

교감신경 의존적 및 비의존적 신경병증 통증 쥐 모델 후근신경절에서 Ca^{++} Channel $\alpha 2 \delta$ Subunit와 TRPM8 발현

연세대학교 의과대학 ¹마취통증의학교실 및 ²마취통증의학연구소

한동우^{1,2} · 권태동^{1,2} · 김연아¹ · 최종범¹ · 이윤우^{1,2}

The Expression of the Ca^{++} Channel $\alpha 2 \delta$ Subunit and TRPM8 in the Dorsal Root Ganglion of Sympathetically Maintained Pain and Sympathetic Independent Pain Rat Models

Dong Woo Han, M.D.^{1,2}, Tae Dong Kweon, M.D.^{1,2}, Yeon A Kim, M.D.¹, Jong Bum Choi, M.D.¹, and Youn Woo Lee, M.D.^{1,2}

¹Department of Anesthesiology and Pain Medicine, ²Anesthesia and Pain Research Institute, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: Peripheral nerve injury induces up-regulation of the calcium channel $\alpha 2 \delta$ subunit and TRPM8 in the dorsal root ganglion (DRG) which might contribute to allodynia development. We investigated the expression of the $\alpha 2 \delta$ subunit and TRPM8 in the DRG of sympathetically maintained pain (SMP) and sympathetic independent pain (SIP) rat model.

Methods: For the SMP model, the L5 and L6 spinal nerves were ligated tightly distal to the DRG. For the SIP model, the tibial and sural nerves were transected, while the common peroneal nerve was spared. After a 7 day postoperative period, tactile and cold allodynia were assessed using von Frey filaments and acetone drops, respectively. Expression of the $\alpha 2 \delta$ subunit and TRPM8 in the L5 and L6 DRG were subsequently examined by a Western blot.

Results: There were no significant differences between the two models for the thresholds of tactile and cold allodynia. Expression of the $\alpha 2 \delta$ subunit in the ipsilateral DRG to the injury was increased as determined on a Western blot as compared to that in the contralateral or sham-operated DRG of the SMP model, but there was no difference in expression seen with the use of the SIP model. There was no difference in the expression of TRPM8 in the ipsilateral DRG to the injury and the contralateral or sham-operated DRG of either model.

Conclusions: Up-regulation of the $\alpha 2 \delta$ subunit in injured DRG may play a role that contributes to tactile allodynia development in SMP, but not TRPM8 to cold allodynia after peripheral nerve injury. (Korean J Pain 2008; 21: 11-17)

Key Words: $\alpha 2 \delta$ subunit, dorsal root ganglion, SIP, SMP, TRPM8.

접수일 : 2008년 2월 14일, 승인일 : 2008년 3월 18일
 책임저자 : 이윤우, (135-720) 서울시 강남구 도곡동 146-92
 영동세브란스병원 마취통증의학과
 Tel: 02-2019-3523, Fax: 02-3463-0940
 E-mail: ywleepain@yuhs.ac

본 연구는 연세대학교 의과대학 2005년도 교수연구비에 의하여 이루어 졌음(과제번호: 2005-0036호).

Received February 14, 2008, Accepted March 18, 2008
 Correspondence to: Youn-Woo Lee
 Department of Anesthesiology and Pain Medicine, Yonsei University
 College of Medicine, Yongdong Severance Hospital, 146-92,
 Dogok-dong, Gangnam-gu, Seoul 135-720, Korea
 Tel: +82-2-2019-3523, Fax: +82-2-3463-0940
 E-mail: ywleepain@yuhs.ac
 This study was supported by a faculty research grant of Yonsei
 University College of Medicine for 2005.

서 론

말초 신경 손상 후 발생하는 복합부위통증증후군 (complex regional pain syndrome)은 대표적인 신경병증 통증 질환으로서 이질통(allodynia)과 통각과민(hyperalgesia)이 대표적인 증상이다. 이질통은 정상적으로는 통증을 야기시키지 않는 무해한 자극에 대해 통증으로 인식되는 상태이며, 통각과민은 통각수용 자극에 대해 증강되고 오래 지속되는 통증이 나타나는 병리적 통증 상태이다. 이들 신경병증 통증은 교감신경 의존적 통증 (sympathetically maintained pain; SMP)과 교감신경 비의존적 통증(sympathetic independent pain: SIP)으로 대별할 수 있다. 신경병증 통증의 동물모델 중에서 척수신경 결찰 모델(Chung model)은 SMP가 SIP보다 우세하고(dominant),¹⁾ 경골신경과 비복신경 절단 모델(Lee model)은 SIP 우세모델로 알려져 있다.²⁾

