

신경병증성 통증 모델 쥐에서 뇌간 핵의 전기자극이 후각세포의 기계자극에 대한 반응도에 미치는 영향

임중우¹ · 최 윤² · 광영섭¹ · 남택상¹ · 백광세¹

¹연세대학교 의과대학 생리학교실, ²울산대학교 의과대학 마취과학교실

Effects of Electrical Stimulation of Brainstem Nuclei on Dorsal Horn Neuron Responses to Mechanical Stimuli in a Rat Model of Neuropathic Pain. Joong Woo Leem¹, Yoon Choi², Young Seob Gwak¹, Taik Sang Nam¹, and Kwang Se Paik¹ ¹Department of Physiology, Yonsei University College of Medicine, Seoul 120-752, ²Department of Anesthesiology, Ulsan University College of Medicine, Seoul 138-040, Korea

The aim of the present study is to examine the brainstem sites where the electrical stimulation produces a suppression of dorsal horn neuron responses of neuropathic rats. An experimental neuropathy was induced by a unilateral ligation of L5-L6 spinal nerves of rats. Ten to 15 days after surgery, the spinal cord was exposed and single-unit recording was made on wide dynamic range (WDR) neurons in the dorsal horn. Neuronal responses to mechanical stimuli applied to somatic receptive fields were examined to see if they were modulated by electrical stimulation of various brainstem sites. Electrical stimulation of periaqueductal gray (PAG), n. raphe magnus (RMg) or n. reticularis gigantocellularis (Gi) significantly suppressed responses of WDR neurons to both noxious and non-noxious stimuli. Electrical stimulation of other brainstem areas, such as locus coeruleus (LC) and n. reticularis paragigantocellularis lateralis (LPGi), produced little or no suppression. Microinjection of morphine into PAG, RMg, or Gi also produced a suppression as similar pattern to the case of electrical stimulation, whereas morphine injection into LC or LPGi exerted no effects. The results suggest that PAG, NRM and Gi are the principle brainstem nuclei involved in the descending inhibitory systems responsible for the control of neuropathic pain. These systems are likely activated by endogenous opioids and exert their inhibitory effect by acting on WDR neurons in the spinal cord.

Key Words: Pain; Neuropathy; Brainstem nuclei; Descending; Spinal cord; Wide dynamic range; Dorsal horn neuron; Morphine.

서 론

말초신경의 부분적인 손상 후에 만성적인 신경병성 통증이 유발되는데, 이 통증의 특징적인 증상에는 통각과민, 이질통 및 자발성 연소통 등이 포함된다. 이러한 증상과 유사한 행동학적 징후를 보이는 동물 모델이 보고된 이후, 이 질병에 대한 병태생리적 과정을 이해하고자 많은 연구가 이루어져 왔다(Chung et al, 1993; Kajander et al, 1992; Palecek et al, 1992; Shir & Seltzer, 1991). 그러나 대부분의 연구는 신경병성 통증에 대한 유발 기전을

규명하는데 초점을 맞추고 있으며, 이 질병을 효과적으로 관리하고 치료할 수 있는 방법에 대한 연구보고는 미약한 실정이다.

말초의 조직 또는 신경에 전기자극을 가해줌이 신경병성 통증에 대하여 진통 효과를 발휘하는지는 아직 논란의 대상이 되고 있으나, 일부 연구에서는 긍정적인 결과를 보고하였다. 즉 Meyer & Field (1972)는 말초신경 손상 후 신경병성 통증을 보이는 환자를 대상으로 손상된 말초신경 내의 A-형 신경섬유를 선택적으로 전기자극 하였을 때 환자의 반수 정도에서 통증이 완화됨을 관찰하였다. 또한 아편제가 신경병성 통증에 대하여 진통 효과가 있다는 보고도 있다. 즉 일부 신경병성 통증 환자에서 모르핀의 투여가 통증을 완화하는데 효과적이었고(Portnoy

책임저자 : 임중우, ☎ 120-752 서울 서대문구 신촌동 134
연세대학교 의과대학 생리학교실

et al, 1990; Vecht, 1989), 동물 모델을 이용한 연구에서 아편제를 수막강 내 또는 뇌실 내에 투여하여 주었을 때 유해자극에 대한 도피반응이 억제됨을 관찰하였다(Lee et al, 1994; Yamamoto & Yaksh, 1991). 이러한 연구 결과는 말초의 전기자극이 중추 내의 내인성 아편제의 작용을 통하여 신경병성 통증을 완화시킬 수 있음을 강력히 암시하지만, 자세한 기전에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

본 연구실에서는 신경병성 통증과 유사한 행동을 보이는 모델 쥐에서 척수후각세포가 외부자극에 의해 항진된 유발 반응을 보이고, 이러한 항진된 반응도가 말초 피부에 가해진 전기자극에 의해 억제됨을 관찰한 바 있다(Baik-Han et al, 1994; Leem et al, 1995). 본 연구는 이러한 억제 효과에 관련된 뇌간 부위를 규명하고 이들 부위의 세포 활성화에 아편성 약제의 역할을 조사함으로써 억제 현상의 중추 내 기전을 이해하기 위하여 실시하였다.

연구 방법

동물 모델 제작

· 실험 동물은 체중 150~200 gm 정도의 흰쥐(Sprague-Dawley)를 암수 구별 없이 사용하였다. Halothane(1~2%), O₂ 및 N₂O(2:1)의 혼합가스로 동물을 마취시킨 후, 한쪽의 제5 및 제6 요척수신경을 노출시켜 실크실(3-0)로 절찰하였다. 수술이 끝난 뒤, 따뜻한 열 전구 하에서 동물을 마취로부터 회복시킨 후 동물 사육실로 복귀시켰다. 행동학적 검사

상기 방법으로 제작된 모델 쥐에서, 신경 절찰을 받은 쪽 발이 절찰을 받지 않은 반대 쪽 발에 비해 무해성 기계자극에 대한 감수성이 증가되었음을 본 연구실에서 이미 확인한 바 있다(Leem et al, 1995). 즉 무해성 기계자극에 대한 감수성의 증가가 절찰 후 제 1일부터 나타나기 시작하여 제 10~15일에 최고에 도달하였고 약 2개월 간 지속됨을 관찰하였다. 따라서 본 연구에서는 절찰 수술 후 제 10~15일에 행동학적 검사를 실시하여 기계자극에 대한 감수성이 증가된 모델 쥐를 선택한 후 전기생리학적 실험을 실시하였다. 이때 행동학적 검사를 위해서는 동물을 바닥이 철망으로 된 조그만 통속에 넣고 아래쪽으로부터 철망을 통하여 약한 von Frey filament(2.5 그램)를 동물의 발바닥에 2~3초 간격으로 10번 반복하여 가해 주면서 발의 도피반응빈도를 조사하였는데, 신경 절찰을 받은 쪽 발의 도피반응빈도가 절찰받지 않은 반대 쪽 발의 경우보다 50% 이상 높은 경우의 쥐를 선택하였다.

