert T, Knecht S, Wienbruch C, Pantev C, Birbaumer N, Larbig W and Taub E: Phantom-limb pain as a perceptual correlate of cortical reorganization following arm amputation. *Nature* 375, 482 - 484, 1995.
 - 7) Hickmott PW and Merzenich MM: Local circuit properties underlying cortical reorganization. *J Neurophysiol* 88: 1288 - 1301, 2002.
 - 8) Jain N, Florence SL and Kaas JH: Limits on plasticity in somatosensory cortex of adult rats: hindlimb cortex is not reactivated after dorsal column section. *J Neurophysiol* 73: 1537 - 1546, 1995.
 - 9) Kajander KC and Bennett GJ: Onset of a painful peripheral neuropathy in rat: a partial and differential deafferentation and spontaneous discharge in A beta and A delta primary afferent neurons. *J Neurophysiol* 68: 734 - 744, 1992.
 - 10) Katz LC and Shatz CJ: Synaptic activity and the construction of cortical circuits. *Science* 274, 1133 - 1138, 1996.
 - 11) Kawasaki A and Purvin VA: Photophobia as the presenting visual symptom of chiasmal compression. *J Neuroophthalmol* 22: 3 - 8, 2002.
 - 12) Kim SH and Chung JM: An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 50: 355 - 363, 1992.
 - 13) Kitaura H, Hishida R and Shibuki K: Transcranial imaging of somatotopic map plasticity after tail cut in mice. *Brain Res* 1319: 54 - 59, 2010.
 - 14) Lai L, Porreca F, Hunter JC and Gold MS: Voltage-gated sodium channels and hyperalgesia. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 44: 371 - 397, 2004.
 - 15) Lohof AM, Ip NY and Poo MM: Potentiation of developing neuromuscular synapses by the neurotrophins NT-3 and BDNF. *Nature* 363: 350 - 353, 1993.
 - 16) Matzner O and Devor M: Hyperexcitability at sites of nerve injury depends on voltage-sensitive Na⁺ channels. *J Neurophysiol* 72: 349 - 359, 1994.
 - 17) Merzenich MM, Kaas JH, Wall JT, Sur M, Nelson RJ and Felleman DJ: Progression of change following median nerve section in the cortical representation of the hand in areas 3b and 1 in adult owl and squirrel monkeys. *Neuroscience* 10: 639 - 665, 1983.
 - 18) Middleton RE, Warren VA, Kraus RL, Hwang JC, Liu CJ, Dai G, Brochu RM, Kohler MG, Gao YD, Garsky VM, Bogusky MJ, Mehl JT, Cohen CJ and Smith MM: Two tarantula peptides inhibit activation of multiple sodium channels. *Biochemistry* 41: 14734 - 14747, 2002.
 - 19) Naveilhan P, ElShamy WM and Ernfors P: Differential regulation of mRNAs for GDNF and its receptors Ret and GFR α after sciatic nerve lesion in the mouse. *Eur. J Neurosci* 9: 1450 - 1460, 1997.
 - 20) Paratcha G and Ledda F: GDNF and GFR α : a versatile molecular complex for developing neurons. *Trends Neurosci* 31: 384 - 391, 2008.
 - 21) Peschanski M, Briand A, Gautron M and Guilbaud G: Electrophysiological evidence for a role of the anterolateral quadrant of the spinal cord in the transmission of noxious messages to the thalamic ventrobasal complex in the rat. *Brain Res* 342: 77 - 84, 1985.
 - 22) Reinert KC, Dunbar RL, Gao W, Chen G and Ebner TJ: Flavoprotein autofluorescence imaging of neuronal activation in the cerebellar cortex in vivo. *J Neurophysiol* 92: 199 - 211, 2004.
 - 23) Saunders JC: The role of central nervous system plasticity in tinnitus. *J Commun Disord* 40: 313 - 334, 2007.
 - 24) Shibuki K, Hishida R, Murakami H, Kudoh M, Kawaguchi T, Watanabe M, Watanabe S, Kouuchi T and Tanaka R: Dynamic imaging of somatosensory cortical activities in the rat visualized by flavoprotein autofluorescence. *J Physiol (Lond)*

- 549: 919 - 927, 2003.
- 25) Takahashi K, Hishida R, Kubota Y, Kudoh M, Takahashi S and Shibuki K: Transcranial fluorescence imaging of auditory cortical plasticity regulated by acoustic environments in mice. *Eur J Neurosci* 23: 1365 - 1376, 2006.
- 26) Takeda M, Kitagawa J, Nasu M, Takahashi M, Iwata K and Matsumoto S: Glial cell line - derived neurotrophic factor acutely modulates the excitability of rat small - diameter trigeminal ganglion neurons innervating facial skin. *Brain Behav Immun* 24: 72 - 82, 2010.
- 27) Tohmi M, Kitauro H, Komagata S, Kudoh M and Shibuki K: Enduring critical period plasticity visualized by transcranial flavoprotein imaging in mouse primary visual cortex. *J Neurosci* 45: 11775 - 11785, 2006.
- 28) Tritsch NX, Yi E, Gale JE, Glowatzki E and Bergles DE: The origin of spontaneous activity in the developing auditory system. *Nature* 450: 50 - 55, 2007.
- 29) Woolf CJ and Salter MW: Neuronal plasticity: Increasing the Gain in Pain. *Science* 288:1765 - 1768, 2000.
- 30) Yang F, Feng L, Zheng F, Johnson SW, Du J, Shen L, Wu CP and Lu B: GDNF acutely modulates excitability and A - type K (+) channels in midbrain dopaminergic neurons. *Nat Neurosci* 4: 1071 - 1078, 2001.

(平成 22 年 12 月 21 日受付)