최근 신경병증 통증의 기전을 분자생물학적인 측면에서 연구되고 있는 결과들을 살펴볼 때, 통증의 정도나 치료 약물에 대한 반응의 정도는 통각 수용체나 약물이 작용하는 수용체의 발현 증가 여부와 관련이 있음을 알 수 있다.³⁻⁶⁾ 신경병증 통증 발생 시 유전자 발현의 변형은 새로운 진통 약제 개발에 도움이 될 뿐만 아니라 기존에 사용하던 약물의 작용을 이해하는 데도 유용하다. 말초 신경의 손상으로 인한 촉각이질통(tactile allodynia) 발생시 손상 측의 척수후근신경절(dorsal root ganglion)과 척수후각에서 칼슘통로 $\alpha 2 \delta$ 소단위(subunit)의 발현이 증가되고, $\alpha 2 \delta$ 소단위에 작용하는 gabapentin이나 pregabalin은 칼슘통로 $\alpha 2 \delta$ 소단위의 발현이 증가한 동물 모델에서 촉각이질통을 훨씬 효과적으로 감소시킨다.⁴⁾

촉각이질통에 비해 냉각이질통에 대한 연구는 상대적으로 미미하며 그 기전 또한 정확히 밝혀져 있지 않다. 차가운 온도 자극에 대해 반응을 나타내는 수용체는 온도 역치에 따라 냉각 저역치 신경단위와 냉각 고역치 신경단위로 나눌 수 있으며, 각각 비침해성 냉각(innocuous cooling)과 유해성 냉각(noxious cold)을 전달한다. 지금까지 알려진 냉각에 대한 온도수용체의 이온 통로는 transient receptor potential (TRP) channel family 중 melastatin8 (TRPM8) 및 ankyrin1 (TRPA1)로 알려지고 있다. TRPM8은 비침해성 온도 범위(25-28°C)에서 활성화되는 비특이적 이온 통로이고,⁵⁾ TRPA1은 보다 낮은 유해한 온도 범위(< 17°C)의 냉 자극에 반응하여 활성화되

는 이온 통로이다.⁶⁾ 따라서 저자들은 냉각이질통이 유해성 냉각보다는 비침해성 차가움을 전달하는 신경단위와 관련되어 있을 것으로 생각되며, TRPM8 이온 통로의 발현 증가가 냉각이질통을 야기시키는 데 관여할 것으로 예상하였다.

이에 본 저자들은 척수 신경 결찰 모델(SMP model)과 경골신경 및 비복신경 절단 모델(SIP model)을 이용하여 각 동물모델의 통증기전을 연구하기 위하여 신경 손상 후 촉각이질통과 냉각이질통의 발생 정도를 알아보고, 손상된 말초신경의 후근신경절에서 칼슘통로 $\alpha 2 \delta$ 소단위와 TRPM8 발현에 어떠한 차이가 나타나는지를 관찰하였다.

대상 및 방법

체중 150 g 수컷 흰쥐를 사용하였고 온도, 습도, 소음, 조명이 자동적으로 유지되는 사육실에서 물과 먹이를 자유로이 먹을 수 있도록 하여 3일간의 적응기간을 거쳤다. 마취를 비롯한 모든 수술은 연세대학교 의과대학 실험동물 관리규정을 준수하였다. 흰쥐를 특별히 고안된 마취유도용 아크릴통 안에서 3 vol% enflurane과 분당 1 L의 산소로 흡입마취 유도 후, 마스크를 사용하여 흡입 마취를 유지하였다.

1. SMP 모델

요추 극상돌기를 따라 피부를 절개하고 방척추근육을 척추체에서 박리하였다. 추간공을 중심으로 척추후궁 부분절제술을 시행하였다. 현미경하에서 유리막대로 만든 고리를 이용하여 좌측 제 5 및 제 6 척수 신경을 각각 박리하여 걸어내고, 척수후근신경절 원위부에서 #6.0 black silk로 단단히 결찰하였다. 출혈소를 지혈하고 조직과 조직의 층을 맞추어 봉합하였다.⁷⁾ 모의 수술(sham operation)은 척수 신경 노출까지는 위와 같은 방법으로 하되 신경을 결찰하지 않고 보존한 채로 조직을 봉합하였다.