전기생리적 기록법

도피반응이 잘 나타나는 모델 쥐에 pentobarbital sodium (40 mg/kg)을 복막내 주사해 마취 시킨후 약물 주입을 위한 경정맥과 인공호흡을 위한 기도에 삽관을 실시하였다. 척수내 후각신경세포의 신경활동을 기록하기 위해 배측 정중선을 따라 피부를 절개한 후 제12 흉추에서 제4 요추까지 척추후궁절제술을 시행하여 척수를 노출시켰다. 머리와 척추를 정위조정대(stereotaxic frame)에 복와위로 고정하고 pancuronium bromide (0.5 mg)을 주사해 근마비를 시킨 후 인공호흡기로 호흡시켰다. 이때 인공호흡은 end-tidal CO₂ 농도가 3.5~4.5%로 되게 유지시키고 직장내 온도는 자동제어 열방석을 이용해 37°C로 유지 시켰다.

L3-L5척수의 표면에서 1000 μ m 깊이 까지에 존재하는 후각신경세포를 대상으로 carbon filament-filled electrode (3~6 M Ω)를 이용한 세포외기록법으로 단일 신경세포의 신경활동을 기록하였다. 즉 microdrive를 이용해 기록용 전극을 척수 내로 진입시키면서 발의 피부에 있는 수용야를 반복적으로 손으로 자극시키면서 이에 반응하는 단일 신경세포를 찾았다. 단일 신경세포를 찾은 다음 발피부에 있는 수용야에 일련의 기계 자극(brush, press, pinch)을 가하여 이에 대한 반응 양상을 poststimulus time histogram으로 기록하였다. Brush자극은 붓을 이용해 일정한 힘으로 수용야의 중앙을 약 1초에 4번 반복적으로 가로지름으로써 가해 주며, press와 pinch자극은 calibrated forceps를 이용하여 각각 100 그램과 300그램의 일정한 힘으로 수용야의 중앙 부위가 포함되도록 피부를 집어서 가해 주었다. 각 자극은 10초간 가해 주었다. 세가지 기계 자극에 대해 반응을 보이는 wide dynamic range (WDR)형 후각세포를 대상으로 뇌간 내 특정 부위의 전기자극이 이들 세포의 반응도에 미치는 영향을 조사하였다.

뇌간 부위의 전기자극

전기자극은 끝 부분(0.5~1 mm)만 남기고 절연시킨 텅스텐 전극을 정위고정용 조작기(stereotaxic manipulator)에 부착한 후 쥐의 뇌좌포도(Paxinos and Watson, 1986)에 기초하여 뇌간 내의 특정 부위로 접근시킨 후, train pulses (0.1 ms pulses, 100 Hz)를 20초 동안 50~100 μ A의 강도로 가해 주어 실시하였다. 전기자극을 가해준 뇌간 내 핵 부위는 periaqueductal gray(PAG), nucleus raphe magnus/reticularis gigantocellularis pars alpha(RMg/GiA= RMg), nucleus reticularis gigantocellularis(Gi), nucleus reticularis paragigantocellularis lateralis(LPGi) 또는 locus coeruleus(LC)이었다.

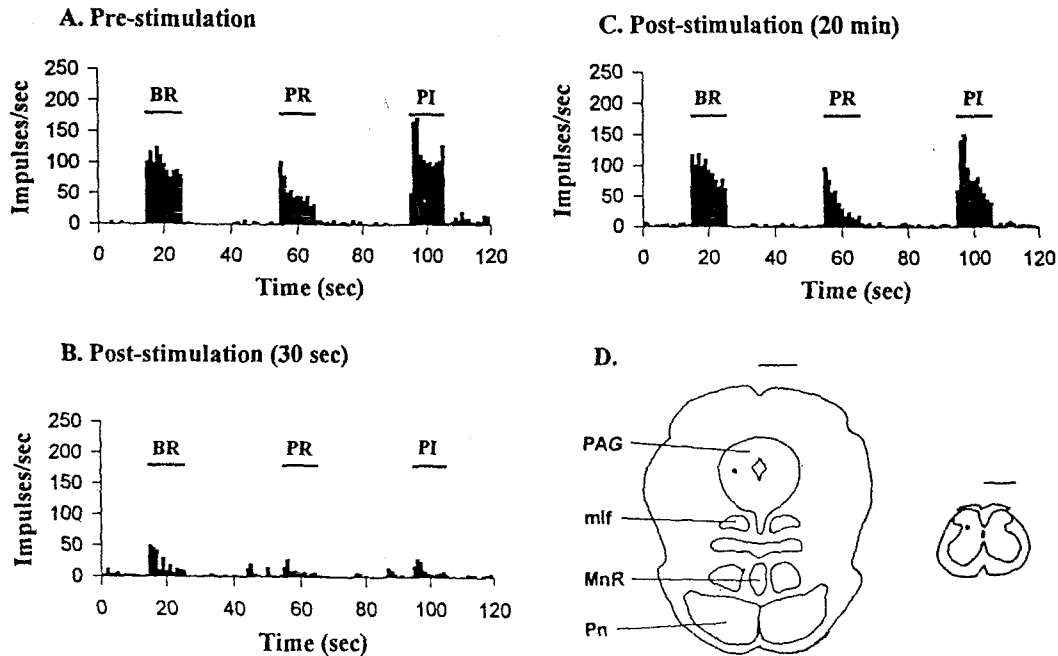


Fig. 1. An example of inhibition of mechanically-evoked responses of a spinal WDR neuron in neuropathic rat by electrical stimulation in the PAG. A-C: peristimulus time histograms (1-s binwidth), illustrating discharges of a spinal WDR neuron evoked by three mechanical stimuli (brush, BR; press, PR; pinch, PI) applied to the somatic receptive field located on the hind foot skin. Mechanically evoked responses were obtained before (A), 30 sec (B) and 20 min (C) after a 20-sec period of PAG stimulation. The sites of stimulation in the PAG and of recording in the spinal cord were indicated by dots in D. The scale bars above drawings represent 5 mm. PAG, periaqueductal gray; mlf, median longitudinal fasciculus; MnR, median raphe nucleus; Pn, pontine nuclei.