2. SIP 모델

좌측 뒷다리의 대퇴중간부에서 슬와부위까지 피부를 절개한 후 대퇴이두근을 벌리고 좌골신경과 그의 세 분지(경골, 비복, 총비골 신경)가 노출되도록 하였다. 미세 집게를 사용하여 신경을 주변 조직 및 혈관으로부터 분리시킨 다음, 총비골 신경은 남겨 두고 경골 신경과 비복 신경을 현미경하에서 #6.0 black silk로 결찰 후 미세수술

가위로 절단하였다.⁸⁾ 모의 수술은 좌골 신경 분지의 노출까지는 위와 같은 방법으로 하되 신경을 결찰하지 않고 보존한 채로 조직을 봉합하였다.

3. 통증 행동 검사

각각의 모델에서 수술 후 7일째 보행 자세 및 환부 측 다리의 움직임을 관찰하여 운동 장애의 조건이 없고, 촉각이질통 역치가 3.0 g 이하인 흰쥐만을 신경병증 통증 모델 제작에 성공한 것으로 간주하기 위해 통증 행동 검사를 시행하였다. 통증 행동의 관찰을 위해 철망 실험대에 설치된 투명한 아크릴 상자에 흰쥐를 넣고 약 15분간의 환경 적응 시간을 허용한 후 촉각이질통과 냉각이질통을 관찰하였다.

촉각이질통 검사는 8개의 von Frey hairs (압력 범주 0.41–15.1 g)를 이용하여 좌측 뒷발바닥 중 가장 자극을 예민하게 느끼는 부위에 von Frey hair가 약간 구부러질 정도의 압력을 가하여 통증 회피 반응이 나타나는 무게를 기록하였다. Chaplan 등의⁹⁾ up-down법을 시행하여 촉각이질통의 평균 역치를 계산하였다.

냉각이질통 검사는 좌측 뒷발바닥 중 가장 자극을 예민하게 느끼는 부위에 주사기와 연결된 폴리에틸렌 도관을 통하여 100% 아세톤을 부드럽게 떨어뜨려 접촉시킨 후 통증 회피반응을 관찰하였다. 아세톤 방울 떨어뜨림은 1분 간격으로 5회 반복 시행하여 회피 반응 횟수를 측정하고 백분율을 구하였다.

SMP 및 SIP 모델을 위한 수술 후 1주일에 시행한 통증 행동 검사에서 촉각이질통 역치가 3.0 g 미만, 아세톤 자극 회피 횟수 4/5 이상인 쥐들만을 대상으로 western blotting 검사를 시행하였으며, 이질통 역치가 기준에 못 미치는 쥐들은 즉시 과량의 pentobarbital 복강내 주사와 탄산가스 과흡입으로 희생시켰다.

4. Western blotting

SMP 및 SIP 모델은 각각 5마리, 모의 수술 쥐 각각 5마리를 3 vol% enflurane과 분당 1 L의 산소를 흡입시키면서 마취를 유지하였다. 각 군은 다시 좌측(신경손상 부위)과 우측으로 나누어, L5 및 L6 후근신경절을 분리한 직후 곧바로 액화질소에 넣어 얼린 후 용해 완충액(50 mM Tris buffer, pH 8.0, containing 0.5% Triton X-100, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1 mM sodium orthovanadate, protease inhibitor cocktail)을 넣고 유리 호모게나이저를 이용해 조직을 분해하였다. 조직을 완전히 갈아준 후 4°C, 13,000 rpm에서 30분간 원심분리하고 그

상층액을 저장하였다. 상층액 상의 단백질 농도는 Bradford assay를 통해 측정하였다. 5X SDS 샘플 완충액과 샘플을 섞어준 후 100°C에서 5분간 끓여주고 100 V로 10% PAGE gel에서 전기영동을 하였다. 그 후 분리된 단백질을 300 mA로 2시간 동안 gel에서 nitrocellulose membrane으로 transfer 시켰다. Transfer가 끝난 후 membrane을 tris buffered saline (TBS)으로 약 5분간 shaker위에서 흔들어주며 씻어주고 5% skim milk로 실온에서 1시간 동안 block 해 주었다. 각각의 1차 항체인 anti calcium channel $\alpha 2 \delta$ subunit (SIGMA, USA), anti-TRPM8 (Abcam, UK)과 anti GAPDH (Santa Cruz Biotechnology, USA)를 0.5% skim milk에 1 : 1,000으로 희석한 후 membrane에 넣어주고 4°C에서 밤새 배양하였다. 다음날 1차 항체를 제거한 후 Tris buffered saline with 0.1% Tween 20 (TBST)로 10분씩 3회 씻어주고 1 : 2,000으로 희석한 2차 항체 (HRP-conjugated anti Rabbit IgG, Cell Signaling, Beverly, MA, USA)를 membrane에 넣고 실온에서 1시간 동안 배양하였다. 결합되지 않은 2차 항체를 제거한 후 TBST로 10분씩 3회 씻어주고 암실로 이동하여 Supersignal west pico chemiluminescence substrate (Pierce, USA)를 2차 항체에 결합된 Horse Radish Peroxidase (HRP)와 반응시킨 후 X-ray 필름에 감광하였다. 이상의 과정을 두 모델에서 1회에 각각 5마리의 개체를 사용하여 4회 시행하였다.

결 과

신경병증 통증 모델의 제작이 시도된 총 48마리의 흰쥐 중 40마리(SMP 모델; n = 20, SIP 모델; n = 20)가 모델 제작에 성공하여 5마리씩 4회의 western blotting을 시행하였다.

신경 손상 수술 7일 후 SMP 모델과 SIP 모델은 각각 1.76 ± 0.42 g과 1.59 ± 0.68 g의 촉각이질통 역치를 나타내었으며, 냉각이질통은 5회 자극 중 4회 이상의 회피 반응을 보이는 빈도가 각각 90%와 95%이었다. 두 모델 간 촉각이질통의 역치와 냉각이질통의 빈도에는 유의한 차이가 없었다($P > 0.05$).

SMP 및 SIP 모의 수술 대조군 쥐는 촉각이질통 역치가 각각 13.97 ± 0.64 g과 14.22 ± 0.85 g이었으며, 냉각이질통 회피반응 백분율은 모두 0%였다.

칼슘통로 $\alpha 2 \delta$ 소단위 발현은 SMP 모델의 말초신경 손상 부위에 해당하는 좌측 후근신경절에서 모의 수술 대조군 및 우측 후근신경절과 비교하여 증가하였고, 우

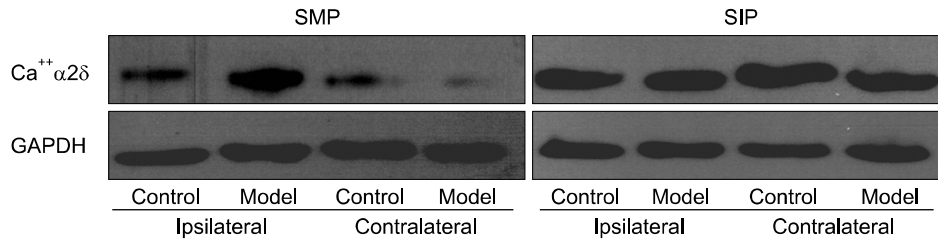


Fig. 1. Each Western blotting for Ca^{++} channel $\alpha 2 \delta$ subunit represents the results from two independent neuropathic pain rat model of sympathetically maintained pain (SMP, left) and sympathetic independent pain (SIP, right). Alpha2 δ subunit expression in DRG ipsilateral to the injury was increased compared with that in DRG from the contralateral side and bilateral sham-operated rats (control) in SMP model. However the $\alpha 2 \delta$ subunit expression was not increased compared with levels in DRG of matched control rats in SIP model.

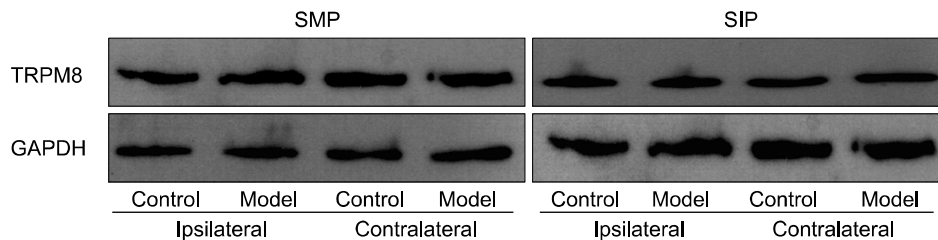


Fig. 2. Each Western blotting for TRPM8 represents the results from two independent neuropathic pain rat model of sympathetically maintained pain (SMP, left) and sympathetic independent pain (SIP, right). TRPM8 expression in DRG ipsilateral to the injury was not increased compared with that in DRG from the contralateral side and bilateral sham-operated rats in either model.