모르핀 투여

Hamilton 주사기를 이용해 상술한 방법에 의거하여 바늘 끝 부분을 뇌간 내 국소 부위에 접근시키고 이를 통하여 모르핀(5 μ g/0.5 μ l)을 투여한 후, 후각세포의 항진된 반응도에 미치는 영향을 조사하였다. 모르핀의 전신성 효과는 정맥내 투여(6 mg/kg)로 알아보았다. 뇌간 부위의 전기자극이나 모르핀 투여 실험에서, 한 경우의 전기자극이나 모르핀 투여에 대하여 한 경우의 후각세포 반응도 변화를 조사하였다.

통계처리

전기자극 또는 모르핀 주입 전과 후 간의 척수후각세포의 기계자극에 대한 반응의 차이는 Wilcoxon signed-rank test로 분석하였다. P 값이 0.05 보다 작은 경우에만 유의 있는 차이가 있다고 간주하였다. 모든 data는 특별히 다른 언급이 없는 한 평균 \pm 표준오차로 나타냈다.

결 과

모델 쥐의 척수후각세포 활동도 기록은 손상된 말초신경 쪽 다리의 발피부에서 입력을 받는 척수후각 내의 심부 세포(deep dorsal horn neurons; 범위, 400~750 μ m; 평균, 581 \pm 49 μ m; n=83)로부터 얻었다. 이들 후각세포는 척수후각의 4~5층(laminae IV-V)에 위치하며, 세 가지 기계자극(brush, press, pinch)에 대해 반응을 보이는 wide dynamic range(WDR)형 이었다. 각 자극을 가해주는 동안 유발된 평균 임펄스 수는 brush, press 및 pinch의 경우가 각각 122.3 \pm 17.4, 91.1 \pm 15.3 및 137.3 \pm 17.8 로서, brush 유발반응이 press 유발반응에 비해 유의 있게 항진되어 있음을 확인하였다($p < 0.05$). 정상 쥐의 후각세포의 경우(n=26), 동일한 기계자극에 의해 유발된 평균 임펄스 수는 brush, press, pinch의 경우가 각각 58.5 \pm 12.4, 84.4 \pm 13.9와 101.5 \pm 12.7이었는데, 이 결과에 의하여 모델 쥐의 경우가 정상 쥐의 경우에 비하여 brush 및 pinch 유발반응

이 유의있게 증가되어 있음을 확인할 수 있었다($p < 0.05$).

뇌간 내의 전기자극이 모델 쥐의 척수후각세포 반응도에 미치는 영향

모델 쥐의 척수후각세포에서 관찰된 말초 기계자극에 대한 항진된 반응도가 뇌간 내 핵 부위에 가해 준 전기자극에 의하여 어떻게 영향을 받는지를 조사하였다.

PAG 자극: PAG의 전기자극은 모델 쥐 후각세포의 말초 기계자극에 대한 반응도를 억제하였다. 이에 대한 한 예를 Fig. 1에서 보였다. 즉 말초 수용야에 가해 준 brush, press 및 pinch자극에 의하여 유발된 척수후각세포의 반응(Fig. 1A)은 PAG를 전기자극(100 Hz, 50~100 μ A, 20 초) 한 지 30초경과 후 현저하게 억제되었으며(Fig. 1B), 이러한 억제는 시간이 경과함에 따라 회복되었다(Fig. 1C). 이상과 같은 PAG 전기자극에 의한 후각세포 반응도의 억제성 경향은 11개의 경우에서 조사하였는데(한 경우의 PAG 전기자극의 대하여 한 경우의 후각세포 반응도 변화 조사), 각 경우 일관성있게 관찰되었다(Fig. 2A). 즉 11개의 경우에서 얻은 세 기계자극에 의하여 유발된 후각세포의 임펄스 수의 평균치는 PAG를 전기자극 하기 전에는 각각 113.2 ± 14.9 , 80.5 ± 15.3 및 130.5 ± 12.8 이었는데, PAG 전기자극 30초 후에는 53.5 ± 15.3 , 43.1 ± 16.2 및 44.5 ± 17.0 을 보임으로써 모든 기계자극에 의한 유발반응이 유의 있게 감소하였다($p < 0.05$). PAG 전기자극 후 20분 경과 시 기계자극에 대한 유발 임펄스의 평균치는 각각 101.1 ± 13.0 , 74.8 ± 18.3 및 116.9 ± 14.8 이었는데, 이는 PAG 전기자극 전의 값과 비교하여 볼 때 유의 있는 차이를 보이지 않았다($p > 0.1$).

RMg 자극: RMg의 전기자극 역시 PAG를 전기자극 한 경우와 마찬가지로 말초 수용야에 가해 준 세 기계자극에 의한 후각세포의 유발반응을 억제하였다. RMg를 전기자극 하기 전과 전기자극 한 후 30초 및 20분 경과 시 9 경우에서 얻은 후각세포의 기계자극에 대한 유발 임펄스의 평균치를 Fig. 2B에 나타내었다. 평균 임펄스 수는 RMg 전기자극 전에는 124.9 ± 21.5 , 102.9 ± 18.9 및 139.2 ± 20.7 이었는데, RMg 전기자극 30초 후에는 47.4 ± 17.9 , 59.9 ± 20.1 및 43.7 ± 19.7 을 보임으로써 모든 기계자극에 의한 유발반응이 유의 있게 감소하였다($p < 0.05$). PAG 전기자극 후 20분 경과시 이들 평균 임펄스 수는 각각 110.7 ± 19.8 , 80.4 ± 18.4 및 123.8 ± 18.4 이었는데, 이는 RMg 전기자극 전의 값과 비교하여 유의 있는 차이를 보이지 않았다($p > 0.1$).

Gi 자극: Gi의 전기자극 역시 PAG 및 RMg의 경우와 비슷하게 말초 수용야에 가해 준 기계자극에 의한 후각세포의 유발반응을 억제하였는데, 특히 brush 및 pinch 유