측 후근신경절에서는 대조군과 차이가 없었다. SIP 모델은 대조군과 비교하여 좌측과 우측 후근신경절 모두 칼슘통로 $\alpha 2 \delta$ 소단위 발현의 차이가 없었다(Fig. 1).

TRPM8 발현 정도는 SMP 모델과 SIP 모델의 모든 후근신경절에서 모의 수술 대조군과 차이가 없었으며 좌측과 우측 후근신경절에서 차이가 없었다(Fig. 2).

고 찰

이질통의 발생 기전은 명확히 밝혀져 있지는 않으나, 신경 손상 후 발생하는 말초 기전과 중추 기전으로 설명된다.^{10,11)} 여러 가지 동물 모델에서 말초신경 손상 후 Na 통로의 합성과 조절 기능이상으로 기외성 신경활성이 일차구심성 섬유와 후근신경절에서 발생한다. 또한 말초 신경섬유간의 상호작용(전기연접 또는 교차흥분)으로 인한 유해수용기 감각과 교감신경의 감각신경 연결도 말초기전으로 설명된다. 중추에서는 NMDA 수용체의 활성화에 뒤따르는 중추감작이 중요한 역할을 한다. 또한 척수 후각에서 유해자극의 전달을 조절하는 기능의

변형 또는 A β 섬유의 삭자람과 C 섬유와 A δ 섬유의 퇴화 등의 해부학적 변성(neuroplasticity)이 신경병증 통증의 주요 기전으로 알려져 있다.

측각 이질통은 말초 감각 및 중추 감각과 더불어 A β 섬유가 척수 후각의 표면층으로 뻗어 들어가 새로운 연결을 이루는 것으로 발생한다고 설명되고 있으나,^{10,11)} 냉각 이질통에 대한 기전 연구는 미미한 상태이다. 냉각 이질통에서도 중추감작이 중요한 작용을 할 것으로 생각되며, 냉각에 반응하는 대부분의 신경원이 무수초(unmyelinated) 또는 얇은 수초(myelinated)로 싸여 있는 점으로 보아 냉각 자극에 민감한 반응을 담당하는 섬유는 C 섬유이거나 A δ 섬유일 것으로 생각한다.^{12,13)}

전압의존형 칼슘통로(voltage-dependent calcium channel)는 $\alpha 1$, β , $\alpha 2 \delta$ 소단위 등으로 구성되는 채널 수용체이다. 이 중 칼슘채널 외부에 걸쳐 존재하는 $\alpha 2 \delta$ 소단위는 동일한 유전자로부터 각각 발현되어 disulfide 결합된 단위 구조로 칼슘통로의 안정화와 기능에 중요한 역할을 하며 작용 물질과 결합하는 주요 부분이다.^{14,15)} 말초 신경 손상 후 척수 후각과 후근신경절에서 칼슘통로의 $\alpha 2 \delta$

소단위의 발현이 증가하는데 칼슘통로의 $\alpha 2 \delta$ 소단위의 증가는 축삭이질통을 발생시키는 요인이 되며, 축삭이질통의 발생 시기 및 지속 기간과 상관 관계가 있다.¹⁶⁾ 이번 연구에서 SIP 모델도 SMP 모델과 유사한 역치의 축삭이질통이 발생했음에도 불구하고, 칼슘통로의 $\alpha 2 \delta$ 소단위의 발현은 대조군과 별 다른 차이가 없었다. 정확한 기전을 알 수는 없지만 칼슘통로의 $\alpha 2 \delta$ 소단위의 발현은 손상 신경의 말초 부위로부터 중추 방향으로의 자극에 의해 증가한다.¹⁷⁾ SIP 모델은 SMP 모델에 비해서 신경 손상 위치가 말초 부위에 있으므로 후근신경절에서 $\alpha 2 \delta$ 소단위의 발현이 증가하려면 SIP 모델에서 SMP 모델보다 훨씬 더 많은 자극이 필요하거나 시간적으로 장시간이 걸릴 것으로 생각한다. 신경 손상 부위가 SIP 모델보다는 중추에 가깝고 SMP 모델에 비해서는 말초 쪽인 chronic constriction injury 모델(Bennett 모델)의 후근신경절에서는 신경손상 1주일 후 $\alpha 2 \delta$ 소단위의 미미한 증가가 나타나는 것으로⁴⁾ 미루어 보아도 이를 뒷받침하는 결과라 생각한다. 단 이번 연구에서 칼슘통로의 $\alpha 2 \delta$ 소단위의 발현을 신경 손상 1주일 후에만 관찰하였으므로 신경 손상 후 시간과 말초 신경손상 부위에서 후근신경절까지의 거리와의 관계는 추가로 연구할 필요성이 있으나, SMP 모델과 SIP 모델 간의 축삭이질통의 역치에는 차이가 없으므로 축삭이질통과 $\alpha 2 \delta$ 소단위의 발현과 상관관계는 밝혀낼 수 없었다.