Electrical stimulation

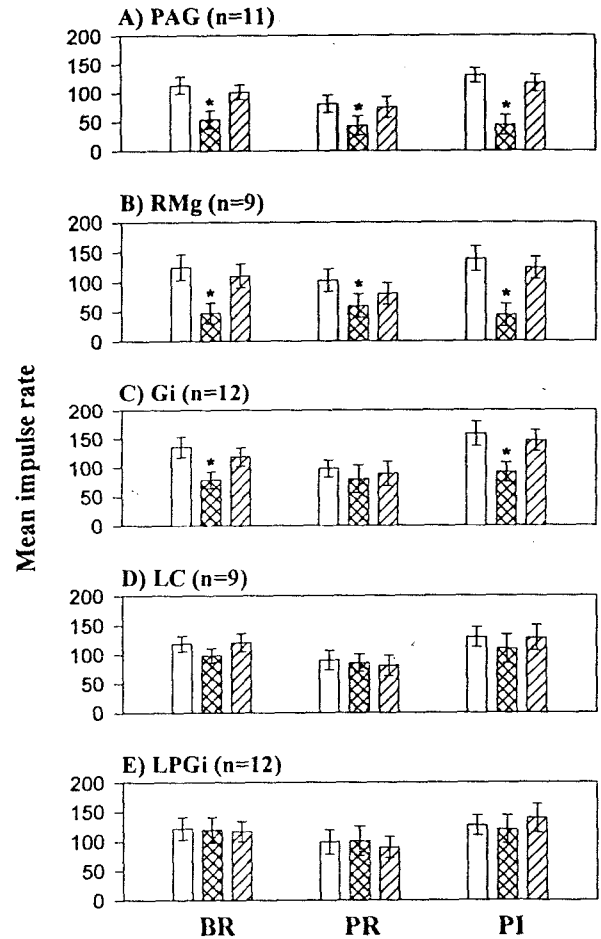


Fig. 2. Bar graphs summarizing the effects of electrical stimulation of brainstem nuclei on mechanically-evoked responses of spinal WDR neurons in neuropathic rats. The bars show the mean discharge rates of neurons evoked by brush (BR), press (PR) and pinch (PI) stimuli applied to the somatic receptive fields before (open), 30 sec (cross hatched) and 20 min (hatched) after stimulation of various brainstem nuclei. Numbers in parentheses indicate total number of cases investigated for each brainstem nucleus. Mean discharge rate for each mechanical stimulus was compared before, 30 sec and 20 min after brainstem nucleus stimulation, and the difference was evaluated with a Wilcoxon signed-rank test for paired data. Asterisks indicate $P < 0.05$. PAG, periaqueductal gray; RMg, nucleus raphe magnus; Gi, nucleus reticularis gigantocellularis; LC, locus coeruleus; LPGi, nucleus reticularis paragigantocellularis lateralis.

발반응이 의의 있게 억제되었다. Gi의 전기자극이 기계 자극에 의한 후각세포의 유발 반응에 미치는 영향을 12 경우에서 조사하여 Fig. 2C에 나타내었다. 각 기계자극에 의하여 유발된 임펄스의 평균치는 Gi 전기자극 전에는 134.8 ± 17.8 , 97.4 ± 14.3 및 158.3 ± 21.8 이였으며, Gi 전기자극 30초 후에는 78.1 ± 14.0 , 79.8 ± 23.9 및 91.3 ± 16.3 이었다. 이들 각 기계자극에 의한 유발반응을 Gi 전기자극 전과 후 간에 비교하였을 때, brush 및 pinch 유발반응의 경우는 의의 있게 감소하였음을 보였으나($p < 0.05$), press 유발반응의 경우는 차이가 없었다($p > 0.05$). Gi 전기자극 후 20분 경과 시 기계자극에 의한 유발 임펄스의 평균치는 각각 117.8 ± 15.6 , 89.0 ± 21.3 및 145.7 ± 18.3 이었는데, 이는 Gi 전기자극 전의 값과 비교하여 의의 있는 차이를 보이지 않았다($p > 0.1$).

LC 자극: LC의 전기자극은 pinch 유발반응은 약간 감소시키는 경향을 보였으나(통계적으로는 유의하지 않음), 일반적으로 LPGi의 경우와 비슷하게 기계자극에 의한 후각세포의 유발반응에 영향을 미치지 않았다. LC의 전기자극이 기계자극에 의한 후각세포의 유발 반응에 미치는 영향을 9 경우에서 조사하여 Fig. 2D에 나타내었다. 각 기계자극에 의하여 유발된 임펄스의 평균치는 LC 전기자극 전에는 118.2 ± 13.9 , 89.9 ± 16.9 및 129.4 ± 17.2 이었으며, LC 전기자극 30초 후에는 97.9 ± 12.3 , 85.3 ± 15.0 및 109.2 ± 24.9 이었다. 이들 각 기계자극에 의한 유발반응을 LC 전기자극 전과 후 간에 비교하였을 때, brush, press 및 pinch 유발반응의 모든 경우에서 의의 있는 차이를 보이지 않았다($p > 0.05$). LC 전기자극 후 20분 경과 시 기계자극에 의한 유발 임펄스의 평균치는 각각 120.3

± 15.4 , 80.4 ± 17.4 및 127.9 ± 21.9 이었는데, 이 값 역시 LC 전기자극 전의 값과 비교하여 의의 있는 차이를 보이지 않았다($p > 0.1$)

LPGi 자극: LPGi의 전기자극은 말초 수용야에 가해 준 기계자극에 의한 후각세포의 유발반응에 영향을 미치지 않았다. Gi의 전기자극이 기계자극에 의한 후각세포의 유발 반응에 미치는 영향을 12 경우에서 조사하여 Fig. 2E에 나타내었다. 각 기계자극에 의하여 유발된 임펄스의 평균치는 LPGi 전기자극 전에는 121.1 ± 18.9 , 98.6 ± 20.5 및 126.6 ± 16.9 이었으며, LPGi 전기자극 30초 후에는 119.0 ± 21.6 , 100.5 ± 24.7 및 119.9 ± 23.8 이었다. 이들 각 기계자극에 의한 유발반응을 LPGi 전기자극 전과 후 간에 비교하였을 때, brush, press 및 pinch 유발반응의 모든 경우에서 의의 있는 차이를 보이지 않았다($p > 0.05$). LPGi 전기자극 후 20분 경과 시 기계자극에 의한 유발 임펄스의 평균치는 각각 116.3 ± 16.9 , 89.5 ± 17.9 및 138.7 ± 23.9 이었는데, 이는 LPGi 전기자극 전의 값과 비교하여 의의 있는 차이를 보이지 않았다($p > 0.1$).