그러나 말초 신경 손상 후 교감신경은 신경종이나 척수후근신경절과 새로운 접합을 이룸으로써 신경병증 통증의 발생에 중요한 역할을 하게 되는데,¹⁰⁾ 교감신경이 칼슘통로의 발현과 어떤 관련이 있는지 밝혀진 바는 없었다. 이번 연구 결과와 같이 SMP 모델에서 칼슘통로의 $\alpha 2 \delta$ 소단위의 발현이 의미 있게 증가하고 SIP 모델에서는 증가하지 않았으며, SMP와 SIP를 공평히 가지고 있는 것으로 알려져 있는 Bennett 모델은 신경손상 1주일 후 $\alpha 2 \delta$ 소단위의 미미한 발현이 나타나는 것으로 보아⁴⁾ 말초 신경손상 후 칼슘통로 $\alpha 2 \delta$ 소단위의 발현이 교감신경계와 직접적인 관련이 있다고 생각한다.

온도수용체로 작용한다고 알려진 TRP (transient receptor potential) 통로는 6개의 소가족(subfamily) 단백질로 구성되며, 외부 자극에 의한 일부 구조의 변화가 통로의 3차 구조에 영향을 주어서 통로가 열림으로써 세포막 안으로 양이온 이동을 가능하게 만들어 열 자극과 화학적 자극의 감지를 가능하게 한다. TRP 통로 가족에는 유해성 자극과 따뜻한 온도를 감지하는 수용체인 TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4와 차가운 온도에 대한 수용체인

TRPM8과 TRPA1 등이 있다.^{18,19)} TRPA1이 침해 냉각을 일으키는 온도인 17°C에서 활성화되고, 거의 예외 없이 TRPV1이 발현되는 유해 자극 전달 신경 섬유에서 동반되어 발현되는 것으로 보아 주로 침해성 냉각을 전달하는 작용을 한다.^{6,20)} TRPM8은 TRPA1이 반응하는 온도보다는 높은 25–28°C 정도의 온도에서 활성을 보이는 비특이적 이온 채널이며 차가운 감각을 주는 화학 성분들로 알려진 menthol이나 icilin에 의해서 반응이 증가한다.^{5,21)} 차가운 감각을 전달한다는 면에서는 TRPA1과 공통적이지만 둘은 서열 유사성이 낮은 편으로 냉각이질통은 주로 TRPM8이 관여할 것으로 추측하였다.²²⁾ 하지만 이번 연구 결과에 의하면 SMP 모델과 SIP 모델이 모두 냉각이질통이 잘 나타나는 모델인 점으로 미루어 냉각에 반응하는 신경단위의 증가로 인한 TRPM8의 증가를 예상하였으나 두 모델에서 아무런 증가가 없었다.

TRPM8이 두 모델 모두에서 증가하지 않은 점으로 미루어 정상 상태에서는 menthol과 서늘한 온도에서 활성화되는 TRPM8이 신경병증 통증에서는 냉각이질통에 직접적 관련이 없거나, TRPM8보다는 낮은 온도에서 활성화되는 TRPA1이 냉각이질통과 연관되어 있을 수도 있다. 또한 잘 알려지지 않았지만 TRP 수용체의 냉각에 반응하는 TREK-1, Na/K ATPase, ASIC 혹은 DRASIC 수용체 등이 관련되어 있을 가능성도 배제할 수 없으며 앞으로의 연구 대상이다.²³⁻²⁵⁾

말초 신경 손상 후 칼슘통로 $\alpha 2 \delta$ 소단위는 손상 받은 말초 신경의 척수신경후근절에서 증가하는 반면, 다른 TRP 채널의 한 종류인 TRPV1과 TRPV2 등은 손상 받은 신경에 인접한 정상 상태인 구심성 신경의 핵이 존재하는 후근신경절에서 증가한다.^{3,26)} 최근 신경병증 통증의 기전 연구에서 말초 신경 손상 후 인접한 손상 받지 않은 신경을 통한 신경 전달 물질의 자극 전달로 인하여 중추 감각과 더불어 신경병증 통증이 발생함을 증명하여 인접한 손상 받지 않은 신경의 역할이 중요함을 보여 준다. 이번 연구에서도 더 나아가 신경 손상을 받지 않은 인접 부위 후근신경절에서의 냉각 관련 수용체와 칼슘통로 수용체의 발현 변화 연구도 앞으로 필요할 것으로 생각한다.

이번 연구에서는 신경병증 통증 모델로 SMP 모델과 SIP 모델을 사용하였는데, SMP 모델은 해부학적으로 신경 결찰 부위가 좌골 신경으로 합쳐지기 전 부위여서 손상된 신경과 손상되지 않은 신경을 쉽게 구분할 수 있는 이점이 있지만, 그 외 좌골 신경이나 좌골 신경 이후 분지를 결찰해야 하는 SIP 모델의 경우는 손상 신경과 손

상되지 않은 신경을 분리하기 위해서는 immunohistochemistry나 fluorescent tracer 등과 같은 추가적인 연구가 선행되어야 할 것으로 본다.^{26,27)} 또한 신경병증 통증의 발생 기전은 여러 다양한 요인들이 복합적으로 작용하고 있어 그 기전을 한 가지로 설명하기가 쉽지 않다. 특히 냉각과 관련된 새로운 수용체가 존재할 것임을 예측하게 하는 실험 결과들이 보고되고 있으므로 냉각 수용체에 대한 연구가 앞으로 더욱 필요할 것으로 생각한다.¹⁸⁻²²⁾

결론적으로 SMP 모델과 SIP 모델은 모두 말초 신경 손상 이후 촉각이질통과 냉각이질통이 잘 나타나는 신경병증 모델이다. 앞선 연구에서 칼슘통로의 $\alpha 2 \delta$ 소단위에 작용하여 신경전달 물질의 과잉분비를 조절하는 pregabalin은 두 가지 모델 모두에서 촉각이질통과 냉각이질통을 억제시켰다.²⁸⁾ 그러나 이번 연구를 통하여는 칼슘통로의 $\alpha 2 \delta$ 소단위가 SMP 모델의 후근신경절에서만 발현이 증가한 것으로 보아 칼슘통로의 $\alpha 2 \delta$ 소단위가 촉각이질통 발생에 중요한 요인이기는 하지만 모든 신경병증 통증 모델에 공통적으로 적용되지는 않고 신경병증 통증 기전 중에서 말초신경 손상 후 교감신경계와의 상호작용과 관련이 많은 것으로 생각한다. 따라서 앞선 연구와 이번 연구 결과는 pregabalin이 칼슘통로의 $\alpha 2 \delta$ 소단위에 작용하는 기전 이외에 다른 작용 기전이 있는지를 연구해야 할 과제를 남겨준다. 또한 손상을 받은 후근신경절 세포에서의 TRPM8 발현이 SMP 및 SIP모델 모두에서 증가하지 않은 결과로 보아 손상 받은 후근신경절에서의 TRPM8은 냉각이질통과 연관성이 적거나, 손상 받지 않은 구심성 섬유에 관련되는 이온 채널로 생각한다.