뇌간 내의 전기자극이 정상 쥐의 척수후각세포 반응도에 미치는 영향

정상 쥐의 경우, 뇌간 내의 여러 국소 부위에 가해진 전기자극이 말초 수용야에 가해 준 기계자극에 의하여 유발된 후각세포의 반응에 미치는 영향을 요약하여 Table 1에 나타내었다. PAG, RMg 및 Gi의 전기자극은 pinch에 의한 유발반응 만을 의의 있게 억제하였으며 brush나 press에 의한 유발반응에는 영향을 미치지 않았다. 한편 LC와 LPGi의 전기자극은 모든 기계자극에 의한

Table 1. Effects of electrical stimulation of brainstem nuclei on mechanically-evoked responses of spinal WDR neurons in normal rats

Stimulation Areas	Pre-stimulation			Post-stimulation (30 sec)		
	Br	Pr	Pi	Br	Pr	Pi
PAG(5)	56.6 ± 12.5	80.6 ± 12.6	106.9 ± 11.7	52.3 ± 14.7	78.4 ± 11.9	82.2 ± 8.7
RMg(6)	53.3 ± 14.1	86.1 ± 13.3	104.3 ± 13.2	49.9 ± 13.2	87.0 ± 12.6	75.8 ± 12.3
Gi(5)	61.9 ± 13.9	78.5 ± 15.2	96.2 ± 12.9	59.2 ± 11.8	77.2 ± 13.2	69.2 ± 10.2
LC(5)	58.6 ± 11.6	80.9 ± 11.7	99.8 ± 10.3	60.3 ± 13.7	78.9 ± 12.8	107.1 ± 11.2
LPGi(5)	62.1 ± 9.9	95.9 ± 16.7	106.3 ± 15.4	60.4 ± 14.2	93.2 ± 14.1	109.6 ± 13.7

Data indicate the averaged number of impulses evoked in spinal WDR neurons of normal rats by three mechanical stimuli (Br, brush; Pr, press; Pi, pinch) applied to the somatic receptive field and are represented as mean \pm SE. Data on post-stimulation were obtained 30 seconds after electrical stimulation of brainstem nuclei. Numbers in parentheses represent total number of the cases tested for each brainstem nucleus. Abbreviations for brainstem nuclei as in Fig. 2.

유발반응에 영향을 주지 않았다.

뇌간 내 국소 부위에 투여한 모르핀이 모델 쥐 후각세포의 반응도에 미치는 영향

모델 쥐의 척수후각세포의 말초 기계자극에 대한 반응도 중 특히 brush와 pinch자극에 대한 반응이 정맥 내로 투여한 모르핀에 의하여 유의있게 감소하였다(각각 33% 및 44%). 이러한 모르핀의 작용이 뇌간 내 신경세포의 활성화에 의한 것인지를 알아보기로 뇌간 내 국소 부위에 투여한 모르핀이 척수후각세포의 기계자극에 대한 반응도에 미치는 영향을 조사하였다.

PAG 투여: PAG에 모르핀을 투여한 경우, 모델 쥐 후각세포의 말초 기계자극에 대한 반응도 중 특히 brush 및 pinch 유발반응이 억제됨을 보였다. 모르핀을 투여 하기 전과 투여 한 후 30초 및 20분 경과 시 7 경우에서 얻은 후각세포의 기계자극에 대한 유발 임펄스의 평균치를 Fig. 3A에 나타내었다. 세 가지 기계자극(brush, press, pinch)에 의하여 유발된 평균 임펄스 수는 모르핀 투여 전에 각각 103.9 ± 19.8 , 72.5 ± 18.3 및 139.7 ± 17.9 이었는데, 모르핀 투여 30초 후에는 53.5 ± 16.7 , 56.1 ± 26.2 및 78.5 ± 17.0 이었다. 각 자극에 대한 값을 모르핀 투여 전과 후 간에 비교해 본 결과 brush 및 pinch 유발반응에 있어서 유의 있는 감소를 보였다($p < 0.05$). 모르핀 투여 후 20분 경과 시 이들 자극에 의하여 유발된 임펄스의 평균치는 각각 69.9 ± 18.9 , 59.9 ± 22.4 및 89.7 ± 21.7 로써, pinch 유발반응은 유의 있게 감소된 상태로 유지하였으며 brush 유발반응은 통계적으로는 유의가 없지만 감소된 경향을 유지하였다.

RMg 투여: RMg에 모르핀을 투여한 경우도 PAG의 경우와 비슷한 억제 양상 및 억제 정도를 보였다. Fig. 3B에서 보였듯이, 세 가지 기계자극에 의하여 유발된 임펄스의 평균치는 모르핀 투여 전에 각각 127.7 ± 16.3 , 73.6 ± 19.6 및 156.3 ± 13.8 이었는데, 모르핀 투여 30초 후에는 74.4 ± 14.7 , 55.8 ± 15.3 및 89.4 ± 14.9 이었다. 각 자극에 대한 값을 모르핀 투여 전과 후 간에 비교해 본 결과 brush 및 pinch 유발반응에 있어서 유의 있는 감소를 보였다($p < 0.05$). 모르핀 투여 후 20분 경과 시 이들 자극에 의하여 유발된 임펄스의 평균치는 각각 97.8 ± 20.8 , 69.3 ± 20.3 및 99.5 ± 19.8 로써, pinch 유발반응은 유의 있게 감소된 상태로 유지하였으며 brush 유발반응은 통계적으로는 유의가 없지만 감소된 경향을 유지하였다.

Gi 투여: Gi에 모르핀을 투여한 경우도 PAG 및 RMg의 경우와 비슷한 억제 양상 및 억제 정도를 보였다. Fig. 3C에서 보였듯이, 세 가지 기계자극에 의하여 유발된 임펄스의 평균치는 모르핀 투여 전에 각각 124.8 ± 16.7 , 68.5

± 17.2 및 168.3 ± 15.8 이었는데, 모르핀 투여 30초 후에는 83.2 ± 15.7 , 51.5 ± 16.4 및 107.8 ± 17.4 이었다. 각 자극에 대한 값을 모르핀 투여 전과 후 간에 비교해 본 결과 brush 및 pinch 유발반응에 있어서 유의 있는 감소를 보였

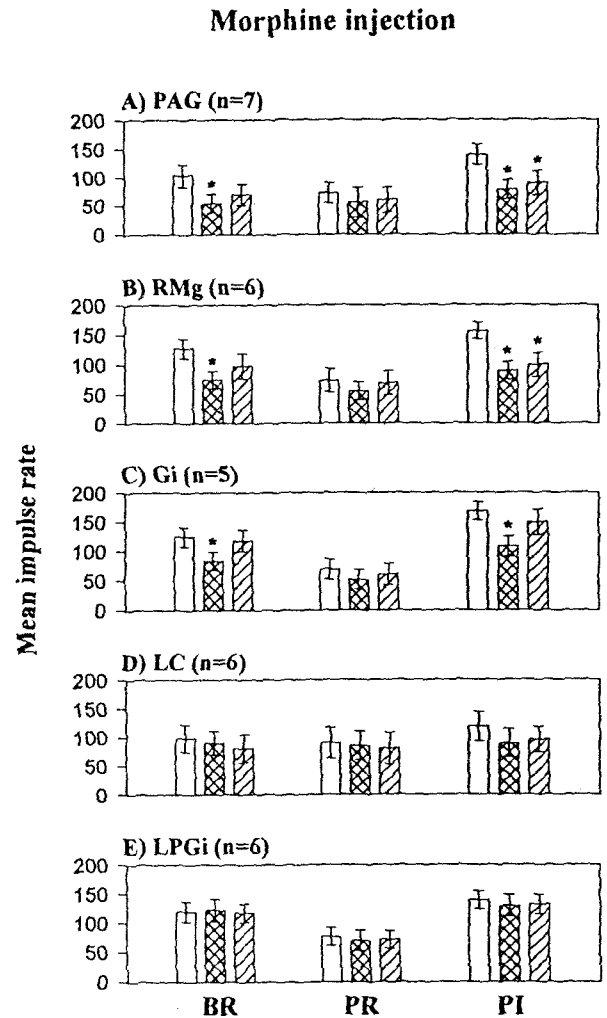


Fig. 3. Bar graphs summarizing the effects of microinjection of morphine into brainstem nuclei on mechanically-evoked responses of spinal WDR neurons in neuropathic rats. The bars show the mean discharge rates of neurons evoked by brush (BR), press (PR) and pinch (PI) stimuli applied to the somatic receptive fields before (open), 30 sec (cross hatched) and 20 min (hatched) after stimulation of various brainstem nuclei. Mean discharge rate for each mechanical stimulus was compared before, 30 sec and 20 min after brainstem nucleus stimulation, and the difference was evaluated with a Wilcoxon signed-rank test for paired data. Asterisks indicate $P < 0.05$. Numbers in parentheses and abbreviations as in Fig. 2.

다($p < 0.05$). 모르핀 투여 후 20분 경과 시 이들 자극에 의하여 유발된 임펄스의 평균치는 각각 117.8 ± 18.7 , 60.3 ± 18.3 및 149.6 ± 21.8 로써, brush 및 pinch 유발반응이 통계적으로는 의의가 없지만 감소된 경향을 유지하였다.

LC 투여: LC에 모르핀을 투여한 경우, 세 가지 기계자극에 대한 반응도에 영향을 미치지 않았다. Fig. 3D에서 보였듯이, 세 가지 기계자극에 의하여 유발된 임펄스의 평균치는 모르핀 투여 전에 각각 98.2 ± 23.9 , 89.9 ± 26.9 및 118.4 ± 25.2 이었는데, 모르핀 투여 30초 후에는 89.9 ± 20.3 , 85.3 ± 24.9 및 89.2 ± 24.9 이었다. 각 자극에 대한 값을 모르핀 투여 전과 후 간에 비교해 본 결과 모든 자극에 있어서 의의 있는 차이를 보이지 않았다($p > 0.05$). 모르핀 투여 후 20분 경과 시 이들 자극에 의하여 유발된 임펄스의 평균치는 각각 80.3 ± 24.4 , 80.4 ± 27.2 및 95.9 ± 21.9 로써, 이 역시 모르핀 투여 전의 값과 비교하여 의의 있는 차이를 보이지 않았다($p > 0.1$).

LPGi 투여: LPGi에 모르핀을 투여한 경우도 LC의 경우와 마찬가지로 세 가지 기계자극에 대한 반응도에 영향을 미치지 않았다. Fig. 3E에서 보였듯이, 세 가지 기계자극에 의하여 유발된 임펄스의 평균치는 모르핀 투여 전에 각각 119.3 ± 17.4 , 76.3 ± 15.2 및 138.9 ± 15.7 이었는데, 모르핀 투여 30초 후에는 121.9 ± 19.3 , 69.7 ± 17.3 및 129.2 ± 18.6 이었다. 각 자극에 대한 값을 모르핀 투여 전과 후 간에 비교해 본 결과 모든 자극에 있어서 의의 있는 차이를 보이지 않았다($p > 0.05$). 모르핀 투여 후 20분 경과 시 이들 자극에 의하여 유발된 임펄스의 평균치는 각각 117.3 ± 15.9 , 71.5 ± 14.8 및 131.9 ± 16.4 로써, 이 역시 모르핀 투여 전의 값과 비교하여 의의 있는 차이를 보이지 않았다($p > 0.1$).

고 찰

신경병증성 모델 쥐에서 말초 피부 수용야에 가해 준 무해성 및 유해성 기계자극에 대한 척수후각세포의 반응도가 항진되어 있음은 이미 이전 연구에서 보인 바 있으며, 이러한 항진된 반응도는 말초에 가해 준 전기침술에 의하여 억제됨도 조사된 바 있다(Baik-Han et al, 1994; Leem et al, 1995). 본 연구의 결과는 이러한 후각세포의 항진된 반응도가 뇌간 내 여러 핵 부위 중 특히 PAG, RMg 및 Gi의 전기자극에 의하여 억압됨을 보임으로써, 전기침술의 억압효과가 이들 뇌간 내 핵을 매개하여 이루어 질 수 있음을 시사하는 실험 증거를 제시한다. 또한 이들 핵 부위로 모르핀의 투여가 전기자극 효과와 유사한 양상으로 후각세포의 반응도를 억압함을 보임으로써,

전기침술의 억압효과 기전에 내인성 아편체계의 작용이 관여하고 있을 가능성에 대한 증거를 제공해 준다.

PAG, RMg 및 Gi의 전기자극이 정상상태의 동물에서 진통효과를 발휘함은 잘 알려진 사실이다(Peng et al, 1996; Sorkin et al, 1993; Urban & Smith, 1994; Willis, 1982). 그러나 신경병증과 같은 병리적 조건하에서 유발되는 통증에 대한 이들 뇌간 내 핵 부위의 작용에 대해서는 알려진 바 없다. 정상상황 하에서 PAG의 전기자극은 척수 내의 감각 정보 전달 과정 중 특히 통각 정보의 전달을 억제함으로써 진통효과를 발휘하는데, 이때 뇌간으로부터 척수로 투사되는 하행성 억제 체계의 활성화에 의한 것은 잘 알려진 사실이다. 본 연구의 결과는 PAG의 전기자극과 모르핀 투여가 신경병증성 통각 행동을 보이는 모델 쥐에서 척수후각세포의 기계자극에 대한 반응도를 억제함을 보여 줌으로써, 내인성 아편체의 작용에 의한 하행성 억제 체계의 활성화가 신경병증성 통증에 대한 진통효과에 공헌할 수 있음을 시사한다.