참 고 문 헌

- Xie J, Park SK, Chung K, Chung JM: The effect of lumbar sympathectomy in the spinal nerve ligation model of neuropathic pain. *J Pain* 2001; 2: 270-8.
- Han DW, Kweon TD, Kim KJ, Lee JS, Chang CH, Lee YW: Does the tibial and sural nerve transection model represent sympathetically independent pain? *Yonsei Med J* 2006; 47: 847-51.
- Roza C, Belmonte C, Viana F: Cold sensitivity in axotomized fibers of experimental neuromas in mice. *Pain* 2006; 120: 24-35.
- Luo ZD, Calcutt NA, Higuera ES, Valder CR, Song YH, Svensson CI, et al: Injury type-specific calcium channel alpha 2 delta-1 subunit up-regulation in rat neuropathic pain models correlates with antiallodynic effects of gabapentin. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 303: 1199-205.
- Nealen ML, Gold MS, Thut PD, Caterina MJ: TRPM8 mRNA is expressed in a subset of cold-responsive trigeminal neurons from rat. *J Neurophysiol* 2003; 90: 515-20.
- Story GM, Peier AM, Reeve AJ, Eid SR, Mosbacher J, Hricik TR, et al: ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures. *Cell* 2003; 112: 819-29.
- Kim SH, Chung JM: An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. *Pain* 1992; 50: 355-63.
- Lee BH, Won R, Baik EJ, Lee SH, Moon CH: An animal model of neuropathic pain employing injury to the sciatic nerve branches. *Neuroreport* 2000; 11: 657-61.
- Chaplan SR, Bach FW, Pogrel JW, Chung JM, Yaksh TL: Quantitative assessment of tactile allodynia in the rat paw. *J Neurosci Methods* 1994; 53: 55-63.
- Attal N, Bouhassira D: Mechanisms of pain in peripheral neuropathy. *Acta Neurol Scand* 1999; 173(Suppl): 12-24.
- Woolf CJ, Mannion RJ: Neuropathic pain: aetiology, symptoms, mechanisms, and management. *Lancet* 1999; 353: 1959-64.
- Takahashi K, Sato J, Mizumura K: Responses of C-fiber low threshold mechanoreceptors and nociceptors to cold were facilitated in rats persistently inflamed and hypersensitive to cold. *Neurosci Res* 2003; 47: 409-19.
- Kim YI, Kim SH, Oh EJ, Sung B, Na HS, Han HC, et al: Some membrane property changes following axotomy in A delta-type DRG cells are related to cold allodynia in rat. *Neuroreport* 1999; 10: 1493-9.
- De Jongh KS, Warner C, Catterall WA: Subunits of purified calcium channels. Alpha 2 and delta are encoded by the same gene. *J Biol Chem* 1990; 265: 14738-41.
- Klugbauer N, Marais E, Hofmann F: Calcium channel alpha2delta subunits: differential expression, function, and drug binding. *J Bioenerg Biomembr* 2003; 35: 639-47.
- Luo ZD, Chaplan SR, Higuera ES, Sorkin LS, Stauderman KA, Williams ME, et al: Upregulation of dorsal root ganglion (alpha)2(delta) calcium channel subunit and its correlation with allodynia in spinal nerve-injured rats. *J Neurosci* 2001; 21: 1868-75.
- Coull JA, Boudreau D, Bachand K, Prescott SA, Nault F, Sik A, et al: Trans-synaptic shift in anion gradient in spinal lamina I neurons as a mechanism of neuropathic pain. *Nature* 2003; 424: 938-42.
- McKemy DD, Neuhauser WM, Julius D: Identification of a cold receptor reveals a general role for TRP channels in thermosensation. *Nature* 2002; 416: 52-8.
- Patapoutian A, Peier AM, Story GM, Viswanath V: ThermoTRP channels and beyond: mechanisms of temperature sensation. *Nat Rev Neurosci* 2003; 4: 529-39.
- Katsura H, Obata K, Mizushima T, Yamanaka H, Kobayashi K, Dai Y, et al: Antisense knock down of TRPA1, but not

- TRPM8, alleviates cold hyperalgesia after spinal nerve ligation in rats. *Exp Neurol* 2006; 200: 112-23.
21. Peier AM, Moqrich A, Hergarden AC, Reeve AJ, Andersson DA, Story GM, et al: A TRP channel that senses cold stimuli and menthol. *Cell* 2002; 108: 705-15.
 22. Montell C: A mint of mutations in TRPM8 leads to cool results. *Nat Neurosci* 2006; 9: 466-8.
 23. Thut PD, Wrigley D, Gold MS: Cold transduction in rat trigeminal ganglia neurons in vitro. *Neuroscience* 2003; 119: 1071-83.
 24. Askwith CC, Benson CJ, Welsh MJ, Snyder PM: DEG/ENaC ion channels involved in sensory transduction are modulated by cold temperature. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 6459-63.
 25. Maingret F, Lauritzen I, Patel AJ, Heurteaux C, Reyes R, Lesage F, et al: TREK-1 is a heat-activated background K (+) channel. *EMBO J* 2000; 19: 2483-91.
 26. Hudson LJ, Bevan S, Wotherspoon G, Gentry C, Fox A, Winter J: VR1 protein expression increases in undamaged DRG neurons after partial nerve injury. *Eur J Neurosci* 2001; 13: 2105-14.
 27. Tsuzuki K, Kondo E, Fukuoka T, Yi D, Tsujino H, Sakagami M, et al: Differential regulation of P2X(3) mRNA expression by peripheral nerve injury in intact and injured neurons in the rat sensory ganglia. *Pain* 2001; 91: 351-60.
 28. Han DW, Kweon TD, Lee JS, Lee YW: Antiallodynic effect of pregabalin in rat models of sympathetically maintained and sympathetic independent neuropathic pain. *Yonsei Med J* 2007; 48: 41-7.
-