PAG에서 활성화된 하행성 억제 체계가 척수 내 신경세포의 활동도에 영향을 미치는데 있어서 직접적인 작용이 아니라 뇌간 내의 다른 핵을 중계소로 거치는 간접적인 작용에 의한 것임은, PAG 내 세포로부터 축삭이 척수로 직접 투사되는 형태학적 근거가 결여되어 있다는 보고(Castiglioni et al, 1979)에 의하여 제기되었다. 활성화된 PAG 세포가 척수세포에 작용하기 위한 뇌간 내 중계소로써 rostral medulla에 위치하는 RMg가 잘 알려져 있는데, RMg 내 신경세포는 축삭을 척수세포로 투사하며 세로토닌을 함유한다(Basbaum & Fields, 1979; Bowker et al, 1981). RMg에서 척수로 투사되는 투사성 신경세포가 척수세포의 활동도에 영향을 주기 위해서는 척수 내에서 세로토닌 방출에 의한 것임은, PAG 나 RMg를 전기자극하면 척수 내에서 세로토닌의 방출량이 증가하며(Yakshi & Tyce, 1979) 척수 내에 세로토닌 길항제를 투여하면 유해성 자극에 대한 후각세포의 반응이 억제된다(Carstens et al, 1981)는 사실로 미루어 짐작할 수 있다. 본 연구에서 PAG나 RMg의 전기자극 이나 모르핀 투여에 의하여 유해성 및 무해성 자극에 대한 후각세포의 반응도가 억제됨을 보였는데, 이는 활성화된 PAG 내 세포가 RMg에서 척수로 하행하는 세로토닌성 신경로를 활성화하고 그 결과 척수에서 방출된 세로토닌이 후각세포에 작용하여 후각세포의 반응도를 억제시킨 것으로 생각할 수 있다. 한편 척수 내에서의 세로토닌 작용이외에도 glycine 이나 GABA를 함유하는 척수 내 중간세포의 작용이 PAG 전기자극에 의한 후각세포의 반응도 억제를 중재한다는 보고도 있다(Lin et al, 1994). 따라서 이들 아미노산이 본 연구에서 보여 준 PAG나 RMg 전기자극에 의한 억제 효

과에 관여하는지에 대해서는 차후 구체적으로 조사되어야 할 것이다.

PAG로부터 척수로의 하행성 억제작용에 있어서 RMg 이외에도 Gi가 중계소로써 중요한 역할을 할 것임이 제안되었다(Vertes, 1990). 이러한 제안은 Gi로부터 척수로 직접 투사되는 신경세포가 발견되지 않으며(Westlund et al, 1984), PAG에는 Gi와 RMg 내 세포와 시냅스를 이루는 세포가 다량 존재한다(Beitz et al, 1988)는 형태학적 실험 근거에 의하여 설득력있게 받아들여지고 있다. Gi를 전기자극하여 통각반사가 억제됨을 보인 실험에서, 이러한 억제작용이 척수 내의 세로토닌 수용체를 매개하여 이루어짐을 보고하였다(Zhuo & Gebhart, 1990). 따라서 이상의 결과에 기초하면, 본 연구에서 관찰된 Gi 전기자극에 의한 척수후각세포의 반응도 억압작용은 세로토닌성 RMg 세포의 활성화를 매개하며(즉 Gi-RMg-척수신경로 이용), PAG 전기자극에 의한 억압작용의 일부는 이러한 Gi-RMg-척수신경로의 활성화에 기인한다고 가정할 수 있다. 그러나 이러한 가정이 설득력을 갖기 위해서는 Gi에서 RMg로 연결되는 신경로의 존재가 규명되어야 할 것이다.

LC 역시 척수에서의 통각 정보 전달을 조절하는 하행성 억제체계에 관여할 것이라고 제안되었는데, 이는 LC로부터 척수로 투사되는 노아드레날린성 신경섬유가 존재하며(Westlund et al, 1984), 노아드레날린성 신경세포가 다량으로 분포하는 외측 교(lateral pons) 부위를 전기자극 하면 척수후각세포의 통각반응이 억제된다(Zhao & Duggan, 1988)는 보고에 기초한다. 그러나 LC 자체의 전기자극이 진통효과를 발휘하는지에 대하여서는 아직 논란의 되고 있으며, LC 외측에 존재하는 A5-A7 부위의 전기자극이 통증 환자에 있어서 진통효과를 발휘함이 보고되었다(Young et al, 1992). 본 연구에서는 LC의 전기자극이나 모르핀 투여가 모델 쥐 뿐 아니라 정상 쥐에서도 후각세포의 반응도에 영향을 미치지 않음을 보였다. LC에서 척수로 투사되는 신경섬유에 대한 형태학적 연구에 의하면, 척수로의 투사성 신경섬유는 척수후각의 표면 부위인 lamina I-II에 종결함이 밝혀졌다(Fritschy & Grzanna, 1990). 한편 본 연구에서 신경활동을 기록한 후각세포는 WDR형으로써 척수후각의 심부인 lamina III-V에 위치하고 있었는데, 이 때문에 본 실험에서 LC의 전기자극이 후각세포의 반응도에 영향을 미치지 않았을 가능성을 배제할 수 없다.

LPGi는 Gi와 RMg 사이의 외측 부위에 존재하는 뇌간 핵으로써, 이 부위는 다른 뇌간 핵(예컨대, PAG, RMg, Gi 등)에 의하여 발휘되는 통각 조절 기능에 영향을 줌으로써 진통작용에 관여할 것으로 알려져 있으나, LPGi에

의한 통각 조절 기능에 대한 공헌도는 다른 뇌간 핵에 비하여 상대적으로 미세함이 보고되었다(Urban & Smith, 1994). 본 연구에서는 LPGi의 전기자극이나 모르핀 투여가 정상 쥐나 모델 쥐에서 후각세포의 반응도에 영향을 미치지 않았다.

결론적으로 신경병성 통증 모델 쥐의 척수후각세포에서 관찰된 외부 자극(무해성 및 유해성 자극)에 대한 항진된 반응도는 뇌간 내의 여러 부위 중 특히 PAG, RMg 및 Gi의 전기 자극에 의하여 억제되었으며, 이러한 뇌간 부위 내의 신경세포의 활성화는 내인성 아편제의 작용을 매개함을 알 수 있었다. 또한 본 연구실에서는 동일 모델 쥐에서 항진된 후각세포의 반응도가 말초 피부에 가해진 전기 침 자극에 의하여 억제됨을 관찰한 바 있다. 따라서 이상의 결과를 종합하면, 말초에 가해진 전기 침 자극이 뇌간 내의 PAG, RMg 및 Gi에서 내인성 아편제의 방출을 유도하여 이 부위에서 척수로 투사되는 하행성 억제성 신경로 세포를 활성화하여 척수후각세포에서의 통각 정보 전달을 억제함으로써 진통 효과를 발휘할 것임을 시사한다.

감사의 글

이 연구는 “1996년도 교육부 지원 기초의학 학술조성비”의 지원에 의한 결과임.

참 고 문 헌

- Baik-Han EJ, Hur CR, Chung Y, Leem JW, Paik KS. Antinociceptive effect of transcutaneous electrical nerve stimulation on dorsal horn neurons in a rat model of neuropathic pain. *Soc Neurosci Abstr* 20: 553, 1994
- Basbaum AI, Fields HL. The origin of descending pathways in the dorsolateral funiculus of the spinal cord of the cat and rat: further studies on the anatomy of pain modulation. *J Comp Neurol* 187: 513-532, 1979
- Beitz AJ, Mullett MA, Brandt N. The relationship of periaqueductal gray projections to bulbospinal neurons: a combined fluorogold-PHA-L analysis. *Soc Neurosci Abstr* 14: 856, 1988
- Bowker RM, Westlund KN, Coulter JD. Origins of serotonergic projections to the spinal cord in rat: an immunocytochemical-retrograde transport study. *Brain Res* 226: 181-199, 1981
- Carstens E, Fraunhoffer M, Zimmermann M. Serotonergic

- mediation of descending inhibition from midbrain periaqueductal gray, but not reticular formation, of spinal nociceptive transmission in the cat. *Pain* 10: 149–167, 1981
- Castiglioni AJ, Gallaway MC, Coulter JD. Spinal projections from the midbrain in monkey. *J Comp Neurol* 178: 329–346, 1979
- Chung K, Kim HJ, Na HS, Park MJ, Chung JM. Abnormalities of sympathetic innervation in the area of an injured peripheral nerve in a rat model of neuropathic pain. *Neurosci Lett* 162: 85–88, 1993
- Fritschy JM, Grzanna R. Demonstration of two separate descending noradrenergic pathways to the rat spinal cord: evidence for an intragriseal trajectory of locus coeruleus axons in the superficial layers of the dorsal horn. *J Comp Neurol* 291: 553–582, 1990
- Kajander KC, Wakisaka S, Bennett GJ. Spontaneous discharge originates in the dorsal root ganglion at the onset of a painful peripheral neuropathy in the rat. *Neurosci Lett* 138: 225–238, 1992
- Lee SH, Kayser V, Desmeules J, Guilbaud G. Differential action of morphine and various opioid agonists on thermal allodynia and hyperalgesia in mononeuropathic rats. *Pain* 57: 233–240, 1994
- Leem JW, Park ES, Paik KS. Electrophysiological evidence for the antinociceptive effects of transcutaneous electrical stimulation on mechanically evoked responsiveness of dorsal horn neurons in neuropathic rats. *Neurosci Lett* 192: 197–200, 1995
- Lin Q, Peng Y, Willis WD. Glycine and GABA-A antagonists reduce the inhibition of primate spinothalamic tract neurons produced by stimulation in periaqueductal gray. *Brain Res* 654: 286–302, 1994
- Meyer GA, Fields HL. Causalgia treated by selective large fiber stimulation of peripheral nerve. *Brain* 95: 163–168, 1972
- Palecek J, Dougherty PM, Kim SH, Paleckova, V, Lekan H, Chung, JM, Carlton SM, Willis WD. Responses of spinothalamic tract neurons to mechanical and thermal stimuli in an experimental model of peripheral neuropathy in primates. *J Neurophysiol* 68: 1951–1966, 1992
- Paxinos G, Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Academic Press, New York, p1-150, 1986.
- Peng YB, Lin Q, Willis WD. The role of 5-HT₃ receptors in periaqueductal gray-induced inhibition of nociceptive dorsal horn neurons in rats. *J Pharmacol & Exp Therapeutics* 276: 116–124, 1996
- Portnoy RK, Foley KM, Inturrisi CE. The nature of opioid responsiveness and its implications for neuropathic pain: a new hypothesis of opioid infusions. *Pain* 43: 273–286, 1990
- Shir Y, Seltzer Z. Effects of sympathectomy in a rat model of causalgiform pain produced by partial sciatic nerve injury in rats. *Pain* 45: 309–320, 1991
- Sorkin LS, McAdoo DJ, Willis WD. Raphe magnus stimulation-induced antinociception in the cat is associated with release of amino acids as well as serotonin in the lumbar dorsal horn. *Brain Res* 618: 95–108, 1993
- Urban MO, Smith DJ. Nuclei within the rostral ventromedial medulla mediating morphine antinociception from the periaqueductal gray. *Brain Res* 652: 9–16, 1994
- Vecht CJ. Nociceptive nerve pain and neuropathic pain. *Pain* 39: 243–244, 1989
- Vertes RP (1990) Fundamentals of brain stem anatomy: a behavioral perspective. In: Klemm WR, Vertes RP ed, *Brain-stem mechanisms of behavior*. Wiley, New York, p33–103
- Westlund KN, Bowker RM, Ziegler MG, Coulter JD. Origins and terminals of descending noradrenergic projections to the spinal cord of monkey. *Brain Res* 292: 1–16, 1984
- Willis WD. Control of nociceptive transmission in the spinal cord. In: Ottoson D ed, *Progress in sensory physiology* 3, Springer-Verlag, Berlin, p8–103, 1982
- Yaksh TL, Tyce GM. Microinjection of morphine into the periaqueductal gray evokes the release of serotonin from the spinal cord. *Brain Res* 171: 176–181, 1979
- Yaksh TL, Yeung JC, Rudy TA. Systematic examination in the rat of brain sites sensitive to the direct application of morphine: observation of differential effects within the periaqueductal gray. *Brain Res* 114: 83–103, 1976
- Yamamoto T, Yaksh TL. Spinal pharmacology of thermal hyperalgesia induced by incomplete ligation of sciatic nerve. *Anesthesiology* 75: 817–826, 1991
- Young RF, Tronnier V, Rinaldi PC Chronic stimulation of the Koelliker-Fuse nucleus region for relief of intractable pain in humans. *J Neurosurg* 76: 979–985, 1992
- Zhao ZQ, Duggan AW. Idazoxan blocks the action of noradrenaline but not spinal inhibition from electrical of the locus coeruleus and nucleus Kolliker-Fuse of the cat. *Neuroscience* 25: 997–1005, 1988
- Zhuo M, Gebhart GF. Characterization of descending inhibition and facilitation from the nuclei reticularis gigantocellularis and gigantocellularis pars alpha in the rat. *Pain* 42: 337–350, 1990